

## **PHÂN TÍCH TÍNH ĐA HÌNH ADN CỦA 8 CẶP LAI NHỊ NGUYÊN TẦM DÂU F1 BẰNG CHỈ THỊ RAPD**

### **Assesment of the DNA Divirsity of the 8 F1 Single Cross Hybrids of Silk Worm Using RAPD Markers**

**Vũ Thị Thu Hiền, Đinh Thị Phòng**

*Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam*

Địa chỉ email tác giả liên hệ: *dinhthiphong@hotmail.com*

Ngày gửi đăng: 14.04.2010; Ngày chấp nhận: 25.04.2010

#### **TÓM TẮT**

Mười lăm đoạn mồi ngẫu nhiên đã được sử dụng để phân tích tính đa hình ADN cho 80 cá thể F1 của 4 cặp lai nhị nguyên trong nước và 4 cặp lai nhị nguyên nhập ngoại thì có 12/15 mồi cho tính đa hình với giá trị PIC dao động từ 0,07 (OPV6) đến 0,51 (OPP19). Số lượng các phân đoạn ADN nhân bản với mỗi mồi xê dịch từ 1 đến 9 phân đoạn. Kích thước các phân đoạn ADN được nhân bản trong khoảng từ 200 bp đến 1600 bp. Trong tổng số 99 phân đoạn ADN thu được, có 83 phân đoạn đa hình (83,84%) và 16 phân đoạn đơn hình (16,16%). Số phân đoạn ADN nhân bản được nhiều nhất là 505 phân đoạn khi phân tích với mồi RA40 và ít nhất là 117 phân đoạn khi phân tích với mồi OPV02. Hệ số tương đồng di truyền giữa các con lai F1 của 8 cặp lai nhị nguyên tầm dâu dao động từ 0,33 đến 1,00 và được phân làm 02 nhóm chính: Nhánh chính I bao gồm toàn bộ 4 cặp lai nhị nguyên trong nước có hệ số tương đồng di truyền khoảng từ 0,74 đến 1,00 và được chia làm 2 nhánh phụ nhỏ. Đối với nhánh chính II bao gồm toàn bộ 4 cặp lai tầm nhị nguyên nhập ngoại và được chia làm 2 nhánh phụ, có hệ số tương đồng di truyền khoảng từ 0,51 đến 1,00. Kết quả này sẽ góp phần cho việc chọn tạo ra giống tầm mới.

Từ khoá: Cặp lai nhị nguyên, đa hình ADN, hệ số tương đồng, RAPD.

#### **SUMMARY**

Fifteen random primers were selected to analyze DNA polymorphism of 80 F<sub>1</sub>-individuals from 4 local and 4 introduced single cross hybrids of silkworms. Twelve primers revealed the Polymorphic Information Content (PIC) with values from 0.07 (OPV6) to 0.51 (OPP19). The number of amplified DNA fragments ranged from 1 to 9 per primer. The size of DNA fragments varied from 200 bp to 1600 bp. The total of amplified DNA fragments were 99 in which 83 fragments were polymorphic (83,84%) and 16 fragments were monomorphic (16,16%). The maximum multiplied fragments were 505 with RA40 primer and the minimum multiplied fragments were 117 with OPV02 primer. Variable genetic similarity coefficients of F<sub>1</sub> individuals varied from 0.33 to 1.00 and could be divided into two main clusters. The first cluster included all individuals of 4 local hybrids with variable genetic similarity coefficients ranging from 0.74 to 1.00 and consists of two sub-groups. The second cluster included all individuals of 4 imported single cross hybrids and also consists of two other sub-groups with variable genetic similarity coefficient ranging from 0.51 to 1.00. The information can serve as bases for silk worm breeding programme.

Key words: DNA polymorphism, RAPD, similarity coefficient, single cross hybrids.

### **1. ĐẶT VẤN ĐỀ**

Đến nay, chọn tạo giống tầm (*Bombyx mori* L.) chủ yếu vẫn bằng phương pháp truyền thống nên tiêu tốn nhiều thời gian mà kết quả tạo giống hạn chế. Công nghệ

sinh học hiện đại có thể khắc phục nhược điểm này nhờ có các chỉ thị phân tử. Ưu điểm của phương pháp là không phụ thuộc vào điều kiện môi trường mà lại hiệu quả ở cả khía cạnh thời gian và chất lượng tạo giống. Vì thế cho đến nay đã có khá nhiều

đối tượng vật nuôi và cây trồng được tạo ra có sự hỗ trợ của chỉ thị phân tử (Kim và cs., 2006; Hang và cs., 1997; Carlos và cs., 2000; Đinh Thị Phòng và cs., 2004; Đinh Thị Phòng và cs., 2008; Nguyễn Thị Thanh Bình và cs., 1999). Trong số các chỉ thị ISSR, RFLP, AFLP, RAPD... thì chỉ thị RAPD tương đối dễ sử dụng, giá thành hạ mà vẫn cho kết quả tin cậy (Ferreira và cs., 1997; Powell và cs., 1996).

Ưu thế lai trong tạo giống được xem như là lý thuyết kinh điển đứng ở mọi khía cạnh, tuy nhiên hiệu quả của ưu thế lai tùy thuộc vào việc lựa chọn bố mẹ cặp lai và mấu chốt chính là sự khác biệt di truyền, sự khác biệt di truyền càng lớn thì sẽ sinh ra thế hệ con lai có tỷ lệ dị hợp tử và ưu thế lai càng cao.

Để hiểu biết thêm về tính đa dạng di truyền ở tầm dâu, công trình này trình bày

kết quả “Phân tích đa dạng di truyền ADN của các con lai F1 của 04 cặp lai tầm dâu nhị nguyên trong nước và 04 cặp lai tầm dâu nhị nguyên nhập ngoại bằng chỉ thị RAPD” làm cơ sở cho nghiên cứu tạo giống mới.

## 2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nguyên liệu

Các con nhộng F1 của 04 cặp lai tầm dâu nhị nguyên trong nước và 04 cặp lai tầm dâu nhị nguyên nhập ngoại do Trung tâm Nghiên cứu Dâu tầm tơ cung cấp. Các mẫu nhộng được bảo quản ở nhiệt độ - 20°C cho tới khi sử dụng. Tên các cặp lai và ký hiệu cho trong bảng 1.

Các mẫu RAPD: Tên và trình tự các nucleotide của 15 mẫu ngẫu nhiên sử dụng trong nghiên cứu cho trong bảng 2.

**Bảng 1. Tên của 8 cặp lai nhị nguyên tầm dâu**

TT	Tên các cặp lai nhị nguyên tầm dâu	Nơi cung cấp	Ký hiệu
1	QĐ7	Trung tâm Nghiên cứu Dâu tầm tơ	NN*1
2	QĐ9	Trung tâm Nghiên cứu Dâu tầm tơ	NN2
3	A1 x 810	Trung tâm Nghiên cứu Dâu tầm tơ	NN3
4	A2 x Ô1	Trung tâm Nghiên cứu Dâu tầm tơ	NN4
5	A2 x B46	Trung tâm Nghiên cứu Dâu tầm tơ	TN*1
6	A2 x VN1	Trung tâm Nghiên cứu Dâu tầm tơ	TN2
7	B42 x B46	Trung tâm Nghiên cứu Dâu tầm tơ	TN3
8	E38 x A1	Trung tâm Nghiên cứu Dâu tầm tơ	TN4

Ghi chú: NN\*: cặp lai tầm dâu nhập ngoại, TN\*: cặp lai tầm dâu trong nước

**Bảng 2. Trình tự các nucleotide của 10 mẫu ngẫu nhiên**

TT	Tên mẫu	Trình tự mẫu	TT	Tên mẫu	Trình tự mẫu
1	OPE14	5'TGC GGC TGAG3'	9	OPB12	5'CCT TGA CGCA3'
2	RA 40	5'GGC GGA CTGT3'	10	OPP15	5'GGA AGC CAAC3'
3	OPB18	5'CCA CAG CAGT3'	11	OPV2	5'AGT CAC TCCC3'
4	RA 46	5'CCA GAC CCTG3'	12	RA159	5'GTC CAC ACGG3'
5	OPA02	5'TGCCGAGCTG3'	13	OPP19	5'GGG AAG GACA3'
6	OPB04	5'GGA CTG GAGT3'	14	OPN11	5'TCG CCG CAAA3'
7	OPP08	5'ACA TCG CCCA3'	15	OPP04	5'GTG TCT CAGG3'
8	OPV6	5'ACG CCC AGGT3'			

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Tách ADN tổng số từ các giống tầm

ADN tổng số được tách từ 10 cá thể tầm F1 (5 đực và 5 cái cho mỗi một cặp lai) của 04 cặp lai nhị nguyên trong nước và 04 cặp lai nhị nguyên nhập ngoại theo bộ kit #K0512 của hãng Fermentas, các bước được thực hiện theo protocol chỉ dẫn của nhà sản xuất. Kiểm tra độ sạch và hàm lượng ADN bằng đo quang phổ hấp thụ kết hợp với điện di trên gel agarose 0,9%.

### 2.2.2. Phân tích PCR - RAPD

Một phản ứng PCR có thể tích 25 µl bao gồm dung dịch đệm PCR 1X; 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>; 2 mM dNTPs; 200 nM đoạn môi; 0,5 đơn vị *Taq* polymerase và 10 ng DNA khuôn. Phản ứng PCR – RAPD thực hiện trong máy PCR – Thermal Cycler 9700 theo chu trình nhiệt: 94°C trong 1 phút; 45 chu kỳ (92°C trong 1 phút; 35°C trong 1 phút; 72°C trong 1 phút); 72°C trong 10 phút; giữ sản phẩm ở 4°C. Điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 1,5%, nhuộm Ethidium bromide và chụp ảnh trên máy soi gel của Hãng Clever Scientific (Anh).

### 2.2.3. Phân tích số liệu

Dựa trên sự xuất hiện hay không xuất hiện của các phân đoạn ADN khi điện di sản phẩm PCR-RAPD với các đoạn môi ngẫu nhiên của 04 cặp lai tầm nhị nguyên trong nước và 04 cặp lai nhị nguyên nhập ngoại làm cơ sở cho việc phân tích số liệu. Tỷ lệ phần trăm tính đa hình các phân đoạn ADN được tính bằng số phân đoạn ADN đa hình trên tổng số phân đoạn nhân bản được.

Hàm lượng thông tin tính đa hình (Polymorphism information content = PIC) của mỗi cặp lai xác định theo công thức:

$$PIC_i = 1 - \sum P_{ij}^2$$

Trong đó: P<sub>ij</sub> là tần số của allel j của kiểu gen i được kiểm tra. Phạm vi giá trị PIC từ 0 (không đa hình) tới 1 (đa hình hoàn toàn).

Xác định hệ số tương đồng di truyền, lập biểu đồ hình cây để so sánh hệ số tương đồng di truyền giữa 80 cá thể của mỗi cặp lai nhị nguyên theo phương pháp Nei và Li (1979); Weir (1990). Số liệu được xử lý bằng chương trình NTSYSpc version 2.0 (Rohf, 2001).

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

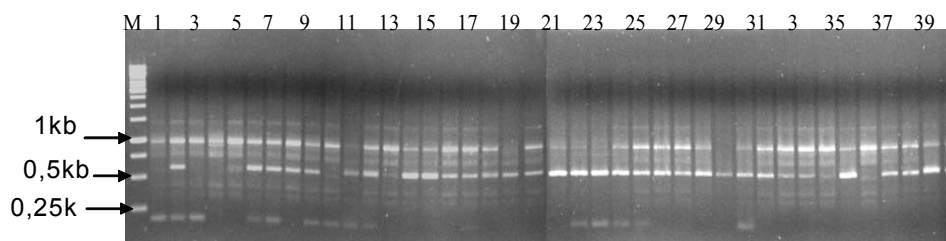
### 3.1. Đa hình phân đoạn ADN của các cặp lai nhị nguyên tầm đầu trong nước và nhập ngoại

Kết quả phân tích sản phẩm PCR - RAPD của 80 mẫu nhộng F1 thuộc 8 cặp lai nhị nguyên trong nước và nhập ngoại đã chỉ ra 12/15 môi cho tính đa hình với giá trị PIC dao động từ 0,07 (OPV6) đến 0,51 (OPP19). Số lượng các phân đoạn ADN nhân bản với mỗi môi xê dịch từ 1 đến 9 phân đoạn. Kích thước các phân đoạn ADN được nhân bản trong khoảng từ 200 bp đến 1600 bp. Tổng số phân đoạn ADN nhân bản được của 80 mẫu nhộng F1 với 15 môi RAPD là 4002. Số phân đoạn ADN nhân bản được nhiều nhất là 505 phân đoạn khi phân tích với môi RA40 và ít nhất là 117 phân đoạn khi phân tích với môi OPV02 (số liệu không chỉ ra ở đây). Tổng số phân đoạn ADN khi phân tích với 15 môi ngẫu nhiên là 99 phân đoạn. Trong đó có 83 phân đoạn là đa hình (chiếm 83,84%) và 16 phân đoạn đơn hình (chiếm 16,16%) (Bảng 3).

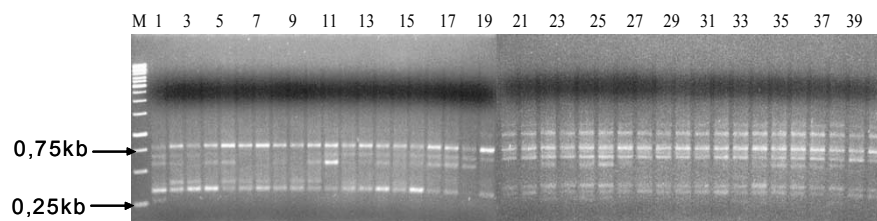
Tính đa hình thể hiện ở sự xuất hiện hay không xuất hiện phân đoạn ADN khi so sánh giữa các mẫu với nhau. Chẳng hạn khi phân tích 4 cặp lai trong nước với môi OPA02 (Hình 1) có 7 phân đoạn ADN được nhân bản thì cả 7 phân đoạn đều chỉ ra tính đa hình, ví dụ ở vị trí 1 kb, mẫu TN3.2 và TN3.9 thuộc cặp TN3 (giống 23, 29 tương ứng) đã không xuất hiện phân đoạn ADN, hay tại vị trí 0,2 kb các mẫu nhộng TN1.1, TN1.2, TN1.3, TN1.6, TN1.7, TN1.9, TN1.10 thuộc cặp TN1 (giống 1, 2, 3, 6, 7, 9, 10 tương ứng), hay các mẫu nhộng TN2.1, TN2.2, TN2.7 (giống 11, 12, 17, tương ứng) thuộc cặp TN2 đã xuất hiện phân đoạn ADN.

**Bảng 3. Giá trị PIC và tỉ lệ phân đoạn đa hình của 80 mẫu nhộng F1 của các cặp lai nhị nguyên tầm dâu trong nước và nhập ngoại**

Môi	PIC	Số phân đoạn đa hình	Số phân đoạn đồng hình	Tổng số phân đoạn ADN	% phân đoạn đa hình
OPE14	0	0	3	3	0,00
RA40	0,27	11	0	11	100,00
OPB18	0,35	9	0	9	100,00
RA46	0,23	2	1	3	66,67
OPA02	0,37	11	0	11	100,00
OPB04	0,41	7	1	8	87,50
OPP08	0,24	5	2	7	71,43
OPV6	0,07	1	2	3	33,33
OPB12	0,36	7	1	8	87,50
OPP15	0,22	6	1	7	85,71
OPV2	0,16	2	0	2	100,00
RA159	0	0	2	2	0,00
OPP19	0,51	13	1	14	92,86
OPN11	0	0	2	2	0,00
OPP04	0,37	9	0	9	100,00
Tổng		83	16	99	83,84



**Hình 1. Sản phẩm PCR-RAPD của 04 cặp lai nhị nguyên trong nước với môi OPA02 (M: thang phân tử 1 kb, giếng 1-10: cặp lai TN1, 11-20: cặp lai TN2, 21-30: cặp lai TN3, 31-40: cặp lai TN4, mỗi cặp lai 5 cá thể đầu được và 05 cá thể còn lại là cái)**



**Hình 2. Sản phẩm PCR-RAPD của 04 cặp lai nhị nguyên nhập ngoại với môi OPB12 (M: thang phân tử 1 kb, giếng 1-10: cặp lai NN1, 11-20: cặp lai NN2, 21-30: cặp lai NN3, 31-40: cặp lai NN4, mỗi cặp lai 5 cá thể đầu được và 05 cá thể còn lại là cái)**

Đối với 4 cặp lai nhị nguyên tầm dâu nhập ngoại tính đa hình thể hiện tương đối rõ ở mỗi OPB12. Trong số 7 phân đoạn ADN được nhân bản thì có 5 phân đoạn đa hình (chiếm 71,43%). Các phân đoạn có kích thước khoảng từ 0,3 kb đến 1,2 kb. Chẳng hạn ở vị trí khoảng 1 kb có 20 mẫu thuộc 2 cặp lai NN3, NN4 đã xuất hiện phân đoạn ADN, trong khi đó các mẫu của 2 cặp lai NN1 và NN2 đã không xuất hiện phân đoạn ADN.

Từ kết quả nhận được trên đây cho thấy tính đa hình ADN tương đối rõ và phong phú khi so sánh 8 cặp lai nhị nguyên tầm dâu với nhau.

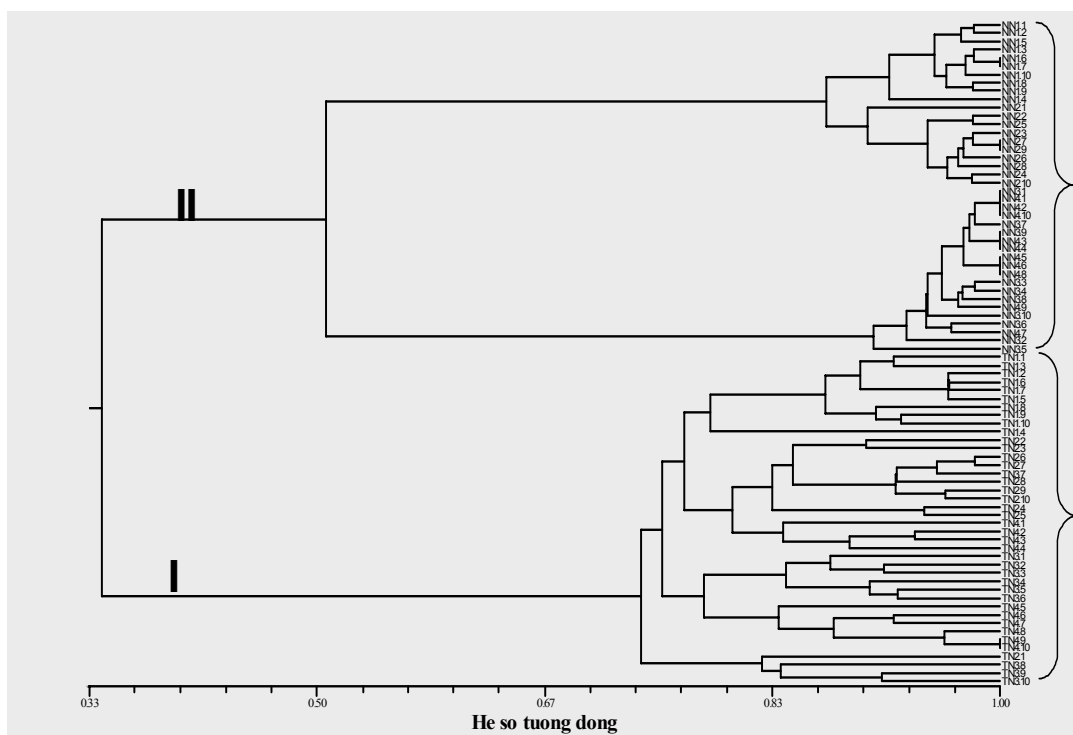
### **3.2. Mối quan hệ di truyền của các cặp lai nhị nguyên tầm dâu trong nước và nhập ngoại**

Các số liệu phân tích PCR-RAPD được xử lý và phân tích trong chương trình NTSySpc version 2.0 nhằm tìm ra khoảng cách di truyền giữa các giống nghiên cứu thông qua hệ số tương đồng di truyền và biểu đồ hình cây. Phân nhóm di truyền là phương pháp phổ biến để đánh giá mức độ đa dạng của đối tượng nghiên cứu. Phương pháp này dựa trên những lý thuyết thống kê toán học và sinh học. Phân nhóm di truyền được tiến hành phân tích theo 2 cách: tính trạng kiểu hình và tính trạng kiểu gen. Phương pháp đánh giá đa dạng kiểu gen mang lại hiệu quả cao hơn vì không lệ thuộc vào điều kiện môi trường, vì thế sẽ giúp các nhà chọn giống có định hướng tương đối chính xác khi lựa chọn vật liệu lai nhằm tạo ra con lai có tính trạng mong muốn.

Khi so sánh giữa 10 cá thể F1 của một cặp lai đã chỉ ra hệ số tương đồng di truyền của cặp NN1 dao động từ 0,902 (giữa NN1.4 và NN1.8) đến 1 (giữa NN1.6 và NN1.7), đối với cặp NN2 dao động từ 0,860 (giữa NN2.1 và NN2.2) đến 1 (giữa NN2.7 và NN2.9),

cặp NN3 dao động trong khoảng 0,875 (giữa NN3.4 và NN3.5) đến 0,981 (giữa NN3.3 và NN3.4), cặp NN4 dao động trong khoảng 0,893 (giữa NN4.7 và NN4.9) đến 1 (giữa NN4.1 và NN4.2), cặp TN1 có hệ số tương đồng di truyền dao động từ 0,724 (giữa TN1.4 và TN1.10) đến 0,962 (giữa TN1.2 và TN1.5), đối với cặp TN2 dao động từ 0,750 (giữa TN2.1 và TN2.3) đến 0,981 (giữa TN2.6 và TN2.7); cặp TN3 dao động trong khoảng 0,727 (giữa TN3.7 và TN3.10) đến 0,925 (giữa TN3.5 và TN3.6). Riêng đối với cặp lai TN4 có hệ số tương đồng di truyền dao động khoảng từ 0,655 (giữa TN4.4 và TN4.5) đến 1 (giữa TN4.9 và TN4.10). Kết quả này cho thấy độ đồng nhất di truyền tương đối cao của các con lai F1 ở mỗi cặp lai.

Mối quan hệ di truyền giữa các cặp nhị nguyên thể hiện trên sơ đồ hình cây đã phân ra làm 2 nhánh chính và có mức độ tương đồng di truyền khoảng từ 0,33 đến 1,00. Trong mỗi nhánh chính lại phân ra nhiều nhánh phụ. Nhánh chính I bao gồm toàn bộ 04 cặp lai nhị nguyên trong nước có hệ số tương đồng di truyền khoảng từ 0,734 đến 1,00 và chia làm 02 nhánh phụ nhỏ riêng biệt. Nhánh phụ thứ nhất gồm 04 cá thể F1 của cặp lai TN2, TN3 có hệ số tương đồng khoảng từ 0,91 đến 0,82. Nhánh phụ thứ hai gồm 36 cá thể F1 còn lại của cặp lai nhị nguyên trong nước và có hệ số tương đồng di truyền trong khoảng từ 0,734 đến 1,00. Đối với nhánh chính II gồm toàn bộ 4 cặp lai tầm dâu nhập ngoại và cũng được chia làm 2 nhánh phụ nhỏ, có hệ số tương đồng di truyền khoảng từ 0,503 đến 1,00. Nhánh phụ thứ nhất bao gồm 20 cá thể F1 của cặp lai tầm NN3, NN4 có hệ số tương đồng di truyền dao động từ 0,90 đến 1,00. Nhánh phụ thứ hai bao gồm 20 cá thể còn lại của cặp lai nhập ngoại NN1 và NN2 có hệ số tương đồng di truyền trong khoảng từ 0,87 đến 1,00.



**Hình 3. Biểu đồ hình cây theo hệ số di truyền của Jaccard và kiểu phân nhóm UPGMA của 80 cá thể F1 thuộc 8 cặp lai nhị nguyên**

Chọn tạo giống tầm có sự hỗ trợ của kỹ thuật sinh học phân tử đã được nhiều nhà nghiên cứu áp dụng từ năm 1972. Chẳng hạn như Srivastava và cs. (2005) đã dùng 10 chỉ thị RAPD để đánh giá đa dạng di truyền cho 20 giống tầm, mặc dù hệ số tương đồng di truyền giữa các giống là 0,754, nhưng các tổ hợp lai đơn và lai kép đã được thiết lập và cho kết quả rất khả quan. Đối chiếu với kết quả thu nhận trong nghiên cứu này cho thấy mức độ tương đồng di truyền dao động từ 0,503 đến 0,734 khi so sánh giữa 4 cặp lai nhị nguyên trong nước (nhánh I) và 4 cặp lai nhị nguyên nhập ngoại (nhánh II). Với kết quả này cho thấy việc dự đoán cặp lai tứ nguyên tầm dâu là có thể, tuy nhiên cần kết hợp thêm với đặc điểm hình thái của các con lai F1. Nguyễn Thị Thanh Bình và cs. (2004) cũng đã sử dụng các môi RAPD để đánh giá đa dạng tập đoàn 08 giống tầm đang nuôi ở

phía Bắc Việt Nam và đã phát hiện ra hai giống tầm ĐS1 và ĐS2 có hệ số di truyền giống nhau tới 98,4%, theo tác giả đây có thể chỉ là 1 giống nhưng nuôi ở hai địa phương khác nhau. Tương tự Đinh Thị Phòng và cs. (2009) đã dùng các chỉ thị RAPD để đánh giá độ thuần của 10 giống tầm mới chọn tạo, kết quả phân tích ADN nhận được cũng hoàn toàn phù hợp với kết quả đánh giá độ thuần thông qua một số chỉ tiêu hình thái (sức sống của tầm, độ đồng đều của kén, trọng lượng toàn kén, tỷ lệ vỏ kén...) do Trung tâm Nghiên cứu Dâu tầm tư nghiên cứu thực hiện.

#### 4. KẾT LUẬN

- Khi phân tích tính đa hình ADN của 80 mẫu nhộng F1 của 04 cặp lai nhị nguyên tầm dâu trong nước và 04 cặp lai nhị nguyên

tầm dâu nhập ngoại với 15 mỗi ngẫu nhiên thì có 12/15 mỗi có tính đa hình với giá trị PIC dao động từ 0,07 (OPV6) đến 0,51 (OPP19). Trong phạm vi vùng phân tích có 99 phân đoạn ADN được nhân bản, có 83 phân đoạn đa hình (83,84%) và 16 phân đoạn đơn hình (16,16%), số lượng các phân đoạn ADN dao động từ 1 đến 9 với kích thước trong khoảng từ 200 bp đến 1600 bp. Môi RA40 đã nhân bản được nhiều phân đoạn nhất (505 phân đoạn) và ít nhất là môi OPV02 (117 phân đoạn).

- Hệ số tương đồng di truyền của các con lai F1 của 08 cặp lai nhị nguyên trong nước và nhập ngoại dao động trong khoảng 0,33 đến 1,00 (giống nhau hoàn toàn) và được phân làm 02 nhóm chính: Nhánh chính I bao gồm toàn bộ các con lai F1 của 04 cặp lai nhị nguyên trong nước và có hệ số tương đồng di truyền khoảng từ 0,734 đến 1,00. Nhánh chính II bao gồm toàn bộ các con lai F1 của 04 cặp lai nhị nguyên nhập ngoại, có hệ số tương đồng di truyền khoảng từ 0,503 đến 1,00. Mức độ tương đồng di truyền giữa 4 cặp lai nhị nguyên trong nước (nhánh I) và 4 cặp lai nhị nguyên nhập ngoại (nhánh II) khoảng từ 0,503 đến 0,734. Đây là cơ sở cho chọn tạo giống tầm mới.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Carlos R, Breto MP, Asins MJ (2000). A quick methodology to identify sexual seedlings in citrus breeding programs using SSR markers. *Euphytica* 112: 89-94.

Đinh Thị Phòng, Đỗ Tiến Phát, Nguyễn Thị Yến (2008). Đa dạng ADN genome các chủng vi khuẩn (*Pseudomonas solanacearum*) gây bệnh héo xanh cây lạc bằng kỹ thuật RADP. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ* 6: 75-81.

Đinh Thị Phòng, Lê Trần Bình, Lê Thị Muội, Nguyễn Thị Hải Hà, Lê Duy Thành, Nguyễn Văn Viết (2004). Nghiên cứu đa dạng tập đoàn giống lúa có tính kháng khác nhau với bệnh bạc lá lúa vi khuẩn

*Xanthomonas oryzae* bằng kỹ thuật RAPD. Báo cáo khoa học Hội nghị toàn quốc về Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống định hướng nông lâm nghiệp miền núi. NXB. Đại học Thái Nguyên: 571-574.

Đinh Thị Phòng, Vũ Thị Thu Hiền, Trần Thị Việt Thanh, Dương Văn Tăng, Nguyễn Thị Đảm (2009). Nghiên cứu mối quan hệ di truyền của 10 giống tầm (*Bombyx mori*) bằng chỉ thị RAPD. Báo cáo khoa học hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc 2009. NXB. Đại học Thái Nguyên: 127-130.

Ferreira AR, Keim P (1997). Genetic Mapping of Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] using Random Amplified Polymorphic ADN (RAPD). *Plant Mol Biol Rep* 15(4): 335- 354.

Hang N, Angeles ER, Domingo J, Magpantay G, Singh S, Zhang G, Kumaravadivel N, Bennett J, Khush G S (1997). Pyramiding of bacterial blight resistance gens in rice: marker-assisted selection using AFLP and PCR. *Theor Appl Genet* 95: 313-320.

Kim MK, Park MJ, Jeong WH, Nam KC, Chung J (2006). SSR marker tightly linked to the Ti locus in Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Euphytica* 152(3): 361 - 366.

Li M, Guo M, Hou C, Miao X, Xu A, Guo X, Huang J (2006). Linkage and mapping analyses of the denonucleosis non-susceptible gene *nsd-Z* in the silkworm *Bombyx mori* using SSR markers. *Genome* 49: 397 – 402.

Mace ES, Phong DT, Upadhyaya HD, Chandra ES, Crouch JH (2006). SSR analysis of cultivated groundnut (*Arachis hypogaea* L.) germplasm resistant to rust and late leaf spot diseases. *Euphytica* 152: 317-33.

Nei M, Li WH (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction and nucleases, *Proc. Natl. Sci.* 76: 5269-5273.

- Nguyễn Thị Thanh Bình, Hoàng Thị Hằng, Nông Văn Hải (1999). Nghiên cứu đa hình phân tử và sàng lọc các giống tầm đa hệ Việt Nam. Báo cáo Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc. NXB. Khoa học và Kỹ thuật: 1425 -1429.
- Nguyễn Thị Thanh Bình, Hoàng Thị Hằng, Nông Văn Hải (2004). Nghiên cứu đa hình một số giống tầm dâu bằng kỹ thuật RAPD. *Tạp chí Di truyền học và ứng dụng* 1: 19 - 24.
- Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vogel J, Tingey S, Rafalski A (1996). The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding* 2(3): 225 - 238.
- Rohlf FJ (2001), NTSYS Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.0, Exeter Software Publ., Setauket, New York.
- Srivastava PP, Vijayan K, Awasthi AK, Kar PK, Thangavelu K, Saratchandra B (2005). Genetic analysis of silworms (*Bombyx mori*) through RAPD markers. *Indian Journal Biotechnology* 4. 389 – 395.
- Suzuki Y, Gage L, Brown DD (1972). The genes for silk fibroin in *Bombyx mori*. *J. Mol. Biol.* 70: 637–649.
- Ueno K, Hui CC, Fukuta M, Suzuki Y (1992). Molecular analysis of the deletion mutants in the E homeotic complex of the silkworm *Bombyx mori*. *Development* 114, 555-563.
- Weir BS (1990). Genetic data analysis - Methods for discrete genetic data, Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
- Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res* 18: 6531-6535.