

## ĐA DẠNG DI TRUYỀN LOÀI DẦU SONG NÀNG (*Dipterocarpus dyeri*) Ở RỪNG PHÒNG HỘ TÂN PHÚ, TỈNH ĐỒNG NAI

Nguyễn Thị Hải Hà<sup>1</sup>, Nguyễn Minh Đức<sup>2</sup>, Đặng Phan Hiền<sup>1</sup>, Vũ Đình Duy<sup>3,6</sup>,  
Nguyễn Lê Anh Tuấn<sup>5</sup>, Trương Hữu Thế<sup>5</sup>, Phạm Quý Đôn<sup>4</sup>, Nguyễn Minh Tâm<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Lâm nghiệp Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam

<sup>3</sup>Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam, \*ngtam@hn.vnn.vn

<sup>4</sup>Trung tâm Lâm nghiệp Biên Hòa

<sup>5</sup>Ban quản lý rừng phòng hộ Tân Phú, Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn Đồng Nai,

<sup>6</sup>College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi, 712100

**TÓM TẮT:** Dầu song nàng (*Dipterocarpus dyeri*) là loài phân bố rộng trong rừng nhiệt đới núi thấp Đông Nam bộ. Do khai thác quá mức vào những năm 1980 và 1990, cùng với sự thu hẹp nơi sống, loài *D. dyeri* được đưa vào sách đỏ Việt Nam năm 2007 và cần được bảo vệ. Để bảo tồn *D. dyeri* ở rừng phòng hộ Tân Phú, đa dạng di truyền loài đã được điều tra trên cơ sở phân tích 8 lô cút microsatellite (SSR), tất cả 60 cá thể trưởng thành với đường kính ngang ngực 39-97 cm (trung bình 65,7 cm) đã được phân tích. Tám lô cút đều có kết quả đa hình. Tổng số 30 alen đã được ghi nhận cho tất cả lô cút nghiên cứu. Chỉ số băng đa hình (PIC) cho mỗi cặp môi đa hình trung bình 0,459 (0,113-0,727) và chỉ ra mức độ đa hình cao. Các giá trị đặc điểm của mỗi cặp môi SSR cũng được xác định, Rp (2,653), PD (0,619) và MI (1,190). Dữ liệu chỉ mức độ đa dạng di truyền *D. dyeri* ở Tân Phú cao, số alen cho một lô cút là  $A = 3,7$ , hệ số gen dị hợp tử quan sát  $H_o = 0,375$ , gen dị hợp tử kỳ vọng  $H_E = 0,427$  và hệ số cận loài cao  $F_{IS} = 0,064$ . Phân tích mối quan hệ di truyền đã hình thành các nhóm khác nhau. Các cá thể có khoảng cách địa lý gần nhau thường kết hợp với nhau và hình thành một nhóm riêng biệt. Hiện tượng suy giảm kích thước quần thể cũng được tìm thấy ở quần thể Gia Canh trên cơ sở kiểm định 3 mô hình đột biến. Kết quả nghiên cứu này đã chỉ ra tầm quan trọng cần phải bảo tồn nguồn gen loài *Dipterocarpus dyeri* ở rừng phòng hộ Tân Phú.

**Từ khóa:** *Dipterocarpus dyeri*, bảo tồn, dầu song nàng, đa dạng di truyền, SSRs

### MỞ ĐẦU

Rừng phòng hộ Tân Phú, tỉnh Đồng Nai nằm ở 107°20' đến 107°27'30" kinh độ Đông và 11°2'32" đến 11°10' vĩ độ Bắc, với tổng diện tích 13.862,2 ha. Rừng phòng hộ đã được phục hồi sau khai thác vào những năm 1980 và 1990, với cấu trúc phân tầng, tầng tán gồm các cây gỗ lớn còn sót lại như các loài thuộc chi Dầu (*D. alatus*, *D. costatus*, *D. dyeri*, *H. odorata*, *D. intricatus* và *D. turbinatus*), Bằng lăng ổi (*Lagerstroemia calyculata*), Trường (*Paviesia annamensis*, *Xerospermum noronhianum*), Vên vên (*A. costata*) và một số loài khác. Tầng cây gỗ nhỏ gồm có Trâm (*Syzygium* sp.), Máu chó (*Knema* sp.), Bình linh (*Vitex* sp.). Độ tán che phủ 0,4-0,8. Tầng cây bụi gồm có sầm, cuống vàng, trung quân, cao khoảng 2-4 m. Dầu song nàng (*Dipterocarpus dyeri*) là loài cây gỗ cao

đến 30 m, đường kính lớn nhất đạt đến 97 cm (40-97 cm) ở Tân Phú, thân thẳng, tròn đều. Tán cây hình nón, phân cành trên cao. Vỏ ngoài xù xì, bong thành những mảnh nhỏ. Gỗ màu nâu đỏ, cứng. Lá đơn mọc cách, phiến lá hình bầu dục thuôn, kích thước to dài 15-25 cm, đỉnh nhọn, gốc tù. Đối với cây con lá có lông ở mặt dưới. Cụm hoa đơn ở nách lá, có lông, dài 10-18 cm, 6-8 hoa không cuống, 30 nhị. Quả hình nón, thuôn dài 4 cm, rộng 2,8 cm, 5 cạnh nổi rõ. Quả 2 cánh lớn, dài 20-23 cm, rộng 3-4 cm. Mỗi quả chỉ chứa một hạt. Có khoảng 300 cây ở rừng phòng hộ Tân Phú. Loài này sinh sản lưỡng tính và thụ phấn nhờ côn trùng. Hoa lớn và có mùi thơm. Quả xuất hiện vào tháng 3 và chín vào cuối tháng 4 và tháng 5 hàng năm. Hạt được phát tán nhờ gió. *D. dyeri* là một loài quan trọng và là thành phần chủ đạo trong hệ sinh thái và kinh tế của khu rừng mưa vùng đất thấp

tại Đông Nam bộ. Gỗ được dùng chủ yếu cho các công trình xây dựng. Nhựa cây cũng được sử dụng một nguồn cung cấp nhựa để sơn tàu thuyền.

Trong những năm 1980 và 1990, do khai thác quá nhanh bởi người dân địa phương và các doanh nghiệp lâm nghiệp, môi trường sống của loài Dầu song nòng *D. dryeri* bị phân cắt và suy giảm mạnh. Các mảnh rừng còn sót lại hiện nay là hậu quả của quá trình phân cắt và thường bị giới hạn về kích thước. Do đó, việc duy trì tính đa dạng di truyền và môi trường sống của các loài Dầu song nòng được xem xét như là công việc ưu tiên trong hoạt động bảo tồn. Loài này được ghi nhận trong các mảnh rừng thứ sinh còn sót lại bao gồm cả các khu vực được bảo vệ và chúng chỉ hiện diện trong các khu rừng ở một số tỉnh miền Đông Nam bộ và loài này đã được đưa vào danh sách các loài có nguy cơ tuyệt chủng trong các danh mục IUCN [1] và Sách Đỏ Việt Nam (2007) [2].

Bảo tồn và quản lý một loài đòi hỏi các thông tin về sinh thái và tính đa dạng di truyền. Để có được thông tin đó, phải có sự hiểu biết về kỹ thuật sinh học phân tử, đặc biệt là các quá trình di truyền. Kỹ thuật Microsatellite là một trong những công cụ được sử dụng trong việc đánh giá các mô hình đa dạng di truyền ở thực vật và kỹ thuật này có tiềm năng, lợi thế trong điều tra các loài cây quý hiếm. Trên thế giới, kỹ thuật Microsatellites (SSR) được ứng dụng phổ biến cho các nghiên cứu về đa dạng di truyền đối với một số loài cây họ Dầu [4, 9, 13, 15].

Đến nay, những tư liệu về sinh học, sinh thái, đặc biệt là các thông số về đa dạng di truyền loài và quần thể của loài Dầu song nòng ở Việt Nam còn rất ít và tản mạn. Điều này rất

khó có thể đưa ra các giải pháp bảo tồn, phục hồi và phát triển bền vững. Chính vì vậy, chúng tôi đã tập trung đánh giá mối quan hệ di truyền bằng chỉ thị SSR giữa các cá thể trưởng thành loài này ở rừng phòng hộ Tân Phú, tỉnh Đồng Nai.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Các điểm điều tra thu mẫu được chọn tại rừng phòng hộ Tân Phú (bảng 1). Địa hình khu vực nghiên cứu tương đối bằng phẳng, bao gồm dạng đồi núi thấp, độ cao khoảng 80 m ở phía đông nam đến 274 m ở phía bắc, độ dốc không quá 10°. Rừng phòng hộ Tân Phú nằm trong hệ đồi núi kéo dài của vùng cao nguyên xuống và là vùng ven của các hoạt động núi lửa với di tích còn để lại là vết gãy của sông La Ngà, vì vậy đất được hình thành với nguồn gốc bazan, trầm tích sa thạch, phiến thạch lượn sóng và bồi tụ của phù sa cổ. Đất có tính axit với pH: 4-4,5 và nghèo chất dinh dưỡng. Thảm thực vật đặc trưng bởi rừng nhiệt đới với các họ đặc trưng như họ Dầu (Dipterocarpaceae), họ Đậu (Fabaceae), họ Thầu dầu (Eupobiaceae) và họ Côm (Elaeocarpaceae). Các loài cây họ Dầu thường ở tầng tán bao gồm Vên vên (*Anisoptera costata*), Dầu nước (*Dipterocarpus alatus*), Dầu mít (*D. costatus*), Sao đen (*Hopea odorata*), Sến mù (*Shorea roxburghii*) và Chai (*S. guiso*). Tầu trắng (*Vatica odorata*) cũng gặp ở khu vực này.

Khí hậu khu vực nghiên cứu đặc trưng bởi gió mùa nhiệt đới, hai mùa rõ rệt trong năm. Lượng mưa hằng năm khoảng 2500-2800 mm, tập trung chủ yếu vào mùa mưa từ tháng 4 đến tháng 10, nhiệt độ trung bình năm 27°C với độ ẩm 78%.

**Bảng 1.** Địa điểm thu thập mẫu cho phân tích đa dạng di truyền

Quần thể	Số mẫu	Nơi thu thập	Độ cao	Vĩ độ	Kinh độ
Gia Canh: SN01 - 28	28	Gia Canh, Định Quán, Đồng Nai	118-124 m	11°08' Bắc	107°25' Đông
Thác Mai: SN29 - 60	32	Thác Mai, Định Quán, Đồng Nai	98-130 m	11°05' Bắc	107°27' Đông
Tổng số	60				

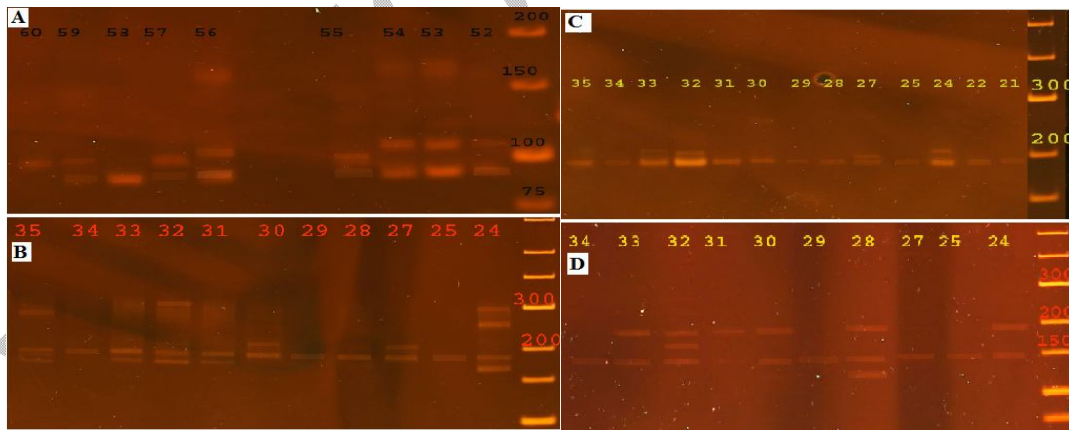
Đề phân tích đa dạng di truyền loài *D. dryeri* ở rừng phòng hộ Tân Phú, 60 cá thể trưởng thành (SN01-SN60) được thu thập ngẫu nhiên cho phân tích di truyền (bảng 1). Mẫu vỏ cây

được đánh số, bảo quản trong silicagel tại hiện trường và sau đó chuyển về phòng thí nghiệm ở -70°C cho đến khi mẫu được lấy ra phân tích DNA.

DNA tổng số được tách chiết từ vỏ cây tươi bằng phương pháp CTAB [3] có cải tiến cho phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm tại Việt Nam. Mẫu được nghiền bằng cối sứ có sử dụng nitor lỏng. Xác định nồng độ DNA bằng máy quang phổ kế hoặc điện di trên gel agarose 0,8%. Sau khi loại RNA bằng enzyme RNAase, nồng độ DNA được pha loãng đến 10ng/μl. Tám cặp môi SSR đã được sử dụng cho phân tích mối quan hệ di truyền giữa các cá thể trong loài Dầu song nàng tại khu vực nghiên cứu (bảng 2). Phản ứng PCR được tiến hành với thể tích mỗi phản ứng gồm có 25 μl, trong đó chứa các thành phần gồm dung dịch đệm 1x PCR; 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 2mM dNTPs; 0,5 pmol cho mỗi môi xuôi hoặc ngược; 10 ng DNA tổng số và 0,5U Taq polymerase. Quá trình nhân bản được tiến hành trên máy Gene amp PCR system 9700 theo chu trình nhiệt như sau: (1) Biến tính ban đầu: 94°C trong 3 phút; (2) Biến tính: 94°C trong 1 phút; (3) Bắt cặp: 55°C-56°C trong 1 phút cho mỗi cặp môi; (4) Kéo dài: 72°C trong 1 phút; (5) Lặp lại từ bước (2) đến bước (4): 40 chu kỳ; (6) Phản ứng kết thúc hoàn toàn: 72°C trong 10 phút; (7) Giữ sản phẩm ở 4°C. Điện di sản phẩm trên gel Polyacrylamide 6% trong 40

ml dung dịch đệm 1xTAE, nhuộm Ethidium bromide và chụp ảnh trên máy soi gel của hãng CLEARVER. Hiệu quả của mỗi cặp môi được phân tích thông qua các chỉ số, chỉ số đa hình: PIC (Polymorphism Information Content), đặc điểm và chỉ ra chỉ số sai khác của mỗi cặp môi: Rp (resolving power), chỉ số sai khác giữa các cặp cá thể nghiên cứu: PD (Discrimination power) và chỉ số đa dạng trung bình của các băng đa hình: MI (Marker index) được mô tả bởi Prevost & Wilkinson 1999 [7]. Mối quan hệ di truyền giữa các cá thể được phân tích từ dẫn liệu ma trận 0/1 sử dụng NYSYS-pc v.2. Phân tích số liệu thu được theo các phần mềm NTSYS-pc [8]. Thông số đa dạng di truyền như A (số alen cho một lô cút), H<sub>O</sub> (gen dị hợp tử quan sát), H<sub>E</sub> (gen dị hợp tử kỳ vọng) và F<sub>IS</sub> (hệ số cận Noon) được tính trên cơ sở phân tích bằng phần mềm GenALEX [5]. Sản phẩm PCR của 4 cặp môi SSR được trình bày ở hình 1.

Ba mô hình đột biến: TPM (Two Phased Model of Mutation), SMM (Stepwise Mutation Model) và IAM (Infinite Allele Model) cũng được sử dụng để đánh giá hiện tượng thắt cổ chai của quần thể ở rừng phòng hộ Tân Phú bằng phần mềm BOTTLENECK 1.2.01 [6].



Hình 1. Sản phẩm điện di PCR của 4 cặp môi SSR: dipt02 (A), dipt08 (B), dipt01 (C), shc07 (D)

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Với 8 cặp môi microsatellite, đã xác định 30 alen khác nhau, với kích thước dao động từ 90 bp đến 350 bp, từ 60 cá thể trưởng thành. Không tìm thấy alen lặn ở tất cả các lô cút SSR. Tám lô cút nghiên cứu đều cho kết quả đa hình với loài Dầu song nàng ở rừng phòng hộ Tân

Phú. Số alen trung bình 3,7 cho một lô cút, dao động từ 3 ở 4 lô cút Shc07, Dipt01, Dipt04 và Dipt05 đến 5 ở 2 lô cút Dipt01 và Dipt07. Các giá trị PIC, PD, Rp và MI đã được xác định cho 8 lô cút đa hình (bảng 2). Giá trị PIC được tính toán cho tất cả các cặp môi SSR đa hình. Giá trị PIC cao nhất (0,727) được tìm thấy ở cặp môi

Dipt\_07 và thấp nhất (0,113) ở Dipt01; giá trị PIC trung bình là 0,404. Giá trị PD dao động từ 0,245 đến 0,841, trung bình 0,619. Giá trị PD cao >0,8 được tìm thấy cho cặp mỗi Dipt02 và Dipt07 và thấp nhất (0,245) cho Dipt01. Tương tự, giá trị Rp dao động từ 2,232 (Dipt01) đến 2,844 (Dipt07) và 2,840 (Dipt02), trung bình 2,653. Giá trị MI dao động từ 0,150 (Dipt01) đến 3,237 (Dipt02), trung bình 1,190. Kết quả cũng chỉ ra các giá trị này thấp nhất được tìm thấy ở lô cút Dipt01 và cao nhất ở lô cút Dipt07.

Các giá trị này của loài Dầu song nòng *D. dyeri* cao so với giá trị này (PIC=0,324) của loài Thông xuân nha (*Pinus armandii* subsp. *xuannhaensis*) ở Khu bảo tồn thiên nhiên Xuân Nha [12] và Dầu mít (*D. costatus*) ở rừng phòng hộ Tân Phú [11]. Các giá trị này đã phản ánh các cặp mỗi SSR cung cấp những thông tin có giá trị về đặc điểm loài Dầu song nòng ở rừng phòng hộ Tân Phú. Các cặp mỗi SSR được phân tích ở loài *D. dyeri* sản sinh ra số băng đa hình cao hơn so với loài *D. costatus*.

**Bảng 2.** Số alen và các giá trị PIC, PD, Rp và MI cho 8 lô cút đa hình

Lô cút	Trình tự mỗi SSR	Nhiệt độ bắt cặp	Số alen	PIC	PD	Rp	MI
Dipt02 [4]	F-5'-AGTTTTATACATCACCGCCAA-3' R-5'-GAAGCCCCTAAGAATTAACCTGA-3'	56°C	5	0,644	0,818	2,840	2,318
Dipt07 [4]	F-5'-CAGGAGGGGAATATGGAAAA-3' R-5'-AAGTCGTCATCTTTGGATTGC-3'	54°C	5	0,727	0,841	2,844	3,237
Shc02 [15]	F-5'-CACGCTTTCCCAATCTG-3' R-5'-TCAAGAGCAGAATCCAG-3'	55°C	4	0,631	0,781	2,260	1,263
Dipt08 [13]	F-5'-ATGCTTACCACCAATGTGAATG-3' R-5'-CTCGCAGCAGAACAATTCTA-3'	55°C	3	0,438	0,644	2,614	0,657
Dipt01 [4]	F-5'-CTTCCCTAAATCCCCAATGTT-3' R-5'-TAATGGTGTGTGTACCAGGCAT-3'	55°C	3	0,113	0,245	2,232	0,150
Dipt04 [4]	F-5'-TAGGGCATATTGCTTTCTCATC-3' R-5'-CTTATTGCAGTCATCAAGGGAA-3'	55°C	3	0,467	0,554	3,153	0,621
Dipt03 [4]	F-5'-ACAATGAACTTGACCACCCAT-3' R-5'-CAAAAGGACATACCAGCCTAGC-3'	56°C	4	0,214	0,416	2,678	0,481
Shc07 [15]	F-5'-ATGTC CATGT TTGAG TG-3' R-5'-CATGG ACATA AGTGG AG-3'	55°C	3	0,441	0,651	2,604	0,794

PIC: chỉ số đa hình, PD: chỉ số sai khác giữa các cặp cá thể, Rp: chỉ số sai khác của mỗi cặp mỗi và MI: chỉ số đa dạng trung bình của các băng đa hình.

**Bảng 3.** Đa dạng di truyền của một số loài thuộc chi Dầu ở Việt Nam

Species	A	H <sub>O</sub>	H <sub>E</sub>	F <sub>IS</sub>	References
<i>Dipterocarpus dyeri</i>	3,7	0,375	0,427	0,064	
<i>Dipterocarpus costatus</i>	1,9	0,108	0,124	0,137	Tam et al. 2015 [11]
<i>Dipterocarpus alatus</i>	2,2	0,209	0,239	0,124	Tam et al. 2014 [10]
<i>Hopea odorata</i>	2,7	0,366	0,356	0,015	Trang et al. 2014 [14]

A: số alen trung bình cho một lô cút, H<sub>O</sub> và H<sub>E</sub>: hệ số gen dị hợp tử quan sát và kỳ vọng, F<sub>IS</sub>: hệ số cận ngẫu.

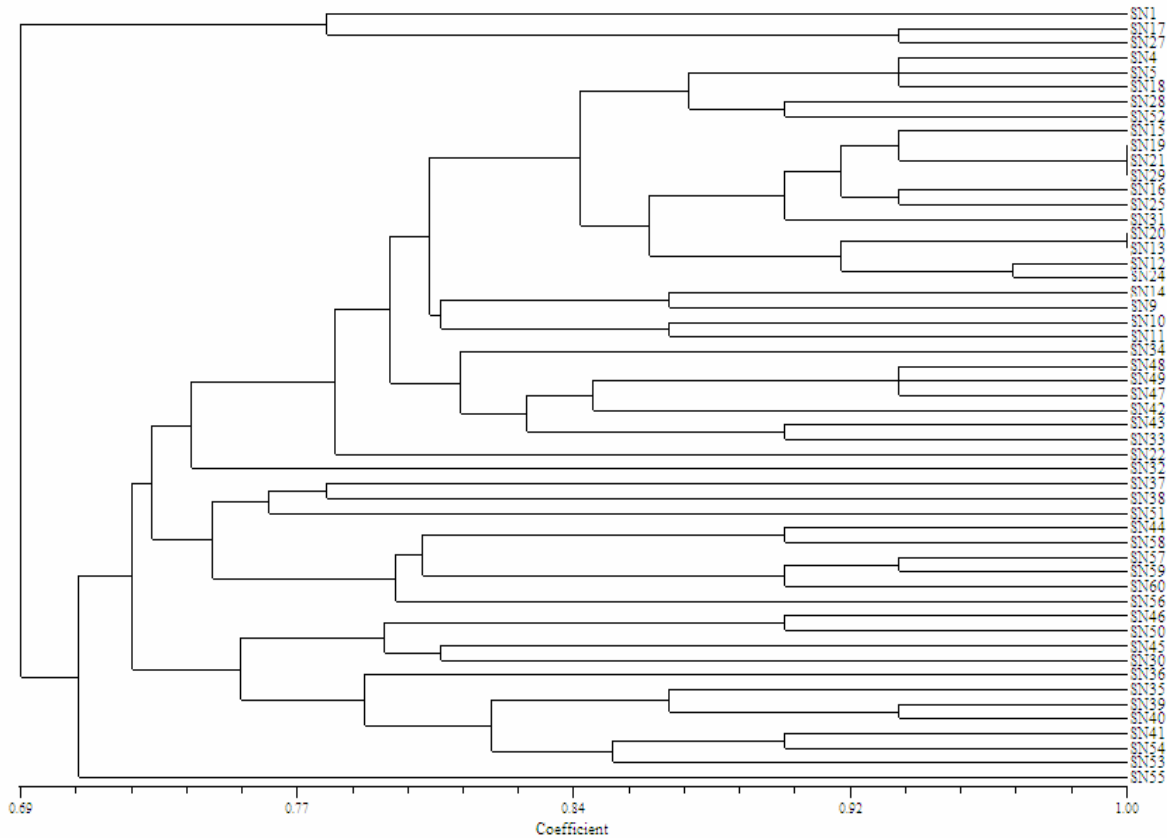
Bảng 3 đã chỉ ra mức độ đa dạng di truyền của loài *D. dyeri* ở rừng phòng hộ Tân Phú. Đối với Dầu song nòng ở Tân Phú, số alen trung bình là A = 3,7, hệ số gen dị hợp tử quan sát H<sub>O</sub> = 0,375 và hệ số gen dị hợp tử kỳ vọng H<sub>E</sub> = 0,427. Các kết quả này cao so với loài Dầu con

rái (*Dipterocarpus alatus*) ở Đông Nam bộ và loài Sao đen (*Hopea odorata*) ở Việt Nam. Dẫn liệu cũng chỉ ra hệ số cận ngẫu thấp ở *D. dyeri* (F<sub>IS</sub> = 0,064) so với loài *D. alatus*, *D. costatus* và *Hopea odorata*.

Mối quan hệ giữa các cá thể Dầu song nòng

tại rừng nhiệt đới Tân Phú trên cơ sở ma trận genotype đã chỉ ra ở hình 2. Kết quả đã chỉ ra phần lớn các cá thể có khoảng cách địa lý gần nhau thường hình thành những nhóm riêng. Ví dụ 3 cá thể SN1, SN17 và SN27 ở khu vực Gia Canh hình thành một nhóm với hệ số gen tương đồng dao động từ 0,742 đến 0,935 (trung bình 0,828); 6 cá thể SN53, SN54, SN41, SN40,

SN39 và SN35 ở khu vực Thác Mai hình thành 1 nhóm với hệ số gen tương đồng dao động từ 0,774 đến 0,935, trung bình 0,845. Tuy nhiên, một số nhóm gồm cả 2 khu vực như nhóm gồm 5 cá thể SN4, SN5, SN18, SN28 (Gia Canh) và SN52 (Thác Mai). Kết quả này có thể liên quan đến trao đổi gen bằng phát tán hạt phấn nhờ côn trùng.



Hình 2. Mối quan hệ giữa các cá thể Dầu song nòng ở Tân Phú trên cơ sở 8 cặp môi SSR

Ba mô hình đột biến, gồm có IAM (infinite allele model), SMM (Stepwise Mutation Model) và TPM (two phase model) được sử dụng cho phân tích Bottleneck (bảng 4). Quần thể Gia Canh, kiểm định giả thiết SIGN (SIGN test) đã chỉ ra số gen dị hợp tử kỳ vọng vượt trội là 4,23 (IAM), 4,53 (TPM) và 4,78 (SMM), cao hơn số gen dị hợp tử quan sát vượt trội 2 ở cả ba mô hình IAM, TPM và SMM. Theo lý thuyết, quần thể có hiện tượng suy giảm kích thước hữu hiệu thể hiện sự suy giảm tương quan với số alen và hệ số đa dạng di truyền tại các lô cắt đa hình. Số alen bị suy giảm nhanh hơn hệ số đa dạng quần

thể nghĩa ở quần thể có hiện tượng thắt cổ chai, hệ số đa dạng gen quan sát cao hơn hệ số đa dạng gen kỳ vọng. Như vậy, quần thể Gia Canh theo mô hình đột biến không xuất hiện dấu hiệu thắt cổ chai và không có ý nghĩa ( $p > 0,05$ ). Kiểm định chuẩn (T2) ở quần thể này cung cấp đa dạng di truyền vượt trội có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) ở mô hình IAM (-2,452) và TPM (-3,630) và không có ý nghĩa ( $p > 0,05$ ) ở mô hình SMM (-1,454). Kết quả này chỉ ra số lượng cá thể trong quần thể Gia Canh không tăng trong những năm gần đây và có hiện tượng suy giảm kích thước. Kiểm định giả thiết Wilcoxon, giá trị xác suất

0,972 (IAM), 0,980 (TPM) và 0,990 (SMM) là không có ý nghĩa. Tuy nhiên đánh giá từ 50:50 mức độ thiếu hụt/ mức độ vượt trội, thì mô hình SSM có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ). Theo mô hình đột biến SMM, có hiện tượng suy giảm kích thước quần thể Gia Canh. Kết quả kiểm định SIGN, chuẩn và Wilcoxon đều chỉ ra cả 3 mô hình đều không chỉ ra được hiện tượng thắt cổ chai trong

quần thể *D. dyeri* ở Thác Mai. Kiểm định Mode-shift cũng được sử dụng như phương pháp tiếp theo để xác định hiện tượng thắt cổ chai tiềm năng của quần thể Gia Canh. Số alen với tần số thấp (0,01-0,1) chiếm tỷ lệ lớn nhất (0,480) và phân bố dạng “L-shaped” bình thường (hình 3).

Bảng 4. Mô hình đột biến ở mức độ quần thể loài Dầu song nòng ở Tân phú

Mô hình	Kiểm định SIGN	Kiểm định chuẩn	Kiểm định Wilcoxon
<b>Quần thể Gia Canh</b>			
IAM	Hex = 4,23 Hd = 6; He = 2 p = 0,10781	T2= -2,452 p = 0,00711	p (one tail cho số gen dị hợp tử thiếu hụt) = 0,037 p (one tail cho số gen dị hợp tử vượt trội) = 0,972 p (two tail cho số gen dị hợp tử vượt trội/thiếu hụt) = 0,074
TPM	Hex = 4,53 Hd = 6; He = 2 p = 0,07356	T2= -3,630 p = 0,00014	p (one tail cho số gen dị hợp tử thiếu hụt) = 0,027 p (one tail cho số gen dị hợp tử vượt trội) = 0,980 p (two tail cho số gen dị hợp tử vượt trội/thiếu hụt) = 0,054
SMM	Hex = 4,78 Hd = 6; He = 2 p = 0,05078	T2= -1,454 p = 0,07304	p (one tail cho số gen dị hợp tử thiếu hụt) = 0,013 p (one tail cho số gen dị hợp tử vượt trội) = 0,990 p (two tail cho số gen dị hợp tử vượt trội/thiếu hụt) = 0,027
<b>Quần thể Thác Mai</b>			
IAM	Hex = 4,21 Hd = 2; He = 6 p = 0,17972	T2= 1,366 p = 0,08604	p (one tail cho số gen dị hợp tử thiếu hụt) = 0,902 p (one tail cho số gen dị hợp tử vượt trội) = 0,125 p (two tail cho số gen dị hợp tử vượt trội/thiếu hụt) = 0,25
TPM	Hex = 4,52 Hd = 2; He = 6 p = 0,24617	T2= 0,606 p = 0,27215	p (one tail cho số gen dị hợp tử thiếu hụt) = 0,679 p (one tail cho số gen dị hợp tử vượt trội) = 0,371 p (two tail cho số gen dị hợp tử vượt trội/thiếu hụt) = 0,742
SMM	Hex = 4,66 Hd = 3; He = 5 p = 0,55218	T2= -0,454 p = 0,32499	p (one tail cho số gen dị hợp tử thiếu hụt) = 0,527 p (one tail cho số gen dị hợp tử vượt trội) = 0,527 p (two tail cho số gen dị hợp tử vượt trội/thiếu hụt) = 1,000

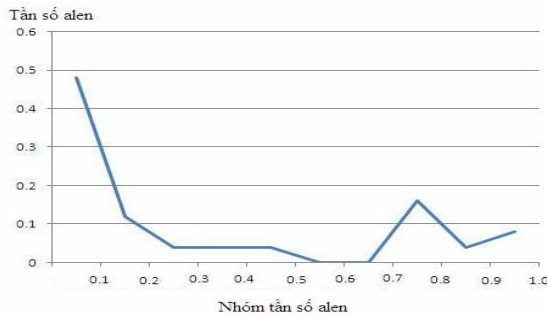
Thông số cho TPM (biến=30% và SMM trong TPM=70%), số lần tính được lặp lại 1000; Hex: số gen dị hợp tử kỳ vọng vượt trội, Hd: Số gen dị hợp tử thiếu hụt; He: Số gen dị hợp tử quan sát vượt trội.

Các kết quả phân tích cũng khẳng định quần thể ở Gia Canh có thể xuất hiện tượng suy giảm kích thước quần thể. Cũng tương tự, quần thể Thác Mai, kiểm định SIGN cho cả 3 mô hình IAM, SMM và TPM đều chỉ ra số gen dị hợp tử kỳ vọng vượt trội đều thấp hơn số gen dị hợp tử quan sát vượt trội. Như vậy, theo lý thuyết, quần thể Thác Mai theo mô hình đột biến được chấp nhận với  $p > 0,05$ . Kiểm định chuẩn (T2) đã chỉ ra đa dạng di truyền vượt trội

ở cả 3 mô hình IAM (1,366), TPM (0,606) và SMM (-0,454) không có ý nghĩa ( $p > 0,05$ ). Mô hình IAM và TPM chỉ ra đa dạng di truyền vượt trội gây ra bởi sự suy giảm hiện tại về kích thước quần thể hữu hiệu, trong khi đó mô hình SMM cho biết số lượng cá thể trong quần thể không thay đổi trong những năm gần đây. Kiểm định giả thiết Wilcoxon, giá trị xác suất 0,125 (IAM), 0,371 (TPM) và 0,527 (SMM) là không có ý nghĩa và cho biết cả 3 mô hình đột biến



đều được chấp nhận. Kiểm định theo phương pháp Mode-shift chỉ ra số alen với tần số thấp (0,01-0,1) chiếm tỷ lệ cao nhất (0,231) và phân bố dạng “L” bình thường. Các kết quả phân tích có thể kết luận không có dấu hiệu thắt cổ chai ở quần thể Thác Mai.



Hình 3. Biểu đồ phân bố dạng L-shaped mode-shift ở Gia Canh

## KẾT LUẬN

Từ những kết quả nghiên cứu di truyền loài Dầu song nàng (*D. dyeri*) ở rừng phòng hộ Tân Phú đã chỉ ra *D. dyeri* duy trì mức độ đa dạng di truyền tương đối cao ( $A=3,7$ ;  $H_0=0,375$  và  $H_E=0,427$ ). Kết quả này phản ánh số lượng cá thể của *D. dyeri* khá lớn (khoảng 300 cây) ở rừng phòng hộ Tân Phú. Tuy nhiên, số cây tái sinh không được tìm thấy ở rừng Tân Phú. Trên cơ sở kết quả nghiên cứu, chúng tôi đề xuất cần bảo tồn nguyên vị loài *D. dyeri* ở Tân Phú. Đối với bảo tồn nguyên vị, cần duy trì hiện trạng phân bố, nghiêm cấm khai thác loài này.

**Lời cảm ơn:** Nghiên cứu được hỗ trợ từ nhiệm vụ Bảo vệ môi trường, mã số VAST.BVMT.01/15-16 và D/5766-1.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ashton P., 1998. *Dipterocarpus dyeri*. The IUCN Red List of Threatened Species 1998: e.T33011A9748202. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.1998.RLTS.T33011A9748202.en>.
- Bộ Khoa học và Công nghệ, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 2007. Sách Đỏ Việt Nam. Nxb. Khoa học tự nhiên và Công nghệ, Hà Nội.
- Doyle J. J., Doyle J. L., 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, 12: 13-15.
- Isagi V., Kenta T., Nakashizuka T., 2002. Microsatellite loci for a tropical emergent tree, *Dipterocarpus tempehes* V. S1 (Dipterocarpaceae). Molecular Ecology Notes, 2(1): 12-13.
- Peakall R., Smouse P. E., 2006. Genalex 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes, 6: 208-295.
- Piry S., Luikart G., Cornnet J. M., 1999. Bottleneck: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size frequency data. Journal of Heredity, 90: 502-503.
- Prevost A., Wilkinson M. J., 1999. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR finger of potato cultivars. Her Appl Genet, 98: 107-112.
- Rohlf F. J., 1998. NTSYS-pc: Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification. WH. freeman and company, San Francisco.
- Takeuchi Y., Ichikawa S., Tomaru N., Niiyama K., Lee S. L., Muhammad N., Tsumara Y., 2004. Comparison of the fine-scale genetic structure of three dipterocarp species. Heredity, 92: 323-328.
- Nguyen Minh Tam, Vu Dinh Duy, Nguyen Minh Duc, Vu Dinh Giap, Bui Thi Tuyet Xuan, 2014. Genetic variation in and spatial structure of natural populations of *Dipterocarpus alatus* (Dipterocarpaceae) determined using single sequence repeat markers. Genetics and Molecular Research, 13(3): 5378-5386.
- Nguyễn Minh Tâm, Trần Thị Việt Thanh, Vũ Đình Duy, Nguyễn Lê Anh Tuấn, Trương Hữu Thế, Phạm Quý Đôn, Nguyễn Minh Đức, 2015. Đa dạng di truyền loài Dầu mít (*Dipterocarpus costatus*) ở rừng nhiệt đới núi thấp Tân Phú (Đồng Nai). Tạp chí Sinh học, 37(1): 25-30.
- Nguyen Minh Tam, Phan Ke Loc, Vu Dinh Duy, 2015. Genetic diversity in Xuan nha

- pine (*Pinus armandii* subsp. *xuanhaensis* L.K. Phan). Research J. Biotechnology, 10(3): 30-36.
13. Terauchi R., 1994. A polymorphic microsatellite marker from the tropical tree *Dryobalanops lanceolata* (Dipterocarpaceae). Japan Journal of Genetics, 69(5): 567-576.
14. Nguyen Thi Phuong Trang, Tran Thu Huong, Nguyen Minh Duc, Sierens Tim, Ludwig Triest, 2014. Genetic population of threatened *Hopea odorata* Roxb. In the protected areas of Vietnam. J. Viet. Env 6(1): 69-76.
15. Ujino T., Kawahara T., Tsumara Y., Nagamitsu T., Yoshimaru H., Ratnam W., 1998. Development and polymorphism of simple sequence repeat DNA markers for *Shorea curtisii* and other Dipterocarpaceae species. Heredity, 81: 422-428.

### GENETIC DIVERSITY OF *Dipterocarpus dyeri* IN THE TROPICAL FORESTS OF TAN PHU (DONG NAI)

Nguyen Thi Hai Ha<sup>1</sup>, Nguyen Minh Duc<sup>2</sup>, Dang Phan Hien<sup>1</sup>,  
Vu Dinh Duy<sup>3,6</sup>, Pham Quy Don<sup>4</sup>, Nguyen Le Anh Tuan<sup>5</sup>,  
Truong Huu The<sup>5</sup>, Nguyen Minh Tam<sup>3</sup>

<sup>1</sup>College of Forestry Biotechnology, Vietnam Forestry University

<sup>2</sup>Institute of Ecology and Biological Resources, VAST

<sup>3</sup>Vietnam National Museum of Nature, VAST

<sup>4</sup>Bien Hoa Forestry Centre,

<sup>5</sup>Tan Phu Forest Management Committee Tan Phu, Department of Agriculture and Rural Development of Dong Nai

<sup>6</sup>College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi, 712100,

#### SUMMARY

*Dipterocarpus dyeri* (Dipterocarpaceae) is widely distributed in lowland rainforests in southern Vietnam. Due to overexploitation and habitat destruction in the 1980s and 1990s, the species is listed as a threatened species. To conserve the species in tropical forests, genetic diversity was investigated on the basis of eight microsatellite (single sequence repeat, SSR). In all, sixty *D. dyeri* individuals in Tan Phu rainforests were analyzed in this study. All the eight loci were polymorphic. A total of 30 alleles were observed across the studied loci. The polymorphic information content (PIC) averaged 0.459 (0.113-0.727) and indicated low polymorphic value. Other values including discrimination power (PD = 0.619), resolving power (Rp = 2.653) and Marker index (MI = 1.190) were revealed. The SSR data indicated a high genetic diversity (A = 3.7; Ho = 0.375 and He = 0.427) and the inbreeding value was high, Fis = 0.064. The dendrogram grouping the individuals by unweighted pair-group method with arithmetic averages method revealed different clusters. The most individuals in a cluster were related with closed geographic distances. This study also indicated the importance of conserving the genetic resources of *Dipterocarpus dyeri* species in Tan Phu rainforests.

**Keywords:** *Dipterocarpus dyeri*, genetic diversity, species conservation, SSRs.

Ngày nhận bài: 14-12-2015