

NGHIÊN CỨU DI TRUYỀN LOÀI CHÒ NÂU (*Dipterocarpus retusus*) Ở PHÚ THỌ PHỤC VỤ CÔNG TÁC BẢO TỒN VÀ CHỌN GIỐNG

NGUYỄN PHAN LAN HỒNG ⁽¹⁾, VŨ ĐÌNH DUY ⁽²⁾, NGUYỄN THỊ PHƯƠNG TRANG ⁽¹⁾,
NGUYỄN MINH ĐỨC ⁽³⁾, VŨ ĐÌNH GIÁP ⁽⁵⁾, BUI XUÂN PHƯƠNG ⁽²⁾, NGUYỄN MINH TÂM ⁽⁴⁾

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trên 40 loài cây họ Dầu với 6 chi phân bố chủ yếu ở khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên nước ta [1]. Phần lớn chúng là loài đặc hữu và bản địa. Trong những thập kỷ qua, một phần diện tích rừng tự nhiên, môi trường sống của nhiều loài cây họ Dầu bị chuyển đổi thành đất nông nghiệp và khu dân cư. Hiện nay, các mảnh rừng còn sót lại là hậu quả của quá trình này. Mặt khác, một số loài cây họ Dầu là cây gỗ lớn với giá trị thương mại cao, nhu cầu sử dụng lớn của người dân địa phương, một số loài đã bị khai thác quá mức. Nhiều loài có số lượng cá thể và số quần thể rất thấp, không có cây tái sinh tự nhiên, ít có cơ hội tiến hóa để thích nghi và dễ bị tổn thương khi môi trường thay đổi. Hiện tại, khoảng 35 loài cây họ Dầu đang bị đe dọa ở cả 2 mức độ toàn cầu và quốc gia [2, 3]. Nhiều biện pháp đã được áp dụng để bảo tồn và phục hồi loài. Công tác bảo tồn nguyên vị chủ yếu thiết lập các khu rừng đặc dụng như Vườn Quốc gia, khu Bảo tồn thiên nhiên, khu Dự trữ sinh quyển và rừng phòng hộ. Bảo tồn chuyển vị cũng đã được tiến hành song song với bảo tồn nguyên vị, trên cơ sở thu thập hạt giống trong các quần thể tự nhiên để xây dựng rừng giống và vườn giống hoặc nhân giống bằng hom. Các giải pháp này cũng góp phần quan trọng trong bảo tồn và phục hồi một số loài đang bị đe dọa.

Để bảo tồn và phục hồi hữu hiệu các loài cây họ Dầu, đòi hỏi các dẫn liệu về sinh học, sinh thái và mức độ đa dạng di truyền ở cả 2 mức độ quần thể và loài. Mức độ đa dạng di truyền cao đảm bảo sự duy trì tồn tại của chúng ở hiện tại và tương lai trong điều kiện biến đổi khí hậu. Trong điều tra đa dạng di truyền và cấu trúc di truyền thực vật, chỉ thị phân tử microsatellite (SSR) là công cụ hữu ích do tính đa hình và phân bố phổ biến trong hệ gen sinh vật. Chỉ thị này đã được sử dụng rộng rãi trong phân tích đa dạng di truyền của một số loài cây họ Dầu [4, 5]. Trong bài báo này, chúng tôi đề cập đến một số kết quả nghiên cứu về đa dạng di truyền của loài Chò nâu (*Dipterocarpus retusus*) ở tỉnh Phú Thọ đang bị đe dọa, trên cơ sở phân tích chỉ thị phân tử SSR và đề xuất các giải pháp bảo tồn và phục hồi chúng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thu thập mẫu ngoài thực địa

Khảo sát thực địa cho loài Chò nâu được tiến hành tại rừng thứ sinh tỉnh Phú Thọ (Bảng 1). Trong thời gian khảo sát, chúng tôi xác định kích thước quần thể, nơi sống và các nguyên nhân ảnh hưởng đến quần thể đã được ghi nhận trên cơ sở quan sát và phỏng vấn người dân địa phương. Mẫu vỏ cây đã được thu thập cho phân tích tính đa dạng di truyền, được bảo quản trong silica gel ở thực địa và âm 30°C trong tủ lạnh tại phòng thí nghiệm cho đến khi được sử dụng để phân tích.

Bảng 1. Địa điểm thu thập mẫu Chò nâu ở Phú Thọ

Quản thể	Số mẫu	Nơi thu thập	Độ cao	Vĩ độ	Kinh độ
Chân Mộng	18	Chân Mộng, Đoan Hùng, Phú Thọ	290-325 m	21°32'N	105°12'E
Phù Ninh	19	Phù Ninh, Đoan Hùng, Phú Thọ	165-174 m	21°23'N	104°51'E
Hy Cương	20	Hy Cương, Đoan Hùng, Phú Thọ	186-194 m	21°25'N	104°58'E
Minh Phú	21	Minh Phú, Đoan Hùng, Phú Thọ	289-445 m	21°33'N	105°14'E

2.2. Nghiên cứu trong phòng thí nghiệm

DNA tổng số được tách chiết từ 78 mẫu vỏ cây theo chỉ dẫn của bộ kit DNeasy Plant Pro và Plant Kits. Phản ứng PCR được tiến hành với thể tích mỗi phản ứng là 25µl trong đó chứa các thành phần gồm dung dịch đệm 1x PCR; 2,5mM MgCl₂; 2mM dNTPs; 0,5pmol cho mỗi mỗi xuôi và ngược; 50ng DNA tổng số và 0,5U *Taq* polymerase. Tám cặp mồi SSR đã được sử dụng (Bảng 2). Quá trình nhân bản PCR được tiến hành trên máy Gene amp PCR system 9700 theo chu trình nhiệt sau: (1) Biến tính ban đầu: 94°C trong 3 phút; (2) Biến tính: 94°C trong 1 phút; (3) Bắt cặp: 54-56°C trong 1 phút (tùy thuộc vào mỗi cặp mồi); (4) Kéo dài: 72°C trong 1 phút; (5) Lặp lại (2) đến (4): 40 chu kỳ; (6) Phản ứng kết thúc: 72°C trong 10 phút; (7) Giữ sản phẩm ở 4°C cho đến khi điện di. Điện di sản phẩm PCR trên gel Polyacrylamide 8% trong 40ml dung dịch đệm 1xTAE trên bộ điện di Sequi-Gen (Biorad), nhuộm GelRedTM Nucleotic Acid Gel Stain và chụp ảnh trên máy soi gel BioDocAnalyze. Kích thước alen được xác định bởi phần mềm Gel-Analyzer GenoSens1850 với thang marker 50bp DNA (Invitrogen).

Bảng 2. Trình tự nucleotide các cặp mồi và kích thước cho loài Chò nâu

Locus	Trình tự nucleotide (5'-3')	Trình tự lặp lại	T _m (°C)	Kích thước (bp)	Nguồn tài liệu
dipt1	F: CTTCCCTAAATTCCCCAATGTT R: TAATGGTGTGTGTACCAGGCAT	(AG) ₁₅	55	193-211	[6]
dipt2	F: ACAATGAACTTGACCACCCAT R: CAAAAGGACATACCAGCCTAGC	(GA) ₂₄	56	228-240	[6]
dipt3	F: TAGGGCATATTGCTTTCTCATC R: CTTATTGCAGTCATCAAGGGAA	(AG) ₁₅	55	214-226	[6]
dipt4	F: TCTCAAAATCTGCAAAGACAGC R: CCATAGTCATCACCTCTAATGGTC	(GA) ₂₅	55	241-301	[6]
dipt5	F: TGGCAAACAAGCTACTGTTCAT R: CATGGGTTAGCAACCTACACA	(TA) ₈	56	258-262	[6]
dipt6	F: CAGGAGGGGAATATGGAAAA R: AAGTCGTCATCTTTGGATTGC-	(AC) ₉	54	122-140	[6]
dipt7	F: ATGCTTACCACCAATGTGAATG R: CTCGCAGCAGAACAACTTTCTA	(GA) ₆	55	170-180	[7]
dipt8	F: ATCTGTTCTTCTACAAGCC R: TTAGAACTTGAGTCAGATC	(CT) ₄ TT(CT) ₅	54	166-178	[8]

Ghi chú: *F*: mồi xuôi, *R*: mồi ngược, *T_m*: nhiệt độ bắt cặp của phản ứng PCR.

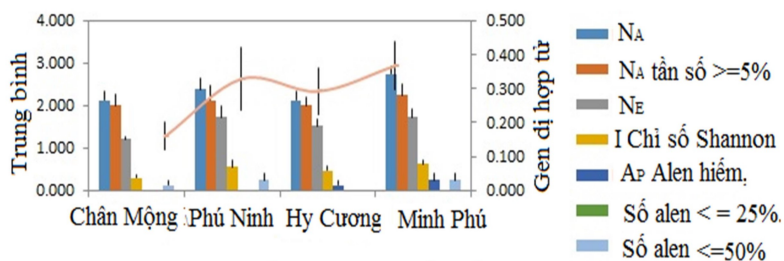
2.3. Phân tích số liệu

Xác định các thông số đa dạng di truyền như tỉ lệ phần trăm locus đa hình (*PPL*), số alen cho một locus (N_A), số alen hữu hiệu (N_E), alen giàu cho mỗi locus (A_R), chỉ số đa dạng Shannon (I), hệ số gen dị hợp tử quan sát (H_O), gen dị hợp tử kỳ vọng (H_E), hệ số khác nhau giữa các quần thể (F_{ST}) và hệ số cận Noon (F_{IS}) sử dụng phần mềm GenALEX [9]. Cấu trúc di truyền quần thể được xác định theo phần mềm STRUCTURE [10], STRUCTURE HARVESTER [11] và STRUCTURESELECTOR [12]. Mỗi quan hệ di truyền giữa các quần thể được xây dựng bằng Poptree2 [13]. Hiện tượng thắt cổ chai (bottleneck) cho mỗi quần thể Chò nâu trên cơ sở 3 mô hình, IAM (Mô hình alen không xác định - infinite allele model), SMM (Mô hình đột biến từng bước - stepwise mutation model) và TPM (Mô hình đột biến 2 giai đoạn - two-phase mutation model) sử dụng BOTTLENECK ver. 1.2 [14].

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đa dạng di truyền

Tổng số 23 alen khác nhau đã được xác định cho 8 cặp mỗi SSR đa hình từ 78 cây Chò nâu ở tỉnh Phú Thọ. Phân bố không gian của alen loài Chò nâu được trình bày ở Hình 1. Các thông số đa dạng di truyền cho mỗi locus được trình bày ở Bảng 3. Số alen trung bình (N_A) cho một locus là 2,8, dao động từ 2 tại locus dipt5 đến 3 ở cả 7 locus còn lại. Số alen hiếm được tìm thấy ở locus dipt1 của quần thể Minh Phú, dipt4 của Hy Cương và dipt7 của Minh Phú, trong khi đó không có locus này ở 2 quần thể còn lại Chân Mộng và Phù Ninh. Sáu locus trong tổng số 8 locus nghiên cứu có kết quả thiếu hụt gen dị hợp tử dưới phương trình Hardy-Weinberg và chỉ ra sự có mặt của alen lặn. Hệ số gen dị hợp tử quan sát (H_O) trung bình 0,265, dao động từ 0,1 tại locus dipt4 đến 0,41 tại locus dipt3, trong khi hệ số gen dị hợp tử kỳ vọng (H_E) trung bình 0,283, dao động từ 0,098 tại locus dipt4 đến 0,477 tại locus dipt2. Số alen giàu (A_R) trung bình 2,6, dao động từ 2 tại locus dipt5 đến 3 tại 2 locus dipt2 và dipt8. Chỉ số Fix (chỉ mức độ quan hệ trong sinh sản) cho loài Chò nâu trung bình 0,075. Bốn locus có giá trị Fix dương, chỉ ra sự vượt trội của gen đồng hợp tử, điều này xuất hiện hiện tượng thụ phấn cận Noon. Tuy nhiên, 4 locus có giá trị Fix âm và không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).



Hình 1. Không gian phân bố alen của các quần thể Chò nâu

Ở mức độ quần thể, tỉ lệ phân trăm locus đa hình là cao (90,63%), dao động từ 87,5% tại 3 quần thể Chân Mộng, Phù Ninh và Hy Cương đến 100% ở quần thể Minh Phú. Số alen cho mỗi quần thể dao động từ 17 tại 2 quần thể Chân Mộng và Hy Cương đến 22 tại Minh Phú (Bảng 4). Số alen hữu hiệu thấp nhất ($A_E = 1,2$) được quan sát ở quần thể Chân Mộng và cao nhất (1,7) ở hai quần thể Phù Ninh và Minh Phú. Số alen giàu và số alen cho mỗi quần thể là tương đương nhau. Hệ số gen dị hợp tử quan sát thấp nhất được quan sát ở quần thể Chân Mộng ($H_O = 0,153$) và cao nhất ở Minh Phú (0,333), trung bình 0,265. Hệ số gen dị hợp tử kỳ vọng thấp nhất ($H_E = 0,16$) và cao nhất (0,367) cũng được quan sát tương ứng ở quần thể Chân Mộng và Minh Phú. Chỉ số Fix (F_{IS}) khác nhau từ -0,044 tại Hy Cương đến 0,225 tại Phù Ninh, trung bình 0,092. Chỉ số đa dạng Shannon trung bình 0,487 (0,303-0,622).

Bảng 3. Đa dạng di truyền tại các locus cho loài Chò nâu

Locus	N_A	N_E	A_R	H_O	H_E	F_{IS}	Null allele	F_{IT}	F_{ST}	G'_{ST}	HW	N_m
dipt1	3	1,2	2,6	0,168	0,185	0,09	no	0,153	0,069*	0,064	nd	3,349
dipt2	3	2,1	3	0,391	0,477	0,18	0,135	0,344	0,2**	0,411	nd	1,002
dipt3	3	1,8	2,8	0,41	0,401	-0,022	0,067	0,199	0,216**	0,386	ns	0,905
dipt4	3	1,1	2,1	0,1	0,098	-0,016	0,041	0,064	0,078*	0,068	**	2,946
dipt5	2	1,3	2	0,221	0,205	-0,078	0,057	0,053	0,121**	0,141	nd	1,814
dipt6	3	1,3	2,5	0,245	0,23	-0,065	no	-0,025	0,038	0,027	nd	6,375
dipt7	3	1,4	2,9	0,215	0,232	0,073	0,136	0,216	0,155**	0,192	***	1,366
dipt8	3	2	3	0,374	0,467	0,2	0,06	0,243	0,055*	0,07	ns	4,315
Mean	2,8	1,5	2,6	0,265 (0,04)	0,283	0,075 (0,048)		0,156 (0,042)	0,135 (0,032)	0,18 (0,057)		2,759 (0,671)

Ghi chú: N_A : Số alen cho một locus, N_E : alen hữu hiệu, A_R : Alen giàu, H_O và H_E : hệ số gen dị hợp tử quan sát và kỳ vọng, F_{IS} : chỉ số fix, alen lặn (Null alen), F_{IT} : Hệ số cận loài cho loài, F_{ST} : chỉ số khác nhau di truyền giữa các quần thể theo Weir và Cockerham (1984), G'_{ST} : chỉ số khác nhau di truyền giữa các quần thể theo Hedrick (2005), N_m : trao đổi di truyền, nd: không xác định, ns: không có ý nghĩa, * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, *** $p < 0,0001$.

Bảng 4. Đa dạng di truyền ở mức độ quần thể của Chò nâu và kết quả kiểm tra hiện tượng thắt cổ chai

Quần thể	PPL (%)	Số alen	N_A	N_E	A_R	I	H_O	H_E	F_{IS}	F_{IS}^{HM}	Giá trị P của bottleneck		
											A	B	C
Chân Mộng	87,5	17	2,1	1,2	2,1	0,303	0,153	0,16	0,072*	0,078	0,003	0,004	ns
Phù Ninh	87,5	19	2,4	1,7	2,4	0,553	0,263	0,329	0,225**	0,126	0,003	0,054	0,014
Hy Cương	87,5	17	2,1	1,5	2,1	0,472	0,313	0,292	-0,044***	0,198	0,003	0,069	0,003
Minh Phú	100	22	2,7	1,7	2,7	0,622	0,333	0,367	0,115***	0,122	0,01	0,001	0,004
Trung bình	90,63			1,5		0,487	0,265	0,287	0,092	0,125			

Ghi chú: *PPL*: tỉ lệ phần trăm locus đa hình, N_A : số alen cho một locus, A_E : số alen hữu hiệu, A_R : Số alen giàu, I : chỉ số đa dạng Shannon, H_O và H_E : hệ số gen dị hợp tử quan sát và kỳ vọng, F_{IS} : chỉ số fix, F_{ISIIM} : chỉ số cận noãn được điều chỉnh với alen lặn, A : thiếu hụt gen dị hợp tử, kiểm định với 1 tail, B : vượt trội gen dị hợp tử với kiểm định 1 tail, C : vượt trội gen dị hợp tử với kiểm định 1 tail, SE : sai số cho phép, $*p < 0,05$, $**p < 0,01$ $***p < 0,001$.

Chỉ số Fix dương được quan sát ở 3 quần thể Chân Mộng, Phù Ninh và Minh Phú và giá trị âm được quan sát ở Hy Cương. Chỉ số Fix của cả 4 quần thể đều có ý nghĩa. Các chỉ số này được hiệu chỉnh theo mô hình sinh sản cận noãn (F_{ISIIM}) dao động từ 0,078 ở Chân Mộng đến 0,198 ở Hy Cương, trung bình 0,125. Chỉ số này sau khi hiệu chỉnh là cao hơn chỉ số F_{IS} . Chỉ số cận noãn cho loài (F_{IT}) trung bình 0,156 (Bảng 3) và chỉ ra sự vượt trội của hệ số gen đồng hợp tử. Phân tích hiện tượng thất cổ chai đã chỉ ra sự thiếu hụt gen dị hợp tử đã được tìm thấy cho một quần thể duy nhất Minh Phú và có ý nghĩa ($p < 0,01$). Điều này giả thiết có dấu hiệu suy giảm kích thước quần thể Minh Phú. So với các kết quả nghiên cứu trước đây, Chò nâu có mức độ đa dạng thấp hơn ($H_E = 0,265$; $H_E = 0,287$), ví dụ *Shorea leprosula* ($H_E = 0,709$ [15]; $H_E = 0,686$ [16]; $H_O = 0,63 - 0,66$, $H_E = 0,69 - 0,71$ [17], *S. robusta* ($H_O = 0,68$, $H_E = 0,68$ [18], *Dryobalanops aromatica* ($H_O = 0,572$, $H_E = 0,607$ [5]. *Dr. beccarii* ($H_O = 0,406$, $H_E = 0,404$ [8], *Dipterocarpus dyeri* ($H_O = 0,527$, $H_E = 0,601$ [19]. Hơn nữa, kết quả của chúng tôi chỉ ra số alen cho một locus là thấp so với loài *Dryobalanops aromatica* ($N_A = 5,1$; $N_A = 6,54$ [20], *S. leprosula* ($N_A = 11,0-11,4$ [17]. Loài Chò nâu cũng chỉ ra sự suy giảm của số alen giàu. Đa dạng di truyền cao phản ánh khả năng thích nghi tốt với môi trường và duy trì khả năng tiến hóa của loài. Chò nâu là loài đang bị đe dọa và có đa dạng di truyền thấp, nơi sống bị suy giảm và phân cắt mạnh. Loài này cũng là đối tượng bị khai thác quá mức. Đây có thể là nguyên nhân chính ảnh hưởng đến đa dạng di truyền của loài này ở Phú Thọ.

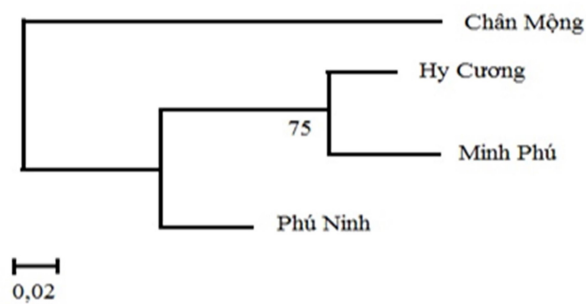
3.2. Cấu trúc di truyền quần thể

Phân tích ANOVA đã chỉ ra mức độ khác nhau ở mức phân tử, chủ yếu xảy ra trong các cá thể của loài Chò nâu (chiếm 77,13%), trong khi mức độ khác nhau này xảy ra giữa các quần thể là 14,34% và thấp nhất (8,53%) giữa các cá thể trong mỗi quần thể (Bảng 5). Mức độ khác nhau này phù hợp với kết quả phân tích mức độ khác nhau di truyền giữa các quần thể ($F_{ST} = 0,135$ và $G'_{ST} = 0,18$). Kết quả này cũng chỉ ra mức độ trao đổi di truyền trong loài là cao, trung bình ($N_m = 2,759$).

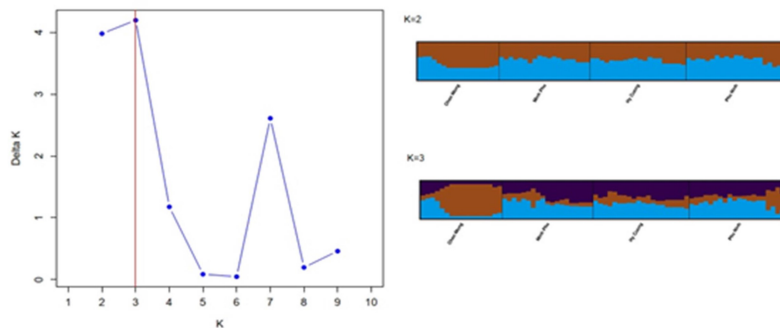
Bảng 5. Khác nhau ở mức độ phân tử (ANOVA) từ 4 quần thể ở Phú Thọ

	df (mức tự do)	Tổng bình phương	Thành phần khác nhau	Tổng mức độ khác nhau (%)
Giữa các quần thể	3	27,341	0,2	14,34
Giữa các cá thể trong quần thể	74	97,319	0,119	8,53
Trong các cá thể	78	84	1,077	77,13
Tổng	155	208,66	1,396	100

Trên cơ sở phân tích nhóm gen giữa các quần thể theo phương pháp NJ sử dụng ma trận giá trị F_{ST} đã khám phá 2 nhóm gen chính, nhóm 1 chỉ gồm 1 quần thể Chân Mộng, trong khi đó nhóm 2 gồm 3 quần thể còn lại (Hình 2). Tuy nhiên, ở nhóm 2, quần thể Phù Ninh có thể tách thành nhóm độc lập. Kết quả này cũng phù hợp với phân tích Bayesia sử dụng STRUCTURE kết hợp với STRUCTURE HARVESTER (Hình 3) hoặc với STRUCTURESELECTOR (Hình 4). Kết quả này có thể giả thiết rằng, cấu trúc nhóm gen liên quan đến sự trao đổi di truyền giữa các quần thể với nhau và khoảng cách địa lý. Khoảng cách địa lý giữa 2 quần thể gần nhau có cấu trúc gen khá tương đồng và kết hợp với nhau để hình thành một nhóm. Tuy nhiên, mức độ rối loạn thảm thực vật và khai thác loài cũng ảnh hưởng đến cấu trúc di truyền quần thể của loài nghiên cứu.

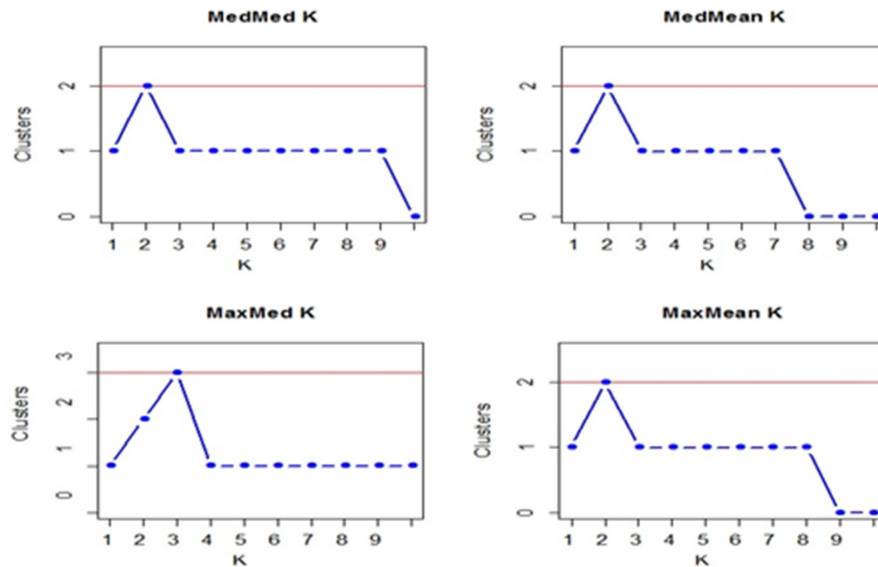


Hình 2. Mối quan hệ di truyền giữa các quần thể Chò nâu trên cơ sở phân tích NJ



Hình 3. Kết quả phân tích STRUCTURE cho 4 quần thể Chò nâu ở Phú Thọ, giá trị deltaK với nhóm K (1-10) và mức độ trộn lẫn giữa các nhóm gen trong quần thể

Mức độ đa dạng di truyền khác nhau giữa các quần thể của Chò nâu là tương tự như loài *D. alatus* ($F_{ST} = 0,274$), *Hopea odorata* ($F_{ST} = 0,26$) [4], *Dryobalanops beccarii* ($F_{ST} = 0,308$) [5]. Trao đổi di truyền của Chò nâu được xác định bởi phát tán hạt phấn, nó sẽ đóng góp vào cấu trúc di truyền của loài. Mức độ khác nhau giữa các quần thể thấp phản ánh mức độ trao đổi di truyền cao. Loài Chò nâu có mức độ trao đổi di truyền cao ($N_m > 1$) và chỉ ra số lượng di trú cho mỗi thế hệ là cao. Cấu trúc di truyền của Chò nâu được xác định khá rõ. Bởi vậy, giả thiết rằng sự tồn tại của cấu trúc di truyền Chò nâu như là kết quả của trao đổi gen liên quan đến khoảng cách địa lý và sự phân cách nơi sống hướng đến các nhóm gen khác nhau.



Hình 4. Các nhóm gen được xác định bởi MedMed K, MedMean K, MaxMed K và MaxMean K

3.3. Bảo tồn và phục hồi các loài đang bị đe dọa

Trước nguy cơ suy giảm và biến mất của nhiều loài động thực vật (462 loài thực vật và 418 loài động vật đang bị đe dọa theo Sách Đỏ Việt Nam [3] do các hoạt động phá rừng và khai thác quá mức, hệ thống các khu bảo tồn đã được thiết lập. Loài Chò nâu phân bố chủ yếu ở một số tỉnh miền núi phía Bắc cũng được bảo vệ tại các khu bảo tồn thuộc khu vực này. Tuy nhiên, để bảo tồn hiệu quả, các kết quả nghiên cứu về sinh học sinh thái và đa dạng di truyền ở cả 2 mức độ quần thể và loài đóng vai trò quan trọng và có ý nghĩa. Trên cơ sở sử dụng 8 cặp môi SSR phân tích cho 78 cá thể thuộc 4 quần thể Chò nâu ở Phú Thọ, mức độ đa dạng di truyền thấp đã được xác định. Quần thể nhỏ và cô lập thường duy trì mức độ đa dạng di truyền thấp liên quan đến trôi dạt gen ngẫu nhiên và tăng gen đồng hợp tử cho alen phổ biến và mất alen hiếm, phản ánh mối quan hệ thụ phấn cận loài cao xuất hiện trong các quần thể như vậy. Mức độ khác nhau giữa các quần thể trong mỗi loài đều liên quan đến khả năng hạn chế trao đổi di truyền giữa các quần thể thông qua thụ phấn nhờ côn trùng và di chuyển hạt theo dòng nước hoặc gió nhờ quả có cánh. Khoảng cách địa lý lớn và nơi sống bị phân cắt giữa các quần thể mỗi loài sẽ làm hạn chế dòng gen. Hệ số sai khác di truyền càng lớn thì mức độ cô lập của quần thể càng cao. Trên cơ sở các kết quả nghiên cứu, các quần thể Chò nâu được đề xuất bảo tồn cả hai mức độ, nguyên vị và chuyển vị. Quần thể có mức độ đa dạng di truyền cao như Hy Cương và Minh Phú được ưu tiên cho công tác bảo tồn nguyên vị. Cận loài cao ($F_{IS} > 0,2$) cũng được phát hiện ở quần thể Phù Ninh và kích thích quần thể đang bị suy giảm. Điều này hạn chế sự phát tán hạt phấn. Để tránh cận loài bảo tồn chuyển vị thông qua thu thập hạt và nhân giống trong vườn giống được xem như là nguồn vật liệu để phục hồi tính đa dạng quần thể và loài.

4. KẾT LUẬN

Mức độ đa dạng di truyền thấp của loài Chò nâu đã được điều tra, và có thể giải thích bởi sự suy giảm kích thước quần thể và sinh sản cận loài. Đây là hậu quả của sự phá hủy nơi sống và khai thác quá mức dẫn đến khó có khả năng phục hồi. Khả năng trao đổi di truyền cũng bị hạn chế do nơi sống bị phân cách và khoảng cách địa lý bị cô lập. Phân tích nhóm di truyền đã xác định 2 hoặc 3 nhóm gen khác nhau liên quan đến mức độ rối loạn cấu trúc nơi sống và khoảng cách địa lý. Để duy trì tiềm năng tiến hóa của loài Chò nâu cả hai biện pháp bảo tồn nguyên vị và chuyển vị cần được thực hiện để bảo tồn nguồn gen của loài Chò nâu.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được tài trợ bởi đề tài NCVCC33.05/22-22.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Hoàng Nghĩa, *Dipterocarps of Vietnam*, Agriculture Publishing House, Hanoi, 2005.
2. IUCN, *IUCN Red List Categories*, IUCN, Gland, Switzerland, 1998.
3. BKHCN, *Red Book of Vietnam*. Technology and Science Publishing House, Hanoi, 2007.
4. Trang N. T. P., Huong T. T., Duc N. M., Sierens T., Triest L., *Genetic population of threatened Hopea odorata Roxb. In the protected areas of Vietnam*, Journal of Vietnam Environment, 2014, **6**:69-76.
5. Harada K., Dwiyantri F. G., Siregar I. S., Subianto A., Chong L., Diway B., Lee Y. F., Ninomiya I., Kamiya K., *Genetic variation and genetic structure of two closely related dipterocarp species, Dryobalanops aromatic C. F. Gaertn. and D. Beccarii Dyer*, The Journal of Botanical Garden Horticulture, 2018, **16**:179-187.
6. Isagi V., Kenta T., Nakashizuka T., *Microsatellite loci for a tropical emergent tree, Dipterocarpus tempehes V. Sl (Dipterocarpaceae)*, Molecular Ecology Notes, 2002, **2**:12-13.
7. Terauchi R., *A polymorphic microsatellite marker from the tropical tree Dryobalanops lanceolata (Dipterocarpaceae)*, Japan Journal of Genetics, 1994, **69**:567-576.
8. Ujino T., Kawaharam T., Tsumura Y., Nagamitsu T., Yoshimaru H., Ratnam W., *Development and polymorphism of simple sequence repeat DNA markers for Shorea curtisii and other Dipterocarpaceae species*, Heredity, 1998, **81**:422-428.
9. Peakall R., Smouse P. E., *GenAlEx 6.5: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research an update*, Bioinformatics, 2012, **28**:2537-39.

10. Pritchard J. K., Stephens M., Donnelly P., *Inference of population structure using multilocus genotype data*, Genetics, 2000, **155**:945-59.
11. Earl D. A., von-Holdt B. M., *Structure Harvester: a website and program for visualizing structure output and implementing the Evanno method*, Conservation Genetics Resources, 2012, **4**:359-361.
12. Li Y. L., Liu J. X., *StructureSelector: a web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods*, Mol Ecol Resour, 2018, **18**:176-177.
13. Takezaki N., Nei M., Tamura K., *Software for constructing population trees from allele frequency data and computing other population statistics with Windows interface*, Mol Evol, 2010, **27**:747-752.
14. Piry S., Luikart G., Cornnet J. M., *Bottleneck: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size frequency data*, Journal of Heredity, 1999, **90**:502-503.
15. Rimbawato A., Isoda A. K., *Genetic structure of Shorealeprosula in a single population revealed by microsatellite markers*. In: Thielges BA, Sastrapradja SD, Rimbawanto A (eds.), *Ex-situ and In-situ conservation of commercial tropical trees: The contribution of genetic resource conservation to tree breeding, biotechnology, and future commercial plantation program*, Yogyakarta, Indonesia. 2001, 331-338.
16. Keiya I., Irsyal Y., Anto R., Istiana P., *Estimation of genetic variation of Dryobalanops oblongifolia Dyer. (Dipterocarpaceae) planted in peninsular Malaysia*. In: *In-situ and ex-situ conservation of commercial tropical trees* (Thielges B. A., Sastrapradja S. D and Rimbawanto A., eds.), Gadjah Mada University, Yogyakarta, 2001, 377-384.
17. Ng K. S. K., Lee S. L., Koh C. L., *Spatial structure and genetic diversity of two tropical tree species with contrasting breeding systems and different ploidy levels*, Molecular Ecology, 2004, 1-13.
18. Pandey M., Geburek T., *Successful cross-amplification of Shorea microsatellites reveals genetic variation in the tropical tree, Shorea robusta Gaertn*, Hereditas, 2009, **146**:29-32.
19. Tam N. M., Duy V. D., Duc N. M., Hien D. P., Long P. K., Phuong B. X., *Microsatellite analysis reveals genetic diversity of the endangered Dipterocarpus dyeri*, Journal of Forest Research, 2020, **25**(2):198-201.
20. Lim L. S., Wickneswari R., Lee S. L., Latiff A., *Genetic structure of natural populations of Dryobalanops aromatic Gaertn. F. (Dipterocarpaceae) in Peninsular Malaysia using microsatellite DNA markers*. In: Thielges B.A., Sastrapradja S.D and Rimbawanto A (eds.), *In-situ and ex-situ conservation of commercial tropical trees*, Yogyakarta, Japan, 2001, 309-324.

SUMMARY

GENETIC VARIABILITY OF THE SPECIES *Dipterocarpus retusus* IN PHU THO: CONSERVATION AND BREEDING PROGRAM

Dipterocarpus retusus is a valuable wood tree in the tropical forests of northern Vietnam, which is in danger of extinction due to habitat degradation and overexploitation. To date, this species has not been studied. In the present study, the genetic diversity and structure in four populations in Phu Tho province were investigated using microsatellites. A total of 23 alleles were identified, of which three were private alleles. The number of alleles per locus, effective alleles, observed and expected heterozygosity were 2.3, 1.5, 0.265, and 0.287, respectively. The lowest genetic diversity was found in the Chan Mong population, with an effective alleles of 1.2, an observed heterozygosity of 0.153, and an expected heterozygosity of 0.16. A high inbreeding coefficient was found in Minh Phu (0.225). Genetic differentiation between populations was low (0.135) and gene flow was high (2.759). Habitat degradation can also decrease gene flow. Clustering analyses (Bayensia and Neighbor-joining) revealed three genetic clusters related to geographical distance and disturbed habitats. These results recommend the conservation and restoration of *D. retusus* in the future.

Keywords: Genetic diversity, genetic structure, habitat disturbance, SSR, species conservation, bảo tồn loài, đa dạng di truyền, cấu trúc di truyền, suy giảm nơi sống.

Nhận bài ngày 21 tháng 7 năm 2022

Phản biện xong ngày 08 tháng 9 năm 2022

Hoàn thiện ngày 29 tháng 10 năm 2022

⁽¹⁾ Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, VAST

⁽²⁾ Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga

⁽³⁾ Viện Nghiên cứu Hệ gen, VAST

⁽⁴⁾ Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, VAST

⁽⁵⁾ Viện Công nghệ Hanoi, Đại học Công nghiệp Hà Nội

Liên hệ: Nguyễn Minh Tâm

Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Số 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội

Điện thoại: 091 45 39336; Email: ngmtam58@gmail.com