

SINH THÁI HỌC PHÂN TỬ: MỘT SỐ VẤN ĐỀ LÝ THUYẾT VÀ ỨNG DỤNG THỰC TIỄN

VŨ ĐÌNH DUY ⁽¹⁾, LÊ XUÂN ĐẮC ⁽¹⁾, PHẠM MAI PHƯƠNG ⁽¹⁾

1. MỞ ĐẦU

Trong ba thập kỷ qua, các kỹ thuật di truyền phân tử ngày càng trở nên quan trọng đối với các nhà sinh học, đặc biệt khi sự đa dạng của các công cụ phân tử ngày càng tăng lên [1]. Kỹ thuật phân tử đã có một tác động sâu sắc mang tính cách mạng trong nghiên cứu sinh học [2]. Các ngành chính, bao gồm sinh học tiến hóa, cơ sở sinh học bảo tồn hiện đang sử dụng nhất quán các công cụ phân tử. Một số ngành tiến hóa gần như hoàn toàn bị ràng buộc với phương pháp tiếp cận phân tử (ví dụ: hệ thống phát sinh chủng loại và phát sinh địa lý). Trong khi đó, một số ngành trong sinh thái học phần lớn đã bỏ qua các kỹ thuật phân tử, ngay cả khi việc sử dụng các phương pháp phân tử có thể giúp giải quyết một số vấn đề sinh thái thú vị nhất của chúng ta. Ứng dụng các kỹ thuật phân tử trong nghiên cứu sinh thái học và sinh học tiến hóa có thể cho chúng ta hiểu biết về con đường phát triển của lĩnh vực sinh thái phân tử kể từ khi bắt đầu. Những gì chúng ta thực sự muốn biết là mức độ mà sinh thái phân tử hiện đại giải quyết các vấn đề sinh thái liên quan đến quá trình tiến hóa. Trong khi sinh thái học kiểm tra các mô hình và quá trình làm nền tảng cho sự phân bố và sự phong phú của các sinh vật trong môi trường của chúng [3], thì sinh học tiến hóa lại đi sâu vào khám phá cách thức mà các đặc điểm của quần thể thay đổi qua không gian và thời gian, bao gồm hiểu được vai trò của các yếu tố môi trường và di truyền trong việc hình thành các mô hình đa dạng sinh học [4].

Ứng dụng các quy luật di truyền và kỹ thuật sinh học phân tử vào nghiên cứu sinh thái để hình thành một hướng tiếp cận mới của sinh thái học - sinh thái học phân tử, làm cho nghiên cứu thực nghiệm sinh thái đi sâu vào cấp độ phân tử. Sinh thái học phân tử có liên quan đến lĩnh vực di truyền bảo tồn, một lĩnh vực của sinh học tiến hóa [5] và gần đây là ứng dụng kỹ thuật di truyền vào giải quyết các vấn đề trong sinh học truyền thống (ví dụ, nhận dạng, định dạng loài, bảo tồn và đánh giá đa dạng sinh học, mối quan hệ di truyền giữa các loài và nhiều nội dung trong sinh thái học hành vi). Sự kết hợp giữa Sinh thái học và Di truyền học đã trở thành một cuộc cách mạng, bởi vì các phương pháp, cách tiếp cận trong di truyền học có thể bổ sung để giải quyết nhiều vấn đề trong sinh thái học liên quan đến quy mô, thời gian của một quá trình sinh thái. Ví dụ, các nhà sinh thái học lý thuyết nhìn nhận thiên nhiên qua các mô hình tăng trưởng giữa động vật ăn thịt - con mồi và tăng trưởng quần thể trên quy mô hàng trăm thế hệ, nhưng dựa vào di truyền học mà quy mô này có thể đạt tới hàng ngàn, hàng triệu thế hệ [6].

Tuy nhiên, hiện nay ảnh hưởng của các kỹ thuật phân tử trong nghiên cứu sinh thái học vẫn còn hạn chế. Các công bố trong 25 năm qua từ các tạp chí Sinh thái học, Tiến hóa và Sinh thái học phân tử tiết lộ rằng phần lớn các nghiên cứu được công bố dưới cái tên sinh thái phân tử trên thực tế là tiến hóa trong tự nhiên và có

tương đối ít các nghiên cứu sinh thái có kết hợp các công cụ phân tử [2]. Việc thúc đẩy, mở rộng và sử dụng rộng rãi các kỹ thuật phân tử trong nghiên cứu sinh thái học mang lại những lợi ích không nhỏ, đặc biệt trong một số lĩnh vực nghiên cứu sinh thái đầy hứa hẹn như sinh thái học hành vi, sinh thái tiến hóa, sinh lý thực vật... Vậy nên, nhằm hiểu rõ hơn về lĩnh vực sinh thái phân tử và phát triển ứng dụng rộng rãi các kỹ thuật phân tử trong nghiên cứu sinh thái học, trong bài báo này chúng tôi tóm tắt những kiến thức cơ bản và cách tiếp cận ứng dụng các kỹ thuật phân tử trong nghiên cứu sinh thái học cũng như di truyền quần thể.

2. CƠ SỞ CỦA ỨNG DỤNG KỸ THUẬT PHÂN TỬ TRONG NGHIÊN CỨU SINH THÁI HỌC

Vật liệu di truyền được truyền từ cha mẹ sang con cái theo cách có thể dự đoán được và đây là lý do tại sao các chỉ thị phân tử cho phép chúng ta có thể suy ra mối quan hệ di truyền của các cá thể [7]. Trong sinh thái học phân tử, việc tính toán các mối quan hệ di truyền thường có tính đến việc truyền các alen cụ thể qua hàng trăm, hàng ngàn hoặc thậm chí hàng triệu thế hệ. Có một câu hỏi được đặt ra là: Làm thế nào mà các vùng gen khác nhau được truyền từ thế hệ này sang thế hệ tiếp theo? Không phải tất cả các DNA đều được di truyền theo cùng một cách, và việc hiểu rõ các phương thức kế thừa vật liệu di truyền khác nhau là rất quan trọng giúp chúng ta có thể dự đoán các vùng DNA khác nhau có thể hoạt động như thế nào trong các kịch bản sinh thái và tiến hóa khác nhau.

Con cái của các sinh vật sinh sản hữu tính thừa hưởng một nửa DNA của chúng từ mỗi bố mẹ. Chẳng hạn, trong một sinh vật lưỡng bội, sinh sản hữu tính, trong bộ gen nhân sẽ có một alen ở mỗi locus đến từ mẹ và alen khác đến từ bố. Điều này được gọi là thừa kế lưỡng cực. Tuy nhiên, ngay cả ở các loài sinh sản hữu tính, không phải tất cả DNA đều được di truyền từ cả bố và mẹ. Hai trường hợp ngoại lệ quan trọng là bộ gen ty thể (mtDNA) và lục thể (plastid). Cả hai đều là gen trong tế bào chất hay gen ngoài nhân, ngoài nhiễm sắc thể. Ty thể được tìm thấy trong cả thực vật và động vật, trong khi lục thể chỉ được tìm thấy trong thực vật. DNA trong các bào quan thường xuất hiện dưới dạng các mạch vòng xoắn kép, có kích thước nhỏ hơn nhiều so với ADN trong bộ gen nhân, song lại chiếm số lượng lớn. Các chỉ thị phân tử từ bộ gen ngoài nhân, đặc biệt là mtDNA động vật, đã rất phổ biến trong các nghiên cứu sinh thái bởi chúng có một số thuộc tính hữu ích không tìm thấy trong bộ gen nhân.

3. MỘT SỐ KỸ THUẬT SỬ DỤNG TRONG NGHIÊN CỨU SINH THÁI HỌC PHÂN TỬ

Sự phát triển của sinh thái phân tử có thể được xem là song hành với những tiến bộ trong sự phát triển của công cụ di truyền: các chỉ thị phân tử. Các chỉ thị phân tử (*molecular marker*) hay chỉ thị di truyền (*genetic marker*) là các dấu hiệu, hoặc các đặc trưng có tính phân biệt giữa các cá thể cũng như cả các nhóm bậc đơn vị phân loại cao hơn. Ưu điểm là những chỉ thị này không dựa trên hình thái bên ngoài mà là dựa trên sự khác biệt về trình tự gene của mỗi cá thể sinh vật.

Kể từ khi chỉ thị phân tử ADN đầu tiên được phát triển và ứng dụng cho đến cuối những năm 90 của thế kỷ XX, hàng loạt chỉ thị phân tử ADN hay còn gọi là chỉ thị phân tử được ra đời: chỉ thị đa hình độ dài các đoạn cắt hạn chế RFLP (Restriction fragment length polymorphism), đa hình DNA nhân bản ngẫu nhiên RAPD (Random amplified polymorphic DNA) [8], chỉ thị trình tự biểu hiện EST (Expressed sequence tags [9], chuỗi lặp lại đơn giản SSR (Simple sequence repeat [10], đa hình nucleotide đơn SNP (Single nucleotide polymorphism) [11], vùng giữa các trình tự lặp đơn giản ISSR (Intersimple sequence repeat) [12]... Các kỹ thuật phân tử ADN tương ứng được xây dựng để phát triển chỉ thị phân tử ADN cho nghiên cứu đa dạng di truyền, phát sinh loài, phân loại, đánh dấu phân tử và xác định gen; cho chọn lọc nguồn gen và chọn giống nhờ chỉ thị phân tử. Không có chỉ thị phân tử ADN nào hiện có thể đáp ứng đầy đủ tất cả các yêu cầu của nhà nghiên cứu. Phụ thuộc vào nội dung nghiên cứu, để chọn chỉ thị phân tử ADN phù hợp với đặc tính cần thiết. Ở Việt Nam, một số chỉ thị phân tử ADN được bắt đầu sử dụng từ cuối những năm 90 của thế kỷ XX. Tuy nhiên, việc sử dụng còn hạn chế vì mới chủ yếu sử dụng các kỹ thuật như RAPD, ISSR, SSR, RFLP,... trong các nghiên cứu đa dạng di truyền và đánh giá nguồn gen [13÷19], lập bản đồ gen [20, 21] và chọn giống ở thực vật [22, 23].

4. TIẾP CẬN VÀ ỨNG DỤNG TRONG NGHIÊN CỨU SINH THÁI HỌC PHÂN TỬ

Sinh thái học phân tử là một cách tiếp cận liên ngành đối với một số câu hỏi cơ bản nhất trong nghiên cứu về sinh vật học. Một số nhà khoa học ngày nay coi đó là một "cách tiếp cận" được thực hiện trong một số trường hợp để trả lời một số câu hỏi về một chủ đề nào đó. Tuy nhiên, hầu hết các nhà khoa học đồng ý rằng nó khác với các nghiên cứu khác về sinh vật học. Sinh thái học phân tử được định nghĩa là "ứng dụng các kỹ thuật phân tử để giải đáp các câu hỏi về sinh thái" [24]. Cụ thể, sinh thái học phân tử là ứng dụng các kỹ thuật di truyền phân tử để xử lý các vấn đề nghiên cứu về sinh thái, sinh học tiến hóa, bảo tồn sinh học và sinh thái học tập tính [1, 7]. Sự phát triển của các chỉ thị phân tử đã dẫn đến sự bùng nổ trong các nghiên cứu sử dụng chúng để giải đáp cho các vấn đề liên quan đến mối quan hệ giữa các loài, đến lịch sử tiến hóa của quần thể...

Trước hết, vì các phương pháp sinh thái truyền thống dựa trên các quan sát trực tiếp của sinh vật, chúng thường không phát hiện ra sự biến đổi tiềm ẩn trong các sinh vật không ảnh hưởng đến ngoại hình. Có thể các sinh vật xuất hiện giống nhau về mặt vật lý trong khi biểu hiện nhiều sự khác biệt di truyền được tìm thấy giữa các loài khác nhau. Các biến dị di truyền về cơ bản chỉ có thể được phát hiện bằng cách so sánh ADN. Hơn thế nữa, cách tiếp cận sinh thái học phân tử trong nghiên cứu di truyền quần thể không những giúp phân biệt được các cá thể với nhau, mà còn có thể giúp tìm xem giữa chúng có quan hệ huyết thống hay không. Những thay đổi về gen và tần số gen trong quần thể theo thời gian tiến hóa rất quan trọng để hiểu được sự phân hóa và cấu trúc quần thể [25]. Các nghiên cứu về cấu trúc di truyền quần thể chứng minh tầm quan trọng của đa dạng di truyền đối với sự tồn tại của một quần thể và chứng minh sự ảnh hưởng của môi trường lên đa dạng di truyền quần thể [18, 19].

Ở một khía cạnh khác, đôi khi việc giải quyết các vấn đề trong lĩnh vực sinh thái gặp khó khăn với các phương pháp sinh thái truyền thống do khung thời gian quan sát tương đối hẹp, bị giới hạn trong khoảng thời gian mà một nghiên cứu được thực hiện [26]. Khi quan sát lịch sử tiến hóa của một sinh vật cụ thể cần phải ghi chép, thống kê được lịch sử lâu dài của dữ liệu sinh vật đó trong nhiều năm và qua nhiều thế hệ, đôi khi phép ngoại suy cũng có thể được áp dụng nhưng thực tế có nhiều khó khăn. Trong một số trường hợp cụ thể, điều này có thể được giải quyết một cách dễ dàng và chính xác bằng các kỹ thuật phân tử bởi các sự kiện lịch sử đều có để lại những dấu hiệu riêng biệt trong các chỉ thị phân tử của sinh vật [26].

Trong nghiên cứu sự di cư và nhập cư của động vật vào quần thể mới, cách tiếp cận dựa trên ADN có thể cung cấp cái nhìn sâu sắc hơn nhiều về tập tính giao phối của các loài phân bố rộng, so với cách tiếp cận sinh thái học truyền thống. Bằng cách xem xét các dấu hiệu phân tử trong một nhóm động vật cụ thể, các nhà nghiên cứu có thể thiết lập mối quan hệ gia đình giữa các thành viên của nhóm, từ đó có được bức tranh toàn cảnh chính xác về các đối tượng đang thực hiện giao phối. Những cá thể nhập cư gần đây sẽ có sự khác biệt nhỏ trong các dấu hiệu phân tử của chúng và chúng có thể được xác định. Nếu những cá thể nhập cư đó giao phối thành công trong nhóm mới của chúng, những khác biệt đó sẽ được truyền sang con cái và sẽ xuất hiện thường xuyên hơn. Nếu cá thể nhập cư không giao phối, những khác biệt đó sẽ biến mất [26]. Trong khi phương pháp sinh thái học truyền thống chỉ đơn giản quan sát được sự di chuyển vật lý của động vật từ nơi này sang nơi khác, thường đưa ra một bức tranh không hoàn chỉnh về hành vi của con vật và cách nó liên quan đến môi trường. Điều này không thể phát hiện liệu một động vật phân tán có giao phối thành công trong lãnh thổ mới của nó hay khi gia nhập một quần thể mới hay không. Thành công sinh sản là một dấu hiệu của năng lực chứng minh sự tồn tại lâu dài của quần thể - một vấn đề cơ bản trong sinh thái học.

Các nghiên cứu phân tử đã được sử dụng để xác định hành lang di cư giữa các quần thể, từ đó có thể ngăn chặn sự cô lập của các quần thể đang bị đe dọa. Phương pháp tiếp cận phân tử cũng đã được sử dụng để xác định các quần thể lý tưởng có đang bị chuyển sang các quần thể tuyệt chủng hoặc đang suy giảm hay không, các phương pháp giúp tối đa hóa các biến dị di truyền ở động vật nuôi nhốt và giám định loài khi bị buôn bán trái phép. Việc xác định các loài đặc biệt quan trọng để truy tố những kẻ săn trộm các loài có nguy cơ tuyệt chủng khi phần còn lại của con vật là một miếng thịt, xương, ngà, sừng hoặc lông,... Trên thực tế, các kỹ thuật phân tử đã được phát triển có thể xác định các loài dựa trên ADN từ mô ngay cả khi mô đã được nấu chín và trộn với các thành phần khác.

Ở Động vật nghiên cứu đa dạng di truyền quần thể góp phần quan trọng trong đánh giá quá trình tiến hóa của các quần thể có hình thái khác biệt hoặc bị ngăn cách về mặt địa lý và cũng đóng một vai trò đáng kể trong việc xây dựng các kế hoạch bảo tồn thích hợp cho các quần thể này, đặc biệt đối với các loài nguy cấp [28÷31]. Cho đến nay, đã có một số nghiên cứu đa dạng di truyền nguồn gen các loài trong

phân họ Amphibolurinae thuộc họ Nhông (Agamidae) sử dụng chỉ thị phân tử microsatellite (SSR) và chỉ thị ADN ty thể (mitochondrial DNA - mtDNA) để cung cấp mức độ đa dạng di truyền, mối quan hệ di truyền, các đặc điểm di truyền khác biệt, lịch sử tiến hóa của quần thể, cũng như mức độ giao phối cận huyết [29, 31÷37].

Áp dụng kỹ thuật sinh học phân tử thông qua giải trình tự một số gen ty thể hoặc gen nhân kết hợp phân tích số liệu về các đặc điểm hình thái đã làm sáng tỏ nhiều vấn đề về mối quan hệ phát sinh và lịch sử tiến hóa của các nhóm loài bò sát và lưỡng cư ở Việt Nam và các nước lân cận [38-40]. Kết quả phân tích cho thấy có sự không tương đồng giữa các quan điểm về phân loại hình thái và di truyền phân tử. Ước tính thời gian phân tách cho thấy tổ tiên chung của các loài *Rhacophorus* xuất hiện cách nay khoảng 29,51 triệu năm (nằm trong khoảng thời gian từ 25,34 đến 34,07 triệu năm) [38]. Mối quan hệ phát sinh các loài ếch cây giống *Theloderma* dựa trên phân tích trình tự gen ty thể cho thấy sự đồng tiến hóa của bốn đặc điểm hình thái gồm kích thước cơ thể, sự xuất hiện của răng lá mía, túi kên ở con đực và màng bơi ở chi trước. Hai giống *Theloderma* và *Nyctixalus* có mối quan hệ chị em gần gũi, cùng chung tổ tiên phát sinh ở vùng Sunda hiện tại [39]. Nhóm rắn cổ đỏ *Rhabdophis* có hệ thống phòng vệ mới lạ, bất thường (Nuchal) phân bố ở Châu Á: Các bằng chứng di truyền phân tử cho thấy tất cả các loài có tuyến nọc ở cổ có mối quan hệ chị em gần gũi và ước tính thời gian phân kỳ và tổ tiên chung của các loài rắn có tuyến Nuchal xuất hiện cách nay khoảng 19,18 triệu năm [40].

Ứng dụng các chỉ thị phân tử trong nghiên cứu di truyền quần thể các loài động vật hoang dã giúp cung cấp các thông tin chi tiết để đưa ra phương án bảo tồn thích hợp cho từng loài, cũng như ngăn chặn lai tạo giữa các loài phụ, kiểm tra con lai thuần chủng, biết rõ tình trạng nguy cấp về mặt di truyền của quần thể loài thông qua ước tính kích thước, nhận biết sự suy giảm có thực sự xảy ra gần đây hay không [41]. Nguyễn Thị Thắm và cộng sự [41] sử dụng 12 chỉ thị microsatellite (SSR) trong nghiên cứu 24 cá thể Thần lằn cá sấu (*Shinisaurus crocodilurus* Ahl, 1930) tại Việt Nam. Kết quả cho thấy lượng cá thể sinh sản của quần thể này đã bị suy giảm đáng kể. Kết luận này có ý nghĩa quan trọng trong việc đề xuất giải pháp bảo tồn loài bò sát nguy cấp này không bị tuyệt chủng trong tương lai.

Ở Thực vật đã ứng dụng sinh thái phân tử nhằm nhận diện loài, giới tính, cá thể, cha mẹ và huyết thống; đa dạng di truyền và các nhân tố ảnh hưởng đến nó; nghiên cứu trao đổi gen và cấu trúc di truyền quần thể; nghiên cứu địa lý phát sinh loài. Wei và cộng sự [42] đã nghiên cứu về mối quan hệ phát sinh địa lý, mức độ tiến hóa phân tử của các loài trong chi Thiết sam giả (*Pseudotsuga*) ở Bắc Mỹ (*P. macrocarpa*, *P. menziesii*), Nhật Bản (*P. japonica*), Đài Loan (*P. wilsoniana*) và Trung Quốc (*P. brevifolia*, *P. forrestii*, *P. gaussenii*, *P. sinensis*) trên cơ sở phân tích 5 vùng gen lục lạp (cpDNA), hai vùng ty thể (mtDNA) và một vùng gen nhân (LEAFY). Kết quả chỉ ra rằng: Sự biến đổi khí hậu và các sự kiện địa chất đóng vai trò chính trong việc hình thành sự đa dạng loài và sự phân bố của thực vật. Các cơ

chế về mức độ đa dạng cao loài thực vật ở Đông Á đang được tranh luận sôi nổi. Cây phát sinh chủng loại trên cả hai vùng gen nhân (LEAFY) và gen lục lạp (cpDNA) đều cho thấy rõ ràng các loài ghi nhận ở Đông Á và Tây Bắc Mỹ là đơn loài. Trong khu vực Đông Á, cây phát sinh chủng loại khi phân tích vùng gen lục lạp (cpDNA) đã đặt loài *P. japonica* ở Nhật bản có quan hệ chị em với các loài ở Trung Quốc và Đài Loan. Phân tích vùng gen nhân (LEAFY) cho thấy mối quan hệ chị em giữa các loài *P. japonica* - *P. sinensis* - *P. gaussenii* và *P. brevifolia* - *P. forrestii*. Dữ liệu phân tử chỉ ra rằng các loài châu Á có chung một nguồn gốc tổ tiên $20,26 \pm 5,84$ triệu năm trước và sự đa dạng loài trong chi *Pseudotsuga* có tương quan với sự biến đổi khí hậu và kiến tạo của thời kỳ Đệ tam. Những kết quả này cùng với bằng chứng hóa thạch, cho thấy *Pseudotsuga* có thể có nguồn gốc từ Bắc Mỹ và sau đó di cư đến Đông Á. Loài *P. wilsoniana* của Đài Loan có hai loại trình tự vùng gen nhân (LEAFY) khác nhau, ngụ ý rằng loài này có thể có nguồn gốc từ sự lai tạo giữa *P. brevifolia* hoặc tổ tiên của nó và tổ tiên của *P. japonica* - *P. sinensis* - *P. gaussenii*. Ngoài ra, nghiên cứu cũng cho thấy loài ở Đài Loan có liên quan chặt chẽ với cả phía Tây nam và phía Đông Trung Quốc trong hệ thực vật. Một nghiên cứu về đa dạng di truyền và cấu trúc quần thể liên quan đến sự suy giảm kích thước quần thể của loài *Pseudotsuga japonica*, đặc hữu của Nhật Bản [43]. Tác giả đã tiến hành phân tích 451 cá thể *P. japonica* thu tại 7 quần thể thuộc hai khu vực kênh Kii và đảo Shikoku ở phía Tây nam Nhật Bản trên cơ sở sử dụng 6 chỉ thị phân tử microsatellite (SSR) và chỉ ra sự khác biệt di truyền giữa các quần thể của *P. japonica* tương đối cao ($F_{ST} = 0,101$) đối với một loài cây lá kim, cho thấy dòng gen hạn chế giữa các quần thể. Gần đây, Castelán và cộng sự [44] đã nghiên cứu sự đa dạng và cấu trúc di truyền trong 12 quần thể tự nhiên của loài *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco (Pinaceae) ở khu vực miền trung Mexico bằng 12 chỉ thị phân tử microsatellite (SSR). Tác giả đã xác định được trong quần thể loài *P. menziesii* có 73 alen khác nhau, số lượng alen trung bình trên mỗi locus: $N_a = 6,083$, số lượng alen hiệu quả: $N_e = 2,039$, mức độ gen dị hợp tử quan sát: $H_o = 0,229$ và mức độ gen dị hợp tử kỳ vọng: $H_t = 0,417$. Sự khác biệt di truyền là cao, hệ số di truyền biệt hóa: $\theta = 0,270$; trong khi hệ số cấu trúc: $\Phi_{ST} = 0,278$. Phân tích Bayes đã xác định hai nhóm di truyền ở miền trung Mexico. Kết quả phân tích phương sai phân tử (AMOVA) chỉ ra rằng biến dị di truyền tồn tại chủ yếu trong quần thể (72,149%). Do đó, các nỗ lực bảo tồn nên tập trung vào càng nhiều cá thể trong quần thể càng tốt. Kết quả gợi ý rằng, sử dụng chỉ thị phân tử SSR hữu ích cho việc cải thiện giống cây trồng và là một cách hiệu quả để bảo tồn nguồn gen cũng như sử dụng loài cây lá kim này. Đối với mục đích bảo tồn, 16 chỉ thị phân tử SSR mới được phát triển từ loài *Keteleeria davidiana* var. *formosana* (Pinaceae) và được thử nghiệm trong 6 loài khác trong chi Du sam (*K. davidiana* var. *calcareae*, *K. davidiana* var. *chienpei*, *K. evelyniana*, *K. fortunei*, *K. fortunei* var. *cyclolepis* và *K. pubescens*) trong nghiên cứu của Ho và cộng sự tại Đài Loan [45] để đánh giá mức độ đa dạng di truyền, là cơ sở cho quản lý bảo tồn và tái cấu trúc các mô hình thực vật học.

5. KẾT LUẬN

- Sinh thái học phân tử không chỉ cho phép phát hiện sự khác biệt di truyền mà còn cho phép các nhà nghiên cứu khám phá lý do tại sao có sự khác biệt di truyền khi không có sự khác biệt về hình thái.

- Phương pháp tiếp cận phân tử cũng đã đóng một vai trò quan trọng trong bảo tồn các loài có nguy cơ tuyệt chủng bên cạnh việc giải quyết câu hỏi về các biến dị di truyền.

- Sinh thái phân tử vẫn tồn tại những hạn chế quan trọng cần phải xem xét. Đầu tiên, việc phát triển các marker có thể tốn kém và mất nhiều thời gian. Thứ hai, mặc dù có thể có lợi khi sinh thái học phân tử không phụ thuộc vào quan sát trực tiếp các tập tính, tuy nhiên lợi ích này lại có thể là một hạn chế. Vì tập tính không được quan sát trực tiếp, các nhà khoa học phải suy luận tập tính trong phạm vi giới hạn một mô hình phân tử cụ thể và thường có thể có nhiều cách giải thích cho cùng một mẫu quan sát. Thứ ba, sẽ không thực tế khi nhìn vào toàn bộ bộ gen của tất cả các sinh vật, vì vậy người ta phải nhìn vào một tập hợp nhỏ các dấu hiệu phân tử. Các dấu hiệu phân tử khác nhau có thể hiển thị các mẫu không phù hợp hoặc có thể không đại diện cho toàn bộ bộ gen. Cuối cùng, có một số câu hỏi mà sinh thái học phân tử đơn giản là không thể trả lời và phải được giải quyết bằng quan sát trực tiếp. Ví dụ, một số tập tính quan trọng đối với lịch sử tự nhiên của một sinh vật, chẳng hạn như tập tính chăm sóc của cha mẹ và tập tính tán tỉnh, chỉ có thể được ghi lại thông qua quan sát trực tiếp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nadeem M.A., Nawaz M.A., Shahid M.Q., Dogan Y., Comertpay G., Yildiz M., Hatipoglu R., Ahmad F., Alsaleh A., Labhane N., Ozkan H., Chung G., Baloch F.S., *DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing*, Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2018, **32**(2):261-285.
2. Johnson J.B., Peat, S.M., Adams B.J., *Where's the ecology in molecular ecology?* Oikos, 2009, **118**(11):1601-1609.
3. Ricklefs R.E., Miller, G.L., *Ecology*. - W. H. Freeman, 1999.
4. Futuyma D.J., *Evolution*, Sinauer & Associates." Inc., Sunderland, Massachusetts, 2005, p.226-243.
5. Charlesworth B., *Measures of divergence between populations and the effect of forces that reduce variability*, Mol. Biol. Evol, 1998, **15**:538-543.
6. Grant W.S., *Molecular ecology and evolution: Approaches and applications*, Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1995, **191**(1):119-121.
7. Nguyễn Đức Thành, *Các kỹ thuật chỉ thị DNA trong nghiên cứu và chọn lọc thực vật*, Tạp chí Sinh học, 2014, **36**(3):265-294.
8. Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., Tingey S.V., *DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers*. Nucleic Acids Res., 1990, **18**:6531-6535.

9. Adams M.D., Kelley J.M., Gocayne J.D., Dubrick M., *Complementary DNA sequencing: expressed sequence tags and human genome project*, Science 252, 1991, p.1651-1656.
10. Akkaya M.S., Bhagwat A.A., Cregan P.B., *Length polymorphisms of simple sequence repeat DNA in soybean*, Genetics, 1992, **132**:1131-1139.
11. Jordan S.A., Humphries P., *Single nucleotide polymorphism in exon 2 of the BCP gene on 7q31-q35*, Hum. Mol. Genet., 1994, **3**:1915.
12. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D., *Genome fingerprinting by simple sequence repeats (SSR)-anchored PCR amplification*, Genomics, 1994, **20**:176-183.
13. Vu Thi Thu Hien, Dinh Thi Phong, *Genetic diversity among endangered rare Dalbergia cochinchinensis (Fabaceae) genotypes in Vietnam revealed by random amplified polymorphic DNA (RAPD) and inter simple sequence repeats (ISSR) markers*, Afri J Biotechnol, 2012, **11**(35):8632-8644.
14. Nguyen Minh Tam, Vu Dinh Duy, Nguyen Minh Duc, *Preserve of threatened conifers (Cupressaceae) in Vietnam*, Curr Res J Biol Sci, 2013, **5**(4):141-148.
15. Nguyen Minh Tam, Vu Dinh Duy, Nguyen Minh Duc, Vu Dinh Giap, *Genetic diversity in the natural populations of Dipterocarpus costatus (Dipterocarpaceae)*, Res J Biotechnol., 2014, **9**(8):14-19.
16. Dinh Thi Phong, Vu Thi Thu Hien, Tran Thi Lieu, Nguyen Tien Hiep, *Genetic diversity in the natural populations of Pinus dalatensis Ferre' (Pinaceae) assessed by SSR markers. Journal of Science and Technology*, 2016, **54**(2):178-189
17. Trang N.T.P., Triest L., *Genetic structure of the threatened Hopea chinensis in the Quang Ninh province, Vietnam*, Genet Mol Res, 2016, **15**(2):1-13.
18. Dinh Duy Vu, Thi Tuyet Xuan Bui, Minh Tam Nguyen, Dinh Giap Vu, Minh Duc Nguyen, Van Thang Bui, Xiaohua Huang, Yi Zhang, *Genetic diversity in two threatened species in Viet Nam: Taxus chinensis and Taxus wallichiana*, Journal of Forestry Research, 2017, **28**(2):265-272.
19. Dinh Duy Vu, Thi Tuyet Xuan Bui, Minh Duc Nguyen, Syed Noor Muhammad Sha, Dinh Giap Vu, Yi Zhang, Minh Tam Nguyen, Xiao Hua Huang, *Genetic diversity and conservation implication of the threatened dipterocarps (Dipterocarpaceae) in southeast Vietnam. Journal of Forestry Research*, 2018, <https://doi.org/10.1007/s11676-018-0735-1>. First Online: 02 July 2018.
20. Nguyen Duc Thanh, Nguyen Thi Kim Lien, Pham Quang Chung, Tran Quoc Trong, Le Thi Bich Thuy, Henry Nguyen, *Mapping QTLs associated with root traits related to drought resistance in Vietnamese upland rice*, Asean Journal on Sci. & Tech. for Development (AJSTD), 2006, **23**(4):323-332.
21. Nguyen Thi Lang, Bui Chi Buu, *Fine mapping for drought tolerance in rice (Oryza sativa L.)*, Omonrice, 2008, **16**:9-15.

22. Nguyen Thi Lang, Nguyen Van Tao, Bui Chi Buu, *Marker-assisted backcrossing (MAB) for rice submergence tolerance in Mekong Delta*. Omonrice, 2011, **18**:11-21.
23. Nguyễn Thị Kim Liên, Nông Văn Hải, Nguyễn Đức Thành, *Kết quả bước đầu của việc ứng dụng chỉ thị SSR trong chọn dòng chịu hạn ở lúa cạn*, Báo cáo Khoa học, Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc, Hà Nội, 2003, tr. 898-901.
24. Beebe T., Rowe G., *An Introduction to Molecular Ecology*, 2nd ed. New York, NY: Oxford University Press, 2008.
25. Behura S.K., *Molecular Marker Systems in Insects: Current Trends and Future Avenues*, Molecular Ecology, 2006, **15**:3087-3113.
26. Monsen-Collar K.J., Dolcemascolo P., *Using Molecular Techniques to Answer Ecological Questions*, Nature Education Knowledge, 2010, **3**(10):1.
27. Wilson M.J., Weightman A.J., Wade W.G., *Applications of molecular ecology in the characterization of uncultured microorganisms associated with human disease*, Reviews in medical microbiology, 1997, **8**(2):91-10.
28. Christiansen D.G., Reyer H.U., *Effects of geographic distance, sea barriers and habitat on the genetic structure and diversity of all-hybrid water frog populations*. Heredity, 2011, **106**:25-36.
29. Huang H., Wang H., Li L., Wu Z., Chen J., *Genetic diversity and population demography of the Chinese crocodile lizard (Shinisaurus crocodilurus) in China*, PLoS ONE, 2014, **9**(3):e91570.
30. Hoffmann A., Plötner J., Pruvost N.B.M., Christiansen D.G., Röthlisberger S., Choleva L., Mikulíček P., Cogălniceanu D., SasKovács I., Shabanov D., MorozovLeonov S., Reyer H., *Genetic diversity and distribution patterns of diploid and polyploid hybrid water frog populations (Pelophylax esculentus complex) across Europe*, Molecular Ecology, 2015, **24**:4371-4391.
31. Pepper M., Hamilton D.G., Merkling T., Svedin N., Cser B., Catullo R.A., Pryke S.R., Keogh J.S., *Phylogeographic structure across one of the largest intact tropical savannahs: Molecular and morphological analysis of Australia's iconic frilled lizard Chlamydosaurus kingie*, Molecular Phylogenetics and Evolution, 2017, **106**:217-227.
32. Lebas N., Spencer P.B.S., *Polymorphic microsatellite markers in the ornate dragon lizard, Ctenophorus ornatus*, Molecular Ecology, 2000, **9**:365-378.
33. Gao J., Qiye L.Q., Wang Z., Zhou Y., Martelli P., Li F., Xiong Z., Wang J., Yang H., Zhang G., *Sequencing, de novo assembling, and annotating the genome of the endangered Chinese crocodile lizard Shinisaurus crocodilurus*, Gigascience, 2017, **6**:1-6.
34. Frere C.H., Prentis P.J., Ezaz T., Georges A., *Isolation and characterisation of novel microsatellite and mitochondrial DNA markers for the Eastern Water Dragon (Physignathus lesueurii)*, Conservation Genet Resour, 2012, **4**:113-116.

35. Melville J., Shoo L.P., Doughty P., *Phylogenetic relationships of the heath dragons (Rankinia adalaidensis and R. parviceps) from the south-western Australian biodiversity hotspot*, Australian Journal of Zoology, 2008, **56**:159-171.
36. Amer SAM, Kumazawa Y, *The mitochondrial genome of the lizard Calotes versicolor and a novel gene inversion in South Asian Draconine Agamids*, Mol. Biol. Evol, 2007, **24**(6):1330-1339.
37. Ujvari B., Downton M., Madsen T., *Population genetic structure, gene flow and sex-biased dispersal in frillneck lizards (Chlamydosaurus kingii)*, Molecular Ecology, 2008, **17**:3557-3564.
38. Nguyen T.T., Matsui M., Eto K., Nikolai Orlov N., *A preliminary study of phylogenetic relationships and taxonomic problems of Vietnamese Rhacophorus (Anura: Rhacophoridae)*. Russian Journal of Herpetology, 2014, **21**(4):274-280
39. Nguyen T.T., Matsui M., Eto K., *Mitochondrial phylogeny of an Asian tree frog genus Theloderma (Anura: Rhacophoridae)*, Molecular Phylogenetics and Evolution, 2015, **85**:59-67.
40. Takeuchi H., Savitzky A.H., Ding L., Silva A.D., Das I., Nguyen T.T., Tsai T.S., Jono T., Zhu G.X., Mahaulpatha D., Tang Y., Mori A., *Evolution of nuchal glands, unusual defensive organs of Asian natricine snakes (Serpentes: Colubridae), inferred from a molecular phylogeny*, Ecology and Evolution. 2018, p.1-14.
41. Nguyễn Thị Thắm, Ngô Thị Hạnh, Nguyễn Quảng Trường, Thomas Ziegler, Mona Van Schingen, Nguyễn Thị Hồng Vân, Lê Đức Minh, *Sử dụng chỉ thị Microsatellite trong nghiên cứu quần thể loài thằn lằn cá sấu (Shinisaurus crocodilurus Ahl, 1930) tại Việt Nam*, Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Các Khoa học Trái đất và Môi trường, 2017, **33**(1S):100-108.
42. Wei X.X., Yang Z.Y., Li Y., Wang X.Q., *Molecular phylogeny and biogeography of Pseudotsuga (Pinaceae): Insights into the floristic relationship between Taiwan and its adjacent areas*, Molecular Phylogenetics and Evolution, 2010, **55**:776-785.
43. Tamaki S., Isoda K., Takahashi M., Yamada Y., Yamashita Y., *Genetic structure and diversity in relation to the recently reduced population size of the rare conifer, Pseudotsuga japonica, endemic to Japan*, Conservation Genetics, 2018, **19**(5):1243-1255
44. Castelan P.M., Cruz M.C., Castillo M.C.M., Izquierdo S.C., Upton J.L., Padilla IS., Cruz V.G., *Diversity and genetic structure inferred with microsatellites in natural populations of Pseudotsuga menziesii (Mirb.) Franco (Pinaceae) in the central region of Mexico*, Forests, 2019, **10**:101.
45. Ho C.S., Shih H.C., Liu H.Y., Chiu S.T., Chen M.H., Ju L.P., KoY.Z., Shih Y.S., Chen C.T., Hsu T.W., Chiang Y.C., *Development and characterization of 16 polymorphic microsatellite markers from Taiwan cow-tail fir, Keteleeria davidiana var. formosana (Pinaceae) and cross-species amplification in other Keteleeria taxa*, BMC Research Notes, 2014, **7**:255.

SUMMARY

MOLECULAR ECOLOGY: SOME THEORETICAL CHALLENGES AND APPLICATIONS

With the development of molecular marker technology in the 1980s, specially their applications solving basic questions and ecological research. To explore the knowledge about molecular ecology, several reviews have been published in the last three decades. The molecular markers have been widely used in study and selection of plants and animals. Molecular marker used in studies of genetic diversity, phylogeny, classification, gene tagging and identification; in germplasm and marker assisted selection. The presence of various types of molecular marker, and differences in their principles, methodologies, and applications require careful consideration in choosing one or more of such methods. Meanwhile, no molecular marker is available that fulfill all requirements needed by researchers. Depending on the nature of each study, one can choose among the variety of molecular marker techniques, each of which combines at least some desirable properties. However, all these reviews were meant for researchers with advanced knowledge of molecular genetics (gene identification and gene mapping), genetic diversity and structure of population, phylogenetic relationship and breeding (plant and animal). This review will provide better understanding in science and technology about recent developments in molecular markers, their applications and possibly devoted to early researchers with a little or no knowledge of molecular markers.

Keywords: Molecular marker, chỉ thị phân tử, sinh thái, ứng dụng.

Nhận bài ngày 11 tháng 9 năm 2019

Phản biện xong ngày 18 tháng 10 năm 2019

Hoàn thiện ngày 20 tháng 10 năm 2019

⁽¹⁾ *Viện Sinh thái Nhiệt đới, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga*