

NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN CÂY DẦU NƯỚC (*DIPTEROCARPACEAE ALATUS*)

Quách Thị Liên¹, Nguyễn Hoàng Nghĩa², Nguyễn Đức Thành¹

¹Viện Công nghệ sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn

TÓM TẮT

Đa hình DNA lục lạp đã được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu liên quan tới quá trình tiến hóa phân tử của genome lục lạp ở các loài thực vật bậc cao. Các đặc điểm tiến hóa phân tử này trở nên hữu ích cho các nghiên cứu ở cấp độ loài và dưới loài về đa dạng di truyền, xác định mối quan hệ địa lý. Trong nghiên cứu này, các chỉ thị SSR và SSR lục lạp (cpSSR - chloroplast simple sequence repeat) được sử dụng để phân tích mức độ đa dạng di truyền của 30 mẫu Dầu nước thu từ các xuất xứ khác nhau. Kết quả chỉ ra rằng, từ các phản ứng của 5 cặp mồi cpSSR với 30 mẫu Dầu nước cho 7 allele đa hình trong tổng số 10 allele nhận được, tỷ lệ đa hình của các cặp mồi dao động từ 0 đến 100%. Và từ các phản ứng của 6 cặp mồi SSR với 30 mẫu Dầu nước cho 9 allele đa hình trong tổng số 12 allele, tỷ lệ đa hình cũng dao động từ 0 đến 100%. Một số mẫu Dầu nước có cùng xuất xứ có mức độ tương đồng di truyền cao. Tuy nhiên, một số mẫu Dầu nước khác có cùng xuất xứ nhưng có mức độ quan hệ di truyền thấp. Ngược lại, một số mẫu khác nhau về nguồn gốc lại có mức độ quan hệ di truyền cao. Đây có thể là kết quả của sự di chuyển các mẫu Dầu nước từ vùng địa lý này sang vùng địa lý khác trong quá trình phục hồi và trồng mới. Trên cơ sở phân tích UPGMA của các cặp mồi cpSSR và SSR lập biểu đồ quan hệ di truyền có thể chia các mẫu Dầu nước thành hai nhóm lớn. Nhóm I chỉ gồm 4 mẫu Dầu nước DN1, DN2, DN3 và DN4 (Gia Lai, Ninh Thuận) với mức độ tương đồng di truyền cao (0,86 - 1,00). Nhóm II gồm hầu hết các mẫu Dầu nước còn lại. Mẫu Dầu nước DN27 (xuất xứ từ Yokdon-Đắk Lắk) nằm tách biệt với cả hai nhóm và mức độ quan hệ di truyền thấp. Kết quả nghiên cứu này có thể làm cơ sở cho sự phát triển các phương hướng bảo tồn cây Dầu nước.

Từ khóa: Bảo tồn, cây Dầu nước, đa dạng di truyền, SSR, SSR lục lạp

MỞ ĐẦU

Các cây họ Dầu (*Dipterocarpaceae*) gồm những loài cây gỗ lớn có giá trị kinh tế đang chiếm thị phần lớn trên thị trường gỗ thế giới. Các cây họ Dầu đã tạo nên một họ thực vật độc đáo và nổi tiếng nhất của vùng nhiệt đới.

Đặc biệt, đối với cây Dầu nước (*Dipterocarpaceae alatus*), gỗ Dầu nước sử dụng nhiều trong công nghiệp và xây dựng như làm cột, ván, đồ gia dụng, chế biến ván ép, ván sàn. Nhựa chiết xuất từ Dầu nước dùng trong công nghiệp sản xuất sơn, vecni và sơn mài; tinh dầu được dùng làm chất định hương trong nước hoa. Nhựa của cây Dầu nước còn được dùng làm chất chống thấm vỏ thuyền (Nguyễn Hoàng Nghĩa, 2005).

Với khoảng 580 loài nằm trong 15 chi, cây họ Dầu được phân bố chủ yếu ở khu vực Đông nam Á (Ashton, 1982; <http://vi.wikipedia.org/wiki/Dipterocarpaceae>). Tuy nhiên, ở nước ta, cây Dầu nước chỉ còn gặp nhiều trong các khu bảo tồn đã

được quy hoạch vì trong những năm vừa qua do chiến tranh tàn phá, nạn chặt phá rừng, khai thác quá mức, mà diện tích rừng hỗn giao cây họ Dầu nói chung và cây Dầu nước nói riêng đã suy giảm nghiêm trọng. Với tình trạng khai phá như hiện nay thì nhiều rừng Dầu còn lại sẽ biến mất. Theo Nguyễn Duy Chuyên và Ngô An (1995), Viện Điều tra quy hoạch cây rừng, ở thời điểm năm 1959, diện tích các loại cây rừng có cây họ Dầu ở Đông Nam Bộ chiếm 49% diện tích toàn vùng, đến năm 1968 đã giảm xuống còn 36%, năm 1982 giảm còn 18% và năm 1992 chỉ còn 8%. Xét ở quy mô quốc gia, tài nguyên di truyền của loài cây này đã bị suy kiệt mạnh. Do vậy, việc bảo tồn các cây họ Dầu nói chung và cây Dầu nước nói riêng là rất cấp thiết. Để đưa ra những phương hướng tối ưu trong công tác bảo tồn, việc nghiên cứu mức độ đa dạng di truyền về nguồn gen cây Dầu nước hết sức cấp bách.

Ngày nay, cùng với sự ra đời của các kỹ thuật chỉ thị phân tử, từ những năm 1980 đã đem đến những sự tiến bộ ở tất cả các lĩnh vực của sinh học hiện đại, trong đó chỉ thị phân tử đóng vai trò ngày

càng quan trọng trong nghiên cứu đa dạng di truyền, sự phát sinh chủng loại, sự tiến hóa giữa các loài và các giống (Nguyễn Đức Thành, 1999). Đặc biệt, đa hình DNA lục lạp đã được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu liên quan tới quá trình tiến hóa phân tử của genome lục lạp ở các loài thực vật bậc cao. Ưu điểm của nó so với DNA nhân là tính bảo thủ cao trong thiên nhiên, có kích thước nhỏ và tần số đột biến thấp hơn nhiều DNA nhân (Verdramin *et al.*, 1996; Weising *et al.*, 1999). Các đặc điểm tiến hóa phân tử này trở nên hữu ích cho các nghiên cứu ở cấp độ loài và dưới loài về đa dạng di truyền, xác định mối quan hệ địa lý. Nghiên cứu này sử dụng các chỉ thị SSR lục lạp (cpSSR – chloroplast simple sequence repeat) và SSR để phân tích mức độ đa dạng di truyền của các cây Dầu nước từ các xuất xứ khác nhau. Từ đó đưa ra những định hướng bảo tồn nguồn gen cây Dầu nước thích hợp.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Ba mươi mẫu lá Dầu nước thu thập từ các xuất

xứ khác nhau (Phú Yên, Đồng Nai, Bà Rịa - Vũng Tàu - Vũng Tàu, Đắk Lắk, Ninh Thuận) do Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam cung cấp (Bảng 1). Mỗi mẫu gồm 5 - 7 g lá của một cây.

Năm mẫu cpSSR và 6 mẫu SSR sử dụng trong nghiên cứu đa dạng di truyền cây Dầu nước được cung cấp bởi hãng Fermentas, Đức (Bảng 2) theo trình tự đã công bố (Cho *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 2004).

Phương pháp

Phương pháp tách chiết DNA genome được tiến hành theo Saghai Maroof và đồng tác giả (1994).

Kỹ thuật PCR với các mẫu cpSSR và SSR: Phản ứng PCR của DNA genome của các cây Dầu nước từ các xuất xứ khác nhau với các mẫu cpSSR và SSR được tiến hành với tổng thể tích là 25 μ l/mẫu gồm DNA genome (20 ng); mỗi (10 ng); dNTP (100 mM); MgCl₂ (2 mM); 0,5 đơn vị *Taq* polymerase. Sản phẩm PCR được kiểm tra sự đa hình trên gel agarose 1% và gel polyacrylamide 5%. Phân tích số liệu bằng phần mềm NTSYS-pc. Version 2.0 (Rohlf, 1993).

Bảng 1. Danh sách mẫu Dầu nước từ các xuất xứ.

STT	Kí hiệu	Xuất xứ	STT	Kí hiệu	Xuất xứ
1	DN1	Krong Pa – Gia Lai	16	DN16	Phú Yên 1
2	DN2	Ngoạn Mục 1 – Ninh Thuận	17	DN17	Phú Yên 2
3	DN3	Ngoạn Mục 2 – Ninh Thuận	18	DN18	Phú Yên 3
4	DN4	Ngoạn Mục 3 – Ninh Thuận	19	DN19	Phú Yên 4
5	DN5	Ngoạn Mục 4 – Ninh Thuận	20	DN20	Phú Yên 5
6	DN6	Cát Tiên 1 - Đồng Nai	21	DN21	Xuân Sơn 1 - Bà Rịa - Vũng Tàu
7	DN7	Cát Tiên 2 - Đồng Nai	22	DN22	Xuân Sơn 2 - Bà Rịa - Vũng Tàu
8	DN8	Cát Tiên 3 - Đồng Nai	23	DN23	Xuân Sơn 3 - Bà Rịa - Vũng Tàu
9	DN9	Cát Tiên 4 - Đồng Nai	24	DN24	Xuân Sơn 4 - Bà Rịa - Vũng Tàu
10	DN10	Cát Tiên 5 - Đồng Nai	25	DN25	Xuân Sơn 5- Bà Rịa - Vũng Tàu
11	DN11	Đất Đỏ - Bà Rịa - Vũng Tàu	26	DN26	Yokdon 1 – Đắk Lắk
12	DN12	An Ngãi - Bà Rịa - Vũng Tàu	27	DN27	Yokdon 2 – Đắk Lắk
13	DN13	Bình Châu 1 - Bà Rịa - Vũng Tàu	28	DN28	Yokdon 3 – Đắk Lắk
14	DN14	Bình Châu 2 - Bà Rịa - Vũng Tàu	29	DN29	Yokdon 4 – Đắk Lắk
15	DN15	Bình Châu 3 - Bà Rịa - Vũng Tàu	30	DN30	Yokdon 5 – Đắk Lắk

Ghi chú: Ký hiệu 30 mẫu Dầu nước đánh số theo thứ tự từ 1 - 30 được sử dụng trong các hình ảnh minh họa ở phần kết quả.

Bảng 2. Kích thước mỗi cpSSR và SSR.

STT	Mỗi	Kích thước (bp)	STT	Mỗi	Kích thước (bp)
1	CpSSR		6	SSR	
	<i>Rct1</i>	103		<i>Hbi019</i>	99 - 123
2		122	7	<i>Hbi161</i>	110 - 128
3	<i>Rct4</i>	128	8	<i>Hbi221</i>	178 - 187
4	<i>Rct7</i>	126	9	<i>Hbi204</i>	100 - 142
5	<i>Rct8</i>	131	10	<i>Hbi247</i>	131 - 145
			11	<i>Hbi316</i>	165 - 198

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Phân tích đa hình di truyền DNA các mẫu Dầu nước

Trong nghiên cứu, sử dụng các chi thị SSR dựa trên các cặp mỗi đặc hiệu để nhận các phân đoạn trình tự SSR. Sự thay đổi các allele xảy ra ở locus SSR là kết quả của sự thay đổi số lần lặp lại của các đơn vị một cách ngẫu nhiên. Sự khác nhau về độ dài ở locus SSR được phát hiện bởi sự nhân DNA nhờ PCR dùng các cặp mỗi có trình tự bổ sung với SSR. Sản phẩm được kiểm tra trên gel agarose 1%.

Để đánh giá sự khác nhau về số lượng, độ dài các đoạn trình tự lặp lại có trong hệ gen thì việc kiểm tra đánh giá trên gel agarose 1% sẽ không quan sát và xác định được do sự khác biệt về độ dài, số lượng là rất nhỏ. Do đó, chúng tôi đã chọn phương pháp điện di trên gel polyacrylamide. Kết quả được minh họa ở hình 1.

Kết quả điện di trên gel polyacrylamide các sản phẩm PCR đã cho thấy các locus có nhiều allele với các kích thước khá nhỏ và số lượng khác nhau. Theo chúng tôi đây là kết quả của sự thay đổi số lần lặp lại của các đơn vị một cách ngẫu nhiên. Kết quả được trình bày trong bảng 3.

Phân tích đa hình phân tử mẫu Dầu nước với các cặp mỗi cpSSR nhận được 7 allele đa hình trong tổng số 10 allele từ phản ứng PCR-DNA genome của 5 cặp mỗi cpSSR với 30 mẫu Dầu nước. Hầu hết các mẫu cho số lượng allele thấp, trung bình 2 allele. Cặp mỗi *Rct1* chỉ cho 1 allele và không cho allele đa hình, tỷ lệ đa hình là 0%. Hai cặp mỗi *Rct2* và *Rct8* đều cho 2 allele và là 2 allele đa hình nên tỷ lệ đa hình là 100%. Cặp mỗi *Rct7* cho 2 allele và chỉ cho 1 allele đa hình, tỷ lệ đa hình là 50%. Cặp mỗi *Rct4* cho số allele nhiều nhất (3 allele) và cho 2 allele đa hình, tỷ lệ đa hình là 66,66%.

Ở các mỗi SSR, trong tổng số 12 allele nhận được có 9 allele đa hình từ phản ứng PCR-DNA

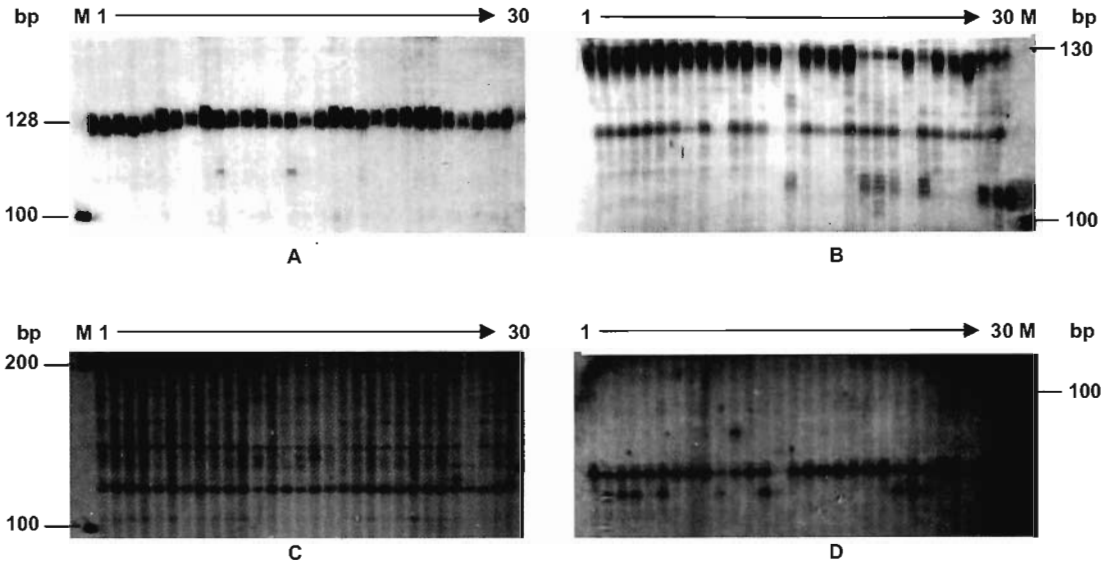
genome của 6 mỗi SSR với 30 mẫu Dầu nước, các mỗi khác nhau thì cho tỷ lệ đa hình là khác nhau. Mỗi *Hbi221* cho 1 allele và không cho allele đa hình, tỷ lệ đa hình là 0%. Hai mỗi SSR là *Hbi316* và *Hbi204* cho 2 allele và tỷ lệ đa hình là 100%. Mỗi *Hbi161* cho số allele nhiều nhất (3 allele) và cả 3 allele đa hình. Mỗi *Hbi221* cho duy nhất một allele và không cho đa hình.

Qua kết quả phân tích đa hình phân tử cho thấy tỷ lệ đa hình của các cặp mỗi là rất khác nhau. Các mỗi cpSSR và SSR là phù hợp cho việc phân tích đa hình di truyền các cây Dầu nước.

Phân tích mối quan hệ di truyền mẫu Dầu nước

Các allele đa hình dựa trên phân tích PCR-cpSSR và PCR-SSR được ghi nhận dựa trên sự có mặt hay vắng mặt của chúng. Nếu có ký hiệu là 1, không có thì ký hiệu là 0. Để phân tích mối tương quan giữa các đối tượng nghiên cứu, các số liệu được xử lý bằng chương trình phần mềm NTSYS-pc. Version 2.0 (Rohlf, 1993). Kết quả đánh giá sự đa hình được trình bày trong hình 2.

Dựa vào hệ số tương đồng và biểu đồ quan hệ di truyền cho thấy hầu hết các mẫu Dầu nước có mối tương đồng di truyền gần nhau, cụ thể là hầu hết các hệ số tương đồng di truyền $\geq 0,60$. Đặc biệt, các mẫu Dầu nước có cùng nguồn gốc có mức độ tương đồng di truyền cao theo từng cặp hoặc từng nhóm. Ví dụ, nhóm mẫu Dầu nước có nguồn gốc từ Ngọn Mực - Ninh Thuận, KrongPa - Gia Lai (DN1, DN2, DN3 và DN4) nằm cùng trong một nhóm và có hệ số tương đồng di truyền cao 0,86 - 1,00; Các cặp mẫu Dầu nước từng đôi một có cùng xuất xứ có độ tương đồng di truyền cao như mẫu thu từ Xuân Sơn - Bà Rịa - Vũng Tàu (DN21, DN22) và (DN24, DN25); mẫu thu từ Bình Châu và mẫu Dầu nước thu từ Đất Đỏ, cùng thuộc Bà Rịa - Vũng Tàu (DN11, DN15); hay cặp mẫu Dầu nước thu từ Yordon - Đắk Lắk (DN26, DN30), các cặp này có hệ số tương đồng di truyền $\geq 0,80$. Điều này chứng tỏ các cặp Dầu nước này có cùng xuất xứ thì gần nhau về mặt di truyền.



Hình 2. Điện di trên gel polyacrylamide sản phẩm PCR của DNA genome với các môi A: Rct 4; B: Rct 8; C: Hbi 247; D: Hbi 161. 1 - 30. Tương ứng với thứ tự của 30 mẫu Dầu nước được ký hiệu từ DN1 - DN30 trình bày trong bảng 1. M. Marker.

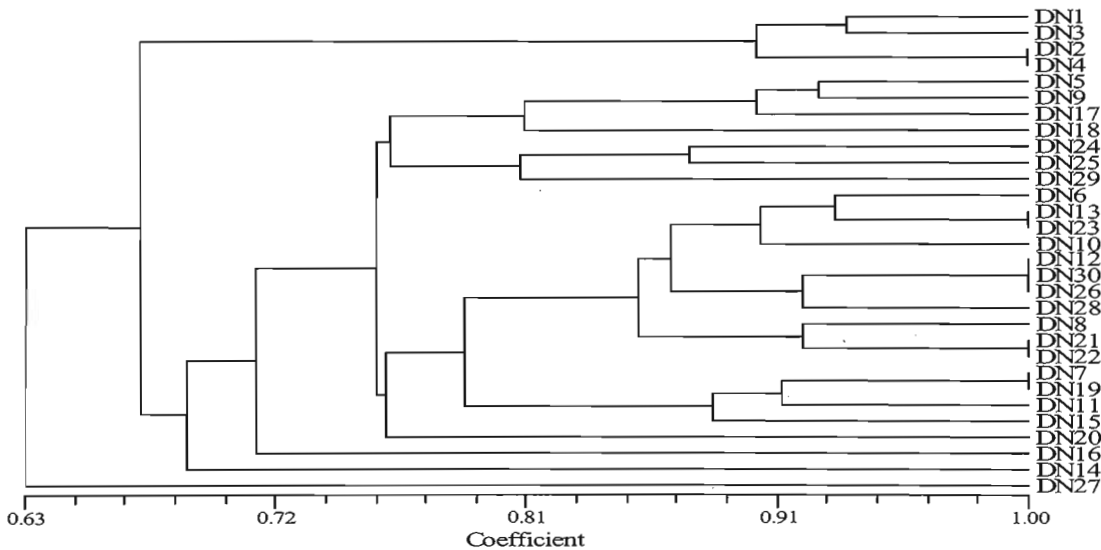
Bảng 3. Tỷ lệ đa hình của các môi cpSSR và SSR với các mẫu Dầu nước.

STT	Môi	Số mẫu Dầu nước	Số allele	Allele đa hình	Tỷ lệ đa hình (%)
1	cpSSR <i>Rct1</i>	30	1	0	0
2	<i>Rct2</i>	30	2	2	100
3	<i>Rct4</i>	30	3	2	66,66
4	<i>Rct7</i>	30	2	1	50
5	<i>Rct8</i>	30	2	2	100
Tổng			10	7	
STT	Môi	Số mẫu Dầu nước	Số allele	Allele đa hình	Tỷ lệ đa hình (%)
1	SSR <i>Hbi019</i>	30	2	1	50
2	<i>Hbi316</i>	30	2	2	100
3	<i>Hbi247</i>	30	2	1	50
4	<i>Hbi161</i>	30	3	3	100
5	<i>Hbi204</i>	30	2	2	100
6	<i>Hbi221</i>	30	1	0	0
Tổng			12	9	

Bảng 4. Hệ số tương đồng di truyền các mẫu Dầu nước.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
1	1.00																													
2	0.86	1.00																												
3	0.93	0.93	1.00																											
4	0.86	1.00	0.93	1.00																										
5	0.80	0.68	0.75	0.68	1.00																									
6	0.75	0.75	0.81	0.75	0.80	1.00																								
7	0.71	0.60	0.66	0.60	0.76	0.71	1.00																							
8	0.78	0.66	0.73	0.66	0.84	0.78	0.90	1.00																						
9	0.73	0.62	0.68	0.62	0.92	0.73	0.83	0.91	1.00																					
10	0.62	0.62	0.68	0.62	0.66	0.85	0.69	0.76	0.71	1.00																				
11	0.66	0.56	0.62	0.56	0.71	0.78	0.90	0.83	0.76	0.76	1.00																			
12	0.73	0.62	0.68	0.62	0.78	0.85	0.83	0.91	0.84	0.84	0.91	1.00																		
13	0.68	0.68	0.75	0.68	0.73	0.92	0.76	0.84	0.78	0.92	0.84	0.92	1.00																	
14	0.56	0.47	0.52	0.47	0.60	0.66	0.75	0.69	0.64	0.64	0.83	0.76	0.71	1.00																
15	0.66	0.56	0.62	0.56	0.71	0.66	0.90	0.83	0.76	0.64	0.83	0.76	0.71	0.83	1.00															
16	0.75	0.61	0.69	0.61	0.81	0.75	0.80	0.80	0.72	0.58	0.72	0.72	0.66	0.58	0.72	1.00														
17	0.66	0.53	0.61	0.53	0.90	0.72	0.70	0.80	0.90	0.80	0.70	0.80	0.72	0.54	0.63	0.75	1.00													
18	0.68	0.58	0.64	0.58	0.85	0.80	0.76	0.71	0.78	0.66	0.84	0.78	0.73	0.71	0.71	0.75	0.80	1.00												
19	0.71	0.60	0.66	0.60	0.76	0.71	1.00	0.90	0.83	0.69	0.90	0.83	0.76	0.75	0.90	0.80	0.70	0.76	1.00											
20	0.73	0.73	0.68	0.73	0.78	0.85	0.69	0.76	0.71	0.71	0.76	0.84	0.78	0.64	0.64	0.72	0.70	0.78	0.69	1.00										
21	0.73	0.73	0.80	0.73	0.78	0.85	0.83	0.91	0.84	0.84	0.76	0.84	0.92	0.64	0.76	0.72	0.72	0.66	0.83	0.71	1.00									
22	0.73	0.73	0.80	0.73	0.78	0.85	0.83	0.91	0.84	0.84	0.76	0.84	0.92	0.64	0.76	0.72	0.72	0.66	0.83	0.71	1.00	1.00								
23	0.68	0.68	0.75	0.68	0.73	0.92	0.76	0.84	0.78	0.92	0.84	0.92	1.00	0.71	0.71	0.66	0.72	0.73	0.76	0.78	0.92	0.92	1.00							
24	0.70	0.70	0.76	0.70	0.75	0.81	0.66	0.73	0.80	0.80	0.73	0.80	0.86	0.62	0.62	0.57	0.75	0.75	0.66	0.68	0.80	0.80	0.86	1.00						
25	0.81	0.70	0.76	0.70	0.86	0.81	0.66	0.73	0.80	0.68	0.73	0.80	0.75	0.62	0.62	0.69	0.81	0.86	0.66	0.80	0.68	0.68	0.75	0.87	1.00					
26	0.73	0.62	0.68	0.62	0.78	0.85	0.83	0.91	0.84	0.84	0.91	1.00	0.92	0.76	0.76	0.72	0.80	0.78	0.83	0.84	0.84	0.84	0.92	0.80	0.80	1.00				
27	0.57	0.46	0.53	0.46	0.61	0.69	0.58	0.66	0.61	0.61	0.66	0.75	0.69	0.53	0.53	0.60	0.63	0.61	0.58	0.66	0.61	0.61	0.69	0.60	0.64	0.75	1.00			
28	0.66	0.56	0.62	0.56	0.71	0.78	0.75	0.83	0.76	0.76	0.83	0.91	0.84	0.69	0.69	0.63	0.80	0.71	0.75	0.76	0.76	0.76	0.84	0.73	0.73	0.91	0.81	1.00		
29	0.75	0.64	0.70	0.64	0.68	0.75	0.71	0.78	0.73	0.73	0.78	0.85	0.80	0.66	0.66	0.61	0.66	0.68	0.71	0.73	0.73	0.73	0.80	0.81	0.81	0.85	0.64	0.78	1.00	
30	0.73	0.62	0.68	0.62	0.78	0.85	0.83	0.91	0.84	0.84	0.91	1.00	0.92	0.76	0.76	0.72	0.80	0.78	0.83	0.84	0.84	0.84	0.92	0.80	0.80	1.00	0.75	0.91	0.85	1.00

Ghi chú: số 1 – 30 tương ứng với thứ tự của 30 mẫu Dầu nước được ký hiệu là DN1 đến DN30 trình bày trong bảng 1.



Hình 2. Biểu đồ quan hệ di truyền của các mẫu Dầu nước từ các xuất xứ khác nhau. Tên 30 mẫu Dầu nước được ký hiệu là DN1 đến DN30 theo thứ tự trong bảng 1.

Tuy nhiên, phân tích hệ số tương đồng và biểu đồ quan hệ di truyền nhận thấy một số mẫu Dầu nước có nguồn gốc khác nhau cũng có mức độ tương đồng di truyền cao. Ví dụ, mẫu Dầu nước từ Bình Châu (DN13) và mẫu xuất xứ từ Xuân Sơn - Bà Rịa - Vũng Tàu (DN23) có mức tương đồng di truyền gần với nhóm mẫu xuất xứ từ Cát Tiên - Đồng Nai (DN6, DN10), hệ số tương đồng dao động từ 0,85 - 1,00; Nhóm mẫu xuất xứ từ Yordon - Đăk Lăk (DN26, DN28, DN30) với mẫu Dầu nước từ An Ngãi - Bà Rịa - Vũng Tàu (DN12), hệ số tương đồng từ 0,91 - 1,00. Hoặc mẫu Dầu nước từ Cát Tiên - Đồng Nai (DN7) và mẫu xuất xứ từ Phú Yên (DN19) có mối tương đồng di truyền gần với nhóm từ Đất Đỏ, Bình Châu - Bà Rịa - Vũng Tàu, hệ số tương đồng di truyền dao động trong khoảng 0,83 - 1,00. Hay mẫu Dầu nước từ Cát Tiên - Đồng Nai (DN8) tương đồng di truyền cao với nhóm Dầu nước xuất xứ từ Xuân Sơn - Bà Rịa - Vũng Tàu (DN21, DN22), hệ số tương đồng dao động từ 0,91 - 1,00.

Trên cơ sở phân tích mức độ tương đồng và biểu đồ quan hệ di truyền giữa các mẫu Dầu nước có thể phân chia các mẫu Dầu nước thành hai nhóm lớn, nhóm I và nhóm II. Nhóm I chỉ gồm 4 mẫu Dầu nước có cùng nguồn gốc xuất xứ là DN1, DN2, DN3, DN4 (từ Krong Pa - Gia Lai, Ngọn Mực - Ninh Thuận), hệ số tương quan di truyền cao từ 0,86 - 1,00. Mẫu Dầu nước xuất xứ từ Yordon - Đăk Lăk (DN27) nằm tách riêng với các mẫu Dầu nước khác, mức độ tương đồng di truyền rất thấp (0,46). Nhóm II chiếm một lượng lớn các mẫu Dầu nước nghiên cứu, là những mẫu còn lại và chia thành hai nhóm nhỏ, II₁ và II₂.

Nhóm II₁ gồm hai tiểu nhóm, tiểu nhóm I gồm mẫu Dầu nước xuất xứ từ Yordon - Đăk Lăk (DN29) và nhóm mẫu xuất xứ Xuân Sơn - Bà Rịa - Vũng Tàu (DN24, DN25), hệ số tương đồng là 0,8; tiểu nhóm 2 gồm mẫu Dầu nước xuất xứ từ Ngọn Mực - Ninh Thuận (DN5) có mức độ tương đồng cao với mẫu Dầu nước xuất xứ từ Cát Tiên - Đồng Nai (DN9) và nhóm mẫu xuất xứ từ Phú Yên (DN17, DN18), hệ số tương đồng dao động từ 0,78 - 0,92.

Nhóm II₂ tập hợp một số lượng lớn các mẫu Dầu nước, trong đó gồm nhiều nhóm nhỏ: nhóm mẫu Dầu nước từ Bình Châu (DN13) và mẫu xuất xứ từ Xuân Sơn - Bà Rịa - Vũng Tàu (DN23) có mức tương đồng di truyền gần với mẫu xuất xứ từ Cát Tiên - Đồng Nai (DN6, DN10); Nhóm mẫu xuất xứ từ Yordon - Đăk Lăk (DN26, DN28, DN30) với mẫu Dầu nước từ An Ngãi - Bà Rịa - Vũng Tàu (DN12); Nhóm mẫu Dầu nước từ Cát Tiên - Đồng Nai (DN8)

tương đồng di truyền cao với mẫu Dầu nước xuất xứ từ Xuân Sơn - Bà Rịa - Vũng Tàu (DN21, DN22); Và nhóm mẫu Dầu nước xuất xứ từ Cát Tiên - Đồng Nai (DN7), Phú Yên (DN19) tương đồng di truyền với mẫu từ Bà Rịa - Vũng Tàu (DN11, DN15).

Trong nhóm II, mẫu Dầu nước DN14 (xuất xứ Bình Châu - Bà Rịa - Vũng Tàu) và DN16 (Phú Yên) nằm tách biệt nhau và tách biệt với các mẫu khác của cả nhóm II, mối quan hệ di truyền thấp.

Mẫu Dầu nước xuất xứ từ Yordon - Đăk Lăk (DN27) có mức độ tương đồng di truyền thấp nhất với tất cả các mẫu Dầu nước. Quan sát trên biểu đồ quan hệ di truyền cho thấy mẫu DN27 nằm độc lập với tất cả, hệ số tương đồng với các mẫu Dầu nước khác thấp tới 0,46.

Từ những kết quả trên cho thấy, một số mẫu Dầu nước có cùng nguồn gốc xuất xứ thì có mối tương đồng di truyền cao. Trong quá trình phục hồi và trồng mới các mẫu Dầu nước ở các vùng địa lý khác nhau, có thể đã có sự di chuyển một số mẫu từ vùng này sang vùng khác nên đã tạo nên các mẫu Dầu nước có nguồn gốc khác nhau cũng có mức độ tương đồng di truyền rất cao. Và ngược lại, các mẫu Dầu nước có cùng nguồn gốc xuất xứ địa lý lại có mức tương đồng di truyền thấp.

Tác giả Cao (2006) khi sử dụng các chỉ thị cpSSR và AFLP nghiên cứu mức độ tương đồng di truyền của các cây họ *Shorea* (Dipterocarpaceae) cũng có kết luận tương tự là có sự tương đồng di truyền trong các quần thể nghiên cứu và cũng có sự khác biệt di truyền trong từng quần thể.

KẾT LUẬN

Phân tích sự thay đổi allele xảy ra ở các locus khi sử dụng chỉ thị cpSSR và SSR cho thấy phụ thuộc vào tính đặc hiệu của từng môi mà cho tỷ lệ đa hình phân tử là rất khác nhau. Tổng số 150 phản ứng của 5 cặp môi cpSSR với 30 mẫu Dầu nước cho 10 allele, trong đó chỉ có 7 allele đa hình, tỷ lệ đa hình của các cặp môi dao động từ 0 đến 100%. Và trong tổng 180 phản ứng của 6 môi SSR với 30 mẫu Dầu nước cho 12 allele, trong đó 9 allele đa hình, tỷ lệ đa hình cũng dao động từ 0 đến 100%. Các chỉ thị cpSSR và SSR rất phù hợp cho việc nghiên cứu phân tích đa hình phân tử cấp độ loài ở các quần thể địa lý khác nhau.

Các mẫu Dầu nước từ các xuất xứ khác nhau khá đa dạng về mặt di truyền. Trong đó, một số mẫu Dầu

nước có cùng xuất xứ địa lý thì có mức độ tương đồng di truyền cao; một số khác có cùng xuất xứ lại có mức độ tương đồng di truyền thấp. Trong quá trình phục hồi và trồng mới, đã có sự di chuyển một số mẫu từ vùng này sang vùng khác nên các mẫu Dầu nước có nguồn gốc khác nhau có mức độ tương đồng di truyền cao; và ngược lại, các mẫu Dầu nước có cùng nguồn gốc lại có mức độ tương đồng di truyền thấp.

Lời cảm ơn: Công trình được hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí của Đề tài nghiên cứu cơ bản 6.106.06 thuộc Chương trình nghiên cứu cơ bản trong khoa học tự nhiên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ashton PS (1982) Dipterocarpaceae. In: Van Steenis CCGJ (ed.) Flora Malesiana I (9): 237-552.
- Cao CP (2006) *Genetic variation of the genus Shorea (Dipterocarpaceae) in Indonesia*. Dissertation. Faculty of Forest Sciences and Forest Ecology, Georg-August University of Göttingen.
- Cho YG, Ishi T, McCouch SR (2000) Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa*. L). *Theor Appl Genet* 100: 697-712.
- <http://vi.wikipedia.org/wiki/Dipterocarpaceae>
- Lee SL, Tani N, Ng KKS, Tsumura Y (2004) Isolation and Characterization of 20 microsatellite loci for an important tropical tree *Shorea leprosula* (Dipterocarpaceae) and their applicability to *S. parvifolia*. *Mol Ecol* 4: 222-225.
- Nguyễn Đức Thành (1999) Ứng dụng và phát triển các chỉ thị sinh học phân tử trong nghiên cứu đa dạng phân tử ở lúa. *Hội nghị Công nghệ sinh học Toàn quốc, Hà Nội*: 1205-1215.
- Nguyễn Duy Chuyên, Ngô An (1995) *Công trình khoa học kỹ thuật điều tra quy hoạch rừng 1991-1995*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.
- Nguyễn Hoàng Nghĩa (2005) *Cây họ Dầu Việt Nam*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.
- Rohlf FJ (1993) NTSYS-pc Numerical taxonomy and multivariate system, Version 2.0. *Applied Biostatistics Inc.*, New York.
- Saghai-Maroo MA, Biyashev RM, Yang GP, Zhang Q, Allard RW (1994) Extraordinary polymorphic microsatellite DNA in barley: species diversity, chromosome location, and population dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 5466-5470.
- Verdramin GG, Lelli L, Rossi P, Morgante M (1996) A set of primers for the amplification of 20 chloroplast microsatellites in *Pinaceae*. *Mol Ecol* 5: 595-598.
- Weising K, Gardner RC (1999) A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms. *Genome* 42: 9-19.

STUDY ON THE GENETIC DIVERSITY OF *DIPTEROCARPACEAE ALATUS*

Quach Thi Lien¹, Nguyen Hoang Nghia², Nguyen Duc Thanh^{1,*}

¹Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology

²Forest Science Institute of Vietnam, Ministry of Agriculture & Rural Development

SUMMARY

Chloroplast DNA polymorphism has been observed in a number of studies relating to the molecular evolution of chloroplast genome in higher plants. The molecular evolutionary characters became more and more useful for studies carried out at the species and subspecies levels on the genetic diversity and identification of geographical relationship. The advent of polymerase chain reaction and SSR markers has allowed the assessment of genetic variation directly at the DNA level. A range of powerful and rapidly developing techniques are now available. In the paper, the results on genetic relationships of 30 *Dipterocarpaceae alatus* samples collected from different locations based on cpSSR and SSR markers are presented. The results showed 5 cpSSR primers with 30 *Dipterocarpaceae alatus* samples giving 7 polymorphic alleles, the ratio of polymorphic ranged from 0 to 100%. 6 SSR primers with 30 *Dipterocarpaceae alatus* samples gave 9 polymorphic alleles, the ratio of polymorphic ranged 0 to 100%. Some of the samples from the same location have a high level of genetic similarity, other some samples, although from the same location, but have a low level of genetic similarity. On the contrary, the similarity levels of some samples from the different locations are high. This could be resulted by the transfer of the trees

* Author for correspondence: Tel/Fax: 84-4-37561662; E-mail: ndthanh127@yahoo.com

from locations to locations in the conservation process and reforestation. The dendrogram created by cpSSR and SSR data using UPGMA method clearly separated all investigated *Dipterocarpaceae alatus* into two major groups. The group I included four *Dipterocarpaceae alatus* samples (DN1, DN2, DN3 and DN4) with the similarity coefficients ranged from 0.86 to 1.00. The DN27 sample (from Yordon – Phu Yen) lied apart from two groups, and the level of genetic similarity was low. The group II comprised of the other *Dipterocarpaceae alatus* samples. The results of this study can be served as a basic for the development of strategies for the conservation of *Dipterocarpaceae alatus*.

Keywords: Chloroplast microsatellites, conservation, *Dipterocarpaceae alatus*, genetic diversity, microsatellites