

PHÂN TÍCH ĐA DẠNG VÀ QUAN HỆ DI TRUYỀN QUẦN THỂ THỦY TÙNG (*GLYPTOSTROBUS PENSILIS*) Ở ĐẮK LẮK BẰNG CHỈ THỊ SSR

Vũ Đình Duy¹, Bùi Thị Tuyết Xuân², Trần Vinh³, Nguyễn Minh Tâm¹

¹Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam

²Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

³Viện Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp Tây nguyên

TÓM TẮT

Đa dạng di truyền và quan hệ di truyền của 40 cây Thủy tùng (*Glyptostrobus pensilis*) thu thập ở 2 huyện Krông Năng và Ea H'Leo của tỉnh Đắk Lắk đã được phân tích dựa vào tính đa hình của chỉ thị SSR. 10 trong tổng số 21 cặp môi SSR kiểm tra đã được sử dụng để đánh giá mức độ đa hình và mối quan hệ di truyền giữa các cá thể loài Thủy tùng. Tổng số 21 allele đã được xác định, với số allele trung bình cho một locus là 2,1. Giá trị PIC (Polymorphic Information Content) dao động từ 0,008 (mỗi Pt 110048) đến 0,229 (mỗi Pt 15169), trung bình 0,122. Phân tích nhóm dùng phương pháp UPGMA trên cơ sở hệ số tương đồng di truyền đã phân biệt 3 nhóm chính. Một nhóm gồm tất cả các cá thể thuộc khu Bảo tồn thiên nhiên Tráp K'Sơ. Các cá thể ở EaRal được tách thành 2 nhóm, trong đó một nhóm với 3 cá thể có quan hệ rất gần nhau, hệ số tương đồng di truyền vượt 90%. Một số giải pháp cho công tác bảo tồn và phục hồi loài Thủy tùng cũng được đề cập.

Từ khóa: Bảo tồn, đa dạng di truyền, *Glyptostrobus pensilis*, SSR, Thủy tùng

MỞ ĐẦU

Cây Thủy tùng hay còn gọi là Thông nước *Glyptostrobus pensilis* (Staun) K.Koch, thuộc họ Hoàng đàn (Cupressaceae) là loài cây gỗ quý đang bị đe dọa tuyệt chủng (Bộ Khoa học và Công nghệ, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 2007). Hiện tại, loài này chỉ phân bố ở Đắk Lắk với số lượng cá thể ít trong một số mảnh rừng thứ sinh bị phân cắt, (Averyanov *et al.*, 2009; Hiep *et al.*, 2004; Nguyễn Hoàng Nghĩa, 2004; Luu, Thomas, 2004). Theo các số liệu điều tra khảo sát của chúng tôi vào tháng 11 năm 2009, số cá thể của loài còn rất ít, khoảng 300 cá thể, tập trung ở 2 mảnh rừng thứ sinh còn sót lại, Tráp K'Sơ (huyện Krông Năng) và EaRal (huyện EaH'leo).

Thủy tùng có rễ thở, chịu được môi trường ngập nước nên thường sống ở vùng núi đất thấp sinh lầy. Cây Thủy tùng phân bố rộng ở Bắc bán cầu vào kỷ Đệ tứ (Florin, 1963; Averyanov *et al.*, 2009). Loài này bị suy giảm mạnh vào kỷ Băng hà, hiện nay, chỉ tồn tại với số lượng ít ở Đông Nam Trung Quốc, Trung Việt Nam và Đông Lào (Farjon, Page, 1999; Li, Xia, 2005). Thủy tùng là loài sinh sản đơn tính và thụ phấn nhờ gió. Trong vài thập kỷ gần đây, dưới áp lực của sự tăng dân số và phát triển kinh tế nhanh, nơi sống của loài này bị suy giảm. Loài cây này đang bị đe dọa tuyệt chủng không chỉ vì có nơi sống bị hẹp và số cá thể còn lại quá ít trong một số mảnh rừng thứ sinh còn sót lại ở Đắk Lắk. Ngoài ra, việc duy trì mực nước cao hàng năm bởi các con đập

giữ nước trong những mảnh rừng này phục vụ nguồn nước để phát triển cây cà phê của vùng cũng ảnh hưởng rất lớn đến khả năng tái sinh của loài cây này. Nhiều cây đã bị chết và không xuất hiện cây tái sinh trong vài chục năm gần đây. Chất lượng hạt kém cũng phổ biến ở khu vực nghiên cứu. Về mặt thương mại, gỗ Thủy tùng chịu được mưa nắng, không bị mối mọt dùng để làm nhà và làm đồ mỹ nghệ. Cành, lá, quả dùng làm thuốc có tác dụng chữa phong, khử thấp, cầm đau.

Thủy tùng có giá trị cao cả về mặt khoa học lẫn kinh tế, như vậy việc bảo tồn và phục hồi loài Thủy tùng là yêu cầu cấp thiết đặt ra cho các nhà khoa học cũng như nhà quản lý. Để góp phần đưa ra các giải pháp bảo tồn và phục hồi loài, đánh giá mức độ đa dạng di truyền quần thể cây Thủy tùng (*Glyptostrobus pensilis*) có ý nghĩa quan trọng. Mức độ đa dạng di truyền không những chỉ ra khả năng tồn tại của loài ở hiện tại và tương lai, mà còn chỉ ra tiềm năng tiến hoá của loài. Ngày nay, kỹ thuật công nghệ sinh học được sử dụng rộng rãi, nhanh và có hiệu quả trong việc đánh giá mức độ đa dạng di truyền quần thể và loài, đặc biệt các loài thông đang có nguy cơ bị đang bị đe dọa (Goncharrenko *et al.*, 1993; Shea, Furnier, 2002; Ledig *et al.*, 2005; Quách Thị Liên *et al.*, 2004; Nguyễn Đức Thành *et al.*, 2005; Nguyễn Hoàng Nghĩa *et al.*, 2007; Nguyen Minh Tam *et al.*, 2009).

Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả

phân tích 10 cặp mỗi SSR để đánh giá mức độ đa dạng di truyền và mối quan hệ di truyền giữa các cá thể trong 2 quần thể Thủy tùng sống tự nhiên ở Đăk Lăk, và đề xuất một số giải pháp bảo tồn và phục hồi chúng ở Việt Nam.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Tổng số 40 mẫu lá hoặc vỏ cây (đối với cây to không lấy được lá) được thu thập ngẫu nhiên tại khu Bảo tồn thiên nhiên Tráp K'Sơ (huyện Krông Năng)

với độ cao 750 m so với mặt biển tọa độ 13°01' Bắc - 108°09' Đông, và khu Bảo tồn Thiên nhiên EaRal (huyện EaH'Leo) với độ cao 570 m tọa độ 13°09' Bắc - 108°18' Đông (Bảng 1). Trong thời gian thực địa, mẫu được bảo quản trong túi nilon chứa silica gel. Mẫu được ghi số cùng với đặc điểm sinh học của cây lấy mẫu. Sau đó mẫu được chuyển về phòng thí nghiệm Sinh học phân tử của Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam và được bảo quản -30°C trong tủ lạnh sâu cho đến khi được sử dụng để phân tích trong phòng thí nghiệm. Mẫu tiêu bản tại địa điểm thu mẫu cũng được thu thập giúp cho công tác xác định chính xác tên loài nghiên cứu.

Bảng 1. Danh sách 40 mẫu Thủy tùng (*Glyptostrobus pensilis*) thu thập ở Tráp K'Sơ (Krông Năng và EaRal (EaH'Leo).

TT	Ký hiệu mẫu	Nguồn gốc	TT	Ký hiệu mẫu	Nguồn gốc	TT	Ký hiệu mẫu	Nguồn gốc	TT	Ký hiệu mẫu	Nguồn gốc
1	EK 1	Tráp K'Sơ-Krông Năng	11	EK 11	Tráp K'Sơ-Krông Năng	21	EH 4	EaRal - EaH'leo	31	EH 14	EaRal - EaH'leo
2	EK 2	Tráp K'Sơ-Krông Năng	12	EK 12	Tráp K'Sơ-Krông Năng	22	EH 5	EaRal - EaH'leo	32	EH 15	EaRal - EaH'leo
3	EK 3	Tráp K'Sơ-Krông Năng	13	EK 13	Tráp K'Sơ-Krông Năng	23	EH 6	EaRal - EaH'leo	33	EH 16	EaRal - EaH'leo
4	EK 4	Tráp K'Sơ-Krông Năng	14	EK 14	Tráp K'Sơ-Krông Năng	24	EH 7	EaRal - EaH'leo	34	EH 17	EaRal - EaH'leo
5	EK 5	Tráp K'Sơ-Krông Năng	15	EK 15	Tráp K'Sơ-Krông Năng	25	EH 8	EaRal - EaH'leo	35	EH 18	EaRal - EaH'leo
6	EK 6	Tráp K'sơ-Krông Năng	16	EK 16	Tráp K'Sơ-Krông Năng	26	EH 9	EaRal - EaH'leo	36	EH 19	EaRal - EaH'leo
7	EK 7	Tráp K'Sơ-Krông Năng	17	EK 17	Tráp K'Sơ-Krông Năng	27	EH 10	EaRal - EaH'leo	37	EH 20	EaRal - EaH'leo
8	EK 8	Tráp K'Sơ-Krông Năng	18	EH 1	EaRal - EaH'leo	28	EH 11	EaRal - EaH'leo	38	EH 21	EaRal - EaH'leo
9	EK 9	Tráp K'Sơ-Krông Năng	19	EH 2	EaRal - EaH'leo	29	EH 12	EaRal - EaH'leo	39	EH 22	EaRal - EaH'leo
10	EK 10	Tráp K'Sơ-Krông Năng	20	EH 3	EaRal - EaH'leo	30	EH 13	EaRal - EaH'leo	40	EH 23	EaRal - EaH'leo

Phương pháp nghiên cứu

Tách chiết DNA tổng số

Mẫu được tách chiết theo phương pháp CTAB của (Doyle, Doyle, 1987) có cải tiến cho phù hợp với điều kiện Việt Nam. Kiểm tra độ sạch và hàm lượng DNA bằng đo quang phổ hấp thụ kết hợp với điện di trên gel agarose 0,8%. DNA tổng số được pha loãng dùng cho phản ứng PCR ở nồng độ 10 ng/μl.

Nhân bản DNA

Thẻ tích mỗi phản ứng PCR là 25 μl, trong đó chứa các thành phần gồm dung dịch đệm 1x PCR:

2,5 mM MgCl₂; 2 mM dNTPs; 0,5 pmol cho mỗi mỗi xuôi hoặc ngược; 50 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 sau: (1) Biến tính ban đầu: 94°C trong 3 phút; (2) Biến tính: 94°C trong 1 phút; (3) Bắt cặp: 55°C trong 1 phút; (4) Kéo dài: 72°C trong 1 phút; (5) Lặp lại (2) đến (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 5% trong 40 ml dung dịch đệm 1xTAE, nhuộm Ethidium bromide và chụp ảnh trên máy soi gel CLEARVER. 10 cặp mỗi SSR đã được sử dụng để đánh giá mức

độ đa dạng di truyền và mối quan hệ di truyền giữa các mẫu nghiên cứu (Bảng 2).

Phân tích số liệu

Để đánh giá đa dạng di truyền và mối quan hệ di truyền giữa các mẫu nghiên cứu, sản phẩm SSR được xác định như sau: (1) băng xuất hiện và (0) không xuất hiện trên bản gel điện di polacrylamide

5%. Xác định hệ số tương đồng di truyền (Jaccard) và giá trị PIC = $1 - \sum (P_{ij})^2$, trong đó P_{ij} là tần số của allele thứ i trong quần thể thứ j, giá trị tương quan kiểu hình (r), để lập ra biểu đồ so sánh hệ số tương đồng di truyền giữa 40 mẫu Thủy tùng ở mức độ phân tử. Xây dựng cấu trúc hình cây (UPGMA) trên cơ sở khoảng cách tương đồng di truyền giữa các mẫu nghiên cứu. Số liệu được xử lý bằng chương trình NTSYS-pc (Rohlf, 1988).

Bảng 2. Trình tự các nucleotide của 10 cặp mồi SSR dùng phân tích SSR.

STT	Tên mồi	Primer	Trình tự mồi	Tác giả
1	Pt 15169	F	5'- CTT GGA TGG AAT AGC AGC C -3'	Vendramin et al., 1996
		R	5'- GGA AGG GCA TTA AGG TCA TTA - 3'	
2	Pt 26081	F	5'- CCC GTA TCC AGA TAT ACT TCC A - 3'	Vendramin et al., 1996
		R	5'- TGG TTT GAT TCA TTC GTT CAT - 3'	
3	Pt 30204	F	5'- TCA TAG CGG AAG ATC CTC TTT - 3'	Vendramin et al., 1996
		R	5'- CGG ATT GAT CCT AAC CAT ACC - 3'	
4	Pt 71936	F	5'- TTC ATT GGA AAT ACA CTA GCC C - 3'	Vendramin et al., 1996
		R	5'- AAA ACC GTA CAT GAG ATT CCC - 3'	
5	Pt 110048	F	5'- TAA GGG GAC TAG AGC AGG CTA - 3'	Vendramin et al., 1996
		R	5'- TTC GAT ATT GAA CCT TGG ACA - 3'	
6	Pt 87268	F	5'- GCC AGG GAA AAT CGT AGG - 3'	Vendramin et al., 1996
		R	5'- AGA AGA TTA GAC ATC CAA CCC - 3'	
7	P1	F	5'- CTC CCT CTA TGT GTT TCT CC -3'	Echt et al., 1999
		R	5'- GAA AAT CTT TCT ACC CTT CCA G- 3'	
8	P3	F	5'- GGA AGA AAA ATT GGG CCT TA - 3'	Echt et al., 1999
		R	5'- CTC TCT ATC TCT GCC CCA - 3'	
9	P4	F	5'- TTC CCC ATG AAT GGA AGA AG -3'	Soranzo et al., 1998
		R	5'- ATT GAT TCG ATG TGA GCA TCG - 3'	
10	P5	F	5'- GTT CGC TAG TTT GTT TGA TCC C- 3'	Soranzo et al., 1998
		R	5'- TCC CAG CAA ATC CTT GAC TC - 3'	

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Tổng số 10 cặp mồi SSR đã sản sinh 21 allele từ 40 cây Thủy tùng tự nhiên (*Glyptostrobus pensilis*) thu thập ở 2 địa điểm nghiên cứu EaRal (EaH'Leo) và Tráp K'Sơ (Krông Năng), trung bình 2,1 allele cho một locus SSR (A). Tỷ lệ phân trăm locus đa hình (P) chiếm 80%, với giá trị PIC dao động từ 0,008 (pt 110048) đến 0,229 (pt 15169), trung bình 0,122. Tuy nhiên, tỉ lệ phân đoạn giữa các cặp mồi khác nhau, dao động từ 50% ở cả 3 cặp mồi pt110048, pt87268 và P5 đến 100% ở 2 cặp mồi pt15169 và P1, trung bình 70,83%. Hai locus đơn

hình được tìm thấy ở pt26081 và pt30204. Giá trị PIC thấp (<0,6) đã chỉ ra mức độ khác nhau về di truyền giữa các cá thể nghiên cứu thấp. Điều này có thể liên quan đến lịch sử sống của loài. Thủy tùng là cây gỗ lâu năm, sinh sản đơn tính và thụ phấn nhờ gió. Kết quả thu được phù hợp với một số công trình nghiên cứu về di truyền quần thể thông đã được công bố, như *Pinus longaeva*: A = 2,11 và P = 72,2% (Hichert, Hamrick, 1983), *Picea mariana*: A = 2,2 và P = 69,2% (Wu et al., 1999). Tuy nhiên, các giá trị thấp cũng được tìm thấy ở một số loài thông *Picea breweriana*: A = 1,48 và P = 44,2% (Ledig et al., 2005), *Abies balsamea* A = 1,21 và P = 20,5%

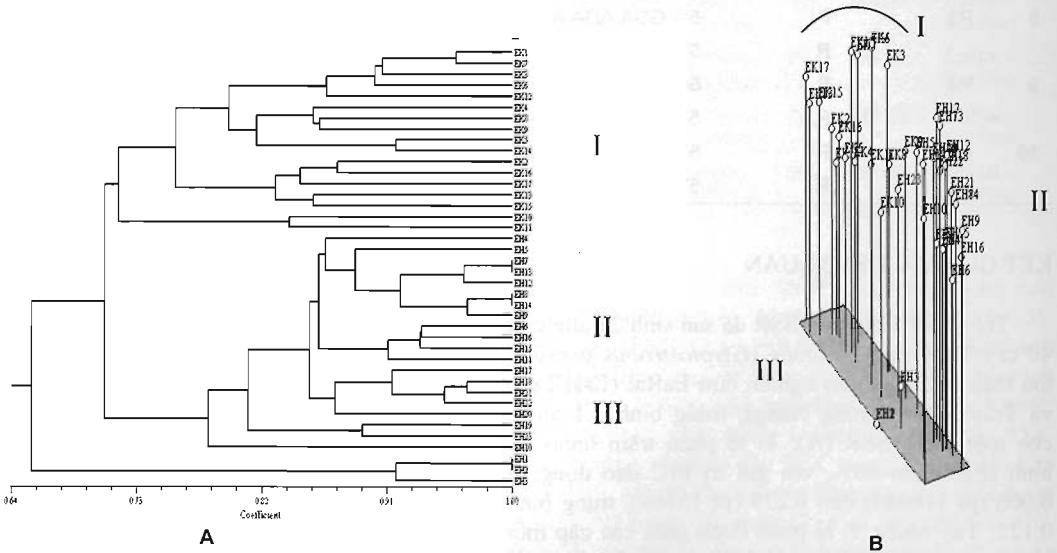
(Shea, Furnier, 2002) và cao ở *Pinus flexilis* A = 3,7 và P = 95,2% (Jorgensen *et al.*, 2002).

Trên cơ sở phân tích hệ số tương đồng di truyền theo Jaccard, mối quan hệ giữa các cá thể nghiên cứu được thể hiện trên sơ đồ hình cây và biểu đồ tọa độ (Hình 1) chỉ ra 3 nhóm rõ ràng. Hệ số tương đồng di truyền dao động từ 0,643 đến 1,0, trung bình 0,829. Nhóm I gồm các cá thể thuộc khu bảo tồn thiên nhiên Tráp K'Sơ: EK1 đến EK17 có mức độ tương đồng di truyền dao động từ 0,643 (EK02-10) đến 0,960 (EK01-07), trung bình 0,768. Hệ số tương đồng di

truyền cao, trên 90% ở nhóm này được tìm thấy ở 3 cặp cá thể EK01 với EK03, 07 và 12. Các cá thể ở khu bảo tồn thiên nhiên EaRaI được tách thành 2 nhóm riêng biệt (nhóm II và III). Nhóm II gồm 20 cá thể với mức độ hệ số tương đồng di truyền dao động từ 0,742 đến 1,0, trung bình 0,775. Nhóm này tỉ lệ hệ số tương đồng di truyền cao trên 0,90 chiếm 30,7%. Ba cá thể EH01-03 hình thành nhóm III với hệ số tương đồng di truyền cao nhất, dao động từ 0,917 đến 1,0 trung bình 0,945. Các cá thể thuộc nhóm này đều có hệ số tương đồng vượt 90%.

Bảng 3. Giá trị PIC và tỉ lệ phân đoạn đa hình của 40 mẫu Thủy tùng.

TT	Cặp môi SSR	PIC	Phân đoạn đa hình	Phân đoạn đồng hình	Tỷ lệ phân đoạn đa hình
1	Pt 71936	0,109	4	2	66.67
2	Pt 110048	0,008	1	1	50.00
3	Pt 87268	0,204	1	1	50.00
4	Pt 26081	-	0	1	-
5	Pt 15169	0,229	3	0	100.00
6	Pt 30204	-	0	1	-
7	P1	0,124	3	0	100.00
8	P3	0,178	4	1	83.33
9	P4	0,109	4	2	66.67
10	P5	0,013	1	1	50.00
Tổng			21	10	56.67



Hình 1. Biểu đồ hình cây (A) và biểu đồ tọa độ (B) của 40 mẫu Thủy tùng tính theo hệ số di truyền của Jaccard và kiểu phân nhóm UPGMA. EK: Tráp K'Sơ, EH: EaRaI.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Mức độ đa dạng di truyền của loài Thủy tùng (*Glyptostrobus pensilis*) sống tại khu bảo tồn thiên nhiên EaRal (EaH'Leo) và Tráp K'Sơ (Krông Năng) không cao, có thể liên quan đến lịch sử sống của loài và thụ phấn nhờ gió. Một số cá thể có quan hệ gần gũi nhau về mặt di truyền đều xuất hiện ở cả 3 nhóm, đặc biệt các cá thể thuộc nhóm III (hệ số tương đồng di truyền >90%). Dưới áp lực tăng dân số và yêu cầu phát triển kinh tế nhanh, rừng, nơi sống của loài đang bị đe dọa. Rừng bị phá hủy để mở rộng đất canh tác trồng cây công nghiệp (chủ yếu cây cà phê). Đất rừng bị suy giảm mạnh và tạo điều kiện thuận lợi cho các loài cây bụi và cỏ phát triển. Một vài quần thể tự nhiên của loài này đang tồn tại trong những mảnh rừng bị phân cắt và độc lập với nhau. Số lượng cây Thủy tùng hiện còn rất ít, khoảng 300 cá thể. Hơn nữa, do việc xây đập giữ nước phục vụ cho công việc tưới tiêu phục vụ cây cà phê vào mùa khô, nước trong rừng luôn luôn ở mức cao và tồn tại trong nhiều thập kỷ. Hiện nay, cây có đường kính dưới 10 m không được tìm thấy ở cả 2 khu rừng đặc dụng Tráp K'Sơ (huyện Krông Năng) và EaRal (huyện EaH'Leo). Chặt cây Thủy tùng bởi một số người dân địa phương vẫn đang diễn ra cả 2 khu Bảo tồn, đặc biệt ở EaRal. Điều này hạn chế rất nhiều trong công tác bảo tồn và phục hồi loài. Để bảo tồn và phục hồi loài cây Thủy tùng, chúng tôi có một số kiến nghị sau. Trước tiên, phải duy trì tính đa dạng di truyền tại 2 khu Bảo tồn thiên nhiên EaRal và Tráp K'Sơ, ngăn chặn chặt, khai thác loài cây này bằng mọi hình thức. Thay đổi chế độ giữ nước trong rừng để dần dần phục hồi nơi sống của chúng, đặc biệt tạo điều kiện cho cây con tái sinh. Cuối cùng, khôi phục nơi sống của chúng và đưa các cây con vào trồng. Mục đích này sẽ tạo một quần thể lớn hơn đảm bảo duy trì tính đa dạng di truyền cao và tiềm năng tiến hoá của loài.

Lời cảm ơn: Công trình được hoàn thành bởi kinh phí của đề án BVMT của Bộ Tài nguyên và Môi trường: "Bảo tồn và sử dụng bền vững một số loài thông quý hiếm có giá trị kinh tế cao đang bị đe dọa tuyệt chủng và khu hệ nấm nội kỷ sinh có ích trong các loài nghiên cứu".

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Averyanov LV, Loc PK, Hiep NT, Khang NS, Vinh NT, Duyen PT (2009) Preliminary Observation of Native

Glyptostrobus pensilis (Taxodiaceae) Stands in Vietnam. *Taiwania* 54(3): 1-21.

Bộ Khoa học và Công nghệ, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam (2007) *Sách đỏ Việt Nam. Phần 2: Thực vật*. Nhà xuất bản Khoa học tự nhiên và Công nghệ.

Doyle JJ, Doyle DJ (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Pocus* 12: 365-371.

Echt CS, Vendramin GG, Neison CD, Marquardt P (1999) Microsatellite DNA as shared genetic markers among conifer species. *Canada J For Res* 29: 365-371.

Farjon A, Page CN (1999) Conifers status survey and conservation action plans. IUCN/SSC. Conifer specialist group IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.

Florin R (1963) The distribution of conifer and taxad genera in time and space. *Acta Horti Bergiani* 20: 121-312.

Goncharenko GG, Padutov VE, Silin E (1993) Allozyme variation in natural populations of Eurasian pines: II. Genetic variation, diversity, differentiation, and gene flow in *Pinus sibirica* Du Tour in some lowland and mountain populations, *Silvae Genet* 42: 246-258.

Jorgensen SM, Hamrick JL, Wells PV (2002) Regional patterns of genetic diversity in *Pinus flexilis* (Pinaceae) reveal complex species history, *Amer J Bot* 89(5): 792-800.

Hichert RD, Hamrick JL (1983) Patterns and levels of genetic variation in Great Basin bristlecone pine, *Pinus longaeva*, *Evolution* 37(2): 302-311.

Hiep TH, Loc PK, Luu NDT, Thomas P, Farion A, Averyanov L, Regalado J (2004) Vietnam conifers: Conservation Status Review 2004. Fauna and Flora International, Vietnam Programme, Hanoi, Vietnam. P. 128

Ledig FT, Hodgskiss PD, Johnson DR (2005) Genetic diversity, genetic structure, and mating system of Brewer spruce (Pinaceae), a relict of the Arcto-tertiary forest. *Amer J Bot* 92(12): 1975-1986.

Li F, Xia N (2005) Population structure and genetic diversity of an endangered species, *Glyptostrobus pensilis* (Cupressaceae). *Bot Bull Acad Sin* 46: 155-162.

Quách Thị Liên, Nguyễn Đức Thành, Nguyễn Hoàng Nghĩa (2004) Sử dụng các chi thị RAPD và ADN lục lạp trong nghiên cứu đa dạng di truyền của một số xuất xứ cây Lim xanh *Erythrophleum fordii* Oliv. Kỳ yếu Hội nghị toàn quốc "Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống", Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật, Hà Nội. 464-468

Luu NDT, Thomas P (2004) Conifers of Vietnam. An illustrated field guide for the most important forest trees. Darwin Initiative, Hanoi, Vietnam. p.86

Nguyễn Hoàng Nghĩa (2004) *Các loài cây lá kim ở Việt Nam*. Nhà xuất bản Nông nghiệp.

Nguyễn Hoàng Nghĩa, Nguyễn Đức Thành, Trần Thuý Linh (2007) Kết quả phân tích đa dạng di truyền loài Gỗ đỏ *Azelia xylocarpa* (Kurz) Craib bằng chỉ thị phân tử RAPD. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*: 44-48.

Rohlf FJ (1988) *NTSYS-pc number taxonomy and multivariate analysis system*. Exeter Publishing, NY.

Shea KL, Furnier GR (2002) Genetic variation and population structure in central and isolated populations of balsam fir, *Abies balsamea* (Pinaceae), *Amer J Bot* 76: 1395-1403.

Soranzo N, Provan J, Powell W (1999) An example of microsatellite length variation in the mitochondrial genome of conifers. *Genome* 42: 158-161.

Nguyễn Minh Tam, Nguyễn Thị Hoa, Nguyễn T Phương Trang (2009) Genetic variation in threatened conifer *Cunninghamia lanceolata* var. *konishii* using ISSR markers implication for conservation. *J Biol*: 66-72.

Nguyễn Đức Thành, Nguyễn Thuý Hạnh, Nguyễn Hoàng Nghĩa (2005) Nghiên cứu quan hệ di truyền của một số loài thuộc họ Dầu Dipterocarpaceae ở Việt Nam dựa trên đa hình ADN genome và lục lạp. *Kỷ yếu Hội nghị toàn quốc: Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong khoa học sư sống*. Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật, Hà Nội: 1379-1382.

Vendramin 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.

Wu J, Krutovski KV, Strauss SH (1999) Nuclear DNA diversity, population differentiation, and phylogenetic relationships in the California closed-cone pines based on RAPD and allozyme markers, *Genome* 42: 893-908.

EVALUATION OF GENETIC VARIATIONS WITHIN *GLYPTOSTROBUS PENSILIS* POPULATIONS IN DAK LAK USING SSR MARKERS

Vũ Đình Duy¹, Bùi Thị Tuyet Xuan², Trần Vinh³, Nguyễn Minh Tam^{1,*}

¹Vietnam National Museum of Nature

²Institute of Ecology and Biological Resources

³The Western Highlands Agro-Forestry Scientific and Technical Institute

SUMMARY

Genetic variation and relationship of 40 *Glyptostrobus pensilis* samples collected from two locations, Trap K'Sor (Krong Nang) and EaRal (EaH'Leo) belonging to Dak Lak province, based on SSR markers. 10 of 21 tested SSR primers were used in this study. A total of 21 alleles were determined, with a mean alleles per locus 2.1. PIC value (The Polymorphic Information Content) varied from 0,008 (pt110048) to 0,229 (pt15169), an average of 0.122. Cluster analysis using unweighted pair group method with arithmetic average (UPGMA) revealed 3 groups from 40 the collected individuals in EaRal and Trap K'Sor. All of individuals on Trap K'Sor clustered together with an average of genetic similarity coefficient of 0.768. Three individuals of EaRal was formed a group with the high genetic similarity coefficient (>0.9). The implication of the results from the study to maintain genetic resources of *G. pensilis* has been discussed

Keywords: conifers, conservation, genetic variation, *Glyptostrobus pensilis*, SSR

* Author for correspondence: Tel: (84)914539336; E-mail: ngtam@hn.vnn.vn