

ĐẶC ĐIỂM DI TRUYỀN BA LOÀI SAO (*Hopea*) ĐANG BỊ ĐE DỌA TUYỆT CHỦNG Ở VIỆT NAM

Nguyễn Thị Phương Trang^{1*}, Trần Thu Hương¹, Ludwig Triest², Nguyễn Minh Tâm³

¹Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam, *ntptrang@yahoo.com

²Trường đại học Tự Do, Bỉ

³Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam

TÓM TẮT: Sao hòn gai (*Hopea chinensis* Hand-Mazz), Sao hải nam (*Hopea hainanensis* Merr. & Chun) và sao mặt quỷ (*Hopea mollissima* C.Y.Wu) là những loài cây lấy gỗ có giá trị cao về khoa học và y học. Hiện nay, nhóm cây này đều đang bị khai thác quá mức và có tên trong danh sách các loài đang bị đe dọa. Đặc biệt, *H. chinensis* và *H. mollissima* là hai loài có nhiều đặc điểm hình thái rất giống nhau, khó phân biệt ngoài tự nhiên. Bài báo này trình bày kết quả giải mã trình tự ba vùng gen lục lạp, đó là *rbcL*, *matK* và *psbA-trnH* nhằm chỉ ra sự khác biệt về di truyền giữa hai loài này, nhằm hỗ trợ cho phân loại học hình thái và bổ sung cơ sở dữ liệu di truyền về ba loài thuộc chi *Hopea* của Việt Nam. Kết quả cho thấy, có 6 vị trí sai khác nucleotide được tìm thấy giữa hai loài *H. chinensis* và *H. mollissima*, theo đó khoảng cách di truyền giữa hai loài này là 2%. Số nucleotit sai khác giữa loài *H. hainanensis* và *H. chinensis* là 7, khoảng cách di truyền của *H. hainanensis* với *H. chinensis* và *H. mollissima* lần lượt là 4% và 6%.

Từ khóa: *Hopea*, *matK*, *psbA-trnH*, *rbcL*, chỉ thị phân tử.

MỞ ĐẦU

Ở Việt Nam, do giá trị thương mại và nhu cầu của người dân địa phương, những loài cây thuộc họ Dầu thường bị khai thác mạnh, đặc biệt các loài thuộc chi Sao (*Hopea*). Sao hòn gai (*Hopea chinensis*) và Sao mặt quỷ (*H. mollissima*) là hai loài có phân bố hẹp, nhiều tài liệu đã khẳng định chỉ tìm thấy sao hòn gai ở Việt Nam và Trung Quốc [1, 2, 9, 18]. Gỗ sao hòn gai, sao mặt quỷ và sao hải nam bền, cứng, không bị mối mọt nên được sử dụng trong đóng thuyền, làm cầu, cột nhà, tà vẹt [18], ngoài ra, chúng còn có giá trị về y học. Một số công trình nghiên cứu của các tác giả Trung quốc cho thấy trong vỏ cây sao hòn gai còn có chứa nhiều hoạt chất sinh học hữu ích [8, 17]. Hiện nay ba loài này đang đứng trước nguy cơ tuyệt chủng do mức độ suy giảm nơi sống và việc khai thác quá mức. Ở Việt Nam, đã có nhiều nghiên cứu về phân loại và hệ thống học, tài nguyên và đa dạng các loài cây họ Dầu. Tuy nhiên, nhiều đặc điểm hình thái rất giống nhau của *H. chinensis* và *H. mollissima* vì vậy, việc phân biệt chúng còn gặp nhiều khó khăn, đặc biệt trong tự nhiên.

Chỉ thị phân tử (DNA barcoding) là công cụ công nghệ sinh học chính xác, đáng tin cậy và

đã được sử dụng rất nhiều trong phân loại các loài động thực vật. Hệ gen lục lạp có cấu trúc đơn bội, với lợi thế là kích thước nhỏ, số lượng bản sao lớn và di truyền ổn định qua các thế hệ nên được ứng dụng làm chỉ thị phân tử cho các nghiên cứu phân loại và mã vạch DNA [4, 7, 10]. Gamage et al. (2006) [7] đã xây dựng sơ đồ hình cây (Neighbour joining) mối quan hệ di truyền của các loài trong họ Dầu dựa trên giải trình tự vùng gen *trnL-trnF*. Việc sử dụng một hay kết hợp nhiều chỉ thị phân tử để phân loại đã được nhiều nhà khoa học trên thế giới quan tâm và tiến hành nghiên cứu. Kress (2007) [10] đã giới thiệu năm chỉ thị phân tử vùng gen lục lạp bao gồm *matK*, *rbcL*, *trnH-psbA*, *rpoCl* và *ycf5* là những chỉ thị phân tử tin cậy và hữu hiệu trong phân loại các loài thực vật cạn, trong đó nhấn mạnh sự kết hợp giữa vùng gen mã hoá *rbcL* và vùng gen không mã hoá *trnH-psbA* đã cho kết quả phân loại cao nhất [10]. Nhóm nghiên cứu về thực vật (plant working group) cũng đã giới thiệu ba chỉ thị phân tử lục lạp hữu hiệu để phân loại cho nhóm thực vật bậc cao là *matK*, *rbcL* và *trnH-psbA* (CBOL, 2009), đặc biệt sự kết hợp giữa hai chỉ thị phân tử *matK* và *rbcL* được coi là hữu hiệu cho hầu hết các loài thực vật [4].

Nhằm hỗ trợ cho phân loại học hình thái và bổ sung cơ sở dữ liệu về di truyền cho ba loài cây gỗ quý của Việt Nam, chúng tôi tiến hành giải mã trình tự ba vùng gen lục lạp gồm *rbcL*, *matK*, *psbA-trnH* của ba loài: Sao hòn gai (*H. chinensis*), Sao hải nam (*H. hainanensis*) và Sao mặt quỷ (*H. mollissima*), đồng thời phân tích mối quan hệ di truyền của ba loài rất gần gũi này.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mẫu lá và vỏ cây của *H. hainanensis* được

thu tại vườn quốc gia Bến En (Thanh Hóa), của loài *H. mollissima* được thu tại Khu bảo tồn thiên nhiên Tây Yên Tử, phân khu Khe Rỗ (Bắc Giang) và 2 mẫu lá loài *H. chinensis* được thu tại đảo Ba Mùn và đảo Cái Lim, vườn quốc gia Bái Tử Long (Quảng Ninh) (bảng 1). Mẫu được ghi số, ghi đặc điểm sinh học và đo tọa độ của cây lấy mẫu. Mẫu sau đó được chuyển về phòng thí nghiệm Hệ thống học phân tử và Di truyền bảo tồn của Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật và được bảo quản ở tủ lạnh sâu -76°C trước khi phân tích DNA.

Bảng 1. Địa điểm thu thập ba loài thuộc chi Sao ở Việt Nam

STT	Tên khoa học	Tên Việt Nam	Địa điểm thu mẫu
1	<i>Hopea hainanensis</i>	Sao hải nam	VQG Bến En, Thanh Hóa, 100m, 19°35'N-105°30'E
2	<i>Hopea chinensis</i>	Sao hòn gai	Đảo Ba Mùn, VQG Bái Tử Long, Quảng Ninh 120m, 21°02'N-107°35'E
3	<i>Hopea chinensis</i>	Sai hòn gai	Đảo Cái Lim, VQG Bái Tử Long, Quảng Ninh 150m, 21°06'N-107°33'E
4	<i>Hopea mollissima</i>	Sao mặt quỷ	Khu bảo tồn thiên nhiên Khe Rỗ, Bắc Giang, 21°09'N-107°13'E

Tách chiết DNA tổng số và thiết kế các cặp mồi

Mẫu lá và vỏ cây được tách chiết theo phương pháp CTAB của Doyle et al. (1987) [4] 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 1%. DNA tổng số được pha loãng dùng cho phản ứng PCR ở nồng độ 10ng/μl.

Trình tự các cặp mồi *rbcL*, *matK* và *psbA-trnH* sử dụng được lấy từ các nghiên cứu của Cuenoud (2002) [5], Mitsuyasu (1994) [12] và Kress (2007) [11] (bảng 2).

Tối ưu và nhân bản gen bằng phản ứng PCR

Phản ứng PCR được tiến hành trong thể tích là 40 μl với các thành phần gồm có: 20 1 Master Mix 2X; 1 1 MgCl₂ 25 mM; 0,5 1 Taq polymerase 5 u/ 1; 2 1 DNA mẫu; 1,25 1 mỗi nồng độ 10 pmole mỗi loại và H₂O lên tổng thể tích 40 μl. Chu trình nhiệt được thực hiện trên

máy PCR system 9700 với các chu kỳ như sau: biến tính ở 90°C 3 phút, sau đó là 35 chu kỳ lặp lại: 95°C 30 giây; bắt cặp ở 56°C 1 phút với gen *rbcL*, ở 50°C trong 1 phút với gen *matK* và ở 58°C trong 1 phút với gen *psbA-trnH*; kéo dài mạch ở 72°C 1 phút. Cuối cùng là 72°C trong 10 phút để kết thúc phản ứng và giữ mẫu ở 4°C.

Sản phẩm PCR sau đó được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1%, nhuộm gel bằng ethidium bromide và chụp ảnh trên hệ thống máy ảnh có chiếu ánh sáng UV.

Giải trình tự và xử lý số liệu

Trình tự nucleotide các vùng gen được xác định với kit BigDye terminator v3.1 và máy đọc trình tự ABI 3100 Avant genetic analyzer (Applied Biosystems). So sánh sự khác nhau về vị trí các nucleotide giữa các cặp loài bằng ClustalW [16], GenDoc [13]. Phần mềm MEGA 5 [15] dùng trong phân tích số liệu sau xử lý. Mức độ khác nhau được tính toán theo mô hình Kimura hai thông số (K2P).

Bảng 2. Trình tự các cặp mồi dùng trong nghiên cứu

Vùng gene	Mồi xuôi (F)	Mồi ngược (R)	Nhiệt độ bắt cặp mồi (°C)	Độ dài sản phẩm PCR	Tham khảo
<i>matK</i>	CGA TCT ATT CAT TCA ATA TTT C	TCT AGC ACA CGA AAG TCG AAG T	50	900	Cuenoud (2002) [5]
<i>rbcLa</i>	ATG TCA CCA CAA ACA GAG ACT AA	CTT CGG CAC AAA ATA CGA AAC GAT CTC TCC A	56	700	Mitsuyasu et al. (1994) [12]
<i>rbcLc</i>	TGA AAA CGT GAA TTC CCA ACC GTT TAT GCG	GCA GCA GCT AGT TCC GGG CTC CA	56	700	Mitsuyasu et al. (1994) [12]
<i>trnH-psbA</i>	GTT ATG CAT GAA CGT AAT GCT C	CGC GCA TGG TGG ATT CAC AAT CC	58	300	Kress & Erickson (2007) [11]

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

4 đoạn DNA của 4 vùng gen *rbcLa*, *rbcLc*, *matK* và *psbA - trnH* sau khi nhân bản bằng PCR đã được giải trình tự, kiểm tra bằng chương trình Blast/NCBI. Kết quả so sánh chứng tỏ các sản phẩm PCR của chúng tôi chính là các đoạn DNA tương ứng với 4 vùng gen *rbcL a*, *rbcL c*, *matK* và *psbA - trnH*. Các trình tự sau đó được kiểm tra, ghép nối với nhau bằng chương trình Clustal W của phần mềm Bioedit

thành một đoạn DNA có kích thước 2452 bp để thực hiện so sánh. Vị trí của các vùng gen nghiên cứu được sắp xếp theo thứ tự sau:

<i>rbcL_a</i>		<i>rbcL_c</i>		<i>matK</i>		<i>psbA-trnH</i>	
1	627	628	1341	1342	2161	2162	2452

Đoạn DNA dài 2452 bp của 4 mẫu nghiên cứu sau đó được tiến hành so sánh kiểm tra sự sai khác bằng chương trình MEGA 5.

#H.hongayensis_BM	GAC TAA AGC AAG TGT TGG GAT TCA AAG CTG GTG TTA AAC AGT ATA AAT TGA CTT ATT ATA CTC CTG AAT ACC AAA
#H.hongayensis_CL	...
#H.hainanensis	...
#H.mollissima	...
#H.hongayensis_BM	CCA AAG ATA CTG ATA TCT TGG CAG CAT TCC GAG TAA CAC CTC AAC CCG GAG TTC CGC CTG AAG AAG CAG GGG CTG
#H.hongayensis_CL	...
#H.hainanensis	...
#H.mollissima	...
#H.hongayensis_BM	CGG TAG CTG CTG AAT CTT CTA CTG GTA CAT GGA CAA CCG TGT GGA CTG ATG GAC TTA CCA GCC TTG ATC GTT ACA
#H.hongayensis_CL	...
#H.hainanensis	...
#H.mollissima	...
#H.hongayensis_BM	AAG GGC GAT GCT ACG ACA TTG AGC CCG TTG CTG GAG AAG AAA ATC AAT ATA TAT GTT ATG TAG CTT ACC CTT TAG
#H.hongayensis_CL	...
#H.hainanensis	...
#H.mollissima	...
#H.hongayensis_BM	ACC TTT TTG AAG AAG GTT CTG TTA CTA ACA TGT TTA CTT CCA TTG TGG GTA ATG TAT TTG GGT TCA AAG CCC TGC
#H.hongayensis_CL	...
#H.hainanensis	...
#H.mollissima	...
#H.hongayensis_BM	GCG CTC TAC GTT TAG AGG ATC TGC GAA TCC CTA CTT CTT ATG TTA AAA CTT TCC AAG GCC CAC CTC ACG GTA TCC
#H.hongayensis_CL	...
#H.hainanensis	...
#H.mollissima	...
#H.hongayensis_BM	AAG TTG AAA GAG ATA AGT TGA ACA AGT ACG GCC GTC CAC TAT TGG GAT GTA CTA TTA AAC CTA AAT TAG GGT TAT
#H.hongayensis_CL	...
#H.hainanensis	...
#H.mollissima	...
#H.hongayensis_BM	CCG CTA AGA ACT ACG GTA GAG CGG TTT ATG AAT GTC TAC GCG GTG GAC TTG ATT TTA CCA AAG ACG ATG AGA ATG
#H.hongayensis_CL	...
#H.hainanensis	...
#H.mollissima	...

#H.hongayensis_BM	TGA	ACT	CCC	AAC	CTT	TTA	TGC	GCT	GGA	GAG	ATC	GTT	TCC	ACC	GTT	TAT	GCG	CTG	GAG	AGA	CCG	TTT	CTT	ATT	TTG
#H.hongayensis_CL	.	...	..	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
#H.hainanensis	.	...	..	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
#H.mollissima	.	...	..	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
#H.hongayensis_BM	TAT	CGA	AGC	AAT	TTA	TAA	ATC	ACA	AGC	TGA	AAC	AGG	CGA	AAT	CAA	AGG	GCA	TTA	CTT	GAA	TGC	TAC	TGC	GGG	TAC
#H.hongayensis_CL	.	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hainanensis	.	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.mollissima	.	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hongayensis_BM	ATG	CGA	AGA	AAT	GAT	GAA	AAG	GGC	TGT	AGC	TGC	AAG	AGA	ATT	GGG	AGC	TCC	TAT	CAT	AAT	GCA	TGA	CTA	TTT	AAC
#H.hongayensis_CL	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hainanensis	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.mollissima	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hongayensis_BM	AGG	CGG	ATT	CAC	TGC	AAA	TAC	GAG	CTT	GGC	TCA	TTA	TTG	CCG	GGA	TAA	TGG	TCT	ACT	TCT	TCA	TAT	CCA	CCG	TGC
#H.hongayensis_CL	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hainanensis	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.mollissima	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hongayensis_BM	AAT	GCA	TGC	AGT	TAT	TGA	TAG	ACA	GAA	GAA	TCA	TGG	TAT	GCA	CTT	CCG	TGT	ACT	AGC	TAA	AGG	CTT	ACG	TAT	GTC
#H.hongayensis_CL	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hainanensis	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.mollissima	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hongayensis_BM	CGG	CGG	AGA	CCA	TGT	TCA	CGC	TGG	TAC	AGT	AGT	AGG	TAA	ACT	TGA	AGG	CGA	AAG	AGA	TAT	AAC	TTT	AGG	CTT	TGT
#H.hongayensis_CL	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hainanensis	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.mollissima	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hongayensis_BM	TGA	TTT	ACT	ACG	TGA	TGA	TTT	TAT	TGA	AAA	AGA	TGG	AAG	CCG	TGG	TAT	TTA	TTT	CAC	TCA	AGA	TTG	GGT	TTC	TCT
#H.hongayensis_CL	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hainanensis	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.mollissima	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hongayensis_BM	ACC	AGG	TGT	TAT	ACC	TGT	AGC	TTC	GGG	TGG	TAT	TCA	CGT	TTG	GCA	TAT	GCC	TGC	TTT	GAC	CGA	GAT	CTT	TGG	AGA
#H.hongayensis_CL	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hainanensis	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.mollissima	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hongayensis_BM	TGA	TGC	TGT	ACT	ACA	ATT	CGG	TGG	AGG	AAC	CTT	AGG	ACA	CCC	TTG	GGG	AAA	TGC	ACC	GGG	TGC	TGT	AGC	GAA	TGC
#H.hongayensis_CL	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hainanensis	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.mollissima	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hongayensis_BM	AGT	AGC	TGT	AGA	AGC	ATG	TGT	ACA	AGC	CCG	TAA	TGA	GGG	ACG	TGA	TCT	TGC	TCG	CGA	GGG	TAA	TGA	AAT	TAT	CCG
#H.hongayensis_CL	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hainanensis	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.mollissima	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hongayensis_BM	TCA	GGC	TAG	CAA	ATG	GAC	CCA	TTA	AAT	TAT	GTG	TTA	GAT	GTA	CTA	ATA	CCA	TCC	CAT	CCA	TCT	GGA	AAT	CCT	GAT
#H.hongayensis_CL	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hainanensis	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.mollissima	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hongayensis_BM	TCA	AGT	CCT	TCG	CTA	CTG	GGT	AAA	GGA	GTC	CTC	CTC	TTT	GCA	TTT	ATT	ACG	GTT	CCT	TCT	CTA	CAA	GTA	TTG	TCA
#H.hongayensis_CL	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hainanensis	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.mollissima	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hongayensis_BM	TTT	TAA	GAG	TCT	TAT	TAC	TCC	AAA	GAA	ATC	CCT	TTT	TTT	TTT	GAA	TCC	AAG	ATT	TTT	CTT	GTT	CCT	ATA	TAA	TTC
#H.hongayensis_CL	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hainanensis	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.mollissima	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hongayensis_BM	TTA	TGT	ATG	TGA	ATA	CGA	ATC	CAT	TTT	CCT	TTT	TCT	CCG	TAA	CCA	ATC	CTC	TCA	TTT	ACG	ATC	AAC	TGC	TTC	TGG
#H.hongayensis_CL	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hainanensis	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.mollissima	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hongayensis_BM	AAT	CTT	TCT	TGA	ACG	AAT	CCA	TTT	CTA	TCG	AAA	AAT	AGA	GCA	TCT	CGT	AGA	AGT	TTG	TGC	TAA	TGA	TTT	TCA	GGC
#H.hongayensis_CL	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hainanensis	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.mollissima	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hongayensis_BM	TAA	CCT	ATG	TTT	GTT	CAA	GGA	TCC	TTT	CAT	ACA	TTT	TGT	TAG	ATA	TCA	AAG	AAA	ATC	AAT	TCT	TTT	TTC	CAA	GGA
#H.hongayensis_CL	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hainanensis	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.mollissima	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hongayensis_BM	TAC	GCC	TCT	TCT	GAT	GAA	TAA	GTG	GAA	ATT	TTA	CTT	TGT	CAA	TTT	ATG	GCA	ATA	TTC	TTT	TTA	CAT	GTG	GTC	TCA
#H.hongayensis_CL	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hainanensis	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.mollissima	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hongayensis_BM	ATC	AGG	AAG	GAT	ACG	GAT	TCG	GAT	AAA	CCA	ATT	ATC	AAA	AAA	TTC	TCT	CGA	TTT	TCT	GGG	TTA	TCG	TTC	AAG	TAT
#H.hongayensis_CL	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hainanensis	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.mollissima	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hongayensis_BM	ACG	ATT	AGA	TTC	CTT	AGT	GGT	GCG	GAG	TCA	AAT	GCT	AGA	AAA	CTC	ATT	TAT	AGT	AGA	TAA	TGT	TAT	GAA	AAA	GCT
#H.hongayensis_CL	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.hainanensis	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
#H.mollissima	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...

Figure 1

1300

Lời cảm
vội sự h
học và
mã số
song
Techni
trẻ (IEE

TÀI LIỆ

1. Ash
Mal
2. Ash
Red
Inter
Nat
3. Ng
Nat
nhin
4. CB

Sci
5. Can
Pow
200
Ca
an
see

truyền giữa loài *H. hainanensis* và *H. mollissima* là 6%, giữa loài *H. hainanensis* và *H. chinensis* là 4% và khoảng cách di truyền giữa loài *H. mollissima* và *H. chinensis* là 2%.

—

KẾT LUẬN

Bằng kỹ thuật sinh học phân tử, chúng tôi đã xác định thành công trình tự nucleotide của ba vùng gen lục lạp gồm *rbcL*, *matK* và *psbA-trnH* cho ba loài Sao của Việt Nam gồm Sao hòn gai (*Hopea chinensis*), Sao hải nam (*H. hainanensis*) và Sao mặt quý (*H. mollissima*). Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra mức độ khác biệt di truyền rất thấp từ 0,2 đến 0,6 giữa cặp loài nghiên cứu. Đây là những dữ liệu về di truyền tốt, có thể đưa vào cơ sở dữ liệu di truyền các loài cây quý của Việt Nam để nhận biết và so sánh với các loài khác trên thế giới. Kết quả trình tự gen *matK* và gen *rbcL* của ba loài thuộc chi *Hopea* nghiên cứu bao gồm *Hopea mollissima*, *H. Chinensis* và *H. hainanensis* đã được đăng ký trên ngân hàng Gen với số hiệu lần lượt là KJ611237, KJ611239, KJ611240 đối với gen *matK* và KM267145, KM267146, KM267147 đối với gen *rbcL*.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí từ Quỹ phát triển khoa học và công nghệ quốc gia Việt Nam (Nafosted, mã số 106-NN.06-2013.08), từ quỹ học bổng song phương Việt Bỉ (BTC-The Belgian Technical Cooperation) và đề tài hỗ trợ tiến sĩ trẻ (IEBR.CBT.TS04/2015).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ashton P. S., 1982. Dipterocarpaceae. Flora Malesiana, 92(1): 237-552.
- Ashton P. S., 1998. *Hopea chinensis*, IUCN Red List of Threatened Species. International Union for Conservation of Nature, 02-2011.
- Nguyễn Tiến Bân, 2007. Sách Đỏ Việt Nam, Phần II: Thực vật. Nxb. Khoa học tự nhiên và Công nghệ, Hà Nội, 173-175.
- CBOL plant Working Group, 2009. A DNA barcode for land plant. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 106: 12794-19727.
- Cuenoud P., Savolainen V., Chatrou L. W., Powell M., Grayer R. J., Chase M. W., 2002. Molecular phylogenetics of Caryophyllales based on nuclear 18S rDNA and plastid *rbcL*, *atpB*, and *matK* DNA sequences. Am. J. Bot., 89: 132-144.
- Doyle J. J., Doyle J. L., 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin, 19: 11-15.
- Wu Z. Y., Peter H. R., Hong D. Y., 2008. Flora of china: *Hopea chinensis* (Merrill) Handel-Mazzetti. Flora of China Editorial Committee, 13: 50.
- Gamage T. D., Moley P., Nobuyuki I., Yamazaki T., Alfred E., 2006. Comprehensive Molecular Phylogeny of the Sub-Family Dipterocarpaceae Based on Chloroplast DNA Sequences. Genes. Genet. Syst., 81: 1-12.
- Ge H. M., Yang W. H., Shen Y., Jiang N., Guo Z. K., Luo Q., Xu Q., Ma J., Tan R. X., 2010. Immunosuppressive resveratrol aneuploids from *Hopea chinensis*. Chemistry, 21: 6338-6345.
- Huang S. X., Chen H., Pan B., Tang W.X., Luo W. H., 2008. Characteristics of *Hopea chinensis* Community, an Endemic and Endangered Species in Guangxi. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 01-2008.
- Kress W. J., Erickson D. L., 2007. A two-locus global DNA barcode for land plants: The coding *rbcL* gene complements the non-coding *trnH-psbA* spacer region. PLoS One, 2(6): e508.
- Mitsuyasu H., Tomoyuki O., Miyuki N., Toshio S., Masahiro K., Kunio I., 1994. *rbcL* gene sequences provide evidence for the evolutionary lineages of leptosporangiate ferns. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91: 5730-5734.
- Nguyễn Hoàng Nghĩa, 2005. Cây họ Dầu Việt Nam. Nxb. Nông Nghiệp, Hà Nội, 68-74.
- Nicholas K. B., Nicholas H. B. Jr., and Deerfield D. W. II., 1997. GeneDoc: Analysis and Visualization of Genetic Variation. Embnew News, 4:14.
- Shaw J., Lickey E. B., Beck J. T., Farmer S. B., Liu W. et al., 2005. The tortoise and the hare II: Relative utility of 21 noncoding








Figure 1

số cặp tương đồng thấp nhất xuất hiện ở vị trí codon thứ ba. Hệ số trung bình của cặp Si (transition) và Sv (transversion) là 0,6. Hệ số này đối với vị trí codon thứ nhất là 1,0, thứ hai và thứ ba là 2,0 và 0,19, tương ứng. Thành phần A và thành phần T không có sự dao động với 31,9% và 28,9%, tương ứng. Thành phần C và G có khoảng dao động rất thấp lần lượt 18,5% đến 18,6% và 20,6% đến 20,7% (bảng 3).

TÀI LIỆU

1. Ash
Mal
2. Ash
Red
Inter
Nat
3. Ng
Na
nha
4. CB
ban
Sc
5. Cu
Po
20
C
a
s

truyền giữa loài *H. hainanensis* và *H. mollissima* là 6%, giữa loài *H. hainanensis* và *H. chinensis* là 4% và khoảng cách di truyền giữa loài *H. mollissima* và *H. chinensis* là 2%.

5.0

5. Cu
Po
20
C
a
s