

## ẢNH HƯỞNG CỦA KÍCH THƯỚC QUẦN THỂ ĐẾN SỰ SINH SẢN CẬN NOÃN CỦA MỘT SỐ LOÀI THIÊN TUẾ (CYCAS, CYCADACEAE) Ở VIỆT NAM

Nguyễn Minh Tâm<sup>1,2</sup>, Tô Văn Vĩnh<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

<sup>2</sup>Bảo tàng thiên nhiên Việt Nam

### TÓM TẮT

Bốn loài Tuế *Cycas dolichophylla*, *C. balansae*, *C. chevalieri* và *C. simplicipinna* phân bố chủ yếu ở rừng đất thấp. Sáu enzyme đã được sử dụng để đánh giá tác động của kích thước quần thể đến sự sinh sản cận noãn của 4 loài Tuế này. 250 mẫu lá non từ 8 quần thể Tuế thuộc 4 loài Tuế đã được thu thập và bảo quản ở nhiệt độ  $-70^{\circ}\text{C}$  bằng  $\text{CO}_2$  nén ở hiện trường và trong tủ lạnh sâu ở phòng thí nghiệm. Điện di trên gel polyacrylamide được tiến hành tại Phòng thí nghiệm Sinh học phân tử (Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật). Kết quả đã chỉ ra giá trị Fis (hệ số sinh sản cận noãn) cao ở tất cả các quần thể Tuế nghiên cứu ( $\text{Fis} > 0,2$ ). Từ kết quả nghiên cứu có thể đưa ra giả thiết rằng kích thước quần thể nhỏ ( $< 50$  cá thể) liên quan đến nơi sống bị suy giảm và khai thác không hợp lý trong nhiều năm đã làm tăng mối quan hệ thụ phấn cận noãn giữa các cá thể trong quần thể nhỏ.

**Từ khóa:** Allozyme, *Cycas*, cận noãn, kích thước quần thể, Tuế

### MỞ ĐẦU

Trong nghiên cứu di truyền quần thể, hiểu biết về phương thức sinh sản có ý nghĩa rất quan trọng, bởi vì không gian của mỗi quan hệ sinh sản giữa các cá thể trong quần thể ảnh hưởng đến số lượng, phân bố di truyền và sau đó quá trình tiến hoá trong quần thể. Như vậy, thông tin về hoạt động sinh sản sẽ giải thích nguồn gốc cấu trúc trong và giữa các quần thể (Hamrick, Godt, 1989) và tiềm năng tiến hoá của các loài thực vật (Cascante *et al.*, 2002). Về mặt di truyền các quần thể có thể khác nhau, khi quá trình trao đổi di truyền giữa chúng bị hạn chế (Ellstrand, 1992). Kích thước quần thể là yếu tố quan trọng trong quá trình chọn lọc tự nhiên, bởi vì yếu tố này xác định mức độ ảnh hưởng di truyền cả về thụ phấn cận noãn và phiêu bạt gen. Kích thước quần thể hữu hiệu liên quan đến số lượng cá thể bố mẹ,  $N_e = 4N_mN_f/(N_m + N_f)$ , ở đây  $N_m$  và  $N_f$  là số cá thể bố và mẹ, tương ứng. Đối với quần thể được chọn lọc tự nhiên, cá thể bố mẹ sẽ sản sinh ra nhiều cá thể con đảm bảo cho thế hệ kế tiếp và lớn hơn số cá thể bố mẹ. Trong quần thể, một phần của ảnh hưởng chọn lọc tự nhiên được duy trì ở các thế hệ kế tiếp. Kích thước hữu hiệu của quần thể phụ thuộc vào số lượng cá thể và các yếu tố sinh thái (Nomura, 2000; 2002). Trong số này, số lượng con sinh ra từ mỗi cặp bố mẹ là yếu tố ảnh hưởng rõ rệt nhất. Các yếu tố ảnh hưởng đến phương thức sinh sản có thể gồm đặc

điểm nội sinh và đặc điểm môi trường sống. Sinh sản hữu tính, màu sắc hoa và hình thái của nó có thể ảnh hưởng đến tỷ lệ thụ phấn chéo.

Trong khi đó, đặc điểm môi trường ảnh hưởng đến không gian của quá trình thụ phấn và như vậy tỷ lệ thụ phấn chéo phụ thuộc vào tác nhân tham gia thụ phấn (tập tính của côn trùng tham gia thụ phấn) và mật độ cây ra hoa.

Loài quý hiếm thường tồn tại trong các quần thể nhỏ và cô lập, mà ở đó chúng phải đối mặt với nguy cơ tuyệt chủng cao liên quan đến áp lực kích thước quần thể và môi trường sống của chúng. Hơn nữa, mức độ tăng của tần số sinh sản cận noãn và sự phiêu bạt di truyền ngẫu nhiên xuất hiện trong các quần thể nhỏ. Khả năng sinh sản cận noãn và mất allele hiếm có thể làm suy giảm khả năng thích nghi với môi trường sống trong tương lai và sau đó làm tăng khả năng tuyệt chủng của quần thể nhỏ. Tỷ lệ sinh sản cận noãn phụ thuộc vào kích thước quần thể hữu hiệu. Tỷ số này cao khi kích thước hữu hiệu của quần thể nhỏ hơn. Bởi vì các cá thể trong quần thể hiếm khi đóng góp số giao tử tương đương cho thế hệ tiếp theo, kích thước hữu hiệu ít khi khi tương ứng với số cá thể trong quần thể. Không gian quan hệ sinh sản giữa các cá thể là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến kích thước hữu hiệu của quần thể và bị suy giảm khi xuất hiện mức độ cao của sinh sản cận noãn. Hậu quả, tỷ lệ thụ phấn chéo giảm ảnh hưởng xấu đến tính đa dạng di

truyền ở cả 2 mức độ quần thể và loài. Một trong những nguyên nhân suy giảm khả năng sinh sản và phục hồi kích thước quần thể là nơi sống của chúng bị phân cắt thành các đơn vị nhỏ. Số lượng cá thể được sản sinh ra từ bố mẹ thấp, hậu quả của sự suy giảm mật độ và thành phần loài côn trùng tham gia thụ phấn, thay đổi tần số viêng thâm của côn trùng hoặc làm suy giảm hiệu quả của hạt phấn (Aizen, Feinsinger, 1994; Cuningham, 2000). Sự suy giảm này có thể trầm trọng hơn liên quan đến sự phát tán hạt bị hạn chế (Andresen, 2003; McEuen, Curran, 2004), hạt này mầm bị suy giảm (Bruna, 1999) hoặc cây con bị đe dọa và chết trong nơi sống của chúng bị phân cắt (Schaanker, Ganeshiah, 1990).

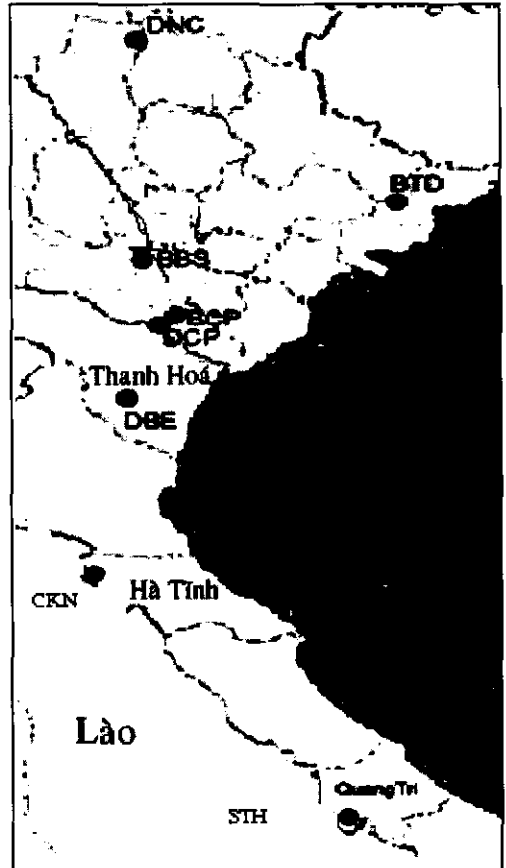
Để đánh giá tầm quan trọng của yếu tố di truyền liên quan đến mức độ suy giảm quần thể của 4 loài Tuế *Cycas dolichophylla*, *C. balansae*, *C. chevalieri* và *C. simplicipinna*, chúng tôi đã tập trung nghiên cứu tác động của số lượng cá thể đến khả năng thụ phấn trong mỗi quần thể Tuế nghiên cứu.

#### TƯ LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được tiến hành tại Tuyên Quang: Khu Bảo tồn Tự nhiên Na Hang, tọa độ 22°16' - 22°31' Bắc và 105°22' - 105°29' Đông với độ cao so với mặt biển dao động từ 250 - 1000 m; Ninh Bình: Vườn Quốc gia Cúc Phương (Ninh Bình), tọa độ 20°14' - 20°24' Bắc và 105°29' - 105°44' Đông, độ cao 300 - 400 m; Yên Quang, tọa độ 20°21' Bắc và 105°36' Đông, 365 m; Hà Nam: Ba Sao, tọa độ 20°30' Bắc và 105°56' Đông, 334 m; Quảng Ninh: Tân Dân, tọa độ 21°08' Bắc và 106°52' Đông, 50 m; Thanh Hóa: Bến En, tọa độ 19°31' - 19°43' Bắc và 105°25' - 105°38' Đông, độ cao 130 - 497 m; Hà Tĩnh: Khe Nậm với tọa độ 18°32'54' Bắc và 105°21'09' Đông, độ cao 547 m; Quảng Trị: Tân Hợp, tọa độ 16°39'21' Bắc và 106°44'32' Đông, độ cao 481 m (Hình 1). Đây là những khu vực còn tồn tại loài Tuế trong rừng tự nhiên. Về mặt địa hình, khu vực nghiên cứu gồm các thung lũng tương đối bằng phẳng với các đồi núi thấp dưới 500 m so với mặt biển. Có 2 loại đất, đất đỏ màu mỡ chứa sắt và đất nâu trên đá granite hoặc đá phiến.

Khí hậu vùng nghiên cứu được phản ánh bởi đặc điểm địa hình với độ ẩm và lượng mưa cao. Lạnh và khô vào mùa đông, nóng và ẩm vào mùa hè. Nhiệt độ trung bình hàng năm là 23,3°C ở Cúc Phương và Bến En (Lê Bá Thụ, 1995; Lê Vũ Khôi, 1996). Giá trị này là 23,7°C, 22,3°C và 27,8°C tương ứng ở Hương Sơn, Hương Hóa và Na Hang (Nguyễn

Khánh Vân *et al.*, 2000). Lạnh nhất xuất hiện vào tháng 1 với nhiệt độ trung bình trên 15°C và tháng nóng nhất vào tháng 6 hoặc tháng 7 với nhiệt độ trung bình trên 28°C. Lượng mưa trung bình hàng năm dao động từ 1710,8 mm ở Yên Tử đến 2386 mm ở Hương Sơn và tập trung chủ yếu vào các tháng mùa hè với độ ẩm trên 80%, dao động từ 1710,8 mm ở Yên Tử đến 2386 mm ở Hương Sơn và tập trung chủ yếu vào các tháng mùa hè với độ ẩm trên 80%.



**Hình 1.** Các địa điểm nghiên cứu 4 loài Tuế *Cycas dolichophylla*, *C. balansae*, *C. simplicipinna* và *C. chevalieri*: DNC: Nậm Chang, DCP: Cúc Phương, DBE: Bến En, BTD: Tân Dân, BBS: Ba Sao, BCP: Yên Quang, CKN: Khe Nậm, STH: Tân Hợp.

*Thảm thực vật* tại các khu vực nghiên cứu đa dạng và phức tạp, gồm các kiểu rừng nhiệt đới núi thấp và được xác định bởi mức độ ảnh hưởng do con người. Tầng tán có thể cao đến 35 - 40 m, gồm các loài thuộc họ Đậu (Fabaceae), Bồ hòn (Sapindaceae), Xoan (Meliaceae) và Dâu tằm (Moraceae). Loài

thuộc họ Dầu (Dipterocarpaceae), Dẻ (Fagaceae) cũng xuất hiện ở Nậm Hang (Na Hang) và Bồng (Cúc Phương) hoặc chỉ cao 25 - 30 m với đường kính 0,3 - 0,6 m ở Hương Sơn. Tầng dưới tán được thiết lập bởi các cây con thuộc tầng tán và các loài thuộc họ Ngũ gia (Araliaceae), Thị mum (Ebenaceae), Cà phê (Rubiaceae), Mùng quân (Flacourtiaceae) và Thầu dầu (Euphorbiaceae). Tầng cây bụi gồm các loài thuộc họ Ráy (Araceae), Gừng (Zingiberaceae) và Rubiaceae. Rừng ở vùng đệm Bản Chủ (Na Hang) bị suy giảm mạnh do hoạt động canh tác nông nghiệp và khai thác gỗ thương mại như ở Bến En, Na Hang và Hương Sơn, được đặc trưng bởi các loài cây bụi và cỏ thuộc họ Hòa thảo (Poaceae), Araceae và Rubiaceae. Nói chung, khu vực Na Hang, Hương Sơn và Bến En gồm các kiểu rừng nguyên sinh đã bị tác động mạnh do hoạt động khai thác thương mại trong những năm cuối 1980 và đầu 1990. Các khu vực khác rừng bị khai thác mạnh và biến thành rừng thứ sinh với cây bụi chiếm ưu thế như ở Đồng Tâm, Phú Thành, Ba Sao hoặc biến thành đất nông nghiệp xen lẫn cây bụi như ở Hương Hóa hoặc rừng trồng (thông) ở Tân Dân. Nói chung, đất rừng ở những khu vực này bị suy giảm mạnh và xói mòn.

Kích thước của quần thể Tuế của 4 loài nghiên cứu là rất nhỏ, do đó các thông số hình thái cơ thể trong mỗi quần thể nghiên cứu được quan sát và xác định trực tiếp tại hiện trường, bao gồm chiều cao và đường kính cây, chiều dài và chiều rộng lá, chiều dài cuống lá, số cây non và cây trưởng thành, cây đực hoặc cái (nếu có thể và phụ thuộc vào sự xuất hiện nón - cây đực và nõn - cây cái trước hoặc trong thời gian khảo sát). Khoảng cách giữa các cá thể trong quần thể cũng được xác định trực tiếp.

Để phân tích tính ảnh hưởng của kích thước quần thể đến sự sinh sản trong quần thể Tuế, 250 mẫu lá non thuộc 4 loài *C. dolichophylla*, *C. balansae*, *C. simplicipinna* và *C. chevalieri* đã được thu thập. Mẫu được đánh số, gói trong giấy bạc và bảo quản trong hộp CO<sub>2</sub> nén (-70°C) tại hiện trường và sau đó chuyển ngay về phòng thí nghiệm sinh học phân tử và đặt trong tủ lạnh sâu -80°C cho đến khi mẫu được lấy ra để phân tích isozyme.

Điện di được thực hiện trên bản gel polyacrylamide đứng với hệ thống dung dịch đệm theo Triest (1989). Thời gian điện di khoảng 3 h trong điều kiện 70 mA tại 4°C trong tủ lạnh. Tiếp theo bước điện di, gel được ủ trong dung dịch nhuộm với enzyme đặc hiệu tại nhiệt độ phòng thí nghiệm với các chất NADP hoặc NAD cùng với một số chất

khác và khuếch tán trong gel và phản ứng màu với các sản phẩm enzyme hoạt động. Thời gian nuôi được thực hiện sau vài giờ đủ để xuất hiện các băng vạch enzyme. Sau khi nhuộm, bản gel được rửa vài lần bằng nước sau đó dùng 2,5% acetic acid để cố định các băng vạch. Các bản gel được chụp ảnh, đóng gói và bảo quản bằng plastic xenlulô.

Một số thông số quan trọng về sinh sản quần thể sau đây được sử dụng Fis - hệ số dư thừa gen đồng hợp tử trong quần thể, Tm - hệ số thụ phấn chéo giữa các cá thể trong quần thể. Mức độ đa dạng di truyền trong và giữa các quần thể sử dụng các tham số thống kê của Nei (1987) để phân tích đối với mỗi locus đa hình, bao gồm Ht (giá trị đa dạng di truyền tổng số), Hs (giá trị đa dạng di truyền trong mỗi quần thể), Dst và Gst (giá trị khác nhau về di truyền giữa các quần thể và hệ số đa dạng di truyền) được xác định bởi công thức:  $Dst = Ht - Hs$  và  $Gst = Dst/Ht$   $0 \leq Gst \leq 1$ .

Tất cả các thông số trên được tính toán và phân tích bằng phần mềm FSTAT (Goudet, 1995) và TFPGA (Miller, 1997).

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Không có số liệu về kích thước quần thể của 4 loài Tuế này ở nước ta vào các năm trước. Tuy nhiên, kết quả điều tra đã chỉ ra rằng cả 4 loài Tuế nghiên cứu đều suy giảm nghiêm trọng cả về số lượng quần thể và kích thước mỗi quần thể. Chỉ có 5 quần thể được tìm thấy cho mỗi loài Tuế *C. dolichophylla* và *C. balansae*. 3 quần thể cho mỗi loài Tuế *C. chevalieri* và *C. simplicipinna*. Số cá thể trung bình là 25 cho mỗi quần thể Tuế *C. dolichophylla*. Tương tự, số cá thể trung bình cho mỗi quần thể là 58, 28 và 26 tương ứng cho các loài *C. balansae*, *C. simplicipinna* và *C. chevalieri*. Tại mỗi quần thể nghiên cứu, mẫu được thu thập theo tuyến. Khoảng cách giữa 2 tuyến là 180 m ở Bến En, 800 m ở Na Hang và 400 m ở Cúc Phương cho loài *C. dolichophylla*. Tương tự, giá trị này là 70 m, 735 m và 350 m tương ứng ở 3 quần thể ở Ba Sao, Tân Dân và Yên Quang cho loài *C. balansae*, 500 m ở Khe Nậm cho loài *C. chevalieri*, 450 m ở quần thể Tân Hợp cho loài *C. simplicipinna*. Điều này cho phép đánh giá sự khác nhau về di truyền trong mỗi quần thể Tuế. Hoạt động sinh sản của một số quần thể trong thời gian khảo sát thực địa được ghi nhận. Chẳng hạn, 8 nón đực ở cùng một gốc đã được quan sát ở Tân Hợp. Số nón đực trên cùng một gốc cây dao động từ 3 đến 7 và số nón cái trên cùng một gốc

cây cũng được quan sát ở Tân Hợp. Tương tự, số cây phát sinh trên cùng một gốc cũng được quan sát ở một số quần thể thuộc các loài như *C. dolichophylla* ở Cúc Phương và Na Hang, *C. balansae* ở Yên Quang, Phú Thành và Tân Dân. Kết quả này có thể góp phần làm tăng mức độ thụ phấn cận loài trong quần thể nhỏ.

Hệ số khác nhau về đa dạng di truyền ở mức độ quần thể trên cơ sở dẫn liệu genotype của các cá thể trưởng thành giữa 2 nhóm nghiên cứu trong mỗi quần thể đã chỉ ra rằng  $D_{st}$  và  $G_{st}$  khác nhau trong mỗi quần thể (Bảng 1). Hệ số  $D_{st}$  và  $G_{st}$  thấp nhất xuất hiện ở quần thể DNC thuộc Khu Bảo tồn Tự nhiên Na Hang (Tuyên Quang) tương ứng là 0,003

và 0,006 cho loài *C. dolichophylla*. Tương tự, hệ số này thấp nhất ( $D_{st} = 0,005$  và  $G_{st} = 0,008$ ) ở quần thể BTĐ (Tân Dân, Hoàn Bồ, Quảng Ninh) cho loài *C. balansae*; và giá trị 0,005 và 0,009, tương ứng, ở quần thể STH (Tân Hợp, Hướng Hóa, Quảng Trị). Kết quả cao hơn được tìm thấy ở các quần thể còn lại đối với các loài *C. dolichophylla* ở Vườn Quốc gia Bến En (Thanh Hóa), Bông, Vườn Quốc gia Cúc Phương (Ninh Bình), loài *C. balansae* ở rừng thứ sinh Ba Sao (BBS), Hà Nam và Yên Quang (BCP), Ninh Bình, hoặc quần thể CKN ở Khe Nậm (Hương Sơn, Hà Tĩnh) cho loài *C. chevalieri*. Như vậy, kết quả chỉ ra giá trị  $D_{st}$  và  $G_{st}$  xuất hiện ở các quần thể trên là tương đối thấp.

**Bảng 1.** Hệ số đa dạng di truyền trung bình  $H_t$ ,  $H_s$ ,  $D_{st}$  và  $G_{st}$  của một số quần thể trên cơ sở phân tích các cá thể trưởng thành.

Quần thể	$H_t$	$H_s$	$D_{st}$	$G_{st}$
<u><i>C. dolichophylla</i></u>				
DNC	0,624	0,620	0,003	0,006
DBE	0,504	0,468	0,037	0,073
DCP	0,508	0,496	0,012	0,024
<u><i>C. balansae</i></u>				
BBS	0,555	0,540	0,015	0,028
BTĐ	0,631	0,626	0,005	0,008
BCP	0,585	0,537	0,049	0,083
<u><i>C. chevalieri</i></u>				
CKN	0,543	0,527	0,016	0,030
<u><i>C. simplicipinna</i></u>				
STH	0,626	0,621	0,005	0,009

Trên cơ sở dẫn liệu về tần số gen dị hợp từ quan sát và lý thuyết ở các nhóm cá thể non và trưởng thành cho mỗi quần thể nghiên cứu, giá trị  $F_{is}$ -hệ số cận loài (theo công thức Weir và Cookerham (1984)) được tính toán và trình bày ở bảng 2. Hầu hết, giá trị  $F_{is}$  được tìm thấy ở các nhóm cá thể non cao hơn so với nhóm cá thể trưởng thành trong mỗi quần thể. Chẳng hạn, đối với loài *C. dolichophylla* ở nhóm cá thể trưởng thành giá trị  $F_{is}$  trung bình là 0,38 và 0,454 tương ứng với 2 quần thể ở Bến En và Nậm Chang. Trong khi đó, giá trị này cao hơn ở nhóm cá thể non là 0,424 và 0,469 cho 2 quần thể Bến En và Nậm Chang, tương ứng. Tương tự, kết quả nghiên cứu cũng tìm thấy ở một số quần thể ở Ba Sao, Tân Dân cho loài *C. balansae*, quần thể Khe

Nậm (*C. chevalieri*) và Tân Hợp (*C. simplicipinna*). Sự khác nhau lớn về giá trị  $F_{is}$  giữa 2 nhóm cá thể trong mỗi quần thể được tìm thấy ở quần thể Tân Dân, Khe Nậm và Tân Hợp. Ở quần thể Tân Dân,  $F_{is}$  ở nhóm cá thể non là 0,489, trong khi đó giá trị này ở nhóm trưởng thành là 0,384.  $F_{is}$  ở nhóm cá thể non là 0,306 và ở nhóm trưởng thành là 0,157 cho quần thể ở Khe Nậm. Đối với quần thể Tân Hợp,  $F_{is} = 0,467$  (nhóm cá thể non) và  $F_{is} = 0,163$  (nhóm cá thể trưởng thành). Tuy nhiên, ở quần thể Cúc Phương của loài *C. dolichophylla* thì ngược lại. Điều này có thể liên quan đến điều kiện sống của chúng đã được phục hồi và ổn định trong nhiều năm.

Hệ số thụ phấn chéo ( $T_m$ ) cũng được xác định gián tiếp trên cơ sở hệ số thụ phấn cận loài chỉ ra

rằng hệ số thụ phấn chéo giảm theo nhóm cá thể trong mỗi quần thể nghiên cứu (Bảng 2). Giá trị  $T_m$  thường cao ở nhóm cá thể trưởng thành và thấp ở nhóm cá thể non trong mỗi quần thể Tuế. Giá trị  $T_m$  trung bình 0,36 ở nhóm cá thể non và 0,375 ở nhóm cá thể trưởng thành của quần thể Nậm Chang. Giá trị này là 0,421 (nhóm cá thể non) và 0,377 (nhóm cá thể trưởng thành) cho quần thể Cúc Phương. Tương tự,  $T_m$  trung bình 0,627; 0,327 và 0,55 tương ứng với 3 nhóm cá thể non thuộc 3 quần thể Ba Sao, Tân Dân và Yên Quang cho loài *C. balansae*. Giá trị  $T_m$  cao được tìm thấy ở nhóm cá thể trưởng thành của 2 quần thể Khe Nậm (*C. chevalieri*) và Tân Hợp (*C. simplicipinna*) tương ứng với 0,729 và 0,719. Giá trị  $T_m$  khác nhau ở mức độ quần thể. Chẳng hạn,  $T_m$  ở nhóm cá thể trưởng thành dao động từ 0,375 ở quần thể Nậm Chang (Na Hang, Tuyên Quang) đến 0,449 ở Bến En (Thường Xuân, Thanh Hóa) cho loài *C. dolichophylla*, từ 0,445 ở Yên Quang (Ninh Bình) đến 0,682 ở Ba Sao cho loài *C. balansae*. Tương tự,  $T_m$  ở nhóm cá thể non dao động từ 0,327 ở Tân Dân đến 0,627 ở Ba Sao (*C. balansae*), từ 0,361 ở Nậm Chang đến 0,421 ở Cúc Phương cho loài *C. dolichophylla*.

Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra giá trị thụ phấn chéo là thấp ở cả 3 quần thể Nậm Chang, Bến En và Cúc Phương cho loài *C. dolichophylla* và quần thể Tân Dân cho loài *C. balansae*. Giá trị này cao hơn ở quần thể Ba Sao và Yên Quang (*C. balansae*) và

quần thể Khe Nậm (*C. chevalieri*). Hệ số thụ phấn chéo bị suy giảm mạnh xuất hiện ở quần thể Tân Hợp cho loài *C. simplicipinna*. Kết quả nhận được về giá trị thụ phấn chéo của cả 4 loài Tuế nghiên cứu là thấp so với nhiều loài sống trong rừng nhiệt đới, có phương thức sinh sản hữu tính như *Cordia allodora* ( $T_m = 0,966$ , Boshier *et al.*, 1995), *Tachigali versicolor* ( $T_m = 0,998$ , Loveless *et al.*, 1998), *Eucalyptus regnans* ( $T_m = 0,91$  Moran *et al.*, 1989), *Shorea leprosula* ( $T_m = 0,837$ , Lee *et al.*, 2000), *Hedysarum coronarium* ( $T_m = 0,830$ , Yagoubi, Chriki, 2000), *Caryocar brasiliense* ( $T_m = 1,000$  Collevatti *et al.*, 2001). Tuy nhiên, một số loài có giá trị  $T_m$  thấp hơn hoặc tương đương, như *Cavanillesia platanifolia* ( $T_m = 0,213 - 0,569$  Moran *et al.*, 1989), *Helicteres brevispira* ( $T_m = 0,478 - 0,676$  Franceschinelli, Bawa, 2000).

Hệ số thụ phấn chéo tương quan với kích thước quần thể. Hệ số tương quan dương được tìm thấy cho loài *Plantago coronopus* (Wolff *et al.*, 1988) và một số loài thực vật nhiệt đới (Murawski *et al.*, 1994; Murawski, Hamrick, 1991). Sự khác nhau về tập tính ăn của côn trùng thụ phấn cùng với khác nhau về kích thước quần thể có thể ảnh hưởng đến hệ số thụ phấn chéo ở cả 4 loài Tuế nghiên cứu. Ảnh hưởng kết hợp của kích thước nhỏ và số nón đực và nón cái cao trên cùng một cây cũng có thể đóng góp làm suy giảm giá trị thụ phấn này, đặc biệt ở quần thể Tân Hợp ( $T_m = 0,358$ ) cho loài *C. simplicipinna*.

**Bảng 2.** Hệ số Fis - cận ngẫu nhiên và  $T_m$  - thụ phấn chéo ở các nhóm cá thể non và trưởng thành trong một số quần thể Tuế.

Quần thể	Cây non		Cây trưởng thành	
	Fis	$T_m$	Fis	$T_m$
<i>C. dolichophylla</i> :				
DNC	0,469	0,361	0,454	0,375
CBE	0,424	0,404	0,380	0,449
DCP	0,407	0,421	0,452	0,377
<i>C. balansae</i> :				
BBS	0,229	0,627	0,189	0,682
BTD	0,489	0,327	0,384	0,445
BCP	0,290	0,55	0,289	0,551
<i>C. chevalieri</i> :				
CKN	0,306	0,531	0,157	0,729
<i>C. simplicipinna</i> :				
STH	0,467	0,358	0,163	0,719

Giá trị thụ phấn chéo khác nhau có ý nghĩa giữa các quần thể trong cùng một loài có thể phản ánh mức độ khác nhau về di truyền và môi trường sống (Liengsin *et al.*, 1998; Coates, Hamley, 1999; Lee, 2000). Liengsin và đồng tác giả (1998) đã giả thiết rằng mức độ khác nhau về giá trị thụ phấn chéo của 11 quần thể của loài *Pterocarpus macrocarpus* liên quan đến mức độ suy giảm nơi sống, kích thước và phân bố cây ra hoa trong mỗi quần thể. Rõ ràng, đối với loài *C. dolichophylla*, nơi sống của 2 quần thể Nậm Chang và Bền En bị suy giảm nhiều hơn so với quần thể Cúc Phương. Tương tự đối với loài *C. balansae*, quần thể Tân Dân sống ở tầng dưới tán rừng thông trồng thường xuyên bị tác động mạnh bởi người dân địa phương (canh tác dưới tán rừng), hơn nữa kích thước bị suy giảm (khai thác cây cảnh), do vậy hệ số thụ phấn chéo thấp hơn nhiều so với 2 quần thể Ba Sao và Yên Quang.

## KẾT LUẬN

Dẫn liệu phân tích isozyme đã chỉ ra hệ số thụ phấn cận Noon cao xuất hiện ở hầu hết các nhóm cá thể non của các quần thể thuộc 4 loài Tuế có thể gây ra bởi ảnh hưởng kết hợp của mức độ hạn chế khoảng cách phát tán hạt (trọng lượng một hạt Tuế khoảng 5 - 7 g) và thụ phấn trong cùng nhóm cá thể với nhau. Hạt Tuế phát tán nhờ động vật ăn hạt, tuy nhiên khoảng cách phát tán chưa được biết. Hoạt động của côn trùng thụ phấn cũng là yếu tố quan trọng trong môi trường sống của chúng. Mật độ côn trùng cao sẽ làm tăng giá trị thụ phấn chéo giữa các cá thể trong mỗi quần thể. Nơi sống của các quần thể Tuế nghiên cứu bị rối loạn và suy giảm mạnh, đặc biệt ở những mảnh rừng thứ sinh và rừng trồng (xem mục 3.1) đã ảnh hưởng rất lớn đến số lượng loài và mật độ côn trùng thụ phấn với đặc điểm thích nghi cao dưới tán rừng và tất nhiên cũng góp phần làm suy giảm hệ số thụ phấn chéo ở các quần thể nghiên cứu.

**Lời cảm ơn:** Bài báo này là một phần của kết quả thực hiện đề án RE-VNM-03 được tài trợ bởi Trung tâm Bảo tồn Đa dạng sinh học ASEAN (ARCBC) và Cộng đồng châu Âu. Trình tự nucleotide được đọc tại Phòng Thí nghiệm trọng điểm Công nghệ gen, Viện Công nghệ sinh học.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

Aizen MA, Feinsinger P (1994) Forest fragmentation, pollination and plant reproduction in a chaco dry forest,

Argentina. *Ecology* 75: 330-351.

Andresen E (2003) Effect of forest fragmentation on dung beetle communities and functional consequences for plant regeneration. *Ecography* 26: 87-97.

Boshier DH, Chase MR, Bawa KS (1995) Population genetics of *Cordia alliodora* (Boraginaceae), a neotropical tree. 2. Mating system. *Amer J Bot* 82: 476-483.

Bruna EM (1999) Seed germination in rainforest fragments". *Nature* 402: 932-947.

Cascante A, Quesada M, Fuchs E, Lobo J (2002) Effects of dry tropical forest fragmentation on the reproductive success and genetic variability of the tree, *Samanea saman* (Mimosaceae). *Conserv Biol* 16:137-147.

Coates DJ, Hamley VL (1999) Genetic divergence and the mating system in the endangered and geographically restricted species, *Lambertia orbifolia* Gardner (Proteaceae). *Heredity* 83: 418-427.

Collevatti RG, Grattapaglia D, Hay JD (2001) High resolution microsatellite based analysis of the mating system allows the detection of significant biparental inbreeding in *Caryocar brasiliense*, an endangered tropical tree species. *Mol Ecol* 86: 60-67.

Cunningham SA (2000) Depressed pollination in habitat fragments causes low fruit set. *Proc R Soc Lond B* 267: 1149-1152.

Ellstrand NC (1992) Gene flow by pollen: Implications for plant conservation genetics. *Oikos* 63: 77-86.

Franceschinelli EV, Bawa KS (2000) The effect of ecological factors on the mating system of a South American shrub species (*Helicteres brevispira*). *Heredity* 84: 116-123.

Goudet J (1995) Fstat version 1.2: a computer program to calculate F-statistics. *J Hered* 86: 485-486.

Hamrick JL, Godt MJW (1989) Allozyme diversity in plant species, In: Brown AHD, Clegg MT, Kahler AL and Weir BS (eds.), *Plant population genetics, breeding and genetic resources*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts: 43-63.

Lee SL (2000) Mating system parameters of *Dryobalanops aromatica* Gaertn. F. (Dipterocarpaceae) in three different forest types and a seed orchard". *Heredity* 85: 338-345.

Lee SL, Wickneswari R, Mahani MC, Zakri AH (2000) Mating system parameters in a tropical tree species, *Shorea leprosula* Miq. (Dipterocarpaceae), from Malaysian lowland dipterocarp forest. *Biotropica* 32:

693-702.

Lê Vũ Khôi (1996) *Nghiên cứu đa dạng sinh học của một hệ sinh thái điển hình: Hệ sinh thái Vườn Quốc gia Bến En*, (Tài liệu không xuất bản).

Liengsin C, Boyle TJB, Yeh FC (1998) Mating system in *Pterocarpus macrocarpus* Kurz in Thailand. *J Hered* 89: 216-221.

Loveless MD, Hamrick JL, Foster RB (1998) Population structure and mating system in *Tachigali versicolor*, a monocarpic neotropical tree. *Heredity* 81: 134-143.

McEuen AB, Curran LM (2004) Seed dispersal and recruitment limitation across spatial scales in temperate forest fragments. *Ecology* 85: 507-518.

Miller MP (1997) Tools for population genetic analysis (TFPGA) 1.3: A windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data.

Moran GF, Bell JC, Griffin AR (1989) Reduction in levels of inbreeding in seed orchard of *Eucalyptus regnans* F. Muell. compared with natural populations", *Silvae Genetica* 38: 32-36.

Murawski DA, Fleming TH., Ritland K, Hamrick JL (1994) Mating system of *Pachycereus pringlei*: an autotetraploid cactus". *Heredity* 74: 86-94.

Murawski DA, Hamrick JL (1991) The effect of the density of flowering individuals on the mating systems of nine tropical tree species. *Heredity* 67: 167-174.

Nei M (1987) *Molecular evolutionary genetics*.

Columbia University Press, New York.

Nomura T (2000) Effective population size under marker assisted selection. *Jpn J Biom* 21: 1-12.

Nomura T (2002) Effective size of populations with heritable variation in fitness. *Heredity* 89: 413-416.

Schaanker RU, Ganeshiah KN (1990) Pollen grain deposition patterns and stigma strategies in regulating seed number per pod in multi-ovulated species, In: Bawa KS, Hadley M (eds.), *Reproductive Ecology of Tropical Forest Plants*, UNESCO, Paris: 21-33.

Lê Bá Thụ (1995) Nghiên cứu tính đa dạng của hệ thực vật Vườn Quốc gia Cúc Phương. *Luận án Phó Tiến sỹ. Đại học Lâm nghiệp*.

Triest L (1989) Electrophoretic polymorphism and divergence in *Najas marina* L. (Najadaceae): molecular markers for individuals, hybrids, cytodemes, lower taxa, ecodemes and conservation of genetic diversity. *Aquat Bot* 33: 301-380.

Nguyễn Khánh Vân, Nguyễn Thị Hiền, Phan Kế Lộc, Nguyễn Tiến Hiệp (2000) *Các Biểu đồ Sinh Khí hậu Việt Nam*, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Hà Nội.

Wolff K, Friso B, van Damme JMM (1988) Outcrossing rates and male sterility in natural populations of *Plantago coronopus*. *Theor Appl Genet* 76: 190-196.

Yagoubi N, Chriki A (2000) Estimation of mating system parameters in *Hedysarum coronarium* L. (Leguminosae, Fabaceae). *Agronomie* 20: 933-942.

## INFLUENCE OF POPULATION SIZE ON INBREEDING DEPRESSION IN CYCADS (CYCAS, CYCADACEAE) IN VIETNAM

Nguyen Minh Tam<sup>1,2,\*</sup>, To Van Vinh<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Ecology and Biological Resources

<sup>2</sup>Vietnam National Museum of Nature

### SUMMARY

Four species, *Cycas dolichophylla*, *C. balansae*, *C. chevalieri* and *C. simplicissima* occur mainly in the lowland forests. Small population sizes influence the mating system in these species. Polyacrylamide gel electrophoresis of allozymes from leaf tissue of from 250 individuals belonging to 8 populations of these species were performed. Six allozymes were used to estimate the inbreeding coefficient,  $F_{is}$  within each population. The values of  $F_{is}$  were high for all the studying species ( $F_{is} > 0.2$ ). The results suggest that the small population sizes brought about by disturbed habitats and over-exploitation has led to an increase of inbred individuals within populations.

**Keywords:** Allozyme, *Cycas*, inbreeding depression, population size

\* Author for correspondence: Tel: 84-4-39941215; E-mail: [ngtam@hn.vnn.vn](mailto:ngtam@hn.vnn.vn)