

## MỐI QUAN HỆ DI TRUYỀN CỦA MỘT SỐ LOÀI CÂY THUỘC HỌ DẦU (DIPTEROCARPACEAE) Ở VIỆT NAM DỰA TRÊN PHÂN TÍCH TRÌNH TỰ GEN *matK*

Nguyễn Thị Phương Trang<sup>1</sup>, Nguyễn Minh Đức<sup>1</sup>, Ludwig Triest<sup>2</sup>, Nguyễn Minh Tâm<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>2</sup>Trường đại học Tự Do- Bỉ (Vrije Brussels University)

<sup>3</sup>Bảo tồn Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Ngày nhận bài: 15.01.2014

Ngày nhận đăng: 20.3.2014

### TÓM TẮT

Một đoạn DNA dài 900 base pairs của gen mã hóa cho enzyme maturase K (*matK*) đã được xác định trình tự. Dựa trên kết quả phân tích trình tự gen *matK*, sơ đồ mối quan hệ di truyền cũng như các thông số về khoảng cách di truyền của 15 loài cây họ Dầu (Dipterocarpaceae) thuộc 5 chi gồm *Vatica*, *Dipterocarpus*, *Shorea*, *Parashorea*, và *Hopea* ở Việt Nam đã được xác định. Kết quả cho thấy 15 loài họ Dầu của Việt Nam đã chia thành 2 nhóm, trong đó nhóm thứ nhất gồm các loài thuộc chi *Hopea* và 1 đại diện thuộc chi *Shorea* là *Shorea roxbughii*, nhóm thứ 2 là các loài còn lại. Kết quả cho thấy các loài thuộc chi *Hopea* ở Việt Nam có quan hệ rất gần gũi với nhau với khoảng cách di truyền trung bình chỉ là 0,4%. Kết quả cũng chỉ ra sự đa hình giữa các loài trong chi *Shorea*. Mặc dù chỉ có 3 đại diện của chi *Shorea* nhưng lại chia thành 2 nhóm tách biệt với khoảng cách di truyền khá xa nhau (33%). Trước đây, Meijer (1976) và Maury-Lechon (1998) khi nghiên cứu về đặc điểm hình thái của chi *Shorea* đã đề nghị tách chi này thành 3 chi nhỏ. Có vẻ như kết quả nghiên cứu về di truyền này đã cho thấy đề nghị tách chi *Shorea* của Meijer và Maury-Lechon trước đây là có căn cứ, cho thấy đây là 1 chi phức tạp, cần có thêm nghiên cứu sâu hơn cho chi này. Kết quả cũng cho thấy các loài thuộc chi *Dipterocarpus* và *Vatica* có quan hệ gần gũi với nhau hơn so với các loài trong chi *Hopea*. Chi *Vatica*, *Dipterocarpus* và 1 số loài trong chi *Shorea* là có chung nguồn gốc.

**Từ khóa:** Dipterocarpaceae, DNA, họ Dầu, *maturaseK* gen (*matK*), quan hệ di truyền

### MỞ ĐẦU

Họ Dầu (Dipterocarpaceae) là họ thực vật độc đáo và nổi tiếng của vùng nhiệt đới. Hiện nay gỗ của các loài cây họ Dầu đang chiếm thị phần lớn trên thị trường gỗ thế giới nên rõ ràng chúng đang đóng vai trò quan trọng đối với nhiều quốc gia, nhất là các quốc gia châu Á và đặc biệt là các nước Đông Nam Á. Ngoài việc cung cấp gỗ, các loài cây họ Dầu còn đem lại nhiều loại sản phẩm có giá trị khác phục vụ đời sống con người như tinh dầu thơm, nhựa mủ, mỡ bơ, camphor, tannin ... Cronquist (1981) phân chia họ Dầu (Dipterocarpaceae Bl.) thành 3 phân họ gồm Dipterocarpoideae, Pakaraimoideae và Monotoideae. Theo Nguyễn Hoàng Nghĩa (2005), ở Việt Nam có trên 40 loài cây họ Dầu thuộc 6 chi (*Anisoptera*, *Hopea*, *Parashorea*, *Vatica*, *Dipterocarpus*, *Shorea*), hầu hết là loài bản địa và đặc hữu. Do giá trị thương mại và nhu cầu của người dân địa phương, các loài cây họ Dầu bị khai thác quá mức. Hiện các loài cây họ Dầu hiện chi

còn gặp trong các khu bảo tồn đã được qui hoạch vì trong những năm qua, do chiến tranh tàn phá, khai thác quá mức mà diện tích rừng nói chung và rừng hỗn giao cây họ Dầu nói riêng đã bị suy giảm nghiêm trọng. Hiện nay, chưa có công trình nào nghiên cứu một cách có hệ thống về tiến hóa phân tử hay cấu trúc di truyền quần thể của các loài cây họ Dầu ở Việt Nam. Các công trình nghiên cứu về cây họ Dầu ở Việt Nam đa số chỉ tập trung nghiên cứu về phân loại của một vài loài cụ thể hoặc phân bố, đánh giá tài nguyên và bảo tồn các loài cây họ Dầu, nhưng chưa tập trung và thống nhất về số lượng loài và tên gọi của một số loài họ Dầu.

Nhằm nâng cao chất lượng cho công tác bảo tồn cũng như cung cấp thông tin về hệ thống học phân tử của các loài họ Dầu ở Việt Nam, chúng tôi tiến hành phân tích trình tự gen *matK* là gen đã được nghiên cứu và chứng minh là hữu hiệu cho các nghiên cứu về phân loại và phân tích mối quan hệ di truyền ở cấp độ loài và dưới loài cho 15 loài họ Dầu của Việt Nam.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

## Vật liệu nghiên cứu

Các mẫu lá hoặc vỏ của 16 mẫu nghiên cứu thuộc 15 loài cây họ Dầu được thu thập ở Việt Nam bao gồm: Dầu cát, Dầu đồng, Dầu lông, Dầu song nãng, Dầu mít, Dầu trà beng, Tàu nước, Chò nâu, Chò chỉ, Cẩm liên, Sến mù, Sao mặt quỷ, Sao Hải Nam, mẫu Sao đen thu tại Bến En, 2 mẫu Sao

Hòn Gai (thu tại đảo Ba Mùn và đảo Cái Lim – VQG Bái Tử Long). Mẫu được ghi số, đặc điểm sinh học của cây lấy mẫu và địa điểm thu mẫu (Bảng 1). Các mẫu lá đã được xác định chính xác về mặt hình thái theo các tài liệu thực vật hiện có. Sau đó mẫu được chuyển về phòng thí nghiệm Sinh học phân tử 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. Loài và địa điểm thu thập 16 mẫu Dầu thuộc 15 loài Dầu ở Việt Nam

TT	Tên khoa học	Tên Việt Nam	Kí hiệu	Địa điểm thu mẫu
1	<i>Dipterocarpus condorensis</i>	Dầu cát	DC	KBTTN Bình Châu-Phước Bửu, Bà Rịa-Vũng Tàu 100m, 10°28'N-107°35'E
2	<i>Dipterocarpus intncatus</i>	Dầu lông	VL	KBTTN Bình Châu-Phước Bửu, Bà Rịa-Vũng Tàu 100m, 10°28'N-107°35'E
3	<i>Dipterocarpus dyen</i>	Dầu song nãng	DSN	Tân Cừu, Vĩnh Cừu, Đồng Nai 129m, 11°12'N-107°09'E
4	<i>Dipterocarpus costatus</i>	Dầu mít	DM	VQG Bù Gia Mập, Bình Phước 130m, 10°56'N-106°59'E
5	<i>Dipterocarpus tuberculatus</i>	Dầu đồng	DD	VQG York Đôn, Buôn Đôn, Đắk Lắk 150m, 12°47'N-107°35'E
6	<i>Dipterocarpus obtusifolius</i>	Dầu trà beng	DTB	VQG York Đôn, Buôn Đôn, Đắk Lắk 150m, 12°47'N-107°35'E
7	<i>Dipterocarpus retusus</i>	Chò nâu	CN	VQG Tây Yên Tử, Bắc Giang 120m, 21°05'N-106°43'E
8	<i>Parashorea chinensis</i>	Chò chỉ	CC-CP	VQG Cúc Phương, Ninh Bình 150m, 20°19'N-105°36'E
9	<i>Shorea siamensis</i>	Cẩm liên	CL	KBTTN Krông Trai, Phú Yên 170m, 13°01'N-108°57'E
10	<i>Shorea roxbughii</i>	Sến mù	SM	VQG York Đôn, Buôn Đôn, Đắk Lắk 150m, 12°47'N-107°35'E
11	<i>Hopea mollissima</i>	Sao mặt quỷ	SMQ	VQG Tây Yên Tử, Bắc Giang 120m, 21°05'N-106°43'E
12	<i>Hopea odorata</i>	Sao đen	SD-BE	VQG Bến En, Thanh Hóa 100m, 19°35'N-105°30'E
13	<i>Hopea hongayensis</i>	Sao Hòn Gai	HG-BM	Đảo Ba Mùn, VQG Bái Tử Long, Quảng Ninh 120m, 21°02'N-107°35'E
14	<i>Hopea hongayensis</i>	Sao Hòn Gai	HG-CL	Đảo Cái Lim, VQG Bái Tử Long, Quảng Ninh 150m, 21°06'N-107°33'E
15	<i>Hopea hainanensis</i>	Sao Hải Nam	SHN	VQG Bến En, Thanh Hóa 100m, 19°35'N-105°30'E
16	<i>Vatica chevalieri</i>	Tàu nước	TN	VQG Cúc Phương, Ninh Bình 150m, 20°19'N-105°36'E

## Phương pháp nghiên cứu

## Tách chiết DNA tổng số

Mẫu được tách chiết theo phương pháp CTAB của Doyle và 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 1% (Lê Trần Bình, 2003). DNA tổng số được pha loãng dùng cho phản ứng PCR ở nồng độ 10 ng/μl.

### Thiết kế môi

Cặp môi được thiết kế dựa trên trình tự gen *matK* thuộc hệ gen lục lạp của các loài thuộc họ Dầu lấy từ ngân hàng Gen. Trình tự môi được lựa chọn là những vùng nucleotide được gợi ý bởi chương trình thiết kế môi trong phần mềm DNASTar và nằm trên vùng DNA bảo thủ. Mỗi có trình tự cụ thể như sau: *matK-F* (CGA TCT ATT CAT TCA ATA TTT C) và *matK-R* (TCT AGC ACA CGA AAG TCG AAG T) (Dayanandan S *et al.*, 1999).

### Nhân bản DNA

Nhân bản gen *matK* được tiến hành trên máy Gene Amp Systems 9700. Thể tích mỗi phản ứng PCR là 25 µl, trong đó chứa các thành phần gồm 12 µl H<sub>2</sub>O deion; 2,5 µl dung dịch đệm buffer 10X; 2,5 µl MgCl<sub>2</sub> 25 mM; 2,5 µl dNTPs 2,5 mM; 1,25 µl mỗi muối (10 pmol); 1,25 µl mỗi ngược (10 pmol); 0,5 µl *Taq* polymerase (5 U/µl); 2 µl DNA khuôn (Lê Trần Bình *et al.*, 2003). Quá trình nhân bản được tiến hành trên máy Gene amp PCR system 9700 theo chu trình nhiệt độ sau: (1) Biến tính ban đầu: 95°C trong 3 phút; (2) Biến tính: 94°C trong 30 giây; (3) Bắt cặp: 56°C trong 1 phút; (4) Kéo dài: 72°C trong

1 phút; (5) Lặp lại (2) đến (4) 35 chu kỳ; (6) Phản ứng kết thúc hoàn toàn: 72°C trong 10 phút; (7) Giữ sản phẩm ở 4°C.

### Giải mã trình tự sản phẩm PCR

Trình tự nucleotide vùng gen *matK* được xác định với kit BigDye terminator v3.1 và máy đọc trình tự ABI 3100 Avant genetic analyzer (Applied Biosystems). Mỗi *matK-F* và *matK-R* được dùng để giải mã 2 chiều vùng gen *matK*. Trước khi đọc trình tự, sản phẩm PCR được tinh sạch bằng cột Sephadex G50 (Hãng Sigma).

### Phân tích số liệu

Kết quả trình tự vùng gen *matK* của 15 loài cây nghiên cứu được so sánh với 5 loài khác trên Genbank (Bảng 2) bằng phần mềm ClustalW (Thompson *et al.*, 1994) và GenDoc (Nicholas, Nicholas, 1997). Sử dụng loài *Monotes madagascariensis* là loài ngoài nhóm để so sánh. Xây dựng cây phát sinh chủng loại theo phương pháp Maximum Parsimony (MP) và Neighbor Joining (NJ), mức độ khác biệt di truyền được tính toán theo mô hình Kimura hai thông số.

**Bảng 2.** Danh sách 5 loài lấy trên GenBank và được dùng để so sánh với 15 loài nghiên cứu

Stt	Tên khoa học	Mã số trên GenBank
1	<i>Dipterocarpus alatus</i>	KC568471.1
2	<i>Vatica odorata</i>	AB006373.1
3	<i>Hopea jucunda</i>	AB246459.1
4	<i>Shorea fallax</i>	AB295885.1
5	<i>Monotes madagascariensis</i>	AB246478.1

### KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đoạn gen *matK* có kích thước 900 bp đã được khuếch đại thành công bằng cặp môi *MatK-F*, *MatK-R*. Sản phẩm PCR của 15 loài nghiên cứu đã được giải mã và so sánh với 5 loài họ Dầu khác. Trên cơ sở dẫn liệu trình tự của 15 loài cây họ Dầu (Dipterocarpaceae), thành phần GC dao động từ 35% cho 2 loài *H. jucunda* và *D. obtusifolius* đến 35,7% cho 5 loài chi dầu *D. alatus*, *D. tuberculatus*, *D. costatus*, *D. dyeri*, *D. intricatus* và *D. condorensis*, trung bình 35,3%. Đối với vị trí codon thứ nhất, thành phần GC dao động từ 39,4% đến 40,5%, trung bình 39,6%.

Tương tự, thành phần GC dao động từ 31,8% đến 32,5%, trung bình 32% đối với vị trí codon thứ 2; GC dao động từ 33,3% đến 35,5%, trung bình 34,2% đối với vị trí codon thứ 3. Thành phần nucleotide cho mỗi loài Dầu nghiên cứu được trình bày ở bảng 3. Thành phần A dao động từ 28,1% (*S. roxburghii*) đến 29% (*Vatica chevalieri* và *Vatica odorata*), trung bình 28,4%. Tương tự, thành phần T dao động từ 36,1% (*S. fallax*) đến 36,5% (*D. obtusifolius*), trung bình 36,4%; C dao động từ 18,9% đến 19,4% (*H. odorata* và *S. roxburghii*), trung bình 19,1%; và G dao động từ 15,8% (*Vatica chevalieri* và *Vatica odorata*) đến 16,6%, trung bình 16,2% (Bảng 3).

Bảng 3. Thành phần nucleotide của các mẫu nghiên cứu; Chủ thích. BM: Ba Mùn, CL: Cái Lim.

Loài	T(U) (%)	C (%)	A (%)	G (%)	Tổng số nucleotide
<i>H. hainanensis</i>	36.4	19.1	28.4	16.1	821.0
<i>H. odorata</i>	36.4	19.1	28.4	16.1	821.0
<i>H. mollissima</i>	36.4	19.1	28.5	16.0	821.0
<i>H. hongayensis</i> BM	36.4	19.1	28.5	16.0	821.0
<i>H. hongayensis</i> CL	36.4	19.1	28.5	16.0	821.0
<i>H. jucunda</i>	36.4	18.9	28.6	16.1	821.0
<i>Vatica chevalieri</i>	36.2	19.0	29.0	15.8	821.0
<i>Vatica odorata</i>	36.2	19.0	29.0	15.8	821.0
<i>D. obtusifolius</i>	36.5	18.9	28.5	16.1	821.0
<i>D. alatus</i>	36.4	19.1	27.9	16.6	821.0
<i>D. tuberculatus</i>	36.4	19.1	27.9	16.6	821.0
<i>D. costatus</i>	36.4	19.1	27.9	16.6	821.0
<i>D. dyeri</i>	36.4	19.1	27.9	16.6	821.0
<i>D. intricatus</i>	36.4	19.1	27.9	16.6	821.0
<i>D. condorensis</i>	36.4	19.1	27.9	16.6	821.0
<i>D. retusus</i>	36.3	18.9	28.5	16.3	821.0
<i>P. chinensis</i>	36.3	18.9	28.5	16.3	821.0
<i>S. fallax</i>	36.1	19.0	28.7	16.2	821.0
<i>S. roxbughii</i>	36.4	19.4	28.1	16.1	821.0
<i>S. siamensis</i>	36.3	18.9	28.4	16.4	821.0
<b>Trung bình</b>	<b>36.4</b>	<b>19.1</b>	<b>28.4</b>	<b>16.2</b>	<b>821.0</b>

Kết quả giải trình tự sau đó được so sánh bằng chức năng Blast của NCBI. Kết quả so sánh chứng tỏ các sản phẩm PCR của chúng tôi chính là các đoạn DNA tương ứng với vùng gen *matK*. Các trình tự sau đó được kiểm tra, ghép nối với nhau bằng chương trình Clustal W của phần mềm Bioedit để thực hiện so sánh.

Sau khi loại bỏ tất cả các vị trí trống, các vị trí còn lại được sử dụng cho phân tích. Trong số 69 vị trí biến đổi (Variable), vị trí có giá trị mang thông tin (Parsimony informative) chiếm 46 vị trí. Số cặp nucleotide tương đồng trung bình là 821. Số cặp tương đồng cao nhất là 270 xuất hiện ở vị trí codon thứ hai và 264, 268 ở 2 vị trí codon thứ nhất và thứ ba. Hệ số trung bình của cặp Si (transition) và Sv (transversion) là 1,65. Hệ số này đối với vị trí codon thứ nhất là 1,41, thứ hai và thứ ba là 1,17 và 2,19 tương ứng. Tần số cao xuất hiện ở vị trí codon thứ nhất cho 4 cặp nucleotide, T – T, C – C, A – A và G – G là 90, 60, 72 và 45, tương ứng. Tần số này là 102, 47, 82 và 39 tương ứng ở vị trí codon thứ hai và 102, 45, 74 và 44 tương ứng ở vị trí codon thứ ba. Sự khác nhau giữa các cặp loài trên cơ sở phân tích theo mô hình Kimura 2 tham số đã chỉ ra mức độ khác nhau giữa các cặp loài nghiên cứu (Bảng 4).

Mức độ sai khác thấp nhất được tìm thấy giữa các cặp loài thuộc cùng một chi được thu thập cùng một vùng nghiên cứu. Chẳng hạn, cặp Sao mặt quý (*H. mollissima*) với Sao Hải Nam (*H. hainanensis*) là 0,4%. Hệ số này cũng được tìm thấy ở các cặp loài Sao mặt quý (*H. mollissima*) với loài Sao đen (*H. odorata*) và một số cặp thuộc chi Dipterocarpus (như *D. alatus*, *D. costatus*, *D. dyeri*) với hệ số là 0,7%. Tuy nhiên có sự khác nhau có ý nghĩa được tìm thấy trong chi này ở hai vùng địa lý khác nhau, chẳng hạn Chò nâu (*D. retusus*) phân bố ở phía Bắc Việt Nam với các loài ở Đông-Nam bộ như Dầu cát, dầu rái, dầu mít với hệ số từ 1 đến 2%. Sự khác nhau lớn được tìm thấy giữa các chi trong họ dầu, ví dụ Sếu mù (*S. roxbughii*) và các loài trong chi dầu Dầu cát, Dầu mít, Dầu đồng,... đều là 4% hoặc Sao đen (*H. odorata*) và Dầu rái, Dầu mít, Dầu song nòng cũng có hệ số sai khác là 3,4%. Tuy nhiên, không có sự sai khác được tìm thấy giữa 2 mẫu thuộc cùng 1 loài nhưng khác địa điểm thu mẫu (*H. hongayensis* thu tại 2 địa điểm đảo Ba Mùn và đảo Cái Lim).

Từ các chi số về khoảng cách di truyền trên cơ sở so sánh trình tự gen *matK*, sơ đồ mối quan hệ di truyền của 20 loài họ Dầu đã được xây dựng theo cả 2 phương pháp NJ (Hình 1) và MP (Hình 2).

Kết quả cho thấy 19 loài họ Dầu đã tách thành 2 nhóm, nhóm 1 gồm các loài thuộc chi *Hopea*, và loài *Shorea roxbughii*, nhóm 2 gồm các loài thuộc chi *Dipterocarpus* và *Vatica*, *Shorea* và *Parashorea*, *Monotes madagascariensis* là loài ngoài nhóm đã tách thành 1 nhóm riêng. Kết quả nghiên cứu đã chứng tỏ chi *Dipterocarpus* có quan hệ gần gũi với chi *Vatica* hơn là *Hopea*. Điều này phù hợp với nghiên cứu của *Thalisa Yuwa-amornpitak* và đồng tác giả (2006) khi nghiên cứu về mối quan hệ di truyền của các loài Dầu ở Thái Lan.

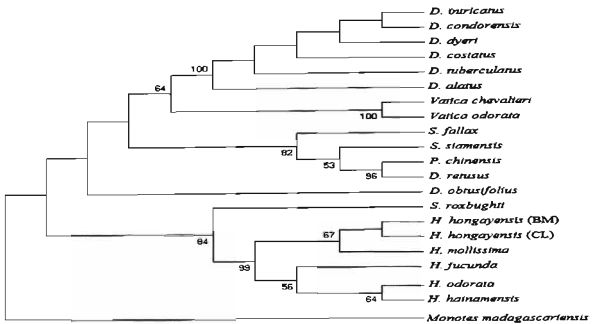
Chi *Shorea* là chi lớn nhất trong họ dầu với khoảng 250 loài, sau đó là đến chi *Hopea* với khoảng 105 loài. Ở đây chúng tôi lấy 3 loài đại diện cho chi *Shorea* gồm *S. siamensis*, *S. fallax* và *S. roxbughii* nhưng 3 loài này lại nằm phân về 2 nhánh, *S. siamensis* và *S. fallax* thuộc nhánh gần gũi với *Dipterocarpus* hơn, còn *S. roxbughii* lại có quan hệ gần gũi với chi *Hopea* hơn. Có vẻ như các loài trong chi *Shorea* không có sự đồng nhất như ở các chi khác. Trong một nghiên cứu của *Kusumadewi* và đồng tác giả (2005) cũng đã đề cập đến sự bất thường này ở chi *Shorea* khi nghiên cứu trình tự vùng gen *ITS* và *trnL-trnF*. *Kusumadewi* cho rằng nên chỉ dựa vào những cách phân loại truyền thống trước đây thì sẽ là không chính xác đối với sự phân loại các loài trong chi *Shorea* và khẳng định chi *Shorea* là một chi phức tạp, cần có sự phân chia lại, *Kusumadewi* cũng gợi ý nên chia chi *Shorea* thành 3

chi gồm *Shorea*, *Richetia* và *Rubroshorea*. Một số các nghiên cứu phân loại dựa trên hình thái trước đây của *Maury-Lechon* (1998) và *Meijer* (1976) trước đây cũng đã từng đề cập tới điều này. Trong nghiên cứu này, mặc dù đại diện cho chi *Shorea* chỉ có 3 loài nhưng cũng đã phần nào thể hiện được sự phức tạp của chi này, điều này cho thấy những nghiên cứu phân loại trước đây dựa trên đặc điểm hình thái của các loài trong chi *Shorea* là hoàn toàn có cơ sở.

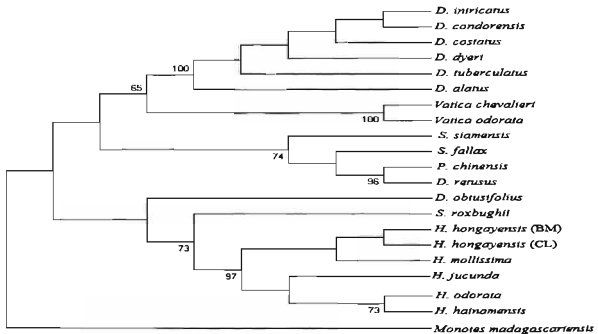
Đối với các loài trong chi *Hopea* mà đại diện ở đây có 5 loài gồm *H. hongayensis*, *H. hainanensis*, *H. odorata*, *H. mollissima* và *H. jucunda* đều có khoảng cách di truyền tương đối nhỏ. Đặc biệt 4 loài *Hopea* của Việt Nam đều có quan hệ rất gần gũi với nhau với chỉ số khác biệt di truyền trung bình chỉ là 0,4%. 4 loài này đều có đặc điểm cho gỗ tốt, chắc bền và hiện nay đều đang bị đe dọa do khai thác quá mức. Tuy nhiên *H. odorata* và *H. hainanensis* đã được nghiên cứu nhân giống thành công và đã được trồng nhiều trong các khu bảo tồn thiên nhiên, thậm chí loài *H. odorata* với đặc điểm cây gỗ rất thẳng và nhẵn nên còn được trồng làm cảnh trên các con đường. Riêng với loài *H. hongayensis* và *H. mollissima* là loài có phân bố hẹp hơn, khó trồng đại trà trên diện rộng nên hiện nay vẫn đang đứng trước nguy cơ bị đe dọa cao, cả 2 loài này đều có tên trong danh lục đỏ và sách đỏ Việt Nam và được đánh giá ở cấp độ nguy cấp

Bảng 4. Hệ số sai khác di truyền giữa các cặp loài nghiên cứu; Chú thích BM: Ba Mùn. CL: Cái Lim

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
<i>H. hainanensis</i>																				
<i>H. odorata</i>	0.004																			
<i>H. mollissima</i>	0.004	0.004																		
<i>H. hongayensis</i> (BM)	0.004	0.004	0.004																	
<i>H. hongayensis</i> (CL)	0.004	0.004	0.004	0.000																
<i>H. jucunda</i>	0.006	0.006	0.005	0.005	0.005															
<i>Vatica chrysobry</i>	0.032	0.032	0.031	0.031	0.031	0.034														
<i>Vatica odorata</i>	0.032	0.032	0.031	0.031	0.031	0.034	0.034													
<i>D. odoratissimus</i>	0.017	0.017	0.014	0.014	0.014	0.019	0.024	0.024												
<i>D. alata</i>	0.032	0.032	0.031	0.031	0.031	0.034	0.034	0.034	0.020											
<i>D. malabaricus</i>	0.032	0.032	0.031	0.031	0.031	0.034	0.034	0.034	0.020	0.009										
<i>D. castaneus</i>	0.032	0.032	0.031	0.031	0.031	0.034	0.034	0.034	0.020	0.009	0.007									
<i>D. sparti</i>	0.032	0.032	0.031	0.031	0.031	0.034	0.034	0.034	0.020	0.009	0.007	0.007								
<i>D. karriensis</i>	0.032	0.032	0.031	0.031	0.031	0.034	0.034	0.034	0.020	0.009	0.009	0.007	0.007							
<i>D. combricaria</i>	0.032	0.032	0.031	0.031	0.031	0.034	0.034	0.034	0.020	0.009	0.009	0.009	0.007	0.007						
<i>D. rufocan</i>	0.022	0.022	0.021	0.021	0.021	0.024	0.026	0.026	0.010	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025					
<i>P. chinensis</i>	0.022	0.022	0.021	0.021	0.021	0.024	0.026	0.026	0.010	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025				
<i>S. fallax</i>	0.027	0.027	0.029	0.029	0.029	0.030	0.034	0.034	0.017	0.033	0.033	0.033	0.033	0.033	0.033	0.033	0.015	0.015		
<i>S. roxbughii</i>	0.026	0.026	0.025	0.025	0.025	0.030	0.039	0.039	0.022	0.040	0.040	0.040	0.040	0.040	0.040	0.040	0.027	0.027	0.023	
<i>S. siamensis</i>	0.024	0.024	0.022	0.022	0.022	0.025	0.027	0.027	0.009	0.026	0.026	0.026	0.026	0.026	0.026	0.026	0.009	0.009	0.016	0.029



Hình 1. Mối quan hệ di truyền của 19 loài Dầu theo phương pháp NJ; Chú thích: BM: Ba Mùn, CL: Cái Lím.



Hình 2. Mối quan hệ di truyền của 19 loài Dầu theo phương pháp MP; Chú thích: BM: Ba Mùn, CL: Cái Lím.

## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Hệ thống học phân tử của 15 loài thuộc họ Dầu của Việt Nam đã được xây dựng dựa trên trình tự gen *matK*, các thông số về khoảng cách di truyền của

15 loài này cũng đã được xác định. Kết quả cho thấy các loài thuộc chi *Dipterocarpus* và *Vatica* có quan hệ gần gũi với nhau hơn so với các loài trong chi *Hopea*. Nghiên cứu cũng cho thấy không đồng nhất về vị trí phân loại giữa các loài trong chi *Shorea*. Kết

quả của nghiên cứu đóng góp số liệu về di truyền cho bộ cơ sở dữ liệu di truyền các loài cây họ Dầu của Việt Nam.

Rõ ràng, ngoài việc cung cấp gỗ, các loài cây họ dầu còn đem lại nhiều loại sản phẩm có giá trị khác phục vụ đời sống con người, một số loài còn đã được chứng minh là có giá trị làm thuốc như loài Sao Hòn Gai, Sao Hải Nam. Bên cạnh đó, sự phân loại dựa trên đặc điểm hình thái của một số chi trong họ này như chi *Shorea*, *Hopea* còn khá chung chung và chưa chính xác. Đa số các loài cây họ Dầu ở Việt Nam đều là loài bản địa và đặc hữu nhưng phần lớn đều đang đứng trước nguy cơ bị tuyệt chủng. Tuy vậy hiện nay chưa có nhiều nghiên cứu sâu về các loài cây họ Dầu ở Việt Nam. Vì vậy cần có thêm nhiều nghiên cứu hơn nữa dành cho các loài họ Dầu ở Việt Nam.

**Lời cảm ơn:** Nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí từ quỹ bảo tồn thiên nhiên NEF (Natural Environment Foundation), từ Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia Việt Nam (Nafosted - mã số 106-NN.06-2013.08), từ đề tài hỗ trợ cán bộ trẻ của Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật (mã số IEBR.CBT.TS01/14).

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

Dayanandan S, Peter S Ashton, Scott M Williams, Richard B Ptmack (1999) Phylogeny of the tropical tree family Dipterocarpaceae based on nucleotide sequences of the chloroplast RBCL gene *Am J Bot* 86(8): 1182-1190.

Doyle JJ, Doyle JL (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemistry Bulletin* 19: 11-15.

Kamiya K, Harada K, Ogino K, Kajita T, Yamazaki T, Lee HS, Peter S Ashton (1998) Molecular phylogeny of Dipterocarp species using nucleotide sequences of two non-coding regions in chloroplast DNA. *Tropics* 7: 195-207.

Kamiya K, Harara K, Hidenori Tachida, Peter S Ashton (2005) Phylogeny of PgiC gene in *Shorea* and its closely related genera (Dipterocarpaceae), the dominant trees in

Southeast Asian tropical rain forests. *Am J Bot* 92(5): 775-788.

Kusumadewi SY, Randall JB, Judith G West (2005) Molecular phylogenetic study of *Hopea* and *Shorea* (Dipterocarpaceae): Evidence from the trnL-TrnF and internal transcribed spacer regions. *Plant Species Biology* 20(3): 167-182.

Lê Trần Bình, Phan Văn Chí, Nông Văn Hải, Trương Nam Hải, Lê Quang Hoàn (2003) *Áp dụng các kỹ thuật sinh học phân tử trong nghiên cứu tài nguyên sinh vật Việt Nam*. NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.

Maury LG, Curtet L (1998) *Biogeography and evolutionary systematic of Dipterocarpaceae. A Review of Dipterocarp: Taxonomy, Ecology and Silviculture* CIFOR, Bogor.

Meijer W, Wood GHS (1976) *Keys to Dipterocarp of Sabah*. BIOTROP, Bogor.

Nicholas KB, Nicholas HB, Deerfield DW (1997) GeneDoc: Analysis and visualization of genetic variation. *EMBASE.NEWS* 4:14.

Nguyễn Hoàng Nghĩa (2005) *Cây họ Dầu Việt Nam*. NXB Nông Nghiệp.

Sanger F, Nicklen S, Coulson AR (1977) DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 74(12): 5463-5468.

Thalisa Y, Taweerat Vichitsoonthokul, Morakot Tanticaroen (2006) Molecular phylogeny of Dipterocarpaceae in Thailand using trnL-trnF and atpB-rbcL intergenic spacer region in chloroplast DNA. *Pak J Biol Sci* 9(4): 649-653.

Thompson JD, DG Higgins, TJ Gibson (1994) CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties, and weight matrix choice. *Nucl Acids Res*: 22: 4673-4680.

Tsumura Y, Kawahara T, Wickneswari R, Yoshimura K (1996) Molecular phylogeny of Dipterocarpaceae in Southeast Asia using RFLP of PCR-amplified chloroplast genes. *Theor Appl Genet*: 22-19.

Xavier JL, Karine L (2000) A rapid method for plant genomic instability using Unanchored-Microsatellite primers *Plant Mol Biol Rep* 18: 283a-283g.

**ANALYSIS OF GENETIC RELATIONSHIP OF SOME DIPTEROCARP (DIPTEROCARPACEAE) SPECIES IN VIETNAM BASED ON NUCLEOTIDE SEQUENCES OF *matK* GENE**

Nguyễn Thị Phương Trang<sup>1\*</sup>, Nguyễn Minh Đức<sup>1</sup>, Ludwig Triest<sup>2</sup>, Nguyễn Minh Tâm<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Ecology and Biological Resources, Vietnam Academy of Science and Technology*

<sup>2</sup>*Vrije Brussels University (VUB)*

<sup>3</sup>*Vietnam national museum of Nature, Vietnam Academy of Science and Technology*

**SUMMARY**

A DNA region of chloroplast *matK* gene with 900bp in length was sequenced. Genetic relationship as well as the parameters of genetic distance of 15 Dipterocarpaceae species belonging to 5 genera including *Vatica*, *Shorea*, *Parashorea*, *Dipterocarpus* and *Hopea* species in Vietnam were determined based on *matK* sequences. According to the obtained data, the investigated species were grouped in 2 groups, the first group includes *Hopea* species and *Shorea roxburghii*, remain species were grouped in the second group. The results showed that the species of the *Hopea* genus in Vietnam have very close relationship with an average genetic distance of only 0.4%. The study also showed the polymorphism in *Shorea* genus. Although there were only 3 species of *Shorea* genus but they were divided into 2 groups with genetic distance quite high (33%). Previously, Meijer (1976) and Maury-Lechon (1998) in their studies on morphology of *Shorea* genus indicated the high difference between the species in *Shorea* genus and suggested dividing *Shorea* genus into 3 separate groups. In this study, our results based on molecular characterization have confirmed Meijer and Maury-Lechon's suggestion, this is really complex genus and should have more deep research on this genus. The results also showed that the species belong to the *Dipterocarpus* and *Vatica* genera have more close relation than those of *Hopea* genus. Our study result also showed *Vatica*, *Dipterocarpus* and some species in *Shorea* genus have same phylogeny branch.

**Keywords:** *Dipterocarpaceae* family, DNA, genetic distance, maturaseK gen (*matK*), phylogeny

\* Author for correspondence: E-mail: [nptrang@iebr.ac.vn](mailto:nptrang@iebr.ac.vn)