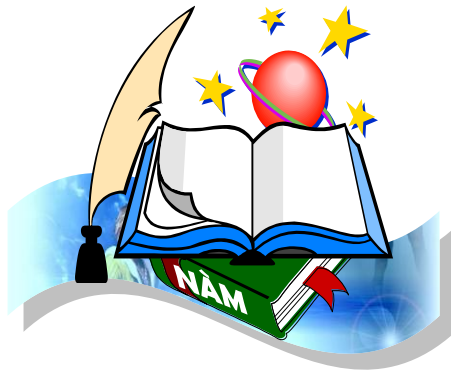


VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT



Nguyễn Văn Nhị

**“Đa dạng di truyền và thụ phấn chéo loài Dầu Song
nàng (*Dipterocarpus dyeri* Pierre) ở Khu Bảo tồn
Thiên nhiên - Văn hóa Đồng Nai, tỉnh Đồng Nai”**

Luận văn thạc sĩ: Sinh học thực nghiệm

Hà Nội, 11/2018

MỤC LỤC

MỞ ĐẦU	1
Đặt vấn đề	1
Mục tiêu, nội dung, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài	2
CHƯƠNG I. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	4
1.1. Tổng quan về họ Dầu và loài Dầu Song nàg.....	4
1.1.1. Tổng quan về họ Dầu (<i>Dipterocarpaceae</i>)	4
1.1.2. Loài Dầu Song nàg (<i>Dipterocarpus dyeri</i> Pierre)	7
1.1.3. Đa dạng di truyền và thụ phân chéo trong quần thể và loài	9
1.1.4. Quản lý và bảo tồn	12
1.2. Tổng quan về ứng dụng kỹ thuật sinh học phân tử trong nghiên cứu đa dạng di truyền và tiến hóa phân tử	13
1.2.1. Quần thể và tính đa dạng di truyền của quần thể.....	13
1.2.2. Một số kỹ thuật sinh học phân tử thường được dùng trong nghiên cứu đa dạng di truyền ở thực vật	15
1.2.3. Kỹ thuật RAPD	16
1.2.4. Kỹ thuật RFLP	17
1.2.5. Kỹ thuật AFLP	17
1.2.6. Kỹ thuật SSR.....	17
1.2.7. Kỹ thuật ISSR	19
1.3. Tình hình nghiên cứu trên thế giới.....	19
1.4. Tình hình nghiên cứu ở Việt Nam.....	21

CHƯƠNG II. ĐỊA ĐIỂM, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	23
2.1. Địa điểm nghiên cứu	23
2.2. Vật liệu nghiên cứu.	23
2.2.1. Thu thập và bảo quản mẫu DNA	23
2.2.2. Trình tự môi sử dụng trong nghiên cứu di truyền loài Dầu Song nàg... 24	
2.3. Phương pháp nghiên cứu	25
2.3.1. Phương pháp tách chiết DNA tổng số	25
2.3.2. Phương pháp PCR (Polymerase Chain Reaction)	26
2.3.3. Phương pháp điện di	28
2.3.3.1. Điện di trên gel agarose	28
2.3.3.2. Điện di gel Polyacrylamide.....	28
2.4. Phân tích số liệu	29
CHƯƠNG III: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN	31
3.1. Kết quả tách chiết DNA tổng số	31
3.2. Đánh giá hiệu quả chỉ thị SSR	31
3.3. Kết quả phân tích đa dạng di truyền loài Dầu Song nàg	34
3.3.1. Tần số allele trong quần thể cây trưởng thành và cây con	34
3.3.2. Đa dạng di truyền loài Dầu Song nàg.....	37
3.3.3. Phân tích AMOVA	43
3.4. Kết quả phân tích thụ phấn chéo ở cây trội và quần thể	44
3.5. Một số giải pháp bảo tồn loài Dầu Song nàg	46
CHƯƠNG IV: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	51

4.1. Kết luận.....	51
4.2. Kiến nghị.....	51
TÀI LIỆU THAM KHẢO	53
Tài liệu tiếng Việt.....	53
Tài liệu tiếng Anh.....	56

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 1.1. Ảnh cây và quả Dầu Song nàng	7
Hình 3.1. Kết quả điện di DNA tổng số từ vỏ cây một số mẫu Dầu Song nàng	31
Hình 3.2. Kết quả điện di sản phẩm PCR đa hình với cặp mồi Dipt02 (A) và Dipt08 (B). MK: marker 50 bp; SN1, 2,,14:mẫu	32

DANH MỤC BẢNG BIỂU

Bảng 2.1. Trình tự nucleotide các cặp mồi SSR dùng trong nghiên cứu.....	24
Bảng 2.2. Công thức pha đệm rửa (washing buffer) 10 ml	25
Bảng 2.3. Công thức pha đệm tách chiết (CTAB) 10 ml.....	26
Bảng 2.4. Thành phần phản ứng PCR.....	27
Bảng 2.5. Chu kỳ phản ứng PCR	27
Bảng 3.1. Số allele và các giá trị PIC, PD, Rp, MI cho 8 locus đa hình.....	33
Bảng 3.2 Tần số allele cho mỗi locus của cây trưởng thành và cây con	35
Bảng 3.3. Đa dạng di truyền loài Dầu Song nàg.....	39
Bảng 3.4. Đa dạng di truyền của một số loài thuộc chi Dầu ở Việt Nam.....	42
Bảng 3.5. Phân tích AMOVA của loài Dầu Song nàg.....	43
Bảng 3.6. Thông số sinh sản của Dầu Song nàg	44

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

STT	Từ viết tắt	Nội dung, chi tiết
1	AMOVA	Variance components in the analysis of molecular variance
2	AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
3	ISSR	Interal simple sequence repeat
4	MI	Marker index
5	PCR	Polymerase Chain Reaction
6	PD	Discrimination power
7	PIC	Polymorphic Information Content
8	RAPD	Random Amplified Polymorphism DNA
9	RFLP	Restriction fragment length Polymorphism
10	R_p	Resolving power
11	SSR	Simple sequence repeat
12	FAO	Tổ chức Lương thực và Nông nghiệp Liên Hiệp Quốc

MỞ ĐẦU

Đặt vấn đề

Họ Dầu (Dipterocarpaceae) là họ thực vật phổ biến của vùng nhiệt đới. Hiện nay gỗ của các loài cây họ Dầu đang chiếm thị phần lớn trên thị trường gỗ thế giới. Vì vậy chúng đang đóng vai trò quan trọng đối với nhiều quốc gia, chủ yếu các quốc gia Châu Á và đặc biệt 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 nhựa chai (*Shorea guiso*), nhựa cứng (*Neobalanocarpus sp.*, *Hopea sp.*), nhựa mù (*Dipterocarpus costatus*), mỡ bơ (*Shorea robusta*), camphor (*Dryobalanops aromatica*), tannin (*Dipterocarpus tuberculatus*, *Hopea odorata*). Cronquist (1981) [35] phân chia họ Dầu (Dipterocarpaceae) thành 3 phân họ gồm Dipterocarpoideae, Pakaraimoideae và Monotoideae. 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 [12]. Do giá trị thương mại và nhu cầu của người dân địa phương, các loài cây họ Dầu bị khai thác quá mức. Số lượng cây cho mỗi loài không nhiều. Nơi sống của chúng bị thu hẹp và suy giảm. Trong những năm 1980 và 1990, do khai thác quá nhanh bởi người dân địa phương và các doanh nghiệp lâm nghiệp, cùng với nơi sống của loài Dầu bị thu hẹp và phân cắt. Do đó, việc đánh giá mức độ đa dạng di truyền và môi trường sống của các loài Dầu được xem xét như là công việc ưu tiên trong hoạt động bảo tồn.

Dầu Song nàng (*Dipterocarpus dyeri* Pierre) phân bố khá rộng ở rừng nhiệt đới Đông Nam Bộ và Tây Nguyên, bao gồm Khu bảo tồn Thiên nhiên - Văn hóa Đồng Nai, rừng phòng hộ Tân Phú, Vườn Quốc gia Cát Tiên (Đồng Nai), Vườn Quốc gia Bù Gia Mập (Bình Phước), Lò Gò – Xa Mát (Tây Ninh), khu Bảo tồn Thiên nhiên Bình Châu - Phước Bửu (Bà Rịa - Vũng Tàu) và một số tỉnh khác ở

Tây Nguyên và đảo Phú Quốc (Kiên Giang). Loài này nằm trong Sách Đỏ Thế giới [59] và Việt Nam [3] cần phải được bảo vệ: CR A1 cd, B1 + 2C. Phạm vi nghiên cứu của đề tài này chúng tôi tập trung đánh giá mức độ đa dạng di truyền và thụ phấn chéo trong quần thể Dầu Song nàng ở rừng nhiệt đới núi thấp Mã Đà (Vĩnh Cửu, Đồng Nai) trên cơ sở phân tích 8 cặp môi chỉ thị Microsatellite để khám phá bản chất di truyền và hạt giống tốt đáp ứng được yêu cầu chất lượng cây giống phục vụ công tác bảo tồn và phát triển bền vững.

Mục tiêu, nội dung, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài

- Mục tiêu của đề tài:

+ Xác định được đa dạng di truyền và thụ phấn chéo loài Dầu Song nàng (*Dipterocarpus dyeri* Pierre) ở Khu bảo tồn Thiên nhiên - Văn hóa Đồng Nai, tỉnh Đồng Nai.

+ Mục tiêu này bảo tồn loài quý hiếm trên cơ sở nghiên cứu sâu hơn về bản chất di truyền quần thể và loài.

+ Có cơ sở khoa học chính xác giúp các nhà quản lý đưa ra những chính sách, biện pháp bảo tồn và phục hồi loài hữu hiệu ở Việt Nam.

- Nội dung nghiên cứu

+ Phân tích đa dạng di truyền loài Dầu Song nàng trên cơ sở phân tích 8 cặp môi Microsatellite.

+ Xác định các thông số thụ phấn chéo loài Dầu Song nàng ở Khu bảo tồn Thiên nhiên - Văn hóa Đồng Nai.

+ Đề xuất một số phương án bảo tồn loài cây họ Dầu và loài Dầu Song nàng.

- Ý nghĩa khoa học và thực tiễn:

Khoa học: Kết quả nghiên cứu là dẫn liệu khoa học di truyền loài và tuyển chọn cây trội đáp ứng được chất lượng cây giống phục vụ công tác bảo tồn và phục hồi loài.

Kinh tế - xã hội: Các cây trội sẽ được tuyển chọn có nhiều đặc tính đáp ứng cho công việc phục hồi loài. Các cây giống từ các cây trội được tuyển chọn đáp ứng yêu cầu như cây khỏe, phát triển nhanh, sức đề kháng tốt với dịch bệnh và có khả năng thích nghi với biến đổi của môi trường, giảm chi phí nhân giống.

Cơ chế chính sách: Các nhà quản lý có cách nhìn khoa học hơn và từ đó đưa ra các giải pháp phục hồi hữu hiệu loài đang bị đe dọa trên phạm vi toàn quốc.