

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

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

----o0o----

NGUYỄN MINH ĐỨC

**NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN QUẦN THỂ CỦA LOÀI
DẦU NƯỚC (*DIPTEROCARPUS ALATUS* ROXB. EX G.DON) Ở
RỪNG NHIỆT ĐỚI ĐÔNG NAM BỘ**

Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm
Mã số: 60. 42. 01. 14

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC

TS. Nguyễn Thị Phương Trang

Hà Nội – 2014

MỤC LỤC

	Trang
Trang bìa phụ	
Mục lục.....	
Lời cảm ơn.....	i
Danh mục các từ viết tắt, ký hiệu.....	ii
Danh mục các bảng	iii
Danh mục các hình.....	iv
MỞ ĐẦU	1
NỘI DUNG	4
Chương 1. Tổng quan tài liệu.....	4
1.1 Tổng quan về họ Dầu	4
1.2 Loài Dầu nước (<i>Dipterocarpus alatus</i>).....	4
1.3 Một số khái niệm về quần thể thực vật và phân cắt nơi sống.....	5
1.3.1 Quần thể thực vật	5
1.3.2 Nơi sống và phân cắt.....	6
1.3.3 Quần thể nhỏ và cô lập.....	7
1.3.4 Bảo tồn và quản lý tài nguyên di truyền thực vật	7
1.4 Một số kỹ thuật trong nghiên cứu đa dạng di truyền và tiến hóa phân tử.....	9
1.5 Nghiên cứu đa dạng di truyền một số loài họ Dầu (<i>Dipterocarpaceae</i>).....	13
1.6 Nghiên cứu mối quan hệ di truyền của một số loài cây họ Dầu (<i>Dipterocarpaceae</i>) trên cơ sở vùng gen <i>matK</i>	14
Chương 2. Đối tượng, địa điểm và phương pháp nghiên cứu.....	17

2.1 Đối tượng nghiên cứu.....	17
2.2 Địa điểm nghiên cứu	18
2.2.1 Địa điểm nghiên cứu đa dạng di truyền quần thể của 10 quần thể Dầu nước (<i>Dipterocapus alatus</i>).....	18
2.2.2 Địa điểm nghiên cứu mối quan hệ phát sinh loài giữa các loài họ Dầu	20
2.3 Phương pháp nghiên cứu.....	22
2.3.1 Khảo sát thực địa.....	22
2.3.2 Phương pháp thu mẫu	22
2.3.2 Phân tích trong phòng thí nghiệm.....	22
2.4 Phân tích số liệu	28
2.4.1 Đa dạng di truyền quần thể của loài Dầu nước.....	28
2.4.2 Mối quan hệ di truyền của một số loài cây họ Dầu	28
Chương 3. Kết quả và thảo luận.....	30
3.1 Nơi sống, cấu trúc phân tầng rừng, hiện trạng quần thể Dầu nước ngoài tự nhiên	30
3.1.1 Nơi sống và cấu trúc phân tầng rừng	30
3.1.2 Cấu trúc tuổi quần thể của loài Dầu nước.....	45
3.1.3 Hiện trạng quần thể Dầu nước ngoài tự nhiên, một số nguyên nhân làm suy giảm kích thước quần thể	46
3.2 Đa dạng di truyền quần thể của loài Dầu nước.....	48
3.2.1 Kết quả tách chiết DNA, PCR và điện di sản phẩm	48
3.2.2 Kết quả phân tích đa dạng di truyền quần thể.....	51
3.3 Đặc điểm vùng gen <i>matK</i> và mối quan hệ di truyền của 11 loài Dầu ở Việt Nam	58

Danh sách các trình tự đã được công bố lên Ngân hàng gen thế giới

(Genbank):.....	64
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	65
Kết luận	65
Kiến nghị	66
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN VĂN	
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

MỞ ĐẦU

Trong những năm gần đây, do áp lực tăng dân số và tốc độ phát triển kinh tế diễn ra nhanh, thảm thực vật rừng tự nhiên, nơi chứa đựng đa dạng sinh học cao ở nước ta bị phân cắt và suy giảm mạnh. Các mảnh rừng còn sót lại hiện nay là hậu quả của quá trình phân cắt và thường bị giới hạn về kích thước. Những quần thể thực vật rừng thường dễ bị tổn thương và ít có khả năng thích nghi khi môi trường sống bị thay đổi, đặc biệt khi chịu áp lực của biến đổi khí hậu.

Các cây họ Dầu là những loài cây rừng chiếm ưu thế, đóng vai trò quan trọng trong cân bằng sinh thái và kinh tế. Hiện có hơn 45 loài được biết đến từ 6 chi ở Việt Nam, chủ yếu là bản địa và đặc hữu. Do có giá trị thương mại cao và do nhu cầu sử dụng gỗ tại các địa phương mà các cây họ Dầu đang bị khai thác một cách mạnh mẽ. Hơn nữa, trong nhiều năm, áp lực tăng trưởng kinh tế đã dẫn đến sự suy giảm lớn trong khu vực rừng và tăng mức độ phân mảnh tại những khu rừng còn sót lại. Những xu hướng thay đổi này dẫn đến những ảnh hưởng trực tiếp mang tính bất lợi đến môi trường sống và đe dọa nghiêm trọng sự tồn tại của các cây họ Dầu. Hiện nay, 33 loài cây họ Dầu đang bị đe dọa ở mức độ toàn cầu. Loài cây Dầu nước (*Dipterocarpus alatus* Roxb. ex G.Don) đã và đang được sử dụng rộng rãi cho lĩnh vực làm đồ nội thất và xây dựng. Bên cạnh đó, chúng còn được sử dụng như một nguồn cho tinh dầu có giá trị và được sử dụng phổ biến trong thương mại. Loài Dầu này phân bố trong các khu rừng nhiệt đới vùng đất thấp. Ở Việt Nam, do sự giảm của môi trường sống và khai thác quá mức, loài cây này đã được liệt kê là bị đe dọa.

Cho đến nay, vẫn thiếu các thông tin quan trọng về đa dạng di truyền ở cấp độ quần thể và loài, đặc biệt là những tác động có hại từ hoạt động của con người đến loài Dầu nước (*Dipterocarpus alatus*). Nghiên cứu này sẽ góp phần giải quyết các vấn đề có liên quan và cung cấp thêm thông tin cho ngành kiểm lâm để nhấn mạnh sự cần thiết của việc bảo tồn và sử dụng các loài của các cộng đồng địa phương. Để nâng cao sự hiểu biết về sinh học bảo tồn, luận văn tiến

hành xác định các thông số di truyền học quần thể và sự phát triển của loài, cũng như quá trình chia cắt nơi sống có liên quan đến các hoạt động của con người.

Mục tiêu nghiên cứu

- *Mục tiêu chung:*

Đóng góp cho công tác bảo tồn và phục hồi hữu hiệu các loài quý hiếm đang bị đe dọa ở Việt Nam. Giúp các nhà quản lý hiểu biết sâu hơn về mức độ tiến hoá, quan hệ di truyền giữa các loài cây họ Dầu. Các yếu tố tác động của con người làm xói mòn cấu trúc di truyền quần thể và loài. Mục tiêu này cũng sẽ giúp cộng đồng các nhà khoa học hiểu biết rõ hơn về quá trình tuyệt chủng cũng như mức độ tiến hoá loài không chỉ cho các loài cây họ Dầu mà còn có thể áp dụng cho các loài cây khác có lịch sử sống tương tự và nâng cao đời sống cộng đồng địa phương.

- *Mục tiêu cụ thể:*

Xác định được mức độ đa dạng di truyền quần thể của loài Dầu nước (*Dipterocarpus alatus*) có phân bố tại Việt Nam.

Xác định được các nguyên nhân làm mất tính đa dạng di truyền quần thể, đưa ra các giải pháp phục hồi và sử dụng bền vững loài Dầu nước.

Xác định mối quan hệ di truyền của một số loài trong họ Dầu phân bố ở Việt Nam.

Nội dung nghiên cứu

Khảo sát, điều tra hiện trạng về phân bố, cấu trúc quần thể của loài Dầu nước phân bố tại 4 tỉnh miền Đông Nam Bộ Việt Nam gồm: Tây Ninh, Bình Phước, Đồng Nai, Bà Rịa – Vũng Tàu, 1 tỉnh Nam Trung Bộ: Phú Yên và 1 tỉnh Tây Nguyên: Đắk Lắk.

Xác định các thông số di truyền và phân tích ảnh hưởng của các biến động môi trường sống có liên quan đến tác động của con người đến các quần thể của loài Dầu nước ở 6 tỉnh miền Đông Nam Bộ, Nam Trung Bộ và Tây Nguyên Việt Nam bằng phương pháp SSR (Simple Sequence Repeats).

Xác định mối quan hệ di truyền của các loài thuộc họ Dầu ở Việt Nam trên cơ sở phân tích trình tự gen *matK*.

Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của luận văn:

Luận văn không những cho phép các nhà khoa học hiểu biết rõ hơn về mức độ suy giảm đa dạng di truyền ở cả 2 mức độ quần thể và loài của loài Dầu nước (*Dipterocarpus alatus*) mà còn áp dụng cho các loài Dầu khác đang bị đe dọa và xác định được vị trí phân loại trên cơ sở phân tích trình tự vùng gen *matK* cho một số loài Dầu ở Việt Nam.

Luận văn cung cấp cơ sở khoa học cho các nhà quản lý cập nhật thông tin về giá trị bảo tồn và nâng cao sự hiểu biết của người dân sống gần rừng về sự tuyệt chủng loài cần bảo vệ.

Kết quả của luận văn đóng góp cho công tác bảo tồn và quản lý hữu hiệu nguồn gen của các loài thực vật quý hiếm đang có nguy cơ tuyệt chủng, nâng cao hiểu biết rõ hơn về phương thức sinh sản và mức độ đa dạng di truyền trong và giữa các quần thể Dầu, thu thập thông tin về ảnh hưởng của người dân địa phương đến tính đa dạng di truyền của loài.

CHƯƠNG 1 – TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1 Tổng quan về họ Dầu

Họ Dầu còn được gọi là Họ Hai cánh có danh pháp khoa học là Dipterocarpaceae gồm có 17 chi và khoảng 580-680 loài cây thân gỗ chủ yếu phân bố ở các rừng mưa nhiệt đới vùng đất thấp với quả hai cánh. Tên gọi khoa học của họ xuất phát từ chi điển hình là *Dipterocarpus*, có nguồn gốc từ tiếng Hy Lạp (di = hai, pteron = cánh và karpos = quả, nghĩa là quả có hai cánh). Các chi lớn nhất là *Shorea* (196-360 loài), *Hopea* (105 loài), *Dipterocarpus* (70 loài) và *Vatica* (60-65 loài). Nhiều loài chiếm ưu thế trong các cánh rừng nhiệt đới núi thấp (dưới 500m so với mặt nước biển), thông thường có thể cây cao tới 40–70m, đôi khi trên 80m (*Dryobalanops*, *Hopea* và *Shorea*). Chúng phân bố rộng khắp vùng nhiệt đới, từ miền bắc Nam Mỹ tới Châu Phi, Seychelles, Ấn Độ, Đông Dương và Malaysia, với sự đa dạng và phổ biến nhất ở miền tây Malaysia. Theo Nguyễn Hoàng Nghĩa (2005) [4], Việt Nam có 42 loài cây Dầu thuộc 6 chi: *Anisoptera* (1 loài), *Dipterocarpus* (12 loài), *Hopea* (11 loài), *Parashorea* (2 loài), *Shorea* (8 loài) và *Vatica* (8 loài). Phần lớn những loài này được tìm thấy trong rừng nhiệt đới thường xanh và rừng khộp hỗn giao ở độ cao khoảng 500m. Các cây họ Dầu đóng vai trò quan trọng về sinh thái và kinh tế trong hệ sinh thái rừng núi thấp. Gỗ thường được sử dụng để đóng tàu, thuyền. Nhựa cây được sử dụng cho việc sơn và làm đồ mỹ nghệ.

1.2 Loài Dầu nước (*Dipterocarpus alatus*)

Cây Dầu nước (*Dipterocarpus alatus* Roxb. ex G.Don) phân bố trong rừng nhiệt đới ẩm núi thấp ở Việt Nam, Lào, Campuchia và Thái Lan. Ở Việt Nam, loài này phân bố rộng từ Nam Trung Bộ đến Đông Nam Bộ và Phú Quốc. Dầu nước là cây gỗ lớn, chiều cao thông thường 30-35m, nhưng có khi đạt tới 40-45m, đường kính ngang ngực đạt tới 250cm. Dầu nước thường chiếm tầng cao, ưu thế của rừng. Thân tròn đều, dáng thẳng đẹp. Gỗ màu nâu đỏ nhạt, thớ thô, bền. Cây trước tuổi trưởng thành có tán lá hình chóp nhưng khi trưởng

thành, cây có tán lá hình lọng. Vỏ cây mỏng có màu xám trắng và nhẵn. Lá đơn mọc cách, lá hình bầu dục hoặc trái xoan, dài 10-20cm, rộng 5-15cm; đầu hơi nhọn; gốc lá hình nêm hay hình tròn. Phiến lá có màu xanh thẫm ở mặt trên, màu xanh nhạt và có lớp lông mịn phủ ở mặt dưới, gân bên 11-18 đôi. Lá kèm có lông màu vàng xám nhạt. Quả gân hình cầu, có 5 cạnh nổi rõ, đường kính 1-1,5cm. Quả có 5 cánh dài nhẵn; hai cánh to, cánh dài từ 10-14cm, rộng 1,5-2cm, xếp song song, có màu đỏ tươi khi quả non và chuyển thành màu vàng khi quả chín già; 3 cánh nhỏ có kích thước 1,2-1,4cm. Mỗi quả có 1 hạt. Mùa quả chín là tháng 3-4 hàng năm, thường tập trung vào cuối tháng 3 và đầu tháng 4.

1.3 Một số khái niệm về quần thể thực vật và phân cắt nơi sống

1.3.1 Quần thể thực vật

Quần thể được định nghĩa là tập hợp một nhóm cá thể của một loài trong một nơi sống cụ thể và như vậy, chúng độc lập với các quần thể khác nhau về quan hệ sinh sản. Về mặt di truyền, quần thể liên quan ở mức độ cá thể, chúng được truyền từ thế hệ này sang thế hệ khác, và cũng bị ảnh hưởng bởi các yếu tố như kích thước quần thể, sức sinh sản, khả năng sống sót, phương thức sinh sản, trao đổi và đột biến di truyền. Kích thước quần thể là kết quả của sự tương tác phức tạp liên quan đến các điều kiện môi trường sống và các đặc tính quần thể của loài. Kích thước quần thể đóng vai trò quan trọng liên quan đến phương thức sinh sản, di truyền và tiến hoá. Nguồn gốc tiến hoá thường liên quan đến cá thể lai (thế hệ tiếp theo) trong quần thể và loài. Thụ phấn chéo từ cá thể của dòng này với cá thể của dòng khác có thể sản sinh những cá thể lai đa dạng. Cấu trúc di truyền của những cá thể này có nhiều cơ hội đóng góp vào tính đa dạng trong quần thể và duy trì khả năng thích nghi cao trong hoàn cảnh môi trường sống. Tác động của con người đến môi trường sống thường dẫn đến sự phá vỡ cấu trúc quần thể và thiết lập những quần thể nhỏ, cô lập và cuối cùng làm suy giảm khả năng thích nghi của quần thể với môi trường sống của chúng. Ở những thế hệ được sản sinh bằng thụ phấn cận loài sẽ dẫn đến 3 hậu quả nghiêm trọng: sự

khác nhau về di truyền giữa các quần thể bị thu hẹp, mất tính đa dạng di truyền và tăng tần số gen đồng hợp tử trong các quần thể nhỏ.

1.3.2 Nơi sống và phân cắt

Nơi sống của mỗi loài được thiết lập trong quá trình hình thành loài. Phân cắt xảy ra khi nơi sống bị chia nhỏ và cô lập với nhau bằng ma trận các cảnh quan khác nhau không giống ban đầu và không phù hợp cho sự tồn tại của loài. Như vậy, phân cắt tạo nên sự phá vỡ nơi sống. Tác nhân gây ra phân cắt bao gồm: mở rộng đất nông nghiệp, khai thác không hợp lý tài nguyên sinh vật, xây dựng khu dân cư, các công trình phát triển kinh tế và khai thác khoáng sản. Phân cắt đe dọa đến tính thống nhất sinh thái của một vùng rộng lớn đã được hình thành trong lịch sử phát triển loài và là một trong những nguyên nhân gây ra sự tuyệt chủng (Schonewald-Cox et al., 1983) [49]. Suy giảm diện tích nơi sống sẽ ảnh hưởng đến kích thước quần thể và sự phân mảnh nơi sống còn sót lại sẽ ảnh hưởng đến sự phát tán loài. Hậu quả của quá trình phân cắt thường làm suy giảm chức năng hệ sinh thái và cuối cùng mất nơi sống. Các quần thể nhỏ và bị cô lập trong các mảnh nơi sống còn sót lại dễ bị tổn thương và ít có khả năng thích nghi khi điều kiện môi trường sống của chúng bị thay đổi (Keller và Waller, 2002) [29]. Tất nhiên, hậu quả sẽ dẫn đến mất tính đa dạng di truyền ở cả hai mức độ quần thể và loài và cuối cùng nhiều loài bị đe dọa tuyệt chủng.

Các mảnh rừng tự nhiên còn sót lại hiện nay là hậu quả của sự phân cắt và thường bị giới hạn về kích thước và suy giảm về chất lượng. Các mảnh rừng này có thể chứa đựng những quần thể nhỏ và bị cô lập bởi khoảng cách lớn. Đây là bước đầu tiên của quá trình suy giảm nơi sống, dẫn đến mất chức năng của hệ sinh thái và cuối cùng là mất nơi sống. Quần thể nhỏ và cô lập thường dễ bị tổn thương và ít có khả năng thích nghi khi môi trường sống bị thay đổi do cấu trúc hữu hiệu được thiết lập trong quá trình hình thành loài và quần thể bị phá vỡ. Phân cắt nơi sống có ảnh hưởng trực tiếp đến hoạt động sinh sản của loài và được gây ra bởi những biến đổi bất lợi của môi trường, kích thước và cấu trúc di truyền quần thể.