

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

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

## LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC

### Tên đề tài:

**Đặc điểm di truyền, hình thái và hiện trạng phân bố ba loài *Hopea*  
đang bị đe dọa ở Việt Nam**

**Sao Hải Nam (*Hopea hainanensis* Merr. & Chun),**

**Sao Hòn Gai (*Hopea hongayensis* Tardieu)**

**và Sao Mặt Quỷ (*Hopea mollissima* C.Y.Wu)**

**Họ tên học viên : Trần Thu Hương**

**Người hướng dẫn : TS. Nguyễn Thị Phương**

**Trang**

**Chuyên ngành : Sinh học thực nghiệm**

**Mã số : 60420114**

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu – ĐHTN <http://www.lrc.tnu.edu.vn>

Hà Nội, 2014

## Mở đầu

Hiện nay, ở Việt Nam, họ Dầu **được biết** có sáu chi (*Anisoptera, Hopea, Parashorea, Vatica, Dipterocarpus, Shorea*), hầu hết là loài bản địa và đặc hữu. Các loài họ Dầu hiện chỉ còn gặp trong các khu bảo tồn đã được quy hoạch vì trong những năm qua, do chiến tranh tàn phá, do giá trị thương mại và nhu cầu của người dân địa phương 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.

Trong các loài họ Dầu, Sao hải nam, Sao hòn gai và Sao mặt quỷ là những loài phân bố hẹp, chỉ có ở Việt Nam và Trung Quốc, Đây là loài có nhiều giá trị cả về mặt khoa học, giá trị kinh tế cũng như giá trị y học. Tuy nhiên hiện nay ba loài này đang đứng trước nguy cơ tuyệt chủng do mức độ suy giảm nơi sống và việc khai thác **không hợp lý**. Mặc dù vậy, cho đến nay chưa có bất kỳ công trình nào nghiên cứu riêng về **các** loài này ở Việt Nam. Cho đến nay, chúng ta chưa có các số liệu cụ thể, thông tin về di truyền, các yếu tố ảnh hưởng xấu đến sự tồn tại của ba loài này liên quan đến tác động của con người cũng chưa được *Số hóa bởi Trung tâm Học liệu – ĐHTN <http://www.lrc.tnu.edu.vn>*

ngiên cứu, vì thế rất khó để nâng cao hiệu quả của công tác bảo tồn và phát triển bền vững chúng.

Chính vì vậy, chúng tôi đề xuất thực hiện nghiên cứu về **“Đặc điểm di truyền, hình thái và hiện trạng phân bố của ba loài *Hopea* đang bị đe dọa ở Việt Nam: Sao hải nam (*Hopea hainanensis* Merr. & Chun), Sao hòn gai (*Hopea hongayensis* Tardieu) và Sao mặt quỷ (*Hopea mollissima* C.Y.Wu)”** như một bước nghiên cứu đầu tiên nhằm cung cấp thông tin cần thiết cho về di truyền, bổ sung cơ sở dữ liệu về di truyền của ba loài này ở Việt Nam, đồng thời góp phần phục vụ công tác bảo tồn và sử dụng bền vững loài của cộng đồng dân cư địa phương.

### **Mục tiêu nghiên cứu**

Xây dựng cơ sở dữ liệu về di truyền của ba loài *Hopea* quý của Việt Nam.

### **Nội dung nghiên cứu**

✓ Khảo sát, điều tra hiện trạng về phân bố, cấu trúc quần thể của ba loài Sao Hòn gai (*Hopea hongayensis* Tardieu) tại hai đảo Ba Mùn và đảo Cái Lim, VQG Bái Tử Long, tỉnh Quảng Ninh, Sao Mặt Quỷ (*Hopea mollissima* C.Y.Wu) tại phân khu Khe Rỗ,

khu BTTN Tây Yên Tử, tỉnh Bắc Giang và Sao Hải nam (*Hopea hainanensis* Merr. & Chun) tại VQG Bến En, tỉnh Thanh Hóa.

✓ Xác định các đặc điểm di truyền ba vùng gen lục lạp bao gồm *matK*, *psbA – trnH* và *rbcL* bằng phân tích trình tự gen.

✓ Xác định mối quan hệ di truyền của ba loài này với **một số** loài họ Dầu khác ở Việt Nam trên cơ sở trình tự ba vùng gen lục lạp nêu trên.

### **Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của luận văn**

Kết quả nghiên cứu sẽ góp phần bổ sung cơ sở dữ liệu về di truyền cho danh lục các loài thực vật quý hiếm đang bị đe dọa tuyệt chủng ở Việt Nam, góp phần cho công tác bảo tồn nguồn gen, làm cơ sở khoa học cho công tác bảo tồn và phát triển bền vững ba loài gỗ quý này của Việt Nam.

## CHƯƠNG I. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

### Tổng quan về cây họ Dầu và ba loài nghiên cứu

Họ Dầu (Dipterocarpaceae) bao gồm 17 chi và khoảng 680 loài chia thành ba phân họ: *Dipterocarpoideae* gồm 13 chi và khoảng 600 loài ở vùng nhiệt đới châu Á và Malesia; *Pakaraimoideae* là đặc hữu vùng cao Guaianan – vùng nhiệt đới Nam Mỹ và *Monotoideae* với 3 chi và 30 loài ở vùng nhiệt đới Châu Phi và Nam Mỹ. Các chi lớn nhất trong họ Dầu là *Shorea* (khoảng 250 loài), *Hopea* (105 loài), *Dipterocarpus* (70 loài) và *Vatica* (65 loài). Các loài cây họ Dầu đã tạo nên một họ thực vật độc đáo và nổi tiếng nhất của vùng nhiệt đới. Hiện nay gỗ của các loài cây họ Dầu đang chiếm thị phần lớn trên thị trường gỗ thế giới.

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu – ĐHTN <http://www.lrc.tnu.edu.vn>

giới nên rõ ràng chúng đang đóng một vai trò quan trọng đối với nhiều nước, nhất là các nước Châu Á mà đặc biệt là các nước Đông Nam Á. Tuy nhiên, do khai thác quá mức và chuyển đổi mục đích sử dụng đất mà diện tích rừng nói chung và cây họ Dầu nói riêng đã bị suy giảm nghiêm trọng.

Có khoảng 45 loài cây họ Dầu với 6 chi được tìm thấy ở Việt Nam, chúng là những cây rừng phổ biến và đóng vai trò quan trọng về giá trị sinh thái và kinh tế. Phần lớn các cây họ Dầu ở Việt Nam là 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. Hơn nữa, trong nhiều năm, dưới áp lực tăng trưởng kinh tế nhanh là hậu quả của sự suy giảm diện tích rừng và tăng mức độ phân cắt của các mảnh rừng còn lại. Kết quả này làm ảnh hưởng đến nơi sống của cây họ Dầu.

Sao hải nam (*Hopea hainanensis* Merr. et Chun), Sao hòn gai (*Hopea hongayensis* Tardieu), Sao mặt quỷ (*Hopea mollissima* C.Y.Wu) đều là những loài đặc hữu, có đặc điểm hình thái gần giống nhau, phân bố rải rác trên khắp Việt Nam. Ba loài đều nằm trong Sách đỏ Việt Nam và được tổ chức IUCN xếp trong các mức phân hạng khác nhau.

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu – ĐHTN <http://www.lrc.tnu.edu.vn>

## **Tổng quan về ứng dụng kỹ thuật sinh học phân tử trong nghiên cứu phân loại và di truyền thực vật**

Phân loại học phân tử là phương pháp phân loại sử dụng sự sai khác trong cấu trúc phân tử để có được các thông tin về sự sai khác di truyền giữa các loài. Phân loại học phân tử dựa trên nguyên lý mỗi sinh vật sống đều mang vật chất di truyền là các phân tử DNA (ở một số virus là RNA), các sinh vật có họ hàng gần gũi sẽ có mức độ tương đồng cao trong cấu trúc phân tử, ngược lại những sinh vật có họ hàng xa nhau sẽ cho thấy những đặc điểm cấu trúc khác nhau. Kỹ thuật sinh học phân tử đang được áp dụng rộng rãi, có hiệu quả trong nghiên cứu tiến hóa, phân loại và đa dạng di truyền, là công cụ hỗ trợ đắc lực cho các nhà nghiên cứu trong việc phát hiện các loài mới, giải quyết mọi nghi ngờ về phân loại. Các kết quả nghiên cứu ở mức độ DNA đã và đang góp phần đánh giá đa dạng sinh học, định hướng khoa học cho việc bảo tồn và khai thác một cách hợp lý nguồn tài nguyên sinh vật trên thế giới cũng như ở Việt Nam.

## **Tổng quan về hệ gen lục lạp sử dụng trong nghiên cứu**

Trong số các gen lục lạp thì *matK* là 1 trong những gen tiến hóa nhanh nhất, có kích thước khoảng 1550bp và mã hóa cho enzyme maturase liên quan đến quá trình loại bỏ các in-tron loại I. *Số hóa bởi Trung tâm Học liệu – ĐHTN* <http://www.lrc.tnu.edu.vn>

hai trong quá trình phiên mã RNA. Do *matK* tiến hóa nhanh và có mặt trong hầu hết các loài thực vật nên được sử dụng như một chỉ thị trong nghiên cứu mối quan hệ di truyền giữa các loài và phát sinh loài ở thực vật. CBOL (Consortium for the Barcode of Life) đã thử nghiệm *matK* trên 550 loài thực vật và thấy rằng hơn 90% mẫu thực vật hạt kín dễ dàng khuếch đại trình tự bằng cách sử dụng 1 cặp mồi đơn và kiến nghị sử dụng *matK* là một trong những chỉ thị chuẩn cho việc phân loại thực vật. Ngoài ra, vùng gen lục lạp *rbcL*, vùng *psbA-trnH* gần đây đã trở thành một công cụ phổ biến trong các nghiên cứu phát sinh loài phân tử thực vật ở cấp độ phân loại thấp và phù hợp cho nghiên cứu DNA. Vùng này có kích thước xấp xỉ 450bp, xác suất nhân bản thành công rất cao (100% các loài đã được nghiên cứu).

## CHƯƠNG II. NỘI DUNG, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### *Đối tượng nghiên cứu*

TT	Tên khoa học	Tên Việt Nam	Địa điểm thu mẫu	Tọa độ thu mẫu

*Số hóa bởi Trung tâm Học liệu – ĐHTN* <http://www.lrc.tnu.edu.vn>



1	<i>Hopea hongayensis</i>	Sao Hòn gai	Đảo Ba Mùn, VQG Bái Tử Long, Ninh Quảng	21°02'N-107°35'E, 120m
2	<i>Hopea hongayensis</i>	Sao Hòn gai	Đảo Cái Lim, VQG Bái Tử Long, Ninh Quảng	21°06'N-107°33'E, 150m
3	<i>Hopea hainamensis</i>	Sao Hải nam	VQG Bến En, Thanh Hóa	19°35'N-105°30'E, 100m
4	<i>Hopea mollissima</i>	Sao Mặt quỷ	Phân khu Khe Rỗ, khu BTTN Tây Yên Tử, Bắc Giang	21°09'N-21°13'E, 130m
5	<i>Hopea odorata</i>	Sao Đen	VQG Bến En, Thanh Hóa	19°35'N-105°30'E, 100m
6	<i>Dipterocarpus intricatus</i>	Dầu Lông	Khu BTTN Bình Châu-Phước Bửu, Bà Rịa-Vũng Tàu	10°28'N-107°35'E, 100m
7	<i>Dipterocarpus dyeri</i>	Dầu Song Nàng	Tân Cửu, Vĩnh Cửu, Đồng Nai	11°12'N-107°09'E, 129m
8	<i>Dipterocarpus costatus</i>	Dầu Mít	VQG Bù Gia Mập, Bình Phước	10°56'N-106°59'E, 130m
9	<i>Dipterocarpus tuberculatus</i>	Dầu Đồng	VQG York Đôn, Buôn Đôn, Đắk Lắk	12°47'N-107°35'E, 150m
10	<i>Parashorea</i>	Chò Chi	VQG Cúc Phương, Ninh	20°19'N-

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu – ĐHTN <http://www.lrc.tnu.edu.vn>

	<i>chinensis</i>		Bình	105°36'E, 150m
--	------------------	--	------	----------------

### ***Trình tự môi sử dụng***

**Bảng 2.3. Trình tự các cặp môi dùng trong nghiên cứu**

<b>Vùng gene</b>	<b>Môi xuôi</b>	<b>Môi ngược</b>	<b>Nhiệt độ bắt cặp môi(°C)</b>	<b>Độ dài sản phẩm PCR</b>
<i>matK</i>	CGA TCT ATT CAT TCA ATA TTT C	TCT AGC ACA CGA AAG TCG AAG T	50	900
<i>rbcLa</i>	TCT AGC ACA CGA AAG TCG AAG T	CTT-CGG-CAC-AAA ATA CGA AAC GAT CTC TCC A	56	700
<i>rbcLc</i>	TGA AAA CGT GAA TTC CCA ACC GTT TAT GCG	GCA GCA GCT AGT TCC GGG CTC CA	56	700
<i>trnH-psbA</i>	GTT ATG CAT GAA CGT AAT GCT C	CGC GCA TGG TGG ATT CAC AAT CC	48	300

### ***Phương pháp nghiên cứu***

Khảo sát thu mẫu

Phương pháp tách chiết DNA tổng số

Phương pháp PCR với môi nghiên cứu

Phương pháp điện di DNA trên gel agarose

Đọc trình tự

Phân tích số liệu

Phân tích mối quan hệ di truyền-xây dựng cây phát sinh chủng loại

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu – ĐHTN <http://www.lrc.tnu.edu.vn>