

ĐẶC ĐIỂM DI TRUYỀN BA LOÀI SAO (*Hopea*) ĐANG BỊ ĐE DỌA TUYỆT CHỦNG Ở VIỆT NAM

Nguyễn Thị Phương Trang^{1*}, Trần Thu Hương¹, Ludwig Triest², Nguyễn Minh Tâm³

¹Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam, *ntptrang@yahoo.com

²Trường đại học Tự Do, Bỉ

³Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam

TÓM TẮT: Sao hòn gai (*Hopea chinensis* Hand-Mazz), Sao hải nam (*Hopea hainanensis* Merr. & Chun) và sao mặt quý (*Hopea mollissima* C.Y.Wu) là những loài cây lấy gỗ có giá trị cao về khoa học và y học. Hiện nay, nhóm cây này đều đang bị khai thác quá mức và có tên trong danh sách các loài đang bị đe dọa. Đặc biệt, *H. chinensis* và *H. mollissima* là hai loài có nhiều đặc điểm hình thái rất giống nhau, khó phân biệt ngoài tự nhiên. Bài báo này trình bày kết quả giải mã trình tự ba vùng gen lục lạp, đó là *rbcL*, *matK* và *psbA-trnH* nhằm chỉ ra sự khác biệt về di truyền giữa hai loài này, nhằm hỗ trợ cho phân loại học hình thái và bổ sung cơ sở dữ liệu di truyền về ba loài thuộc chi *Hopea* của Việt Nam. Kết quả cho thấy, có 6 vị trí sai khác nucleotide được tìm thấy giữa hai loài *H. chinensis* và *H. mollissima*, theo đó khoảng cách di truyền giữa hai loài này là 2%. Số nucleotit sai khác giữa loài *H. hainanensis* và *H. chinensis* là 7, khoảng cách di truyền của *H. hainanensis* với *H. chinensis* và *H. mollissima* lần lượt là 4% và 6%.

Từ khóa: *Hopea*, *matK*, *psbA-trnH*, *rbcL*, chỉ thị phân tử.

MỞ ĐẦU

Ở Việt Nam, do giá trị thương mại và nhu cầu của người dân địa phương, những loài cây thuộc họ Dầu thường bị khai thác mạnh, đặc biệt các loài thuộc chi Sao (*Hopea*). Sao hòn gai (*Hopea chinensis*) và Sao mặt quý (*H. mollissima*) là hai loài có phân bố hẹp, nhiều tài liệu đã khẳng định chỉ tìm thấy sao hòn gai ở Việt Nam và Trung Quốc [1, 2, 9, 18]. Gỗ sao hòn gai, sao mặt quý và sao hải nam bền, cứng, không bị mối mọt nên được sử dụng trong đóng thuyền, làm cầu, cột nhà, tà vẹt [18], ngoài ra, chúng còn có giá trị về y học. Một số công trình nghiên cứu của các tác giả Trung quốc cho thấy trong vỏ cây sao hòn gai còn có chứa nhiều hoạt chất sinh học hữu ích [8, 17]. Hiện nay ba loài này đang đứng trước nguy cơ tuyệt chủng do mức độ suy giảm nơi sống và việc khai thác quá mức. Ở Việt Nam, đã có nhiều nghiên cứu về phân loại và hệ thống học, tài nguyên và đa dạng các loài cây họ Dầu. Tuy nhiên, nhiều đặc điểm hình thái rất giống nhau của *H. chinensis* và *H. mollissima* vì vậy, việc phân biệt chúng còn gặp nhiều khó khăn, đặc biệt trong tự nhiên.

Chỉ thị phân tử (DNA barcoding) là công cụ công nghệ sinh học chính xác, đáng tin cậy và

đã được sử dụng rất nhiều trong phân loại các loài động thực vật. Hệ gen lục lạp có cấu trúc đơn bội, với lợi thế là kích thước nhỏ, số lượng bản sao lớn và di truyền ổn định qua các thế hệ nên được ứng dụng làm chỉ thị phân tử cho các nghiên cứu phân loại và mã vạch DNA [4, 7, 10]. Gamage et al. (2006) [7] đã xây dựng sơ đồ hình cây (Neighbour joining) mối quan hệ di truyền của các loài trong họ Dầu dựa trên giải trình tự vùng gen *trnL-trnF*. Việc sử dụng một hay kết hợp nhiều chỉ thị phân tử để phân loại đã được nhiều nhà khoa học trên thế giới quan tâm và tiến hành nghiên cứu. Kress (2007) [10] đã giới thiệu năm chỉ thị phân tử vùng gen lục lạp bao gồm *matK*, *rbcL*, *trnH-psbA*, *rpoCl* và *ycf5* là những chỉ thị phân tử tin cậy và hữu hiệu trong phân loại các loài thực vật cạn, trong đó nhấn mạnh sự kết hợp giữa vùng gen mã hoá *rbcL* và vùng gen không mã hoá *trnH-psbA* đã cho kết quả phân loại cao nhất [10]. Nhóm nghiên cứu về thực vật (plant working group) cũng đã giới thiệu ba chỉ thị phân tử lục lạp hữu hiệu để phân loại cho nhóm thực vật bậc cao là *matK*, *rbcL* và *trnH-psbA* (CBOL, 2009), đặc biệt sự kết hợp giữa hai chỉ thị phân tử *matK* và *rbcL* được coi là hữu hiệu cho hầu hết các loài thực vật [4].

Nhằm hỗ trợ cho phân loại học hình thái và bổ sung cơ sở dữ liệu về di truyền cho ba loài cây gỗ quý của Việt Nam, chúng tôi tiến hành giải mã trình tự ba vùng gen lục lạp gồm *rbcL*, *matK*, *psbA-trnH* của ba loài: Sao hòn gai (*H. chinensis*), Sao hải nam (*H. hainanensis*) và Sao mặt quý (*H. mollissima*), đồng thời phân tích mối quan hệ di truyền của ba loài rất gần gũi này.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mẫu lá và vỏ cây của *H. hainanensis* được

thu tại vườn quốc gia Bến En (Thanh Hóa), của loài *H. mollissima* được thu tại Khu bảo tồn thiên nhiên Tây Yên Tử, phân khu Khe Rỗ (Bắc Giang) và 2 mẫu lá loài *H. chinensis* được thu tại đảo Ba Mùn và đảo Cái Lim, vườn quốc gia Bái Tử Long (Quảng Ninh) (bảng 1). Mẫu được ghi số, ghi đặc điểm sinh học và đo tọa độ của cây lấy mẫu. Mẫu sau đó được chuyển về phòng thí nghiệm Hệ thống học phân tử và Di truyền bảo tồn 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. Địa điểm thu thập ba loài thuộc chi Sao ở Việt Nam

STT	Tên khoa học	Tên Việt Nam	Địa điểm thu mẫu
1	<i>Hopea hainanensis</i>	Sao hải nam	VQG Bến En, Thanh Hóa, 100m, 19°35'N-105°30'E
2	<i>Hopea chinensis</i>	Sao hòn gai	Đảo Ba Mùn, VQG Bái Tử Long, Quảng Ninh 120m, 21°02'N-107°35'E
3	<i>Hopea chinensis</i>	Sai hòn gai	Đảo Cái Lim, VQG Bái Tử Long, Quảng Ninh 150m, 21°06'N-107°33'E
4	<i>Hopea mollissima</i>	Sao mặt quý	Khu bảo tồn thiên nhiên Khe Rỗ, Bắc Giang, 21°09'N-21°13'E

Tách chiết DNA tổng số và thiết kế các cặp mồi

Mẫu lá và vỏ cây được tách chiết theo phương pháp CTAB của Doyle et al. (1987) [4] 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%. DNA tổng số được pha loãng dùng cho phản ứng PCR ở nồng độ 10ng/μl.

Trình tự các cặp mồi *rbcL*, *matK* và *psbA-trnH* sử dụng được lấy từ các nghiên cứu của Cuenoud (2002) [5], Mitsuyasu (1994) [12] và Kress (2007) [11] (bảng 2).

Tối ưu và nhân bản gen bằng phản ứng PCR

Phản ứng PCR được tiến hành trong thể tích là 40 μl với các thành phần gồm có: 20 μl Master Mix 2X; 1 μl MgCl₂ 25 mM; 0,5 μl Taq polymerase 5 u/μl; 2 μl DNA mẫu; 1,25 μl mỗi nồng độ 10 pmole mỗi loại và H₂O lên tổng thể tích 40 μl. Chu trình nhiệt được thực hiện trên

máy PCR system 9700 với các chu kỳ như sau: biến tính ở 90°C 3 phút, sau đó là 35 chu kỳ lặp lại: 95°C 30 giây; bắt cặp ở 56°C 1 phút với gen *rbcL*, ở 50°C trong 1 phút với gen *matK* và ở 58°C trong 1 phút với gen *psbA-trnH*; kéo dài mạch ở 72°C 1 phút. Cuối cùng là 72°C trong 10 phút để kết thúc phản ứng và giữ mẫu ở 4°C.

Sản phẩm PCR sau đó được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1%, nhuộm gel bằng ethidium bromide và chụp ảnh trên hệ thống máy ảnh có chiếu ánh sáng UV.

Giải trình tự và xử lý số liệu

Trình tự nucleotide các vùng gen được xác định với kit BigDye terminator v3.1 và máy đọc trình tự ABI 3100 Avant genetic analyzer (Applied Biosystems). So sánh sự khác nhau về vị trí các nucleotide giữa các cặp loài bằng ClustalW [16], GenDoc [13]. Phần mềm MEGA 5 [15] dùng trong phân tích số liệu sau xử lý. Mức độ khác nhau được tính toán theo mô hình Kimura hai thông số (K2P).

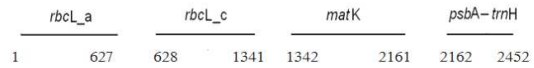
Bảng 2. Trình tự các cặp mồi dùng trong nghiên cứu

Vùng gene	Mồi xuôi (F)	Mồi ngược (R)	Nhiệt độ bắt cặp mồi (°C)	Độ dài sản phẩm PCR	Tham khảo
<i>matK</i>	CGA TCT ATT CAT TCA ATA TTT C	TCT AGC ACA CGA AAG TCG AAG T	50	900	Cuenoud (2002) [5]
<i>rbcLa</i>	ATG TCA CCA CAA ACA GAG ACT AA	CTT CGG CAC AAA ATA CGA AAC GAT CTC TCC A	56	700	Mitsuyasu et al. (1994) [12]
<i>rbcLc</i>	TGA AAA CGT GAA TTC CCA ACC GTT TAT GCG	GCA GCA GCT AGT TCC GGG CTC CA	56	700	Mitsuyasu et al. (1994) [12]
<i>trnH-psbA</i>	GTT ATG CAT GAA CGT AAT GCT C	CGC GCA TGG TGG ATT CAC AAT CC	58	300	Kress & Erickson (2007) [11]

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

4 đoạn DNA của 4 vùng gen *rbcLa*, *rbcLc*, *matK* và *psbA - trnH* sau khi nhân bản bằng PCR đã được giải trình tự, kiểm tra bằng chương trình Blast/NCBI. Kết quả so sánh chúng tỏ các sản phẩm PCR của chúng tôi chính là các đoạn DNA tương ứng với 4 vùng gen *rbcL a*, *rbcL c*, *matK* và *psbA - trnH*. Các trình tự sau đó được kiểm tra, ghép nối với nhau bằng chương trình Clustal W của phần mềm Bioedit

thành một đoạn DNA có kích thước 2452 bp để thực hiện so sánh. Vị trí của các vùng gen nghiên cứu được sắp xếp theo thứ tự sau:



Đoạn DNA dài 2452 bp của 4 mẫu nghiên cứu sau đó được tiến hành so sánh kiểm tra sự sai khác bằng chương trình MEGA 5.

#H.hongayensis_BM	GAC TAA AGC AAG TGT TGG GAT TCA AAG CTG GTG TTA AAC AGT ATA AAT TGA CTT ATT ATA CTC CTG AAT ACC AAA
#H.hongayensis_CL
#H.hainanensisG.....
#H.mollissimaC.....
#H.hongayensis_BM	CCA AAG ATA CTG ATA TCT TGG CAG CAT TCC GAG TAA CAC CTC AAC CCG GAG TTC CGC CTG AAG AAG CAG GGG CTG
#H.hongayensis_CL
#H.hainanensis
#H.mollissima
#H.hongayensis_BM	CGG TAG CTG CTG AAT CTT CTA CTG GTA CAT GGA CAA CCG TGT GGA CTG ATG GAC TTA CCA GCC TTG ATC GTT ACA
#H.hongayensis_CL
#H.hainanensis
#H.mollissima
#H.hongayensis_BM	AAG GGC GAT GCT ACG ACA TTG AGC CCG TTG CTG GAG AAG AAA ATC AAT ATA TAT GTT ATG TAG CTT ACC CTT TAG
#H.hongayensis_CL
#H.hainanensis
#H.mollissimaC.....
#H.hongayensis_BM	ACC TTT TTG AAG AAG GTT CTG TTA CTA ACA TGT TTA CTT CCA TTG TGG GTA ATG TAT TTG GGT TCA AAG CCC TGC
#H.hongayensis_CL
#H.hainanensis
#H.mollissima
#H.hongayensis_BM	GCG CTC TAC GTT TAG AGG ATC TGC GAA TCC CTA CTT CTT ATG TTA AAA CTT TCC AAG GCC CAC CTC ACG GTA TCC
#H.hongayensis_CL
#H.hainanensisA.....
#H.mollissima
#H.hongayensis_BM	AAG TTG AAA GAG ATA AGT TGA ACA AGT ACG GCC GTC CAC TAT TGG GAT GTA CTA TTA AAC CTA AAT TAG GGT TAT
#H.hongayensis_CL
#H.hainanensis
#H.mollissima
#H.hongayensis_BM	CCG CTA AGA ACT ACG GTA GAG CGG TTT ATG AAT GTC TAC GCG GTG GAC TTG ATT TTA CCA AAG ACG ATG AGA ATG
#H.hongayensis_CL
#H.hainanensis
#H.mollissima

```

#H.hongayensis_BM TGA ACT CCC AAC CTT TTA TGC GCT GGA GAG ATC GTT TCC ACC GTT TAT GCG CTG GAG AGA CCG TTT CTT ATT TTG
#H.hongayensis_CL ... ..
#H.hainanensis ... ..
#H.mollissima ... ..

#H.hongayensis_BM TAT CGA AGC AAT TTA TAA ATC ACA AGC TGA AAC AGG CGA AAT CAA AGG GCA TTA CTT GAA TGC TAC TGC GGG TAC
#H.hongayensis_CL ... ..
#H.hainanensis ... ..
#H.mollissima ... ..

#H.hongayensis_BM ATG CGA AGA AAT GAT GAA AAG GGC TGT AGC TGC AAG AGA ATT GGG AGC TCC TAT CAT AAT GCA TGA CTA TTT AAC
#H.hongayensis_CL ... ..
#H.hainanensis ... ..
#H.mollissima ... ..

#H.hongayensis_BM AGG CGG ATT CAC TGC AAA TAC GAG CTT GGC TCA TTA TTG CCG GGA TAA TGG TCT ACT TCT TCA TAT CCA CCG TGC
#H.hongayensis_CL ... ..
#H.hainanensis ... ..
#H.mollissima ... ..

#H.hongayensis_BM AAT GCA TGC AGT TAT TGA TAG ACA GAA GAA TCA TGG TAT GCA CTT CCG TGT ACT AGC TAA AGG CTT ACG TAT GTC
#H.hongayensis_CL ... ..
#H.hainanensis ... ..
#H.mollissima ... ..

#H.hongayensis_BM CGG CGG AGA CCA TGT TCA CGC TGG TAC AGT AGT AGG TAA ACT TGA AGG CGA AAG AGA TAT AAC TTT AGG CTT TGT
#H.hongayensis_CL ... ..
#H.hainanensis ... ..
#H.mollissima ... ..

#H.hongayensis_BM TGA TTT ACT ACG TGA TGA TTT TAT TGA AAA AGA TCG AAG CCG TGG TAT TTA TTT CAC TCA AGA TTG GGT TTC TCT
#H.hongayensis_CL ... ..
#H.hainanensis ... ..
#H.mollissima ... ..

#H.hongayensis_BM ACC AGG TGT TAT ACC TGT AGC TTC GGG TGG TAT TCA CGT TTG GCA TAT GCC TGC TTT GAC CGA GAT CTT TGG AGA
#H.hongayensis_CL ... ..
#H.hainanensis ... ..
#H.mollissima ... ..

#H.hongayensis_BM TGA TGC TGT ACT ACA ATT CGG TGG AGG AAC CTT AGG ACA CCC TTG GGG AAA TGC ACC GGG TGC TGT AGC GAA TCG
#H.hongayensis_CL ... ..
#H.hainanensis ... ..
#H.mollissima ... ..

#H.hongayensis_BM AGT AGC TGT AGA AGC ATG TGT ACA AGC CCG TAA TGA GGG ACG TGA TCT TGC TCG CGA GGG TAA TGA AAT TAT CCG
#H.hongayensis_CL ... ..
#H.hainanensis ... ..
#H.mollissima ... ..

#H.hongayensis_BM TCA GGC TAG CAA ATG GAC CCA TTA AAT TAT GTG TTA GAT GTA CTA ATA CCA TCC CAT CCA TCT GGA AAT CCT GAT
#H.hongayensis_CL ... ..
#H.hainanensis ... ..
#H.mollissima ... ..

#H.hongayensis_BM TCA AGT CCT TCG CTA CTG GGT AAA GGA GTC CTC CTC TTT GCA TTT ATT ACG GTT CCT TCT CTA CAA GTA TTG TCA
#H.hongayensis_CL ... ..
#H.hainanensis ... ..
#H.mollissima ... ..

#H.hongayensis_BM TTT TAA GAG TCT TAT TAC TCC AAA GAA ATC CCT TTT TTT TTT GAA TCC AAG ATT TTT CTT GTT CCT ATA TAA TTC
#H.hongayensis_CL ... ..
#H.hainanensis ... ..
#H.mollissima ... ..

#H.hongayensis_BM TTA TGT ATG TGA ATA CGA ATC CAT TTT CCT TTT TCT CCG TAA CCA ATC CTC TCA TTT ACG ATC AAC TGC TTC TGG
#H.hongayensis_CL ... ..
#H.hainanensis ... ..
#H.mollissima ... ..

#H.hongayensis_BM AAT CTT TCT TGA ACG AAT CCA TTT CTA TCG AAA AAT AGA GCA TCT CGT AGA AGT TTG TGC TAA TGA TTT TCA GGC
#H.hongayensis_CL ... ..
#H.hainanensis ... ..
#H.mollissima ... ..
#H.hongayensis_BM TAA CCT ATG TTT GTT CAA GGA TCC TTT CAT ACA TTT TGT TAG ATA TCA AAG AAA ATC AAT TCT TTT TTC CAA GGA
#H.hongayensis_CL ... ..
#H.hainanensis ... ..
#H.mollissima ... ..

#H.hongayensis_BM TAC GCC TCT TCT GAT GAA TAA GTG GAA ATT TTA CTT TGT CAA TTT ATG GCA ATA TTC TTT TTA CAT GTG GTC TCA
#H.hongayensis_CL ... ..
#H.hainanensis ... ..
#H.mollissima ... ..

#H.hongayensis_BM ATC AGG AAG GAT ACG GAT TCG GAT AAA CCA ATT ATC AAA AAA TTC TCT CGA TTT TCT GGG TTA TCG TTC AAG TAT
#H.hongayensis_CL ... ..
#H.hainanensis ... ..
#H.mollissima ... ..

#H.hongayensis_BM ACG ATT AGA TTC CTT AGT GGT GCG GAG TCA AAT GCT AGA AAA CTC ATT TAT AGT AGA TAA TGT TAT GAA AAA GCT
#H.hongayensis_CL ... ..
#H.hainanensis ... ..

```

```

#H.mollissima .....
#H.hongayensis_BM GGA GAC AAA AAT TCC AAT TCT AGC CTT GAT TGG ATC ATT GTC CAA AGC AAA ATT TTG TAA CGC AAT AGG GCA TCC
#H.hongayensis_CL .....
#H.hainanensis ..... T.....
#H.mollissima .....

#H.hongayensis_BM CAT TAG TAA GCC GAT CTG GAC CGA CTC ATC AGA TTC TGA TAT TAT TGA TCG CTT TGT GCG TAT ATG CAG AAA TCT
#H.hongayensis_CL .....
#H.hainanensis .....
#H.mollissima .....

#H.hongayensis_BM TTC TCA TTA TTA CAG TGG ATC CTC AAA AAA AAA AAA TTT GTA TCG GCA ACC TGT TGA AGC TAA ATG GAT CTT TTG
#H.hongayensis_CL .....
#H.hainanensis .....
#H.mollissima ..... A.....

#H.hongayensis_BM TCT TAG TGT ATA CGA GTT TTT GAA AAT AAA GGA GCA ATA TCC AAT TTC TTG TTC TAT CAA GAG TAT TGG TAT TGC
#H.hongayensis_CL .....
#H.hainanensis ..... A.....
#H.mollissima .....

#H.hongayensis_BM TCC TTT ATT TTA GTA GTC TTT TAT TTA CAT AAG TTT TTC AGT TTT TTC TTT ATA AAA ATG GAA AAT GCA AAT ACA
#H.hongayensis_CL .....
#H.hainanensis ..... A.....
#H.mollissima .....

#H.hongayensis_BM AAT AGG TGA AAA AGT ATA CTA TAT ACT ACT CTA AGG GCG GAT GTA GCC AAG T
#H.hongayensis_CL .....
#H.hainanensis ..... C.....
#H.mollissima .....
    
```

Hình 1. Trình tự vùng *rbcL-matK-psbA-trnH* của 3 loài nghiên cứu

Sau khi loại bỏ tất cả các vị trí trống, các vị trí còn lại được sử dụng cho phân tích. Trong số 13 vị trí biến đổi (variable) là Nu số 39, 68, 240, 417, 1036, 1368, 1652, 1707, 2020, 2221, 2258, 2266, 2364, trong đó một vị trí nu 1368 mang giá trị thông tin di truyền (Parsimony informative). Số cặp nucleotide tương đồng trung bình là 2445. Số cặp tương đồng cao là 816 xuất hiện ở vị trí codon thứ nhất và thứ hai,

số cặp tương đồng thấp nhất xuất hiện ở vị trí codon thứ ba. Hệ số trung bình của cặp Si (transition) và Sv (transversion) là 0,6. Hệ số này đối với vị trí codon thứ nhất là 1,0, thứ hai và thứ ba là 2,0 và 0,19, tương ứng. Thành phần A và thành phần T không có sự dao động với 31,9% và 28,9%, tương ứng. Thành phần C và G có khoảng dao động rất thấp lần lượt 18,5% đến 18,6% và 20,6% đến 20,7% (bảng 3).

Bảng 3. Thành phần base của các mẫu cây nghiên cứu(%)

Loài	T(U)	C	A	G
<i>H. chinensis</i> BM	31,9	18,6	28,9	20,6
<i>H. chinensis</i> CL	31,9	18,6	28,9	20,6
<i>H. hainanensis</i>	31,9	18,5	28,9	20,7
<i>H. mollissima</i>	31,9	18,6	28,9	20,6
Trung bình	31,9	18,5	28,9	20,6

Phân tích khoảng cách di truyền bằng chương trình Mega 5 (bảng 4) cho thấy hai mẫu sao hòn gai thu tại đảo Ba Mùn và đảo Cái Lim không có sự khác biệt di truyền. Sự khác biệt di

truyền giữa loài *H. hainanensis* và *H. mollissima* là 6%, giữa loài *H. hainanensis* và *H. chinensis* là 4% và khoảng cách di truyền giữa loài *H. mollissima* và *H. chinensis* là 2%.

Bảng 4. Khoảng cách di truyền giữa 4 mẫu nghiên cứu

Loài	1	2	3	4
<i>H. chinensis</i> BM				
<i>H. chinensis</i> CL	0,000			
<i>H. hainanensis</i>	0,004	0,004		
<i>H. mollissima</i>	0,002	0,002	0,006	

KẾT LUẬN

Bằng kỹ thuật sinh học phân tử, chúng tôi đã xác định thành công trình tự nucleotide của ba vùng gen lục lạp gồm *rbcL*, *matK* và *psbA-trnH* cho ba loài Sao của Việt Nam gồm Sao hòn gai (*Hopea chinensis*), Sao hải nam (*H. hainanensis*) và Sao mặt quỷ (*H. mollissima*). Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra mức độ khác biệt di truyền rất thấp từ 0,2 đến 0,6 giữa cặp loài nghiên cứu. Đây là những dữ liệu về di truyền tốt, có thể đưa vào cơ sở dữ liệu di truyền các loài cây quý của Việt Nam để nhận biết và so sánh với các loài khác trên thế giới. Kết quả trình tự gen *matK* và gen *rbcL* của ba loài thuộc chi *Hopea* nghiên cứu bao gồm *Hopea mollissima*, *H. Chinensis* và *H. hainanensis* đã được đăng ký trên ngân hàng Gen với số hiệu lần lượt là KJ611237, KJ611239, KJ611240 đối với gen *matK* và KM267145, KM267146, KM267147 đối với gen *rbcL*.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí từ Quỹ phát triển khoa học và công nghệ quốc gia Việt Nam (Nafosted, mã số 106-NN.06-2013.08), từ quỹ học bổng song phương Việt Bỉ (BTC-The Belgian Technical Cooperation) và đề tài hỗ trợ tiến sĩ trẻ (IEBR.CBT.TS04/2015).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ashton P. S., 1982. Dipterocarpaceae. Flora Malesiana, 92(1): 237-552.
2. Ashton P. S., 1998. *Hopea chinensis*, IUCN Red List of Threatened Species. International Union for Conservation of Nature, 02-2011.
3. Nguyễn Tiến Bản, 2007. Sách Đỏ Việt Nam, Phần II: Thực vật. Nxb. Khoa học tự nhiên và Công nghệ, Hà Nội, 173-175.
4. CBOL plant Working Group, 2009. A DNA barcode for land plant. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 106: 12794-19727.
5. Cuenoud P., Savolainen V., Chatrou L. W., Powell M., Grayer R. J., Chase M. W., 2002. Molecular phylogenetics of Caryophyllales based on nuclear 18S rDNA and plastid *rbcL*, *atpB*, and *matK* DNA sequences. Am. J. Bot., 89: 132-144.

6. Doyle J. J., Doyle J. L., 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin, 19: 11-15.
7. Wu Z. Y., Peter H. R., Hong D. Y., 2008. Flora of china: *Hopea chinensis* (Merrill) Handel-Mazzetti. Flora of China Editorial Committee, 13: 50.
8. Gamage T. D., Moley P., Nobuyuki I., Yamazaki T., Alfred E., 2006. Comprehensive Molecular Phylogeny of the Sub-Family Dipterocarpaceae Based on Chloroplast DNA Sequences. Genes. Genet. Syst., 81: 1-12.
9. Ge H. M., Yang W. H., Shen Y., Jiang N., Guo Z. K., Luo Q., Xu Q., Ma J., Tan R. X., 2010. Immunosuppressive resveratrol aneuploids from *Hopea chinensis*. Chemistry, 21: 6338-6345.
10. Huang S. X., Chen H., Pan B., Tang W.X., Luo W. H., 2008. Characteristics of *Hopea chinensis* Community, an Endemic and Endangered Species in Guangxi. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 01-2008.
11. Kress W. J., Erickson D. L., 2007. A two-locus global DNA barcode for land plants: The coding *rbcL* gene complements the non-coding *trnH-psbA* spacer region. PLoS One, 2(6): e508.
12. Mitsuyasu H., Tomoyuki O., Miyuki N., Toshio S., Masahiro K., Kunio I., 1994. *rbcL* gene sequences provide evidence for the evolutionary lineages of leptosporangiate ferns. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91: 5730-5734.
13. Nguyễn Hoàng Nghĩa, 2005. Cây họ Dầu Việt Nam. Nxb. Nông Nghiệp, Hà Nội, 68-74.
14. Nicholas K. B., Nicholas H. B. Jr., and Deerfield D. W. II., 1997. GeneDoc: Analysis and Visualization of Genetic Variation. Embnew News, 4:14.
15. Shaw J., Lickey E. B., Beck J. T., Farmer S. B., Liu W. et al., 2005. The tortoise and the hare II: Relative utility of 21 noncoding

- chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *Am. J. Bot.*, 92: 142-166.
16. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S., 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Method. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 28: 2731-2739.
17. Thompson J. D., Higgins D. G., Gibson T. J., 1994. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic. Acids. Res.*, 22: 4673-4680.
18. Tong Y., Ting W., Wei W., Nan J., Yan H. Q., Ren X. T., Hui M. G., 2012. Polyphenolic Acetylcholinesterase Inhibitors from *Hopea chinensis*. *Planta. Med.*, 78(10): 1015-1019.

MOLECULAR CHARACTERISTIC OF THREE THREATENED *Hopea* SPECIES IN VIETNAM

Nguyen Thi Phuong Trang¹, Tran Thu Huong¹, Ludwig Triest², Nguyen Minh Tam³

¹Institute of Ecology and Biological Resources, VAST

²Vrije Brussels University

³Vietnam National Museum of Nature, VAST

SUMMARY

Hopea chinensis Hand-Mazz, *Hopea hainanensis* Merr. & Chun and *Hopea mollissima* C.Y.Wu are high value timber species and have high value in science and medicine. Currently, these three species are over exploited and are listed in the Red book. Typically, *Hopea hongayensis* and *H. mollissima* shared many very similar morphology characteristics and often confusion. To provide molecular database for taxonomy and raising the effect of conservation to sustainable development of these species in Vietnam, three chloroplast gene regions including *rbcL*, *matK*, *psbA-trnH* of these three *Hopea* species were sequenced. The results showed that there are 6 different nucleotide positions were found between *Hopea hongayensis* Tardieu and *Hopea mollissima* C.Y.Wu. According that, the genetic distance between *H. chinensis* and *H. mollissima* is 2%. Seven different nucleotide positions were found between *H. chinensis* and *H. hainanensis*, the genetic distance between *H. hainanensis* with *H. chinensis* and *H. mollissima* is 4% and 6%, respectively.

Keywords: *Hopea*, chloroplast DNA, *matK*, *rbcL*, *trnH-psbA*.

Ngày nhận bài: 11-1-2014