

THÔNG SỐ VỀ TÍNH ĐA DẠNG DI TRUYỀN QUẦN THỂ TỰ NHIÊN LOÀI BÁCH XANH (*Calocedrus macrolepis*) Ở TÂY NGUYÊN, VIỆT NAM BẰNG CHỈ THỊ ISSR

Trần Thị Liễu¹, Lê Thị Quỳnh², Vũ Thị Thu Hiền¹, Đinh Thị Phòng^{1*}

¹Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam, *dinhthiphong@hotmail.com

²Trường Đại học Khoa học tự nhiên, ĐHQG Hà Nội

TÓM TẮT: Bách xanh (*Calocedrus macrolepis*), một trong số 15 loài lá kim gặp ở Tây Nguyên, có khu phân bố rộng với số lượng cá thể lớn, nhưng đến nay đã bị khai thác nhiều để lấy gỗ và làm bột hương, phân bố của loài cũng đang bị thu hẹp dần. Nếu không được bảo vệ và nhân nuôi, loài này sẽ có nguy cơ bị tuyệt chủng. Trong nghiên cứu này, 30 chỉ thị ISSR đã được sử dụng để phân tích thông số về tính đa dạng nguồn gen di truyền của 70 cá thể Bách xanh thu ở Đatanla (Lâm Đồng), Hòa Sơn (Đắk Lắk) và Kon Chư Răng (Gia Lai) của Tây Nguyên, Việt Nam. Kết quả phân tích đã chỉ ra 25/30 chỉ thị có tính đa hình. Tổng số đã nhân bản được 129 phân đoạn DNA, trong đó 65 phân đoạn đa hình (chiếm 50,39%). Tính đa dạng di truyền thể hiện cao nhất ở quần thể Đatanla ($I=0,192$; $h=0,102$; $PPB=35,66\%$; $Ne=1,227$ và $He=0,130$) và thấp nhất ở quần thể Kon Chư Răng ($I=0,022$; $h=0,015$; $PPB=3,88\%$; $Ne=1,027$ và $He=0,015$). Tổng mức độ thay đổi phân tử (AMOVA) giữa các quần thể là 36,33% và giữa các cá thể trong cùng quần thể là 63,67%. Biểu đồ phân nhóm chia làm 2 nhánh chính và có mức độ tương đồng di truyền dao động từ 81,4% (Cm16 và Cm57) đến 99,1% (Cm62 và Cm65). Thông qua kết quả phân tích phân tử cho thấy loài Bách xanh cần có chiến lược sớm để bảo tồn loài ở mức quần thể.

Từ khóa: *Calocedrus macrolepis*, đa dạng di truyền, ISSR, Tây Nguyên.

MỞ ĐẦU

Tây Nguyên được xem là cái nôi cho nhiều loài lá kim của Việt Nam. Hầu hết chúng là những loài có giá trị khoa học và kinh tế cao. Nhiều loài đang đứng trước nguy cơ bị đe dọa tuyệt chủng, trong đó có loài Bách xanh (*Calocedrus macrolepis*). Theo Quy Bảo tồn Thiên nhiên quốc tế (IUCN) 2014 [15], Bách xanh được xếp vào bậc sắp nguy cấp toàn cầu (VU A2cd), theo đánh giá của Nguyễn Tiến Hiệp và nnk. (2005) [5] Bách xanh của Việt Nam được xếp ở mức nguy cấp EN A2a,c,d, A3a,c,d, B2a,c, C1. Hầu hết các nghiên cứu trước đây mới chỉ tập trung vào việc phân loại dựa trên đặc điểm hình thái và vùng phân bố, còn nghiên cứu đa dạng di truyền nguồn gen cho loài Bách xanh ở Tây Nguyên thì gần như chưa có. Trong các kỹ thuật phân tử như RAPD, SSR, ISSR, kỹ thuật ISSR được xem có hiệu quả cao trong nghiên cứu đa dạng di truyền trên nhiều loài thực vật, trong đó có cả một số loài lá kim trên thế giới và Việt Nam [1, 6, 17, 18].

Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu

thông số về tính đa dạng di truyền quần thể tự nhiên loài Bách xanh ở Tây Nguyên, Việt Nam bằng chỉ thị ISSR làm cơ sở cho việc đề xuất giải pháp bảo tồn, sử dụng và phát triển bền vững tính đa dạng sinh học ở Việt Nam.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Sử dụng 70 mẫu lá/vỏ/rễ (mỗi mẫu là một cá thể, chiều cao từ > 0,5 m đến 20 m) để phân tích phân tử được chọn ngẫu nhiên từ 165 cá thể thu tại ba quần thể Bách xanh tự nhiên. Các mẫu được bảo quản trong túi nhựa dẻo có chứa silicagel ngay tại thực địa và chuyển đến phòng thí nghiệm giữ ở nhiệt độ phòng đến khi sử dụng. Thông tin của các mẫu nghiên cứu như trong bảng 1. Trình tự 30 chỉ thị ISSR (Inter simple sequence repeat) trong nghiên cứu được khai thác từ các tài liệu Isshiki et al. (2008) [6], Parashrami et al. (2010) [11], Borne et al. 2011[2] và Arif et al. 2009 [1]. Tổng hợp các mẫu ISSR bởi công ty IDT, Hoa Kỳ (Intergarated DNA Technology, USA).

Phương pháp

Tách chiết DNA tổng số: DNA tổng số được

tách chiết và làm sạch theo phương pháp của Porebski et al. (1997) [14]. Kiểm tra độ sạch trên gel agarose 0,9% và đo nồng độ DNA tổng số trên máy UVS 2700, Labomed, Hoa Kỳ.

Phân tích phản ứng PCR-ISSR và số liệu: Phản ứng nhân gen được thực hiện trên máy PCR system 9700 (Hoa Kỳ) với tổng thể tích 25 μ l. Thành phần của phản ứng, chu trình nhiệt và phân tích một số thông số về tính đa dạng di truyền như trong công bố của Trần Thị Liễu và nnk. (2015) [7] và Dinh Thi Phong et al. (2015) [13].

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đa dạng di truyền

Tổng số nhân bản được 129 phân đoạn DNA với kích thước dao động từ 250 bp đến 2000 bp, trong đó có 65 phân đoạn DNA đa hình (chiếm 50,39%). Hàm lượng thông tin đa hình (PIC) dao động từ 0 (chỉ thị UBC841, A17899, ISSR1, ISSR6 và P-61) đến 0,326 (chỉ thị P-49). Giá trị đa dạng gen trung bình trong một locus là 0,112 (bảng 2). Chỉ số đa dạng di truyền Shannon (I), chỉ số đa dạng di truyền theo Nei (h) và phần trăm phân đoạn đa hình (PPB) trong các quần thể dao động từ 0,022 (Kon Chur Răng) đến 0,192 (Đatanla); từ 0,015 (Kon Chur Răng) đến 0,102 (Đatanla) và từ 3,88% (Kon Chur Răng) đến 35,66% (Đatanla), tương ứng (bảng 3). Quần thể Bách xanh ở Đatanla có tính đa dạng di truyền cao nhất ($h=0,102$; $I=0,192$ và $PPB=35,66\%$), xếp thứ hai là quần thể Hòa Sơn ($h=0,084$; $I=0,175$ và $PPB=34,88\%$), và thấp nhất là quần thể Kon Chur Răng ($h=0,015$; $I=0,022$ và $PPB=3,88\%$). So sánh giá trị PIC trong nghiên cứu của Vũ Thị Thu Hiền và nnk. (2009) [4] đối với quần thể Bách xanh thu được ở Hà Tây (nay là Hà Nội), Lâm Đồng và Quảng Bình, thì quần thể Bách xanh ở Tây Nguyên có giá trị thấp hơn (0,101 so với 0,109, tương ứng), nhưng tỷ lệ phần trăm phân đoạn đa hình lại cao hơn (50,39% so với 39,29%, tương ứng) [4]. So sánh với một số loài lá kim khác trên thế giới và Việt Nam, loài Bách xanh ở Tây Nguyên có mức độ đa dạng di truyền ($PPB=51,16\%$ và $I=0,254$) tương đương với loài *Pinus nigra* ở phía nam Tây Ban Nha và phía bắc Morocco ($PPB=51,04\%$ và $I=0,262$)

[9], nhưng lại thấp hơn loài *Pinus sylvestris* ở các khu vực khác nhau của Bồ Đào Nha, Tây Ban Nha, Thụy Điển và Đức ($PPB=99,76\%$ và $I=0,690$) [3], hoặc loài *Pinus krempfii* của Việt Nam ($PPB=76,19\%$ và $I=0,414$) [13]; và cao hơn loài *Pinus dalatensis* của Việt Nam ($PPB=50,53\%$ và $I=0,259$) [12]. Kết quả phân tích trong bảng 3 cũng cho thấy, số alen hiệu quả (Ne) và hệ số gen dị hợp tử mong đợi (He) bậc lộ cao nhất ở quần thể Đatanla ($Ne=1,227$ và $He=0,130$), tiếp đến là quần thể Hòa Sơn ($Ne=1,198$ và $He=0,117$) và thấp nhất ở quần thể Kon Chur Răng ($Ne=1,027$ và $He=0,015$). Kết quả phân tích này cũng phản ánh tương tự theo cách tính (h) của Nei (1973) [10], chỉ số I của Shannon (1949) và phần trăm phân đoạn đa hình (PPB). So sánh với một số loài lá kim khác cho thấy mức độ đa dạng di truyền trong quần thể Bách xanh thể hiện ở mức thấp ($He=0,168$), cụ thể như *Pinus sylvestris* ($He=0,262$) và *Pinus sibirica* ($He=0,267$) [8, 17], nhưng lại cao hơn so với loài *Calocedrus macrolepis* ở Trung Quốc ($He=0,111$) [16] và loài *Pinus krempfii* ở Việt Nam ($He=0,151$) [7]. Kết quả nhận được trên đây cho thấy loài Bách xanh ở Tây Nguyên có nguy cơ suy giảm đa dạng di truyền rất cao.

Cấu trúc di truyền

Mức độ thay đổi phân tử (AMOVA) giữa các quần thể và giữa các cá thể trong cùng quần thể ở bảng 4 cho thấy, tổng mức độ thay đổi phân tử rất thấp giữa các quần thể (36,33%) và cao giữa các cá thể trong cùng quần thể (63,67%) với giá trị $p < 0,001$ (bảng 4). Kết quả ở bảng 5 chỉ ra quần thể ở Đatanla và ở Kon Chur Răng có khoảng cách di truyền lớn nhất (0,150) và nhỏ nhất là quần thể Đatanla và Hòa Sơn (0,046). Tương tự, khi so sánh mức độ tương đồng di truyền thì quần thể Đatanla và Hòa Sơn giống nhau nhiều nhất (0,955) và ít nhất là quần thể Đatanla và Kon Chur Răng (0,861) (bảng 5). Biểu đồ hình cây thể hiện mối quan hệ di truyền của 70 mẫu Bách xanh với chỉ thị ISSR (hình 1) chia thành hai nhánh chính I và II riêng biệt có hệ số tương đồng di truyền dao động trong khoảng từ 81,4% (Cm16 và Cm57) đến 99,1% (Cm62 và Cm65). Nhánh chính I gồm 4 mẫu Cm67, Cm68, Cm69 và Cm70 đều có nguồn gốc ở Kon Chur Răng (Gia Lai), có hệ số tương đồng di truyền trong

khoảng từ 96,5 đến 98%. Nhánh chính II gồm 66 mẫu còn lại và chia thành 2 phân nhóm II.1 và II.2 có hệ số tương đồng di truyền trong khoảng từ 85,5 đến 99,1%. Trong đó, phân nhóm II.1 gồm 34 mẫu (Cm33 - Cm66) có hệ số

tương đồng di truyền trong khoảng từ 87 đến 99,1%, đều có nguồn gốc ở Hòa Sơn (Đắc Lắc). Phân nhóm II.2 gồm 32 mẫu (Cm1 - Cm32) có hệ số tương đồng di truyền trong khoảng từ 86 đến 98%, có nguồn gốc ở Đatanla (Lâm Đồng).

Bảng 1. Thông tin của các mẫu Bách xanh sử dụng trong nghiên cứu

Quần thể	Địa điểm	Số mẫu	Ký hiệu mẫu	Tọa độ		
				Vĩ độ (°N)	Kinh độ (°E)	Độ cao (so mặt nước biển) (m)
Đatanla	Đà Lạt, Lâm Đồng	32	Cm1-Cm32	11°54'2.5"	108°26'56.8"	1315
Hòa Sơn	Hòa Sơn, Krông Bông, Đắc Lắc	34	Cm33-Cm66	12°25'05"	108°22'17"	1200
Kon Chư Răng	Sơn Lang, K' Bang, Gia Lai	4	Cm67-Cm70	14°30'52"	108°33'21"	1040-1057

Bảng 2. Giá trị PIC và phần trăm phân đoạn đa hình của 70 mẫu Bách xanh với 30 chỉ thị ISSR

ST T	Chỉ thị	Kích thước phân đoạn (bp)	PIC	Phân đoạn đa hình	Phân đoạn đồng hình	Tổng phân đoạn	% phân đoạn đa hình	Đa dạng gen trong một locus (H _i)
1	UBC811	400-950	0,094	3	2	5	60,00	0,238
2	UBC828	300-750	0,066	2	2	4	50,00	0,148
3	UBC835	450-1400	0,027	1	2	3	33,33	0,088
4	UBC836	250-1100	0,168	5	2	7	71,43	0,118
5	UBC841	375-800	0,000	0	4	4	0,00	0,000
6	UBC846	300-850	0,089	4	2	6	66,67	0,176
7	UBC848	300-800	0,155	3	1	4	75,00	0,310
8	A17899	300-500	0,000	0	2	2	0,00	0,000
9	A17901	250-1100	0,093	5	2	7	71,43	0,099
10	HB12	400-1100	0,199	3	1	4	75,00	0,061
11	HB15	450-1550	0,147	3	3	6	50,00	0,071
12	ISSR1	450-1150	0,000	0	4	4	0,00	0,000
13	ISSR3	350-1100	0,001	1	4	5	20,00	0,006
14	ISSR5	500-1200	0,018	4	0	4	100,0	0,069
15	ISSR6	600-800	0,000	0	2	2	0,00	0,000
16	ISSR09	600-2000	0,271	4	1	5	80,00	0,150
17	UBC817	350-600	0,119	1	2	3	33,33	0,162
18	UBC844	650-750	0,261	1	1	2	50,00	0,176
19	P-46	350-750	0,028	2	2	4	50,00	0,093
20	P-49	450-700	0,326	3	1	4	75,00	0,158
21	P-51	450-650	0,151	2	1	3	66,67	0,240
22	P-52	450-1400	0,215	4	2	6	66,67	0,243
23	P-54	550-750	0,117	1	1	2	50,00	0,047
24	P-55	400-750	0,013	2	3	5	40,00	0,126
25	P-56	550-700	0,025	1	2	3	33,33	0,082
26	P-59	350-900	0,325	6	2	8	75,00	0,271

27	P-61	400-950	0,000	0	6	6	0,00	0,000
28	P-62	400-650	0,022	2	1	3	66,67	0,080
29	P-65	400-650	0,007	1	3	4	25,00	0,027
30	P-69	700-1300	0,104	1	3	4	25,00	0,113
Tổng		250-2000	3,041	65	64	129	-	3,352
Trung bình		-	0,101	2,167	2,133	4,3	50,39	0,112

Bảng 3. Thông số đa dạng di truyền quần thể Bách xanh phân tích với chỉ thị ISSR

Quần thể	<i>N</i>	<i>Na</i>	<i>Ne</i>	<i>I</i>	<i>He</i>	<i>h</i>	<i>PPB</i> (%)
Datanla	32	1,326	1,227	0,192	0,130	0,102	35,66
Hòa Sơn	34	1,302	1,198	0,175	0,117	0,084	34,88
Kon Chư Răng	4	0,814	1,027	0,022	0,015	0,015	3,88
Trung bình	23,3	1,147	1,150	0,130	0,087	0,067	24,81
Loài	70	1,512	1,277	0,254	0,168	0,116	51,16

N: Số mẫu phân tích; *Na*: Số alen quan sát; *Ne*: Số alen hiệu quả; *I*: Chỉ số đa dạng Shannon; *He*: Hệ số gen dị hợp tử mong đợi; *h*: Chỉ số đa dạng theo Nei; *PPB*: Phần trăm phân đoạn đa hình.

Bảng 4. Mức độ thay đổi phân tử (AMOVA) giữa và trong quần thể Bách xanh

Nguồn biến thiên	Bậc tự do	Tổng bình phương	Thành phần biến đổi	Tổng sự biến đổi (%)	Giá trị p
Giữa các quần thể	2	137,793	3,270	36,33	<0,001
Trong các quần thể	67	384,007	5,731	63,67	

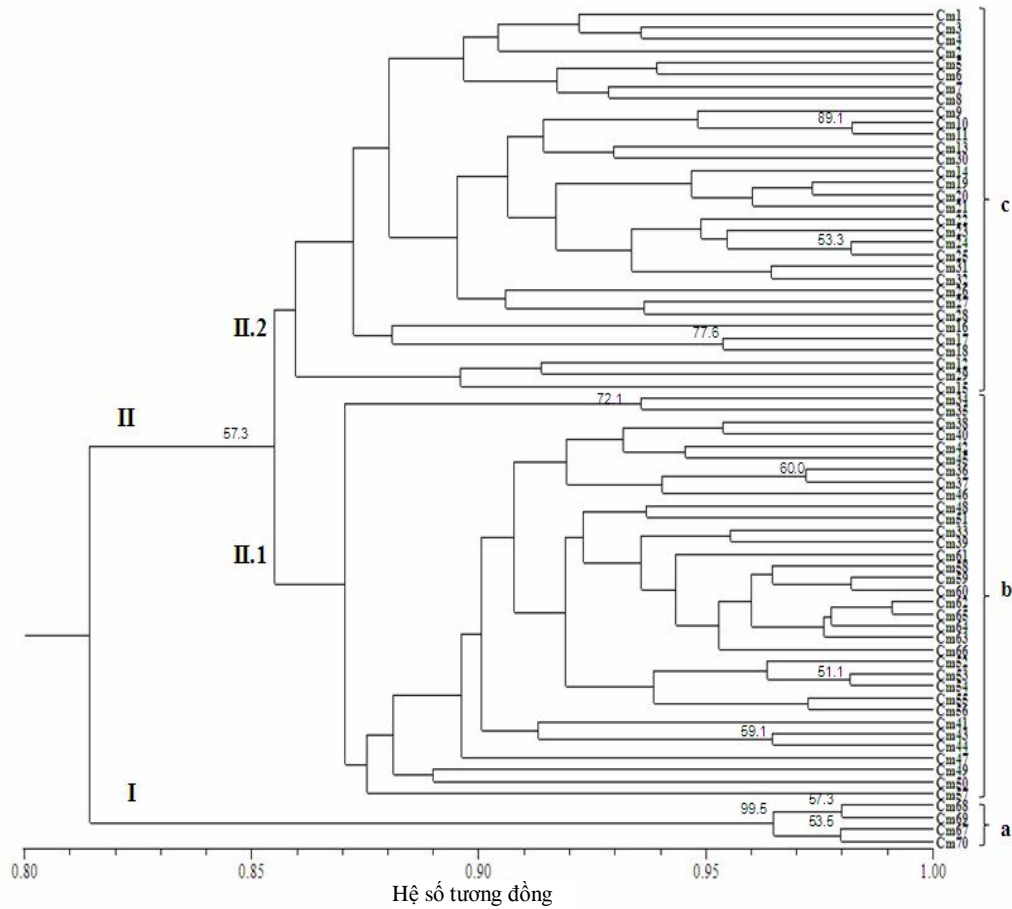
Bảng 5. Ma trận khoảng cách di truyền (dưới) và tương đồng di truyền (trên) giữa các quần thể Bách xanh tính theo Nei, 1972

	Datanla	Hòa Sơn	Kon Chư Răng	Trung bình
Datanla		0,955	0,861	0,9
Hòa Sơn	0,046		0,900	
Kon Chư Răng	0,150	0,105		
Trung bình		0,102		

KẾT LUẬN

Các thông số di truyền nhận được cho thấy, loài Bách xanh ở Tây Nguyên có mức độ đa dạng di truyền tương đối thấp ($I=0,254$, $He=0,168$, $h=0,116$ và $PPB=51,16\%$). So sánh giữa các tiểu quần thể, quần thể Bách xanh ở Kon Chư Răng có mức độ đa dạng di truyền thấp nhất ($I=0,022$, $He=0,015$, $h=0,015$ và $PPB=0,388$). Điều này đồng nghĩa với sự suy giảm đa dạng di truyền ở cả mức độ loài và quần thể đều liên quan đến hoạt động của con người, đặc biệt nơi sống của chúng bị phá hủy hoặc bị suy giảm nghiêm trọng việc khai thác các loài này cũng

đang làm gia tăng sự tuyệt chủng ở cả 2 mức độ quần thể và loài, mặc dù hiện nay hầu hết các tiểu quần thể đều nằm trong các Khu bảo tồn thiên nhiên hay Khu du lịch sinh thái ít nhiều được bảo vệ, nhưng nguy cơ tuyệt chủng do khai thác bất hợp pháp rất đáng lo ngại. Nếu không ngăn chặn được việc khai thác như hiện nay, chỉ trong một thời gian rất ngắn loài sẽ có thể chuyển sang thứ hạng cực kỳ nguy cấp - CR, nguy cơ dẫn đến tuyệt chủng loài rất cao. Vì vậy, cần có chiến lược bảo tồn loài sớm như thành lập vườn giống tại tất cả các quần thể để đảm bảo duy trì nguồn gen và việc trồng Bách xanh cần được khuyến khích.



Hình 1. Biểu đồ hình cây của 70 mẫu Bách xanh theo hệ số di truyền của Jaccard và kiểu phân nhóm UPGMA (a: mẫu thu ở Kon Chư Răng, Gia Lai; b: mẫu thu ở Hòa Sơn, Đắk Lắk; c: mẫu thu ở Đatanla, Lâm Đồng)

Lời cảm ơn: Đây là một phần kết quả nghiên cứu của đề tài mã số TN3/T15 thuộc Chương trình Tây Nguyên 3. Chủ nhiệm đề tài xin chân thành cảm ơn TS. Nguyễn Tiến Hiệp, Trung tâm Bảo tồn thực vật đã cung cấp các mẫu nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Arif M., Zaidi N. M., Singh Y. P., Haq Q. M. R., Singh U. S., 2009. A comparative analysis of ISSR and RAPD markers for study of genetic diversity in Shisham (*Dalbergia sissoo*). *Plant. Mol. Biol. Rep.*, 27: 488-495.
2. Borner B., Branchard M., 2001.

- Nonanchored inter simple sequence repeat (ISSR) markers: Reproducible and specific tools for genome fingerprinting. *Plant. Mol. Biol. Rep.*, 19: 209-215.
3. Cipriano J., Carvalho A., Fernandes C., Gaspar M. J., Pires J., Bento J., Roxo L., Louzada J., Lima-Brito J., 2013. Evaluation of genetic diversity of Portuguese *Pinus sylvestris* L. populations based on molecular data and inferences about the future use of this germplasm. *J. Genet.*, 92: e41-e48.
4. Vũ Thị Thu Hiền, Lê Anh Tuấn, Trần Thị Việt Thanh, Phí Hồng Hải, Đinh Thị Phòng, 2009. Phân tích mối quan hệ di truyền tập đoàn giống cây bách xanh (*Calocedrus*

- macrolepis*) bằng chỉ thị RAPD và DNA lục lập. Tuyển tập Hội nghị khoa học lần thứ 3 về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật: 120-128.
5. Nguyễn Tiến Hiệp, Phan Kế Lộc, Nguyễn Đức Tố Lưu, Philip Ian Thomas, Aljos Farjon, Leonid Averyanov, Jacinto Regalado, 2005. Thông Việt Nam: Nghiên cứu hiện trạng bảo tồn 2004. Fauna & Flora International, Chương trình Việt Nam, Hà Nội.
 6. Isshiki S., Iwata N., Khan M. M. R., 2008. ISSR variations in eggplant (*Solanum melongena* L.) and related *Solanum* species. *Scientia. Hortic.*, 117: 186-190.
 7. Trần Thị Liễu, Vũ Thị Thu Hiền, Nguyễn Tiến Hiệp, Đinh Thị Phòng, 2015. Tính đa dạng nguồn gen di truyền và cấu trúc quần thể loài Thông lá dẹt (*Pinus krempfii* Lecomte) - loài đặc hữu hẹp ở Tây Nguyên, Việt Nam bằng chỉ thị ISSR. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 53(2): 169-179.
 8. Liu G. F., Dong J. X., Jiang Y., Lu Y. F., Jiang J., Zhao G. Y., 2005. Analysis of genetic relationship in 12 species of section *Strobis* with ISSR markers. *J. For. Res.*, 16: 213-215.
 9. Moraga A. R., Perez D. C., Lucas-Borja M. E., Tiscar P. A., Viñepla B., Linares J. C., Gómez-Gómez L., Ahrazem O., 2013. Genetic diversity of *Pinus nigra* Arn. populations in southern Spain and northern Morocco revealed by inter-simple sequence repeat profiles. *Int. J. Mol. Sci.*, 13: 5645-5658.
 10. Nei M., 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 70: 3321-3323.
 11. Parasharami V. A., Thengane S. R., 2012. Inter population genetic diversity analysis using ISSR markers in *Pinus roxburghii* (Sarg.) from Indian provenances. *Int. J. Biodivers. Conserv.*, 4(5): 219-227.
 12. Dinh Thi Phong, Vu Thi Thu Hien, Tran Thi Lieu, 2015. Genetic variation of *Pinus dalatensis* Ferre' (Pinaceae) populations - endemic species in Vietnam revealed by ISSR markers. *J. Chem. Bio. Phys. Sci.*, 5(2): 415-425.
 13. Phong D. T., Lieu T. T., Hien V. T. T., Hiep N. T., 2015. Genetic diversity of the endemic flat-needle pine *Pinus krempfii* (Pinaceae) from Vietnam revealed by SSR markers. *Genet. Mol. Res.*, 14(3): 7727-7739.
 14. Porebski S., Bailey L. G., Baum B. R., 1997. Modification of a CTAB DNA Extraction Protocol for Plants Containing High Polysaccharide and Polyphenol Components. *Plant Mol. Biol. Rep.*, 15(1): 8-15.
 15. Thomas P., Liao W., Yang Y., 2013. *Calocedrus macrolepis*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 27 April 2015.
 16. Wang D. L., Li Z. C., Hao G., Chiang T. Y., Ge X. J., 2004. Genetic diversity of *Calocedrus macrolepis* (Cupressaceae) in southwestern China. *Biochem. Syst. Ecol.*, 32(9): 797-807.
 17. Yang C. P., Wei L., Jiang J., Liu G. F., Zhao G.Y., 2005. Analysis of genetic diversity for nineteen population of *Pinus sibirica* Du Tour with technique of ISSR. *J. Northeast For. Univ.*, 33: 1-3.
 18. Zhang Z. Y., Chen Y. Y., Li D. Z., 2005. Detection of low genetic variation in a critically endangered Chinese pine, *Pinus squamata*, using RAPD and ISSR markers. *Biochem. Genet.*, 43: 239-249.

GENETIC DIVERSITY PARAMETERS IN THE NATURAL POPULATIONS OF *Calocedrus macrolepis* IN TAY NGUYEN, VIETNAM USING ISSR MARKERS

Tran Thi Lieu¹, Le Thi Quynh², Vu Thi Thu Hien¹, Dinh Thi Phong¹

¹Vietnam National Museum of Nature, VAST

²University of Science, Vietnam National University, Hanoi

SUMMARY

Calocedrus macrolepis is one of 15 of coniferous species in the Central Highlands. This species has a wide distribution area with a large number of individuals, however, the species has recently been exploited for timber and pulp flavor, moreover, the habitat of species is being reduced. Without timely conservation measures this species will be at a high risk of extinction. In this paper, 30 ISSR markers were used to analyze the genetic diversity of species collected in Datanla (Lam Dong province), Hoa Son (Dak Lak province) and Kon Chu Rang (Gia Lai province) in the Central Highlands, Vietnam. Results of the analysis showed 25/30 markers polymorphic. A total of 129 DNA fragments were amplified, in which 65 fragments were polymorphic (50.39%). Genetic diversity was the highest in Datanla population ($I=0.192$, $h=0.102$, $PPB=35.66\%$, $Ne=1.227$ and $He=0.130$) and the lowest in Kon Chu Rang population ($I=0.022$, $h=0.015$, $PPB=3.88\%$, $Ne=1.027$ and $He=0.015$). Analysis of molecular variance (AMOVA) results showed that the total level of molecular changes between populations was 36.33% and between individuals in the same population was 63.67%. A dendrogram constructed based on similarity matrix of 70 samples *C. macrolepis* divided into two main groups with genetic similarity coefficients ranged from 81.4% (Cm16 and Cm57) to 99.1% (Cm62 and Cm65) Molecular analysis results showed that *C. macrolepis* species should be protected at the population level.

Keywords: *Calocedrus macrolepis*, conservation, genetic diversity, ISSR, Tay Nguyen.

Ngày nhận bài: 29-10-2015