

## ĐA DẠNG DI TRUYỀN VÀ THỤ PHẦN CHÉO TRONG QUẦN THỂ DẦU SONG NÀNG (*DIPTEROCARPUS DYERI*) Ở RỪNG NHIỆT ĐỚI NÚI THẤP MÃ ĐÀ (ĐỒNG NAI)

Nguyễn Minh Đức<sup>1,5</sup>, Nguyễn Minh Tâm<sup>2,4</sup>, ✉, Vũ Đình Duy<sup>2</sup>, Bùi Thị Tuyết Xuân<sup>1</sup>, Đặng Phan Hiền<sup>1</sup>, Cao Thị Việt Nga<sup>3</sup>, Nguyễn Văn Nhị<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>2</sup>Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>3</sup>Trường Đại học Lâm nghiệp Việt Nam

<sup>4</sup>Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>5</sup>Center for Nutraceutical and Pharmaceutical Materials, Myongji University, Hàn Quốc

✉ Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: ngmtam58@gmail.com

Ngày nhận bài: 23.3.2018

Ngày nhận đăng: 20.9.2018

### TÓM TẮT

Dầu song nàng (*Dipterocarpus dyeri*) là loài thực vật phân bố rộng ở rừng nhiệt đới núi thấp Nam Việt Nam và đang bị đe dọa ở cả 2 mức độ quốc gia và quốc tế liên quan đến nơi sống bị suy giảm và thu hẹp. Để bảo tồn loài Dầu song nàng, đánh giá đa dạng di truyền và mức độ thụ phần chéo ở rừng nhiệt đới Mã Đà thuộc Khu Bảo tồn Thiên nhiên – Văn hóa Đồng Nai trên cơ sở phân tích 8 cặp mỗi microsatellite từ cây trội và cây con của chúng có ý nghĩa quan trọng và cần thiết. Kết quả phân tích đã chỉ ra mức độ đa dạng di truyền loài Dầu song nàng ở rừng nhiệt đới Mã Đà khá cao. Tất cả 8 locus đều đa hình và số allele trung bình cho mỗi locus là 4,1. Hệ số gen dị hợp tử quan sát và kỳ vọng tương ứng là 0,461 và 0,543. Tương tự, hệ số thụ phần chéo đa locus và trung bình một locus của loài Dầu song nàng ở Mã Đà là khá cao tương ứng 0,884 và 0,645. Mức độ tự thụ phần là 0,12. Các kết quả thu được phản ánh nơi sống của loài Dầu song nàng ở khu vực Mã Đà đã được phục hồi và số lượng cá thể ở khu vực cũng khá cao. Tuy nhiên, không tìm thấy cây tái sinh của loài ở rừng nhiệt đới Mã Đà và việc bảo tồn chuyển vị có vai trò quan trọng để bảo tồn bền vững loài Dầu song nàng ở khu vực này.

**Từ khóa:** Bảo tồn, Dầu song nàng, *Dipterocarpus dyeri*, đa dạng di truyền, thụ phần chéo, SSR

### MỞ ĐẦU

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, do vậy chúng đang đóng vai trò quan trọng đối với nhiều quốc gia, chủ yếu ở các nước châu Á và đặc biệt là vùng 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) phân chia họ Dầu

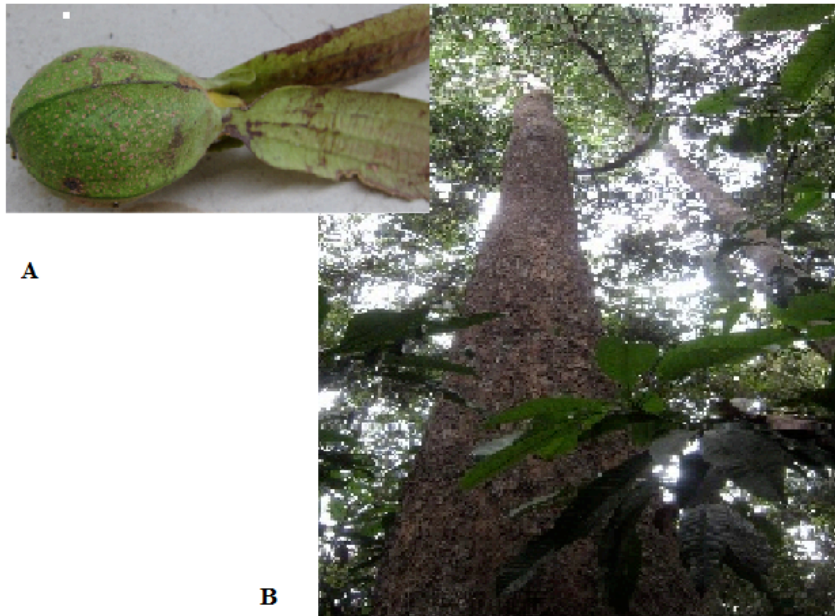
(*Dipterocarpaceae*) thành 3 phân họ gồm *Dipterocarpoideae*, *Pakaraimoideae* và *Monotoideae*. Việt Nam có trên 40 loài cây họ Dầu thuộc 6 chi (*Anisoptera*, *Hopea*, *Parashorea*, *Vatica*, *Dipterocarpus*, *Shorea*), hầu hết là loài bản địa và đặc hữu (Nguyễn Hoàng Nghĩa, 2005). Trong những năm 1980 và 1990, do giá trị thương mại và nhu cầu của người dân địa phương, các loài cây họ Dầu bị khai thác quá mức. Việc 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, làm số lượng cây cho mỗi loài còn lại không nhiều. Nơi sống của chúng bị thu hẹp và suy giảm mạnh. 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*) 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 (Ashton, 1998) và Việt Nam (Bộ Khoa học và Công nghệ, 2007) cần phải được bảo vệ: CR A1 cd, B1 +2C. Trong phạm vi nghiên cứu của bài báo 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 mồi 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.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Vật liệu

Dầu song nàng là cây gỗ, cao đến 30 m, đường kính lớn nhất đạt đến 97 cm (40-97 cm), thân thẳng, tròn đều (Hình 1). Tán cây hình nón, phân cành trên cao. Vỏ ngoài xù xì, bong thành những mảnh nhỏ.



Hình 1. Quả Dầu (A) và cây (B) song nàng ở Mã Đà (Đồng Nai).

Gỗ màu nâu đỏ, cứng. Lá đơn mọc cách, phiến lá hình bầu dục thuôn, kích thước to dài 15-25 cm, đỉnh nhọn, gốc tù. Đối với cây con lá có lông ở mặt dưới. Cụm hoa đơn ở nách lá, có lông, dài 10-18 cm, 6-8 hoa không cuống, 30 nhị. Quả hình nón, thuôn dài 4 cm, rộng 2,8 cm, 5 cạnh nổi rõ. Quả 2 cánh lớn, dài 20-23 cm, rộng 3-4 cm. Quả chín vào cuối tháng 4 hàng năm. Mỗi quả chỉ chứa một hạt. Cây ra hoa vào khoảng tháng 3 và 4 hàng năm và quả chín vào 2 tháng tiếp theo, cuối tháng 5 và tháng 6.

### Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành tại rừng nhiệt đới núi thấp Mã Đà (Vĩnh Cửu, Đồng Nai), độ cao 129 m, tọa độ 11°12' Bắc và 107°09' Đông. Đây là khu rừng đặc dụng có diện tích tự nhiên khá nhất nước ta, với hệ sinh thái đặc trưng Đông Nam Bộ. Khu rừng này được thiết lập năm 2004 trực thuộc Ủy ban nhân dân tỉnh Đồng Nai, với 3 di tích lịch sử như căn cứ Trung ương cục Đông Nam Bộ, Khu ủy miền Đông Nam Bộ và Địa đạo Suối Linh. Về thảm thực vật gồm các kiểu rừng kín nửa rụng lá ẩm nhiệt đới, rừng kín rụng lá hơi ẩm nhiệt đới với các loài cây họ Dầu như Dầu rái (*Dipterocarpus alatus*), Dầu song nàng (*D. dyeri*), Dầu lông (*D. inintricatus*), Sao đen (*Hopea odorata*) và một số loài khác thuộc các họ như họ Bồ hòn, họ Sim và kiểu rừng kín thường xanh mưa nhiệt đới. Rừng này thuộc rừng thứ sinh phục hồi sau khai thác chọn vào những năm 1980 và 1990.

**Phương pháp**

**Khảo sát thực địa**

Để đánh giá các thông số đa dạng di truyền và thụ phấn chéo của Dầu song năng ở rừng nhiệt đới núi thấp Mã Đà, hạt của chín cây trội được chọn, thu thập và gieo ươm tại Vườn ươm Biên Hòa (Trung tâm Lâm nghiệp Biên Hòa, Đồng Nai), và được đánh số từ SN01 đến SN09. Cây trội được chọn ngẫu nhiên theo khoảng cách địa lý và tiêu chí đặc điểm hình thái (Quyết định của Bộ Lâm nghiệp ban hành Quy phạm kỹ thuật xây dựng rừng giống và vườn giống (QP/N 15-93)). Hạt từ các cây trội được thu thập vào tháng 5 và 6. Sau 2 hoặc 3 tháng nảy mầm, lá cây con được sử dụng để phân tích tính đa dạng di truyền và thụ phấn chéo ở cây trội.

**Tách chiết DNA tổng số và phản ứng PCR**

DNA tổng số được tách chiết từ lá cây con bằng phương pháp CTAB (Doyle và Doyle, 1990) có cải tiến cho phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm. Chín mươi bảy mẫu lá từ 9 cây trội đã được sử dụng để phân tích các thông số về thụ phấn chéo của Dầu song năng ở Mã Đà. Mẫu được nghiền bằng cối sứ có sử dụng nitrogen lỏng. Nồng độ DNA được xác định bằng máy quang phổ kế hoặc điện di trên

gel agarose 0,8%. Sau khi loại RNA bằng enzyme RNase, nồng độ DNA được pha loãng đến 10ng/μL. Tám cặp mồi SSR đã được sử dụng cho đánh giá đa dạng di truyền và khả năng thụ phấn chéo trong quần thể (Bảng 1). PCR được tiến hành với thể tích mỗi phản ứng là 25 μL trong đó chứa các thành phần gồm dung dịch đệm 1x PCR; 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 2 mM dNTPs; 0,5 pmol cho mỗi mồi xuôi hoặc ngược; 50 ng DNA tổng số và 0,5 U *Taq* polymerase. Quá trình nhân bản được tiến hành trên máy GeneAmp PCR System 9700 theo chu trình nhiệt sau: (1) Biến tính ban đầu: 94°C trong 3 phút; (2) Biến tính: 94°C trong 1 phút; (3) Bắt cặp: 54-56°C trong 1 phút (tùy thuộc vào mỗi cặp mồi); (4) Kéo dài: 72°C trong 1 phút; (5) Lặp lại (2) đến (4): 40 chu kỳ; (6) Phản ứng kết thúc hoàn toàn: 72°C trong 10 phút; (7) Giữ sản phẩm ở 4°C cho đến khi điện di. Điện di sản phẩm trên gel polyacrylamide 8% trong 40 mL dung dịch đệm 1xTAE trên bộ điện di Sequi-Gen (BIO-RAD, Mỹ), nhuộm GelRed™ Nucleotic Acid Gel Stain và chụp ảnh trên máy soi gel BioDocAnalyze (BIOMETRA, Đức). Kích thước allele được xác định bởi phần mềm Gel-Analyzer GenoSens1850 (Clinx Sci. Instruments Co. Ltd, Trung Quốc) với thang marker 50 bp DNA (Invitrogen, Đức).

**Bảng 1.** Trình tự các cặp mồi SSR và đa dạng di truyền Dầu song năng từ cây con ở Mã Đà.

Mồi SSR	Trình tự nucleotide của cặp mồi (5'-3')	Số nucleotide lặp lại	T <sub>m</sub> (OC)	Kích thước allele (bp)	N <sub>A</sub>	H <sub>O</sub>	H <sub>E</sub>	Nguồn trích dẫn
Dipt1	F: CTTCCCTAAATTCCTCAATGTT R: TAATGGTGTGTGTACCAGGCAT	(AG) <sub>15</sub>	55	193-211	3	0,312	0,354	Isagi <i>et al.</i> , 2002
Dipt2	F: AGTTTATACATCACCGCCAA R: GAAGCCCCTAAGAATTAACCTGA	(GA) <sub>17</sub>	56	114-142	5	0,451	0,527	Isagi <i>et al.</i> , 2002
Dipt3	F: ACAATGAAACTTGACCACCCAT R: CAAAAGGACATACCAGCCTAGC	(GA) <sub>24</sub>	56	224-256	4	0,474	0,603	Isagi <i>et al.</i> , 2002
Dipt4	F: TAGGGCATATTGCTTTCTCATC R: CTTATTGCAGTCATCAAGGGAA	(AG) <sub>15</sub>	55	214-256	5	0,511	0,566	Isagi <i>et al.</i> , 2002
Dipt5	F: CAGGAGGGGAATATGGAAAA R: AAGTCGTCATCTTTGGATTGC	(AC) <sub>9</sub>	54	120-150	5	0,506	0,579	Isagi <i>et al.</i> , 2002
Dipt6	F: ATGCTTACCACCAATGTGAATG R: CTCGCAGCAGAACAACCTTCTA	(GA) <sub>6</sub>	55	170-270	4	0,521	0,608	Terauchi, 1994
Dipt 7	F: TGGCAAACAAGCTACTGTTCAT R: CATGGGTTTAGCAACCTACACA	(TA) <sub>8</sub>	56	258-286	3	0,447	0,516	Isagi <i>et al.</i> , 2002
Dipt8	F: ATGTC CATGT TTGAG TG R: CATGG ACATA AGTGG AG	(CT) <sub>6</sub> CA(CT) <sub>5</sub> CACCC(CTC A) <sub>3</sub> CT(CA) <sub>10</sub>	55	170-230	4	0,468	0,59	Ujino <i>et al.</i> , 1998
<b>Trung bình</b>					<b>4,1</b>	<b>0.461</b>	<b>0.543</b>	

Ghi chú: T<sub>m</sub>: Nhiệt độ bắt cặp, N<sub>A</sub>: Số allele cho một locus, H<sub>O</sub>: Hệ số gen dị hợp tử quan sát, H<sub>E</sub>: Hệ số gen dị hợp tử kỳ vọng.

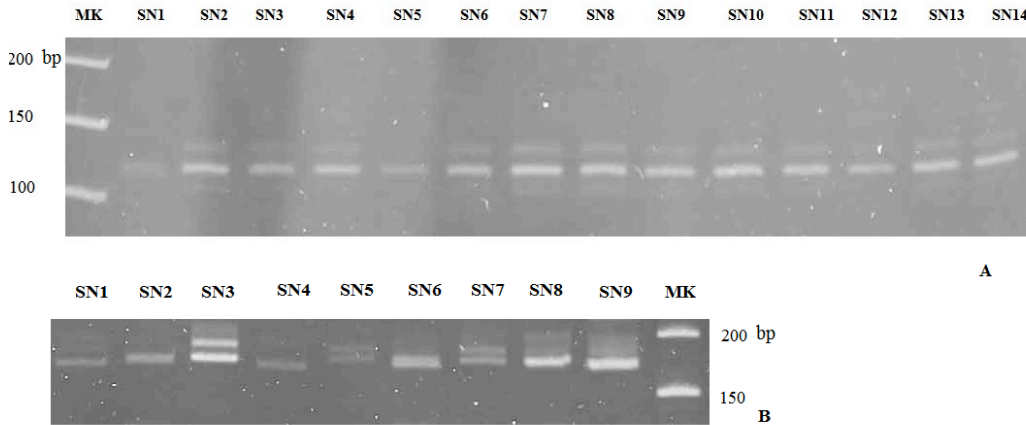
**Phân tích số liệu**

Để xác định tính đa dạng di truyền ở cây con bao gồm số allele cho một locus ( $N_A$ ), hệ số gen dị hợp tử quan sát ( $H_O$ ) và gen dị hợp tử kỳ vọng ( $H_E$ ), chúng tôi đã sử dụng phần mềm GenALEX (Peakall và Smouse, 2006). Phần mềm MLTR (Ritland, 2002) được sử dụng để xác định các thông số về thụ phấn, bao gồm hệ số thụ phấn chéo đa locus ( $t_m$ ), hệ số thụ phấn chéo một locus ( $t_s$ ), hệ số tự thụ phấn ( $s$ ), hệ số tương quan hai thế hệ ( $r_p$ ), và hệ số thụ phấn cận ngẫu nhiên ( $F$ ).

**KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

Ba mươi ba allele khác nhau từ 8 cặp mỗi microsatellite, với kích thước dao động từ 114 bp đến 286 bp, từ 97 cây non của 9 cây trội Dầu song nàng ở rừng nhiệt đới núi thấp Mã Đà tỉnh Đồng Nai đã được xác định. Tám locus nghiên cứu đều cho kết quả đa hình (Hình 2). Số allele trung bình 4,1 cho một locus, dao động từ 3 allele ở 2 locus Dipt1 và 7 đến 5 allele ở 3 locus Dipt2, 4 và 5. Giá trị đa dạng di truyền trung bình loài Dầu song nàng ở rừng nhiệt đới Mã Đà là  $H_O = 0,461$  và  $H_E = 0,543$ . Giá trị  $N_A$ ,  $H_O$  và  $H_E$  cho mỗi locus được trình bày ở Bảng 1.

Như vậy, đa dạng di truyền của loài Dầu song nàng ở Mã Đà là khá cao so với các loài dầu khác ở Việt Nam, như Dầu rái (*D. alatus*) với  $H_O = 0,209$  và  $H_E = 0,239$  (Nguyễn Minh Tam *et al.*, 2014); Sao đen (*H. odorata*) với  $H_O = 0,366$  và  $H_E = 0,356$  (Nguyễn Thị Phương Trang *et al.*, 2014). Kết quả này tương đương với một số loài Dầu khác ở khu vực Đông Nam Á như loài *Shorea leprosula* ( $H_O = 0,63 - 0,66$ ,  $H_E = 0,69 - 0,71$ ; Ng *et al.*, 2004), *Parashorea malaanonan* ( $H_O = 0,26$ ,  $H_E = 0,46$ ; Abasolo *et al.*, 2009). Tuy nhiên, số allele cho một locus ( $N_A$ ) ở loài Dầu song nàng thấp hơn so với *S. leprosula* ( $N_A = 11,0 - 11,4$ ; Ng *et al.*, 2004), *Dryobalanops aromatic* ( $N_A = 5,1$ ; Lim *et al.*, 2001). Kết quả đa dạng di truyền thấp được tìm thấy cho loài Dầu rái (*D. alatus*) ở Thái Lan, với  $H_O = 0,088$ ,  $H_E = 0,092$  (Changtragoon, 2001). Như vậy, mặc dù do ảnh hưởng vào những năm 1990, nơi sống bị suy giảm, mức độ đa dạng di truyền quần thể cây con Dầu song nàng ở rừng nhiệt đới núi thấp Mã Đà duy trì ở mức khá cao. Điều này có thể lý giải về số cá thể trong quần thể khá cao, khoảng trên 500 cá thể trưởng thành. Tuy nhiên, không có cây con tái sinh tự nhiên được tìm thấy trong thời gian khảo sát thực địa có thể do ảnh hưởng độ che phủ của tán rừng khá cao và sức sống của cây con mới nảy mầm yếu.



**Hình 2.** Kết quả điện di sản phẩm PCR đa hình của Dầu song nàng ở Mã Đà với cặp mồi Dipt2 (A) và Dipt8. MK: marker 50 bp; SN1, 2, ..., 14: mẫu.

Trên cơ sở phân tích 8 cặp microsatellite ở 97 cây giống từ 9 cây trội đã chỉ ra các thông số thụ phấn của loài Dầu song nàng ở rừng nhiệt đới núi thấp Mã Đà (Bảng 2). Kết quả chỉ ra hệ số thụ phấn chéo khá cao ở cả mức độ đa locus và một locus và có ý nghĩa. Ở mức độ cá thể, giá trị thụ phấn chéo đa locus dao động từ 0,815 ở cây trội số 6 đến 1,0 ở cây trội số 3. Giá trị này ở một locus dao động từ 0,489 ở cây trội 6 đến

0,873 ở cây trội 1. Ở mức độ quần thể, giá trị thụ phấn đa locus là 0,884 và một locus là 0,645.

Kết quả nghiên cứu tương tự với một số loài khác đã được công bố *Shorea congestiflora* ( $t_m = 0,87$ ; Murawski *et al.*, 1994), *Dryobalanops aromatica* ( $t_m = 0,82$ ; Kitamura *et al.*, 1994), *Stemonporus oblongifolius* ( $t_m = 0,84$ ; Murawski,

Bawa, 1994), *Shorea leprosula* ( $t_m = 0,84$ ; Lee *et al.*, 2000). Kết quả đã chỉ ra loài Dầu song nòng gồm cả 2 hình thức thụ phấn chéo nhờ côn trùng và gió, và tự thụ phấn. Thụ phấn chéo chiếm ưu thế. Ngoài ra,

hệ số tự thụ phấn thấp ở loài Dầu song nòng ở Mã Đà ( $s$ ) là 0,116. Hệ số tương quan của quan hệ 2 thế hệ (cha con) là 0,316 và hệ số cận noãn của cây trội ở Mã Đà là 0,185.

**Bảng 2.** Thông số sinh sản của Dầu song nòng ở Mã Đà.

<b>Mức độ cá thể:</b>			
<b>Cây trội</b>	<b>Số cây con</b>	<b>Hệ số thụ phấn chéo đa locus (<math>t_m</math>) (SE)</b>	<b>Hệ số thụ phấn chéo một locus (<math>t_s</math>) (SE)</b>
Cây trội 1	9	0,852 (0,029)	0,783 (0,043)
Cây trội 2	12	0,914 (0,034)	0,612 (0,026)
Cây trội 3	9	1,0 (0,003)	0,757 (0,028)
Cây trội 4	10	0,827 (0,044)	0,596 (0,019)
Cây trội 5	10	0,901 (0,05)	0,779 (0,053)
Cây trội 6	11	0,815 (0,022)	0,489 (0,034)
Cây trội 7	13	0,903 (0,018)	0,608 (0,064)
Cây trội 8	11	0,825 (0,049)	0,669 (0,055)
Cây trội 9	12	0,924 (0,071)	0,516 (0,081)
<b>Mức độ quần thể:</b>			
Hệ số thụ phấn đa locus ( $t_m$ )		0,884	
Hệ số thụ phấn một locus ( $t_s$ )		0,645	
Hệ số tự thụ phấn ( $s=1-t_m$ )		0,116	
Hệ số tương quan của quan hệ hai thế hệ (cha con) ( $r_p$ )		0,316	
Hệ số cận noãn của cây trội ( $F$ )		0,185	

Ghi chú: SE: Độ lệch chuẩn.

## KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra sinh sản lưỡng tính xuất hiện ở loài Dầu song nòng (*Dipterocarpus dyeri*) với thụ phấn chéo chiếm ưu thế và duy trì tính đa dạng di truyền khá cao ở rừng nhiệt đới núi thấp Mã Đà. Tuy nhiên, do không xuất hiện cây con tái sinh ở rừng Mã Đà, để bảo tồn và phát triển bền vững loài Dầu song nòng, thu thập hạt từ những cây trội có mức độ thụ phấn chéo cao và nhân giống là yêu cầu cần phải được tiến hành.

**Lời cảm ơn:** Đề tài được hỗ trợ kinh phí bởi Quỹ Nafosted, mã số 106.06-2017.14.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abasolo MA, Fernando ES, Borromeo TH, Hautea DM (2009) Cross-species amplification of *Shorea* microsatellite DNA markers in *Parashorea malaanonan*

(Dipterocarpaceae). *Philippine J of Sci* 138(1): 23–28.

Ashton P (1998) *Dipterocarpus dyeri*. The IUCN Red List of Threatened Species 1998: e.T33011A9748202.

Bộ Khoa học và Công nghệ (2007) Sách đỏ Việt Nam, Phần II: Thực vật.

Changtragoon S (2001) Evaluating genetic diversity of *Dipterocarpus alatus* genetic resources in Thailand using isozyme gene markers, In In-situ and Ex-situ conservation of commercial tropical trees (Thielges BA, Sastrapradja SD and Rimbawanto A, eds). Gadjah Mada Univ. Yogyakarta 349–354.

Cronquist A (1981) An integrated system of classification of flowering plants. Columbia Univ Press, New York.

Doyle JJ, Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13–15.

Isagi V, Kenta T, Nakashizuka T (2002) Microsatellite loci for a tropical emergent tree, *Dipterocarpus tempehes* V. S1 (Dipterocarpaceae). *Mol Ecol Not* 2(1): 12–13.

- Kitamura K, Rahman MYBA, Ochiai Y, Yoshimaru H (1994) Estimation of the outcrossing rate on *Dryobalanops aromatica* Gaertn. F. In primary and second forests in Brunei, Borneo, southeast Asian. *Pl Sp Biol* 9: 37–41.
- Lee SL, Wickneswari R, Mahari MC, Zakri AH (2000) Mating system parameters in a tropical tree species, *Shorea leprosula* Miq. (Dipterocarpaceae) from Malaysian Lowland Dipterocarp forest. *Bitropica* 32: 693–702.
- Lim LS, Wickneswari R, Lee SL, Latiff A (2001) Genetic structure of natural populations of *Dryobalanops aromatic* Gaertn. F. (Dipterocarpaceae) in Peninsular Malaysia. In In-situ and Ex-situ conservation of commercial tropical trees (Thielges BA, Sastrapradja SD and Rimbawanto A, eds.). Gadjah Mada Univ. Yogyakarta, 309–324.
- Murawski D, Bawa KS (1994) Genetic structure and mating system of *Stemonoporus oblongifolius* (Dipterocarpaceae) in Sri Lanka. *Am J Bot* 81: 155–157.
- Murawski DA, Dayanandan B, Bawa KS (1994) Outcrossing rates of two endemic *Shorea* species from Sri Lankan tropical rain forests. *Biotropica* 26(1): 23–29.
- Ng KKS, Lee SL, Koh CL (2004) Spatial structure and genetic diversity of two tropical tree species with contrasting breeding systems and different ploidy levels. *Mol Ecol*. Doi: 10.1046/j.1365-294X.2004.02094.x
- Nguyễn Hoàng Nghĩa (2005) Cây Họ Dầu Việt Nam. Nhà xuất bản Nông nghiệp.
- Nguyen Minh Tam, Vu Dinh Duy, Nguyen Minh Duc, Vu Dinh Giap, Bui Thi Tuyet Xuan (2014) Genetic variation in and spatial structure of natural populations of *Dipterocarpus alatus* (Dipterocarpaceae) determined using single sequence repeat markers. *Genet Mol Res* 13(3): 5378–5386.
- Nguyen Thi Phuong Trang, Tran Thi Huong, Nguyen Minh Duc, Sierens T, Triest L (2014) Genetic population of threatened *Hopea odorata* Roxb. In the protected areas of Vietnam. *J Viet Env* 6(1): 69–76.
- Peakall R, Smouse PE (2006) Genalex 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol Ecol Not* 6: 208–295.
- Ritland K (2002) Extensions of models for the estimation of mating systems using *n* independent loci. *Heredity* 88: 221–228.
- Terauchi R (1994) A polymorphic microsatellite marker from the tropical tree *Dryobalanops lanceolata* (Dipterocarpaceae). *Japan J Genet* 69(5): 567–576.
- Ujino T, Kawahara T, Tsumara Y, Nagamitsu T, Yoshimaru H, Ratnam W (1998) Development and polymorphism of simple sequence repeat DNA markers for *Shorea curtisii* and other Dipterocarpaceae species. *Heredity* 81: 422–428.

## GENETIC DIVERSITY AND OUTCROSSING RATE OF *DIPTEROCARPUS DYERI* IN MA DA LOWLAND TROPICAL FOREST (DONG NAI)

Nguyen Minh Duc<sup>1,5</sup>, Nguyen Minh Tam<sup>2,4</sup>, Vu Dinh Duy<sup>2</sup>, Bui Thi Tuyet Xuan<sup>1</sup>, Dang Phan Hien<sup>1</sup>, Cao Thi Viet Nga<sup>3</sup>, Nguyen Van Nhi<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Institute of Ecology and Biological Resources, Vietnam Academy of Science and Technology

<sup>2</sup>Vietnam National Museum of Nature, Vietnam Academy of Science and Technology

<sup>3</sup>Vietnam National University of Forestry

<sup>4</sup>Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology

<sup>5</sup>Center for Nutraceutical and Pharmaceutical Materials, Myongji University, Korea

### SUMMARY

Human activities often lead to the disturbed and fragmented habitat and consequently threatened species. *Dipterocarpus dyeri* (Dipterocarpaceae) is widely distributed in lowland rainforests in southeast Vietnam. Due to over-exploitation and habitat destruction in the 1980s and 1990s, the species is listed as threatened. Understanding the genetic variation and mating rate within *D. dyeri* population that occurs in forest patches is necessary to establish effectively conservation strategies for this species. To conserve the species in tropical forests, genetic diversity and mating rate were investigated on the basis of eight microsatellites (single sequence repeat, SSR). All of the eight loci were polymorphic. A total of 33 different alleles were observed across the screened loci. The SSR data indicated high genetic diversities ( $N_A = 4.1$ ;  $H_O = 0.461$  and  $H_E = 0.543$ ) and the inbreeding value was high (0.185). The mating system parameters were determined using the mixed mating model and indicated high outcrossing rates ( $t_m = 0.884$  and  $t_s = 0.645$ ). The differences of significant  $t_m - t_s$  value indicated that inbreeding contributed to selfing rate for this species in lowland tropical forests of Ma Da. This study also indicated the importance of conserving the genetic resources of *Dipterocarpus dyeri* species in Ma Da rainforests. Genetic conservation should derive from correlated

outcrossing. The conservation strategy should be established an *ex-situ* conservation site with new big population for this species from all genetic groups, which might improve its fitness under different environmental stresses.

**Keywords:** *Conservation, Dipterocarpus dyeri, genetic diversity, outcrossing rate, SSRs*