

TRÌNH TỰ GEN MATK CỦA LOÀI SAO HÒN GAI (*Hopea hongayensis*) Ở VIỆT NAM

NGUYỄN THỊ PHƯƠNG TRANG

*Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật,
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*

TẠ THỊ NHUNG, HÀ MINH TÂM

Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2

NGUYỄN VĂN THÀNH

Vườn Quốc gia Bái Tử Long

Sao hòn gai (*Hopea hongayensis* Tardieu) thuộc chi Sao, họ Dầu, là loài đặc hữu nên có giá trị về mặt khoa học, chúng còn có giá trị kinh tế, y học do có gỗ tốt và dùng làm thuốc. Tuy nhiên, hiện nay loài này đang đứng trước nguy cơ tuyệt chủng do mức độ suy giảm nơi sống và việc khai thác quá mức, đã được xếp vào thứ hạng cực kỳ nguy cấp (IUCN, 2012). Mặc dù vậy, cho đến nay chưa có bất kỳ công trình nào nghiên cứu riêng về loài này ở Việt Nam.

Trong báo cáo này chúng tôi tiến hành giải mã và phân tích trình tự gen MatK của loài Sao hòn gai nhằm bổ sung cơ sở dữ liệu di truyền và xác định mối quan hệ di truyền của loài Sao hòn gai với một số loài họ Dầu khác trên thế giới.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mẫu nghiên cứu là lá và vỏ cây loài Sao hòn gai thu tại đảo Ba Mùn, Vườn Quốc gia Bái Tử Long, tỉnh Quảng Ninh.

Tách DNA tổng số: Mẫu được nghiền trong nitơ lỏng (-196°C) thành dạng bột mịn, lấy 100mg bột mẫu để tách DNA tổng số bằng Dneasy plant mini kit (Qiagen, Đức).

Một đoạn gen MatK có chiều dài khoảng 900bp được nhân bản bằng kỹ thuật PCR sử dụng cặp mồi đặc hiệu MatK-F: 5'-CGA TCT ATT CAT TCA ATA TTT C-3' và MatK-R: 5'- TCT AGC ACA CGA AAG TCG AAG T-3'. Thành phần hỗn hợp PCR tiêu chuẩn, có bổ sung BSA. Chu trình nhiệt của PCR: 96°C 2 phút; 35 chu kỳ gồm: 96°C 30 giây, 56°C 25 giây, 72°C 40 giây; 72°C 5 phút. Sản phẩm PCR được điện di kiểm tra trên gel Agarose 1% và tinh sạch bằng Qiaquick gel extraction kit (Qiagen, Đức). Giải trình tự trực tiếp sản phẩm PCR sử dụng mồi MatK-F và bộ hóa chất BigDye terminator cyclor v3.1, đọc kết quả trên hệ thống ABI 3100 Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Mỹ).

Sử dụng các phần mềm ClustalW và Mega 5.01 để phân tích trình tự thu được và so sánh với một số trình tự tương đồng của một số loài cùng chi *Hopea*, trình tự của loài *Dipterocarpus cornutus* được sử dụng làm loài tham chiếu ngoài nhóm (bảng 2).

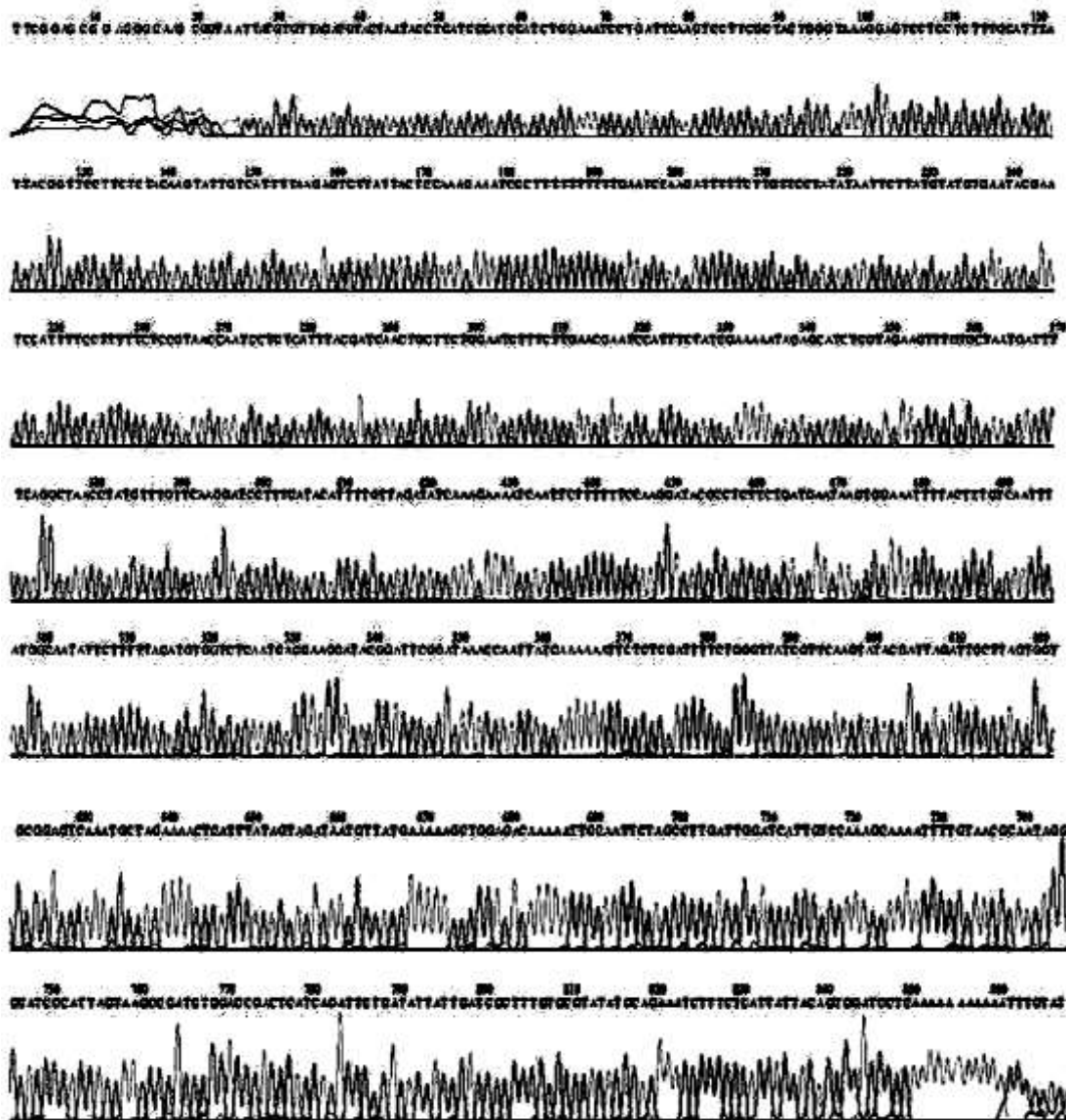
Bảng 1

Danh sách các trình tự tương đồng của các loài được so sánh với *Hopea hongayensis*

TT	Tên khoa học	Mã hiệu Genbank
1	<i>H. odorata</i>	AB006385.1
2	<i>H. nervosa</i>	AB006384.1
3	<i>H. wightiana</i>	AB246461.1
4	<i>H. helferi</i>	AB246457.1
5	<i>H. jucunda</i>	AB246460.1
6	<i>H. latifolia</i>	AB246456.1
7	<i>H. subalata</i>	AB246455.1
8	<i>Dipterocarpus cornutus</i>	AB246472.1

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Đã nhân bản thành công trình tự gen đích bằng kỹ thuật PCR. Kết quả giải trình tự sản phẩm PCR được thể hiện ở hình 1. Trình tự nucleotide của sản phẩm PCR được đối chiếu kiểm tra bằng chương trình tìm kiếm trình tự tương đồng (BLAST) xác nhận sản phẩm PCR là một đoạn gen đích thuộc gen MatK lục lạp của các loài họ Dầu.



Hình 1. Hình ảnh sắc ký đồ điện di trình tự gen MatK loài Sao hòn gai

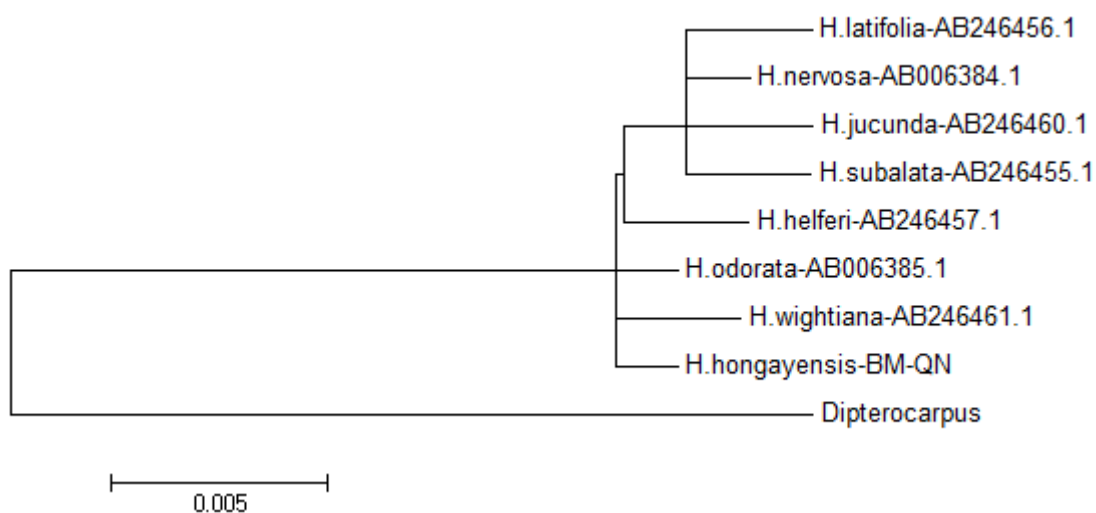
Trình tự nucleotide gen MatK của loài Sao hòn gai và trình tự tương đồng của 7 loài khác thuộc chi *Hopea* trên thế giới đã được so sánh và phân tích mối quan hệ di truyền (trình tự tương đồng của loài *Dipterocarpus cornutus* được sử dụng làm tham chiếu ngoài nhóm). Bảng 2 trình bày tỷ lệ biến đổi tiến hóa trình tự khi so sánh trình tự của loài Sao hòn gai với các trình tự tương đồng của 8 loài tham khảo theo mô hình Maximum Likelihood (các vị trí chứa khoảng trống hay thiếu dữ liệu đều đã bị loại bỏ).

Bảng 2

Tỷ lệ biến đổi tiến hóa trình tự giữa 9 loài so sánh

	<i>H. jucunda</i>	<i>H. latifolia</i>	<i>H. nervosa</i>	<i>H. subalata</i>	<i>D. cornutus</i>	<i>H. wightiana</i>	<i>H. helferi</i>	<i>H. odorata</i>
<i>H. jucunda</i>								
<i>H. latifolia</i>	0,006							
<i>H. nervosa</i>	0,004	0,004						
<i>H. subalata</i>	0,006	0,006	0,004					
<i>D. cornutus</i>	0,037	0,037	0,035	0,037				
<i>H. wightiana</i>	0,007	0,007	0,006	0,007	0,035			
<i>H. helferi</i>	0,007	0,007	0,006	0,006	0,035	0,006		
<i>H. odorata</i>	0,006	0,006	0,004	0,006	0,034	0,004	0,004	
<i>H. hongayensis</i>	0,006	0,006	0,004	0,006	0,034	0,004	0,004	0,003

Kết quả phân tích sự khác biệt về tiến hóa giữa 9 loài so sánh được dùng để xây dựng nên cây phát sinh chủng loại của 9 loài (hình 3).



Hình 3. Cây phát sinh chủng loại Maximum Likelihood ($\log L = -3454.17$)

Kết quả phân tích cho thấy, trong 7 loài thuộc chi *Hopea* được so sánh thì loài Sao hòn gai của Việt Nam có cùng nhánh tiến hóa với loài *H. wightiana* có nguồn gốc từ Ấn Độ và loài Sao đen (*H. odorata*) có phân bố ở cả Ấn Độ, Bangladesh, Lào, Campuchia, Myanmar, Malaysia và Việt Nam, trong đó khoảng cách di truyền giữa *H. odorata* và *H. hongayensis* là gần gũi hơn với chỉ số khoảng cách di truyền là 0,003, điều này là phù hợp bởi *H. odorata* và *H. hongayensis* đều có phân bố ở Việt Nam. Ngoài ra 3 loài này đều có chung nguồn gốc tiến hóa với loài Sao xanh (*H. helferi*), cũng là loài có phân bố rộng ở khắp các nước Đông Nam Á.

III. KẾT LUẬN

Trình tự 1 đoạn gen MatK dài 900 nucleotide của loài Sao hòn gai đặc hữu của Việt Nam đã được giải mã, có thể đưa vào cơ sở dữ liệu các loài cây quý của Việt Nam, để nhận biết và so sánh với các loài khác trên thế giới, vì vùng gen MatK được dùng phổ biến nhất trong phân loại và DNA barcoding.

Kết quả phân tích mối quan hệ tiến hóa của loài Sao hòn gai với 7 loài khác thuộc chi *Hopea* cho thấy loài Sao hòn gai của Việt Nam có quan hệ gần gũi với loài Sao đen và cùng nhánh tiến hóa với loài *H. wightiana* đặc hữu của Ấn Độ, 3 loài này đều có chung gốc tiến hóa xuất phát từ loài Sao xanh (*H. helferi*).

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được thực hiện với sự hỗ trợ của đề tài dành cho cán bộ trẻ của Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật (mã số IEBR.CBT.TS04/2013) và Quỹ Bảo tồn Thiên nhiên NEF (Nagao-Natural Environment Foundation).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ashton P., 1998. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.1.
2. Ge H. M, Yang W. H, Shen Y., Jiang N., Guo Z. K, Luo Q., Xu Q., Ma J., Tan R. X., 2012. *Planta Med*, 78 (10): 1015-1019.
3. Nguyễn Hoàng Nghĩa, 2005. Cây họ Dầu Việt Nam. NXB. Nông nghiệp.
4. Nguyễn Thị Phương Trang, Nguyễn Minh Tâm, Phan Kế Long, Phan Kế Lộc, 2009. *Tạp chí Công nghệ sinh học*, 7 (1): 85-92.
5. Phạm Hoàng Hộ, 1999. Cây cỏ Việt Nam. NXB. Trẻ Tp. Hồ Chí Minh.

THE MATK NUCLEOTIDE SEQUENCE OF *Hopea hongayensis*, Tardieu IN VIET NAM

NGUYEN THI PHUONG TRANG, TA THI NHUNG,
HA MINH TAM, NGUYEN VAN THANH

SUMMARY

Hopea hongayensis belongs to *Hopea* genus, Dipterocarpaceae family, was found in Quang Ninh province (Vietnam) by Tardieu Marie Laure (1902-1998), a French botanist and then named as *Hopea hongayensis* Tardieu. This is a valuable species for sciences (endemic species), for economic (fine wood) and for medicine (use as medical). However, this species is currently facing an extremely high risk of extinction because of over-exploitation and habitat decline. Globally, *Hopea hongayensis* was listed as CR A1cd +2cd, C1, D under IUCN 2012 criteria. At present, there is no thoughtful research on this species in Vietnam.

Chloroplast MatK gene is determined to be useful for studies on classification and barcoding. In this study, *Hopea hongayensis*'s chloroplast MatK gene was sequenced for addition the genetic database of rare plant of Vietnam and analysis of genetic relationship between *Hopea hongayensis* with other dipterocarps species in the world.