

ĐA DẠNG DI TRUYỀN QUẦN THỂ CÂY TRỘT GIỎI ĂN HẠT (*Michelia tonkinensis* A.Chev.) Ở MỘT SỐ TỈNH PHÍA BẮC VIỆT NAM DỰA TRÊN CHỈ THỊ SSR

Trần Thị Liễu^{1*}, Đinh Thị Phòng^{1,2}, Nguyễn Văn Hùng³

¹Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
²Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
³Trung tâm Giống cây trồng, vật nuôi và thủy sản tỉnh Hòa Bình

Từ khóa: Đa dạng di truyền, *Michelia tonkinensis*, SSR

TÓM TẮT

Giới ăn hạt (*Michelia tonkinensis* A.Chev.) là loài cây gỗ đa tác dụng, có giá trị kinh tế và bảo tồn cao. Tuy nhiên, các quần thể Giới ăn hạt trong rừng tự nhiên đang bị suy giảm nghiêm trọng do bị khai thác quá mức. Trong nghiên cứu này, 25 chỉ thị SSR đã được sử dụng để phân tích đa dạng di truyền của 50 cá thể cây trọt Giới ăn hạt thu tại 5 tỉnh Hòa Bình, Thanh Hóa, Phú Thọ, Lào Cai và Lai Châu. Trong đó quần thể cây trọt Giới ăn hạt ở Hòa Bình thể hiện tính đa dạng di truyền cao nhất ($N_a = 3,920$; $N_e = 2,588$; $I = 0,966$; $H_o = 0,561$; $H_e = 0,515$ và $PPB = 96\%$) và thấp nhất là quần thể Thanh Hóa ($N_a = 2,200$; $N_e = 1,984$; $I = 0,600$; $H_o = 0,560$; $H_e = 0,372$; và $PPB = 72\%$). Cả 5 quần thể đều xuất hiện alen hiếm (A_p trung bình = 0,360) và xảy ra hiện tượng giao phần chéo. Hiện tượng di nhập gen (N_m) cũng đã xảy ra trong quần thể Giới ăn hạt với giá trị trung bình $N_m = 1,884$. Tổng mức độ thay đổi phân tử (AMOVA) giữa 5 quần thể là 37,07% và giữa các cá thể trong cùng quần thể là 62,93%. Mức độ tương đồng di truyền của quần thể cây trọt Giới ăn hạt dao động từ 58 đến 90%. Thông qua phân tích phân tử cho thấy quần thể 50 cây trọt Giới ăn hạt nghiên cứu có tính đa dạng di truyền tương đối cao. Hiện tượng thụ phấn chéo giữa các cá thể trong quần thể đã được tìm thấy nên đảm bảo duy trì tính đa dạng di truyền ở các thế hệ tiếp theo. Vì vậy cần có chiến lược sớm để bảo tồn các dòng cây trọt Giới ăn hạt, phục vụ công tác tuyển chọn giống và nhân rộng loài.

Genetic diversity of the populations of *Michelia tonkinensis* A. Chev. in some North provinces, Vietnam using SSR marker

Michelia tonkinensis A.Chev. is a multi-purpose timber species, with high economic and conservation value. However, the populations of *M. tonkinensis* in natural forests are reduced due to over exploitation. In this study, 25 SSR markers were used to analyze the genetic diversity of 50 dominant individuals *M. tonkinensis* collected in 5 provinces Hoa Binh, Thanh Hoa, Phu Tho, Lao Cai, Lai Chau. Among them, the level of genetic diversity in Hoa Binh population was the highest ($N_a = 3.920$; $N_e = 2.588$; $I = 0.966$; $H_o = 0.561$; $H_e = 0.515$ and $PPB = 96\%$) and the lowest in Thanh Hoa ($N_a = 2.200$; $N_e = 1.984$; $I = 0.600$; $H_o = 0.560$; $H_e = 0.372$ and $PPB = 72\%$). All 5 populations had the private allele (mean of $A_p = 0.360$) and cross-pollination. The gene flow (N_m) has also occurred in the *M. tonkinensis* populations with an average value of $N_m = 1.884$. The total level of molecular variance (AMOVA) was relatively low among populations (37.07%) and high among individuals within the populations (62.93%). The

Keywords: Genetic diversity, *Michelia tonkinensis*, SSR

genetic similarity of *M. tonkinensis* populations ranged from 58 to 90%. Molecular analysis results showed that *M. tonkinensis* populations had relatively high genetic diversity. The cross-pollination also occurred among individuals in the population and among the populations, so that ensure the maintenance of genetic diversity in population the next generation. Therefore, the *M. tonkinensis* populations should be protected at the individual level, serving the selection and replication of species.

I. MỞ ĐẦU

Giổi ăn hạt (*Michelia tonkinensis* A.Chev.) là cây bản địa đa tác dụng, có giá trị kinh tế và bảo tồn cao (Triệu Văn Hùng, 2007; Hoang Van Sam *et al.*, 2008). Đây còn được coi là một trong những loài cây gỗ chính trong tập đoàn giống cây phục vụ công tác trồng rừng và phục hồi rừng tự nhiên (Triệu Văn Hùng, 2007). Hiện nay, các quần thể Giổi ăn hạt trong rừng tự nhiên đang bị suy giảm nghiêm trọng do bị khai thác quá mức và số lượng cây tái sinh tự nhiên còn rất ít do hạt bị thu hái (Triệu Văn Hùng, 2007; Lê Đình Phương, 2013). Do đó nhu cầu trồng Giổi ăn hạt ở các địa phương hiện nay là rất lớn.

Ở Việt Nam, các nghiên cứu trước mới tập trung vào quy trình nhân giống và gieo ươm một số loài thuộc chi Giổi (*Michelia*), còn các nghiên cứu về đa dạng di truyền vẫn rất hạn chế. Đặc biệt các dẫn liệu về đa dạng di truyền cây mẹ là các cây trội được tuyển chọn hầu như chưa được nghiên cứu. Điều này sẽ dẫn đến khó khăn trong việc lựa chọn được những cây mẹ ưu trội thực sự về kiểu gen, đồng thời khó xác định những cây trội không có quan hệ gần gũi nhau về mặt di truyền để tránh hiện tượng thoái hóa giống do sự giao phấn cận loài. Do đó nghiên cứu đa dạng di truyền đối với các dòng cây trội Giổi ăn hạt rất có ý nghĩa trong việc lựa chọn được nguồn giống tốt phục vụ cho sản xuất và nhân giống, giúp bảo tồn được nguồn gen quý cũng như việc bố trí hợp lý giữa các cây trội sao cho khả năng thụ phấn chéo xảy ra một cách tối đa.

Nghiên cứu đa dạng di truyền quần thể các loài Giổi sử dụng chỉ thị phân tử, đặc biệt là chỉ thị SSR, cũng đã được quan tâm ở một số quốc gia trên thế giới (Zhao *et al.*, 2009; Zhao *et al.*, 2012; Sun *et al.*, 2010; Sun *et al.*, 2011) và Việt Nam (Nguyễn Hoàng Nghĩa *et al.*, 2010). Các kết quả thu được đã giúp các nhà nghiên cứu hiểu biết về cấu trúc di truyền và lịch sử tiến hóa của loài, đồng thời cung cấp một cơ sở dữ liệu di truyền cho việc bảo tồn loài. Các nghiên cứu này sẽ là cơ sở khoa học để thực hiện nghiên cứu đa dạng di truyền các dòng cây trội Giổi ăn hạt ở một số tỉnh miền Bắc, Việt Nam.

Xuất phát từ cơ sở khoa học trên, chúng tôi tiến hành đánh giá “Đa dạng di truyền quần thể cây trội Giổi ăn hạt (*Michelia tonkinensis*) ở một số tỉnh phía Bắc Việt Nam dựa trên chỉ thị SSR” làm cơ sở cho công tác tuyển chọn, nhân giống và phát triển nguồn gen loài Giổi ăn hạt ở một số tỉnh miền Bắc, Việt Nam.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Năm mươi mẫu lá của 50 cây trội Giổi ăn hạt do Trung tâm Giống cây trồng, Vật nuôi và Thủy sản tỉnh Hòa Bình cung cấp (mỗi mẫu là một cá thể cây trội trưởng thành được lựa chọn trên cơ sở phân tích một số đặc điểm nông học, sản lượng và chất lượng quả). Các mẫu được thu tại 5 tỉnh Hòa Bình, Thanh Hóa, Phú Thọ, Lào Cai và Lai Châu, và được bảo quản trong silicagel tới khi sử dụng. Thông tin các mẫu nghiên cứu được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Ký hiệu và địa điểm thu các mẫu cây trội Giới ăn hạt dùng trong nghiên cứu

TT	Ký hiệu	Địa điểm thu mẫu	Tọa độ		Độ cao (so mực nước biển) (m)
			Vĩ độ	Kinh độ	
1	GHB01	Nuông Dăm, Kim Bôi, Hòa Bình	20°34'41,3"	105°35'07,3"	21
2	GHB02	Nuông Dăm, Kim Bôi, Hòa Bình	20°34'41,3"	105°35'07,4"	26
3	GHB03	Nuông Dăm, Kim Bôi, Hòa Bình	20°34'41,2"	105°35'06,8"	27
4	GHB05	Nuông Dăm, Kim Bôi, Hòa Bình	20°34'41,0"	105°35'07,6"	30
5	GHB06	Nuông Dăm, Kim Bôi, Hòa Bình	20°34'40,5"	105°35'05,4"	35
6	GHB08	Nuông Dăm, Kim Bôi, Hòa Bình	20°34'36,7"	105°35'10,1"	51
7	GHB10	Nuông Dăm, Kim Bôi, Hòa Bình	20°34'37,0"	105°35'09,8"	52
8	GHB13	Nuông Dăm, Kim Bôi, Hòa Bình	20°34'39,5"	105°35'05,9"	43
9	GHB15	Chí Đạo, Lạc Sơn, Hòa Bình	20°28'11,0"	105°21'26,1"	53
10	GHB16	Chí Đạo, Lạc Sơn, Hòa Bình	20°28'11,0"	105°21'26,8"	41
11	GHB18	Chí Đạo, Lạc Sơn, Hòa Bình	20°28'23,5"	105°21'51,5"	66
12	GHB19	Chí Đạo, Lạc Sơn, Hòa Bình	20°28'23,0"	105°21'49,4"	57
13	GHB21	Chí Thiện, Lạc Sơn, Hòa Bình	20°28'57,6"	105°22'27,1"	70
14	GHB22	Chí Thiện, Lạc Sơn, Hòa Bình	20°28'57,4"	105°22'27,5"	69
15	GHB23	Chí Thiện, Lạc Sơn, Hòa Bình	20°28'57,3"	105°22'27,8"	72
16	GHB24	Chí Thiện, Lạc Sơn, Hòa Bình	20°28'57,4"	105°22'27,9"	71
17	GHB26	Chí Thiện, Lạc Sơn, Hòa Bình	20°28'54,5"	105°22'10,3"	66
18	GHB28	Chí Thiện, Lạc Sơn, Hòa Bình	20°28'54,5"	105°22'10,7"	70
19	GHB31	Chí Thiện, Lạc Sơn, Hòa Bình	20°28'51,8"	105°22'12,9"	68
20	GHB33	Chí Thiện, Lạc Sơn, Hòa Bình	20°28'51,8"	105°22'12,2"	68
21	GHB35	Chí Thiện, Lạc Sơn, Hòa Bình	20°28'39,8"	105°21'57,7"	57
22	GHB36	Chí Thiện, Lạc Sơn, Hòa Bình	20°28'38,0"	105°21'57,4"	53
23	GHB37	Chí Thiện, Lạc Sơn, Hòa Bình	20°28'38,3"	105°21'57,5"	55
24	GHB38	Chí Thiện, Lạc Sơn, Hòa Bình	20°28'38,3"	105°21'58,6"	52
25	GHB39	Chí Thiện, Lạc Sơn, Hòa Bình	20°28'55,8"	105°21'47,6"	61
26	GHB40	Chí Thiện, Lạc Sơn, Hòa Bình	20°28'56,0"	105°21'48,6"	64
27	GHB42	Chí Thiện, Lạc Sơn, Hòa Bình	20°29'00,9"	105°21'58,6"	61
28	GHB43	Chí Thiện, Lạc Sơn, Hòa Bình	20°29'01,6"	105°21'56,9"	65
29	GHB44	Chí Thiện, Lạc Sơn, Hòa Bình	20°29'02,5"	105°21'57,2"	62
30	GHB45	Chí Thiện, Lạc Sơn, Hòa Bình	20°29'02,3"	105°21'57,1"	64
31	GTH01	Nguyệt Ân, Ngọc Lặc, Thanh Hóa	19°59'33,3"	105°22'14,4"	99
32	GTH02	Nguyệt Ân, Ngọc Lặc, Thanh Hóa	19°59'32,1"	105°22'11,2"	98
33	GTH04	Nguyệt Ân, Ngọc Lặc, Thanh Hóa	19°59'34,1"	105°22'14,6"	96
34	GTH05	Nguyệt Ân, Ngọc Lặc, Thanh Hóa	19°59'34,2"	105°22'14,6"	96
35	GTH08	Phúc Thịnh, Ngọc Lặc, Thanh Hóa	19°57'13,4"	105°20'25,2"	35
36	GTH10	Phúc Thịnh, Ngọc Lặc, Thanh Hóa	19°57'13,8"	105°20'25,5"	35
37	GPT02	Văn Luông, Tân Sơn, Phú Thọ	21°09'19,9"	105°06'14,0"	50
38	GPT04	Văn Luông, Tân Sơn, Phú Thọ	21°09'20,0"	105°06'13,7"	52

TT	Ký hiệu	Địa điểm thu mẫu	Tọa độ		Độ cao (so mực nước biển) (m)
			Vĩ độ	Kinh độ	
39	GPT06	Văn Luông, Tân Sơn, Phú Thọ	21°08'16,1"	105°05'56,4"	51
40	GPT08	Văn Luông, Tân Sơn, Phú Thọ	21°08'48,7"	105°05'52,8"	64
41	GPT09	Văn Luông, Tân Sơn, Phú Thọ	21°08'47,5"	105°05'52,9"	64
42	GLCa02	Chiềng Ken, Văn Bàn, Lào Cai	22°05'52,5"	104°19'13,0"	139
43	GLCa04	Chiềng Ken, Văn Bàn, Lào Cai	22°05'52,9"	104°19'13,5"	150
44	GLCa05	Chiềng Ken, Văn Bàn, Lào Cai	22°05'52,9"	104°19'14,2"	151
45	GLCa07	Chiềng Ken, Văn Bàn, Lào Cai	22°05'37,8"	104°19'18,5"	135
46	GLCa09	Chiềng Ken, Văn Bàn, Lào Cai	22°05'37,1"	104°19'17,3"	140
47	GLCh01	Căn Co, Sin Hồ, Lai Châu	22°11'52,8"	103°26'10,0"	225
48	GLCh02	Căn Co, Sin Hồ, Lai Châu	22°11'52,2"	103°26'06,4"	229
49	GLCh06	Căn Co, Sin Hồ, Lai Châu	22°11'47,9"	103°26'10,3"	228
50	GLCh07	Căn Co, Sin Hồ, Lai Châu	22°11'47,5"	103°26'10,5"	237

Trình tự 25 cặp môi SSR (Simple Sequence repeats) trong nghiên cứu được khai thác từ các tài liệu (bảng 2) và được tổng hợp bởi Công ty IDT, Hoa Kỳ (Intergarated DNA Technology, USA).

Bảng 2. Trình tự nucleotide và nguồn tham khảo của 25 cặp môi SSR sử dụng trong nghiên cứu

TT	Chi thị	Trình tự lặp	Trình tự nucleotide 5' - 3'	Tài liệu tham khảo
1	CasA131	(AG) ₉	CCTTGAATCAGTGGTTTGAT CACAGTTGGCACAATACAAC	Zhang <i>et al.</i> , 2009
2	CasA7	(AG) ₉	GCAATATTGAGACCCGTAAC TATCCGTTTACTCGGTATGC	Zhang <i>et al.</i> , 2009
3	CasC254	(CT) ₆ CC (CT) ₁₁	ATCGCAAGCTACCTTTGTAA GAGGAATCGTGTGATTCTGT	Zhang <i>et al.</i> , 2009
4	CO15	(AC) ₁₈	TCCAAGGATGCACATTCAAT AAACAAAACCTCACTCAATGAA	Miao <i>et al.</i> , 2012
5	CO2	(GA) ₉	GCAACTCATTGGAAGCATCG AGGTAGACCAGGCTTCCATT	Miao <i>et al.</i> , 2012
6	CO3	(TG) ₂₆	TCCTAAATTGAGCCTCTGTG TGAAGGTGTTGAGGTGGTCT	Miao <i>et al.</i> , 2012
7	PeB31BGT	(CT) ₉	GGCATTGGCTCAACAGA TCGTGGAGAGGTACTTCATT	Mellick <i>et al.</i> , 2009
8	Pin1-23	(TC) ₁₂	TCGTTTGGAAAGTGTTCCTTCCATT TACCACCTTGCCCGAGTTTATG	Li <i>et al.</i> , 2010
9	Pinus02	(AC) ₆ (AG) ₂₀	GTCCCTGGCTTGCAGACTAT ACACACACACACAGAGAGAGAG	Hung <i>et al.</i> , 2012
10	Pinus07	(TC) ₆ (AC) ₇	AAATCGGGTCAACATCAAGC TCTCTCTCTCACACACACAC	Hung <i>et al.</i> , 2012
11	Pinus09	(TC) ₆ (AC) ₉	TCGGGACCCCTAATGACATA TCTCTCTCTCACACACACAC	Hung <i>et al.</i> , 2012
12	PRE13	(AT) ₂₁	GATGTGTCTTTAGGCTCGTTGC AGGGTTAGTAATCACGGCCTGT	Boys <i>et al.</i> , 2005
13	PRE24	(AG) ₂₉	GTTTTTTAAATTGGGAAGGCG CGTGGGGGAGATAGTGATAGAGT	Boys <i>et al.</i> , 2005

TT	Chi thị	Trình tự lặp	Trình tự nucleotide 5' - 3'	Tài liệu tham khảo
14	Pt15169	(C) ₁₇ (T) ₃₃	CTTGGATGGAATAGCAGCC GGAAGGGCATTAAAGGCATTA	Vendramin <i>et al.</i> , 1996
15	Pt26081	(A) ₁₈ GG(A) ₃ G(A) ₃	CCCGTATCCAGATATACTTCCA TGGTTTGATTTCATTCGTTTCAT	Vendramin <i>et al.</i> , 1996
16	PtTX3020	(CAA) ₉	GTCGGGGAAGTAAAAGTA CTAGGTGCAAGAAAAGAGTAT	Elsik <i>et al.</i> , 2000
17	PtTX3030	(TA) ₅ ... (GGT) ₁₀	AATGAAAGGCAAGTGTCG GAGATGCAAGATAAAGGAAGTT	Elsik <i>et al.</i> , 2000
18	PtTX3034	(GT) ₁₀ (GA) ₁₃	TCAAAATGCAAAAGACG ATTAGGACTGGGGATGAT	Elsik <i>et al.</i> , 2000
19	Pt36480	(T) ₂₆	TTTTGGCTTACAAAATAAAAAGAGG AAATTCCCTAAAGAAGGAAGAGCA	Vendramin <i>et al.</i> , 1996
20	Pt79951	(T) ₉	CTTTTGTTTTTTCAACAATTGCA ACATCTATCTCCCATATCGGC	Vendramin <i>et al.</i> , 1996
21	PtTX2008	(TGA) ₅	TGACGATGATTGCATGTGTTAAGGTA TTGGAGTTAAAGAAGATTGGAAGTG	Elsik <i>et al.</i> , 2000
22	RPS12	(AC) _n	TCAATGTGGAGATGGTGATT ACTTCTGACCTAACCAGAAAACC	Echt <i>et al.</i> , 1996
23	RPS150	(GAG) ₄	TCCATCAGTGAGCAGTGG CACTTGGGCTTCCTCTTC	Echt <i>et al.</i> , 1996
24	RPS1b	(AC) ₁₀	GCCCACTATTCAAGATGTCA GATGTTAGCAGAAACATGAGG	Echt <i>et al.</i> , 1996
25	RPS2	(AC) ₁₅	CATGGTGTGGTTCATTGTTCCA TGGAGGCTATCACGTATGCACC	Echt <i>et al.</i> , 1996

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tách chiết DNA tổng số: DNA tổng số được tách chiết theo các bước mô tả trong bộ kit DNeasy Plant Kits (hãng Qiagen - Đức), sau đó được kiểm tra độ sạch trên gel agarose 0,9% có bổ sung thuốc nhuộm GelRed Nucleic Acid Gel Stain (Trung Quốc) và soi dưới đèn UV, đo nồng độ hấp phụ ở bước sóng 260 và 280 nm.

PCR_SSR: Phản ứng nhân gen được thực hiện trong thể tích 25µl gồm các thành phần: 1X dung dịch đệm PCR, 2,5 mM MgCl₂, 2mM dNTPs, 100nM mỗi mỗi xuôi và ngược, 50 ng DNA khuôn và 0,5 đơn vị Taq polymerase. Các phản ứng được thực hiện trên máy PCR system 9700 với chu trình nhiệt: biến tính ở 94°C trong 4 phút; tiếp sau là 35 chu kỳ nối tiếp nhau với các bước: biến tính 94°C trong 1 phút, gắn mỗi 50 - 55°C (tùy từng môi) trong 1 phút, kéo dài mỗi 72°C trong 1 phút; kết thúc phản ứng ở 72°C trong 10 phút và giữ sản

phẩm ở 4°C. Sản phẩm PCR được điện di kiểm tra trên gel poly acrylamide 5% (có bổ sung thuốc nhuộm GelRed Nucleic Acid Gel Stain) cùng với thang marker DNA chuẩn 100 bp và quan sát dưới tia UV.

Phân tích số liệu: Các thông số đa dạng di truyền của mỗi quần thể như số lượng alen quan sát trung bình (N_a - Number of observed alleles), alen hiệu quả (N_e - Number of effective alleles) và alen hiếm (A_p - Number of private alleles) trên một locus, phần trăm phân đoạn đa hình (PPB - Percent of polymorphic loci), chỉ số đa dạng di truyền theo Shannon (I - Shannon's index), hệ số gen dị hợp tử mong đợi (H_e), hệ số gen dị hợp tử quan sát (H_o = số cá thể dị hợp tử/ tổng cá thể) được tính toán sử dụng phần mềm GENALEX 6.3 (Peakall và Smouse, 2006). Hệ số giao phối cận loài (F_{is} - inbreeding coefficient) của mỗi quần thể cũng được xác định bằng phần mềm FSTAT (Goudet, 1995).

Biểu đồ hình cây và biểu đồ đa chiều thể hiện mối quan hệ di truyền của các cá thể được lập theo phương pháp của Nei và Li (1979) trong phần mềm NTSYS 2.0 (Rohlf, 1992).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đa dạng di truyền của 50 cây trội Giỗ ă hạt

Hai mươi lăm chỉ thị SSR đã được sử dụng để phân tích mức độ đa hình DNA của 50 cây trội Giỗ ă hạt thu tại 5 tỉnh Hòa Bình, Thanh

Hóa, Phú Thọ, Lào Cai và Lai Châu. Kết quả phân tích cho thấy, 24 chỉ thị chỉ ra tính đa hình giữa 50 cây trội nghiên cứu với hàm lượng thông tin đa hình (PIC) dao động từ 0 (chỉ thị Pin1-23) đến 0,587 (chỉ thị Pinus09), giá trị PIC trung bình là 0,433. Tổng số 125 phân đoạn DNA đã được nhân bản, trong đó có 111 phân đoạn đa hình (chiếm 88,8%) và 14 phân đoạn đồng hình (chiếm 11,2%). Giá trị đa dạng gen trên một locus (H_j) dao động từ 0 (chỉ thị Pin1-23) đến 0,430 (chỉ thị CO2), trung bình 0,231 (bảng 3).

Bảng 3. Tỷ lệ phân đoạn đa hình, giá trị PIC, đa dạng gen trên một locus và một số thông số di truyền của 25 chỉ thị SSR phân tích

TT	Chỉ thị	Kích thước	Tổng phân đoạn	Phân đoạn đa hình	Phân đoạn đồng hình	% phân đoạn đa hình	PIC	H_j	F_{is}	F_{st}	N_m
1	CasA131	230 - 270	5	4	1	80,00	0,507	0,195	0,035	0,205	0,969
2	CasA7	280 - 300	2	1	1	50,00	0,005	0,020	-0,118	0,076	3,020
3	CasC254	185 - 340	7	6	1	85,71	0,328	0,278	0,389	0,334	0,500
4	CO15	130 - 135	2	1	1	50,00	0,359	0,074	1,000	0,082	2,813
5	CO2	185 - 200	3	3	0	100,00	0,344	0,430	-0,411	0,316	0,542
6	CO3	280 - 300	3	2	1	66,67	0,572	0,026	-0,160	0,105	2,134
7	PeB31BGT	150 - 250	4	3	1	75,00	0,486	0,176	-0,188	0,046	5,229
8	Pin1-23	135 - 135	1	0	1	0,00	0,000	0,000	-	-	-
9	Pinus02	230 - 300	6	5	1	83,33	0,482	0,239	-0,676	0,162	1,294
10	Pinus07	240 - 270	3	2	1	66,67	0,361	0,214	-0,052	0,072	3,240
11	Pinus09	200 - 260	9	9	0	100,00	0,587	0,270	-0,683	0,246	0,764
12	PRE13	135 - 175	9	8	1	88,89	0,533	0,237	-0,442	0,204	0,974
13	PRE24	340 - 400	6	6	0	100,00	0,511	0,353	-0,458	0,429	0,332
14	Pt15169	90 - 120	6	6	0	100,00	0,514	0,349	-0,429	0,205	0,970
15	Pt26081	190 - 225	6	5	1	83,33	0,395	0,184	-0,382	0,186	1,095
16	PtTX3020	160 - 210	3	2	1	66,67	0,282	0,171	-0,637	0,092	2,457
17	PtTX3030	170 - 245	6	6	0	100,00	0,476	0,358	-0,873	0,173	1,195
18	PtTX3034	135 - 180	7	7	0	100,00	0,530	0,346	-0,362	0,156	1,357
19	Pt36480	260 - 280	3	2	1	66,67	0,495	0,086	1,000	0,456	0,299
20	Pt79951	330 - 400	5	5	0	100,00	0,528	0,313	-0,140	0,360	0,444
21	PtTX2008	180 - 245	6	6	0	100,00	0,491	0,373	-0,464	0,127	1,723
22	RPS12	270 - 405	5	4	1	80,00	0,542	0,157	-0,928	0,251	0,746
23	RPS150	100 - 140	7	7	0	100,00	0,478	0,379	-0,281	0,076	3,047
24	RPS1b	90 - 220	5	5	0	100,00	0,498	0,241	-0,688	0,049	4,850
25	RPS2	250 - 330	6	6	0	100,00	0,527	0,317	-0,003	0,034	7,103
		90 - 405	125	111	14	88,80	0,433	0,231	-0,248	0,185	1,884

Ghi chú: PIC: Hàm lượng thông tin đa hình; H_j : Đa dạng gen trên một locus; F_{is} : hệ số giao phối cận loài với $p < 0,05$; F_{st} : hệ số khác biệt di truyền; N_m : hệ số di nhập gen.

So sánh với một số loài *Giỏi* khác trong chi *Michelia* cho thấy quần thể cây trội *Giỏi* ăn hạt (Việt Nam) có phần trăm phân đoạn đa hình thấp hơn so với loài *M. coriacea* (Việt Nam, Trung Quốc) khi phân tích với chỉ thị ISSR và SSR (88% so với 96,36% và 95%, tương ứng) (Zhao *et al.*, 2012). Xét về hàm lượng thông tin đa hình (PIC) của các chỉ thị SSR nghiên cứu, các cây trội *Giỏi* ăn hạt ở miền Bắc, Việt Nam có giá trị PIC thấp hơn so với loài *M. coriacea* (Việt Nam, Trung Quốc) (0,433 so với 0,502) (Zhao *et al.*, 2012).

Kết quả phân tích các thông số di truyền của quần thể *Giỏi* ăn hạt được thể hiện trong bảng 4 cho thấy quần thể Hòa Bình có tính đa dạng di truyền cao nhất ($N_a = 3,920$; $N_e = 2,588$; $I = 0,966$; $H_o = 0,561$; $H_e = 0,515$ và $PPB = 96\%$) và thấp nhất là quần thể Thanh Hóa ($N_a = 2,200$; $N_e = 1,984$; $I = 0,600$; $H_o = 0,560$; $H_e = 0,372$;

và $PPB = 72\%$). Đây có thể: (1) Do tác động của điều kiện sinh thái ở từng vùng cụ thể lên một số tính trạng của loài để thích nghi; (2) Do số lượng mẫu sử dụng để nghiên cứu của quần thể Hòa Bình (30 mẫu) đã lớn hơn đáng kể so với 4 quần thể còn lại (Thanh Hóa 6 mẫu, Phú Thọ 5 mẫu, Lào Cai 5 mẫu và Lai Châu 4 mẫu). Trung bình đa dạng di truyền theo Shannon (I), hệ số gen dị hợp tử quan sát (H_o) và mong đợi (H_e), phần trăm phân đoạn đa hình ($PPB\%$) của 50 cây trội *Giỏi* ăn hạt ở mức độ quần thể là 0,736; 0,594; 0,433 và 80%, tương ứng và ở mức độ loài là 1,145; 0,576; 0,563 và 96%, tương ứng. So sánh với loài *M. coriacea* (Trung Quốc) cho thấy, quần thể cây trội *Giỏi* ăn hạt ở Việt Nam có số hệ số gen dị hợp tử quan sát (H_o) lớn hơn (0,594 so với 0,425) nhưng hệ số gen dị hợp tử mong đợi (H_e) lại thấp hơn (0,433 so với 0,470) (Zhao *et al.*, 2012).

Bảng 4. Một số thông số đa dạng di truyền quần thể *Giỏi* ăn hạt với chỉ thị SSR

Quần thể	N	N_a	N_e	I	H_o	H_e	PPB(%)	A_p	Fis
Hòa Bình	30	3,920	2,588	0,966	0,561	0,515	96	1,400	-0,072
Thanh Hóa	6	2,200	1,984	0,600	0,560	0,372	72	0,120	-0,433
Phú Thọ	5	2,400	2,121	0,673	0,576	0,410	76	0,080	-0,309
Lào Cai	5	2,600	2,357	0,755	0,624	0,450	80	0,120	-0,289
Lai Châu	4	2,400	2,098	0,687	0,650	0,419	76	0,080	-0,444
Trung bình	10	2,704	2,230	0,736	0,594	0,433	80	0,360	-0,309
Loài	50	5,000	3,179	1,145	0,576	0,563	96	-	-

Ghi chú: N: Số mẫu; N_a : Số alen quan sát trung bình trên một locus; N_e : Số alen hiệu quả trên một locus; I: Chỉ số đa dạng di truyền theo Shannon; H_o , H_e : Hệ số gen dị hợp tử quan sát và mong đợi; PPB: Phần trăm phân đoạn đa hình; A_p : Số alen hiếm trên một locus; Fis: Hệ số giao phối cận ngẫu nhiên với $p < 0,05$; “-”: Không xác định.

Xem xét ở khía cạnh giao phối, cả 5 quần thể đều có giá trị Fis < 0, trung bình -0,309 (Bảng 4). Điều này cho thấy khả năng giao phối chéo tương đối cao trong cả 5 quần thể. Kết quả phân tích trong bảng 4 cũng chỉ ra, cả 5 quần thể cây trội *Giỏi* ăn hạt đều có hệ số gen dị hợp tử quan sát lớn hơn so với mong đợi ($H_o > H_e$), chứng tỏ sự dư thừa alen dị hợp tử trong các quần thể cây trội *Giỏi* ăn hạt. Đây có thể là

kết quả của quá trình thụ phấn chéo xảy ra giữa các cá thể trong quần thể. Quá trình này đảm bảo duy trì tính đa dạng di truyền ở những thế hệ tiếp theo của quần thể. Kết quả này cũng tương tự với nghiên cứu của Zhang và đồng tác giả (2017) trên loài *M. yunnanensis* (Trung Quốc), nhưng lại trái ngược với nghiên cứu của Zhao và đồng tác giả (2012) trên loài *M.*

coriacea và của Sun và đồng tác giả (2011) trên loài *M. maudiae* (Trung Quốc).

Mức độ di nhập gen (*Nm*) thể hiện sự biến động alen giữa các quần thể Giỏi ăn hạt tương đối thấp, dao động từ 0,299 (chỉ thị Pt36480) đến 7,103 (chỉ thị RPS2), trung bình 1,884 (Bảng 3). Di nhập nguồn gen có thể làm tăng hoặc giảm sự đa dạng di truyền của quần thể, tuy nhiên nếu mức độ di nhập nguồn gen tương đối cao vào quần thể có thể làm giảm hiệu quả biến đổi gen do chọn lọc tự nhiên, đột biến hay các yếu tố ngẫu nhiên và có thể làm chậm hoặc ngăn cản sự đa dạng của quần thể (Vũ Văn Liết, 2009). So sánh với loài *M. coriacea* (Trung Quốc) cho thấy mức độ di nhập gen của loài Giỏi ăn hạt thấp hơn (1,884 so với 2,543, tương ứng) (Zhao *et al.*, 2012). Trung bình hệ số khác biệt di truyền giữa các quần thể (*Fst*) là 0,185, mức này cao hơn so với loài *M. coriacea* (Trung Quốc) (0,185 so với 0,090) (Zhao *et al.*, 2012). Số alen hiếm trên một locus (*Ap*) đã được tìm thấy ở cả 5 quần thể Hòa Bình (*Ap* = 1,4), Thanh Hóa (*Ap* = 0,12), Phú Thọ (*Ap* = 0,08), Lào Cai (*Ap* = 0,12) và Lai Châu (*Ap* = 0,08), trung bình 0,360 (Bảng 4). Kết quả này thấp hơn nhiều so với quần thể *M. yunnanensis* (Trung Quốc) (*Ap* trung bình = 4,857). Những alen hiếm xuất hiện ở cả 5 quần thể có vai trò rất quan trọng trong việc phân biệt, nhận dạng các giống (xuất xứ) Giỏi ăn hạt trong những nghiên cứu tiếp theo. Tuy nhiên, những alen hiếm liên quan đến một hay nhóm tính trạng cụ thể nào đó (đặc điểm hình thái, chất

lượng...) thì cần phải có nghiên cứu sâu hơn nữa như lập bản đồ di truyền trên cơ sở phân tích một số chỉ thị SSR, AFLP...

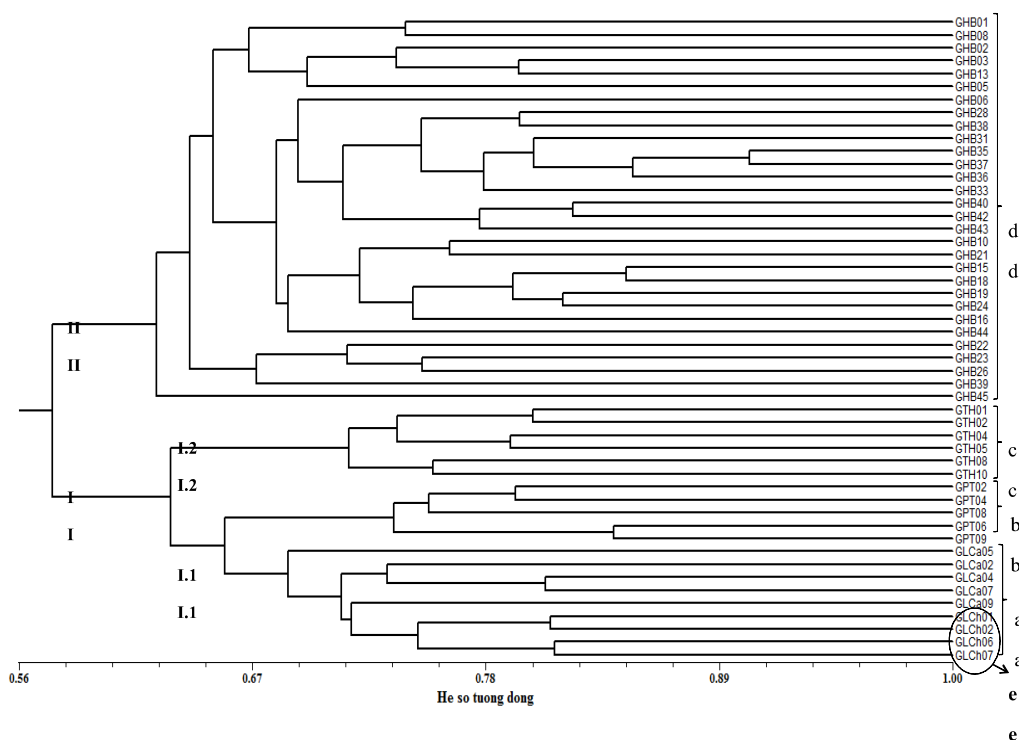
3.2. Mức độ thay đổi phân tử giữa và trong 5 quần thể Giỏi ăn hạt với chỉ thị SSR

Phân tích mức độ thay đổi phân tử (AMOVA) giữa các quần thể và giữa các cây trội Giỏi ăn hạt cho thấy, tổng sự biến đổi thấp giữa các quần thể (37,07%) và cao giữa các cá thể trong cùng quần thể (62,93%) với giá trị $p < 0,001$ (Bảng 5). Kết quả này cho thấy mức độ bảo thủ rất cao trong hệ gen của loài Giỏi ăn hạt. Đây chính là yếu tố di truyền của bất kỳ một loài sinh vật nào. Mức độ thay đổi phân tử cao giữa các cá thể trong quần thể của loài Giỏi ăn hạt ở một số tỉnh phía Bắc là tín hiệu tốt cho việc bảo toàn tính đa dạng di truyền. Cho đến nay, chưa có công bố nào về mức độ đa dạng di truyền của quần thể Giỏi ăn hạt ở Việt Nam. Tuy nhiên, khi so sánh loài Giỏi ăn hạt ở Việt Nam với loài *M. yunnanensis*, *M. maudiae* và *M. coriacea* (đều ở Trung Quốc) cho thấy mức độ thay đổi phân tử giữa các quần thể cao hơn (37,07% so với 5,76%; 17,52% và 13,9%, tương ứng) và giữa các cá thể trong quần thể là thấp hơn (62,93% so với 94,24%; 82,48% và 86,1%, tương ứng) (Sun *et al.*, 2011; Zhao *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2017). Như vậy, so với một số quần thể Giỏi trên thế giới, quần thể Giỏi ăn hạt ở Việt Nam có sự khác biệt di truyền khá nhiều giữa 5 quần thể thu được ở các địa danh khác nhau (Hòa Bình, Thanh Hóa, Phú Thọ, Lào Cai và Lai Châu). Minh chứng cho nhận xét này là mức độ đa dạng di truyền của quần thể Hòa Bình khác đáng kể so với 4 quần thể còn lại.

Bảng 5. Mức độ thay đổi phân tử (AMOVA) giữa và trong quần thể Giỏi ăn hạt phân tích với chỉ thị SSR

	Bậc tự do	Thành phần biến đổi	Tổng sự biến đổi (%)	Giá trị p
Giữa các quần thể	4	55,966	37,07	p < 0,001
Giữa các cá thể trong quần thể	45	10,340	62,93	

Mối quan hệ di truyền của 50 cây trội Giới ăn hạt



Hình 1. Biểu đồ hình cây theo phương pháp của Jaccard và kiểu phân nhóm UPGMA thể hiện mối quan hệ di truyền của 50 cây trội Giới ăn hạt phân tích với chỉ thị SSR

Mối quan hệ di truyền giữa 50 cây trội Giới ăn hạt của 5 quần thể nghiên cứu được thiết lập trên biểu đồ hình cây ở hình 1. Kết quả cho thấy biểu đồ hình cây chia thành 2 nhánh chính I và II riêng biệt có hệ số tương đồng di truyền trong khoảng từ 58% (giữa GHB45 và GLCa05) đến 90% (GHB35 và GHB37) và các mẫu đều nằm độc lập với nhau (không có mẫu nào giống nhau hoàn toàn). Nhánh chính I gồm 20 mẫu từ GTH01 - GLCh07 và chia thành 2 nhánh phụ I.1 và I.2 có hệ số tương đồng di truyền trong khoảng từ 63% đến 84,05%. Trong đó nhánh phụ I.2 gồm 6 mẫu từ GTH01 đến GTH10 (ký hiệu c trên biểu đồ) đều có nguồn gốc ở Thanh Hóa và có hệ số tương đồng di truyền trong khoảng từ 71,4% đến 80,2%. Nhánh phụ I.1 gồm 14 mẫu còn lại với hệ số tương đồng di truyền trong khoảng từ 65,6% đến 84,05% (ký hiệu a, b).

Sơ đồ hình cây đã thể hiện rất rõ mức độ giống nhau về mặt di truyền, đó là những mẫu thu

trong cùng một địa danh đều tạo thành những nhánh riêng biệt. Chẳng hạn, 05 mẫu từ GPT02 - GPT09 đều có nguồn gốc ở Phú Thọ hình thành một nhánh riêng biệt (ký hiệu b), hay 4 mẫu GLCh01 - GLCh07 đều có nguồn gốc ở Lai Châu cũng hình thành một nhánh riêng (ký hiệu e).

Nhánh chính II gồm 30 mẫu từ GHB01 - GHB45 có hệ số tương đồng trong khoảng 62,4 - 90% và đều có nguồn gốc ở Hòa Bình (ký hiệu d).

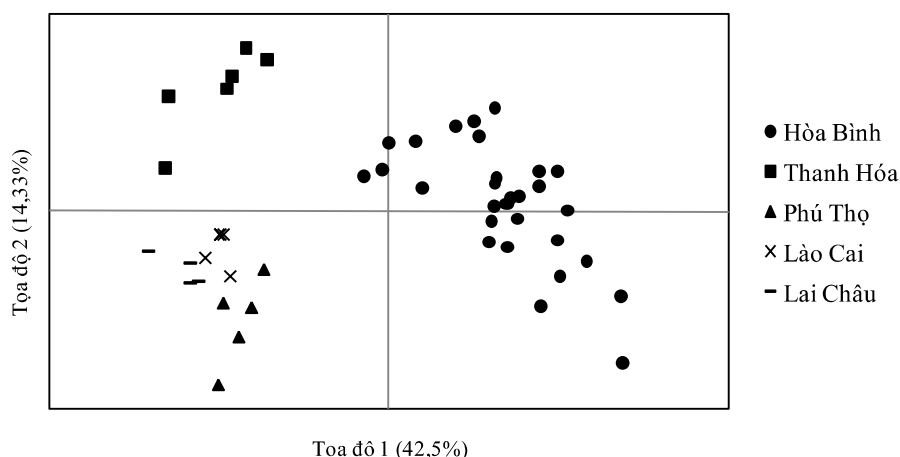
Từ kết quả nhận được trong sơ đồ hình cây có thể thấy rằng, các mẫu thu trong cùng một địa danh (Phú Thọ, Hòa Bình, Thanh Hóa, Lai Châu...) đã có sự gần gũi nhau về mặt di truyền (các mẫu trong cùng một địa danh đều nằm độc lập với nhau). Điều này là do: (1) Đây không phải là các quần thể Giới ăn hạt tự nhiên, mà được gây trồng từ các dòng cây

trội (cây mẹ) của mỗi địa phương, nên sự gần gũi nhau về mặt di truyền là dễ hiểu. Hơn nữa đây là các quần thể Giỏi ăn hạt gây trồng tương đối lâu năm nên sự tự thụ phấn giữa các cá thể trong quần thể liên tục xảy ra. Thêm vào đó là sự thích nghi của loài về môi trường địa lý ở mỗi vùng miền, nên lại càng làm tăng thêm tính đa dạng di truyền giữa các quần thể. Đây cũng là cơ sở khoa học cho các nhà chọn tạo và phát triển cây lâm nghiệp có định hướng để cải tạo tính đa dạng nguồn gen các dòng

cây trội giữa các vùng miền nhằm hạn chế sự thụ phấn cận loài.

So sánh với loài Giỏi xương trong nghiên cứu của Nguyễn Hoàng Nghĩa và đồng tác giả (2010) cho thấy loài Giỏi ăn hạt trong nghiên cứu này có hệ số tương đồng di truyền cao hơn (58% so với 30%).

Kết quả phân nhóm trong biểu đồ đa chiều cũng phản ánh tương tự biểu đồ hình cây, những mẫu có hệ số tương đồng di truyền cao đều hình thành nhóm riêng biệt (hình 2).



Hình 2. Biểu đồ phân nhóm thể hiện mối quan hệ di truyền của 50 cây trội Giỏi ăn hạt phân tích với chỉ thị SSR

IV. KẾT LUẬN

Tính đa dạng di truyền của quần thể cây trội Giỏi ăn hạt thể hiện cao nhất ở Hòa Bình ($N_a = 3,920$; $N_e = 2,588$; $I = 0,966$; $H_o = 0,561$; $H_e = 0,515$ và $PPB = 96\%$) và thấp nhất ở quần thể Thanh Hóa ($N_a = 2,200$; $N_e = 1,984$; $I = 0,600$; $H_o = 0,560$; $H_e = 0,372$; và $PPB = 72\%$). Cả 5 quần thể đều xuất hiện alen hiếm (A_p trung bình = 0,360) và xảy ra hiện tượng giao phân chéo ($F_{is} < 0$). Kết quả này cho phép nhận định giữa các cây trội nói riêng và các quần thể Giỏi ăn hạt ở một số tỉnh phía Bắc nói chung luôn xảy ra hiện tượng giao phân chéo

giữa các cá thể. Điều này đảm bảo tính đa dạng di truyền khá cao của các cây trội đã được chọn lọc và các quần thể Giỏi ăn hạt tại các tỉnh nghiên cứu.

Hiện tượng di nhập gen (N_m) cũng đã xảy ra trong quần thể Giỏi ăn hạt với giá trị trung bình $N_m = 1,884$. Tổng mức độ thay đổi phân tử (AMOVA) rất thấp (37,07%) giữa 5 quần thể Giỏi ăn hạt và cao (62,93%) giữa các cá thể trong cùng quần thể. Mức độ tương đồng di truyền của quần thể cây trội Giỏi ăn hạt dao động từ 58 đến 90%.

Thông qua các phân tích phân tử cho thấy, 50 cây trội Giới ăn hạt nghiên cứu có tính đa dạng di truyền tương đối cao. Hiện tượng thụ phấn chéo giữa các cá thể trong quần thể đã được tìm thấy nên đảm bảo duy trì tính đa dạng di truyền ở các thế hệ tiếp theo. Dựa trên mối quan hệ di truyền giữa các cây trội đã được tuyển chọn, các nhà tạo giống sẽ có chiến lược để định hướng cho việc xây dựng vườn giống, rừng giống từ các dòng vô tính hoặc từ hạt

của các cây trội theo sơ đồ hợp lý để tăng cường khả năng thụ phấn chéo một cách tối đa, hạn chế ảnh hưởng của thụ phấn cận loài làm suy giảm đa dạng di truyền ở thế hệ sau.

Lời cảm ơn: Đây là một phần kết quả nghiên cứu của nhiệm vụ “Nghiên cứu khai thác và phát triển nguồn gen Giới ăn hạt (*Michelia tonkinensis* A. Chev.) tại một số tỉnh miền Bắc, Việt Nam” mã số NVQG - 2017/18 do ThS. Nguyễn Văn Hùng chủ nhiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Boys J., Cherry M., Dayanandan S., 2005. Microsatellite analysis reveals genetically distinct populations on red pine (*Pinus resinosa*, pinaceae). *Amer. J. Bot.* 92(5): 833-841.
2. Echt C.S., May-Marquardt P., Hseih M., Zahorchak R., 1996. Characterization of microsatellite markers in eastern white pine. *Genome* 39: 1102-1108.
3. Elsik C.G., Minihan V.T., Hall S.E., Scarpa A.M., Williams C.G., 2000. Low-copy microsatellite markers for *Pinus taeda* L. *Genome* 43: 550-555.
4. Goudet J., 1995. FSTAT version 1.2: a computer program to calculate F-statistics. *J. Hered.* 86: 485-486.
5. Hoang Van Sam, 2008. Uses and conservation of plant species in a national park - A case study of Ben En National Park, Vietnam. *Economic Botany* 62(4): 574-593.
6. Hung K.H., Lin C.Y., Huang C.C., Hwang C.C., Hsu T.W., Ku Y.L., Wang W.K., Hung C.Y., Chiang T.Y., 2012. Isolation and characterization of microsatellite loci from *Pinus massoniana* (Pinaceae). *Botanical studies* 53: 191-196.
7. Lê Đình Phương, 2013. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh vật học và kỹ thuật gieo ươm loài Giới ăn quả (*Michelia tonkinensis* A.Chev.) tại Vườn quốc gia Bến En, tỉnh Thanh Hóa. Luận văn thạc sỹ khoa học Lâm nghiệp, Trường Đại học Lâm nghiệp.
8. Li C.H., Hidayat M.Y., Fong Y.K., Hong Y., 2010. Isolation and characterization of 18 polymorphic microsatellite loci for *Pterocarpus indicus* (Leguminosae). *Molecular Ecology Resources* 10:1098-1105.
9. Mellick R., Porter C., Rossetto M., 2009. Isolation and characterisation of polymorphic microsatellite loci from *Podocarpus elatus* (Podocarpaceae). *Molecular Ecology Resources* 9(6): 1460-1466.
10. Miao Y., Lang X., Li S., Su J., Wang Y., 2012. Characterization of 15 polymorphic microsatellite loci for *Cephalotaxus oliveri* (Cephalotaxaceae), a conifer of medicinal importance. *Int. J. Mol. Sci.* 13: 11165-11172.
11. Nguyễn Hoàng Nghĩa, Nguyễn Đức Thành, Lê Thị Bích Thủy, 2010. Phân tích đa dạng di truyền loài Giới xương (*Michelia baillonii* (Pierre) Fin.et Gagnep) bằng chỉ thị phân tử RAPD và cp SSR. Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp.
12. Peakall R., Smouse P.E., 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6: 288-295.
13. Rohlf F.J., 1992. NTSYS-PC: Numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.0. State University of New York (Stony Brook, New York).
14. Sun Y., Liu Y.F., Wang J., Guo Y., Huang H.W., 2010. Ten polymorphic microsatellite markers in *Michelia maudiae* (Magnoliaceae). *American Journal of Botany*: e157-e158.

15. Sun Y., Wen X.Y., Huang H.W., 2011. Genetic diversity and differentiation of *Michelia maudiae* (Magnoliaceae) revealed by nuclear and chloroplast microsatellite markers. *Genetica* 139: 1439-1447. DOI: 10.1007/s10709-012-9642-0.
16. Triệu Văn Hùng, 2007. Lâm sản ngoài gỗ Việt Nam. Dự án hỗ trợ chuyên ngành lâm sản ngoài gỗ tại Việt Nam- Pha. II.
17. Vendramin G.G., Lelli L., Rossi P., Morgante M., 1996. A set of primers for the amplification of 20 chloroplast microsatellites in Pinaceae. *Mol. Ecol.* 5: 595-598.
18. Zhang X., Shen S., Wu F., Wang Y., 2017. Inferring genetic variation and demographic history of *Michelia yunnanensis* Franch. (Magnoliaceae) from chloroplast DNA sequences and microsatellite markers. *Frontiers in Plant Science* 8: 583. doi: 10.3389/fpls.2017.00583.
19. Zhang X., Ye W.H., Cao H.L., Wang Z.F., Shen H., Lian J.Y., 2009. Isolation and characterization of microsatellites in Chinese white olive (*Canarium album*) and cross-species amplification in *Canarium pimela*. *Conserv Genet.* DOI 10.1007/s10592-009-9827-y.
20. Zhao X.F., Ma Y.P., Sun W.B., Wen X.Y., Milne R., 2012. High genetic diversity and low differentiation of *Michelia coriacea* (Magnoliaceae), a critically endangered endemic in Southeast Yunnan, China. *Int. J. Mol. Sci.* 13: 4396-4411. DOI: 10.3390/ijms13044396.
21. Zhao X.F., Sun W.B., Yang J.B., Meng J., 2009. Isolation and characterization of 12 microsatellite loci for *Michelia coriacea* (Magnoliaceae), a critically endangered endemic to Southeast Yunnan, China. *Conserv. Genet.* 10:1583-1585. DOI 10.1007/s10592-008-9799-3.

Email tác giả liên hệ: tranthilieu@gmail.com

Ngày nhận bài: 23/07/2020

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 07/08/2020

Ngày duyệt đăng: 21/08/2020