

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

NGUYỄN THỊ ÁI MINH

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG
NHÂN TỔ SINH THÁI ĐẾN HÌNH THÁI
VÀ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA QUẦN THỂ
THẠCH TÙNG RẰNG [*HUPERZIA SERRATA*
(THUNB.) TREVIS.] Ở VIỆT NAM

Chuyên ngành: Sinh thái học
Mã số: 9.42.01.20

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH THÁI HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC
1. PGS. TS. TRẦN VĂN TIẾN
2. TS. NÔNG VĂN DUY

Đà Lạt - 2022

Công trình được hoàn thành tại: Trường Đại học Đà Lạt

Người hướng dẫn khoa học 1: PGS. TS. Trần Văn Tiến

Người hướng dẫn khoa học 2: TS. Nông Văn Duy

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án Tiến sĩ họp tại Trường Đại học Đà Lạt vào hồi giờ ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Trung tâm Thông tin – Thư viện Đại học Đà Lạt
- Website <http://www.dlu.edu.vn>

MỞ ĐẦU

1. Lý do chọn đề tài

Thạch tùng răng (*Huperzia serrata* (Thunb.) Trevis) thuộc họ Thông đất (Lycopodiaceae) là loài có giá trị dược liệu cao. Hiện nay, loài đang bị khai thác triệt để nhằm phục vụ cho nhu cầu của con người. Do đó, loài này được xếp vào nhóm các loài thực vật rừng chưa bị đe dọa tuyệt chủng nhưng có nguy cơ bị đe dọa nếu không được quản lý chặt chẽ, hạn chế khai thác, sử dụng vì mục đích thương mại (Nghị định số 06/2019/NĐ-CP về Quản lý thực vật rừng, động vật rừng nguy cấp, quý, hiếm và thực thi Công ước về buôn bán quốc tế các loài động vật, thực vật hoang dã nguy cấp).

Sự tồn tại và phát triển của Thạch tùng răng ở Việt Nam (VN) trong tương lai phụ thuộc vào nhiều yếu tố, trong đó có tiềm năng thích nghi dựa trên nền tảng di truyền. Tính biến dị không những chỉ có ở bên trong các quần thể mà còn ở giữa các quần thể có vùng phân bố khác nhau của cùng một loài. Trong xu thế biến đổi khí hậu (BĐKH) ngày nay, các quần thể phân bố ở những vị trí khác nhau trong dải phân bố của loài sẽ có phản ứng khác nhau để thích ứng với BĐKH. Các phản ứng này được thể hiện qua đặc điểm hình thái bên ngoài cũng như cấu trúc bên trong. Do đó, nghiên cứu mối tương quan ảnh hưởng của các nhân tố khí hậu tại vùng phân bố các quần thể của loài đến sinh trưởng, sự thay đổi về hình thái bên ngoài cũng như cấu trúc bên trong và đa dạng di truyền của loài là cần thiết, làm cơ sở khoa học cho việc định hướng công tác bảo tồn và phát triển loài trong thời gian tới.

Do đó việc thực đề tài nghiên cứu: **“Nghiên cứu ảnh hưởng nhân tố sinh thái đến hình thái và đa dạng di truyền của quần thể Thạch tùng răng [*Huperzia serrata* (Thunb.) Trevis.] ở Việt Nam”** là cần thiết.

2. Mục tiêu nghiên cứu

- Cung cấp dữ liệu về sự biến đổi một số đặc điểm hình thái bên ngoài cũng như đặc điểm hình thái bên trong và đặc điểm di truyền trong mối tương quan với sự thay đổi của các nhân tố khí hậu;

- Dự đoán chiều hướng biến đổi cũng như vùng sinh thái có khả năng thích nghi của loài trong bối cảnh BĐKH;

- Từ đó đề xuất định hướng quy hoạch và bảo tồn vốn gen của loài.

3. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu

3.1. Đối tượng nghiên cứu

Loài Thạch tùng răng (*Huperzia serrata* (Thunb.) Trevis) phân bố tại VN.

3.2. Phạm vi nghiên cứu

4 quần thể phân bố tại VN, bao gồm: Hoàng Liên (Lào Cai), Bạch Mã (Thừa Thiên Huế), Ngọc Linh (Quảng Nam) và Bidoup (Lâm Đồng).

3.3. Giới hạn nghiên cứu

- Các đặc điểm nghiên cứu: tăng trưởng chiều cao thân và hình thái (lá, tế bào khí khổng và khe lỗ khí, tế bào biểu bì lá xung quanh khí khổng, quản bào, túi bào tử và bào tử); và đa dạng di truyền quần thể;

- 4 nhân tố khí hậu ảnh hưởng đến hình thái và đa dạng di truyền quần thể Thạch tùng răng, bao gồm: nhiệt độ không khí trung bình năm (MAT, °C); tổng lượng mưa hàng năm (MAP, mm); tổng số giờ nắng hàng năm (SuH, giờ); độ ẩm không khí tương đối trung bình năm (Hu, %).

- Khu vực nghiên cứu đặc điểm hình thái: Vườn Quốc gia Hoàng Liên (tỉnh Lào Cai), Khu bảo tồn thiên nhiên Ngọc Linh (tỉnh Quảng Nam) và Vườn Quốc gia Bidoup – Núi Bà (tỉnh Lâm Đồng).

- Khu vực nghiên cứu đa dạng di truyền: Vườn Quốc gia Hoàng Liên (tỉnh Lào Cai), Vườn Quốc gia Bạch Mã (tỉnh Thừa Thiên Huế), Khu bảo tồn thiên nhiên Ngọc Linh (tỉnh Quảng Nam) và Vườn Quốc gia Bidoup – Núi Bà (tỉnh Lâm Đồng).

4. Ý nghĩa của đề tài

- Ý nghĩa khoa học: Góp phần làm sáng tỏ ảnh hưởng của một số nhân tố khí hậu đến những thay đổi về đặc điểm hình thái cũng như xác định nhân tố khí hậu có ảnh hưởng đến đa dạng di truyền quần thể Thạch tùng răng ở VN.

- Ý nghĩa thực tiễn: Kết quả nghiên cứu là cơ sở khoa học đề xuất những biện pháp bảo tồn đối với loài cây quý hiếm này ở VN.

5. Những điểm mới của luận án

Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra ảnh hưởng của một số nhân tố khí hậu đến những thay đổi về đặc điểm hình thái bên ngoài cũng như đặc điểm hình thái bên trong, và đa dạng di truyền quần thể ở VN. Từ đó chỉ ra được xu hướng thay đổi để thích nghi của quần thể trong điều kiện biến đổi khí hậu.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU

Luận án đề cập và phân tích ảnh hưởng của các nhân tố sinh thái đến hình thái và đa dạng di truyền quần thể Thạch tùng răng ở VN.

Các kết quả nghiên cứu trong nước và ngoài nước về ảnh hưởng của các nhân tố sinh thái đến hình thái và đa dạng di truyền quần thể ở thực vật chỉ ra rằng: hiện nay, trong điều kiện BĐKH toàn cầu, để duy trì được vùng phân bố hiện có, các quần thể thực vật cần tiến hóa thích nghi hoặc chống chịu nhờ mềm dẻo kiểu hình để phù hợp với điều kiện môi trường. Trong đó, tính mềm dẻo về kiểu hình (đặc biệt là tính mềm dẻo của các tính trạng có liên quan đến tính thích nghi) có vai trò quan trọng trong phản ứng tức thời với BĐKH cũng như quyết định sự tồn tại của các quần thể trong tương lai thông qua việc duy trì biến dị di truyền.

Tính mềm dẻo về kiểu hình là biểu hiện của những phản ứng của thực vật trước những thay đổi của môi trường. Trong số các nhân tố

của môi trường, khí hậu là một kiểu tác nhân chọn lọc chính trên phạm vi không gian rộng lớn ở thực vật và sai dị về hình thái cũng có thể được thúc đẩy nhờ chọn lọc tự nhiên thông qua biến động của các nhân tố khí hậu. Do đó, các đặc điểm hình thái thường được đánh giá trong mối tương quan với các nhân tố khí hậu như nhiệt độ không khí, số giờ chiếu sáng, lượng mưa và độ ẩm không khí. Theo hướng nghiên cứu này, các đặc điểm hình thái thường được sử dụng để phân tích là đặc điểm hình thái lá (hình thái ngoài và hình thái giải phẫu), đặc điểm yếu tố dẫn truyền, đặc điểm cấu trúc sinh sản như bào tử/ hạt phấn, ...

Ngoài ra, các nhân tố khí hậu còn tác động đến đa dạng di truyền quần thể các loài. Kết quả việc phân tích mối tương quan giữa các nhân tố khí hậu giúp xác định nhân tố có vai trò thúc đẩy đa dạng di truyền và nhân tố khống chế đa dạng di truyền cũng như chỉ ra hướng di cư và vùng sinh thái có khả năng thích nghi của loài trong điều kiện BĐKH.

Các nghiên cứu về đa dạng di truyền quần thể Thạch tùng răng bằng các kỹ thuật chỉ thị được sử dụng phổ biến là AFLP ở Trung Quốc. Ở VN sử dụng chỉ thị RAPD, nhưng cỡ mẫu rất nhỏ (8 mẫu) và chỉ tiến hành đánh giá đa dạng di truyền của 2 quần thể (1 quần thể xa nhất về phía Bắc và 1 quần thể xa nhất về phía Nam trong dải phân bố của loài), đa dạng di truyền chỉ được đánh giá dựa trên chỉ số tỉ lệ band đa hình *PPB*. Tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào sử dụng kỹ thuật ISSR hoặc SCoT hoặc sử dụng kết hợp từ 2 kỹ thuật trở lên, đặc biệt là phân tích mối tương quan giữa đa dạng di truyền với các nhân tố khí hậu.

Hiện nay ở VN chưa có nghiên cứu nào liên quan đến sự thay đổi các đặc điểm về cơ quan sinh dưỡng, cơ quan sinh sản và đa dạng di truyền theo vị trí phân bố dọc lát cắt vĩ tuyến cũng như chưa có nghiên cứu nào phân tích sự biến động này trong mối tương quan với các điều kiện khí hậu tại khu phân bố.

Từ đó cho thấy, nghiên cứu ảnh hưởng của các nhân tố khí hậu đến đặc điểm hình thái ngoài cũng như hình thái giải phẫu, đa dạng di truyền của loài Thạch tùng răng ở VN chưa được thực hiện.

Chương 2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

1. Đặc điểm hình thái ngoài của Thạch tùng răng và ảnh hưởng của các nhân tố khí hậu;
2. Đặc điểm hình thái giải phẫu của Thạch tùng răng và ảnh hưởng của các nhân tố khí hậu;
3. Đa dạng di truyền quần thể Thạch tùng răng phân bố tại VN.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu thập, kế thừa và tổng hợp tư liệu

2.2.2. Điều tra, thu thập mẫu

Khu vực nghiên cứu đặc điểm hình thái: Hoàng Liên Sơn (Lào Cai), Ngọc Linh (Quảng Nam), Bidoup (Lâm Đồng).

Khu vực nghiên cứu đa dạng di truyền: Hoàng Liên Sơn (Lào Cai), Bạch Mã (Thừa Thiên Huế), Ngọc Linh (Quảng Nam), Bidoup (Lâm Đồng).

Thu thập mẫu phân tích về hình thái: Thu 30 mẫu tại các điểm phân bố ngẫu nhiên trong nội bộ mỗi quần thể.

Thu thập mẫu phân tích về di truyền: Thu mẫu lá của 20 cá thể trên mỗi quần thể.

2.2.3. Đánh giá hình thái ngoài và tăng trưởng chiều cao thân

Tất cả các phép đo dùng trong phân tích hình thái được tiến hành trên 30 cá thể trên một quần thể.

Tăng trưởng chiều cao hàng năm của thân: Tăng trưởng hàng năm (G, mm) được xác định theo Wang et al. (2011).

Kích thước lá: Với mỗi đoạn thân sinh trưởng theo năm của mỗi cá thể, thu 5 lá; thu nhận hình ảnh lá được thực hiện theo Igathinathane et al. (2008). Các số đo thu thập gồm diện tích, chiều dài, chiều rộng và chỉ số độ dày lá.

Kích thước túi bào tử: Với mỗi đoạn thân sinh trưởng theo năm của mỗi cá thể, thu 5 túi bào tử chín và chụp hình bằng kính hiển vi kỹ thuật số; các số đo thu thập gồm diện tích, chiều dài, chiều rộng túi bào tử thực hiện theo Bonacorsi & Leslie (2019).

Kích thước bào tử: Mỗi quần thể, chọn ngẫu nhiên 10 cá thể mang túi bào tử; mỗi cá thể, thu 1 túi bào tử chín và chụp hình các bào tử trong túi đó bằng kính hiển vi kỹ thuật số. Hình chụp được lưu kèm thước đo, đo kích thước trực qua xích đạo và trực qua cực (Gómez-Nougue et al., 2016).

2.2.4. Đánh giá hình thái giải phẫu

Giải phẫu gỗ: Giải phẫu các đoạn thân sinh trưởng theo năm của mỗi cá thể trong quần thể theo Wilder (1970), trong đó chloral-lactophenol được thay bằng NaOH 5%. Các số đo thu thập gồm đường kính và góc xiên đầu mút quản bào.

Giải phẫu lá: Giải phẫu 3 lá trên mỗi đoạn thân sinh trưởng theo năm được tiến hành theo Esau (1965). Với mỗi lá, chụp 2 ảnh với vật kính 4X để tính toán mật độ khí khổng và chụp ảnh 10 khí khổng với vật kính 10X để đo chiều dài, chiều rộng, diện tích của khí khổng và khe lỗ khí; diện tích khe lỗ khí trên mỗi đơn vị diện tích lá thực hiện theo Savvides et al. (2011); mức độ xẻ thùy của tế bào biểu bì thực hiện theo Sapala et al. (2018).

2.2.4. Phương pháp thu thập dữ liệu về khí tượng

Dữ liệu về khí tượng [nhiệt độ không khí TB theo tháng (T, °C) và hàng năm (MAT, °C), tổng lượng mưa TB theo tháng (M, mm) và hàng năm (MAP, mm), tổng số giờ nắng theo tháng (SuH theo tháng, giờ) và

hàng năm (SuH, giờ), độ ẩm không khí tương đối TB theo tháng (Hu theo tháng, %) và hàng năm (Hu, %) được thu thập tại các trạm khí tượng gần khu phân bố của quần thể nhất. Dữ liệu trong các năm từ 2013 – 2016 được sử dụng để phân tích ảnh hưởng của điều kiện khí hậu trong những năm đó đến hình thái và đa dạng di truyền quần thể.

2.2.5. Tách chiết DNA và kiểm tra chất lượng, hàm lượng DNA trong các mẫu

Tách chiết DNA: thực hiện theo quy trình CTAB I theo Doyle & Doyle (1987), bổ sung SDS 10% vào thành phần đệm chiết (Lê Ngọc Triệu, 2017). Kiểm tra chất lượng và nồng độ DNA theo phương pháp của Weising et al. (2005).

2.2.6. Phân tích đa dạng và biến động di truyền trong quần thể dựa trên đặc trưng nhận dạng DNA nảy sinh bằng kỹ thuật ISSR và ScoT

Sử dụng kỹ thuật ISSR và ScoT để hình thành các đặc trưng nhận dạng DNA

Khuếch đại DNA: Thực hiện phản ứng PCR với chương trình nhiệt theo Mullis et al. (1986).

Chọn lọc chỉ thị ISSR và ScoT, với tiêu chí là ghi nhận được sản phẩm khuếch đại bằng PCR và có ít nhất 1 band đa hình.

Ghi nhận các đặc trưng nhận dạng DNA bằng các chỉ thị ISSR và ScoT: Việc khuếch đại được thực hiện riêng cho từng chỉ thị, sản phẩm được phân tách bằng điện di trên gel agarose 2% và chụp ảnh bằng hệ thống Gel documentation system (Bio-rad).

Phân tích đa dạng và biến động di truyền dựa trên các đặc trưng nhận dạng DNA thu nhận được

Phần mềm Microsoft Office Excel 2007 được sử dụng để tính toán chỉ số tỉ lệ band đa hình (PPB) (Nei, 1978). Các chỉ số của đa dạng di truyền được tính toán dựa trên ứng dụng POPGENE 1.32 (Yeh et al., 1997). Các chỉ số gồm: tỉ lệ phần trăm band đa hình (PPB), mức độ di

hợp trong đời TB/ chỉ số đa dạng gene theo Nei (H_e), chỉ số Shannon (I) và chỉ số về dòng gene hay số lượng cá thể di cư TB (N_m), chỉ số biệt hóa di truyền giữa các tập hợp mẫu theo Nei (G_{ST}), khoảng cách di truyền giữa các tập hợp mẫu (D). Phần mềm NTSYSpc 2.1 (Rohlf, 2004) được sử dụng để khảo sát hệ số tương đồng di truyền giữa các cặp mẫu khảo sát; xây dựng sơ đồ dạng cây về quan hệ di truyền giữa các mẫu, sử dụng phương pháp lập nhóm UPGMA.

Phân tích tác động của các nhân tố khí hậu đến đặc điểm hình thái, tăng trưởng chiều cao hàng năm và đa dạng di truyền quần thể Thạch tùng răng ở VN

Các dữ liệu xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2007; phương pháp phân tích tương quan và hồi quy được thực hiện bằng phần mềm STATGRAPHICS Centurion XV Version 15.1.02; phương pháp phân tích mức độ tương quan RDA được thực hiện bằng phần mềm XLSTAT.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm Thạch tùng răng được thu thập phục vụ cho phân tích đặc điểm hình thái và sinh sản

Các mẫu thu thập cho phép xác định sự tăng trưởng hàng năm trong 4 năm (2013 – 2016).

3.2. Đặc điểm hình thái của Thạch tùng răng

3.1.1. Đặc điểm hình thái ngoài

a. Đặc điểm kích thước lá

Bảng 3.2. Kích thước lá Thạch tùng răng

Năm	$d_{lá}$ (mm)			$r_{lá}$ (mm)			$S_{lá}$ (mm ²)			SLA (mm ² /mg)		
	HL	NL	BD	HL	NL	BD	HL	NL	BD	HL	NL	BD
2013	11,09 ±2,75	13,49 ±3,91	11,97 ±3,61	2,70 ±0,96	3,73 ±0,82	2,51 ±1,24	22,27 ±11,30	33,28 ±16,28	21,05 ±14,46	2,18 ±2,18	3,28 ±3,28	2,81 ±2,81
2014	11,67 ±3,88	14,35 ±4,74	12,70 ±5,16	2,96 ±1,06	3,86 ±0,73	2,74 ±1,37	26,48 ±16,65	31,86 ±14,93	23,46 ±17,78	2,96 ±2,96	3,04 ±3,04	3,1 ±3,1
2015	10,67 ±3,54	14,36 ±4,78	12,12 ±4,36	2,92 ±1,20	3,70 ±0,92	2,61 ±1,24	20,92 ±13,01	30,10 ±14,65	22,08 ±16,19	2,71 ±2,71	3,44 ±3,44	3,11 ±3,11
2016	10,36 ±3,89	16,43 ±5,22	10,18 ±3,26	2,60 ±1,14	3,97 ±1,01	2,19 ±0,99	20,55 ±14,19	40,43 ±19,66	13,45 ±8,12	3,2 ±3,2	3,46 ±3,46	3,16 ±3,16

TB	10,77 ^a ±3,6	14,86 ^b ±4,9	11,57 ^a ±4,2	2,80 ^a ±1,1	3,83 ^b ±0,9	2,48 ^a ±1,2	21,50 ^a ±13,3	33,99 ^b ±17,1	19,39 ^a ±14,8	2,89 ^a ±0,8	3,35 ^b ±0,8	3,1 ^{ab} ±0,6
----	----------------------------	----------------------------	----------------------------	---------------------------	---------------------------	---------------------------	-----------------------------	-----------------------------	-----------------------------	---------------------------	---------------------------	---------------------------

Ghi chú: $d_{lá}$ (F-ratio = 14,92; P<0,01; $r_{lá}$ (F-ratio = 56,02; P<0,01); $S_{lá}$ (F-ratio = 13,70; P<0,01); SLA (F-ratio = 3,47; P<0,1). Các kí tự a, b khác nhau trên cùng một hàng biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$ theo kiểm định LSD Multiple Range Test.

**Bảng 3.3. Mối quan hệ giữa các đặc điểm kích thước lá
Thạch tùng răng với điều kiện khí hậu trong 4 năm nghiên cứu**

	$d_{lá}$	$r_{lá}$	$S_{lá}$	SLA
MAT	0,8659**	0,8472**	0,7702**	0,6799*
MAP	0,8384**	0,9009**	0,9038**	-
SuH	-	-	-	-
Hu	-	0,5068 ⁺	-	-
MAT mùa hè	0,8548**	0,9406**	0,8512**	0,6153*
MAT mùa đông	0,8197**	0,7129**	0,6506*	0,6884*
MAP mùa hè	-	-	-	-
MAP mùa đông	0,8741**	0,9231**	0,8733**	-
Hu mùa hè	-	-	-	-
Hu mùa đông	-	0,6979*	0,6197*	-
SuH mùa hè	0,778**	0,8043**	0,6756*	0,6298*
SuH mùa đông	-	-0,5998*	-0,5667 ⁺	-

**P-value < 0,01; *P-value < 0,05; P-value < 0,1; kí hiệu “-” biểu thị sự không tương quan.

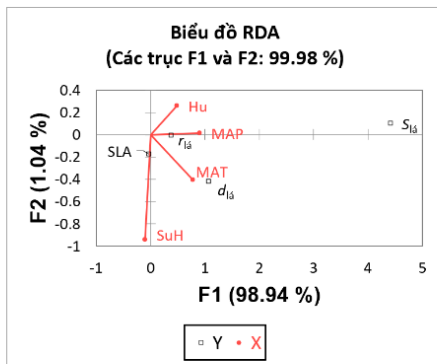
Kết quả xây dựng mô hình hồi quy tuyến tính 1 biến số dự đoán sự thay đổi của các đặc điểm hình thái lá theo những nhân tố khí hậu được trình bày ở bảng dưới đây:

Mô hình hồi quy	R ²	P
$d_{lá} = 4,56566 + 0,398723*MAT$	0,75	0,0003
$d_{lá} = 3,35594 + 0,414265*MAT$ mùa hè	0,73	0,0004
$d_{lá} = 6,53448 + 0,336846*MAT$ mùa đông	0,67	0,0011
$d_{lá} = 8,05667 + 0,00150389*MAP$	0,70	0,0007
$d_{lá} = 10,646 + 0,00140489*MAP$ mùa đông	0,76	0,0002
$d_{lá} = 5,08342 + 0,00765164*S_uH$ mùa hè	0,61	0,0029
$r_{lá} = 0,579873 + 0,124484*MAT$	0,72	0,0005
$r_{lá} = -0,15088 + 0,145426*MAT$ mùa hè	0,88	0,0000
$r_{lá} = 1,39966 + 0,093485*MAT$ mùa đông	0,51	0,0093
$r_{lá} = 1,53496 + 0,000515686*MAP$	0,81	0,0001
$r_{lá} = 2,43353 + 0,000473412*MAP$ mùa đông	0,85	0,0000
$r_{lá} = 0,611511 + 0,00252395*S_uH$ mùa hè	0,65	0,0016
$r_{lá} = 4,15397 - 0,00124374*S_uH$ mùa đông	0,36	0,0393
$r_{lá} = -7,7504 + 0,126197*Hu$	0,26	0,0926
$r_{lá} = -4,93924 + 0,0934148*Hu$ mùa đông	0,49	0,0116

Mô hình hồi quy	R ²	P
$S_{lá} = -1,37331 + 1,35881 * MAT$	0,59	0,0034
$S_{lá} = -9,18946 + 1,5801 * MAT$ mùa hè	0,72	0,0004
$S_{lá} = 7,50717 + 1,02431 * MAT$ mùa đông	0,42	0,0220
$S_{lá} = 7,34959 + 0,0062118 * MAP$	0,82	0,0001
$S_{lá} = 18,5907 + 0,0053776 * MAP$ mùa đông	0,76	0,0002
$S_{lá} = 0,985689 + 0,0254585 * SuH$ mùa hè	0,46	0,0159
$S_{lá} = 38,1178 - 0,0141103 * SuH$ mùa đông	0,32	0,0547
$S_{lá} = -59,5888 + 0,995926 * Hu$ mùa đông	0,38	0,0316
$SLA = 1,89177 + 0,057978 * MAT$	0,46	0,0150
$SLA = 1,82621 + 0,0552133 * MAT$ mùa hè	0,38	0,0332
$SLA = 2,11812 + 0,0523937 * MAT$ mùa đông	0,47	0,0133
$SLA = 1,93394 + 0,00688216 * SuH$ mùa hè	0,40	0,0282

Kết quả xây dựng mô hình hồi quy tuyến tính nhiều biến số dự đoán sự thay đổi của các đặc điểm hình thái lá theo những nhân tố khí hậu được trình bày ở bảng dưới đây:

Mô hình hồi quy	R ²
$d_{lá} = -24,0824 - 32,1758 * MAT + 16,8589 * MAT$ mùa hè + $16,7639 * MAT$ mùa đông - $0,00900549 * MAP$ mùa đông + $0,00679907 * MAP$	0,94
$r_{lá} = 3,55289 - 5,24127 * MAT + 2,91449 * MAT$ mùa hè + $2,52898 * MAT$ mùa đông + $0,000206589 * MAP$ - $0,00119282 * SuH$ mùa hè - $0,0552024 * Hu$ mùa đông	0,99



Hình 3.8. Biểu đồ RDA thể hiện mối quan hệ giữa các đặc điểm kích thước lá Thạch tùng răng với các nhân tố khí hậu

thấy 83,76% sự biến thiên của các đặc điểm này là do sự tác động của tổ

Phân tích RDA để xác định mức độ đóng góp của các nhân tố khí hậu vào sự biến động của các đặc điểm kích thước lá, kết quả được trình bày ở hình 3.8.

Kết quả phân tích tính biến thiên của các đặc điểm kích thước lá cho

hợp của các nhân tố khí hậu và 16,24% là do sự tác động của các nhân tố khác. Hệ số tương quan chỉ ra rằng tổ hợp các đặc điểm kích thước lá tương quan thuận với 2 nhân tố MAT và MAP, trong đó MAP ($r = 0,82$) có ảnh hưởng mạnh hơn MAT ($r = 0,48$); và tương quan nghịch với 2 nhân tố SuH và Hu, nhưng 2 nhân tố này thể hiện mức độ ảnh hưởng không đáng kể, với hệ số tương quan có giá trị lần lượt là -0,18 và -0,14.

b. Đặc điểm kích thước túi bào tử của Thạch tùng rừng

Bảng 3.4. Kích thước túi bào tử Thạch tùng rừng

Năm	$d_{\text{túi bào tử}} \text{ (mm)}$			$r_{\text{túi bào tử}} \text{ (mm)}$			$S_{\text{túi bào tử}} \text{ (mm}^2\text{)}$		
	HL	NL	BD	HL	NL	BD	HL	NL	BD
2013	1,52 $\pm 0,16$	1,25 $\pm 0,22$	1,52 $\pm 0,35$	0,89 $\pm 0,13$	0,78 $\pm 0,19$	0,83 $\pm 0,18$	1,28 $\pm 0,3$	1,01 $\pm 0,4$	1,14 $\pm 0,49$
2014	1,52 $\pm 0,25$	1,08 $\pm 0,16$	1,44 $\pm 0,31$	0,87 $\pm 0,15$	0,74 $\pm 0,23$	0,82 $\pm 0,2$	1,45 $\pm 0,44$	0,91 $\pm 0,44$	1,02 $\pm 0,39$
2015	1,46 $\pm 0,23$	1,28 $\pm 0,29$	1,5 $\pm 0,31$	0,86 $\pm 0,15$	0,8 $\pm 0,18$	0,81 $\pm 0,18$	1,27 $\pm 0,37$	0,94 $\pm 0,46$	1,2 $\pm 0,46$
2016	1,44 $\pm 0,29$	1,45 $\pm 0,26$	1,39 $\pm 0,33$	0,82 $\pm 0,14$	0,83 $\pm 0,15$	0,78 $\pm 0,19$	1,22 $\pm 0,43$	1,11 $\pm 0,45$	0,99 $\pm 0,46$
TB	1,47 ^b $\pm 0,26$	1,3 ^a $\pm 0,29$	1,45 ^b $\pm 0,3$	0,85 ^b $\pm 0,2$	0,8 ^a $\pm 0,19$	0,8 ^a $\pm 0,19$	1,29 ^b $\pm 0,4$	1 ^a $\pm 0,5$	1,08 ^a $\pm 0,4$

Ghi chú: $d_{\text{túi bào tử}}$ (F-ratio = 5,96; $P < 0,05$; $r_{\text{túi bào tử}}$ (F-ratio = 5,84; $P < 0,05$); $S_{\text{túi bào tử}}$ (F-ratio = 10,82; $P < 0,01$). Các kí tự a, b khác nhau trên cùng một hàng biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$ theo kiểm định LSD Multiple Range Test.

Kết quả phân tích tương quan giữa đặc điểm kích thước túi bào tử với các nhân tố khí hậu được trình bày ở bảng 3.5.

Bảng 3.5. Mối quan hệ giữa các đặc điểm kích thước túi bào tử Thạch tùng rừng với điều kiện khí hậu trong 4 năm nghiên cứu

	$d_{\text{túi bào tử}}$	$r_{\text{túi bào tử}}$	$S_{\text{túi bào tử}}$
MAT	-0.742**	-0.685*	-0.7535**
MAP	-	-	-
SuH	-	-0.6033*	-0.6386*
Hu	-	-	-
MAT mùa hè	-0.7555**	-0.5726 ⁺	-0.6082*
MAT mùa đông	-0.6818*	-0.7344**	-0.8276**
MAP mùa hè	0.7644**	0.8678**	0.8013**
MAP mùa đông	-0.6069*	-	-
Hu mùa hè	-	-	-
Hu mùa đông	-	-	-

	$d_{\text{túi bào tử}}$	$r_{\text{túi bào tử}}$	$S_{\text{túi bào tử}}$
SuH mùa hè	-0.7218**	-0.6167*	-0.682*
SuH mùa đông	-	-	-

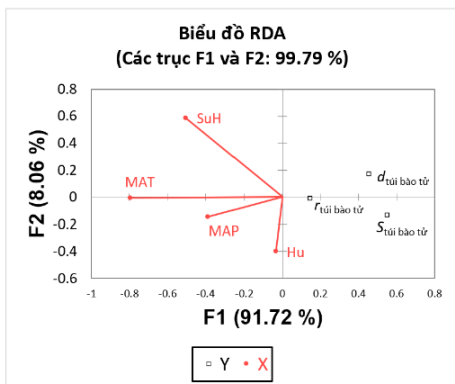
**P-value < 0,01; *P-value < 0,05; +P-value < 0,1. kí hiệu “-” biểu thị sự không tương quan.

Kết quả xây dựng mô hình hồi quy tuyến tính 1 biến số dự đoán sự thay đổi của các đặc điểm hình thái túi bào tử Thạch tùng răng theo những nhân tố khí hậu được trình bày ở bảng dưới đây:

Mô hình hồi quy	R ²	P
$d_{\text{túi bào tử}} = 1,88237 - 0,0242289*\text{MAT}$	0,55	0,0057
$d_{\text{túi bào tử}} = 1,97307 - 0,0259577*\text{MAT}$ mùa hè	0,57	0,0045
$d_{\text{túi bào tử}} = 1,75222 - 0,0198702*\text{MAT}$ mùa đông	0,46	0,0146
$d_{\text{túi bào tử}} = 0,919717 + 0,000295365*\text{MAP}$ mùa hè	0,58	0,0038
$d_{\text{túi bào tử}} = 1,49209 - 0,000069168*\text{MAP}$ mùa đông	0,37	0,0364
$d_{\text{túi bào tử}} = 1,8879 - 0,000503388*\text{SuH}$ mùa hè	0,52	0,080
$r_{\text{túi bào tử}} = 0,955441 - 0,00686448*\text{MAT}$	0,47	0,0140
$r_{\text{túi bào tử}} = 0,952255 - 0,00603835*\text{MAT}$ mùa hè	0,33	0,0517
$r_{\text{túi bào tử}} = 0,935055 - 0,00656853*\text{MAT}$ mùa đông	0,54	0,0065
$r_{\text{túi bào tử}} = 0,651216 + 0,000102915*\text{MAP}$ mùa hè	0,75	0,0003
$r_{\text{túi bào tử}} = 0,975198 - 0,0000837142*\text{SuH}$	0,36	0,0378
$r_{\text{túi bào tử}} = 0,946774 - 0,000131989*\text{SuH}$ mùa hè	0,38	0,0327
$S_{\text{túi bào tử}} = 1,70877 - 0,0293206*\text{MAT}$	0,57	0,0047
$S_{\text{túi bào tử}} = 1,67565 - 0,0249033*\text{MAT}$ mùa hè	0,37	0,0359
$S_{\text{túi bào tử}} = 1,63367 - 0,0287385*\text{MAT}$ mùa đông	0,68	0,0009
$S_{\text{túi bào tử}} = 0,524848 + 0,00036902*\text{MAP}$ mùa hè	0,64	0,0017
$S_{\text{túi bào tử}} = 1,76807 - 0,000344065*\text{SuH}$	0,41	0,0254
$S_{\text{túi bào tử}} = 1,67464 - 0,000566769*\text{SuH}$ mùa hè	0,47	0,0146

Kết quả xây dựng mô hình hồi quy tuyến tính nhiều biến số dự đoán sự thay đổi của các đặc điểm hình thái túi bào tử theo những nhân tố khí hậu được trình bày ở bảng dưới đây:

Mô hình hồi quy	R ²
$d_{\text{túi bào tử}} = 1.11465 - 0.0711293*\text{MAT} + 0.063245*\text{MAT}$ mùa đông + $0.000357019*\text{MAP}$ mùa hè	0,84
$r_{\text{túi bào tử}} = 0.583767 - 0.727296*\text{MAT} + 0.36409*\text{MAT}$ mùa hè + $0.365048*\text{MAT}$ mùa đông + $0.00013094*\text{MAP}$ mùa hè	0,93
$S_{\text{túi bào tử}} = 1.47953 - 0.0823867*\text{MAT} + 0.0582432*\text{MAT}$ mùa hè	0,73



Hình 3.13. Biểu đồ RDA thể hiện mối quan hệ giữa các đặc điểm kích thước túi bào tử ở Thạch tùng răng với các nhân tố khí hậu

điểm kích thước túi bào tử cho thấy 82,04% sự biến thiên của các đặc điểm này là do tác động của tổ hợp của các nhân tố khí hậu và 17,96% là do tác động của các nhân tố khác. Hệ số tương quan chỉ ra rằng tổ hợp các đặc điểm kích thước túi bào tử ở tương quan nghịch với MAT ($r = -2,75$) và tương quan thuận với 3 nhân tố khí hậu còn lại, trong đó MAP ($r = 1,54$) ảnh hưởng đến tổ hợp các đặc điểm kích thước túi bào tử mạnh hơn SuH và Hu (với r có giá trị lần lượt là 0,611 và 0,325).

c. Đặc điểm kích thước bào tử

Dữ liệu về đặc điểm kích thước bào tử từ bảng 3.6 chỉ ra rằng bào tử ở cả 3 quần thể có kích thước tương đương, suy ra ảnh hưởng của các nhân tố khí hậu đến kích thước bào tử không biểu hiện rõ.

Bảng 3.6. Kích thước bào tử của Thạch tùng răng

Năm	Trục qua xích đạo (μm)			Trục qua cực (μm)		
	HL	NL	Bidoup	HL	NL	Bidoup
2016	34,14 $\pm 3,04$	35,16 $\pm 3,26$	33,55 $\pm 2,13$	21,91 $\pm 2,31$	21,43 $\pm 1,81$	22,18 $\pm 1,88$

Phân tích RDA để xác định mức độ đóng góp của các nhân tố khí hậu vào sự biến động của các đặc điểm kích thước túi bào tử ở Thạch tùng răng; kết quả được trình bày ở hình 3.13.

Kết quả phân tích tính biến thiên của các đặc

3.2.2. Đặc điểm hình thái giải phẫu

a. Đặc điểm khí khổng

Bảng 3.7 Đặc điểm khí khổng Thạch tùng răng

Năm	MK (Số/mm ²)			d _{khí khổng} (μm)			r _{khí khổng} (μm)			S _{khí khổng} (μm ²)		
	HL	NL	BD	HL	NL	BD	HL	NL	BD	HL	NL	BD
2013	15,53 ±3,5	15,69 ±2,8	12,9 ±2,1	71,15 ±7,1	72,13 ±7,9	69,13 ±8,3	62,57 ±5,8	62,87 ±7,1	60,02 ±8,5	13980 ±2361	14680 ±2960	13243 ±3269
2014	17,51 ±4,8	13,04 ±0,8	15,26 ±2,2	69,69 ±6,9	73,19 ±6,5	70,34 ±8,9	61,29 ±6,3	66,79 ±5,6	60,83 ±7,9	13766 ±2341	15485 ±2284	13510 ±3167
2015	13,02 ±1,9	15,26 ±2,3	17,31 ±2,5	71,71 ±8,1	74,17 ±7,1	71,11 ±9,1	62,97 ±7,2	65,38 ±6,9	60,27 ±7,8	13959 ±2949	15393 ±2503	14285 ±3045
2016	14,31 ±3,2	14,82 ±2,2	14,68 ±4,3	71,05 ±9,0	72,35 ±7,8	70,01 ±9,4	61,72 ±6,4	63,48 ±6,9	61,08 ±8,3	13930 ±2830	14602 ±2268	13404 ±3475
TB	14,6 ^a ±3,5	14,68 ^a ±2,3	15,53 ^a ±3,4	71 ^a ±8,1	73,13 ^b ±7,4	70,37 ^a ±9,1	62,14 ^a ±6,6	64,77 ^b ±6,8	60,65 ^a ±8,1	13910 ^a ±2733	15066 ^b ±2456	13712 ^a ±327

Ghi chú: MK (F-ratio = 0,06; P>0,05; d_{khí khổng} (F-ratio = 11,2; P<0,01); r_{khí khổng} (F-ratio = 10,07; P<0,01); S_{khí khổng} (F-ratio = 15,56; P<0,01). Các kí tự a, b khác nhau trên cùng một hàng biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa ở mức α = 0,05 theo kiểm định LSD Multiple Range Test.

Bảng 3.8. Mối quan hệ giữa các đặc điểm kích thước khí khổng Thạch tùng răng với điều kiện khí hậu trong 4 năm nghiên cứu

	d _{khí khổng}	r _{khí khổng}	S _{khí khổng}
MAT	0.7376**	0.6715*	0.7835**
MAP	0.7197**	0.6609*	0.7013*
SuH	-	-	-
Hu	-	-	-
MAT mùa hè	0.8182**	0.7939**	0.8667**
MAT mùa đông	0.6226*	0.5253 ⁺	0.6635*
MAP mùa hè	-	-	-0.5358 ⁺
MAP mùa đông	0.7772**	0.7199**	0.7864**
Hu mùa hè	-	-	-
Hu mùa đông	0.5657 ⁺	0.6705*	0.5995*
SuH mùa hè	0.8516**	0.8195**	0.8457**
SuH mùa đông		-0.585*	

**P-value < 0,01; *P-value < 0,05; ⁺P-value < 0,1; kí hiệu “-” biểu thị sự không tương quan

Kết quả xây dựng mô hình hồi quy tuyến tính 1 biến số dự đoán sự thay đổi của các đặc điểm hình thái khí khổng theo những nhân tố khí hậu được trình bày ở bảng dưới đây:

Mô hình hồi quy	R ²	P
d _{khí khổng} = 66,1411 + 0,262721* [*] MAT	0,54	0,0062
d _{khí khổng} = 64,6043 + 0,30667* [*] MAT mùa hè	0,67	0,0011
d _{khí khổng} = 67,8601 + 0,197929* [*] MAT mùa đông	0,39	0,0306

Mô hình hồi quy	R ²	P
$d_{\text{khí không}} = 68,4189 + 0,000998592*\text{MAP}$	0,52	0,0083
$d_{\text{khí không}} = 70,0952 + 0,000966361*\text{MAP}$ mùa đông	0,60	0,0029
$d_{\text{khí không}} = 65,0992 + 0,00647843*\text{SuH}$ mùa hè	0,73	0,0004
$d_{\text{khí không}} = 55,6526 + 0,183577*\text{Hu}$ mùa đông	0,32	0,0552
$r_{\text{khí không}} = 55,8631 + 0,332569*\text{MAT}$	0,45	0,0168
$r_{\text{khí không}} = 53,3584 + 0,413687*\text{MAT}$ mùa hè	0,63	0,0020
$r_{\text{khí không}} = 58,3624 + 0,232144*\text{MAT}$ mùa đông	0,28	0,0795
$r_{\text{khí không}} = 58,7147 + 0,00127499*\text{MAP}$	0,44	0,0193
$r_{\text{khí không}} = 60,8413 + 0,0012445*\text{MAP}$ mùa đông	0,52	0,0083
$r_{\text{khí không}} = 54,0948 + 0,00866755*\text{SuH}$ mùa hè	0,67	0,0011
$r_{\text{khí không}} = 66,0958 - 0,00408865*\text{SuH}$ mùa đông	0,34	0,0457
$r_{\text{khí không}} = 36,5962 + 0,302498*\text{Hu}$ mùa đông	0,45	0,0170
$S_{\text{khí không}} = 11445 + 138,647*\text{MAT}$	0,61	0,0026
$S_{\text{khí không}} = 10644,1 + 161,383*\text{MAT}$ mùa hè	0,75	0,0003
$S_{\text{khí không}} = 12346,4 + 104,788*\text{MAT}$ mùa đông	0,44	0,0187
$S_{\text{khí không}} = 12774,4 + 0,483424*\text{MAP}$	0,49	0,0111
$S_{\text{khí không}} = 16023,6 - 1,12209*\text{MAP}$ mùa hè	0,29	0,0726
$S_{\text{khí không}} = 13562,9 + 0,48573*\text{MAP}$ mùa đông	0,62	0,0024
$S_{\text{khí không}} = 11109,5 + 3,19629*\text{SuH}$ mùa hè	0,72	0,005
$S_{\text{khí không}} = 11109,5 + 3,19629*\text{SuH}$ mùa hè	0,72	0,0005
$S_{\text{khí không}} = 5930,38 + 96,6404*\text{Hu}$ mùa đông	0,36	0,0394

Kết quả xây dựng mô hình hồi quy tuyến tính nhiều biến số dự đoán sự thay đổi của các đặc điểm khí khổng theo những nhân tố khí hậu được trình bày ở bảng dưới đây:

Mô hình hồi quy	R ²
$r_{\text{khí không}} = 51.5724 - 26.6829*\text{MAT} + 13.5687*\text{MAT}$ mùa hè + $13.8171*\text{MAT}$ mùa đông - $0.00353128*\text{MAP}$ mùa hè + $0.0105411*\text{SuH}$ mùa hè - $0.00851975*\text{SuH}$ mùa đông	0,96

Bảng 3.9. Đặc điểm khe lỗ khí

Năm	$d_{\text{khe lỗ khí}} (\mu\text{m})$			$r_{\text{khe lỗ khí}} (\mu\text{m})$			$S_{\text{khe lỗ khí}}/S_{\text{lá}} (\mu\text{m}^2/\text{mm}^2)$		
	HL	NL	Bidoup	HL	NL	Bidoup	HL	NL	Bidoup
2013	17,3 ±4,29	19,37 ±5,14	19,58 ±5,23	3,38 ±1,93	3,94 ±1,94	3,79 ±2,56	40,78 ±10,61	33,35 ±13,13	52,39 ±43
2014	19 ±6,34	19,64 ±5,69	18,48 ±5,8	3,72 ±2,14	3,8 ±2,01	3,64 ±1,91	44,71 ±32,78	30,1 ±12,11	43,26 ±24,42
2015	18,41 ±5,36	20,41 ±4,68	18,58 ±6,54	3,39 ±1,93	4,12 ±1,88	3,1 ±1,54	42,43 ±16,58	35,42 ±13,09	36,35 ±15,69
2016	18,14 ±5,26	20,58 ±6,35	17,4 ±5,32	2,9 ±1,51	3,52 ±1,88	2,37 ±1,38	41,01 ±21,97	31,04 ±17,28	48,34 ±29,98

Năm	$d_{\text{khe lỗ khí}} (\mu\text{m})$			$r_{\text{khe lỗ khí}} (\mu\text{m})$			$S_{\text{khe lỗ khí}}/S_{\text{lá}} (\mu\text{m}^2/\text{mm}^2)$		
	HL	NL	Bidoup	HL	NL	Bidoup	HL	NL	Bidoup
TB	18,3 ^a ±5,4	20,2 ^b ±5,5	18,23 ^a ±5,89	3,2 ^a ±1,8	3,8 ^a ±1,9	3,02 ^a ±1,78	42,2 ^b ±22,1	32,5 ^a ±14,4	43,5 ^b ±26,4

Ghi chú: $d_{\text{khe lỗ khí}}$ (F-ratio = 6,72; $P < 0,05$); $r_{\text{khe lỗ khí}}$ (F-ratio = 2,16; $P > 0,1$); $S_{\text{khe lỗ khí}}/S_{\text{lá}}$ (F-ratio = 9,23; $P < 0,01$). Các kí tự a,b khác nhau trên cùng một hàng biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$ theo kiểm định LSD Multiple Range Test.

Kết quả phân tích tương quan giữa đặc điểm kích thước khe lỗ không Thạch tùng răng với các nhân tố khí hậu được trình bày ở bảng 3.10.

Bảng 3.10. Mối quan hệ giữa các đặc điểm kích thước khe lỗ khí với điều kiện khí hậu trong 4 năm nghiên cứu

	$d_{\text{khe lỗ khí}}$	$r_{\text{khe lỗ khí}}$	$S_{\text{khe lỗ khí}}/S_{\text{lá}}$
MAT	0.782**		-0.7225**
MAP	0.7102**		-0.7554**
SuH	-	-	-
Hu	-	-	-
MAT mùa hè	0.7875**		-0.8062**
MAT mùa đông	0.7268**		-0.6041*
MAP mùa hè	-	-	-
MAP mùa đông	0.762**		-0.7774**
Hu mùa hè	-	-	-
Hu mùa đông	-	-	-0.5153+
SuH mùa hè	0.7068*	-	-0.7414**
SuH mùa đông	-	-	0.5091+

**P-value < 0,01; *P-value < 0,05; +P-value < 0,1. kí hiệu "-" biểu thị sự không tương quan

Kết quả xây dựng mô hình hồi quy tuyến tính 1 biến số dự đoán sự thay đổi của các đặc điểm hình thái khe lỗ khí theo những nhân tố khí hậu được trình bày ở bảng dưới đây:

Mô hình hồi quy	R ²	P
$d_{\text{khe lỗ khí}} = 14,9507 + 0,200115*\text{MAT}$	0,61	0,0027
$d_{\text{khe lỗ khí}} = 14,2527 + 0,212066*\text{MAT}$ mùa hè	0,62	0,0024
$d_{\text{khe lỗ khí}} = 15,9928 + 0,16599*\text{MAT}$ mùa đông	0,53	0,0074
$d_{\text{khe lỗ khí}} = 16,8394 + 0,000708029*\text{MAP}$	0,50	0,0096
$d_{\text{khe lỗ khí}} = 18,0339 + 0,0006806*\text{MAP}$ mùa đông	0,58	0,0040
$d_{\text{khe lỗ khí}} = 15,1888 + 0,00386297*\text{SuH}$ mùa hè	0,50	0,0102
$S_{\text{khe lỗ khí}}/S_{\text{lá}} = 63,7373 - 1,20402*\text{MAT}$	0,52	0,0080
$S_{\text{khe lỗ khí}}/S_{\text{lá}} = 70,9612 - 1,41369*\text{MAT}$ mùa hè	0,65	0,0015
$S_{\text{khe lỗ khí}}/S_{\text{lá}} = 55,7083 - 0,898507*\text{MAT}$ mùa đông	0,36	0,0375
$S_{\text{khe lỗ khí}}/S_{\text{lá}} = 54,2556 - 0,00490422*\text{MAP}$	0,57	0,0045

Mô hình hồi quy	R ²	P
$S_{khe\ lỗ\ khí}/S_{lá} = 45,7358 - 0,00452224 * MAP\ mùa\ đông$	0,60	0,0029
$S_{khe\ lỗ\ khí}/S_{lá} = 65,3337 - 0,0263881 * SuH\ mùa\ hè$	0,55	0,0058
$S_{khe\ lỗ\ khí}/S_{lá} = 29,2175 + 0,0119746 * SuH\ mùa\ đông$	0,26	0,0909
$S_{khe\ lỗ\ khí}/S_{lá} = 106,769 - 0,782372 * Hu\ mùa\ đông$	0,27	0,0864

Bảng 3.11. Mức độ xẻ thùy của các tế bào biểu bì xung quanh khí khổng

Năm	Mức độ xẻ thùy của tế bào biểu bì xung quanh khí khổng		
	Hoàng Liên	Ngọc Linh	Bidoup
2013	1,12 ±0,08	1,13 ±0,08	1,09 ±0,09
2014	1,12 ±0,08	1,11 ±0,07	1,08 ±0,08
2015	1,13 ±0,08	1,12 ±0,07	1,09 ±0,08
2016	1,14 ±0,08	1,1 ±0,07	1,1 ±0,08
TB	1,13 ^b ±0,08	1,11 ^b ±0,07	1,09 ^a ±0,08

Ghi chú: Mức độ xẻ thùy (F-ratio = 12,15; P<0,01). Các kí tự a,b khác nhau trên cùng một hàng biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$ theo kiểm định LSD Multiple Range Test.

Kết quả phân tích tương quan giữa mức độ xẻ thùy của tế bào biểu bì xung quanh khí khổng với các nhân tố khí hậu được trình bày ở bảng 3.12.

Bảng 3.12. Mối quan hệ giữa mức độ xẻ thùy của tế bào biểu bì xung quanh khí khổng với điều kiện khí hậu trong 4 năm nghiên cứu

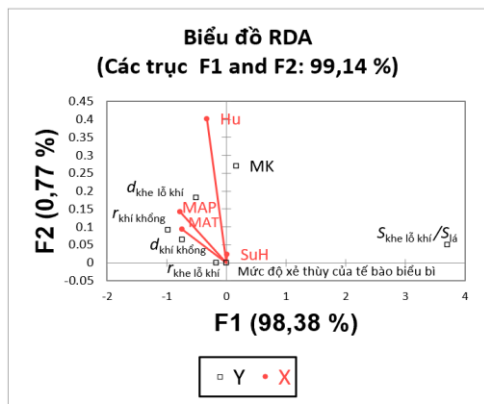
Nhân tố khí hậu	Mức độ xẻ thùy	Nhân tố khí hậu	Mức độ xẻ thùy
MAT	-	SuH	-0.6764*
MAT mùa hè	-	SuH mùa hè	-
MAT mùa đông	-	SuH mùa đông	-0.7405**
MAP	-	Hu	-
MAP mùa hè	-	Hu mùa hè	-
MAP mùa đông	-	Hu mùa đông	0.5976*

**P-value < 0,01; *P-value < 0,05; +P-value < 0,1; kí hiệu “-” biểu thị sự không tương quan

Kết quả xây dựng mô hình hồi quy tuyến tính 1 biến số dự đoán sự thay đổi của mức độ xẻ thùy tế bào biểu bì xung quanh khí khổng theo những nhân tố khí hậu được trình bày ở bảng dưới đây:

Mô hình hồi quy	R ²	P
Mức độ xẻ thùy = 1,18644 - 0,0000402162 * SuH	0,46	0,0157
Mức độ xẻ thùy = 1,15189 - 0,0000448778 * SuH mùa đông	0,55	0,0059
Mức độ xẻ thùy = 0,912036 + 0,00233766 * Hu mùa đông	0,36	0,0402

Phân tích RDA để xác định mức độ đóng góp của các nhân tố khí hậu vào sự biến động của các đặc điểm giải phẫu lá. Kết quả được trình bày ở hình 3.22.



Hình 3.22. Biểu đồ RDA thể hiện mối quan hệ giữa các đặc điểm hình thái giải phẫu lá Thạch tùng rừng với các nhân tố khí hậu

thuận với SuH ($r = 0,44$) và Hu ($r = 0,31$); trong đó, MAT là nhân tố có tác động mạnh nhất đến tổ hợp các đặc điểm hình thái giải phẫu của lá.

b. Đặc điểm quản bào

Đặc điểm kích thước quản bào được trình bày ở bảng 3.13. Từ đó cho thấy chiều rộng và góc nghiêng đầu mút quản bào ở cả 3 quần thể không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Bảng 3.13. Đặc điểm quản bào

Năm	Đường kính quản bào (μm)			Góc nghiêng ($^\circ$)		
	HL	NL	Bidoup	HL	NL	Bidoup
2013	8,19 \pm 2,53	8,14 \pm 1,73	7,08 \pm 2,09	22,43 \pm 10,8	20,66 \pm 9,69	20,79 \pm 3,86
2014	7,66 \pm 2	7,7 \pm 1,88	9,21 \pm 3,24	22,02 \pm 9,42	23,21 \pm 10,6	23,76 \pm 10,68
2015	8,27 \pm 2,26	9,44 \pm 2,47	9,57 \pm 2,64	25,05 \pm 10,41	25,43 \pm 10,51	24,89 \pm 10,33
2016	7,94 \pm 1,97	7,91 \pm 2,07	7,14 \pm 1,92	18,44 \pm 7,42	29,3 \pm 11,05	23,29 \pm 10,93
TB	8,02 ^a \pm 2,15	8,41 ^a \pm 2,27	8,4 ^a \pm 2,76	21,83 ^a \pm 9,68	25,88 ^a \pm 11,02	23,7 ^a \pm 10,26

Ghi chú: Đường kính quản bào (F-ratio = 0,11; P>0,1); Góc nghiêng (F-ratio = 0,9; P>0,1). Các ký tự a giống nhau trên cùng một hàng biểu thị không có sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$ theo kiểm định LSD Multiple Range Test.

3.3. Đặc điểm tăng trưởng chiều cao hàng năm ở 3 quần thể nghiên cứu

Bảng 3.14. Đặc điểm tăng trưởng chiều cao hàng năm

Năm	Hoàng Liên	Ngọc Linh	Bidoup
2013	20,12 ±7,51	28,64 ±7,5	24,73 ±10,17
2014	29,43 ±11,14	29,55 ±9,2	24,39 ±11,25
2015	26,83 ±11,32	21,87 ±7,78	30,9 ±12,41
2016	22,9 ±9,77	19 ±8,5	20,17 ±6,44
TB	25,5 ^a ±10,74	23,56 ^a ±9,31	25,18 ^a ±10,94

Ghi chú: G (F-ratio = 0,00; P>0,1). Các kí tự a giống nhau trên cùng một hàng biểu thị không có sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$ theo kiểm định LSD Multiple Range Test.

3.3. Đa dạng di truyền quần thể Thạch tùng răng phân bố tại VN

3.4.1. Kết quả chọn lọc chỉ thị phục vụ đánh giá đa dạng di truyền quần thể

Kết quả có 10 chỉ thị ISSR và 7 chỉ thị SCoT hình thành band và các band mang tính đa hình. Tổng cộng thu được 72 band nảy sinh từ kĩ thuật ISSR, trung bình 7,2 band mỗi chỉ thị; 60 band nảy sinh từ kĩ thuật SCoT, trung bình 8,6 band mỗi chỉ thị và tổng cộng có 132 band nảy sinh từ 2 kĩ thuật, tương đương với 132 locus được sử dụng cho đánh giá đa dạng và biến động di truyền cho 4 quần thể nghiên cứu.

Bảng 3.16. Tỷ lệ band đa hình ở quần thể và mức độ tổng thể mẫu nghiên cứu khi sử dụng kĩ thuật ISSR, SCoT và tổ hợp 2 kĩ thuật này

Kĩ thuật	Tên chỉ thị	Tỷ lệ band đa hình (PPB) (%)				
		Hoàng Liên	Bạch Mã	Ngọc Linh	Bidoup	Tổng thể mẫu
ISSR	UBC 808	60,00	80,00	40,00	80,00	100
ISSR	UBC 814	60,00	80,00	80,00	100,00	100
ISSR	UBC 842	50,00	100,00	50,00	33,33	100
ISSR	UBC 844	33,33	66,67	33,33	83,33	100
ISSR	UBC 17899	42,86	100,00	85,71	57,14	100
ISSR	UBC 856	42,86	100,00	42,86	42,86	100
ISSR	HB8	50,00	100,00	75,00	100,00	100
ISSR	HB12	41,67	58,33	91,67	66,67	100
ISSR	HB 15	45,45	90,91	81,82	81,82	100
ISSR	UBC 873	44,44	66,67	77,78	88,89	100
Tổng thể		45,83	81,94	69,44	72,22	100
SCoT	SCoT 13	50,00	37,50	87,50	87,50	100
SCoT	SCoT 12	71,43	71,43	71,43	100,00	100
SCoT	SCoT 18	22,22	55,56	77,78	66,67	100
SCoT	SCoT 19	37,50	62,50	87,50	87,50	100
SCoT	SCoT 22	50,00	75,00	62,50	75,00	100
SCoT	SCoT 29	50,00	62,50	75,00	62,50	100

SCoT	SCoT 30	41,67	58,33	91,67	66,67	100
Tổng thể		45,00	60,00	80,00	76,67	100
ISSR + SCoT		45,45	71,97	74,24	74,24	100

3.4.2. Kết quả đánh giá đa dạng di truyền quần thể

Bảng 3.17. Đa dạng di truyền ở mức độ quần thể và mức độ loài

Quần thể	Chỉ số nảy sinh từ dữ liệu tổng hợp từ 2 kĩ thuật ISSR&SCoT	
	H_e	I
Hoàng Liên	0,14 ±0,19	0,22 ±0,28
Bạch Mã	0,21 ±0,19	0,33 ±0,26
Ngọc Linh	0,20 ±0,19	0,31 ±0,26
Bidoup	0,19 ±0,19	0,30 ±0,26
Tổng thể mẫu	0,23 ±0,18	0,36 ±0,23

3.4.3. Cấu trúc di truyền và mối quan hệ giữa 4 quần thể

Đặc điểm cấu trúc di truyền và mối quan hệ giữa 4 quần thể dựa trên kết quả phân tích dữ liệu đặc trưng nhận dạng DNA phối hợp sử dụng cả hai kĩ thuật ISSR và SCoT được trình bày ở bảng 3.18.

Bảng 3.18. Các chỉ số biệt hóa di truyền và chỉ số về dòng chảy của gene giữa các quần thể nghiên cứu

Quần thể	Chỉ số		Quần thể	Chỉ số	
	G_{ST}	N_m		G_{ST}	N_m
HL – Bạch Mã	0,16	2,71	BM – NL	0,10	4,66
HL - NL	0,17	2,45	BM – Bidoup	0,13	3,30
HL - Bidoup	0,16	2,57	NL – Bidoup	0,09	4,85
Tổng thể mẫu	0,19	2,16			

Kết quả phân tích AMOVA cho thấy biến động di truyền giữa 4 quần thể ở mức 28% và giữa các cá thể trong tổng thể các quần thể ở mức 72% (Bảng 3.19)

Bảng 3.19. Mức độ biến động di truyền (AMOVA) trong và giữa các quần thể loài Thạch tùng rừng

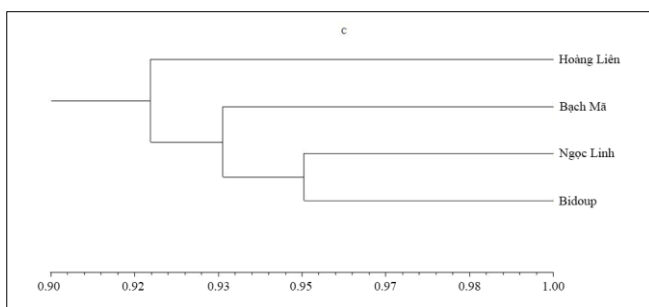
Nguồn biến thiên	Tổng bình phương	TB bình phương	Tỉ lệ % biến động
Giữa các quần thể	352,81	117,60	28
Trong cùng quần thể	1027,25	13,52	72

Khoảng cách di truyền giữa các cặp quần thể được tính toán dựa trên dữ liệu đặc trưng nhận dạng DNA phối hợp sử dụng cả hai kỹ thuật ISSR và SCoT được trình bày ở bảng 3.20.

Bảng 3.20. Khoảng cách di truyền (D) giữa các quần thể nghiên cứu

Quần thể	D	Quần thể	D
Hoàng Liên và Bạch Mã	0,08	Bạch Mã và Ngọc Linh	0,06
Hoàng Liên và Ngọc Linh	0,09	Bạch Mã và Bidoup	0,08
Hoàng Liên và Bidoup	0,08	Ngọc Linh và Bidoup	0,05
Trung bình	0,07		

Mối quan hệ di truyền giữa 4 quần thể được trình bày ở hình 3.16.



Hình 3.19. Sơ đồ dạng cây về quan hệ di truyền giữa các quần thể loài Thạch tùng rừng ở Việt Nam được xây dựng dựa trên dữ liệu đặc trưng nhận dạng DNA phối hợp sử dụng cả hai kỹ thuật ISSR và SCoT

3.5. Ảnh hưởng của các nhân tố sinh thái đến đa dạng di truyền quần thể ở VN

Kết quả phân tích tương quan giữa đa dạng di truyền với các nhân tố khí hậu chỉ ra rằng chỉ có PPB tương quan với SuH ($r = 0.9451$). Mô hình hồi quy tuyến tính 1 biến số dự đoán sự thay đổi của PPB của quần thể Thạch tùng rừng theo SuH là: $PPB = -24.3945 + 0.0495472 * SuH$ ($R^2 = 0,95$).

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. KẾT LUẬN

1.1. Ảnh hưởng của các nhân tố khí hậu đến đặc điểm hình thái ngoài

a. Lá

- Các nhân tố khí hậu MAT, MAT mùa hè, MAT mùa đông và MAP ảnh hưởng đến đặc điểm chiều dài và chiều rộng lá; MAP và MAT là nhân tố khí hậu ảnh hưởng đến diện tích lá và chỉ số độ dày lá; chiều dài lá chịu ảnh hưởng bởi nhân tố MAP mùa đông và chiều rộng lá chịu ảnh hưởng bởi các nhân tố SuH mùa hè và Hu mùa đông.

- 83,76% sự biến thiên của tổ hợp các đặc điểm kích thước lá ($d_{lá}$, $r_{lá}$, $S_{lá}$ và SLA) là do sự tác động của tổ hợp của các nhân tố khí hậu (MAT, MAP, Hu, SuH) và 16,24% là do sự tác động của các nhân tố khác; tổ hợp các đặc điểm kích thước lá tương quan thuận với 2 nhân tố MAT và MAP, trong đó MAP ($r = 0,82$) có ảnh hưởng mạnh hơn MAT ($r = 0,48$) và tương quan nghịch với 2 nhân tố SuH và Hu, nhưng 2 nhân tố này ảnh hưởng không đáng kể, với hệ số tương quan có giá trị lần lượt là -0,18 và -0,14.

b. Túi bào tử

- MAT là nhân tố có ảnh hưởng đến chiều dài, chiều rộng và diện tích túi bào tử; chiều dài túi bào tử ảnh hưởng bởi tổ hợp các nhân tố MAT mùa đông, MAP mùa hè; chiều rộng ảnh hưởng bởi tổ hợp các nhân tố MAP mùa hè, MAT mùa hè và MAT mùa đông.

- 82,04% sự biến thiên của tổ hợp các đặc điểm kích thước túi bào tử ($d_{túi\ bào\ tử}$, $r_{túi\ bào\ tử}$, $S_{túi\ bào\ tử}$) là do sự tác động của tổ hợp của các nhân tố khí hậu (MAT, MAP, Hu và SuH) và 17,96% là do sự tác động của các nhân tố khác; tổ hợp các đặc điểm kích thước túi bào tử tương quan nghịch với MAT ($r = -2,75$) và tương quan thuận với 3 nhân tố

khí hậu còn lại, trong đó MAP ($r = 1,54$) ảnh hưởng đến kích thước túi bào tử mạnh hơn SuH và Hu (với r có giá trị lần lượt là 0,611 và 0,325).

c. Bào tử

Ảnh hưởng các nhân tố khí hậu đến kích thước bào tử của biểu hiện không rõ ràng.

d. Sinh trưởng thân

Ảnh hưởng của các nhân tố khí hậu đến sinh trưởng thân biểu hiện không rõ ràng.

1.2. Ảnh hưởng của các nhân tố khí hậu đến đặc điểm hình thái giải phẫu

a. Khí khổng và tế bào biểu bì xung quanh khí khổng

- SuH mùa hè ảnh hưởng đến chiều dài và chiều rộng khí khổng; MAT mùa hè ảnh hưởng đến tất cả các đặc điểm của khí khổng và khe lỗ khí được nghiên cứu, ngoại trừ chiều dài khí khổng.

- Các nhân tố khí hậu tại vùng phân bố các quần thể ảnh hưởng đến độ mở khí khổng không rõ ràng.

- SuH mùa đông là nhân tố khí hậu có ảnh hưởng đến mức độ xẻ thùy của tế bào biểu bì xung quanh khí khổng; mô hình hồi quy tuyến tính được xây dựng dựa trên nhân tố này có thể dự đoán được 55% sự biến động mức độ xẻ thùy của lá.

- 62,74% sự biến thiên của tổ hợp các đặc điểm giải phẫu lá (MK, $d_{\text{khí khổng}}$, $r_{\text{khí khổng}}$, $d_{\text{khe lỗ khí}}$, $r_{\text{khe lỗ khí}}$, $S_{\text{khe lỗ khí}}/S_{\text{lá}}$ và mức độ xẻ thùy của tế bào biểu bì xung quanh khí khổng) là do ảnh hưởng tổ hợp các nhân tố khí hậu (MAT, MAP, Hu và SuH) và 37,23% là do ảnh hưởng của các nhân tố khác; tổ hợp các đặc điểm hình thái giải phẫu lá tương quan nghịch với MAT ($r = -1,11$) và MAP ($r = -0,35$); tương quan thuận với SuH ($r = 0,44$) và Hu ($r = 0,31$); trong đó, MAT là nhân tố ảnh hưởng đến tổ hợp các đặc điểm hình thái giải phẫu của lá.

b. Quản bào

Ảnh hưởng của các nhân tố khí hậu đến quản bào biểu hiện không rõ ràng.

1.3. Ảnh hưởng của các nhân tố khí hậu đến đa dạng di truyền quần thể Thạch tùng răng phân bố tại Việt Nam

- SuH ảnh hưởng mạnh nhất đến tỉ lệ đa hình của quần thể.

2. KIẾN NGHỊ

Xu hướng tăng nhiệt độ không khí do biến đổi khí hậu, loài sẽ gặp nguy hiểm. Quần thể Ngọc Linh đang bị đe dọa, hơn thế nữa quần thể này có vai trò cầu nối hai quần thể Hoàng Liên và Bidoup, cho phép duy trì dòng chảy di truyền xuyên suốt chiều dài Việt Nam nên cần phải có biện pháp bảo tồn tại chỗ và chuyển chỗ đối với quần thể Ngọc Linh.

Điều kiện khí hậu tại vùng phân bố của quần thể Hoàng Liên thuận lợi cho quá trình sinh sản hữu tính cũng như sinh trưởng nhưng quần thể này lại có tính đa dạng di truyền thấp nhất và đây có thể là hệ quả của việc khai thác quá mức. Do đó, cần phải có biện pháp quản lý việc khai thác ở quần thể này.

DANH SÁCH CÁC BÀI BÁO LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Nguyen Thi Ai Minh, Tien Tran Van, Hoang Viet Hau, Le Ngoc Trieu, Chinh Vu Tien, Tran Thai Vinh and Duy Nong Van (2019). Genetic diversity and variation of *Huperzia serrata* (Thunb. ex Murray) Trevis. population in Vietnam revealed by ISSR and SCoT markers. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 33 (1), 1525-1534.
2. Nguyen Thi Ai Minh, Nong Van Duy, Tran Thai Vinh, Le Ngoc Trieu, Hoang Viet Hau, Tran Van Tien, Vu Tien Chinh (2019). Species composition of Lycopodiaceae Mirbel in Vietnam. *Tap chi Sinh hoc*, 41 (2se1&se2), 427-432.
3. Nguyen Thi Ai Minh, Le Ngoc Trieu, Nong Van Duy, Tran Van Tien (2019). Geographical variation in morphological leaf traits of *Huperzia serrata* (Lycopodiaceae) from Vietnam. *Tap chi Sinh hoc (Journal of Biology)*, 41 (4), 101-110.
4. Nguyễn Thị Ái Minh, Lê Ngọc Triệu, Trần Văn Tiến, Nông Văn Duy (2020). Ảnh hưởng một số nhân tố khí hậu đến sinh trưởng về chiều cao thân của Thạch tùng răng (*Huperzia serrata* (Thunb. Ex Murray) Trevis.) ở Việt Nam. *Tap chí khoa học Lâm nghiệp*, 1, 73-83.