

I. CÔNG NGHỆ GEN

O-GE01: ỨNG DỤNG PHƯƠNG PHÁP MIG-SEQ TRÊN NỀN TẢNG GIẢI TRÌNH TỰ GEN THỂ HỆ MỚI (NGS) TRONG NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG CHI DẼ ĐÁ (*LITHOCARPUS*) Ở VIỆT NAM

**Nguyễn Văn Ngọc^{1*}, Hoàng Thị Bình¹, Trần Thị Tâm¹,
Nguyễn Thị Minh Đức¹, Yoshihisa Suyama², Tetsukazu Yahara³**

¹ Khoa Sinh học, Trường Đại học Đà Lạt, Việt Nam

² Trung tâm khoa học đồng ruộng Kawatabi, Trường khoa học Nông nghiệp, Đại học Tohoku, Nhật Bản

³ Khoa Sinh học, Đại học Kyushu, Nhật Bản

TÓM TẮT

Chi Dẻ đá (*Lithocarpus*) là chi lớn thứ 2 trong họ Dẻ (Fagaceae), với khoảng 350 loài trên thế giới và là thành phần chiếm ưu thế trong hầu hết các kiểu rừng nhiệt đới. Để làm rõ mức độ đa dạng thành phần loài của chi *Lithocarpus* ở Việt Nam, chúng tôi thực hiện các phân tích phân tử sử dụng chỉ thị đa hình đơn nucleotide (SNPs) có được bằng kỹ thuật “Xác định trình tự các vùng ISSR đa hợp bằng giải trình tự gen” (Multiplexed ISSR genotyping by sequencing - MIG-seq) dựa trên nền tảng công nghệ giải trình tự gen thế hệ mới. Trong nghiên cứu này, 322 số hiệu tiêu bản được thu chủ yếu ở Việt Nam và một số từ Campuchia, Indonesia, Lào, và Thái Lan được sử dụng để thực hiện các phân tích phân tử và hình thái. Các bằng chứng thu được từ phân tích phân tử và quan sát hình thái trên các mẫu nghiên cứu cũng như hệ thống tiêu bản trong các bảo tàng, bao gồm cả mẫu chuẩn cho thấy: Có 126 loài thuộc chi *Lithocarpus* ở Việt Nam, trong đó có 9 loài được phát hiện mới. Ngoài ra, bằng việc ứng dụng kết hợp cả phương pháp phân tử và hình thái, chúng tôi đã làm rõ các vấn đề phức tạp về phân loại tồn tại lâu nay của một số tổ hợp loài thuộc chi này ở Việt Nam, đặc biệt các tổ hợp có mức độ tương đồng về hình thái cao. Từ những kết quả nghiên cứu, chúng tôi đưa ra kết luận rằng: phương pháp MIG-seq là một công cụ mạnh mẽ, cung cấp các chỉ thị phân tử đặc trưng, giúp nhận diện và đánh giá chính xác mức độ đa dạng về thành phần loài của chi *Lithocarpus* ở Việt Nam, kể cả áp dụng trên những mẫu sinh dưỡng.

Từ khóa: Fagaceae, MIG-seq, Giải trình tự gen thế hệ mới, SNPs, Phát sinh chủng loài, Việt Nam.

USING THE MULTIPLEXED ISSR GENOTYPING BY SEQUENCING (MIG-SEQ) IN THE DIVERSITY ASSESSMENT OF *LITHOCARPUS* SPECIES IN VIETNAM

**Nguyen Van Ngoc^{1*}, Hoang Thi Binh¹, Tran Thi Tam¹, Nguyen Thi Minh Duc¹,
Yoshihisa Suyama⁴, Tetsukazu Yahara⁵**

¹ Faculty of Biology, Dalat University, Vietnam

² Kawatabi Field Science Center, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Japan

³ Department of Biology, Kyushu University, Japan

SUMMARY

Lithocarpus Blume (1826) is the second largest genus of the family Fagaceae, with approximately 350 species in the world. Its species diversity is the highest in China and Vietnam where 123 species and 117 species were reported, respectively, whereas 31 species, 41 species and 56 species were recorded in Myanmar, Laos and Thailand, respectively. In Vietnam, almost all the species of *Lithocarpus* were described by French botanists until 1920s and some other species were until 1950s. Since then, the taxonomic inventories of *Lithocarpus* in Vietnam were disrupted until Ngoc et al. (2016, 2018) described two new species based on their newly collected materials. Therefore, updating our taxonomic knowledge on the species of *Lithocarpus* using new collections and new techniques such as phylogenetic analysis based on DNA markers are required. To clarify the species diversity of the *Lithocarpus* genus in Vietnam, we made the molecular analysis using SNPs marker from a new technique “Multiplexed ISSR genotyping by sequencing” (MIG-seq) based on the next-generation sequencing platform. A total of 322 vouchers of specimens of the genus collected mostly from Vietnam and partly from Cambodia, Indonesia, Laos, and Thailand were included in this study. The evidence obtained from molecular analysis and subsequent morphological observations on 322 samples as well as herbarium specimens including types showed that: there are 126 species of *Lithocarpus* genus from Vietnam, including nine new species (*L. dahuoaiensis*, *L. vuquangensis*, *L. bidoupensis ined.*, *L. cadamensis ined.*, *L. congtrioensis ined.*, *L. chinii ined.*, *L. hongjiaoensis ined.*, *L. pseudoannamensis ined.*, *L. pseudotruncatus ined.*). Also, by applying both molecular and morphological approaches, we could resolve a long-standing problem on the taxonomy of polymorphic species complexes of *Lithocarpus* in Vietnam. In our conclusion, the next-generation sequencing platform with the MIG-seq method provides a powerful tool to identify and diversity assessment of *Lithocarpus* species, even for sterile specimens.

Keywords: Fagaceae, MIG-seq, Next-generation Sequencing, SNPs, Phylogenetic, Vietnam.

This research is funded by Vietnam National Foundation for Science and Technology Development (NAFOSTED) under grant number 106.03-2018.325

* Author for correspondence: Tel: 0965.65.2468; Email: ngocnv@dlu.edu.vn