

ỨNG DỤNG CÔNG CỤ DI TRUYỀN HỌC TRONG BẢO TỒN LOÀI HỔ (*PANTHERA TIGRIS*)

Võ Văn Sự¹, Chu Đức Hà²

¹Viện Chăn nuôi

²Trường Đại học Công nghệ, Đại học Quốc gia Hà Nội

Trong số các loài mèo lớn có nguy cơ tuyệt chủng, hổ (*Panthera tigris*) được xem là một trong những biểu tượng của tự nhiên và thu hút được sự quan tâm đặc biệt của các nhà khoa học. Thành công của lĩnh vực di truyền học phân tử đã cho phép chúng ta có thêm những hiểu biết về loài có biệt danh chúa sơn lâm này. Nhân dịp Xuân Nhâm Dần, bài viết giới một vài nét về nguồn gốc tiến hóa, cơ chế di truyền màu sắc lông của hổ và các ứng dụng của công cụ phân tích gen trong việc bảo tồn và quản lý loài này.

Nguồn gốc tiến hóa của loài hổ

Năm 1900, ước tính có khoảng 100.000 cá thể hổ hoang dã sinh sống khắp châu Á, từ biển Caspi và Aral ở phía tây, đến các đảo Sunda ở phía nam và khu vực Siberia ở phía đông [1]. Ngày nay, sức ép từ nạn săn bắn và buôn bán bất hợp pháp đã khiến loài hổ được liệt kê là có nguy cơ tuyệt chủng trong Sách đỏ của Liên minh Bảo tồn Thiên nhiên Quốc tế về các loài bị đe dọa. Trên thực tế, một số phân loài của hổ đã tuyệt chủng từ những năm 1940 hoặc không còn nhìn thấy trong tự nhiên [2]. Số lượng cá thể hổ và phạm vi sinh sống của chúng đã giảm sút một cách đáng báo động từ thập kỷ trước (tính đến năm 2016 thì quần thể hổ hoang dã trên thế giới chỉ còn khoảng 3.890 cá thể).

Các nghiên cứu di truyền phân tử cho thấy, tất cả các loài mèo lớn đều xuất phát từ khu vực Đông Nam Á vào thế Trung Tân (Miocene) - xấp xỉ 11 triệu năm trước [1]. Sau đó, sự phân hóa giữa các loài trong chi *Panthera* bắt đầu diễn ra khoảng 3,7 triệu

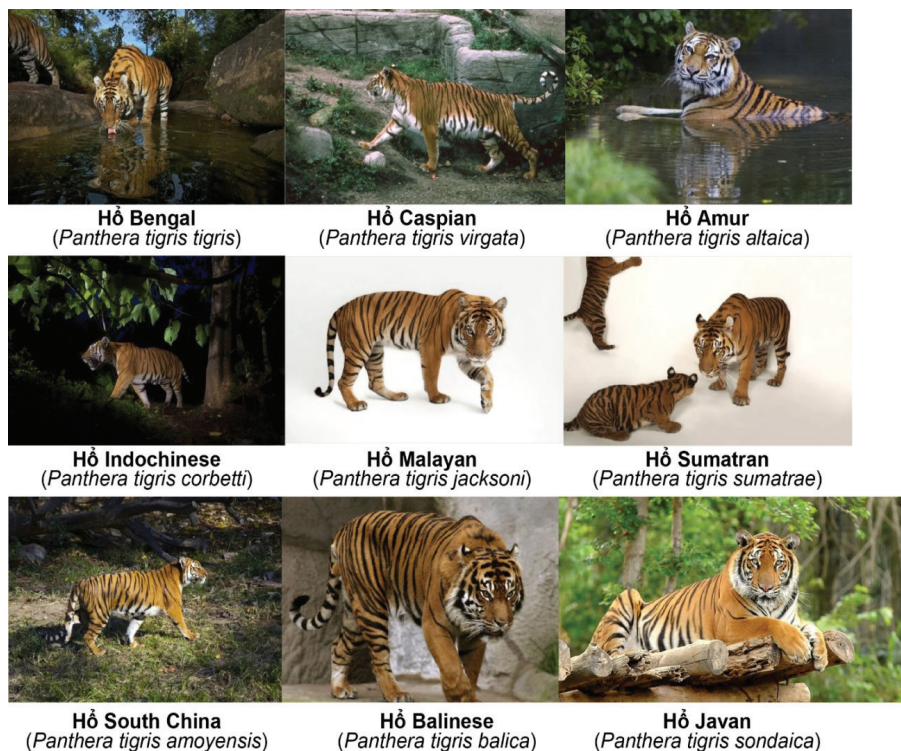
năm trước và tách thành 2 nhóm như hiện nay, một nhóm gồm 2 loài báo gấm (*Neofelis nebulosa*) và nhóm còn lại gồm 5 loài là hổ, sư tử (*P. leo*), báo hoa mai (*P. pardus*), báo đốm (*P. onca*) và báo tuyết (*P. uncia*). Nhìn chung, tất cả các loài *Panthera* spp. (ngoại trừ hổ) đều có hoa văn đốm [3].

Hóa thạch hổ lâu đời nhất được biết đến được khai quật ở miền bắc Trung Quốc và Java, Indonesia có niên đại khoảng 2 triệu năm trước [4, 5]. Phân tích DNA nhân và mtDNA ở ty thể cho thấy, các loài hổ hiện đại có mức độ đa dạng di truyền thấp và xảy ra hiện tượng “thắt cổ chai di truyền” vào cuối thế Canh Tân (Pleistocen) [1]. Thời gian tính đến tổ tiên chung gần đây nhất của các loài hổ hiện đại được dự đoán là khoảng 112.600 năm trước, muộn hơn rất nhiều so với sự xuất hiện của tổ tiên chung gần nhất của loài báo hoa mai châu Phi (~470.000-825.000 năm trước) và báo hoa mai châu Á (~170.000-300.000 năm trước).

Dựa vào những phân tích di

truyền kết hợp khảo cổ học, các quần thể hổ bị thu hẹp ở lục địa Đông Dương và Trung Quốc sau giai đoạn “thắt cổ chai di truyền” (khoảng 110.000 năm trước) do khí hậu lạnh giá trong thời kỳ băng hà cuối cùng của thế Canh Tân. Một quần thể hổ tổ tiên đã tồn tại ở khu vực tây nam Trung Quốc, hình thành một loài phụ hổ nam Trung Quốc đương đại (*P. tigris amoyensis*), trong khi nhóm khác đã di cư đến các lục địa khác để hình thành các loài phụ địa lý như hiện nay. Khoảng 60.000 năm trước, sự biến động nhiệt độ ở đại lục đã tạo ra sự phân hóa sâu sắc giữa các loài phụ hổ. Cụ thể, sự phân hóa giữa hổ Bengal (*P. tigris tigris*) với các loài phụ khác được dự đoán xảy ra cách đây khoảng 52.920 năm, tiếp theo là sự phân hóa làm phát sinh quần thể hổ Amur (*P. tigris altaica*) ở Đông Á (~33.830 năm trước), hổ Đông Dương (*P. tigris corbetti*) và hổ Malaysia (*P. tigris jacksoni*) (~27.600 năm trước) [5].

Dựa trên các đặc điểm hình thái, môi trường sống và phạm vi



Hình 1. Một số loài phụ hổ đã và đang tồn tại hiện nay trên thế giới.

địa lý, 9 loài phụ của *P. tigris* đã được công nhận chính thức, bao gồm hổ Amur, Bengal, Caspi (*P. tigris virgata* - đã tuyệt chủng), Java (*P. tigris sondaica* - đã tuyệt chủng), nam Trung Quốc, Bali (*P. tigris balica* - đã tuyệt chủng), Sumatra (*P. tigris sumatrae* - đã tuyệt chủng), Đông Dương và Malaysia. Các loài phụ này được phân bố trên 6 khu vực, như tiểu lục địa Ấn Độ, bán đảo Đông Dương, bán đảo Malaysia... Bên cạnh đó, dựa trên mức độ tương đồng của mtDNA thu thập, các nhà khoa học đã chứng minh được mối quan hệ gần gũi giữa hổ Amur với Caspi đã tuyệt chủng và giữa nhóm 3 loài phụ hổ tại quần đảo Sunda (Bali, Java và Sumatra). Theo một hệ thống phân loại dựa trên hình thái học về kích thước cơ thể, đặc điểm hộp sọ, xương chậu, sọc vằn đã phân loại *P. tigris*

thành 2 loài phụ (*P. tigris tigris* ở lục địa châu Á và *P. tigris sondaica* ở quần đảo Sunda) [1].

Với sự xuất hiện của giai đoạn “thất cổ chai di truyền” vào cuối thế Canh Tân nên hầu như không có sự khác biệt đáng kể về hình thái của các loài phụ hổ hiện đại. Hình dạng xương chậu của hổ Java và Bali hẹp, trong khi ở hổ Caspi rộng hơn nhiều (hình 1). Ngoài ra, những cá thể hổ có bộ lông màu cam nhạt ở khu vực Viễn Đông châu Á có kích thước lớn hơn nhiều so với hổ từ khu vực quần đảo Bali, Java và Sumatra với bộ lông sẫm màu hơn (hình 1).

Di truyền tính trạng màu lông ở hổ

Màu lông và hoa văn là những đặc điểm hình thái nổi bật ở động vật có vú và đóng vai trò thiết yếu trong suốt vòng đời [6]. Các loài hổ được biết đến với các sọc đen

trên nền lông màu cam đặc trưng. Tuy vậy, một số biến thể nền lông cũng được ghi nhận ở loài phụ *P. tigris tigris*, tạo nên một số nhóm hổ trắng, hổ vàng và hổ tuyết. Biến thể hổ trắng lần đầu tiên được nhìn thấy trong số những con hổ Bengal hoang dã ở Ấn Độ, với bộ lông trắng và sọc nâu đỏ (hình 2). Hổ trắng không phải là dạng bệnh lý bạch tạng do chúng vẫn có sọc đen. Hổ vàng cũng được ghi nhận trong rừng rậm ở Ấn Độ, có bộ lông nền màu vàng nhạt và sọc màu nâu đỏ. Hổ tuyết gần như không có hoa văn ở lông và toàn thân màu trắng, đuôi có các vòng màu nâu đỏ pha loăng. Ngoài ra, các nhà khoa học cũng ghi nhận sự xuất hiện của một dạng giả nhiễm sắc tố (pseudo-melanistic) ở hổ với sắc tố eumelanin được tổng hợp rất mạnh ở phần lông sọc, làm cho những cá thể này có những vệt sọc rất đậm.

Về mặt phân tử, tính trạng màu lông của động vật có vú được xác định bởi sắc tố melanin tích lũy trong lông. Melanin được tổng hợp trong các tế bào biểu bì tạo sắc tố (melanocyte) và có thể được chia thành 2 loại sắc tố phụ, eumelanin (nâu - đen) và pheomelanin (vàng - đỏ). Hàm lượng và sự phân bố của eumelanin và pheomelanin trong sợi lông quyết định màu sắc của chúng. Màu sắc của loài hổ thông thường được đặc trưng bởi 2 kiểu sắc tố riêng biệt, bộ lông nền màu cam với sợi lông đặc trưng bởi sự tích lũy của sắc tố pheomelanin dọc theo sợi lông và eumelanin tích lũy ở gốc và ngọn của sợi lông, trong khi các sọc vằn có màu đen (hình 2). So với các đồng loại *P. tigris tigris* hoang dã, dường như quá trình sinh tổng hợp pheomelanin bị ức



Hình 2. Một số dạng màu của hổ và giả thuyết về cơ chế phân tử quy định màu sắc lông ở hổ.

chế hoàn toàn ở hổ trắng, phần lớn eumelanin bị kìm hãm ở hổ vàng, trong khi ở hổ tuyết, cả hai quá trình sinh tổng hợp eumelanin và pheomelanin đều bị kìm hãm mạnh mẽ [7].

Phân tích giải trình tự genome của quần thể hổ trắng đã xác định được một đột biến thay đổi amino acid A477V trong trình tự của protein vận chuyển proton xuyên màng SLC45A2. Gen *Slc45a2* có biểu hiện đặc thù ở túi melanin (melanosome) hoặc các bào quan của tế bào biểu bì tạo hắc tố. Đột biến gen *Slc45a2* là nguyên nhân gây ra bệnh bạch tạng ở người,

khỉ đột và chó Pinscher, cũng như hàng loạt hiện tượng giảm sắc tố ở chuột, ngựa, gà và cá. Đóng vai trò là chất vận chuyển proton, SLC45A2 điều tiết việc duy trì cân bằng nội môi pH túi melanin, do đó đột biến A477V ảnh hưởng đến kênh vận chuyển proton của SLC45A2 và phá vỡ môi trường pH của túi melanin, dẫn đến ức chế sinh tổng hợp pheomelanin triệt để (bộ lông trắng) [7]. Quá trình sinh tổng hợp eumelanin ở các sọc trên bộ lông hổ trắng vẫn được duy trì một phần do biểu hiện mạnh của gen *Edn3*, kết quả là các sọc vẫn giữ được màu nâu đỏ (hình 2). Màu lông của hổ vàng

là một tính trạng lặn trên nhiễm sắc thể thường được đặt tên là locus *wideband*. Đây là dạng đột biến gen *Corin*, tạo ra thay thế trái nghĩa H587Y. Gen *Corin* mã hóa enzyme protease serine xuyên màng và tham gia vào quá trình sinh tổng hợp sắc tố bằng cách kìm hãm con đường tín hiệu *agouti*. Vì vậy, đột biến H587Y làm suy giảm chức năng của *Corin* và ức chế quá trình phân giải protein tín hiệu *agouti*, dẫn đến bộ lông nền màu vàng ở hổ vàng. Ở hổ tuyết, các nhà khoa học đã đặt ra giả thuyết về sự tổ hợp của cả 2 đột biến gen *Corin* và *Slc45a2*. Cụ thể, hổ tuyết có thể là dạng đồng hợp tử kép của cả 2 đột biến H587Y và A477V, làm suy giảm quá trình hình thành hắc tố trên toàn bộ cơ thể. Tuy nhiên, sự xuất hiện của các vòng màu nâu đỏ nhạt ở đuôi hổ tuyết vẫn chưa được giải thích một cách thuyết phục.

Ứng dụng công cụ phân tử trong bảo tồn hổ

Các kỹ thuật phân tử đã được ứng dụng trong hầu hết các chương trình bảo tồn động vật hoang dã. Ở hổ, các công cụ di truyền học đã giải quyết hiệu quả những vấn đề bảo tồn *in situ* và *ex situ* nhằm phân loại loài phụ hổ và phân tích con đường tiến hóa của chúng cũng như truy cứu tổ tiên đã tuyệt chủng, đánh giá di truyền quần thể, từ đó đưa ra các chiến lược lai tạo nhằm khôi phục loài.

Bộ chỉ thị di truyền phân tử đầu tiên ở hổ đã được phát triển vào năm 2004 nhằm nhận dạng cá thể, quần thể và loài phụ dựa trên 134 mẫu thu thập. Trong đó, bộ công cụ nhận dạng bao gồm đoạn trình tự mtDNA có kích thước 4 kb, 30 chỉ thị microsatellite và phức

hợp phù hợp tổ chức chính (major histocompatibility complex). Ví dụ, kết hợp với các khám phá hóa thạch, các nhà khoa học đều đồng thuận về sự phân hóa của loài phụ *P. tigris jacksoni* ở Malaysia từ *P. tigris corbetti* ở bán đảo Đông Dương. Việc phân loại cũng như đánh giá mối quan hệ di truyền giữa các loài phụ hổ có thể hữu ích cho việc thiết lập các chương trình phối giống cũng như bảo tồn những cá thể hổ trong điều kiện nuôi nhốt nhằm tránh hiện tượng giao phối cận huyết [8]. Mặt khác, các chỉ thị phân tử cụ thể cũng được sử dụng hiệu quả để xác định tổ tiên của bất kỳ cá thể hổ nào có nguồn gốc chưa rõ ràng. Năm 2008, phân tích toàn bộ các cá thể hổ nuôi nhốt tại 14 quốc gia và khu vực cho thấy, khoảng 50% trong số chúng có nguồn gốc rõ ràng, vẫn thuộc loài phụ và không bị lai tạp. Kết quả cho thấy, việc nuôi nhốt hổ vẫn có khả năng giữ được sự đa dạng di truyền nên vẫn mang lại giá trị bảo tồn về mặt nguồn gen của hổ [9]. Tiếp theo, phân tích DNA cổ đại từ các mẫu hóa thạch cũng là một trong những ứng dụng quan trọng của công cụ di truyền. Một bộ mẫu cho phân lập mtDNA đã được thiết kế nhằm tối ưu hóa cho những mẫu hóa thạch hoặc lưu giữ trong bảo tàng. Từ đó, cây phân loại Bayes cũng tiếp tục được sử dụng nhằm đánh giá nguồn gốc của mẫu thu thập [2]. Ví dụ, đoạn trình tự 1.257 bp của mtDNA tổng hợp đã được phân lập từ 20 mẫu hóa thạch của loài phụ *P. tigris virgata*. Kết quả phân tích đã ủng hộ cho giả thuyết rằng, tất cả các mẫu *P. tigris virgata* hóa thạch có quan hệ gần gũi với loài phụ *P. tigris altaica* đương đại. Một nghiên cứu khác trên 23 mẫu hóa

thạch của 3 loài phụ hổ ở quần đảo Sunda đã phân lập được đoạn 1.750 bp mtDNA và cho thấy, *P. tigris sumatrae* là loài phụ có mối quan hệ gần gũi nhất với *P. tigris sondaica* và *P. tigris balica* đã tuyệt chủng [1]. Chính vì vậy, một số nghiên cứu đã đề xuất và thu gọn 3 loài phụ ở Java, Bali và Sumatra thành một loài phụ thuộc quần đảo Sunda duy nhất, đặt tên là *P. tigris sondaica*.

Hiện nay, tình trạng săn bắt và buôn bán cá thể hổ hoang dã cũng như những cơ quan/bộ phận của hổ đang đe dọa sự tồn tại của chúng trong điều kiện tự nhiên. Do vậy, phát triển các công cụ di truyền phân tử hiệu quả phục vụ truy vết mẫu vật bị tịch thu sẽ hỗ trợ đắc lực cho việc thực thi pháp luật và pháp y về động vật hoang dã. Một số hệ thống phân tích kiểu gen đã được phát triển để nhận dạng cá thể có thể kể đến như tigrisPlex, 8Plex...

Thay lời kết

Công nghệ gen phát triển đã làm sáng tỏ về nguồn gốc, tiến hóa và sự thích nghi của loài hổ. Các nhà khoa học đã bắt đầu giải thích được sự đa dạng về màu sắc bộ lông và sọc trên cơ thể của các cá thể hổ. Những phát hiện này có ý nghĩa rất quan trọng đối với công tác bảo tồn *in situ* và *ex situ*. Nếu các quốc gia không có những biện pháp mạnh mẽ nhằm ngăn chặn nạn săn bắt, buôn bán hổ hoang dã và tăng cường các giải pháp bảo tồn nguồn gen, rất có thể trong thời gian tiếp theo, hổ và các loài động vật hoang dã khác sẽ chỉ còn xuất hiện trong điều kiện nuôi nhốt hoặc trong các áng văn thơ ✍

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] S.J. Luo, Y.C. Liu, X. Xu (2019), "Tigers of the world: genomics and conservation", *Annu. Rev. Anim. Biosci.*, **7**, pp.521-548.
- [2] E.E. Armstrong, et al. (2021), "Recent evolutionary history of tigers highlights contrasting roles of genetic drift and selection", *Mol. Biol. Evol.*, **38(6)**, pp.2366-2379.
- [3] Y.S. Cho, et al. (2013), "The tiger genome and comparative analysis with lion and snow leopard genomes", *Nat. Commun.*, **4**, DOI: 10.1038/ncomms3433.
- [4] W. Zhang, et al. (2019), "Sorting out the genetic background of the last surviving south China tigers", *J. Hered.*, **110(6)**, pp.641-650.
- [5] P. Mittal, et al. (2019), "Comparative analysis of corrected tiger genome provides clues to its neuronal evolution", *Sci. Rep.*, **9(1)**, DOI: 10.1038/s41598-019-54838-z.
- [6] A. Khan, et al. (2020), "Are shed hair genomes the most effective noninvasive resource for estimating relationships in the wild?", *Ecol. Evol.*, **10(11)**, pp.4583-4594.
- [7] X. Xu, et al. (2017), "The genetics of tiger pelage color variations", *Cell Res.*, **27(7)**, pp.954-957.
- [8] M. Tidiere, et al. (2021), "Sex-specific actuarial and reproductive senescence in zoo-housed tiger (*Panthera tigris*): the importance of sub-species for conservation", *Zoo Biol.*, **40(4)**, pp.320-329.
- [9] J.S. Veasey (2020), "Can zoos ever be big enough for large wild animals? A review using an expert panel assessment of the psychological priorities of the Amur tiger (*Panthera tigris altaica*) as a model species", *Animals*, **10(9)**, DOI: 10.3390/ani10091536.