

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Nguyễn Đức Duy

**ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG GEN VÀ CẤU TRÚC QUẦN THỂ
CỎ BIỂN *Enhalus acoroides* TẠI VÙNG VEN BIỂN
NAM TRUNG BỘ VÀ TÂY NAM, VIỆT NAM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Khánh Hòa – 2026

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Nguyễn Đức Duy

**ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG GEN VÀ CẤU TRÚC QUẦN THỂ
CỎ BIỂN *Enhalus acoroides* TẠI VÙNG VEN BIỂN
NAM TRUNG BỘ VÀ TÂY NAM, VIỆT NAM**

Ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8420114

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC

Hướng dẫn 1. TS. Nguyễn Xuân Vy 

Hướng dẫn 2. TS. Võ Thị Diệu Trang 

Khánh Hòa – 2026

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu trong luận văn này là công trình nghiên cứu của tôi dựa trên những tài liệu, số liệu do chính tôi tự tìm hiểu và nghiên cứu. Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu đảm bảo trung thực và khách quan nhất. Đồng thời, kết quả này chưa từng xuất hiện trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực nếu sai tôi hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật.

Tác giả luận văn



Nguyễn Đức Duy

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành luận văn này, đầu tiên tôi xin gửi lời cảm ơn đến ban Lãnh đạo, phòng Đào tạo, các phòng chức năng của Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tạo điều kiện thuận lợi về cơ sở vật chất, môi trường học tập và nghiên cứu, giúp tôi có cơ hội thực hiện và hoàn thành luận văn này.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc nhất và sự cảm ơn dành cho TS. Nguyễn Xuân Vy và TS. Võ Thị Diệu Trang đã trực tiếp hướng dẫn, tận tình giúp đỡ, hỗ trợ, truyền đạt kiến thức và kinh nghiệm quý báu, cũng như đồng viên tôi trong suốt quá trình thực hiện luận văn tốt nghiệp này.

Xin được cảm ơn sự hỗ trợ về kinh phí của đề tài khoa học “Nghiên cứu đa dạng loài, đa dạng gen của thực vật biển Việt Nam: Họ Hymeniaceae và Hydrocharitaceae” (Mã số: 106.06-2023.25) của Quỹ Phát triển KHCN Quốc gia (NAFOSTED), Việt Nam do TS. Nguyễn Xuân Vy chủ nhiệm. Cảm ơn các cán bộ nghiên cứu của Phòng Thực vật biển, Viện Hải dương học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã giúp đỡ nhiệt tình và tạo thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình nghiên cứu.

Cuối cùng, tôi xin cảm ơn gia đình, người thân và bạn bè đã hỗ trợ, đồng viên khích lệ để tôi vượt qua mọi khó khăn trong quá trình học tập cũng như thực hiện đề tài này.

Xin chân thành cảm ơn!

Tác giả luận văn



Nguyễn Đức Duy

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN

LỜI CẢM ƠN

MỤC LỤC

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

DANH MỤC BẢNG

DANH MỤC HÌNH

MỞ ĐẦU..... 1

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU 4

1.1. ĐA DẠNG LOÀI VÀ DIỆN TÍCH PHÂN BỐ CỦA CỎ BIỂN 4

1.2. VAI TRÒ CỦA THẨM CỎ BIỂN TRONG HỆ SINH THÁI VÀ TÌNH TRẠNG SUY GIẢM THẨM CỎ BIỂN HIỆN NAY 7

1.2.1. Vai trò của thẩm cỏ biển trong hệ sinh thái..... 7

1.2.2. Những nguyên nhân dẫn đến sự suy giảm thẩm cỏ biển..... 8

1.2.3. Tình trạng suy giảm thẩm cỏ biển trên thế giới và tại Việt Nam..... 9

1.2.4. Sự suy thoái của thẩm cỏ biển *E. acoroides* tại các vùng ven biển Việt Nam 12

1.3. CÁC CHƯƠNG TRÌNH PHỤC HỒI THẨM CỎ BIỂN TRÊN THẾ GIỚI VÀ VIỆT NAM 12

1.3.1. Chương trình phục hồi thẩm cỏ biển và những thành quả đạt được trên thế giới..... 12

1.3.2. Chương trình phục hồi thẩm cỏ biển và những thành quả đạt được tại Việt Nam..... 14

1.4. VAI TRÒ CỦA NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG GEN TRONG BẢO TỒN VÀ PHỤC HỒI THẨM CỎ BIỂN..... 15

1.4.1. Các phương pháp nghiên cứu đa dạng gen của cỏ biển được thực hiện trên thế giới..... 15

1.4.2. Ưu điểm của phương pháp microsatellite (SSRs) và các nghiên cứu cơ bản ứng dụng kỹ thuật này trên thế giới và tại Việt Nam	18
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	22
2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU.....	22
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu và khu vực thu thập mẫu vật	22
2.1.2. Hóa chất và trang thiết bị dùng cho nghiên cứu.....	24
2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	25
2.2.1. Xử lý mẫu và tách DNA.....	25
2.2.2. Nhân bản chỉ thị microsatellite.....	26
2.2.3. Phân tích đoạn và kiểm tra chất lượng sản phẩm PCR	27
2.2.4. Phân tích đa dạng gen tại mười quần thể nghiên cứu	27
2.2.5. Phân tích cấu trúc quần thể tại các khu vực nghiên cứu	28
2.2.6. Ước tính dòng gen giữa các quần thể	29
2.2.7. Xác định quần thể ưu tiên bảo tồn.....	29
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	30
3.1. PHÂN TÍCH VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG SẢN PHẨM DNA VÀ SẢN PHẨM PCR.....	30
3.2. KẾT QUẢ PHÂN TÍCH ĐA DẠNG GEN QUẦN THỂ CỎ LÁ DỪA <i>Enhalus acoroides</i> TẠI VÙNG VEN BIỂN NAM TRUNG BỘ VÀ TÂY NAM, VIỆT NAM	32
3.3. PHÂN TÍCH CẤU TRÚC VÀ LIÊN KẾT CÁC QUẦN THỂ CỎ LÁ DỪA <i>Enhalus acoroides</i> TẠI VÙNG VEN BIỂN NAM TRUNG BỘ VÀ TÂY NAM, VIỆT NAM.....	40
3.4. ƯỚC TÍNH DÒNG GEN CỦA CÁC QUẦN THỂ CỎ LÁ DỪA <i>Enhalus</i> <i>acoroides</i> TẠI VÙNG VEN BIỂN NAM TRUNG BỘ VÀ TÂY NAM, VIỆT NAM.....	45
3.5. XÁC ĐỊNH QUẦN THỂ CỎ LÁ DỪA <i>Enhalus acoroides</i> CẦN ĐƯỢC ƯU TIÊN BẢO TỒN TẠI VÙNG VEN BIỂN NAM TRUNG BỘ VÀ TÂY NAM, VIỆT NAM	49

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	53
KẾT LUẬN	53
KIẾN NGHỊ	53
DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ	54
DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	55
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

STT	Ký hiệu và chữ viết tắt	Tên đầy đủ
1	AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism (Đa hình chiều dài đoạn DNA định hướng)
2	DNA	Deoxyribo Nucleic Acid
3	EBSAs	Ecologically or Biologically Significant Marine Areas (Vùng biển có ý nghĩa về mặt sinh thái)
4	HST	Hệ sinh thái
5	ITS	Internal Transcribed Spacer (Vùng khoảng cách phiên mã nội bộ)
6	IUCN	International Union for Conservation of Nature (Liên minh Bảo tồn thiên nhiên quốc tế)
7	MCD	Marine Life Conservation and Community Development (Bảo tồn sinh vật biển và phát triển cộng đồng)
8	MPAs	Marine Protected Areas (Các khu bảo tồn biển)
9	NOAA	The National Oceanic and Atmospheric Administration (Cơ quan quản lý quốc gia về Đại dương và Khí quyển Hoa Kỳ)
10	PCR	Polymerase Chain Reaction (Phản ứng chuỗi Polymerase)
11	RAPD	Random Amplification of Polymorphic DNA (Đa hình các đoạn DNA nhân ngẫu nhiên)
12	RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Đa hình chiều dài đoạn cắt giới hạn)
13	SCoT	Start codon targeted (Mục tiêu mã vạch mở đầu)
14	SSRs	Simple Sequence Repeats (Vi vệ tinh)

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Biến động tổng thể, diện tích phục hồi và diện tích mất của thảm cỏ biển toàn cầu.....	11
Bảng 1.2. Tóm tắt các các nghiên cứu về ứng dụng chỉ thị phân tử trong nghiên cứu đa dạng loài/gen ở cỏ biển tại Việt Nam.....	20
Bảng 2.1. Khu vực nghiên cứu và số lượng mẫu sử dụng trong nghiên cứu tại mười quần thể <i>E. acoroides</i>	24
Bảng 3.1. Số lượng alen/locus và tỷ lệ đơn hình hoặc đa hình của loài cỏ Lá dứa <i>E. acoroides</i> tại mười quần thể thực hiện nghiên cứu..	32
Bảng 3.2. Chỉ số đa dạng gen của mười quần thể cỏ Lá dứa <i>E. acoroides</i> tại mười quần thể được thực hiện nghiên cứu.....	38
Bảng 3.3. Ma trận giá trị khoảng cách gen (F_{ST} , ô sẫm màu) và giá trị Slatkin linearized (F'_{ST}) giữa mười quần thể cỏ <i>E. acoroides</i> .	39
Bảng 3.4. Kết quả phân tích AMOVA (Analysis of MOlecular VARIation) dựa trên chỉ thị SSRs đối với 4 nhóm tại mười quần thể được khảo sát.....	42
Bảng 3.5. Kết quả phân tích AMOVA (Analysis of MOlecular VARIation) dựa trên chỉ thị SSRs đối với 2 nhóm lớn tại khu vực Nam Trung Bộ và Tây Nam.	42
Bảng 3.6. Ma trận tỷ lệ dịch chuyển dòng gen giữa mười quần thể cỏ <i>Enhalus acoroides</i> được tính bằng phần mềm BayesAss 3.0.3 (Wilson và Rannala, 2003). Tỷ lệ dịch chuyển cao (lớn hơn 0,025) là ô sẫm màu.....	47
Bảng 3.7. Các giá trị sai khác kiểu gen (C_{RS}), đóng góp đặc biệt của gen (C_{RD}) và quần thể được ưu tiên bảo tồn (C_{RT}) của mười quần thể cỏ <i>Enhalus acoroides</i> tại vùng biển Việt Nam.	50

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Phân bố toàn cầu của cỏ biển	5
Hình 1.2. Phân bố thảm cỏ biển ở Việt Nam	6
Hình 1.3. Xu hướng thay đổi diện tích thảm cỏ biển theo thời gian	9
Hình 2.1. Loài cỏ Lá dứa – <i>Enhalus acoroides</i> tại Sông Lô, Khánh Hòa	22
Hình 2.2. Bản đồ khu vực thu mẫu bổ sung tại Sông Lô (SL - Khánh Hòa) và các khu vực đã có mẫu	23
Hình 2.3. Sơ đồ nghiên cứu tổng quát của đề tài	25
Hình 3.1. Kết quả điện di sau khi tách DNA từ các mẫu cỏ Lá Dừa.....	30
Hình 3.2. Kích thước (bp) của locus Eaco_048 được nhuộm bằng HEX.....	31
Hình 3.3. Kích thước (bp) của locus Eaco_018 được nhuộm bằng NED.....	31
Hình 3.4. Kích thước (bp) của locus Eaco_054 và Eaco_055 được nhuộm bằng FAM	31
Hình 3.5. Kết quả phân tích lựa chọn số nhóm có thể xảy ra dựa trên hệ số $\Delta k=4$	41
Hình 3.6. Kết quả phân tích nhóm loài cỏ <i>Enhalus acoroides</i>	41
Hình 3.7. Kết quả phân tích phép thử Mantel về tương quan giữa khoảng cách gen $FST/(1-FST)$ và khoảng cách địa lí (km).....	43
Hình 3.8. Biểu đồ Circos về xu hướng dòng gen từ “quần thể cho” (source) đến “quần thể nhận” (sink).	46
Hình 3.9. Khả năng đóng góp gen của mười quần thể cỏ <i>Enhalus acoroides</i> tại vùng biển Việt Nam	49

MỞ ĐẦU

Cỏ biển thuộc nhóm thực vật bậc cao có hoa duy nhất sống trong môi trường biển. Trên thế giới hiện nay được ghi nhận khoảng 72 loài cỏ biển, phân bố trong 14 chi và thuộc 4 họ chính bao gồm Posidoniaceae, Zosteraceae, Hydrocharitaceae, Cymodoceaceae. Tuy cỏ biển có số lượng loài tương đối ít nhưng mỗi loài lại sở hữu phạm vi phân bố địa lý rộng lớn, có thể trải dài hàng nghìn kilomet dọc theo các vùng bờ biển. Với khả năng thích nghi cao với môi trường biển, cỏ biển hiện diện ở hầu hết các vùng biển trên thế giới, từ vùng nhiệt đới đến ôn đới. Thảm cỏ biển có vai trò quan trọng trong hệ sinh thái biển, là vườn ươm giống cho các loài sinh vật có giá trị kinh tế và góp phần gia tăng đa dạng sinh học. Ngoài ra, chúng cũng đóng góp vào chức năng của hệ sinh thái bằng cách hấp thụ carbon, giảm số lượng mầm bệnh gây hại cho con người và cung cấp nguồn thức ăn cho các loài động vật ăn cỏ lớn đang bị đe dọa như bò biển và rùa biển. Hệ thống rễ chằng chịt giúp cố định nền đáy, bẫy trầm tích và chống xói lở cho vùng ven bờ. Tuy nhiên, giống như nhiều hệ sinh thái khác, các thảm cỏ biển đã suy giảm trên toàn cầu trong suốt nhiều thập kỉ do những nguyên nhân khác nhau.

Hiện nay, cỏ biển đang phải đối mặt với nhiều thách thức nghiêm trọng do biến đổi môi trường toàn cầu ngày càng gia tăng. Trong đó, đáng lo ngại nhất là hiện tượng tăng nhiệt độ nước biển và quá trình nhiệt đới hóa, axit hóa đại dương, phú dưỡng ven biển, suy giảm độ trong của nước, giảm nồng độ oxy hòa tan, cùng với các hoạt động khai thác quá mức của con người như đánh bắt, nuôi trồng thủy sản và phát triển hạ tầng ven biển. Tại Việt Nam, diện tích cỏ biển đã bị suy giảm trong vòng ba thập kỷ qua. Vì vậy việc phục hồi và bảo tồn hệ sinh thái thảm cỏ biển là một vấn đề cấp thiết hiện nay.

Trong hệ sinh thái thảm cỏ biển, *Enhalus acoroides* (Linnaeus f.) Royle là một trong những loài có kích thước lớn, sinh khối cao, giúp lọc nước và cải thiện môi trường sống cũng như là nơi cư trú và vườn ươm cho các loài sinh vật khác. Nhưng với áp lực từ hoạt động của con người như: khai thác ven bờ, ô nhiễm nguồn nước và biến đổi khí hậu, các thảm cỏ biển này đang đối mặt với sự suy giảm nghiêm trọng về diện tích, độ phủ và cả sinh khối. Đa dạng di truyền và cấu trúc quần thể loài cỏ biển *E. acoroides* tại Việt Nam đã được nghiên cứu tại các vùng biển ven bờ tỉnh Khánh Hòa, ven bờ Nam Trung Bộ.

Tuy nhiên, các nghiên cứu trên đối với loài *E. acoroides* chỉ dừng lại ở phạm vi nhỏ, chưa có tính liên vùng giữa Nam Trung Bộ và Tây Nam. Tính liên kết quần thể và hướng dịch chuyển dòng gen (gene flows) giữa các thảm cỏ biển tại mỗi vùng và giữa hai vùng chưa được nghiên cứu kỹ. Vì vậy, việc phân tích đa dạng gen của các quần thể *E. acoroides* bằng chỉ thị SSR (vi vệ tinh) giúp xác định mức độ phong phú về kiểu gen giữa các quần thể/khu vực khác nhau, từ đó đánh giá được mức độ thích nghi và khả năng chống chịu của chúng trước biến đổi môi trường. Những dữ liệu này có thể được ứng dụng trong các chương trình phục hồi sinh thái, giúp lựa chọn nguồn giống phù hợp để tái tạo các thảm cỏ biển bị suy giảm. Chính vì vậy, chúng tôi thực hiện đề tài “**Đánh giá đa dạng gen và cấu trúc quần thể cỏ biển *Enhalus acoroides* tại vùng ven biển Nam Trung Bộ và Tây Nam, Việt Nam**” nghiên cứu này nhằm phục vụ công tác bảo tồn và phục hồi hệ sinh thái cỏ biển nói chung, và loài cỏ biển *E. acoroides* (cỏ Lá Dừa) nói riêng.

Mục tiêu, nội dung nghiên cứu, ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn của đề tài

Mục tiêu nghiên cứu

Nghiên cứu nhằm đánh giá mức độ đa dạng di truyền, cấu trúc quần thể và dòng gen giữa các quần thể của cỏ lá dừa - *Enhalus acoroides*, từ đó xác định các quần thể có giá trị bảo tồn cao và đề xuất ưu tiên bảo vệ cũng như phục hồi thảm cỏ biển trong tương lai.

Nội dung nghiên cứu

Để đạt được mục tiêu trên, đề tài tập trung vào bốn nội dung nghiên cứu:

- (i) Xác định mức độ đa dạng gen tại 10 quần thể cỏ Lá dừa
- (ii) Xác định cấu trúc quần thể của 10 thảm cỏ Lá dừa.
- (iii) Ước tính dòng gen giữa các quần thể và giữa hai khu vực Nam Trung Bộ và Tây Nam.
- (iv) Xác định và đề xuất các quần thể cần ưu tiên bảo tồn.

Ý nghĩa khoa học của đề tài

Nghiên cứu cung cấp đánh giá hệ thống về đa dạng và cấu trúc di truyền của cỏ Lá dứa - *Enhalus acoroides* giữa Nam Trung Bộ và Tây Nam Bộ, bổ sung dữ liệu sinh học phân tử cho loài tại Việt Nam. Kết quả giúp làm rõ dòng gen, cơ chế phát tán và mức độ liên kết giữa các quần thể, qua đó góp phần giải thích xu hướng tiến hóa và phân bố không gian, đồng thời cung cấp thêm khoảng trống tri thức từ các nghiên cứu trước đây.

Ý nghĩa thực tiễn của đề tài

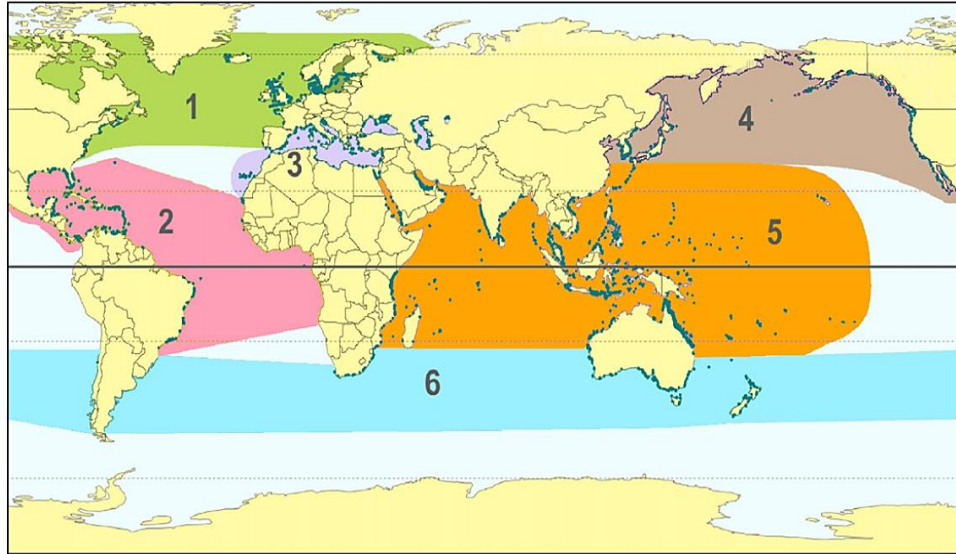
Nghiên cứu cung cấp cơ sở khoa học định lượng tin cậy để xác định các quần thể có đa dạng di truyền cao hoặc nguồn gen quý cần ưu tiên bảo tồn, góp phần hạn chế cận huyết và suy thoái giống. Đồng thời, dữ liệu về cấu trúc quần thể giúp hỗ trợ xây dựng và triển khai các chương trình phục hồi thảm cỏ biển bền vững, thông qua việc lựa chọn nguồn giống phù hợp nhằm nâng cao tỷ lệ sống và khả năng thích ứng trước biến đổi khí hậu và tác động của con người.

Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. ĐA DẠNG LOÀI VÀ DIỆN TÍCH PHÂN BỐ CỦA CỎ BIỂN

Trên thế giới, có khoảng 72 loài thuộc 14 chi cỏ biển được ghi nhận. Chúng thuộc bốn họ, bao gồm Posidoniaceae, Zosteraceae, Hydrocharitaceae và Cymodoceaceae, cả bốn họ này thuộc lớp thực vật một lá mầm, bộ Alismatales. Ngoài ra còn có họ Ruppiaceae gồm *Ruppia maritima*, *R. cirrhosa*, thường được xem là loài phụ trợ, chỉ tính khi sống trong môi trường biển [1], [2], [3]. Các loài cỏ biển về hình thái có sự khác biệt rõ rệt. Lá có thể dài hơn 4 mét (*Zostera caulescens*) hoặc chỉ vài cm (*Halophila decipiens*). Một số loài có lá dạng dây mảnh (*Syringodium isoetifolium*), trong khi các loài khác có lá hình tròn hoặc hình thìa (*Halophila* spp.). Hệ thống rễ (roots) và thân ngầm (rhizomes) phát triển mạnh, giúp bám trụ và lan rộng. Tất cả các loài đều có những thích nghi sinh học đặc biệt để tồn tại trong môi trường biển: thụ phấn dưới nước, chịu mặn cao, và sinh trưởng trong điều kiện ánh sáng yếu [2]. Tuy số lượng loài tương đối ít nhưng cỏ biển lại phân bố rộng khắp các đại dương. Dựa trên sự kết hợp giữa tổ hợp loài, phạm vi phân bố và ảnh hưởng của các yếu tố khí hậu nhiệt đới và ôn đới, các nhà khoa học đã xác định sáu vùng sinh địa lý cỏ biển trên quy mô toàn cầu. Bốn vùng ôn đới bao gồm: (1) Bắc Đại Tây Dương, (3) Địa Trung Hải, (4) Bắc Thái Bình Dương và (6) Vùng biển ôn đới Nam Bán Cầu. Hai vùng nhiệt đới bao gồm: (2) Đại Tây Dương và (5) Ấn Độ - Thái Bình Dương (**Hình 1.1**) [2], [3].

Ở cấp độ chi, phân bố cỏ biển giữa hai bán cầu Bắc - Nam rất tương đồng, với 11 chi ở mỗi bán cầu và 10 chi chung. Chỉ có *Phyllospadix* là đặc hữu của bán cầu Bắc, trong khi *Amphibolis* là chi đặc hữu của bán cầu Nam. Chi *Zostera* chủ yếu xuất hiện ở vùng ôn đới, nhưng mở rộng đến cả hai vùng nhiệt đới (Tây Phi, Đông Phi, Đông Úc và Việt Nam). Ba chi *Halophila*, *Thalassia*, *Syringodium* thường sống ở môi trường tương tự và đóng vai trò sinh thái giống nhau. Đặc biệt chi *Halophila* có số loài nhiều nhất (gần 15 loài), chủ yếu phân bố ở vùng nhiệt đới, nhưng cũng lan đến cả bốn vùng ôn đới. Một số loài như *H. ovalis* và *H. decipiens* có phân bố toàn cầu [3].



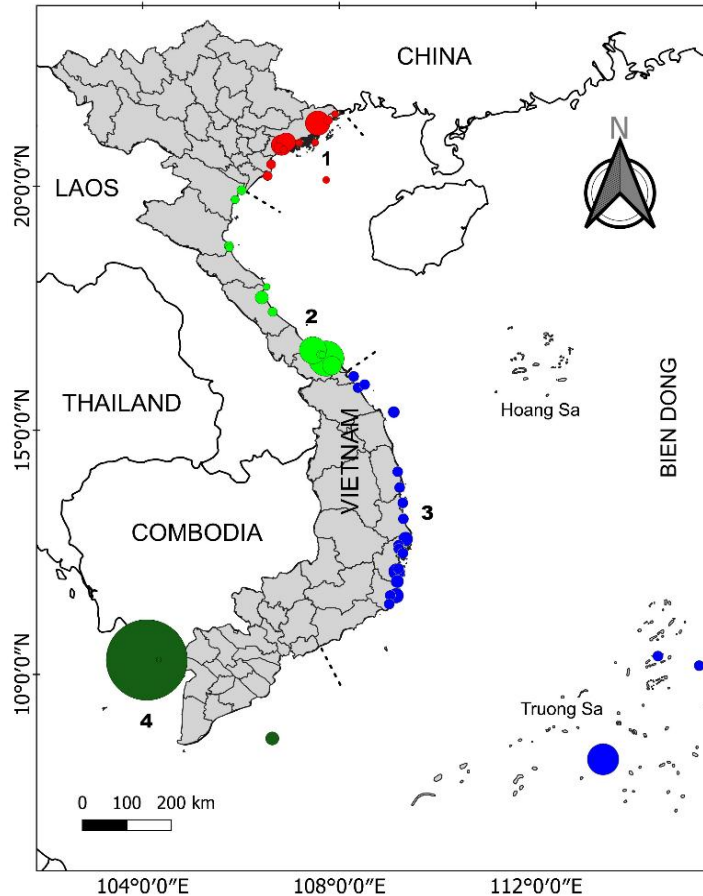
Hình 1.1 Phân bố toàn cầu của cỏ biển [3].

(Ghi chú: (1) Bắc Đại Tây Dương, (2) Đại Tây Dương, (3) Địa Trung Hải, (4) Bắc Thái Bình Dương, (5) Ấn Độ - Thái Bình Dương), (6) Vùng biển ôn đới Nam Bán Cầu).

Vùng biển Ấn Độ - Thái Bình Dương là vùng có đa dạng cỏ biển cao nhất thế giới, với diện tích phân bố cỏ biển đạt khoảng 87.791 km². Đặc biệt, tại khu vực Đông Nam Á, cỏ biển được xem là trung tâm đa dạng sinh học, với tổng diện tích cỏ biển tại các quốc gia trong khu vực vào khoảng 3.670 km² [4]. Diện tích cỏ biển phân bố không đồng đều giữa các quốc gia, trong đó Indonesia ghi nhận diện tích lớn nhất khoảng 293.464 ha [5], Thái Lan: 25.600 ha [6], Malaysia: 4.900 ha và Philippines: 8.200 ha [4].

Việt Nam nằm ở trung tâm khu vực Đông Nam Á, được biết đến là nơi khởi nguồn tiến hóa của cỏ biển [7]; với tổng diện tích được ước tính khoảng 15.613 ha [8]. Trong số 22 vùng sinh thái phân bố cỏ biển của Đông Nam Á, Việt Nam bao gồm ba vùng sinh thái: N₀20112 (Vịnh Bắc Bộ), N₀20115 (Vịnh Thái Lan) và N₀20116 (miền Nam Việt Nam) [9]. Đường bờ biển của Việt Nam được chia thành bốn vùng: Đông Bắc (1), Bắc Trung Bộ (2), Nam Trung Bộ (3) và Nam Việt Nam (4) (**Hình 1.2**) [8]. Năm 2014, Cao và cộng sự [10] đã thống kê tổng diện tích cỏ biển ở vùng 1 là 2.240 ha với 12 thảm cỏ biển được tìm thấy. Đối với vùng 2, hai thảm cỏ biển có diện tích lớn là đầm phá Tam Giang - Cầu Hai và một khu vực lân cận với diện tích lần lượt là 2.037 và 618 ha [11]. Ở vùng 3, sự phân bố cỏ biển là khu vực được nghiên cứu kỹ lưỡng nhất trong bốn vùng với tổng diện tích 3.109 ha [8]. Gần đây, kết quả nghiên

cứu từ Nguyen và cộng sự [12] cho thấy diện tích phân bố cỏ biển tại đảo Phú Quốc (đảo lớn nhất Việt Nam nằm ở vùng 4) khoảng 7.579 ha và được coi là thảm cỏ biển lớn nhất Việt Nam. Ngoài ra, một nghiên cứu gần đây khác đã ghi nhận sự tồn tại của thảm cỏ biển rộng 30 ha tại quần đảo Hải Tặc [13].



Hình 1.2. Phân bố thảm cỏ biển ở Việt Nam [8].

(Ghi chú: (1) Đông Bắc, (2) Bắc Trung Bộ, (3) Nam Trung Bộ, (4) Nam Việt Nam).

Hiện nay, tại Việt Nam 15 loài cỏ biển đã được ghi nhận [1], [14]. Một số loài như *Thalassodendron ciliatum* (Forssk) Hartog chỉ được tìm thấy tại quần đảo Trường Sa, trong khi *Nanozostera japonica* Ascherson & Graebner phân bố ở miền Bắc, và *Enhalus acoroides* (Linnaeusf.) Royle xuất hiện ở miền Trung và miền Nam Việt Nam (vùng 3 và vùng 4). Nhìn chung, sự đa dạng loài của cỏ biển ở miền Nam cao hơn ở miền Bắc. Các loài cỏ biển ưu thế là *Enhalus acoroides* (Linnaeus f.) Royle, *Thalassia hemprichii* (Ehrenberg) Ascherson, *Oceana serrulata* (R.Brown) Byng & Christenhusz, *Halodule uninervis* (Forsskål) Ascherson, *Halophila ovalis* (R.Brown) J.D.Hooker và *N. japonica* (Ascherson & Graebner) Tomlinson & Posluszny [1], [14], [15].

Enhalus acoroides (Linnaeusf.) Royle thuộc họ Hydrocharitaceae, là một trong những loài cỏ biển có kích thước lớn, lá dài và rộng hơn so với các loài khác, với chiều dài lá có thể đạt 100 cm. Với đặc điểm lá dài loài này có thể dễ dàng phân biệt với các loài cỏ biển khác, các mép lá hơi cuộn lại, thân bò dày và được bao phủ bởi các sợi xơ màu đen [16]. Cũng giống như hầu hết các loài trong họ Hydrocharitaceae, *Enhalus acoroides* phân bố tại các vùng biển nhiệt đới khu vực Ấn Độ - Thái Bình Dương, kéo dài từ phía Nam Nhật Bản, Đông Nam Á, phía Bắc nước Úc, phía Nam Ấn Độ và Sri Lanka. Chúng chiếm độ phủ cũng như sinh khối cao nhất trong tổ hợp của thảm cỏ biển [2], [17], [18]. Tại Việt Nam, *Enhalus acoroides* còn có tên thường gọi là cỏ Lá dừa, thường được tìm thấy ở vùng đầm phá hoặc ven biển Nam Trung Bộ như đầm Cù Mông, ven bờ Khánh Hòa... và các vùng biển phía Tây Nam như quần đảo Phú Quốc, ven bờ Kiên Lương, quần đảo Bà Lụa và quần đảo Hải Tặc [14], [15]. Cũng giống nhau các loài cỏ biển khác, cỏ Lá dừa có vai trò quan trọng trong hệ sinh thái biển, tuy nhiên dưới áp lực của con người và biến đổi khí hậu; các thảm cỏ biển hiện nay đang dần bị thu hẹp diện tích và biến mất.

1.2. VAI TRÒ CỦA THẨM CỎ BIỂN TRONG HỆ SINH THÁI VÀ TÌNH TRẠNG SUY GIẢM THẨM CỎ BIỂN HIỆN NAY

1.2.1. Vai trò của thẩm cỏ biển trong hệ sinh thái

Hệ sinh thái cỏ biển là một trong ba hệ sinh thái biển then chốt và có vai trò đặc biệt quan trọng trong việc duy trì sự cân bằng sinh thái của các vùng ven biển, bên cạnh hai hệ sinh thái khác là rạn san hô và rừng ngập mặn [14]. Cỏ biển được xem như những “kỹ sư sinh thái” do khả năng cải thiện môi trường sống, tạo điều kiện cho sự phát triển của nhiều loài sinh vật biển và cung cấp các dịch vụ hệ sinh thái quan trọng khác. Hệ thống lá, thân rễ và rễ của cỏ biển có khả năng làm giảm tốc độ dòng chảy và sóng biển, từ đó hạn chế xói mòn và ổn định trầm tích đáy biển. Cơ chế này đồng thời giúp giữ lại và tích lũy trầm tích cũng như các chất dinh dưỡng, đóng vai trò như một bộ lọc sinh học tự nhiên, ngăn chặn dòng chảy của các chất ô nhiễm từ đất liền ra biển. Nhờ đó, cỏ biển góp phần cải thiện chất lượng nước ven bờ và duy trì điều kiện sống thuận lợi cho các sinh vật biển khác [19], [20]. Năng suất sơ cấp từ cỏ biển và các loài sinh vật phụ sinh sống cùng với chúng có thể sánh ngang hoặc vượt qua nhiều hệ sinh thái trên cạn. Cỏ biển cũng là nơi lưu trữ carbon khổng lồ trong

kho lưu trữ mùn bã hữu cơ, một phần trong số đó được vận chuyển ra vùng biển sâu, nơi chúng đóng vai trò là nguồn cung cấp vật chất hữu cơ thiết yếu trong môi trường khan hiếm thức ăn [21].

1.2.2. Những nguyên nhân dẫn đến sự suy giảm thảm cỏ biển

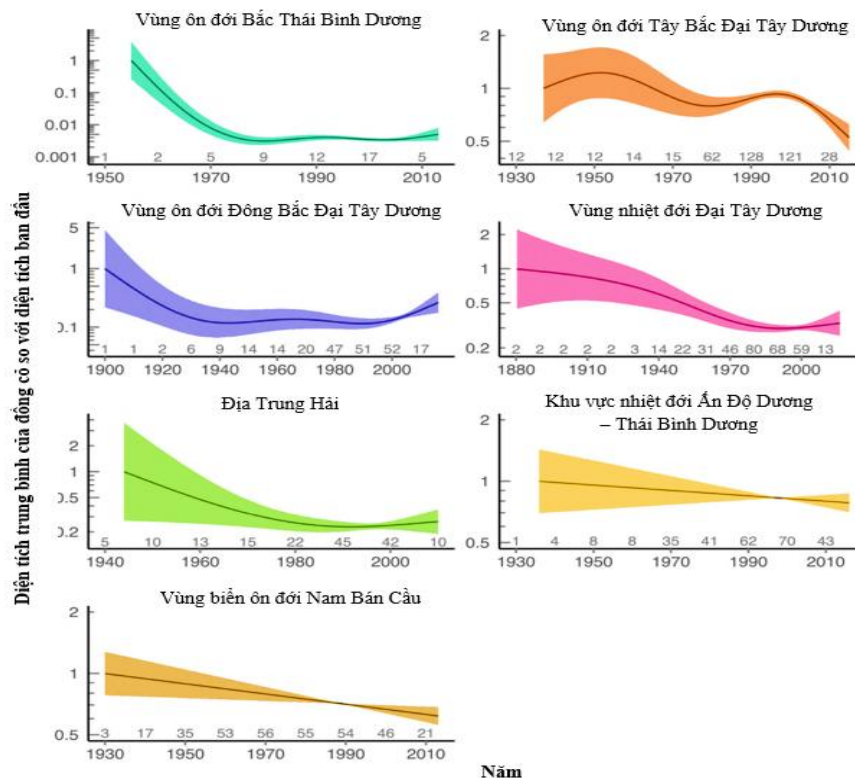
Năm 2009, Waycott và cộng sự [22] đã thực hiện đánh giá định lượng toàn cầu nào về mức độ suy giảm của cỏ biển. Đánh giá này dựa trên 215 nghiên cứu cho thấy cỏ biển đã biến mất với tốc độ trung bình 110 km² mỗi năm kể từ năm 1980, và 29% diện tích cỏ biển đã biến mất kể từ khi được ghi nhận lần đầu vào năm 1879. Đáng lo ngại hơn, tốc độ suy giảm đã tăng nhanh, từ mức trung bình 0,9% mỗi năm trước năm 1940 và lên đến 7% mỗi năm kể từ năm 1990. Sự suy thoái của thảm cỏ biển chủ yếu liên quan đến ba nhóm nguyên nhân chính: chất lượng nước kém, các tác động vật lý gây xáo trộn nền đáy, và sự suy giảm của mạng lưới dinh dưỡng. Các sự kiện môi trường, sinh học và khí hậu cực đoan được xác định là nguyên nhân gây suy giảm cỏ biển tại cả vùng ôn đới và nhiệt đới. Các mối đe dọa từ biến đổi khí hậu toàn cầu, như sự gia tăng nhiệt độ bề mặt biển, mực nước biển dâng, tần suất và cường độ của các cơn bão cùng với sóng lớn và triều cường đã tác động rõ rệt đến các hệ sinh thái ven biển trong đó có thảm cỏ biển [19]. Bên cạnh đó, sự thay đổi chất lượng nước ở quy mô khu vực, như tại vịnh Chesapeake [23] và các tác động cục bộ như gia tăng tải lượng trầm tích, chất ô nhiễm và dinh dưỡng đổ vào môi trường ven biển tại Cockburn Sound [20] cũng góp phần làm suy thoái các hệ sinh thái này. Các hiện tượng khí hậu cực đoan (bão nhiệt đới, sóng thần) cũng có thể gây ra những tác động quy mô lớn đối với các quần xã cỏ biển, kéo theo sự suy giảm hệ sinh thái mà các thảm cỏ biển cung cấp. Một ví dụ điển hình là tại vịnh Hervey, Úc các đợt tăng độ đục đột ngột sau khi bão nhiệt đới đi qua đã dẫn đến mất khoảng 1.000 km² diện tích cỏ biển, kéo theo tỷ lệ tử vong cao và hiện tượng di cư của loài bò biển [24].

Bên cạnh các nguyên nhân suy giảm cỏ biển đã được ghi nhận, hiện đang xuất hiện thêm nhiều mối đe dọa mới đối với hệ sinh thái thảm cỏ biển. Trong những năm trở lại đây, sự xâm nhập của các loài sinh vật biển ngoại lai đã trở thành một thách thức lớn đối với các đại dương trên toàn thế giới. Xu hướng này đang gia tăng nhanh chóng và được dự báo sẽ tiếp tục diễn ra do các con đường xâm nhập ngày càng mở rộng và đa dạng, trong khi các biện pháp can

thiệt vẫn còn chậm trễ. Hiện đã có ít nhất 28 loài ngoại lai được ghi nhận là đã định cư trong các thảm cỏ biển trên toàn cầu, trong đó 64% có tác động tiêu cực đến thảm cỏ biển. Trong khi các hiện tượng như phú dưỡng hoặc hoạt động lấp biển có thể được kiểm soát hoặc chấm dứt, thì việc loại bỏ một loài ngoại lai sau khi chúng đã thiết lập và lan rộng là gần như không thể [19], [25], [26].

1.2.3. Tình trạng suy giảm thảm cỏ biển trên thế giới và tại Việt Nam

Hơn một thập kỷ trước, diện tích thảm cỏ biển toàn cầu được ước tính mất đi với tốc độ trung bình khoảng 1,5% mỗi năm. Đáng chú ý, tại các địa điểm có xu hướng suy giảm, tốc độ mất mát lên tới 7% mỗi năm và đang có xu hướng tăng nhanh [22]. Những nỗ lực giám sát quy mô lớn trong thời gian gần đây đã cung cấp thêm nhiều dữ liệu, cho phép đánh giá lại các xu hướng thay đổi toàn cầu của thảm cỏ biển trong bối cảnh tác động nhân sinh ngày càng gia tăng. Dữ liệu tổng hợp từ 175 nghiên cứu với 547 chuỗi thời gian cho thấy thảm cỏ biển trên toàn cầu đã trải qua sự suy giảm đáng kể về diện tích kể từ cuối thế kỷ XIX. Tổng diện tích cỏ biển đã biến mất lên tới 5.602 km², tương đương 19,1% so với diện tích khảo sát (29.293 km²). Mặc dù đã có 554 km² được phục hồi kể từ năm 1900, con số này chỉ chiếm khoảng 1,9%, cho thấy quá trình phục hồi vẫn còn hạn chế so với mức độ suy thoái [27].



Hình 1.3. Xu hướng thay đổi diện tích thảm cỏ biển theo thời gian [27]

Tại vùng ôn đới Bắc Thái Bình Dương, các nghiên cứu đã ghi nhận mức suy giảm thảm cỏ biển diễn ra nhanh chóng và đặc biệt nghiêm trọng. Trong giai đoạn từ thập niên 1950 đến 1970, diện tích thảm cỏ biển tại khu vực này đã giảm tới 1.000 lần, phản ánh một quá trình suy thoái ở quy mô chưa từng có (**Hình 1.3**). Tương tự, vùng ôn đới Đông Bắc Đại Tây Dương ghi nhận tỷ lệ suy giảm cao nhất so với tổng diện tích lớn nhất từng được khảo sát trong vùng sinh địa lý này, với mức giảm 69% (**Bảng 1.1**). Sự suy giảm này nguyên do phần lớn đến từ bệnh thối rữa (wasting disease) lan rộng trong khu vực ở đầu thế kỉ XX [28]. Diện tích thảm cỏ biển toàn cầu ước tính khoảng 160.387 km² với độ tin cậy trung bình đến cao, và khoảng 266.562 km² với độ tin cậy thấp hơn [29]. Từ sau năm 2000, vùng Đông Bắc Đại Tây Dương đã có dấu hiệu phục hồi rõ rệt, tuy nhiên diện tích hiện tại vẫn thấp hơn khoảng 70% so với mức được ghi nhận trong các khảo sát sớm nhất [27]. Trong những năm 1940, diện tích thảm cỏ biển tại khu vực nhiệt đới Đại Tây Dương và Địa Trung Hải có xu hướng suy giảm mạnh (khoảng 40% - 80%). Cụ thể, vùng nhiệt đới Đại Tây Dương ghi nhận mức suy giảm lớn nhất về diện tích thảm cỏ biển, với tổng diện tích mất đi là 3.485 km². Phần lớn sự suy giảm này bắt nguồn từ một thảm cỏ đơn lẻ đã mất 2.700 km² trong giai đoạn từ năm 1984 đến 1992. Từ thập niên 1980 đến hiện tại, diện tích các thảm cỏ biển tại hai khu vực này đã ổn định trở lại. Trong khi đó, tốc độ thay đổi diện tích cỏ biển ở vùng ôn đới Tây Bắc Đại Tây Dương dao động từ những năm 1940 đến cuối thập niên 1990, và kể từ năm 2000, khu vực này đã ghi nhận mức suy giảm 40% so với các khảo sát ban đầu (**Hình 1.3**). Các thảm cỏ biển tại cả hai khu vực nhiệt đới Ấn Độ - Thái Bình Dương và các vùng biển ôn đới Nam bán cầu cũng ghi nhận mức suy giảm đáng kể, gần 20% so với tổng diện tích lớn nhất từng được khảo sát trong các vùng sinh địa lý này. Xét về giá trị tuyệt đối, mức mất mát thảm cỏ biển lớn nhất được báo cáo là tại các vùng sinh địa lý nhiệt đới Đại Tây Dương và Địa Trung Hải (**Bảng 1.1**)

Bảng 1.1. Biến động tổng thể, diện tích phục hồi và diện tích mất của thảm cỏ biển toàn cầu [27]

Vùng sinh thái	Biến động thực tế (%)	Biến động thực tế (km ²)	Diện tích phục hồi (km ²)	Diện tích mất (km ²)	Tổng diện tích khảo sát tối đa (km ²)
Ôn đới Đông Bắc Đại Tây Dương	- 69,0	- 420	17	- 437	608
Nhiệt đới Đại Tây Dương	- 32,3	- 3.301	183	- 3.485	10.218
Vùng biển ôn đới Nam Bán Cầu	- 22,4	- 326	121	- 446	1.455
Nhiệt đới Ấn Độ - Thái Bình Dương	- 16,2	- 96	75	- 171	592
Địa Trung Hải	- 9,9	- 1.477	25	- 1.502	14.958
Ôn đới Bắc Thái Bình Dương	+ 0,6	+ 6	75	- 69	971
Toàn cầu	- 19,1	- 5.602	554	- 6.156	29.293

Không nằm ngoài khuynh hướng suy giảm của vùng nhiệt đới Ấn Độ - Thái Bình Dương, diện tích thảm cỏ biển ở Đông Nam Á đang dần biến mất với tốc độ trung bình 5% mỗi năm [4]. Tại Indonesia, những tác động của con người bao gồm phát triển ven biển không được quản lý, các phương thức đánh bắt trái phép và sự gia tăng dân số là những mối đe dọa chính đến cỏ biển [30]. Tình trạng lấn biển quy mô lớn, sự nở hoa của tảo, và phát triển cơ sở hạ tầng ven biển đã ảnh hưởng đáng kể đến các thảm cỏ biển ở một số địa điểm tại Malaysia [31]. Philippines cũng trong tình trạng đáng báo động, diện tích thảm cỏ biển đang suy giảm mỗi năm do sự phát triển công nghiệp với lưu lượng chất thải ưu dưỡng và lắng đọng trầm tích ngày càng tăng [32].

Tổng diện tích cỏ biển ở Việt Nam vào năm 1990 được ước tính vào khoảng 29.162 ha [33]. Theo nghiên cứu của Nguyen và cộng sự [8] diện tích cỏ biển hiện nay chỉ còn khoảng 15.613. Sự chênh lệch giữa hai mốc số liệu cho thấy mức suy giảm rất lớn, phản ánh xu hướng bị thu hẹp của thảm cỏ biển trên phạm vi toàn bộ vùng biển Việt Nam. Diện tích phân bố của cỏ biển tại đầm phá Tam Giang - Cầu Hai suy giảm đến 47% do hoạt động đắp đầm và khai thác hải sản; độ phủ của cỏ biển cũng bị suy giảm 30% và tại đầm Lập An cũng có sự suy giảm về diện tích đến 60% [34]. Khu vực ven biển Khánh Hòa (thuộc khu vực 3) cho thấy thảm thực vật thủy sinh ngập nước, bao gồm cỏ biển, đã suy giảm tới 74,2%, trong khi diện tích phục hồi mới chỉ bù đắp được

chưa đến một nửa phần diện tích bị mất [35]. Các nghiên cứu phân tích dựa trên khảo sát bằng ảnh vệ tinh đã ghi nhận sự suy giảm thảm cỏ biển ở vịnh Cam Ranh trong giai đoạn 1996 - 2015 là 25% (tương đương 66 ha) [8]. Tại vịnh Vân Phong với 186,2 ha (tương đương 35,8%) diện tích thảm cỏ biển được ghi nhận đã biến mất trong vòng ba thập kỷ do nhiều nguyên nhân khác nhau [36].

1.2.4. Sự suy thoái của thảm cỏ biển *E. acoroides* tại các vùng ven biển Việt Nam

Một số nghiên cứu riêng lẻ về *E. acoroides* ở nước ta cũng đã cho thấy sự suy thoái nghiêm trọng của loài cỏ biển này thông qua tác động của thiên nhiên và con người. Tại đảo Côn Đảo, bão Linda năm 1997 đã gây thiệt hại nghiêm trọng, làm mất 20 - 30% diện tích cỏ biển và dẫn đến sự biến mất hoàn toàn của một số quần thể [15]. Ở Phú Quốc, diện tích thảm cỏ *E. acoroides* vốn được xem là lớn nhất cả nước đã giảm do nuôi trồng thủy sản và phát triển du lịch ven bờ [37]. Tại Khánh Hòa, sự suy thoái được ghi nhận rõ rệt ở nhiều khu vực; Ở Mỹ Giang và đầm Thủy Triều, thảm cỏ biển bị tác động mạnh bởi ngư cụ, nuôi trồng thủy sản và lắng đọng trầm tích với cường độ cao bất thường. Ngoài ra, ô nhiễm kim loại nặng, đặc biệt là Cu và Pb, đã được xác định trong trầm tích bề mặt tại các khu vực này, vượt xa các vùng khác trong tỉnh. Những áp lực môi trường như độ đục cao và dao động độ mặn lớn trong đầm phá cũng góp phần làm giảm sức sống và đa dạng di truyền của *E. acoroides*. Các phân tích di truyền cho thấy những quần thể tại các khu vực bị xáo trộn có mức đa dạng di truyền thấp hơn đáng kể so với các quần thể vùng biển mở, phản ánh sự suy giảm về cấu trúc quần thể và khả năng phục hồi tự nhiên. Kết quả của các nghiên cứu đã phân nào cho thấy *E. acoroides* đứng trước nguy cơ suy thoái kéo dài tại nhiều vùng ven biển Việt Nam. Qua đó, việc triển khai các biện pháp bảo tồn và phục hồi và vô cùng cấp thiết, không chỉ đối với loài cỏ Lá dứa mà còn đối với toàn bộ hệ sinh thái thảm cỏ biển [38], [39].

1.3. CÁC CHƯƠNG TRÌNH PHỤC HỒI THẨM CỎ BIỂN TRÊN THẾ GIỚI VÀ VIỆT NAM

1.3.1. Chương trình phục hồi thảm cỏ biển và những thành quả đạt được trên thế giới

Từ sau sự kiện biến mất hàng loạt của loài cỏ lươn (eelgrass) tại Hoa Kỳ

và Châu Âu vào năm 1930, những nỗ lực đầu tiên nhằm tái thiết quần xã cỏ biển thông qua việc phục hồi chủ động như trồng lại cả cây trưởng thành và gieo hạt đã được thực hiện. Bước sang thập niên 1960 và 1970, các nỗ lực trồng phục hồi thảm cỏ biển bắt đầu thu hút sự quan tâm rộng rãi hơn trong cộng đồng khoa học. Ở giai đoạn này các nghiên cứu thường tập trung vào việc phát triển và chuẩn hóa các kỹ thuật phục hồi, đồng thời đánh giá khả năng ứng dụng của chúng trong việc tái tạo những thảm cỏ biển đã bị mất hoặc suy thoái. Song song với đó, hoạt động di trồng còn được sử dụng như một phương pháp thực nghiệm nhằm làm sáng tỏ các đặc điểm sinh học và sinh thái học cơ bản của nhóm thực vật biển này [40], [41].

Một số nghiên cứu tại khu vực Đông Nam Á đang hướng đến đề xuất tăng cường bảo vệ không gian thông qua các khu bảo tồn biển (MPAs) và các khu vực có tầm quan trọng sinh thái (EBSAs) là giải pháp dài hạn để phục hồi thảm cỏ biển. Các nghiên cứu cho thấy MPAs giúp giảm tác động từ phát triển ven bờ và khai thác quá mức, cùng với các khu Bảo tồn Thiên nhiên Quốc tế (IUCN) có tác dụng ngăn chặn các hoạt động gây suy thoái. Đồng thời, EBSAs hiện bao phủ nhiều thảm cỏ biển hơn MPAs, vì vậy việc chuyển đổi chúng thành các khu bảo tồn có hiệu lực pháp lý sẽ mở rộng phạm vi bảo vệ và ngăn chặn mất mát tiếp tục. Những bằng chứng này cho thấy tăng cường bảo vệ không gian không chỉ hỗ trợ phục hồi mà còn đảm bảo các kết quả phục hồi được duy trì bền vững [4].

Việc theo dõi, cập nhật dữ liệu và duy trì giám sát dài hạn là bước không thể thiếu để đánh giá hiệu quả của các biện pháp phục hồi thảm cỏ biển. Chỉ khi có hệ thống quan trắc liên tục, các biến động về diện tích, sức khỏe thảm cỏ và tác động từ môi trường mới được ghi nhận đầy đủ, giúp điều chỉnh kịp thời các chiến lược quản lý. Song song với đó, cần tránh những biện pháp sai lầm gây tổn hại cho hệ sinh thái, điển hình như việc trồng rừng ngập mặn lên nền thảm cỏ biển. Một hoạt động tưởng chừng mang tính phục hồi nhưng thực tế lại làm suy thoái nghiêm trọng sinh cảnh [42]. Kết hợp giám sát khoa học chặt chẽ với việc loại bỏ các hoạt động không phù hợp sẽ giúp đảm bảo rằng quá trình phục hồi diễn ra đúng hướng và không gây thêm tác động tiêu cực lên hệ sinh thái ven biển.

1.3.2. Chương trình phục hồi thảm cỏ biển và những thành quả đạt được tại Việt Nam

Tại Việt Nam các chương trình về phục hồi thảm cỏ biển mới được triển khai trong khoảng hai thập niên trở lại đây. Giai đoạn 1998 - 2000, một vài nghiên cứu bước đầu về trồng phục hồi các loài cỏ biển *H. ovalis*, *Zostera japonica*, *T. hemprichii* tại vùng biển Cát Bà (Hải Phòng) và đầm Lập An (Huế) [14]. Những năm gần đây, chiến lược quản lý hệ thống rừng đặc dụng, khu bảo tồn biển và khu bảo tồn vùng nước nội địa của Việt Nam đến năm 2020, tầm nhìn đến năm 2030 đã được phê duyệt vào năm 2014 [43]; cùng với đó là sự ra đời của Luật Thủy sản Việt Nam ban hành năm 2017 bao gồm các quy định về bảo vệ và phát triển nguồn lợi thủy sản, trong đó có nội dung về bảo tồn biển [44]. Từ năm 2005 Việt Nam có 12 khu bảo tồn biển (MPA) thuộc 10 tỉnh/thành phố đã được thành lập và đưa vào hoạt động. Trong đó, Phú Quốc là một khu bảo tồn được phân loại theo tiêu chuẩn II của Liên minh Bảo tồn Thiên nhiên Quốc tế (IUCN), được thành lập vào năm 200, có chức năng bảo vệ các hệ sinh thái dựa trên cỏ biển và rạn san hô [37], [45]. Tuy nhiên vẫn còn 35 thảm cỏ biển chính nằm ngoài phạm vi bảo vệ; bao gồm đầm phá Tam Giang - Cầu Hai và các thảm cỏ biển ven bờ biển Khánh Hòa với diện tích lớn vẫn đang chịu nhiều mối đe dọa [8].

Trong những năm trở lại đây, mô hình đồng quản lý và du lịch sinh thái dựa vào cộng đồng trong các khu bảo tồn biển đã được nhiều tỉnh ven biển áp dụng (Quảng Ninh, Nam Định và Quảng Nam), cũng như mô hình đồng quản lý trong khai thác và bảo vệ nguồn lợi thủy sản (Quảng Ninh, Nam Định, Thanh Hóa, Hà Tĩnh, Thừa Thiên Huế, Quảng Ngãi và Bình Thuận) đã được ghi nhận và áp dụng rộng rãi. Đặc biệt là mô hình đồng quản lý tại Khu bảo tồn biển Cù Lao Chàm, được triển khai từ năm 2011 đến nay, đã mang lại hiệu quả rõ rệt nhờ sự phối hợp giữa cộng đồng địa phương và cơ quan quản lý, trong đó chính quyền chia sẻ trách nhiệm quản lý với các bên liên quan, qua đó góp phần bảo vệ hệ sinh thái rạn san hô và thảm cỏ biển [35].

Tuy nhiên, hiện chưa có mô hình quản lý cụ thể cho từng hệ sinh thái, đặc biệt là hệ sinh thái cỏ biển. Gần đây, chỉ có rất ít mô hình quản lý hệ sinh thái cỏ biển được xây dựng một cách riêng biệt. Một trong những dự án tiêu biểu được Trung tâm Bảo tồn Sinh vật biển và Phát triển Cộng đồng (MCD)

triển khai mang tên “Tăng cường quản lý hệ sinh thái biển và phát triển sinh kế cộng đồng địa phương, ứng phó với biến đổi khí hậu” tại bốn khu vực chính: Giao Thủy - Nam Định, Nam Phú - Thái Bình, Phù Long - Hải Phòng và Vạn Hưng - Khánh Hòa. Đây là mô hình kết hợp giữa mô hình sinh kế dựa vào cộng đồng và mô hình quản lý tài nguyên, chẳng hạn như mô hình đồng quản lý khu bảo tồn nhằm khai thác và phát triển bền vững nguồn tài nguyên biển theo các quy định và kế hoạch quản lý địa phương; cùng với mô hình cộng đồng khai thác thủy sản bền vững nhằm hỗ trợ sinh kế cho cộng đồng ven biển thông qua các hoạt động thân thiện với môi trường, không gây tổn hại đến hệ sinh thái và nguồn tài nguyên biển [46].

1.4. VAI TRÒ CỦA NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG GEN TRONG BẢO TỒN VÀ PHỤC HỒI THẨM CỎ BIỂN

1.4.1. Các phương pháp nghiên cứu đa dạng gen của cỏ biển được thực hiện trên thế giới

Đa dạng di truyền là một thành phần quan trọng của sinh học bảo tồn, cung cấp thông tin phục vụ cho việc đưa ra các quyết định về bảo tồn, phục hồi và quản lý sinh thái [47], [48], [49], bởi vì cấu trúc di truyền quyết định quá trình tiến hóa lâu dài và ảnh hưởng đến các chức năng hệ sinh thái [50]. Phản ứng của cỏ biển trước các thay đổi của môi trường phụ thuộc chủ yếu vào đặc điểm di truyền của quần thể và cách các gen tương tác với điều kiện môi trường xung quanh. Những quá trình tiến hóa như sự trao đổi gen giữa các quần thể, trôi dạt di truyền, đột biến và chọn lọc tự nhiên, cùng với đặc điểm vòng đời và cấu trúc quần thể, quyết định mức độ đa dạng di truyền cũng như cách alen này được phân bố trong các quần thể cỏ biển [51]. Vì vậy, những kết quả đánh giá về đa dạng di truyền tại mỗi địa điểm, cũng như cấu trúc di truyền và sự kết nối giữa các quần thể, là rất quan trọng khi tìm hiểu về các đặc điểm sinh thái của các sinh vật ven biển, bao gồm cả cỏ biển [52].

Có nhiều phương pháp khác nhau được sử dụng để nghiên cứu đa dạng gen của các loài cỏ biển. Mỗi phương pháp đều có ưu điểm riêng và phù hợp cho từng mục đích nghiên cứu khác nhau. Phương pháp dựa trên hình thái là cách tiếp cận truyền thống nhằm đánh giá sự khác biệt giữa các quần thể cỏ biển thông qua các đặc điểm hình thái bên ngoài. Các chỉ tiêu thường được sử dụng bao gồm chiều dài và chiều rộng lá, độ dày lá, kích thước thân rễ cũng

như hình dạng hoa và quả trong trường hợp loài có cơ quan sinh sản hữu tính phát triển đầy đủ. Phương pháp này có ưu điểm là quy trình đơn giản, chi phí thấp và thuận lợi cho các khảo sát ban đầu trên diện rộng [53]. Tuy nhiên, các đặc điểm hình thái của cỏ biển chịu ảnh hưởng mạnh của điều kiện môi trường như ánh sáng, độ sâu, động lực sóng và chất lượng trầm tích [54]. Do đó, phương pháp hình thái không phản ánh chính xác mức độ đa dạng di truyền thực sự của quần thể. Vì vậy, phương pháp này chỉ nên được sử dụng như một công cụ hỗ trợ và không đủ cơ sở để sử dụng độc lập trong việc kết luận về đa dạng gen của quần thể [55].

Một trong những cách tiếp cận sớm trong nghiên cứu di truyền quần thể là phương pháp sinh hóa (isozyme/allozyme), dựa trên việc phân tích sự khác nhau của các enzyme được mã hóa bởi các alen khác nhau tại cùng một locus. Trong nghiên cứu cỏ biển, phương pháp này thường được thực hiện thông qua kỹ thuật điện di protein trên gel agarose hoặc gel polyacrylamide, kết hợp với nhuộm enzyme đặc hiệu để phát hiện các dạng enzyme khác nhau. Ưu điểm của phương pháp isozyme là phản ánh trực tiếp sản phẩm biểu hiện của gen và cho phép đánh giá mức độ đa hình di truyền ở mức protein, do đó từng được sử dụng rộng rãi trong các nghiên cứu di truyền quần thể thực vật, bao gồm cả cỏ biển. Tuy nhiên, số lượng locus có thể phân tích bằng isozyme tương đối hạn chế, độ phân giải thấp và khó phát hiện các mức độ biến dị di truyền nhỏ giữa các quần thể. Bên cạnh đó, biểu hiện enzyme có thể bị ảnh hưởng bởi điều kiện sinh lý và môi trường làm giảm độ chính xác khi so sánh đa dạng di truyền giữa các quần thể. Do những hạn chế này, phương pháp isozyme hiện nay ít được sử dụng trong nghiên cứu đa dạng di truyền cỏ biển và phần lớn đã được thay thế bằng các chỉ thị DNA phân tử có độ đa hình cao hơn [53], [56].

Nhờ khả năng phát hiện chính xác các biến dị gen và ít chịu ảnh hưởng của yếu tố môi trường, các chỉ thị DNA hiện được xem là công cụ hiệu quả và đáng tin cậy nhất trong nghiên cứu di truyền cỏ biển. Các phương pháp đánh dấu phân tử (DNA fingerprinting) thường được áp dụng để tìm hiểu mối tương quan kiểu gen giữa các cá thể trong quần thể hoặc giữa các quần thể của một loài nào đó. Một số kỹ thuật đánh dấu phân tử thường được sử dụng là Đa hình chiều dài đoạn cắt giới hạn (Restriction Fragment Length Polymorphism - RFLP), Đa hình các đoạn DNA nhân ngẫu nhiên (Random Amplification of

Polymorphic DNA - RAPD), hay Đa hình các đoạn DNA có định hướng (Amplified Fragment Length Polymorphism - AFLP) và Vi vệ tinh (Microsatellite hay Simple Sequence Repeats -SSRs).

Đa hình chiều dài đoạn cắt giới hạn (RFLP) là phương pháp phân tích di truyền dựa trên sự khác biệt về chiều dài các đoạn DNA thu được sau khi DNA hệ gen được cắt bằng enzyme giới hạn đặc hiệu. Nguyên lý của phương pháp này là các biến dị trong trình tự DNA, chẳng hạn như đột biến điểm hoặc chèn/xóa nucleotide, có thể làm thay đổi vị trí nhận biết của enzyme giới hạn, từ đó tạo ra các mẫu băng DNA khác nhau sau điện di [57]. RFLP là một trong những chỉ thị DNA đầu tiên được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu di truyền quần thể và phát sinh loài, với độ tin cậy cao và khả năng phản ánh trực tiếp sự khác biệt ở mức trình tự DNA [55], [58]. Trong nghiên cứu thực vật và cỏ biển, RFLP chủ yếu được ứng dụng để phân tích quan hệ phát sinh loài và so sánh di truyền giữa các quần thể ở quy mô lớn [47]. Kỹ thuật RFLP đã được Waycott và cộng sự [59] tiến hành trên loài cỏ biển *A. antarctica*, kết quả cho thấy kiểu gen giữa các quần thể có độ tương đồng cao. Tuy nhiên, phương pháp RFLP đòi hỏi lượng DNA lớn, quy trình phân tích phức tạp, thời gian xử lý dài và chi phí tương đối cao. Do những hạn chế này, RFLP hiện nay ít được sử dụng trong nghiên cứu đa dạng di truyền cỏ biển và phần lớn đã được thay thế bằng các chỉ thị DNA dựa trên PCR như RAPD, AFLP và microsatellite [51], [58].

RAPD là phương pháp sử dụng các môi oligonucleotide ngắn, có trình tự ngẫu nhiên, để khuếch đại các đoạn DNA mà không cần thông tin trình tự gen trước. Phương pháp này cho phép phát hiện sự đa hình di truyền thông qua sự có mặt hoặc vắng mặt của các băng DNA sau điện di. Ưu điểm của RAPD là quy trình kỹ thuật tương đối đơn giản, thời gian phân tích nhanh và chi phí thấp, do đó phù hợp cho các nghiên cứu thăm dò ban đầu về đa dạng di truyền. Một nghiên cứu về đa dạng di truyền đã áp dụng kỹ thuật RAPD trên hai loài cỏ biển *Thalassia hemprichii* và *Enhalus acoroides* tại khu vực phía đông biển Java, Indonesia [60]. Bên cạnh đó, RAPD được dùng như là một công cụ hỗ trợ cho phân loại các loài gần nhau cũng như khảo sát đa dạng gen cỏ biển tại Ấn Độ [61]. Tuy nhiên, RAPD có độ lặp lại thấp và kết quả dễ bị ảnh hưởng bởi điều kiện PCR, chất lượng DNA và thao tác thí nghiệm. Vì vậy, dữ liệu RAPD

thường có độ tin cậy hạn chế và ít được sử dụng trong các nghiên cứu chuyên sâu về cấu trúc di truyền quần thể cỏ biển hiện nay [51].

AFLP là phương pháp kết hợp giữa enzyme cắt giới hạn và phản ứng PCR nhằm khuếch đại chọn lọc các đoạn DNA đa hình trên toàn hệ gen. Phương pháp này tạo ra số lượng lớn marker phân tử và có độ đa hình cao hơn so với RAPD, cho phép phát hiện hiệu quả sự khác biệt di truyền giữa các quần thể. AFLP đã được ứng dụng trong nhiều nghiên cứu thực vật và sinh vật biển để đánh giá đa dạng di truyền và cấu trúc quần thể ở quy mô không gian rộng [51]. Kỹ thuật AFLP đã được áp dụng để xác định sai khác kiểu gen loài *H. ovalis* sinh trưởng ở các điều kiện độ mặn khác nhau tại Ấn Độ [62] hay sai khác kiểu gen ở các quần thể *H. ovalis* giữa Thái Bình Dương và Ấn Độ Dương [63]. Mặc dù sở hữu nhiều ưu điểm nhưng quy trình AFLP tương đối phức tạp, đòi hỏi kỹ thuật cao và chi phí phân tích lớn hơn so với RAPD. Ngoài ra, AFLP là chỉ thị đồng trội, không phân biệt kiểu gen đồng hợp và dị hợp tử, từ đó hạn chế một số phân tích di truyền quần thể chi tiết [64].

Các kỹ thuật chỉ thị DNA như RFLP, RAPD và AFLP đã được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu đa dạng di truyền quần thể, đóng vai trò quan trọng trong giai đoạn đầu của di truyền học phân tử. Tuy nhiên, các phương pháp này còn tồn tại những hạn chế nhất định về yêu cầu kỹ thuật, độ lặp lại và khả năng phân biệt chính xác kiểu gen. Trước nhu cầu phân tích chi tiết cấu trúc quần thể, dòng gen và cơ chế sinh sản của cỏ biển, chỉ thị có độ đa hình cao hơn đã được phát triển. Trong số đó, microsatellite (SSR) nổi lên như một công cụ hiệu quả nhờ tính đa hình cao và khả năng phân biệt rõ ràng các kiểu gen khác nhau.

1.4.2. Ưu điểm của phương pháp microsatellite (SSRs) và các nghiên cứu cỏ biển ứng dụng kỹ thuật này trên thế giới và tại Việt Nam

Microsatellite (SSR) là các đoạn DNA ngắn lặp lại theo trình tự đơn giản, phân bố rộng rãi trong hệ gen và có mức độ đa hình rất cao. Trong các phương pháp chỉ thị phân tử, SSRs có nhiều ưu thế như dễ thực hiện, có thể thực hiện trên nguồn DNA bị suy giảm, tiết kiệm được thời gian thực hiện. Bên cạnh đó thì SSRs là một marker trội (phân biệt được cá thể đồng hợp tử và dị hợp tử) trong khi đó các marker trên là marker đồng trội. Vì vậy SSRs được dùng nhiều trong các nghiên cứu về đa dạng gen và di truyền quần thể.

Một nghiên cứu tại Anh trong giai đoạn 1996 - 2018, cho thấy các số liệu về đa dạng gen dựa trên chỉ thị SSRs ở loài *Zostera marina* có đa dạng gen khá thấp, thông tin về đa dạng gen của loài này là cơ sở cho phân vùng bảo tồn tại quốc gia này [65]. Vào năm 2022 tại vùng biển Ấn Độ, hai loài cỏ biển thuộc họ Cymodoceaceae là *Oceana serrulata* (R.Brown) Byng & Christenhusz và *Cymodocea rotundata* cũng được đánh giá đa dạng gen dựa trên tám chỉ thị đa hình SCoT (Start codon targeted), nghiên cứu chỉ ra rằng các quần thể trên có ít trao đổi kiểu gen qua lại và các quần thể ở hai loài trên đang trên đà suy giảm [66]. Ứng dụng chỉ thị SSRs cũng được sử dụng trong nhiều nghiên cứu về các loài cỏ biển ở khu vực vùng biển Đông Nam Á, nơi được xem có diện tích phân bố cũng như đa dạng loài cao nhất. Phân tích đa dạng gen và dòng gen ở loài *Thalassia hemprichii* tại Philippine bằng chỉ thị SSRs cho thấy rằng khác biệt kiểu gen giữa các quần thể là tương đối lớn [52]. Đối với loài cỏ Xoan *H. ovalis* quanh bờ đảo Bành Hồ (Đài Loan), dựa trên 7 loci của chỉ thị SSRs đã chỉ ra rằng mỗi quần thể có kiểu gen riêng biệt, và các quần thể loài này có cấu trúc rõ nét do tác động của điều kiện thiên nhiên là chủ yếu [67].

Tại Việt Nam, nghiên cứu về cỏ biển cũng đã thực hiện từ khá sớm khi các nhà khoa học Pháp đã kể đến hai loài cỏ biển tại miền Bắc Việt Nam từ năm 1885. Tuy nhiên mãi cho đến năm 1993, Phạm Hoàng Hộ là người Việt đầu tiên xuất bản danh mục 12 loài cỏ biển của Việt Nam. Ứng dụng chỉ thị phân tử (cấp độ DNA) trong nghiên cứu đa dạng gen, đa dạng loài cỏ biển có lẽ bắt đầu từ năm 2013 do Phòng Thực vật biển, Viện Hải dương học thực hiện ở chi *Halophila* [62]. Cũng trong thời gian này loài cỏ biển *H. major* được ghi nhận lần đầu tiên cho khu hệ thực vật Việt Nam [1] dựa trên chỉ thị ITS, *rbcl* và *matK* kết hợp phân tích hình thái lá. Sai khác kiểu gen của loài *H. ovalis* cũng được nghiên cứu ở phạm vi rộng hơn giữa các quần thể tại Thái Bình Dương và Ấn Độ Dương. Kết quả cho thấy rằng bán đảo Malaysia - Thái Lan là nguyên nhân gây ra sự khác biệt gen ở hai khu vực [63]. Một loài cỏ biển khác thuộc chi *Halophila* là *H. beccarii* cũng đã thực hiện nghiên cứu bằng chỉ thị SSRs chỉ ra rằng các quần thể loài này tại Huế có mức độ đa dạng gen, đa dạng dòng rất thấp [68]. Nghiên cứu về tác động của các yếu tố môi trường lên đa dạng gen của loài cỏ biển có kích thước lớn nhất tại Việt Nam, *E. acoroides* ven bờ tỉnh Khánh Hòa vào năm 2019 cho thấy rằng các quần thể bị suy giảm diện tích mạnh (khu vực vịnh Cam Ranh, Mỹ Giang) có mức độ đa dạng gen

thấp hơn các thảm cỏ biển ôn đới (Tuần Lễ) [69]. Nghiên cứu của nhóm tác giả tại Đại học Huế và các nhà khoa học tại Bỉ về tác động của con người thông qua các hoạt động nuôi trồng thủy sản lên đa dạng gen của loài cỏ Lá dứa ở các thủy vực Nam Trung bộ cho thấy rằng: dòng gen trao đổi qua lại giữa các đầm phá ven bờ Nam Trung Bộ rất hạn chế. Do đó, khác biệt kiểu gen giữa các thủy vực trên tương đối cao [70]. Gần đây, nghiên cứu về đa dạng, cấu trúc quần thể và dòng gen ở loài cỏ Vích - *Thalassia hemprichii* ở các quần thể ven bờ Nam Trung Bộ và vịnh Thái Lan cho thấy các quần thể tại Cam Ranh (Khánh Hòa), Ninh Hải (Ninh Thuận cũ) và Phú Quốc (Kiên Giang) được xem là các quần thể cung cấp nguồn gen cho các quần thể còn lại, ba khu vực trên được đề xuất là các khu vực cần được bảo tồn bảo vệ tốt nhất nhằm bảo vệ nguồn gen của loài này [71]. Ngoài ra, hai đề tài nghiên cứu khác đều tập trung nghiên cứu về đa dạng gen, tính chống chịu của cỏ biển đang được tiến hành. Cụ thể đề tài Nafosted 106.06 - 2020.40 (ĐHKH Huế) đang tiến hành trên hai loài thuộc họ Cymodoceaceae và VAST 04 (Viện Hải dương học) đã tiến hành trên loài *E. acoroides* (họ Hydrocharitaceae) tại Vịnh Thái Lan. Tổng hợp các nghiên cứu liên quan đến đa dạng gen, đa dạng loài của cỏ biển được thể hiện trong **Bảng 1.2**.

Bảng 1.2. Tóm tắt các các nghiên cứu về ứng dụng chỉ thị phân tử trong nghiên cứu đa dạng loài/gen ở cỏ biển tại Việt Nam [72].

Số TT	Năm	Nội dung nghiên cứu và chỉ thị phân tử	Loài	Cơ quan thực hiện
1	2013	Đa dạng loài/Việt Nam; <i>rbcL</i> , <i>matK</i>	<i>Halophila</i> spp	Viện HDH
2	2013	Đa dạng loài/Việt Nam, ITS	<i>H. major</i>	Viện HDH
3	2014	Đa dạng gen, cấu trúc quần thể/: AFLP, SSRs, ITS	<i>H. ovalis</i> (vịnh Thái Lan, biển Andaman)	Viện HDH
4	2015	Đa dạng loài/ITS	Tất cả các loài	Viện HDH
5	2017	Đa dạng gen, cấu trúc quần thể/SSRs	<i>H. beccarii</i>	ĐHKH Huế
6	2018	Tiến hóa/ITS, <i>rbcL</i> , <i>matK</i>	<i>H. ovalis</i> (Thế giới)	Viện HDH
7	2019	Đa dạng gen, cấu trúc quần thể/SSRs	<i>E. acoroides</i> (Ven bờ Nam trung bộ)	Viện HDH

Số TT	Năm	Nội dung nghiên cứu và chỉ thị phân tử	Loài	Cơ quan thực hiện
8	2021	Đa dạng gen, cấu trúc quần thể/SSRs	<i>E. acoroides</i>	ĐHKH Huế
9	2021	Đa dạng haplotype/ITS	<i>H. major</i> (thế giới)	Viện HDH
10	2012	Thế lai	<i>H. ovalis/H.major</i>	Viện HDH
11	2022	Đa dạng gen, cấu trúc quần thể/SSRs	<i>T. hemprichii</i>	Viện HDH
12	2023	Đa dạng gen, cấu trúc quần thể/SSRs	<i>Cymodocea/Halodule</i>	ĐHKH Huế
13	2023	Đa dạng gen, cấu trúc quần thể/SSRs	<i>E. acoroides</i> (Biển Tây nam)	Viện HDH

(Ghi chú: HHD: Hải dương học, ĐHKH: Đại học khoa học)

Mặc dù *E. acoroides* là loài cỏ biển có vai trò sinh thái quan trọng tại Việt Nam, tuy nhiên nghiên cứu hiện nay mới chỉ tập trung vào phân bố và đặc điểm sinh thái, trong khi những khía cạnh về đa dạng di truyền, cấu trúc quần thể và sự dịch chuyển dòng gen vẫn chưa được khai thác đầy đủ. Vì vậy, việc tiến hành nghiên cứu ở cấp độ phân tử là hết sức cần thiết, nhằm bổ sung và hoàn thiện hiểu biết về mức độ đa dạng của loài này, đồng thời cung cấp cơ sở khoa học cho công tác quản lý và bảo tồn nguồn gen cỏ biển tại Việt Nam.

Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu và khu vực thu thập mẫu vật

- Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: Loài cỏ biển *Enhalus acoroides* (Linnaeus f.) Royle 1839 (Hình 2.1).

Hệ thống phân loại của cỏ Lá Dừa như sau:

Ngành Tracheophyta (Thực vật có mạch)

Lớp Monocots (Một lá mầm)

Bộ Alismatales (Thực vật thủy sinh)

Họ Hydrocharitaceae

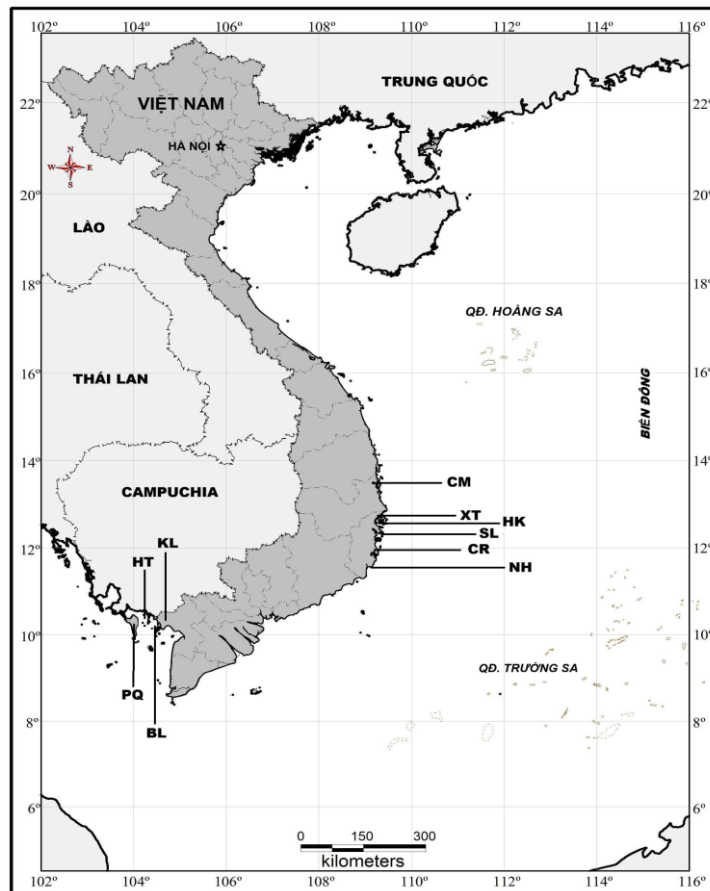
Chi *Enhalus*

Loài *Enhalus acoroides* (Linnaeus f.) Royle 1839



Hình 2.1. Loài cỏ Lá dừa – *Enhalus acoroides* tại Sông Lô, Khánh Hòa

- Thu thập mẫu vật



Hình 2.2. Bản đồ khu vực thu mẫu bổ sung tại Sông Lô (SL - Khánh Hòa) và các khu vực đã có mẫu: (Cù Mông (CM-Đắc Lắc), Xuân Tụ, Hòn Khói, Cam Ranh, Ninh Hải (XT; HK; CR; NH-Khánh Hòa), Phú Quốc, Hải Tặc, Bà Lụa, Kiên Lương (PQ; HT; BL; KL-An Giang).

Trong nghiên cứu này, 90 mẫu cỏ Lá dứa *E. acoroides* được thừa hưởng từ đề tài (VAST04.01/20-21) và 90 mẫu từ đề tài (VAST04.09/23-24) hiện đang lưu trữ tại Phòng Thực vật biển, Viện Hải dương học. Số lượng mẫu vật được thu thập từ mười quần thể riêng biệt. Với sáu quần thể đã được thu thập từ đề tài (VAST04.01/20-21) gồm: Cù Mông (CM) 15 mẫu, Xuân Tụ (XT) 15 mẫu, Hòn Khói (HK) 15 mẫu, Cam Ranh (CR) 15 mẫu, Ninh Hải (NH) 15 mẫu, đảo Phú Quốc (PQ) 15 mẫu. Và ba quần thể có được từ đề tài (VAST04.09/23-24) gồm: quần đảo Hải Tặc (HT) 30 mẫu, quần đảo Bà Lụa (BL) 30 mẫu, ven bờ Kiên Lương (KL) 30 mẫu. Ngoài ra, đề tài sẽ thu thập thêm 16 mẫu cỏ Lá dứa tại khu vực Sông Lô, tỉnh Khánh Hòa. Như vậy, có tổng cộng 196 mẫu được thực hiện cho đề tài này. Mười quần thể tập trung phân bố chủ yếu tại hai vùng

biển gồm vùng ven bờ Nam Trung Bộ (biển Đông) và biển Tây Nam (vịnh Thái Lan) (**Hình 2.2**). Tọa độ khu vực thu mẫu được thể hiện qua **Bảng 2.1**.

Bảng 2.1. Khu vực nghiên cứu và số lượng mẫu sử dụng trong nghiên cứu tại mười quần thể *E. acoroides*

Tên quần thể	Ký hiệu quần thể	Vĩ độ bắc ($^{\circ}$ N)	Kinh độ đông ($^{\circ}$ E)	Số lượng mẫu	Khu vực	Nguồn mẫu vật
Cù Mông	CM	15,39	109,12	15	Nam Trung bộ	VAST04.01 /20-21
Xuân Tự	XT	12,64	109,20	15		
Hòn Khói	HK	12,16	109,21	15		
Cam Ranh	CR	11,97	109,21	15		
Ninh Hải	NH	11,61	109,15	15		
Sông Lô	SL	12,17	109,20	16		Thu bổ sung
Phú Quốc	PQ	10,25	104,09	15	Tây Nam	VAST04.09 /23-24
Hải Tặc	HT	10,32	104,32	30		
Bà Lụa	BL	10,14	104,50	30		
Kiên Lương	KL	10,18	104,60	30		
Tổng				196		

Khoảng cách giữa các quần thể nằm trong khoảng từ 20-1.250 km. Tại mỗi quần thể, 15-30 cây cỏ biển được thu thập, khoảng cách giữa các cá thể là 30-40 m, nhằm tránh thu các cá thể được hình thành từ quá trình sinh sản sinh dưỡng. Trên mỗi cây, chọn lá non nhất, cắt một đoạn 1-2 cm, sau đó rửa lại bằng nước cất tiệt trùng, dùng giấy thấm để làm khô mẫu, bảo quản trong ống eppendorf và vận chuyển về phòng thí nghiệm. Tại phòng thí nghiệm, các mẫu cỏ biển được làm khô bằng hạt Silica gel của hãng GHTECH (cho vào mỗi ống 15-20 hạt) và để ở nhiệt độ phòng 3 đến 4 ngày cho đến khi mẫu khô hoàn toàn. Lưu trữ ở nhiệt độ -20°C cho đến khi tách DNA.

2.1.2. Hóa chất và trang thiết bị dùng cho nghiên cứu

- Hóa chất sử dụng trong nghiên cứu:

+ Bộ kit i-genomicTM Plant DNA Extration Mini Kit (inTRON/Hàn Quốc); Ethanol 99,9% (Merck/ Đức); thuốc nhuộm CSL-Runsafe (UK); đệm 2x Qiagen Type-IT[®] (Qiagen), nước sinh học phân tử (Promega); Silica gel self indicator (Ghtech).

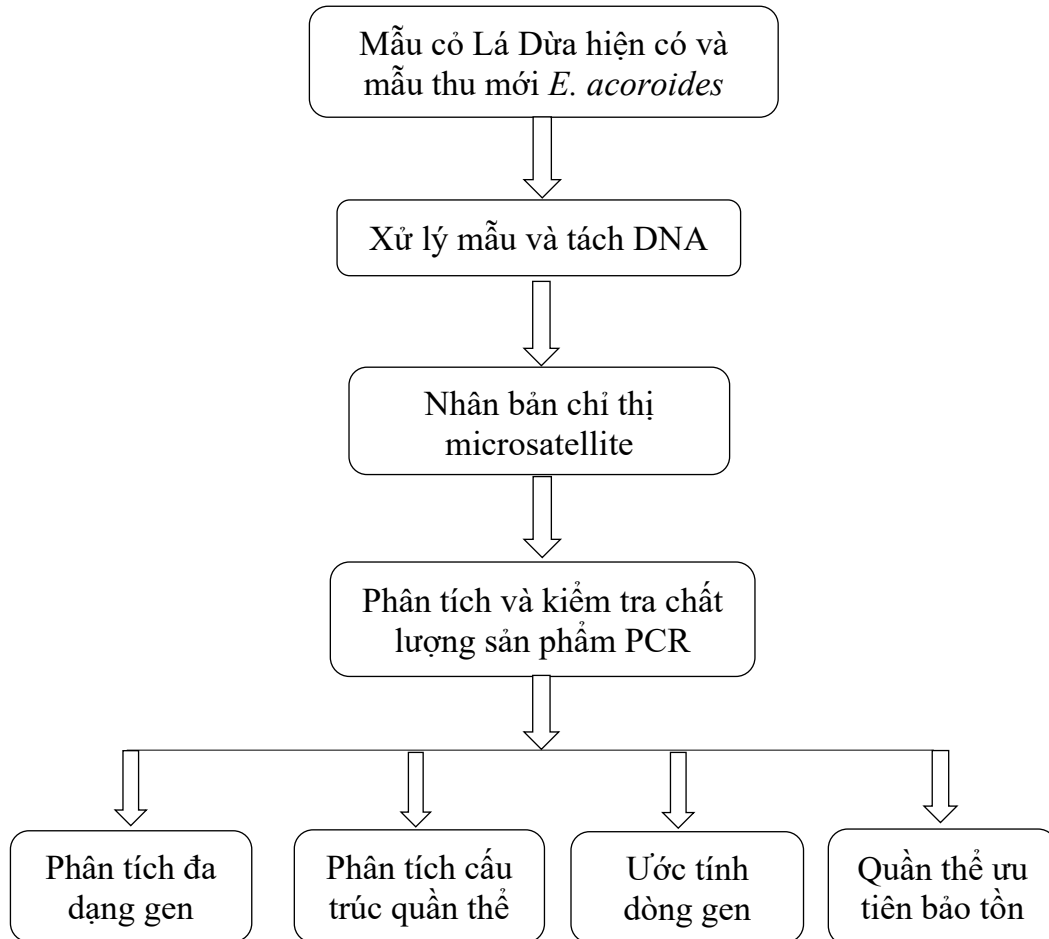
- Trang thiết bị phục vụ cho nghiên cứu:

+ Máy nghiền mẫu MM 400 (Retsh); máy lắc trộn (Velp/Ý); máy li tâm lạnh (Eppendor/Đức); máy Rotavapor R-300 (Buchi/Thụy Sĩ); thiết bị điện di

sản phẩm Mupid[®] -2 plus (Optima); máy đo DNA Spectrophotometer U-2900 (Hitachi); máy luân nhiệt PTC 200 Thermo cycler (Đức); hệ thống máy Applied Biosystems 3730 DNA Analyser (Thermo).

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đề tài được thực hiện theo sơ đồ nghiên cứu tổng quát như sau:



Hình 2.3. Sơ đồ nghiên cứu tổng quát của đề tài

2.2.1. Xử lý mẫu và tách DNA

Tại phòng thí nghiệm, mẫu cỏ biển khô được nghiền thành bột mịn bằng máy nghiền mẫu (MM 400 của hãng Retsch, Đức) ở tần số 20 Hz trong thời gian một phút. Bột mẫu sau khi được nghiền dùng để tách DNA bằng bộ kit i-genomic[™] Plant DNA Extraction Mini Kit (inTRON Biotechnology, Hàn Quốc) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Quá trình tách DNA được tóm tắt như sau: Sử dụng khoảng 25 mg bột mẫu cho vào các ống 2 ml đã tiệt trùng, sau đó thêm 422 μ l hỗn hợp dung dịch đệm (390 μ l dung dịch đệm PG, 7 μ L Enhancer Solution, 20 μ L Proteinase K và 5 μ L Rnase A Solution). Lắc đều để cho dung dịch đệm và mẫu trộn lẫn hoàn toàn. Mẫu được ủ ở nhiệt độ 65°C trong ba giờ

(đảo mẫu sau mỗi 30 phút để mẫu được ly giải hoàn toàn). Thêm 100 μL Buffer PPT vào dịch ly giải, trộn đều và ủ 5 phút trên đá lạnh. Tiếp theo, mẫu được ly tâm ở nhiệt độ 25°C với vận tốc 13.000 rpm trong hai phút. Thu lấy dịch nổi, chuyển cẩn thận 200 μL dịch nổi sang một ống 1,5 ml mới. Thêm 650 μL dung dịch đệm PB vào dịch ly giải, trộn đều bằng cách đảo ngược nhẹ nhàng 5 đến 6 lần. Tiếp theo cho 650 μL hỗn hợp dung dịch cho vào cột xoay (spin column), ly tâm ở tốc độ 13.000 rpm trong hai phút. Giữ cột xoay, tiếp tục cho thêm 200 μL hỗn hợp dung dịch còn lại, ly tâm ở tốc độ 13.000 rpm trong hai phút. Giữ cột, đặt cột xoay vào một ống thu 2 ml mới. Tiếp tục thêm 700 μL dung dịch đệm PWA, ly tâm ở tốc độ 13.000 rpm trong vòng hai phút, bỏ dịch thải. Thêm 700 μL dung dịch đệm PWB, ly tâm với tốc độ 13.000 rpm trong hai phút, bỏ dịch thải. Sau đó chuyển cột sang ống 2 mL mới để thu DNA từ cột. Thêm 75 μL dung dịch đệm PE, ủ 3 phút ở nhiệt độ phòng, ly tâm cột ở tốc độ 13.000 rpm trong hai phút. Thu dung dịch có chứa DNA. Lưu giữ DNA ở nhiệt độ -20°C cho các bước tiếp theo.

Định tính DNA bằng điện di agarose với thuốc nhuộm là CSL-Runsafe (Cleaver Scientific Ltd, Warwickshire, UK). Đun nóng dung dịch agarose 1% cho tan hoàn toàn, để nguội đến 70°C , sau đó bổ sung thuốc nhuộm DNA vào dung dịch agarose trên, lắc đều, và cho vào khay điện di, sau khi thạch nguội, tiến hành chạy điện di. Thể tích dùng cho điện di là 5 μL bao gồm 4 μL DNA và 1 μL đệm (6x Gelred Loading Dye Buffer), điện di được thực hiện trên máy điện di Maxi Horizontal Electrophoresis Packages (Model: MSMAXIDUO-PP300). Quá trình điện di thực hiện trong 30 phút ở hiệu điện thế là 90 V. Sau khi quá trình điện di hoàn thành, quan sát băng gel dưới tia UV và ghi nhận hình ảnh, mẫu DNA đạt tiêu chuẩn được kiểm tra định tính trên điện di phải hiện rõ một vạch/băng sáng, gọn và không bị đứt gãy. Nồng độ DNA được định lượng bằng máy Nanodrop (Shimadzu, Nhật Bản) theo hướng dẫn của nhà sản xuất, thể tích sử dụng để đo là 0,5 μL . DNA được đo trên hai bước sóng: 260 và 280 nm, nồng độ DNA dao động từ 5-10 ng/ μL . Qua đó đủ tiêu chuẩn để thực hiện phản ứng trùng phân PCR.

2.2.2. Nhân bản chỉ thị microsatellite

Trong nghiên cứu này, 12 cặp môi được đề xuất bởi Nakajima và cộng sự [49] được sử dụng. Phản ứng PCR được thực hiện trên ba nhóm PCR khác

nhau. Nhóm A bao gồm ba đôi môi để nhân bản ba loci là Eaco_001 (232-246 bp, [TG]_n), Eaco_010 (157-159 bp, [TG]_n), Eaco_018 (115-117 bp, [TG]_nTA[TG]_n). Nhóm B bao gồm bốn đôi môi để nhân bản bốn loci là Eaco_050 (243-255 bp, [TG]_nTA[TG]_nTATG[TA]_n), Eaco_051 (206-231 bp, [GA]_nGTGC[GT]_nGC[GT]_n), Eaco_54 (267-295 bp, [CT]_n) và Eaco_055 (165-191 bp, [TC]_nCG[TG]_n). Nhóm C bao gồm năm đôi môi để nhân bản năm loci là Eaco_002 (187-191 bp, [TG]₅CG[TG]₄TATGTCTGTA[TG]₈N₂₈[TG]₉), Eaco_019 (195–197 bp, [CT]₇), Eaco_048 (145–147 bp, [GT]₈), Eaco_052 (147–149 bp, [TG]₄TC[TG]₄TC[TG]₅), EA447 (184 - 190 bp, [TG]₁₄[GA]₁₃[TG]₅). Trình tự các đôi môi được sử dụng cho ba nhóm PCR A, B và C thể hiện trong **Phụ lục 1**. Điều kiện phản ứng PCR theo Nakajima và cộng sự [73].

Thể tích phản ứng PCR là 12,5 µl bao gồm 6,25 µl 2X Qiagen Type - IT® (Qiagen, Hilden, Germany), 1 µl mỗi loại môi, 4,25 µl nước cất tiệt trùng và 1 µl DNA khuôn. Chu trình nhiệt của phản ứng PCR như sau: 15 phút tại nhiệt độ biến tính ban đầu là 95°C, 32 vòng lặp với nhiệt độ biến tính 94°C trong 30 giây, nhiệt độ bắt mỗi là 58°C trong thời gian 90 giây, pha kéo dài là 72°C trong thời gian 60 giây. Kết thúc phản ứng ở 60°C trong 30 phút. Điều kiện phản ứng PCR thực hiện giống nhau ở cả ba nhóm. Phản ứng PCR được thực hiện trong đĩa 96 giếng bằng máy luân nhiệt PTC 200 Thermo cycler (Biozym-Diagnostik GmbH, Hessisch Oldendorf, Germany) tại Phòng thí nghiệm Trọng điểm cấp Viện Hàn lâm KHCVN đặt tại Viện Hải dương học.

2.2.3. Phân tích đoạn và kiểm tra chất lượng sản phẩm PCR

Phân tích đoạn (Fragment size analysis) được thực hiện tại 1stBASE (Selangor, Malaysia) với hệ thống máy Applied Biosystems 3730 DNA Analyser. Chiều dài (bp) đoạn được tính bằng phần mềm GeneMapper 5. Các mẫu có alen không rõ ràng hoặc không có sẽ được thực hiện PCR lại lần thứ hai để xác nhận. Sử dụng phần mềm Micro-Checker, version 2.2.3 [74] để kiểm tra lỗi trong quá trình số hóa độ dài alen.

2.2.4. Phân tích đa dạng gen tại mười quần thể nghiên cứu

Số lượng cá thể/quần thể có khác nhau về di truyền (multilocus genotypes - *MLGs*) được kiểm tra bằng phần mềm GenClone, version 2.0 [75]. Cá thể/quần thể giống nhau 100% dựa trên 12 loci sẽ loại bỏ vì chúng được

hình thành từ quá trình sinh sản sinh dưỡng. Mức độ đa dạng dòng (R) được tính theo phương pháp của Dorken và Eckert [76]:

$$R = (G-1)/(n-1)$$

Trong đó: G thể hiện số lượng cá thể có kiểu gen khác nhau (genotypes) và n là số lượng mẫu thực hiện thành công.

Độ đa dạng gen tính toán cho mỗi quần thể dựa trên các thông số sau:

- Dị hợp tử mong đợi (H_E) ở điều kiện cân bằng Hardy-Weinberg = (Σ tần suất dị hợp tử mong đợi tại mỗi locus)/(tổng số locus khảo sát); Dị hợp tử quan sát được (H_O) = (Σ tần suất di hợp tử mong đợi tại mỗi locus)/(số lượng cá thể khảo sát); Độ giàu alen được chuẩn hóa ở n genotypes (A_n).

A được chuẩn hóa về cùng đơn vị mẫu MLGs bằng gói standArich (<http://alberto-lab.blogspot.nl/p/code.html#!/p/code.html>) trong R 2.15.3. Số trung bình P_A được tính bằng phần mềm GenAlEx Version 6.5 [77].

- Độ lệch chuẩn trong cân bằng Hardy-Weinberg được thử bằng thuật toán Markov-chain algorithm do Guo và Thompson [78] phát triển, thực hiện bằng phần mềm Arlequin 3.5 [79]; Mất cân bằng liên kết giữa các loci trong mỗi quần thể và cho toàn bộ quần thể được tính toán bằng phần mềm Arlequin 3.5; Hệ số lai cận huyết (inbreeding coefficient - F_{IS}) được tính theo phương pháp của Weir và Cockerham [80] thông qua phần mềm FSTAT v2.9.3.2 [81].

2.2.5. Phân tích cấu trúc quần thể tại các khu vực nghiên cứu

Ma trận khác biệt kiểu gen F_{ST} giữa các quần thể được tính theo phương pháp của Weir và Cockerham [81]. Cấu trúc quần thể dựa trên chỉ thị SSRs được xử lý bằng phần mềm STRUCTURE, version 2.3.4 [82]. Thông số được cài đặt với số lượng nhóm từ 1 đến 10 (giá trị k). Tại mỗi giá trị k , khối dữ liệu được lặp lại 15 lần độc lập với nhau bằng phương pháp MCMC (Markov Chain Monte Carlo) = 750.000; burn-in = 100.000.

Quyết định số lượng nhóm (clusters) được tính toán bằng hai phương pháp dựa trên khoảng cách $L(k)$ cao nhất [83] và số Δk cao nhất [84]. Δk có được thông qua phần mềm trực tuyến Structure Harvester [85] trong khi đó $L(k)$ được tính toán bằng Excel thông thường. Bên cạnh đó, phân tích nhóm dựa trên phương pháp Unweighted Pair group (UPGMA), được thực hiện bằng

phần mềm POPTREE2 [86]. Phép thử AMOVA (Analysis of MOlecular VAriance) được sử dụng để tìm hiểu xem có sự khác biệt hay không giữa: i) các nhóm (F_{CT}), trong nghiên cứu này hai nhóm được giả định là vùng biển Đông và vùng biển Tây (vịnh Thái Lan), và ii) giữa các quần thể trong cùng một nhóm (F_{ST}). Phân tích AMOVA được thực hiện bằng phần mềm Arlequin 3.5.

Khoảng cách địa lý giữa các quần thể được xác định bằng đường biển ven bờ gần nhất thông qua bản đồ số của NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration, USA). Ma trận tương quan giữa khoảng cách địa lý và khoảng cách gen được thử bằng phép thử Mantel test, thực hiện trong phần mềm mở rộng Microsoft® Excel 2020.3/XLSTAT® -Pro (Addinsoft, Inc., Brooklyn, NY, USA).

2.2.6. Ước tính dòng gen giữa các quần thể

Hướng dịch chuyển dòng gen giữa các quần thể được phân tích bằng phần mềm MIGRATE-N 3.6.11 [87]. Giá trị càng lớn thì khả năng trao đổi gen giữa hai quần thể càng cao. Ma trận tỷ lệ dịch chuyển dòng gen giữa 10 quần thể cỡ *E. acoroides* được tính bằng phần mềm BayesAss 3.0.3 [88]. Biểu đồ Circos về xu hướng dòng gen từ “quần thể cho” (source) đến “quần thể nhận” (sink) được tính toán thông qua phần mềm BayesAss 3.0.3) và được thực hiện trên nền tảng *R* phiên bản 4.5.0.

2.2.7. Xác định quần thể ưu tiên bảo tồn

Nhằm xác định quần thể nào cần ưu tiên bảo vệ (R_T), chúng tôi sử dụng cả hai thông số bao gồm khác biệt kiểu gen trong mỗi quần thể (R_S) và khác biệt kiểu gen giữa các quần thể (R_D) theo công thức của Yu và cs [89]. Quần thể nào có chỉ số ưu tiên cao là quần thể cần được ưu tiên bảo vệ. Công thức của Yu và cộng sự được tính như sau:

$$R_{Sk} = \frac{R_k}{n}; R_{Dk} = \sum_i^{R_k} \frac{n-n_i}{nn_i}; R_{Tk} = R_{Sk} + R_{Dk} = \sum_i^{R_k} \frac{1}{n_i}$$

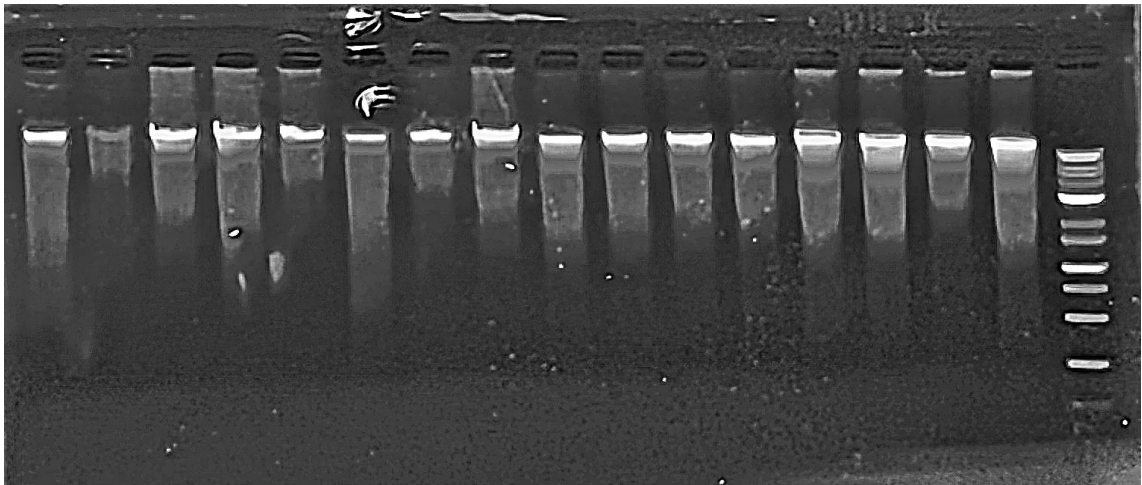
$$C_{RSk} = \frac{R_{Sk}-\bar{R}_D}{R_T}; C_{RDk} = \frac{R_{Dk}-\bar{R}_D}{R_T}; C_{RTk} = \frac{R_{Tk}-\bar{R}_T}{R_T}$$

Trong đó n là số lượng quần thể, R_k là số lượng alen của quần thể k^{th} , n_i là số lượng quần thể chứa alen i^{th} , R_T là độ giàu có alen ở cấp độ loài, \bar{R}_T là độ giàu có alen trung bình của n quần thể.

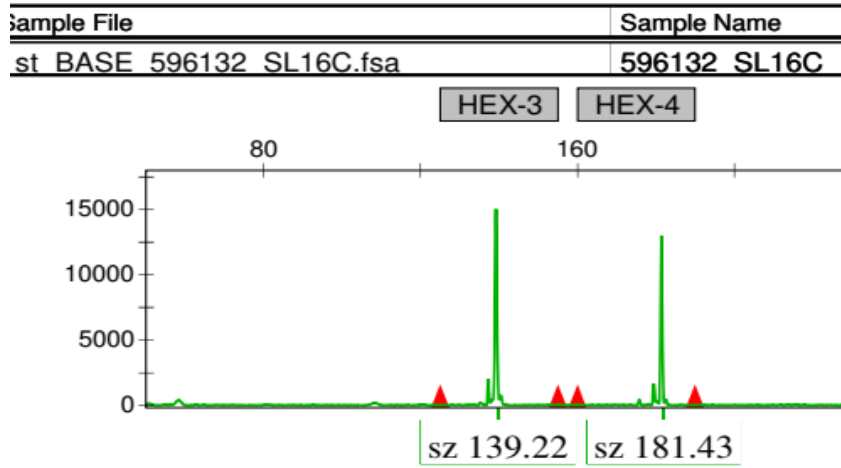
Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. PHÂN TÍCH VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG SẢN PHẨM DNA VÀ SẢN PHẨM PCR

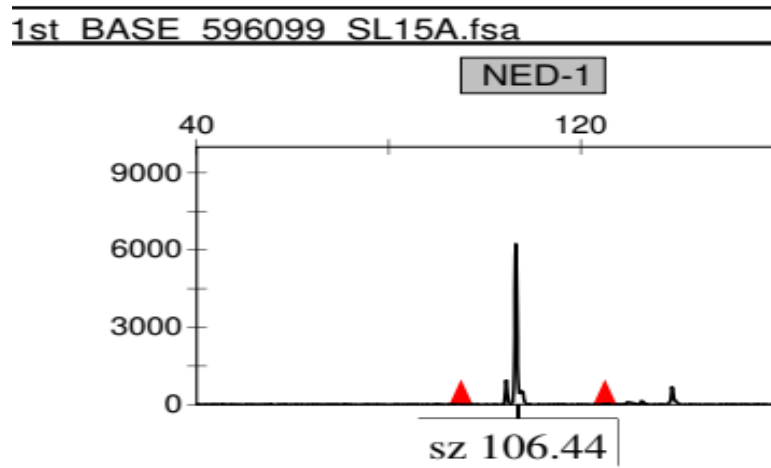
Kết quả điện di sau khi tách DNA khỏi tế bào cho thấy DNA có chất lượng tốt, ít đứt gãy (**Hình 3.1**). Kết quả đo hàm lượng DNA bằng máy Nanodrop cho thấy hàm lượng DNA dao động từ 3-5 $\mu\text{g/mL}$. Với hàm lượng và chất lượng này, DNA đủ tiêu chuẩn để thực hiện phản ứng trùng phân (nhân bản gen - PCR) (**Hình 3.2, 3.3 và 3.4**). Khối dữ liệu phân tích gồm 196 mẫu được thực hiện. Trong đó, có 159/196 mẫu được thực hiện thành công trên cả 12 loci được tích hợp từ đề tài VAST04.01/20-21 (15 mẫu/quần thể) chỉ có 81 mẫu được thực hiện thành công trên cả 12 loci. Cộng với kết quả của 90 mẫu từ ba quần thể (30 mẫu/quần thể) từ đề tài VAST04.09/23-24 với 62 mẫu được thực hiện thành công. Đồng thời kết hợp với kết quả của 16 mẫu được thu tại khu vực Sông Lô, tỉnh Khánh Hòa. Như vậy, có tổng cộng 159 mẫu được sử dụng cho các phân tích trong đề tài này.



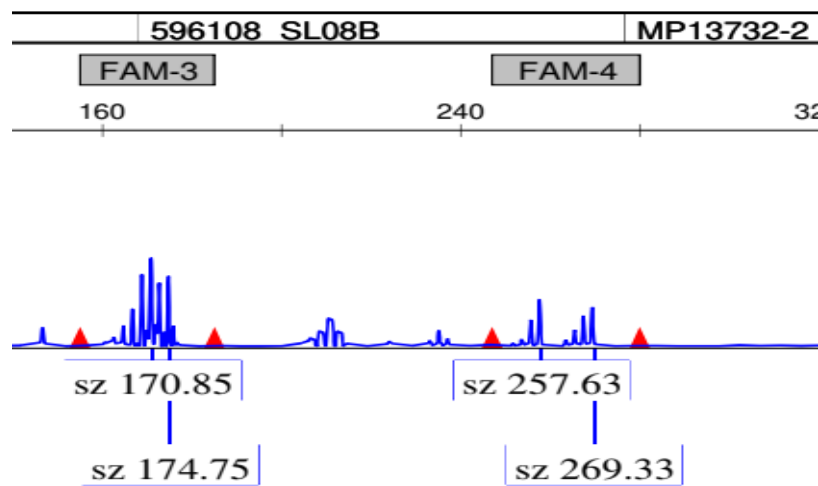
Hình 3.1. Kết quả điện di sau khi tách DNA từ các mẫu cỏ Lá Dừa *E. acoroides*.



Hình 3.2. Kích thước (bp) của locus *Eaco_048* được nhuộm bằng HEX



Hình 3.3. Kích thước (bp) của locus *Eaco_018* được nhuộm bằng NED



Hình 3.4. Kích thước (bp) của locus *Eaco_054* và *Eaco_055* được nhuộm bằng FAM

3.2. KẾT QUẢ PHÂN TÍCH ĐA DẠNG GEN QUẦN THỂ CỎ LÁ DỪA *E. acoroides* TẠI VÙNG VEN BIỂN NAM TRUNG BỘ VÀ TÂY NAM, VIỆT NAM

Bảng 3.1. Số lượng alen/locus và tỷ lệ đơn hình hoặc đa hình của loài cỏ Lá dừa *E. acoroides* tại mười quần thể thực hiện nghiên cứu.

Locus	Số lượng alen	CM	XT	HK	CR	NH	SL	PQ	HT	BL	KL
Eaco_001	4	P	P	P	P	P	M	P	M	P	M
Eaco_010	4	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
Eaco_018	3	P	M	P	P	M	M	M	P	M	P
Eaco_050	5	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
Eaco_051	10	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
Eaco_054	18	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
Eaco_055	16	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
Eaco_002	3	M	P	P	M	P	P	P	P	P	P
Eaco_019	2	M	M	M	M	M	M	P	M	M	M
Eaco_048	4	M	M	P	P	P	M	P	P	P	P
Eaco_052	3	M	M	P	P	P	M	P	P	P	P
Eaco_447	10	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
Tỷ lệ P (%)		66,7	66,7	91,7	83,3	83,3	58,3	91,7	83,3	83,3	83,3

Đa hình – Polymorphism (P), Đơn hình – Monomorphism (M)

Ghi chú: (CM: Cù Mông, XT: Xuân Tụ, HK: Hòn Khói, CR: Cam Ranh, NH: Ninh Hải, SL: Sông Lô, PQ: Phú Quốc, HT: Hải Tặc, BL: Bà Lụa, KL: Kiên Lương)

Số lượng alen trên các locus phản ánh sự khác biệt rõ rệt trong mức độ đa dạng di truyền giữa các chỉ thị. Trong 12 locus được khảo sát, có 03 locus nổi trội với số lượng alen cao, bao gồm Eaco_054 với 18 alen, Eaco_055 với 16 alen, Eaco_051 và Eaco_447 với 10 alen. Ngược lại, một số locus lại thể hiện số lượng alen thấp, chẳng hạn như Eaco_019 chỉ có 2 alen, cùng với Eaco_018, Eaco_002 và Eaco_052 chỉ có 3 alen (**Bảng 3.1**).

Khi phân tích dữ liệu về đơn hình và đa hình tại các quần thể, có thể nhận thấy sự phân hóa di truyền giữa các địa điểm khảo sát. Nhìn chung, phần lớn các locus thể hiện tính đa hình ở nhiều quần thể, phản ánh sự tồn tại của biến dị di truyền và khả năng duy trì nguồn gen phong phú. Tuy nhiên, vẫn có một số locus chỉ xuất hiện dưới dạng đơn hình ở một số quần thể, cho thấy sự suy giảm biến dị hoặc ảnh hưởng của các yếu tố chọn lọc và rào cản địa lý. Các locus Eaco_010, Eaco_050, Eaco_051, Eaco_054, Eaco_055 và Eaco_0447 luôn ở trạng thái đa hình tại tất cả các quần thể, chứng minh vai trò quan trọng của chúng trong việc duy trì biến dị di truyền. Ở locus Eaco_01 và Eaco_02, trạng thái đơn hình được ghi nhận lần lượt tại các quần thể Hải Tặc và Kiên Lương cũng như Cù Mông và Cam Ranh. Trong khi đó, các locus Eaco_048 và Eaco_052 lại thể hiện đơn hình tại ba quần thể Cù Mông, Xuân Tụ và Sông Lô. Đặc biệt locus Eaco_19 chỉ thể hiện đa hình duy nhất ở quần thể Phú Quốc nhấn mạnh sự khác biệt nổi bật về cấu trúc di truyền giữa các quần thể (**Bảng 3.1**).

Xét về tỷ lệ đa hình, tỷ lệ phần trăm trung bình của loci đa hình được tính toán cho mười quần thể là 79,16%. Các quần thể như Hòn Khói và Phú Quốc có tỷ lệ đa hình cao nhất (91,7%), thể hiện sự đa dạng di truyền mạnh mẽ. Ngược lại, Sông Lô chỉ đạt 58,3%, thấp nhất trong số các quần thể. Các quần thể còn lại dao động trong khoảng từ 66,7% đến 83,3%, cho thấy sự khác biệt vừa phải nhưng vẫn duy trì mức đa dạng tương đối ổn định (**Bảng 3.1**).

Mức độ đa dạng kiểu gen (*MLGs*) có sự khác nhau giữa các quần thể, dao động từ 11 (Hải Tặc) đến 27 (Bà Lụa). Hệ số đa dạng dòng *R* là từ 0,77-1,0. Số lượng alen trung bình (*A*) và độ giàu có alen trung bình khi được chuẩn hóa đến 22 genotype (A_{22}) trên tất cả loci thay đổi từ 2,42 (Cù Mông) -3,75 (Cam Ranh) và 2,37 (Cù Mông) -3,56 (Cam Ranh), theo tuần tự. Sáu quần thể thuộc khu vực biển Nam Trung Bộ bao gồm: Cù Mông, Xuân Tụ, Hòn Khói,

Sông Lô, Cam Ranh và Ninh Hải đều có hệ số đa dạng dòng $R = 1$, chứng tỏ mỗi cá thể đều mang một kiểu gen riêng biệt, phản ánh các quần thể này hầu hết là sinh sản hữu tính và có mức độ biến dị di truyền cao. Ngược lại, bốn quần thể thuộc khu vực biển phía Tây Nam chỉ có quần thể Phú Quốc có hệ số đa dạng dòng $R = 1$, ba quần thể còn lại đều có hệ số đa dạng dòng thấp, đặc biệt quần thể Hải Tặc có số lượng $MLGs$ thấp nhất ($MLGs = 11$) và hệ số R chỉ đạt 0,77, thấp nhất trong 10 quần thể tiến hành khảo sát. Độ giàu có alen trung bình của các quần thể tại vùng biển phía Tây Nam (2,73) thấp hơn các quần thể ven bờ khu vực Nam Trung Bộ (2,99). Độ giàu có alen đặc thù (private allele - P_A) dao động từ 0,04 (Xuân Tụ) đến 0,32 (Phú Quốc), và có sự khác biệt giữa các quần thể. Trong số 19 alen đặc thù, các quần thể thuộc khu vực Nam Trung Bộ đóng góp 9 alen đặc thù và vùng biển Tây Nam đóng góp 10 alen đặc thù (**Bảng 3.2**).

Dị hợp tử quan sát (H_O) và dị hợp tử mong đợi (H_E) tại quần thể Cam Ranh lần lượt là 0,34 và 0,48, cao nhất trong các quần thể được khảo sát. Các quần thể ở biển Tây Nam có mức dị hợp tử quan sát (0,14 - 0,2) thấp hơn các quần thể ven bờ Nam Trung Bộ (0,19 - 0,34). Bên cạnh đó, giá trị H_O tại mười quần thể được khảo sát đều thấp hơn giá trị H_E , cụ thể các quần thể tại khu vực Nam Trung Bộ như Cù Mông ($H_O = 0,19$; $H_E = 0,36$), Ninh Hải ($H_O = 0,25$; $H_E = 0,48$) có sự chênh lệch nhiều giữa giá trị dị hợp tử mong đợi và dị hợp tử quan sát được. Đối với khu vực Tây Nam, cũng xuất hiện tình trạng tương tự Phú Quốc ($H_O = 0,2$; $H_E = 0,44$) và Hải Tặc ($H_O = 0,16$; $H_E = 0,4$), điều này cho thấy sự thiếu hụt dị hợp tử so với kỳ vọng (**Bảng 3.2**).

Hệ số lai cận huyết F_{IS} của các quần thể dao động từ 0,287 (Cam Ranh) đến 0,726 (Bà Lụa). Trong đó, sáu quần thể thuộc khu vực ven bờ Nam Trung Bộ có mức độ lai cận huyết ít nghiêm trọng hơn, mặc dù vẫn có sự thiếu hụt dị hợp tử. Các quần thể thuộc khu vực biển phía Tây Nam có giá trị F_{IS} cao hơn, phản ánh tình trạng suy giảm biến dị di truyền. Đáng chú ý quần thể Phú Quốc vốn có độ đa dạng gen cao nhưng cũng có hệ số $F_{IS} = 0,567$, cho thấy quần thể này cũng đang chịu áp lực di truyền đáng kể (**Bảng 3.2**).

Tại 10 quần thể được khảo sát, *E. acoroides* có R khá cao ($R = 0,77 - 1$) và có 7/10 quần thể có độ giàu kiểu gen $R = 1$. Nghiên cứu của Nguyen và Papenbrock [69] vào năm 2019 về các quần thể cỏ Lá dứa tại Khánh Hòa cũng

ghi nhận 6/6 quần thể có $R = 1$. Bên cạnh đó, nghiên cứu của Dierick và cộng sự [70] cũng báo cáo về sự phong phú và cấu trúc dòng vô tính, đa dạng di truyền, cũng như mức độ phát tán trong và giữa tám quần thể *E. acoroides* tại bốn đầm phá dọc theo vùng duyên hải Nam Trung Bộ. Điều này phần nào chứng minh hình thức sinh sản hữu tính là hình thức sinh sản chính ở loài cỏ *E. acoroides* tại Việt Nam. Chỉ số R cao cũng được tìm thấy ở các khu vực nghiên cứu loài cỏ này tại Philippines [49], [75] hoặc tại đảo Hải Nam, Trung Quốc [91]. Độ giàu kiểu gen tối thiểu của *E. acoroides* có xu hướng cao hơn so với các loài cỏ biển khác như *Posidonia oceanica* ($R = 0,10 - 1,00$) [90], *Thalassia testudinum* ($R = 0,09 - 0,80$) [91], *Z. marina* ($R = 0,00 - 1$) [92]. Trong nghiên cứu này, độ giàu kiểu gen tại quần thể Hải Tặc thấp nhất trong 10 quần thể ($R = 0,77$); tuy nhiên vẫn cao hơn một số quần thể tại khu vực Vân Phong ($R = 0,36$), Thủy Triều ($R = 0,51$) trong nghiên cứu của Dierick và cộng sự [70], và quần thể cỏ Lá dứa ở đảo Lakawonhai ($R = 0,48$) tại Philippines, những quần thể này vốn đang bị đe dọa bởi hoạt động nuôi trồng thủy sản [49]. Điều này như một dấu hiệu cảnh báo rõ ràng cho quần thể cỏ biển tại đảo Hải Tặc khi quần thể này cũng đang chịu áp lực bởi hoạt động của con người. Độ giàu có alen (A_{22}) ở các thảm cỏ *E. acoroides* trong nghiên cứu này là 2,37 - 3,56, gần như tương đương với các thảm cỏ biển tại khu vực đầm phá Duyên hải Nam Trung Bộ (1,95 - 3,48) [70] và đảo Hải Nam (2,8 - 3,8) [89], nhưng thấp hơn một chút so với các quần thể tại Philippines (1,93 - 4,70) [49].

Nhìn chung, dị hợp tử quan sát H_O của loài *E. acoroides* trong nghiên cứu này nằm trong khoảng từ 0,14 - 0,34, thấp hơn so với các nghiên cứu trước đây của Dierick tại các đầm phá khu vực Nam Trung Bộ (0,239 - 0,431) [70] và của Nguyen và Papenbrock [69] tại Khánh Hòa (0,33 - 0,72). Tuy nhiên, giá trị này tương đương với các quần thể được ghi nhận tại Nhật Bản và Philippines (0,165 - 0,575) [49], cũng như Trung Quốc (0,100 - 0,567) [89], nhưng vẫn thấp hơn khu vực quần đảo Indo-Malay (0,458 - 0,605) [93]. Trong nghiên cứu này, giá trị dị hợp tử kì vọng đều cao hơn giá trị dị hợp tử quan sát được, kết quả này tương tự với kết quả từ nghiên cứu của Nguyen và Papenbrock [69] ($H_O = 0,492 < H_E = 0,605$) nhưng lại khác biệt với nghiên cứu trước đó của Dierick và cộng sự [70] có giá trị dị hợp tử quan sát đều lớn hơn giá trị dị hợp tử kì vọng ở tất cả các quần thể khảo sát ($H_O = 0,351 > H_E = 0,335$).

Hệ số cận huyết F_{IS} của các quần thể trong nghiên cứu nhìn chung mang giá trị dương và tương đối cao, cho thấy xu hướng thiếu hụt dị hợp tử rõ rệt trên toàn bộ các quần thể *Enhalus acoroides* được khảo sát. Việc không ghi nhận bất kỳ quần thể nào có F_{IS} âm (tức dư thừa dị hợp tử) phản ánh một sự sai lệch hệ thống khỏi trạng thái cân bằng Hardy - Weinberg theo hướng gia tăng đồng hợp tử. Kết quả này thể hiện sự tương đồng với nghiên cứu của Nguyen và Papenbrock [69] trong đó các quần thể *E. acoroides* tại Khánh Hòa cũng ghi nhận giá trị F_{IS} dương. Điều này gợi ý rằng hiện tượng thiếu hụt dị hợp tử có thể là đặc điểm di truyền phổ biến mang tính khu vực trong một số quần thể của loài.

Sự thiếu hụt dị hợp tử này thường được giải thích bởi nhiều cơ chế di truyền và sinh thái khác nhau. Trước hết, hiệu ứng Wahlund xảy ra khi mẫu nghiên cứu thực tế bao gồm nhiều tiểu quần thể có cấu trúc di truyền biệt lập. Sự phân tách này vô tình làm giảm tần suất dị hợp tử quan sát được. Bên cạnh đó, sự hạn chế dòng gen giữa các quần thể, kết hợp với khoảng cách địa lý và các rào cản hải dương học làm giảm khả năng phát tán giao tử hoặc hạt giống giữa các quần thể. Đặc biệt, tại vùng biển Tây Nam, các điều kiện thủy văn khép kín hoặc sự biệt lập của các đảo có thể làm giảm tần suất trao đổi gen. Khi dòng gen bị hạn chế, các quần thể có xu hướng gia tăng mức độ giao phối cận huyết tự nhiên hoặc giao phối giữa các cá thể có quan hệ huyết thống gần, trực tiếp dẫn đến sự suy giảm dị hợp tử qua các thế hệ. Tuy nhiên, kết quả này có sự phân hóa đáng kể khi đối chiếu với một số nghiên cứu khác tại các vùng biển lân cận và trên thế giới. Cụ thể, nghiên cứu khảo sát của Dierick và cộng sự [70] tại Duyên hải Nam Trung Bộ lại ghi nhận hầu hết các quần thể đều có giá trị $F_{IS} < 0$. Về mặt lý thuyết, giá trị F_{IS} âm phản ánh trạng thái dư thừa dị hợp tử một chỉ dấu của quá trình giao phối ngẫu nhiên diễn ra mạnh mẽ hoặc có sự pha trộn, tiếp hợp liên tục giữa các nguồn gen độc lập. Theo Yu và cộng sự [94] sinh sản hữu tính đóng vai trò chủ đạo trong việc duy trì và phân tán đa dạng di truyền ở *E. acoroides*, đặc biệt là tại các khu vực có động lực thủy văn mạnh. Thêm vào đó, hệ thống các dòng hải lưu quy mô lớn hoạt động như một cầu nối sinh thái, thúc đẩy sự kết nối di truyền giữa các quần thể xa nhau, làm tăng xác suất tổ hợp giữa các kiểu gen khác biệt và dẫn đến giá trị F_{IS} âm [73]. Sự khác biệt giữa kết quả của nghiên cứu này và các khu vực như Nam Trung Bộ hay Philippines có thể phản ánh sự khác nhau về mức độ kết nối sinh cảnh và

tác động môi trường. Các quần thể có F_{IS} dương cao có thể đang chịu ảnh hưởng của sự phân mảnh sinh cảnh, suy giảm kích thước quần thể hiệu quả hoặc hạn chế dòng gen. Những yếu tố này đã được chứng minh là làm tăng trôi dạt di truyền và giảm dị hợp tử trong các hệ sinh thái cỏ biển [95].

Đa dạng di truyền đóng vai trò quan trọng đối với khả năng tồn tại, sức chống chịu và khả năng phục hồi của mỗi cá thể cũng như toàn bộ quần thể trước những biến động. Khi mức độ đa dạng di truyền thấp, khả năng sinh tồn của cá thể sẽ bị suy giảm, từ đó có thể dẫn đến nguy cơ tuyệt chủng của cả quần thể [48], [96]. Nghiên cứu của Ries và cộng sự [97] ở loài *Zostera marina* ở Thụy Điển cho thấy các thảm cỏ ở bờ Đông (độ mặn thấp) chỉ gồm một hoặc rất ít clone (dòng vô tính). Ngược lại, các thảm cỏ ở bờ Tây có độ đa dạng kiểu gen cao hơn, biến dị di truyền lớn hơn, phân hóa quần thể ở quy mô không gian nhỏ hơn. Do có đa dạng di truyền thấp, các thảm cỏ ở bờ Đông đặc biệt dễ bị tổn thương trước những thay đổi toàn cầu. Cũng trong năm 2023, nghiên cứu của García - Escudero và cộng sự [98] ở loài *H. stipulacea* tại Địa Trung Hải chỉ ra rằng các quần thể xâm lấn có đa dạng di truyền thấp hơn so với quần thể bản địa, dù đã trải qua gần 130 năm xâm lấn. Nghiên cứu cũng cho thấy sinh sản vô tính đóng vai trò then chốt trong sự xâm chiếm và lan rộng thành công của loài này tại Địa Trung Hải. Những nghiên cứu gần đây đã cung cấp bằng chứng thuyết phục cho thấy sự hạn chế trong sinh sản hữu tính và khả năng hình thành các kiểu gen mới là một vấn đề đáng quan ngại, cần được xem xét nghiêm túc trong các chiến lược quản lý và bảo tồn. Trong bối cảnh đó, kết quả của nghiên cứu này cho thấy các quần thể khu vực Nam Trung Bộ có mức độ đa dạng di truyền cao hơn so với khu vực Tây Nam, xu hướng này tương đồng với ghi nhận ở loài *Z. marina* gần đây, trong đó đa dạng di truyền cao hơn được quan sát tại khu vực Thái Bình Dương so với các vùng cận Bắc Cực [99] qua đó phản ánh sự khác biệt về điều kiện môi trường và lịch sử tiến hóa giữa các vùng. Đồng thời, các quần thể *Enhalus acoroides* tại khu vực khảo sát thể hiện xu hướng thiếu hụt dị hợp tử rõ rệt, cho thấy sự gia tăng của giao phối cận huyết hoặc sinh sản vô tính. Điều này phần nào phản ánh mức độ phân mảnh sinh cảnh và sự cô lập di truyền cao hơn so với một số khu vực khác, từ đó nhấn mạnh những thách thức tiềm ẩn đối với khả năng thích nghi và duy trì đa dạng di truyền của loài trong dài hạn.

Bảng 3.2. Chỉ số đa dạng gen của muỗi quần thể cỏ Lá dứa *E. acoroides* tại muỗi quần thể được thực hiện nghiên cứu.

N_s = Số lượng mẫu, N_{all} = Số lượng mẫu thực hiện thành công trên cả 12 loci, MLG = Số lượng cá thể có kiểu gen khác nhau, R = độ giàu có kiểu gen, A = số lượng alen trung bình trên mỗi locus, A_{22} = độ giàu alen được chuẩn hóa ở 22 genotypes, P_A = số trung bình private allele, H_O = dị hợp tử quan sát được, H_E = dị hợp tử mong đợi, F_{IS} = Hệ số lai cận huyết, SD = độ lệch chuẩn.

Khu vực	Vĩ độ Bắc	Kinh độ Đông	N_s	N_{all}	$MLGs$	R	A	A_{22}	P_A	H_O (SD)	H_E (SD)	F_{IS}
CM	15,39	109,12	15	14	14	1.00	2,42	2,37	0,17	0,19 (0,24)	0,36 (0,30)	0,437
XT	12,64	109,20	15	13	13	1.00	3,08	2,98	0,04	0,23 (0,31)	0,41 (0,34)	0,400
HK	12,16	109,21	15	15	15	1.00	3,67	3,37	0,19	0,27 (0,35)	0,45 (0,26)	0,430
SL	12,17	109,20	16	16	16	1.00	2,67	2,51	0,13	0,21 (0,36)	0,34 (0,34)	0,430
CR	11,97	109,21	15	14	14	1.00	3,75	3,56	0,22	0,34 (0,34)	0,48 (0,31)	0,287
NH	11,61	109,15	15	13	13	1.00	3,25	3,14	0,07	0,25 (0,32)	0,48 (0,28)	0,432
PQ	10,25	104,09	15	12	12	1.00	3,08	3,05	0,32	0,2 (0,25)	0,44 (0,25)	0,567
HT	10,32	104,32	30	14	11	0.77	2,67	2,67	0,10	0,16 (0,25)	0,4 (0,29)	0,558
BL	10,14	104,50	30	28	27	0.96	2,92	2,58	0,20	0,14 (0,25)	0,39 (0,25)	0,726
KL	10,18	104,60	30	20	19	0.95	2,75	2,62	0,14	0,16 (0,23)	0,37 (0,27)	0,652

Ghi chú: (CM: Cù Mông, XT: Xuân Tụ, HK: Hòn Khói, SL: Sông Lô, CR: Cam Ranh, NH: Ninh Hải, PQ: Phú Quốc, HT: Hải Tặc, BL: Bà Lụa, KL: Kiên Lương)

Bảng 3.3. Ma trận giá trị khoảng cách gen (F_{ST} , ô sẫm màu) và giá trị Slatkin linearized (F'_{ST}) giữa mười quần thể cỏ *E. acoroides*.

	CM	XT	HK	CR	NH	SL	PQ	HT	BL	KL
CM		0,299	0,453	0,325	0,381	0,647	0,316	0,490	0,514	0,385
XT	0,230		0,068	0,201	0,229	0,338	0,213	0,280	0,316	0,241
HK	0,312	0,064		0,189	0,157	0,324	0,254	0,255	0,366	0,259
CR	0,245	0,168	0,159		0,066	0,425	0,141	0,170	0,198	0,243
NH	0,276	0,187	0,136	0,062		0,432	0,175	0,205	0,277	0,307
SL	0,393	0,252	0,245	0,298	0,302		0,425	0,424	0,502	0,409
PQ	0,240	0,176	0,202	0,124	0,149	0,298		0,150	0,267	0,157
HT	0,329	0,219	0,203	0,145	0,170	0,298	0,130		0,171	0,212
BL	0,340	0,240	0,268	0,165	0,217	0,334	0,210	0,146		0,271
KL	0,278	0,194	0,205	0,195	0,235	0,291	0,136	0,175	0,213	

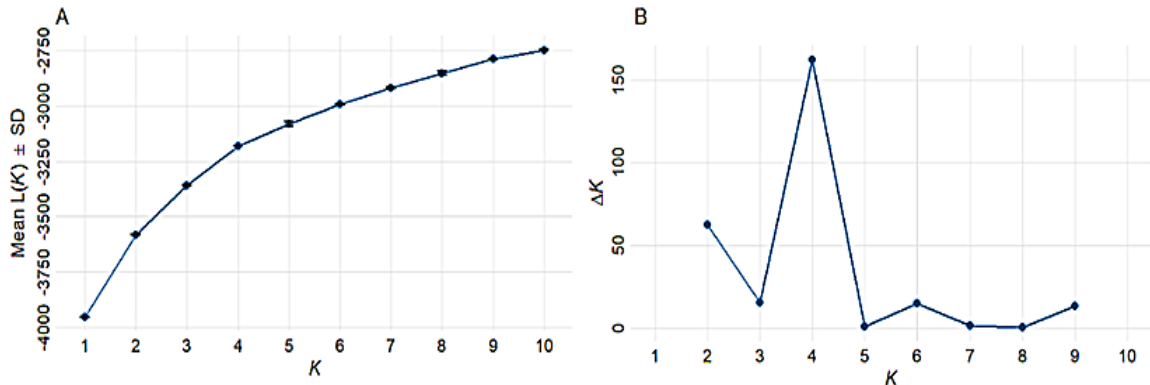
Ghi chú: (CM: Cù Mông, XT: Xuân Tụ, HK: Hòn Khói, SL: Sông Lô, CR: Cam Ranh, NH: Ninh Hải, PQ: Phú Quốc, HT: Hải Tặc, BL: Bà Lụa, KL: Kiên Lương)

3.3. PHÂN TÍCH CẤU TRÚC VÀ LIÊN KẾT CÁC QUẦN THỂ CỎ LÁ DỪA *Enhalus acoroides* TẠI VÙNG VEN BIỂN NAM TRUNG BỘ VÀ TÂY NAM, VIỆT NAM

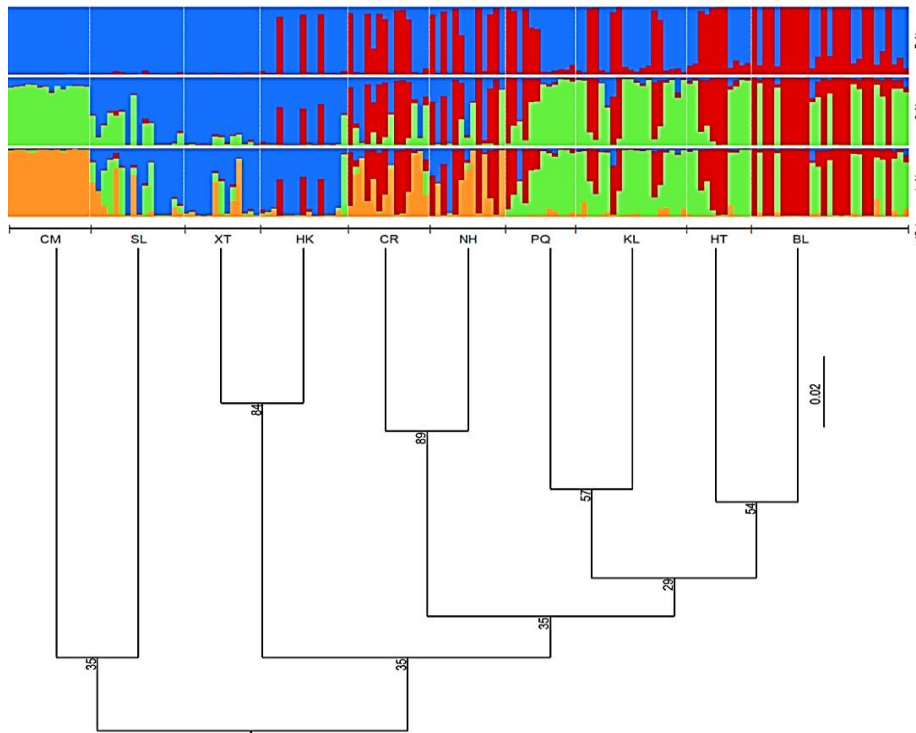
Kết quả khảo sát khoảng cách di truyền (F_{ST}) giữa 10 quần thể *E. acoroides* cho thấy mức độ phân hóa di truyền rõ rệt giữa các khu vực, phản ánh sự khác biệt về cấu trúc gen và mức độ giao lưu di truyền. Các giá trị F_{ST} dao động từ rất thấp (0,062 giữa Cam Ranh và Ninh Hải) đến khá cao (0,393 giữa Cù Mông và Sông Lô). Giá trị thấp cho thấy sự tương đồng di truyền mạnh, thường xuất hiện ở các quần thể gần nhau về mặt địa lý hoặc có sự trao đổi gen thường xuyên. Ngược lại, giá trị cao phản ánh sự cách biệt di truyền lớn, có thể do khoảng cách địa lý, sự cô lập sinh thái hoặc hạn chế trong giao lưu gen. Cụ thể, nhóm 5 quần thể ven biển Nam Trung Bộ, trong đó 4 quần thể (Xuân Tụ, Hòn Khói, Cam Ranh, Ninh Hải) có giá trị F_{ST} thấp khi so sánh lẫn nhau (dao động từ 0,062 đến 0,187), chứng tỏ chúng duy trì sự tương đồng di truyền cao và có khả năng giao lưu gen mạnh. Trong khi đó, Cù Mông lại thể hiện giá trị F_{ST} cao khi so sánh với các quần thể khác, đặc biệt với Sông Lô (0,393) và Bà Lụa (0,340), cho thấy sự phân hóa rõ rệt. Đối với nhóm quần thể phía Tây Nam (Phú Quốc, Hải Tặc, Bà Lụa, Kiên Lương), giá trị F_{ST} nhìn chung ở mức trung bình (0,130 - 0,213), phản ánh sự tương đồng vừa phải giữa các quần thể. Đáng chú ý, Phú Quốc có F_{ST} thấp với Cam Ranh (0,124) và Kiên Lương (0,136), gợi ý khả năng giao lưu gen hoặc nguồn gốc chung gần đây. Đồng thời, Hải Tặc và Bà Lụa có giá trị F_{ST} thấp với nhau (0,146), cho thấy sự liên kết di truyền chặt chẽ (**Bảng 3.3**).

Kết quả phân tích nhóm bằng phương pháp UPGMA chỉ ra rằng mười quần thể này phân bố thành bốn nhóm bao gồm: nhóm 1 là quần thể Cù Mông, nhóm 2 là quần thể Sông Lô, nhóm 3 là hai quần thể Xuân Tụ và Hòn Khói, còn lại là nhóm 4 bao gồm sáu quần thể trong đó có hai quần thể thuộc khu vực Nam Trung Bộ và các quần thể của vùng biển Tây Nam (Cam Ranh, Ninh Hải, Phú Quốc, Kiên Lương, Hải Tặc và Bà Lụa) (**Hình 3.6** (dưới)). Giá trị Δk cao nhất được ghi nhận là 4. Sai khác lớn nhất của giá trị $L(k)$ được tìm thấy tại $k = 4$ theo phương pháp của Rosenberg và cs. (2001) [83] (trái) và giá trị cao nhất Δk cũng được ghi nhận tại $k = 4$ theo phương pháp của Evanno và cs (2005) [84] (phải) (**Hình 3.5**). Tương tự như vậy, phân tích cấu trúc bằng

STRUCTURE cũng cho thấy 10 quần thể có xu hướng nhóm thành bốn nhóm riêng lẻ (**Hình 3.6** (trên))



Hình 3.5. Kết quả phân tích lựa chọn số nhóm có thể xảy ra dựa trên hệ số $\Delta k=4$. (Ghi chú: Số liệu được xử lý bằng công cụ trực tuyến Structure Harvester [85] theo phương pháp $L(k)$ được tìm thấy tại $k = 4$ theo phương pháp của Rosenberg và cs [83] (trái) và giá trị cao nhất Δk cũng được ghi nhận tại $k = 4$ theo phương pháp của Evanno và cs [84] (phải)).



Hình 3.6. Kết quả phân tích nhóm loài cỏ *Enhalus acoroides*. (Ghi chú: Phân tích bằng phương pháp UPGMA dựa trên khoảng cách Da của Nei trong phần mềm POPTREE2 (dưới) và phân tích nhóm với burn-in periods = 100,000, độ lặp = 750,000 trong phần mềm Structure 2.3.4 (trên). Biểu đồ thể hiện cấu trúc quần thể tại giá trị $k = 2, 3$ và 4 (chọn). Mỗi cột dọc trong biểu đồ đại diện cho một cá thể) - (CM: Cù Mông, XT: Xuân Tụ, HK: Hòn Khói, SL: Sông Lô, CR: Cam Ranh, NH: Ninh Hải, PQ: Phú Quốc, HT: Hải Tặc, BL: Bà Lụa, KL: Kiên Lương)

Sự sai khác về giá trị F_{ST} và Slatkin linearized F_{ST} (F'_{ST}) giữa mười quần thể là có giá trị thống kê tại $p < 0,01$ (**Bảng 3.4**). Dựa trên kết quả phân tích nhóm, kết quả phân tích AMOVA cho thấy giá trị sai khác giữa bốn nhóm (F_{CT}) là 6,66% (p -value $< 0,01$), giá trị sai khác giữa các quần thể trong cùng một nhóm (F_{SC}) và giá trị sai khác giữa tất cả quần thể (F_{ST}) là 15,97% và 77,37%, theo tuần tự (**Bảng 3.4**).

Bảng 3.4. Kết quả phân tích AMOVA (Analysis of MOlecular VAriation) dựa trên chỉ thị SSRs đối với 4 nhóm tại mười quần thể được khảo sát.

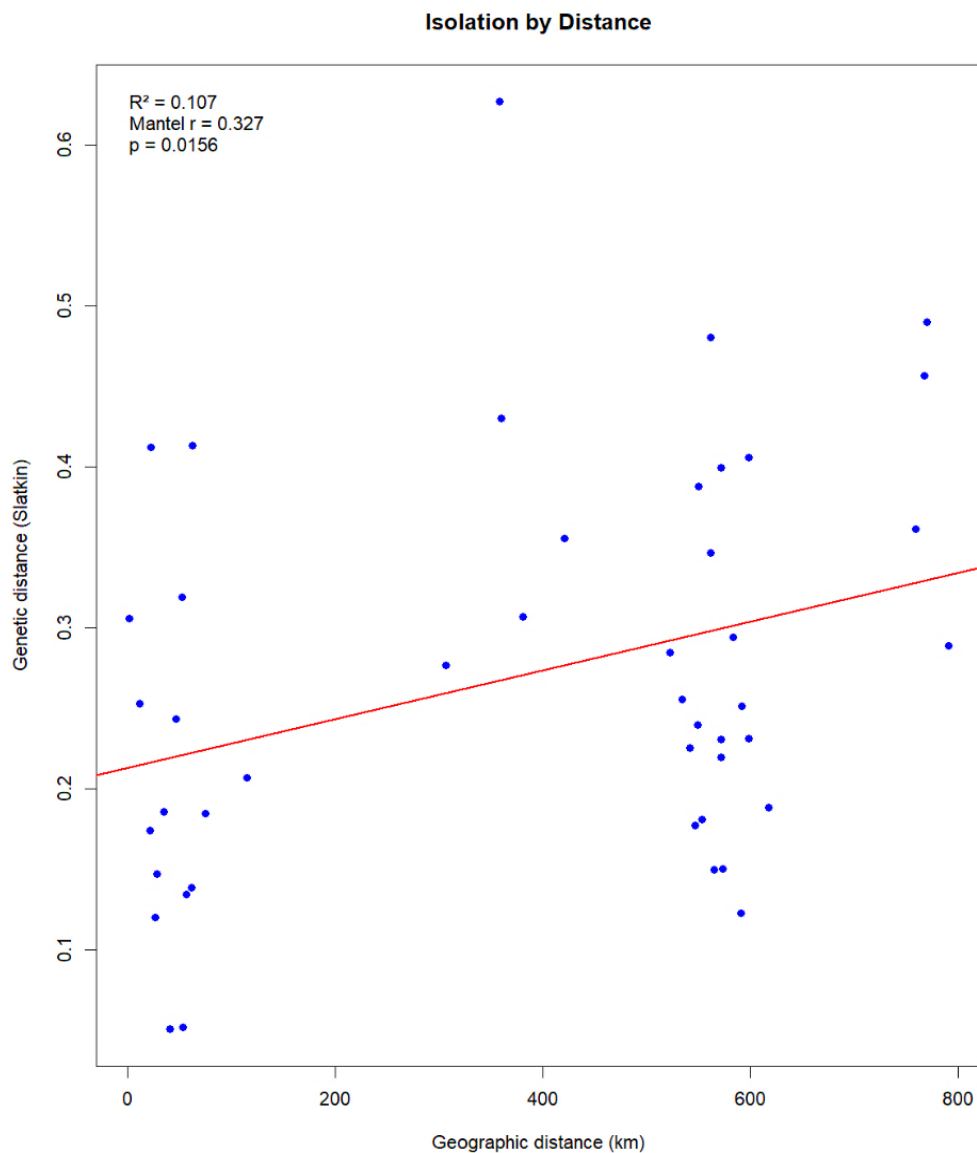
<i>Nguồn</i>	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>Thành phần phương sai</i>	<i>Phần trăm sai khác</i>	<i>Chỉ số F</i>	<i>P</i>
Giữa các nhóm	3	102,13	0,21	6,66	0,06	<0,01
Giữa các quần thể trong cùng một nhóm	6	114,33	0,50	15,97	0,17	<0,01
Trong nội bộ quần thể	144	524,00	1,20	77,37	0,49	<0,01

Đối với hai khu vực tại Nam Trung Bộ và Tây Nam, sự sai khác giữa hai nhóm là 3,79% (p -value $< 0,05$), giá trị sai F_{SC} và F_{ST} lần lượt là 19,03 % và 77,18 % (**Bảng 3.5**).

Bảng 3.5. Kết quả phân tích AMOVA (Analysis of MOlecular VAriation) dựa trên chỉ thị SSRs đối với 2 khu vực Nam Trung Bộ và Tây Nam.

<i>Nguồn</i>	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>Thành phần phương sai</i>	<i>Phần trăm sai khác</i>	<i>Chỉ số F</i>	<i>P</i>
Giữa các nhóm	1	42,67	0,12	3,79	0,04	<0,05
Giữa các quần thể trong cùng một nhóm	8	42,67	0,60	19,03	0,20	<0,01
Trong nội bộ quần thể	144	524,01	1,20	77,18	0,49	<0,01

Kết quả phân tích tương quan giữa khoảng cách gen và khoảng cách địa lý bằng phép thử Mantel cho thấy hệ số tương quan $r = 0,327$ (p -value = 0,0156) tại $\alpha = 0,05$ chứng tỏ có sự tương quan thuận giữa khoảng cách gen và khoảng cách địa lý, và mối tương quan này có ý nghĩa thống kê (**Hình 3.7**). Mặc dù hệ số $R^2 = 0,107$ chưa cao, nhưng vẫn có thể khẳng định rằng khoảng cách địa lý cũng đóng góp vào sự hình thành cấu trúc quần thể *E. acoroides*.



Hình 3.7. Kết quả phân tích phép thử Mantel [100] về tương quan giữa khoảng cách gen $F_{ST}/(1-F_{ST})$ [101] và khoảng cách địa lý (km). $r = 0,327$, p -value < 0,05, $\alpha = 0,05$. Số liệu được xử lý bằng phần mềm XLStat 2020.3.1.

Qua số liệu và khoảng cách địa lý giữa các quần thể, có thể thấy yếu tố không gian đóng vai trò quan trọng trong sự khác biệt về kiểu gen của cỏ Lá dứa. Bốn quần thể ở vùng biển Tây Nam nằm trong Vịnh Thái Lan, trong khi các quần thể Nam Trung Bộ lại phân bố ở Biển Đông, cách nhau tới khoảng 1.200 km. Sự cách biệt này tạo thành hai nhóm quần thể tương đối khác biệt về mặt di truyền. Trong nội bộ từng khu vực, các quần thể phân bố gần nhau như Xuân Tụ - Hòn Khói (30 km) hay Cam Ranh - Ninh Hải (80 km) có xu hướng hình thành nhóm chung với giá trị F_{ST} rất thấp, theo thứ tự là 0,064 và 0,062, phản ánh sự trao đổi gen thuận lợi nhờ khoảng cách địa lý ngắn. Điều này tương đồng với nghiên cứu của Yu và cộng sự [89] chỉ ra rằng các quần thể *E. acoroides* tại đảo Hải Nam, Trung Quốc càng gần nhau về khoảng cách địa lý thì có mức độ tương đồng gen cao (hay khác biệt kiểu gen thấp). Nói cách khác dòng gen sẽ suy giảm theo khoảng cách không gian, khi các quần thể ở xa nhau có xu hướng tích lũy sai khác di truyền lớn hơn. Đây là một trong những cơ chế phổ biến chi phối cấu trúc di truyền của các loài phân bố rộng, đặc biệt trong môi trường biển ven bờ nơi sự phát tán phụ thuộc vào các yếu tố vật lý như dòng chảy và địa hình [102].

Tuy nhiên, giá trị hệ số xác định thấp ($R^2 = 0,107$) cho thấy khoảng cách địa lý chỉ giải thích một phần nhỏ biến thiên di truyền giữa các quần thể. Điều này hàm ý rằng cấu trúc di truyền của *E. acoroides* có thể chịu ảnh hưởng đồng thời của nhiều yếu tố khác. Trong môi trường biển, dòng chảy ven bờ, hướng gió mùa và chế độ thủy triều có thể đóng vai trò quan trọng trong việc vận chuyển hạt và thân cỏ biển, từ đó làm tăng khả năng kết nối giữa các quần thể ở khoảng cách xa [103]. Đối với hai quần thể Cam Ranh và Phú Quốc vốn cách xa nhau khoảng 800 km và có giá trị F_{ST} thấp với nhau 0,124, nhưng lại thuộc cùng một nhóm, gợi ý rằng hai quần thể này có cùng một nguồn gốc ban đầu nhưng bị cách biệt về mặt địa lý qua nhiều thế hệ dẫn đến hiện tượng trôi dạt di truyền. Theo Wright, [104] trong các quần thể bị cô lập, trôi dạt di truyền có thể làm thay đổi tần số alen một cách ngẫu nhiên qua các thế hệ, đặc biệt khi dòng gen bị hạn chế. Việc hai quần thể vẫn được xếp vào cùng một nhóm di truyền cũng có thể phản ánh dấu vết của sự kết nối lịch sử, khi các quần thể này từng có sự trao đổi gen trong quá khứ. Tuy nhiên, theo thời gian, sự suy giảm kết nối do thay đổi điều kiện môi trường hoặc tác động nhân sinh đã làm gia tăng mức độ phân hóa di truyền, dẫn đến giá trị F_{ST} cao như hiện nay. Hiện

tượng này đã được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu về cỏ biển, nơi cấu trúc di truyền hiện tại không chỉ phản ánh điều kiện sinh thái hiện tại mà còn lưu giữ dấu ấn của các quá trình lịch sử [105]. Chẳng hạn nghiên cứu về loài cỏ biển *Posidonia oceanica* tại vùng biển khu vực phía Đông Mediterranean vào năm 2024 đã ghi nhận các quần thể tại khu vực phía Bắc Aegean thể hiện mức đa dạng di truyền thấp nhất và mức độ sinh sản vô tính (clonality) cao nhất so với các quần thể còn lại. Sự thiếu vắng kết nối hải dương học đáng kể giữa khu vực những khu vực được khảo sát đã củng cố cho sự phân hóa di truyền quan sát được. Bên cạnh đó, các sự kiện lịch sử cũng có thể đã góp phần hình thành nên cấu trúc di truyền hiện nay [106]. Kết hợp với kết quả phân tích Mantel cho thấy mô hình cách ly theo khoảng cách ở mức độ trung bình ($r = 0,327$), có thể nhận định rằng cấu trúc di truyền của *E. acoroides* chịu ảnh hưởng đồng thời của cả yếu tố lịch sử và hiện tại. Trong đó, khoảng cách địa lý góp phần hạn chế dòng gen, trong khi các quá trình như trôi dạt di truyền và biến động môi trường đóng vai trò khuếch đại sự khác biệt giữa các quần thể theo thời gian.

3.4. ƯỚC TÍNH DÒNG GEN CỦA CÁC QUẦN THỂ CỎ LÁ DỪA *Enhalus acoroides* TẠI VÙNG VEN BIỂN NAM TRUNG BỘ VÀ TÂY NAM, VIỆT NAM

Kết quả khảo sát cho thấy dòng gen của cỏ Lá dứa chủ yếu dịch chuyển trong nội bộ từng khu vực, với giá trị khá cao (0,680 - 0,917). Điều này phản ánh sự duy trì đa dạng di truyền mạnh mẽ trong phạm vi quần thể, đồng thời cho thấy khả năng thích nghi tại chỗ của loài. Ở Nam Trung Bộ, các quần thể Ninh Hải, Cam Ranh và Hòn Khói đóng vai trò trung tâm, cung cấp nguồn gen cho Cù Mông và Xuân Tự. Đặc biệt, Xuân Tự nhận dòng gen mạnh từ Hòn Khói (0,162), cho thấy sự kết nối chặt chẽ trong khu vực. Tuy nhiên, quần thể SL lại hoàn toàn biệt lập, không có trao đổi gen với các quần thể khác. Sự cô lập này có thể dẫn đến nguy cơ suy giảm đa dạng di truyền, khiến quần thể dễ bị tổn thương trước biến đổi môi trường.

Ở Tây Nam Bộ, Phú Quốc nổi bật với vai trò “cầu nối” khi vừa cho vừa nhận nguồn gen, đặc biệt từ Hải Tặc (0,099). Hai quần thể Bà Lụa và Kiên Lương cũng nhận nguồn gen từ Phú Quốc, cho thấy sự lan tỏa gen trong khu vực này. Đáng chú ý, mặc dù xu hướng chính là trao đổi nội bộ, vẫn tồn tại sự dịch chuyển từ Cam Ranh đến Phú Quốc (0,026) và từ Phú Quốc đến Ninh Hải

(0,029). Kết quả này cũng được phản ánh phần nào qua hệ số F_{ST} giữa Phú Quốc với hai quần thể Cam Ranh và Ninh Hải, theo tuần tự lần lượt là 0,124 và 0,149. Sự dịch chuyển liên vùng tuy nhỏ nhưng có ý nghĩa lớn, chứng minh khả năng mở rộng phạm vi trao đổi gen, góp phần tăng cường tính bền vững của loài (**Hình 3.8** và **Bảng 3.6**).



Hình 3.8. Biểu đồ Circos về xu hướng dòng gen từ “quần thể cho” (source) đến “quần thể nhận” (sink)

(Ghi chú: Tính toán thông qua phần mềm BayesAss 3.0.3) được thực hiện trên nền tảng R phiên bản 4.5.0. Độ dày của đường cong tương quan thuận với tỷ lệ dịch chuyển dòng gen) - (CM: Cù Mông, XT: Xuân Tụ, HK: Hòn Khói, CR: Cam Ranh, NH: Ninh Hải, SL: Sông Lô, PQ: Phú Quốc, HT: Hải Tặc, BL: Bà Lụa, KL: Kiên Lương)

Bảng 3.6. Ma trận tỷ lệ dịch chuyển dòng gen giữa mười quần thể cỏ *Enhalus acoroides* được tính bằng phần mềm BayesAss 3.0.3 (Wilson và Rannala, 2003). Tỷ lệ dịch chuyển cao (lớn hơn 0,025) là ô sẫm màu.

	CM	XT	HK	CR	NH	PQ	HT	BL	KL	SL
CM	0,872	0,019	0,013	0,044	0,048	0,018	0,016	0,009	0,012	0,013
XT	0,015	0,851	0,162	0,050	0,063	0,018	0,017	0,010	0,012	0,014
HK	0,014	0,015	0,680	0,015	0,014	0,016	0,016	0,009	0,012	0,013
CR	0,014	0,015	0,013	0,684	0,014	0,015	0,016	0,009	0,011	0,013
NH	0,014	0,015	0,054	0,115	0,783	0,029	0,022	0,009	0,018	0,013
PQ	0,014	0,017	0,014	0,026	0,017	0,808	0,099	0,009	0,013	0,015
HT	0,014	0,017	0,014	0,015	0,015	0,016	0,683	0,009	0,012	0,013
BL	0,014	0,015	0,015	0,015	0,015	0,027	0,096	0,917	0,012	0,014
KL	0,015	0,018	0,015	0,015	0,015	0,031	0,019	0,009	0,885	0,016
SL	0,015	0,023	0,021	0,022	0,015	0,023	0,017	0,010	0,014	0,876

(Ghi chú: CM: Cù Mông, XT: Xuân Tự, HK: Hòn Khói, CR: Cam Ranh, NH: Ninh Hải, SL: Sông Lô, PQ: Phú Quốc, HT: Hải Tặc, BL: Bà Lụa, KL: Kiên Lương).

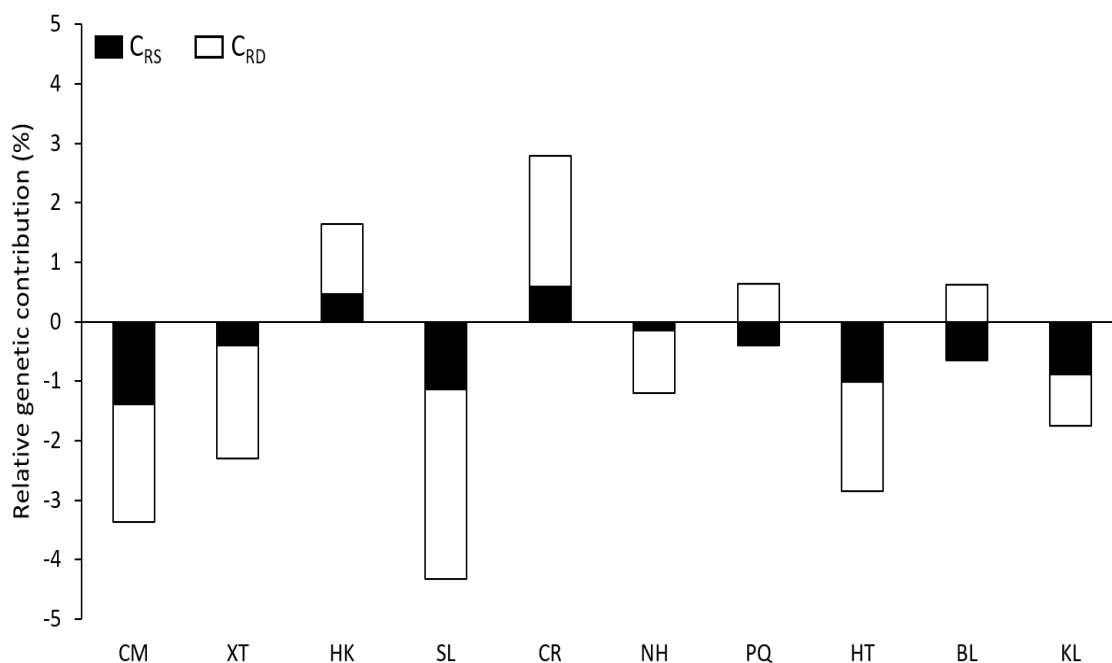
Kết quả nghiên cứu cho thấy dòng gen của cỏ Lá dứa chủ yếu dịch chuyển trong nội bộ từng khu vực. Nghiên cứu gần đây trên loài *Posidonia oceanica* cũng chỉ ra rằng dòng gen có thể cao trong nội vùng nhưng bị hạn chế giữa các vùng biển lớn, góp phần phân hóa cấu trúc di truyền của loài [106]. Tại khu vực Nam Trung Bộ, hai quần thể Cam Ranh và Hòn Khói đóng vai trò là các trung tâm cung cấp nguồn gen cho các quần thể được khảo sát. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Nguyen và cộng sự [69] về quần thể cỏ Lá Dứa, trong đó ghi nhận một số quần thể có mức độ đa dạng di truyền cao như Tuần Lễ (TL) và Cam Phúc Nam (CPN). Đáng chú ý, phần lớn các quần thể có đa dạng di truyền cao đều phân bố tại tỉnh Khánh Hòa, điều này phù hợp với các nghiên cứu trước đây, cho thấy Khánh Hòa là khu vực có diện tích thảm cỏ biển lớn nhất ở Nam Trung Bộ, ước tính khoảng 2.116,7 ha [12]. Đối với khu vực Tây Nam, quần thể Phú Quốc đóng vai trò như một “cầu nối” quan trọng trong mạng lưới cấu trúc di truyền, khi vừa là nguồn cung cấp vừa là điểm tiếp nhận dòng gen giữa các quần thể, góp phần duy trì sự kết nối di truyền và giảm thiểu tác động của phân mảnh môi trường sống. Khu vực này thuộc Khu bảo tồn biển Phú Quốc, một khu bảo tồn được phân hạng II theo IUCN và được thành lập từ năm 2007, với chức năng bảo vệ các hệ sinh thái biển quan trọng như thảm cỏ biển và rạn san hô [45]. Bên cạnh đó, quần thể Hải Tặc cũng nổi

bật với vai trò là nguồn cung cấp gen quan trọng cho các quần thể lân cận. Nghiên cứu của Đỗ Anh Duy và cộng sự [13] đã ghi nhận sự hiện diện của sáu loài cỏ biển tại khu vực này, bao gồm *Cymodocea rotundata*, *Oceana serrulata* (R.Brown) Byng & Christenhusz, *Halodule uninervis*, *Enhalus acoroides*, *Thalassia hemprichii* và *Halophila ovalis*. Sự đa dạng loài tương đối cao này, cùng với diện tích phân bố thảm cỏ biển ước tính khoảng 30 ha, cho thấy Hải Tặc có thể góp phần duy trì và lan truyền nguồn gen trong khu vực [13].

Đặc điểm sinh sản của *E. acoroides* cũng góp phần quan trọng vào việc hình thành cấu trúc di truyền của quần thể. Trong quá trình thụ phấn, toàn bộ hoa đực tách rời khỏi cây và nổi lên bề mặt nước, nơi hạt phấn được giải phóng và sau đó lắng xuống các hoa cái. Các hoa đực mang phấn có thể phát tán trên mặt nước với vận tốc trung bình khoảng 13 km mỗi ngày, cho phép sự lan truyền phấn trên khoảng cách tương đối xa [107]. Tuy nhiên, cơ chế phát tán này vẫn chịu ảnh hưởng mạnh của dòng hải lưu. Trong nghiên cứu ở loài *E. acoroides* ở vùng biển giữa Philippines, Nhật Bản và Trung Quốc cho thấy dòng chảy mạnh Kuroshio đã đóng góp vai trò quan trọng để hình thành sự khác biệt kiểu gen giữa các quần thể khu vực Tây Thái Bình Dương bao gồm Philippines, đảo Hải Nam (Trung Quốc) và Okinawa (Nhật Bản) [73]. Nghiên cứu của Putra và cộng sự [93] ở loài cỏ biển *E. acoroides* khu vực quần đảo Indo-Malay cho thấy rằng dòng hải lưu Nam Java và dòng hải lưu theo mùa được xem là nguyên nhân chính yếu tạo ra cấu trúc quần thể tại khu vực này. Nghiên cứu về các dòng hải lưu ven bờ Tây của Biển Đông cho thấy vào tháng 10 - 12, dòng từ hướng bắc theo hướng nam dọc theo đường bờ Việt Nam, thoát ra Biển Java thông qua eo biển Karimata, còn vào mùa hè dòng chảy từ phía Nam lên đến vĩ tuyến 11°N, được chia thành ba hướng khác nhau. Hướng một đi về hướng Đông, hướng hai đi về phía Bắc và hướng ba đi về phía Tây Nam. Nghiên cứu này cũng cho thấy không có dòng từ Biển Đông vào Vịnh Thái Lan và ngược lại [108]. Vì thế, các quần thể *E. acoroides* tại vùng biển Tây Nam hầu như có cấu trúc riêng biệt với các quần thể ở miền Trung Việt Nam.

3.5. XÁC ĐỊNH QUẦN THỂ CỎ LÁ DỪA *Enhalus acoroides* CẦN ĐƯỢC ƯU TIÊN BẢO TỒN TẠI VÙNG VEN BIỂN NAM TRUNG BỘ VÀ TÂY NAM, VIỆT NAM

Kết quả phân tích cho thấy mức độ ưu tiên bảo tồn giữa các quần thể cỏ Lá dứa không đồng đều, phản ánh sự khác biệt trong đóng góp di truyền của từng quần thể. Trong đó, Cam Ranh ($C_{RT} = 2,80$) và Hòn Khói ($C_{RT} = 1,64$) có giá trị cao nhất, cho thấy vừa có sự sai khác di truyền rõ rệt vừa có đóng góp gen đặc biệt, vì vậy cần được xem là quần thể trọng điểm trong chiến lược bảo tồn. Phú Quốc ($C_{RT} = 0,24$) và Bà Rịa ($C_{RT} = -0,01$) có giá trị trung gian, tuy không quá khác biệt nhưng vẫn đóng vai trò duy trì sự kết nối gen trong khu vực. Ngược lại, các quần thể như Sông Lô ($C_{RT} = -4,33$), Cù Mông ($C_{RT} = -3,36$), Hải Tặc ($C_{RT} = -2,84$), Xuân Tụ ($C_{RT} = -2,30$), Kiên Lương ($C_{RT} = -1,74$) và Ninh Hải ($C_{RT} = -1,19$) đều có giá trị âm, phản ánh mức độ ưu tiên bảo tồn thấp hơn. Đặc biệt, Sông Lô là quần thể biệt lập, không có trao đổi gen với các quần thể khác, nên dù giá trị C_{RT} âm vẫn cần được quan tâm để tránh suy giảm đa dạng di truyền (**Hình 3.9** và **Bảng 3.7**).



Hình 3.9. Khả năng đóng góp gen của mười quần thể cỏ Lá dứa vùng ven biển Việt Nam. C_{RS} và C_{RD} thể hiện sai khác kiểu gen và đóng góp đặc biệt của gen.

(Ghi chú: CM: Cù Mông, XT: Xuân Tụ, HK: Hòn Khói, CR: Cam Ranh, NH: Ninh Hải, SL: Sông Lô, PQ: Phú Quốc, HT: Hải Tặc, BL: Bà Rịa, KL: Kiên Lương).

Bảng 3.7. Các giá trị sai khác kiểu gen (C_{RS}), đóng góp đặc biệt của gen (C_{RD}) và quần thể được ưu tiên bảo tồn (C_{RT}) của mười quần thể cỏ *Enhalus acoroides* tại vùng biển Việt Nam.

	CM	XT	HK	SL	CR	NH	PQ	HT	BL	KL
C_{RS}	-1,39	-0,40	0,47	-1,14	0,59	-0,15	-0,40	-1,02	-0,64	-0,89
C_{RD}	-1,98	-1,90	1,17	-3,19	2,21	-1,04	0,63	-1,83	0,63	-0,85
C_{RT}	-3,36	-2,30	1,64	-4,33	2,80	-1,19	0,24	-2,84	-0,01	-1,74

(Ghi chú: CM: Cù Mông, XT: Xuân Tự, HK: Hòn Khói, CR: Cam Ranh, NH: Ninh Hải, SL: Sông Lô, PQ: Phú Quốc, HT: Hải Tặc, BL: Bà Lụa, KL: Kiên Lương).

Kết quả phân tích chỉ số ưu tiên bảo tồn (C_{RT}) cho thấy sự phân hóa rõ rệt về vai trò di truyền giữa các quần thể *Enhalus acoroides*, phản ánh cấu trúc di truyền không đồng nhất trong toàn bộ khu vực nghiên cứu. Sự xuất hiện của các quần thể có giá trị C_{RT} cao như Cam Ranh và Hòn Khói là những khu vực cần được ưu tiên bảo vệ nguồn gen. Điều này cũng thể hiện qua độ giàu có alen và số lượng alen đặc thù cao hơn các quần thể còn lại. Hai quần thể này đóng vai trò là những quần thể ưu tiên bảo tồn tương tự như những quần thể đã được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu trước. Điển hình là tại Trung Quốc, ba trên tám quần thể cỏ *E. acoroides* tại đảo Hải Nam được lựa chọn dựa trên mức độ đóng góp đa dạng gen của chúng [89]. Tương tự, nghiên cứu của Nguyen và cộng sự [71] cũng đề xuất ba trong số tám thảm cỏ *T. hemprichii* ở Việt Nam cần được ưu tiên quản lý và bảo vệ hàng đầu. Đáng chú ý, cả hai quần thể cỏ kích thước lớn *E. acoroides* và *T. hemprichii* tại Cam Ranh đều nằm trong danh sách đề xuất ưu tiên bảo vệ do có chỉ số đóng góp kiểu gen cao. Mặc dù khu vực này nằm trong vùng nước thuộc sự quản lý của quân đội nên ít chịu tác động, nhưng nhìn chung, diện tích phân bố của chúng tính cho toàn vịnh Cam Ranh là đang trên đà suy giảm về diện tích do các hình thức khai thác hải sản mang tính hủy diệt [109].

Đối với các quần thể có giá trị C_{RT} trung gian như Phú Quốc và Bà Lụa, vai trò của chúng trong duy trì kết nối di truyền cũng được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu trước. Cụ thể, các nghiên cứu về cấu trúc không gian của *E. acoroides* cho thấy mặc dù tồn tại phân hóa mạnh, vẫn có sự kết nối từng phần

giữa các quần thể thông qua phát tán hạt và dòng chảy biển [94]. Tuy nhiên, khả năng phát tán này bị giới hạn, trong đó các quần thể trung gian đóng vai trò cầu nối giúp duy trì dòng gen ở quy mô khu vực. Kết quả của nghiên cứu này phù hợp với cơ chế này khi các quần thể có C_{RT} trung gian không nổi bật về đa dạng nhưng vẫn có ý nghĩa di truyền quan trọng.

Ngược lại, phần lớn các quần thể có C_{RT} âm trong nghiên cứu cho thấy mức đóng góp thấp vào đa dạng di truyền tổng thể, điều này cũng đã được ghi nhận rộng rãi trong các hệ sinh thái cỏ biển. Theo Putra và cộng sự, [93] mặc dù *E. acoroides* có mức dị hợp tử cao, nhưng dòng gen giữa các quần thể bị hạn chế mạnh, dẫn đến sự phân hóa rõ rệt ngay cả ở khoảng cách không quá lớn. Nguyên nhân chủ yếu là do đặc điểm sinh học của loài có khả năng phát tán phần gần và thời gian nổi của quả/hạt ngắn, hạn chế khả năng lan truyền xa. Điều này lý giải vì sao nhiều quần thể trong nghiên cứu có C_{RT} âm. Đặc biệt, trường hợp quần thể Sông Lô là một minh chứng điển hình cho hiện tượng “cô lập di truyền”. Mặc dù có giá trị C_{RT} , quần thể này không có trao đổi gen với các quần thể khác, tương tự như các quần thể biệt lập đã được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu khu vực Indo - Pacific. Các nghiên cứu về ảnh hưởng của dòng hải lưu (như dòng Kuroshio) cho thấy rằng các yếu tố hải dương học có thể vừa thúc đẩy vừa cản trở sự kết nối di truyền, tạo ra các vùng “ngắt quãng” trong phân bố gen [73]. Do đó, sự biệt lập của Sông Lô có thể không chỉ do khoảng cách địa lý mà còn do đặc điểm dòng chảy ven bờ và cấu trúc địa hình. Trong trường hợp này, dù C_{RT} âm, quần thể vẫn có giá trị bảo tồn cao vì có thể chứa các alen thích nghi cục bộ. Ngoài ra, kết quả cũng phù hợp với các nghiên cứu về ảnh hưởng của tác động môi trường đến cấu trúc di truyền. Nghiên cứu tại Trung Quốc cho thấy sự suy giảm diện tích và phân mảnh sinh cảnh do ô nhiễm và hoạt động ven biển làm giảm kết nối di truyền và thay đổi cấu trúc quần thể *E. acoroides*. Điều này gợi ý rằng các quần thể có C_{RT} thấp trong nghiên cứu này có thể đã chịu tác động tương tự, dẫn đến giảm đóng góp di truyền và tăng mức độ biệt lập [94].

Sự suy giảm trên quy mô toàn cầu của các quần thể cỏ biển đã thúc đẩy những lời kêu gọi mới về bảo tồn, do vai trò quan trọng của chúng trong việc cung cấp sinh cảnh sinh học và khu vực kiếm ăn, ổn định đường bờ và lưu trữ carbon. Từ các kết quả thu được, việc xác định các quần thể ưu tiên bảo tồn là

cần thiết nhằm duy trì đa dạng di truyền và khả năng thích nghi lâu dài của loài. Điều này cũng đã được nhấn mạnh trong nghiên cứu trên *Z. marina*, khi các tác giả đề xuất bảo tồn các quần thể đại diện cho từng nhóm di truyền nhằm duy trì dòng gen và bảo vệ nguồn biến dị di truyền tiềm ẩn, đặc biệt trong bối cảnh biến đổi khí hậu [99].

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu trên 12 loci của muỗi quần thể *E. acoroides* cho thấy đa dạng gen ở các thảm cỏ biển ven bờ Nam Trung Bộ cao hơn so với các thảm ở biển Tây Nam. Trong đó, Hòn Khói và Phú Quốc đạt tỷ lệ P cao nhất. Riêng quần thể Cam Ranh có các chỉ số di truyền vượt trội với mức dị hợp tử và độ giàu alen cao nhất trong số các khu vực khảo sát.

Về cấu trúc quần thể, khoảng cách di truyền giữa 10 quần thể *E. acoroides* được phân hóa thành 4 nhóm. Kết quả phân tích tương quan giữa khoảng cách gen và khoảng cách địa lý cho thấy khoảng cách địa lý có tác động đến khoảng cách di truyền. Dòng gen chủ yếu dịch chuyển trong nội bộ từng khu vực. Trong khi các quần thể như Cam Ranh, Ninh Hải và Phú Quốc đóng vai trò trung tâm kết nối, thì quần thể Sông Lô lại biệt lập hoàn toàn.

Hai quần thể Hòn Khói và Cam Ranh (Khánh Hòa) được đề xuất ưu tiên bảo vệ dựa trên khả năng đóng góp nguồn gen cao nhất.

KIẾN NGHỊ

Cần tích hợp yếu tố đa dạng di truyền vào các chương trình phục hồi và bảo tồn thảm cỏ biển tại Việt Nam. Đặc biệt, Tập trung bảo vệ nghiêm ngặt hai quần thể có nguồn gen phong phú nhất là Hòn Khói và Cam Ranh (Khánh Hòa).

Thiết lập các chương trình giám sát dài hạn kết hợp cả chỉ thị sinh thái và chỉ thị di truyền để kịp thời phát hiện, phục hồi các quần thể nguy cấp.

Cuối cùng, cần thúc đẩy các nghiên cứu về dòng gen hỗ trợ và phục hồi thích ứng với biến đổi khí hậu, nhằm tăng cường tính bền vững của các thảm cỏ biển trong bối cảnh môi trường ngày càng biến động như xây dựng bộ chỉ thị gen cho toàn bộ các loài cỏ biển của Việt Nam; nghiên cứu đa dạng di truyền, dòng gen cần mở rộng quy mô quốc tế kết hợp, bổ sung nguồn mẫu vật từ các nước quanh khu vực Biển Đông và các nước ở khu vực Ấn Độ dương.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ

Duc Duy Nguyen, Thanh Huy Nguyen, Phuong Thao Tran, Xuan Vy Nguyen, 2026, Genetic diversity and its role in seagrass restoration: A review, *Jeju Journal of Island Sciences*, 3(2), pp. 22-30. doi:10.23264/JJIS.2026.3.2.022

DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyen X.V., Holzmeyer L., Papenbrock J., 2013, New record of the seagrass species *Halophila major* (Zoll.) Miquel in Vietnam: evidence from leaf morphology and ITS analysis, *Botanica Marina*, 56(4), pp. 313-321.
2. Green E.P., Short F.T., 2003, *World Atlas of Seagrasses*, University of California Press; UNEP-WCMC.
3. Carruthers T., Dennison W., Waycott M., 2007, Global seagrass distribution and diversity: A bioregional model, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 350(1-2), pp. 3-20.
4. Sudo K., Quiros T.E.A.L., Prathep A., Cao V.L., Lin H.J., Bujang J.S., Ooi J.L.S., Fortes M.D., Zakaria M.H., Yaakub S.M., Tan Y.M., Huang X., Nakaoka M., 2021, Distribution, temporal change, and conservation status of tropical seagrass beds in Southeast Asia: 2000–2020, *Frontiers in Marine Science*, 8, 637722.
5. Ambo-Rappe R., 2020, Seagrass meadows for fisheries in Indonesia: a preliminary study, *Earth and Environmental Science*, 564 (2020) 012017.
6. Department of Marine and Coastal Resources of Thailand's (DMCR) on The Inventory WILDLABS, <https://wildlabs.net/node/7906>.
7. Chen L.Y., Chen J.M., Gituru R.W., Wang Q.F., 2012, Generic phylogeny, historical biogeography and character evolution of the cosmopolitan aquatic plant family Hydrocharitaceae, *BMC Evolutionary Biology*, 12, pp. 30.
8. Nguyen X.V., Phan T.T.H., Cao V.L., Nguyen N.N.T., Nguyen T.H., Nguyen X.T., Lau V.K., Hoang C.T., Nguyen T.M.N., Nguyen M.H., Dao V.H., Teichberg M., Papenbrock J., 2022, Current advances in seagrass research: A review from Viet Nam, *Frontiers in Plant Science*, 13, 991865.
9. Spalding M.D., Helen F.E., Gerald A.R., Davidson, Nick, Ferdaña, Zach A., et al., 2007, Marine Ecoregions of the World: A Bioregionalization of Coastal and Shelf Areas, *BioScience*, 57(7), pp. 573–583.
10. Cao V.L., Dam D.T., 2014, Seagrass of the Western Coastal Zone of the Gulf of Tonkin, Vietnam, *Vietnam Journal of Marine Science and Technology*, 14(3A), pp. 223-229.

11. Cao V.L., Dam D.T., Nguyen T.N., 2020, Hydrophyte communities in the Tam Giang - Cau Hai lagoon, *Vietnam Journal of Marine Science and Technology*, 20(2), pp. 199–208.
12. Nguyen X.V., Lau V.K., Nguyen N.N.T., Nguyen T.H., Phan K.H., Dao V.H., Dinh D.H., Hayashizaki K., Fortes M.D., Papenbrock J., 2021, Update of seagrass cover and species diversity in Southern Viet Nam using remote sensing data and molecular analyses, *Regional Studies in Marine Science*, 44, 101803.
13. Đỗ Anh Duy, Nguyễn Khắc Bát, Nguyễn Văn Hiếu, 2020, Phân bố cỏ biển tại quần đảo Hải Tặc, thành phố Hà Tiên, tỉnh Kiên Giang, *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 56(4), tr. 18-25.
14. Nguyễn Văn Tiến (chủ biên), Lê Thanh Bình, Nguyễn Hữu Đại, Trần Hồng Hà, Từ Thị Lan Hương, Đỗ Nam và Đàm Đức Tiến, 2004, *Tiến tới quản lý hệ sinh thái cỏ biển Việt Nam*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
15. Cao V.L., Nguyen V.T., Komatsu T., Nguyen V.D., Dam D.T., 2012, Status and threats on seagrass beds using GIS in Vietnam, *SPIE Proceedings*, 8525, pp. 214-226.
16. Lacap C., Vermaat J., Rollon R., Nacorda H., 2002, Propagule dispersal of the SE Asian seagrasses *Enhalus acoroides* and *Thalassia hemprichii*, *Marine Ecology Progress Series*, 235, pp. 75–80.
17. Short F., Carruthers T., Dennison W., Waycott M., 2007, Global seagrass distribution and diversity: A bioregional model, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 350(1), pp. 3-20.
18. Brouns J.J.W.M., Heijs F.M.L., 1986, Production and biomass of the seagrass *Enhalus acoroides* (L.f.) Royle and its epiphytes, *Aquatic Botany*, 25, pp. 21-45.
19. Orth R.J., Carruthers T.J.B., Dennison W.C., Duarte C.M., Fourqurean J.W., Heck Jr. K.L., Hughes A.R., Kendrick G.A., Kenworthy W.J., Olyarnik S., Short F.T., Waycott M., Williams S.L., 2006, A global crisis for seagrass ecosystems, *BioScience*, 56(12), pp. 987.
20. Heck K., Hays G., Orth R., 2003, Critical evaluation of the nursery role

- hypothesis for seagrass meadows, *Marine Ecology Progress Series*, 253, pp. 123-136.
21. Duarte C.M., Chiscano C.L., 1999, Seagrass biomass and production: a reassessment, *Aquatic Botany*, 65(1-4), pp. 159-174.
 22. Waycott M., Duarte C.M., Carruthers T.J., Orth R.J., Dennison W.C., Olyarnik S., Calladine A., Fourqurean J.W., Heck K.L., Jr., Hughes A.R., Kendrick G.A., Kenworthy W.J., Short F.T., Williams S.L., 2009, Accelerating loss of seagrasses across the globe threatens coastal ecosystems, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(30), pp. 12377-12381.
 23. Kemp W.M., Boynton W. R., Adolf J.E., Boesch D.F., Boicourt W.C., Brush G., Cornwell J.C., Fisher T.R., Glibert P.M., Hagy J. D., Harding L.W., Houde E.D., Kimmel D.G., Miller W.D., Newell R.I.E., Roman M.R., Smith E.M., Stevenson J.C., 2005, Eutrophication of Chesapeake Bay: historical trends and ecological interactions, *Marine Ecology Progress Series*, 303, pp. 1-29.
 24. Preen A., Marsh H., 1995, Responses of dugongs to large-scale loss of seagrass from Hervey Bay, Queensland, Australia, *Wildlife Research*, 22 (507-19).
 25. Lodge D.M., Williams S., MacIsaac H.J., Hayes K.R., Leung B., Reichard S., Mack R.N., Moyle P.B., Smith M., Andow D.A., Carlton J.T., McMichael A., 2006, Biological invasions: recommendations for U.S. policy and management, *Ecological Applications*, 16(6), pp. 2035-2054.
 26. Marbà N., Santiago R., Díaz-Almela E., Álvarez E., Duarte C.M., 2006, Seagrass (*Posidonia oceanica*) vertical growth as an early indicator of fish farm-derived stress, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 67(3), pp. 475-483.
 27. Dunic J.C., Brown C.J., Connolly R.M., Turschwell M.P., Côté I.M., 2021, Long-term declines and recovery of meadow area across the world's seagrass bioregions, *Global Change Biology*, 27(17), pp. 4096-4109.
 28. Krause-Jensen D., Duarte C.M., Sand-Jensen K., Carstensen J., 2021, Century-long records reveal shifting challenges to seagrass recovery, *Global*

Change Biology, 27(3), pp. 563-575.

29. McKenzie L.J., Nordlund L.M., Jones B.L., Cullen-Unsworth L.C., Roelfsema C., Unsworth R.K.F., 2020, The global distribution of seagrass meadows, *Environmental Research Letters*, 15(7).
30. Rifai H., Quevedo J.M.D., Lukman K.M., Sondak C.F.A., Risandi J., Hernawan U.E., Uchiyama Y., Ambo-Rappe R., Kohsaka R., 2023, Potential of seagrass habitat restorations as nature-based solutions: Practical and scientific implications in Indonesia, *Ambio*, 52(3), pp. 546-555.
31. Bujang J.S., Zakaria M.H., Short F.T., 2016, Seagrass in Malaysia: Issues and Challenges Ahead, *Springer Netherlands*, pp. 1-9.
32. Fortes M.D., 2022, Seagrass factor in climate change mitigation in the Philippines, *Philippine Journal of Science*, 151(S1), pp. 195-206.
33. Trinh X.T., Takeuchi W., 2023, National scale seagrass mapping in Vietnam from 1985 to 2019 using Landsat images, *Asian Journal of Geoinformatics*, 23, pp. 2211011.
34. Trần Thị Thúy Hằng, Hà Nam Thắng, Nguyễn Duy Quỳnh Trâm, Mạc Như Bình, Trương Văn Đan, Ngô Thị Hương Giang, Nguyễn Đức Thành, 2024, Thành phần loài và sinh khối cỏ biển tại Đầm Sam Chuồn và Hà Trung, tỉnh Thừa Thiên Huế, *Hue University Journal of Science: Agriculture and Rural Development*, 133(3B), tr. 171-184.
35. Ni T.N.K., Tin H.C., Thach V.T., Jamet C., Saizen I., 2020, Mapping submerged aquatic vegetation along the Central Vietnamese coast using multi-source remote sensing, *ISPRS International Journal of Geo-Information*, 9(6), pp 351.
36. Vo T.T., Lau K., Liao L.M., Nguyen X.V., 2020, Satellite image analysis reveals changes in seagrass beds at Van Phong Bay, Vietnam during the last 30 years, *Aquatic Living Resources*, 3.
37. Van L.N., Hoang S.P.T., 2023, Status and temporal change in the distribution of seagrass beds and coral reefs in the waters of Phu Quoc islands, Kien Giang province, *Vietnam Journal of Marine Science and Technology*, 23(1), pp. 57-71.

38. Nguyen Q.H., Sasaki J., Higa H., Nguyen H.H., 2017, Spatiotemporal variation of turbidity based on Landsat 8 OLI in Cam Ranh Bay and Thuy Trieu Lagoon, Vietnam, *Water*, 9(8), pp. 570.
39. Nguyen X.V., Jutta P., 2019, Assessment by microsatellite analysis of genetic diversity and population structure of *Enhalus acoroides* from the coast of Khanh Hoa Province, Vietnam, *Acta Oceanologica Sinica*, 38(1), pp. 144-150.
40. Orth R.J., Heck K.L.Jr., 2023, The dynamics of seagrass ecosystems: history, past accomplishments, and future prospects, *Estuaries and Coasts*, 46(7), pp. 1653-1676.
41. Fenchel T., Phillips R.C., McRoy C.P., [Eds.], 1980, *Handbook of seagrass biology: An ecosystem perspective*, Garland STPM Press, New York and London.
42. Mendoza A.R.R., Patalinghug J.M.R., Divinagracia J.Y., 2019, The benefit of one cannot replace the other: seagrass and mangrove ecosystems at Santa Fe, Bantayan Island, *Journal of Ecology and Environment*, 43(1), pp. 18.
43. Quyết định 218/QĐ-TTg 2014 quản lý hệ thống rừng đặc dụng khu bảo tồn biển vùng nước đến 2020.
44. Luật Thủy sản 2017 số 18/2017/QH14.
45. Quyết định phê duyệt Quy hoạch chung xây dựng đảo Phú Quốc, tỉnh Kiên Giang đến năm 2020.
46. MCD (2013), Project on strengthen marine ecosystems management and community livelihood development, respond to climate change <https://mcdvietnam.org/who-we-are/>.
47. Waycott M., Procaccini G., Les D.H., Reusch, T.B.H., 2006, Seagrass evolution, ecology and conservation: A genetic perspective', in Larkum, A.W.D., Orth, R.J. and Duarte, C.M. (eds.) *Seagrasses: Biology, Ecology and Conservation*. Dordrecht: Springer, pp. 25-50.
48. Williams S.L., 2001, Reduced genetic diversity in eelgrass transplantations affects both population growth and individual fitness, *Ecological Applications*, 11(5), pp. 1472-1488.

49. Nakajima Y., Matsuki Y., Arriesgado D.M., Campos W.L., Nadaoka K., Lian C., 2017, Population genetics information for the regional conservation of a tropical seagrass, *Enhalus acoroides*, around the Guimaras Strait, Philippines, *Conservation Genetics*, 18(4), pp. 789-798.
50. Evans S.M., Sinclair E.A., Poore A.G.B., Bain K.F., Vergés A., 2016, Genotypic richness predicts phenotypic variation in an endangered clonal plant, *PeerJ*, 4, e1633.
51. Procaccini G., Olsen J.L., and Reusch T.B.H., 2007, Contribution of genetics and genomics to seagrass biology and conservation, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 350(1–2), pp. 234-259.
52. Nakajima Y., Matsuki Y., Miguel D.F., Wilfredo H.U., Wilfredo L.C., Kazuo N., Chunlan L., 2023, Strong genetic structure and limited gene flow among populations of the tropical seagrass *Thalassia hemprichii* in the Philippines, *Journal of Marine Science and Engineering*, 11(2), 356.
53. Seagrass research methods - UNESCO Digital Library, <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000087370>.
54. Hemminga M.A., Duarte C.M., 2009, *Seagrass Ecology*, Cambridge: Cambridge University Press, pp. 146-198.
55. Frankham R., Ballou J.D., Briscoe D.A., 2010, *Introduction to Conservation Genetics*, 2nd ed., Cambridge University Press, pp. 41-65.
56. Reusch T.B.H., Boström C., 2011, Widespread genetic mosaicism in the marine angiosperm *Zostera marina* is correlated with clonal reproduction, *Evolutionary Ecology*, 25(4), pp. 899-913.
57. Botstein D., White R.L., Skolnick M., Davis R.W., 1980, Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphisms, *Am J Hum Genet*, 32, pp. 314-331.
58. Avise J.C., 1994, *Molecular markers, natural history and evolution: Natural history and evolution*, Springer Science & Business Media, pp. 78-81.
59. Waycott M., Walker D.I., and James S.H., 1996, Genetic uniformity in *Amphibolis antarctica*, a dioecious seagrass, *Heredity*, 76(6), pp. 578-585.

60. Purnobasuki H., Hariyanto S., and Rakhmad Purnama P.R., 2021, Genetic diversity of seagrass *Thalassia hemprichii* and *Enhalus acoroides* in coastal area of East Java, *Jordan Journal of Biological Sciences*, 14(1), pp. 111-119.
61. Dilipan E., Papenbrock J., Thangaradjou T., 2017, Random amplified polymorphic DNA (RAPD) fingerprints evidencing high genetic variability among marine angiosperms of India, *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 97(6), pp. 1307-1315.
62. Nguyen X.V., Thirunavukarassu T., Papenbrock J., 2013, Genetic variation among *Halophila ovalis* (Hydrocharitaceae) and closely related seagrass species from the coast of Tamil Nadu, India – an AFLP fingerprint approach, *Systematics and Biodiversity*, 11(4), pp. 467-476.
63. Nguyen X.V., Matsapume D., Piyalap T., Japar B.S., Muta Z.H., Anchana P., Jutta P., 2014, Genetic species identification and population structure of *Halophila* (Hydrocharitaceae) from the Western Pacific to the Eastern Indian Ocean, *BMC Evolutionary Biology*, 14(1), pp. 92.
64. Eubanks M., 1998, Molecular systematics, *Economic Botany*, 52(2), pp. 3-5.
65. Alotaibi N.M., Kenyon E.J., Cook K.J., Börger L., Bull J.C., 2019, Low genotypic diversity and long-term ecological decline in a spatially structured seagrass population, *Scientific Reports*, 9(1), 18387.
66. Dilipan E., and Arulbalachandran D., 2022, Genetic diversity of seagrass *Cymodocea* species as an ecological indicator on the Palk Bay Coast, India, *Ecological Genetics and Genomics*, 23, 100119.
67. Liu S.Y.V., Hsu C.H., Li C.Y., 2022, Temporal instability in genetic structure of a marine monocot (*Halophila ovalis*), *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 276, 108034.
68. Phan T.T.H., Raeymaeker M.D., Luong Q.D., and Triest L., 2017, Clonal and genetic diversity of the threatened seagrass *Halophila beccarii* in a tropical lagoon: Resilience through short distance dispersal, *Aquatic Botany*, 142, pp. 96-104.
69. Nguyen X.V., Jutta P., 2019, Assessment by microsatellite analysis of genetic diversity and population structure of *Enhalus acoroides* from the

- coast of Khanh Hoa Province, Vietnam, *Acta Oceanologica Sinica*, 38(1), pp. 144-150.
70. Dierick J., Phan T.T.H., Luong Q.D., Triest L., 2021, Persistent clones and local seed recruitment contribute to the resilience of *Enhalus acoroides* populations under disturbance, *Frontiers in Plant Science*, 12, 658213.
71. Nguyen X.V., Nguyen N.N.T., Nguyen X.T., Dao V.H., McDermid K.J., and Papenbrock J., 2022, Microsatellite-based analysis of the genetic diversity and population structure of the seagrass species *Thalassia hemprichii* from southern Viet Nam, *Aquatic Botany*, 178, 103497
72. Nguyễn Xuân Vy, 2023, *Nghiên cứu đa dạng loài, đa dạng gen của thực vật biển Việt Nam: Họ Halymeniaceae và Hydrocharitaceae*, Thuyết minh Đề tài nghiên cứu cơ bản, Quỹ Phát triển Khoa học & Công nghệ QG.
73. Nakajima Y., Matsuki Y., Chunlan L., Miguel D.F., Wilfredo H.U., Wilfredo L., Campos M.N., Kazuo N., 2014, The Kuroshio Current influences genetic diversity and population genetic structure of a tropical seagrass, *Enhalus acoroides*, *Molecular Ecology*, 23(24), pp. 6029-6044.
74. Van O.C., Hutchinson W.F., Wills D.P.M., Shipley P., 2004, MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data, *Molecular Ecology Notes*, 4(3), pp. 535-538.
75. Arnaud H.S., Belkhir K., 2007, GENCLONE: a computer program to analyse genotypic data, test for clonality and describe spatial clonal organization, *Molecular Ecology Notes*, 7(1), pp. 15-17.
76. Dorken M.E., Eckert C.G., 2001, Severely reduced sexual reproduction in northern populations of a clonal plant, *Decodon verticillatus* (Lythraceae), *Journal of Ecology*, 89(3), pp. 339-350.
77. Peakall R., Smouse P.E., 2012, GenAlEx 6,5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update, *Bioinformatics*, 28(19), pp. 2537-2539.
78. Guo S.W., Thompson E.A., 1992, Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles, *Biometrics*, 48(2), pp. 361-372.
79. Excoffier L., Lischer H.E.L., 2010, Arlequin suite ver 3,5: a new series of

- programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows, *Molecular Ecology Resources*, 10(3), pp. 564-567.
80. Weir B.S., Cockerham C., 1984, *Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure*, Oxford University Press, 38(6), pp. 1358-1370.
 81. Goudet J., 1995, *FSTAT (Version 1,2): A computer program to calculate F-statistics*, *Journal of Heredity*, 86(6), pp. 485-486.
 82. Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P., 2000, Inference of population structure using multilocus genotype data, *Genetics*, 155(2), pp. 945-959.
 83. Noah A.R., Terry B., Kari E., Marcus W.F., Paul J.F., Martien A.M.G., Jossi H., Asko M.T., Miche`le T.B., Alain V., Klaus W., and Steffen W., 2001, Empirical evaluation of genetic clustering methods using multilocus genotypes from 20 chicken breeds, *Genetics*, 159(2), pp. 699-713.
 84. Evanno G., Regnaut S., Goudet J., 2005, Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study, *Molecular Ecology*, 14(8), pp. 2611-2620.
 85. Earl D.A., Holdt V.B.M., 2012, STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method, *Conservation Genetics Resources*, 4(2), pp. 359-361.
 86. Takezaki N., Nei M., Tamura K., 2010, POPTREE2: Software for constructing population trees from allele frequency data and computing other population statistics with Windows interface. *Molecular biology evolution*, 27(4), 747-752.
 87. Beerli P., Felsenstein J., 2001, Maximum likelihood estimation of a migration matrix and effective population sizes in n subpopulations by using a coalescent approach, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(8), pp. 4563-4566.
 88. Wilson G.A., Rannala B., 2003, Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes, *Genetics*, 163(3), pp. 1177-1191.
 89. Yu S., Liu S., Jiang K., Zhang J., Jiang Z., Wu Y., Huang C., Zhao C., Huang X., Tackett S.M.T., 2018, Population genetic structure of the threatened tropical seagrass *Enhalus acoroides* in Hainan Island, China, *Aquatic*

Botany, 150, pp. 64-70.

90. Serra I.A., Innocenti A.M., Maida G.D., Calvo S., Migliaccio M., Zambianchi E., Pizzigalli C., Arnaud H.S., Duarte C.M., Serrao E.A., Procaccini G., 2010, Genetic structure in the Mediterranean seagrass *Posidonia oceanica*: disentangling past vicariance events from contemporary patterns of gene flow, *Molecular Ecology*, 19(3), pp. 557-568.
91. Van Dijk J.K., Tussenbroek B.I., Jiménez- Durán K., G.J. Márquez - Guzmán G.J., Ouborg N.J., 2009, High levels of gene flow and low population genetic structure related to high dispersal potential of a tropical marine angiosperm, *Marine Ecology Progress Series*, 390, pp. 67-77.
92. Diekmann O.E., Serrão E.A., 2012, Range-edge genetic diversity: locally poor extant southern patches maintain a regionally diverse hotspot in the seagrass *Zostera marina*”, *Molecular Ecology*, 21 (7), pp. 1647-1657.
93. Putra I.N.G., Syamsuni Y.F., Subhan B., Pharmawati M., Madduppa H., 2018, Strong genetic differentiation in tropical seagrass *Enhalus acoroides* (Hydrocharitaceae) at the Indo-Malay Archipelago revealed by microsatellite DNA, *PeerJ*, 6 (4315).
94. Yu S., Wu Y., Serrao E.A., Zhang J., Jiang Z., Huang C., Cui L., Thorhaug A., Huang X., 2019, Fine-scale genetic structure and flowering output of the seagrass *Enhalus acoroides* undergoing disturbance, *Ecology and Evolution*, 9(9), pp. 5186-5195
95. Hughes A.R., Williams S.L., Duarte C.M., Heck Jr K.L., Waycott M., 2009, Associations of concern: declining seagrasses and threatened dependent species, *Frontiers in Ecology and the Environment*, 7(5), pp. 242-246
96. Hughes A.R., Stachowicz J.J., 2004, ‘Genetic diversity enhances the resistance of a seagrass ecosystem to disturbance’, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(24), pp. 8998-9002.
97. Ries S.R., Faust E., Johannesson K., Jonsson P.R., Moksnes P.O., Pereyra R.T., Jahnke, 2023, Genetic structure and diversity of the seagrass *Zostera marina* along a steep environmental gradient, with implications for genetic monitoring, *Frontiers in Climate*, 5, 1303337.

98. García-Escudero C.A., Tsigenopoulos C.S., Manousaki T., Tsakogiannis A., Marbà N., Vizzini S., Duarte C.M., Apostolaki E.T., 2023, Population genomics unveils the century-old invasion of the seagrass *Halophila stipulacea* in the Mediterranean Sea, *Marine Biology*, 171(2), 40.
99. Jeffery N.W., Vercaemer B., Stanley R.R., Kess T., Dufresne F., Noisette F., Wong, 2024, Variation in genomic vulnerability to climate change across temperate populations of eelgrass (*Zostera marina*). *Evolutionary Applications*, 17(4), e13671.
100. Mantel N., 1967, The detection of disease clustering and a generalized regression approach”, *Cancer Research*, 27(2) Part_1, pp. 209-220.
101. Slatkin M., 1995, A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies, *Genetics*, 139 (1), pp. 457-462.
102. Slatkin M., 1993, Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations, *Evolution*, 47 (1), pp. 264-279.
103. Kendrick G.A., Waycott M., Carruthers T.J.B., Cambridge M.L., Hovey R., Krauss S.L., Lavery P.S., Les D.H., Lowe R.J., Vidal O.M.I, Ooi J.L.S., Orth R.J., Rivers D.O., Ruiz-Montoya L., Sinclair E.A., Statton J., Dijk J. K.V., Verduin J.J., 2012, The central role of dispersal in the maintenance and persistence of seagrass populations, *BioScience*, 62(1), pp. 56-65.
104. Wright S., 1943, Isolation by distance, *Genetics*, 28 (2), pp. 114-138.
105. Kathryn M., Corresponding A., Kor-jent V.D., Leonardo R.M., Gary A.K., Siegfried L.K., Michelle W., Jennifer V., Ryan L., John S., Eloise B., Carlos D., 2014, The movement ecology of seagrasses, *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1795).
106. Litsi M. V., García E.C.A., Tsigenopoulos C.S., Tsiaras K., Gerakaris V., Apostolaki E.T., 2024, Unravelling the genetic pattern of seagrass (*Posidonia oceanica*) meadows in the Eastern Mediterranean Sea. *Biodiversity and Conservation*, 33(1), pp.257-280.
107. Lacap C., Vermaat J., Rollon R., Nacorda H., 2002, Propagule dispersal of the SE Asian seagrasses *Enhalus acoroides* and *Thalassia hemprichii*, *Marine Ecology Progress Series*, 235, pp. 75-80.

108. Fang, Wang G., Fang Y., Fang W., 2012, A review on the South China Sea western boundary current, *Acta Oceanologica Sinica*, 31(5), pp.1-10.
109. Chen C.F., Lau V.K., Chang N.B., Son N.T., Tong P.H.S., Chiang S.H., 2016, Multi-temporal change detection of seagrass beds using integrated Landsat TM/ETM+/OLI imageries in Cam Ranh Bay, Vietnam, *Ecological Informatics*, 35, pp. 43-54.

PHỤ LỤC

PHỤ LỤC 1

- Các đôi mồi được sử dụng cho loài cỏ biển *E. acoroides* (F = Forward, mồi xuôi. R = Reverse, mồi ngược. FAM (Fluorescent Antibody to Membrane), HEX (Hexachloro - fluorescein), TAMRA (Tetramethylrhodamine) là các chất huỳnh quang gắn trên mồi xuôi hoặc ngược. A, B và C: Điều kiện phản ứng PCR).

Tên locus	Trình tự	Hướng	Chất huỳnh quang	Nhóm PCR
Eaco_001	GGCTTGAGTTTGTTTAGAATTC TAG	F	FAM	A
	TTACATGTGGAATGCATACAC	R		
Eaco_010	GAGTCATAACATTCATATCC	F	HEX	
	AAATGATGCAAAGGCTTGTAC	R		
Eaco_018	CTTAGCTGGTGCTTGATTTG	F	TAMRA	
	CTACCTTGATAACCTATCAC	R		
Eaco_050	GAATAAATCAAGTCCCTTGAG	F	TAMRA	
	CAAATAAGATGTGGCTTAC	R		
Eaco_051	CATACAGATGCATGCATACTC	F	HEX	
	CTAAGCGCTACGTGGTACTAG	R		
Eaco_054	GCTTCTAATTAGCATTTTGGAC TTCAG	F	FAM	B
	ATTTGGGACGTCCAAAGAG	R		
Eaco_055	CTTTTGCTCCCAAATTGAATG	F	FAM	
	ATGCTTAGTGCAGCTTGTTT	R		
Eaco_002	ACTTCAGCCTTGTATGGAAC	F	FAM	
	CTATATGCCATAACCATCCATG	R		
Eaco_019	AGGTATTCCTTACCACCGTTC	F	HEX	
	CACGGAGGTCTTTCGAAGTTG	R		
Eaco_048	CATAAGATGCGTGATCAAGC	F	HEX	
	CATGCTACAACGATCTTCTG	R		
Eaco_052	CAGGCGCACAACGTATGTAC	F	TAMRA	
	GAACCACATCATCAGTGTG	R		
EA_447	GGGGAGCTATCTTTGTGC	F	HEX	
	GAATCACCCGTTCCAAGA	R		

- Thông số chu kỳ nhiệt:

+ Biến tính ban đầu: 95°C/15 phút

+ 32 chu kỳ gồm:

Biến tính: 94°C/30 giây

Bắt mồi: 58°C/90 giây

Kéo dài: 72°C/60 giây

+ Kết thúc: 60°C/30 phút

PHỤ LỤC 2

Thu mẫu cỏ Lá dừa - *Enhalus acoroides*

Thu mẫu cỏ Lá dừa - *Enhalus acoroides* tại thực địa

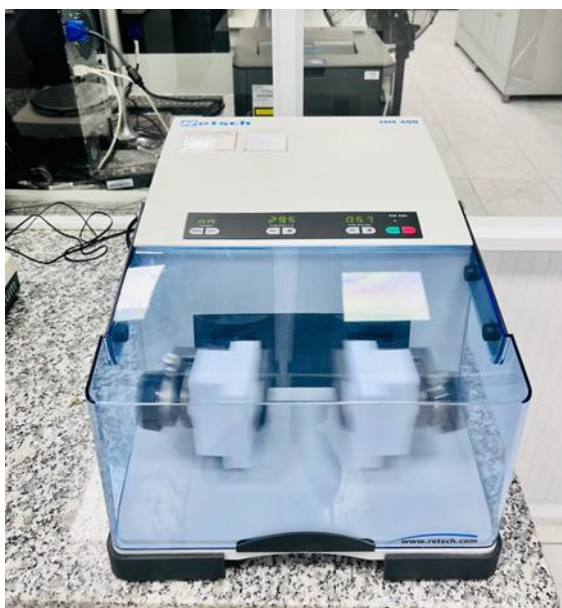


*Khu vực thu bổ sung 16 mẫu cỏ Lá Dừa *Enhalus acoroides* tại Sông Lô
(tỉnh Khánh Hoà) – tháng 10/2025*

PHỤ LỤC 3

Tách DNA và nhân bản chỉ thị microsatellite Tại Phòng thí nghiệm Trọng điểm cấp Viện Hàn lâm KHCNVN đặt tại Viện Hải dương học

Xử lý mẫu cỏ Lá dừa *Enhalus acoroides* tại phòng thí nghiệm

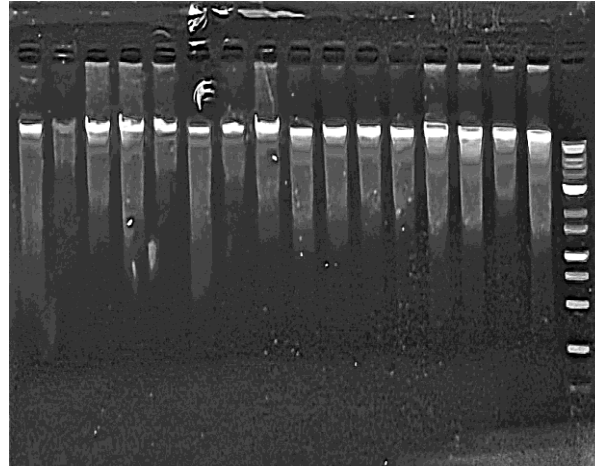


Mẫu vật được làm khô và nghiền bằng máy nghiền mẫu MM400

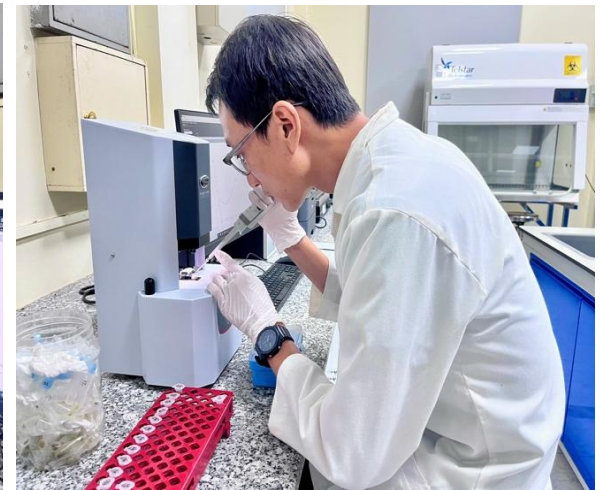
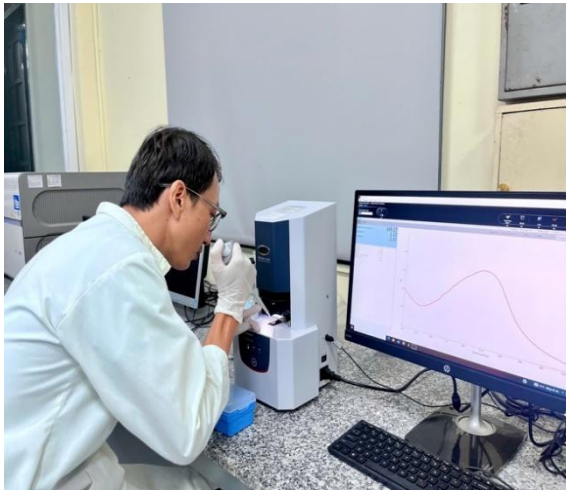
Tách DNA từ mẫu cỏ Lá dừa *Enhalus acoroides*



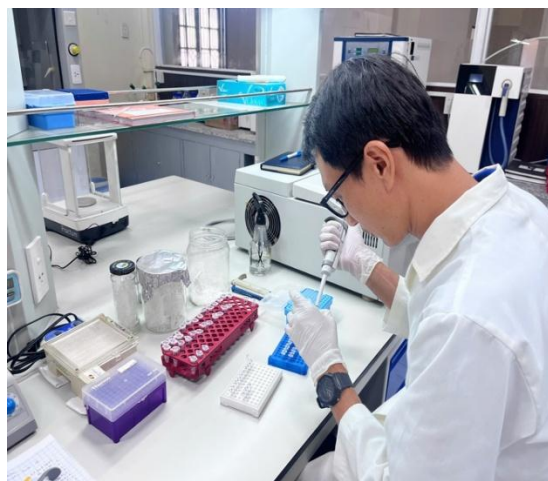
Bột mẫu được tách DNA bằng bộ kit *i-genomic™ Plant DNA Extraction Mini Kit* (inTRON Biotechnology, Hàn Quốc)



Định tính DNA bằng điện di agarose với thuốc nhuộm CSL-Runsafe (Clever Scientific Ltd, Warwickshire, UK)



Định lượng nồng độ DNA bằng máy Nanodrop (Shimadzu, Nhật Bản)
Nhân bản chỉ thị microsatellite



Phản ứng PCR thực hiện trên máy luân nhiệt PTC 200 Thermo cycler



Genetic diversity and its role in seagrass restoration: A review

Duc-Duy Nguyen¹, Thanh-Huy Nguyen², Phuong-Thao Tran³, and Xuan-Vy Nguyen^{1,4*}

¹Graduate University of Science and Technology, VAST, Ha Noi 100000, Viet Nam

²World Wide Fund for Nature in Viet Nam, Ha Noi 100000, Viet Nam

³ Management Board of Cham Island MPA, Hoi An 51300, Viet Nam

⁴Institution of Oceanography, VAST, Nha Trang Ward, Khanh Hoa, 65000, Viet Nam

*Corresponding author: nxvy@io.vast.vn, T. +84-258-3590036, F. +84-258-3590034

ABSTRACT

Seagrass beds play a crucial role in coastal zones, providing ecosystem services such as carbon storage, water purification, and habitat for marine life. However, they have been declining because of multiple stressors. Restoration is a widely used strategy to recover the seagrass beds. In recent years, genetic diversity and population structure of both donor and sink populations have become essential for effective restoration and conservation purposes. This review links global knowledge on seagrass degradation, restoration, and the role of genetic diversity to the context of Viet Nam, with the aim to provide valuable insights for advancing seagrass restoration efforts in the country.

keywords: genetic, lessons, restoration, seagrass, Viet Nam

Introduction

Seagrasses are flowering marine plants that evolved from terrestrial plants around 149 million years ago (Silva et al. 2021). Seagrasses harbor rich diversity, with 72 species reported worldwide (Short et al. 2011). Unlike marine macroalgae, seagrasses have true roots, stems, fruits and leaves. Their shoots and rhizomes can form dense meadows in shallow coastal waters, serving as an important ecosystem to maintain coastal health by supporting food security, biodiversity, habitat and nursery grounds for fish and invertebrates, carbon sequestration, reducing coastal erosion, and improving water quality (do Amaral Camara et al. 2023). Unfortunately, this fragile ecosystem has been threatened globally. There has been an overall declining trend across all seven bioregions amounting to about 5,602 km² (19.1% of the surveyed meadow area) since 1880 (Dunic et al. 2021). In Southeast Asia, seagrass meadows was estimated at 3,670 km² (Sudo and Nakaoka 2020), forming the most diverse and productive coastal ecosystems in the world. Nevertheless,

they have been extensively degraded due to pollution, coastal development, eutrophication, and destructive fishing practices. Urbanization and aquaculture activities have strongly contributed to sedimentation and reduced water quality, thereby further stressing the habitats. Seagrass restoration is one of the most urgent strategies to prevent degradation, by transplanting shoots from healthy meadows. In contrast, seed-based restoration can promote genetic diversity, and hence is suitable for large-scale restoration. Theoretically, populations with higher genetic diversity are more resilient (Connolly et al. 2018), implying that future restoration should include genetic diversity to evaluate success under local environmental and climate changes (Pazzaglia et al. 2021).

In Viet Nam, the updated seagrass distribution is estimated at 15,634 ha (Nguyen-Nhat et al. 2024). Fifteen seagrass species have been recorded, with three dominant species: *Enhalus acoroides* (Linnaeus f.) Royle, *Thalassia hemprichii* (Ehrenberg) Ascherson, and *Halophila ovalis* (R.Brown) J.D.Hooker (Nguyen et al. 2022). Similar to other countries worldwide, seagrass beds

Received January 20, 2026 / Revised May 8, 2026 / Accepted May 11, 2026

Copyright © 2026 Research Institute for Basic Sciences, Jeju National University

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

in Viet Nam are experiencing degradation. Major threats include coastal development and habitat destruction, pollution and eutrophication, sedimentation and turbidity, destructive fishing behaviors, and climate change (Orth et al. 2006; Waycott et al. 2009). Small scale restoration for *H. ovalis*, *E. acoroides*, and *Nanozostera japonica* (Ascherson & Graebner) Tomlinson & Posluszny (Fig. 1) have been conducted at Ha Long Bay, Thu Bon estuary (Nguyen 2010), and Thuy Trieu lagoon (Pham 2008). However, genetic diversity of these three species was not considered. In this review, we present the degradation and restoration of seagrass in Viet Nam in comparison with global trends, and highlight the role of genetic diversity in seagrass restoration. In addition, lessons were mentioned from failures and successes of seagrass restoration in the world.

Seagrass degradation and loss

Despite the ecologically important role, seagrasses are declining globally. Both natural disturbances (e.g. storms, hurricanes, and diseases) and human activities (e.g. dredging, pollution, coastal development, boating, and fishing practices) are the main causes (Strydom et al. 2023). Waycott et al. (2009) reported that approximately 29% of the world’s seagrass beds have been lost or degraded since 1879. Mwikamba et al. (2024) reported annual seagrass loss rates of 0.29–1.59% in Kenya, 0.26–7.2% (1991–2013) in Mozambique, 2% (1972–2010) in Tunisia, and 2.8–38% (1960–2007) in South Africa. Therefore, Africa’s seagrass cover in some areas is declining even faster than the global average annual rate (7%). They also proposed that human-induced factors were the most significant threats to African seagrasses, with 74% of the identified drivers directly linked to human

activities. Based on seagrass species and percent cover from a broad area of the Eastern Banks, Australia, Smart et al. (2025) found a decline in seagrass meadows due to changing species composition and reductions in spatial distribution. Another species *Posidonia oceanica* (Linnaeus) Delile meadows at The Ligurian Sea (northwestern Mediterranean) have lost nearly half of their original beds since the mid-19th century due to intensive coastal development (Montefalcone 2024). In Tampa Bay, Florida, USA, seagrass coverage has declined by about 11,518 acres since 2016 (Beck et al. 2024), which ascribed to alterations in physical water quality associated with climate change. In Australia, seagrass decline is consistent with global patterns, with at least 291,783 ha, equivalent to about 5.5% of the estimated national seagrass coverage lost since the 1930s (Statton et al. 2018).

The coastline of Viet Nam is divided into four regions: northeast, north central, south central, and southern Viet Nam (Fig. 2). Seagrasses occur widely along the coast and around offshore islands, with the highest diversity found in the south central and southern regions. However, over the past several decades, the country has experienced a substantial decline in both seagrass extent and health. Nguyen et al. (2004) initially reported seagrass degradation in Khanh Hoa province. Subsequent detailed studies revealed spatial and temporal changes of seagrasses in specific areas. For instance, Vo et al. (2020) reported that 186.2 ha (equivalent to 35.8%) of the original seagrass beds in Van Phong Bay were lost over the past three decades due to various anthropogenic and natural factors. Similarly, Chen et al. (2016) found that the total area of seagrass beds in Cam Ranh Bay declined by approximately 25% (66 ha)



Fig. 1. Transplantation of *Nanozostera japonica* from a healthy meadow to a disturbed site for restoration in Nui Thanh, Da Nang. Source: Nguyen (2010).



Fig. 2. *Enhalus acoroides* beds in Hon Son Island, the West Sea of Viet Nam. Photo by: Nhat-Thuy, 2024.

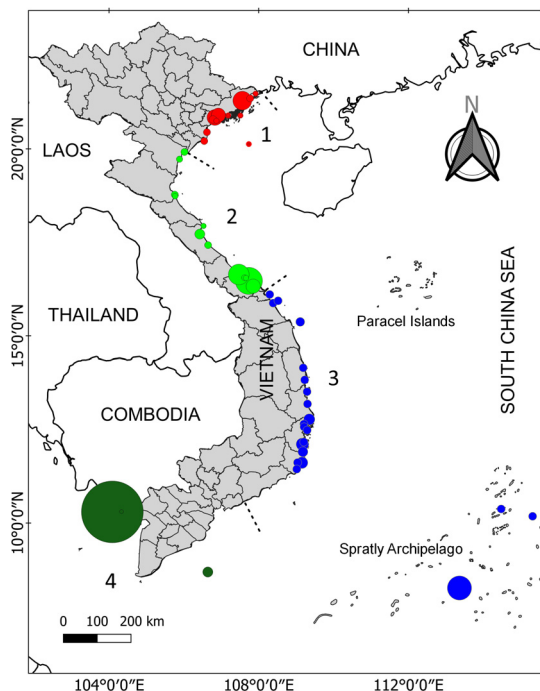


Fig. 3. Map of Viet Nam showing seagrass distribution (round solid cycles). Scale of each cycle is proportional to the size of seagrass beds (Modified from Nguyen et al. 2022).

from 1996 to 2015, primarily as a result of coastal development and infrastructure expansion. More recently, Nguyen et al. (2021) estimated that the total coverage of seagrass beds in Southern Viet Nam to be 10,832 ha, with an estimated loss of 2,562 ha (or 19.1%). At the national scale, Trinh and Takeuchi (2019) estimated that seagrass coverage in Viet Nam has declined by about 46.5% (or 13,549 ha) since 1990. Seagrass beds in the West Sea of Viet Nam are undergoing degradation (Fig. 3). Key threats include coastal infrastructure development such as island ring roads and harbor construction as well as small-scale aquaculture activities, particularly fish and *Babylonia areolata* (sea snail) farming (Nguyen-Nhat et al. 2024).

Restoration of seagrass

Restoration has become an important strategy to reduce the global decline of seagrass ecosystems. Several techniques have been applied, including shoot transplantation and seed-based propagation. Selection of each method strongly depends on site characteristics, species and local environmental conditions (Unsworth et al. 2025). Broadly, restoration methods involve two categories: transplantation and seed-based approaches. Transplantation relocates adult shoots, sods, or plugs from healthy donor beds to degraded beds (Ferretto et al. 2021), whereas

seed-based restoration uses the seeds collected from natural populations, which are either sown directly in the field or germinated under controlled conditions (Unsworth et al., 2025). However, survival rates vary widely across species and locations. In Australia, for example, restoration incorporated a wide range of methods such as the transplantation of sprigs, plugs, and seed-based interventions.

These efforts have ranged from small pilot projects to large-scale transplantation trials, incorporating both manual and mechanical planting techniques and employing various anchoring methods, including biodegradable pots, hooks, and pegs. Bastyan and Cambridge (2008) reported that transplanted *Amphibolis antarctica* (Labillardière) Ascherson exhibited considerable spatial and temporal variability in performance. Recruitment was recorded on all planting bags, and long-term survival (up to 38 months) ranged from 0 to 72 individuals/m². Using seeds sown into hessian, Tanner et al. (2014) demonstrated good recruitment and survival, with older bags (62 months after deployment) showing greater stem lengths than those observed in natural meadows at Grange, Australia. In contrast, restoration attempts involving *H. ovalis* and *Zostera marina* Linnaeus showed no evidence of the benefit of transplanting, as survival was virtually zero (Connolly et al. 2016).

For seed-based restoration, Buoy-Deployed Seeding (BDS) and Dispenser Injection Seeding (DIS) models were applied in Australia. The BDS technique involves collecting mature reproductive shoots and placing them in mesh bags attached to floating buoys, which are suspended above the target restoration area (Pickerell et al. 2005). As the shoots release their negatively buoyant seeds, the seeds naturally sink and settle across the intended restoration plot. Although this approach can be applied over relatively large spatial scales, its recruitment remains low, with only 1-6.9% of deployed seeds (Marion and Orth, 2010). DIS is one of the most recently developed techniques in seagrass restoration (Govers et al. 2022). In this method, seagrass seeds are combined with local sediment to form a sediment-seed mixture, which is then injected into the substrate using modified sealant guns. These iterative improvements resulted in an 83-fold increase in field plant densities (from 0.012 to 1.00 plants m⁻²) and a slight reduction in seed loss between 2015 and 2017, demonstrating the potential of DIS to enhance seagrass establishment in restoration sites. However, these developments have not yet resulted in self-sustaining seagrass populations.

Genetic diversity and restoration

In recently years, understanding genetic diversity and popu-

lation structure of donor and recipient populations has been proved crucial to guide restoration and conservation strategies (Mijangos et al. 2015). Byeon et al. (2025) indicated that genetic diversity is key to maintaining ecological resilience, as it boosts seagrass population density, supports richer associated faunal communities, and enables quicker recovery after disturbances. The importance of assessing genetic diversity for restoration has been widely emphasized, particularly considering the need to evaluate donor bed diversity before undertaking seagrass transplantation. Recently, several studies stressed the urgent need to understand the relationships among threats, conservation management, and changes in genetic diversity (Moore et al. 2025; Shaw et al. 2025)

In the Eastern Mediterranean Sea, a genetic study of *Posidonia oceanica* provided valuable information for the restoration. Analyses of twelve microsatellite markers showed that genetic information can identify suitable donor meadows for transplantation and conservation priorities (Litsi-Mizan et al. 2024). Another study at two large-scale sites in Italy: Santa Marinella (Central Tyrrhenian Sea) and Ischia Porto (Southern Tyrrhenian Sea) indicated that shoot density after ten years in transplanted areas reached levels comparable to natural meadows. However, the phenological and lepidochronological traits were still different (Litsi-Mizan et al. 2024). These findings also provide valuable information for *P. oceanica* restoration. For other species, such as *Halophila stipulacea* (Forsskål) Ascherson in the Mediterranean, population genetic characteristic has been demonstrated essential for assessing invasion risks and refining conservation strategies for seagrass ecosystems (García-Escudero et al. 2023).

The role of genetic diversity in restoration of seagrass beds in Viet Nam also received increasing attention. Based on ten microsatellite loci, Nguyen et al. (2022) revealed two genetic groups of *T. hemprichii* (hard bottom and soft bottom) (Fig. 4), and found that western boundary currents drove gene flow in southern Viet Nam. They also identified four populations with high relative genetic contribution to design conservation priorities. For other species *E. acoroides*, Nguyen and Papenbrock (2019) found that its meadows along the Khanh Hoa Province coastline exhibited reduced genetic diversity, as well as pronounced genetic differentiation between lagoon sites and open-sea sites. Eight *E. acoroides* populations along the South-Central Coast of Viet Nam were characterized with clonal richness, genetic diversity, and dispersal within and among populations in four lagoons (Dierick et al. 2021). The strong genetic differentiation among lagoons, suggests that these lagoon systems

acted as barriers to gene flow, and large, persistent genes enhanced the resilience of *E. acoroides* meadows under high disturbance regimes. In addition, the Department of Marine Botany, Institute of Oceanography revealed that three populations of *E. acoroides* along Khanh Hoa coast may be used as donor sites for transplanting (unpublished data). The gene flows among *E. acoroides* populations in the Gulf of Thailand and East Sea of Viet Nam were clarified (Fig. 5).

With the support from WWF, a seagrass restoration project is currently being implemented at Cu Lao Cham MPA, Da Nang. Cu Lao Cham is offshore islands, comprising a main island (approximately 15 km²) and seven smaller islands. Small scale seagrass beds occur surrounding these islands. Among the five species found in this area, *Halophila decipiens* Ostenfeld

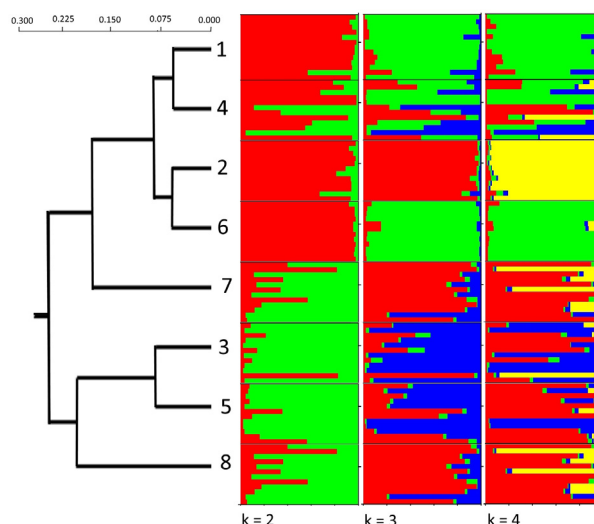


Fig. 4. The clustering analysis of 8 *Thalassia hemprichii* populations in Viet Nam. Hard bottom populations (1, 2, 4, 6 and 7), and soft bottom populations (3, 5 and 8). Source: Nguyen et al. (2021).

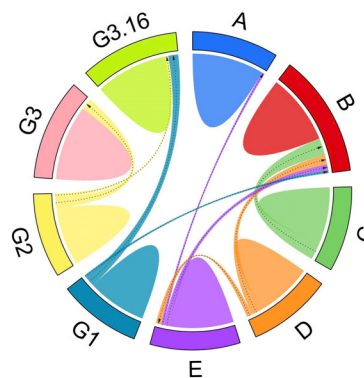


Fig. 5. Gene flows among 9 *Enhalus acoroides* populations in South Viet Nam suggest two populations (C, D) acting as the donor (unpublished data).

(Fig. 6) and *Halodule pinifolia* (Miki) Hartog (Fig. 7) are the two dominant. According to Tin et al. (2020), the coverage of seagrass beds at Cu Lao Cham experienced significant changes between 2003 and 2017. The bed lost 40.17 ha but gained 58.6 ha from 2003 to 2010. In contrast, from 2010 to 2017, seagrass coverage exhibited a loss of 68.76 ha with only 7.27 ha of newly formed beds. They also reported that *Halophila ovalis* and *Nanozostera japonica* were the two of five species recorded in this area. However, Cao et al. (2019) did not include *Nanozostera japonica* and *Oceana serrulata* (R.Brown) Byng & Christenhusz (former name: *Cymodocea serrulata*) in the seagrass species list of Cu Lao Cham. Several specimens of *Halophila major* (Zollinger) Miquel were misidentified as *Halophila ovalis* due to the overlap of morphological traits between each other. Recently, Nguyen



Fig. 6. *Halophila decipiens* at Cu Lao Cham MPA. Photo by Phuong Thao.

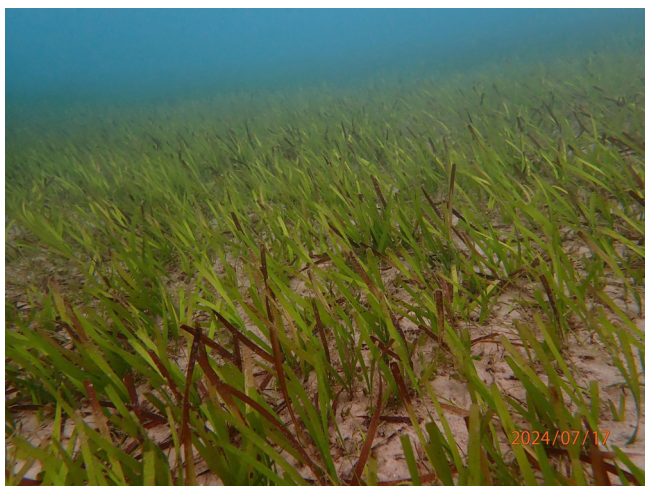


Fig. 7. *Halodule pinifolia* at Bai Bac, Cu Lao Cham MPA. Photo by Phuong Thao.

et al. (2021) noted that *H. major* mainly occurs in the offshore island, whereas *H. ovalis* is commonly found in inland lagoons. In addition, the putative hybridization between *H. ovalis* and *H. major* has been reported (Liu et al. 2020; Nguyen-Nhat et al. 2024). Therefore, the application of genetic markers is essential for improving our understanding of species identities and genetic diversity of seagrass in Cu Lao Cham MPA, an offshore ecosystem.

For mangroves, recent studies have also emphasized that maintaining genetic diversity is essential for successful restoration because populations with higher genetic diversity exhibit greater adaptive potential, resilience, and long-term ecosystem stability (Wee et al. 2019). In Viet Nam, three decades after the Viet Nam War ended, populations of *Avicennia alba* were still increasing in the Mekong Delta (Arnaud-Haond et al. 2009). For another species of mangroves, *Sonneratia caseolaris*, Le and Le (2024) reported high levels of genetic variation both among and within natural populations in Viet Nam, and the authors suggested that conservation of genetic resources is urgently needed for their future use in conservation and reforestation programs. In the South Central Coast of Viet Nam, the genetic diversity data of *Rhizophora apiculata* provided important recommendations for mangrove breeding and restoration programs (Hong Nguyen et al. 2025). In Brazil, using inter-simple sequence repeat (ISSR) markers for two species including *Laguncularia racemosa* and *Avicennia schaueriana*, Granado et al. (2018) indicated that knowledge of genetic monitoring associated with restoration activities can help avoid bottlenecks and other pitfalls. Analyses of genetic diversity and mating systems have been applied for conservation and restoration strategies of *Rhizophora apiculata* and *Avicennia marina* in Tielu Harbor Mangrove Nature Reserve, China (Lu et al. 2022). For marine macroalgae, recent studies have highlighted that preserving genetic diversity is critical for successful restoration and long-term resilience (Coleman et al. 2020). Based on genetic baseline data, three populations of the red alga *Ahnfeltiopsis pusilla* located in the southernmost sites of the Northwest Iberian Peninsula were identified as particularly valuable for conservation because they contain most of the species' genetic heritage and provide useful insights for the conservation of endangered seaweeds (Couceiro et al. 2011). Kelp forests have experienced localized to regional declines due to multiple stressors, including eutrophication, overgrazing, ocean warming, and marine heatwaves (Carnell and Keough 2019). Understanding genetic structure appears to be a key factor for successful large-scale restoration (Coleman and Wernberg 2018; Wernberg

et al. 2018). In support of restoration practices for coastal shrub species (*Westringia fruticosa* and *Acacia suaveolens*), Rossetto et al. (2019) suggested that genomic data are an important component in decisions regarding the sourcing of restoration materials to meet specific restoration objectives.

Based on these previous studies, the role of genetic diversity in seagrass restoration can be listed as follows:

- i) Seagrass populations with higher genetic diversity have greater tolerance to environmental changes such as temperature, salinity, turbidity, and nutrients (Hughes and Stachowicz 2004);
- ii) Using multiple genotypes in restoration can enhance survival, density, and growth of seagrass. Therefore, it maintains both success and stability of seagrass beds (Pazzaglia et al. 2021);
- iii) Due to resistant genotypes, genetic variation can support populations against disease, and help conserve population structure and ecological functions during outbreaks (Ries et al. 2023);

- iv) Seagrass beds with high genetic diversity provide stronger services such as carbon storage, sediment stabilization, nutrient cycling, and functions of habitat (Bijak et al. 2023);
- v) Genetic diversity enhances flowering rates, seed production, the success of sexual recruitment, and long-term survival (Alotaibi et al. 2019);
- vi) Genetic diversity increases the capacity of populations to adapt to environmental changes such as temperatures and storm, thereby supporting long-term ecosystem stability (Ehlers et al. 2008);
- vii) Genetic data can be used to reveal suitable donor beds, ensuring that genotypes are appropriate for sink meadows (Mijangos et al. 2015); and
- viii) Introducing genotypes with advantageous traits such as heat or salinity tolerance, can improve restoration outcomes and enhance the resilience of restored seagrass meadows under climate change (Unsworth et al. 2025)

The following diagram illustrates how use genetic diversity information can be used to guide seagrass bed restoration of

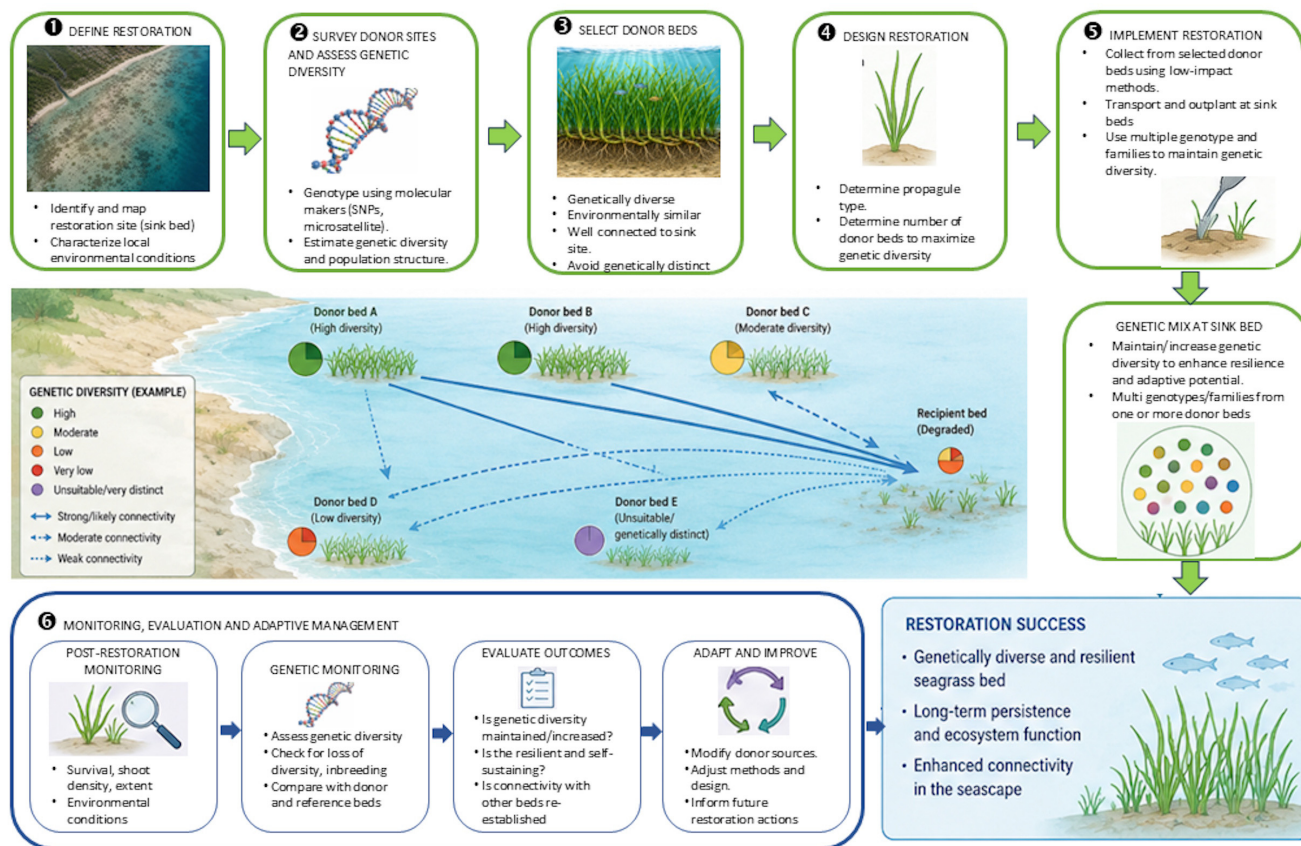


Fig. 8. Proposed framework for seagrass restoration guided by genetic diversity information.

seagrass beds, including the donor and recipient beds in nature (Fig. 8). We propose six key steps for restoration success of seagrass beds: 1. Define restoration, 2. Survey donor populations and assess genetic diversity, 3. Select donor populations, 4. Design restoration, 5. Implement restoration, and 6. Monitoring, evaluation and adaptive management. Finally, successful seagrass restoration is expected to result in genetically diverse and resilient populations, long-term persistence and ecosystem function, and improved connectivity across the seascape.

Conclusion

This review highlights recent patterns of seagrass degradation, summarizes key restoration techniques, and emphasizes the importance of genetic diversity in supporting successful restoration efforts of seagrass beds. The lessons learned from past restoration initiatives can inform future projects in Viet Nam, where seagrass meadows are increasingly the focus of restoration and conservation activities.

Acknowledgments

We would like to express our sincere gratitude to Prof. Myung Sook Kim and Dr. Miyeon Yang at the Research Institute for Basic Sciences, Jeju National University, for their support during our work in Korea. We are also deeply grateful to staff of Management Board of Cham Island MPA and the World-Wide Fund for Nature in Viet Nam for providing valuable information. This study was supported by the National Foundation for Science & Technology Development (NAFOSTED), Viet Nam, under grant number 106.06-2023.25.

References

Alotaibi, N. M., Kenyon, E. J., Cook, K. J., Börger, L., & Bull, J. C. 2019. Low genotypic diversity and long-term ecological decline in a spatially structured seagrass population. *Scientific Reports* 9(1): 18387. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54828-1>

Arnaud-Haond, S., Duarte, C. M., Teixeira, S., Massa, S. I., Terrados, J., Tri, N. H., & Serrao, E. A. 2009. Genetic recolonization of mangrove: genetic diversity still increasing in the Mekong Delta 30 years after Agent Orange. *Marine Ecology Progress Series* 390: 129-135. <https://doi.org/10.3354/meps08183>

Bastyan, G. R. and Cambridge, M. L. 2008. Transplantation as a method for restoring the seagrass *Posidonia australis*. *Estuarine, Coastal and Shelf*

Science 79(2): 289-299. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2008.04.012>

Beck, M. W., Flaherty-Walia, K., Scolaro, S., Burke, M. C., Furman, B. T., Karlen, D. J., Pratt, C., Anastasiou, C. J., & Sherwood, E. T. 2024. Hot and fresh: Evidence of climate-related suboptimal water conditions for seagrass in a Large Gulf Coast Estuary. *Estuaries and Coasts* 47(6): 1475-1497. <https://doi.org/10.1007/s12237-024-01385-0>

Bijak, A. L., Reynolds, L. K., & Smyth, A. R. 2023. Seagrass meadow stability and composition influence carbon storage. *Landscape Ecology* 38(12): 4419-4437. <https://doi.org/10.1007/s10980-023-01700-3>

Byeon, S. Y., Moon, K., Choi, S. K., Choi, H.-k., Kim, S., Kang, J. H., Park, S. R., & Lee, H. J. 2025. Genetic diversity and seascape population structure in eelgrass (*Zostera marina*) meadows in the northwestern Pacific. *Global Ecology and Conservation* 61: e03688. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2025.e03688>

Cao, V. L., Chu, T. C., Nguyen, V. V., & Uong, D. K. 2019. Current status and trends of seagrass habitats in the Cu Lao Cham marine protected area. *Journal of Natural Resources and Environment* 26: 27-34 (in Vietnamese).

Carnell, P. E. and Keough, M. J. 2019. Reconstructing historical marine populations reveals major decline of a kelp forest ecosystem in Australia. *Estuaries and Coasts* 42: 765-778. <https://doi.org/10.1007/s12237-019-00525-1>

Chen, C.-F., Lau, V.-K., Chang, N.-B., Son, N.-T., Tong, P.-H.-S., & Chiang, S.-H. 2016. Multitemporal change detection of seagrass beds using integrated Landsat TM/ETM+/OLI imageries in Cam Ranh Bay, Vietnam. *Ecological Informatics* 35: 43-54. <https://doi.org/10.1016/j.ecoinf.2016.07.005>

Coleman, M. A. and Wernberg, T. 2018. Genetic and morphological diversity in sympatric kelps with contrasting reproductive strategies. *Aquatic Biology* 27: 65-73. <https://doi.org/10.3354/ab00698>

Coleman, M. A., Wood, G., Filbee-Dexter, K., Minne, A. J. P., Goold, H. D., Vergés, A., & Wernberg, T. 2020. Restore or redefine: future trajectories for restoration. *Frontiers in Marine Science* 7: 237. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00237>

Connolly, R. M., Dunn, R. J. K., Flindt, M. R., Jackson, E. L., Kristensen, E., & McKenna, S. 2016. Assessment of the effects of foreshore nourishment and mitigation projects on seagrass ecosystems (SRMP-004). Report to Gold Coast Waterways Authority. Gold Coast: Griffith University.

Connolly, R. M., Smith, T. M., Maxwell, P. S., Olds, A. D., Macreadie, P. I., & Sherman, C. D. H. 2018. Highly disturbed populations of seagrass show increased resilience but lower genotypic diversity. *Frontiers in Plant Science* 9: 894. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00894>

Couceiro, L., Maneiro, I., Ruiz, J. M. & Barreiro, R. 2011. Multiscale genetic structure of an endangered seaweed *Ahmfeltiopsis pusilla* (Rhodophyta): implications for its conservation. *Journal of Phycology* 47: 259-268. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2011.00959.x>

Dierick, J., Phan, T. T. H., Luong, Q. D., & Triest, L. 2021. Persistent clones and local seed recruitment contribute to the resilience of *Enhalus acoroides* populations under disturbance. *Frontiers in Plant Science* 12: 658213. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.658213>

do Amaral Camara Lima, M., Bergamo, T. F., Ward, R. D., & Joyce, C. B. 2023. A review of seagrass ecosystem services: providing nature-based solutions for a changing world. *Hydrobiologia* 850(12): 2655-2670. <https://doi.org/10.1007/s10750-023-05244-0>

Dunic, J. C., Brown, C. J., Connolly, R. M., Turschwell, M. P., & Côté, I. M. 2021. Long-term declines and recovery of meadow area across the world's seagrass bioregions. *Global Change Biology* 27(17): 4096-4109. <https://doi.org/10.1111/gcb.15684>

Ehlers, A., Worm, B., & Reusch, T. B. H. 2008. Importance of genetic diversity in eelgrass *Zostera marina* for its resilience to global warming. *Marine Ecology Progress Series* 355: 1-7. <https://doi.org/10.3354/meps07369>

Ferretto, G., Glasby, T. M., Poore, A. G. B., Callaghan, C. T., Housefield, G. P.,

- Langley, M., Sinclair, E. A., Statton, J., Kendrick, G. A., & Vergés, A. 2021. Naturally-detached fragments of the endangered seagrass *Posidonia australis* collected by citizen scientists can be used to successfully restore fragmented meadows. *Biological Conservation* 262: 109308. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2021.109308>
- García-Escudero, C. A., Tsigenopoulos, C. S., Manousaki, T., Tsakogiannis, A., Marbà, N., Vizzini, S., Duarte, C. M., & Apostolaki, E. T. 2023. Population genomics unveils the century-old invasion of the seagrass *Halophila stipulacea* in the Mediterranean Sea. *Marine Biology* 171(2): 40. <https://doi.org/10.1007/s00227-023-04361-7>
- Govers, L. L., Heusinkveld, J. H. T., Gräfnings, M. L. E., Smeele, Q., & van der Heide, T. 2022. Adaptive intertidal seed-based seagrass restoration in the Dutch Wadden Sea. *PloS ONE* 17(2): e0262845. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262845>
- Granado, R., Pinto Neta, L. C., Nunes-Freitas, A. F., Voloch, C. M., & Lira, C. F. 2018. Assessing genetic diversity after mangrove restoration in Brazil: why is it so important? *Diversity* 10: 27. <https://doi.org/10.3390/d10020027>
- Hong Nguyen, N., Nguyen, T. D., Thi Tran, G. H., Quoc Nguyen, H., Pham, N. B., Hoang Chu, H., & Do, P. T. 2025. Genetic diversity of the tall-stilt mangrove (*Rhizophora apiculata* Blume) in Southern Central Coast of Vietnam using SSR markers. *Academia Journal of Biology* 47: 137-150. <https://doi.org/10.15625/2615-9023/21433>
- Hughes, A. R. and Stachowicz, J. J. 2004. Genetic diversity enhances the resistance of a seagrass ecosystem to disturbance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101(24): 8998-9002. <https://doi.org/10.1073/pnas.0402642101>
- Le, S. and Le, T. V. 2024. Genetic diversity and population structure of natural provenances of *Sonneratia caseolaris* in Vietnam. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 22: 100356. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2024.100356>
- Litsi-Mizan, V., García-Escudero, C. A., Tsigenopoulos, C. S., Tsiaras, K., Gerakaris, V., & Apostolaki, E. T. 2024. Unravelling the genetic pattern of seagrass (*Posidonia oceanica*) meadows in the Eastern Mediterranean Sea. *Biodiversity and Conservation* 33(1): 257-280. <https://doi.org/10.1007/s10531-023-02746-0>
- Liu, S. Y. V., Kumara, T. P., & Hsu, C.-H. 2020. Genetic identification and hybridization in the seagrass genus *Halophila* (Hydrocharitaceae) in Sri Lankan waters. *PeerJ* 8: e10027. <https://doi.org/10.7717/peerj.10027>
- Lu, W., Zou, Z., Hu, X., & Yang, S. 2022. Genetic diversity and mating system of two mangrove species (*Rhizophora apiculata* and *Avicennia marina*) in a heavily disturbed area of China. *Forests* 14: 115. <https://doi.org/10.3390/d14020115>
- Marion, S. R. and Orth, R. J. 2010. Innovative techniques for large-scale seagrass restoration using *Zostera marina* (eelgrass) seeds. *Restoration Ecology* 18(4): 514-526. <https://doi.org/10.1111/j.1526-100X.2010.00692.x>
- Mijangos, J. L., Pacioni, C., Spencer, P. B. S., & Craig, M. D. 2015. Contribution of genetics to ecological restoration. *Molecular Ecology* 24(1): 22-37. <https://doi.org/10.1111/mec.12995>
- Montefalcone, M. 2024. Challenges in restoring Mediterranean seagrass ecosystems in the Anthropocene. *Environments* 11(5): 86. <https://doi.org/10.3390/environments11050086>
- Moore, M. L., Allsing, N., Hartwick, N. T., Mamerto, A., Murray, E. R., Sanders, R. D., & Michael, T. P. 2025. Hybridization and low-light adaptability in California eelgrass (*Zostera* spp.). *Nature Plants* 11: 2409-2422. <https://doi.org/10.1038/s41477-025-02142-2>
- Mwikamba, E. M., Githaiga, M. N., Briers, R. A., & Huxham, M. 2024. A review of seagrass cover, status and trends in Africa. *Estuaries and Coasts* 47(4): 917-934. <https://doi.org/10.1007/s12237-024-01348-5>
- Nguyen, H. D. 2010. Management and restoration of seagrass beds in Nui Thanh district, Quang Nam province. *Journal of Marine Science and Technology* 10(2): 63-75.
- Nguyen, H. D., Pham, H. T., Nguyen, T. L., & Nguyen, X. V. 2004. The degradation of seagrass beds in Khanh Hoa province and the ability of restoration of these meadows. *Proceedings of the national conference Bien Dong 2002*. Agricultural Publishing House, Ho Chi Minh City, pp 358-369.
- Nguyen, X.-V. and Papanbrock, J. 2019. Assessment by microsatellite analysis of genetic diversity and population structure of *Enhalus acoroides* from the coast of Khanh Hoa Province, Vietnam. *Acta Oceanologica Sinica* 38(1): 144-150. <https://doi.org/10.1007/s13131-019-1381-y>
- Nguyen, X.-V., Lau, V.-K., Nguyen-Nhat, N.-T., Nguyen, T.-H., Phan, K.-H., Dao, V.-H., Ho-Dinh, D., Hayashizaki, K.-i., Fortes, M. D., & Papanbrock, J. 2021. Update of seagrass cover and species diversity in Southern Viet Nam using remote sensing data and molecular analyses. *Regional Studies in Marine Science* 44: 101803. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2021.101803>
- Nguyen, X.-V., Nguyen-Nhat, N.-T., Nguyen, X.-T., Dao, V.-H., M. Liao, L., & Papanbrock, J. 2021. Analysis of rDNA reveals a high genetic diversity of *Halophila major* in the Wallacea region. *PloS ONE* 16(10): e0258956. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0258956>
- Nguyen, X.-V., Nguyen-Nhat, N.-T., Nguyen, X.-T., Dao, V.-H., McDermid, K. J., & Papanbrock, J. 2022. Microsatellite-based analysis of the genetic diversity and population structure of the seagrass species *Thalassia hemprichii* from southern Viet Nam. *Aquatic Botany* 178: 103497. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2022.103497>
- Nguyen, X.-V., Phan, T. T. H., Cao, V.-L., Nguyen Nhat, N.-T., Nguyen, T.-H., Nguyen, X.-T., Lau, V.-K., Hoang, C.-T., Nguyen-Thi, M.-N., Nguyen, H. M., Dao, V.-H., Teichberg, M., & Papanbrock, J. 2022. Current advances in seagrass research: A review from Viet Nam. *Frontiers in Plant Science* 13: 991865. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.991865>
- Nguyen-Nhat, N.-T., Lau, V.-K., Nguyen, X.-T., Nguyen, T.-H., Nguyen, M.-N. T., Dao, V.-H., & Nguyen, X.-V. 2024. Baseline study on the seagrass distribution and species diversity of the seagrass at West Sea (Viet Nam) with integrated approaches. *Regional Studies in Marine Science* 77: 103654. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2024.103654>
- Orth, R. J., Carruthers, T. J. B., Dennison, W. C., Duarte, C. M., Fourqurean, J. W., Heck Jr., K. L., Hughes, A. R., Kendrick, G. A., Kenworthy, W. J., Olyarnik, S., Short, F. T., Waycott, M., & Williams, S. L. 2006. A global crisis for seagrass ecosystems. *BioScience* 56(12): 987-996. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2006\)56\[987:AGCFSE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2006)56[987:AGCFSE]2.0.CO;2)
- Pazzaglia, J., Nguyen, H. M., Santillán-Sarmiento, A., Ruocco, M., Dattolo, E., Marín-Guirao, L., & Procaccini, G. 2021. The genetic component of seagrass restoration: What we know and the way forwards. *Water* 13(6): 829. <https://doi.org/10.3390/w13060829>
- Pham, H. T. 2008. Final report: Rehabilitation and conservation the seagrass meadows at Cam Hai Dong, Cam Ranh Bay, Khanh Hoa province, central Vietnam. Rufford Maurice Laing Foundation, pp. 21. Retrieved from https://media.rufford.org/media/project_reports.
- Pickerell, C. H., Schott, S., & Wyllie-Echeverria, S. 2005. Buoy-deployed seeding: Demonstration of a new eelgrass (*Zostera marina* L.) planting method. *Ecological Engineering* 25(2): 127-136. <https://doi.org/10.1016/j.ecolen.2005.03.005>
- Ries, S. R., Faust, E., Johannesson, K., Jonsson, P. R., Moksnes, P.-O., Pereyra, R. T., & Jahnke, M. 2023. Genetic structure and diversity of the seagrass *Zostera marina* along a steep environmental gradient, with implications for genetic monitoring. *Frontiers in Climate* 5: 1303337. <https://doi.org/10.3389/fclim.2023.1303337>
- Rossetto, M., Bragg, J., Kilian, A., McPherson, H., van der Merwe, M., & Wilson, P. D. 2019. Restore and renew: a genomics-era framework for species provenance delimitation. *Restoration Ecology* 27: 538-548. [https://doi.org/10.1007/s12237-024-01348-5](https://doi.org/10.1002/10.1007/s12237-024-01348-5)

- 0.1111/rec.12898
- Shaw, R. E., Farquharson, K. A., Bruford, M. W., Coates, D. J., Elliott, C. P., Mergeay, J., O'Brien, D., Ortiz-Catedral, L., Pierson, J. C., Segelbacher, G., Sunnucks, P., van Oosterhout, C., Waters, J. M., Weeks, A. R., & Grueber, C. E. 2025. Global meta-analysis shows action is needed to halt genetic diversity loss. *Nature* 638(8051): 704-710. <https://doi.org/10.1038/s41586-024-08458-x>
- Short, F. T., Polidoro, B., Livingstone, S. R., Carpenter, K. E., Bandeira, S., Bujang, J. S., . . . Zieman, J. C. 2011. Extinction risk assessment of the world's seagrass species. *Biological Conservation* 144(7): 1961-1971. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2011.04.010>
- Silva, S. L. d., Carvalho, R. d., & Magalhães, K. M. 2021. Chromosomal evolution in seagrasses: Is the chromosome number decreasing? *Aquatic Botany* 173: 103410. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2021.103410>
- Smart, J. N., Hammerman, N. M., Golding, K. M., Markey, K., Kovacs, E., & Roelfsema, C. 2025. Decadal monitoring shows seagrass decline and community shifts following environmental disturbance in Moreton Bay, south-eastern Queensland, Australia. *Marine & Freshwater Research* 76(10): MF25049. <https://doi.org/10.1071/MF25049>
- Statton, J., Dixon, K. W., Irving, A. D., Jackson, E. L., Kendrick, G. A., Orth, R. J., & Sinclair, E. A. 2018. Decline and restoration ecology of Australian seagrasses. In A. W. D. Larkum, G. A. Kendrick, & P. J. Ralph (Eds.), *Seagrasses of Australia: Structure, Ecology and Conservation* (pp. 665-704). Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-71354-0_20
- Strydom, S., McCallum, R., Lafratta, A., Webster, C. L., O'Dea, C. M., Said, N. E., Duarte, C. M., Kendrick, G. A., McMahon, K. M., McKenzie, L. J., Short, F. T., Sullivan, B. K., York, P. H., & Serrano, O. 2023. Global dataset on seagrass meadow structure, biomass and production. *Earth System Science Data* 15(1): 511-519. <https://doi.org/10.5194/essd-15-511-2023>
- Sudo, K. and Nakaoka, M. 2020. Fine-scale distribution of tropical seagrass beds in Southeast Asia. *Ecological Research* 35(6): 994-1000. <https://doi.org/10.1111/1440-1703.12137>
- Tanner, J. E., Irving, A. D., Fernandes, M., Fotheringham, D., McArdle, A., & Murray-Jones, S. 2014. Seagrass rehabilitation off metropolitan Adelaide: a case study of loss, action, failure and success. *Ecological Management & Restoration* 15(3): 168-179. <https://doi.org/10.1111/emr.12133>
- Tin, H. C., Uyen, N. T., Hieu, D. V., Ni, T. N. K., Tu, N. H. C., & Saizen, I. 2020. Decadal dynamics and challenges for seagrass beds management in Cu Lao Cham Marine Protected Area, Central Vietnam. *Environment, Development and Sustainability* 22(8): 7639-7660. <https://doi.org/10.1007/s10668-019-00540-z>
- Trinh, X. T. and Takeuchi, W. 2019. 30 years national scale seagrass mapping in Vietnam with landsat and sentinel imagery on Google earth engine (Daejeon, Korea: Curran Associates, Inc. NY, USA). The 40th Asian Conference on Remote Sensing.
- Unsworth, R. K. F., Jones, B. L. H., Bertelli, C. M., Coals, L., Cullen-Unsworth, L. C., Mendzil, A. F., Nordlund, L. M., Eklöf, J. S., Aoki, L. R., Brown, C. J., Green, E. J., Gullström, M., Jarvis, J. C., McKenzie, L. J., Peterson, B. J., Saunders, M. I., Short, F. T., de la Torre-Castro, M., van Katwijk, M. M., & Evans, A. J. 2025. Ten golden rules for restoration to secure resilient and just seagrass social-ecological systems. *Plants, People, Planet* 7(1): 33-48. <https://doi.org/10.32942/X2Q61K>
- Vo, T.-T., Lau, K., Liao, L. M., & Nguyen, X.-V. J. A. L. R. 2020. Satellite image analysis reveals changes in seagrass beds at Van Phong Bay, Vietnam during the last 30 years. *Aquatic Living Resources* 33: 2020. [https://doi.org/10.1007/2020005](https://doi.org/10.1016/10.1007/2020005)
- Waycott, M., Duarte, C. M., Carruthers, T. J. B., Orth, R. J., Dennison, W. C., Olyarnik, S., Calladine, A., Fourqurean, J. W., Heck Jr., K. L., Hughes, A. R., Kendrick, G. A., Kenworthy, W. J., Short, F. T., & Williams, S. L. 2009. Accelerating loss of seagrasses across the globe threatens coastal ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106(30): 12377-12381. <https://doi.org/10.1073/pnas.0905620106>
- Wee, A. K. S., Mori, G. M., Lira, C. F., Núñez-Farfán, J., Takayama, K., Faulks, L., & Kajita, T. 2019. The integration and application of genomic information in mangrove conservation. *Conservation Biology* 33: 206-209. <https://doi.org/10.1111/cobi.13140>
- Wernberg, T., Coleman, M. A., Bennett, S., Thomsen, M. S., Tuya, F., & Kelaher, B. P. 2018. Genetic diversity and kelp forest vulnerability to climatic stress. *Scientific Reports* 8: 1851. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20009-9>