

MỐI QUAN HỆ DI TRUYỀN CỦA MỘT SỐ LOÀI THÔNG (Coniferales) Ở VIỆT NAM TRÊN CƠ SỞ XÁC ĐỊNH TRÌNH TỰ NUCLEOTIDE VÙNG GEN MATK

VŨ ĐÌNH DUY, NGUYỄN MINH TÂM

Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam,

Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

NGUYỄN MINH ĐỨC, NGUYỄN VĂN SINH, BÙI THỊ TUYẾT XUÂN

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật,

Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

ĐỖ THỊ PHƯƠNG THẢO

Viện Công nghệ môi trường,

Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Xác định trình tự nucleotide một số vùng gen nhân và lục lạp (cpDNA) đang được ứng dụng rộng rãi trong các nghiên cứu mối quan hệ chủng loại (phylogeny), phân loại (taxonomy) và nhận dạng (identity) loài ở nhiều đối tượng thực vật (Yang *et al.*, 2008, 2009, 2010). Đã có khá nhiều công bố về mối quan hệ chủng loại và nhận dạng các loài thông (Chaw *et al.*, 1995, 1997; Stefanovic *et al.*, 1998; Cheng *et al.*, 2000; Little *et al.*, 2004; Xiang và Li, 2005; Little, 2006; Nguyễn Minh Tâm *et al.*, 2011, 2012; Vũ Đình Duy *et al.*, 2011...). Trong ngân hàng Genbank (tháng 5/2013) đã lưu giữ trên 533.000 trình tự nucleotide cho các loài thông (Conifers), tập trung vào hai vùng gen chính là vùng gen nhân (vùng ITS) và vùng gen lục lạp (cpDNA), trong đó có tới 80 trình tự cho các loài thông ở Việt Nam. Như vậy so với số lượng trình tự nucleotide đã giải mã đối với các loài thông thì số lượng trình tự cho 34 loài thông của Việt Nam vẫn còn quá ít ỏi. Trong báo cáo này chúng tôi đề cập đến mối quan hệ di truyền của 15 loài cây lá kim ở Việt Nam trên cơ sở phân tích trình tự nucleotide vùng gen *matK*.

1. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Tổng số 21 mẫu lá và vỏ cây từ 15 loài thuộc 4 họ của bộ Thông sử dụng trong nghiên cứu này được thu thập ngẫu nhiên (bảng 1). Mẫu được bảo quản trong silicagel tại hiện trường và được bảo quản ở -30°C trong tủ lạnh sâu sau khi chuyển về Phòng Phân loại học Thực nghiệm và Đa dạng nguồn gen, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam. Mẫu tiêu bản thực vật tại địa điểm thu mẫu cũng được thu thập giúp cho công tác xác định chính xác tên loài nghiên cứu.

Bảng 1

Thông tin về mẫu nghiên cứu và mã hiệu Genbank đã đăng ký

TT	Tên loài	Nơi thu thập	Mã số Genbank	Vĩ độ	Kinh độ	Độ cao (m)
1	Thông đỏ bắc <i>Taxus wallichiana</i> var <i>chinensis</i>	Xuân Trường, Bảo Lạc, Cao Bằng	JX099352	22°52'20"	105°50'01"	1890
		Thái Phìn Tùng, Đông Văn, Hà Giang	JN657260	23°15'48"	105°17'36"	1570
		Hoàng Liên Sơn, Lào Cai	JX099354	22°52'02"	103°05'18"	1590
		Mường Lùm, Yên Châu, Sơn La	JX099357	21°01'56"	104°30'08"	1550
		Pà Cò, Mai Châu, Hòa Bình	JX099356	20°44'48"	104°55'46"	1047
2	Thông đỏ nam <i>Taxus wallichiana</i>	Núi Voi, Đức Trọng, Lâm Đồng	JN657261	11°50'15"	108°25'28"	1475
		Xuân Thọ, Lạc Dương, Lâm Đồng	JX099355	11°50'27"	108°25'39"	1275
		Hồ Tiên, Đơn Dương, Lâm Đồng	JX099358	11°48'01"	108°29'23"	1390
3	Đẻ rừng sọc trắng <i>Amentotaxus argentea</i>	Pà Cò, Mai Châu, Hòa Bình	JN657253	20°44'20"	104°55'15"	1150
4	Đẻ rừng vân nam <i>A. yunnanensis</i>	Xuân Trường, Bảo Lạc, Cao Bằng	JN657254	22°52'34"	105°50'59"	1543
5	Bách xanh núi đất <i>Calocedrus macrolepis</i>	VQG Chư Yang Sin, Đắk Lắk	JN657251	12°25'09"	108°22'48"	1209
6	Bách xanh núi đá <i>C. rupestris</i>	Pà Cò, Mai Châu, Hòa Bình	JN657252	20°44'15"	104°55'37"	1137
7	Thủy tùng <i>Glyptostrobus pensilis</i>	EaRai, EaH'leo, Đắk Lắk	JN657263	13°09'40"	108°18'46"	570
8	Cơ mu <i>Fokienia hodginsii</i>	Pà Cò, Mai Châu, Hòa Bình	JN657258	20°43'50"	104°54'09"	1047
9	Sa mu đầu <i>Cunninghamia lanceolata</i> var <i>konshii</i>	Bát Mọt, Thương Xuân, Thanh Hóa	JN657259	19°58'47"	104°59'05"	1005
10	Hồng tùng <i>Dacrydium elatum</i>	VQG Bidoup-Núi Bà, Lâm Đồng	JN657255	12°11'09"	108°41'20"	1495
11	Thông nặng <i>Dacrycarpus imbricatus</i>	Núi Voi, Đức Trọng, Lâm Đồng	JN657262	11°50'17"	108°25'26"	1236
12	Kim giao nam <i>Nagena wallichiana</i>	VQG Kon Ka Kinh, Gia Lai	JN657257	14°12'11"	108°17'01"	892
13	Thông lá hần <i>Podocarpus macrophyllus</i> var. <i>maki</i>	Yên Tử, Ưông Bí, Quảng Ninh	JN657256	21°4'37"	106°45'5"	560
14	Thông tre lá ngắn <i>P. brevifolius</i>	Pà Cò, Mai Châu, Hòa Bình	JN657264	20°44'27"	104°55'39"	1115
15	Đình tùng <i>Cephalotaxus mannii</i>	Núi Voi, Đức Trọng, Lâm Đồng	JX099351	11°50'48"	108°25'43"	1231

Bảng 2

Thông tin về trình tự, kích thước lý thuyết và nhiệt độ bắt cặp của cặp mồi *matK*

Gen	Ký hiệu mồi	Trình tự nucleotide (5' - 3')	Kích thước lý thuyết (bp)	Nhiệt độ bắt cặp (°C)
<i>matK</i>	<i>matKF</i>	TTT GAC AGT TAT CTT GGA AGT TTC	700	57
	<i>matKR</i>	TAC TAA TTG GCT GCC CTG AGA TGT		

DNA tổng số được tách chiết bằng phương pháp CTAB (Doyle et Doyle, 1990) có cải tiến cho phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm. Nhân bản trình tự đích bằng kỹ thuật PCR sử dụng cặp mồi trình bày trong bảng 2. Mỗi phản ứng PCR (polymerase chain reaction) có thể tích 25µl với các thành phần: 13µl H₂O; 2,5µl buffer 10X; 1µl MgCl₂ 25mM; 2,5µl dNTPs 2,5mM; 1,25µl mỗi xuôi (10mm); 1,25µl mỗi ngược (10mm); 0,5µl *Taq* polymerase (5 U/µl); 3µl DNA (10-20 ng). Phản ứng được thực hiện trên máy GeneAmp PCR System 9700, Mỹ. Chu trình nhiệt PCR gồm: 94°C trong 3 phút; tiếp sau là 35 chu kỳ nối tiếp nhau với các bước: 94°C trong 50 giây, 57°C trong 55 giây, 72°C trong 45 giây; kết thúc phản ứng nhân gen ở 72°C trong 10 phút, giữ sản phẩm ở 4°C. Sản phẩm PCR được tinh sạch bằng kit Extraction Gel (Qiagen). Giải trình tự DNA sợi đôi trực tiếp sản phẩm PCR tại Công ty Macrogen, Hàn Quốc.

Phân tích số liệu: Dữ liệu được xử lý bằng các phần mềm chuyên dụng Bioedit, Mega 5.0 (Tamura et al., 2011), Clustal W (Thompson et al., 1997). Cây phát sinh chủng loại được xây dựng theo phương pháp NJ (Neighbor Joining).

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Một phần vùng gen *matK* với chiều dài khoảng 700-750bp đã được xác định cho các mẫu nghiên cứu. Các trình tự này đã được đối chiếu với các trình tự tương đồng trên Genbank bằng chương trình BLAST và đã được đăng kí trên Genbank với số mã hiệu như trong bảng 1.

Bảng 3

Thành phần base (%) trong vùng gen *matK*

TT	Tên loài	T	C	A	G	Kích thước (bp)
1	Thông đỏ bắc CB	36,7	17,1	27,8	18,4	586
	Thông đỏ bắc HG	36,7	17,1	27,8	18,4	586
	Thông đỏ bắc LC	36,7	17,1	27,8	18,4	586
	Thông đỏ bắc SL	36,7	17,1	27,8	18,4	586
	Thông đỏ bắc HB	36,7	17,1	27,8	18,4	586
2	Thông đỏ nam NY	36,7	16,9	28	18,4	586
	Thông đỏ nam XT	36,7	16,9	28	18,4	586
	Thông đỏ nam HT	36,7	16,9	28	18,4	586
3	Dẻ tùng sọc trắng	36,7	18,4	28,2	16,7	586
4	Dẻ tùng vân nam	36,7	18,4	28,2	16,7	586
5	Bách xanh núi đất	38,3	16,3	28,8	16,6	583
6	Bách xanh núi đá	38,1	16,5	28,8	16,6	583
7	Thủy tùng	37,7	16,6	28,7	17,1	586
8	Pơ mu	37,2	16,3	30,1	16,5	589
9	Sa mu dầu	36,9	17,1	28,5	17,6	586
10	Hồng tùng	35,3	19	28	17,7	589
11	Thông náng	35,7	19	28,2	17,1	589
12	Kim giao nam	34,3	19,5	28,4	17,8	589
13	Thông la hán	35	19,2	28,4	17,5	589
14	Thông tre lá ngắn	34,1	19,5	28,5	17,8	589
15	Đình tùng	36,2	17,1	27,8	18,9	586
	Trung bình	36,5	17,6	28,3	17,7	586,6

Đã xác định 282 vị trí trình tự nucleotide khác nhau, nhưng không có sự khác nhau giữa các cá thể Thông đỏ bắc và Thông đỏ nam sống ở các vùng địa lý khác nhau và giữa cặp loài Dẻ tùng sọc trắng và Dẻ tùng vân nam. Một số cặp loài có sự khác nhau ở mức độ rất nhỏ như cặp Thông đỏ bắc/Thông đỏ nam chỉ khác nhau ở 1 vị trí nucleotide (đột biến thay thế C bằng A ở vị trí nucleotide thứ 516), cặp Bách xanh núi đất/Bách xanh núi đá chỉ khác nhau ở 1 vị trí nucleotide (đột biến thay thế T bằng C ở vị trí nucleotide thứ 296) và cặp Kim giao nam/Thông tre lá ngắn cũng chỉ khác nhau ở 1 vị trí nucleotide (đột biến thay thế T bằng A ở vị trí nucleotide thứ 157). Một số cặp loài có sự khác nhau đáng kể như 2 cặp Pơ mu/Kim giao nam; Pơ mu/Kim giao lá ngắn khác nhau 145/592 nucleotide và 4 cặp loài Bách xanh núi đất/Thông tre lá ngắn; Bách xanh núi đất/Kim giao nam; Bách xanh núi đá/Thông tre lá ngắn; Bách xanh núi đá/Kim giao nam khác nhau 144/592 nucleotide (bảng 4).

Thành phần GC dao động từ 16,4% ở loài Pơ mu (*Fokienia hodginsii*) đến 18,65% ở loài Thuyền tùng (*Glyptostrobus pensilis*), trung bình 17,64%. Trong loài Thông đỏ bắc, 5 cá thể tại 5 quần thể thuộc 5 tỉnh đều có thành phần GC giống nhau (17,75%). Tương tự, loài Thông đỏ nam ở các tiểu quần thể khác nhau cũng có thành phần GC giống nhau (17,65%). Hai loài *Nageria wallichiana* và *P. brevifolius* có thành phần GC giống nhau (18,65%). Thành phần nucleotide của 15 loài thông nghiên cứu được trình bày ở bảng 3. Hai loài Thông đỏ nam và Thông đỏ chỉ khác nhau ở thành phần nucleotide A và C, còn các thành phần nucleotide khác đều giống nhau. Thành phần nucleotide trung bình đối với 15 loài thông là 36,5% T (Thymine); 17,6% C (Cytosine); 28,3% A (Adenine); 17,7% G (Guanine).

Bảng 4

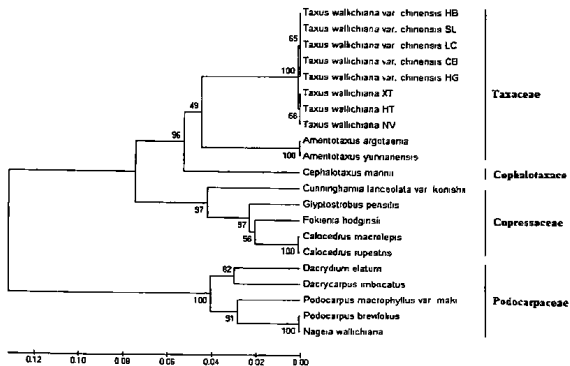
Hệ số khác nhau (dòng dưới) và số lượng nucleotide sai khác (dòng trên) giữa các cặp loài thông trên dữ liệu nucleotide

	1	1	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1. Thông đỏ bắc LC		0	0	0	0	1	1	1	48	48	80	80	85	69	119	125	125	114	80	114	57
2. Thông đỏ bắc CB	0.000		0	0	0	1	1	1	48	48	80	80	85	69	119	125	125	114	80	114	57
3. Thông đỏ bắc KB	0.000	0.000		0	0	1	1	1	48	48	80	80	85	69	119	125	125	114	80	114	57
4. Thông đỏ bắc SL	0.000	0.000	0.000		0	1	1	1	48	48	80	80	85	69	119	125	125	114	80	114	57
5. Thông đỏ bắc HG	0.000	0.000	0.000	0.000		1	1	1	48	48	80	80	85	69	119	125	125	114	80	114	57
6. Thông đỏ nam HT	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002		0	0	47	47	81	81	85	71	118	125	125	115	59	115	56
7. Thông đỏ nam XT	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.000		0	47	47	81	81	85	71	118	125	125	115	59	115	56
8. Thông đỏ nam NV	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.000	0.000		47	47	81	81	85	71	118	125	125	115	59	115	56
9. Dẻ tùng sọc trắng	0.090	0.090	0.090	0.090	0.090	0.068	0.068	0.068		0	77	77	56	69	126	123	123	114	36	118	48
10. Dẻ tùng vân nam	0.090	0.090	0.090	0.090	0.090	0.068	0.068	0.068	0.000		77	77	86	69	126	123	123	114	36	118	48
11. Bách xanh núi đất	0.157	0.157	0.157	0.157	0.157	0.159	0.159	0.156	0.150	0.180		1	26	31	140	144	144	136	52	56	95
12. Bách xanh núi đất đá	0.157	0.157	0.157	0.157	0.157	0.159	0.159	0.156	0.150	0.150	0.002		26	31	140	144	144	136	52	53	95
13. Pơ mu	0.164	0.164	0.164	0.164	0.164	0.167	0.167	0.167	0.170	0.170	0.041	0.040		27	140	145	145	136	53	131	82
14. Thông tửng	0.137	0.137	0.137	0.137	0.137	0.140	0.140	0.140	0.137	0.137	0.045	0.043	0.045		130	136	138	130	36	127	53
15. Thông lá hạn	0.254	0.254	0.254	0.254	0.254	0.255	0.255	0.255	0.266	0.266	0.305	0.305	0.309	0.302		31	32	57	125	40	100
16. Thông tre lá ngắn	0.263	0.263	0.263	0.263	0.263	0.263	0.263	0.263	0.263	0.263	0.263	0.263	0.263	0.263	0.265		1	47	127	43	153
17. Kim giao nam	0.262	0.262	0.262	0.262	0.262	0.263	0.263	0.263	0.262	0.262	0.262	0.262	0.262	0.262	0.262	0.002		58	127	44	133
18. Thông tạng	0.236	0.236	0.236	0.236	0.236	0.235	0.236	0.236	0.232	0.232	0.260	0.260	0.267	0.276	0.056	0.067	0.059		116	34	122
19. Sa mu đầu	0.116	0.116	0.116	0.116	0.116	0.114	0.114	0.114	0.110	0.110	0.084	0.084	0.097	0.098	0.258	0.263	0.263	0.236		116	70
20. Thông vàng	0.245	0.245	0.245	0.245	0.245	0.245	0.248	0.245	0.244	0.244	0.275	0.275	0.215	0.269	0.065	0.075	0.077	0.099	0.235		124
21. Đinh lừng	0.101	0.110	0.110	0.110	0.110	0.108	0.108	0.108	0.091	0.091	0.180	0.180	0.185	0.188	0.277	0.283	0.282	0.285	0.135	0.259	

Sau khi loại bỏ tất cả các vị trí trống, 592 vị trí có giá trị cho phân tích tiến hóa đã được sử dụng. Trong số 227 vị trí biến đổi V (Variable), giá trị mang thông tin tiến hóa Pi (Parsimony informative) chiếm 178 vị trí. Chỉ số đa dạng nucleotide giữa các trình tự nghiên cứu là 0,157.

Sự khác nhau giữa các cặp loài trên cơ sở phân tích theo mô hình Kimura 2 thông số (Kimura, 1980) đã chỉ ra mức độ khác nhau giữa các cặp loài (bảng 4). Dữ liệu nghiên cứu đã chỉ ra rằng các cá thể Thông đỏ bắc và Thông đỏ nam sống ở các quần thể khác nhau không có sự sai khác nhau về mặt di truyền. Khoảng cách di truyền rất thấp được tìm thấy ở cặp loài Thông đỏ bắc/Thông đỏ nam; Bách xanh núi đá/Bách xanh núi đất; Thông tre lá ngắn/Kim giao nam là 0,2% và số vị trí nucleotide sai khác của 3 cặp loài này là 1 nucleotide đồng nghĩa chúng tương đồng về mặt di truyền cao > 99%. Khoảng cách di truyền lớn nhất được tìm thấy ở 2 cặp loài Pơ mu/Kim giao nam; Pơ mu/Kim giao lá ngắn là 31,8% và số vị trí nucleotide sai khác của 2 cặp loài này là 145 nucleotide đồng nghĩa chúng tương đồng về mặt di truyền thấp > 68%. Không tìm thấy sự sai khác nào của loài Dẻ tùng vân nam và Dẻ tùng sọc trắng.

Phân tích mối quan hệ của 15 loài thông nghiên cứu trên cơ sở tiến hóa vùng gen *matK* theo 3 phương pháp ME (Minimum Evolution), MP (Maximum Parsimony) và NJ (Neighbor Joining) đã cho các kết quả là như nhau. Không có sự sai khác về vị trí phân loại của 15 loài thông nghiên cứu. Kết quả phân tích vị trí tiến hóa của 15 loài thông theo phương pháp NJ được trình bày ở hình 1 đã chỉ ra mối quan hệ giữa các loài. Hai nhánh tiến hóa được tách biệt rõ ràng: Nhánh thứ nhất gồm 5 loài thuộc họ Kim giao (Podocarpaceae); nhánh thứ hai gồm các loài của 3 họ Thông đỏ (Taxaceae), họ Hoàng đàn (Cupressaceae) và họ Đinh tùng (Cephalotaxace). Trong nhánh này gồm 2 nhánh phụ, một nhánh gồm 5 loài thuộc họ Hoàng đàn (Cupressaceae), trong đó loài Bách xanh núi đất và Bách xanh núi đá có quan hệ mật thiết với nhau. Nhánh phụ còn lại gồm 5 loài thuộc 2 họ còn lại, trong đó loài Đinh tùng thuộc họ Đinh tùng (Cephalotaxace) tách riêng rẽ so với 4 loài thuộc họ Thông đỏ (Taxaceae). Trong họ Thông đỏ, loài Thông đỏ bắc có quan hệ gần gũi với Thông đỏ lá dài và Thông đỏ bắc được xác định là loài phụ của Thông đỏ lá dài; Dẻ tùng sọc trắng với Dẻ tùng vân nam có quan hệ gần gũi với nhau. Kết quả phân tích mối quan hệ giữa các họ trong bộ Thông cũng phù hợp với các kết quả nghiên cứu trên cơ sở phân tích vùng gen *18S*, *28S*, *matK*, *rbcL*, *rpc1*, *ITS* (Chaw *et al.*, 1995; 1997; Cheng Y *et al.*, 2000; Stefanovic *et al.*, 1998, Vũ Đình Duy *et al.*, 2011, Nguyễn Minh Tâm *et al.*, 2011).



Hình 1. Mối quan hệ di truyền của 15 loài thông theo phương pháp NJ

III. KẾT LUẬN

Trình tự nucleotide vùng gen *matK* với kích thước 700bp từ 21 mẫu nghiên cứu của 15 loài thông, thuộc 4 họ Hoàng đàn (Cupressaceae), Kim giao (Podocarpaceae), Thông đỏ (Taxaceae) và Đinh tùng (Cephalotaxace) ở Việt Nam đã được xác định.

Phân tích mối quan hệ di truyền trên cơ sở tiến hóa trình tự nucleotide của vùng gen *matK* chỉ ra các loài trong cùng họ đều hình thành một nhánh tiến hóa riêng và chúng có quan hệ mật thiết với nhau. Hai nhánh tiến hóa được tách biệt rõ ràng gồm nhánh có các loài thuộc họ Kim giao (Podocarpaceae) và nhánh gồm 3 họ Thông đỏ (Taxaceae), Hoàng đàn (Cupressaceae) và Đinh tùng (Cephalotaxace). Có 3 cặp loài quan hệ rất mật thiết với nhau gồm Thông đỏ bắc (*Taxus chinensis*) và Thông đỏ nam (*T. wallichiana*); Bách xanh núi đá (*Calocedrus macrolepis*) và Bách xanh núi đất (*C. rupestris*). Với kết quả này, chúng tôi kiến nghị nhập loài Thông đỏ nam vào loài thông đỏ bắc và dùng tên *T. wallichiana* var. *chinensis*, nhập loài Bách xanh núi đất (*C. rupestris*) vào loài Bách xanh núi đá và sử dụng tên là Bách xanh (*C. macrolepis*).

Lời cảm ơn: Kết quả của báo cáo này là một phần của dự án BVMT "Bảo tồn và sử dụng bền vững một số loài thông quý hiếm có giá trị kinh tế cao đang bị đe dọa tuyệt chủng và khu hệ nấm nội ký sinh có ích trong các loài nghiên cứu".

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chaw S.M., Sung H.m., Long H., Zharkikh A., W. H. Li, 1995. *Mol. Evol.*, 41: 224-230.
2. Chaw S.M., Zharkikh A., Sung H.m., Leu T. C., W. H. Li., 1997. *Mol Biol. Evol.*, 14: 56-68.
3. Cheng Y., Nicolson R. G., Tripp K., S.M. Chaw., 2000. *Mol. Phyl. Evol.*, 14 (3): 353-365.
4. Doyle J. J., D. J Doyle., 1990. *Pocus*, 12: 365-371.
5. Little D. P., 2006. *Syst. Bot.*, 31 (3): 461-480.
6. Little D. P., Schwarzbach A. E., Adams R. P., C.F. Hsieh, 2004. *Am J. Bot.*, 91: 1872-1881.
7. Nguyễn Đức T. Lưu, P. Thomas, 2004. Cây lá kim Việt Nam. NXB. Thế giới mới.
8. Sang T., Crawford D. J., Stuessy T. F., 1997. *Am. J. Bot.*, 84 (8): 1120-1136.
9. Stefanovic S., Jagerm., Deutsch J. Broutin J.,m. Masselot., 1998. *Am. J. Bot.*, 85 (5): 688-697.
10. Xiang Q., J. Li., 2005. *Botany*, 9. 375-382.
11. Yang H. Q., Sheng P., Zhu L. D., 2007. *Taxon*, 56 (1): 45-54.
12. Yang J. B., Yang H. Q., Li D. Z., Wong K.m., Yang Y.m., 2010. *Taxon*, 59 (4): 1102-1110.

PHYLOGENY OF CONIFER SPECIES (Coniferales) IN VIETNAM BASED ON THE *MATK* (MATURE K) SEQUENCE ANALYSES

VU DINH DUY, NGUYEN MINH TAM, NGUYEN MINH DUC,
NGUYEN VAN SINH, BUI THI TUYET XUAN, DO THI PHUONG THAO

SUMMARY

We investigated the systematic position of 15 conifer species (Coniferales) in Vietnam using the *matK* region. DNA total was extracted from tissue of leaves or inner barks. The nucleotide sequence of *matK* was determined with about 700bp and used for analysis of phylogeny of conifers using Neighbor Joining method. The analysis indicated that two clades were distinctly separated. One group included all Podocarpaceae species and second group included all species from 3 families Taxaceae, Cupressaceae and Cephalotaxace. The species group *Taxus chinensis* and *T. wallichiana*, *Calocedrus macrolepis* and *C. rupestris* have closely relationships together with bootraps > 99%.