

ỨNG DỤNG GIẢI TRÌNH TỰ GEN *rbcl* và *trnL-trnF* TRONG NGHIÊN CỨU PHÂN LOẠI HỌ XOÀI (ANACARDIACEAE) Ở VIỆT NAM

Nguyễn Xuân Quyền^{1,2*}, Trần Thị Phương Anh², Nguyễn Thế Cường³

TÓM TẮT

Trong hệ thực vật Việt Nam, họ Xoài (Anacardiaceae) được ghi nhận có 66 loài và dưới loài, phân bố ở khắp cả nước. Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu phân loại họ Xoài ở nước ta dựa trên các đặc điểm hình thái, nhưng đến nay chưa ghi nhận nhiều các nghiên cứu phân loại họ Xoài dựa trên các bảng chứng sinh học phân tử. Trong nghiên cứu này, trình tự gen *rbcl*, *trnL* - *trnF* có độ dài khoảng 600 bp và 1000 bp của 25 mẫu nghiên cứu các loài họ Anacardiaceae được giải mã. Sơ đồ cây phát sinh chủng loại họ Anacardiaceae ở Việt Nam được xây dựng theo phương pháp Neighbor - Joining (NJ). Thành phần base vùng gen *rbcl*, *trnL-trnF* của các loài, sự khác nhau giữa các cặp loài dựa trên cơ sở phân tích theo mô hình Kimura 2 tham số. Sơ đồ hình cây phát sinh chủng loại theo phương pháp NJ và Maximum Likelihood (ML) được tiến hành trên phần mềm MEGA7 và Paup với giá trị Bootstrap là 1.000. Dựa trên sơ đồ được xây dựng, hệ thống phân loại họ Anacardiaceae ở Việt Nam được đề xuất gồm 4 tông, 22 chi, 66 loài và dưới loài. Khóa định loại lương phân bảng các đặc điểm hình thái đến các chi thuộc họ Anacardiaceae ở Việt Nam được xây dựng dựa trên hệ thống được đề xuất trên.

Từ khoá: *Cây phát sinh, họ Xoài, phân loại, rbcl, trnL-trnF.*

1. MỞ ĐẦU

Trên thế giới họ Xoài (Anacardiaceae) có khoảng 81 chi với trên 800 loài, phân bố chủ yếu ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, nhưng đa dạng hơn là các vùng có điều kiện khí hậu nóng ẩm, trên đất thấp (S. K. Pell & al., 2011). Các tác giả nghiên cứu sử dụng phương pháp sinh học phân tử trong nghiên cứu phân loại và hệ thống học họ Anacardiaceae (Wannan & Quinn, 1992; Chayamarit, 1997; Aguilar - Ortigoza & Sosa, 2004; Wannan, 2006; Jessica Naiana Silva & al., 2015) dựa trên các vùng gen *rbcl*, ITS, *matK* và *trnL - trnF*, *trnH-psbA*, *matK*... Các tác giả đã chỉ ra mối quan hệ gần gũi giữa các đơn vị phân loại trong họ Anacardiaceae, cũng như mối quan hệ giữa Anacardiaceae và Burseraceae ở một số khu vực và trên thế giới.

Ở Việt Nam, họ Xoài được ghi nhận có khoảng trên 60 loài và dưới loài thuộc 22 chi (P. H. Hồ 2000 & N. T. Bán, 2003). Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu phân loại họ Xoài (Anacardiaceae) dựa trên các đặc điểm hình thái (Tardieu-Blot; 1962, P. H. Hồ, 2000), nhưng đến nay chưa ghi nhận nhiều các nghiên cứu phân loại họ Xoài dựa trên các bảng chứng sinh học phân tử. N. X. Quyền & cs., 2017 là nhóm tác giả lần đầu tiên ở Việt Nam nghiên cứu đặc điểm di truyền của loài Sơn Đào (*Melanorrhoea usitata* Wall.) trên cơ sở phân tích trình tự gen *trnL* và *rbcl*. Kết quả nghiên cứu chỉ ra, *M. usitata* Wall. có quan hệ rất gần với các loài thuộc chi *Gluta* ở Việt Nam. Nghiên cứu này lần đầu tiên sử dụng trình tự gen *rbcl*, *trnL-trnF* một số loài làm cơ sở khoa học trong việc lựa chọn hệ thống phân loại họ Xoài ở Việt Nam.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là các loài thuộc họ Xoài (Anacardiaceae) ở Việt Nam. Vật liệu nghiên cứu là mẫu của các loài được thu thập trên cả nước. Số mẫu đã được thu thập, phân tích trong nghiên cứu này là 25 mẫu.

¹ Viện Khoa học hình sự - Bộ Công an

² Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN

³ Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, Viện Hàn lâm KHCN VN

Email:xuanquyen6789@gmail.com

Bảng 1. Danh sách mẫu nghiên cứu thu ở Việt Nam

Số TT	Tên loài	Tên gọi	Nơi thu	Ký hiệu trên Genebank	
				Gen <i>rbcl</i>	Gen <i>trnL-trnF</i>
1.	<i>Pistacia weinmannifolia</i>	Pit tạt Vân Nam	Trùng Khánh - Cao Bằng	KY202642	KY067417
2.	<i>Mangifera foetida</i>	Xoài hôi	Chi Linh - Hải Dương	KY202639	KY067414
3.	<i>Mangifera reba</i>	Quẹo	Chi Linh - Hải Dương	KY202640	KY067415
4.	<i>Mangifera laurra</i>	Xoài cuống dài	VQG Chư Mom Ray - Kon Tum	KY202653	KY084914
5.	<i>Mangifera flava</i>	Xoài vàng	VQG Chư Mom Ray - Kon Tum	KY202638	KY067413
6.	<i>Rhus chinensis</i> var. <i>roxburghii</i>	Muội hoa trắng	Chi Linh - Hải Dương	KY202643	KY067418
7.	<i>Buchanania reticulata</i>	Mô ca	Nam Đông, VQG Bạch Mã	KY202635	KY067408
8.	<i>Buchanania arborescens</i>	Chầy lớn	VQG. Bạch Mã - Thừa Thiên - Huế	KY202630	KY067404
9.	<i>Buchanania arborescens</i>	Chầy lớn	VQG Bạch Mã - Thừa Thiên - Huế	KY202631	KY067406
10.	<i>Buchanania arborescens</i>	Chầy lớn	VQG Bạch Mã - Thừa Thiên - Huế	KY202632	KY067407
11.	<i>Buchanania siamensis</i>	Chầy xiêm	VQG Bi Doup Núi Bà - Lâm Đồng	KY202636	KY067410
12.	<i>Buchanania arborescens</i>	Chầy lớn	VQG Bạch Mã - Thừa Thiên - Huế	KY202634	KY067411
13.	<i>Buchanania arborescens</i>	Chầy lớn	VQG Bạch Mã - Thừa Thiên - Huế	KY202633	KY067408
14.	<i>Semecarpus anacardiopsis</i>	Sung đào	VQG Bạch Mã - Thừa Thiên - Huế	KY202645	KY067420
15.	<i>Semecarpus reticulata</i>	Sung mang	VQG Chư Mom Ray - Kon Tum	KY202648	KY067423
16.	<i>Semecarpus anacardiopsis</i>	Sung đào	VQG Bạch Mã - Thừa Thiên - Huế	KY202644	KY067419
17.	<i>Semecarpus anacardiopsis</i>	Sung đào	VQG Bạch Mã - Thừa Thiên - Huế	KY202646	KY067421
18.	<i>Semecarpus anacardiopsis</i>	Sung đào	VQG Bạch Mã - Thừa Thiên - Huế	KY20264	KY067422
19.	<i>Toxicodendron succedanea</i>	Sơn Phú Thọ	Chi Linh - Hải Dương	KY202649	KY067424
20.	<i>Toxicodendron succedanea</i>	Sơn Phú Thọ	VQG Bạch Mã - Thừa Thiên - Huế	KY202650	KY067425
21.	<i>Toxicodendron wallichii</i>	Sơn wallich	Trùng Khánh - Cao Bằng	KY202652	KY067427
22.	<i>Toxicodendron succedanea</i>	Sơn Phú Thọ	TH true Milk - Nghệ An	KY202651	KY067426
23.	<i>Melanorrhoea usitata</i>	Sơn đào	VQG Bạch Mã - Thừa Thiên - Huế	MT364375	MT364376
24.	<i>Allospodias lakonensis</i>	Giầu gia xoan	VQG Bạch Mã - Thừa Thiên - Huế	KY202629	KY067404
25.	<i>Melanorrhoea laccifera</i> (<i>gluta laccifera</i>)	Sơn tiền	Làng Cò - Thừa Thiên - Huế	KY202637	KY067412

Đồng thời, trong quá trình nghiên cứu có sử dụng và kế thừa kết quả 26 trình tự gen *rbcl* và 28 trình tự gen *trnL-trnF* của các loài thuộc họ Xoài (*Anacardiaceae*) đã được công bố trên Genbank.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tách chiết ADN tổng số

Các mẫu phân tích sinh học phân tử thuộc họ Xoài (*Anacardiaceae*) được bảo quản trong silicagel cho đến khi thực hiện các nghiên cứu phân tử. Phương pháp tách chiết ADN tổng số theo quy trình

của Doyle và Doyle (1987) có cải tiến theo phòng thí nghiệm.

2.2.2. Thiết kế mới đọc trình tự

Trình tự các cặp mới sử dụng được thiết kế dựa trên vùng bảo thủ nằm ở hai đầu của vùng gen nghiên cứu. Đoạn gen *rbcl* và gen *trnL-trnF* lần lượt có độ dài khoảng 600 bp và 1000 bp. Trình tự 2 cặp mới đặc hiệu được dùng để khuếch đại gen được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Bảng trình tự 2 cặp mới dùng trong khuếch đại và đọc trình tự gen

TT	Vùng gen	Trình tự mới	Độ dài (bp)
1	<i>rbcl</i>	F: 3'-TCTAGCACACGAAAGTCGAAGT-5'	600
		R: 5'-CTTCGGCACAAAATACGAAACGATCTCTCCA-3'	
2	<i>trnL-trnF</i>	F: 3'-CGA AATCGG TAG ACG CTACG -5'	1000
		R: 5'-ATT TGA AAC TGG TGA CACGAG-3'	

2.2.3. PCR khuếch đại gen và điện di trên gel agarose

Nhân bản vùng gen *rbcl*; *trnL-trnF* dài khoảng từ 600 bp đến 1000 bp bằng kỹ thuật PCR với cặp mới đặc hiệu thiết kế trên cơ sở trình tự *rbcl*, *trnL-trnF* của các loài trong họ Xoài (*Anacardiaceae*) trên Genbank. Phản ứng nhân gen được thực hiện trong thể tích là 25 µl với các thành phần gồm có: Master Mix Dream Taq Green 2X: 12,5µl; MgCl₂ 25mM: 0,5 µl; Taq polymerase 5u/ml: 0,5 µl; 10 ng/µl ADN mẫu: 2µl; Primer (10pmol mỗi mỗi xuôi hoặc ngược): 1,25µl; H₂O khử ion: 7µl. Chu trình nhiệt của mỗi phản ứng PCR: 95°C 3 phút, sau đó là 35 chu kỳ lặp lại: 95°C 30 giây; 54°C 1 phút; 72°C 1 phút; cuối cùng là 72°C 10 phút để kết thúc phản ứng và giữ mẫu ở 4°C. Phản ứng được thực hiện trên máy PCR system 9700. ADN tổng số sau khi được tách và các sản phẩm PCR thu được được điện di kiểm tra trên gel agarose 1%.

2.2.4. Đọc trình tự gen

Sản phẩm PCR sau khi tinh sạch được sử dụng làm khuôn cho phản ứng giải trình tự trực tiếp với các mới *rbcl*; *trnL-trnF*, sử dụng BigDye terminator

cycler và đọc kết quả trên hệ thống ABI 3100 Avant Genetic Analyzer. Hình ảnh các đỉnh (peak) của trình tự ADN các mẫu nghiên cứu được phân tích và ghép nối bằng phần mềm ChromasPro, so sánh bằng phần mềm MEGA7.

2.2.5. Xây dựng cây phát sinh chủng loại

Cây phát sinh chủng loại được xây dựng dựa trên phương pháp Neighbor – Joining (NJ). Kiểm tra và ghép nối các đoạn gen và so sánh sự khác nhau về vị trí các nucleotide được thực hiện bởi phần mềm ChromasPro (Technelysium Pty Ltd). Thành phần base (%) vùng gen *rbcl*, *trnL-trnF* của các loài, sự khác nhau giữa các cặp loài trên cơ sở phân tích theo mô hình Kimura 2 tham số và sơ đồ hình cây phát sinh chủng loại theo hai phương pháp Neighbor – Joining (NJ) và Maximum Likelihood (ML) được tiến hành trên phần mềm MEGA7 và Paup với giá trị Bootstrap là 1.000.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả giải mã trình tự các vùng gen

Vùng gen *rbcl* gồm khoảng 600 cặp nucleotide; *trnL-trnF* gồm khoảng 1000 cặp nucleotide.

3.2. Cây phát sinh chủng loại

Từ kết quả giải mã trình tự các vùng gen *rbcL* và *trnL - trnF*, sơ đồ cây phát sinh chủng loại họ Xoài Anacardiaceae ở Việt Nam được xây dựng (Hình 1-2). So sánh cây phát sinh chủng loại đã được xây dựng với hệ thống phân loại đã được lựa chọn (theo Mega 7.0), cây hệ thống phát sinh chủng loại và hệ thống phân loại là phù hợp. Vị trí các đơn vị phân loại thể hiện trong cây tiến hóa là hoàn toàn phù hợp với hệ thống phân loại của các đơn vị phân loại đó.

Cây phát sinh chủng loại thể hiện rõ các đơn vị phân loại thuộc các chi họ Xoài (Anacardiaceae) tiến hóa theo một nhánh tiến hóa riêng, không cùng nhánh tiến hóa. Sơ đồ cây phát sinh chủng loại chia thành 4 nhánh gồm 4 tông khác nhau của họ Xoài: Nhánh 1 (Tông 1) bao gồm các chi *Mangifera*, *Melanorrhoea*, *Anacardium*, *Buchanania* và *Bouea* có quan hệ gần gũi với nhau; Nhánh 2 (Tông 2) *Allospodias*, *Spondias*, *Choerospondias*, *Dracontomelon* và *Pegia*, *Lanea*, và *Pleiogynium* có quan hệ gần gũi với nhau; Nhánh 3 (Tông 3) gồm các chi *Rhus*, *Toxicodendron*, *Schinus* và *Pistacia* có quan hệ gần gũi với nhau; Nhánh 4 (Tông 4) gồm các chi *Semecarpus* và *Drimycarpus* cùng thuộc một nhánh và có quan hệ gần gũi với nhau. Như vậy, ước đoán ứng dụng sinh học phân tử trong nghiên cứu phân loại họ Xoài (Anacardiaceae) ở Việt Nam cho kết quả trùng khớp với hệ thống phân loại họ Anacardiaceae của các tác giả Engler (1892, 1896, 1903), Menchior (1964), Heywood (1996).

Nhánh thứ nhất thể hiện, tất cả các loài thuộc chi *Mangifera* có chung một nhánh tiến hóa và có mối quan hệ gần gũi với các đơn vị phân loại thuộc các chi *Melanorrhoea*, *Anacardium*, *Buchanania* và *Bouea*. Các loài *Mangifera foetida*, *M. reba*, *M. flava* và *M. urura* có mối quan hệ gần gũi và cùng nhánh tiến hóa với nhau. Loài *Melanorrhoea laccifera* có mối quan hệ gần gũi hơn với loài *M. usitata*. Các loài *Buchanania arborescens*, *B. reticulata*, *B. siamensis* có quan hệ gần gũi với nhau. Nhánh phụ thuộc chi *Buchanania* cho thấy, các mẫu khác của cùng một dạng hình thái là *B. reticulata* có sự khác nhau về di truyền khi chúng khác nhau về vùng phân bố.

Nhánh thứ hai thể hiện, các chi *Allospodias*, *Dracontomelon*, *Spondia*, *Lanea* và *Choerospondias* nằm cùng một nhánh và có quan hệ gần gũi với nhau. Chi *Dracontomelon* nằm giữa hai chi *Allospodias* và *Spondias*, các loài chi *Dracontomelon* có mối quan hệ

gần gũi với chi *Allospodias*. Nhánh phụ thuộc chi *Dracontomelon* cho thấy, các mẫu khác của cùng một loài hình thái là *Dracontomelon* có sự khác nhau về di truyền khi chúng khác nhau về vùng phân bố.

Nhánh thứ ba cho thấy, chi *Rhus* và chi *Toxicodendron* có mối quan hệ gần gũi nhau, chi *Pistacia* gần hai chi trên. Trong nhánh này, các đơn vị phân loại thuộc chi *Rhus* có mối quan hệ gần gũi nhau. Chi *Schinus* nằm giữa hai chi *Rhus* và *Toxicodendron*, các loài chi *Rhus* có mối quan hệ gần gũi với chi *Schinus*. Nhánh phụ thuộc chi *Toxicodendron* cho thấy, các mẫu khác của cùng một loài hình thái là *Toxicodendron succedaneum* có sự khác nhau về di truyền khi chúng khác nhau về vùng phân bố.

Nhánh thứ tư thể hiện, các đơn vị phân loại thuộc chi *Semecarpus* có cùng nhánh tiến hóa và có mối quan hệ gần gũi với các đơn vị phân loại thuộc chi *Drimycarpus*. Điều này phù hợp với những hệ thống dựa trên bằng chứng về hình thái. Đặc biệt, cây phát sinh chủng cho thấy, các mẫu nghiên cứu của cùng một loài hình thái như *Semecarpus anacardiopsis* thể hiện sự khác nhau về mặt di truyền khi chúng khác nhau về vùng phân bố.

3.3. Lựa chọn hệ thống phân loại họ Xoài (Anacardiaceae) ở Việt Nam

Từ các kết quả trên, nhóm nghiên cứu đề xuất hệ thống phân loại họ Xoài (Anacardiaceae) ở Việt Nam dựa trên hệ thống của Engler (1892, 1896, 1903), Menchior (1964) và Heywood (1996) như sau:

Tông 1. Anacardiaceae (bầu gồm 1-5 lá non rụng) gồm 7 chi: 1. *Melanorrhoea* (2 loài, 1 thứ), 2. *Buchanania* (5 loài), 3. *Anacardium* (1 loài), 4. *Gluta* (6 loài), 5. *Bouea* (2 loài, 2 thứ), 6. *Swintonia* (4 loài), 7. *Mangifera* (12 loài, 2 thứ).

Tông 2. Spondieae (bầu gồm 4-5 lá non hợp nhau thành bầu trên, có 4-5 ô) gồm 7 chi: 8. *Pegia* (1 loài), 9. *Lanea* (1 loài), 10. *Dracontomelon* (5 loài), 11. *Choerospondias* (1 loài), 12. *Pleiogynium* (1 loài), 13. *Spondias* (2 loài), 14. *Allospodias* (1 loài).

Tông 3. Rhoideae (bầu gồm 1-3 lá non hợp nhau thành bầu trên, 1 ô) gồm 5 chi: 15. *Pentaspadon* (2 loài), 16. *Schinus* (1 loài), 17. *Rhus* (1 loài, 1 thứ), 18. *Toxicodendron* (3 loài), 19. *Pistacia* (2 loài).

Tông 4. Semecarpeae (bầu gồm 1-3 lá non hợp nhau thành bầu giữa hoặc bầu dưới, 1 ô) gồm các 3

3.2. Cây phát sinh chủng loại

Từ kết quả giải mã trình tự các vùng gen *rbcl* và *trnL - trnF*, sơ đồ cây phát sinh chủng loại họ Xoài Anacardiaceae ở Việt Nam được xây dựng (Hình 1–2). So sánh cây phát sinh chủng loại đã được xây dựng với hệ thống phân loại đã được lựa chọn (theo Mega 7.0), cây hệ thống phát sinh chủng loại và hệ thống phân loại là phù hợp. Vị trí các đơn vị phân loại thể hiện trong cây tiến hóa là hoàn toàn phù hợp với hệ thống phân loại của các đơn vị phân loại đó.

Cây phát sinh chủng loại thể hiện rõ các đơn vị phân loại thuộc các chi họ Xoài (Anacardiaceae) tiến hóa theo một nhánh tiến hóa riêng, không cùng nhánh tiến hóa. Sơ đồ cây phát sinh chủng loại chia thành 4 nhánh gồm 4 tông khác nhau của họ Xoài: Nhánh 1 (Tông 1) bao gồm các chi *Mangifera*, *Melanorrhoea*, *Anacardium*, *Buchanania* và *Bouea* có quan hệ gần gũi với nhau; Nhánh 2 (Tông 2) *Allospodias*, *Spondias*, *Choerospondias*, *Dracontomelon* và *Pegia*, *Lanea*, và *Pleiogynium* có quan hệ gần gũi với nhau; Nhánh 3 (Tông 3) gồm các chi *Rhus*, *Toxicodendron*, *Schinus* và *Pistacia* có quan hệ gần gũi với nhau; Nhánh 4 (Tông 4) gồm các chi *Semecarpus* và *Drimycarpus* cùng thuộc một nhánh và có quan hệ gần gũi với nhau. Như vậy, bước đầu ứng dụng sinh học phân tử trong nghiên cứu phân loại họ Xoài (Anacardiaceae) ở Việt Nam cho kết quả trùng khớp với hệ thống phân loại họ Anacardiaceae của các tác giả Engler (1892, 1896, 1903), Menchior (1964), Heywood (1996).

Nhánh thứ nhất thể hiện, tất cả các loài thuộc chi *Mangifera* có chung một nhánh tiến hóa và có mối quan hệ gần gũi với các đơn vị phân loại thuộc các chi *Melanorrhoea*, *Anacardium*, *Buchanania* và *Bouea*. Các loài *Mangifera foetida*, *M. reba*, *M. flava* và *M. laurira* có mối quan hệ gần gũi và cùng nhánh tiến hóa với nhau. Loài *Melanorrhoea laccifera* có mối quan hệ gần gũi hơn với loài *M. usitata*. Các loài *Buchanania arborescens*, *B. reticulata*, *B. siamensis* có quan hệ gần gũi với nhau. Nhánh phụ thuộc chi *Buchanania* cho thấy, các mẫu khác của cùng một loài hình thái là *B. reticulata* có sự khác nhau về di truyền khi chúng khác nhau về vùng phân bố.

Nhánh thứ hai thể hiện, các chi *Allospodias*, *Dracontomelon*, *Spondia*, *Lanea* và *Choerospondias* nằm cùng một nhánh và có quan hệ gần gũi với nhau. Chi *Dracontomelon* nằm giữa hai chi *Allospodias* và *Spondias*, các loài chi *Dracontomelon* có mối quan hệ

gần gũi với chi *Allospodias*. Nhánh phụ thuộc chi *Dracontomelon* cho thấy, các mẫu khác của cùng một loài hình thái là *Dracontomelon* có sự khác nhau về di truyền khi chúng khác nhau về vùng phân bố.

Nhánh thứ ba cho thấy, chi *Rhus* và chi *Toxicodendron* có mối quan hệ gần gũi nhau, chi *Pistacia* gần hai chi trên. Trong nhánh này, các đơn vị phân loại thuộc chi *Rhus* có mối quan hệ gần gũi nhau. Chi *Schinus* nằm giữa hai chi *Rhus* và *Toxicodendron*, các loài chi *Rhus* có mối quan hệ gần gũi với chi *Schinus*. Nhánh phụ thuộc chi *Toxicodendron* cho thấy, các mẫu khác của cùng một loài hình thái là *Toxicodendron succedaneum* có sự khác nhau về di truyền khi chúng khác nhau về vùng phân bố.

Nhánh thứ tư thể hiện, các đơn vị phân loại thuộc chi *Semecarpus* có cùng nhánh tiến hóa và có mối quan hệ gần gũi với các đơn vị phân loại thuộc chi *Drimycarpus*. Điều này phù hợp với những hệ thống dựa trên bằng chứng về hình thái. Đặc biệt, cây phát sinh chủng cho thấy, các mẫu nghiên cứu của cùng một loài hình thái như *Semecarpus anacardiopsis* thể hiện sự khác nhau về mặt di truyền khi chúng khác nhau về vùng phân bố.

3.3. Lựa chọn hệ thống phân loại họ Xoài (Anacardiaceae) ở Việt Nam

Từ các kết quả trên, nhóm nghiên cứu đề xuất hệ thống phân loại họ Xoài (Anacardiaceae) ở Việt Nam dựa trên hệ thống của Engler (1892, 1896, 1903), Menchior (1964) và Heywood (1996) như sau:

Tông 1. Anacardiaceae (bầu gồm 1-5 lá noãn rời) gồm 7 chi: 1. *Melanorrhoea* (2 loài, 1 thứ), 2. *Buchanania* (5 loài), 3. *Anacardium* (1 loài), 4. *Gluta* (6 loài), 5. *Bouea* (2 loài, 2 thứ), 6. *Swintonia* (4 loài), 7. *Mangifera* (12 loài, 2 thứ).

Tông 2. Spondiaceae (bầu gồm 4-5 lá noãn hợp nhau thành bầu trên, có 4-5 ô) gồm 7 chi: 8. *Pegia* (1 loài), 9. *Lanea* (1 loài), 10. *Dracontomelon* (5 loài), 11. *Choerospondias* (1 loài), 12. *Pleiogynium* (1 loài), 13. *Spondias* (2 loài), 14. *Allospodias* (1 loài).

Tông 3. Rhoideae (bầu gồm 1-3 lá noãn hợp nhau thành bầu trên, 1 ô) gồm 5 chi: 15. *Pentaspadon* (2 loài), 16. *Schinus* (1 loài), 17. *Rhus* (1 loài, 1 thứ), 18. *Toxicodendron* (3 loài), 19. *Pistacia* (2 loài).

Tông 4. Semecarpeae (bầu gồm 1-3 lá noãn hợp nhau thành bầu giữa hoặc bầu dưới, 1 ô) gồm các 3

chi: 20. *Semecarpus* (11 loài), 21. *Drimycarpus* (1 loài), 22. *Holigarna* (1 loài).

Dựa trên hệ thống phân loại đã được đề xuất, sử dụng các đặc điểm hình thái, khóa định loại đến các chi thuộc họ Xoài (*Anacardiaceae*) ở Việt Nam được xây dựng.

3.4. Xây dựng khóa định loại đến các chi thuộc họ Xoài (*Anacardiaceae*) ở Việt Nam

Khóa định loại đến các chi thuộc họ Xoài (*Anacardiaceae*) ở Việt Nam

- 1A. Bầu gồm các lá noãn rời, đôi khi chỉ 1 lá noãn phát triển I. *Anacardiaceae*
- 2A. Nhị gấp nhiều lần số cánh hoa (30-35 nhị), xếp thành nhiều vòng 1. *Melanorrhoea*
- 2B. Nhị bằng hoặc gấp 2 lần số cánh hoa, xếp thành 1-2 vòng.
- 3A. Nhị gấp đôi số cánh hoa (8-10 nhị), xếp thành 2 vòng
- 4A. Hoa lưỡng tính, các nhị đều nhau, không có nhị lép; có triển mạt dính quanh bầu; đế quả không đồng trường 2. *Buchanania*
- 4B. Hoa đơn tính hoặc lưỡng tính; hoa cái hoặc hoa lưỡng tính có nhị lép, chỉ có 1 nhị hữu thụ; không có triển mạt; đế quả nạc, đồng trường bao lấy một phần quả 3. *Anacardium*
- 3B. Nhị bằng số cánh hoa (4-5 nhị), xếp thành 1 vòng
- 5A. Hoa lưỡng tính, không có nhị lép
- 6A. Lá mọc cách; hoa không có triển mạt 4. *Gluta*
- 6B. Lá mọc đối hoặc mọc vòng; hoa có triển mạt bao quanh bầu 5. *Bouea*
- 5B. Hoa đơn tính hoặc lưỡng tính; hoa cái hoặc hoa lưỡng tính có nhị lép
- 7A. Hoa có triển mạt phía ngoài nhị; cánh hoa đồng trường với quả tạo thành cánh; vỏ quả trong không có lông cứng 6. *Swietenia*
- 7B. Hoa có triển mạt bao quanh bầu; cánh hoa không đồng trường với quả; vỏ quả trong có lông cứng 7. *Mangifera*
- 1B. Bầu gồm các lá noãn hợp.
- 8A. Bầu gồm 4-5 lá noãn hợp, 4-5 ô. II. *Spondiaceae*
- 9A. Cây thân leo 8. *Pegia*
- 9B. Cây thân gỗ
- 10A. Bao hoa màu 4 9. *Lansea*
- 10B. Bao hoa màu 5
- 11A. Bao hoa xếp lợp
- 12A. Hoa lưỡng tính 10. *Dracontomelon*
- 12B. Hoa đơn tính (hoa đơn tính cùng gốc hoặc khác gốc)
- 13A. Hoa cái đơn độc ở nách lá hoặc thành cụm 2-3 hoa; hoa đực tập hợp thành chùy 11. *Choerospondias*
- 13B. Cả hoa đực và hoa cái tập hợp thành chùy 12. *Pleiogynium*
- 11B. Bao hoa xếp van
- 14A. Vỏ quả trong có lông cứng, như sợi xơ cứng; gân bên hợp nhau thành đường gân ở sát mép lá 13. *Spondias*
- 14B. Vỏ quả trong không cứng; gân bên không hợp thành đường gân ở sát mép lá 14. *Allospodias*
- 8B. Bầu gồm 1-3 lá noãn hợp, chỉ có 1 ô.

- 15A. Bầu trên. Quả không có đế quả đồng trường. Lá kép lông chim.....III. Rhoideae
- 16A. Bao hoa gồm 1 vòng đài và 1 vòng tràng
- 17A. Nhị gấp hai lần số cánh hoa (8-10 nhị), xếp thành 2 vòng
- 18A. Hoa lưỡng tính; quả hạch hình trứng thuôn, nhọn hai đầu..... 15. *Pentaspadon*.
- 18B. Hoa đơn tính; quả hạch hình cầu..... 16. *Schinus*
- 17B. Nhi bằng số cánh hoa (4-5 nhị), xếp thành 1 vòng.
- 19A. Cụm hoa ở đỉnh cành; vỏ quả ngoài có lông tơ mịn và lông tuyến..... 17. *Rhus*
- 19B. Cụm hoa ở nách lá; vỏ quả ngoài nhẵn..... 18. *Toxicodendron*
- 16B. Bao hoa tiêu giảm hoàn toàn hoặc còn lại một vòng đài 19. *Pistacia*
- 15B. Bầu giữa hoặc bầu dưới. Quả thường có đế quả đồng trường. Lá đơn..... IV. *Semecarpeae*
- 20A. Bầu giữa; quả có đế đồng trường, nạc, bao quanh một phần hoặc toàn bộ quả.....
..... 20. *Semecarpus*
- 20B. Bầu dưới; quả không có đế đồng trường
- 21A. Hoa tạp tính; bao hoa xếp lợp; vòi nhụy 1 21. *Drimycarpus*
- 21B. Hoa đơn tính; bao hoa xếp van; vòi nhụy 3 (ở hoa cái)..... 22. *Holigarna*

4. KẾT LUẬN

Dựa vào kết quả giải mã trình tự các vùng gen *rbcl* và *trnL-trnF* của 25 mẫu thu tại Việt Nam, 26 trình tự gen *rbcl* và 28 trình tự gen *trnL-trnF* tham khảo trên Genbank, sơ đồ cây phát sinh chủng loại họ Xoài (*Anacardiaceae*) ở Việt Nam đã được xây dựng và phân tích. Từ kết quả của việc áp dụng phương pháp hiện đại giải trình tự gen kết hợp với phương pháp truyền thống giảm định hình thái cho thấy cây phát sinh chủng loại được xây dựng hoàn toàn phù hợp với các hệ thống phân loại đã được công bố trước đây.

Cũng từ kết quả phân tích cây phát sinh chủng loại, hệ thống phân loại họ Xoài (*Anacardiaceae*) được đề xuất gồm 4 tông, 22 chi, 66 loài và dưới loài. Tông 1. *Anacardiaceae* gồm 7 chi (*Melanorrhoea*, *Buchanania*, *Anacardium*, *Gluta*, *Bouea*, *Swintonia*, *Mangifera*); Tông 2. *Spondiaceae* gồm 7 chi (*Pegia*, *Lannea*, *Dracontomelon*, *Choerospondias*, *Pleogynium*, *Spondias*, *Allospodias*); Tông 3. *Rhoideae* gồm 5 chi (*Pentaspadon*, *Schinus*, *Rhus*, *Toxicodendron*, *Pistacia*); Tông 4. *Semecarpeae* gồm 3 chi (*Semecarpus*, *Drimycarpus*, *Holigarna*).

Khóa định loại theo kiểu lưỡng phân của 4 tông, 22 chi thuộc họ Xoài (*Anacardiaceae*) ở Việt Nam được xây dựng dựa trên hệ thống phân loại được đề xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1 Aguilar-Ortigoza & Sosa, 2004. *The evolution of toxic phenolic compounds in a group of Anacardiaceae genera*. Taxon 53: 357-364.
- 2 Nguyễn Tiến Bản, 2003. Họ Xoài *Anacardiaceae* R. Br. Danh lục các loài thực vật Việt Nam, 2: 941-953, Nxb. Nông nghiệp. Hà Nội.
- 3 CBOL, 2009. *Plant Working Group, ADN barcode for land plants*, PNAS 106(31): 12794-97.
- 4 Chayamarit, K., 1997. *Molecular phylogenetic analysis of Anacardiaceae in Thailand*. Thai Forest Bull., Bot. 25:1-13.
- 5 Engler, A., 1892. In A. Engler & K. Prantl (eds.): *Anacardiaceae*. Die natürlichen Pflanzenfamilien, 3(5): 138-178. Engelmann, Leipzig.
- 6 Engler, A., 1896. *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*. 138-178, Leipzig.
- 7 Engler, A., 1903. *Syllabus der Pflanzenfamilien*: 151-155, Berlin.
- 8 Heywood V. H., 1996. *Flowering Plants of the word*, pp. 197-198. London.
- 9 Phạm Hoàng Hộ, 2000. *Cây cỏ Việt Nam*, 2: 363-381. Nxb. Trẻ, Tp. Hồ Chí Minh.
- 10 Jessica N. S. & al. 2015. *ADN barcoding and phylogeny in neotropical species of the genus Spondias*. *Biochemical Systematics and Ecology* 61: 240-243.
- 11 Menchior A., 1964. *Engler's Syllabus Der Pflanzenfamilien*, 278-280. Berlin - Nikolassee.

- 12 Pell S. K., & al., 2011. In K. Kubitzki (ed.): *Anacardiaceae. The families and Genera of Vascular Plants*: 7-50. Springer.
- 13 Doyle J. J. and J. L. Doyle, 1987. *A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf material*. Phytochemical Bull. 19: 11-15.
- 14 Nguyễn Xuân Quyên & cs., 2017. *Đặc điểm di truyền của loài Sơn Đảo (Melanorrhoea usitata Wall.) ở Việt Nam trên cơ sở phân tích trình tự gen rbcL và trnL-trnF*. Báo cáo khoa học về Sinh thái và tài nguyên sinh vật: Hội nghị khoa học toàn quốc lần thứ 7: 1416-1420. Nxb. Khoa học Tự nhiên và Công nghệ. Hà Nội
- 15 Tardieu – Blot, 1962. *Anacardiaceae. Flore du Cambodge, du Laos et du Vietnam*. 2: 65-194. Paris.
- 16 Wannan B. S., 2006. *Analysis generic relationships in Anacardiaceae*. Blumea 51: 165-195.
- 17 Wannan, B. S. & al., 1992. *Inflorescence structure and affinities of Laurophyllus (Anacardiaceae)*. Botanical Journal of the Linnean Society, 109: 235-245.

APPLICATION OF *rbcL* AND *trnL-trnF* SEQUENCING TO STUDY CLASSIFICATION OF CASHEW FAMILY (ANACARDIACEAE) IN VIETNAM

Nguyễn Xuân Quyên, Trần Thị Phương Anh, Nguyễn Thế Cường

Summary

In the flora of Vietnam, Cashew family (Anacardiaceae) has been recorded 66 species and subspecies, they distribute in all of areas. Although many studies to classify Anacardiaceae based on the morphological characteristics have been done. So far, there has been very few the research on classification of Anacardiaceae in Vietnam based on molecular biology evidence. In this study, the *rbcL* and *trnL-trnF* (600 bp and 1000 bp) of 25 samples belonging Anacardiaceae in Vietnam were sequenced. Based on the Neighbor – Joining (NJ) method, a phylogeny of Anacardiaceae in Vietnam was built by MEGA7 Paup software, with bootstrap value of 1000. The system of Anacardiaceae in Vietnam including 4 tribes, 22 genera, 66 species and subspecies was built based on the phylogeny of Anacardiaceae in Vietnam. Based on the system and morphological characteristics, the dichotomous key to genera of Anacardiaceae in Vietnam was built.

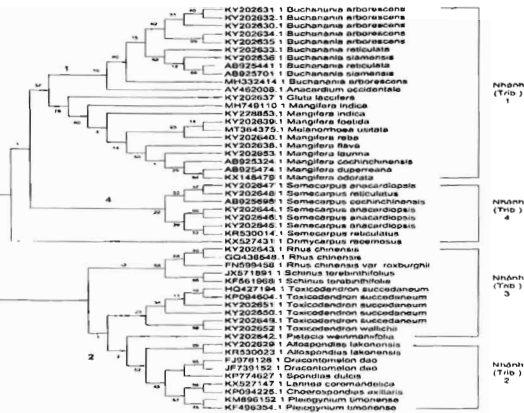
Keywords: *Phylogeny, Cashew family, classification, rbcL, trnL-trnF.*

Người phản biện: PGS.TS. Khuất Hữu Trung

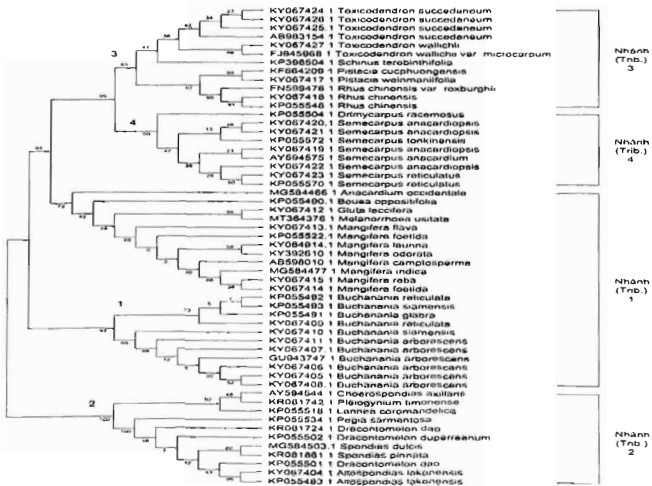
Ngày nhận bài: 02/6/2020

Ngày thông qua phản biện: 02/7/2020

Ngày duyệt đăng: 9/7/2020



Hình 1. Sơ đồ cây phát sinh chủng loại họ Anacardiaceae trên cơ sở gen *rbcL* theo phương pháp Maximum Likelihood.



Hình 2. Sơ đồ cây phát sinh chủng loại họ Anacardiaceae trên cơ sở gen *trnL-trnF* theo phương pháp Maximum Likelihood.