

**VỊ TRÍ PHÂN LOẠI CỦA SA MỘC
(*CUNNINGHAMIA LANCEOLATA* (Lamb.) Hook., 1827)**

NGUYỄN THỊ PHƯƠNG TRANG, NGUYỄN VĂN SINH
Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

TRƯƠNG NAM HẢI
Viện Công nghệ Sinh học

PHAN KẾ LỘC
Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

NGUYỄN MINH TÂM
Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam

Sa mộc (*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook., 1827) là cây gỗ thường xanh, cao đến 30-35m với đường kính đến 0,7-0,9m, mọc ở độ cao 100-1500m trên mặt biển, trung sinh, sinh trưởng nhanh trên đất còn tầng dày và ẩm, do riolits, phiến sét và một số loại đá khác phong hóa ra. Lá xếp theo một mặt phẳng ngang, cứng, dai, dài 3-7cm, rộng 3-4mm, hình dải, có chóp nhọn, mép răng cưa, cong xuống dưới với một dải lỗ khí màu trắng trắng ở mặt dưới lá. Hoa đực xếp cụm 15-20 cái, hình trụ thành đuôi sóc ở ngọn, xếp thành nhóm 5-6 cái một. Hoa cái hình trứng, đơn hay cụm lại. Nón dài 3-4cm, rộng 3cm ở gốc, vẩy có răng, có chóp hình tam giác, tận cùng thành mũi thon. Hạt hình trái xoan, có cánh hẹp.

Loài này ở nước ta có 2 dạng: một dạng mọc tự nhiên và một dạng được nhập từ Trung Quốc vào trồng nhiều ở nước ta trong vài năm trở lại đây. Theo một số quan điểm phân loại trước đây hai dạng này được coi là hai loài khác nhau: dạng mọc tự nhiên có tên khoa học là *Cunninghamia konishii* Hayata, 1908; dạng nhập từ Trung Quốc về trồng có tên khoa học là *Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook., 1827. Tuy nhiên theo một số nghiên cứu dựa vào đặc điểm di truyền gần đây loài *Cunninghamia konishii* Hayata được nhập vào loài *Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook., coi nó như một thứ, *Cunninghamia lanceolata* var. *konishii* (Hayata) bên cạnh thứ chuẩn *Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook. var. *lanceolata*. Như vậy hiện nay chi Sa mộc chỉ có 1 loài duy nhất là *Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook.

Theo các tài liệu nghiên cứu trước đây (Cây cỏ Việt Nam của Phạm Hoàng Hộ, 1999; Danh lục cây thuốc Việt Nam, 2001 và Danh lục các loài thực vật Việt Nam - Tập I, 2001 của Trung tâm Nghiên cứu Tài nguyên và Môi trường; ...) thì Sa mộc được xếp vào họ Bụt mọc (Taxodiaceae). Họ này có 10 chi bao gồm Bách tasmania (*Athrotaxis*), Liễu sam (*Cryptomeria*), Sa mộc (*Cunninghamia*), Thủy tùng (*Glyptostrobus*), Thủy sam (*Metasequoia*), Thông dù nhật (*Sciadopitys*), Hồng sam bắc mỹ (*Sequoia*), Cự sam (*Sequoiadendron*), Bách tán đài loan (*Taiwania*) và Bụt mọc (*Taxodium*). Tuy nhiên, các nghiên cứu gần đây chỉ ra rằng họ Taxodiaceae (ngoại trừ chi *Sciadopitys*) không có khác biệt với họ Hoàng đàn (Cupressaceae) ở bất kỳ điểm đặc trưng đáng kể nào, vì vậy đã có gợi ý nhập chung Taxodiaceae vào họ Cupressaceae.

Trong báo cáo này chúng tôi tiến hành giải mã trình tự gen 18S của Sa mộc và một số loài khác bao gồm: Bách xa nh đá vôi (*Calocedrus rupestris*), Hoàng đàn hữu liên (*Cupressus*

tonkinensis), Pơ mu (*Fokienia hodginsii*) và Bách vàng (*Xanthocyparis vietnamensis*), các trình tự này đã được đăng ký trên Ngân hàng gen với mã hiệu lần lượt là: EU273292 (Sa mộc), EU273293 (Bách vàng), EU273294 (Bách xanh đá vôi), EU273295 (Pơ mu), EU273296 (Hoàng đàn hữu liên).

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là mẫu lá của 5 loài Sa mộc, Pơ mu, Hoàng đàn hữu liên, Bách xanh đá vôi, Bách vàng thu tại các tỉnh của Việt Nam (Bảng 1).

Bảng 1

Địa điểm thu mẫu và số hiệu trình tự gen 18S đã được đăng ký trên Genbank

Tên loài	Tên tiếng Việt	Nơi thu mẫu	Số hiệu đã đăng ký trên Ngân hàng gen
<i>Fokienia hodginsii</i>	Pơ mu	Rừng thứ sinh Thái An Quần Bạ-Hà Giang	EU273295
<i>Cunninghamia lanceolata</i>	Sa mộc trồng	Rừng thứ sinh Tây Sơn Kỳ Sơn - Nghệ An	EU273292
<i>Cupressus tonkinensis</i>	Hoàng đàn hữu liên	Khu vườn trồng Hữu Liên Hữu Lũng - Lạng Sơn	EU273296
<i>Xanthocyparis vietnamensis</i>	Bách vàng	Khu BTTN Bát Đại Sơn Quần Bạ - Hà Giang	EU273293
<i>Calocedrus rupestris</i>	Bách xanh đá vôi	Khu BTTN Bát Đại Sơn Quần Bạ - Hà Giang	EU273294

Tách ADN tổng số: mẫu lá tươi được nghiền trong nitrogen lỏng (-196°C) thành dạng bột mịn, lấy 100mg bột để tách ADN bằng Dneasy plant mini kit (Qiagen, Đức). Vùng gen 18S có chiều dài 1800bp được chia thành 3 đoạn có kích thước tương ứng là: 500bp, 600bp và 700bp. Các đoạn này được khuếch đại bằng PCR với cặp mồi đặc hiệu thiết kế trên cơ sở trình tự gen 18S -rDNA của các loài trong họ Hoàng đàn, tương ứng như sau:

18S-500R: 5'-G TTT AAG TTT CAG CCT TGC GAC-3' (đảo ngược), 18S-700F: 5'-CCT TCT GAG AAA TCA GAG TGT TTG-3' và 18S-700R: 5'-CTT CTC CTT CCT CTA AAT GAT AAG-3' và 18S-600F: 5'-TCA AAG ATT AAG CCA TGC ATG TCT-3' và 18S-600R: 5'-TAC GAG CTT TTT AAC TGC AAC AAC

Bảng 2

Danh sách trình tự các loài trên Ngân hàng gen được sử dụng trong nghiên cứu

TT	Tên khoa học	Mã hiệu trên Genbank	Tham khảo
1.	<i>Calocedrus decurrens</i>	D85293	(Chaw <i>et al.</i> , 1997)
2.	<i>Juniperus chinensis</i>	D38243	(Chaw <i>et al.</i> , 1995)
3.	<i>Metasequoia glyptostroboides</i>	L00970	(Savard <i>et al.</i> , 1994)
4.	<i>Taiwania cryptomerioides</i>	D38250	(Chaw <i>et al.</i> , 1995)
5.	<i>Taxodium mucronatum</i>	EF053176	(Wang Q. <i>et al.</i> , 2006)
6.	<i>Pinus elliottii</i>	AF051798	(Graham <i>et al.</i> , 1996)

Các sản phẩm PCR này sau đó được giải trình tự và kết hợp với nhau tạo thành 1 gen 18S hoàn chỉnh có chiều dài 1700 bp và được so sánh với 5 loài khác trong họ Hoàng đàn và Bụt mọc, loài thông *Pinus elliotii* là loài ngoài nhóm được dùng làm tham chiếu.

Kết quả so sánh gen 18S của 5 loài nghiên cứu với 6 loài khác (Bảng 2) (số liệu lấy từ Ngân hàng gen) được biểu hiện ở Bảng 3, kết quả tổng hợp khoảng cách di truyền được thể hiện ở Bảng 4, kết quả phân tích mối quan hệ di truyền của các loài nghiên cứu được thể hiện ở Hình 2.

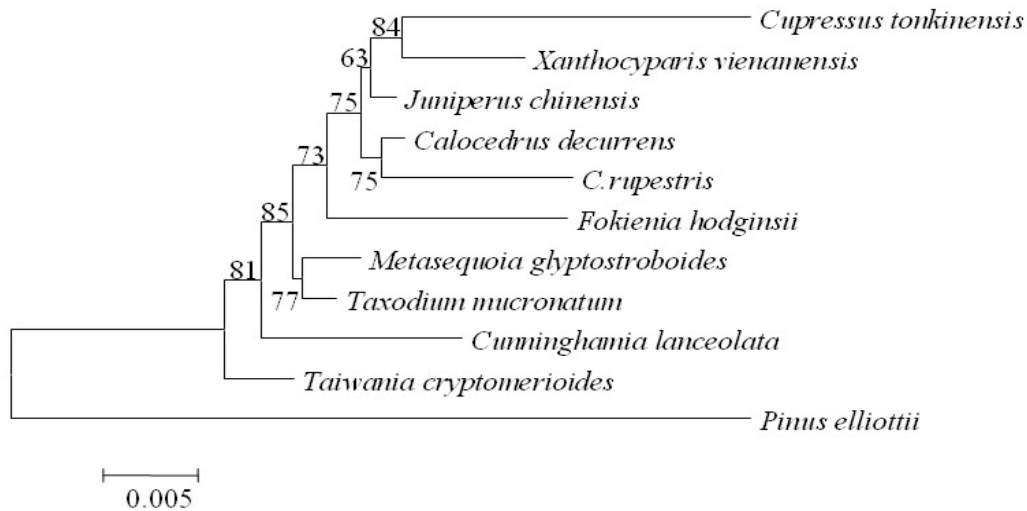
Kết quả phân tích mối quan hệ di truyền của 11 loài nghiên cứu gồm 5 loài thuộc họ Hoàng đàn (Pơ mu - *Fokienia hodginsii*, Bách xanh đá vôi - *Calocedrus rupestris*, Bách vàng - *Xanthocyparis vietnamensis*, Hoàng đàn hữu liên - *Cupressus tonkinensis*, Bút tùng - *Juniperus chinensis*), 4 loài thuộc họ Bụt mọc (Bách tán dài loan - *Taiwania cryptomerioides*, Thủy sam - *Metasequoia glyptostroboides*, Sa mộc - *Cunninghamia lanceolata*, Bụt mọc - *Taxodium mucronatum*) và 1 loài ngoài nhóm là thông *Pinus elliotii* cho thấy loài ngoài nhóm có cách biệt di truyền khác xa với các loài còn lại đúng như dự kiến.

Các loài còn lại có mối quan hệ khá gần gũi với nhau, sự cách biệt nhau về khoảng cách di truyền không quá lớn để có thể phân biệt đến mức khác họ, cụ thể là khoảng cách di truyền của Sa mộc (*Cunninghamia lanceolata*) so với *Taiwania cryptomerioides* là 0,015, với *C. decurrens* là 0,018, với *Metasequoia glyptostroboides* là 0,016, với *Fokienia hodginsii* là 0,026, với *Cupressus tonkinensis* là 0,036, với *X. vietnamensis* là 0,025, với *Taxodium mucronatum* là 0,015, với *Juniperus chinensis* là 0,017, trong khi so với thông (*Pinus elliotii*) thì khoảng cách di truyền lớn hơn hẳn (0,067). Vùng gen được so sánh có chiều dài 1635 bp, có 184 vị trí đa hình, trong đó 23 vị trí biến đổi mang thông tin parsimony. Chỉ số đa dạng nucleotide $\pi = 0,024$.

Bảng 4

Ma trận khoảng cách di truyền theo mô hình Kimura 2 tham số với phân phối Gamma

1	<i>T. cryptomerioides</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2	<i>C. decurrens</i>	0.014									
3	<i>M. glyptostroboides</i>	0.012	0.010								
4	<i>F. hodginsii</i>	0.021	0.018	0.018							
5	<i>C. lanceolata</i>	0.015	0.018	0.016	0.026						
6	<i>C. tonkinensis</i>	0.031	0.023	0.028	0.036	0.036					
7	<i>X. vietnamensis</i>	0.020	0.011	0.016	0.024	0.025	0.025				
8	<i>C. rupestris</i>	0.023	0.012	0.018	0.022	0.028	0.033	0.018			
9	<i>P. elliotii</i>	0.057	0.063	0.058	0.070	0.067	0.084	0.069	0.073		
10	<i>T. mucronatum</i>	0.010	0.008	0.005	0.018	0.015	0.027	0.014	0.018	0.060	
11	<i>J. chinensis</i>	0.012	0.005	0.010	0.016	0.017	0.022	0.010	0.014	0.061	0.008



Hình 2: Cây phát sinh chủng loại Maximum Likelihood ($\log L = -3454.17$), số ở các gốc là giá trị bootstrap (%) với 1000 lần lấy lại mẫu

Mô hình thích hợp nhất được lựa chọn là mô hình Kimura 2 tham số với phân phối Gamma (BIC = 7111.402, AICc = 6948.100, $\ln L = -3453.024$, $\gamma = 0.33$, R = 1.37, A = 0.250, T = 0.250, C = 0.250, G = 0.250).

Từ các kết quả trên ta thấy rõ ràng loài Sa mộc cùng với một số loài khác thuộc họ Bút mộc không hề có cách biệt di truyền lớn so với các loài thuộc họ Hoàng đàn, vì vậy việc xếp Sa mộc vào họ Hoàng đàn là hoàn toàn có cơ sở.

III. KẾT LUẬN

Kết quả phân tích mối quan hệ di truyền trên cơ sở giải mã trình tự gen 18S-rDNA của Sa mộc và 4 loài khác thuộc họ Hoàng đàn cho thấy Sa mộc có quan hệ di truyền gần gũi với các loài thuộc họ Hoàng đàn, khoảng cách di truyền giữa các loài này với nhau là rất nhỏ. Kết quả nghiên cứu này ủng hộ quan điểm phân loại nhập Sa mộc vào họ Hoàng đàn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Debreczy Zsolt & Rác István**, 2000: Fenyök - a föld körül. Dendrologiai Alapítvány. Budapest, 552 pp.
2. **Farjon A.**, 2005: A Monograph of Cupressaceae and Sciadopitys, Royal Botanic Gardens, Kew, p. 84-90.
3. **Fu L. G., Y. F. Yu, R. B. Mill in Z. Y. Wu & P. H. Raven (eds)**, 1999: Flora of China, Science press (Beijing) & Missouri Botanical Garden Press (St. Louis), p. 54-61.
4. **Gadek P. A., D. L. Alpers, M. M. Heslewood and C. J. Quinn.**, 2000: *American Journal of Botany*, 87(7): 1044-1057.
5. **Nguyễn Thị Phương Trang, Nguyễn Minh Tâm, Phan Kế Long, Phan Kế Lộc**, 2009: *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 7(1): 85-92.
6. **Nguyễn Tiến Hệp, Phan Kế Lộc, Nguyễn Đức Tố Lưu, P. I. Thomas, A. Fajon, L. Averyanov, J. Jr. Regalado**, 2005: Thông Việt Nam: Nghiên cứu hiện trạng và bảo tồn 2004, Fauna & Flora International, Chương trình Việt Nam, Hà Nội.

7. **Sanger F., S. Nicklen, A. R. Coulson**, 1977: DNA sequencing with chain-terminating inhibitor, *Proc Natl Acad Sci USA*, 74(12): 5463-5467.
8. **Swofford D. L., PAUP***, 2003: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods) Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
9. **Tamura K., J. Dudley, M. Nei, S. Kumar**, 2007: MEGA4: Molecular evolutionary genetic analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol*, 10: 1093.
10. **Thompson J. D., D. G. Higgins and T. J. Gibson, W. CLUSTAL**, 1994: *Nucleic Acids Research*, 22: 4673-4680.
11. **Trung tâm Tài nguyên & Môi trường, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật**, 2001: Danh lục các loài thực vật Việt Nam, NXB. Nông nghiệp, Hà Nội, tập I, 1181 tr.

**TAXONOMIC POSITION OF
CUNNINGHAMIA LANCEOLATA (Lamb.) Hook., 1827**

**NGUYEN THI PHUONG TRANG, NGUYEN VAN SINH,
TRUONG NAM HAI, PHAN KE LOC, NGUYEN MINH TAM**

SUMMARY

Cunninghamia lanceolata species belongs to *Cunninghamia* genus which is listed to Taxodiaceae family. The taxonomic position of *Cunninghamia lanceolata* species was investigated by using the 18s-rDNA sequence data. DNA was extracted from leaves of *Cunninghamia lanceolata* species and 4 other species in Cupressaceae family, including: *Calocedrus rupestris*, *Xanthocyparis vietnamensis*, *Cupressus tonkinensis* and *Fokienia hodginsii*. The nucleotide sequence of 18s-rDNA was determined with 1700bp and used in analysis of phylogeny of *Cunninghamia lanceolata* species and 4 above mentioned species by MP method, together with 6 other species namely: *Calocedrus decurrens*, *Juniperus chinensis*, *Metasequoia glyptostroboides*, *Taiwania cryptomerioides*, *Taxodium mucronatum* and *Pinus elliottii*. The genetic distance table and cladiogram have indicated that *Cunninghamia lanceolata* species and other species of Taxodiaceae family have close genetic relationship with the species of Cupressaceae family. We suggest that *Cunninghamia lanceolata* species should be listed to Cupressaceae family.