

PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH TRÌNH TỰ GEN RPOC1 TỪ LOÀI SÂM CAU (*CURCULIGO ORCHIOIDES* GAERTN.) TẠI THANH HÓA

Lê Đình Chấn¹, Nguyễn Hoàng Yến²

TÓM TẮT

Thuật ngữ “DNA barcode” được sử dụng nhiều trong nghiên cứu phân loại học phân tử. Về cơ bản, kỹ thuật này dựa vào việc sử dụng một trình tự DNA khoảng 400-800 bp như là một tiêu chuẩn để nhận dạng và xác định quan hệ chủng loài của các loài sinh vật một cách nhanh chóng và chính xác. Do đó, kỹ thuật DNA mã vạch không chỉ giúp các nhà phân loại học trong công tác phân loại và xác định loài, mà còn nâng cao năng lực kiểm soát, hiểu biết và tận dụng sự đa dạng sinh học. Vì vậy trong bài viết này, chúng tôi đề cập đến kết quả phân lập và đọc trình tự gen *rpoC1* của các mẫu Sâm cau thu tại Thanh Hóa. Chúng tôi đã phân lập gen *rpoC1* từ 2 mẫu Sâm cau thu tại Vườn quốc gia Bến En và Khu bảo tồn thiên nhiên Xuân Liên Thanh Hóa, kích thước gen *rpoC1* mà chúng tôi thu được là 570 nucleotid và có sự tương đồng là 99,5% so với trình tự gen *rpoC1* đã công bố trên ngân hàng gen mã số JF972810.

Từ khóa: *RpoC1*, DNA barcoding, gen *RpoC1*, gen lục lạp.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo Y học cổ truyền Việt Nam, Sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn.) có vị cay, tính ấm, có tác dụng trợ dương, trừ hàn, cường dương, mạnh gân xương. Một số nghiên cứu gần đây cho thấy, Sâm cau có tác dụng kích thích miễn dịch, bảo vệ gan, chống oxy hóa, chống ung thư [10]. Mặt khác, Sâm cau có nhiều hợp chất quý có tác dụng chữa bệnh cao, đặc biệt là một số hợp chất như: glucosid chlorophenolic mới được phân lập từ Sâm cau, trong nhóm này gồm có: curculigin E (1), curculigin F (2), curculigin G (3), curculigin H (5), curculigin I (6) và một phenolic glycosid mới là orcinosid H (4), 2,6-dimethoxy benzoic acid (1), curculigoside A (2), curculigoside B (3), curculigine A (4), curculigine D (5) và 3,3', 5, 5'-tetramethoxy-7,9': 7',9'-diepoxy lignan-4,4'-di-O-beta-D-glucopyranoside (6), cùng với 8 glycosid phenolic đã được biết đến trước đó [5]. Cấu trúc của chúng đã được chứng minh bởi các kỹ thuật phổ (IR, UV, MS, 1D và 2D NMR). Các glycosid phenolic này được đánh giá có tác dụng chống loãng xương trên dòng tế bào MC3T3-E1 sử dụng phương pháp MTT. Tuy nhiên việc nghiên cứu đặc điểm di truyền học của loài cây này còn hạn chế, do đó những dữ liệu khoa học về di truyền học của loài dược liệu quý này chưa được công bố nhiều trên thế giới và trong nước; đặc biệt là hệ thống mã vạch DNA (DNA barcode).

Đối với thực vật, trong hệ thống mã vạch DNA thì hệ gen lục lạp mang nhiều đặc điểm thích hợp đối với chỉ thị DNA và hệ gen nhân, vùng DNA nằm giữa các gen hay còn gọi *ITS*

¹ Giảng viên khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Hồng Đức

² Giáo viên Trường Trung học phổ thông Nguyễn Trãi, thành phố Thanh Hóa

(Internal Transcribed Spacer) thường được sử dụng làm DNA chỉ thị trong một số nghiên cứu [2,6,8]. Trong những năm gần đây, nhiều vùng gen đã được nghiên cứu và đề xuất là chỉ thị DNA cho thực vật như *Matk*, *Procl*... [3,4,7]. Theo Taberlet P. và cộng sự (2007), hệ thống mã vạch DNA lý tưởng phải đáp ứng các yêu cầu sau:

Thứ nhất, đoạn DNA chỉ thị phải đủ độ biến thiên để phân biệt giữa các loài nhưng không khác nhau quá mức giữa các cá thể trong cùng loài;

Thứ hai, hệ thống định danh bằng DNA phải được chuẩn hóa, với cùng một vùng DNA có thể được sử dụng cho các nhóm phân loại khác nhau;

Thứ ba, đoạn DNA chỉ thị cần chứa đủ thông tin phát sinh loài để có thể dễ dàng định danh loài vào các nhóm phân loại (chi, họ...);

Thứ tư, có khả năng áp dụng với các mẫu vật thô, với vị trí cặp mỗi nhân gen có độ bảo thủ cao, dễ dàng thực hiện phản ứng khuếch đại và đọc trình tự DNA.

Gen *rpoB*, *rpoC1*, *rpoC2* mã hóa ba trong 4 tiểu đơn vị của *RNA polymerase* lục lập. Hiện nay *rpoB* là gen được sử dụng nhiều trong nghiên cứu phát sinh loài và xác định các loài vi khuẩn, đặc biệt khi nghiên cứu các chủng có quan hệ gần gũi. Cùng với gen 16S *rRNA*, *rpoB* được sử dụng trong nhiều nghiên cứu để xác định loài vi khuẩn mới, do vậy các gen này được đề xuất là chỉ thị barcode độc lập hoặc kết hợp một số gen khác. Trong các nghiên cứu gần đây, CBOL đã thử nghiệm 7 locus và thấy rằng khả năng phân biệt loài của đoạn gen *rpoC1* là thấp nhất (43%). Mặc dù vậy, trong một số nghiên cứu gần đây đã chỉ ra *rpoC1* là một chỉ thị rất hữu ích khi được sử dụng để phân biệt các loài bryophytes. Do vậy cần có các nghiên cứu tiếp theo để chứng minh sự phù hợp khi sử dụng *rpoB* và *rpoC1* làm chỉ thị barcode trong các nghiên cứu giám định loài [9,10].

Những thay đổi ở DNA lục lập (cpDNA) đã và đang được sử dụng cho các nghiên cứu về tiến hóa, sinh thái và phát sinh chủng loại ở thực vật. CpDNA có mức độ bảo thủ trong việc thay thế cho các nucleotide. Điều này tạo điều kiện cho sự so sánh những thay đổi ở phạm vi rộng trong phân loại thực vật. Một số chỉ thị cpDNA như microsatellite lục lập, một số vùng không mã hóa, một số phân đoạn của chuỗi đơn lớn (*trnC* - *trnD*, *trnD* - *trnT*, *psaA* - *trnS*, *petB* - *petD*, *trnH* - *psaA*, *trnD* - *trnT*) và một số vùng đệm giữa các gen (*trnL* - *trnF*) đã được sử dụng trong các nghiên cứu về đa dạng di truyền và phát sinh loài ở thực vật [1]. Vì vậy trong bài viết này, chúng tôi đề cập đến việc phân lập và đọc trình tự gen *ropC1* loài Sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn.) tại Thanh Hóa nhằm cung cấp dữ liệu thực vật học về loài được liệu quý này.

2. NỘI DUNG

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu Sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn.) được thu thập vào lúc 8h00' sáng, ngày 18/4/2017 tại Thanh Hóa.

Cặp mồi đặc hiệu *rpoC1*F/R và các hóa chất cần thiết trong nghiên cứu sinh học phân tử như: Kit GenJET PCR Purification của hãng Thermo Scientific; Kit BigDye® Terminator

v3.1 Cycle Sequencing Tris HCl, EDTA, phenol, ethanol (100%), agarose... thuộc các hãng: Merck, Sigma, Biolabs của các nước Mỹ, Anh, Đức.

Tên mồi		Trình tự mồi (5' - 3')
<i>RpoC1</i>	F	GTGGATACACTTCTTGATAATGG
	R	TGAGAAAACATAAGTAAACGGGC

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp tách chiết DNA tổng số

DNA tổng số được tách chiết từ lá non theo phương pháp của Shanghai Maroof và cộng sự (1984).

2.2.2. Phương pháp nhân gen *proC1* bằng kỹ thuật PCR

Theo phương pháp của Peter và cộng sự (2011) và bảng các cặp mồi DNA Barcoding [12]. Trong đó, đoạn gen *rpoC1* được khuếch đại bằng kỹ thuật PCR với cặp mồi đặc hiệu *rpoC1*-1f/*rpoC1*-3r với kích thước dự kiến là khoảng 600 nucleotide.

Phản ứng PCR được tiến hành với thành phần phản ứng được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Thành phần phản ứng PCR nhân gen *rpoC1*

STT	Thành phần	Nồng độ	Thể tích (μl)
1	PCR Master Mix	2X	12,5
2	Mồi xuôi	10pmol/μl	1
3	Mồi ngược	10pmol/μl	1
4	DNA khuôn	10ng/μl	1
5	Nước khử ion	-	9,5
Tổng thể tích			25

2.2.3. Phương pháp chạy điện di kiểm tra sản phẩm PCR

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng DNA trên gel agarose 0,8% được phát hiện bằng cách nhuộm với Ethidium Bromide (EtBr) và quan sát dưới tia UV.

Sau khi chạy điện di, lấy bản gel ra khỏi máy điện di, nhẹ nhàng lấy riêng phần gel agarose cho vào hộp chứa dung dịch Ethidium bromide. Nhuộm trong 10 phút. Lấy bản gel ra, rửa bằng cách ngâm trong nước 2 - 3 phút. Đem vào máy quan sát dưới đèn tử ngoại (UV) và chụp ảnh.

Phương pháp tinh sạch sản phẩm PCR

Sau khi nhân được gen *rpoC1* bước tiếp theo cần thu nhận gen ở dạng tinh sạch và không lẫn gel agarose. Quá trình tinh sạch được thực hiện theo Kit GenJET PCR Purification của hãng Thermo Scientific.

2.2.4. Phương pháp xác định trình tự nucleotide của đoạn gen *rpoC1*

Trình tự nucleotide của đoạn gen *rpoC1* được xác định bằng máy giải trình tự ABI PRISM® 3100 Avant Genetic Analyzer, sử dụng bộ Kit BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing với cặp mồi đặc hiệu. Trình tự gen được phân tích, so sánh và lập cây phát sinh chủng loại bằng các chương trình Bioedit, BLAST, DNASTAR. Thí nghiệm được thực hiện tại Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3. Kết quả và thảo luận

2.3.1. Kết quả tách chiết DNA

DNA được tách chiết theo phương pháp của Shanghai Maroof và cộng sự (1984), sau đó DNA được đo nồng độ và xác định độ sạch bằng máy đo NanoDrop (Thermo Scientific).

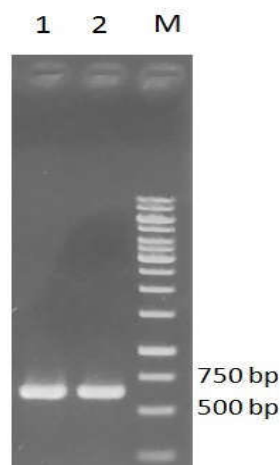
Bảng 2. Nồng độ và độ tinh sạch các mẫu

Tên mẫu	OD260/280	Nồng độ (ng/μl)
SCXL	2,00	938,4
SCBE	1,92	995,7

Qua bảng 2 có thể thấy rằng DNA được tách chiết với độ tinh sạch cao nằm trong khoảng từ 1,92 đến 2,00. Nồng độ DNA được tách chiết đạt từ 938,4 đến 995,7. DNA này sẽ được pha loãng đến nồng độ cuối cùng là 100ng/μl cho phản ứng PCR tiếp theo.

2.3.2. Kết quả nhân bản gen *rpoC1* các mẫu Sâm cau

Sau khi thực hiện PCR sản phẩm được tiến hành điện di kiểm tra trên gel agarose 0,8%. Kết quả PCR với các cặp mồi đặc hiệu được thể hiện trên hình 1.



Hình 1. Kết quả PCR 2 mẫu với cặp mồi *RpoC1*

M: Marker (1kb, Thermo);

*1: Sản phẩm PCR nhân bản bằng cặp mồi *rpoC1F/R* từ mẫu Sâm cau Xuân Liên;*

*2: Sản phẩm PCR nhân bản bằng cặp mồi *rpoC1F/R* từ mẫu Sâm cau Bến En*

Kết quả PCR từ 2 mẫu Sâm cau với cặp mồi *rpoC1* F/R thu được một băng duy nhất ở vị trí khoảng 600 bp, kết quả này phù hợp với tính toán lý thuyết và làm cơ sở cho việc đọc trình tự gen *rpoC1* phục vụ cho các nghiên cứu tiếp theo.

2.3.3. Kết quả đọc trình tự gen *rpoC1* từ 2 mẫu Sâm cau

Sản phẩm PCR sau khi được kiểm tra bằng phương pháp điện di, cho thấy sản phẩm thu được là đặc hiệu đúng kích thước so với tính toán lý thuyết, là cơ sở để chúng tôi tiến hành đọc trình tự gen *rpoC1* trên máy ABI PRISM® 3100 Avant Genetic Analyzer, sử dụng bộ Kit BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing với cặp mồi đặc hiệu, kết quả thu được như sau:

Trình tự gen *rpoC1* Bến En

```

1  AATCCGCGGA CAGCCAATGA GGGATGGTCA TAATAAAGTT TACAAGTCAT
51  TTTCAGATGT AATTGAAGGC AAAGAGGGAA GATTTCGCGA GACTCTGCTT
101 GGTAAACGGG TTGATTACTC GGGGCGCTCC GTCATTGTCTG TGGGTCCTTC
151 GCTTTCATTA CATCAATGTG GATTACCTCG AGAAATAGCA ATAGAACTTT
201 TCCAAACATT TGTAATTCGT GGTCTAATCA GACAACATCT TGCTTCTAAC
251 ATAGGTATTG CTAAAAGTAA AATTCGGGAA AAAGAACCGA TTGTATGGGA
301 AATACTTCAA GAAGTTATGC AGGGGCATCC TGTATTGTTG AATAGAGCAC
351 CCACCTTGCA TAGATTAGGC ATACAGGCGT TCCAACCCAT TTTAGTGGAG
401 GGGCGTGCCA TTTGTTTACA CCCATTAGTT TGTAAGGGCT TCAATGCAGA
451 CTTTGATGGG GATCAAATGG CCGTTCATGT ACCTTTATCT TTGGAAGCTC
501 AAGCGGAAGC TCGTTTACTT ATGTTTTCTC ATATGAATCT CCTGTCTCCA
551 ACTATTGGGG ATCCCATTTT

```

Trình tự gen *rpoC1* Xuân Liên

```

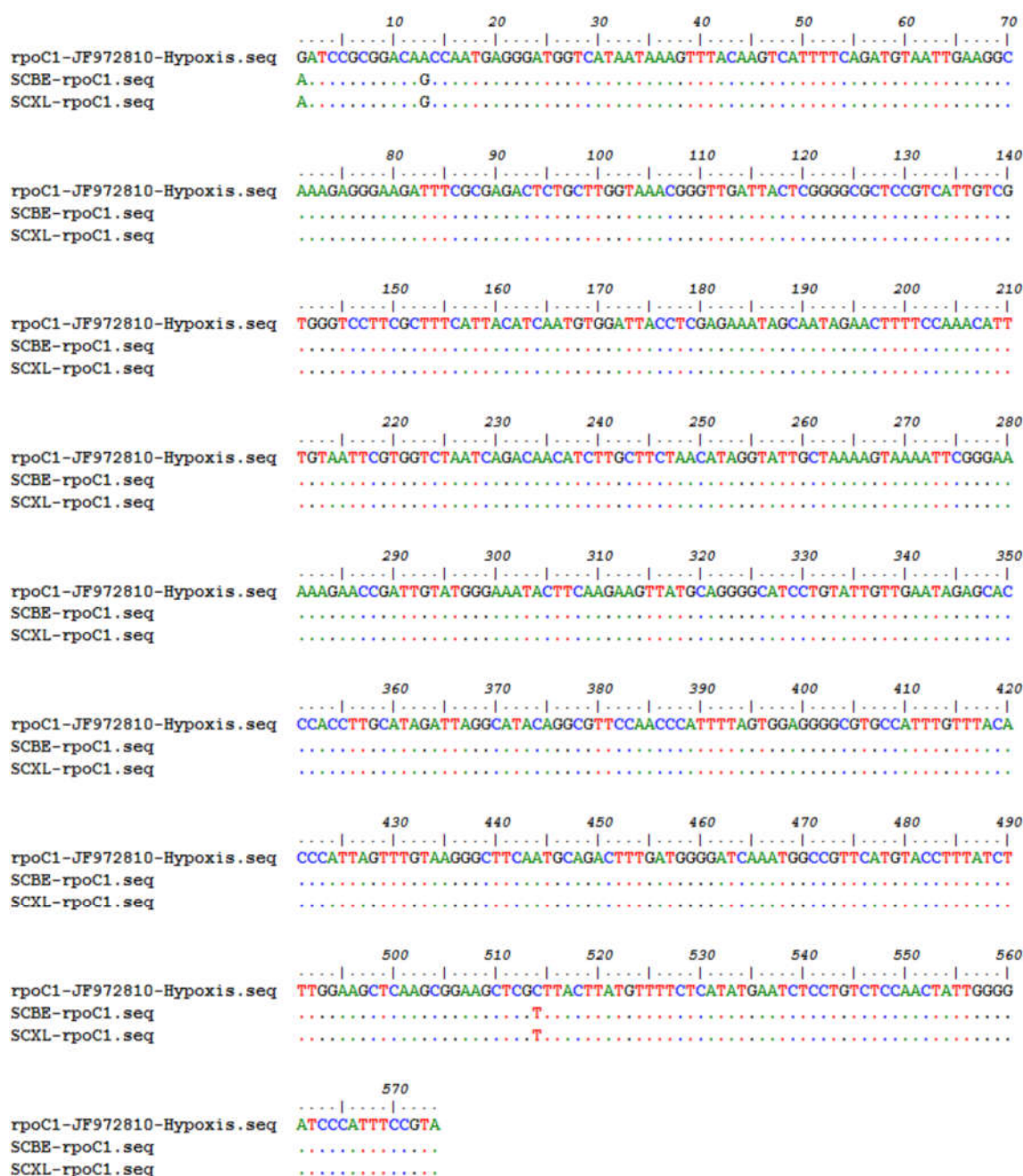
1  AATCCGCGGA CAGCCAATGA GGGATGGTCA TAATAAAGTT TACAAGTCAT
51  TTTCAGATGT AATTGAAGGC AAAGAGGGAA GATTTCGCGA GACTCTGCTT
101 GGTAAACGGG TTGATTACTC GGGGCGCTCC GTCATTGTCTG TGGGTCCTTC
151 GCTTTCATTA CATCAATGTG GATTACCTCG AGAAATAGCA ATAGAACTTT
201 TCCAAACATT TGTAATTCGT GGTCTAATCA GACAACATCT TGCTTCTAAC
251 ATAGGTATTG CTAAAAGTAA AATTCGGGAA AAAGAACCGA TTGTATGGGA
301 AATACTTCAA GAAGTTATGC AGGGGCATCC TGTATTGTTG AATAGAGCAC
351 CCACCTTGCA TAGATTAGGC ATACAGGCGT TCCAACCCAT TTTAGTGGAG
401 GGGCGTGCCA TTTGTTTACA CCCATTAGTT TGTAAGGGCT TCAATGCAGA
451 CTTTGATGGG GATCAAATGG CCGTTCATGT ACCTTTATCT TTGGAAGCTC
501 AAGCGGAAGC TCGTTTACTT ATGTTTTCTC ATATGAATCT CCTGTCTCCA
551 ACTATTGGGG ATCCCATTTT

```

Với 2 mẫu thu được từ kết quả phân lập, chúng tôi nhận được trình tự nucleotide của 2 mẫu đều bằng nhau và bằng 570 nucleotide, để khẳng định trình tự này là gen *rpoC1*, chúng tôi tiến hành so sánh với trình tự gen *rpoC1* đã công bố trên Ngân hàng gen quốc tế mã số JF972810 để làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo.

2.3.4. Kết quả phân tích trình tự gen *rpoC1* thu được với trình tự gen *rpoC1* mang mã số JF972810 đã công bố trên Ngân hàng gen quốc tế

Để so sánh các trình tự gen *rpoC1* chúng tôi thu được với trình tự gen *ropC1* thuộc loài *Curculigo orchoides* Gaertn đã công bố trên Ngân hàng gen quốc tế mang mã số JF972810 bằng phần mềm Blast. Kết quả được thể hiện trên hình 2.



Hình 2. Kết quả so sánh trình tự gen *rpoC1* thu được với trình tự gen *rpoC1* đã công bố trên Ngân hàng gen quốc tế mã số JF972810

Kết quả trên hình 2, cho thấy: Các mẫu Sâm cau thu được tại Bến En và Xuân Liên có trình tự nucleotide của gen *rpoC1* khác nhau với tỉ lệ rất ít (bảng 2), điều này một lần nữa khẳng định các mẫu Sâm cau thu được tại Vườn Quốc gia Bến En và Khu bảo tồn thiên nhiên Xuân Liên là cùng một loài. Tuy nhiên, một số vị trí trên các trình tự gen *rpoC1* chúng tôi thu được có sự sai khác so với trình tự gen *rpoC1* mang mã số JF972810 đã được công bố trên Ngân hàng gen quốc tế. Sự sai khác này được cụ thể hóa bởi bảng 3.

Bảng 3. Sự sai khác của các trình tự gen *rpoC1* thu được và trình gen *rpoC1* đã công bố trên Ngân hàng gen quốc tế mã số JF972810

TT	Vị trí	JF972810	BE	XL
1	1	G	A	A
2	13	A	G	G
3	514	C	T	T

Kết quả bảng 3 cho thấy, có 3 vị trí khác nhau giữa trình tự gen *rpoC1* chúng tôi thu được so với trình tự gen *rpoC1* mang mã số JF972810 đã công bố trên Ngân hàng gen quốc tế. Điều này cho thấy sự sai khác trong trình tự nucleotide của gen *rpoC1* là tương đối nhỏ giữa các mẫu chúng tôi thu được so với trình tự gen *rpoC1* đã công bố trên Ngân hàng gen quốc tế mã số JF972810 (Trung Quốc). Tuy nhiên, hai trình tự *rpoC1* chúng tôi thu được từ 2 mẫu Sâm cau tại Xuân Liên và Bến En Thanh Hóa có độ tương đồng là 100%. Điều này cho thấy, trình tự nucleotide bảo thủ của gen *rpoC1* là rất cao đối với các cá thể cùng loài tại những vùng địa lý tương tự nhau về điều kiện tự nhiên, thổ nhưỡng, tiểu khí hậu.

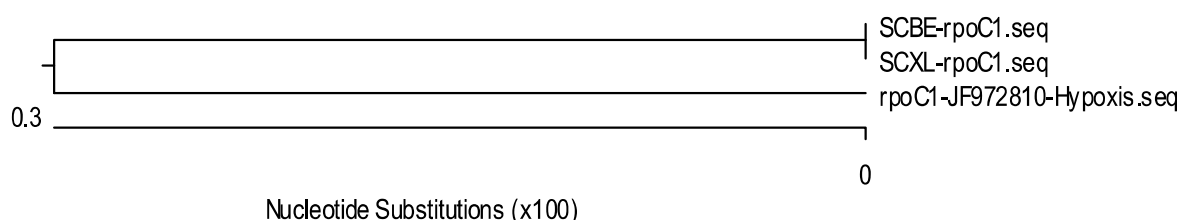
Để phân tích mối quan hệ di truyền của gen *rpoC1* tại các mẫu thu được và so với trình tự gen *rpoC1* đã công bố trên Ngân hàng gen quốc tế, chúng tôi tiếp tục sử dụng phần mềm BioEdit để phân tích, kết quả được thể hiện trên bảng 4 và hình 3.

Bảng 4. Kết quả so sánh giữa các trình tự gen *rpoC1* phân lập được với trình tự gen *rpoC1* đã công bố trên Ngân hàng gen quốc tế

Percent Identity					
Divergence		1	2	3	
	1		99.5	99.5	1
	2	0.5		100.0	2
	3	0.5	0.0		3
		1	2	3	

rpoC1-JF972810-Hypoxis.seq
 SCBE-rpoC1.seq
 SCXL-rpoC1.seq

Kết quả phân tích bảng 4 cho thấy, sự tương đồng của các trình tự gen *rpoC1* chúng tôi thu được là 100% và có sự sai khác 0,5 % so với trình tự gen *rpoC1* loài *Hypoxis aurea* thuộc họ Hypoxidaceae.



Hình 3. Sơ đồ cây dựa trên trình tự nucleotide của gen *rpoC1* của các mẫu thu được với trình tự gen *rpoC1* *Hypoxis aurea* - thuộc họ Hypoxidaceae mã số JF972180

Kết quả trên hình 3 cho thấy, các mẫu Sâm cau thu được tại Vườn Quốc gia Bến En và Khu bảo tồn thiên nhiên Xuân Liên là cùng loài và có quan hệ khác chi, cùng họ với loài *Hypoxis aurea* thuộc họ Hypoxidaceae.

3. KẾT LUẬN

Chúng tôi đã thành công trong việc phân lập và đọc trình tự gen *rpoC1* của loài Sâm cau tại Thanh Hóa, kích thước gen *rpoC1* chúng tôi thu được là 574 nucleotid và có sự tương đồng 99,5% so với trình tự gen *rpoC1* đã công bố trên Ngân hàng gen quốc tế mã số JF972180;

Trình tự gen *rpoC1* của các mẫu Sâm cau thu được tại Khu Bảo tồn thiên nhiên Xuân Liên và Vườn Quốc gia Bến En Thanh Hóa có độ tương đồng là 100%, điều này cho thấy các mẫu Sâm cau chúng tôi thu được là cùng loài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Aron J. F., Kevin S. B., Prasad R. K., Sean W. G., Steven G. N., Brian C. H., Diana M. P., Mehrdad Hajibabaei, Spencer C. H. B. (2008), *Multiple multilocus DNA barcodes from the plastid genome discriminate plant species equally well*, PLoS ONE, 3(7), pp. 2802.
- [2] Borsch T., Hilu K.W., Quandt D., Wilde V., Neinhuis C., Barthlott W. (2003), *Noncoding plastid trnT-trnF sequences reveal a well resolved phylogeny of basal angiosperms*, J. Evol. Biol, (6), pp. 558-576.
- [3] Chase M. W., Nicolas S., Mike W., James M. D., Rao P. K., Nadia H., and Vincent S. (2005), *Land plants and DNA barcodes: short-term and long-term goals*, Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 360 (1462), pp. 1889-1895.
- [4] German Serino and Pal Maliga (1998), *RNA Polymerase Subunits Encoded by the Plastid rpo Genes Are Not Shared with the Nucleus- Encoded Plastid Enzyme*, PlantPhysiol. Aug, 117(4): 1165-1170.
- [5] Jiao L, Cao DP, Qin LP, Han T, Zhang QY, Zhu Z, Yan F. (2009), *Antiosteoporotic activity of phenolic compounds from Curculigo orchoides*. Sep-16(9):874-81.

- [6] Kim S, Kim J, Liu J. (2009), *Genetic discrimination of Catharanthus roseus cultivars by pyrolysis mass spectrometry*, J Plant Biol 52: 462465. doi: 10.1007/s12374-009-9059-1.
- [7] Kress W. J., Erickson D. L. (2008), *DNA barcodes: Genes, genomics, and bioinformatics*, Proc Natl Acad Sci U S A, 105(8), pp. 2761-2762.
- [8] Ole S. and Gitte P. (2009), *How many loci does it take to DNA barcode a crocus?*, PLoS ONE, 4(2), pp. 4598.
- [9] Taberlet P., Eric C., François P., Ludovic G., Christian M., Alice V., Thierry V., Gérard C., Christian B., and Eske W. (2007), *Power and limitations of the chloroplast trnL (UAA) intron for plant DNA barcoding*, Nucleic Acids Res, 35(3), pp14.
- [10] Zhang JG, Liu Q, Liu ZL, Li L, Yi LT. (2015), *Antihyperglycemic activity of Anoectochilus roxburghii polysaccharose in diabetic mice induced by high-fat diet and streptozotocin*, J Ethnopharmacol. 22;164. pp,180-185.
- [11] Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao. (2010), *Curculigo orchoides: the black gold with numerous health benefits*. Jul;8(7):613-23.
- [12] M.A.Saghai-Marooof, K.M.Soliman, R.A.Jorgensen, and R.W.Allard (1984), *Ribosomal DNA spacer-length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics*, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, December, 81(24):8014-8018

DISTRIBUTION AND GENERATION OF GENETIC TYPES OF THE *CURCULIGO ORCHIOIDES* GAERTN. IN THANH HOA

Le Dinh Chac, Nguyen Hoang Yen

ABSTRACT

The term “DNA barcode” is applied extensively in molecular taxonomy research. Basically, this technique is based on the use of a DNA sequence of about 400-800 bp as a standard for quickly and accurately recognizing and identifying species. Thus, DNA barcoding techniques not only help taxonomists in classifying and identifying species, but also improve their capacity to control, understand and utilize biodiversity. Therefore, in this article, we refer to the results of isolation and sequencing of rpoC1 genes of the Curculigo orchoides Gaertn., in Thanh Hoa province. We isolated two rpoC1 gene samples in Ben En National Park and Xuan Lien Nature Reserve, Thanh Hoa. The rpoC1 gene size we obtained was 570 nucleotides and was 99.5% similar to the published rpoC1 gene sequence compared to found gene bank code JF972810.

Keywords: *RpoC1, DNA barcoding, gen RpoC1, gene, chloroplast gene.*