

CHUYÊN SAN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP – LÂM NGHIỆP – Y DƯỢC

Mục lục	Trang
Trương Quốc Tất, Nguyễn Duy Khánh - Hiệu lực phòng trừ sinh học trên sâu tơ (<i>Plutella xylostella</i> L.) hại cải xanh (<i>Brassica juncea</i> L.) của dịch cao chiết thô từ cây sài đất (<i>Wedelia calendulacea</i> L.) ở điều kiện in-vitro	3
Hoàng Thị Huế, Nguyễn Thị Thu Huyền, Nguyễn Thị Phương, Đỗ Thái Sơn - Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và kết quả điều trị viêm phổi sau nhiễm Covid – 19 ở trẻ em tại trung tâm nhi khoa Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên	11
Nguyễn Thị Hải Yến, Nguyễn Thị Quỳnh Hoa, Trương Viết Trường, Nguyễn Thị Hồng Nhung, Nguyễn Thị Phương Lan, Trương Nguyễn Quỳnh Giao - Thực trạng sử dụng nguồn nước giếng khoan của người dân tại xã Ngọc Thiện, huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang và một số yếu tố nguy cơ gây ô nhiễm nguồn nước	19
Hoàng Thị Lệ Thương, Phạm Thị Lan - Ảnh hưởng của các yếu tố dinh dưỡng và môi trường đến nhân giống <i>Nomuraea rileyi</i>	27
Đái Thị Xuân Trang, Lê Minh Tâm, Phạm Vĩnh Trinh, Trần Chí Linh - Khảo sát hoạt tính sinh học in vitro của lá cây xạ đen (<i>Celastrus hindsii</i>) trồng tại tỉnh Hòa Bình và Tây Ninh	33
Đoàn Thị Ái Nghĩa, Đoàn Quốc Tuấn, Nguyễn Khánh Thùy Linh, Nguyễn Đình Quỳnh Phú, Nguyễn Thị Ngọc Kiều - Thay đổi thành phần hóa học và hoạt tính chống oxy hóa của vị thuốc đương quy trích rượu	41
Võ Thị Hải Đường, Nguyễn Minh Thái - Nghiên cứu mô hình tạo màng sinh học (biofilm) của <i>Pseudomonas aeruginosa</i> và ứng dụng đánh giá hoạt tính kháng biofilm của kháng sinh	49
La Thúy An, Phạm Hồng Hương, Lưu Minh Châu, Lê Quốc Việt, Nguyễn Ngọc Thanh, Huỳnh Xuân Phong, Trần Thị Giang - Ảnh hưởng của pH ban đầu và tỉ lệ chế phẩm sinh học <i>Trichoderma</i> lên quá trình ủ phân hữu cơ từ phụ phẩm vỏ cam sành (<i>Citrus nobilis</i>)	57
Phạm Thanh Loan - Ảnh hưởng của phân đạm đến sinh trưởng, năng suất và chất lượng cây kế sữa (<i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn) trồng tại Phú Thọ	65
Hồng Mộng Huyền, Võ Tấn Huy, Trần Thị Tuyết Hoa - Tác động của cao chiết thầu dầu (<i>Ricinus communis</i> L.) đến sự sống, tăng trưởng của tôm thẻ chân trắng (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	73
Nguyễn Ngọc Hân, Phan Tấn Tài, Võ Thị Hoàng Oanh, Nguyễn Nhật Minh Phương, Đỗ Thị Tuyết Nhung, Trần Chí Nhân - Các yếu tố ảnh hưởng của quá trình ngâm và nhào đến hàm lượng anthocyanin và đặc tính cấu trúc bún tươi bổ sung gạo huyết rồng	82
Sonphet Siliyavong, Hoàng Văn Ngọc, Ninh Thị Hòa, Nguyễn Quốc Huy, Từ Quang Trung, Vũ Trọng Lượng, Từ Quang Tân, Tạ Thị Ngọc Hà - Thành phần loài lưỡng cư ở khu bảo tồn thiên nhiên Chí Sơn, huyện Mèo Vạc tỉnh Hà Giang	90
Trần Văn Dũng, Nguyễn Hữu Khang, Trần Thị Lê Trang, Hứa Thái Nhân, Phạm Quốc Hùng - Ảnh hưởng của màu sắc bề nuôi lên tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo (<i>Amphiprion ocellaris</i> Cuvier, 1830)	95
Nguyễn Thị Thu Hương - Tổng quan về các phương pháp phân lập, định danh vi khuẩn gây bệnh đường ruột mới nổi <i>Escherichia albertii</i>	104
Nguyễn Văn Bắc, Nguyễn Thị Xuân Hương, Cấn Bá Quát, Dương Quốc Trường, Bế Hà Thành, Long Thị Tường Vy, Hà Phương Trang, Nguyễn Bích Hoàng - Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng trẻ sơ sinh có mẹ mắc Covid-19 tại Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên	111
Nguyễn Văn Hồng, Trần Đình Hà, Nguyễn Thương Tuấn, Nguyễn Hữu Thọ - Nghiên cứu chiết xuất polysaccharid và alkaloid từ lan thạch học tia được nuôi trồng trong nhà lưới	117
Trần Nhật Thắng, Nguyễn Thị Kim Lan, Phạm Diệu Thùy, Dương Thị Hồng Duyên - Tình hình nhiễm sán lá tuyến tụy trên đàn trâu, bò của tỉnh Tuyên Quang và thử nghiệm thuốc tẩy	125

THE NEW DISTRIBUTION OF ONE OF THE RAREST AND ENDEMIC REPTILE SPECIES, (*Goniurosaurus huuliensis* ORLOV, RYABOV, NGUYEN, NGUYEN & HO, 2008), FROM LANG SON PROVINCE, VIETNAM

Sung Ba Nanh¹, Pham Van Anh^{2*}, Sonephet Siliyavong^{3,4}, Hoang Doan Phu⁵, Hoang Van Ngoc^{3*}

¹Tay Bac University, ²VNU - University of Science

³TNU - University of Education, ⁴Pakse Teacher Training College – Laos, ⁵Huu Lien Nature Reserve

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 11/7/2023	Based on two field surveys in Bac Son and Huu Lung districts, Lang Son Province, Vietnam from 2020 to 2023, this study recorded a new distribution area of <i>Goniurosaurus huuliensis</i> Orlov, Ryabov, Nguyen, Nguyen & Ho. This species is listed in the International Union for Conservation of Nature (IUCN) Red List as Critically Endangered and in Appendix II of the Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES) and an endemic in Vietnam. Two newly recorded populations include Huyen Village, Tran Yen Commune, Bac Son District and Lan Chau Village, Huu Lien Commune, Huu Lung District. The research results also provide some additional data on morphological identification, ecological characteristics and threats of this species.
Revised: 15/8/2023	
Published: 18/8/2023	
KEYWORDS	
New record	
Reptile	
Huulien Tiger gecko	
Lang Son	
Vietnam	

GHI NHẬN VÙNG PHÂN BỐ MỚI CỦA LOÀI THẠCH SÙNG MÍ (*Goniurosaurus huuliensis* ORLOV, RYABOV, NGUYEN, NGUYEN & HO, 2008) CỰC KỲ NGUY CẤP, ĐẶC HỮU Ở TỈNH LẠNG SƠN

Sùng Bả Nanh¹, Phạm Văn Anh^{2*}, Sonephet Siliyavong^{3,4}, Hoàng Doãn Phú⁵, Hoàng Văn Ngọc^{3*}

¹Trường Đại học Tây Bắc, ²Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - ĐHQG Hà Nội

³Trường Đại học Sư phạm - ĐHTN, ⁴Trường Cao đẳng Sư phạm Pakse - Cộng hòa Dân chủ Nhân dân Lào

⁵Khu bảo tồn Thiên nhiên Hữu Liên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 11/7/2023	Dựa vào hai đợt khảo sát thực địa tại hai huyện Bắc Sơn và Hữu Lũng, tỉnh Lạng Sơn trong các năm 2020 và 2023, nghiên cứu này đã ghi nhận vùng phân bố mới loài Thạch sùng mí hữu liên <i>Goniurosaurus huuliensis</i> Orlov, Ryabov, Nguyen, Nguyen & Ho. Loài này được liệt kê trong Danh sách đỏ của Liên minh bảo tồn Thiên nhiên Quốc tế (IUCN) và trong Phụ lục II của Công ước quốc tế về buôn bán các loại động, thực vật hoang dã nguy cấp (CITES) và là loài đặc hữu của Việt Nam. Hai quần thể ghi nhận mới gồm làng Huyên, xã Trấn Yên, huyện Bắc Sơn và thôn Lân Châu, xã Hữu Liên, huyện Hữu Lũng. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu còn cung cấp bổ sung một số dữ liệu về hình thái nhận dạng, đặc điểm sinh thái học và hiện trạng môi trường sống của loài này.
Ngày hoàn thiện: 15/8/2023	
Ngày đăng: 18/8/2023	
TỪ KHÓA	
Ghi nhận mới	
Bò sát	
Thạch sùng mí hữu liên	
Lạng Sơn	
Việt Nam	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.8310>

* Corresponding author. Email: ngochv@tnue.edu.vn; phaman@hus.edu.vn

<http://jst.tnu.edu.vn>

238

Email: jst@tnu.edu.vn

SPECIES COMPOSITION OF AMPHIBIANS IN CHI SAN NATURE RESERVE, MEO VAC DISTRICT, HA GIANG PROVINCE

Sonephet Siliyavong^{1,2}, Hoang Van Ngoc^{1*}, Ninh Thi Hoa³, Nguyen Quoc Huy⁴, Tu Quang Trung¹, Vu Trong Luong¹, Tu Quang Tan¹, Ta Thi Ngoc Ha¹

¹TNU - University of Education, ²Pakse Teacher Training College, Laos

³Institute of Genome Research – VAST, ⁴Vietnam National Museum of Nature - VAST

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 06/7/2023	Chi San Nature Reserve, Meo Vac district, Ha Giang province was established in 2015, located in latitude 23°07' – 22°08' North latitude, longitude 105°24' – 105°25' East longitude, with rugged terrain and a forest ecosystem that has not been affected much by human impact. This study aims to detect the amphibian species presented here by constructing routes and surveying samples through the habitats of the study area; through the tracking of trails and streams, together with taxonomic documents to determine the amphibian species composition. The results showed that there are 23 species of amphibians belonging to 18 genera, 7 families. There are two species listed in Vietnam's Red Data Book (2007): <i>Ingerophrynus galeatus</i> and <i>Theloderma corticale</i> . Two species on the IUCN Red List 2023: <i>Quasipaa boulengeri</i> and <i>Zhangixalus duboisi</i> . In this study, 1 species of <i>Zhangixalus pachyproctus</i> reported for the first time from Ha Giang province. This is a new record of amphibian species composition for Chi San Nature Reserve, Meo Vac district, Ha Giang province.
Revised: 17/7/2023	
Published: 17/7/2023	
KEYWORDS	
New record	
Amphibians	
Species composition	
Chi San Nature Reserve	
Ha Giang	

THÀNH PHẦN LOÀI LƯỖNG CƯ Ở KHU BẢO TỒN THIÊN NHIÊN CHÍ SÁN, HUYỆN MÈO VẠC TỈNH HÀ GIANG

Sonephet Siliyavong^{1,2}, Hoàng Văn Ngọc^{1*}, Ninh Thị Hòa³, Nguyễn Quốc Huy⁴, Từ Quang Trung¹, Vũ Trọng Lương¹, Từ Quang Tân¹, Tạ Thị Ngọc Hà¹

¹Trường Đại học Sư phạm – ĐH Thái Nguyên

²Trường Cao đẳng Sư phạm Paksê, Cộng hòa Dân chủ Nhân dân Lào

³Viện Nghiên cứu Hệ gen - Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

⁴Bảo tàng thiên nhiên Việt Nam - Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 06/7/2023	Khu bảo tồn thiên nhiên Chí Sán, huyện Mèo Vạc tỉnh Hà Giang được thành lập năm 2015 nằm trong vĩ độ 23°07' – 22°08' vĩ Bắc, kinh độ 105°24' – 105°25' kinh Đông, có địa hình hiểm trở, hệ sinh thái rừng chưa bị ảnh hưởng nhiều bởi sự tác động của con người. Nghiên cứu này nhằm phát hiện thành phần loài lưỡng cư hiện có ở nơi đây. Bằng cách xây dựng các tuyến và khảo sát thu mẫu qua các sinh cảnh của vùng nghiên cứu, qua đường mòn, suối và sử dụng các tài liệu phân loại để xác định thành phần loài lưỡng cư. Kết quả cho thấy có 23 loài lưỡng cư thuộc 18 giống, 7 họ. Có 2 loài trong Sách Đỏ Việt Nam (2007): <i>Ingerophrynus galeatus</i> và <i>Theloderma corticale</i> . Có 2 loài trong danh lục đỏ IUCN (2023): <i>Quasipaa boulengeri</i> và <i>Zhangixalus dubois</i> . Trong nghiên cứu này ghi nhận bổ sung 1 loài <i>Zhangixalus pachyproctus</i> cho khu ếch nhái của tỉnh Hà Giang. Đây là ghi nhận mới về thành phần loài lưỡng cư cho khu bảo tồn Chí Sán, huyện Mèo Vạc, tỉnh Hà Giang.
Ngày hoàn thiện: 17/7/2023	
Ngày đăng: 17/7/2023	
TỪ KHÓA	
Ghi nhận mới	
Lưỡng cư	
Thành phần loài	
Khu bảo tồn thiên nhiên Chí Sán	
Hà Giang	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.8288>

* Corresponding author. Email: ngochv@tnue.edu.vn

Mục lục	Trang
Dương Văn Đoàn, Nguyễn Thế Trọng, Nguyễn Bá Đoàn - Nghiên cứu biến động chiều rộng vòng năm và khối lượng riêng gỗ tếch (<i>Tectona grandis</i> Linn) trồng tại huyện Yên Châu, tỉnh Sơn La	132
Hoàng Thị Yến Dung, Vũ Hoài Nam, Nguyễn Thanh Hằng, Phạm Lệ Giang, Dương Văn Cường - Tối ưu điều kiện lên men và thu hồi sản phẩm từ chủng nấm vân chi bản địa (<i>Trametes versicolor</i>) phân lập tại miền núi phía Bắc Việt Nam	139
Hoàng Đăng Hiếu, Nguyễn Thành Đạt, Nguyễn Thị Quỳnh Mai, Nguyễn Minh Nam - Dự đoán nguy cơ di căn vào phổi ở bệnh nhân ung thư vú dựa vào biểu hiện của CFAP410	148
Vũ Văn Sáng - Nghiên cứu tỷ lệ đực cái phù hợp cho thụ tinh nhân tạo hàu Bồ Đào Nha (<i>Crassostrea angulata</i>) trong các trại sản xuất giống ở Việt Nam	157
Đỗ Tất Thịnh, Lê Xuân Sơn, Trần Thị Nhân, Nguyễn Thị Kim Oanh, Nguyễn Văn Hiếu - Tuyển chọn và xác định đặc điểm sinh học của một số chủng vi khuẩn có khả năng sinh Indole-3-acetic acid (IAA)	162
Vũ Văn Sáng, Kim Minh Anh, Lê Văn Nhân, Diệp Thị Thu Thủy - Nghiên cứu mật độ thích hợp cho ương ấu trùng hàu Bồ Đào Nha (<i>Crassostrea angulata</i>) từ giai đoạn chữ D đến chân bò	170
Trần Thành Thái, Ngô Xuân Quảng, Hà Hoàng Hiếu, Nguyễn Thị Mỹ Yến, Trần Thị Hoàng Yến, Nguyễn Xuân Đông, Phạm Thanh Lưu - Dẫn liệu bước đầu về phân bố của tôm sắt cứng <i>Parapenaeopsis hardwickii</i> Miers, 1878 (Crustacea, Penaeidae) ở các cửa sông Mê Kông	175
Đỗ Trọng Đăng, Đặng Phước Hải - Ghi nhận mới và cập nhật danh sách thành phần loài bò sát (Reptilia) tại tỉnh Gia Lai	184
Lê Thị Tuyết, Nguyễn Thị Trung Thu - Mối liên quan giữa đa hình nucleotide đơn rs9939609 gene FTO với cân nặng và chiều cao của trẻ mầm non Hà Nội	193
Nguyễn Đức Hùng, Từ Quang Tân, Nguyễn Thị Thu Nga, Chu Hoàng Mậu - Nghiên cứu phân lập saponin steroid từ rễ loài huyết dụ (<i>Cordyline fruticosa</i> (L.) A. Chev)	199
Huỳnh Thị Như Quỳnh, Trần Lưu Phúc, Hà Hoàng Anh Vinh, Hoàng Thị Thu Huyền, Lê Trung Khoáng, Huỳnh Văn Chung - Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng α -mangostin trong vỏ quả măng cụt bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao	207
Đỗ Thị Chinh, Khổng Thị Ngọc Mai - Một số yếu tố liên quan đến tình trạng giảm albumin máu ở trẻ đẻ non tại Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên	215
Lê Huy Hoàng, Lê Thúy Anh, Nghiêm Ngọc Hoa, Phạm Kiên Cường - Chiết xuất và khảo sát thành phần hóa học, hoạt tính sinh học của các cao chiết từ quả măng tang [<i>Litsea cubeba</i> (Lour.) Pers]	222
Vũ Văn Sáng, Lê Minh Toán - Chọn giống nâng cao tốc độ sinh trưởng cá rô phi vằn (<i>Oreochromis niloticus</i>) thể hệ thứ năm nuôi trong điều kiện nước lợ	232
Sùng Bá Nênh, Phạm Văn Anh, Sonphet Sillyavong, Hoàng Doãn Phú, Hoàng Văn Ngọc - Ghi nhận vùng phân bố mới của loài thằn lằn sùng mĩ (<i>Goniurosaurus huuliensis</i> Orlov, Ryabov, Nguyen, Nguyen & Ho, 2008) cực kỳ nguy cấp, đặc hữu ở tỉnh Lạng Sơn	238
Hoàng Thị Bình, Nguyễn Văn Phúc, Nguyễn Văn Ngọc - Thành phần hoá học và hoạt tính kháng vi sinh vật của tinh dầu lá loài bạch châu Đà Lạt (<i>Gaultheria sleumeri</i> Smitinand & P.H.Hồ)	244
Nguyễn Bảo Lộc, Trần Chí Nhân, Nguyễn Nhật Minh Phương - Khảo sát sự thay đổi các hợp chất sinh học trong quá trình lên men cider nước ép xoài cát chu (<i>Mangifera indica</i> L.)	251
Nguyễn Thị Minh Thiện, Nguyễn Ngọc Dũng - Giảm ba dòng tế bào máu ngoại vi và một số nguyên nhân thường gặp ở Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên năm 2022-2023	258
Trần Kim Trung, Võ Đức Quang, Trần Thanh Quý, Lê Thùy Diệu, Lê Anh Duy, Phạm Văn Hậu - Một số yếu tố liên quan đến kiến thức, thái độ, thực hành phòng chống HIV/AIDS của học sinh trung học phổ thông huyện Châu Thành, tỉnh Sóc Trăng: Một nghiên cứu định tính	266
Phạm Hồng Nhật, Vũ Thị Huyền, Trương Thị Mỹ Hạnh, Nguyễn Thị Hạnh, Ngô Phú Thỏa, Phạm Anh Tuấn, Phan Thị Vân - Nghiên cứu độc lực của vi khuẩn <i>Streptococcus agalactiae</i> 015-RIA1 trên cá rô phi vằn chọn giống sinh trưởng nhanh thể hệ G2	274
Nguyễn Thị Phương, Hoàng Thị Tuyết, Vi Thị Tuyền, Phùng Thị Hoài Thu, Nguyễn Hữu Thiện, Lê Thị Phương, Nguyễn Thị Hạnh - Định lượng hoạt chất Pseudoprotodioscin trong dược liệu thiên môn đông bằng phương pháp HPLC-UV	282

NEW RECORDS OF *Microhyla ninhthuanensis* (Hoang, Nguyen, Ninh, Luong, Pham, Nguyen, Orlov, Chen, Wang, Ziegler, and Jiang, 2021) FROM TAY NINH PROVINCE, VIETNAM

Nguyen Thi Thanh Huong¹, Le Thi Thu Hang², Tran Thi Hai Yen², Nguyen Thi Kim Ngan²,
Hoang Khanh Hoa², Hoang Van Ngoc^{3*}, Pham Van Anh²

¹Hung Vuong University, ²VNU - University of Natural Science,

³TNU - University of Education

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 14/3/2024	Based on recent field work in April 2022 at Ba Den Mountain Cultural and Historical Complex, Tay Ninh province, south Vietnam, we report a new provincial records of the family Microhylidae from Tay Ninh province, namely Ninh Thuan narrow-mouth frog <i>Microhyla ninhthuanensis</i> (Hoang, Nguyen, Ninh, Luong, Pham, Nguyen, Orlov, Chen, Wang, Ziegler, and Jiang, 2021). Specimens were collected by hand and kept in cloth bags. Then put on the label and fix it in 85% alcohol for 5 hours, then switch to soaking and preserving in 70% alcohol. Morphology of <i>Microhyla ninhthuanensis</i> is also reported based on analysis of two male and two female specimens from Ba Den Mountain Cultural and Historical Complex. The body is generally light pink, however each part of the body has a distinct color. Eyes have 2 colors. Male body size is smaller than female.
Revised: 18/7/2024	
Published: 19/7/2024	
KEYWORDS	
Anura	
<i>Microhyla ninhthuanensis</i>	
New record	
Tay Ninh	
Viet Nam	

GHI NHẬN VÙNG PHÂN BỐ MỚI CỦA LOÀI NHÁI BẦU NINH THUẬN *Microhyla ninhthuanensis* (Hoang, Nguyen, Ninh, Luong, Pham, Nguyen, Orlov, Chen, Wang, Ziegler, and Jiang, 2021) Ở TỈNH TÂY NINH

Nguyễn Thị Thanh Hương¹, Lê Thị Thu Hằng², Trần Thị Hải Yến², Nguyễn Thị Kim Ngân²,
Hoàng Khánh Hoà², Hoàng Văn Ngọc^{3*}, Phạm Văn Anh²

¹Trường Đại học Hùng Vương, ²Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – ĐH Quốc gia Hà Nội

³Trường Đại học Sư phạm – ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 14/3/2024	Dựa trên kết quả khảo sát thực địa thu thập mẫu lưỡng cư trong tháng 4 năm 2022 tại Khu du lịch Quốc gia núi Bà Đen, tỉnh Tây Ninh, chúng tôi đã ghi nhận vùng phân bố mới của loài Nhái bầu ninh thuận <i>Microhyla ninhthuanensis</i> (Hoang, Nguyen, Ninh, Luong, Pham, Nguyen, Orlov, Chen, Wang, Ziegler, and Jiang, 2021). Mẫu vật được thu bằng tay và đựng trong túi vải. Mẫu được đeo nhãn và định hình trong cồn 85% trong vòng 5 tiếng, sau đó chuyển sang ngâm bảo quản trong cồn 70%. Hình thái của <i>Microhyla ninhthuanensis</i> cũng được báo cáo dựa trên phân tích hai mẫu cá thể đực và hai mẫu cá thể cái được thu tại khu du lịch Quốc gia Núi Bà Đen. Cơ thể nhìn chung có màu hồng nhạt, tuy nhiên từng phần của cơ thể có màu riêng biệt. Mắt có 2 màu. Con đực có các chỉ tiêu hình thái nhỏ hơn con cái.
Ngày hoàn thiện: 18/7/2024	
Ngày đăng: 19/7/2024	
TỪ KHÓA	
Anura	
<i>Microhyla ninhthuanensis</i>	
Ghi nhận mới	
Tây Ninh	
Việt Nam	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.9891>

* Corresponding author. Email: ngochv@ynue.edu.vn

1. Giới thiệu

Tây Ninh là một tỉnh thuộc vùng Đông Nam Bộ, Việt Nam, tỉnh này nổi cao nguyên Nam Trung Bộ với đồng bằng sông Cửu Long, vừa mang đặc điểm của một cao nguyên, vừa có những nét đặc trưng của vùng đồng bằng. Tọa độ của tỉnh từ $10^{\circ}57'08''$ đến $11^{\circ}46'36''$ vĩ độ Bắc và từ $105^{\circ}48'43''$ đến $106^{\circ}22'48''$ kinh độ Đông [1]. Khí hậu Tây Ninh tương đối ôn hoà thuộc dạng khí hậu nhiệt đới gió mùa, chia thành 2 mùa rõ rệt là mùa mưa và mùa khô. Mùa mưa độ ẩm cao, mưa nhiều, nhiệt độ ban ngày thường ở mức $30-34^{\circ}\text{C}$ và ban đêm ở mức $23-26^{\circ}\text{C}$. Nhiệt độ trung bình năm là $25,5-27^{\circ}\text{C}$, thấp kỷ lục là $11,3^{\circ}\text{C}$ và cao kỷ lục là 40°C . Nhiệt độ thấp nhất là $17,6^{\circ}\text{C}$ vào tháng 12 đến tháng 02 năm sau, cao nhất là 38°C kéo dài từ tháng 4 đến tháng 5 hàng năm. Lượng mưa trung bình hàng năm từ 1800 – 2200 mm [1].

Khu Du lịch Quốc gia (KDLQG) núi Bà Đen là ngọn núi lửa đã tắt nằm ở trung tâm tỉnh Tây Ninh. Với độ cao 986 m, đây là ngọn núi cao nhất miền Nam Việt Nam hiện nay [1]. Số liệu về khu hệ lưỡng cư ở KDLQG núi Bà Đen chưa nhiều. Phạm Văn Hoà và cộng sự (2000) [2] đã ghi nhận được 12 loài; đến năm 2014, Phạm Văn Hoà và Thái Kế Quân đã ghi nhận 32 loài lưỡng cư thuộc 2 bộ, 7 họ, trong đó có 4 loài thuộc giống *Microhyla* ở tỉnh Bình Dương, Bình Phước, Tây Ninh [3].

Giống Nhái bầu *Microhyla* hiện nay biết đến 51 loài, phân bố rộng ở các nước như Nhật Bản, Trung Quốc, Ấn Độ, Sri Lanka, các nước Đông Nam Á [4]. Đáng chú ý, ở Việt Nam đã ghi nhận 16 loài [4], trong đó có 6 loài mới được mô tả trong năm năm gần đây: *M. aurantiventris* [5], *M. daklakensis* [6], *M. hmongorum* [7], *M. neglecta* [8], *M. ninhthuanensis* [6], *M. xodangorum* [7].

Dựa trên kết quả nghiên cứu trong tháng 4 năm 2022 tại KDLQG núi Bà Đen, tỉnh Tây Ninh, lần đầu tiên chúng tôi đã ghi nhận vùng phân bố mới của loài Nhái bầu ninh thuận (*Microhyla ninhthuanensis*) ở tỉnh này. Loài nhái bầu này mới được mô tả năm 2021 bởi Hoàng Văn Chung và cộng sự với mẫu chuẩn thu ở Vườn quốc gia Phước Bình, tỉnh Ninh Thuận [4], [6].

2. Phương pháp nghiên cứu

Khảo sát thực địa thu mẫu lưỡng cư được tiến hành tại núi Bà Đen, tỉnh Tây Ninh trong tháng 4 năm 2022, bởi Phạm Văn Anh, Ngô Thị Hạnh và Đỗ Hạnh Nguyên (Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội) (Hình 1). Mẫu vật được thu thập bằng tay và đựng trong túi vải. Sau khi chụp ảnh, mẫu vật được gây mê, đeo nhãn và định hình trong cồn 85% trong vòng 5 tiếng, sau đó chuyển sang ngâm bảo quản trong cồn 70% [9]. Mẫu vật được lưu giữ tại phòng Bảo tàng sinh vật, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.

Các chỉ số hình thái được đo bằng thước kẹp với độ chính xác 0,01 mm, các chỉ số đo theo Hoàng Văn Chung và cộng sự (2021) [6], bao gồm: SVL: chiều dài từ mũi mõm đến lỗ huyệt; HL: dài đầu, từ góc sau hàm dưới tới mũi mõm; HW: khoảng cách phần rộng nhất của đầu; IN: khoảng cách giữa hai lỗ mũi; SL: khoảng cách từ mũi mõm tới góc trước mắt; SN: khoảng cách từ lỗ mũi tới mũi mõm; EN: khoảng cách từ góc trước mắt tới lỗ mũi; ED: đường kính lớn nhất của ổ mắt theo chiều ngang; IOD: khoảng cách hẹp nhất giữa 2 ổ mắt; UEW: chiều rộng mí mắt trên; FLL: dài cẳng tay (từ khuỷu tay tới củ bàn ngoài); HAL: dài bàn tay (từ củ bàn ngoài tới mũi ngón tay dài nhất); FL: dài đuôi, từ lỗ huyệt tới đầu gối; TL: dài ống chân; FOL: dài bàn chân (từ mép trong củ bàn tới mũi ngón chân dài nhất).

Phương pháp định loại loài theo Hoàng Văn Chung và cộng sự, 2021 [6].

TS. NGUYỄN THỊ THU HẰNG (Chủ biên)
ThS. LÊ THỊ BÌNH, PGS.TS. HOÀNG VĂN NGỌC

GIÁO TRÌNH CƠ SỞ TỰ NHIÊN - XÃ HỘI 1



NHÀ XUẤT BẢN ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

Chương 1. VẬT CHẤT VÀ NĂNG LƯỢNG.....	7
1.1. Ánh sáng.....	7
1.1.1. Khái quát về ánh sáng	7
1.1.2. Các định luật của quang hình học	11
1.2. Âm thanh	21
1.2.1. Các đặc trưng cơ bản của âm.....	21
1.2.2. Những đặc trưng vật lí của âm	23
1.2.3. Những đặc tính sinh lí của âm.....	24
1.2.4. Vai trò của âm thanh	27
1.2.5. Tiếng vang, nhạc âm, tiếng ồn	27
1.3. Sự biến đổi của chất	29
1.3.1. Khái quát về chất khí, chất lỏng, chất rắn	29
1.3.2. Sự chuyển thể của các chất.....	38
1.3.3. Dung dịch	40
1.3.4. Sự biến đổi vật lí và biến đổi hóa học	43
1.4. Năng lượng.....	44
1.4.1. Khái niệm năng lượng.....	44
1.4.2. Một số dạng năng lượng.....	49
1.4.3. Vai trò của năng lượng	50
1.4.4. Hậu quả của việc sử dụng năng lượng không hợp lí	5
1.4.5. Các biện pháp tiết kiệm năng lượng trong cuộc sống hàng ngày	5
CÂU HỎI VÀ BÀI TẬP CHƯƠNG 1	5
Chương 2. THỰC VẬT VÀ ĐỘNG VẬT.....	5
2.1. Thực vật.....	4
2.1.1. Khái quát về giới thực vật	4
2.1.2. Vai trò của thực vật đối với tự nhiên và con người.	1

HOÀNG VĂN NGỌC (chủ biên), NGUYỄN ĐỨC HÙNG

GIÁO TRÌNH **SINH LÝ TRẺ EM** **TUỔI TIỂU HỌC**



NHÀ XUẤT BẢN ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

MỤC LỤC

LỜI NÓI ĐẦU	5
Chương 1. MỞ ĐẦU	7
1.1. Sinh lý học và mối quan hệ với các môn học khác	7
1.2. Giới thiệu chung về cơ thể người	7
1.3. Đặc điểm chung về cơ thể trẻ	12
Chương 2. QUY LUẬT VỀ SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN CƠ THỂ TRẺ	15
2.1. Tính quy luật về sự sinh trưởng và phát triển của cơ thể trẻ	15
2.2. Gia tốc phát triển	17
2.3. Những chỉ số phát triển thể lực của trẻ	19
2.4. Giới thiệu về biểu đồ tăng trưởng	21
2.5. Đặc điểm phát triển qua các thời kỳ của cơ thể trẻ em	22
Chương 3. HỆ THẦN KINH	25
3.1. Tầm quan trọng của hệ thần kinh	25
3.2. Cấu tạo và chức phận của hệ thần kinh	25
3.3. Hoạt động phản xạ của hệ thần kinh	30
3.4. Các loại hình thần kinh	37
3.5. Đặc điểm hoạt động thần kinh cấp cao ở người	40
3.6. Giấc ngủ	42
Chương 4. CƠ QUAN PHÂN TÍCH	47
4.1. Đại cương về cơ quan phân tích	47
4.2. Các cơ quan phân tích	48
Chương 5. HỆ VẬN ĐỘNG	57
5.1. Tầm quan trọng của hệ vận động	57
5.2. Hệ xương	57
5.3. Hệ cơ	63
5.4. Sự phát triển tư thế	68
5.4.1. Khái niệm	68
5.4.2. Các loại tư thế	68
5.4.2.1. Tư thế bình thường	68

PGS.TS. PHẠM THỊ THANH NHÀN

of transgenic plants, such as determining the presence of the *CoOMT* transgene by RT–PCR, quantification of the *CoOMT* transgene expression by real-time RT–PCR, Western blots, and ELISA, proved that the transgenic structure *pBI121-CoOMT-Cmyc-Kdel* worked well in the model plants and can be used for transformation into *Stephania* plants.

Author contributions NTTP & MHC conceived and designed the experiments; TQT, PTD, DVN performed the experiments; TQT, PTD, DVN, TTN performed data analyses; TQT, NTTP, MHC prepared the manuscript; TQT, NTTP, MHC made the proof-reading. All authors approved the final version of the manuscript.

Funding This study was supported by the Project of Ministry of Education and Training under Grant Number B2019-TNA-09; additionally did not receive any specific grant from other public, commercial, or nonprofit funding agencies.

Declarations

Conflict of interest The authors declare that there are no conflicts of interest.

Ethical approval This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors.

References

- Do TL (2006) Medicinal plants and drugs from Vietnam. Medical Publishing House, Hanoi, pp 780–781
- Nguyen TH, Nguyen QH, Pham HTT, Hoang VT (2014) Taxonomy of some species in the genus *Stephania* Lour. in Vietnam using rADN ITS sequences. *J Pharmacy* 54(9):55–59
- Xie DA, He JA, Huang JA, Xie HA, Wang YA, Kang YAC, Jabour FB, Guo JA (2015) Molecular phylogeny of Chinese *Stephania* (Menispermaceae) and reassessment of the subgeneric and sectional classifications. *Aust Syst Bot* 28:246–255. <https://doi.org/10.1071/SB14023>
- Vu TC, Nong VD, Tran VT, Xia NH (2019) *Stephania polygona* (Menispermaceae): a new Species from Southern Vietnam. *Phytotaxa* 400(3):211–214. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.400.3.8>
- Cao L, Mu Z (2020) *Stephania tetrandra* chloroplast, complete genome. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_050924.1. Accessed 26 May 2021
- Shi Y, Liu B (2020) *Stephania kwangsiensis* chloroplast, complete genome. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_048524.1. Accessed 26 May 2021
- Zhang K (2021) *Stephania dielsiana* chloroplast, complete genome. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_054337.1. Accessed 26 May 2021
- Morishige T, Tsujita T, Yamada Y, Sato F (2000) Molecular characterization of the S-adenosyl-L-methionine: 3'-hydroxy-N-methylcocclaurine 4-O-methyltransferase involved in isoquinoline alkaloid biosynthesis in *Coptis japonica*. *J Biol Chem* 275:23398–23405. <https://doi.org/10.1074/jbc.M002439200>
- Choi KB, Morishige T, Shitan N, Yazaki K, Sato F (2002) Molecular cloning and characterization of cocclaurine N-methyltransferase from cultured cells of *Coptis japonica*. *J Biol Chem* 277:830–835. <https://doi.org/10.1074/jbc.M106405200>
- Morishige T, Dubouzet E, Choi KB, Yazaki K, Sato F (2002) Molecular cloning of columbamine O-methyltransferase from cultured *Coptis japonica* cells. *Eur J Biochem* 269(22):5659–5667. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1033.2002.03275.x>
- Chen PY, Wang CK, Soong SC, To KY (2003) Complete sequence of the binary vector pBI121 and its application in cloning T-DNA insertion from transgenic plants. *Mol Breed* 11:287–293. <https://doi.org/10.1023/A:1023475710642>
- Topping J (1998) Tobacco transformation. *Methods Mol Biol* 81:365–372. <https://doi.org/10.1385/0-89603-385-6:365>
- Olhoft PM, Donovan CM, Somers DA (2006) Soybean (*Glycine max*) transformation using mature cotyledonary node explants. *Methods Mol Biol* 343:385–396. <https://doi.org/10.1385/1-59745-130-4:385>
- Livak KJ, Schmittgen TD (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔC_T} method. *Methods* 25(4):402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- Gahrtz M, Conrad U (2009) Immunomodulation of plant function by in vitro selected single-chain Fv intrabodies. *Methods Mol Biol* 483:289–312. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-407-0_17
- Laemmli UK (1970) Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227:680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
- Sun HJ, Cui ML, Ma B, Ezura H (2006) Functional expression of the tastemodifying protein, miraculin, in transgenic lettuce. *FEBS Lett* 580:620–626. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.12.080>
- Nantongo JS, Odoi JB, Abigaba G, Gwali S (2018) Variability of phenolic and alkaloid content in different plant parts of *Carissa edulis* Vahl and *Zanthoxylum chalybeum* Engl. *BMC Res Notes* 11(1):125. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3238-4>
- Liao D, Wang P, Jia C, Sun P, Qi J, Zhou L, Li X (2016) Identification and developmental expression profiling of putative alkaloid biosynthetic genes in *Corydalis yanhusuo* bulbs. *Sci Rep* 6:19460. <https://doi.org/10.1038/srep19460>
- Lo TS, Le HD, Nguyen VTT, Chu HH, Le VS, Chu HM (2015) Overexpression of a soybean expansin gene, GmEXP1, improves drought tolerance in transgenic tobacco. *Turk J Bot* 39:988–995. <https://doi.org/10.3906/bot-1502-40>
- Pham TTN, Nguyen HQ, Nguyen TNL, Dao XT, Sy DT, Le VS, Chu HM (2020) Overexpression of the GmDREB2 gene increases proline accumulation and tolerance to drought stress in soybean plants. *AJCS* 14(3):495–503. <https://doi.org/10.21475/ajcs.20.14.03.p2173>
- Bui TH, Nguyen TNL, Nguyen TT, Le VS, Chu HM (2018) Expression analysis of the recombinant *Catharanthus roseus* deacetylcholine 4-O-acetyl transferase in tobacco plants. *Aust J Crop Sci* 12(07):1139–1143. <https://doi.org/10.21475/ajcs.18.12.07.PNE1077>
- Lo TMT, Vi TXT, Le HD, Le VS, Chu HH, Chu HM (2016) RNAi-mediated resistance to SMV and BYMV in transgenic tobacco. *Crop Breed Appl Biotechnol* 6:213–218. <https://doi.org/10.1590/1984-70332016v16n3a32>

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Original article

GmDREB6, a soybean transcription factor, notably affects the transcription of the *NtP5CS* and *NtCLC* genes in transgenic tobacco under salt stress conditions

Tan Quang Tu^a, Phutthakone Vaciaxa^{a,b}, Thu Thi Mai Lo^c, Nhung Hong Nguyen^d, Nhan Thi Thanh Pham^a, Quan Huu Nguyen^a, Phat Tien Do^{d,e}, Lan Thi Ngoc Nguyen^a, Yen Thi Hai Nguyen^{f,*}, Mau Hoang Chu^a

^a TNU – University of Education, Thai Nguyen, Viet Nam

^b Khangkhay Teacher Training College, Xiangkhoang, Laos

^c Tay Bac University, Son La, Viet Nam

^d VAST – Institute of Biotechnology, Hanoi, Viet Nam

^e VAST – Graduate University of Sciences and Technology, Hanoi, Viet Nam

^f TNU – University of Sciences, Thai Nguyen, Viet Nam

ARTICLE INFO

Article history:

Received 16 January 2021

Revised 3 August 2021

Accepted 3 August 2021

Available online 10 August 2021

Keyword:

GmDREB6

NtP5CS

NtCLC

Salt tolerance

Transcription levels

ABSTRACT

Soil is contaminated with salinity, which inhibits plant growth and development and reduces crop yields. The *DREB* (dehydration responsive element binding protein) gene responds to salt stresses through enhanced transcriptional expression and activation of genes involved in plant salinity resistance. In this study, we present the results of the analysis of the expression of the *GmDREB6* transgene, a gene that encodes the soybean *DREB6* transcription factor, regulating the transcription of the *NtP5CS* and *NtCLC* genes in transgenic tobacco under salt stress conditions. The transcription of *GmDREB6*, *NtP5CS*, and *NtCLC* in transgenic tobacco lines was confirmed by qRT-PCR. Under salt stress conditions, the *GmDREB6* gene transcription levels in the transgenic tobacco lines L1 and L9 had increased from 2.40- to 3.22- fold compared with the condition without salinity treatment. Two transgenic lines, L1 and L9, had transcription levels of the *P5CS* gene that had increased from 1.24- to 3.60- fold compared with WT plants. For the *NtCLC* gene, under salt stress conditions, the transgenic lines had transcription levels that had increased by 3.65–4.54 (fold) compared with WT plants ($P < 0.05$). The L1-transgenic tobacco line showed simultaneous expression of both the *GmDREB6* transgene and two intrinsic genes, the *NtP5CS* and *NtCLC* genes. This study demonstrated that expression of the *GmDREB6* gene from soybean increases the transcription levels of the *NtP5CS* and *NtCLC* genes in transgenic tobacco plants under salt stress conditions. The analysis results have suggested that the *GmDREB6* gene is a potential candidate for improving the salt tolerance of plants, opening up research and development opportunities for salt stress-tolerant crops to respond to climate change and the rise in sea levels.

© 2021 The Author(s). Published by Elsevier B.V. on behalf of King Saud University. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. Introduction

Salinity is an abiotic stress that inhibits growth and development and reduces the yield of soybean plants (Chen et al., 2018).

* Corresponding author.

E-mail address: yennth@tnus.edu.vn (Y.T.H. Nguyen).

Peer review under responsibility of King Saud University.



Production and hosting by Elsevier

Due to climate change, sea levels have risen, and salinity intrusion has increased in many countries around the world. The encroachment of seawater into the soil, the use of low-quality irrigation water, heavy use of chemical fertilizers, and year-round intensive farming accelerate the accumulation of salt, causing soil salinity (Shrivastava and Kumar, 2015). The adverse effects of salt stress can be observed at the cellular, organ, and whole plant levels at the osmotic (early/short-term) and ionic (late/long-term) phases. High salinity has negative effects on biological processes in plants, such as disruption of osmotic and ionic equilibrium, protein synthesis, photosynthesis, energy, and lipid metabolism (Muchate et al., 2016). Plants' ability to resist salt stress is related to complex physiological processes, metabolic pathways, and the expression of

<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.08.018>

1319-562X/© 2021 The Author(s). Published by Elsevier B.V. on behalf of King Saud University.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

related genes (Gupta and Huang, 2014). Plants living under salinity stress showed common symptoms or physiological responses due to the accumulation of toxic levels of ions (Na^+ , Cl^- , and SO_4^{2-}) in their cells, leading to nutritional and osmotic imbalances and dehydration (Shu et al., 2017; Rehman et al., 2019). Furthermore, reactive oxygen species (ROS), such as anionic superoxide ($\bullet\text{O}_2^-$), hydroxyl radicals ($\bullet\text{OH}^-$), and hydrogen peroxide (H_2O_2), accumulate in salt-stressed plants (Jan et al., 2018; Ahmad et al., 2019). Ultimately, the plant cell wall can be disrupted, causing the plant cell to die (Shu et al., 2017; Rehman et al., 2019). Osmotic stress is related to the accumulation of Na^+ and Cl^- ions in the soil solution to toxic levels, at which these ions interfere with other essential elements, such as calcium and potassium (Hussain et al., 2013). Schubert et al. (2009) demonstrated that cell wall expansion inhibits cell growth during the early stages of salt stress. Active cell wall expansins loosen the cell wall, regulating cell elongation at $\text{pH} < 5$ (Uddin et al., 2013). The osmosis process is primarily met with the accumulation of solutes under drought and salinity conditions to lower the water potential without reducing the actual water content (Serraj and Sinclair, 2002). Soluble sugars, proline, betaine glycine, organic acids, and trehalose sugars are some of the main osmotic agents. Kaya et al. (2010) reported that proline accumulation was increased in salt-stressed maize plants. Furthermore, the genes encoding proline and arginine synthesis enzymes and several other genes may have important roles in salt tolerance in *S. chilense* (Kashyap et al., 2020). The proline biosynthesis pathway in plants involves the participation of two main enzymes: Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate reductase (P5CR) and Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase (P5CS) (Delauney and Verma, 1993). P5CS overexpression in soybean increased the proline content in transgenic plants, resulting in a transgenic line with high salt tolerance (Nguyen et al., 2019). Proline accumulation is one of the main causes of increased osmotic pressure, thereby increasing the plant's water-holding capacity (Zhang et al., 2015). The first plant *CLC* genes were cloned in tobacco (Lurin et al., 1996) and *Arabidopsis* (Hechenberger et al., 1996); to date, most information on real system *CLC* genes and protein objects has been accumulated (Zifarelli and Pusch, 2010). In soybean, Li et al. (2006) reported that the *CLC* gene *GmCLC-1* is 78% homologous with the *AtCLC-a* gene in *Arabidopsis*. The *CLC* protein is detected when the plant receives signals from NaCl stress and drought stress. Expression of this protein increased Cl^- transfer from the cytoplasm to the vacuole and induced NaCl tolerance to tobacco BY-2 cells (Li et al., 2006).

Several reports on the application of farming techniques to reduce salinity stress in soybeans have shown very little success (Kim et al., 2015; Liu et al., 2016; Shu et al., 2017). However, some of the studies on the association of several important genes with the ability to counteract salinity stress in soybeans are the basis for the application of advances in biotechnology to the creation of transgenic crops with good growth and development under abiotic stress conditions.

Several soybean genes have been described to be responsive to abiotic stresses at the transcriptional level, including a group of genes encoding the transcription factor DREB (dehydration responsive element binding protein). The AP2 domain of common DREB proteins is between 58 and 59 amino acids and includes several amino acids related to the dehydration responsive element (DRE) or GCC box. DREB contains *trans*-acting factors, which bind with the *cis*-acting elements of the promoter to trigger transcription of the target genes under stress signals in plants (Agarwal et al., 2006). Studies on DREB have all confirmed that the DREB protein is a transcription factor that actively participates in intolerance to adverse external conditions, such as drought, salinity, and cold, without the need for the influence of ABA (Agarwal et al., 2006). The activated DREB gene increases the transcription of target genes whose products are directed against adverse factors in the environ-

ment. The *GmDREB1* gene has the function of tolerance to heat, drought, salinity, and cold (Jiang et al., 2014). *GmDREB2* has been confirmed to increase the drought and salt tolerance of transgenic plants (Zhang et al., 2013; Dao et al., 2015; Pham et al., 2020). *GmDREB3* enhanced cold, drought, and salt tolerance in transgenic *Arabidopsis* (Chen et al., 2009); *GmDREB5* has been linked to salt tolerance (Rahmawati et al., 2019). The DREB protein may improve tolerance to abiotic stress in plants by modulating the expression of downstream genes involved in environmental stress tolerance (Jiang et al., 2014). In this context, our study aimed to analyse the expression of the *GmDREB6* transgene from soybean and to clarify the effect of *GmDREB6* expression in enhancing the transcription levels of the *P5CS* and *CLC* genes above those of genetically modified tobacco plants under high-salinity conditions.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Leaf fragments of the tobacco plants (*Nicotiana tabacum*) in vitro, cultivar K326, were used as transgene receiving material. The *Agrobacterium tumefaciens* strain containing the plant expression vector of the *GmDREB6* gene (*pBI121_GmDREB6*) from soybean (Fig. 1) was transformed into tobacco leaf tissue (Nguyen et al., 2019). *GmDREB6* transgenic tobacco lines obtained from in vitro selection were used to analyse the expression levels of the *GmDREB6*, *NtP5CS*, and *NtCLC* genes in transgenic tobacco under salt stress.

3. Methods

3.1. Genetic transformation of the *GmDREB6* gene into tobacco and confirmation of transcription of the *GmDREB6* transgene

Genetic transformation of the *GmDREB6* gene into tobacco leaf tissue mediated by *A. tumefaciens* was performed as described by Topping (1998), including multiple shoot regeneration, rooting and selection, in vitro propagation, and create transgenic tobacco lines. The leaf pieces were submerged into the *A. tumefaciens* suspension for 30 min; then, explants were transferred to a co-cultivation medium for 3 days in the dark. The transformed samples were regenerated on MS medium was added with BAP, 500 mg L^{-1} cefotaxime, and 50 mg L^{-1} kanamycin. The transformed samples were multi-bud regenerated in the shoot induction medium (basic MS, and 1.0 mg L^{-1} BAP, and 30 g L^{-1} sucrose, and 9.0 g L^{-1} agar) in 4 weeks. After the next 4 weeks, good growing shoots were transferred to rooting medium (basic MS, 1.0 g L^{-1} MES, 30 g L^{-1} sucrose, 9.0 g L^{-1} agar, and 100 ml L^{-1} coconut water), and the addition IBA (0.5 mg L^{-1}), and kanamycin (50 mg L^{-1}) in 5 weeks to form plants with sufficient roots, stem, and leaves. The plantlets with good growth were planted in pots containing a mixture, included soil, rice husk biochar, coir with a ratio of 2:1:2, and the surviving plants were cared for in greenhouse conditions.

Analysis of transgenic tobacco plants using RT-PCR. Total RNA was extracted from tobacco leaves using TRIzol® LS reagent according to the company's instructions (Ambion - Life Technology Corporation, USA). The quality of total RNA was tested on a 1% agarose gel. Good-quality RNA was used to synthesize cDNA with a RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific, USA). PCR was performed to confirm the presence of the mRNA, which is the copy of the *GmDREB6* transgene in the transgenic soybean plants, with the PCR primers DREB6-F/DREB6-R (Table 1). PCR was performed using a final volume of 20 μL and contained 0.5 μL of each primer (10 pmol/ μL), 12.5 ml of 2 $\times$ Master mix, 2.0 μL of

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/356144331>

DNA barcode of matK combined with ITS effectively distinguishes the medicinal plant *Stephania brachyandra* Diels collected in Laocai, Vietnam

Article in *Journal of Applied Biology & Biotechnology* · November 2021

DOI: 10.7324/JABB.2021.3829

CITATIONS

0

5 authors, including:



Thi Thanh Nhan Pham
Thai Nguyen University of Education

13 PUBLICATIONS 27 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

READS

37



Chu Hoang Mau
Thai Nguyen University of Education TNU Vietnam

95 PUBLICATIONS 119 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Overexpression of the GmDREB6... [View project](#)



Medicinal plants [View project](#)

- numerous shifts in floral macro-morphology. *Mol Phylogenet Evol* 2011;61(2):593–601.
15. Scheunert A, Heubl G. Diversification of *Scrophularia* (Scrophulariaceae) in the Western Mediterranean and Macaronesia–phylogenetic relationships, reticulate evolution and biogeographic patterns. *Mol Phylogenet Evol* 2014;70:296–313.
 16. Warwick SI, Mummenhoff K, Sauder CA, Koch MA, Al-Shehbaz IA. Closing the gaps: phylogenetic relationships in the *Brassicaceae* based on DNA sequence data of nuclear ribosomal ITS region. *Plant Syst Evol* 2010;285:209–32.
 17. Hodkinson TR, Chase MW, Lledó DM, Dolores M, Salamin N, Renvoize SA. Phylogenetics of *Miscanthus*, *Saccharum* and related genera (*Saccharinae*, *Andropogoneae*, *Poaceae*) based on DNA sequences from *ITS* nuclear ribosomal DNA and plastid *trnL* intron and *trnL-F* intergenic spacers. *J Plant Res* 2002;115(5):381–92.
 18. Yang T, Zhang T, Guo Y, Liu X. Identification of hybrids in *Potamogeton*: incongruence between plastid and *ITS* regions solved by a novel barcoding marker PHYB. *PLoS One* 2016;11(11):e0166177.
 19. Nguyen QN, Pham TH, Phan VT, Hoang VT. Taxonomy of the genus *Paris* L. (Melanthiaceae) in Vietnam. *J Biol* 2016;38(3):333–9.
 20. Pham HH. Flora of Vietnam. Youth Publishing House (in Vietnamese), Ho Chi Minh City, Vietnam, 1999.
 21. Liang S, Soukup VG. Paris Linnaeus. Flora of China, St. Louis, MO, pp 88–95, 2000.
 22. Shaghari-Maroo MA, Soliman KM, Jorgensen RA. Ribosomal DNA spacer-length polymorphism in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81:8014–9.
 23. Tamura K, Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol Biol Evol* 1993;10:512–26.
 24. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 1985;39:783–91.
 25. Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol* 2018;35:1547–9.
 26. Bui KL, Pham TK. Contribution to the morphological study of *Stephania* species in Nghia Binh. *J Pharmacol* 1998;5:4–5.
 27. Do TL. Medicinal plants and drugs from Vietnam. Medical Publishing House, Hanoi, Vietnam, 2006.
 28. Vu DT. Collection of *Stephania* spp. tubers in some provinces of Vietnam and quantification of rotundin using TLC-scanning. *J Med Mater* 2014;4:375–80.
 29. Wang W, Wang HC, Chen ZD. Phylogeny and morphological evolution of tribe Menispermaceae (Menispermaceae) inferred from chloroplast and nuclear sequences. *Perspectives in plant ecology. Evol Syst* 2007;8:141–54.
 30. Wang W, Wang HC, Chen ZD. Phylogeny and morphological evolution of tribe Menispermaceae (Menispermaceae) inferred from chloroplast and nuclear sequences. *Perspect Plant Ecol Evol Syst* 2007; 8:141–54.
 31. Chinh VT, Lieu TT, Tang DV. Using the chloroplast *rbcl* gene to clarify the relationship between species of the genus *Stephania* (Menispermaceae) from Vietnam. *Acad J Biol* 2020;42(2):109–15.

How to cite this article:

Pham NTT, Le DP, Pham KTN, Thippavong X, Chu MH. DNA barcode of *matK* combined with *ITS* effectively distinguishes the medicinal plant *Stephania brachyandra* Diels collected in Lào Cai, Vietnam. *J Appl Biol Biotech* 2021; 9(06):63–70.



Available online freely at www.isisn.org

Bioscience Research

Print ISSN: 1811-9506 Online ISSN: 2218-3973

Journal by Innovative Scientific Information & Services Network



RESEARCH ARTICLE

BIOSCIENCE RESEARCH, 2021 18(3): 2170-2182.

OPEN ACCESS

Analysis of anthocyanin content and expression of the Booster and Leaf colour genes in maize under drought stress conditions

Pham Thi Thanh Nhan¹, Chu Hoang Mau^{1*} and Le Tran Binh²

¹Thainguyen University of Education, Thai Nguyen, 250000, Viet Nam

²Institute of Biotechnology, Hanoi, 100000, Vietnam

*Correspondence: chuhoangmau@tnu.edu.vn Received 09-05-2021, Revised: 07-06-2021, Accepted: 08-06-2021 e-Published: 29-07-2021

Sticky corn (*Zea mays* L.) is the main crop grown in the highlands in Vietnam, where drought conditions are prevalent and soil quality is poor. Anthocyanins are secondary products that help cells retain water under unbalanced osmotic pressure conditions. The genes of the Myb family involved in anthocyanin biosynthesis in maize, including the Booster (B) and Leaf colour (Lc) genes. In this work, an increase in anthocyanin content related to the expression levels of the genes encoding B and Lc transcription factors in maize has been analyzed. During drought stress conditions, the anthocyanin content of organs such as leaves, stems and sheaths, roots of two local sticky maize cultivars BS and NH in all tended to increase after 3 or 5 days under drought stress and decreased after 9 days of drought and the NH variety had higher anthocyanin content than BS ($P < 0.05$). Anthocyanin content and the damage rate were correlated very close correlation, correlation coefficient R ranging from 0.82 to 0.99. The transcription levels of the B and Lc in cultivar BS1 and NH increased after three- and five-day of the drought treatment and decreased after nine-day of the drought treatment. Transcription levels of the B, LC genes in the NH cultivar were higher than compare to the BS1. Change in transcription levels of B, and Lc genes increased anthocyanin content and improved drought tolerance in maize. Levels of B, and Lc genes could be used as molecular markers for selection and breeding of drought tolerant maize.

Keywords: drought tolerance, Booster gene, Leaf colour gene, Vietnamese local maize, transcription level.

INTRODUCTION

In Vietnam, maize is the most important cereal crop (after rice) cultivated by the farmers of the midlands and northern mountainous regions and is the main crop of the ethnic minority in the highlands (General Statistics Vietnam, 2019). In recent years, maize production in Vietnam has increased due to the introduction of hybrid maize with high yield; however, local sticky maize varieties with low productivity are falling out of favour. Thus, many rare and valuable varieties are being lost, although the seed quality of these varieties is high and their drought tolerance is suitable for the cultivation conditions of sloping

land in mountainous regions. Therefore, the selection of maize varieties with high drought-tolerance for conservation of genetic resources and creating materials for crossbreeding is essential.

Anthocyanin, a type of cellular pigment, is a secondary product of metabolism. Anthocyanins belong to the flavonoid group, appearing in all parts of plants with red, burgundy, purple, and dark green colours (Gould et al. 2009; Park et al. 2016; Khoo et al. 2017). In addition to creating attractive colours beneficial for protection and pollination, anthocyanins are powerful antioxidants, helping cells retain water under

- B, Bowley S, Westcott N, Coulman B, Lloyd A, Gruber M Y. 2003. Expression of anthocyanins and proanthocyanidins after transformation of alfalfa with maize Lc. *Plant Physiol* 132:1448- 1463, 2003. DOI: 10.1104/pp.103.025361.
- Riaz B, Chen H, Wang J, Du L, Wang K, Ye X. 2019. Overexpression of Maize ZmC1 and ZmR Transcription Factors in Wheat Regulates Anthocyanin Biosynthesis in a Tissue-Specific Manner. *Int. J. Mol. Sci.* 20:5806, 2019. DOI: 10.3390/ijms20225806.
- Schwinn K E, Boase M R, Bradley J M, Lewis D H, Deroles S C, Martin C R, Davies KM. 2014. MYB and bHLH transcription factor transgenes increase anthocyanin pigmentation in petunia and lisianthus plants, and the petunia phenotypes are strongly enhanced under field conditions. *Front Plant Sci.* 5: 603. DOI:10.3389/fpls-2014-00603.
- Selinger D A, Chandler V L. 2001. *B-Bolivia*, an allele of the maize *b1* gene with variable expression, contains a high copy retrotransposon related sequence immediately upstream. *Plant Physiol* 125: 1363- 1379. DOI: 10.1104/pp.125.3.1363.
- Song Y E, Wang X, Shen Z W, Li J Y. 2013. Expressing the maize anthocyanin regulatory gene Lc increased flavonoid content in the seed of white pericarp rice and purple pericarp rice. *Russ J Genet* 49: 1127- 1133. DOI: 10.1134/S1022795413100128.
- Vernimmen D, De Gobbi M, Sloane-Stanley J A, Wood W G, Higgs D R. 2007. Long-range chromosomal interactions regulate the timing of the transition between poised and active gene expression. *EMBO J* 26: 2041- 2051. DOI: 10.1038/sj.emboj.7601654.
- Winkel-Shirley B. 2002. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Curr Opin Plant Biol.* 5: 218- 223, 2002. DOI: 10.1016/s1369-5266(02)00256-x.
- Xu W, Grain D, Le Gourrierc J, Harscoët E, Berger A, Jauvion, V, Scagnelli A, Berger N, Bidzinski P, Kelemen Z, Salsac F, Baudry A, Routaboul J M, Lepiniec L, Dubos C. 2013. Regulation of flavonoid biosynthesis involves an unexpected complex transcriptional regulation of TT8 expression, in *Arabidopsis*. *New Phytol* 198:59-70. DOI: 10.1111/nph.12142.
- Xu W, Dubos C, Lepiniec L. 2015. Transcriptional control of flavonoid biosynthesis by MYB-bHLH-WDR complexes. *Trends Plant Sci* 20:176-185. DOI:10.1016/j.tplants.2014.12.001.
- Zhao M, Li J, Zhu L, Chang P, Li L, Zhang L. 2019. Identification and Characterization of MYB-bHLH-WD40 Regulatory Complex Members Controlling Anthocyanidin Biosynthesis in Blueberry Fruits Development. *Genes* 10: 496, 2019. DOI: 10.3390/genes10070496.

OPEN

Overexpression of the *GmDREB6* gene enhances proline accumulation and salt tolerance in genetically modified soybean plants

Quan Huu Nguyen¹, Lien Thi Kim Vu², Lan Thi Ngoc Nguyen¹, Nhan Thi Thanh Pham¹, Yen Thi Hai Nguyen³, Son Van Le⁴ & Mau Hoang Chu^{1*}

Soybean plants are sensitive to the effects of abiotic stress and belong to the group of crops that are less drought and salt tolerant. The identification of genes involved in mechanisms targeted to cope with water shortage is an essential and indispensable task for improving the drought and salt tolerance of soybean. One of the approaches for obtaining lines with increased tolerance is genetic modification. The dehydration-responsive element binding proteins (DREBs), belonging to the AP2 family, are trans-active transcription factors that bind to the cis-sequences of the promoter for activating the expression of the target genes that mediate drought and salt tolerant responses. In this study, the *GmDREB6* transgene was introduced into DT84 cultivar soybean plants, using *Agrobacterium*-mediated transformation. The efficacy of *GmDREB6* overexpression in enhancing the transcriptional level of *GmP5CS* and proline accumulation in genetically modified (GM) soybean plants was also assayed. The results demonstrated that ten GM soybean plants (T0 generation) were successfully generated from the transformed explants after selecting with kanamycin. Among these plantlets, the presence of the *GmDREB6* transgene was confirmed in nine plants by Polymerase Chain Reaction (PCR), and eight plants showed positive results in Southern blot. In the T1 generation, four GM lines, labelled T1-2, T1-4, T1-7, and T1-10, expressed the recombinant *GmDREB6* protein. In the T2 generation, the transcriptional levels of the *GmP5CS* gene were higher in the GM lines than in the non-transgenic plants, under normal conditions and also under conditions of salt stress and drought, ranging from 1.36 to 2.01 folds and 1.58 to 3.16 folds that of the non-transgenic plants, respectively. The proline content was higher in the four GM soybean lines, T2-2, T2-4, T2-7, and T2-10 than in the non-transgenic plants, ranging from 0.82 $\mu\text{mol/g}$ to 4.03 $\mu\text{mol/g}$. The proline content was the highest in the GM T2-7 line (7.77 $\mu\text{mol/g}$). In GM soybean lines, T2-2, T2-4, T2-7, and T2-10 proline content increased after plants were subjected to salt stress for seven days, in comparison to that under normal conditions, and ranged from 247.83% to 300%, while that of the non-GM plants was 238.22%. These results suggested that *GmDREB6* could act as a potential candidate for genetic engineering for improving tolerance to salt stresses.

Soybean is an important crop with numerous uses and is a source of protein and vegetable oil for human consumption as well as for the animal food industry. Soybean cultivation increases the economic value, nutritive value and fertility of the soil. However, like other crops, soybean plants are exposed to environmental conditions and face the effects of abiotic stresses, including drought and excessive salinity. Drought stress and prolonged drought has significant impacts on the growth and development of soybean plants, reducing the yield and seed quality by approximately 40%, especially if the drought occurs during the stage of grain formation. The resilience

¹Thainguyen University of Education, Thai Nguyen University, Thai Nguyen, 250000, Viet Nam. ²Institute of Theoretical and Applied Research, Duy Tan University, Ha Noi, 100000, Viet Nam. ³Thainguyen University of Sciences, Thai Nguyen University, Thai Nguyen, 250000, Viet Nam. ⁴Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology, Hanoi, 100000, Vietnam. *email: chuhoangmau@tnu.edu.vn

7. Chen, M. *et al.* GmDREB2 a soybean DRE-binding transcription factor, conferred drought and high-salt tolerance in transgenic plants. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **353**, 299–305 (2007).
8. Tang, M., J., S., Liu, Y., Chen, F. & Shen, S. Isolation and functional characterization of the JcERF gene, a putative AP2/EREBP domain containing transcription factor, in the woody oil plant *Jatropha curcas*. *Plant Mol. Biol.* **163**, 419–428 (2007).
9. Engels, C. *et al.* Introduction of the rd29A: AtDREB2A CA gene into soybean (*Glycine max* L. Merrill) and its molecular characterization in leaves and roots during dehydration. *Genet. Mol. Biol.* **36**, 556–565 (2013).
10. Fuganti-Pagliarini, R. *et al.* Characterization of soybean genetically modified for drought tolerance in field conditions. *Front Plant Sci.* **8**, <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00448> (2017).
11. Zhang, X. X. *et al.* OsDREB2A, a rice transcription factor, significantly affects salt tolerance in transgenic soybean. *PLoS ONE*, **8**, e83011, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083011> (2013).
12. Yamaguchi-Shinozaki, K. & Shinozaki, K. Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. *Annu. Rev. Plant Biol.* **57**, 781–803, <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105444> (2006).
13. de Paiva Rolla, A. A. *et al.* Phenotyping soybean plants transformed with rd29A:AtDREB1A for drought tolerance in the greenhouse and field. *Transgenic Res.* <https://doi.org/10.1007/s11248-013-9723-6> (2013).
14. Dossa, K. *et al.* Insight into the AP2/ERF transcription factor superfamily in sesame and expression profiling of DREB subfamily under drought stress. *BMC Plant Biol.* **16**, 171, <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0859-4> (2016).
15. Riechmann, J. L. *et al.* *Arabidopsis* transcription factors: Genome-wide comparative analysis among eukaryotes. *Science* **290**, 2105–2110 (2000).
16. Enéas, R. K. *et al.* DREB Genes from Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Show Broad to Specific Abiotic Stress Responses and Distinct Levels of Nucleotide Diversity. *International Journal of Genomics* **28**, <https://doi.org/10.1155/2019/9520642> (2019).
17. Dar, M. I., Naikoo, M. I., Rehman, F., Naushin, F. & Khan, F. A. Proline accumulation in plants: Roles in stress tolerance and plant development. *Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment: Emerging Omics Technologies*, 155–166, https://doi.org/10.1007/978-81-322-2616-1_9 (2015).
18. Han, K. H. & Hwang, C. H. Salt tolerance enhanced by transformation of a P5CS gene in carrot. *J. Plant. Biotech.* **5**, 157–161 (2003).
19. Hmida-Sayari, A. *et al.* Overexpression of $\Delta 1$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers salt tolerance in transgenic potato plants. *Plant Sci.* **169**, 746–752 (2005).
20. Chen, J. B., Wang, S. M., Jing, R. L. & Mao, X. G. Cloning the PvP5CS gene from common bean (*Phaseolus vulgaris*) and its expression patterns under abiotic stresses. *J. Plant. Physiol.* **166**, 12–19 (2009).
21. Zhang, G. C., Zhu, W. L., Gai, J. Y., Zhu, Y. L. & Yang, L. F. Enhanced salt tolerance of transgenic vegetable soybeans resulting from overexpression of a novel $\Delta 1$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase gene from *Solanum torvum* Swartz. *Hort. Environ. and Bio.* **56**, 94–104 (2015).
22. Olhoft, P. M., Bernal, L. M., Grist, L. B. & Ozias-Akins, P. A novel *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation method of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] using primary-node explants from seedlings. *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant* **43**, 536–549 (2007).
23. Saghai-Maroo, M. A., Soliman, K. M., Jorgensen, R. A. & Allard, R. W. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **81**, 8014–8018 (1984).
24. Southern, E. M. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.* **98**, 503–517 (1975).
25. Laemmli, U. K. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**, 680–685 (1970).
26. Sun, H. J., Cui, M. L., Ma, B. & Ezura, H. Functional expression of the tastemodifying protein, miraculin, in transgenic lettuce. *FEBS Lett.* **580**, 620–626 (2006).
27. Livak, K. J. & Schmittgen, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(Delta Delta C(T)) Method. *Methods* **25**, 402–408 (2001).
28. Bates, L. S., Waldren, R. P. & Teare, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* **39**, 205–207 (1973).
29. Delauney, A. J. & Verma, D. P. S. Proline biosynthesis and osmoregulation in plant. *The Plant Journal* **4**, 215–223 (1993).

Acknowledgements

This research is funded by Vietnam National Foundation for Science and Technology Development (NAFOSTED) under grant number 106.01-2018.27.

Author contributions

L.T.K.V., S.V.L. and M.H.C. conceived and designed the experiments; Q.H.N., L.T.N.N., N.T.T.P. and Y.T.H.N. performed the experiments; L.T.K.V., Q.H.N., Y.T.H.N., S.V.L. performed data analyses; Q.H.N., N.T.T.P., L.T.N.N. and M.H.C. prepared the manuscript; L.T.K.V. and M.H.C. made the Proof-reading. All authors approved the manuscript.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Additional information

Correspondence and requests for materials should be addressed to M.H.C.

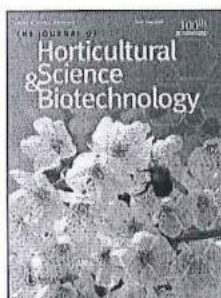
Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2019



***Agrobacterium*-mediated transformation of the *CrDAT* gene and selection of transgenic periwinkle lines with a high vincristine accumulation**

Thi Thanh Nhan Pham, Thi Ngoc Lan Nguyen, Thi Ha Bui, Huu Quan Nguyen, Thi Tam Nguyen, Van Son Le & Hoang Mau Chu

To cite this article: Thi Thanh Nhan Pham, Thi Ngoc Lan Nguyen, Thi Ha Bui, Huu Quan Nguyen, Thi Tam Nguyen, Van Son Le & Hoang Mau Chu (2019): *Agrobacterium*-mediated transformation of the *CrDAT* gene and selection of transgenic periwinkle lines with a high vincristine accumulation, The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, DOI: [10.1080/14620316.2019.1607572](https://doi.org/10.1080/14620316.2019.1607572)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/14620316.2019.1607572>



Published online: 28 Apr 2019.



Submit your article to this journal [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

References

- Almagro, L., Fernández-Pérez, F., & Pedreño, M.A. (2015). Indole alkaloids from *Catharanthus roseus*: Bioproduction and their effect on human health. *Molecules*, 20, 2973–3000. doi:10.3390/molecules20022973
- Costa, M.M., Hilliou, F., Duarte, P., Pereira, L.G., Almeida, I., Leech, M., Sottomayor, M. (2008). Molecular cloning and characterization of a vacuolar class III peroxidase involved in the metabolism of anticancer alkaloids in *Catharanthus roseus*. *Plant Physiology*, 146, 403–417. doi:10.1104/pp.107.107060.
- Iskandar, N.N., & Iriawati, I. (2016). Vinblastine and vincristine production on Madagascar Periwinkle (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don) cCallus culture treated with polyethylene glycol. *Makara Journal of Science*, 20, 7–16. doi:10.7454/mss.v20i1.5656
- Kumar, S., Dutta, A., Sinha, A.K., & Sen, J. (2007). Cloning, characterization and localization of a novel basic peroxidase gene from *Catharanthus roseus*. *The FEBS Journal*, 274, 1290–1303. doi:10.1111/j.1742-4658.2007.05677.x
- Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680–685.
- Li, C.Y., Leopold, A.L., Sander, G.M., Shanks, J.V., Zhao, L., & Gibson, S.I. (2015). CrBPF1 overexpression alters transcript levels of terpenoid indole alkaloid biosynthetic and regulatory genes. *Frontiers in Plant Science*, 6, 818. Published online. doi:10.3389/fpls.2015.00818
- Liscombe, D.K., Usera, A.R., & O'Connor, S.E. (2010). Homologue of tocopherol C methyltransferases catalyses N methylation in anticancer alkaloid biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107, 18793–18798. doi:10.1073/pnas.0910097107
- Liu, J., Cai, J., Wang, R., & Yang, S. (2017). Transcriptional regulation and transport of terpenoid indole Alkaloid in *Catharanthus roseus*: Exploration of new research directions. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 53. doi:10.3390/ijms18010053 PMID: PMC5297688.
- Magnotta, M., Murata, J., Chen, J., & De Luca, V. (2007). Expression of deacetylvinodoline-4-O-acetyltransferase in *Catharanthus roseus* hairy roots. *Phytochemistry*, 68, 1922–1931. doi:10.1016/j.phytochem.2007.04.037
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). Arevised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. *Physiology Plant*, 15, 473–479. doi:10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- Olthoff, P.M., Donovan, C.M., & Somers, D.A. (2006). Soybean (*Glycine max*) transformation using mature cotyledonary node explants. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 343, 385–396. doi:10.1385/1-59745-130-4:385
- Pan, Q., Wang, Q., Yuan, F., Xing, S., Zhao, J., Choi, Y. H., ... Tang, K. (2012). Overexpression of ORCA3 and G10H in *Catharanthus roseus* plants regulated alkaloid biosynthesis and metabolism revealed by NMR-Metabolomics. *PLoS one*, 7, e43038. doi:10.1371/journal.pone.0043038
- Saghai-Marouf, M.A., Soliman, K.M., Jorgensen, R.A., & Allard, R.W. (1984). Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 81, 8014–8018.
- Southern, E.M. (1975). Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *Journal of Molecular Biology*, 98, 503–517.
- St-Pierre, B., Laflamme, P., Alarco, A.M., & De Luca, V. (1998). The terminal Oacetyltransferase involved in vindoline biosynthesis defines a new class of proteins responsible for coenzyme A dependent acyl transfer. *The Plant Journal : for Cell and Molecular Biology*, 14, 703–713. doi:10.1046/j.1365-3113x.1998.00174.x
- Sun, H.J., Cui, M.L., Ma, B., & Ezura, H. (2006). Functional expression of the tastemodifying protein, miraculin, in transgenic lettuce. *FEBS letters*, 580, 620–626. doi:10.1016/j.febslet.2005.12.080
- Van der Heijden, R., Jabos, D.J., Snoeijer, W., Hallard, D., & Verpoorte, R. (2004). The *Catharanthus* alkaloids: Pharmacognosy and biotechnology. *Current Medicinal Chemistry*, 11, 607–628.
- Wang, C.T., Liu, H., Gao, X.S., & Zhang, H.X. (2010). Overexpression of G10H and ORCA3 in the hairy roots of *Catharanthus roseus* improves catharanthine production. *Plant Cell Reports*, 29, 887–894. doi:10.1007/s00299-010-0874-0
- Wang, Q., Xing, S., Pan, Q., Yuan, F., Zhao, J., Tian, Y., ... Tang, K. (2012). Development of efficient *Catharanthus roseus* regeneration and transformation system using *Agrobacterium tumefaciens* and hypocotyls as explants. *BMC Biotechnology*, 12, 34. doi:10.1186/1472-6750-12-34

Design of Construct Carrying *GmDREB6* to Enhance Soybean Gene Expression Related to Abiotic Stress Response

Thi Ngoc Lan Nguyen, Phutthakone Vaciaxa, Thi Mai Thu Lo, Thi Hai Yen Nguyen, Thi Thanh Nhan Pham, Van Son Le, Hoang Mau Chu

Abstract—*Glycine max* (L.) Merrill is a crop that brings a lot of economic and nutritive values, however soybean is quite sensitive to stress. The applications of gene technology can improve resistance of soybean plants against external stress factors. The aim of this study was to conduct a transgenic vector containing *GmDREB6* gene and determine the expression of gene encoding *GmDREB6* in *Nicotiana tabacum* before transforming into soybean plants. The *GmDREB6* artificial gene was synthesized containing nucleotide fragment encoding 230 amino acids, nucleotide fragment encoding *cmcy* antigen and nucleotide fragments with cut-off points of *XbaI/SacI* enzyme pair. The results indicated that the 35S-*GmDREB6-cmcy* construct was designed and transferred into tobacco plants. The *GmDREB6* was incorporated in the genome and was expressed in transgenic tobacco plants at the transcriptional level. The transgenic vector *pBI121-GmDREB6* well worked on the model tobacco plants. Therefore, it can be used for transferring into soybean plants to enhance soybean tolerance to abiotic stress.

Index Terms—Abiotic Stress, *Agrobacterium*-Mediated Transformation, *GmDREB6* Gene, Transcription Factors, Transgenic Vector.

I. INTRODUCTION

Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) not only brings economic, nutritive value but also can improve soil fertility. Soybean is considered as a crop that is quite sensitive to adverse impacts from externalities. Biotic (such as virus, bacteria and fungi) and abiotic (like drought, salinity, heat shock) stress have seriously affected the growth, development, productivity and quality of soybean. Some studies on improvement biotic and abiotic stress tolerance of

crops and soybeans using gene transfer have been reported [1]-[5]. In 2015, Lo et al. generated a *GmEXPI* construct to express recombinant expansion protein in tobacco plants. It was observed that overexpression of the *GmEXPI* gene in transgenic tobacco plants. The transgenic tobacco plants have improved drought tolerance as a result of an increase of the length and volume of transgenic plant roots in comparison to non-transgenic plants [1]. The 35S-*GmDREB2-cmcy* construct carrying *GmDREB2* gene was designed and transformed into *Nicotiana tabacum* [2]. According to these authors, the proline accumulation of the transgenic tobacco lines was higher than on non-transgenic plants during drought conditions. DREB (dehydration-responsive element binding) transcription factor has been identified and its function is to activate genes involved in abiotic stress response. The *cis*-element of *DREB* gene and the *trans*-factor of DREB protein play an important role in gene expression to react to abiotic stress. *Trans*-factors bind to *cis*-elements to activate expression of functional genes in plants under stressed conditions. In soybean, it was detected that *GmDREB6* gene has locus LOC100101914 on chromosome 5, the CDS region is 693 bp in length which encodes 230 amino acids. DNA-binding domain in plant proteins includes AP2 and EREBP. AP2 region of DREB6 protein is 59 amino acids in length. DNA binding site with 11 amino acids, which have positions at 60, 61, 63, 65, 67, 69, 73, 75, 82, 84, 87 respectively [6]. The promoter region of *GmDREB6* contains the *cis*-elements of *GT-1* and *DRE*, namely *DRE* (-1113), *GT-1* (-133, -1398, -1488, -1560, -1993). Based on the analysis results of *OsDREB2A* expression in transgenic soybean plants, Zhang et al. (2013) suggested that salt tolerance of the transgenic plants was improved because of the overexpression of *OsDREB2A*. The expression of 10 abiotic stress-response genes was identified to illustrate molecular mechanisms of *OsDREB2A* under salt stress conditions. There were four genes in *OsDREB2A* transgenic soybeans, including *GmDREB6*, *GmP5CS*, *GmERF3*, and *GmERF7* that had a considerable rise in expression in comparison to none-transgenic plants [7]. However, the relationship between the activity of *GmDREB6* transcription factor and the expression level of *GmP5CS* gene in transcription and translation stages of soybean is an issue to be proved by experiments. In this study, we present design results of the construct carrying *GmDREB6* genes and initially evaluate the activities of this structure on the model of tobacco plants. The results of this study will be fundamental for overexpression of the

Published on June 29, 2019.

Thi Ngoc Lan Nguyen is with the Thainguyn University of Education, Thainguyn University, Thai Nguyen, Vietnam (e-mail: nguyennngoclan@dhsptn.edu.vn)

Phutthakone Vaciaxa is with the Khangkhay Teacher Training College, Xiangkhoang, Laos (e-mail: phutthakone.kkct@gmail.com).

Thi Mai Thu Lo is with the Taybac University, Sonla, Viet Nam (e-mail: thubiotbu@gmail.com),

Thi Hai Yen Nguyen is with the Thainguyn University of Sciences, Thai Nguyen University, Thai Nguyen, Vietnam (e-mail: nguyenhaiyensh@gmail.com).

Thi Thanh Nhan Pham is with the Thainguyn University of Education, Thainguyn University, Thai Nguyen, Vietnam (e-mail: ptnhanbio@dhsptn.edu.vn).

Van Son Le is with the Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology, Hanoi, Vietnam (e-mail: levanson@ibt.ac.vn).

Hoang Mau Chu is with the Thainguyn University of Education, Thainguyn University, Thai Nguyen, Vietnam (e-mail: chuhoangmau@tnu.edu.vn) (*Corresponding Author)

transgenic tobacco plants at the transcriptional level. The transgenic vector *pBI121-GmDREB6* well worked on the model tobacco plants, so it can be used to transfer into target plants improves abiotic stress tolerance.



Fig. 6. The RT-PCR products of *GmDREB6* transgene amplified from mRNA of the T0 transgenic plants. M: DNA marker; (+): plasmid *pBI121-GmDREB6*; WT: non-transgenic plants; 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9: The transgenic tobacco plants were positive to Southern blot, T0-4, T0-5, T0-6, T0-7, T0-9, T0-11, T0-12, T0-13 respectively.

ACKNOWLEDGMENT

This study was supported by the Project with the code B2017-TNA-38 of Vietnam Ministry of Education and Training; the authors are grateful to them for their help and support in completing this research.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there are no conflicts of interest.

REFERENCES

- [1] Thanh Son LO, Hoang Duc LE, Vu Thanh Thanh NGUYEN, Hoang Ha CHU, Van Son LE, Hoang Mau CHU, "Overexpression of a soybean expansin gene, GmEXP1, improves drought tolerance in transgenic tobacco", *Turk J Bot*, vol. 39, pp. 988-995, 2015; <http://doi:10.3906/bot-1502-40>.
- [2] Dao Xuan Tan, Ho Manh Tuong, Vu Thi Thu Thuy, Le Van Son, and Chu Hoang Mau, "Cloning and Overexpression of GmDREB2 Gene from a Vietnamese Drought-resistant Soybean Variety", *Braz. Arch. Biol. Technol.*, vol. 58, pp. 651-657, 2015; <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132015050170>.
- [3] Lo Thi Mai Thu, Vi Thi Xuan Thuy, Duc Hoang Le, Le Le Son, Chu Hoang Ha, Chu Hoang Mau, "RNAi-mediated resistance to SMV and BYMV in transgenic tobacco", *Crop Breed. Appl. Biotechnol.*, vol. 16, pp. 213-218, pp. 2016; <http://dx.doi.org/10.1590/1984-70332016v16n3a32>.
- [4] Hoang Thi Thao, Nguyen Thi Ngoc Lan, Ho Manh Tuong, Nguyen Vu Thanh Thanh, Le Van Son, Chu Hoang Mau, "Expression analysis of recombinant Vigna radiata plant defensin 1 protein in transgenic tobacco plants", *J App Biol Biotech*, vol. 5, pp. 070-075. <https://doi:10.7324/JABB.2017.50112>.
- [5] Thi Xuan Thuy Vi, Thi Ngoc Lan Nguyen, Thi Thanh Nhan Pham, Huu Quan Nguyen, Thi Hai Yen Nguyen, Quang Tan Tu, Van Son Le, Hoang Mau Chu, "Overexpression of the *ZmDEF1* gene increases the resistance to weevil larvae in transgenic maize seeds", *Mol Biol Rep*, vol. 46, pp. 2177-2185; <https://doi.org/10.1007/s11033-019-04670-5>.
- [6] Liu Y.W., Chen M., Xu Z.S., Zh G.Y., Li L.C., Ma Y.Z., "Glycine max dehydration-responsive element binding protein 6 mRNA, complete cds". *GenBank* EF551166, 2007; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/EF551166>.
- [7] Zhang X.X., Tang Y.J., Ma Q.B., Yang C.Y., Mu Y.H., Suo H.C., Luo L.H., Nian H. (2013) OsDREB2A, a Rice transcription factor, significantly affects salt tolerance in transgenic soybean. *PLoS ONE* 8:e83011, 2013; doi:83010.81371/journal.pone.0083011.
- [8] Topping J.F., "Tobacco transformation", *Methods Mol Biol.*, vol. 81, pp. 365-372, 1998; <https://doi.org/10.1385/0-89603-385-6:365>.
- [9] Saghai-Marroof M.A., Soliman K.M., Jorgensen R.A., Allard R.W., "Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics", *Proc Natl Acad Sci USA*, vol. 81, pp. 8014-8018, 1984; doi: 10.1073/pnas.81.24.8014.
- [10] Southern E.M., "Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis", *J Mol Biol*, vol. 98, pp.503-517, 1975; [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(75\)80083-0](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(75)80083-0).



Article

The *Aconitum carmichaelii* F3'5'H Gene Overexpression Increases Flavonoid Accumulation in Transgenic Tobacco Plants

Yen Thi Hai Nguyen ¹, Hoan Thi Thu Hoang ^{2,3}, Anh Thi Hoang Mai ⁴, Lan Thi Ngoc Nguyen ^{2,*}, Quan Huu Nguyen ², Nhan Thi Thanh Pham ², Thuong Danh Sy ² and Mau Hoang Chu ^{2,*}

¹ Department of Biotechnology, TNU-University of Sciences, Thai Nguyen 250000, Vietnam; yennth@tnus.edu.vn

² School of Biology, TNU-University of Education, Thai Nguyen 250000, Vietnam; quannh@tnue.edu.vn (Q.H.N.); ptnhanbio@tnue.edu.vn (N.T.T.P.); thuongsd@tnue.edu.vn (T.D.S.); thuhoan225@gmail.com (H.T.T.H.)

³ Faculty of Agriculture-Forestry and Fishery, Tan Trao University, Tuyen Quang 300000, Vietnam

⁴ Hoang Van Thu Secondary School, Department of Education and Training, Thai Nguyen 250000, Vietnam; hoanganhhnue98@gmail.com

* Correspondence: ntnlan.dhsptn@tnu.edu.vn (L.T.N.N.); chuhoangmau@tnu.edu.vn (M.H.C.)



Citation: Nguyen, Y.T.H.; Hoang, H.T.T.; Mai, A.T.H.; Nguyen, L.T.N.; Nguyen, Q.H.; Pham, N.T.T.; Sy, T.D.; Chu, M.H. The *Aconitum carmichaelii* F3'5'H Gene Overexpression Increases Flavonoid Accumulation in Transgenic Tobacco Plants. *Horticulturae* **2021**, *7*, 384. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7100384>

Academic Editor: Silvana Nicola

Received: 30 July 2021

Accepted: 28 September 2021

Published: 9 October 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: *Aconitum carmichaelii* Debx. is a herbal species that contains many precious bioactive substances, which are alkaloids, flavonoids, steroids, and glycosides. Flavonoids, which are major secondary compounds, play an important role in maintaining redox balance in the cells of the plant body. Many flavonoids have antibacterial, antioxidant, and anticancer properties. However, studies have mainly focused on aconitine, which is a highly toxic group A poison belonging to the alkaloid group, but with little mention of flavonoids. The flavonoids in *A. carmichaelii* are a group of substances with high content, concentrated in leaves and flowers, including quercetin and kaempferol. F3'5'H (Flavonoid 3'5'-hydroxylase) has been identified as the key enzyme involved in the final steps of flavonoid biosynthesis in plants in general and in *A. carmichaelii* specifically. This study offers the first report, and demonstrates that the overexpression of the F3'5'H gene from a herbal plant, *A. carmichaelii*, increases flavonoid content in genetically modified tobacco plants. The *A. carmichaelii* gene was transformed into tobacco leaf tissue to create transgenic tobacco plants. The *AcF3'5'H* gene was incorporated into the tobacco genome and was expressed in four transgenic tobacco lines (T₀1, T₀3, T₀5, and T₀14). The F3'5'H content increased from 20.33% to 32.00% compared with that in non-transformed plants ($P < 0.001$). Therefore, the flavonoid content of four transgenic tobacco lines increased compared to the WT, from 69.23% to 122.23% ($P < 0.001$). The results of the successful expression of the *AcF3'5'H* gene in model tobacco plants are the basis for using the *AcF3'5'H* gene for improving flavonoid content in other medicinal plants. Thus, the *AcF3'5'H* gene considered in this work could be a candidate for gene technology to enhance flavonoid accumulation in plants.

Keywords: *AcF3'5'H* gene overexpression; flavonoid; recombinant flavonoid 3'5'-hydroxylase; genetic transformation; genetically modified tobacco

1. Introduction

Flavonoids are major secondary compounds with important functions in maintaining redox balance in plant cells. Many flavonoid types have antibacterial, antioxidant, and anticancer properties. *Aconitum carmichaelii* contains aconitine, which is a highly toxic group A poison, but *A. carmichaelii* is still believed to be a precious medicine and is widely used in traditional medicine [1], such that flavonoids from medicinal plants, including *Aconitum* species, are of interest in the development of modern pharmaceuticals. Flavonoid biosynthesis (Figure S1) is a metabolic process with the participation of many important enzymes, such as chalcone synthase, chalcone isomerase, flavone 3-hydroxylase, flavonoid 3'-hydroxylase, flavonoid 3'5'-hydroxylase (F3'5'H), flavonol synthase enzyme, flavonol

23. Sullivan, A.R.; Schiffthaler, B.; Thompson, S.L.; Street, N.R.; Wang, X.R. Interspecific Plastome Recombination Reflects Ancient Reticulate Evolution in *Picea* (Pinaceae). *Mol. Biol. Evol.* **2017**, *34*, 1689–1701. [CrossRef]
24. Ferrer, J.L.; Austin, M.B.; Stewart, C.J.; Noel, J.P. Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. *Plant Physiol. Biochem.* **2008**, *46*, 356–370. [CrossRef]
25. He, Y.N.; Ou, S.P.; Xiong, X.; Pan, Y.; Pei, J.; Xu, R.C.; Geng, F.N.; Han, L.; Zhang, D.K.; Yang, M. Stems and leaves of *Aconitum carmichaelii* Debx. as potential herbal resources for treating rheumatoid arthritis: Chemical analysis, toxicity and activity evaluation. *Chin. J. Nat. Med.* **2018**, *16*, 644–652. [CrossRef]
26. Kim, S.Y.; Cheon, K.S.; Im, S.M.; Kwon, O.H.; Yoo, B.S.; Kim, M.S.; Le, S.Y. Isolation and Expression Pattern of Flavonoid 3',5'-hydroxylase Gene in *Clematis patens*. *Flower Res. J.* **2016**, *24*, 205–211. [CrossRef]
27. Kim, Y.B.; Kim, K.S.; Kim, Y.J.; Pham, A.T.; Kim, H.H.; Cho, J.W.; Park, S.U. Cloning and characterization of a flavonol synthase gene from *Scutellaria baicalensis*. *Sci. World J.* **2014**, 980740. [CrossRef]
28. Wu, Y.; Wang, T.; Xin, Y.; Wang, G.; Xu, L. Overexpression of GbF3'5'H1 Provides a Potential to Improve the Content of Epicatechin and Gallocatechin. *Molecules* **2020**, *25*, 4836. [CrossRef] [PubMed]
29. Nguyen, T.N.L.; Hoang, T.T.H.; Nguyen, H.Q.; Tu, Q.T.; Tran, T.H.; Lo, T.M.T.; Vu, T.T.T.; Chu, H.M. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated genetic transformation and overexpression of the flavonoid 3'5'-hydroxylase gene increases the flavonoid content of the transgenic *Aconitum carmichaelii* Debx. *Plant. Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* **2021**, 107. [CrossRef]

NGHIÊN CỨU PHÂN LẬP MỘT SỐ VI SINH VẬT GÂY BỆNH Ở THỰC VẬT VÀ THỬ NGHIỆM HOẠT TÍNH KHÁNG CỦA MỘT SỐ CHẾ PHẨM CÓ NGUỒN GỐC SINH HỌC

Phạm Thị Thanh Nhân*, Phạm Quang Sơn, Cao Thị Phương Thảo, Lê Hữu Thiêng
Trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên

TÓM TẮT

Cây trà hay chè (*Camellia sinensis*), quýt Bắc Sơn (*Citrus reticulata Blanco*) và trám nếp đen (*Canarium tramdenum*) là những loại cây mang lại giá trị kinh tế cao cho người dân. Tuy nhiên, Việt Nam có khí hậu nhiệt đới gió mùa, thời tiết thường xuyên nồm ẩm. Đây chính là điều kiện cho các loài vi sinh vật gây bệnh ở thực vật phát triển. Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu phân lập một số vi sinh vật gây bệnh ở cây trà, cây quýt và cây trám nếp đen và thử nghiệm hoạt tính kháng của một số chế phẩm có nguồn gốc sinh học. Kết quả phân lập được 05 chủng vi khuẩn và 02 chủng nấm gây bệnh ở chè, quýt và trám nếp đen. Cao chiết từ các bộ phận cây Thanh ngâm (*Picria felterrae Lour*) bằng ethanol trong 72 giờ có khả năng ức chế chủng vi khuẩn Q2 ở quýt (nồng độ 200 g/l) và chủng nấm N1 ở chè (nồng độ 150 g/l). Phức chất $\text{Er(Asp)}_3\text{phenCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (nồng độ 10 $\mu\text{g/ml}$) có khả năng ức chế 5 chủng vi khuẩn phân lập được gồm: vi khuẩn C1 ở chè, vi khuẩn T1 và T2 ở trám, vi khuẩn Q1 và Q2 ở quýt.

Từ khóa: Cao chiết; hoạt tính kháng; phân lập; phức chất; vi sinh vật gây bệnh.

Ngày nhận bài: 07/10/2019; Ngày hoàn thiện: 15/6/2020; Ngày đăng: 10/7/2020

ISOLATION OF SOME PATHOGENETIC MICROORGANISMS IN PLANTS AND TESTING THE RESISTANCE ACTIVITY OF SOME BIOLOGICAL PRODUCTS

Phạm Thị Thanh Nhân*, Phạm Quang Sơn, Cao Thị Phương Thảo, Lê Hữu Thiêng
TNU - University of Education

ABSTRACT

Tea tree (*Camellia sinensis*), Bac Son tangerine (*Citrus reticulata Blanco*) and black sticky canarium (*Canarium tramdenum*) are the plants bringing the high economic value to farmers. However, Vietnam has a tropical climate, it is often damp. This is the favourable condition for growth of pathogenic microorganisms in plants. This paper presents the research results about isolation of some pathogenic microorganisms in tea, tangerine and black sticky canarium trees and testing the resistance activity of some biological products. There are 05 strains of bacteria and 02 strains of fungi causing disease in tea, tangerine and black sticky canarium isolated. The extract from different parts of *Picria felterrae Lour* by ethanol for 72 hours has ability to inhibit Q2 bacterial strains in tangerines (concentration of 200 g/l) and N1 fungi strain in tea (concentration of 150 g/l). The complex $\text{Er(Asp)}_3\text{phenCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (concentration of 10 $\mu\text{g/ml}$) is capable of inhibiting 5 bacterial strains isolated including: C1 strain in tea, T1 and T2 strains in black sticky canarium, Q1 and Q2 strains in tangerine.

Keywords: Extract; resistance activity; isolation; complex; pathogenic microorganisms.

Received: 07/10/2019; Revised: 15/6/2020; Published: 10/7/2020

* Corresponding author. Email: ptnhanbio@tnue.edu.vn

Phức chất $\text{Er(Asp)}_3\text{phenCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (nồng độ 10 $\mu\text{g/ml}$) có khả năng ức chế 5 chủng vi khuẩn phân lập được gồm: vi khuẩn C1 ở chè, vi khuẩn T1 và T2 ở trám, vi khuẩn Q1 và Q2 ở quýt.

Lời cảm ơn

Các tác giả xin trân trọng cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí từ Đề tài nghiên cứu khoa học cấp đại học (mã số ĐH2018- TN04- 02).

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1]. S. Reuter, S. C. Gupta, M. M. Chaturvedi, and B. B. Aggarwal, "Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked?," *Free Radic Biol Med.* 1, vol. 49, no. 11, pp. 1603-1616, 2010.
- [2]. V. C. Vo, *Vietnam medicinal plant dictionary*. Medicine Publishing House, 1997.
- [3]. T. V. H. Bui, "Study on actinomycetes synthesizing antibiotics against plant pathogenic fungi in Vietnam," PhD thesis in biology, VNU University of Science, 2006.
- [4]. R. W. Mwanauta, K. M. Mtei, and P. A. Ndakidemi, "Potential of Controlling Common Bean Insect Pests (Bean Stem Maggot (*Ophiomyia phaseoli*), *Oothea* (*Oothea bennigseni*) and Aphids (*Aphis fabae*)) Using Agronomic, Biological and Botanical Practices in Field," *Agricultural Sciences*, vol. 06, no. 05, pp. 489-497, 2015.
- [5]. D. Pimentel, H. Acquay, M. Biltomen, P. Rice, M. Silva, J. Nelson, V. Lipner, S. Giordana, A. Horowitz, and M. D'amore, *The Pesticide Question: Assesment of environmental and economic impacts of pesticide use*. Springer, Boston, MA Publisher, 1993, pp. 47-84.
- [6]. H. Q. Nguyen, *Study on effect of complexes and enzyme systems on the growth ability of some pathogenic microorganisms*, Report of technological and scientific project at the grassroots level, Thai Nguyen University of Education, 2016.
- [7]. T. M. D. Vu, *Microbiology Practice*. Vietnam National University Press, 2001.
- [8]. F. Hadacek, and H. Greger, "Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice," *Phytochem Anal.*, vol. 11, pp. 137-147, 2000.
- [9]. V. N. Quang, and B. E. Jong, "Antimicrobial activity of some Vietnamese medicinal plants extracts," *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 7, no. 35, pp. 2597-2605, 2013.
- [10]. J. Huber, H. Bochow, and H. Junge, "Selektion und biotechnische Herstellung von Kulturlösungen mikrobieller Antagonisten zur Unterdrückung phytopathogener Bodenpilze," *Journal of Basic Microbiology*, vol. 27, no. 9, pp. 497-503, 1987.
- [11]. T. X. T. Dai, H. B. N. Lam, and T. T. A. Vo, "Studies on antibacterial and antioxidant activities of methanolic extract from *Streptocaulon juventas* Merr.," *Can Tho University Journal of Science*, vol. 40, pp. 1-6, 2015.

NGHIÊN CỨU CÔNG THỨC KHỬ TRÙNG MẪU VÀ MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY *IN VITRO* CÂY BÌNH VÔI HOA ĐẦU (*Stephania cepharantha* Hayata)

Phạm Thị Thanh Nhân^{*}, Trần Thị Hồng, Hoàng Phú Hiệp,
Cao Thị Phương Thảo, Từ Quang Tân, Chu Hoàng Mậu

Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên

TÓM TẮT

Cây Bình vôi (*Stephania* spp.) được sử dụng phổ biến trong y học. Củ Bình vôi chứa một lượng alkaloid như L - tetrahydropalmatin (rotundin), stepharin, roemerin, cycleanin. Những hợp chất này được sử dụng để điều chế thuốc an thần, điều hòa hoạt động tim và hô hấp, tăng khả năng miễn dịch, ức chế tế bào ung thư, trực khuẩn lao, quá trình sao chép của HIV. Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu khử trùng mẫu và môi trường tạo đa chồi *in vitro* của cây Bình vôi hoa đầu. Công thức khử trùng mẫu cây là đoạn thân non chứa chồi ngủ (dài 1,5 - 2 cm) được rửa sạch và ngâm trong dung dịch xà phòng loãng 30 phút, rửa sạch bằng nước cất khử trùng và lắc trong dung dịch HgCl₂ 0,1% trong 5 phút, sau 3 - 5 lần rửa bằng nước cất khử trùng, mẫu được cấy trên môi trường MS có tỉ lệ mẫu sạch sống sót là 92,24%, tỉ lệ mẫu nhiễm nấm, khuẩn và chết là 7,76%. Môi trường MS cơ bản bổ sung sucrose 30 g/L + agar 8 g/L + nước dừa 100 mL/L + than hoạt tính 1 g/L + BAP 1,0 mg/L có số chồi/mẫu đạt 1,74; chiều cao chồi đạt 1,07 cm sau 7 tuần nuôi cấy.

Từ khóa: BAP, *in vitro*, kinetin, *Stephania cepharantha* Hayata, tạo chồi.

MỞ ĐẦU

Cây Bình vôi có nhiều loài khác nhau, tên khoa học chung là *Stephania* spp., thuộc họ Tiết dê (Menispermaceae), được sử dụng phổ biến trong y học ở trong nước và trên thế giới. Củ Bình vôi chứa một lượng alkaloid stepharin, L - tetrahydropalmatin (rotundin), roemerin, cycleanin (Manske R.H.F., 1973). Những hợp chất này được sử dụng để điều chế các loại thuốc, đặc biệt thuốc an thần (Dương Hữu Lợi, 1996). Hàm lượng alkaloid cũng như rotundin thay đổi tùy loài và vùng thu hái (Nguyễn Tiến Vững, 2000). Việc xác định các hợp chất hóa học đã được thực hiện ở các đối tượng *S. tetrandra* S. Moore, *S. cepharantha* Hayata, *S. glabra* (Roxb.) Miels, *S. japonica* (Thunb.), Miels and *S. venosa* (Blume) Spreng và hơn 70 alkaloid được báo cáo. Theo Bùi Thị Bằng (2006), hàm lượng rotundin đạt tới 3,55% ở loài *S. brachyandra* Diels (thu ở Hoàng Liên Sơn), 1,31% ở loài *S. sinica* Diels (thu ở Hà Nam), 1,3% ở loài *S. kwangsinensis* H.S.Lo (thu ở Quảng Ninh), 0,72% ở loài *S. hainanensis* H.S.Lo et Y.TSoong (thu ở Thanh Hóa), 0,62% ở loài *S. cambodia* Gagnep (thu ở Lâm Đồng).

Tác dụng dược lý của rotundin đã được nghiên cứu ở Việt Nam, Liên Xô cũ và Trung Quốc như: rất ít độc, chứa tăng nhu động và ống tiêu hóa bị giập, điều hòa và bổ tim, điều hòa hô hấp, có thể dùng chữa hen hay chữa nấc, tác dụng an thần, gây ngủ và chống co quắp, hạ huyết áp (Nguyễn Minh Chính, 2001; Nguyễn Tiến Vững *et al.*, 1998). Trên súc vật bị chiếu xạ tia X, cepharanthin với liều 1 mg/kg được chiết tách từ *S. cepharanthu* và *S. pierreii* làm giảm nhẹ hiện tượng giảm bạch cầu máu ngoại vi và rút ngắn thời gian hồi phục về mức bình thường. Thí nghiệm *in vitro* cho thấy cepharanthin ức chế sự tăng sinh của các tế bào ung thư Hela và Hela S3. Cepharanthin ức chế sự phát triển của trực khuẩn lao và ức chế mạnh quá trình sao chép của HIV-1 (Deepak Kurmar Semwal *et al.*, 2010). Do vậy, nguồn nguyên liệu tự nhiên đã bị khai thác ngày một nhiều và ngày càng cạn kiệt, và đã được ghi trong Sách đỏ Việt Nam (Bậc V) và Danh mục Thực vật rừng, Động vật rừng nguy cấp, quý hiếm (nhóm 2) của Nghị định số 32/2006/NĐ - CP ngày 30/3/2006 của Chính phủ để hạn chế khai thác, sử dụng vì mục đích thương mại (Sách đỏ Việt Nam, 1996).

Trong tự nhiên, đoạn thân, cành bánh tẻ và các mảnh củ (cắt từ phần gốc) được trồng vào mùa xuân. Nhưng tốc độ sinh trưởng, phát triển rất chậm, tỉ lệ sống sót đạt khoảng 33%. Cây Bình vôi trong tự nhiên chủ yếu sinh sản bằng hạt. Sau khoảng 4 tháng tuổi, củ dần dần được hình thành. Tỉ lệ nảy mầm của hạt Bình vôi cũng rất khác nhau ở các điều kiện, cao nhất đạt 85% khi hạt còn tươi (Viện Dược liệu, 2003). Để vừa đáp ứng được nhu cầu sử dụng dược liệu, vừa bảo tồn và phát triển loài cây thuốc này ở Việt Nam, kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật được ứng dụng trong nhân giống cây Bình vôi hoa đầu (*Stephania cepharantha* Hayata), góp phần vào việc xây dựng quy trình nhân giống *in vitro* cây này tại Việt Nam.

Bộ Khoa học công nghệ, Viện Khoa học công nghệ Việt Nam (1996), *Sách đỏ Việt Nam*, NXB Khoa học tự nhiên và công nghệ Hà Nội: 258-264.

Nguyễn Minh Chính (2001). *Nghiên cứu chiết tách rotundin từ củ một số loài Bình vôi (thuộc chi Stephania Lour.), điều chế rotundin sulfat để bào chế thuốc tiêm*, NXB Đại học Cần Thơ: 3-4.

Semwal DK, Badoni R, Semwal R, Kothiyal SK, Singh GJP, Rawat U (2010). The genus *Stephania* (Menispermaceae): Chemical and pharmacological perspectives, *J Ethnopharmacol* 132: 369-383.

Dương Hữu Lợi (1996). Nghiên cứu hoạt chất từ củ Bình vôi, *Tạp chí y học Việt Nam* 1: 14-23.

Manske RHF (1973). *The alkaloid- chemistry and Physiology*, volume XIV, Academic Press- New York- London.

Viện Dược liệu (2003), *Kỹ thuật trồng cây thuốc*, NXB Y học: 3-7.

Nguyễn Thị Tinh, Phạm Thị Thủy, Dương Mạnh Cường, Nguyễn Hữu Thọ, Nguyễn Văn Bảo, Ngô Xuân Bình (2015). Nhân giống cây Bình vôi tím (*Stephania rotunda* Lour) bằng kỹ thuật nuôi cấy đoạn thân, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn* 11: 242-248.

Nguyễn Tiến Vững (2000), *Nghiên cứu về thực vật, hóa học và tác dụng sinh học của một số loài thuộc chi Stephania Lour. ở Việt Nam*, Luận án tiến sĩ Dược học.

Nguyễn Tiến Vững, Phạm Thanh Kỳ, Bùi Kim Liên, Chu Đình Kính, Trịnh Văn Bảo (1998). Tác dụng của L-tetrahydropalmatin chiết suất từ củ loài bình vôi *Stephania glabra* (Roxb.) Miers lên điện tim và điện não thỏ, *Tạp chí Dược học* 269: 21-23.

STUDY ON STERILIZING PLANT MATERIALS AND THE *IN VITRO* CULTURE MEDIUM OF *Stephania cepharantha* Hayata

Pham Thi Thanh Nhan*, Tran Thi Hong, Hoang Phu Hiep, Cao Thi Phuong Thao, Tu Quang Tan, Chu Hoang Mau

School of Biology, Thai Nguyen University of Education

SUMMARY

Stephania spp. are well-known for the popular medical plants. Their tubers contain a number of alkaloids such as L - tetrahydropalmatin (rotundin), stepharin, roemerin, cycleanin. These compounds are commonly used to produce drugs of tranquilizer, regulation cardiac and respiratory activities, increase immunity, inhibition the growth of cancer cells, tubercle bacilli and process of HIV replication. This study presents the results of sterilizing plant materials and the *in vitro* medium for multi- shoot formation of *Stephania* spp. with yellow tubers. The suitably sterilizing protocol is to wash trunk segments (1.5 - 2 cm in length) by tap-water. After soaking samples in the weak soapy solution for 30 minutes, they were shaken in HgCl₂ 0.1% for 5 minutes and washed by sterilized water from 3 to 5 times. Samples were cultured in the MS medium with the survival rate of 92.24%, the rate of samples infected with fungi, bacteria and died was 7,76%. The optimum medium formula for rapid shoot organogenesis from segments of the trunk is the basal MS medium supplemented with sucrose 3%, agar 0.8%, coconut 100 mL/L water, active carbon 1 g/L and BAP 1.0 mg/L with 1.74 shoots/sample, 1.07 cm of the mean shoot height after 7 weeks of culture.

Keywords: BAP, *in vitro*, kinetin, *Stephania cepharantha* Hayata, shoot formation.

*Corresponding author: Tel: +84-989 516346; Email: ptnhanbio@tnue.edu.vn

NGHIÊN CỨU CÔNG THỨC KHỬ TRÙNG MẪU VÀ MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY *IN VITRO* CÂY BÌNH VÔI VÀNG (*Stephania* spp.)

Tangmany SYSOMEPHONE¹, Ngô Diễm Quỳnh²,
PHANTHAHAK Santhana², Nongkhan MANISOK², Phạm Thị Thanh Nhân^{2*}

¹Viện nghiên cứu Khoa học giáo dục - Bộ Giáo dục và Thể thao, Lào,

²Trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên

TÓM TẮT

Cây Bình vôi (*Stephania* spp.) được sử dụng phổ biến trong y học. Củ Bình vôi chứa một lượng alkaloid như L - tetrahydropalmin (rotundin), stepharin, roemerin, cycleanin. Những hợp chất này được sử dụng để điều chế thuốc an thần, điều hòa hoạt động tim và hô hấp, tăng khả năng miễn dịch, ức chế tế bào ung thư, trực khuẩn lao, quá trình sao chép của HIV. Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu khử trùng mẫu và môi trường tạo đa chồi *in vitro* của cây Bình vôi vàng. Công thức khử trùng mẫu cây là đoạn thân non chứa chồi ngủ (dài 1,5 – 2 cm) được rửa sạch và ngâm trong dung dịch xà phòng loãng 30 phút, rửa sạch bằng nước cất khử trùng và lắc trong dung dịch HgCl₂ 0,1% trong 5 phút, sau 3 - 5 lần rửa bằng nước cất khử trùng, mẫu được cấy trên môi trường MS có tỷ lệ mẫu sạch sống sót là 93,33%. Môi trường MS cơ bản bổ sung sucrose 30 g/l + agar 8 g/l + nước dừa 100 ml/l + BAP 2,0 mg/l có số chồi/mẫu đạt 6,05; chiều cao chồi đạt 0,87 cm sau 7 tuần nuôi cấy. Môi trường MS cơ bản bổ sung sucrose 30 g/l + agar 8 g/l + nước dừa 100 ml/l + BAP 2,0 mg/l + NAA 0,6 mg/l phù hợp cho sự sinh trưởng, phát triển của cây Bình vôi vàng hoàn chỉnh, số rễ/mẫu đạt 5,71, chiều dài rễ đạt 4,08 cm sau 7 tuần nuôi cấy.

Từ khóa: BAP; NAA; *Stephania* spp; tạo chồi; tạo rễ.

Ngày nhận bài: 21/02/2020; Ngày hoàn thiện: 15/6/2020; Ngày đăng: 10/7/2020

STUDY ON STERILIZING PLANT MATERIALS AND THE *IN VITRO* CULTURE MEDIUM OF *Stephania* spp. WITH YELLOW TUBERS

Tangmany SYSOMEPHONE¹, Ngo Diem Quynh²,
PHANTHAHAK Santhana², MANISOK Nongkhan², Pham Thi Thanh Nhan^{2*}

¹Research Institute for Educational Sciences - Ministry of Education and Sports, Laos,

²TNU - University of Education

ABSTRACT

Stephania spp. are well-known for the popular medical plants. Their tubers contain a number of alkaloids such as L - tetrahydropalmin (rotundin), stepharin, roemerin, cycleanin. These compounds are commonly used to produce drugs of tranquilizer, regulation cardiac and respiratory activities, increase immunity, inhibition the growth of cancer cells, tubercle bacilli and process of HIV replication. This paper presents the results of sterilizing plant materials and the *in vitro* medium for multi-shoot formation of *Stephania* spp. with yellow tubers. The suitably sterilizing protocol is to wash trunk segments (1.5 - 2 cm in length) by tap-water. After soaking samples in the weak soapy solution for 30 minutes, they were shaken in HgCl₂ 0.1% for 5 minutes and washed by sterilized water from 3 to 5 times. Samples were cultured in the MS medium with the survival rate of 93.33%. The optimum medium formula for rapid shoot organogenesis from segments of the trunk is the basal MS medium supplemented with sucrose 3%, agar 0.8%, coconut water 100 ml. L⁻¹ and BAP 2.0 mg. L⁻¹ with 6.05 shoots/sample, 0.87cm of the mean shoot height after 7 weeks of culture. The MS medium supplemented with sucrose 3%, agar 0.8%, coconut water 100 ml. L⁻¹ + BAP 2.0 mg. L⁻¹ + NAA 0.6 mg. L⁻¹ suitable for the growth and development of a complete *in vitro* plants, the number of roots/ samples reached 5.71, root length reached 4.08 cm after 7 weeks of culture.

Keywords: BAP; NAA; *Stephania* spp; shoot formation; root formation.

Received: 21/02/2020; Revised: 15/6/2020; Published: 10/7/2020

* Corresponding author. Email: ptnhanbio@tnue.edu.vn

mg là tối ưu cho số rễ/mẫu đạt 2,6 sau 5 tuần nuôi cấy [10].

Như vậy, cây Bình vôi vàng *in vitro* sinh trưởng và phát triển tốt trên môi trường MS cơ bản có bổ sung NAA 0,6 mg/l + agar 8 g/l + sucrose 30 g/l + nước dừa 100 ml/l + BAP 2,0 mg/l, pH = 5,8.

4. Kết luận

Công thức khử trùng mẫu cây Bình vôi vàng là đoạn thân non chứa chồi ngủ (dài 1,5 – 2 cm) được rửa sạch và ngâm trong dung dịch xà phòng loãng 30 phút, rửa sạch bằng nước cất khử trùng và lắc trong dung dịch HgCl₂ 0,1% trong 5 phút, sau 3 - 5 lần rửa bằng nước cất khử trùng, mẫu được cấy trên môi trường MS có tỷ lệ mẫu sạch sống sót là 93,33%.

Môi trường MS cơ bản bổ sung nước dừa 100 ml/l + BAP 2,0 mg/l có số chồi/mẫu đạt 6,05; chiều cao chồi đạt 0,87 cm sau 7 tuần nuôi cấy. Môi trường MS cơ bản bổ sung nước dừa 100 ml/l + BAP 2,0 mg/l + NAA 0,6 mg/l phù hợp cho sự sinh trưởng, phát triển của cây Bình vôi vàng hoàn chỉnh, số rễ/mẫu đạt 5,71, chiều dài rễ đạt 4,08 cm sau 7 tuần nuôi cấy.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn sự hỗ trợ của Đề tài cấp Bộ mã số B2019-TNA-09.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1]. H. L. Duong, "Study on active compounds from tubers of *Stephania*," *Vietnam Medical Journal*, no. 1, pp. 14-23, 1996.
- [2]. T. V. Nguyen, "Study on botany, chemistry and biological effects of some species of *Stephania* Lour. in Vietnam," Doctoral thesis of Pharmacology, HaNoi University of Pharmacy, 2000.
- [3]. T. B. Bui, *Physical-chemical methods applied in analysis and testing of pharmaceutical materials*. Science and Technology Publishing House, Hanoi, 2006.
- [4]. M. C. Nguyen, *Study on extraction of rotundin from tubers of some *Stephania* species (belonging to *Stephania* Lour.), preparation of rotundin sulfate for making injectable drug*. Can Tho University Publishing House, 2001.
- [5]. T. V. Nguyen, T. K. Pham, K. L. Bui, D. K. Chu, and V. B. Trinh, "The effects of L-tetrahydropalmatin extracted from *Stephania glabra* (Roxb.) Miers tubers on the ECG and EEG of rabbits," *Journal of Pharmacology*, vol. 269, pp. 21-23, 1998.
- [6]. D. K. Semwal, R. Badoni, R. Semwal, S. K. Kothiyal, G. J. P. Singh, and U. Rawat, "The genus *Stephania* (Menispermaceae): Chemical and pharmacological perspectives," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 132, pp. 369-383, 2010.
- [7]. R. H. F. Manske, *The alkaloid- chemistry and Physiology*. Academic Press- New York-London, 1973, vol. XIV.
- [8]. Ministry of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, *Vietnam's Red Data Book*. Hanoi Natural Science and Technology Publishing House, 1996, pp. 258-264.
- [9]. National Institute of Medicinal Materials, *Technology of growing medicinal plants*. Medicine Publishing House, 2003, pp. 3-7.
- [10]. T. T. Nguyen, T. T. Pham, M. C. Duong, H. T. Nguyen, V. B. Nguyen, and X. B. Ngo, "Multiplication of purple *Stepharia* (*Stepharia rotunda* Lour) by trunk segment culture technique," *Science and Technology Journal of Agriculture and Rural Development*, vol. 11, pp. 242-248, 2015.

ISSN 1859 - 2171



ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
THAINGUYEN UNIVERSITY

ISSN 1859 - 2171

TẠP CHÍ KHOA HỌC & CÔNG NGHỆ

TẠP CHÍ
KHOA HỌC
CÔNG NGHỆ
JOURNAL OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

CHUYÊN SAN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP - LÂM NGHIỆP - Y DƯỢC
AGRICULTURE - FORESTRY - MEDICINE & PHARMACY

Tập 202, Số 09, 2019

Tập 202, Số 09, 2019

202(09)

Năm 2019

Tập chí Khoa học và Công nghệ

Journal of Science and Technology

CHUYÊN SAN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP – LÂM NGHIỆP – Y DƯỢC

Mục lục	Trang
Chu Đức Hà, Trần Thị Thu Thủy, Phạm Phương Thu, Phạm Thị Lý Thu, Phạm Thị Xuân, La Việt Hồng - Phân tích tính đặc thù trong cấu trúc của tiểu phần nuclear factor-ya ở cây họ đậu	3
Nguyễn Văn Hiền, Đinh Thị Hải Yến - Dẫn liệu về côn trùng nước ở suối Sáo Mỹ Tỷ và suối Nặm Càng thuộc vườn quốc gia Hoàng Liên, tỉnh Lào Cai, Việt Nam	9
Lê Thị Huyền Trinh, Lê Thanh Tùng - Ngưỡng nguy cơ của một số hội chứng rối loạn nhiễm sắc thể khi sử dụng công thức 3T trong triple test tại Nam Định	15
Đỗ Thị Lan Phương, Nguyễn Thị Kim Lan, Nguyễn Thị Ngân - Tình hình mắc bệnh gạo (Swine Cysticercosis) trên đàn lợn tại một số huyện của tỉnh Điện Biên	23
Trương Quang Vinh, Trịnh Đình Khả, Nguyễn Xuân Hương - Nghiên cứu định danh chủng <i>Bacillus subtilis</i> LS6	29
Hoàng Thị Thu Yến, Nguyễn Thị Yến, Huỳnh Thị Thu Huệ, Nguyễn Hải Đăng - Tối ưu biểu hiện CsLAR1 tại tổ hợp trong vi khuẩn <i>E. Coli</i> rosetta và phân tích hoạt tính	37
Nguyễn Xuân Thành - Nghiên cứu một số đặc tính của màng 3D-nano-cellulose hấp phụ berberin định hướng dùng bọc thực phẩm tươi sống	45
Nguyễn Việt Hưng, Phạm Văn Chương - Nghiên cứu ảnh hưởng của tuổi cây, vị trí trên thân cây đến một số thành phần hoá học của luồng (<i>Dendrocalamus barbatus</i> Haueh et D. Z. Li) tại Thanh Hoá	53
Nguyễn Minh Tuấn, Luân Thị Đẹp, Hà Minh Tuấn, Hứa Thị Toàn, Nguyễn Khánh Phương - Nghiên cứu khả năng sinh trưởng, phát triển của giống quýt ngọt không hạt (<i>Citrus Unshu</i> Marc) tại Bắc Kạn và Thái Nguyên	59
Nguyễn Thị Bích Đào, Nguyễn Đức Trường, Nguyễn Thu Trang, Đặng Thị Mai Lan - Ảnh hưởng của thông tin trong lập khẩu phần đến năng suất của gà Ross 508	67
Nguyễn Thị Tuyền, Nguyễn Việt Hưng - Nghiên cứu sử dụng dịch chiết từ sả Java (<i>Cymbopogon Winterianus</i>) trong bảo quản gỗ thông (<i>Pinus Lateri</i>)	73
Quyên Thị Dung - Chế độ tưới và diễn biến hàm lượng phot pho dễ tiêu trong đất trồng lúa	79
Bùi Minh Hồng, Nguyễn Thanh Văn, Lê Trung Dũng - Nghiên cứu thành phần loài côn trùng gây hại và côn trùng ngoại lai ở xã Hoàng Hoa Thám, thành phố Chí Linh, Hải Dương	85
Thongkham LAPHASY, Phạm Thị Thanh Nhân - Nghiên cứu tạo rễ in vitro và giả thể ngoài vườn ươm của cây râu mèo (<i>Orthosiphon aristatus</i>)	93
Trần Văn Thắng, Nguyễn Thị Lan, Tạ Văn Cần, Nguyễn Văn Đại - Xác định giá trị dinh dưỡng của một số loại thức ăn phổ biến nuôi trâu bằng phương pháp in vitro gas production	99
Lò Thị Mai Thu, Trịnh Thị Thủy, Chu Hoàng Mậu - Định danh loài bằng mã vạch DNA và phân tích trình tự vùng ITS và đoạn gen rpoC1 của mẫu lợn kim tuyến thu tại huyện Thuận Châu, tỉnh Sơn La, Việt Nam	107
Cao Phi Bổng, Trần Thị Thanh Huyền, Chu Thị Bích Ngọc, Trần Thị Mai Lan, Nguyễn Thị Thanh Hương, Lê Thị Mân, Nguyễn Phương Quý, Trần Trung Kiên, Bùi Thị Hải Yến - Ảnh hưởng của các nồng độ NPK tới sinh trưởng và một số chỉ tiêu sinh lý của cây lan <i>Dendrobium luteum</i> (<i>Dendrobium</i> sp.)	115
Nguyễn Xuân Thành - Phát triển và thẩm định phương pháp phân tích định lượng curcumin trong lá nghệ thương mại	121
Phan Thị Hồng Phúc, La Văn Công, Trần Nhật Thắng, Nguyễn Thế Anh Tuấn - Tình hình nhiễm bệnh do <i>Demodex canis</i> gây ra ở chó nghiệp vụ trong tổng số chó mắc bệnh ngoài da nuôi tại trường trung cấp 24 biên phòng và dùng thuốc điều trị	129

NGHIÊN CỨU TẠO RỄ *IN VITRO* VÀ GIÁ THỂ NGOÀI VƯỜN ƯƠM CỦA CÂY RẬU MÈO (*Orthosiphon aristatus*)

Thongkham LAPHASY¹, Phạm Thị Thanh Nhân^{*2}

¹Trường Cao đẳng Sư phạm Khangkhoay, tỉnh Xiengkhoang, Lào

²Trường Đại học Sư phạm – ĐH Thái Nguyên

TÓM TẮT

Cây Rậu mèo hay cây Bông bạc (*Orthosiphon aristatus*) là vị thuốc Đông y có tác dụng điều trị bệnh sỏi thận, hạ đường huyết, chữa viêm thận cấp tính và mãn tính, thông phong, thấp khớp, viêm gan, đái tháo đường, chống lại tế bào ung thư... Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nhóm chất auxin và giá thể đến khả năng tạo rễ và cây Rậu mèo hoàn chỉnh nhập từ Lào nhằm góp phần xây dựng quy trình nhân giống *in vitro* để phát triển loài cây này ở Việt Nam. Công thức môi trường thích hợp nhất cho sự tạo rễ cây Rậu mèo là môi trường MS cơ bản + agar 9 g/l + sucrose 30 g/l + α -NAA 0,8 mg/l, với số rễ/chồi là 10,80 rễ, chiều dài trung bình của rễ là 5,21 cm sau 8 tuần nuôi cấy. Giá thể phù hợp để cấy *in vitro* ra ngoài môi trường tự nhiên là đất thịt trung bình + cát + trấu hun tỉ lệ 2:1:1.

Từ khóa: giá thể, IBA, NAA, *Orthosiphon aristatus*, tạo rễ.

Ngày nhận bài: 02/6/2019; Ngày hoàn thiện: 21/6/2019; Ngày đăng: 15/7/2019

STUDY ON CREATION OF *IN VITRO* ROOTS AND SUBSTRATES IN THE ARBORETUM OF *Orthosiphon aristatus* PLANTLETS

Thongkham LAPHASY¹, Phạm Thị Thanh Nhân^{*2}

¹Khangkhoay College of Education, Xiengkhoang province, Laos

²University of Education - TNU

ABSTRACT

Orthosiphon aristatus is well-known for a popular medical plant with the uses to treat kidney stones, hypoglycemia, acute and chronic nephritis, gout, rheumatism, hepatitis, diabetes mellitus, cancer ... This article presents the results of effects of auxin, substrates on root formation, growth and development of *Orthosiphon aristatus* from Laos in order to contribute to finding a *in vitro* multiplication process to develop this plant in Vietnam. The optimum medium formula for the root formation of *Orthosiphon aristatus* is the basal MS medium supplemented with α -NAA 0.8 mg/l, a number of roots per a shoot are 10.80, the medium length of a root is 5.21cm after 8 culturing weeks. The suitable medium for them to develop at the nursery stage before growing in the mass-production is medium soil: sand: burned husk with the ratio of 2: 1: 1.

Keywords: IBA, NAA, *Orthosiphon aristatus*, root formation, substrate

Received: 02/6/2019; Revised: 21/6/2019; Published: 15/7/2019

* Corresponding author. Email: pnthanhbio@dhspn.edu.vn

Nguyễn Thị Sơn, Trần Anh Vũ - Một số yếu tố liên quan đến thực hành cho trẻ bú sớm của bà mẹ tại khoa sản Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên năm 2018	121
Hoàng Văn Ngọc, Phạm Văn Anh - Cập nhật thành phần loài lưỡng cư (amphibia) và bò sát (reptilia) ở tỉnh Thái Nguyên	127
Chu Đức Hà, Phùng Thị Vượng, Chu Thị Hồng, Phạm Thị Lý Thu, Phạm Phương Thu, Trần Thị Phương Liên, La Việt Hồng - Định danh và phân tích cấu trúc của họ gen mã hóa protein vận chuyển đường sucrose ở cây đậu gà (<i>Cicer arietinum</i>)	133
Nguyễn Thị Khuyên, Phạm Thị Thanh Nhân - Tách gen <i>Lc</i> hoạt hóa sinh tổng hợp anthocyanin ở cây ngô nếp địa phương (<i>Zea mays</i> subsp. <i>Ceratina</i> (kuelschov) zhuk)	139
Nguyễn Thị Anh, Nguyễn Thị Kim Tiến, Nguyễn Xuân Thành - So sánh chỉ định mổ lấy thai ở sản phụ con so tại Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên trong 2 giai đoạn 2013 và 2018	145
Nguyễn Thu Minh, Đoàn Thị Huệ, Nguyễn Bích Hoàng - Kết quả của thở cpap trong điều trị suy hô hấp cấp tại Khoa nội hô hấp - nội tiết Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên năm 2017	151
Đào Hồng Thuận, Đàm Văn Vinh, Đào Thị Thu Hương - Ảnh hưởng của chế độ che sáng và hỗn hợp ruột bầu đến sinh trưởng cây sưa (<i>dabegia tonkinensis</i> prain) giai đoạn vườn ươm	157
Vũ Thị Phương, Nguyễn Thị Hồng - Nghiên cứu nhân giống tểch dòng VN19, VN34 (<i>techtona grandis</i> linn) bằng phương pháp nuôi cấy in vitro	163
Đoàn Thị Huệ - Kiến thức của bà mẹ về bệnh phế quản tại trung tâm nhi khoa, Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên năm 2018	169
Nguyễn Thị Kim Tiến, Nguyễn Thị Anh, Hoàng Quốc Huy - Thực trạng điều trị dọa đẻ non tại khoa sản Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên năm 2017	175
Nguyễn Thị Hồng Hạnh, Bùi Thị Thanh Châm, Bùi Thị Luyến - Xác định một số paraben có trong mỹ phẩm bằng phương pháp sắc kí lỏng hiệu năng cao	181
Phạm Thị Thúy, Vũ Văn Thông, Vũ Phạm Thảo Vy - Định lượng một số hợp chất trong dược liệu râu mèo (<i>Orthosiphon stamineus</i> Benth) thu hái tại tỉnh Thái Nguyên	189

TÁCH DÒNG GEN *Lc* HOẠT HÓA SINH TỔNG HỢP ANTHOCYANIN Ở CÂY NGÔ NẾP ĐỊA PHƯƠNG (*ZEAMAYS* SUBSP. *CERATINA* (KUELCHOV) ZHUK)

Nguyễn Thị Khuyên, Phạm Thị Thanh Nhân*
Trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên

TÓM TẮT

Ngô nếp (*Zeamays* subsp. *ceratina* (Kuelshov) Zhuk) là một trong các hạt ngũ cốc phổ biến và quan trọng tại Việt Nam, đặc biệt ở các vùng núi phía bắc. Anthocyanin được coi là một dấu hiệu stress do hạn gây ra. Sự biểu hiện của các gen cấu trúc hay các enzyme tham gia vào các phản ứng sinh tổng hợp anthocyanin ở các bộ phận cây ngô rất cần sự có mặt của các nhân tố phiên mã thuộc họ Myb, Myc (hay bHLH) và WD40. Các gen thuộc họ Myb điều hòa sinh tổng hợp anthocyanin ở ngô đã được nghiên cứu nhiều gồm các gen *C1*, *P1*, *Pl*. Trong khi các gen thuộc họ Myc (hay bHLH) được nghiên cứu gồm *B*, *R*, *Sn* và *Lc* (Leaf color). Bài báo này phân tích trình tự đoạn gen *Lc* hoạt hóa sinh tổng hợp anthocyanin từ giống ngô nếp địa phương Nà Hào (NH).

Gen *Lc* phân lập được có kích thước dài 1833bp, mã hóa cho 610 amino acid với 14 vị trí nucleotide sai khác so với trình tự NM001111869 và trình tự KJ726800; 8 vị trí sai khác so với trình tự M26227. Trình tự gen có sự tương đồng 99,23% - 99,56% so với các trình tự gen thuộc họ bHLH. Phân tử protein *Lc* suy diễn có sự tương đồng với các trình tự thuộc họ bHLH công bố trên GenBank từ 96,2% - 98% với 8 amino acid sai khác so với trình tự mã số NM001111869 và KJ726800, 5 amino acid sai khác so với trình tự mã số M26227.

Từ khóa: Anthocyanin, gen *Lc*, khả năng chịu hạn, ngô nếp địa phương, nhân tố phiên mã

Ngày nhận bài: 18/12/2018; Ngày hoàn thiện: 29/12/2018; Ngày duyệt đăng: 31/01/2019

CLONING OF GENE CONTAINING *Lc* REGULATORY GENE IN THE ANTHOCYANIN BIOSYNTHESIS FROM LOCAL STICKY CORN CULTIVARS (*ZEAMAYS* SUBSP. *CERATINA* (KUELCHOV) ZHUK)

Nguyen Thi Khuyen, Pham Thi Thanh Nhan*
University of Education - TNU

ABSTRACT

Sticky corn (*Zeamays* subsp. *ceratina* (Kuelshov) Zhuk) is one of the important and widely grown plants in Vietnam, especially in mountainous regions. Anthocyanin is considered as a sign of the stress caused by drought. The expression of the structural genes or enzymes involved in the anthocyanin biosynthesis in parts of maize plants needs the presence of transcription factors belonging to MYB, Myc (or bHLH) and WD40 family. Genes of MYB family regulating anthocyanin biosynthesis have been studied including *C1*, *P1*, *Pl*. While genes of Myc family (or bHLH) studied include *B*, *R*, *Sn* and *Lc* (Leaf color). This paper analyzed the sequence of the *Lc* gene which activates anthocyanin biosynthesis from Na Hao sticky cultivars (symbolized by NH).

The sequence of the *Lc* gene consists of 1833 bp encoding 610 amino acids with differences in 14 positions compared with the NM001111869 and KJ726800 sequences and 8 positions compared with the M26227 sequence. They are highly similar to others in maize bHLH family (from 99.23% to 99.56%). The deductive proteins of the *Lc* gene is also homologous with others in maize bHLH family (from 96.2% to 98%) with differences in 8 positions compared with the NM001111869 and KJ726800 sequences and 5 positions compared with the M26227 sequence.

Keywords: Anthocyanin, *Lc* gene, drought tolerance, local sticky corn, transcription factor

Received: 18/12/2018; Revised: 29/12/2018; Approved: 31/01/2019

* Corresponding author: Tel: 0989 516346; Email: ptnhanbio@dhsptn.edu.vn

<http://jst.tnu.edu.vn>; Email: jst@tnu.edu.vn

và Delila, làm suy giảm nghiêm trọng hoạt động trans đối với protein Lc [9].

Vùng còn lại có 85 amino acid cuối là vùng giả định ACT, có vai trò tạo sự tương thích với DNA. Vùng này có thể điều hòa sự dimer hóa trong tế bào ngô. Các kết quả phân tích đột biến vùng này cho thấy, sự dimer hóa hoàn toàn bị loại bỏ nếu thiếu vùng 532-560, làm giảm kích hoạt của promoter A1, dẫn đến hình thành rất ít tế bào màu đỏ. Trong nghiên cứu đột biến thực nghiệm khác, khi Ser 560, GLN 562, và Ser 564 đồng thời được thay thế bằng Ala, khả năng dimer hóa của protein R bị giảm đáng kể [5]. Khi tạo đột biến thêm ba amino acid vào cấu trúc xoắn thứ hai trong vùng bHLH của protein Lc ở ngô (còn gọi là alen D12), từ amino acid 458 đến 464, kết quả thu được là sự tương tác của protein bị cản trở và làm suy giảm vai trò hoạt hóa của protein này [8].

KẾT LUẬN

Gen *Lc* phân lập được có kích thước dài 1833bp, mã hóa cho 610 amino acid với 14 vị trí nucleotide sai khác so với trình tự NM001111869 và trình tự KJ726800; 8 vị trí sai khác so với trình tự M26227. Trình tự gen có sự tương đồng 99,23% - 99,56% so với các trình tự gen thuộc họ bHLH.

Phân tử protein Lc suy diễn có sự tương đồng với các trình tự thuộc họ bHLH công bố trên GenBank từ 96,2% - 98% với 8 amino acid sai khác so với trình tự mã số NM001111869 và KJ726800, 5 amino acid sai khác so với trình tự mã số M26227.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn sự hỗ trợ từ đề tài nghiên cứu khoa học cấp Đại học ĐH2018-TN04-02.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Trần Bình, Lê Thị Muội (1998), *Phân lập gen và chọn dòng chống chịu ngoại cảnh bất lợi ở cây lúa*, Nxb Đại học Quốc gia, Hà Nội.

2. Tổng cục thống kê (8/2017), *Niên giám thống kê 2016*, Nxb Thống kê, Hà Nội.

3. Babu M. M., Luscombe N. M., Aravind L., Gerstein M., Teichmann S. A. (2004), "Structure and evolution of transcriptional regulatory networks", *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 14 (3), pp. 283-291.

4. Batool F., Sabir S. M., Rocha J. B. T., Shah A. H., Saify Z. S. and Ahmed S. D. (2010), "Evaluation of antioxidant and free radical scavenging activities of fruit extract from *Zanthoxylum alatum*: a commonly used spice from Pakistan", *Pak. J. Bot.*, 42, pp. 4299-4311.

5. Feller A., Hernandez J. M., Grotewold E. (2006), "An ACT-like domain participates in the dimerization of several plant basic-helix-loop-helix transcription factors", *J. Biol. Chem.*, 281(39), pp. 28964-28974.

6. Gould K. S., Lister C. (2007), *Flavonoid functions in plants*, CRC Press, Boca Raton, pp. 397-441.

7. Heather Ray, Min Yu, Patricia Auser, Laureen Blahut Beatty, Brian McKersie, Steve Bowley, Neil Westcott, Bruce Coulman, Alan Lloyd and Margaret Y Gruber (2003), "Expression of Anthocyanins and Proanthocyanidins after Transformation of Alfalfa with Maize Lc", *Plant Physiology*, 132, pp. 1448-1463.

8. Hernandez J. M. (2006), *Combinatorial transcriptional regulation of the maize flavonoid pathway: Understanding the old players and discovering new ones*, The Degree Doctor of Philosophy, The Ohio State University.

9. Pattanaik S., Xie C. H., Yuan L. (2008), "The interaction domains of the plant MYC-like bHLH transcription factors can regulate the transactivation strength", *Planta*, 227(3), pp. 707-715.

10. Radicella J. P., Turks D., Chandler V. L. (2005), "Cloning and nucleotide sequence of a cDNA encoding B-Peru, a regulatory protein of the anthocyanin pathway in maize", *Plant Mol. Biol.*, 17, pp. 127-130.

11. Sanger F., Air G. M., Barrell B. G., Brown N. L., Coulson A. R., Fiddes C. A., Hutchison C. A., Slocumbe P. M., Smith M. (1977), "Nucleotide sequence of bacteriophage phi X174 DNA", *Nature*, 265(5596), pp. 687-695.

12. Winkel-Shirley B. (2002), "Biosynthesis of flavonoids and effects of stress", *Curr. Opin. Plant Biol.*, 5, pp. 218-223.

CASEAN - 6

PROCEEDINGS

6th **ACADEMIC CONFERENCE ON NATURAL SCIENCE FOR YOUNG SCIENTISTS, MASTER & PhD STUDENTS FROM ASEAN COUNTRIES**

**23 - 26, Oct. 2019
THAI NGUYEN, VIETNA**



PHYSICAL AND MECHANICAL PROPERTIES OF GLASS-CERAMICS DERIVE FROM WASTE GLASS AND FLY ASH	143
<i>Sengthong Bounyavong, Kitthisack Keomixay, Lemthong Lathdavong and Bounphanh Tonpheng</i>	
STERILIZATION OF PLANT MATERIALS AND EFFECT OF CYTOKININ ON SHOOT FORMATION OF <i>ORTHOSIPHON ARISTATUS</i> PLANTLETS	148
<i>Pham Thi Thanh Nhan, Thongkham Laphasy, Tangmany Sysomephone</i>	
STUDYING OF ANATOMICAL CHARACTERISTICS AND SEQUENCE OF ITS GENE FROM <i>ADINANDRA LIENII</i>	154
<i>Huu Quan Nguyen, Phuong Dung Le, Danh Thuong Sy, Quang Tan Tu, Hoang Mau Chu</i>	
RESEARCHING ON THE COMPATIBILITY OF POLYOXYMETHYLENE AND ENERGETIC MATERIALS.....	161
<i>Duong Ngoc Co, Pham Van Toai, Nguyen Manh Tuong, Le Duy Binh, Nguyen Trung Toan</i>	
ABOUT MICROSTRUCTURE AND CRYSTALLIZATION PATHWAY IN IRON NANOPARTICLE UNDER TEMPERATURE	167
<i>Giap Thi Thuy Trang, Pham Khac Hung and Pham Huu Kien</i>	
INVESTIGATION OF SENSITIVE AMMONIA SENSOR BASED ON HYBIRD PHOSPHORENE/AU	174
<i>Tran Quang Nguyen, Le Dang Manh, Huynh Tran My Hoa, Tran Quang Trung</i>	
OPTICAL PROPERTIES OF DOXORUBICINE LOAD AND RELEASE ON SILICA NANOPARTICLES.....	180
<i>Nghiem Thi Ha Lien, Nguyen Thi Thuy, Vu Duong, and Nguyen Trong Nghia</i>	
SEVERAL RESULTS OF RESEARCHING, EXPERIMENT OF THERMOBARIC WARHEAD DNA-7V IN VIETNAM.....	188
<i>Tran Quang Phat, Do Dinh Lao, Ngo Van Giao, Ninh Duc Ha</i>	
A RELIABLE TECHNOLOGICAL PROCESS POLISHING FOR OBTAINING SUPER SMOOTH GERMANIUM SURFACES.....	194
<i>Bui Dinh Bao, Phan Nguyen Nhue and Mai Van Huy</i>	
TISSUE CULTURE OF <i>HUPERZIA SERRATA</i> BY THE SHOOT TIP CULTURE TECHNIQUE.....	199
<i>Le Thi Lan Anh, Ho Thi Huong, Ngo Thi Thuy Linh, Ton That Huu Dat, Le Thi Bich Thuy, Nguyen Duc Thanh</i>	

STERILIZATION OF PLANT MATERIALS AND EFFECT OF CYTOKININ ON SHOOT FORMATION OF *Orthosiphon aristatus* PLANTLETS

Pham Thi Thanh Nhan^{1*}, Thongkham LAPHASY², Tangmany SYSOMEPHONE³

¹ School of Biology, Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen city, Vietnam

² Khangkhay College of Education, Xiengkhoang province, Laos

³ Research Institute for Educational Sciences, Ministry of Education and Sports, Laos

Email: ptnhanbio@dhsptn.edu.vn

Abstract. *Orthosiphon aristatus* is well-known for a popular medical plant with the use to treat kidney stones, hypoglycemia, acute and chronic nephritis, gout, rheumatism, hepatitis, diabetes mellitus, and cancer... This article presents the results of sterilizing plant materials and the effect of cytokinin on shoot formation, growth and development of *Orthosiphon aristatus* from Laos in order to contribute to find an *in vitro* multiplication process to develop this plant in Vietnam.

The suitable sterilization protocol is to wash *Orthosiphon aristatus* trunk segments by tap-water. After soaking samples in the weak soapy solution for 30 minutes, they were shaken in ethanol 70% for 1 minute and then in 0.1% HgCl₂ for 7 minutes. The optimum medium formula for rapid shoot organogenesis from segments of the trunk is the basal MS medium supplemented with 3% sucrose, 0.9% agar, 200 ml. L⁻¹ coconut water and 3.5 mg. L⁻¹ BAP (10.12 shoots/sample, the mean height of shoots is 2.96 cm).

Keywords: BAP, kinetin, *Orthosiphon aristatus*, regeneration, shoot formation.

I. INTRODUCTION

Orthosiphon aristatus is well-known for a popular medical plant with the use to treat kidney stones, hypoglycemia, acute and chronic nephritis, gout, rheumatism, hepatitis, diabetes mellitus and cancer [1, 2]... In *Orthosiphon aristatus* plants, potassium, orthosiphonin, mesoisonitol have a diuretic effect, increase the excretion of waste products such as urea, uric acid, Na⁺, Cl⁻... and especially do not lose potassium as much as western medicine [3, 4]. Stampoulis et al. discovered that methanol extract of *O. stamineus* has activity against epithelial cancer cells, metastatic liver cancer cells 26-L5, HT-1080.

The previous research showed that flavonoids and phenolic acid extracted from the *O. stamineus* leaves are related to the body's antioxidant activity [3]. The anti-inflammatory and analgesic effects of those extracts have been studied in experimental animals [6]. The results showed the presence of polyphenolics, glycosides, lipophilic flavones, derivatives of caffeic acid, triterpenes and diterpenes [7, 8]. Adam et al. [9] suggested that *O. stamineus* had analgesic and non-addictive effects.

In Vietnam, these plants are scattered in the plains and mountainous areas such as Cao Bang, Vinh Loc, Ba Vi, Lam Dong, Tuy Hoa, Phan Rang, and Phu Quoc... However, the number of trees does not meet demand. According to the Institute of Medicinal Materials, Vietnam has to import dozens of tons of *O. stamineus* plants from China, Cambodia, and Laos every year... [10, 11]. In the current market, its price is about 150000 VND per fresh kilogram. This paper presents the results of studying on sterilization of plant materials and the effect of cytokinin on shoot formation of *Orthosiphon aristatus* from Laos in order to find a multiplication protocol to develop this plant in Vietnam.

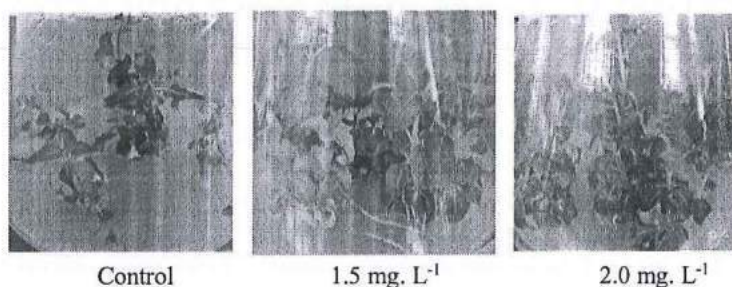


Fig. 3. Effect of kinetin on the formation of multiple shoots of *Orthosiphon aristatus* plants after 8 weeks

Thus after 8 weeks of culture, the rate of shoot formation and the number of shoots per sample in the medium supplemented with 3.5 mg. L⁻¹ BAP was higher than those in the medium supplemented with 2.0 mg. L⁻¹ kinetin. This showed that BAP was more effective than kinetin in the multi-shoot induction.

IV. CONCLUSION

The suitable sterilization protocol is to wash *Orthosiphon aristatus* trunk segments in the tap-water. After soaking samples in the weak soapy solution for 30 minutes, they were shaken in ethanol 70% for 1 minute and then in 0.1% HgCl₂ for 7 minutes. The optimal medium formula for rapid shoot organogenesis from segments of the trunk is the basal MS medium supplemented with 3% sucrose, 0.9% agar, 200 mL⁻¹ coconut water, and 3.5 mg. L⁻¹ BAP (10.12 shoots/sample, the mean height of shoots is 2.96 cm).

V. ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank the support of the project of Ministry of Education and Training with code B2019-TNA-09.

REFERENCES

- [1]. Maheswari C., Maryammal R., Venkatanarayanan R., *Jordan Journal of Biological Sciences*, **1**, 2008, pp.105–108.
- [2]. Yam M.F., Basir R., Asmawi M.Z., Ismail Z., *The American Journal of Chinese Medicine*, **35**, 2007, pp.115–126.
- [3]. Awale S., Tezuha Y., Banskota A.H., Kouda K., Kyaw M.T., Kadota S., *Journal of Natural Products*, **64**, 2001, pp. 592–596. doi: 10.1021/np000607t.
- [4]. Yuliana N.D., Khatib A., Link-Struensee A.M., Ijzerman A.P., Rungkat-Zakaria F., Choi Y.H., Verpoorte R., *Planta Medica*, **75**, 2009, pp.132–136.
- [5]. Awale S., Tezuka Y., Banskota A.H., Kouda K., Tun K.M., Kadota S., *Planta Medica*, **68**, 2002, pp.286–288.
- [6]. Ho C.H., Noryati I., Sulaiman S.F., Rosma A., *Food Chemistry*, **122**, 2010, pp.1168–72.
- [7]. Sahib H.B., Aisha A.F., Yam M.F., Asmawi M.Z., Ismail Z., Salhimi S.M., Othman N.H., AbdulMajid A.M.S., *International Journal of Pharmacology*, **5**, 2009, pp. 162–167. doi: 10.3923/ijp.2009.162.167.
- [8]. Yam M.F., Asmawi M.Z., Rusliza B., *Journal of Medicinal Food*, **2**, 2008, pp. 362–368. doi: 10.1089/jmf.2006.065.
- [9]. Adam Y., Somchit M.N., Sulaiman M.R., Nasaruddin A.A., Zuraini A., Bustamam A.A., Zakaria Z.A., *Journal of Ethnopharmacology*, **124**, 2009, pp.154–158.
- [10]. <http://vienduoclieu.org.vn/tin-chi-tiet/-/chi-tiet/su-can-thiet-phat-trien-duoc-lieu-354-677.html>
- [11]. <http://suckhoedoisong.vn/cay-rau-meo-thong-tieu-tru-soi-than-n87848.html>
- [12]. Chu Van Man, Applied Informatics in Biology, *National University Publishing House*, 2000.



THAI NGUYEN UNIVERSITY
OF EDUCATION



MINISTRY OF EDUCATION AND
TRAINING, ENHANCING
TEACHER EDUCATION
PROGRAM



NATIONAL FOUNDATION FOR
SCIENCE AND TECHNOLOGY
DEVELOPMENT



THE WORLD BANK

PROCEEDINGS
OF THE FIRST INTERNATIONAL CONFERENCE
ON TEACHER EDUCATION RENOVATION - ICTER 2018:
"TEACHER EDUCATION IN THE CONTEXT
OF INDUSTRIAL REVOLUTION 4.0"



THAI NGUYEN UNIVERSITY PUBLISHING HOUSE

- COMMUNICATIVE CULTURE EDUCATION FOR PRIMARY STUDENTS THROUGH VIETNAMESE IN VIETNAM'S NORTHERN MOUNTAINOUS PROVINCES269

Le Tam Dang Thi

- INNOVATING MANAGEMENT OF VOCATIONAL EDUCATION FOR LOWER SECONDARY SCHOOL PUPILS IN CURRENT PERIOD279

Nguyen Nhu An, Nguyen Van Hai, Nguyen Dinh Huy, Nguyen Thi Mai

- TEACHERS' TRAINING EXPERIENCE AND FOSTERING TEACHERS IN AUSTRALIA, IN NEW ZEALAND AND THE APPLICATION THESE EXPERIENCE TO VIETNAMESE EDUCATION294

Do Hong Thai

❑ MATHEMATICS AND SCIENCE TEACHER EDUCATION

- MATHEMATICS TEACHER EDUCATION AND THE FLEXIBLE USE OF TECHNOLOGIES IN THE DIGITAL AGE304

Hans-Georg Weigand

- INSTRUCTING STUDENTS IN FACULTY OF BIOLOGY TO CONDUCT EXPERIENCE-BASED LEARNING ACTIVITIES IN SCHOOLS326

Nguyen Thi Hang, Nguyen Thi Ngoc Lan, Bui The Cong, Pham Thi Thanh Nhan

- LEARNING BY DOING: AN EMPIRICAL STUDY OF TEACHING MECHANICAL ENGINEERING338

Vo Thi Nhu Uyen, Nguyen Hoai Nam

- STEAM EDUCATION IN VIETNAMESE PRESCHOOL: FROM CHILDREN'S FASCINATION WITH WORLD TO LANGUAGE DEVELOPMENT349

Nguyen Thi Thanh Huong

- STEAM TEACHING METHODOLOGICAL APPROACH AND POSITIVE IMPACTS ON ORIENTATION TO DEVELOP STUDENT CAPACITY, MAJORING IN FINE ARTS EDUCATION AT NATIONAL UNIVERSITY OF ART EDUCATION360

Dao Thi Thuy Anh

INSTRUCTING STUDENTS IN FACULTY OF BIOLOGY TO CONDUCT EXPERIENCE-BASED LEARNING ACTIVITIES IN SCHOOLS

Nguyen Thi Hang¹, Nguyen Thi Ngoc Lan¹, Bui The Cong², Pham Thi Thanh Nam¹

¹Thai Nguyen University of Education

²Yen Ninh High School, Thai Nguyen Province

E-mail: nguyennngoclan@dhsptn.edu.vn, hangnguyen-ksinh@dhsptn.edu.vn

Abstract: Instructions for student to conduct experience-based learning activities in schools is necessary in programs of training teachers to meet the requirements of the reform of general education in Vietnam. In this study, the theoretical research method is used to determine specified manual instructions for students conducting experience-based learning activities and the pedagogical practical method is applied to check for suitability and possibility of the specified manual instructions in Faculty of Biology, Thai Nguyen University of Education. The results of this study are fundamental for the suggestions on the method for improving the performance of experience-based learning activities in schools and in Bachelor program of Biology Education, Thai Nguyen University of Education.

Keywords: Experience, experience-based learning activity, general education, undergraduate education, educational program.

1. Introduction

Experience-based learning paradigm is very important because it emphasizes the formation of learners' abilities via practical experiences. Experience-based learning (EBL) is a process of developing knowledge, skills and attitudes of learners by using their experiences [7], [9] and learners are able to reflect and analyze their progress based on their own experiences [6]. The reflection quality of learners which gained from EBL is more meaningful than the learning outcome, because "Learning is the process where knowledge is created through the transformation of experience" [8, 38]. In EBL form, the learner's experience occupies a central place. The learner's experience may be even in a learner's life or present life, beside that the experiences arising during the learner take participate in activities following the guidance of the teacher [2].

EBL is based on a set of hypothesis learned from experience. Characteristics of EBL are determined by Bound, Cohen & Walker. These include the following: Learning is a holistic process that is established and stimulated by experience. Learning is socially and culturally constructed, therefore, the socio-emotional context, in which learning takes place, effect it. Learners' experience is actively constructed by themselves [3]. It is realized that the first three important factors which can be applied to all EBL activities are person, prior experiences and experience reflection. The other

References

1. Alice Y Kolb, David A. Kolb (2015), "Learning Styles and Learning Spaces: Enhancing Experiential Learning in Higher Education", *Academy of Management Learning and Education* V.4, N.2, p.193-212.
2. Andresen, L., Boud, D., Cohen, R (2016), "Experience-Based Learning", Published in Foley, G. (Ed.). *Understanding Adult Education and Training*. Sydney: Allen & Unwin, 207-219, Available from: David Boud, Feb 03, 2016.
3. Boud, D., Cohen, R. & Walker, D. (eds) (1993), *Using Experience for Learning* Buckingham: SRHE and Open University Press.
4. Boud, D., Keogh, R., & Walker, D. (1985). Promoting reflection in learning: a model. In Boud, D., Keogh, R. & Walker, D. (Eds.) *Reflection: Turning Experience into Learning*, London: Kogan Page, 18-40.
5. Boud, D. & Walker, D. (1990). Making the most of experience. *Studies in Continuing Education*, 12, 2, 61-80.
6. Chapman, S., McPhee, P., & Proudman, B. (1984), *What is Experiential Education?*, In Warren, K. (Ed.), *The Theory of Experiential Education*, Dubuque: Kendall/Hunt Publishing Company, pp. 235-248.
7. Cao Cu Giac, Tran Thi Gai, Phan Thi Thanh Hoi (2017), "Organizing the Experiential Learning Activities in Teaching Science for General Education in Vietnam", *World Journal of Chemical Education*, 2017; 5(5):180-184. doi: 10.12691/wjce-5-5-7.
8. Kolb, D. (1984), *Experiential Learning: experience as the source of learning and development*, Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall.
9. Miettinen, R. (2000), "The concept of experiential learning and John Dewey's theory of reflective thought and action", *International Journal of Lifelong Education*, 19(1), pp.54-72.
10. Ministry of Education and Training (2017), *The general education curriculum*, adopted on 27/7/2017.
11. <https://www.simplypsychology.org/learning-kolb.html>, "Kolb's Learning Styles and Experiential Learning Cycle", by Saul McLeod, updated 2017.

BÁO CÁO KHOA HỌC
VỀ NGHIÊN CỨU VÀ GIẢNG DẠY SINH HỌC
Ở VIỆT NAM
HỘI NGHỊ KHOA HỌC QUỐC GIA LẦN THỨ 6
THÀNH PHỐ HUẾ, 06/7/2024
PROCEEDING OF THE 6th NATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE
ON BIOLOGICAL RESEARCH AND TEACHING IN VIETNAM
HUE CITY, JULY 6, 2024

ĐƠN VỊ PHỐI HỢP TỔ CHỨC
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM HÀ NỘI
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM, ĐẠI HỌC ĐÀ NẴNG
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM QUẢNG TRUNG
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM HÀ NỘI 2
TRƯỜNG ĐẠI HỌC QUỐC TẾ ĐHQG TP. HCM
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM, ĐẠI HỌC THẠCH THUYỀN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN, ĐHQG HÀ NỘI
TRƯỜNG QUỐC TẾ - ĐHQG HÀ NỘI
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC, ĐẠI HỌC HUẾ
TRƯỜNG ĐẠI HỌC CẦN THƠ
TRƯỜNG ĐẠI HỌC CẦN THƠ
HỘI CÁC NGÀNH SINH HỌC VIỆT NAM



BÁO CÁO
KHOA HỌC
VỀ NGHIÊN CỨU
VÀ GIẢNG DẠY
SINH HỌC
Ở VIỆT NAM

HỘI NGHỊ KHOA HỌC
QUỐC GIA LẦN THỨ 6
THÀNH PHỐ HUẾ, 06/7/2024

PROCEEDING OF THE 6th NATIONAL
SCIENTIFIC CONFERENCE
ON BIOLOGICAL RESEARCH AND
TEACHING IN VIETNAM
HUE CITY,
JULY 6, 2024



PHÁT HÀNH
KHOA HỌC TỰ NHIÊN VÀ CÔNG NGHỆ



ISBN 978-904-57-275-9

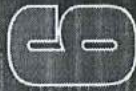
SÁCH KHÔNG BÁN



TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM - ĐẠI HỌC HUẾ

BÁO CÁO
KHOA HỌC

VỀ NGHIÊN CỨU
VÀ GIẢNG DẠY
SINH HỌC
Ở VIỆT NAM



HỘI NGHỊ KHOA HỌC QUỐC GIA LẦN THỨ 6
THÀNH PHỐ HUẾ, 06/7/2024

PROCEEDING OF THE 6th NATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE
ON BIOLOGICAL RESEARCH AND TEACHING IN VIETNAM
HUE CITY, JULY 6, 2024



PHÁT HÀNH
KHOA HỌC TỰ NHIÊN VÀ CÔNG NGHỆ

TT	Tên bài	Trang
164	TÍCH HỢP GIÁO DỤC BIÊN ĐỐI KHÍ HẬU TRONG DẠY HỌC NỘI DUNG "HỆ SINH THÁI, CÂN BẰNG TỰ NHIÊN VÀ BẢO VỆ MÔI TRƯỜNG" - KHOA HỌC TỰ NHIÊN 8	1625
165	TÍCH HỢP MỘT SỐ NỘI DUNG VỀ GIÁO DỤC SỨC KHỎE SINH SẴN VỊ THÀNH NIÊN VÀO PHẦN VẬT SỐNG - MÔN KHOA HỌC TỰ NHIÊN 8	1637
166	TỔ CHỨC DẠY HỌC CHỦ ĐỀ "GIẢM PHÂN" TRONG CHƯƠNG TRÌNH SINH HỌC 10 BẢNG PHƯƠNG PHÁP DẠY HỌC DỰA TRÊN TIẾN TRÌNH NGHIÊN CỨU KHOA HỌC	1647
167	TỔ CHỨC DẠY HỌC DỰ ÁN STEM "NHỮA SINH HỌC" THUỘC NỘI DUNG THÀNH PHẦN HÓA HỌC TẾ BÀO - SINH HỌC 10 HƯỚNG ĐẾN PHÁT TRIỂN BỀN VỮNG CHO HỌC SINH	1657
168	VẬN DỤNG DẠY HỌC PHẦN HÓA TRONG DẠY HỌC CHỦ ĐỀ MIỀN DỊCH Ồ NGƯỜI VÀ ĐỘNG VẬT - SINH HỌC 11	1666
169	VẬN DỤNG DẠY HỌC THEO TRẠM ĐỀ DẠY HỌC CHƯƠNG "CẦU TRƯỚC TẾ BÀO" (SINH HỌC 10)	1678
170	VẬN DỤNG KI THUẬT QFT ĐỂ RÈN LUYỆN KĨ NĂNG ĐẶT CÂU HỎI CHO HỌC SINH TRONG DẠY CHỦ ĐỀ "NĂM", MÔN KHOA HỌC LỚP 4	1688
171	VẬN DỤNG MÔ HÌNH SE TỎ CHỨC HOẠT ĐỘNG TRẢI NGHIỆM TRONG DẠY HỌC PHẦN CHUYÊN HÓA VẬT CHẤT VÀ NĂNG LƯỢNG Ở NGƯỜI KHOA HỌC TỰ NHIÊN 8	1699
172	VẬN DỤNG MÔ HÌNH SE TRONG GIẢNG DẠY NỘI DUNG THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA TẾ BÀO (SINH HỌC 10) ĐÁP ỨNG MỤC TIÊU CHƯƠNG TRÌNH GIÁO DỤC PHỔ THÔNG 2018	1712
173	VẬN DỤNG MÔ HÌNH LỚP HỌC ĐẠO NGƯỜC TRONG DẠY HỌC PHẦN SINH THÁI HỌC VÀ MÔI TRƯỜNG - SINH HỌC 12	1722
174	VẬN DỤNG QUÝ TRÌNH NGHIÊN CỨU KHOA HỌC TRONG DẠY HỌC CHỦ ĐỀ "SINH HỌC VI SINH VẬT", SINH HỌC 10	1732
	Trình Đông Thu, Hoàng Xuân Thảo, Phùng Thị Bích Hoà, Nguyễn Thị Nha Trang	

TỔ CHỨC DẠY HỌC CHỦ ĐỀ “GIẢM PHÂN” TRONG CHƯƠNG TRÌNH (SINH HỌC 10) THEO TIẾN TRÌNH NGHIÊN CỨU KHOA HỌC

**Đào Thị Hồng Hạnh¹, Cao Thị Phương Thảo², Vũ Thị Thu Thủy²,
Nguyễn Thị Thu Hà², Phạm Thị Thanh Nhân^{2*}, Chu Hoàng Mậu²**

Tóm tắt: Dạy học dựa trên tiến trình nghiên cứu khoa học là một phương pháp dạy học phổ biến ở các hệ thống giáo dục tiên tiến trên thế giới, đặc biệt để hình thành kiến thức mới và năng lực cho học sinh. Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả trình bày kết quả phân tích và đề xuất quy trình dạy học chủ đề “Giảm phân” trong Chương trình Sinh học 10 bằng phương pháp dạy học dựa trên tiến trình nghiên cứu khoa học, nhằm góp phần đáp ứng yêu cầu đổi mới giáo dục phổ thông ở Việt Nam. Sáu bước tổ chức dạy học được đề xuất, gồm: (1) Quan sát/trải nghiệm, xác định nhiệm vụ học tập và câu hỏi nghiên cứu; (2) Đề xuất giả thuyết và phương án chứng minh giả thuyết; (3) Thiết kế và tiến hành thí nghiệm kiểm chứng giả thuyết; (4) Thảo luận dựa trên kết quả thí nghiệm; (5) Kết luận kiến thức cốt lõi theo yêu cầu cần đạt; (6) Viết báo cáo kết quả thực hành theo mẫu. Quy trình đề xuất này cần tiếp tục tiến hành thực nghiệm để đánh giá tính hiệu quả tích cực của phương pháp khi thực hiện chương trình GDPT 2018.

Từ khóa: Chương trình giáo dục 2018, giảm phân, phương pháp dạy học dựa trên tiến trình nghiên cứu khoa học, Sinh học 10, thí nghiệm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Một tiến trình nghiên cứu khoa học sẽ bắt đầu bằng hoạt động quan sát, tiếp đó là các hoạt động đặt câu hỏi, xây dựng giả thuyết, thiết kế và tiến hành thí nghiệm kiểm chứng giả thuyết, thảo luận phân tích kết quả và cuối cùng rút ra kết luận (Santos, 2017). Thực chất sự khác biệt giữa tổ chức dạy học dựa trên tiến trình nghiên cứu khoa học với dạy học lý thuyết và thực hành thí nghiệm hiện hành là từ những trải nghiệm thực tế, HS suy luận đưa ra những câu hỏi xoay quanh một vấn đề. Qua những câu hỏi này, hệ thống não bộ của HS sẽ từ hình thành những luận điểm mới hay giả thuyết khoa học đi tới xác minh để phê duyệt hoặc loại bỏ chúng. Một nghiên cứu tại 16 trường trung học cơ sở ở East Lombok (Indonesia) cho thấy, GV có khó khăn về các kỹ năng tư duy khoa học, đặc biệt là khả năng tư duy suy luận. Vì vậy, GV cần bồi dưỡng, nâng cao NL dạy học theo tiến trình nghiên cứu khoa học để tổ chức tốt các hoạt động học tập, tìm tòi, khám phá cho HS (Wasis và cs., 2018).

Ở Việt Nam hiện nay, một số tác giả cũng nghiên cứu đề xuất tổ chức dạy học tiếp cận theo phương pháp này. Phạm Thị Hồng Tú và cs. (2021, 2022) đã đề xuất sử dụng thí nghiệm gắn với vấn đề thực tiễn nhằm phát triển năng lực tìm hiểu thế giới sống cho HS

¹Trường THPT Chu Văn An, Văn Yên, Yên Bái

²Trường Đại học Sư phạm Thái Nguyên

*Email: ptnhanbio@tnue.edu.vn

Bảng 1. Bảng kiểm tổ chức HS tự đánh giá

Các tiêu chí	Có	Không
Nêu được câu hỏi nghiên cứu		
Nêu được giả thuyết khoa học		
Thực hiện các thao tác thí nghiệm thành thạo		
Ghi chép quá trình thí nghiệm đầy đủ		
Giải thích kết quả thí nghiệm rõ ràng		
Rút ra kết luận chính xác		

+ Kết luận:

(1) Đặc điểm về hình thái NST và nhân đặc trưng ở từng kì của giảm phân để nhận diện từng tế bào ở từng kì.

(2) Chấp nhận hay bác bỏ giả thuyết: Sau khi thực hiện được các thí nghiệm trên HS đối chiếu các kết quả với giả thuyết nghiên cứu để đưa ra kết luận. Nếu giả thuyết được chấp nhận chuyển sang *Bước 5* để hình thành kiến thức mới cho HS, nếu giả thuyết bị bác bỏ thì quay trở lại *Bước 2* để tiến hành xây dựng giả thuyết mới.

(3) Một tiêu bản mẫu có rất nhiều tế bào, mỗi tế bào chỉ ở một kì nhất định, nên có thể có nhiều tế bào cùng ở một kì giống nhau nhưng tiêu bản sẽ có đủ các nhóm tế bào ở các kì khác nhau.

(4) Ở cơ quan sinh sản của con cái khó quan sát hơn do số lượng tế bào tham gia giảm phân thường bị giới hạn. Ở thực vật, có thể làm tiêu bản quan sát giảm phân hoa đực.

(5) Giảm phân tạo ra các giao tử, mỗi tế bào sinh dục chín giảm phân cho 4 giao tử.

(6) Các giao tử được tạo ra khác nhau về vật chất di truyền do sự phân ly độc lập và tổ hợp tự do của các NST trong giảm phân hay do hiện tượng hoán vị gene xảy ra.

(7) Giảm phân tạo ra các giao tử có bộ NST đơn bội, quan thụ tinh các giao tử tổ hợp với nhau tạo hợp tử có nhân lưỡng bội $2n$. Nhờ nguyên phân, hợp tử phát triển thành cơ thể trưởng thành $2n$ có các tế bào giống hệt nhau về vật chất di truyền.

(8) Các yếu tố môi trường ảnh hưởng đến giảm phân: nhiệt độ, chế độ nước, thiếu chất dinh dưỡng, hóa chất, bức xạ,... đều gây rối loạn giảm phân, tạo các giao tử bất thường.

(9) Có thể ứng dụng cơ chế giảm phân trong trồng trọt, chăn nuôi: chọn cặp bố mẹ cho lai giống để tạo nhiều biến dị tổ hợp cho tạo giống hay cải tiến giống; sử dụng tác nhân đột biến để tạo thể đột biến dị bội hay đa bội có lợi.

(10) Bảng so sánh nguyên phân và giảm phân.

Bước 5. Kết luận kiến thức cốt lõi theo yêu cầu cần đạt

Trong trường hợp kết quả thí nghiệm kiểm chứng chấp nhận giả thuyết, GV hướng dẫn HS nhận thức được kiến thức mới.

ORGANIZATION OF TEACHING AND LEARNING TOPIC “MITOSIS” (10th GRADE BIOLOGY) ACCORDING TO THE RESEARCH- BASED TEACHING- LEARNING METHOD

Phạm Thị Thanh Nhan

TNU - University of Education

ARTICLE INFO		ABSTRACT
Received:	11/4/2024	The research-based teaching- learning method is very typical in advanced educational systems in the world, especially teaching to form new knowledge and abilities for students. However, this method is still new in Vietnam. In this study, we present results of theoretical analysis, summarize experience, and propose a teaching process for the topic "Mitosis" in the 10th grade Biology curriculum by the research-based teaching- learning method in order to contribute to the development of biological quality and competencies for students to meet requirements of general education innovation in Vietnam. Six steps of the research-based teaching-learning method have been proposed, including: (1) Experience and identify research questions; (2) Build research hypothesis and a plan to prove; (3) Design and conduct experiments to test the hypothesis; (4) Discuss experimental results to confirm the acceptance or rejection of the hypothesis; (5) Conclude core knowledge according to requirements to be achieved; (6) Write a report on practical results. This proposed process needs further experimentation to evaluate the positive effectiveness when implementing the 2018 general education program.
Revised:	26/6/2024	
Published:	26/6/2024	
KEYWORDS		
General educational program 2018		
Mitosis		
Research-based teaching-learning method		
10th grade Biology		
Experimental practice		

TỔ CHỨC DẠY HỌC CHỦ ĐỀ “NGUYÊN PHÂN” (SINH HỌC 10) BẰNG PHƯƠNG PHÁP DẠY HỌC DỰA TRÊN TIẾN TRÌNH NGHIÊN CỨU KHOA HỌC

Phạm Thị Thanh Nhan

Trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO		TÓM TẮT
Ngày nhận bài:	11/4/2024	Phương pháp dạy học dựa trên tiến trình nghiên cứu khoa học rất đặc trưng ở các nền giáo dục tiên tiến trên thế giới, đặc biệt dạy học hình thành kiến thức mới và phát triển năng lực cho học sinh. Tuy nhiên, phương pháp này còn mới mẻ ở Việt Nam. Trong nghiên cứu này, chúng tôi phân tích lý thuyết, tổng kết kinh nghiệm và đề xuất quy trình dạy học chủ đề “Nguyên phân” trong Chương trình Sinh học 10 bằng phương pháp dạy học dựa trên tiến trình nghiên cứu khoa học nhằm góp phần phát triển phẩm chất và năng lực Sinh học cho học sinh, đáp ứng yêu cầu đổi mới giáo dục phổ thông ở Việt Nam. Sáu bước tổ chức dạy học dựa trên tiến trình nghiên cứu khoa học được đề xuất gồm: (1) Trải nghiệm và xác định câu hỏi nghiên cứu; (2) Đề xuất giả thuyết và phương án chứng minh giả thuyết; (3) Thiết kế và tiến hành thí nghiệm kiểm chứng giả thuyết; (4) Thảo luận dựa trên kết quả thí nghiệm; (5) Kết luận kiến thức cốt lõi theo yêu cầu cần đạt; (6) Viết báo cáo kết quả thực hành theo mẫu. Quy trình đề xuất này cần tiếp tục tiến hành thực nghiệm để đánh giá tính hiệu quả tích cực khi thực hiện chương trình GDPT 2018.
Ngày hoàn thiện:	26/6/2024	
Ngày đăng:	26/6/2024	
TỪ KHÓA		
Chương trình Giáo dục phổ thông 2018		
Nguyên phân		
Phương pháp dạy học dựa trên tiến trình nghiên cứu khoa học		
Sinh học 10		
Thực hành thí nghiệm		

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.10121>

Email: ptnhanbio@tnue.edu.vn

<http://jst.tnu.edu.vn>

71

Email: jst@tnu.edu.vn

HS quan sát/trải nghiệm video về sự sinh trưởng của cơ thể thực vật, động vật và chu kì tế bào để xác định được câu hỏi nghiên cứu; (2) HS tự xây dựng giả thuyết khoa học và phương án chứng minh dưới sự định hướng của GV; (3) HS tiến hành thí nghiệm làm tiêu bản nguyên phân theo nhóm để kiểm chứng giả thuyết; (4) GV tổ chức thảo luận kết quả thí nghiệm, các kiến thức lý thuyết và thực tiễn liên quan đến nguyên phân; (5) GV kết luận kiến thức cốt lõi theo yêu cầu cần đạt; (6) GV hướng dẫn HS viết báo cáo thực hành theo mẫu. Quy trình đề xuất này cần tiếp tục tiến hành thực nghiệm để đánh giá tính hiệu quả tích cực của phương pháp khi thực hiện chương trình GDPT 2018.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] Ministry of Education and Training, *The promulgation of the new general education program*, 2018a.
- [2] Ministry of Education and Training, *The new general education program of Biology*, 2018b.
- [3] Q. B. Dinh and D. T. Nguyen, *Theory of teaching Biology - General part I*. Vietnam Education Publishing House, 2006.
- [4] T. L. Nguyen and D.T. Le, "Characterization of structural capacity of the high-school biology gifted students in performing practical courses," *Educational Sciences*, vol. 63, no. 5, pp. 153-158, 2018.
- [5] I. S. Wooley, A. M. Deal, J. Green, F. Hathenbruck, S. A. Kurtz, T. K. H. Park, S. V. Pollock, M. B. Transtrum, and I. L. Jensen, "Undergraduate students demonstrate common false scientific reasoning strategies," *Thinking skills and Creativity*, vol. 27, pp. 103-113, 2018.
- [6] J. R. S. da Silva, F. P. B. Nunes, L. M. P. B. Spelta, M. E. B. Preste, and S. Ursi, "Teaching by research: analysis of a proposal for Biological Sciences students," *Rev Electron Ensen Cienc*, no. 11, pp. 253-272, 2012.
- [7] H. Dekker and S. W. Wolff, "Re-inventing research-based teaching and learning," *European Forum for Enhanced Collaboration in Teaching of the European University Association*. Brussels, 2016.
- [8] E. M. Granjeiro, "Research-based teaching-learning method: a strategy to motivate and engage students in human physiology classes," *Adv Physiol Educ*, no. 43, pp. 553-556, 2019.
- [9] T. D. T. Dang and T. D. P. Nguyen, "Organizing experimental activities in the direction of developing the ability to learn the living world in teaching the part "body biology" in high school," *Vietnam Journal of Education*, no. 480, pp. 25-30, 2020.
- [10] T. T. Do, "Using experiments in teaching the content of induction, growth and development - grade 11th Biology to develop experimental capacity for students," *Journal of Science and Technology - Hung Vuong University*, vol. 31, no. 2, pp. 64-73, 2023.
- [11] T. H. T. Pham, T. H. Nguyen, and T. H. Nguyen, "Using experiments associated with practical problems to develop students' ability to understand the living world in teaching the topic "Metabolism and energy metabolism in plants" (Biology 11)," *Vietnam Journal of Education*, vol. 514, no. 2, pp. 12-16, 2021.
- [12] T. H. T. Pham, T. H. Nguyen, T. T. V. Luong, V. D. Ha, T. H. N. Nguyen, and X. P. Cao, "Experimental Teaching by Scientific Methods for Developing Students' Natural Finding Capacity in Teaching Natural Science in Vietnamese High Schools," *World Journal of Education*, vol. 12, no. 6, 2022, doi: 10.5430/wje.v12n6p1.
- [13] T. T. Tran and T. H. P. Nguyen, "Current situation of teaching practices in Biology among high schools in the Mekong delta and Ho Chi Minh city," *Journal of Science - Dong Thap University*, vol. 10, no. 2, pp. 21-29, 2021.
- [14] L. F. Santos, "The role of critical thinking in science education," *Journal of Education and Practice*, vol. 8, no. 20, pp. 1735-2222, 2017.
- [15] E. Wasis, E. Susantini, and U. Azizah, "Scientific thinking skills: Why junior high school science teachers cannot use discovery and inquiry models in classroom," *Atlantis press*, no. 1, pp. 201-204, 2018.

CHARACTERISTICS OF BARCODE NUCLEOTIDE SEQUENCES *matK* AND ITS OF THE *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Wall. ex Lindl. 1840 PLANTS COLLECTED IN LUANG NAMTHA PROVINCE OF LAOS

Phạm Thị Thanh Nhân^{1*}, Tangmany SYSOMEPHONE²

¹TNU - University of Education, ²Research Institute for Educational Sciences - Ministry of Education and Sports, Laos

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 05/5/2024	The <i>Anoectochilus roxburghii</i> (Wall.) Wall. ex Lindl. 1840 plants have been over-exploited and recorded in Vietnam's Red Data Book. In this paper, we analyze characteristics of <i>matK</i> , <i>ITS</i> nucleotide sequences from this species collected in Luang Namtha province of Laos to find out the differences at the molecular level among species, and provide information about barcodes for the identification, exploitation and conservation of their genetic resources. Lengths of the isolated <i>matK</i> gene segment and <i>ITS</i> region are around 900bp and 500bp, respectively. Their sequences have the similarity with other species in the genus <i>Anoectochilus</i> , 100% and 98%, respectively, to <i>Anoectochilus roxburghii</i> and <i>Anoectochilus burmannicus</i> species in the Genbank. There are 15 positions of nucleotide changes in each gene segment. The <i>matK</i> and <i>ITS</i> barcodes can be used for detecting the genus <i>Anoectochilus</i> . In which, the <i>ITS</i> barcode identified the <i>Anoectochilus roxburghii</i> (Wall.) Wall. ex Lindl. 1840 species and the <i>Anoectochilus roxburghii</i> species with the sequence ID in NCBI of MK451732.1 are in the same branch of the phylogenetic with a bootstrap value of 98%.
Revised: 11/7/2024	
Published: 12/7/2024	
KEYWORDS	
DNA barcode	
<i>ITS</i>	
<i>Anoectochilus roxburghii</i> (Wall.) Wall. ex Lindl. 1840	
Laos	
<i>matK</i>	

ĐẶC ĐIỂM TRÌNH TỰ BARCODE *matK* VÀ *ITS* Ở CÂY LAN KIM TUYẾN (*Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Wall. ex Lindl. 1840) THU THẬP TẠI TỈNH LUANG NAMTHA, LÀO

Phạm Thị Thanh Nhân^{1*}, Tangmany SYSOMEPHONE²

¹Trường Đại học Sư phạm – ĐH Thái Nguyên, ²Viện nghiên cứu Khoa học giáo dục - Bộ Giáo dục và Thể thao, Lào

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 05/5/2024	Lan Kim tuyến (<i>Anoectochilus roxburghii</i> (Wall.) Wall. ex Lindl. 1840) đang bị khai thác quá mức và được ghi vào Sách Đỏ ở Việt Nam. Trong báo cáo này, chúng tôi phân tích đặc điểm trình tự nucleotide barcode <i>matK</i> , <i>ITS</i> của loài được thu thập ở tỉnh Luang Namtha, Lào nhằm tìm ra sự khác biệt ở cấp độ phân tử giữa các loài, đồng thời cung cấp thông tin về mã vạch, góp phần hỗ trợ việc định danh, khai thác và bảo tồn nguồn gen loài này. Đoạn gen <i>matK</i> và vùng <i>ITS</i> phân lập được có chiều dài khoảng 900bp và 500bp. Hai trình tự có độ tương đồng cao với các loài khác trong chi <i>Anoectochilus</i> , lần lượt là 100% và 98% với các loài <i>Anoectochilus roxburghii</i> và <i>Anoectochilus burmannicus</i> trên Genbank. Mỗi đoạn gen có 15 vị trí thay đổi nucleotide. Mã vạch <i>matK</i> , <i>ITS</i> có thể được sử dụng để phát hiện chi <i>Anoectochilus</i> . Trong đó, cây phát sinh sử dụng trình tự barcode <i>ITS</i> xác định được loài <i>Anoectochilus roxburghii</i> (Wall.) Wall. ex Lindl. 1840 nằm cùng nhánh với loài <i>Anoectochilus roxburghii</i> (MK451732.1) với hệ số bootstrap 98%.
Ngày hoàn thiện: 11/7/2024	
Ngày đăng: 12/7/2024	
TỪ KHÓA	
DNA barcode	
<i>ITS</i>	
Lan Kim tuyến	
Lào	
<i>matK</i>	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.10291>

* Corresponding author. Email: ptnhanbio@tnue.edu.vn

- [11] T. P. T. Nguyen, T. H. Tran, L. Triest, and M. T. Nguyen, "Molecular characteristic of three threatened *Hopea* species in Vietnam," *Journal of Biology*, vol. 36, no. 3, pp. 316-322, 2014.
- [12] H. M. Nguyen, T. T. H. Lai, T. H. M. Nguyen, T. P. T. Nguyen, and V. S. Nguyen, "Molecular characteristic of *rbcL* and *trnH-psbA* of *Abies delavayi subsp. fansipanensis* (Xiang Q.P.) Rurhforth in Vietnam," *Vietnam Journal of Science and Technology*, vol. 63, no. 3, pp. 28-32, 2021.
- [13] M. A. Shaghai-Marooof, K. M. Soliman, and R. A. Jorgensen, "Ribosomal DNA sepaer-length polymorphism in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics," *Proc Natl Acad Sci USA*, vol. 81, pp. 8014-8019, 1984.
- [14] T. M. T. Lo, T. T. Trinh, and H. M. Chu, "The species identification with DNA barcode and the sequence analysis of ITS and *rpoC1* of *Anoectochilus* sample collected at Thuan Chau, Son La, Vietnam," *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 9, pp. 107-114, 2019.
- [15] H. D. Huynh, T. G. Nguyen, H. X. Duong, T. L. Ha, D. Y. Phan, T. T. Tran, and D. G. Do, "Research on using some DNA barcodes in genetic analysis and identification of some *Anoectochilus* spp. plants," *Journal of Science- Can Tho University*, vol. 55, no. 1, pp. 14-23, 2019.
- [16] T. V. Ho, T. K. P. Tran, T. T. T. Vu, and S. Widiarsih, "Comparison of *matK* and *rbcL* DNA barcodes for genetic classification of jewel orchid accessions in Vietnam," *Journal of Genet Eng Biotechnol.*, vol. 19, p. 93, 2021.

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI VÀ MÃ VẠCH DNA CỦA MỘT SỐ GIỐNG LÚA CẠN CỦA TỈNH YÊN BÁI

Hoàng Phú Hiệp*, Phạm Thị Thanh Nhân, Từ Quang Trung

Khoa Sinh học, Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên

TÓM TẮT

Cây lúa là một trong những cây trồng quan trọng nhất trên thế giới, nó cung cấp lương thực cho một nửa người dân trên thế giới. Việt Nam là một trong những nước có nguồn gen cây lúa vô cùng phong phú. Đặc biệt ở nước ta có nhiều giống lúa địa phương mang những tính trạng nông sinh học quý hiếm cần được bảo tồn và phát triển. Trong nghiên cứu này, chúng tôi xác định đặc điểm hình thái và trình tự gen *rpoC1* của lúa Chiêm Hương và lúa Sóng Cù, thu thập từ tỉnh Yên Bái. Kết quả cho thấy cả hai loại lúa đều là lúa tẻ. Kết quả phân tích đặc điểm hình thái, kích thước và khối lượng hạt của 2 giống lúa cạn địa phương theo tiêu chuẩn của IRRI đã cho thấy được tính đa dạng của giống lúa cạn thể hiện ở nhiều chỉ tiêu như màu sắc vỏ trấu, màu sắc vỏ hạt, râu đầu hạt... Dựa trên trình tự gen *rpoC1* hai giống lúa Sóng Cù và Chiêm Hương là hai giống lúa hoàn toàn khác nhau.

Từ khóa: cây Lúa, đa dạng di truyền, đặc điểm hình thái, gen *rpoC1*, Lúa cạn

MỞ ĐẦU

Lúa cạn là loại cây trồng mà hạt giống được gieo trực tiếp trên các mảnh đất khô, không có bờ bao và không có sự tích lũy nước ở bề mặt ruộng trong suốt thời gian cây lúa sinh trưởng và phát triển. Cây lúa cạn có năng suất thấp nhưng có chất lượng gạo tốt và có nhiều đặc tính quý như chịu hạn, cứng cây, không lốp đổ. Việt Nam là một nước có tài nguyên di truyền lúa cạn đa dạng và phong phú. Tuy nhiên do tập quán canh tác phân tán, chưa có khoanh vùng định hướng phát triển, cùng với sự phát triển của các giống lúa lai và tốc độ đô thị hóa nhanh đang làm mất dần nhiều giống lúa cạn có chất lượng. Bên cạnh đó một giống lúa cạn có thể có nhiều tên gọi khác nhau hoặc cùng một tên gọi nhưng là các giống lúa khác nhau điều này đã tạo ra nhưng khó khăn trong công tác bảo tồn. Việc định danh các mẫu lúa cạn trước hết là để gọi đúng tên các giống lúa, đây sẽ là cơ sở để bảo tồn và khai thác bền vững nguồn gen cây lúa cạn từ đó góp phần bảo vệ đa dạng sinh học.

Nhận dạng các loài trên cơ sở trình tự DNA đã được thực hiện trong một thời gian dài trên các đối tượng như nấm, động vật, thực vật. Năm 2003, Hebert và đồng tác giả đã đề xuất sử dụng gen ty thể CO1 như là tiêu chuẩn mã vạch cho tất cả các loài động vật, và điều này đã nhanh chóng được cộng đồng khoa học chấp nhận [1]. Đối với thực vật, tốc độ tiến hóa của hệ gen ty thể rất chậm. Vì vậy nhiều trình tự gen trong hệ gen lục lạp đã được sử dụng thay thế trong giám định loài như: *acc-D*, *ATPF-atpH*, *matK*, *nhdJ*, *psbK-psbI*, *rbcL*, *rpoB*, *rpoC1*. Năm 2017, J. Singh đồng tác giả đã nghiên cứu và chọn ra 24 marker phù hợp cho quá trình khuếch đại gen ở cây lúa trong 231 mã vạch đã được xác định. Dựa trên hiệu suất khuếch đại (hơn 62,33%), tác giả đã chọn ra 5 mẫu là *psbA-trnH*, *rbcL*, *atpH-atpI*, *matK*, *petA-psbJ* để nghiên cứu về mối quan hệ phát sinh loài [2]. Năm 2020, Weng Zhang đồng tác giả đã đánh giá bốn mã vạch DNA thực vật thông thường (*matK*, *rbcL*, *psbA-trnH* và ITS), sáu mã vạch DNA lục lạp dành riêng cho lúa (*psaJ-rpl33*, *trnC-rpoB*, *rps16-trnQ*, *rpl22-rps19*, *trnK-matK* và *ndhC-trnV*) và hai mã vạch DNA của nhân (NP78 và R22) cho 53 giống lúa. Kết quả cho thấy 17% hạt giống bị dán nhãn sai [3].

Trong hệ gen lục lạp, *rpoC1* là gen được sử dụng phổ biến để nghiên cứu quan hệ phát sinh loài. Gen có chiều dài dao động từ 409 - 545 bp [4], chức năng của *rpoC1* mã hóa cho tiểu đơn vị β - RNA polymerase. Căn cứ mức độ đột biến trong trình tự nucleotide của gen mà có thể phân biệt hai loài hay xác định được quan hệ họ hàng giữa các đối tượng nghiên cứu. Trên GenBank hiện nay đã có hơn 10 trình tự gen *rpoC1* của lúa. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng gen *rpoC1* để xác định sự giống và khác nhau về gen này trên hai mẫu lúa cạn Chiêm Hương, Sóng Cù được thu thập từ các Thị xã Nghĩa Lộ, tỉnh Yên Bái, đồng thời dựa kết quả đó để đánh giá mối quan hệ giữa hai giống lúa nghiên cứu.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu nghiên cứu

Nguyên liệu là 2 mẫu lúa cạn Chiêm Hương, Sóng Cù được thu thập từ các Thị xã Nghĩa Lộ, tỉnh Yên Bái.

Đoạn mồi *rpoC1* có trình tự: *rpoC1*-1f: GTGGATACACTTCTTGATAATGG;

rpoC1-3r: TGAGAAAACATAAGTAAACGGGC

Phương pháp nghiên cứu

- **Phân loại các giống lúa cạn:** Tiến hành phân loại lúa nếp, lúa tẻ dựa theo phản ứng bắt màu với dung dịch KI 1,0% theo Lưu Ngọc Trinh (1997) [5]. Việc phân loại dựa trên phản ứng nhuộm màu bề mặt lát vát qua nội nhũ

AP014960 (*Oryza sativa Japonica*). Khoảng cách di truyền giữa 2 nhánh phụ I và nhánh phụ II khoảng 2,5-2,8%. Nhánh phụ I chứa 2 giống Chiêm Hương và Sếng Cù được nghiên cứu, có thể xác định được khoảng cách di truyền giữa 2 giống khoảng 1%. Trong nhánh I có 2 giống lúa KF428978 (*Oryza rufipogon*) và JN861112 (*Oryza sativa Indica*) thuộc cùng 1 nhánh phụ có hệ số sai khác về trình tự gen *rpoC1* bằng 0%.

Nhánh thứ II gồm 5 giống lúa với mã số JN861111, AP003280, KF562709 KJ830774, AP014957. Trong đó nhánh II gồm 2 nhánh phụ: Nhánh phụ III gồm 4 giống với mã số JN861111, AP003280, KF562709 KJ830774, nhánh phụ IV có một giống AP014957. Khoảng cách di truyền giữa nhánh phụ III và nhánh phụ IV khoảng 1.9-2.2%. Các giống trong cùng một nhánh có mối quan hệ di truyền gần gũi với nhau hơn do độ tương đồng giữa các trình tự nucleotide của các gen cao hơn.

Qua quá trình nghiên cứu về đặc điểm hình thái, có thể kết luận rằng 2 giống lúa Sếng Cù và Chiêm Hương là 2 giống lúa khác nhau. Kết quả phân tích di truyền cho thấy hệ số tương đồng giữa 2 giống lúa dựa trên trình tự nucleotide của gen *rpoC1* là 99,8 %.

KẾT LUẬN

- Đã xác định được cả 2 giống lúa cận nghiên cứu được các giống đều là lúa tẻ. Kết quả phân tích đặc điểm hình thái, kích thước và khối lượng hạt của 2 giống lúa cận địa phương theo tiêu chuẩn của IRRI đã cho thấy được tính đa dạng của giống lúa cận thể hiện ở nhiều đặc điểm như màu sắc vỏ trấu, màu sắc vỏ hạt, râu đầu hạt...

- Đã tách chiết DNA và khuếch đại được đoạn gen *rpoC1* của hai giống lúa Sếng Cù và Chiêm Hương. Dựa trên trình tự nucleotide đã xác định được mối quan hệ giữa hai mẫu với các giống lúa khác. Kết quả cho thấy hai giống lúa Sếng Cù và Chiêm Hương là hai giống lúa hoàn toàn khác nhau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] P. D. N. Hebert, A. Cywinska, S. L. Ball, and J. R. deWaard, "Biological identifications through DNA barcodes.," *Proceedings. Biol. Sci.*, vol. 270, no. 1512, pp. 313-321, Feb. 2003, doi: 10.1098/rspb.2002.2218.
- [2] J. Singh *et al.*, "Evaluation of Potential DNA Barcoding Loci from Plastid Genome: Intraspecies Discrimination in Rice (*Oryza species*)," *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, vol. 6, no. 5, pp. 2746-2756, 2017, doi: 10.20546/ijcmas.2017.605.308.
- [3] W. Zhang *et al.*, "DNA barcoding of *Oryza*: conventional, specific, and super barcodes," *Plant Mol. Biol.*, vol. 105, no. 3, pp. 215-228, 2021, doi: 10.1007/s11103-020-01054-3.
- [4] A. Kool *et al.*, "Molecular identification of commercialized medicinal plants in Southern Morocco," *PLoS One*, vol. 7, no. 6, 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0039459.
- [5] N. T. Lưu, *Rapid classification of Indica and Japonica rice through Asian rice (In Vietnamese)*. Hanoi: Applied Biotechnology, Ministry of Agriculture and rural development, Agriculture Genetics Institute, 1997.
- [6] IRRI, *Major Research in Upland Rice*. Los Banos, Laguna, Philippines: International Rice Research Institute, 1975.
- [7] IRRI, *Hệ thống tiêu chuẩn đánh giá cây lúa*. Manila: IRRI, 1996.
- [8] D. J.J., Doyle; J.L., "Isolation of plant DNA from fresh tissue," *Focus (Madison)*, vol. 12, pp. 13-15, 1990.
- [9] G. S. Khush and H. I. Oka, "Rice genetic new settlement," *a Publication rice gentimes Coop.*, vol. 13, pp. 11-29, 1996.
- [10] Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, *Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 8370- 2010: Thóc tẻ*. Việt Nam, 2010.

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTIC AND DNA BARCODING STUDY OF UPLAND RICE IN YEN BAI PROVINCE

Hoang Phu Hiep*, Pham Thi Thanh Nhan, Tu Quang Trung

Faculty of Biology, Thainguyen University of Education, TNU

SUMMARY

Rice (*Oryza sativa*) is one of the most important crops in the world, supporting half of the world's population. Vietnam is one of the countries with diverse rice genetic resources. In our country, there are many local rice varieties with good agronomic traits that need to be preserved and developed. In this study, we determine morphological characteristics and *rpoC1* gene sequence of Chiem Huong and Sếng Cu rices, collected from Yen bai province. The results showed that both rice varieties are upland rice. The analysis results of morphological characteristics, size and grain weight of 2 local upland rice varieties according to IRRI's standards showed the diversity of upland rice varieties expressed in many characteristics such as rice husk color, shell color, head beard ... Base on *rpoC1* gene, two rice varieties Sếng Cu and Chiem Huong were two different rice varieties.

Keywords: oryza, phylogenomics, morphological, *rpoC1* gene, upland rice

*Author for correspondence: Tel: +84-91.5542543; Email: hiephoangphu@tnue.edu.vn

HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ, NGHIỆM THU
CẤP BỘ ĐỀ TÀI KH&CN CẤP BỘ,
BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Thái Nguyên, ngày 30 tháng 6 năm 2022

**BIÊN BẢN HỌP HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ, NGHIỆM THU CẤP BỘ
ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ CẤP BỘ**

1. Tên đề tài: Nghiên cứu hệ thống nuôi cấy rễ tơ và biểu hiện gen mã hóa enzyme columbamine O-methyltransferase nhằm tăng hàm lượng rotundin ở cây Bình vôi (*Stephania* spp).
2. Mã số: B2019-TNA-09
3. Chủ nhiệm đề tài: PGS.TS. Phạm Thị Thanh Nhân
4. Tổ chức chủ trì: Đại học Thái Nguyên
5. Quyết định thành lập Hội đồng: Số 1755/QĐ-BGDĐT ngày 22/6/2022 của Bộ GD&ĐT
6. Ngày họp: 30/6/2022
7. Địa điểm: Phòng A4.513, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên
8. Thành viên của Hội đồng: Tổng số: 07 có mặt: 06 vắng mặt: 01
9. Khách mời dự:

10. Kết luận và kiến nghị của Hội đồng:

- 10.1. Về mức độ đáp ứng được yêu cầu số lượng, khối lượng sản phẩm theo Thuyết minh đề tài
 - Sản phẩm ứng dụng và sản phẩm khác đáp ứng đủ số lượng theo Thuyết minh đề tài.
 - Sản phẩm khoa học, sản phẩm đào tạo vượt số lượng đăng kí theo Thuyết minh đề tài.
- 10.2. Về chất lượng sản phẩm và giá trị khoa học, giá trị thực tiễn của các kết quả thực hiện đề tài
 - Chất lượng các sản phẩm của đáp ứng theo Thuyết minh đề tài, có giá trị khoa học và thực tiễn cao.
 - Chất lượng sản phẩm khoa học, sản phẩm đào tạo và sản phẩm ứng dụng đều được đánh giá từ mức Đạt trở lên.

10.3 Kết quả đánh giá xếp loại chung của đề tài:

a) Kết quả đánh giá, xếp loại của Hội đồng ở mức sau (đánh ✓ vào ô tương ứng):

☐ Xuất sắc ☒ Đạt ☐ Không đạt

b) Phần luận giải của hội đồng về kết quả đánh giá, xếp loại (chọn ✓ vào ô tương ứng và luận giải):

☐ Đề tài được xếp loại "Xuất sắc" bởi những lý do cụ thể dưới đây:

☐ Đề tài được xếp loại "Đạt" bởi những lý do cụ thể dưới đây:

- + Tất cả các tiêu chí về chất lượng sản phẩm ở mức đạt trở lên.
- + Khối lượng, số lượng sản phẩm ở mức "Đạt".
- + Báo cáo tổng kết đạt mức "Đạt" trở lên

☐ Đề tài được xếp loại "Không đạt" bởi những lý do cụ thể dưới đây:

có thể sử dụng quy trình nhân giống in vitro và tạo sinh khối rễ tơ phục vụ công tác bảo tồn, khai thác và sản xuất cây dược liệu.

- Tăng cường năng lực nghiên cứu, đào tạo của Trường Đại học Sư phạm – Đại học Thái Nguyên. Góp phần sử dụng hiệu quả hệ thống thiết bị nghiên cứu của Nhà trường.

- Tào điều kiện cho phát triển đào tạo ngành Công nghệ sinh học, Di truyền học, Sinh học thực nghiệm thuộc hệ đào tạo Đại học, Sau đại học tại Trường Đại học Sư phạm – Đại học Thái Nguyên.

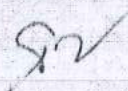
d) Công bố, xuất bản kết quả thực hiện đề tài:

Công bố, xuất bản kết quả thực hiện đề tài là tài liệu phục vụ nghiên cứu, đào tạo sinh viên, học viên cao học ngành sinh học, công nghệ sinh học, góp phần nâng cao chất lượng, hiệu quả đào tạo và nghiên cứu khoa học của Trường Đại học Sư phạm – Đại học Thái Nguyên; góp phần tăng cường năng lực, kỹ năng ứng dụng Công nghệ sinh học cho giảng viên các cơ sở đào tạo liên quan đến ngành Sinh học và Công nghệ sinh học.

d) Không công bố, xuất bản kết quả thực hiện đề tài:

Biên bản họp Hội đồng được thông qua với sự thống nhất của các thành viên Hội đồng dự họp vào ngày 30 tháng 6 năm 2022

THƯ KÝ



TS. Lương Thị Thúy Vân

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG



PGS.TS. Sỹ Danh Thường

XÁC NHẬN CỦA BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TL. BỘ TRƯỞNG
VỤ TRƯỞNG VỤ KHOA HỌC, CÔNG NGHỆ VÀ MÔI TRƯỜNG



PHÒ VU TRƯỞNG VỤ KHOA HỌC CÔNG NGHỆ VÀ MÔI
Vũ Thanh Bình

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN**

**THUYẾT MINH ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ CẤP BỘ
THỰC HIỆN TỪ NĂM 2019**

Tên đề tài:

**NGHIÊN CỨU HỆ THỐNG NUÔI CẤY RỄ TƠ VÀ BIỂU HIỆN GEN
MÃ HÓA ENZYME COLUMBAMINE O-METHYLTRANSFERASE
NHẪM TĂNG HÀM LƯỢNG ROTUNDIN Ở CÂY BÌNH VÔI
(*Stephanta* spp)**

Chủ nhiệm đề tài: TS. Phạm Thị Thanh Nhân

Tổ chức chủ trì: Đại học Thái Nguyên

Thời gian thực hiện: 2 năm, từ tháng 1/2019 đến tháng 12/2020

Tháng 02 năm 2019

THUYẾT MINH ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ CẤP BỘ

1. TÊN ĐỀ TÀI Nghiên cứu hệ thống nuôi cấy rễ tơ và biểu hiện gen mã hóa enzyme columbamine O-methyltransferase nhằm tăng hàm lượng rotundin ở cây Bình vôi (<i>Stephania</i> spp).		2. MÃ SỐ B2019-TNA-09											
3. LĨNH VỰC NGHIÊN CỨU Khoa học Tự nhiên ☐ Khoa học kỹ thuật và công nghệ ☐ Khoa học Y, dược ☐ Khoa học nông nghiệp ☒ Khoa học xã hội ☐ Khoa học Nhân văn ☐		4. LOẠI HÌNH NGHIÊN CỨU <table style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td>Cơ bản</td> <td>Ứng dụng</td> <td>Triển khai</td> </tr> <tr> <td>☒</td> <td>☐</td> <td>☐</td> </tr> </table>		Cơ bản	Ứng dụng	Triển khai	☒	☐	☐				
Cơ bản	Ứng dụng	Triển khai											
☒	☐	☐											
5. THỜI GIAN THỰC HIỆN: 24 tháng Từ tháng 01 năm 2019 đến tháng 12 năm 2020													
6. CƠ QUAN CHỦ TRÌ ĐỀ TÀI Tên tổ chức chủ trì: Đại học Thái Nguyên Điện thoại: 0208 3654 096 E-mail: banQLKH.DHTN@moet.edu.vn Địa chỉ: Phường Tân Thịnh – Tp. Thái Nguyên, tỉnh Thái Nguyên Họ và tên thủ trưởng cơ quan chủ trì: GS.TS. Phạm Hồng Quang													
7. CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI <table style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%;">Họ và tên: Phạm Thị Thanh Nhân</td> <td style="width: 50%;">Học vị: Tiến sĩ</td> </tr> <tr> <td>Chức danh khoa học:</td> <td>Năm sinh: 1982</td> </tr> <tr> <td>Địa chỉ cơ quan: Trường ĐH Sư phạm-ĐHTN</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Điện thoại cơ quan: 0208 3856891</td> <td>Điện thoại di động: 0989 516 346</td> </tr> <tr> <td>E-mail: ptnhanbio@dhsptn.edu.vn</td> <td>Fax:</td> </tr> </table>				Họ và tên: Phạm Thị Thanh Nhân	Học vị: Tiến sĩ	Chức danh khoa học:	Năm sinh: 1982	Địa chỉ cơ quan: Trường ĐH Sư phạm-ĐHTN		Điện thoại cơ quan: 0208 3856891	Điện thoại di động: 0989 516 346	E-mail: ptnhanbio@dhsptn.edu.vn	Fax:
Họ và tên: Phạm Thị Thanh Nhân	Học vị: Tiến sĩ												
Chức danh khoa học:	Năm sinh: 1982												
Địa chỉ cơ quan: Trường ĐH Sư phạm-ĐHTN													
Điện thoại cơ quan: 0208 3856891	Điện thoại di động: 0989 516 346												
E-mail: ptnhanbio@dhsptn.edu.vn	Fax:												
8. NHỮNG THÀNH VIÊN THAM GIA NGHIÊN CỨU ĐỀ TÀI <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 5%;">TT</th> <th style="width: 20%;">Họ và tên</th> <th style="width: 25%;">Đơn vị công tác và lĩnh vực chuyên môn</th> <th style="width: 35%;">Nội dung nghiên cứu cụ thể được giao</th> <th style="width: 15%;">Chữ ký</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">1</td> <td>TS. Phạm Thị Thanh Nhân</td> <td> - Trường Đại học Sư phạm-ĐH Thái Nguyên; - Di truyền học, Công nghệ sinh học </td> <td> - Chủ nhiệm đề tài. - Xây dựng thuyết minh, thu thập mẫu. - Nghiên cứu tạo sinh khối rễ tơ cây Bình vôi. - Phân tích đặc điểm hình thái, giải phẫu và định danh một số mẫu cây Bình vôi; - Biến nạp tạo cây Bình vôi </td> <td style="text-align: center; vertical-align: middle;"> </td> </tr> </tbody> </table>				TT	Họ và tên	Đơn vị công tác và lĩnh vực chuyên môn	Nội dung nghiên cứu cụ thể được giao	Chữ ký	1	TS. Phạm Thị Thanh Nhân	- Trường Đại học Sư phạm-ĐH Thái Nguyên; - Di truyền học, Công nghệ sinh học	- Chủ nhiệm đề tài. - Xây dựng thuyết minh, thu thập mẫu. - Nghiên cứu tạo sinh khối rễ tơ cây Bình vôi. - Phân tích đặc điểm hình thái, giải phẫu và định danh một số mẫu cây Bình vôi; - Biến nạp tạo cây Bình vôi	
TT	Họ và tên	Đơn vị công tác và lĩnh vực chuyên môn	Nội dung nghiên cứu cụ thể được giao	Chữ ký									
1	TS. Phạm Thị Thanh Nhân	- Trường Đại học Sư phạm-ĐH Thái Nguyên; - Di truyền học, Công nghệ sinh học	- Chủ nhiệm đề tài. - Xây dựng thuyết minh, thu thập mẫu. - Nghiên cứu tạo sinh khối rễ tơ cây Bình vôi. - Phân tích đặc điểm hình thái, giải phẫu và định danh một số mẫu cây Bình vôi; - Biến nạp tạo cây Bình vôi										

QUYẾT ĐỊNH

**Về việc thành lập Hội đồng khoa học đánh giá nghiệm thu cấp bộ
đề tài khoa học và công nghệ cấp bộ**

BỘ TRƯỞNG BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

Căn cứ Nghị định số 123/2016/NĐ-CP ngày 01 tháng 9 năm 2016 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của bộ, cơ quan ngang bộ;

Căn cứ Nghị định số 69/2017/NĐ-CP ngày 25 tháng 5 năm 2017 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Bộ Giáo dục và Đào tạo;

Căn cứ Nghị định số 08/2014/NĐ-CP ngày 27 tháng 01 năm 2014 của Chính phủ quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Thông tư số 11/2016/TT-BGDĐT ngày 11 tháng 4 năm 2016 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo ban hành quy định về quản lý đề tài khoa học và công nghệ cấp Bộ của Bộ Giáo dục và Đào tạo;

Theo đề nghị của Giám đốc Đại học Thái Nguyên, Vụ trưởng Vụ Khoa học, Công nghệ và Môi trường.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Thành lập Hội đồng khoa học đánh giá nghiệm thu cấp bộ đề tài khoa học và công nghệ cấp bộ, mã số B2019-TNA-09: "Nghiên cứu hệ thống nuôi cấy rễ tơ và biểu hiện gen mã hóa enzyme columbamine O-methyltransferase nhằm tăng hàm lượng rotundin ở cây Bình vôi (*Stephania spp*)", do PGS.TS Phạm Thị Thanh Nhân làm chủ nhiệm, Đại học Thái Nguyên là cơ quan chủ trì, gồm các thành viên trong danh sách kèm theo.

Điều 2. Hội đồng có nhiệm vụ đánh giá toàn diện việc thực hiện đề tài theo quy định tại Thông tư số 11/2016/TT-BGDĐT ngày 11/4/2016 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo. Sau khi hoàn thành nhiệm vụ, Hội đồng tự giải thể.

Điều 3. Chánh Văn phòng, Vụ trưởng Vụ Khoa học, Công nghệ và Môi trường, Giám đốc Đại học Thái Nguyên, các thành viên trong Hội đồng và chủ nhiệm đề tài chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này.

Nơi nhận :

- Như Điều 3;
- Bộ trưởng (để báo cáo);
- Lưu VT, KHCNMT.



**KT. BỘ TRƯỞNG
THỨ TRƯỞNG**

Nguyễn Văn Phúc

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

DANH SÁCH CÁC THÀNH VIÊN HỘI ĐỒNG KHOA HỌC ĐÁNH GIÁ NGHIỆM THU CẤP BỘ ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ CẤP BỘ

(Theo Quyết định số : /QĐ-BGDĐT ngày tháng năm 2022)

Tên đề tài: Nghiên cứu hệ thống nuôi cấy rễ tơ và biểu hiện gen mã hóa enzyme columbamine O-methyltransferase nhằm tăng hàm lượng rotundin ở cây Bình vôi (*Stephania* spp.).

Mã số: B2019-TNA-09

Chủ nhiệm đề tài: PGS.TS Phạm Thị Thanh Nhân
Đại học Thái Nguyên (Trường Đại học Sư phạm)

Số TT	Chức danh khoa học, học vị, họ và tên	Đơn vị công tác	Nhiệm vụ trong hội đồng
1	PGS.TS Sỹ Danh Thường	Trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên	Chủ tịch
2	TS. Nguyễn Thị Thuý Hường	Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam	Ủy viên, Phản biện
3	TS. Trịnh Đình Khá	Trường Đại học Thủy Lợi	Ủy viên, Phản biện
4	TS. La Việt Hồng	Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2	Ủy viên
5	TS. Mai Anh Khoa	Đại học Thái Nguyên	Ủy viên
6	PGS.TS Nguyễn Hữu Quân	Trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên	Ủy viên
7	TS. Lương Thị Thuý Vân	Trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên	Ủy viên, Thư ký

(Danh sách gồm 7 thành viên).

PGS.TS. NGUYỄN THỊ THU NGÀ

distributed in tropical and subtropical regions (POWO 2019). In Vietnam, the genus is represented by four species *Cleome ruidosperma* DC., *C. houtteana* Schltdl., *C. viscosa* L., and *C. gynandra* L. (Ban & Dorofeev 2003). Many of the earlier studies have treated *Cleome* and other allied genera under tribe - Cleomeae of the family Capparaceae (Bentham & Hooker 1862; Candolle 1824; Eichler 1865; Takhtajan 2009) or subfamily - Cleomoideae of Capparaceae (Kubitzki & Bayer 2003; Melchior 1964; Pax 1891; Takhtajan 1997 & 1987). Lately, the monophyly of the family Cleomaceae was proved and its placement was resolved based on the molecular data (Hall 2008; Hall, Iltis & Sytsma 2004; Hall, Sytsma & Iltis 2002) and consequently it was given a distinct family status. Members of this family are distinguished from the closely related Capparaceae and Brassicaceae by their mostly herbaceous habit, palmately compound leaves, capsular fruits lacking a septum, and seeds with a testa (Melanie, Eric & Jocelyn 2014).

Several studies on the pollen morphology of Cleomaceae were carried out in the last few decades (Gamal 1993; Nyananyo 1990; Riaz et al. 2019; Richard et al. 1997; Ruiz, Xen & Nereida 1997; Solomon et al. 1973). Some studies also addressed the seed morphology of Cleomaceae and indicated the existence of characters with potential use in differentiating several genera or species (Aparadh & Karadge 2010; Arbuzova & Nikitin 2003; Puri 1971). The characters of pollens grain and the seed of Cleomaceae using scanning electron microscope (SEM) were also proved important to distinguish some species of Cleomaceae in Saudi Arabia (Wael 2016). On similar lines, our study focused on the objective to find out the important pollen and seed characters helpful in differentiating Vietnamese *Cleome* species using both light and scanning electron microscopy.

MATERIALS AND METHODS

MATERIALS

Specimens were collected during 2010 to 2012 in selected areas of Vietnam. Information related to collection of specimens are provided in Table 1. All specimens were identified consulting relevant literature (Chayamarit 1991; Ho 1999; Hu 2007; Jacobs 1960) and several herbarium specimens housed in HN, K, and P. Nomenclature of species followed POWO 2020 (Plant of the world online). All specimens were kept in HN (Hanoi Herbarium, Institute of Ecology and Biological Resources, Hanoi, Vietnam).

POLLEN STUDY

For light microscopy (LM), pollen grains were extracted from one or two flowers per sample and were acetolyzed by the standard acetolysis method (Erdtman 1960). After that, they were mounted on glycerine jelly, and observed at 1000x magnification under oil immersion TM 518. All measurements were obtained by LM and captured on a Zeiss Axio Imager A1 camera. For scanning electron microscopy (SEM), pollen grains were placed on stubs coating with gold Hitachi E-1010 sputter coater for three minutes. The surface ornamentations were examined using a Hitachi S3400-N scanning electron microscope at 20KV, installed at the International Biological Material Research Center (IBMRC), Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB), Republic of Korea. The major morphometric parameters such as the polar axis and equatorial axis were measured on 20 pollen grains, and the exine thickness was measured in ten randomly chosen pollen grains with the arithmetic mean calculated. The terminology used for pollen description followed Hesse et al. (2009) and Punt et al. (2007).

SEED STUDY

Mature seeds were collected from the field and were cleaned, dried, and measured for length, width, and other information (color and shape) under the light microscope (LM) Nikon, AZ100. Selected seeds were directly mounted on double-sided carbon tape and then gold ion coating in a sputter coater unit (Hitachi E-1010). Surface of seeds was observed under a Hitachi S3400-N scanning electron microscope (SEM) at 20KV. Description of the shape and surface of seeds followed the terminology used in Barthlott (1981), Jeong et al. (2017) and Murley (1951).

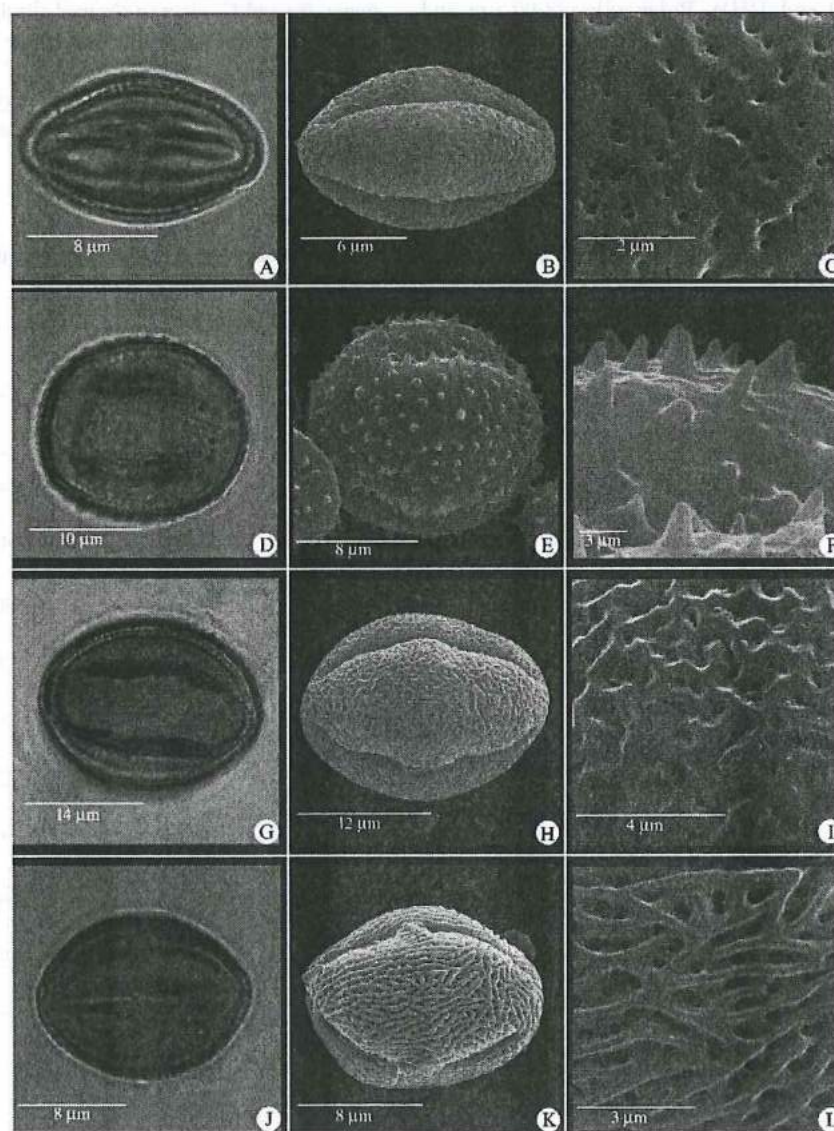
RESULTS AND DISCUSSION

POLLEN MORPHOLOGY

Cleome ruidosperma: The pollen grains are monad, radially symmetrical, isopolar, prolate. Aperture type tricolporate. Outline elliptic in the equatorial view (Figure 1(A) and 1(B)). Polar axis 18.62 μ m, equatorial axis 11.75 μ m. Ratio of the length of the polar axis to the equatorial axis (P/E): 1.58. Colpus length 15.10 μ m. Mesocolpium length 6.76 μ m. Exine sculpture microreticulate. Exine thickness 1.22 μ m (Table 2, Figure 1(B) and 1(C)).

TABLE 1. List of investigated taxa and specimen details

Species name	Voucher specimen information
<i>Cleome rutidosperma</i> DC.	<i>S.D. Thuong 17</i> ; Tran Chau community - Cat Ba island, Cat Hai district, Hai Phong city. N20°47'37" E106°59'26". 33 m. asl. HN!
<i>Cleome houtteana</i> Schldl.	<i>S.D. Thuong 21</i> ; 8 ward, Da Lat city, Lam Dong province. N11°57'01" E108°26'58". 1483 m. asl. HN!
<i>Cleome viscosa</i> L.	<i>S.D. Thuong 18</i> . Krong Na community, Buon Don district, Dak Lak province. N11°20'11" E108°53'35". 181 m. asl. HN!
<i>Cleome gynandra</i> L.	<i>S. D. Thuong 23</i> . Ca Na community, Ninh Phuoc district, Ninh Thuan province. N12°54'58" E107°44'56". 5 m. asl. HN!



A-C. *Cleome rutidosperma*. D-F. *Cleome houtteana*. G-I. *Cleome viscosa*. J-L. *Cleome gynandra*. A, D, G, J. aperture detail (LM). B, E, H, K. general feature (SEM). C, F, I, L. surface detail (SEM)

FIGURE 1. Photomicrographs and electron micrographs of pollen grains of species of Cleomaceae in equatorial view

Cleome houtteana: The pollen grains are monad, radially symmetrical, isopolar, prolate-spheroidal. Aperture type: tricolporate. Outline nearly circular in the equatorial view (Figure 1(D) and 1(E)). Polar axis: 19.72 μm and equatorial axis: 17.81 μm . The ratio of the length of the polar axis to the equatorial axis (P/E): 1.10. Colpus length: 16.46 μm . Mesocolpium length: 12.32 μm . Exine sculpture: echinate, spines 0.56 μm long. Exine thickness: 1.25 μm (Table 2, Figure 1(E) and 1(F)).

Cleome viscosa: The pollen grains are monad, radially symmetrical, isopolar, prolate. Aperture type: tricolporate. Outline elliptic in the equatorial view (Figure 1(G) and 1(H)). Polar axis: 28.90 μm and equatorial axis: 20.12 μm . The ratio of the length of the polar axis to the equatorial axis (P/E) is 1.43. Colpus length: 22.15 μm . Mesocolpium length: 13.56 μm . Exine sculpture: reticulate-rugulate. Exine thickness: 1.26 μm (Table 2, Figure 1(H) and 1(I)).

Cleome gynandra: The pollen grains are monad, radially symmetrical, isopolar, subprolate. Aperture type: tricolporate. Outline: elliptic in the equatorial view (Figure 1(J) and 1(K)). Polar axis: 17.10 μm and equatorial axis: 13.00 μm . The ratio of the length of the polar axis to the equatorial axis (P/E): 1.31. Colpus length: 13.34 μm . Mesocolpium length: 9.80 μm . Exine sculpture: striate-foveolate. Exine thickness: 1.05 μm (Table 2, Figure 1(K) and 1(L)).

Edeoga et al. (2009) when studying pollen of three species of *C. viscosa*, *C. gynandra*, and *C. rutidosperma* in Nigeria documented tricolpate pollen structures of these three species. Our investigations on pollens of *C. gynandra* and *C. viscosa* showed similar characteristic, however, there is a slight difference in size of polar axis, equatorial axis, the length of colpus and the thickness of exine. This variability may be result of the geographical separation and ecological adaptations.

TABLE 2. Measurements of pollen of *Cleome* species studied (P: polar axis, E: equatorial axis, P/E: Polar/equatorial, ET: exine thickness). All units in μm except P/E

Species Characters	<i>Cleome rutidosperma</i>	<i>Cleome houtteana</i>	<i>Cleome viscosa</i>	<i>Cleome gynandra</i>
Pollen type	monad	monad	monad	monad
Aperture type	tricolporate	tricolporate	tricolporate	tricolporate
Equatorial view	elliptic	nearly circular	elliptic	elliptic
P	18.62 $\pm$ 1.70	19.72 $\pm$ 1.25	28.90 $\pm$ 2.50	17.10 $\pm$ 2.30
E	11.75 $\pm$ 1.04	17.81 $\pm$ 1.53	20.12 $\pm$ 1.81	13.00 $\pm$ 1.64
P/E	1.58	1.10	1.43	1.31
ET	1.22 $\pm$ 0.13	1.25 $\pm$ 0.24	1.26 $\pm$ 0.33	1.05 $\pm$ 0.28
Pollen shape	Prolate	Prolate-spheroidal	Prolate	Subprolate
Exine sculpture	microreticulate	Echinate, spine length 0.56 $\pm$ 0.20	reticulate-rugulate	Striate-foveolate
Mesocolpium length	6.76 $\pm$ 0.23	12.32 $\pm$ 0.22	13.56 $\pm$ 0.36	9.80 $\pm$ 0.21
Colpus length	15.10 $\pm$ 0.10	16.46 $\pm$ 0.33	22.15 $\pm$ 0.21	13.34 $\pm$ 0.15



Characteristics of the Chloroplast Genome of *Adinandra bockiana* and Comparative Analysis with Species of Pentaphylacaceae Family

Nga Thi Thu Nguyen¹ · Hang Thi Thuy Pho^{1,2} · Quan Huu Nguyen¹ · Nhung Thi Doan³ · Lan Thi Ngoc Nguyen¹ · Huong Mai Pham³ · Lam Tung Le³ · Thuong Danh Sy¹ · Ha Hoang Chu³ · Lien Thi Kim Vu^{4,5} · Mau Hoang Chu¹ 

Received: 11 February 2022 / Accepted: 17 May 2023

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2023

Abstract

Adinandra bockiana E. Pritz. ex Diels is a potential plant of the *Adinandra* genus that contains bioactive. This study presents the results of assembly and annotation of the chloroplast (cp) genome of *A. bockiana*, a comparison of it with *Adinandra* cp genomes of several other species, and proposed candidate DNA barcoding from the cp genome. The *A. bockiana* cp genome was reconstructed by raw reads from total DNA, assembling reads (each read is 150 bp in length) into contigs, and then the contigs were assembled again to sequence the complete cp genome. The *A. bockiana* cp genome is 156,284 bp in length and consists of a large single-copy (LSC) region of 85,693 bp, a small single-copy (SSC) region of 18,411 bp, a pair of inverted repeats (IRa and IRb) of 26,090 bp each, 129 functional genes, 51 SSRs, and other 70 repeat structures. The functional genes of the *A. bockiana* cp genome contain 84 protein-coding genes, 37 transfer RNA genes, and eight ribosomal RNA genes. A comparative analysis of the *A. bockiana* cp genome with the rest of the public *Adinandra* genomes showed that the number of genes and their structure were highly conserved in the surveyed group. Based on complete cp genomes and *matK* and *trnL* sequences of some species of the *Adinandra* and other genera, molecular phylogenetic trees were established which show the genetic relationships of the species belonging to the Pentaphylacaceae family. Among the chloroplast genes of *A. bockiana*, the *matK* and *trnL* genes are better candidates for phylogenetic analysis.

Keywords *Adinandra bockiana* · Chloroplast genome · Chloroplast map · Phylogenetic resolution · Vietnam

Key Message

- The complete chloroplast genome of *Adinandra bockiana* was sequenced, and its size is 156,284 bp, including an LSC, SSC, 129 functional genes, 51 SSRs, and 70 repeat structures.
- The phylogenetic reconstruction using comparative analysis with species of the Pentaphylacaceae family and the *matK* sequence is a better candidate for phylogenetic resolution.

✉ Lien Thi Kim Vu
vutkimlien@duytan.edu.vn

✉ Mau Hoang Chu
chuhuangmau@tnu.edu.vn

¹ Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen 250000, Vietnam

² Thai Nguyen University of Medicine and Pharmacy, Thai Nguyen 250000, Vietnam

³ Institute of Biotechnology, Vietnam, Academy of Science and Technology, Hanoi 100000, Vietnam

⁴ Institute of Theoretical and Applied Research, Duy Tan University, Hanoi 100000, Vietnam

⁵ Faculty of Natural Sciences, Duy Tan University, Da Nang 550000, Vietnam

Introduction

The *Adinandra* genus was first established in 1822 by Jack W. with a species *A. dumosa* from Sumatra and the Malay Islands. There are about 85 species mainly distributed in the region of southern Asia and the African tropical forest (Min and Bruce 2007a, b). Eleven species of the *Adinandra* genus occur in Vietnam, including *A. dongnaiensis* Gagnep., *A. annamensis* Gagnep., *A. caudata* Gagnep., *A. poilanei* Gagnep., *A. hainanensis* Hay., *A. microcarpa* Gagnep., and *A. integerrima*. T. And. ex Dyer, *A. millettii* Benth. & Hook. f. ex Hance, *A. rubropunctata* Merr. & Chun., *A. megaphylla* Hu., and *A. glischroloma* Hand-Mazz. (Ho 1999; Nguyen 2003). Several species belonging to the *Adinandra* genus have been used as a traditional medicinal product (Chen et al. 1997; Yu and Chen 1997) and in phylogenetic analysis (Rosea et al. 2018; Wu et al. 2007a, b; Yu et al. 2017; Nguyen et al. 2021a, b). The initial information about *A. bockiana* was first found in the journal *Bot. Jahrb. Syst.* 29: 474 (1900). However, the related information on this species is recently still limited only

to morphological descriptions (Wu et al. 2007a, b) and bio-activity assay (Nguyen et al. 2020). Thus, the shortcomings of studies on the genomics of *A. bockiana*, focusing on the nuclear, mitochondrial, and chloroplast genome, severely limit the research, utilization, and conservation of this plant species.

The chloroplast (cp) genome has characteristics of haploid inheritance (Bendich 2004). The chloroplast, a plastid characterized by thylakoid structures and a double-layer membrane, plays a vital role in photosynthesis and several essential biochemical processes of the plant (Mustárdy et al. 2008; Schattat et al. 2011). It is also one of two organelles (as well as mitochondria) that contain their genomes. In the *A. bockiana* cp genome, a pair of inverted repeats (IRs) separates the large single-copy region (LSC) and the small single-copy region (SSC) (Bendich 2004). Generally, the majority of proteins that involve in photosynthesis are encoded by the cp genes; in addition, there are some genes encoding transfer RNAs and ribosomal RNAs (Daniell et al. 2016). Although the chloroplast genome is smaller than nuclear genomes in size and gene content, the chloroplast genome is crucial for investigating plant evolution and molecular phylogeny (Wang et al. 2018). Since cp genomes are conserved in organization, structure, and DNA sequences compared with nuclear and mitochondrial genomes, they have been widely used in plant taxonomic study and phylogenetic analysis. For example, *ndhF*, *matK*, and *trnS-trnG* regions within the cp genome have been amplified for barcoding, species identification, and phylogenies (Dong et al. 2012; Shaw et al. 2014). Recently, the advent of third-generation sequencing (NGS) technology is an efficient method that makes sequencing the whole cp genome advantageous.

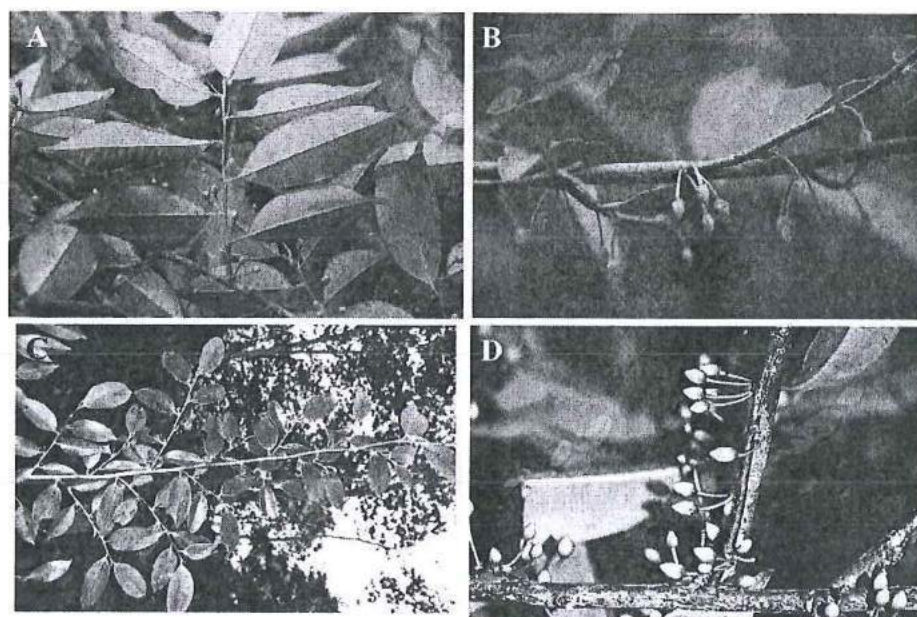
Our goal in building DNA barcodes is to identify and analyze the molecular evolution of some pharmacological species of the genus *Adinandra*. Therefore, in the previous report, the complete cp genome sequence of *A. megaphylla* Hu, a medicinal plant, was sequenced and annotated. The results also show that the *matK* gene is a better candidate for phylogenetic analysis (Nguyen et al. 2021a, b). Here is an assembly annotation of the complete cp genome sequence of *Adinandra bockiana* E. Pritz. ex Diels. Additionally, the *A. bockiana* genome was compared to sequence divergence, analyzed molecular evolution among the *Adinandra* species, inference of the phylogenetic relationship, and reconstructed the phylogeny of the plant species within the family Pentaphylacaceae.

Material and Methods

A. bockiana Samples

The leaf samples and specimens of *A. bockiana* samples (Voucher NHQ 02) were collected in August 2019, at an altitude of 800 m, in the coordinates 21°59'15"N; 104°19'28"E (Fig. 1) at Hoang Lien—Van Ban Nature Reserve (Lao Cai, Vietnam). The voucher specimens were stored at the Institute of Ecology and Biological Resources, Vietnam. To collect these samples, we have the permission of the Ministry of Agriculture and rural development in Vietnam and followed the regulations of the Nature Reserve and legislation.

Fig. 1 Morphology of *A. bockiana* E. Pritz. ex Diels (Voucher NHQ 02). **A** Abaxial surface of leaf, **B** adaxial surface of leaf, **C** branch with buds, **D** bud; all photo by Huu Quan Nguyen



DNA Extraction from Leaves and cp Genome Sequencing of *A. bockiana*

The modified CTAB method (Souza et al. 2012) was selected to extract the genomic DNA from young plant leaves. The DNA sample purity was evaluated by absorption spectrum and by 0.8% agarose gel electrophoresis. In addition, DNA library preparation was implemented from total genomic DNA using SMRTbell Express Template Prep Kit 2.0 (Pacific Biosciences, Menlo Park, CA), and adapter ligation was thereafter performed, according to the manufacturer's protocol for genomic DNA above 20 kb (Pacific Biosciences). SMRTbell libraries were loaded on one chip and sequenced on a PacBio SEQUEL system at the Key Laboratory for Gene Technology, Institution of Biotechnology (Hanoi, Vietnam).

Assembly and Annotation of *A. bockiana* cp Genome

The total genome DNA was obtained by a resequencing method in the PacBio platform. Then, the raw sequences belonging to the cp genome were sorted out by mapping to the reference cp genome of *Adinandra angustifolia* (MF179491) (Yu et al. 2017) using pbmm2 version 1.2.0 (<https://github.com/PacificBiosciences/pbmm2>). The *A. bockiana* cp genome was assembled by the software HGAP4 (Chin et al. 2013); subsequently, the contigs were analyzed using the BLAST software (Johnson et al. 2008). The protein, tRNA, and rRNA-coding genes were annotated by the CpGAVAS2 pipeline (Liu et al. 2012). Default parameters of tRNA genes were confirmed using the tRNAscan-SE version 1.21 software (Lowe and Eddy 1997). The plastome circular cp map of the *A. bockiana* genome was constructed using the OrganellarGenomeDRAW tool (OGDRAW) version 1.3.1 (Lohse et al. 2007). Repeat elements were found using two approaches. Simple sequence repeats (SSRs) were identified in the *A. bockiana* chloroplast genome using the online software MicroSAteLLite (MISA) (Beier et al. 2017) with the following parameters: ten repeat units for mononucleotides, five for dinucleotides, four for trinucleotides, and three units for tetra-, penta-, hex nucleotides SSRs motifs. The size and location of long repeats (palindromic, forward, reverse, and complement) in the *Adinandra* plastome were investigated using REPuter (<https://bibiserv.cebitec.uni-bielefeld.de/reputer>) (Kurtz and Schleiermacher 1999) with the set parameters as follows: hamming distance of 3 kb, a minimal repeat size of 20 bp, and 90% or greater sequence identity.

Cp Genome Comparison Among Several *Adinandra* Species

The structure, size, content, and repeats of *A. bockiana* cp genome were compared with those of the cp genomes of *A.*

megaphylla (GenBank: MW697901) (Nguyen et al. 2021a, b), *A. millettii* (GenBank: MF179492) and *A. angustifolia* (GenBank: MF179491) (Yu et al. 2017). The whole cp genome sequences of the four *Adinandra* plants (*A. bockiana*, *A. megaphylla*, *A. millettii*, and *A. angustifolia*) were aligned with the MAFFT server (Kato et al. 2019) and visualized using LAGAN mode in mVISTA (Mayor et al. 2000). For the mVISTA plot, we used the annotated cp genome of *A. bockiana* as a reference. The Irscope was employed to visually display and compare the borders of LSC, SSC, and IR regions among the four *Adinandra* species (*A. bockiana*, *A. megaphylla*, *A. millettii*, and *A. angustifolia*) (Amiryousefi et al. 2018). Using DnaSP version 6.12.03 to analyze the relative usage of synonymous codons and the divergence of sequences (Pi) among the four species *A. bockiana*, *A. megaphylla*, *A. millettii*, and *A. angustifolia* (Rozas et al. 2017). For the sequence divergence analysis, we applied the window size of 600 bp with a 200 bp step size.

Analysis of Phylogeny

The taxonomic position of the *A. bockiana* was identified by the completed cp genome sequences from species of the *Adinandra* genus and some other species of the Pentaphyllaceae family. The MUSCLE mode in Unipro UGENE software v36.0 (Okonechnikov et al. 2012) was used to align these sequences then constructed a maximum likelihood (ML) phylogenetic tree using Mega-X software (Kumar et al. 2018) and conducted the rapid bootstrap analysis (1000 replicates). The selected methods are based on the previous study of this genus (Yu et al. 2017). However, because of the shortcoming of available cp genomic sequences among the genus *Adinandra* in literature, other commonly used barcoding genes such as *matK* and *trnL* were aligned using the ClustalW method, and the trees were built by a similar strategy as mentioned above.

Results

Characteristics of *A. bockiana* cp Genome

The complete cp genome of *A. bockiana* is 156,284 bp in length (Fig. 2). The *A. bockiana* cp genome has a typical tetrahedral structure consisting of four regions with a pair of IRs is 26,090 bp in length, and LSC is 85,693 bp in length, and the SSC is 18,411 bp in length. The *A. bockiana* cp genome contains 129 genes, and the percent of the GC content of the cp genome was 37.4%.

Gene composition analysis of the cp genome of *A. bockiana* shows that there were 129 genes including 84 protein-coding genes (PCGs), 37 tRNA genes, and 8 rRNA genes (Suppl. 1). In the cp genome of *A. bockiana*,

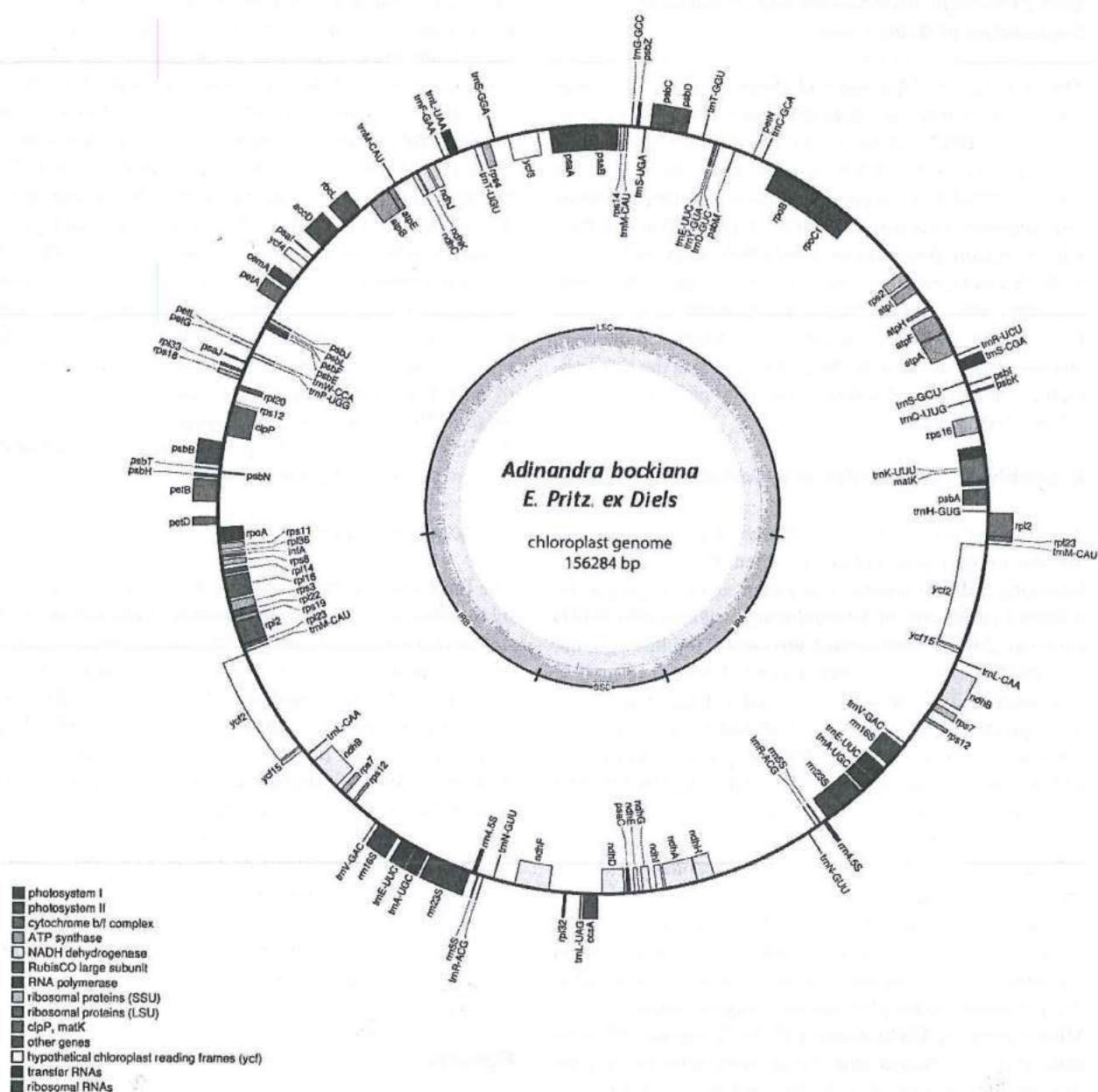
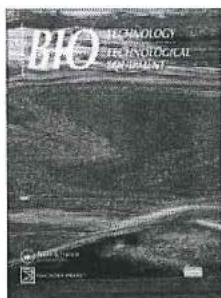


Fig. 2 Chloroplast genome map of *A. bockiana*. Genes shown inside the circle are transcribed clockwise, whereas genes outside are transcribed counterclockwise. The AT content shows light gray, and the GC content shows dark gray in the inner circle. Chloroplast map of

A. bockiana E. Pritz. ex Diels in Vietnam. The annotated *A. bockiana* chloroplast genome sequence was deposited in GenBank under accession MW699853 (Nguyen et al. 2021b)

129 genes were distributed in 18 groups including the photosynthesis-related gene category (6 groups), the transcription and translation gene category (6 groups), another gene category (5 groups), and conserved open reading frames. A total of 45 genes belong to the photosynthesis-related gene category, 65 genes are involved in transcription and translation processes, and 20 genes are

containing from one to two introns. Otherwise, encoding genes have a high degree of conservation, and some genes have unknown functions. In the IR regions, there are 17 genes with two copies annotated (Table 1). The annotated *A. bockiana* cp genome sequence was deposited in GenBank under accession MW699853 (Nguyen et al. 2021a, b).



Chemical composition and cytotoxic effects of essential oils from *Capparis trinervia* Hook. F. & Thomson on cancer cell lines

Nga Thi Thu Nguyen, Lan Thi Ngoc Nguyen, Thuong Danh Sy, Quan Huu Nguyen, Trung Quang Tu, Khang Van Pham, Tan Quang Tu & Mau Hoang Chu

To cite this article: Nga Thi Thu Nguyen, Lan Thi Ngoc Nguyen, Thuong Danh Sy, Quan Huu Nguyen, Trung Quang Tu, Khang Van Pham, Tan Quang Tu & Mau Hoang Chu (2021) Chemical composition and cytotoxic effects of essential oils from *Capparis trinervia* Hook. F. & Thomson on cancer cell lines, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 35:1, 1926-1933, DOI: [10.1080/13102818.2022.2028578](https://doi.org/10.1080/13102818.2022.2028578)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/13102818.2022.2028578>



© 2022 The Author(s). Published by Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group.



Published online: 09 Feb 2022.



Submit your article to this journal [↗](#)



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)



Chemical composition and cytotoxic effects of essential oils from *Capparis trinervia* Hook. F. & Thomson on cancer cell lines

Nga Thi Thu Nguyen^a, Lan Thi Ngoc Nguyen^a, Thuong Danh Sy^a, Quan Huu Nguyen^a, Trung Quang Tu^a, Khang Van Pham^b, Tan Quang Tu^a and Mau Hoang Chu^a

^aDepartment of Genetics and Biotechnology, School of Biology, TNU-University of Education, Thai Nguyen City, Viet Nam; ^bDepartment of Applied Chemistry, School of Chemistry, TNU-University of Education, Thai Nguyen City, Viet Nam

ABSTRACT

Capparis trinervia (family Capparaceae) is a common wild plant distributed in various localities in the mountainous region of Vietnam. While essential oils have been found in the leaves and stems of *C. trinervia*, there are no reports to date describing the chemical composition and biological activities to guide further exploration and application of the oils. This study determined the essential oil composition of *C. trinervia*; 8 and 23 distinct essential oil compounds were identified from *C. trinervia* leaves and stems, respectively. Stigmasterol (C₂₉H₄₈O) was identified as the primary compound of essential oil from leaves, accounting for 75.775% of the oils, while 3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol (C₂₀H₄₀O) was identified as the main essential oil component in *C. trinervia* stems, accounting for 18.337%. This study also explored the cytotoxic effects of essential oils extracted from *C. trinervia* against five cancer cells lines (A549, MCF7, HeLa, HepG2 and KB). A strong cytotoxic effect on all cancer cell lines was demonstrated by 100 µg mL⁻¹ essential oils derived from *C. trinervia* leaves and stems, which suggests the species is a promising candidate for use in life and public healthcare.

ABBREVIATIONS: DMEM: Dulbecco's Modified Eagle Medium; DMSO: Dimethyl sulfoxide; GC: Gas chromatography; GC/MS: Gas chromatography/Mass spectrometry; A549: Human lung carcinoma; MCF7: Human breast carcinoma; HeLa: Human cervix carcinoma; HepG2: Human hepatocarcinoma; KB: Human carcinomas in the mouth; EO: essential oil; LDL: Low-density lipoprotein; OD: Optical density; SRB: Sulforhodamine B.

ARTICLE HISTORY

Received 27 July 2021

Accepted 7 January 2022

KEYWORDS

Capparis trinervia;
cytotoxicity; essential oil;
IC₅₀; Vietnam

Introduction

Capparis is the largest genus of the Capparaceae family; it includes approximately 250 species distributed in tropical and subtropical regions [1]. Many species of this genus are consumed as food and utilized in traditional medicine [2,3]. Traditional medicine values *Capparis* for its use as a diuretic, as well as for treatment of gastrointestinal issues, inflammation, bronchitis, nasal mucositis, menstruation and asthma [1,4]. Extracts of some *Capparis* species have been noted to contain biologically active secondary compounds.

Numerous studies on the biological activity and pharmacological and phytochemical properties of *C. spinosa* have been conducted [5,6]. The content and biological activity of substances is dependent upon the sampling site and extraction method [7,8]. Extracts from *C. spinosa* were shown to have protective effects against cytotoxicity

and tumour growth, as well as anticancer, antibacterial and antifungal properties [9–12].

The biological activities of several other species of *Capparis* have also been assessed. Leaf extracts of *Capparis brevispina* have antioxidant, cytotoxic and anticancer effects [13–15]. Methanol extracts from the fruit of *Capparis ovata* has demonstrated anticancer activity in mouse models [16]. Stem and leaf extracts of *C. flavicans* have also exhibited anticancer activities [17]. Numerous published reports on the composition and bioactivity of essential oils (EOs) from various plants, such as *Thymus daenensis*, *Chromolaena odorata*, *Artemisia fragrans* and *Psidium guajava*, have provided information on the composition and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of EOs [18–21].

To date, there have been several studies conducted to elucidate the composition and EO bioactivities of *C. spinosa*, *C. spinosa* var. *aegyptiaca*, and *C. ovata* var.

CONTACT Mau Hoang Chu ✉ chuhoangmau@tnu.edu.vn Department of Genetics and Biotechnology, School of Biology, TNU-University of Education, Thai Nguyen City 250000, Viet Nam; Thuong Danh Sy ✉ thuongsd@tnue.edu.vn Department of Genetics and Biotechnology, School of Biology, TNU-University of Education, Thai Nguyen City 250000, Viet Nam

© 2022 The Author(s). Published by Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group.

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

canescens. However, there are no published studies on the EOs found in *C. trinervia*, a species that is widely distributed in Vietnam and in secondary forests at altitudes up to 300 m [4]. This study aimed to serve as an initial report on *C. trinervia* EOs with respect to compositional analysis and exploration of their cytotoxic effects on cancer cell lines.

Materials and methods

Materials

Samples of *C. trinervia* were collected in Phuc Yen Town, Vinh Phuc Province, Vietnam (21°23'02"N; 105°42'43"E; altitude 58 m), in the spring of March 2020. Classification was based on the comparative morphology method established by Assoc. Prof. Dr. Sy Danh Thuong, Department of Botany, Faculty of Biology, TNU-University of Education, Vietnam (Figure 1). The voucher specimens (Code number: Sy Danh Thuong 30) were stored at the Museum of Biology, TNU, University of Education, Vietnam. The leaves and stems with an identical code number were collected separately, cut into small pieces of approximately 1 cm, and washed to extract EOs.

The cancer cell lines used in the study included A549 (human lung carcinoma), MCF7 (human breast carcinoma), HeLa (human cervix carcinoma), HepG2 (human hepatocarcinoma) and KB (human carcinomas in the mouth). These cancer cell lines were used in the cytotoxic assays at the Bioassay Laboratory, VAST-Institute of Biotechnology, Vietnam. Five human cancer cell lines were grown in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM; Hyclone, Logan, Utah, USA) with 10% foetal bovine serum, 2 mmol L⁻¹ L-glutamine, 10 mmol L⁻¹ HEPES and 1 mmol L⁻¹ sodium pyruvate at 37 °C in a 5% CO₂ humidified atmosphere.

Essential oil extraction method

EOs from *C. trinervia* leaves and stems were extracted by a steam-aspirated distillation method for 4 h under

normal pressure at approximately 70 °C–80 °C [22]. The extracts were dissolved in n-hexane and n-butanol to obtain the dissolved EOs. The EOs were stored in glass bottles, which were then wrapped in sealed plastic bags, covered and stored at 4 °C. Soluble EO was utilized for determining the composition and testing for cytotoxic activity against selected human cancer cell lines.

Essential oil chemical composition analysis method

A n-hexane-soluble EO sample was used to analyze the chemical composition of the EO. One milliliter of the EO of the plant was obtained following evaporation of the n-hexane solvent, and 0.1 mL of extracted EO was dissolved in 5 mL n-hexane to determine the chemical composition using gas chromatography (GC) and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS).

GC was performed using an Agilent Technologies HP 6890N Plus attached to a FID detector (Agilent Technologies, USA). An HP-5MS chromatographic column with a 30 m length, inner diameter (ID) of 0.25 mm and thin-film layer of 0.25 µm was used. The injection chamber temperature was maintained at 250 °C. The detector temperature was set to 260 °C. The initial 60 °C thermostatic chamber temperature was held for 2 min prior to being increased at a rate of 4 °C/min until 220 °C was reached and held for 10 min. Helium was used as the carrier gas.

GC/MS was performed using gas chromatography equipment, and GC/MS conjugate spectroscopy was performed on an Agilent Technologies HP 6890N paired with a mass selective detector (Agilent HP 5973 MSD). The HP-5MS column measured 0.25 m × 30 m × 0.25 mm, and the HP1 measured 0.25 m × 30 m × 0.32 mm. The temperature was held at 60 °C for 2 min before being increased by 4 °C/min to 220 °C; the temperature was subsequently increased at a rate of 20 °C/min to 260 °C. Helium was the carrier gas.

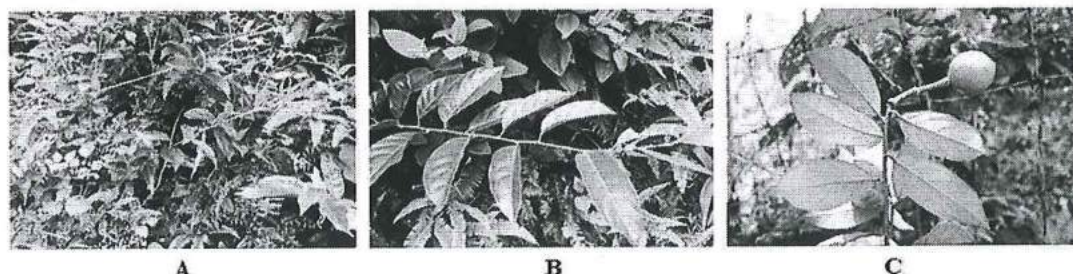


Figure 1. Morphology of *C. trinervia*. (A) *C. trinervia* wildly growing in the secondary forest along with some other plants; (B) leaf-bearing branchlet (upper side); (C) leaf-bearing branchlet (underside) and fruit.

Constructor validation was performed by comparing MS spectral data with published standard spectra available in the Willey/Chemstation HP library [7].

Cytotoxic assays on human cancer cell lines

To assess the cytotoxic activity of EOs from the leaves and stems of *C. trinervia*, four concentrations of EO extracts (100, 20, 4 and 0.8 µg mL⁻¹) were tested on five cancer cell lines (A549, MCF7, HeLa, HepG2 and KB).

The *in vitro* cytotoxicity testing method utilized was confirmed by the National Cancer Institute (NCI) as a standard cytotoxicity test to screen and detect substances with inhibitory ability on the *in vitro* growth or destruction of cancer cells. This test was based on cellular protein content and performed in accordance with the methods described by Skehan et al. (1990) [23,24]. Protein content was determined based on optical density (OD), as measured by staining content with sulforhodamine B (SRB). The measured OD value was directly proportional to the amount of SRB bound to the protein molecule; therefore, a greater quantity of cells and protein content yielded a higher OD value.

The experiment was carried out under the following conditions: (1) trypsinization was used to loosen and count cells to adjust for density suitable for the experiment. (2) Different concentrations of reagents were added to a 96-well plate. A well containing 190 µL of cancer cells was used as a control on day 0. After 1 h, the cells in the control well were fixed with 20% trichloroacetic acid (TCA). (3) The sample was placed in an incubator for 72 h. TCA was applied for 1 h to fix cells and SRB was then used to stain cells for 30 min at 37°C prior to washing the sample in triplicate with acetic acid and allowing time to dry. (4) SRB was dissolved with an unbuffered Tris base (10 mmol L⁻¹) and then gently shaken for 10 min. (5) The OD results were read at 540 nm using an ELISA plate reader.

The percentage of cell growth inhibition in the presence of the reagent was determined using the following formula:

$$\text{Inhibition} = 100\% - \frac{\text{OD}(\text{sample}) - \text{OD}(\text{day0})}{\text{OD}(\text{DMSO}) - \text{OD}(\text{day0})} (\%)$$

Each test was repeated 3 times. Ellipticine at 10, 2, 0.4 and 0.08 µg mL⁻¹ concentrations was used as a positive control. Dimethyl sulfoxide (DMSO) 10% was used as a negative control.

The half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀) is defined as the EO concentration that will inhibit 50% of cancer cells. The IC₅₀ was determined using

TableCurve 2Dv4 computer software. According to the American National Cancer Institute (NCI) standards, an extract is considered to have good activity with an IC₅₀ ≤ of 20 µg mL⁻¹ [24].

Statistical analysis

The cytotoxic effects of EOs from *C. trinervia* leaves and stems against human cancer cell lines *in vitro* were analyzed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) software, and Duncan's test was used to determine differences at *p* < 0.05.

Results and discussion

Chemical composition of essential oil from leaves and the above-ground portions of stems in *C. trinervia*

The EOs from *C. trinervia* leaves were extracted by steam aspiration distillation and dissolved in n-hexane. The EO from *C. trinervia* leaves is liquid, white and transparent. The analytical results of the GC/MS spectrum of leaf EO (Figure 2A and Table 1) showed that the chemical composition consisted of eight compounds, of which the most abundant compound was stigmasterol (C₂₉H₄₈O) with 75.775%, while nonane, 2,2,4,4,6,8,8 heptamethyl (C₁₆H₃₄), was the lowest yielding compound (0.079%). Much like the EO found in *C. trinervia* leaves, the EO from the plant's stems is liquid, white and transparent. A GC/MS spectrum analysis of EOs from the above-ground stems of *C. trinervia* in Figure 2B and Table 2 identified 23 compounds; 3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol accounted for the highest yield (18.337%), while humulenol-II was the lowest yield (0.628%). Overall, the primary constituent of EOs from *C. trinervia* leaves and stems were stigmasterol and 3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol, respectively.

Existing published studies identifying the chemical compositions and cytotoxic activities on cancer cell lines of plants native to Vietnam's mountainous regions have been concentrated on a handful of species [15,26,27]. In *C. spinosa*, methyl isothiocyanate (92.06%) has been identified as the major component of EOs extracted from leaves and flower buds. These EOs have the ability to inhibit lipid oxidation in both animal and human digestion [28]. EOs from *C. spinosa* var. *aegyptiaca*, a plant widely grown in Egypt, are also primarily composed of methyl isothiocyanate (24.66%) [29]. El-Ghorab et al. (2007) identified 86 and 100 compounds in EOs extracted from the buds and leaves of *C. ovata* var. *canescens*, respectively. Benzyl alcohol was identified in

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC

BÁO CÁO KHOA HỌC PROCEEDINGS

**HỘI NGHỊ KHOA HỌC CÔNG NGHỆ SINH HỌC TOÀN QUỐC 2023
NATIONAL BIOTECHNOLOGY CONFERENCE 2023**

**TRUNG TÂM HỘI NGHỊ QUỐC GIA HÀ NỘI
06 THÁNG 10 NĂM 2023**

**Công nghệ Gen, Công nghệ Enzyme và Hóa sinh,
Công nghệ sinh học Y - Dược, Công nghệ sinh học Vi sinh môi trường
Công nghệ sinh học Thực vật, Công nghệ sinh học Động vật**

HÀ NỘI 2023

MỤC LỤC

TIỂU BAN CÔNG NGHỆ GEN

1. NGHIÊN CỨU HỆ ENZYME CHUYỂN HÓA LIGNOCELLULOSE TỪ NẤM *Candolleomyces euryspous* VÀ TÍNH CHẾ THU NHẬN, XÁC ĐỊNH MỘT SỐ ĐẶC TÍNH CỦA UNSPECIFIC PEROXYGENASE TỪ NẤM. **Đỗ Hữu Nghị, Đặng Thu Quỳnh, Enrico Büttner, Christiane Liers, Harald Kellner, Martin Hofrichter** 3
2. TẠO DÒNG, BIỂU HIỆN NANOBODY F18FedF6 VÀ ĐÁNH GIÁ TƯƠNG TÁC VỚI Enterotoxigenic *Escherichia coli*. **Vũ Hoàng Gia Uy, Lê Thị Xuân Trang, Trần Văn Hiếu** 9
3. TẠO DÒNG, BIỂU HIỆN VÀ TẢI GẤP CUỘN TIỂU PHẦN BẮM DÍNH FEDF TỪ TIÊM MAO F18 CỦA Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC). **Lý Cẩm Tú, Lê Đào Hoàng Anh, Đinh Thuận Thiên, Trần Văn Hiếu** 16
4. TÁC ĐỘNG CỦA XỬ LÝ BISULFITE VỚI CÁC YẾU TỐ DNA VẬN ĐỘNG ĐẾN KẾT QUẢ ĐỊNH LƯỢNG ĐẶC HIỆU METHYL qMSP-PCR. **Phạm Thế Tùng, Trần Thị Quỳnh Trang, Nguyễn Thị Thân, Phạm Thị Ngọc Phượng, Võ Thị Thương Lan** 21
5. THIẾT KẾ VÀ BIỂU HIỆN TẠM THỜI KHÁNG NGUYÊN M TÁI TỔ HỢP CỦA VIRUS GÂY BỆNH TIÊU CHẢY CẤP Ở LỢN (PEDV) DUNG HỢP MOTIF GCN4PII VÀ ELASTIN LIKE POLYPEPTIDE TRÊN CÂY THUỐC LÁ *Nicotiana benthamiana*. **Hồ Thị Thương, Tống Thị Tuyết Chi, Trịnh Thái Vy, Nguyễn Thị Thu Hiền, Lê Thị Trà My, Trần Thu Hoài, Vũ Huyền Trang, Phạm Bích Ngọc** 27
6. FORENSIC GENETIC ANALYSIS OF MITOCHONDRIAL DNA HYPERVARIABLE REGION III SEQUENCES IN KINH POPULATION FROM SOUTHERN VIETNAM. **Nguyen Thi Lan Huong, Luu Phuc Loi, Vuong Gia Bao, Phan Ngoc Phu Quy, Mai Quang Truong** 34
7. PHÂN TÍCH IN SILICO TƯƠNG TÁC GIỮA TẠM THỂ CLAUDIN-4 VÀ PEPTIDE CPE17 NHẪM ĐỊNH HƯỚNG KHÁNG NGUYÊN CỤM TẾ BÀO M. **Nguyễn Văn Minh Thường, Đinh Thuận Thiên, Trần Văn Hiếu** 41
8. PHÂN TÍCH DI TRUYỀN LOÀI TRÀM NẤM GÀN (*Melefeuca quinquenervia*) DỰA TRÊN TRÌNH TỰ DNA VÙNG GEN ITS2. **Nguyễn Trường Giang, Nguyễn Hoàng Cẩm Tú, Nguyễn Thị Xuân Hiền, Huỳnh Hữu Đức** 47
9. PHÂN TÍCH ĐA DẠNG VI KHUẨN MANG GEN VÀ NHÓM GEN MÃ HÓA LIGNOCELLULASE TỪ DỮ LIỆU DNA ĐA HỆ GEN TRONG RUỘT MỎI. **Lê Thị Thu Hồng, Nguyễn Hồng Dương, Trương Nam Hải, Đỗ Thị Huyền** 54
10. NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG VÀ KHAI THÁC GEN MÃ HÓA CELLULASE TỪ DỮ LIỆU DNA ĐA HỆ GEN CỦA VI KHUẨN QUANH NẤM MỤC TRẮNG Ở RỪNG QUỐC GIA CÚC PHƯƠNG. **Nguyễn Thị Bình, Lê Thị Thu Hồng, Trương Nam Hải** 61
11. THỬ NGHIỆM BỘ MÔI SUY BIẾN TRONG PHẢN ỨNG LAMP PHÁT HIỆN GEN MÃ HÓA ĐỘC TỐ THẦN KINH BOTULINUM SEROTYPE A, B, E. **Nguyễn Thảo Hiền, Chu Thị Hải Anh, Phạm Bảo Yên** 67
12. NGHIÊN CỨU BIỂU HIỆN CỦA CÁC GEN THUỘC HỌ GEN MÃ HÓA PROTEIN VẬN CHUYỂN SẮT TRONG KHÔNG BẢO Ở *Arabidopsis thaliana* (AtVIT) TRONG ĐIỀU KIỆN TẬP CHÓNG CHỊU LẠNH. **Đỗ Minh Ân, Lê Quỳnh Mai** 72
13. HOMOLOGY MODELING AND MOLECULAR DOCKING OF O-METHYLTRANSFERASE FROM *Oryza sativa* USING RESVERATROL. **Pham Ngoc Huyen, Nguyen Thi Quynh Trang, Nguyen Trinh Yen Hanh, Luan Luong Chu** 79
14. PHÂN TÍCH DI TRUYỀN GIỮA CÁC LOÀI LAN NGỌC ĐIỂM (*Rhynchostylis gigantea* L.) DỰA TRÊN CHỈ THỊ PHẢN TỰ DNA BARCODE. **Phan Diễm Quỳnh, Huỳnh Hữu Đức, Nguyễn Trường Giang, Lê Thị Thu Hằng, Hà Thị Loan** 86

181. NHÂN NHANH CÂY SU SU (*Sechium* sp.) BẰNG KỸ THUẬT NUÔI CÂY MÔ. Cao Bá Cường', Ong Xuân Phong', Nguyễn Thị Thúy Ngân, Nguyễn Thị Tĩnh, Lê Văn Vĩnh, La Việt Hồng 1166
182. THIẾT KẾ HỆ THỐNG KHÍ CANH ĐỂ RA RỄ VÀ HUẤN LUYỆN CÂY CHUỐI NUÔI CÂY MÔ. Ong Xuân Phong', Cao Bá Cường', Nguyễn Văn Thiệp, Chu Đức Hà, Trần Đăng Khoa Cao Phi Bằng, La Việt Hồng..... 1172
183. ẢNH HƯỞNG CỦA NGUỒN NITƠ LÊN KHẢ NĂNG TĂNG SINH VÀ SINH TỔNG HỢP ANTHOCYANIN CỦA MÔ SẼO BẮP CẢI TÍM (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*) NUÔI CÂY IN VITRO. Đặng Thị Kim Thúy, Đỗ Đăng Giáp, Trần Trọng Tuấn, Nguyễn Thị Huyền Trang, Nguyễn Thị Thu Hằng, Trần Thị Mỹ Trâm, Liêu Mỹ Đông, Lê Thị Thủy Tiên..... 1177
184. NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG CÂY MAI VÀNG ĐẠI LỘC (*Ochna integerrima* (Lour.) Merr. cultivar Dai Loc) THÔNG QUA NUÔI CÂY MÔ LÁ. Nguyễn Thị Kiều Linh, Nguyễn Xuân Dũng 1182
185. NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA MỘT SỐ GIỐNG HỒNG MÔN (*Anthurium andraeanum*) DỰA VÀO CHỈ THỊ RAPD. Trương Thị Hồng Hải, Hồ Thị Hoàng Nhi, Sonexay Rasphone 1188
186. KIỂM TRA HOẠT ĐỘNG CỦA HỆ THỐNG CHUYỂN GEN THÔNG QUA VI KHUẨN *A. tumefaciens* TRÊN GIỐNG DƯA CHUỘT NÉP THƠM. Hoàng Thị Huyền Trang, Nguyễn Đình Trọng, Bùi Phương Thảo, Nguyễn Hồng Nhung, Chu Hoàng Hà, Đỗ Tiến Phát 1194
187. ĐẶC ĐIỂM TRÌNH TỰ BARCODE MATK VÀ RBCL Ở CÂY NGỌC LAN (*Michelia alba*). Vũ Thị Thu Thủy, Hoàng Phú Hiệp, Phạm Thị Thanh Nhân, Chu Hoàng Mậu 1200
188. PHÁT HIỆN GEN KHÁNG BỆNH BẠC LÁ, ĐẠO ÔN VÀ RẦY HAU CỦA CÁC GIỐNG LÚA NÉP CẨM ĐẶC SẢN VÙNG TÂY BẮC VIỆT NAM. Phan Thị Ngọc Tùng, Phan Hữu Tôn, Phạm Thị Dung, Tống Văn Hải, Vũ Ngọc Lan 1209
189. BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN, KHÁNG NẤM CỦA QUẢ ỔI ĐÀO (*Psidium guajava* L.). Hoàng Phú Hiệp, Đỗ Duy Thắng, Đặng Thị Hoàng Hà, Nguyễn Thị Thu Hà, Trần Thị Hồng, Từ Quang Trung 1216
190. NGHIÊN CỨU MÔI TRƯỜNG NUÔI CÂY IN VITRO CÂY NHÀU (*Morinda Citrifolia* L.). Nguyễn Thị Thu Nga, Nguyễn Hữu Quân, Trần Thị Hồng..... 1220

TIỂU BAN CÔNG NGHỆ SINH HỌC ĐỘNG VẬT

191. SỰ THAY ĐỔI TESTOSTERONE THEO MÙA CỦA DÊ BÁCH THẢO. Nguyễn Thị Thu Hiền..... 1229
192. SO SÁNH ĐẶC ĐIỂM CÁC THÔNG SỐ ĐỘNG HỌC CỦA PHÔI TỪ KỸ THUẬT CAPA-IVM VỚI PHÔI TỪ KỸ THUẬT ICSI CÓ KÍCH THÍCH BUỒNG TRỨNG. Lê Thị Bích Phượng, Đặng Thị Huyền Trang, Nguyễn Thị Tú Trinh, Trần Hà Lan Thanh, Lê Hoàng Anh, Nguyễn Cao Trí, Hồ Mạnh Tường 1235
193. CÁC LOÀI ONG MẬT THUỘC GIỐNG Apis (HYMENOPTERA: APIDAE) Ở KHU VỰC NÚI BÀ ĐEN TỈNH TÂY NINH, VIỆT NAM. Lê Văn Thọ , Đặng Văn Sơn , Phạm Thanh Lưu , Nguyễn Quốc Bảo , Phạm Quốc Trọng, Nguyễn Thị Mai Hương 1240
194. CÁC CHỈ TIÊU SINH LÝ MÁU CỦA CỪU PHÂN RANG KHI SỬ DỤNG THỨC ĂN Ủ CHUA. Nguyễn Bình Phương, Nguyễn Đức Thịnh, Nguyễn Thị Thu Hiền 1246
195. ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ KHỬ CỦA PHƯƠNG PHÁP KHỬ TẾ BÀO KẾT HỢP GIỮA SODIUM DODECYL SULFATE VÀ DÒNG CHẢY CỦA HỆ THỐNG BIOREACTOR. Đặng Quỳnh Như, Nguyễn Thuận Nho, Trần Lê Bảo Hà 1252

NGHIÊN CỨU MÔI TRƯỜNG NUÔI CÂY *IN VITRO* CÂY NHÀU (*Morinda Citrifolia* L.)

Nguyễn Thị Thu Nga, Nguyễn Hữu Quân, Trần Thị Hồng

Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên

TÓM TẮT

Cây Nâu là giống cây dược liệu quý được trồng khá phổ biến và cũng là cây dược liệu có nhiều ứng dụng trong y học cổ truyền ở một số nước trên thế giới. Hầu hết các bộ phận của cây đều đã được sử dụng làm thức ăn, đồ uống. Trong dân gian, cây được dùng làm thuốc với các tác dụng chữa bệnh. Trong trái Nâu chứa tiền chất của xeronine, có khả năng tác động vào các protein đích. Hiện nay, nhu cầu sử dụng sản phẩm từ cây Nâu ngày càng tăng. Việc áp dụng kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật sẽ giúp nhân giống, tạo nguồn sản phẩm đáp ứng cho nhu cầu sử dụng của người dân. Phương pháp nghiên cứu nuôi cấy *in vitro* được tiến hành với việc thăm dò môi trường nuôi cấy cây Nâu từ bước tạo mẫu sạch, tạo chồi, tạo rễ và đưa cây ra ngoài vườn ươm. Kết quả thí nghiệm cho thấy, hạt Nâu được khử trùng trong cồn 70° (1 phút), javen 60 % trong 20 phút có tỉ lệ hạt sạch nảy mầm đạt 82 %. Trên môi trường MS cơ bản có bổ sung BAP 2 mg/L cho hiệu quả tạo đa chồi tốt nhất trong các nồng độ nghiên cứu (số chồi/mẫu đạt 2,53). Môi trường tối ưu cho quá trình tạo rễ là MS cơ bản có bổ sung IBA 0,9 mg/L. Khi ra cây ngoài điều kiện tự nhiên ở giai đoạn bầu đất, giá thể đất thịt và trấu hun với tỉ lệ 1:1 là phù hợp nhất cho việc huấn luyện cây *in vitro*. Nghiên cứu của chúng tôi được tiến hành nhằm tạo nguồn cây giống *in vitro* để khắc phục một số vấn đề khó khăn khi nhân giống ngoài tự nhiên và giúp bảo tồn nguồn dược liệu quý.

Từ khóa: Cây Nâu, chữa bệnh, dược liệu, môi trường nuôi cấy, nuôi cấy *in vitro*.

MỞ ĐẦU

Chi *Morinda* thuộc họ Coffee Rubiaceae và bao gồm khoảng 80 loài. *Morinda citrifolia* Linn (*Morinda citrifolia* L.), thường được gọi là noni hoặc Mulberry Ấn Độ. Nâu đã được sử dụng như một cây thuốc của người Polynesia 200 năm trước. Hiện nay, Nâu là một loại cây điển hình được tìm thấy ở các vùng khí hậu nhiệt đới của Hoa Kỳ (Hawaii), Brazil, Tahiti, Malaysia và quần đảo Fiji. Nghiên cứu về tác dụng của trái cây Nâu của Heinicke (1985) đã chứng minh rằng Nâu có chứa xeronine. Mặc dù trong trái cây Nâu lượng xeronine tự do không đáng kể, chúng vẫn chứa một lượng đáng kể tiền chất của xeronine, được đặt tên là pro-xeronine. Một trong những lý giải cho tác dụng dược liệu của trái cây Nâu là xeronine có thể điều chỉnh cấu trúc và tính ổn định của các protein đích. Các tác dụng có lợi của trái cây Nâu được biết đến như trong điều hòa kinh nguyệt, tăng huyết áp, bổ sung, trầm cảm, xơ vữa động mạch, tiêu hóa, giảm đau và nhiều tác dụng khác (Nguyễn Trọng Thông và cs., 2004; Đái Thị Xuân Trang và cs., 2012).

Cây Nâu là một trong những loài cây được xếp vào nhóm cây là vị thuốc quý ở Việt Nam theo Đỗ Tất Lợi (2004). Cây Nâu có nguồn gốc từ châu Úc và châu Á, phân bố ở các quốc gia khác nhau trong đó có Việt Nam, Ấn Độ, Trung Quốc, Thái Lan, Lào,... Cây Nâu thường mọc ở độ cao 0-500 m tính từ mực nước biển (Vũ Hương Giang và cs., 2015). Trong những năm trở lại gần đây, nhu cầu sử dụng các sản phẩm từ cây Nâu tăng đột biến, đặc biệt nhu cầu từ nước ngoài tăng mạnh, gần như các sản phẩm từ cây Nâu luôn trong tình trạng khan hiếm hàng. Trong nước, người tiêu dùng đã biết đến nhiều hơn các công dụng từ trái Nâu, dẫn đến nhu cầu nội địa tăng. Nhiều nơi đã có truyền thống dùng rễ Nâu được thái mỏng phơi khô sắc uống để trị đau lưng, phong thấp. Phụ nữ một số vùng còn ăn trái Nâu chín để làm nhuận trường, hoạt huyết hoặc điều hòa kinh nguyệt,... (Vũ Thị Mai Hương và cs., 2013; Vũ Văn Thắng và cs., 2009). Bên cạnh đó còn có nhiều công ty dược trong nước và trên thế giới đã sản xuất thuốc viên và thuốc nước từ cây thuốc này với mục đích chữa nhiều bệnh (Nguyễn Thị Ngọc Hương và cs., 2012).

Việc bảo tồn các giống cây dược liệu nói chung và cây Nâu nói riêng có thể thực hiện bằng nhiều biện pháp truyền thống như chiết cành, ghép cành và gieo hạt. Tuy nhiên hiệu quả đạt được chưa cao, khó khăn trong chọn cành chiết - ghép, tỉ lệ hạt nảy mầm yếu,... Một vài năm trở lại đây người dân đã dùng cây Nâu phổ biến rộng rãi để chữa bệnh. Thực trạng trên đang đặt ra những vấn đề cần giải quyết. Sự phát triển của ngành Công nghệ sinh học, đặc biệt là việc áp dụng kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật sẽ giúp cho việc nhân giống, tạo nguồn sản phẩm đáp ứng cho thị trường trong nước và tiến tới xuất khẩu. Đồng thời giúp giải quyết được việc làm và nâng cao đời sống vật chất, tinh thần cho người dân. Một số nghiên cứu về nuôi cấy *in vitro* trên đối tượng cây Nâu đã được thực hiện. Elakkuvan *et al.* (2015) đã nghiên cứu khử trùng mẫu và ảnh hưởng của việc khử trùng đến tỉ lệ sống của đoạn chồi, chồi ngọn và lá non *Morinda citrifolia* L. Các chất khử trùng như HgCl₂, Javen và Ca(ClO)₂ được sử dụng trong thí nghiệm, khi kết hợp với các khoảng thời gian khác nhau cho kết quả khác nhau.



P-ISSN 1859-4794 * E-ISSN 2615-9929

TẠP CHÍ

KHOA HỌC & CÔNG NGHỆ Việt Nam

Vietnam Journal of Science and Technology - MOST

B

Tập 64 - Số 12 - Tháng 12 năm 2022

Thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cao chiết từ lá loài Dương đồng bắc (*Adinandra bockiana* E. Pritz. ex Diels)

Nguyễn Hữu Quân*, Nguyễn Thị Ngọc Lan, Nguyễn Thị Thu Nga, Sỹ Danh Thường, Chu Hoàng Mậu

Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Thái Nguyên, 20 đường Lương Ngọc Quyến, thành phố Thái Nguyên, Việt Nam

Ngày nhận bài 20/5/2021; ngày chuyển phản biện 24/5/2021; ngày nhận phản biện 24/6/2021; ngày chấp nhận đăng 2/7/2021

Tóm tắt:

Dương đồng bắc có tên khoa học là *Adinandra bockiana* E. Pritz. ex Diels, thuộc chi Dương đồng phân bố ở tỉnh Lào Cai, Việt Nam. Một số loài thuộc chi Dương đồng đã được nghiên cứu về đặc điểm thực vật và các chất có hoạt tính sinh học trong cây, tuy nhiên cho đến nay loài Dương đồng bắc chưa được tác giả nào nghiên cứu. Do đó, nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cao chiết từ lá loài này là công trình đầu tiên và cần thiết trong thực tiễn. Cao chiết từ lá của loài Dương đồng bắc có chứa nhóm chất polyphenol, tanin và coumarin. Cao ethanol, dichloromethan và ethyl acetat ở nồng độ 20, 60 và 200 µg/ml ức chế sự phát triển của vi khuẩn *B. subtilis*, *L. plantarum* và *S. macescens*. Cao ethanol, dichloromethane và ethyl acetate có hoạt tính khử gốc tự do DPPH mạnh, giá trị EC₅₀ lần lượt đạt 0,2, 0,47 và 5,7 µg/ml. Cao ethanol có hoạt tính ức chế các dòng tế bào ung thư dạ dày, phổi và vú với giá trị IC₅₀ lần lượt là 58,62, 48,73 và 43,15 µg/ml. Kết quả này cho thấy, loài Dương đồng bắc là cây trồng tiềm năng bởi chứa nhiều hợp chất có khả năng kháng khuẩn, kháng oxy hóa và ức chế các dòng tế bào ung thư.

Từ khóa: cao tổng, chống oxy hóa, Dương đồng bắc, kháng khuẩn, kháng tế bào ung thư.

Chỉ số phân loại: 3.4

Đặt vấn đề

Việt Nam là quốc gia có đa dạng sinh học phong phú và tiềm năng cao về cây dược liệu. Tuy nhiên, có nhiều loài chưa được nghiên cứu về tầm quan trọng và giá trị làm thuốc của chúng, đặc biệt là các loài thuộc chi Dương đồng. Ở Việt Nam, chi Dương đồng có khoảng 14 loài, phân bố rải rác khắp cả nước [1]. Loài *Adinandra lienii* bước đầu được nghiên cứu về vị trí phân bố địa lý, đặc điểm thực vật học và trình tự gen *matK*, vùng ITS giúp nhận diện loài [2, 3]. Ngoài ra, thành phần hóa học và hoạt tính kháng khuẩn từ lá của loài *A. lienii* được chứng minh có hoạt tính kháng khuẩn, chống oxy hóa và ức chế một số dòng tế bào ung thư [4]. T.T.N Nguyen và cs (2020) [5] đã nghiên cứu về loài *A. megaphylla* Hu và nhận thấy cao chiết từ lá của loài này có chứa các hợp chất polyphenol, coumarin; đồng thời chứng minh cao chiết từ lá có hoạt tính kháng khuẩn, khử gốc tự do và ức chế dòng tế bào ung thư vú, dạ dày, phổi. Như vậy, các nghiên cứu ở Việt Nam hiện nay tập trung chủ yếu vào *A. lienii* và *A. megaphylla* là các loài phân bố chủ yếu ở khu vực miền núi phía Bắc.

Dương đồng bắc hay còn gọi là Hồng đam Tam Đảo, có tên khoa học là *Adinandra bockiana* E. Pritz. ex Diels, thuộc chi Dương đồng (*Adinandra*), họ Chè (*Theaceae*). Dương đồng bắc là cây thân gỗ, cao 2-6 m và thường mọc trên sườn núi hoặc trong thung lũng, nơi có độ cao 200-1500 m. Loài Dương đồng bắc chỉ phân bố ở Trung Quốc và Việt Nam. Hiện nay, chưa có bất kỳ công trình nghiên cứu nào về loài này. Vậy loài Dương đồng bắc có hay không có hợp chất có khả năng kháng khuẩn, chống oxy hóa, kháng tế bào ung thư và nếu có thì là những hợp chất thứ cấp nào? Đây chính là câu hỏi đặt ra cho

nghiên cứu này và cũng là nghiên cứu đầu tiên về loài Dương đồng bắc để trả lời câu hỏi trên. Nghiên cứu tiến hành tách cao chiết, định tính thành phần hóa học của loài Dương đồng bắc và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, chống oxy hóa, kháng tế bào ung thư của cao chiết thu được.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu và môi trường nuôi cấy

Loài Dương đồng bắc sử dụng trong nghiên cứu được thu tại Khu bảo tồn thiên nhiên Hoàng Liên - Văn Bàn thuộc xã Liềm Phú, huyện Văn Bàn, tỉnh Lào Cai vào tháng 8/2019 ở độ cao 800 m, tọa độ 21°59'15"N, 104°19'28"E. Tên khoa học của loài được xác định bởi PGS.TS Sỹ Danh Thường, Trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên (hình 1). Loài Dương đồng bắc thu thập được sự cho phép của Ban quản lý Khu bảo tồn thiên nhiên Hoàng Liên - Văn Bàn. Mẫu lá được sử dụng để tạo cao chiết và nghiên cứu các bước tiếp theo.



Hình 1. Hình ảnh của loài Dương đồng bắc sử dụng trong nghiên cứu. (A) Mặt sau của lá; (B) Cảnh mang nụ (ảnh được chụp bởi nhóm tác giả trong quá trình thu mẫu).

*Tác giả liên hệ: Email: quanh@nue.edu.vn

Chemical composition and biological activity of leaf extracts of *Adinandra bockiana* E. Pritz. ex Diels

Huu Quan Nguyen*, Thi Ngoc Lan Nguyen,
Thi Thu Nga Nguyen, Danh Thuong Sy, Hoang Mau Chu

Department of Biology, Thai Nguyen University of Education,
20 Luong Ngoc Quyen Street, Thai Nguyen City, Vietnam

Received 20 May 2021; revised 24 June 2021; accepted 2 July 2021

Abstract:

Adinandra bockiana E. Pritz. ex Diels collected in Lao Cai province, Vietnam belongs to the *Adinandra* genus. Some species of the genus *Adinandra* have been studied for their botanical characteristics and bioactive compounds, however, *A. bockiana* has not been studied to date. Therefore, studying the chemical composition and biological activity of *A. bockiana* leaf extracts is pioneering and necessary in reality. The leaf extracts of *A. bockiana* have been quantified and determined to contain tannins, coumarins and polyphenolic compounds. The ethanol extract, dichloromethane extract and ethyl acetate extract at the concentrations 20, 60, and 200 µg/ml can inhibit the growth of *B. subtilis*, *L. plantarum*, and *S. marcescens*. The ethanol extract, dichloromethane extract and ethyl acetate extract have free radical reduction activity, which EC_{50} values reached 0.2, 0.47, and 5.7 µg/ml, respectively. The ethanol extract exhibited inhibitory activities on gastric, lung, and breast cancer cell lines with IC_{50} values of 58.62, 48.73, and 43.15 µg/ml, respectively. The results show that *A. bockiana* is a potential plant that contains many compounds that have antibacterial, antioxidant, and anticancer activities.

Keywords: *Adinandra bockiana* E. Pritz. ex Diels, antibacterial, anti-cancer, antioxidant, total leaf extract.

Classification number: 3.4

Các loài vi khuẩn kiểm định *B. subtilis*, *S. marcescens* và *L. plantarum* do Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên cung cấp. Môi trường LB để nuôi cấy vi khuẩn kiểm định có thành phần gồm cao nấm men 0,5%, NaCl 1,0%, pepton 1,0%. Môi trường LB đặc bổ sung 2,0% thạch agar.

Các dòng tế bào ung thư gồm: MDA-MB-231 (ung thư vú), AGS (ung thư dạ dày) và A549 (ung thư phổi) được sử dụng để xác định hoạt tính gây độc tế bào do Phòng Thử nghiệm sinh học, Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam cung cấp.

2.2. Phương pháp điều chế mẫu thử hoạt tính

Lá của loài Dương đồng bố thu hái được rửa sạch và thái nhỏ, phơi trong bóng mát, sấy khô ở nhiệt độ 50°C đến khối

lượng không đổi, sau đó đem nghiền nhỏ. Mẫu nghiền được ngâm chiết hai lần bằng ethanol trong thiết bị siêu âm ở nhiệt độ phòng. Dịch tổng số được cất kiệt dung môi dưới áp suất giảm, nhiệt độ <50°C và thu được cặn cô ethanol. Cặn cô ethanol được pha loãng bằng nước cất, sau đó chiết phân bố lần lượt với các dung môi là dichloromethan và ethyl acetat. Sau khi cất đuổi dung môi thu được cặn dịch dichloromethan, ethyl acetat và cặn chiết. Các cặn dịch thu được sẽ sấy khô ở nhiệt độ 50°C và thu được cao sấy khô tương ứng. Các cao chiết được cho vào bình thủy tinh, ghi nhãn, đậy kín và bảo quản ở nhiệt độ thường để sử dụng trong các nghiên cứu tiếp theo.

2.3. Định tính các hợp chất có trong cao ethanol

Định tính polyphenol: Phản ứng với muối sắt (III), lấy 5 ml cao ethanol cho vào 2 ống nghiệm ký hiệu lần lượt là I và II. Cho thêm 0,5 ml muối sắt (III) vào ống II và quan sát hiện tượng. Tùy theo số lượng và vị trí nhóm hydroxyl trong phân tử polyphenol mà cho màu lục, xanh hoặc nâu. Phản ứng với dung dịch H_2SO_4 đặc, lấy 2 ml cao ethanol vào 2 ống nghiệm ký hiệu lần lượt là I và II. Cho thêm 1-2 giọt H_2SO_4 đặc vào ống II và quan sát hiện tượng. Khi nhỏ H_2SO_4 đặc lên các dẫn xuất của flavon và flavonol thì cho màu vàng đậm; đối với chalcon và auron cho màu đỏ, đỏ thẫm và đỏ tươi; flavanon cho màu đỏ da cam do sự chuyển thành chalcon.

Định tính các coumarin: Lấy 2 ml cao ethanol vào 2 ống nghiệm ký hiệu lần lượt là I và II. Cho vào ống II 0,5 ml dung dịch NaOH 10%. Đun cả 2 ống trên bếp cách thủy đến sôi, lấy ra để nguội, sau đó cho thêm 4 ml nước cất vào cả 2 ống I và II. Quan sát thấy chất lỏng ở ống II (có kiềm) trở nên trong suốt hoặc trong hơn ống I (không kiềm) có thể xem là có coumarin. Nếu đem axit hóa ống nghiệm có kiềm bằng một vài giọt HCl đặc mà làm cho dịch mất màu vàng đục hoặc xuất hiện kết tủa bông (cũng có khi xuất hiện kết tủa) thì có thể kết luận có coumarin [6].

Định tính tannin: Lấy 2 ml cao ethanol vào 2 ống nghiệm ký hiệu lần lượt là I và II. Cho thêm thuốc thử vanilin/ H_2SO_4 vào ống I lắc đều và quan sát. Nếu dịch chiết chuyển sang màu đỏ đậm là chứng tỏ có tanin.

2.4. Phương pháp thử hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết

Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết từ lá của loài Dương đồng bố được xác định bằng phương pháp đục lỗ thạch theo B. Mahesh và cs (2008) [7]. Các loài vi khuẩn kiểm định được nuôi hoạt hóa trong môi trường LB lỏng ở 28°C, lắc 200 vòng/phút trong thời gian 8h. Hút 70 µl dịch nuôi mỗi loài vi khuẩn đã được hoạt hóa lên đĩa môi trường LB đặc và trải đều trên mặt thạch cho đến khi khô. Đục các giếng có đường kính 10 mm trên đĩa thạch và nhỏ 100 µl cao chiết mỗi loại từ lá của loài Dương đồng bố vào giếng ở các nồng độ 20, 60 và 200 µg/ml (giếng đối chứng bổ sung Dimethyl sulfoxide (DMSO)). Đặt các đĩa petri đã bổ sung dịch vào tủ lạnh 4°C khoảng 1-2 giờ rồi đặt vào tủ ấm nuôi ở 30°C, từ 18 đến 24 giờ. Đo đường kính vòng

RESEARCH ON *IN VITRO* CULTURE OF *HOYA MULTIFLORA* SPECIES

Nguyen Thi Thu Nga*, Soneseo SYHALAHT, Tran Thi Hong

TNU – University of Education

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 31/5/2021	<i>Hoya multiflora</i> is a beautiful ornamental plant decoration. In addition, <i>Hoya multiflora</i> also works very well in treating a number of diseases, which has been scientifically proven. The conservation of medicinal plants in general and <i>Hoya multiflora</i> in particular can be done by many traditional methods such as sowing seeds after harvesting old ripe fruits and choosing leaves or old stalks with roots to planted to the ground. However, the achieved effect is not high, rarely has ripe fruit to get seeds. In this study, we used <i>in vitro</i> culture method to find a culture medium suitable for plant growth and development <i>in vitro</i> . The results showed that the medium supplemented with BAP 1.0 mg/l gave the best multi-shoot efficiency in the <i>in vitro</i> concentrations of <i>Hoya multiflora</i> . In this medium, green shoots, well developed (3.28 shoots/sample). Optimal medium for the elongation of shoots supplemented with GA3 0.5 mg/l (4.84 cm/sample). The complete plant formation is most suitable on basal MS medium supplemented with α -NAA at a concentration of 0.5 mg/l. The number of roots obtained was 4.83 roots/sample after 8 weeks. The survival rate of seedlings when planted on natural substrates reached 88.3%.
Revised: 28/6/2021	
Published: 02/7/2021	
KEYWORDS	
Cam cu ten lua	
<i>Hoya multiflora</i>	
<i>In vitro</i>	
Tissue culture	
Multi-shoots	

NGHIÊN CỨU NUÔI CÂY *IN VITRO* CÂY CẨM CÙ TÊN LỬA (*Hoya multiflora*)

Nguyễn Thị Thu Nga*, Soneseo SYHALAHT, Trần Thị Hồng

Trường Đại học Sư phạm – ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 31/5/2021	Lan Cẩm cù tên lửa (<i>Hoya multiflora</i>) là cây cảnh trang trí rất đẹp. Ngoài ra cây còn có tác dụng rất tốt trong chữa một số bệnh, đã được khoa học các nước chứng minh. Việc bảo tồn các giống cây dược liệu nói chung và cây Cẩm cù tên lửa nói riêng có thể thực hiện bằng nhiều biện pháp truyền thống như gieo hạt sau khi thu hái trái chín già, có thể chọn lá hoặc thân già đã có rễ để giâm xuống đất. Tuy nhiên hiệu quả đạt được chưa cao do ít khi cây tạo quả chín để lấy hạt. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp nuôi cấy <i>in vitro</i> nhằm tìm ra môi trường nuôi cấy thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của cây trong ống nghiệm. Kết quả thu được, môi trường có bổ sung BAP 1,0 mg/l cho tỷ lệ tạo đa chồi tốt nhất trong các nồng độ thử nghiệm. Trên môi trường này, chồi xanh đậm, phát triển tốt (3,28 chồi/mẫu). Môi trường tối ưu cho quá trình kéo dài chồi là MS bổ sung GA3 0,5 mg/l (4,84 cm/mẫu). Môi trường thích hợp nhất cho tạo cây hoàn chỉnh là MS bổ sung α -NAA với nồng độ 0,5 mg/l. Số rễ thu được đạt 4,83 rễ/chồi sau 8 tuần. Tỷ lệ cây con sống sót khi trồng trên giá thể ngoài tự nhiên đạt 88,3%.
Ngày hoàn thiện: 28/6/2021	
Ngày đăng: 02/7/2021	
TỪ KHÓA	
Cẩm cù tên lửa	
<i>Hoya multiflora</i>	
<i>In vitro</i>	
Môi trường nuôi cấy mô	
Tạo đa chồi	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.4571>* Corresponding author. Email: ngantt.bio@tnue.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Lan Cẩm cù tên lửa là loại hoa thuộc họ Thiên lý (Asclepiadaceae), có tên khoa học là *Hoya multiflora*. Người ta còn biết tới loại cây này với những tên gọi khác như lan sao, lan anh đào, trái tim tình nhân, lan cầu lông... Cẩm cù tên lửa thuộc loại cây bụi nhỏ gọn, sống lâu năm. Cây có thân mềm, trên các đốt có rễ. Lá mọc đối, hình bầu dục với đầu hơi thuôn nhọn. Hiện nay có loại Cẩm cù tên lửa lá hình trái tim rất được ưa chuộng. Cẩm cù tên lửa có hoa mọc ở nách lá nên rất sai hoa, hoa có hình cầu gọi là lan cầu. Có loại màu trắng, nhụy đỏ nhạt, tràng hoa hình tán, xếp tựa như hoa anh đào, có hương thơm, được gọi là lan anh đào [1]-[4].

Cẩm cù tên lửa là cây cảnh trang trí rất đẹp. Ngoài ra, đây còn là loài cây có tác dụng rất tốt trong chữa một số bệnh, đã được khoa học các nước chứng minh. Loài cây hay gặp ở vùng Ấn Độ – Malaysia, thường gặp mọc leo trên các cây to, gặp ở chỗ nắng khu vực núi đá vôi, một số nơi ở Bà Rịa (Núi Dinh) và Lâm Đồng (Đà Lạt) [5]. Cẩm cù thu hái toàn cây quanh năm, dùng tươi hay phơi khô. Bộ phận dùng: toàn cây, dùng tươi hoặc phơi khô đều được. Thành phần hóa học, các bộ phận của cây đều phủ sáp, thân và lá chứa sterol glucosid là hoyin (0,76 - 0,83%). Tính vị, tác dụng: vị đắng, tính bình, có tác dụng khư phong trừ thấp, tiêu ung, giải độc, hạ sốt, long đờm. Công dụng, chỉ định và phối hợp: chữa trị các bệnh viêm phổi nhẹ, viêm phế quản; viêm não B, trẻ em sốt cao; viêm kết mạc, sung amygdal; thấp khớp tạng khớp; viêm vú, viêm tinh hoàn. Liều dùng 60-90 gram cây tươi giã lấy nước chiết uống. Dùng ngoài trị đinh nhọt, viêm mủ da, tổn thương. Giã cây tươi và đắp vào chỗ đau [1], [2], [6], [7].

Việc bảo tồn các giống cây được liệu nói chung và cây Cẩm cù tên lửa nói riêng có thể thực hiện bằng nhiều biện pháp truyền thống như gieo hạt sau khi thu hái trái chín già và có thể chọn lá hoặc thân già đã có rễ để giâm xuống đất. Tuy nhiên hiệu quả đạt được chưa cao, ít khi có quả chín để lấy hạt. Sự phát triển của ngành công nghệ sinh học, đặc biệt là việc áp dụng kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật sẽ giúp cho việc bảo tồn, tạo nguồn sản phẩm đáp ứng cho thị trường trong nước và tiến tới xuất khẩu. Nghiên cứu nuôi cấy *in vitro* cây Cẩm cù cho đến nay chưa có công trình nào được công bố trên thế giới và tại Việt Nam. Ngoài ra, việc lưu giữ *in vitro* còn nhằm bảo tồn nguồn gen quý, nâng cao chất lượng và phẩm chất cây Cẩm cù tên lửa.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu và môi trường nuôi cấy

Mẫu nuôi cấy mô cây Cẩm cù tên lửa *in vitro* do phòng Công nghệ tế bào thực vật, Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm – Đại học Thái Nguyên cung cấp.

Thí nghiệm được tiến hành trên nền môi trường MS cơ bản (Murashige và Skoog, 1962). Các chất kích thích sinh trưởng sử dụng trong nghiên cứu: BAP, Kinetin, GA₃, IBA, NAA. Cồn 90°, cồn 70°, thạch agar, đường sucrose, nước cất khử trùng. Các loại hóa chất tinh khiết và thông dụng có nguồn gốc từ Đức, Trung Quốc, Ấn Độ, Việt Nam,...

2.2. Phương pháp nuôi cấy *in vitro*

2.2.1. Phương pháp tạo đa chồi

Để thăm dò ảnh hưởng của BAP và kinetin đến sự tạo đa chồi của mẫu nuôi cấy, chúng tôi đã sử dụng môi trường MS cơ bản có bổ sung sucrose 30 g/l, agar 9 g/l và chất kích thích tạo đa chồi BAP, kinetin với các nồng độ thay đổi (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/l). Mỗi công thức thí nghiệm tiến hành trên 40 mẫu cấy. Đánh giá kết quả sau 2 tuần, 4 tuần, 6 tuần, 8 tuần nuôi cấy. Theo dõi: Số chồi, chiều cao chồi (cm) và chất lượng chồi.

Số chồi trung bình = Tổng số chồi/ Tổng số mẫu thí nghiệm

Chiều cao chồi = Tổng kích thước của các chồi/ Tổng số mẫu thí nghiệm

2.2.2. Phương pháp kéo dài chồi

ĐẶC ĐIỂM TRÌNH TỰ GEN *trnL* PHÂN LẬP TỪ MẪU CÂY THUỘC CHI CẨM CÙ PHỤC VỤ MỤC ĐÍCH ĐỊNH DANH LOÀI

Nguyễn Thị Thu Nga, Hoàng Phú Hiệp*, Manivanh Yongsas, Nguyễn Đức Hùng

Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên

TÓM TẮT

Mã vạch DNA đặc biệt được sử dụng trong lĩnh vực sinh học để phân biệt các loài khác nhau ở cấp độ phân tử. Phương pháp này rất có ý nghĩa trong việc định danh mẫu thực vật khi các đặc điểm hình thái bị thiếu hoặc gặp khó khăn trong việc so sánh để phân biệt các loài trong cùng một giống (khi định danh các loài bằng phương pháp phân loại hình thái và hóa sinh, các nhà khoa học thường gặp khó khăn do mẫu vật chết, hư hỏng hoặc chưa phát triển đủ các đặc tính). Ở thực vật, một số gen hoặc vùng DNA đã được khuyến cáo sử dụng như marker dùng cho phân loại: gen *matK*, *rbcL*, *rpoB* và *rpoC1* hoặc vùng không mã hóa *psbA-trnH*, *atpF-atpH* và *ITS*. Trong nghiên cứu này, trình tự gen *trnL* đã được phân lập từ mẫu cây thuộc chi Cẩm cù nhằm mục đích phân tích đặc điểm, so sánh với các loài thuộc chi này đã được công bố trên ngân hàng gen. Trình tự gen *trnL* thu được có kích thước 523 nucleotide, có độ tương đồng cao khi phân tích bằng Blast với các trình tự cùng chi đã được công bố. Ngoài ra nghiên cứu cũng cho thấy, chỉ thị *trnL* là chỉ thị tiềm năng, hỗ trợ định danh các loài thuộc chi Cẩm cù nói riêng và cung cấp thông tin về mã vạch với các đối tượng thực vật khác nói chung.

Từ khóa: Cẩm cù, chỉ thị phân tử, định danh loài, mã vạch DNA, thực vật, trình tự.

MỞ ĐẦU

Mục đích của các nghiên cứu mã vạch DNA là thiết lập một nguồn dữ liệu chung được chia sẻ gồm các trình tự DNA có thể được sử dụng để xác định, phân biệt hoặc phân loại sinh vật. Đây là phương pháp lựa chọn sử dụng một trình tự di truyền ngắn trong DNA của một sinh vật để xác định và phân biệt đối tượng nghiên cứu thuộc về các loài, giống cụ thể hoặc thậm chí giữa các giống. Mã vạch DNA sử dụng các công cụ phân tử để phát hiện ra các loài có trong hệ sinh thái tự nhiên và đóng vai trò quan trọng trong việc bảo tồn đa dạng sinh học [1]. Mã vạch di truyền chủ yếu tập trung vào các chiến lược bảo tồn trên quần thể do sự khác biệt được tìm thấy trong DNA của ty thể. Gen ty thể - cytochrome C oxidase I (*COI*) được coi là cơ sở đầu tiên của hệ thống nhận dạng sinh học toàn cầu cho động vật và thực vật cùng với trình tự gen lục lạp và vùng đệm phiên mã bên trong nhân (ITS). Ở thực vật, việc thiết lập một hệ thống mã vạch DNA tiêu chuẩn gặp nhiều khó khăn hơn ở động vật. Ở thực vật, tốc độ tiến hóa của các gen trên ty thể không nhanh như ở động vật, do vậy không đủ sai khác để phân biệt được các loài. Vì vậy, thường sử dụng các đoạn DNA đặc trưng ở lục lạp và nhân để làm mã vạch DNA [2].

Mã vạch DNA dựa trên ba nguyên tắc (nền tảng) chủ yếu của phân loại hiện đại: phân loại phân tử (việc sử dụng sự biến đổi của chỉ thị phân tử làm dấu hiệu phân biệt); tin sinh học (sự chuyển đổi của dữ liệu sinh học bằng tin học) và tiêu chuẩn hóa (nghĩa là mở rộng phương pháp tiếp cận nhiều nhóm sinh vật không có mối liên quan chặt chẽ) [3]. Mã vạch DNA trước đây được chứng minh hoạt động tốt về mặt phân loại khi sử dụng *cox1* ở ty thể (tiểu đơn vị cytochrome c oxidase 1) làm chỉ thị tiêu chuẩn. Tuy nhiên, liên quan đến đối tượng thực vật, không có sự thống nhất chung về vùng DNA nào nên được sử dụng (Hội nghị mã vạch sự sống quốc tế lần thứ 4). Nhóm nghiên cứu của Hiệp hội mã vạch sự sống đã đề xuất sử dụng hai chỉ thị ở lục lạp liên quan đến vùng mã hóa - *rbcL* và *matK* làm mã vạch tiêu chuẩn cho nhận diện thực vật [4]. Các vùng bổ sung, chẳng hạn như *trnH-psbA*, *trnL*... có thể được sử dụng để phân tích các đơn vị phân loại có liên quan chặt chẽ [5]. Hệ gen lục lạp chứa tất cả các trình tự DNA trong plastid. Trong đó có nhiều thông tin di truyền để xác định loài hơn bất kỳ chỉ thị locus đơn nào (single-locus marker) thường được sử dụng. Đến ngày 27 tháng 10 năm 2019, bộ gen lục lạp của 3452 cây đã được công bố trên Ngân hàng gen NCBI. Đây là một hướng phát triển quan trọng của mã vạch DNA nhằm sử dụng hệ gen lục lạp để xác định và phân biệt các loài thực vật [6].

Mã vạch DNA thực vật đóng một vai trò quan trọng trong nghiên cứu đa dạng sinh học và liên quan đến việc buôn bán nhiều loài quý hiếm. Để tìm một chỉ thị mã vạch thích hợp đã có nhiều vùng gen được đề xuất là ứng cử viên khả thi cho mã vạch thực vật, nhưng đến nay chưa có mã vạch chung nào được đưa ra. Các nghiên cứu về mã vạch thực vật ngày nay quan tâm đến hệ gen của lục lạp để tìm hiểu sự biến đổi của trình tự mã hóa gen (*ITS*, *psbA-trnH*, *matK*, *rbcL*, *rpoC1* và *psbA-trnH*). Các nghiên cứu đã chứng minh rằng bộ gen của lục lạp trải qua rất nhiều biến đổi và có khả năng phân biệt ở cấp độ loài [7], [8], [9], [10]. Locus *trnL* (UAA) - *trnF* (FAA) chứa gen *trnL* (UAA), vùng intron và vùng nằm giữa hai gen *trnL* (UAA) và *trnF* (GAA). Taberlet và cs là nhóm nghiên cứu đầu tiên sử dụng *trnL* trong các nghiên cứu hệ thống học thực vật [11]. Vùng không mã hóa *trnL* (UAA) và *trnF* (GAA) không phải là vùng có sự biến đổi lớn nhất của DNA lục lạp nhưng có ưu thế như cấu trúc bậc 2 với vùng

CÔNG NGHỆ GEN VÀ PROTEIN

NGHIÊN CỨU HÌNH THÁI, GIẢI PHẪU VÀ PHƯƠNG PHÁP KHỬ TRÙNG TẠO MẪU SẠCH PHỤC VỤ NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY DƯƠNG ĐỒNG *Adinandra* sp.

Nguyễn Thị Thu Nga¹, Phan Thị Mai¹,

Đào Thị Thu Hà¹, Phạm Thị Hòa², Nguyễn Hữu Quân^{1*}

¹Trường Đại học Sư phạm – ĐH Thái Nguyên, ²Trường Cao đẳng Hải Dương

TÓM TẮT

Chi Dương đồng (*Adinandra*) là cây dược liệu quý chứa nhiều hợp chất có hoạt tính kháng viêm, chống oxy hóa, phòng và điều trị ung thư. Ở Việt Nam, cây Dương đồng *Adinandra* sp. phân bố hẹp ở một số tỉnh như Lào Cai, Vĩnh Phúc, Quảng Trị, Hà Giang, Lâm Đồng. Gần đây, chi Dương đồng đã được đưa vào danh sách là một trong những cây thuộc danh lục đỏ cây thuốc Việt Nam. Một trong những biện pháp nhân giống hiệu quả để bảo tồn và phát triển nguồn gen các cây thuốc quý đang bị đe dọa là phương pháp nuôi cấy *in vitro*. Trong nghiên cứu này, cây Dương đồng *Adinandra* sp. thu tại xã Liềm Phú, huyện Văn Bàn, tỉnh Lào Cai, Việt Nam được chúng tôi mô tả đặc điểm hình thái, tiến hành giải phẫu thân và lá để nhận diện loài. Hạt của cây Dương đồng *Adinandra* sp. được xác định là nguồn vật liệu ban đầu sử dụng trong nuôi cấy *in vitro*. Nghiên cứu tạo mẫu sạch cho thấy, mẫu hạt sau khi được khử trùng sơ bộ bằng ethanol 70° trong 1 phút, sau đó khử trùng bằng dung dịch HgCl₂ 0,1% trong 12 phút cho hiệu quả tạo mẫu sạch tốt nhất. Mẫu hạt sau khử trùng được nuôi cấy trên môi trường MS, tỉ lệ mẫu sạch đạt 91%, tỉ lệ mẫu phát sinh chồi đạt 87,33% sau 6 tuần nuôi cấy, chất lượng chồi tốt, chồi mập, màu xanh đậm.

Từ khóa: Cây Dương đồng *Adinandra* sp.; giải phẫu; hình thái; khử trùng; nhân nhanh *in vitro*.

Ngày nhận bài: 04/5/2020; Ngày hoàn thiện: 09/6/2020; Ngày đăng: 11/6/2020

STUDY ON MORPHOLOGY, ANATOMY AND DISINFECTION METHOD TO PREPARE CLEAN EXPLANTS FOR *IN VITRO* PROPAGATION OF *Adinandra* sp.

Nguyen Thi Thu Nga¹, Phan Thi Mai¹,

Dao Thi Thu Ha¹, Pham Thi Hoa², Nguyen Huu Quan^{1*}

¹TNU - University of Education, ²Hai Duong college

ABSTRACT

Genus *Adinandra* is a medicinal plant containing a wide range of pharmacologically active compounds that can be used in anti-inflammatory, antioxidant, prevention and treatment of cancer. This plant nowadays can be found distribution in some limited areas of provinces such as Lao Cai, Vinh Phuc, Quang Tri, Ha Giang, Lam Dong. Recently, *Adinandra* is listed in the Viet Nam's Red list of threatened species. The only effective way of artificial propagation to preserve and develop this genetic resource is the tissue culturing method. This study on the geographic distribution, morphological and anatomical conditions of the *Adinandra* sp. found in Liem Phu commune, Van Ban district, Lao Cai province, Vietnam. In this study, *Adinandra* is successfully propagated *in vitro* by using seeds as starting materials. These materials are sterilized using different chemical substances at different periods of time. After sterilizing materials in ethanol 70° for 1 minute then in HgCl₂ 0.1% solution for 12 minutes gives us the best performance of making clean samples. The disinfected samples then are cultivated in MS medium, clean samples proportion reaches its value 91%, the percentage of shoots generated 87.33% after 6 weeks of cultivating, the shoots are plump, deep green and have good quality.

Keywords: *Adinandra* sp.; anatomy; morphological; sterilization; *in vitro* propagation.

Received: 04/5/2020; Revised: 09/6/2020; Published: 11/6/2020

* Corresponding author. Email: quannh@tnue.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Theo Phạm Hoàng Hộ (1999) trong “Cây cỏ Việt Nam” đã thống kê được 11 loài thực vật thuộc chi Dương đồng (*Adinandra*), họ Chè (Theaceae) được xác định là nguồn gen hiếm và phân bố ở một số tỉnh như Lào Cai, Vĩnh Phúc, Quảng Trị, Hà Giang, Lâm Đồng [1]. Các loài thuộc chi Dương đồng (*Adinandra*) chứa các hợp chất thứ cấp có hoạt tính kháng khuẩn, kháng viêm, chống oxy hóa, diệt các gốc tự do và chống ung thư [2]-[4]. Đặc biệt, flavonoid có trong lá của loài *Adinandra nitida* được chứng minh có hoạt tính chống oxy hóa, diệt trừ các gốc tự do, kháng viêm, chống trầm cảm, chống ung thư và tiêu diệt một số loài vi khuẩn gây bệnh [5]. Một số loài thuộc chi Dương đồng có chứa tinh dầu là chất có vai trò quan trọng trong lĩnh vực y học. Nhờ các hợp chất có trong cây mà ngành y học cổ truyền đã sử dụng các loài đó làm thuốc điều trị một số bệnh ung thư, đau dạ dày, rắn cắn [6].

Trước tình trạng người dân phá rừng tại các tỉnh miền núi Lào Cai, Hà Giang đã khiến cho nguồn gen cây Dương đồng đứng trước tình trạng khan hiếm, có nguy cơ cạn kiệt. Do đó, công tác bảo tồn và phát triển nguồn gen các loài cây này rất cần thiết. Các phương pháp nhân giống có thể thực hiện bằng nhiều biện pháp truyền thống như chiết cành, ghép cành và gieo hạt. Tuy nhiên, hiệu quả bảo tồn một số giống cây bằng phương pháp truyền thống chưa cao, do khó khăn trong chọn cành chiết - ghép, cũng như tỉ lệ hạt nảy mầm yếu. Để khắc phục hạn chế trên, kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật đã được ứng dụng, chứng minh có hiệu quả trong công tác bảo tồn một số giống cây được liệt.

Kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật đang được ứng dụng rộng rãi trong việc nhân giống nhằm bảo tồn và phát triển nhiều loại cây trồng bao gồm cả những cây dược liệu quý [7]. Một số loài cây quý hiếm có nguy cơ tuyệt chủng, có giá trị kinh tế cao như Ba kích

(*Morinda officinalis*), Đinh lăng (*Polyscias fruticosa*), Hà thủ ô đỏ (*Fallopia multiflora*), Đan sâm (*Salvia miltiorrhiza* Bunge), Bách hợp (*Ligusticum* F.E.Br ex Miellez) [8], Ô đầu (*Aconitum carmichaelii*) [7] đã được nhân giống thành công bằng kỹ thuật nuôi cấy mô. Các nghiên cứu tập trung hoàn thiện quy trình bảo tồn *in vitro*, xác định môi trường nhân nhanh làm tiền đề cho các nghiên cứu chuyên sâu và sản xuất giống có năng suất chất lượng cao [8]. Tuy nhiên, cho đến nay nghiên cứu về nuôi cấy *in vitro* đối với các loài thuộc chi Dương đồng, họ Chè vẫn chưa được thực hiện ở Việt Nam và trên thế giới. Bài báo này công bố kết quả thu thập, nhận diện cây Dương đồng *Adinandra* sp. và bước đầu tìm kiếm công thức khử trùng, tạo mẫu sạch *in vitro* từ các nguồn nguyên liệu khác nhau.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu và môi trường nuôi cấy

Mẫu hạt và thân cây Dương Đồng *Adinandra* sp. thu thập tại xã Liêm Phú, huyện Văn Bàn, tỉnh Lào Cai, Việt Nam ở độ cao 1200-1800m làm vật liệu nuôi cấy ban đầu.

Hóa chất sử dụng trong thí nghiệm đều ở dạng tinh khiết, gồm: Ethanol, dung dịch Javen, HgCl₂ (Trung Quốc); Môi trường MS (Merck).

2.2. Phương pháp thu thập và nhận diện mẫu cây Dương đồng *Adinandra* sp.

Mẫu cây Dương đồng *Adinandra* sp. sử dụng trong nghiên cứu được thu tại xã Liêm Phú, huyện Văn Bàn, tỉnh Lào Cai, Việt Nam ở độ cao 1200-1800m, tọa độ 21°59'15"N; 104°19'28"E. Mẫu tiêu bản (cành mang lá và hoa) được thu thập, mang về phòng thí nghiệm để ép khô xác định tên khoa học. Tên khoa học của loài được xác định bằng phương pháp hình thái so sánh theo các tài liệu chuyên khảo: Cây cỏ Việt Nam của Phạm Hoàng Hộ (1999) và website <http://www.tropicos.org/> để tra cứu mẫu.

Nghiên cứu cấu tạo giải phẫu thân và lá của cây Dương đồng *Adinandra* sp. theo phương

ĐỊNH DANH LOÀI CÁP GAI NHỎ *CAPPARIS* SP. Ở KHU BẢO TỒN THIÊN NHIÊN TÀ KÓU HUYỆN HÀM THUẬN NAM, TỈNH BÌNH THUẬN BẰNG MÃ VẠCH DNA

Nguyễn Thị Thu Ngà*, Sỹ Danh Thường

Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên

TÓM TẮT

Đa dạng sinh học trên thế giới đang liên tục suy giảm, trong đó nhiều loài có nguy cơ dần biết mất. Một dự án chiến lược trên toàn thế giới - mã vạch DNA đã được công bố gần đây nhằm xây dựng một thư viện mã vạch của các loài đang bị đe dọa (CBOL ABS Brochure, 2012). Phương pháp mã vạch DNA sử dụng một trình tự DNA ngắn trong genome của sinh vật như chuỗi ký tự duy nhất giúp phân biệt các loài. Loài Cáp gai nhỏ *Capparis* sp. phân bố rải rác ở một số tỉnh của Việt Nam. Trong nghiên cứu này, nhằm hỗ trợ cho việc định danh loài cũng như bước đầu công bố các thông tin bằng mã vạch DNA của loài Cáp gai nhỏ thu tại Khu bảo tồn thiên nhiên Tà Kóu, huyện Hàm Thuận Nam, tỉnh Bình Thuận được chính xác, phương pháp sử dụng mã vạch DNA dựa trên đoạn gen *matK* đã được thực hiện. Đoạn gen *matK* từ loài Cáp gai nhỏ đã được phân lập dựa trên cặp mồi đặc hiệu *matK*-F/*matK*-R có chiều dài 800 nucleotide. Trình tự đoạn gen *matK* từ loài Cáp gai nhỏ được so sánh với 7 trình tự của các loài thuộc chi *Capparis* công bố trên GenBank thông qua các phần mềm BLAST trong NCBI, BioEdit và MEGA5. Kết quả đã chứng minh được mẫu nghiên cứu thuộc loài *Capparis micracantha*.

Từ khóa: *Capparis micracantha*, gen *matK*, mã vạch, mã vạch DNA, phân biệt loài.

MỞ ĐẦU

Đến nay, các mẫu sinh vật vẫn thường được nhận diện bằng các đặc tính hình thái bên ngoài hoặc các đặc tính sinh lý sinh hóa bên trong nhờ vào bảng hướng dẫn định danh có sẵn. Tuy nhiên, trong nhiều trường hợp, mẫu vật chưa phát triển đầy đủ các đặc tính hình thái, hoặc chúng bị hư hỏng các bộ phận ngoài, hoặc mẫu vật chết đã khiến quá trình nhận diện mẫu vật trở nên khó khăn thậm chí là không thể. Trong những trường hợp này, mã vạch DNA (DNA barcode) đã giúp giải quyết vấn đề trên vì trình tự DNA dễ dàng thu nhận từ một mẫu mô rất bé. Bên cạnh việc định danh, mã vạch DNA còn giúp phân tích quá trình tiến hóa của loài sinh vật đó trong tự nhiên.

Mã vạch DNA là một khái niệm mới được đưa ra bởi Heber vào năm 2003. Mã vạch DNA là trình tự nucleotide của một chuỗi DNA ngắn, có cùng nguồn gốc tổ tiên (orthologous), trong đó có vùng ít bị thay đổi (rất ổn định – bảo thủ) và có vùng dễ thay đổi trong quá trình tiến hóa. Dựa vào mức độ thay đổi trong trình tự DNA này để đánh giá sự sai khác di truyền giữa các sinh vật. Như vậy, sử dụng mã vạch DNA để định danh là phương pháp định danh mới sử dụng một đoạn DNA chuẩn ngắn nằm trong genome của sinh vật đang nghiên cứu, nhằm xác định sinh vật đó thuộc về loài nào (<http://www.barcodeoflife.org>). Từ cơ sở dữ liệu này, hướng nghiên cứu xây dựng cơ sở dữ liệu mã vạch DNA đang được nhiều quốc gia, nhiều nhà khoa học trên thế giới rất quan tâm phát triển, đặc biệt trong những năm gần đây và sẽ là một xu thế nghiên cứu trong thời gian tới (Valentini, 2009; Xiwen, 2014). Mã vạch DNA được xem là một công cụ mới, hỗ trợ có hiệu quả trong nghiên cứu về phân loại, phát hiện loài mới, giám định loài và các mẫu có nguồn gốc từ sinh vật sống hoặc đã chết.

Đoạn DNA đặc trưng được sử dụng làm mã vạch có thể là những đoạn DNA nằm ở trong nhân (nuclear DNA - nDNA), như: 18S, 5.6S, 26S, 5S spacer và vùng ITS; nằm ở ty thể (Mitochondrial DNA - mtDNA), như: *Cytb* và vùng kiểm soát (control region); nằm ở lục lạp (Chloroplast DNA - cpDNA), như: *matK*, *rbcl*, *atpβ*, *ndnF*, 16S (Cuenoud, 2002; Kress *et al.*, 2008). Có rất nhiều gen-*cpDNA* tham gia trong phân tích phân loại thực vật như: 16S, *rbcl*, *atpβ*, *ndhF*, intron *trnL* và *matK*, ... trải rộng từ bộ cho đến mức dưới loài. Mỗi đoạn mã vạch DNA có những đặc trưng riêng và có khả năng phân biệt sinh vật ở các mức độ khác nhau. Ví dụ, các đoạn DNA như: 18S; 16S; 5.6S có khả năng phân biệt sinh vật ở mức họ và chi; các đoạn DNA, như: 26S, *rbcl*, *ndnF*, *atpβ* có khả năng phân biệt ở mức chi và loài; các đoạn DNA, như: ITS, *matK*, *cytb*, 5S spacer có khả năng phân biệt ở mức loài và dưới loài (subspecies, variety, strain) (Ford *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2010; Hebert, 2003). Tuy nhiên, các nhà khoa học cũng đã khuyến cáo, chưa có đoạn DNA nào được sử dụng làm mã vạch chung cho tất cả các loài sinh vật. Vì vậy, việc lựa chọn những đoạn DNA (gen) đặc trưng để làm mã vạch và việc phối hợp giữa các đoạn mã vạch DNA là rất cần thiết và đem lại hiệu quả cao (Kress *et al.*, 2008; CBOL Plant Working Group, 2009; Vijayan, 2010).

Ở thực vật, tốc độ tiến hóa của các gen ty thể không nhanh như ở động vật, do vậy không đủ sai khác để phân biệt được các loài. Vì vậy, thường sử dụng các đoạn DNA đặc trưng ở lục lạp và nhân để làm mã vạch DNA (Kress *et al.*, 2008). Tùy vào mức độ phân tích mà mỗi vùng gen và mỗi phương pháp được áp dụng phù hợp. Tổ chức hệ thống cơ sở dữ liệu mã vạch sự sống (BOLD) khuyến cáo, ở thực vật ngoài vùng ITS ở trong nhân, nên dùng thêm các marker khác riêng rẽ hoặc kết hợp. Nghiên cứu của Hollingsworth và đồng tác giả (2011) đã chỉ ra sự kết hợp giữa gen *matK* và gen *rbcl* ở lục lạp để sử dụng như một mã vạch DNA có hiệu quả cao nhất trong

định danh phân tử cho nhiều loài thực vật (Gao, 2011). Sau đó, Kress và đồng tác giả (2008) bổ sung thêm vùng gen thứ ba là vùng xen *trnH-psbA*. Tính đến năm 2009, đã có khoảng 8 locus gen được sử dụng làm mã vạch DNA ở các loài thực vật, bao gồm cả hệ gen nhân và hệ gen lục lạp (vùng xen *atpF-atpH*, gen *matK*, gen *rbcL*, gen *rpoC1*, vùng xen *psbK-psbI*, vùng xen *trnH-psbA* và vùng gen nhân *ITSAB*).

Maturase K (*matK*) là một trong những trình tự được nghiên cứu và ứng dụng thành công trong việc xác định các loài thuốc thảo dược như "Dahuang" có nguồn gốc từ *Rheum palmatum* L. (Polygonaceae), *R. tanguticum* (Maxim. ex Regel) Maxim. ex Balf., *R. officinale* Baill., và loài gần gũi *Rheum* L. với mức độ biến đổi nội bộ loài và giữa các loài khác nhau là cao. Vì vậy, nó thường được sử dụng để xác định các nguyên liệu thảo dược ở những vị trí địa lý khác nhau (Yang, 2004).

Việt Nam có hệ động, thực vật phong phú nhưng đến nay nhiều loài chưa có dữ liệu về mã vạch DNA. Các loài trong chi *Cap* (*Capparis*) có nhiều sự tương đồng về mặt hình thái dẫn đến có thể nhầm lẫn trong phân loại loài. Chúng tôi hy vọng việc nghiên cứu phương pháp DNA mã vạch sẽ cung cấp cái nhìn sâu hơn vào phân loại học ở cấp độ loài và đóng góp vào quá trình phân loại học, nhận diện, phân chia ranh giới giữa các loài, hỗ trợ quá trình nhận diện các mẫu vật không nhận biết được hoặc chưa xác định được thuộc loài nào.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu thực vật

Mẫu lá cây Cáp gai nhỏ *Capparis* sp. sử dụng trong nghiên cứu do nhóm nghiên cứu thu thập trong chuyến đi thực tế tại Khu bảo tồn thiên nhiên Tà Káu, huyện Hàm Thuận Nam, tỉnh Bình Thuận (Hình 1). Số hiệu mẫu VK 3412.



Hình 1. Cây Cáp gai nhỏ

Hóa chất

Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu được đặt từ các hãng uy tín đảm bảo về chất lượng và độ tin cậy như Qiagen, Fermentas, Sigma...

Thiết bị sử dụng trong nghiên cứu

Một số thiết bị chính được sử dụng trong nghiên cứu: cân điện tử Satorius (Thụy Sĩ), bể ổn nhiệt, máy đo quang phổ, máy đo pH, máy ly tâm, máy PCR.

Cặp mồi sử dụng trong nghiên cứu

Cặp mồi được sử dụng để nhân bản đoạn gen đích là gen *matK*, trình tự và thông tin về cặp mồi được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1. Thông tin về cặp mồi sử dụng trong nghiên cứu

Tên mồi	Trình tự mồi	Nhiệt độ gắn mồi	Kích thước dự kiến
matK-F	5'- CGATCTATTCATTCAATATTTTC-3'	54°C	Khoảng 800 bp
matK-R	5'- TCTAGCACACGAAAGTCGAAGT-3'		

Cặp mồi *matK-F/matK-R* sử dụng trong phản ứng PCR nhân bản gen *matK* được tổng hợp theo Kress (2005).

Phương pháp nghiên cứu

Tách chiết DNA tổng số: Mẫu lá của cây *Capparis* sp. (VK 3412) được sử dụng để tách chiết DNA tổng số bằng quy trình mini-CTAB và kit DNeasy® Plant Mini Kit của hãng Qiagen.

Kiểm tra sản phẩm DNA sau tách chiết: DNA tổng số của mẫu *Capparis* sp. (VK 3412) sau khi tách chiết được điện di trên gel agarose 1%, trong đệm TBE 1X, ở hiệu điện thế 90V với marker 1 kb. Nồng độ và độ tinh sạch

Thái nguyên, ngày 28 tháng 5 năm 2021

**BIÊN BẢN HỌP HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ CẤP CƠ SỞ
ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ CẤP BỘ**

1. Tên đề tài: Nghiên cứu tìm kiếm hợp chất thứ cấp có khả năng kháng viêm, kháng ung thư và nuôi cấy *in vitro* một số loài thuộc chi Dương đồng (*Adinandra*), họ chè (*Theaceae*) ở Việt Nam
Mã số: B2019-TNA-08
2. Chủ nhiệm đề tài: TS. Nguyễn Thị Thu Nga
3. Tổ chức chủ trì: Đại học Thái Nguyên
4. Quyết định thành lập Hội đồng: Số 862/QĐ-ĐHTN ngày 24/5/2021 của Đại học Thái Nguyên
5. Ngày họp: 28/5/2021
6. Địa điểm: Phòng họp 513 nhà A4 Trường Đại học Sư phạm Thái Nguyên
7. Thành viên của Hội đồng: Tổng số: 07 Có mặt: 07 Vắng mặt: 0
8. Khách mời dự:

9. Kết luận của Hội đồng:

9.1. Kết quả bỏ phiếu đánh giá:

- Số phiếu đánh giá ở mức "Đạt": 07.....

Số phiếu đánh giá ở mức "Không đạt": 00....

- Đánh giá chung : Đạt ☒

Không đạt ☐

(Đánh giá chung được xếp loại "Đạt" nếu trên 2/3 thành viên Hội đồng có mặt xếp loại "Đạt")

9.2. Những nội dung cần sửa chữa, bổ sung, hoàn chỉnh hay làm rõ:

TT	Nội dung	Yêu cầu cần sửa đổi, bổ sung, làm rõ (ghi chi tiết yêu cầu)
1	Mục tiêu Đạt được mục tiêu đề ra	/
2	Nội dung Thực hiện đầy đủ các nội dung nghiên cứu	/
3	Cách tiếp cận và phương pháp nghiên cứu Hiệu đại và phù hợp gửi quyết định nội dung đề ra	/
4	Sản phẩm (sản phẩm khoa học, sản phẩm đào tạo, sản phẩm ứng dụng,...) Sản phẩm đủ theo thuyết minh	/

TT	Nội dung	Yêu cầu cần sửa đổi, bổ sung, làm rõ (ghi chi tiết yêu cầu)
	Giá trị (giá trị khoa học, giá trị ứng dụng...) Đạt yêu cầu	
	Phương thức chuyển giao và địa chỉ ứng dụng Đạt yêu cầu	
	Tác động và lợi ích mang lại của kết quả nghiên cứu Đạt yêu cầu	
	Chất lượng báo cáo tổng kết và báo cáo tóm tắt đề tài (nội dung; hình thức; cấu trúc và phương pháp trình bày,...). Đạt yêu cầu	- Sửa lại lời in ấn, tài liệu tham khảo và thống nhất dùng thuật ngữ Việt - Anh - Một số hình ảnh cm mờ (Hình 3.9) - Các bảng 3.2, 3.3, hình 3.7, 3.8 cần sửa lại - phương pháp nghiên cứu bổ sung TTK.

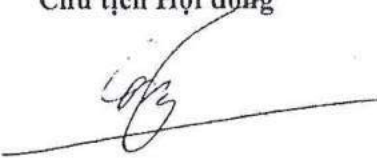
9.3 Những nội dung không phù hợp với Thuyết minh đề tài (Sử dụng cho những trường hợp được đánh giá ở mức "Không đạt")

Tổ chức chủ trì



KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC
PGS. TS. Trần Thanh Vân

Chủ tịch Hội đồng



PGS.TS. Lê Ngọc Công

Thư ký



TS. Từ Quang Trung

Hà Nội, ngày 11 tháng 6 năm 2021

QUYẾT ĐỊNH

**Về việc thành lập Hội đồng khoa học đánh giá nghiệm thu cấp Bộ
đề tài khoa học và công nghệ cấp Bộ**

BỘ TRƯỞNG BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

Căn cứ Nghị định số 123/2016/NĐ-CP ngày 01/9/2016 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của bộ, cơ quan ngang bộ;

Căn cứ Nghị định số 69/2017/NĐ-CP ngày 25/5/2017 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Bộ Giáo dục và Đào tạo;

Căn cứ Nghị định số 08/2014/NĐ-CP ngày 27/01/2014 của Chính phủ quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Thông tư số 11/2016/TT-BGDĐT ngày 11/4/2016 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo ban hành quy định về quản lý đề tài khoa học và công nghệ cấp Bộ của Bộ Giáo dục và Đào tạo;

Theo đề nghị của Giám đốc Đại học Thái Nguyên, Vụ trưởng Vụ Khoa học, Công nghệ và Môi trường.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Thành lập Hội đồng khoa học đánh giá nghiệm thu cấp Bộ đề tài khoa học và công nghệ cấp Bộ, mã số B2019-TNA-08: Nghiên cứu tìm kiếm hợp chất thứ cấp có khả năng kháng viêm, kháng ung thư và nuôi cấy *in vitro* một số loài thuộc chi Dương đồng (*Adinandra*), họ chè (*Theaceae*) ở Việt Nam, do TS. Nguyễn Thị Thu Nga làm chủ nhiệm, Đại học Thái Nguyên là cơ quan chủ trì, gồm các thành viên trong danh sách kèm theo.

Điều 2. Hội đồng có nhiệm vụ đánh giá toàn diện việc thực hiện đề tài theo quy định tại Thông tư số 11/2016/TT-BGDĐT ngày 11/4/2016 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo. Sau khi hoàn thành nhiệm vụ, Hội đồng tự giải thể.

Điều 3. Chánh Văn phòng, Vụ trưởng Vụ Khoa học, Công nghệ và Môi trường, Giám đốc Đại học Thái Nguyên, các thành viên trong Hội đồng và chủ nhiệm đề tài chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này.

Nơi nhận :

- Như Điều 3;
- Bộ trưởng (để báo cáo);
- Lưu VT, KHCNMT.

**KT. BỘ TRƯỞNG
THỨ TRƯỞNG**



Nguyễn Văn Phúc

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

DANH SÁCH CÁC THÀNH VIÊN HỘI ĐỒNG KHOA HỌC ĐÁNH GIÁ NGHIỆM THU CẤP BỘ ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ CẤP BỘ

(Theo Quyết định số : 1864 /QĐ-BGDĐT ngày 11 tháng 6 năm 2021)

Tên đề tài: Nghiên cứu tìm kiếm hợp chất thứ cấp có khả năng kháng viêm, kháng ung thư và nuôi cấy *in vitro* một số loài thuộc chi Dương đồng (*Adinandra*), họ chè (Theaceae) ở Việt Nam.

Mã số: B2019-TNA-08

Chủ nhiệm đề tài: TS. Nguyễn Thị Thu Nga
Đại học Thái Nguyên
(Trường Đại học Sư phạm)

Số TT	Chức danh khoa học, học vị, họ và tên	Đơn vị công tác	Nhiệm vụ trong hội đồng
1	PGS.TS. Lương Văn Hình	Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên	Chủ tịch
2	TS. Nguyễn Thị Hải Yến	Trường Đại học Khoa học, Đại học Thái Nguyên	Ủy viên, Phản biện
3	TS. Nguyễn Thị Thúy Hương	Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam	Ủy viên, Phản biện
4	TS. Vũ Thị Như Trang	Trường Đại học Y Dược, Đại học Thái Nguyên	Ủy viên
5	TS. Đỗ Thị Hà	Trường Cao đẳng Thái Nguyên	Ủy viên
6	TS. Mai Anh Khoa	Đại học Thái Nguyên	Ủy viên
7	TS. Từ Quang Trung	Trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên	Ủy viên, Thư ký

(Danh sách gồm 7 thành viên)

Thái Nguyên, ngày 17 tháng 6 năm 2021

**BIÊN BẢN HỌP HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ, NGHIỆM THU CẤP BỘ
ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ CẤP BỘ**

1. Tên đề tài: Nghiên cứu tìm kiếm hợp chất thứ cấp có khả năng kháng viêm, kháng ung thư và nuôi cấy *in vitro* một số loài thuộc chi Dương đồng (*Adinandra*), họ chè (*Theaceae*) ở Việt Nam
Mã số: B2019-TNA-08
2. Chủ nhiệm đề tài: TS. Nguyễn Thị Thu Nga
3. Tổ chức chủ trì: Đại học Thái Nguyên
4. Quyết định thành lập Hội đồng: Số 1864/QĐ-BGDĐT ngày 11/6/2021 của Bộ GD&ĐT
5. Ngày họp: 17/6/2021
6. Địa điểm: Phòng 513 nhà A4, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên
7. Thành viên của Hội đồng: Tổng số: 07 có mặt: 06 vắng mặt: 01
8. Khách mời dự:
GS.TS. Chu Hoàng Mậu, TS. Từ Quang Tâm - Trưởng phòng KH-CN & KTC

9. Kết luận và kiến nghị của Hội đồng:

9.1. Về mức độ đáp ứng được yêu cầu số lượng, khối lượng sản phẩm theo Thuyết minh đề tài
Số lượng sản phẩm khoa học, sản phẩm đào tạo vượt 01 so với
thuyết minh, số lượng sản phẩm ứng dụng đủ để thực hiện
theo thuyết minh.

9.2. Về chất lượng sản phẩm và giá trị khoa học, giá trị thực tiễn của các kết quả thực hiện đề tài
Chất lượng sản phẩm và giá trị khoa học của các sản phẩm đều
đáp ứng các kết quả nghiên cứu của đề tài. Nội dung của các bài
báo và hướng dẫn học viên cao học đều là các nội dung đề
tài đưa ra để thực hiện.

9.3 Kết quả đánh giá xếp loại chung của đề tài:

a) Kết quả đánh giá, xếp loại của Hội đồng ở mức sau (đánh ✓ vào ô tương ứng):

☒ Xuất sắc

☐ Đạt

☐ Không đạt

b) Phân luận giải của hội đồng về kết quả đánh giá, xếp loại (chọn ✓ vào ô tương ứng và luận giải):

☒ Đề tài được xếp loại "Xuất sắc" bởi những lý do cụ thể dưới đây:

Sản phẩm khoa học, sản phẩm đào tạo đều vượt so với thuyết
minh; chất lượng sản phẩm tốt

☐ Đề tài được xếp loại "Đạt" bởi những lý do cụ thể dưới đây:

☐ Đề tài được xếp loại "Không đạt" bởi những lý do cụ thể dưới đây:

9.4. Kiến nghị của Hội đồng:

a) Chủ nhiệm đề tài điều chỉnh, bổ sung và hoàn thiện báo cáo tổng kết, báo cáo tóm tắt ở những vấn đề sau (nếu có):

Thống nhất tên latin của loài *Adinandra megaphylla*, *Adinandra bockiana*; còn một số tài liệu tham khảo trích dẫn ghi chưa thống nhất; cần sửa lại một số câu chữ trong bài chưa thật rõ nghĩa; Một số hình như 3.24 còn mờ.

b) Bộ Giáo dục và Đào tạo nghiệm thu các sản phẩm dưới đây:

Danh mục sản phẩm khoa học đáp ứng được yêu cầu hợp đồng:

TT	Tên sản phẩm	Ghi chú
1/	02 bài báo ISI; 04 bài báo trong nước	
2/	03 thực nghiệm	
3/	16 hộp chất sạch; 01 báo cáo kết quả thử nghiệm; 01 qui trình nuôi cấy in vitro cây Dương Đông	

c) Chuyển giao, sử dụng kết quả thực hiện đề tài (nếu cụ thể cơ quan, địa chỉ áp dụng, sử dụng từng kết quả thực hiện đề tài):

Hộp chất sạch
Qui trình nuôi cấy in vitro cây Dương Đông

d) Công bố, xuất bản kết quả thực hiện đề tài:

02 bài báo ISI
04 bài báo trong nước

đ) Không công bố, xuất bản kết quả thực hiện đề tài:

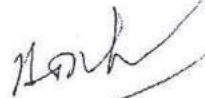
Biên bản họp Hội đồng được thông qua với sự thống nhất của các thành viên Hội đồng dự họp vào ngày 17 tháng 6 năm 2021

THƯ KÝ



TS. Từ Quang Trung

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG



PGS.TS. Lương Văn Hinh

XÁC NHẬN CỦA BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TL. BỘ TRƯỞNG
VỤ TRƯỞNG VỤ KHOA HỌC, CÔNG NGHỆ VÀ MÔI TRƯỜNG



PHÓ VỤ TRƯỞNG VỤ KHOA HỌC CÔNG NGHỆ VÀ M.T
Vũ Thanh Bình

Số: 862/QĐ-ĐHTN

Thái Nguyên, ngày 24 tháng 5 năm 2021

QUYẾT ĐỊNH

Về việc thành lập Hội đồng đánh giá nghiệm thu cấp cơ sở
đề tài khoa học và công nghệ cấp Bộ

GIÁM ĐỐC ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

Căn cứ Nghị định số 31/CP ngày 04 tháng 4 năm 1994 của Chính phủ về việc thành lập Đại học Thái Nguyên;

Căn cứ Thông tư số 10/2020/TT-BGDĐT ngày 14 tháng 5 năm 2020 của Bộ Giáo dục và Đào tạo ban hành Quy chế tổ chức và hoạt động của đại học vùng và các cơ sở giáo dục đại học thành viên;

Căn cứ Thông tư số 11/2016/TT-BGDĐT ngày 11 tháng 4 năm 2016 của Bộ Giáo dục và Đào tạo ban hành Quy định về quản lý đề tài khoa học và công nghệ cấp Bộ của Bộ Giáo dục và Đào tạo;

Căn cứ Quyết định số 2424/QĐ-ĐHTN ngày 22 tháng 10 năm 2015 của Giám đốc Đại học Thái Nguyên về việc ban hành Quy định nhiệm vụ, quyền hạn của Đại học Thái Nguyên, các cơ sở giáo dục đại học thành viên và đơn vị trực thuộc;

Căn cứ Quyết định số 3920/QĐ-ĐHTN ngày 16 tháng 9 năm 2016 của Giám đốc Đại học Thái Nguyên ban hành Quy định về công tác quản lý khoa học và công nghệ của Đại học Thái Nguyên;

Căn cứ vào Công văn số 1869/ĐHSP-KHCN ngày 21 tháng 5 năm 2021 của Hiệu trưởng Trường Đại học Sư phạm về việc đề nghị nghiệm thu cấp cơ sở đề tài KH&CN cấp Bộ B2019-TNA-08;

Theo đề nghị của Trưởng ban Ban Khoa học Công nghệ và Đối ngoại.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Thành lập Hội đồng đánh giá nghiệm thu cấp cơ sở đề tài khoa học và công nghệ cấp Bộ mã số B2019-TNA-08; Tên đề tài: "Nghiên cứu tìm kiếm hợp chất thứ cấp có khả năng kháng viêm, kháng ung thư và nuôi cấy *in vitro* một số loài thuộc chi Dương đồng (*Adinandra*), họ chè (*Theaceae*) ở Việt Nam" do TS. Nguyễn Thị Thu Nga - Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên làm chủ nhiệm, gồm các ông (bà) có tên trong danh sách kèm theo.

Điều 2. Hội đồng có nhiệm vụ đánh giá và nghiệm thu kết quả nghiên cứu của đề tài theo các quy định hiện hành. Hội đồng tự giải thể sau khi hoàn thành nhiệm vụ.

Điều 3. Các ông (bà): Chánh văn phòng, Trưởng ban Ban Khoa học Công nghệ và Đối ngoại, Hiệu trưởng Trường Đại học Sư phạm, chủ nhiệm đề tài và các ông (bà) có tên tại Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này.

Nơi nhận: 

- Giám đốc (báo cáo);
- Như Điều 3;
- Lưu VP, Ban KHCN&ĐN.



BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

DANH SÁCH THÀNH VIÊN HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ NGHIỆM THU CẤP CƠ SỞ
ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ CẤP BỘ

(Kèm theo Quyết định số 862/QĐ-ĐHTN ngày 24 tháng 5 năm 2021
của Giám đốc Đại học Thái Nguyên)

1. Tên đề tài: "Nghiên cứu tìm kiếm hợp chất thứ cấp có khả năng kháng viêm, kháng ung thư và nuôi cấy *in vitro* một số loài thuộc chi Dương đồng (*Adinandra*), họ chè (*Theaceae*) ở Việt Nam".
2. Mã số: B2019-TNA-08
3. Chủ nhiệm đề tài: TS. Nguyễn Thị Thu Nga
4. Tổ chức chủ trì: Đại học Thái Nguyên
5. Đơn vị thực hiện: Trường Đại học Sư phạm
- 6.

TT	Họ và tên	Đơn vị công tác	Chuyên môn	Chức danh Hội đồng
1	PGS.TS. Lê Ngọc Công	Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên	Thực vật học	Chủ tịch
2	PGS. TS. Vũ Thị Thu Thủy	Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên	Di truyền học	Ủy viên Phản biện
3	TS. Trịnh Đình Khá	Trường Đại học Thủy Lợi	Hóa Sinh học	Ủy viên Phản biện
4	TS. Đào Xuân Tân	Sở Giáo dục và Đào tạo tỉnh Thái Nguyên	Di truyền học	Ủy viên
5	TS. Nguyễn Thu Hiền	Trường Đại học Y Dược - Đại học Thái Nguyên	Di truyền học	Ủy viên
6	TS. Từ Quang Trung	Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên	Chăn nuôi	Ủy viên Thư ký
7	TS. Mai Anh Khoa	Đại học Thái Nguyên	Quản lý khoa học	Ủy viên

(Danh sách hội đồng gồm 07 thành viên). *Đ*

PGS.TS. HOÀNG PHÚ HIỆP

Article

Extraction, Chemical Compositions and Biological Activities of Essential Oils of *Cinnamomum verum* Cultivated in Vietnam

Hiep Hoang Phu ¹, Khang Pham Van ^{2,*}, Thien Hien Tran ³ and Dung Thuy Nguyen Pham ^{3,*}

¹ Faculty of Biology, Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen City 24000, Vietnam

² Faculty of Chemistry, Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen City 24000, Vietnam

³ Institute of Applied Technology and Sustainable Development, Nguyen Tat Thanh University, Ho Chi Minh City 700000, Vietnam

* Correspondence: khangpv@tnue.edu.vn (K.P.V.); pntdung@ntt.edu.vn (D.T.N.P.)

Abstract: *Cinnamomum verum* (*Cinnamomum* genus) essential oil is commonly used in food preparation and traditional medicines, with a broad spectrum of biological activities. However, research on the extraction of essential oils (EOs) from *C. verum* cultivated locally in Vietnam is currently limited. Therefore, in this study, the chemical compositions and bioactivities of EOs from the bark and leaves of *C. verum* collected from the Thai Nguyen and Yen Bai provinces of Vietnam were investigated. The EOs samples were extracted by using water distillation, organic solvent (n-hexane) and ultrasound-assisted (in n-hexane solvent) extraction methods. The chemical composition of the obtained EOs were analyzed by GC-FID and GC/MS analyses. Results showed that the major chemical compositions of *C. verum* EOs were: (E)-cinnamaldehyde, trans-cinnamic acid, cinnamyl acetate, and benzaldehyde. Furthermore, *C. verum* EOs exhibited inhibitory activities against two tested cancer cell lines and four bacterial strains. These findings provide essential knowledge about the potential application of *C. verum* EOs cultivated in Vietnam for the pharmaceutical industry.

Keywords: *Cinnamomum verum*; essential oil; chemical composition; anti-bacterial activity; Vietnam; anti-cancer activity



Citation: Phu, H.H.; Pham Van, K.; Tran, T.H.; Pham, D.T.N. Extraction, Chemical Compositions and Biological Activities of Essential Oils of *Cinnamomum verum* Cultivated in Vietnam. *Processes* **2022**, *10*, 1713. <https://doi.org/10.3390/pr10091713>

Academic Editor: Dariusz Dziki

Received: 29 July 2022

Accepted: 24 August 2022

Published: 28 August 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

The *Cinnamomum* genus consists of various tropical plants which originated and are widely cultivated in Southeast Asia [1]. The essential oils (EOs), enriched in the aromatic bark and leaves of the plants, are commonly used as a spice in food and as a traditional remedy for colds, flatulence, control of blood sugar levels, anti-aging, muscle and menstrual-related pain [2]. The chemical components of cinnamon EOs have been of significant interest. To date, a total of 43 monoterpenes, 83 sesquiterpenoids, and 55 diterpenes have been reported, with major components being cinnamaldehyde, cinnamyl acetate, cinnamic acid, eugenol, and linalool, thus, giving rise to a wide range of biological activities such as anti-microorganism, antioxidant, anti-biofilm, and anti-cancer [3–7].

Cinnamomum verum (*C. verum*) is an important spice of the *Cinnamomum* genus, whose bark is commonly used as a spice product [8]. *C. verum* has also been used as (1) an insulin receptor for diabetes treatments, and (2) an enhancer for the activation of glyco-gen synthase and inhibition of glycation against the multi-drug resistant strains of clinical *Shigella* [9–12]. The EOs of *C. verum* have been shown to exhibit anti-bacterial and anti-biofilm activities against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Klebsiella pneumoniae* (MIC = 0.5 mg/mL and MBC = 1.0 mg/mL) by targeting the bacterial cell wall and reducing biofilm density while not exerting any toxicity to human keratinocytes [13]. Similar results were obtained upon the application of *C. verum* bark EOs against multidrug-resistant *Escherichia coli* (*E. coli*) strains, in which the bacterial cell membrane permeability and expression of quorum sensing, biofilm formation and zinc homeostasis were suppressed [14,15]. In addition, *C. verum* EOs exhibited in vitro and in vivo anti-cancer activity

against hepatocellular carcinoma sK-Hep-1 cells, human colorectal adenocarcinoma COLO 205 cells, and lung adenocarcinoma A549 cells, evaluated by using anti-topoisomerase I and II [16–18]. The broad spectrum of anti-microorganism, anti-biofilm and anti-cancer actions of *C. verum* EOs are derived from the diversified phytochemical profile, predominantly cinnamaldehyde [19,20].

To date, the chemical composition of EOs derived from *C. verum* leaves and bark cultivated in Vietnam, as well as their anti-cancer and anti-bacterial activities, have been the subject of limited research. Therefore, we sought to isolate the EOs from leaves and bark of *C. verum* collected in Vietnam, followed by the identification of their chemical compositions, and investigation of their inhibitory activities against various bacteria and cancer cell lines.

2. Materials and Methods

2.1. Preparation of Plant Materials, Chemicals and Reagents

The bark and leaves of *C. verum* (300 g) were collected under conditions of 28 °C, 85% relative humidity, and photoperiods of 9 h in Thai Nguyen (21.5672° N and 105.8252° E) and Yen Bai (21.7168° N and 104.8986° E) provinces, Vietnam, during February 2020. The samples were authenticated by Dr. S.D. Thuong, Department of Biology, Thai Nguyen University of Education (TNUE), Vietnam. *C. verum* samples were fragmented into small pieces sized about 1–2 cm and stored in the refrigerator between 2 and 5 °C for EOs extraction using water distillation, organic solvent (n-hexane) and ultrasound-assisted extraction methods [5,21,22].

n-hexane, ampicillin, ellipticine and (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium (MTT) were purchased from Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, U.S.A.), all of analytical grade.

2.2. EOs Extraction

The water distillation extraction procedure of *C. verum* bark EOs was performed as previously described by Dao et al. (2022) [21], which employed a Clevenger device under 1000 W of heating capacity and 1.5 h of extraction time. The upper layer of EOs was collected and stored in sealed vials at 4 °C until use.

The ultrasound-assisted (in n-hexane solvent) extraction procedure of *C. verum* bark EOs was performed as previously described by Anton et al. (2022) [22]. Briefly, the sample was added into a reflux extractor with an aqueous condenser and a 500 mL glass flask. Then, 300 mL of n-hexane (Merck) was added into the 500 mL glass flask of the reflux extractor and placed in an ultrasonic bath. Extraction conditions were at 40 °C, frequency 25 kHz, extraction time 1.5 h [21]. The n-hexane EOs extract was filtered by using a syringe filter (0.25 µm in diameter). n-hexane was recovered under reduced pressure (100–150 mbar) at a temperature of 25 °C to obtain the EOs, which were then stored at 4 °C until use.

The organic extraction (n-hexane) extraction procedure of *C. verum* bark EOs was performed as previously described by Setyowati et al. (2022) [23]. Samples were mixed with 300 mL of n-hexane in a 500 mL glass flask, and extraction was performed at room temperature for 12 h. The n-hexane extract was filtered using a syringe filter (0.25 µm in diameter). n-hexane was recovered under 100–150 mbar and 25 °C to obtain the EOs samples, which were then stored at 4 °C until use.

2.3. GC-FID and GC-MS Analysis of EOs

The identification of chemical components of extracted EOs involved the use of an Agilent Technologies 6890N (U.S.A.) system with AHP5-MS column (30 m × 0.25 mm internal diameter, film thickness 0.25 µm) with an FID in the condition helium (0.9 mL/min) as a carrier gas, and connected by a mass spectrometer HP 5973 MSD. Chemical compositions of the samples have been confirmed by comparison with the relative retention indices (RI) reference and the National Institute of Standards and Technology (NIST) library [24–26].

CHARACTERIZATION OF MORPHOLOGICAL AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF EXTRACTS *POGOSTEMON AURICULARIUS* (L.) HASSK COLLECTED IN THAI NGUYEN

Hoang Phu Hiep*, Nguyen Thi Thu Ha, Tran Thi Hong
TNU - University of Education

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 09/02/2023	<i>Pogostemon auricularius</i> (L.) Hassk is one of many species of herbs in the <i>Lamiaceae</i> family, widely used in tropical waters. <i>P. auricularius</i> is a herbaceous plant that grows in many countries, especially tropical such as India, Sri Lanka, Bangladesh, and China. For Vietnamese traditional medicine, the herbal is also used for fever, snake bite, sore throat, skin diseases, stomachache, digestive disorders, kidney pain and rheumatism. In this study, the anatomical structure of roots, stems, and leaves of <i>P. auricularius</i> was described by the method of microscopic anatomy. Antibacterial and antifungal resistance activities of <i>P. auricularius</i> extract have been evaluated. The ethanol extract of <i>P. auricularius</i> inhibited 4 bacterial strains (<i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> and <i>S. aureus</i> , <i>C. freundii</i>) and 3 fungal strains (<i>C. albican</i> , <i>A. brasiliensis</i> and <i>A. flavus</i>). The inhibition activity depends on the concentration of extract used. Compared with antibiotics, the concentration of 100 g/mL has better antibiotic and antifungal activity.
Revised: 14/4/2023	
Published: 19/4/2023	
KEYWORDS	
<i>Pogostemon auricularius</i>	
Ethanol extract	
Biological activity	
Antibacterial	
Antifungal	
Microscopic anatomy	

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI GIẢI PHẪU VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC CÂY NGỒ RỪNG (*Pogostemon auricularius* (L.) Hassk) THU THẬP TẠI THÁI NGUYÊN

Hoàng Phú Hiệp*, Nguyễn Thị Thu Hà, Trần Thị Hồng
Trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 09/02/2023	Ngồ rừng (<i>Pogostemon auricularius</i> (L.) Hassk) là một trong nhiều loài thảo được thuộc họ <i>Lamiaceae</i> được sử dụng phổ biến ở các nước nhiệt đới. Ngồ rừng là loại thân thảo một năm, mọc ở nhiều nước, đặc biệt là các nước nhiệt đới như Ấn Độ, Sri Lanka, Bangladesh, Trung Quốc. Đối với y học cổ truyền Việt Nam, cây Ngồ rừng còn được dùng để chữa sốt rét, rắn cắn, vết thương, viêm họng, lở ngứa ngoài da, đau dạ dày, rối loạn tiêu hóa, đau thận, thấp khớp. Trong nghiên cứu này, cấu tạo giải phẫu rễ, thân, lá cây Ngồ rừng đã được mô tả bằng phương pháp làm tiêu giải phẫu hiển vi. Hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của cao chiết cây Ngồ rừng đã được đánh giá. Cao chiết bằng ethanol của cây Ngồ rừng ức chế 4 chủng vi khuẩn <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. Coli</i> , <i>S. Aureus</i> , <i>C. freundii</i> và 3 chủng nấm <i>C. albican</i> , <i>A. Brasiliensis</i> , <i>A. flavus</i> . Hoạt tính ức chế phụ thuộc vào nồng độ cao chiết sử dụng. So với kháng sinh, nồng độ 100 µg/mL có hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm tốt hơn.
Ngày hoàn thiện: 14/4/2023	
Ngày đăng: 19/4/2023	
TỪ KHÓA	
Ngồ rừng	
Cao chiết cồn	
Hoạt tính sinh học	
Kháng khuẩn	
Kháng nấm	
Giải phẫu hiển vi	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.7301>

* Corresponding author. Email: hiephoangphu@tnue.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Ngô rừng (*P. auricularius* (L.) Hassk) hay còn gọi là Hùng tai, Tu hùng tai, cò cò cò, là một trong nhiều loài thảo dược thuộc họ *Lamiaceae* được sử dụng phổ biến ở các nước nhiệt đới. Ngô rừng là loại thân thảo một năm, mọc ở nhiều nước, đặc biệt là các nước nhiệt đới như Ấn Độ, Sri Lanka, Bangladesh, Trung Quốc, các nước Đông Nam Á [1]. Cây được thu hái vào mùa hè và mùa thu, rửa sạch, dùng tươi hay phơi khô [2].

Theo y học cổ truyền, tất cả các bộ phận của cây đều được dùng làm thuốc [3]. Cây thường dùng chữa các bệnh như: bệnh đau dạ dày, đau thận, rối loạn tiêu hóa, tê thấp, cảm sốt, sốt rét, đau họng; rắn cắn; lở loét ngoài da,... Ở Malaysia, người ta lấy toàn cây giã ra và chế thành thuốc đắp trên bụng trị đau bụng do rối loạn đường ruột trẻ em. Nước sắc toàn cây dùng rửa trị thấp khớp [4]. Trong y học cổ truyền Trung Quốc, trẻ em và người già bị sốt đều có thể được điều trị bằng cây Ngô rừng [1]. Kết quả nghiên cứu của Chetia và Saikia (năm 2021) cho thấy đã xác định được các hợp chất hữu cơ như flavonoid, terpenoid, steroid, glycoside và phenol trong cây Ngô rừng. Bên cạnh đó, tác giả cũng xác định được hoạt tính kháng khuẩn và chống oxy hóa của cao chiết [5]. Theo nghiên cứu của Maheshwari và cộng sự, tác giả cũng đã xác định được các hợp chất protein, saponin và glycoside, tanin, phenolic, flavonoid, alkaloid và sterol có mặt trong cao chiết methanol [6]. Đối với y học cổ truyền Việt Nam, cây Ngô rừng còn được dùng để chữa sốt rét, rắn cắn, vết thương, viêm họng, lở ngứa ngoài da, chàm, đau dạ dày, rối loạn tiêu hóa, đau thận, thấp khớp [7]. Tuy nhiên, ở Việt Nam, các nghiên cứu về cấu tạo giải phẫu và hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của cao chiết cây Ngô rừng còn tương đối ít. Trong nghiên cứu này, bên cạnh việc mô tả đặc điểm giải phẫu rễ, thân, lá, chúng tôi còn xác định hoạt tính của cao chiết Ngô rừng đối với một số chủng vi khuẩn và nấm.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Cây Ngô rừng (*P. auricularius* (L.) Hassk) thu thập tại Thái Nguyên (phường Quán Triều, thành phố Thái Nguyên) trong tháng 10 năm 2022. Mẫu gồm cành mang lá, hoa và rễ để làm tiêu bản thực vật; một số đoạn rễ, thân, lá tươi để nghiên cứu cấu tạo giải phẫu hiển vi. Mẫu thân, lá cắt nhỏ, sấy khô để nghiên cứu hoạt tính sinh học.

Các chủng vi khuẩn kiểm định: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter freundii* và *Pseudomonas aeruginosa*. Các loài nấm kiểm định bao gồm: *Caldiada albican*, *Aspergillus flavus* và *Aspergillus brasiliensis*. Các chủng vi sinh vật do Khoa Sinh học Trường Đại học Sư phạm Thái Nguyên cung cấp.

2.2. Phương pháp

Phương pháp xác định tên khoa học: Sử dụng phương pháp hình thái so sánh, đối chiếu khóa phân loại và các bản mô tả để xác định tên khoa học, mô tả loài [8], [9].

Phương pháp làm tiêu bản hiển vi được thực hiện theo hướng dẫn của Hoàng Thị Sần và Nguyễn Phương Nga [10].

Chuẩn bị dịch chiết và cao chiết: Cây Ngô rừng được sấy khô đến khối lượng không đổi ở 50°C, nghiền thành bột mịn. Tạo cao tổng số bằng phương pháp chiết hồi lưu bằng dung môi cồn ethanol. Cao Ngô rừng được hoà tan trong dung dịch DMSO 2% (DMSO 2%, Tween 80 0,2% H₂O 97,8%) thành các tỷ lệ 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL, sau đó tiến hành thử kháng khuẩn và kháng nấm.

Hoạt tính kháng khuẩn của cao Ngô rừng được xác định bằng phương pháp đo đường kính vòng kháng khuẩn [11]. Khả năng kháng khuẩn của cao Ngô rừng được xác định dựa trên vòng kháng khuẩn xung quanh giếng thạch (6 mm) có chứa cao Ngô rừng. Đường kính vòng kháng khuẩn được đo bằng thước đo đơn vị mm sau 24 giờ ủ mẫu ở nhiệt độ 30°C. Đối chứng âm là dung dịch DMSO 2%, đối chứng dương là kháng sinh Amocilin 50 µg/mL.



Chemical composition, antimicrobial and anticancer activities of *Paederia lanuginosa* WALL

Hiep Hoang Phu, Tran Thi Hong & Van Khang Pham

To cite this article: Hiep Hoang Phu, Tran Thi Hong & Van Khang Pham (2025) Chemical composition, antimicrobial and anticancer activities of *Paederia lanuginosa* WALL, Biotechnology & Biotechnological Equipment, 39:1, 2436974, DOI: [10.1080/13102818.2024.2436974](https://doi.org/10.1080/13102818.2024.2436974)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/13102818.2024.2436974>



© 2025 The Author(s). Published by Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group



Published online: 05 Jan 2025.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 94



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

Chemical composition, antimicrobial and anticancer activities of *Paederia lanuginosa* WALL

Hiep Hoang Phu, Tran Thi Hong and Van Khang Pham

Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen city, Vietnam

ABSTRACT

Paederia lanuginosa WALL. (*P. lanuginosa*) is a medicinal herb used to treat leprosy, expel worms, detoxify the body, and address stomach-related illnesses. On the other hand, *P. lanuginosa* leaves can also be used as a culinary spice. This study investigates the chemical composition of *P. lanuginosa* leaf extracts prepared with alcohol and it also evaluates the potential of these extracts for various biological activities, including antibacterial, antifungal and anticancer properties. The results showed that the alcoholic extract of *P. lanuginosa* leaves includes organic compounds such as alkaloids, iridoid glycosides, flavonoid, tannin, anthraquinone, and terpenoid. The extract did not contain saponin, coumarin, steroid, deodorised sugars, or carboxylic acids. The extract exhibited good broad-spectrum antibacterial activity at a concentration of 50 µg/mL against the tested bacterial strains *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum*, and *Helicobacter pylori*. Furthermore, the extract displayed good antifungal activity against *Aspergillus brasiliensis*, *Aspergillus flavus*, and *Candida albicans* at a concentration of 50 µg/mL. The extract of *P. lanuginosa* leaves also showed moderate inhibitory activity against the three tested cancer cell lines MKN-7, SW480, and HT29, with IC50 values ranging from 25.26 to 28.83 µg/mL.

ARTICLE HISTORY

Received 22 April 2024
Accepted 27 November 2024

KEYWORDS

Chemical composition;
Paederia lanuginosa;
alcohol extract;
antibacterial; antifungal;
anticancer

Introduction

The genus *Paederia* of the Rubiaceae family have been grown in Asia and North America, total of 33 plant species of genus *Paederia* is discovered [1]. In Vietnam, *Paederia lanuginosa* WALL (*P. lanuginosa*) is a deciduous climbing plant that grows to 3–5 m, which is cultivated in many regions [2]. It's typically planted in spring or autumn, often on fences, pond banks, or near bushes where it can climb [1]. *P. lanuginosa* is a vining plant with opposite, egg-shaped leaves. Its entire foliage is a striking purple-green, and both the stems and leaves are covered in fine white hairs [1,2]. Additionally, the leaves possess a distinctive scent. The leaves boast a captivating colour play. The upper surface is typically green, while the underside often displays a vibrant purple hue. Light purple flowers with cylindrical corollas emerge in double cymes at the axils of the leaves or branch tips [2]. In traditional medicine, genus *Paederia* plant has a long time of usage in China, Vietnam and other countries for the treatment of arthritis, inflammation, asthma, diarrhea, dysentery,

diabetes, seminal weakness, vesical calculi and a variety of other ailments [3–6]. Recently, the compounds isolated from genus *Paederia* also exhibited anti-inflammatory, anti-arthritis, antimicrobial, hepatoprotective, anti-diabetic, antioxidant, gastrointestinal activities [6]. Meanwhile, *P. lanuginosa* plant is tested antioxidant activities of ethanolic and ethyl acetate extracts [7,8]. On other hand, genus *Paederia* plants (main study on *P. foetida* specy) have many chemical compositions such as, iridoid glycosides, flavonoid glycosides, phenolic derivatives, terpenoids, triterpenoids, phytosterols, long chain derivatives, anthraquinones and essential oils [4–8]. Thus, the studies on the chemical composition and biological activities of *P. lanuginosa* are relatively simple and many contents remain unresearched, so in this study we investigate the ethanol extract of *P. lanuginosa* leaves, evaluating its chemical composition, antibacterial activity, anti-inflammatory activity, and inhibitory effects on the growth of gastric cancer (MKN-7 cell line), colon cancer (SW480 cell line), and colon cancer (HT29 cell line).

CONTACT Pham Van Khang  khangpv@tnue.edu.vn  Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen city, Vietnam

© 2025 The Author(s). Published by Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial License (<http://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. The terms on which this article has been published allow the posting of the Accepted Manuscript in a repository by the author(s) or with their consent.

MICROPROPAGATION OF *OROXYLUM INDICUM* (L.) KURZ

Hoang Phu Hiep^{a*}, Tran Thi Hong^a

^aThe Faculty of Biology, Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen, Vietnam

*Corresponding author: Email: hiephoangphu@tnue.edu.vn

Article history

Received: April 1st, 2023

Received in revised form: August 24th, 2023 | Accepted: December 15th, 2023

Available online:

Abstract

*This study develops a basic micropropagation protocol for *Oroxylum indicum*, a well-liked plant in Southeast Asia with medicinal properties that have been recognized by various civilizations worldwide for centuries. Seeds were sterilized with 0.1% HgCl₂ for 1 minute, yielding an optimal sterilization efficiency of 89.9%. MS medium supplemented with 1.0 mg/l BAP was the most effective medium for shoot initiation, and MS medium supplemented with 0.7 mg/l IBA was the best rooting medium.*

Keywords: BAP; IBA; Kinetin; Micropropagation; NAA; *Oroxylum indicum*.

DOI: [http://doi.org/10.37569/DalatUniversity.14.3.1133\(2024\)](http://doi.org/10.37569/DalatUniversity.14.3.1133(2024))

Article type: (peer-reviewed) Full-length research article

Copyright © 2024 The author(s).

Licensing: This article is published under a CC BY-NC 4.0 license.

1. INTRODUCTION

Oroxylum indicum (L.) Kurz is an important plant of the Bignoniaceae family that possesses various medicinal properties. This tree species grows in China, India, Malaysia, Cambodia, and several other South Asian countries (Chauhan, 1999; Deka et al., 2013). It has a relatively wide distribution in southern and northern Vietnam, including the provinces of Lang Son, Lao Cai, and Quang Ninh. *Oroxylum indicum* serves as both a source of food and as a valuable medicinal plant (Salleh et al., 2020). The leaves, flowers, and fruit of young plants can be stir-fried, boiled, or added to salads. The shells and seeds of *O. indicum* are mainly used to make medicines for treating diseases such as bronchitis, chronic cough, dysentery, stomachache, and some skin diseases (Ahad et al., 2012; Dev et al., 2010; Do, 2004). In modern medicine, numerous pharmaceutical properties of *O. indicum* have been extensively studied, including its potential for inhibiting tumors and cancers (Li et al., 2018), antibacterial activity (Sithisarn et al., 2016), and antiviral activity against COVID-19 (Jagetia, 2021). Currently, *O. indicum* trees are growing scarcer due to inadequate conservation efforts and overexploitation, mainly due to their dual significance as both a medicinal plant and a food source. Consequently, the breeding of *O. indicum* has now become an urgent concern.

In terms of propagation methods, the plant cell tissue culture method has many advantages over other propagation methods. Compared with the traditional propagation method, the *in vitro* propagation method creates a disease-free plant source with high tolerance and a high propagation coefficient that can be propagated on an industrial scale (Espinosa-Leal et al., 2018; Hussain et al., 2012). It is difficult to propagate *O. indicum* by conventional methods or to proactively create varieties for production to overcome the limitations of traditional propagation methods. Micropropagation is the best method to maintain and multiply medicinal species in general and *O. indicum* in particular.

Therefore, this study aims to optimize growth conditions for the micropropagation of this valuable medicinal species.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Materials

The research materials in this study comprise *O. indicum* seeds obtained from Attapeu Province in southern Laos.

2.2. Methods

2.2.1. Media preparation

All glassware was washed and sterilized for 30 minutes at 121°C and 1 atm. All media used in the study were based on Murashige and Skoog's (MS) basal medium (Murashige & Skoog, 1962). The pH of the media was adjusted to 5.8. The media were autoclaved at 121°C for 15 minutes. MS basal medium without growth hormone was used as the control.

THE CHEMICAL COMPOSITION AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE WILLOW EXTRACT FROM BAC KAN PROVINCES

Hoang Phu Hiep, Pham Hong Chuyen, Tu Quang Trung*, Nguyen Manh Cuong,
Vu Thanh Tuyet, Vu Trong Luong, Pham Van Khang
TNU - University of Education

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 08/01/2024 Revised: 25/3/2024 Published: 05/4/2024	Willow (<i>Salix babylonica</i>) was used as medicine by ancient civilizations for its analgesic, antipyretic, and anti-inflammatory properties. The bark and leaves of the Willow contain various organic substances, especially salicin, a chemical similar to aspirin (acetylsalicylic acid), which acts as an analgesic drug. This study aimed to analyze the chemical composition and bioactivities of Willow leaf extracts collected at Bac Kan province. The chemical composition was determined by the GC/MS method. Besides, the antioxidant activity of the samples was investigated using the DPPH method, and the antimicrobial activity was determined using the zone inhibition test. According to the GC/MS results, there are 26 compounds in the Willow extract, with seven major components (68.57% of the total composition). The Willow leaf ethanol extract has good antibacterial activity against five tested strains, with the highest activity observed against the <i>B. subtilis</i> strain. Ethanol extract from Willow leaves has the ability to inhibit the growth of 3 tested fungal strains, of which the best is <i>A. Flavus</i> . The antioxidant activity of the Willow ethanol extract was 5.36 µg/mL.
KEYWORDS	
Bioactivities	
Chemical composition	
GC/MS	
Leaf extract	
<i>Salix babylonica</i>	

THÀNH PHẦN VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC CAO CHIẾT LIỄU THU TẠI TỈNH BẮC KẠN

Hoàng Phú Hiệp, Phạm Hồng Chuyên, Từ Quang Trung*, Nguyễn Mạnh Cường,
Vũ Thanh Tuyết, Vũ Trọng Lượng, Phạm Văn Khang
Trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 08/01/2024 Ngày hoàn thiện: 25/3/2024 Ngày đăng: 05/4/2024	Cây Liễu (<i>Salix babylonica</i>) đã được người cổ đại sử dụng làm thuốc giảm đau, hạ sốt và chống viêm. Trong vỏ và lá của cây Liễu chứa nhiều chất hữu cơ khác nhau, đặc biệt là salicin, một chất tương tự như aspirin (acetylsalicylic acid), có tác dụng như thuốc giảm đau. Mục đích của nghiên cứu này là phân tích thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của chiết xuất lá Liễu thu tại tỉnh Bắc Kạn. Thành phần hóa học được xác định bằng phương pháp GC/MS. Bên cạnh đó, hoạt tính chống oxy hóa của các mẫu được xác định bằng phương pháp DPPH và hoạt tính kháng khuẩn khảo sát bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch. Theo kết quả GC/MS, trong dịch chiết Liễu có 26 hợp chất, với 7 thành phần chính (chiếm 68,57% tổng thành phần). Chiết xuất ethanol từ lá Liễu có hoạt tính kháng khuẩn tốt đối với 5 chủng được thử nghiệm, với hoạt tính cao nhất được quan sát thấy đối với chủng <i>B. subtilis</i> . Chiết xuất ethanol từ lá Liễu có hoạt tính ức chế sự phát triển của 3 chủng nấm thử nghiệm, trong đó tốt nhất là chủng nấm <i>A. Flavus</i> . Ngoài ra, hoạt tính chống oxy hóa của chiết xuất ethanol Willow là 5,36 µg/mL.
TỪ KHÓA	
Hoạt tính sinh học	
Thành phần hoá học	
GC MS	
Cao chiết lá	
<i>Salix babylonica</i>	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.9554>

* Corresponding author. Email: trungtq@tnue.edu.vn

FABRICATION OF ANTIBACTERIAL MATERIALS BASED ON COPPER (II) OXIDE/COPPER AND SILVER OXIDE

Nguyen Quoc Dung¹, Hoang Phu Hiep^{1*}, Ha Xuan Linh²

¹TNU - University of Education, ²TNU - International School

ARTICLE INFO		ABSTRACT
Received:	07/7/2024	Nanostructured materials, specifically CuO/Cu and Ag ₂ O nanoparticles, were successfully fabricated using the anodic dissolution method combined with ultrasonic vibration. The structural morphology, atomic composition, and structure of the materials were determined using scanning electron microscopy (SEM), X-ray energy dispersive spectroscopy (EDS), and X-ray diffraction (XRD). The results indicated that the particle size achieved was within the nano scale with a size of about 100 nm. The formation mechanism of CuO/Cu and Ag ₂ O nanoparticles products is also explained. The antibacterial properties of the materials were investigated separately for CuO/Cu and Ag ₂ O nanoparticles as well as their mixture. The antibacterial performance of copper oxide/copper nanoparticles was found to be most effective against <i>Sarcina lutea</i> and least effective against <i>Staphylococcus aureus</i> . In contrast, the antibacterial performance of silver oxide nanoparticles was highest against <i>Pseudomonas aeruginosa</i> and lowest against <i>Sarcina lutea</i> . The CuO/Cu:Ag ₂ O mixture at a concentration of 50 µg/ml demonstrated good antibacterial activity against both <i>Sarcina lutea</i> and <i>Staphylococcus aureus</i> .
Revised:	01/8/2024	
Published:	01/8/2024	
KEYWORDS		
Copper oxide		
Copper		
Silver oxide		
Soluble anode		
Antimicrobial		

CHẾ TẠO VẬT LIỆU KHÁNG KHUẨN DỰA TRÊN VẬT LIỆU ĐỒNG(II) OXIDE/ĐỒNG VÀ BẠC OXIDE

Nguyễn Quốc Dũng¹, Hoàng Phú Hiệp^{1*}, Hà Xuân Linh²

¹Trường Đại học Sư phạm – ĐH Thái Nguyên, ²Khoa Quốc tế - ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO		TÓM TẮT
Ngày nhận bài:	07/7/2024	Vật liệu có cấu trúc nano CuO/Cu, Ag ₂ O đã được chế tạo thành công bằng phương pháp điện phân anot tan kết hợp với rung siêu âm. Hình thái cấu trúc, thành phần nguyên tử và cấu trúc của vật liệu xác định bằng phương pháp hiển vi điện tử quét (SEM), tán xạ năng lượng tia X (EDS) và nhiễu xạ tia X (XRD). Kết quả cho thấy kích thước của các hạt đạt kích thước nano với kích thước khoảng 100 nm. Nghiên cứu khả năng kháng khuẩn của các vật liệu được thực hiện trên gồm vật liệu nano CuO/Cu và Ag ₂ O riêng rẽ và hỗn hợp của chúng. Kết quả kháng khuẩn của hạt nano đồng oxide/đồng tốt nhất trên vi khuẩn <i>Sarcina lutea</i> và thấp nhất với vi khuẩn <i>Staphylococcus aureus</i> . Trong khi đó, kết quả kháng khuẩn của hạt nano bạc oxide tốt nhất trên vi khuẩn <i>Pseudomonas aeruginosa</i> và thấp nhất với vi khuẩn <i>Sarcina lutea</i> . Hỗn hợp CuO:Ag ₂ O 50 µg/ml cho khả năng kháng khuẩn tốt với cả vi khuẩn <i>Sarcina lutea</i> và thấp nhất với vi khuẩn <i>Staphylococcus aureus</i> .
Ngày hoàn thiện:	01/8/2024	
Ngày đăng:	01/8/2024	
TỪ KHÓA		
Đồng oxide		
Đồng		
Bạc oxide		
Anot tan		
Kháng khuẩn		

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.10718>

* Corresponding author. Email: hiephoangphu@tnue.edu.vn

1. Giới thiệu

Hiện nay, mặc dù các thuốc kháng sinh ra đời giúp con người chống lại được nhiều bệnh tật có các loại khuẩn gây ra, nhưng tình trạng kháng thuốc dẫn đến con người ngày càng phải đối diện với nhiều bệnh tật nguy hiểm. Do đó, nhiều nghiên cứu tập trung vào phát triển vật liệu nano các kim loại đồng bạc và hợp chất của chúng trong ứng dụng diệt khuẩn, nấm và công nghệ y sinh, bởi hiệu quả kháng khuẩn cao, ngăn chặn được sự kháng thuốc, có độ bền và tính ổn định cao, ứng dụng đa dạng và sẵn có [1] - [4]. Các ứng dụng y sinh của bạc (ion bạc và bạc keo) đã được biết đến từ thời cổ đại. Các nền văn minh cổ đại biết rằng các hợp chất làm từ bạc mang lại hiệu quả ngăn ngừa và điều trị bệnh tật và nhiễm trùng ở động vật và con người, điều này được thực hiện bằng cách kiểm soát vi sinh vật [5]. Đồng là một nguyên tố thiết yếu trong động vật và thực vật, và là một nguyên tố vi lượng có trong nhiều sinh vật. Có những báo cáo về việc sử dụng các hợp chất làm từ đồng hơn 9000 năm trước, và hoạt tính kháng khuẩn của đồng được công nhận rộng rãi [6]. Các dạng phân tử nano của bạc và đồng (AgNPs, CuNPs và CuONPs) cho phép tương tác cao của vật liệu nano với các nhóm hóa học chức năng được tìm thấy trong màng tế bào của mầm bệnh. Nói chung, bạc và đồng ở kích thước nano có tác dụng kháng khuẩn mạnh hơn ở dạng khối [7]. Ngoài tác dụng diệt khuẩn, cả AgNPs và NPs dựa trên Cu còn được biết đến về khả năng kháng virus [8].

CuO có nhiều ứng dụng, trong đó, lĩnh vực y sinh liên quan đến kháng khuẩn cũng được nhiều nhà khoa học quan tâm [9]. Chẳng hạn, M. Amiri và cộng sự đã nghiên cứu hiệu quả kháng khuẩn của các hạt nano đồng oxide ở một số loài vi khuẩn ở miệng và nấm *Candida* [10]. M. Khatamin [11] đã tổng hợp các hạt nano đồng/đồng oxide bằng cách sử dụng dịch chiết thực vật *Stachys lavandulifolia* và thử hoạt tính kháng khuẩn của nó. Hay tương tự, cùng tác giả, đã dùng phương pháp sử dụng xanh từ cây trà xanh để tổng hợp các hạt đồng oxide để nghiên cứu hiệu quả chống nấm trên chủng *Fusarium solani*. Cũng phương pháp tổng hợp tương tự, tác giả M. Shammout và cộng sự [12] đã tổng hợp CuONPs có kích thước khoảng 20 nm ứng dụng trong kháng nấm *Aspergillus niger* (FCBP-0198). Như vậy có thể thấy, ứng dụng tính kháng khuẩn của CuO đang rất cuốn hút đối với nhiều nhà nghiên cứu trong thời gian gần đây.

Bạc (Ag), bên cạnh vai trò là kim loại quý dùng trong trang sức và tiền tệ trong trao đổi thương mại, còn được biết đến với khả năng kháng khuẩn. Không chỉ ở dạng tự do mà ở dạng hợp chất như bạc oxide (Ag_2O) đều có hoạt tính kháng khuẩn tốt [4]. Kể từ khi phát hiện ra khả năng kháng khuẩn, kháng nấm vượt trội của bạc ở kích thước nano, lĩnh vực này đã thu hút sự quan tâm nghiên cứu sâu rộng của nhiều nhà khoa học trên thế giới. Chẳng hạn, gần đây, M. Mani và cộng sự [13] đã dùng phương pháp chế tạo xanh để chế tạo các hạt bạc oxide dạng nano và thử tính kháng khuẩn của một số loại khuẩn như *Escherichia coli* và *Staphylococcus aureus*. Thậm chí, bạc oxide khi được bọc bằng các axit béo được dùng là chất kháng khuẩn, kháng nấm, chống ung thư được phát triển bởi Mohammad Azam Ansari và nhóm nghiên cứu [14].

Có thể thấy, tiềm năng ứng dụng của các hạt nano có nguồn gốc từ đồng, bạc là rất lớn. Tuy nhiên vấn đề đặt ra là phương pháp chế tạo, khả năng tạo khối lượng lớn. Các phương pháp cổ điển như đi từ các dung dịch muối tương ứng trong các phản ứng hóa học thường hay được sử dụng, tuy nhiên độ tinh khiết thường không cao do các dung dịch muối đồng, muối bạc thường hay lẫn tạp chất. Hơn thế nữa, trong quá trình phản ứng, các nguyên tố ở gốc axit cũng có thể được sinh ra tạo thành tạp chất trong vật liệu như S, N,... Do đó, phương pháp chế tạo có độ tinh khiết cao là điều cần thiết, đặc biệt khi được ứng dụng liên quan đến sức khỏe con người như làm các đồ dùng kháng khuẩn, khẩu trang kháng khuẩn. Do đó, trong nghiên cứu của chúng tôi lựa chọn phương pháp điện hóa, cụ thể quá trình điện phân đồng và bạc từ kim loại có độ tinh khiết cao trong môi trường kiềm NaOH dưới tác dụng của rung siêu âm để được các sản phẩm là đồng và bạc oxide.

Trong nghiên cứu này, đồng oxide/đồng, bạc oxide được chế tạo bằng cách điện phân hòa tan anode từ các thanh đồng và bạc, và trong môi trường điện li thích hợp, dưới tác dụng của rung siêu âm để thu được các chế phẩm nano có tác dụng kháng khuẩn cao.

RESEARCH CHARACTERISTICS, ANALYSIS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF LEAF EXTRACT OF LITSEA UMBELLATA (LOUR.) MERR IN VIETNAM

Tu Quang Trung^{*}, Hoang Phu Hiep, Vu Trong Luong, Nguyen Thi Thu Ha

TNU – University of Education

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 28/9/2022	<i>Litsea umbellata</i> (Lour.) Merr) is quite common in our country and grows in many places: Lao Cai, Vinh Phu, Gia Lai, Kontum,... The study aimed to describe the morphological characteristics, Anatomy and antioxidant activity of bitter leaf extracts. The results show that: Boi Lii has a well-developed root that penetrates deep into the ground, the root size is relatively equal. In the secondary structure of bitter gourd roots, the wood and libe are arranged in an open superimposed bundle. Stems have thick tissue at the primary stem. Hard tissue forms a ring around the body. Vascular bundles are many, they are linked together by a wood beam system. Intestinal soft tissue located in the midsection of the body is composed of polygonal or slightly rounded cells of different sizes. Leaves alternate, oval, oblong-oval, narrow or rounded at base, pointed at tip, often clustered at branch tips, hedging tissue has a strongly developed layer, underside of leaf has stomata. transpiration and gas exchange with the environment. The ethanol extract of bitter gourd leaves has high oxygen activity with an average IC50 value of 3.22 µg/ml. From the research results, it is shown that bitter gourd is a potential medicinal plant containing many antioxidant compounds.
Revised: 30/01/2023	
Published: 30/01/2023	
KEYWORDS	
Litsea umbellata	
Ethanol extract	
Stem anatomy	
Morphological leaf	
Antibacterial	

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI, GIẢI PHẪU VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HOÁ CỦA CAO CHIẾT TỪ LÁ CỦA LOÀI BỒI LỜI ĐẮNG (LITSEA UMBELLATA (LOUR.) MERR) Ở VIỆT NAM

Tu Quang Trung^{*}, Hoàng Phú Hiệp, Vũ Trọng Lượng, Nguyễn Thị Thu Hà

Trường Đại học Sư phạm – ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 28/9/2022	Bồi lời đắng (<i>Litsea umbellata</i> (Lour.) Merr) khá phổ biến ở nước ta và phát triển ở nhiều nơi: Lào Cai, Vĩnh Phú, Gia Lai, Kontum,... Nghiên cứu nhằm mô tả đặc điểm hình thái, giải phẫu và hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết từ lá Bồi lời đắng. Kết quả cho thấy: Bồi lời đắng có rễ cọc phát triển đâm sâu xuống đất, kích thước rễ tương đối đều nhau. Trong cấu tạo thứ cấp của rễ cây Bồi lời đắng, gỗ và libe sắp xếp theo kiểu bó dẫn chồng chất hờ. Thân cây có mô dày góc phát mạnh ở thân sơ cấp. Mô cứng tạo thành vòng quanh thân. Bó mạch nhiều, chúng được liên kết với nhau bởi hệ thống tia gỗ. Mô mềm ruột nằm ở phần giữa thân gồm các tế bào hình đa giác hoặc hơi tròn có kích thước khác nhau. Lá mọc so le, hình bầu dục, thuôn hình trái xoan, thon hẹp hay tròn ở gốc, nhọn ở đầu, thường mọc thành cụm ở đầu cành, mô giậu có một lớp phát triển mạnh, mặt dưới của lá có lỗ khí làm nhiệm vụ thoát hơi nước và trao đổi khí với môi trường. Cao chiết ethanol của lá cây Bồi lời đắng có hoạt tính oxy khá cao với giá trị IC ₅₀ trung bình là 3,22 µg/ml. Từ kết quả nghiên cứu cho thấy, Bồi lời đắng là một dược liệu tiềm năng chứa nhiều các hợp chất kháng oxy hóa.
Ngày hoàn thiện: 30/01/2023	
Ngày đăng: 30/01/2023	
TỪ KHÓA	
Bồi lời đắng	
Cao chiết ethanol	
Giải phẫu thân cây	
Hình thái lá	
Kháng oxy hoá	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.6571>

^{*} Corresponding author. Email: trungta@tnue.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Loài Bời lời đắng (*Litsea umbellata* (Lour.) Merr) là cây gỗ nhỏ. Lá mọc cách có hình bầu dục gốc lá nhọn hoặc tròn; chóp lá nhọn; mặt trên có lông ở phần gân giữa, mặt dưới có lông màu nâu; gân bên 8-16 cặp; cuống lá dài 8-10 mm, có lông. Cụm hoa tán ở nách lá, có lông màu nâu. Quả hình cầu, đường kính 5-6 mm.

Hiện nay chưa có nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học của loài Bời lời đắng (*Litsea umbellata*). Tuy nhiên, các kết quả nghiên cứu về chi Bời lời rất đa dạng về mặt hóa học, chúng bao gồm nhiều lớp chất có hoạt tính sinh học như alkaloid, lactone, sesquiterpene, flavonoid, lignan... và các dầu bay hơi, ước tính có khoảng 407 chất đã được phân lập từ 69 loài của chi này [1]-[3]. Nhiều loài trong chi Bời lời là các thảo dược truyền thống đã được sử dụng cho việc điều trị viêm nhiễm đường tiêu hóa, phù nề, khớp. Cho đến nay, chỉ có 5 loài trong chi bao gồm Mãng tang (*L. cubeba*), Bời lời nhót (*L. glutinosa*), *L. akoensis*, *L. japonica* và *L. guatemalensis* đã được đánh giá chống viêm có hiệu quả [4], [5]. Một số dịch chiết từ loài khác nhau trong chi Bời lời như: Các phenolic từ vỏ thân *L. monopetala* thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa tổng từ 1,90 tới 7,06 mmol Trolox/g [6]. Dịch chiết vỏ thân Bời lời nhót và *L. laeta* đã cho thấy hoạt tính tạo phức kim loại FWT với IC_{50} là 15,25 và 16,14 $\mu\text{g/ml}$ tương ứng. Hợp chất biseugenol A (310), biseugenol B (311) và 5-methoxy-2-hydroxybenzaldehyd (385) có hoạt tính bất gổc tự do với IC_{50} là $4,77 \pm 0,006\%$, $41,92 \pm 0,02$ và $17 \pm 0,03 \mu\text{g/ml}$ tương ứng [7] đều có khả năng chống oxy hóa.

Theo Đông y, lá loài Bời lời đắng lược lên dùng làm cao dán chữa đau nhức và mụn nhọt. Hiện nay chưa có một công trình nào nghiên cứu về loài Bời lời đắng ở Việt Nam. Vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi tập trung nghiên cứu đặc điểm hình thái giải phẫu và hoạt tính oxy hóa của loài Bời lời đắng (*Litsea umbellata* (Lour.) Merr) nhằm góp phần cho tiềm năng sử dụng cao Bời lời đắng trong y dược.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Nguyên liệu sử dụng để tách cao chiết là thân của loài Bời lời đắng (*Litsea umbellata*) được thu tại Rừng phòng hộ Phụng Hoàng, xã Cù Vân, huyện Đại Từ, tỉnh Thái Nguyên, Việt Nam và được PGS.TS. Sỹ Danh Thường, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên định danh dựa trên các đặc điểm thực vật học khi tiến hành thu mẫu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thu thập và xử lý mẫu

Mẫu (rễ, thân, lá) của loài Bời lời đắng (*Litsea umbellata* (Lour.) Merr) được thu ở môi trường khô hạn tự nhiên, rửa sạch đất, bảo quản trong cồn 90°, để ở nơi thoáng mát trong phòng thí nghiệm (theo phương pháp của Nguyễn Nghĩa Thìn, 2008 [8]).

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu hình thái và cấu tạo giải phẫu

Về đặc điểm hình thái: Mô tả đặc điểm hình thái ngoài của loài Bời lời đắng (*Litsea umbellata* (Lour.) Merr) theo các tài liệu của Trần Văn Ba, Hoàng Thị Sản (1998) [9], Hoàng Thị Sản (2002) [10].

Về cấu tạo giải phẫu: Sử dụng phương pháp làm tiêu bản hiển vi tạm thời, mô tả cấu tạo giải phẫu các cơ quan sinh dưỡng (rễ, thân, lá) các loài cây hạn sinh theo các tác giả Trần Văn Ba, Hoàng Thị Sản (1998) [9], Kixelewa N. X. (1998) [11].

2.2.3. Phương pháp chụp ảnh tiêu bản hiển vi

Ảnh được chụp trên kính hiển vi STE-1 CAM của Trung Quốc có kết nối máy tính với phần mềm Motoc ở độ phóng đại khác nhau.

ASSESSMENT OF BIOACTIVITY OF *ALIX BABYLONICA* EXTRACT IN THAI NGUYEN PROVINCE

Hoang Phu Hiep, Pham Hong Chuyen, Tu Quang Trung, Pham Van Khang*

TNU - University of Education

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 21/12/2022	Willows (<i>Salix babylonica</i>) are trees and shrubs that are widely distributed in Africa, North America, Europe, and Asia. This species is used in folk medicine and contains many biologically active substances, including salicin, a precursor of salicylic acid. In this study, we extracted 500g of ethanol extract from 6kg of fresh willow leaves using the reflux extraction method to determine its chemical composition and evaluate its antibacterial and antioxidant activities. The results showed that the ethanol extract of willow leaves contains phenolic, alkaloid, flavonoid, coumarin, and steroid groups. It also exhibits high antioxidant activity, with an average IC ₅₀ value of 5.65 µg/ml. Moreover, the ethanol extract of willow leaves exhibits strong antibacterial activity, especially against Gram-positive bacteria such as <i>Staphylococcus aureus</i> . However, its antibacterial activity against Gram-negative bacteria such as <i>Pseudomonas aeruginosa</i> and <i>Citrobacter freundii</i> is comparatively weaker. These research findings highlight the potential of willow trees as a natural alternative to antibiotics in the treatment of bacterial diseases in humans.
Revised: 18/4/2023	
Published: 20/4/2023	
KEYWORDS	
<i>Salix babylonica</i>	
Ethanol extract	
Biological activity	
Antibacterial	
Antioxidant	

ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA CAO CHIẾT LIỄU (*SALIX BABYLONICA*) THU TẠI THÁI NGUYÊN

Hoàng Phú Hiệp, Phạm Hồng Chuyên, Từ Quang Trung, Phạm Văn Khang*

Trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 21/12/2022	Liều (<i>Salix Babylonica</i>) là cây thân gỗ, cây bụi phân bố rộng rãi ở Châu Phi, Bắc Mỹ, Châu Âu và Châu Á. Loài này được sử dụng trong y học dân gian và có nhiều các chất có hoạt tính sinh học, trong đó có salicin, một tiền chất của axit salicylic. Trong nghiên cứu này, 500 g cao ethanol chiết xuất từ 6kg lá Liều tươi bằng phương pháp chiết hồi lưu được xác định thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, hoạt tính chống oxy hóa. Kết quả cho thấy, trong cao chiết ethanol của lá Liều có các nhóm phenolic, alkaloid, saponin, flavonoid, coumarin, steroid. Cao chiết ethanol của lá Liều có hoạt tính oxy với giá trị IC ₅₀ trung bình là 5,65 µg/ml. Cao chiết ethanol Liều có khả năng kháng khuẩn mạnh nhất với các chủng vi khuẩn Gram dương như <i>Staphylococcus aureus</i> . Đối với các vi khuẩn Gram âm như <i>Pseudomonas aeruginosa</i> và <i>Citrobacter freundii</i> , hoạt tính kháng khuẩn kém hơn. Kết quả nghiên cứu cho thấy tiềm năng của cây Liều có thể thay thế kháng sinh trong phòng trị bệnh do vi khuẩn gây ra ở người.
Ngày hoàn thiện: 18/4/2023	
Ngày đăng: 20/4/2023	
TỪ KHÓA	
Liều	
Cao chiết ethanol	
Hoạt tính sinh học	
Kháng oxy hoá	
Kháng khuẩn	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.7157>

* Corresponding author. Email: khangpv@tmue.edu.vn

1. Giới thiệu

Liễu (*Salix Babylonica*) là cây thân gỗ hay cây bụi, phân bố rộng rãi ở Châu Phi, Bắc Mỹ, Châu Âu và Châu Á. Loài này được sử dụng trong y học cổ truyền và có nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học, trong đó có salicin, một tiền chất của axit salicylic. Trong Liễu có khoảng 322 chất chuyển hóa thứ cấp như flavonoid, glycoside, procyanidin, axit hữu cơ và các dẫn xuất của chúng, phenol, sterol và terpen, lignans, chất bay hơi và axit béo. Lá Liễu chủ yếu chứa flavonoid, axit phenolic, các dẫn xuất của chúng và glycoside phenolic, trong khi vỏ thân chủ yếu chứa procyanidin [1].

Cây Liễu chứa nhiều loại flavonoid, đặc trưng cho từng loài như: flavon, flavonols, flavanones, dihydroflavonols, isoflavone, chalcones, dihydrochalcones, flavan-3-ols và anthocyanins. Các loại flavonoid được phát hiện nhiều nhất trong lá và hiếm khi ở rễ. Các flavon như apigenin và các glycoside của nó là thành phần chính của lá loài *S. acutifolia* Willd., *S. matsudana* Koidz. và loài *S. babylonica* L. Kaempferol và dẫn xuất 7,4-dimethyl của nó được tìm thấy là thành phần chính trong loài *S. bordensis* Turcz. Ngoài ra, kaempferol-7-O-glucoside là một hợp chất chính trong lá và rễ của loài *S. babylonica* L. [2]. Glycoside là chất chuyển hóa thứ cấp chính trong họ *Salicaceae* [3]. Các phenolic glycoside thường chiếm tới 30% trong khối lượng thực vật khô. Hàm lượng phenolic glycoside cao nhất là trong lá Liễu, tiếp theo là cành, thân và vỏ cây. Salicin, tremuloidin, tremulacin được tìm thấy là những thành phần chính trong thân và vỏ cây non *S. Acutifolia* Willd., trong lá *S. chaenomeloides* Kimura, cành loài *S. routeulosa* Seemen và lá loài *S. tetrasperma* Roxb. Một số phenolic glycoside được xác định là dấu hiệu phân loại cho các loài Liễu khác nhau. Ví dụ như Acemophyllin A và acemophyllin B được xác định là chỉ thị phân loại đối với lá *S. acmophylla* Boiss. [4]. Chaenomeloidin, cochinchiside A0, lasiandrin, leonuriside A, salicin-7-sulfate được xác định là dấu hiệu phân loại cho lá *S. chaenomeloides*, *S. koriyanagi* Kimura. Stems [5].

Cây Liễu đã được sử dụng trong y học từ thời cổ đại và có liên quan đến việc phát hiện ra axit acetylsalicylic và aspirin. Theo truyền thống, những cây này được sử dụng để điều trị các chứng đau nhức cơ xương khớp, viêm và sốt. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy khả năng kháng nấm, kháng khuẩn [6], ức chế HIV [7], chống oxy hóa [8], [9], chống ung thư [10]. Salicin là một chất chuyển hóa có hoạt tính được lý chính trong Liễu và thủy phân trong đường tiêu hóa để tạo thành rượu salicyl và D-glucose. Sau khi hấp thụ, chất này bị oxy hóa thành axit salicylic, một loại thuốc có hoạt tính ức chế cyclooxygenase (COX I, II) [11]. Nhiều nghiên cứu trước đây đã đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của cây Liễu và các thành phần tích cực trong chiết xuất của chúng chống lại các loại vi khuẩn khác nhau như *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* và *Bacillus subtilis*, vi khuẩn hình thành màng sinh học nha khoa (*Streptococcus mutans* và *Lactobacillus*) và *Salmonella enterica*. Một nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng, chiết xuất vỏ thân và hoa của *S. tetrasperma* Roxb. có khả năng kháng lại *P. aeruginosa*. Cả hai chất chiết xuất đều ức chế sự phát triển của vi khuẩn *P. aeruginosa* ở mức 40 mg/ml [6]. Sử dụng các phương pháp khác nhau, các nhà khoa học đã chứng minh được khả năng kháng nấm của cây Liễu với các chủng như *Candida guilliermondii*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* và *Fusarium oxysporum* [1].

Trong nghiên cứu này, cao chiết Liễu được xác định hoạt tính kháng khuẩn, hoạt tính oxy hóa nhằm góp phần cho thấy tiềm năng sử dụng cao Liễu trong y dược.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Lá Liễu được thu hái tại phường Quang Trung, thành phố Thái Nguyên trong tháng 05/2022. Cây Liễu được định danh bởi PGS. TS. Sỹ Danh Thường, khoa Sinh học, trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên. Sau khi thu hái, lá Liễu được rửa sạch cắt nhỏ, sấy khô ở nhiệt độ 50°C trong 72 giờ để tạo cao chiết.

NGHIÊN CỨU CẤU TẠO GIẢI PHẪU VÀ MỘT SỐ HOẠT TÍNH SINH HỌC CAO CHIẾT CÂY HƯƠNG PHỤ (*Cyperus rotundus* L.)

Hoàng Phú Hiệp^{1*}, Nguyễn Thị Thu Hà¹, Hoàng Huyền Trang², Trần Thị Hồng¹,
Phạm Thị Thanh Nhân¹, Nguyễn Thị Thu Nga¹, Vũ Thị Thu Thủy¹, Chu Hoàng Mậu¹

Tóm tắt: Hương phụ là một loại thảo dược được sử dụng rộng rãi ở nhiều nơi trên thế giới. Hương phụ được sử dụng trong y học cổ truyền để tẩy giun sán, lợi tiểu, sốt và các bệnh về

hồng viêm, chồn chống oxy hóa,...
Nghiên cứu này cung cấp dữ liệu về rễ và thành phần hóa học củ

α -amylase
mạch đặc ethanol cây alkaloid. độ 50 $\mu\text{g/mL}$ đo
điển hình của cây Một lá mầm. phụ có các hợp chất
rễ xác định h dư fla
đều có kiểu bó trong cao chiết n và đo
S. aureus, *P. aeruginosa* *E. coli*.
A. flavus, *A. brasiliensis* *C. albicans*,
độ 50 $\mu\text{g/mL}$.
hức chế enzyme α -amylase giá trị IC_{50} là 17,5 $\mu\text{g/mL}$, kết quả này so với đối chứng (Acarbose).

Từ khóa:

,ức chế α -amylase.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cao chiết và thành phần hoá học cao chiết thảo dược đang được nghiên cứu rộng rãi để xác định các tác dụng dược lý của chúng. Đây là những cơ sở để sử dụng hiệu quả các chất chiết xuất từ thảo dược trong điều trị các bệnh liên quan mà ít gây tác dụng phụ (Kandikattu và cs., 2022). Trong các loại thảo dược, Hương phụ đã được sử dụng từ lâu như một loại dược liệu truyền thống trong nền y học cổ truyền của nhân dân ta. Hương phụ hay còn gọi là cỏ gấu hoặc cỏ cú, danh pháp khoa học là *Cyperus rotundus*. Hương phụ là một loài cỏ sống lâu năm, cao từ 20-60 cm. Sinh sản thông qua thân rễ và củ. Thân rễ phát triển thành củ, màu nâu thẫm hay nâu đen, có nhiều đốt và có lông, chôn sâu dưới đất. Tùy thuộc vào trạng thái đất mà củ phát triển to hay nhỏ. Tại các vùng ven biển, đất thường xốp, pha cát hoặc cát cây Hương phụ phát triển to, mập, dài hơn và bẹ lá sinh trưởng cao hơn. Ngược lại tại các vùng núi cao, đồng bằng, nơi đất chặt thì cây Hương phụ phát triển kém hơn, với củ nhỏ, lá thấp (Phạm, 1999).

¹ Trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên

² Trường THPT Lý Nam Đế

* Email: hiephoangphu@tnuc.edu.vn

ASSESSMENT OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *PORTULACA OLERACEA* EXTRACT IN THAI NGUYEN

Hoang Phu Hiep¹, Hoang Thu Thao², Do Manh Son², Nguyen Trong Tan², Nguyen Phu Hung³,
Pham Van Khang^{1*}

¹TNU - University of Education

²Luong Ngoc Quyen High school, ³TNU - University of Sciences

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 05/01/2022	<i>Portulaca oleracea</i> is a vegetable that grows in wet wild places in our country. <i>Portulaca oleracea</i> contains many proteins, sterols, carotenoids and polysaccharides. Furthermore, it has many vitamins (A, C, E, and some B-complexes) and minerals (Ca, Fe, Mn, P, and Se). So, <i>Portulaca oleracea</i> is used as food but also as a medicine. In traditional medicine, <i>Portulaca oleracea</i> is used as a medicine for diarrhea, acne, diuretic, and deworming. In this study, <i>Portulaca oleracea</i> extract was used to chemical composition determination by color reaction and evaluate antibacterial activity. After reflux extraction, 90 g of ethanol extract and 30 g of dichloromethane extract were collected. The results show that the ethanol extracts and dichloromethane extract of <i>Portulaca oleracea</i> have phenolic, alkaloid, flavonoid, steroid groups. Alcohol and dichloromethane extracts of <i>Portulaca oleracea</i> have strong antibacterial ability, in which dichloromethane extract concentration of 100 mg/mL has the best bactericidal ability. Research results show the potential of <i>Portulaca oleracea</i> to replace antibiotics in human disease prevention.
Revised: 18/4/2022	
Published: 18/4/2022	
KEYWORDS	
Portulaca oleracea	
Ethanol extract	
Dichloromethane extract	
Biological activity	
Antibacterial	

ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA CAO CHIẾT RAU SAM (*PORTULACA OLERACEA*) THU TẠI THÁI NGUYÊN

Hoàng Phú Hiệp¹, Hoàng Thu Thảo², Đỗ Mạnh Sơn², Nguyễn Trọng Tấn², Nguyễn Phú Hùng³,
Phạm Văn Khang^{1*}

¹Trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên, ²Trường THPT Lương Ngọc Quyến

³Trường Đại học Khoa học - ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 05/01/2022	Rau sam (<i>P. oleracea</i>) là loại rau mọc hoang ở khắp những nơi ẩm ướt của nước ta. Trong Rau sam có chứa nhiều protein, sterol, carotenoid và polysaccharid. Nhiều loại vitamin (A, C, E và một số phức-B) và khoáng chất (Ca, Fe, Mn, P và Se). Vì vậy, Rau sam không chỉ được sử dụng làm thức ăn mà còn dùng như một vị thuốc. Trong dân gian, Rau sam làm thuốc chữa bệnh lý trực tràng, giả nát đắp mụn nhọt, làm thuốc lợi tiểu, tẩy giun kim. Trong nghiên cứu này, cao chiết Rau sam được xác định thành phần hoá học và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn. Bằng phương pháp chiết hồi lưu đã thu được 90 g cao ethanol và 30 g cao dichloromethane. Kết quả cho thấy đã xác định được trong cao chiết ethanol và cao dichloromethane của cây Rau sam đều có các nhóm phenolic, alkaloid, flavonoid, coumarin, steroid. Cao chiết ethanol và dichloromethane Rau sam có khả năng kháng khuẩn mạnh, trong đó cao chiết dichloromethane nồng độ 100 mg/mL có khả năng diệt khuẩn tốt nhất. Kết quả nghiên cứu cho thấy tiềm năng của cây Rau sam có thể thay thế kháng sinh trong phòng trị bệnh do vi khuẩn gây ra ở người.
Ngày hoàn thiện: 18/4/2022	
Ngày đăng: 18/4/2022	
TỪ KHÓA	
Rau sam	
Cao chiết ethanol	
Cao chiết dichloromethane	
Hoạt tính sinh học	
Kháng khuẩn	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.5426>

* Corresponding author. Email: khangpv@tnue.edu.vn

ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN VÀ NẤM CỦA HỖN HỢP CAO CHIẾT TỪ KIM NGÂN HOA, HẠT GẮC VÀ TRẦU KHÔNG

Hoàng Phú Hiệp^{1*}, Trần Thị Hồng¹, Từ Quang Trung¹, Đỗ Duy Thắng², Đặng Thị Hoàng Hà², Nguyễn Văn Mạnh³, Phạm Văn Khang^{1,*}

¹ Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên

² Trường Phổ thông IRIS Thái Nguyên

³ Đại học Hạ Long

Email: hiephoangphu@tnue.edu.vn, khangpv@tnue.edu.vn

Tóm tắt

Kim ngân hoa, trầu không và hạt gấc là những thảo dược đã được sử dụng trong các bài thuốc đông y để điều trị các bệnh ngoài da do vi khuẩn và nấm gây nên. Trong nghiên cứu này, cao chiết của Kim ngân hoa, trầu không và hạt gấc được đánh giá hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm. Từ 3kg kim ngân hoa, 5kg lá trầu không, 2kg hạt gấc thu được 200g cao kim ngân, 60g cao trầu không và 220g cao hạt gấc. Kết quả cho thấy cả 3 loại cao chiết đều có tác dụng kháng các loài vi khuẩn kiểm định tốt, khả năng kháng khuẩn phụ thuộc vào nồng độ sử dụng. Trong đó, cao chiết từ hạt gấc có khả năng kháng khuẩn mạnh nhất, tiếp đến là kim ngân hoa và trầu không ở tất cả các nồng độ. So với kháng sinh, khả năng kháng khuẩn của cao chiết của kim ngân, gấc, trầu không là tương đương. Hỗn hợp các loại cao chiết đều có khả năng kháng khuẩn, trong đó nồng độ 50 µg/mL hỗn hợp cao tổng hạt gấc : trầu không : kim ngân (tỉ lệ 5 : 3 : 2) có khả năng kháng khuẩn, kháng nấm tốt nhất so với các nồng độ của từng loại cao chiết và của các loại cao tổng khác.

Từ khóa: hạt gấc, kháng khuẩn, kháng nấm, kim ngân hoa, trầu không.

1. Giới thiệu

Bệnh ngoài da hay còn gọi là bệnh da liễu, đây là những bệnh gây ra do môi trường sống bị ô nhiễm, từ động vật, chế độ ăn uống không hợp lý và một trong những nguyên nhân chính gây nên các bệnh ngoài da thường do vi khuẩn hoặc nấm gây nên. Một số bệnh ngoài da phổ biến ở Việt Nam do vi khuẩn, nấm gây ra như hắc bào, lang ben, nấm kẽ, nấm móng... [1].

Thuốc bôi điều trị ngoài da rất phong phú, đa dạng và có nguồn gốc vô cơ (kim loại, muối kim loại, á kim và các dẫn xuất của chúng như các oxit, axit), hữu cơ (các chất béo, chất thơm, aldehyde, acetone, phenol, axit...), các chất thảo mộc, các chất tổng hợp, bán tổng hợp. Sử dụng thảo dược trong điều trị các bệnh ngoài da đang mang lại nhiều hiệu quả, ít có tác dụng phụ không mong muốn [2].

Từ lâu kim ngân hoa, trầu không và hạt gấc là những thảo dược đã được sử dụng trong các bài thuốc đông y để điều trị các bệnh ngoài da như hắc bào, nấm,... Kim ngân hoa

ĐẶC ĐIỂM TRÌNH TỰ ĐOẠN GEN *matK* VÀ *rbcL* CỦA CÂY VÚ BÒ (*Ficus simplicissima* LOUR.)

Hoàng Phú Hiệp, Vũ Văn Trung, Lục Văn Dương, Nguyễn Thị Thu Hà, Vũ Thị Thu Thủy*, Chu Hoàng Mậu

Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên

TÓM TẮT

Cây Vú bò (*Ficus simplicissima* Lour.) hay còn gọi là Thổ hoàng kỳ, Vú bò sẻ, Vú chó, Vú lợn, Ngải phún, Sung ba thù. *F. simplicissima* là 1 trong khoảng 850 loài thuộc chi Đa đề (*Ficus*). Các bộ phận của cây Vú bò được sử dụng làm thuốc bao gồm rễ, nhựa, thân và lá. Cây Vú bò thường được sử dụng để chữa các bệnh như phong thấp tê bại, ho do lao phế quản, ra mồ hôi trộm, mệt mỏi chân tay, viêm gan, phụ nữ sau sinh không có sữa. Ở Việt Nam, cây được gọi là Vú bò có nhiều loại khác nhau, vì vậy, việc sử dụng mã vạch DNA để hỗ trợ định danh cây Vú bò là cần thiết. Trong nghiên cứu này, trình tự đoạn gen *matK* và *rbcL* của cây Vú bò được xác định. Kết quả cho thấy, đoạn gen *matK* có kích thước 778 nucleotide và đoạn gen *rbcL* có kích thước 602 nucleotide. So sánh hai đoạn gene *matK* và *rbcL* bằng BLAST trên NCBI đã cho thấy độ tương đồng ở mức trên 99% với các trình tự gen *matK* và *rbcL* thuộc chi *Ficus*. Khoảng cách trung bình giữa các mẫu được xác định bằng phần mềm MEGAX là 0,231%. Cây phát sinh chủng loại được xây dựng dựa trên trình tự đoạn gen *matK* và *rbcL* bằng phương pháp Maximum Parsimony với giá trị bootstrap lặp lại 1000 đã cho thấy được sự khác biệt ở mức dưới loài với hệ số bootstrap trong khoảng 46 - 71.

Từ khóa: Cây được liệu, mã vạch DNA, *matK*, *rbcL*, Vú bò.

MỞ ĐẦU

Cây Vú bò hay còn gọi là Thổ hoàng kỳ, Vú bò sẻ, Vú chó, Vú lợn, Ngải phún, Sung ba thù,... thuộc chi Đa đề hay còn gọi là chi Sung (*Ficus*), họ Dâu tằm (Moraceae). Các bộ phận của cây Vú bò được sử dụng làm thuốc bao gồm rễ, nhựa, thân và lá. Các bài thuốc sử dụng nguyên liệu là Vú bò thường chữa phong thấp tê bại, ho do lao phế quản, ra mồ hôi trộm, mệt mỏi chân tay, viêm gan, phụ nữ sau sinh không có sữa [1].... Trên thế giới đã có một số nghiên cứu về chi *Ficus*. Trong nghiên cứu của Lepcha và Shama năm 2021, tác giả đã xác định được 36 trong 115 loài có ở Sikkim, Ấn Độ. Tác giả cũng đã đề cập tới vai trò của chi *Ficus* trong đời sống của người dân trong các lĩnh vực như thảo dược chữa bệnh, thức ăn chăn nuôi,... [2]. Ở Việt Nam, năm 2014, Nguyễn Thị Tâm và cs. nghiên cứu thành công về việc nhân giống *in vitro* cây Vú bò [3]. Vũ Thị Thu Thủy và cs. (2022) cũng đã mô tả xác định và mô tả được các đặc điểm về hình thái, giải phẫu cơ quan dinh dưỡng, xác định khả năng kháng một số vi khuẩn gây bệnh của dịch chiết ethanol từ rễ cây Vú bò [4]. Các nghiên cứu về cây Vú bò cho thấy cây có nhiều loại [1-2]. Vì vậy, việc sử dụng mã vạch DNA để phân loại cây Vú bò là cần thiết. Mã vạch DNA là một đoạn gen ngắn, chuẩn được sử dụng để định danh các loài sinh vật chưa biết bằng phương pháp so sánh với trình tự DNA của ngân hàng gen. Ở thực vật, một số gen đã được sử dụng dùng cho phân loại như gen *matK*, *rbcL*, *rpoB*, *rpoC1*... Trong đó, gen *matK* và *rbcL* là một trong các gen được sử dụng làm mã vạch cho nhiều loài thực vật [5]-[7]... Năm 2009, Kress và dtg đã nghiên cứu sử dụng mã vạch DNA để phân loại 296 loài thuộc cây thân gỗ, thân bụi trên đảo Barro Colorado, Panama. Mười loài *Ficus* đã được xác định quan hệ bằng *matK* và *trnH-psbA* [7]. Bài báo này cung cấp thông tin về đặc điểm trình tự hai đoạn gen *matK* và *rbcL* của loài *Ficus simplicissima* L. thu thập tại Thái Nguyên nhằm bổ sung trình tự gen lực lượng cho mục đích phân loại loài *Ficus*.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu

Lá non của cây Vú bò (*Ficus simplicissima* L.) thu thập tại xã Hùng Sơn, huyện Đại Từ, tỉnh Thái Nguyên được sử dụng làm vật liệu nghiên cứu. Mẫu cây đã được xác định và mô tả được các đặc điểm về hình thái, giải phẫu theo nghiên cứu theo nghiên cứu trước đây của Vũ Thị Thu Thủy và cs. [4].

Tách chiết DNA

Tách chiết và tinh sạch DNA tổng số bằng phương pháp CTAB theo Saghai-Marroof và cs. (1984) [8]. Các bước cơ bản gồm: Rửa sạch lá non (dạng bánh tẻ) bằng nước cất; Nghiền khoảng 50-100 mg lá cho đến dạng bột mịn trong nitrogen lỏng, bổ sung 600 µL dung dịch CTAB 2X đã ủ ở 65°C, đảo đều. Thu dịch và tiếp tục ủ dịch ở 65°C trong 1 giờ. Thêm 100 µL dung dịch Chloroform: Isoamyl alcohol, lắc mạnh, ly tâm 13,000 vòng trong 5 phút. Hút 500 µL dịch trong phía trên chuyển sang ống Eppendorf mới, thêm 500 µL dung dịch Isopropanol đảo nhẹ, ủ ở nhiệt độ

NGHIÊN CỨU MÔI TRƯỜNG NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY BẦU NÂU (*Aegle marmelos* (L.) CORREA)

Hoàng Phú Hiệp^{1*}, Salackchalpeth Singkonekammavong², Phonephet Kongmany²,
Trần Thị Hồng¹, Từ Quang Trung¹

¹Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên

²Trường Đại học Champasak, tỉnh Champasak, Cộng hoà Dân chủ nhân dân Lào

TÓM TẮT

Cây Bầu nâu (*Aegle marmelos* (L.) CORREA) là một loại thức ăn phổ biến tại một số nước Đông Nam Á, cây cũng được biết tới như dược liệu từ hàng trăm năm qua ở khắp nơi trên thế giới. Tất cả những bộ phận thân, vỏ, rễ, lá và quả cây Bầu nâu đều được sử dụng trong y học cổ truyền để hỗ trợ điều trị các bệnh: bệnh tiểu đường, nhiễm trùng mắt, bệnh táo bón, rối loạn hô hấp, viêm khớp. Nghiên cứu này đã xác định được các môi trường phù hợp cho quá trình nhân nhanh *in vitro* cây Bầu nâu. Hạt cây Bầu nâu được sử dụng làm mẫu cấy. Môi trường MS được sử dụng làm môi trường cơ bản. Hạt được khử trùng bằng HgCl₂ 0,1% trong 13 phút cho hiệu quả khử trùng cao, tỉ lệ hạt nảy mầm đạt 89,61%. Cây phát triển tốt và tạo đa chồi ở môi trường MS cơ bản có bổ sung tổ hợp nhóm auxin và cytokinin (IBA 0,5 mg/L + Kinetin 1,0 mg/L), chồi cao đạt 4,19 chồi, chiều cao chồi là 1,34 cm. Chồi sinh trưởng tốt: Chồi mập, lá to màu xanh đậm. Môi trường MS cơ bản bổ sung GA3 0,5 mg/L phù hợp cho kéo dài chồi, số chồi/mẫu là 1,35 chồi và chiều cao chồi là 2,87 cm. Ở môi trường MS cơ bản có bổ sung IAA 1,0 mg/L cây cho rễ phát triển mạnh với số rễ/mẫu đạt 0,60 rễ/mẫu và chiều dài rễ đạt 0,90 cm.

Từ khóa: Cây Bầu nâu, GA3, IAA, IBA, kinetin, nhân giống *in vitro*.

MỞ ĐẦU

Cây Bầu nâu (*Aegle marmelos* (L.) CORREA) thường được gọi ở Ấn Độ là Bael (Bilva hoặc Bhel), cũng được gọi là trái mộc qua ở Bengale, táo vàng pomme d'or,... Cây Bầu nâu mọc nhiều ở các nước Ấn Độ, Thái Lan, Lào... sống ở nơi khô ráo và có khả năng chịu đựng tốt với sự biến đổi của thời tiết. Cây Bầu nâu được xác định có chứa một số thành phần chủ yếu là marmenol, marmelin, marmelosin, marmelide, psoralen, alloimperatorin, rutaretin, scopoletin, aegelin, marmelin, fagarine, anhydromarmelin, limonene, α -phellandrene, axit betulinic, marmesin, imperatorin, marmelosin, luvangentin và auroptene [1], [2]. Ngoài ra còn có các thành phần khác như tanin (0,985%), riboflavin (0,005%), các axit hữu cơ (oxalic, tartaric, axit malic, axit ascorbic),.... và nhiều chất khác [3]. Theo báo cáo của Atul năm 2012, cây Bầu nâu chứa nhiều thành phần như alkaloid, terpenoid, coumarin, phenylpropanoid, tanin, polysaccharide, flavonoid [4]. Trong đó nhóm alkaloid là nhóm nhiều hợp chất thứ cấp nhất trong cây bao gồm ethyl cinnamamide, halforsdinol,... Tất cả những bộ phận thân, vỏ, rễ, lá và quả cây Bầu nâu đều được sử dụng trong y học cụ thể hỗ trợ điều trị các bệnh: bệnh tiểu đường, nhiễm trùng mắt, bệnh táo bón, rối loạn hô hấp, viêm khớp,... [5].

Bầu nâu là một trong những vị thuốc quan trọng trong y học truyền thống của người Ấn Độ. Vì vậy, Bầu nâu là một trong những đối tượng nghiên cứu từ rất lâu của các nhà khoa học Ấn Độ. Năm 1981, Arya và cộng sự đã nghiên cứu hình thành và phát triển của mô sẹo cây Bầu nâu trên môi trường MS cơ bản có bổ sung kích thích sinh trưởng. Từ các tế bào mô mềm và vỏ thân cây, mô sẹo được tạo thành. Các chồi được duy trì và phát triển trong môi trường MS có bổ sung kinetin nồng độ từ 2,5-5,0 mg/L và NAA nồng độ 0-0,5 mg/L [6]. Sử dụng môi trường MS cơ bản bổ sung 2,5 mg/L BAP và 1,0 mg/L IAA, Ajithkumar và cộng sự đã tái sinh chồi cây Bầu nâu sau 7 tuần nuôi cấy. Tiếp theo các chồi được cấy trên môi trường MS bổ sung 0,5 mg/L IAA hoặc 10 mg/L IBA để tạo rễ, tỷ lệ tạo ra rễ là 80% [7]. Thông thường từ các đoạn thân sẽ được sử dụng làm mẫu nghiên cứu để tạo chồi, lá được sử dụng tạo mô sẹo do chồi nách là một trong những phần tái sinh tốt nhất của cây, bên cạnh đó chồi nách được bao phủ nên không bị ảnh hưởng của các chất độc trong quá trình khử trùng bề mặt. Trong các chất kích thích sinh trưởng, BAP nồng độ 2 mg/L cho kết quả tạo chồi tốt nhất. Nếu kết hợp IAA với BAP sẽ làm tăng sự tạo đa chồi. Còn để hình thành mô sẹo thường kết hợp nhiều kích thích sinh trưởng auxin và cytokinin [8].

Ngoài những giá trị về y học, cây Bầu nâu được biết tới là một nguyên liệu quan trọng trong chế biến thực phẩm công nghiệp và là nguồn nguyên liệu để chiết xuất nhiều hợp chất thảo dược được sử dụng trong nhiều lĩnh vực [9]. Do vừa là dược liệu, vừa là nguyên liệu cho chế biến thực phẩm cho nên hiện nay, nhu cầu nguồn nguyên liệu về cây Bầu nâu đang ngày càng tăng cao. Chính vì vậy, để tạo ra nguồn giống đáp ứng được nhu cầu của người dân về nguồn giống cây Bầu nâu cần áp dụng các phương pháp nhân giống mới như công nghệ nuôi cấy *in vitro*. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu ứng dụng nuôi cấy mô tế bào thực vật để nhân

CHARACTERIZATION OF *atpB-rbcL* AND *trnL* DNA SEQUENCES OF *Hoya lockii*Hoang Phu Hiep^{1*}, Duong Thi Bich Huong², Tu Quang Trung¹, Tran Thi Hong¹¹TNU - University of Education, ²King Mongkut's University of Technology Thonburi

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 31/8/2022	<i>Hoya lockii</i> is endemic to Viet Nam and currently endangered. <i>Hoya lockii</i> is one of the plants used as ornamental plants as well as medicinal plants. The classification of plants is usually based on morphological characteristics and DNA barcodings such as <i>matK</i> , <i>ITS</i> , <i>rpoC1</i> ,... Molecular characteristics are necessary for studying the molecular taxonomy of each species. Therefore, additional molecular sequences are needed to find the most specific markers for each species. In this study, the gene sequences <i>atpB-rbcL</i> and <i>trnL</i> in chloroplasts were isolated from samples of <i>Hoya lockii</i> . The obtained <i>atpB-rbcL</i> gene sequence has a size of 713 nucleotides and the <i>trnL</i> gene has a size of 524 nucleotides. Sequences with high similarity when analyzed by Blast with sequences of the same genus have been published. Both amplified DNA of the two regions <i>rbcL</i> and <i>trnL</i> were used to construct the phylogenetic tree.
Revised: 04/11/2022	
Published: 23/11/2022	
KEYWORDS	
<i>Hoya lockii</i>	
DNA barcoding	
<i>atpB-rbcL</i> gene	
<i>trnL</i> gene	
Classification	

ĐẶC ĐIỂM TRÌNH TỰ GEN *atpB-rbcL* VÀ *trnL* CỦA CẨM CÙ LỘC (*Hoya lockii*)Hoàng Phú Hiệp^{1*}, Dương Thị Bích Hương², Từ Quang Trung¹, Trần Thị Hồng¹¹Trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên²Trường Đại học Công nghệ Thonburi của King Mongkut

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 31/8/2022	Cẩm cù lộc là loài đặc hữu của Việt Nam và hiện đang có nguy cơ tuyệt chủng. Cẩm cù lộc là một trong những loài được sử dụng làm cây cảnh cũng như cây dược liệu. Việc phân loại thực vật hiện nay thường được dựa trên đặc điểm hình thái và DNA barcoding như <i>matK</i> , <i>ITS</i> , <i>rpoC1</i> ,... Các đặc điểm phân tử là cần thiết cho việc nghiên cứu phân loại phân tử của từng loài; vì vậy, cần phải bổ sung các trình tự phân tử để tìm ra những marker đặc trưng nhất cho từng loài. Trong nghiên cứu này, trình tự gen <i>atpB-rbcL</i> và <i>trnL</i> trong lục lạp đã được phân lập từ mẫu cây Cẩm cù lộc. Trình tự gen <i>atpB-rbcL</i> thu được có kích thước 713 nucleotide và gen <i>trnL</i> có kích thước 524 nucleotide. Các trình tự có độ tương đồng cao với các trình tự cùng chi đã được công bố. Cả hai vùng <i>atpB-rbcL</i> và <i>trnL</i> được sử dụng để xây dựng cây phát sinh loài.
Ngày hoàn thiện: 04/11/2022	
Ngày đăng: 23/11/2022	
TỪ KHÓA	
Cẩm cù lộc	
DNA barcoding	
Gen <i>rbcL</i>	
Gen <i>trnL</i>	
Phân loại	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.6410>* Corresponding author. Email: hiephoangphu@tnue.edu.vn

1. Giới thiệu

Từ khi được phát hiện vào năm 2012 đến nay [1], Cẩm cù lộc (*Hoya lockii*) là loài đặc hữu của Việt Nam và hiện đang có nguy cơ tuyệt chủng. Cẩm cù lộc là một trong những loài được sử dụng làm cây cảnh. Hoa Cẩm cù lộc có dạng khối cầu tròn, có mùi thơm dễ chịu và được nhiều người yêu thích. Cẩm cù lộc được coi là loài đặc hữu của Việt Nam với tình trạng bảo tồn được đề nghị xem xét là rất nguy cấp (CR) (theo hướng dẫn các hạng mục Danh lục đỏ của IUCN phiên bản 8.1.2010). Loài Cẩm cù lộc có hình dạng tương đối giống với loài Cẩm cù tên lửa (*Hoya multifolia*), sự khác nhau cơ bản nhất giữa 2 loài là màu sắc hoa. Vì vậy, để phân biệt loài Cẩm cù lộc với Cẩm cù tên lửa nói riêng và các loài Cẩm cù khác nói chung cần áp dụng thêm phương pháp phân tích mã vạch DNA.

Hiện nay, có nhiều loại DNA barcoding được sử dụng để phân loại phân tử như ITS, matK, rpoCl,... [2]. Hai trình tự gen *rbcL* và matK là một trong những DNA barcoding tiêu chuẩn đang được sử dụng cho tất cả các loại cây trồng [3]. Đã có nhiều nghiên cứu kết hợp trình tự gen *rbcL* và các trình tự mã vạch khác để phân loại phân tử [4]–[6]. Ở Việt Nam, đã có nhiều nhóm nghiên cứu sử dụng gen *rbcL* và *trnL* để đánh giá đặc điểm di truyền của một số loài như Sơn đào [6], Bách bộ [7], Balsams [8]. Từ 2012 đến nay, các trình tự DNA barcoding cây Cẩm cù lộc được công bố tương đối ít, trên Genbank chỉ có 3 trình tự gen của loài Cẩm cù lộc là *ITS1* (JQ823005), *psbA-trnH* (JQ823000), *matK* (JQ823006). Trong nghiên cứu này, đặc điểm trình tự đoạn gen *atpB-rbcL* và *trnL-UUA* của cây Cẩm cù lộc đã được xác định và sử dụng nhằm bổ sung trình tự gen lục lạp cho mục đích phân loại loài.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

Mẫu cây Cẩm cù lộc do phòng Công nghệ tế bào thực vật, khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm – Đại học Thái nguyên cung cấp.

Cặp môi sử dụng trong nghiên cứu

Cặp môi được sử dụng để nhân bản đoạn gen đích là *trnL* và *rbcL*, trình tự và thông tin về cặp môi được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Trình tự môi nghiên cứu

Tên môi	Trình tự môi	Nhiệt độ gắn môi	Kích thước dự kiến	Tham khảo
<i>trnL</i> -F	5'- CGAAATCGGTAGACGCTACG -3'	54°C	700 bp	Taberlet và cộng sự (1991) [9]
<i>trnL</i> -R	5'- GGGGATAGAGGGACTTGAAC -3'			
<i>atpB</i>	5'- ACATCTAGTACCGGACCAATGA-3'	50°C	500 bp	Janssens và cộng sự (2006) [10]
<i>rbcL</i>	5'- AACACCAGCTTTGAATCCAA-3'			

Phương pháp

Tách chiết DNA tổng số

DNA tổng số được tách chiết từ mô lá non tươi theo quy trình của kit DNeasy Plant Mini Kit hãng QiaGen.

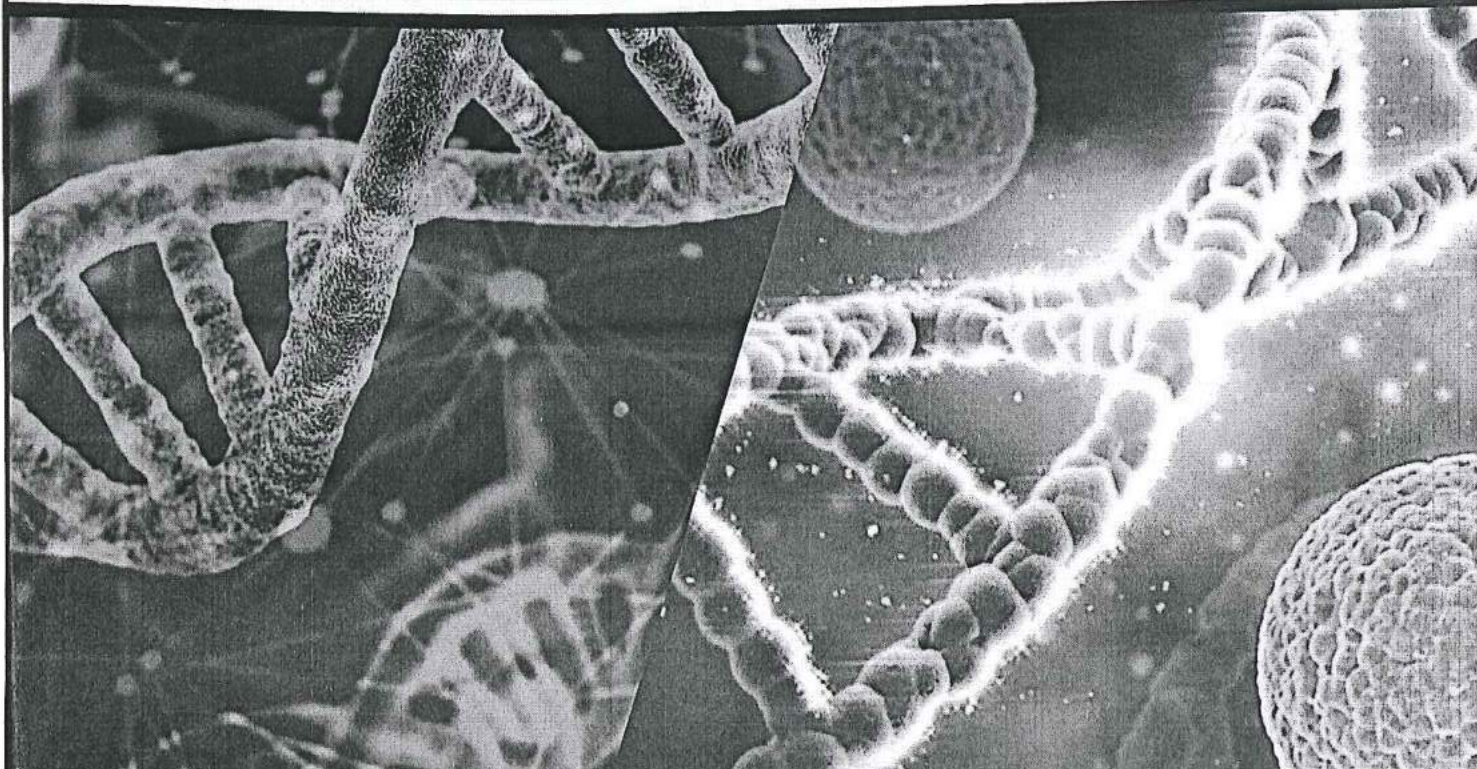
Kiểm tra sản phẩm DNA sau tách chiết

DNA tổng số của mẫu sau khi tách chiết được điện di trên gel agarose 1%, trong đệm TBE 1X, ở hiệu điện thế 90V. Nồng độ và độ tinh sạch của DNA tổng số được kiểm tra qua phương pháp đo quang phổ hấp phụ ở bước sóng 260 và 280 nm. Pha loãng 100 lần (5μl mẫu + 450 μl nước), mỗi mẫu đo ba lần và giá trị trung bình của ba lần đo được lấy làm kết quả cuối cùng. Độ tinh sạch của mẫu thể hiện qua thông số A260/280 (1,6-2,0 được coi là mẫu tinh sạch).

Nhân gen bằng kỹ thuật PCR và kiểm tra DNA trên gel agarose

Phản ứng PCR được tiến hành với cặp môi đặc hiệu trong 25 μl bao gồm: master mix (2X- Thermo Fisher Scientific) – 12,5 μl, mỗi xuôi (10 pmol/μl) – 1,0 μl, mỗi ngược (10 pmol/μl) – 1,0 μl, DNA khuôn (10 ng/μl) – 0,5 μl, H₂O – 10 μl. Chu trình nhiệt cho gen *trnL*: 94°C/4 phút; lặp lại 35 chu kì với (94°C/30 giây, 54°C/40 giây, 72°C/40 giây); 72°C/10 phút và giữ ở 4°C. Chu trình

TS. HOÀNG PHÚ HIỆP (Chủ biên), TS. TỬ QUANG TRUNG



GIÁO TRÌNH CÔNG NGHỆ TẾ BÀO



NHÀ XUẤT BẢN HÀ NỘI