

## MORPHOLOGICAL, ANATOMICAL, AND THE *rbcL* GENE SEQUENCE CHARACTERISTICS OF *Adinandra glischroloma*

Pho Thi Thuy Hang<sup>1,2</sup>, Nguyen Thi Thu Nga<sup>1</sup>, Nguyen Huu Quan<sup>1\*</sup>, Sy Danh Thuong<sup>1</sup>, Chu Hoang Mau<sup>1</sup>

<sup>1</sup>TNU - University of Education

<sup>2</sup>TNU - University of Medicine and Pharmacy

| ARTICLE INFO                                                                                                                                     | ABSTRACT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><b>Received:</b> 17/7/2023</p> <p><b>Revised:</b> 30/8/2023</p> <p><b>Published:</b> 13/9/2023</p>                                            | <p><i>Adinandra glischroloma</i> collected from Lao Cai province, Vietnam, belongs to the <i>Adinandra</i> genus, and was used as the research material. In the previous study, the chemical composition and biological activity of the extracts from the stem of <i>A. glischroloma</i> were proven to contain substances such as polyphenols, flavonoids, and coumarins and not have the ability to inhibit the tested bacteria; however, they have antioxidant activity and inhibit breast, lung and stomach cancer cell lines. In this study, the morphological and anatomical characteristics of leaves and stems of <i>A. glischroloma</i> were described; at the same time, the <i>rbcL</i> gene region was isolated, sequenced and analyzed for molecular evolution. The results of isolation and sequencing showed that the <i>rbcL</i> gene of <i>A. glischroloma</i> was 602 bp in size. The phylogenetic tree built based on 14 <i>rbcL</i> gene sequences showed that the species were distributed in 3 groups, and <i>A. glischroloma</i> was distributed in the same group as the species of the <i>Adinandra</i> genus. The <i>rbcL</i> gene sequence could be a potential chloroplast DNA barcoding candidate to recognize species of the <i>Adinandra</i> genus.</p> |
| <p><b>KEYWORDS</b></p> <p>Morphological</p> <p>Anatomy</p> <p><i>rbcL</i> gene</p> <p>Phylogenetic tree</p> <p><i>Adinandra glischroloma</i></p> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

## ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI, GIẢI PHẪU VÀ TRÌNH TỰ GEN *rbcL* CỦA LOÀI SUM LÔNG (*Adinandra glischroloma*)

Phó Thị Thúy Hằng<sup>1,2</sup>, Nguyễn Thị Thu Nga<sup>1</sup>, Nguyễn Hữu Quân<sup>1\*</sup>, Sỹ Danh Thường<sup>1</sup>, Chu Hoàng Mậu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Sư phạm - ĐHTH Thái Nguyên,

<sup>2</sup>Trường Đại học Y Dược - ĐHTH Thái Nguyên

| THÔNG TIN BÀI BÁO                                                                                                                  | TÓM TẮT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><b>Ngày nhận bài:</b> 17/7/2023</p> <p><b>Ngày hoàn thiện:</b> 30/8/2023</p> <p><b>Ngày đăng:</b> 13/9/2023</p>                 | <p>Loài Sum lông (<i>Adinandra glischroloma</i> Hand.-Mazz. var. <i>hirta</i> (Gagnep.) Kobuski) thuộc chi Dương đồng thu tại Lào Cai, Việt Nam được sử dụng làm vật liệu nghiên cứu. Trong nghiên cứu trước, thành phần hóa học, hoạt tính sinh học của cao chiết từ thân của loài Sum lông đã được chứng minh chứa nhóm chất polyphenol, flavonoid, coumarin và không có khả năng ức chế vi khuẩn kiểm định. Tuy nhiên, chúng lại có hoạt tính chống oxy hóa và ức chế các dòng tế bào ung thư vú, phổi và dạ dày. Trong nghiên cứu này, đặc điểm hình thái và giải phẫu hiển vi lá, thân của loài Sum lông đã được mô tả; đồng thời vùng gen <i>rbcL</i> đã được phân lập, giải trình tự và phân tích sự tiến hóa phân tử. Kết quả phân lập và giải trình tự cho thấy, gen <i>rbcL</i> của loài Sum lông có kích thước 602 bp. Cây phát sinh gen được xây dựng dựa trên 14 trình tự gen <i>rbcL</i> cho thấy các loài phân bố thành 3 nhóm và loài Sum lông phân bố cùng nhóm với các loài thuộc chi <i>Adinandra</i>. Trình tự gen <i>rbcL</i> có thể là ứng cử viên mã vạch DNA lục lạp tiềm năng để nhận biết các loài thuộc chi Dương đồng.</p> |
| <p><b>TỪ KHÓA</b></p> <p>Hình thái;</p> <p>Giải phẫu;</p> <p>Gen <i>rbcL</i>;</p> <p>Cây phát sinh chủng loại;</p> <p>Sum lông</p> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.8344>

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

## 1. Giới thiệu

Chi Dương đồng (*Adinandra*) hay còn gọi là chi Sum, thuộc Họ Chè (Theaceae) thường là cây bụi hay cây gỗ nhỏ, có khoảng gần 100 loài phân bố ở các khu vực Châu Phi, Trung Quốc, Nhật Bản, Ấn độ, Srilanka, Banglades và Đông Nam Á (trong đó có Việt Nam) [1]. Ở Việt Nam, chi Dương đồng có khoảng 17 loài phân bố ở các tỉnh miền núi phía Bắc (Lào Cai, Cao Bằng, Hà Giang, Vĩnh Phúc), Quảng Ninh, Quảng Trị, Kon Tum, Lâm Đồng, Gia Lai [2]. Ở Trung Quốc, các nghiên cứu về phân lập, xác định cấu trúc hóa học và hoạt tính sinh học của các chất mới, chất tinh khiết từ các loài *Adinandra nitida*, *Adinandra millettii* và *Adinandra latifolia* đã được công bố [3]-[5]. Ở Việt Nam, những nghiên cứu bước đầu về một số loài thuộc chi Dương đồng theo hướng xác định đặc điểm thực vật học, thành phần hóa học, hoạt tính sinh học của cao chiết, các chất sạch phân lập được, cũng như giải trình tự hệ gen lục lạp đã được thực hiện ở một số loài như loài *Adinandra megaphylla*, *Adinandra bockiana*, *Adinandra lienii* [6]-[14]; loài *Adinandra hainanensis*, *Adinandra poilanei* [15], [16].

Loài Sum lông hay còn gọi là Hồng đam lông, có tên khoa học là *Adinandra glischroloma* Hand.-Mazz. var. *hirta* (Gagnep.) phân bố ở tỉnh Lào Cai bước đầu được chúng tôi thu cao chiết, định tính thành phần các chất có trong cao chiết, thử hoạt tính kháng khuẩn, chống oxy hóa và ức chế một số dòng tế bào ung thư từ cao chiết [17]. Để có thêm các thông tin sâu và đầy đủ về loài Sum lông, công trình nghiên cứu này được chúng tôi tiếp tục thực hiện nhằm mô tả đặc điểm hình thái, giải phẫu một số bộ phận của cây, cũng như phân tích thông tin về gen *rbcL* trong hệ gen lục lạp của loài Sum lông. Kết quả của nghiên cứu góp phần cung cấp thêm dữ liệu về loài Sum lông, thuộc chi Dương đồng phục vụ cho các nghiên cứu tiếp theo.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu

Loài Sum lông (*Adinandra glischroloma*) sử dụng trong nghiên cứu được thu tại Khu bảo tồn thiên nhiên Bát Sát, thuộc xã Y Tý, huyện Bát Xát, tỉnh Lào Cai, Việt Nam ở độ cao 1844 m, tọa độ 22°37'35"N, 103° 37'42"E 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

**Nghiên cứu đặc điểm hình thái:** Hình thái của loài Sum lông sau khi thu thập được đưa về Phòng thí nghiệm Thực vật học, thuộc Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên để ép khô, làm tiêu bản, xác định tên khoa học, mô tả đặc điểm các bộ phận của cây. Tên khoa học, cũng như việc mô tả các bộ phận của loài Sum lông được xác định bằng phương pháp hình thái so sánh theo các tài liệu của Phạm Hoàng Hộ (2003) [2], Nguyễn Tiến Bân (2013) [18] và website <http://www.tropocos.org> để tra cứu mẫu.

**Nghiên cứu giải phẫu hiển vi:** Thân và lá của loài Sum lông được tiến hành giải phẫu hiển vi theo phương pháp của Nguyễn Bá (2014) [19]. Mẫu thân và lá được cắt thành những lát mỏng, sau đó tiến hành nhuộm kép và quan sát, chụp ảnh mẫu vật trên kính hiển vi quang học kết nối với phần mềm Microscope Manager ở độ phóng đại 10x và 40x.

**Phân lập gen *rbcL* và giải trình tự:**

DNA tổng số được tách chiết từ lá non của loài Sum lông bằng phương pháp CTAB theo Shanghai và cộng sự (1984) [20]. DNA tổng số sau khi tách chiết được điện di kiểm tra trên gel agarose 0,8% và đo phổ hấp thụ ở bước sóng 260 nm. Khuếch đại gen *rbcL* từ DNA tổng số bằng phản ứng PCR sử dụng cặp mồi đặc hiệu *rbcL*-F/*rbcL*-R được tổng hợp theo Kress và cộng sự (2005) [21]. Kích thước cặp mồi và trình tự đoạn gen *rbcL* khuếch đại mong muốn được mô tả theo bảng 1.

**Bảng 1.** Thông tin về cặp mồi nhân gen *rbcL* sử dụng trong nghiên cứu

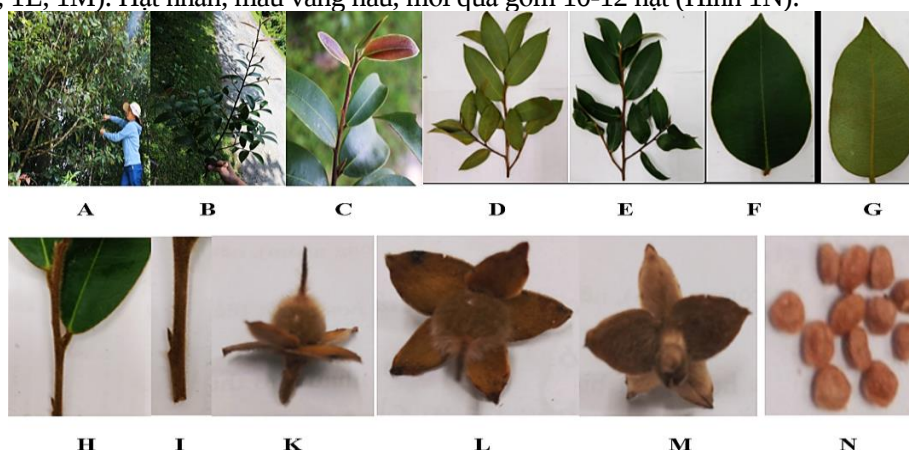
| Tên mồi       | Trình tự mồi (5'→3')        | Nhiệt độ gắn mồi | Kích thước đoạn gen dự kiến |
|---------------|-----------------------------|------------------|-----------------------------|
| <i>rbcL-F</i> | ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC  | 56°C             | ~ 600 bp                    |
| <i>rbcL-R</i> | CTTCTGCTACAAATAAGAATCGATCTC |                  |                             |

Hỗn hợp phản ứng PCR (tổng thể tích 25 µl) gồm 12,5 µl master mix (2X); 0,5 µl mồi mỗi loại (10 pmol/µl); 1,0 µl DNA khuôn (10 ng/µl) và 9,5 µl nước đề ion. Phản ứng được thực hiện theo chương trình: 95°C trong 5 phút, 35 chu kỳ (biến tính ở 95°C trong 30 giây, gắn mồi ở 56°C trong 30 giây, kéo dài chuỗi ở 72°C trong 60 giây); sau 35 chu kỳ là bước kết thúc ở 72°C trong 5 phút, lưu giữ ở 4°C trong 2 phút. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1,0% và được tinh sạch bằng bộ Kit QiAquick Gel Extraction (Qiagen, Đức). Trình tự DNA được giải trình tự bằng máy phân tích trình tự tự động ABI PRISM 3500 XL (Applied Biosystems, Mỹ) theo nguyên lý của Sanger với bộ kit BigDye terminator cyclor v3.1. Trình tự nucleotide của gen *rbcL* được so sánh với các trình tự đã có trên GenBank bằng phần mềm BLAST trong NCBI và phần mềm BioEdit [22]. Cây phát sinh chủng loại được xây dựng dựa trên trình tự nucleotide của gen *rbcL* bằng phương pháp Maximum Likelihood với giá trị bootstrap được lặp lại 1000 lần nhờ phần mềm MEGAX [23].

### 3. Kết quả và thảo luận

#### 3.1. Đặc điểm hình thái của loài Sum lông

Loài Sum lông thuộc nhóm cây bụi hoặc thân gỗ, cao 3-8 m (Hình 1A). Chồi khi còn non có nhiều lông màu vàng. Cành non có màu nâu xám, các cành nhỏ có màu vàng nâu hoặc màu lông nhung (Hình 1B, 1C, 1I). Cuống lá dày, chiều dài của cuống khoảng 8-10 mm, có nhiều lông (Hình 1H). Phiến lá dày, hình elip thuôn dài kích thước 8-13×2,5-4,5 cm (Hình 1D, 1E); mặt dưới của lá có nhiều lông, màu xanh lục hơi vàng hoặc nâu vàng đến gần đen với các lông màu vàng nhô ra ngoài rìa (Hình 1F); mặt trên của lá có màu xanh đậm, hơi bóng và không có lông (Hình 1G); gân phụ có từ 10-12 đôi ở mỗi mặt của gân giữa và dễ thấy trên cả hai mặt (Hình 1D, 1E). Hoa mọc ở nách lá, có 2 hay 3 chùm, ít khi mọc đơn độc; cuống nhỏ từ 0,6-1,5 cm thường uốn cong, rậm rạp; lá bắc có nhiều lông; đài hoa dày, hình trứng có kích thước 5-14 mm, đỉnh hình chóp nhọn. Tràng hoa 5, màu trắng, không lông, thuôn dài khoảng 8-15×4-6 mm. Nhụy có nhiều lông, noãn sào và có nhiều lông dài (Hình 1A). Quả khi chín có màu đen, hình cầu với kích thước từ 0,8-1,3 cm, quả đóng (không tự mở) (Hình 1K, 1L, 1M). Hạt nhẵn, màu vàng nâu, mỗi quả gồm 10-12 hạt (Hình 1N).

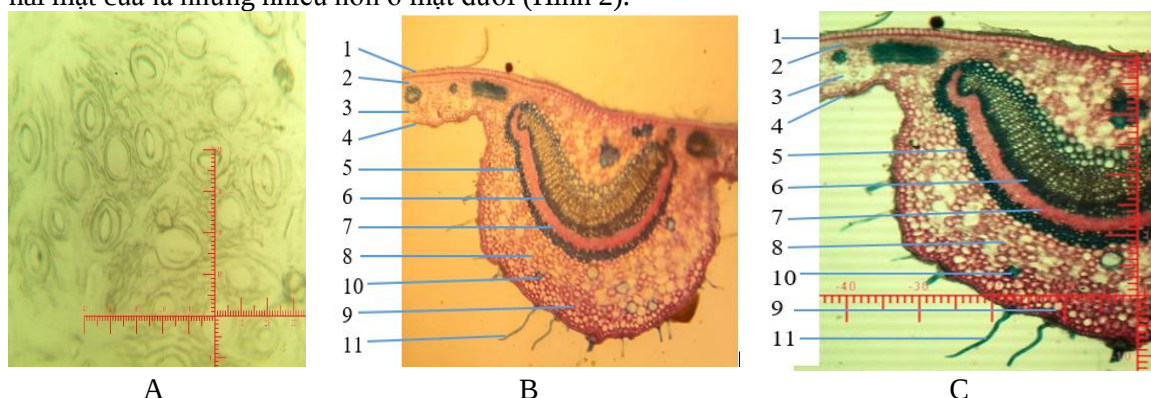
**Hình 1.** Đặc điểm hình thái của loài Sum lông

A - Cây Sum lông (trong quá trình thu hái mẫu); B - Cành mang chồi; C - Chồi non; D - Cành chụp mặt sau của lá; E - Cành chụp mặt trước của lá; F - Lá chụp mặt trước; G - Lá chụp mặt sau; H - Cuống mang lá và chồi; I - Cuống mang chồi; K, L, M - Quả; N - Hạt

### 3.2. Đặc điểm giải phẫu loài Sum lông

#### 3.2.1. Giải phẫu lá

Giải phẫu cắt ngang lá của loài Sum lông từ ngoài vào trong gồm các phần: (1) Lớp biểu bì trên là những tế bào hình chữ nhật, không có lục lạp; vách tế bào biểu bì có tầng cutin dày giúp bảo vệ lá và giảm sự thoát hơi nước, có chứa lỗ khí. (2) Lớp mô giậu nằm tiếp với biểu bì trên gồm một đến nhiều lớp tế bào hình chữ nhật dài, xếp sát nhau chứa lại các khoảng gian bào rất nhỏ, các tế bào chứa nhiều lục lạp thích nghi với quá trình quang hợp. (3) Lớp mô xốp nằm dưới mô giậu và tiếp với biểu bì dưới, gồm 4-5 lớp tế bào đa giác cạnh tròn, không đều, sắp xếp rời rạc tạo nên nhiều khoảng trống chứa khí, thực hiện chức năng trao đổi khí giữa cây với môi trường. (4) Lớp biểu bì dưới là các tế bào hình chữ nhật xếp sát nhau, không chứa lục lạp nhưng tầng cutin ở biểu bì dưới mỏng hơn so với biểu bì trên, có nhiều lỗ khí hơn. (5) Vòng mô cứng là các tế bào có màng dày hóa gỗ, bắt màu xanh của thuốc nhuộm xanh methylen; các tế bào rất khác nhau về hình dạng, cấu tạo và tính chất (khi trưởng thành, nội chất tiêu biến, gồm những tế bào chết; các tế bào tập trung thành từng đám mô cứng xếp gần như liên tục tạo thành một vòng, đảm nhiệm chức năng cơ học). (6) Phần gỗ gồm 8-9 lớp tế bào chết, bắt màu xanh của thuốc nhuộm xanh methylen, có kích thước khác nhau, nằm phía trong libe tạo nên bó xếp chõng. (7) Phần libe gồm các tế bào sống, bắt màu hồng của thuốc nhuộm cacmin, có hình đa giác, nhỏ, xếp xít nhau tạo thành một vòng liên tục. (8) Lớp mô mềm gồm các tế bào tròn cạnh, càng đi vào phần giữa tế bào càng lớn hơn. (9) Lớp mô dày gồm các tế bào sống có vách hóa dày không đều, hình tròn hoặc hình trứng, tế bào dài ra khi cây phát triển; có chức năng nâng đỡ. (10) Tinh thể canxi oxalate được hình thành trong tế bào mô mềm, tinh thể thường lấp đầy toàn bộ tế bào, thậm chí còn làm biến dạng tế bào; bắt màu xanh của thuốc nhuộm xanh methylen. (11) Lông phân bố ở cả hai mặt của lá nhưng nhiều hơn ở mặt dưới (Hình 2).



**Hình 2.** Giải phẫu cắt ngang lá của loài Sum lông

A - Cấu tạo của khí khổng ở độ phóng đại 40x; B - Các phần của giải phẫu lá ở độ phóng đại 10x;

C - Các phần của giải phẫu lá ở độ phóng đại 40x

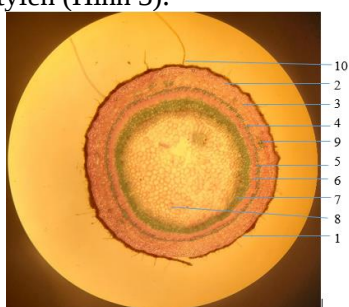
(1). Biểu bì trên; (2). Mô giậu; (3). Mô xốp; (4). Biểu bì dưới; (5). Vòng mô cứng; (6). Gỗ; (7). Libe;

(8). Mô mềm; (9). Mô dày; (10). Tinh thể canxi oxalat; (11). Lông

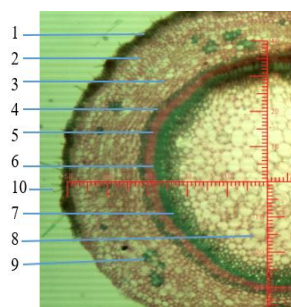
#### 3.2.2. Giải phẫu thân

Giải phẫu thân của loài Sum lông từ ngoài vào trong gồm các phần: (1) Lớp biểu bì gồm một lớp tế bào sống hơi kéo dài, không chứa diệp lục, thực hiện chức năng bảo vệ. (2) Lớp mô dày nằm sát biểu bì, gồm các tế bào sống có vách hóa dày không đều, hình tròn hoặc hình trứng, tế bào dài ra khi cây phát triển giúp nâng đỡ và bảo vệ cho cây. (3) Lớp mô mềm vỏ nằm phía trong mô dày, gồm các tế bào có kích thước lớn, sắp xếp tạo các khoảng trống gian bào khá lớn; mô mềm vỏ có chứa diệp lục tạo nên màu lục của thân non, chứa tinh bột, protein, lipid. (4) Vòng mô cứng là các tế bào có màng dày hóa gỗ, bắt màu xanh của thuốc nhuộm xanh methylen; các tế bào rất khác nhau về hình dạng, cấu tạo và tính chất (khi trưởng thành, nội chất tiêu biến, gồm

những tế bào chết); các tế bào tập trung thành từng đám mô cứng xếp gần như liên tục tạo thành một vòng, đảm nhiệm chức năng cơ học. (5) Libe được hình thành từ lớp tế bào ngoài của tầng phát sinh, tế bào hình đa giác, xếp sát nhau, bắt màu hồng của thuốc nhuộm carmine, có màng mỏng; các tế bào libe phân hóa hướng tâm. (6) Tầng phát sinh gồm các tế bào sống, có hình chữ nhật hơi dài (các tế bào của tầng phát sinh trụ phân chia theo hướng tiếp tuyến trong cho gỗ thứ cấp và phân chia theo hướng tiếp tuyến ngoài cho libe thứ cấp). (7) Phần Gỗ được hình thành ở phía trong tầng phát sinh trụ và tạo thành vòng liên tục, gồm 5-6 lớp tế bào chết, bắt màu xanh của thuốc nhuộm xanh methylen; hệ dẫn của thân gồm gỗ và libe phát triển thành vòng liên tục, phần gỗ phát triển với nhiều mạch gỗ và mô mềm gỗ, mạch có hình đa giác xen lẫn với các tế bào mô mềm gỗ bao quanh (đang mô mềm quanh mạch); mạch gỗ có kích thước lớn với đường kính khoảng 12µm. (8) Phần mô mềm ruột nằm ở phần giữa thân gồm các tế bào hình đa giác có kích thước khác nhau. (9) Tinh thể canxi oxalate được hình thành trong tế bào mô mềm, tinh thể thường lấp đầy toàn bộ tế bào, thậm chí còn làm biến dạng tế bào, bắt màu xanh của thuốc nhuộm xanh methylen (Hình 3).



A - Quan sát ở độ phóng đại 10x



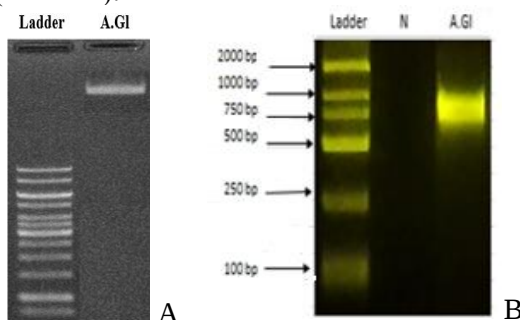
B- Quan sát ở độ phóng đại 40x

**Hình 3.** Đặc điểm giải phẫu thân của loài Sum lông

1. Biểu bì; 2. Mô dày; 3. Mô mềm vỏ; 4. Vòng mô cứng; 5. Libe; 6. Tầng phát sinh; 7. Gỗ; 8. Mô mềm ruột; 9. Tinh thể canxi oxalat, 10. Lông

### 3.3. Đặc điểm gen *rbcL* của loài Sum lông

**Phân lập đoạn gen *rbcL* bằng phản ứng PCR:** DNA tổng số được tách chiết từ lá non của loài Sum lông và kiểm tra độ tinh sạch bằng đo quang phổ kết hợp với điện di trên gel agarose 0,8%. Kết quả cho thấy DNA tổng số cho băng rõ nét, ít bị đứt gãy và đủ điều kiện để thực hiện phản ứng nhân gen (Bảng 2, Hình 4A). Đoạn gen *rbcL* được phân lập bằng phản ứng PCR từ DNA tổng số sử dụng cặp mồi đặc hiệu *rbcL*-F/*rbcL*-R. Sản phẩm PCR được tiến hành điện di trên gel agarose 0,8%, kết quả điện di xuất hiện 1 băng có kích thước khoảng 600 bp, ứng với đoạn gen *rbcL* theo lý thuyết (Hình 4B).



**Hình 4.** Hình ảnh điện di DNA tổng số (A) và sản phẩm PCR từ DNA tổng số (B) của loài Sum lông  
Làn Ladder: DNA Maker, Làn N: đối chứng âm, Làn A.GI (A): DNA tổng số, Làn A.GI (B): đoạn gen *rbcL*

**Bảng 2.** Kết quả đo quang phổ DNA tổng số của loài Sum lông

| Mẫu      | Conc   | Units | A260/280 | A260/230 |
|----------|--------|-------|----------|----------|
| Sum lông | 1657,2 | ng/ul | 1,99     | 1,72     |

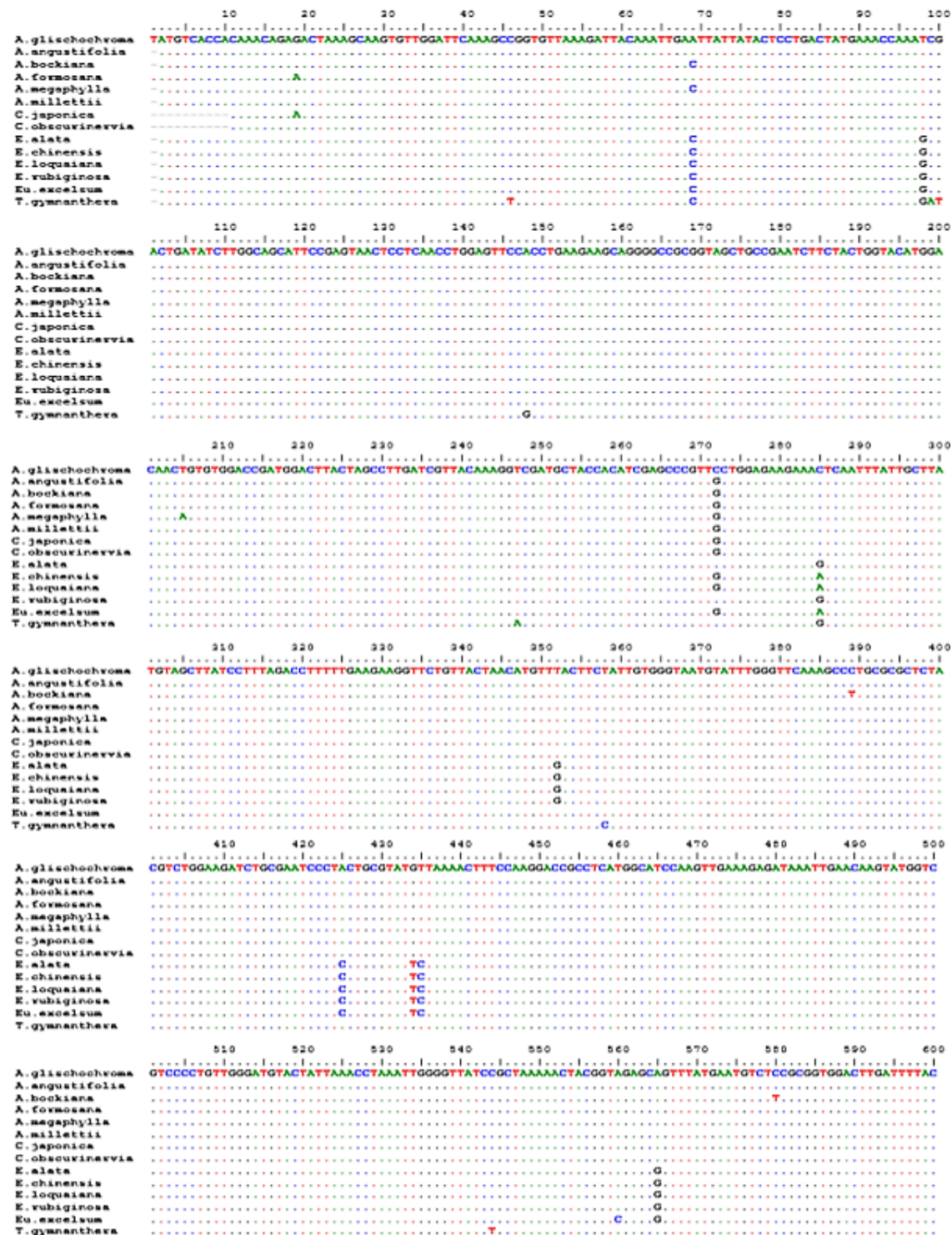
**Giải trình tự gen *rbcL* phân lập từ phản ứng PCR:** Đoạn gen *rbcL* được tinh sạch và giải trình tự nucleotide trên máy giải trình tự tự động ABI PRISM 3100 Avant Genetic Analyzer. Kết quả giải trình tự đã xác định được đoạn gen *rbcL* phân lập từ loài Sum lông dài 602 nucleotide; có khối lượng phân tử 361.200 dal, số lượng nucleotide mỗi loại: A-T là 342 (chiếm 56,81%), G-C là 260 (chiếm 43,19%).

**Phân tích mối quan hệ di truyền của loài Sum lông dựa trên trình tự gen *rbcL*:** Phân tích sự tương đồng về trình tự nucleotide của gen *rbcL* từ loài Sum lông với 13 trình tự gen *rbcL* của các loài khác trên GenBank bằng công cụ BLAST trong NCBI cho thấy, trong phạm vi truy vấn từ 98-99% với tổng điểm BLAST từ 1053-1103, mức độ tương đồng dao động từ 98,33-99,83%. Trong đó, loài Sum lông có mức độ tương đồng cao nhất với loài *A. millettii* và *A. angustifolia* là 99,83%. Mức độ tương đồng với các loài *A. formosana*, *A. megaphylla*, *A. bockiana* lần lượt là: 99,67%; 99,50%; 99,33% (Bảng 3). Mặc dù khác chi nhưng loài Sum lông có mức tương đồng khá cao với loài *Cleyera obscurinervia* và *Cleyera japonica* thuộc chi *Cleyera* với mức tương đồng lần lượt là 99,83% và 99,66%.

**Bảng 3.** Bảng thống kê kết quả 13 trong tổng số 100 BLAST có mức tương đồng cao nhất của loài Sum lông với các loài dựa trên trình tự gen *rbcL*

| Tên chi             | Tên loài                                      | Mã số GenBank | Tổng điểm | Phạm vi truy vấn (%) | Tỷ lệ tương đồng (%) |
|---------------------|-----------------------------------------------|---------------|-----------|----------------------|----------------------|
| <i>Adinandra</i>    | <i>A. millettii</i>                           | NC_035678.1   | 1103      | 99                   | 99,83                |
|                     | <i>A. angustifolia</i>                        | NC_035653.1   | 1103      | 99                   | 99,83                |
|                     | <i>A. formosana</i>                           | AF089713.1    | 1098      | 99                   | 99,67                |
|                     | <i>A. megaphylla</i>                          | MW697901.1    | 1092      | 99                   | 99,50                |
|                     | <i>A. bockiana</i>                            | MW699853.1    | 1086      | 99                   | 99,33                |
| <i>Cleyera</i>      | <i>Cleyera obscurinervia</i>                  | MN204873.1    | 1085      | 98                   | 99,83                |
|                     | <i>Cleyera japonica</i>                       | AF380038.1    | 1079      | 98                   | 99,66                |
| <i>Eurya</i>        | <i>Eurya alata</i>                            | NC_041510.1   | 1064      | 99                   | 98,67                |
|                     | <i>Eurya rubiginosa</i> var. <i>attenuata</i> | ON729444.1    | 1064      | 99                   | 98,67                |
|                     | <i>Eurya chinensis</i>                        | OP580972.1    | 1059      | 99                   | 98,50                |
|                     | <i>Eurya loquaiana</i>                        | NC_050937.1   | 1059      | 99                   | 98,50                |
| <i>Euryodendron</i> | <i>Euryodendron excelsum</i>                  | MH159200.1    | 1059      | 99                   | 98,50                |
| <i>Ternstroemia</i> | <i>Ternstroemia gymnanthera</i>               | NC_035706.1   | 1053      | 99                   | 98,33                |

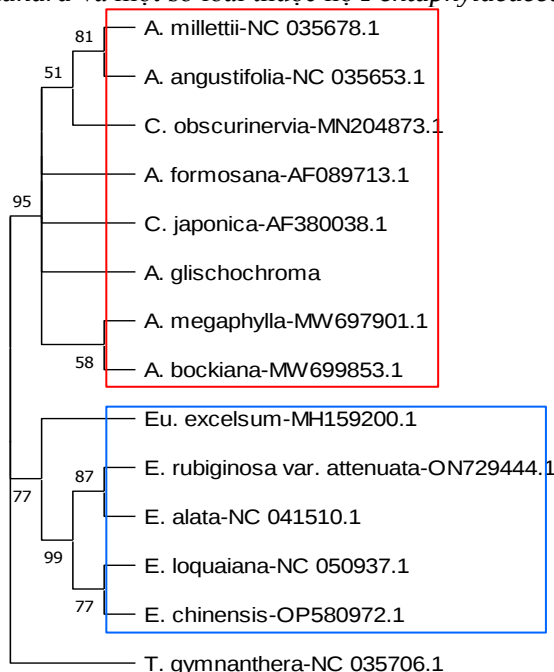
Kết quả so sánh trình tự nucleotide bằng phần mềm BioEdit giữa loài Sum lông và 13 loài khác trên GenBank cho thấy, không có sự sai khác quá nhiều về trình tự nucleotide của gen *rbcL* ở 14 loài nghiên cứu trong phạm vi so sánh đối chiếu (602 nucleotide). Cụ thể, khi so sánh trình tự nucleotide của gen *rbcL* ở loài Sum lông với 5 loài thuộc chi Dương đồng cho thấy, chỉ có 02 vị trí sai khác khi so sánh với loài *A. millettii* và *A. angustifolia* là vị trí nucleotide số 271 và 601, đây cũng là 2 vị trí mà cả 5 loài đều có sự sai khác so với loài Sum lông. Ngoài ra, các loài còn lại còn có các vị trí sai khác như: loài *A. formosana* (vị trí 19), loài *A. megaphylla* (vị trí 69, 205), loài *A. bockiana* (vị trí 69, 389, 580). Khi so sánh trình tự nucleotide của loài Sum lông với các loài khác thuộc các chi khác nhau trong họ *Pentaphylacaceae* cho thấy, sự sai khác nhiều nhất với loài *T. gymnanthera*, sai khác ít nhất với 2 loài thuộc chi *Cleyera* (*C. obscurinervia* và *C. japonica*), kết quả này có thể cho phép nhận định loài Sum lông có mối quan hệ khá gần về mặt di truyền với 2 loài thuộc chi *Cleyera* (Hình 5). Kết quả này hoàn toàn phù hợp với kết quả so sánh mức độ tương đồng về trình tự nucleotide của gen *rbcL* bằng công cụ BLAST. Tất cả 13 loài được lấy dữ liệu trên GenBank đều từ những hệ gen lục lạp đã được giải mã toàn bộ. Hiện nay, loài Sum lông chúng tôi nghiên cứu chưa có công bố nào về giải mã hoàn toàn hệ gen lục lạp và gen *rbcL*. Nghiên cứu này đã dùng phương pháp PCR với cặp mồi *rbcL*-F/*rbcL*-R để phân lập gen *rbcL*. Do kích thước gen *rbcL* khá dài khoảng 1.300bp, vì vậy cặp mồi *rbcL*-F/*rbcL*-R chỉ nhận được đoạn đầu của gen này với kích thước 602bp.



Hình 5. So sánh trình tự nucleotide của gen *rbcL* giữa loài Sum lông và 13 loài khác trên GenBank

**Xây dựng cây phát sinh chủng loại:** Trình tự nucleotide của đoạn gen *rbcL* từ 14 loài được chúng tôi xây dựng bằng phương pháp Maximum likelihood để lập cây phát sinh chủng loại và cây phát sinh chủng loại được chia thành 3 nhánh chính (Hình 6). Nhánh chính 1 gồm 8 loài thuộc hai chi là *Adinandra* và *Cleyera*. Nhánh chính 2 gồm 5 loài thuộc chi *Eurya* và *Euryodendron*. Loài *Ternstroemia gymnanthera* tạo thành nhánh chính thứ 3. Trong nhánh chính

1, loài Sum lông có mối quan hệ rất gần với loài *A. megaphylla*, *A. bockiana*, *A. millettii*, *A. angustifolia*, *A. formosana* và 2 loài thuộc chi *Cleyera*. Kết quả của cây phân loại này hoàn toàn phù hợp với hệ thống phân loại hiện nay. Đồng thời, kết quả nghiên cứu này có sự thống nhất với kết quả phân tích sự tương đồng về trình tự nucleotide của gen *rbcL* bằng phần mềm BLAST. Do đó, trình tự gene *rbcL* phù hợp làm mã vạch nhằm xác định sự phát sinh loài và đa dạng di truyền của các loài thuộc chi *Adinandra* và một số loài thuộc họ *Pentaphylacaceae*.



**Hình 6.** Sơ đồ hình cây về mối quan hệ di truyền dựa trên trình tự nucleotide của gene *rbcL* được xây dựng bằng phương pháp Maximum likelihood

#### 4. Kết luận

Nghiên cứu đã mô tả chi tiết đặc điểm hình thái loài của loài Sum lông và phân tích đặc điểm giải phẫu lá, thân của loài này. Giải phẫu lá gồm các phần Biểu bì trên, mô giậu; mô xốp, biểu bì dưới, vòng mô cứng, gỗ; libe, mô mềm, mô dày, tinh thể canxi oxalat và lông. Giải phẫu thân gồm các phần Biểu bì, mô dày, mô mềm vỏ, vòng mô cứng, libe, tầng phát sinh, gỗ, mô mềm ruột, tinh thể canxi oxalat, lông. Gen *rbcL* được phân lập từ lá non của loài Sum lông đã được nhân bản và giải trình tự xác định được gen *rbcL* có kích thước 602 nucleotide, số lượng nucleotide mỗi loại: A-T là 342 (chiếm 56,81%), G-C là 260 (chiếm 43,19%). Từ kết quả phân tích cây phát sinh chủng loại dựa trên trình tự gen *rbcL* cho thấy, loài Sum lông có mối quan hệ gần gũi nhất với loài *A. millettii* và loài *A. angustifolia*.

#### Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Bộ Giáo dục và Đào tạo thông qua đề tài có mã số B2022-TNA-43. Các tác giả xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] T. L. Min and B. B. Bruce, "Theaceae," In: Z. Y. Wu, P. H. Raven, and D. Y. Hong (eds.), *Flora of China*. Science Press, Beijing and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, vol. 12, pp. 435-443, 2007.
- [2] H. H. Pham, *Plants of Vietnam*. Ho Chi Minh City Youth Publishing House, 2003, pp. 473-475.
- [3] B. Liu, J. Yang, Y. Ma, E. Yuan, and C. Chen, "Antioxidant and angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activities of ethanol extract and pure flavonoids from *Adinandra nitida* leaves," *Pharmaceutical biology*, vol. 48, no. 12, pp. 1432-1438, 2010, doi: 10.3109/13880209.2010.490223.

- [4] H. Gao, B. Liu, F. Liu, and Y. Chen, "Anti-proliferative effect of camellianin A in *Adinandra nitida* leaves and its apoptotic induction in human Hep G2 and MCF-7 cells," *Molecules*, vol. 15, no. 6, pp. 3878-3886, 2010, doi: 10.3390/molecules15063878.
- [5] Y. Chen, G. Chen, X. Fu, and R. H. Liu, "Phytochemical Profiles and Antioxidant Activity of Different Varieties of *Adinandra* Tea (*Adinandra* Jack)," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 63, no. 01, pp. 169-176, 2015, doi: 10.1021/jf503700v.
- [6] H. Q. Nguyen and T. T. G. Kieu, "Use of matK DNA barcode to identify *Adinandra* samples collected at Lao Cai, Vietnam," *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 197, no. 04, pp. 205-210, 2015.
- [7] H. Q. Nguyen, P. D. Le, and H. M. Chu, "Studying of anatomical characteristics and sequence of *ITS* gene from *Adinandra lienii*," *CASEAN-6 Proceedings*, 2019, pp. 153-159.
- [8] H. Q. Nguyen, T. K. P. Than, and H. M. Chu, "Study on chemical composition and antibacteria activity of extracts total from leaves of *Adiandra lienii* species," *Proceedings National Biotechnology Conference 2019*, 2019, pp. 178-182.
- [9] T. N. L. Nguyen, H. Q. Nguyen, T. T. N. Nguyen, T. T. X. Vi, T. D. Sy, T. T. Nguyen, and H. M. Chu, "Antibacterial, Antioxidant and Anti - Cancerous Activities of *Adiandra megaphylla* Hu Leaf Extracts," *Biosc. Biotech. Res. Comm.*, vol. 13, no. 3, pp. 1015-1020, 2020.
- [10] T. N. L. Nguyen and H. Q. Nguyen, "Chemical composition and biological activity of extracts total from stem of *Adiandra megaphylla* Hu collected in lao cai, Vietnam," *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 226, no.10, pp. 55-61, 2021.
- [11] H. Q. Nguyen, T. N. L. Nguyen, T. T. N. Nguyen, T. D. Sy, and H. M. Chu, "Chemical composition and biological activity of leaf extracts of *Adinandra bockiana* E. Pritz. ex Diels," *Vietnam Journal of Science and Technology - MOST*, vol. 64, no. 12, pp. 34-38, 2022, doi: 10.31276/VJST.64(12).34-38.
- [12] H. Q. Nguyen, T. N. L. Nguyen, T. N. Doan, T. T. N. Nguyen, M. H. Pham, T. L. Le, D.T. Sy, H. H. Chu, and H. M. Chu, "Complete chloroplast genome of novel *Adinandra megaphylla* Hu species: molecular structure, comparative and phylogenetic analysis," *Scientific Reports*, 2021, doi: 10.1038/s41598-021-91071-z.
- [13] H. Q. Nguyen, T. T. H. Pho, T. T. N. Nguyen, V. D. Ho, T. H. Vu, D.T. Sy, N. T. Le, and H. M. Chu, "Chemical constituents and biological activities of the leaves of *Adinandra megaphylla*," *Phytochemistry Letters*, vol. 56, pp. 19-23, 2023, doi: 10.1016/j.phytol.2023.06.002.
- [14] T. T. N. Nguyen, T. T. H. Pho, H. Q. Nguyen, T. N. Doan, T. N. L. Nguyen, M. H. Pham, T. L. Le, D.T. Sy, H. H. Chu, T. T. V. Lien, and H. M. Chu, "Characteristics of the Chloroplast Genome of *Adinandra bockiana* and Comparative Analysis with Species of Pentaphragmaceae Family," *Plant Molecular Biology Reporter*, 2023, doi: 10.1007/s11105-023-01389-3.
- [15] T. K. O. Vu, T. T. H. Nguyen, V. D. Ho, N. T. Dinh, T. M. H. Nguyen, and N. T. Le, "New triterpene and nor-diterpene derivatives from the leaves of *Adinandra poilanei*," *Phytochemistry Letters*, vol. 46, pp. 110-113, 2021, doi: 10.1016/j.phytol.2021.10.003.
- [16] T. K. O. Vu, H. G. Tran, T. H. Bui, T. L. P. Diep, T. V. A. Nguyen, and N. T. Le, "Chemical constituents and biological activity of the stems of *Adinandra hainanensis* Hayata," *Records of Natural Products*, vol. 16, pp. 346-352, 2022, doi: 10.25135/rnp.282.2108.2158.
- [17] T. T. H. Pho, D. D. Tran, T. T. N. Nguyen, Q. T. Tu, H. Q. Nguyen, and H. M. Chu, "The chemical composition and biological activity of stem extracts of *Adinandra glischroloma*," *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 227, no. 05, pp. 232-239, 2022, doi: 10.34238/tnu-jst.5561.
- [18] T. B. Nguyen, *List of plant species Animals in Vietnam*. Agriculture publishing house, Hanoi, 2013.
- [19] B. Nguyen, *Vietnamese Encyclopedia of Botany*. Vietnamese educational publishing house, 2014.
- [20] M. A. Shaghari-Marroof, K. M. Soliman, R. A. Jorgensen, and R. W. Allard, "Ribosomal DNA spacer-length polymorphism in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics," *Proc Natl Acad Sci USA*, vol. 81, pp. 8014-8019, 1984.
- [21] J. W. Kress, K. J. Wurdack, E. A. Zimmer, L. A. Wei, and D. H. Janzen, "Use of DNA barcodes to identify flowering plants," *Proc Natl Acad Sci USA*, vol. 102, pp. 8369-8374, 2005.
- [22] T. A. Hall, "BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT," *Nucleic Acids Symposium Series*, p. 41, 1999.
- [23] S. Kumar, G. Stecher, M. Li, C. Knyaz, and K. Tamura, "MEGA X: Molecular Evolutionary Geneetics Analysis across computing platforms," *Molecular Biology and Evolution*, vol. 35, pp. 1547-1549, 2018.