ĐỊNH DANH MẪU ĐẬU ĐỎ ĐỊA PHƯƠNG THU TẠI TỈNH HÀ GIANG BẰNG PHƯƠNG PHÁP HÌNH THÁI VÀ MÃ VẠCH *ITS*

Nguyễn Thị Vân, Nguyễn Hữu Quân*
Trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên

TÓM TẮT

Đậu đỏ (*Vigna angularis*) được biết đến là loài cây cung cấp protein, tinh bột, khoáng và vitamin quan trọng. Đậu đỏ được thu tại tỉnh Hà Giang (ĐĐ10-HG) thuộc dạng thân bò, leo, trên thân có nhiều lông tơ nhám. Lá nhỏ, có 3 lá chét, hình tim. Hoa màu vàng, mọc thành chùm từ 6-10 hoa và tự nở ở nách. Vùng *ITS* của mẫu đậu đỏ Hà Giang phân lập được có kích thước 479 nucleotide. Kết quả phân tích đặc điểm hình thái và mã vạch *ITS* đã chứng minh được mẫu đậu đỏ thu tại tỉnh Hà Giang thuộc loài *Vigna angularis*. Hoạt tính α-amylase và protease trong mầm hạt đậu đỏ sau 3 ngày lần lượt đạt 1,2 và 1,4 U/mg. Hàm lượng isoflavone của mầm hạt đậu đỏ sau 3 ngày đạt 72,7 µg/g và hàm lượng protein tan tổng số đạt 30 mg/100 g hạt.

Từ khóa: *α-amylase, đậu đỏ, isoflavon, vùng ITS, protease*

MỞ ĐẦU

Đậu đỏ có tên khoa học là *Vigna angularis*, tên tiếng anh là Azuki bean và được gọi là đậu đỏ Azuki. Đậu đỏ được trồng ở hơn 30 quốc gia trên thế giới, đặc biệt là Đông Á [7]. Hạt của đậu đỏ là một nguồn cung cấp protein, tinh bột, khoáng và vitamin quan trọng [13]. Trong đậu đỏ, hàm lượng calo và chất béo thấp; protein và các chất có hoạt tính sinh học nhiều nên đậu đỏ được gọi là đậu giảm cân [7]. Đậu đỏ được sử dụng trong nhiều loại thực phẩm khác nhau như bánh, đồ tráng miệng, sữa và kem. Trong y học, đậu đỏ còn được coi như một loại thuốc truyền thống giúp lợi tiểu và giải độc gan, làm giảm bớt các triệu chứng thần kinh, tê phù [9].

Ở Việt Nam, đậu đỏ phân bố ở một số tỉnh Hà Giang, Lào Cai, Lai Châu, Thừa Thiên Huế và phát triển mạnh ở điều kiện nhiệt độ từ 15-30°C. Các giống đậu đỏ này thường chưa được nghiên cứu nhiều về đặc điểm hình thái, giải phẫu, hóa sinh và di truyền.

Trong thực tế, việc định danh chính xác các mẫu đậu đỏ bằng phương pháp hình thái chưa đem lại kết quả chính xác khi vật liệu nghiên cứu đã được xử lý thô hoặc một phần. Do đó, sử dụng mã vạch DNA kết hợp với phương pháp phân tích hình thái sẽ khắc phục hạn chế trên. Vùng *ITS* của hệ gen nhân có tính bảo thủ cao được sử dụng trong phân biệt các loài dựa trên mức độ đột biến trong trình tự nucleotide. Vùng *ITS* bao gồm các gen mã hóa RNA ribosome (18S; 5,8S; 28S) và xen kẽ bởi hai đoạn không mã hóa *ITS1* và *ITS2* [12]. Trong bài báo này, chúng tôi sử dụng vùng *ITS* kết hợp với phương pháp hình thái để nhận diện mẫu đậu đỏ thu thập tại tỉnh Hà Giang.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu: Mẫu đậu đỏ (ĐĐ10-HG) thu tại tỉnh Hà Giang được trồng tại Vườn Thực nghiệm của Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên để nghiên cứu hình thái, hóa sinh và phân lập vùng *ITS*.

Phương pháp

Nghiên cứu đặc điểm hình thái: Hình thái (rễ, thân, lá, hoa, quả và hạt) của mẫu đậu đỏ được thực hiện theo phương pháp của Nguyễn Tiến Bân (2013) [2] và Phạm Hoàng Hộ (1999) [3].

Nghiên cứu giải phẫu hiển vi: Rễ, thân, lá được giải phẫu theo phương pháp của Nguyễn Bá (1977) [1], quan sát và chụp ảnh với kính hiển vi quang học kết nối với phần mềm Microscope Manager.

Phân lập vùng *ITS*: DNA tổng số được phân lập dựa trên phương pháp của Shaghai và cộng sự (1984) [11]. Khuếch đại vùng *ITS*

* *Tel: 0369 238303, Email: quannh@dhsptn.edu.vn*

bằng phản ứng PCR với cặp mồi được tổng hợp theo Kress và cộng sự (2005) [8]. Kích thước mồi và trình tự mong muốn của đoạn DNA khuếch đại được mô tả theo bảng 1.

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); 9,5 µl nước cất. Phản ứng PCR được thực hiện theo chương trình: 94°C/4 phút; 35 chu kỳ (94°C/30 giây; 55°C/30 giây; 72°C/45 giây); 72°C/10 phút và giữ ở 4°C. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,0% và được tinh sạch theo kit tinh sạch của hãng Qiagen. Trình tự DNA được xác định trên máy đọc trình tự tự động ABI PRISM 3100 Avant Genetic Analyzer. Trình tự nucleotid của gen được đọc trên phần mềm BLAST và BioEdit.

Định lượng protein tan: 0,05 g mẫu hạt đậu đỏ đã sấy khô tuyệt đối được chiết qua đêm bằng 1,0 ml đệm photphatcitrat (pH 8,0). Ly tâm 12000 vòng/phút trong 30 phút ở 4°C (lặp lại 3 lần) thu dịch trong và định mức lên 5 ml. Lấy 0,25 ml dung dịch mẫu bổ sung 2 ml dung dịch C lắc đều trong 10 phút và bổ sung 0,25 ml dung dịch folin Ciocalteau (1:1) để 30 phút và đo ở bước sóng 750 nm.

Xác định hàm lượng isoflavon: Phân tích hàm lượng daidzen và genistein từ mầm đậu đỏ 3 ngày tuổi được thực hiện bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp theo Chen và cộng sự (2001) [5]. Dịch chiết thu được sau đó loại tạp, làm sạch bằng phương pháp HPLC.

Xác định hoạt tính α-amylase từ mầm hạt đậu đỏ bằng cách đo hàm lượng đường glucose giải phóng khi thủy phân tinh bột bởi enzyme theo phương pháp của Miller (1959) [10]. Lượng đường giải phóng được xác định bằng cách đo độ hấp phụ ở 540 nm, dựa vào cường độ màu tạo phức với thuốc thử [10].

Xác định hoạt tính protease từ mầm hạt đậu đỏ bằng phương pháp của Anson và phản ứng màu được đo ở bước sóng 750 nm dựa vào cường độ màu tạo phức với thuốc nhuộm Folin Ciocalteau [4].

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Nhận diện mẫu đậu đỏ bằng phương pháp hình thái

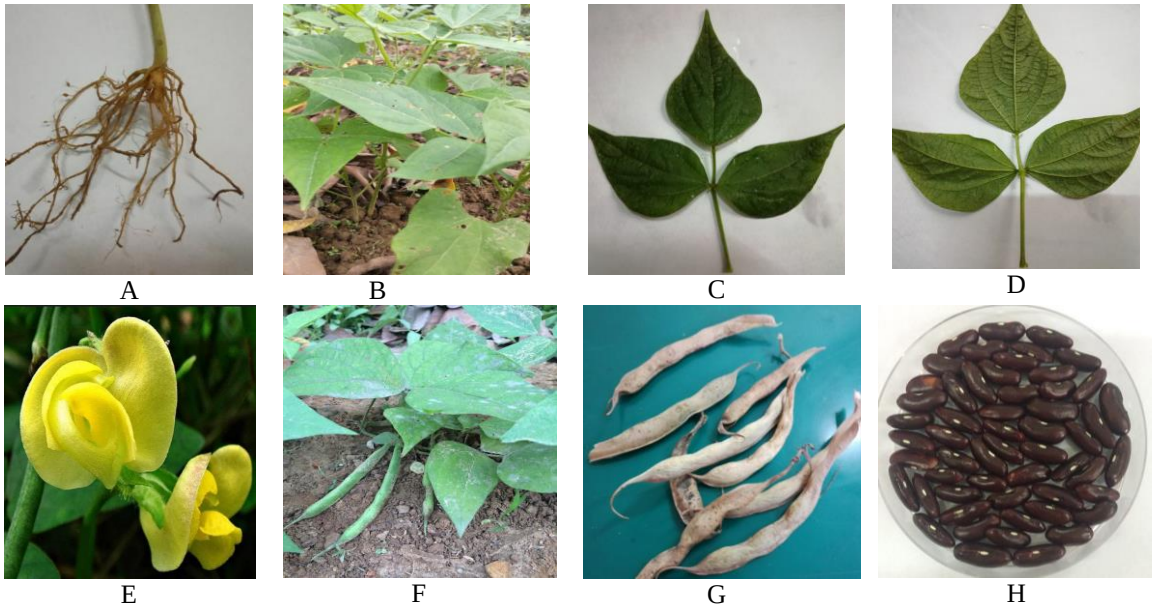
Mẫu đậu đỏ thu tại Hà Giang được định danh thuộc chi *Vigna*, thuộc loại cây một năm, thân thảo cao từ 30-90 cm, tồn tại dạng leo hoặc nằm bò trên mặt đất, thân cây thường có màu xanh và có lông tơ nhám. Rễ của đậu đỏ có một rễ cọc dài 40-50 cm và các rễ bên có nốt sần. Lá của đậu đỏ là lá kép, có 3 lá chét trên một cuống dài mọc dọc thân; lá nhỏ, hình tim dài 5-10 cm và rộng từ 5-8 cm. Hoa của đậu đỏ có màu vàng hoặc vàng sáng, hoa mọc thành chùm từ 6-10 hoa. Quả đậu đỏ có hình trụ, vỏ mỏng và mịn; khi còn non quả có màu xanh và khi chín chuyển sang màu xám. Kích thước của quả dao động từ 5-13 cm x 0,5 cm, với 2-14 hạt/quả (Hình 1). Hạt đậu đỏ có vỏ mịn, hình trụ dài 5,0-9,1 mm, rộng 4,6-6,3 mm, dày 4,1-6,0 mm. Khối lượng 100 hạt là 56,8 g (Bảng 2).

Nhận diện mẫu đậu đỏ bằng mã vạch *ITS*

DNA tổng số từ mầm cây đậu đỏ được kiểm tra bằng phương pháp điện di trên gel agarose 0,8% và đo quang phổ. DNA thu được đảm bảo chất lượng cho phản ứng nhân gen. Vùng gen *ITS* được phân lập bằng phản ứng PCR từ DNA hệ gen sử dụng cặp mồi đặc hiệu. Sản phẩm PCR thu được có kích thước khoảng 480 bp ứng với vùng *ITS* từ mẫu cây đậu đỏ thu tại tỉnh Hà Giang (Hình 2).

Bảng 1. *Thông tin về cặp mồi nhân vùng ITS sử dụng trong nghiên cứu*

Tên mồi	Trình tự (5′→3′)	Nhiệt độ gắn mồi	Sản phẩm dự kiến
ITS-F	ATGCGATACTTGGTGTGAAT	55°C	~ 500 bp
ITS-R	GACGCTTCTCCAGACTACAAT		

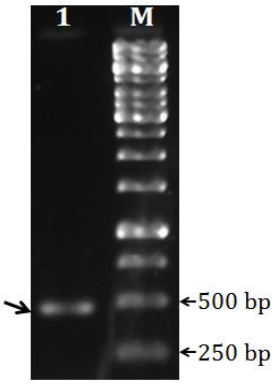


Hình 1. *Đặc điểm hình thái thân, rễ, lá, hoa, quả và hạt của đậu đỏ thu tại tỉnh Hà Giang*
A: Rễ; B: Thân; C: Mặt trước lá; D: Mặt sau lá; E: Quả còn non; F; Quả già; G: Quả chín khô; H: Hạt

Bảng 1. *Đặc điểm hình thái hạt của đậu đỏ ĐĐ10-HG*

TT	Mẫu	Hình dạng hạt	Hình dạng vỏ hạt	Màu vỏ hạt	Màu rốn hạt	Khối lượng 100 hạt
1	ĐĐ10-HG	Thận	Rạn vỏ	Tím đỏ	Trắng	56,84

Vùng *ITS* của đậu đỏ thu tại tỉnh Hà Giang được xác định trình tự nucleotide trên máy giải trình tự tự động ABI PRISM 3100 Avant Gentic Analyzer có kích thước là 479 nucleotide (Hình 3).



Hình 2. *Hình ảnh điện di sản phẩm PCR từ khuôn DNA tổng số của đậu đỏ*
1: Vùng ITS, M: DNA marker

Kết quả phân tích bằng phần mềm BLAST trong NCBI cho thấy, đoạn DNA phân lập từ mẫu đậu đỏ thu tại tỉnh Hà Giang có độ tương đồng 98-100% với các trình tự *ITS* thuộc chi Vigna; trong đó tương đồng 100% với loài *Vigna angularis* có mã số JF421525.1 (Hình 4). Từ kết quả phân tích trên, có thể nhận xét rằng đoạn DNA của mẫu đậu đỏ Hà Giang thuộc vùng *ITS* và mẫu cây đậu đỏ thu tại tỉnh Hà Giang thuộc loài *Vigna angularis*.

```
         10        20        30        40        50        60        70        80
ATGCGATACTTGGTGTGAATGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCACTAGGCCGAGGGCACGCCTGCCTGGGTGTC

         90       100       110       120       130       140       150       160
ACACATCGTCATCCCCATGCAAACGCGCATCGGGGCGAAAGCTGGCCTCCCGCGAGACAACCATCGTGGTTGGTCGAAAA

        170       180       190       200       210       220       230       240
ACAAGGTAACGTCGGGGTCCCCCCGCGATAAACGGTGGATGAGCAAACGCTCGAGACCAATCGCGGAGGCTCGGCAATCC

        250       260       270       280       290       300       310       320
AATCAATGGGCCCTATTGCGTTCTTGGCAGAAAGCAAAGACGCTCTTAACGAGACCTCAGGTCAGGCGGGGCTACCCGCT

        330       340       350       360       370       380       390       400
GAGTTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACTAACAAGGATTCCCTTAGTAACGGCGAGCGAACCGGGAACAGCC

        410       420       430       440       450       460       470
CACCATGAGAATCGGTCGCCCCTGGCGTTCGAATTGTAGTCTGGAAGGAAAGCGTCAAGATTCACACCAAGTATCGCAT
```

Hình 3. *Trình tự vùng ITS của đậu đỏ thu tại huyện Quản Bạ, tỉnh Hà Giang*

Sequences producing significant alignments:

Select: All None Selected:0

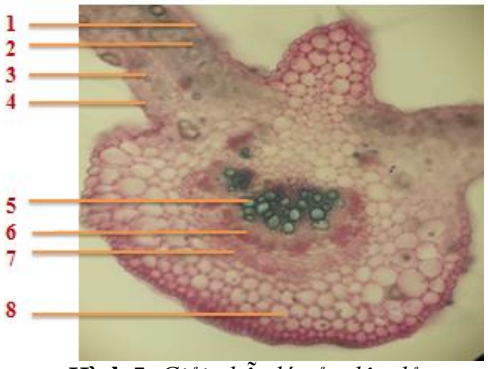
Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Vigna umbellata isolate 137 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	767	767	87%	0.0	99%	KX087818.1
Vigna angularis voucher PS0279MT02 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S ribosomal RNA gene, partial se	761	761	86%	0.0	100%	JF421525.1
Vigna reflexopilosa isolate 108 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	741	741	88%	0.0	98%	KX087791.1
Vigna hirtella isolate 038 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	741	741	87%	0.0	99%	KX087729.1
Vigna glabrescens isolate 029 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	741	741	88%	0.0	98%	KX087721.1
Vigna trinervia isolate 133 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	739	739	88%	0.0	98%	KX087815.1
Vigna glabrescens isolate 028 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	737	737	88%	0.0	98%	KX087720.1

Hình 4. *Kết quả phân tích tương đồng đoạn DNA phân lập từ mẫu đậu đỏ thu tại tỉnh Hà Giang với các trình tự trên GenBank bằng BLAST trong NCBI*

Giải phẫu rễ, thân và lá của đậu đỏ

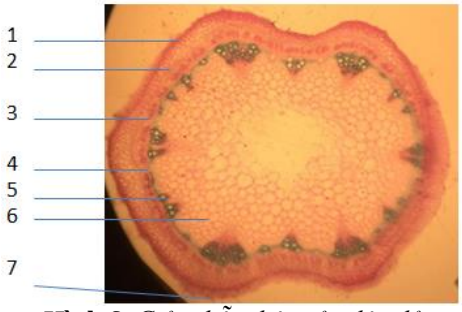
Giải phẫu lá gồm 08 lớp: Biểu bì trên, mô giậu, mô xốp, biểu bì dưới, gỗ, libe, mô mềm và mô dày (Hình 5). Nằm ở lớp ngoài cùng là biểu bì (1), được cấu tạo gồm những tế bào hình chữ nhật, xếp xít nhau, có chức năng bảo vệ. Mô giậu (2) gồm 2-3 lớp tế bào dài, xếp thẳng vuông góc với bề mặt cơ quan, nằm tiếp giáp ngay dưới biểu bì trên, chứa nhiều lục lạp. Mô xốp (3) nằm dưới mô giậu và trên biểu bì dưới. Biểu bì dưới (4) có nhiệm vụ bảo vệ các tế bào bên trong. Lớp mô dày gồm 4-5 lớp tế bào sống, có hình đa giác, vách dày, bằng xenlulose (bắt màu đỏ đậm); các tế bào nằm sát dưới biểu bì chuyên hóa với chức năng cơ học. Gỗ sơ cấp (5) gồm 3-4 lớp tế bào chết, bắt màu xanh, có kích thước khác nhau, nằm phía trong libe tạo nên bó xếp chồng. Lớp libe sơ cấp (6) gồm các tế bào sống (bắt màu hồng của cacmin), có hình đa giác, nhỏ, xếp cạnh nhau tạo thành một vòng không liên tục. Lớp mô mềm vỏ (7) gồm 7-8 lớp tế bào có kích thước không đồng đều chiếm phần lớn diện tích. Mô dày (8) gồm 4-5 lớp tế bào sống, có hình đa giác, vách dày, bằng xenlulose (bắt màu đỏ đậm).



Hình 5. *Giải phẫu lá của đậu đỏ*
1. Biểu bì trên; 2. Mô giậu; 3. Mô xốp; 4. Biểu bì dưới; 5. Gỗ; 6. Libe; 7. Mô mềm vỏ; 8. Mô dày

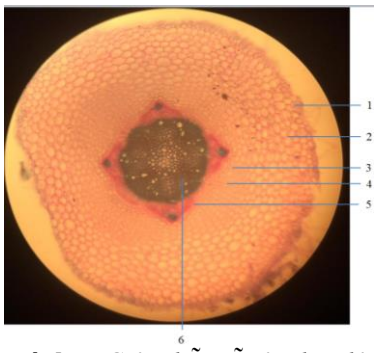
Giải phẫu thân cây: Lớp biểu bì (1) phủ ngoài thân là một lớp tế bào dày gồm những tế bào hình trứng xếp xít nhau uốn lượn theo thân tạo thành vòng ngoài cùng. Mô dày (2) gồm 3-5 lớp tế hình đa giác tập trung chủ yếu ở phía các mấu lồi. Các lớp tế bào mô mềm vỏ (3) có kích thước lớn hơn ăn sâu xen kẽ với các tế bào nội bì. Các bó gỗ (4) xếp cạnh nhau

được ngăn cách bởi các tia ruột rộng tạo ra khoảng trống khá xa nhau. Phía ngoài đối diện với các bó gỗ là các bó libe (5) tương ứng bắt màu hồng. Xen giữa gỗ và libe là tầng phát sinh (6) gồm các tế bào dẹt có màng rất mỏng. Mô mềm ruột (8) nằm ở phần giữa thân gồm các tế bào hình đa giác có kích thước khác nhau. Đây là các tế bào sống thực hiện chức năng chủ yếu là dự trữ. Ngoài ra còn có lông che chở (8) (Hình 6).



Hình 6. *Giải phẫu thân của đậu đỏ*
1. Bần; 2. Mô dày; 3. Mô mềm vỏ; 4. Libe; 5. Tầng phát sinh; 6. Gỗ; 7. Mô mềm ruột; 8. Lông che trở

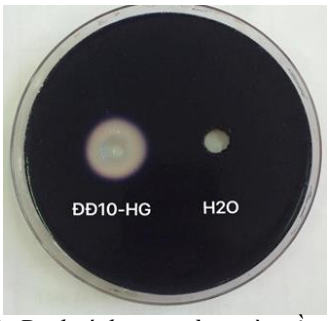
Rễ cây: Ngoài cùng của rễ là lớp bần (1) được cấu tạo bởi một lớp tế bào biểu bì hình đa giác có độ dày khoảng 0,3 µm và có thành tế bào hóa bần. Bên trong lớp bần là vỏ thứ cấp gồm nhiều lớp tế bào mô mềm vỏ (2), mô cứng (3) và libe (4). Phần mô cứng gồm 4 đám mô cứng xếp đối xứng nhau qua phần gỗ từng đôi một; bó libe có hình tam giác tạo thành các dãy lồi ra phía ngoài. Trong cùng là trụ giữa chiếm phần lớn diện tích gồm các mạch gỗ (5) to bắt màu xanh và tia gỗ đó là gỗ thứ cấp và mô mềm ruột (6) (Hình 7).



Hình 7. *Giải phẫu rễ của đậu đỏ*
1. Bần; 2. Mô mềm vỏ; 3. Đám mô cứng; 4. Libe; 5. Gỗ; 6. Mô mềm ruột

Hoạt tính α-amylase từ mầm đậu đỏ

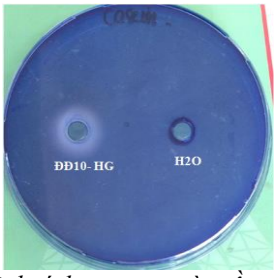
α-amylase thuỷ phân tinh bột tạo thành đường. Đường tạo thành có vai trò làm tăng áp suất thẩm thấu của tế bào, từ đó làm tăng tính chống chịu của thực vật với các yếu tố cực đoan từ môi trường, giúp cây non phát triển bình thường. Hoạt tính α-amylase từ mầm hạt đậu đỏ ở 3 ngày tuổi đạt 1,2 U/mg. Hoạt tính α-amylase được định tính trên đĩa thạch có chứa 1% tinh bột. Kết quả hình 8 xuất hiện vòng phân giải tinh bột màu trắng khi nhuộm đĩa thạch bằng thuốc nhuộm lugol. Như vậy, mầm hạt đậu đỏ Hà Giang có hoạt tính α-amylase.



Hình 8. *Định tính α-amylase từ mầm đậu đỏ trên đĩa thạch*

Hoạt tính protease từ mầm đậu đỏ

Protease đóng vai trò rất quan trọng trong quá trình nảy mầm của hạt, sự phát triển của cây non và liên quan đến khả năng chịu mất nước của tế bào. Nghiên cứu hoạt tính protease từ mầm đậu đỏ nhằm đánh giá mối liên quan với hàm lượng protein có trong hạt. Kết quả nhận thấy, hoạt tính protease ở mầm 3 hạt đậu đỏ ngày tuổi đạt 1,4 U/mg. Hoạt tính protease được định tính trên đĩa thạch có chứa 1% casein. Kết quả hình 9 xuất hiện vòng phân giải casein màu trắng khi nhuộm đĩa thạch bằng comasine blue. Như vậy, mầm hạt đậu đỏ Hà Giang có hoạt tính protease.



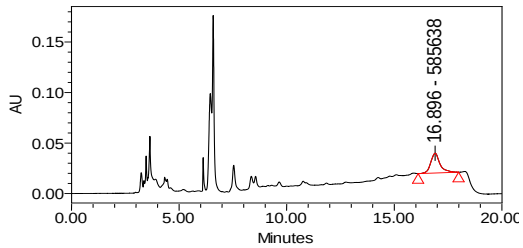
Hình 9. *Định tính protease từ mầm đậu đỏ trên đĩa thạch*

Hàm lượng protein tan tổng số

Nghiên cứu hàm lượng protein tan tổng số nhằm xác định giá trị dinh dưỡng của đậu đỏ và kiểm tra được sự khác biệt về đặc điểm hóa sinh chịu ảnh hưởng của điều kiện thổ nhưỡng. Kết quả cho thấy, hàm lượng protein tan tổng số của mẫu đậu đỏ thu tại Hà Giang đạt 30 mg/100 g hạt.

Hàm lượng isoflavone từ mầm hạt đậu đỏ

Sử dụng kỹ thuật phân tích HPLC định lượng daidzein và genistein chiết từ hạt đậu đỏ nảy mầm 3 ngày tuổi từ sắc ký đồ ở hình 10 và phương trình đường chuẩn kết quả phân tích HPLC cho thấy, ở mẫu đậu đỏ ĐĐ10-HG, hàm lượng genistein đạt 72,7 µg/g và hàm lượng daidzein không có. Như vậy, isoflavone trong mầm hạt đậu đỏ của Hà Giang chỉ có một loại là genistein.



Hình 10. *Sắc ký đồ phân tích daidzein và genistein từ hạt đậu đỏ nảy mầm 3 ngày tuổi*

KẾT LUẬN

Về mặt hình thái, mẫu đậu đỏ thu tại Hà Giang có thân thảo cao từ 30-90 cm tồn tại dạng leo hoặc nằm bò trên mặt đất; rễ dài 40-50 cm và có nốt sần; lá kép với 3 lá chét trên một cuống dài mọc dọc thân, hình tim dài 5-10 cm và rộng từ 5-8 cm; hoa màu vàng hoặc vàng sáng, mọc thành chùm từ 6-10 hoa; quả có hình trụ, vỏ mỏng và mịn, kích thước của quả dao động từ 5-13 cm x 0,5 cm, với 2-14 hạt/quả; hạt có vỏ mịn, hình trụ dài 5,0-9,1 mm, rộng 4,6-6,3 mm, dày 4,1-6,0 mm. Vùng ITS phân lập có kích thước 479 nucleotide và có độ tương đồng 100% với trình tự vùng ITS thuộc loài Vigna angularis. Giải phẫu rễ, thân và lá đặc trưng cho đậu đỏ. Hàm lượng protein và isoflavone lần lượt đạt 30 mg/100 g hạt và 72,7 µg/g. Hoạt tính α-amilase và protease của mầm đậu đỏ sau 3 ngày lần lượt đạt 1,2 và 1,4 U/mg.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được sự hỗ trợ bởi đề tài nhiệm vụ bảo tồn và lưu giữ quỹ gen cấp Bộ năm 2018: "Nghiên cứu bảo tồn nguồn gen nhóm cây đậu đỗ địa phương thu thập từ các tỉnh thuộc miền Bắc Việt Nam" Mã số B2018-TNA-09-GEN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Bá (1977), *Hình thái học thực vật*, tập 1-2, Nxb Đại học và Trung học chuyên nghiệp, Hà Nội.
2. Nguyễn Tiến Bân (2013), *Danh sách loài thực vật ở Việt Nam*, Nxb Nông nghiệp, Hà Nội.
3. Phạm Hoàng Hộ (1999), *Cây cỏ Việt Nam*, quyển 1, Nxb Trẻ Thành phố Hồ Chí Minh.
4. Anson M. L. (1938), "The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin", *J. Gen. Physiol.*, 22, pp. 79-89
5. Chen H., ZuoY., Deng Y. (2001), "Separation and determination of flavonoids and other phenolic compounds in cranberry juice by high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography A*, 913(l-2), pp. 387-395.
6. Kitano-Okada T., Ito A., Koide A., Nakamura Y., Han KH., Shimada K., Sasaki K., Ohba K., Sibayamac S., Fukushima M. (2012), "Anti-obesity role of Adzuki Bean extract containing polyphenols: in Vivo and in vitro effects", *J. Sci. Food Agric.*, 92(13), pp. 2644-2651.
7. Kramer C., Soltani N., Robinson D. E., Swanton C. J., Sikkema P. H. (2012), "Control of volunteer adzuki bean in soybean", *Agri. Sci.*, 3(4), pp. 501-509.
8. Kress J. W., Wurdack K. J., Zimmer E. A., Weigh L. A., Janzen D. H. (2005), "Use of DNA barcodes to indentify flowering plants", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102, pp. 8369-8374.
9. Li S. (2010), *Compendium of Materia Medica*, Yunnan Educ Press, Kunming, China, pp. 255.
10. Miller G. L. (1959), "Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars", *Anal. Chem.*, 31, pp. 426-428
11. Shaghai-Maroof M. A., Soliman K. M., Jorgensen R. A., Allard R. W. (1984), "Ribosomal DNAsepacer-length polymorphism in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics", *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 81, pp. 8014-8019.
12. Vijayan K., Tsou C. H. (2010), "DNA barcoding in plants: Taxonomy in a new perspective", Curr. Sci., 99, pp. 1530-1540.

13. Xu N., Cheng X. Z., Wang S. H., Wang L. X., Zhao D. (2008), "Establishment of an Adzuki Bean (*Vigna angularis*) core collection based on geographical distribution and phenotypic data in China", *Acta. Agron. Sin.*, 34(8), pp. 1366-1373.

SUMMARY

USE OF ITS DNA BARCODE AND MORPHOLOGICAL METHOD FOR IDENTIFICATION OF THE RED BEAN SAMPLE COLLECTED IN HA GIANG

Nguyen Thi Van, Nguyen Huu Quan*

TNU - University of Education

Red bean (*Vigna umbellata*) is known to provide proteins, starchs, minerals and vitamins. Red bean sample collected in the Ha Giang province (ĐĐ10-HG) in the form of creeping, climbing, with many fluffy hair on the bodies. Leaves have three leaflets, heart-shaped with fluffy hair. Flowers are yellow and bloom in the armpits. Internal transcribed spacer (*ITS*) region isolated from red bean sample in Ha Giang, Vietnam are 479 bp in length and was identified as *Vigna angularis* species. The α-amylase and protease activity of the cultivar ĐĐ10-HG was 1.2 and 1.4 U/mg respectively. The isoflavone content of red bean sprouts after 3 days was 72.7 µg /g and the total protein content was 30 mg /100 grs.

Key words: *α-amylase, ITS, isoflavone, red bean, protease*

Ngày nhận bài: 26/9/2018; Ngày phản biện: 10/10/2018; Ngày duyệt đăng: 31/10/2018

* *Tel: 0369 238303, Email: quannh@dhsptn.edu.vn*