

CHARACTERISTICS OF THE MORPHOLOGY, ANATOMY AND *matK* GENE REGION OF *Cassia fistula* (L.) PLANTS

Vu Thi Thu Thuy¹, Viengdavanh Xyphanboun¹, Tran Thi Hong¹,
 Nguyen Thi Thu Nga¹, Lo Thi Mai Thu², Chu Hoang Mau^{1*}

¹TNU - University of Education, ²Taybac University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 27/11/2023	This study aims to identify <i>Cassia</i> plant samples collected in Thai Nguyen based on morphological and anatomical analysis methods and the support of chloroplast DNA barcoding. The <i>Cassia fistula</i> sample collected in Thai Nguyen has a woody trunk to 15m tall and many branches; leaves are compound, 20-40 cm long, broadly ovate or ovate-oblong with a pointed tip. Racemes axillary, 20-60 cm, many flowered. Pedicels 3-5 cm, slender. Sepals narrowly ovate, reflexed at anthesis. Petals are golden yellow, broadly ovate, subequal, and shortly clawed. Stamens 10, three long with curved filaments 3-4 cm, anthers about 5 mm long, exceeding petals, four short with straight filaments 6-10 mm, reduced stamens with minute anthers. Ovary stalked, strigulose, stigma small. The fruit is bean-shaped, blackish brown, dark brown when ripe, 30-60 cm long, 2-2.5 cm in diameter. Each fruit has many seeds, separated by septa. Seeds are oval, flat, and shiny brown. Microscopic specimens of the leaves and stems of the <i>Cassia</i> reveal the following parts: epidermis, thick tissue, soft tissue, hard tissue, phloem, xylem, and gut. The <i>matK</i> gene region was amplified by PCR from young leaves of the <i>Cassia</i> sample with a size of 816 nucleotides. Phylogenetic analysis based on the sequence of the <i>matK</i> gene region shows that the <i>Cassia</i> sample collected in Thai Nguyen is in the same group as the <i>C. fistula</i> species with code MG737426.1 on GenBank with the bootstrap coefficient of 98%. The morphological, anatomical and sequence data of the <i>matK</i> gene region are the basis for determining that the <i>Cassia</i> sample collected in Thai Nguyen belongs to the <i>C. fistula</i> species.
Revised: 05/3/2024	
Published: 11/3/2024	
KEYWORDS	
<i>Cassia fistula</i>	
<i>matK</i> gene region	
Plant microsurgery	
Plant morphology	
Species identification	

ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI, GIẢI PHẪU VÀ VÙNG GENE *matK* CỦA CÂY MUỒNG HOÀNG YẾN (*Cassia fistula* L.)

Vũ Thị Thu Thủy¹, Viengdavanh Xyphanboun¹, Trần Thị Hồng¹,
 Nguyễn Thị Thu Nga¹, Lò Thị Mai Thu², Chu Hoàng Mậu^{1*}

¹Trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên, ²Trường Đại học Tây Bắc

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 27/11/2023	Mục tiêu của nghiên cứu này là định danh mẫu cây muồng Hoàng yến thu tại Thái Nguyên dựa trên phương pháp phân tích hình thái, giải phẫu và sự hỗ trợ của mã vạch DNA lục lạp. Mẫu cây muồng Hoàng yến thu tại Thái Nguyên có thân gỗ, cao đến 15 m, nhiều cành; lá kép, dài 20-40 cm, hình trứng hoặc hình trứng – thuôn, chóp lá nhọn. Cụm hoa mọc ở nách lá, dài 20-60 cm, gồm nhiều hoa; cuống hoa mảnh, dài 3-5 cm; đài hoa hình trứng hẹp, gập cong lại khi hoa đã nở. Cánh hoa màu vàng, hình trứng rộng, không đều, góc cánh hoa có cuống ngắn. Nhị 10, gồm 3 nhị dài 3-4 cm với chỉ nhị cong vượt quá cánh hoa, bao phấn dài cỡ 5 mm; bốn nhị ngắn dài 6-10 mm với chỉ nhị thẳng; các nhị còn lại tiêu giảm chỉ còn các bao phấn nhỏ. Bầu nhụy có cuống, cong hình lưỡi liềm, núm nhụy nhỏ. Quả dạng hạt đậu, chín có màu nâu đen, dài 30-60 cm, đường kính 2-2,5 cm. Mỗi quả nhiều hạt, ngăn cách nhau bởi vách ngăn. Hạt hình bầu dục, dẹt, màu nâu bóng. Tiêu bản vi phẫu của lá và thân cây muồng Hoàng yến phát hiện rõ các phần: biểu bì, mô dày, mô mềm, mô cứng, libe, gỗ, ruột. Vùng gene <i>matK</i> được khuếch đại bằng phản ứng PCR từ lá non của cây muồng Hoàng yến có kích thước 816 nucleotide. Phân tích phát sinh loài dựa trên trình tự vùng gene <i>matK</i> cho thấy mẫu muồng Hoàng yến thu tại Thái Nguyên cùng nhóm với loài <i>C. fistula</i> (mã số MG737426.1 trên GenBank), hệ số bootstrap là 98%. Kết hợp dữ liệu hình thái, giải phẫu và trình tự vùng gene <i>matK</i> có thể thấy mẫu muồng Hoàng yến thu tại Thái Nguyên thuộc loài <i>C. fistula</i> .
Ngày hoàn thiện: 05/3/2024	
Ngày đăng: 11/3/2024	
TỪ KHÓA	
Muồng Hoàng yến	
Vùng gene <i>matK</i>	
Vi phẫu thực vật	
Hình thái thực vật	
Định danh loài	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.9291>

* Corresponding author. Email: chuhoangmau@tnu.edu.vn

1. Giới thiệu

Muồng Hoàng yền (*Cassia fistula* L.) là cây ưa sáng, mọc nhanh, chịu hạn tốt, hoa đẹp và có hương thơm hấp dẫn [1]. Trong y học, muồng Hoàng yền đã được biết có tác dụng làm thuốc chữa một số bệnh như xương khớp, tim mạch, tuần hoàn, tiêu hoá, nội tiết,...[1], [2]. Flavonoid và anthraquinon là thành phần hoá học chính trong lá muồng Hoàng yền, có tác dụng kháng oxy hoá, kháng viêm, kháng nấm, kháng khuẩn [3], [4]. Nghiên cứu được tính lâm sàng của lá cây lên một số động vật cho thấy nhiều kết quả quan trọng, đặc biệt là khả năng bảo vệ gan và làm lành vết thương [3], [4].

Hiện nay, việc nhận diện, phân loại các loài thực vật nói chung được thực hiện thông qua sự kết hợp giữa các phương pháp truyền thống dựa trên đặc điểm hình thái với các phương pháp hiện đại như mã vạch DNA [5]-[7]. Phương pháp này cung cấp dữ liệu chính xác, nhanh chóng và đáng tin cậy để xác định các loài mục tiêu bằng cách dựa vào một vùng DNA cụ thể. Các vùng gene trong hệ gene lục lạp trong đó có gene *matK*, có mức độ đột biến khác nhau, dựa vào mức độ biến đổi trình tự nucleotide trong vùng gene có thể xác định được mối quan hệ di truyền giữa các đối tượng và có thể nhận diện được mẫu thực vật ở cấp độ loài. Maturases là enzyme ghép nối các intron nhóm II. Ở thực vật bậc cao, maturase được gọi là maturase K. Gene mã hóa cho maturase K (*matK*) nằm trong hệ gene lục lạp, có kích thước khoảng 1550 bp. Nguồn gốc, vai trò của maturases đến nay vẫn còn nhiều điều chưa sáng tỏ. Sự vắng mặt của sản phẩm gene *matK* được cho là có liên quan đến sự tích lũy các bản phiên mã tiền thân cho RNA vận chuyển lysine (*trnK*) [8]. Vùng gene *matK* cũng được đề nghị sử dụng làm một trong những mã vạch DNA chuẩn cho định danh thực vật [9], [10].

Nghiên cứu này trình bày kết quả phân tích đặc điểm hình thái, giải phẫu và trình tự vùng gene *matK* làm cơ sở định danh mẫu muồng Hoàng yền thu tại Thái Nguyên thuộc chi *Cassia*.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Mẫu cây muồng Hoàng yền thu tại thành phố Thái Nguyên năm 2022 (kí hiệu TN) được sử dụng làm vật liệu nghiên cứu phân tích đặc điểm hình thái, giải phẫu, phân lập và giải trình tự vùng gene *matK*.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp làm tiêu bản giải phẫu

Chế tạo tiêu bản giải phẫu cắt ngang rễ, thân, lá và phân tích đặc điểm vi phẫu trong phòng thí nghiệm được thực hiện theo mô tả của Hoàng Thị Sản và cộng sự (2008) [11]. Quan sát tiêu bản trên kính hiển vi, chụp ảnh và phân tích.

2.2.2. Phương pháp hình thái so sánh

Căn cứ vào đặc điểm của mẫu nghiên cứu, đối chiếu với các tài liệu chuyên khảo (Cây cỏ Việt Nam tập 1 của Phạm Hoàng Hộ, Thực vật chí Trung Quốc (flora of China) tập 10) để xác định tên khoa học của loài [12], [13].

2.2.3. Phương pháp nghiên cứu đoạn gene *matK*

Tách chiết DNA tổng số: Phương pháp CTAB của Doyle và cộng sự (1987) được sử dụng để chiết rút DNA tổng số từ 150-200 mg lá non [14]. Hòa tan trong 50 μ L nước cất. Kiểm tra DNA tổng số trên gel agarose 0,8%.

Phương pháp khuếch đại DNA: Nhân bản vùng gene *matK* bằng kỹ thuật PCR với cặp mồi *matK*-F/*matK*-R. Trình tự nucleotide của mồi *matK*-F: 5'-CCRTCATCTGGAAATCTTGGTT-3' và mồi *matK*-R: 5'-GCTRTRATAATGAGAAAGATTCTGC-3'. Đoạn gene *matK* được khuếch đại dự kiến có kích thước khoảng 850 bp.

PCR được thực hiện với thể tích hỗn hợp 50 μL , trong đó có 2 μL DNA tổng số (200 ng), 25 μL MyTaq 2x Bioline, 1 μL với mỗi môi (20 pmol), bổ sung DEPC (ddH₂O) đủ thể tích. Chu trình nhiệt của PCR nhân bản đoạn gene *matK* là 95°C trong 3 phút, 30 chu kỳ (95°C - 30 giây, 60°C - 45 giây và 72°C - 60 giây), 72°C - 10 phút, giữ ở 4°C [15].

2.2.4. Phương pháp phân tích dữ liệu

Hình ảnh vi phẫu được chụp dưới kính hiển vi quang học. Phân tích, so sánh trình tự nucleotide của vùng gene *matK* và thiết lập sơ đồ phát sinh chủng loại dựa trên trình tự nucleotide của vùng gene này bằng các phần mềm BioEdit, BLAST trong NCBI và MEGAX theo hướng dẫn của Chu Hoàng Mậu và cộng sự (2019) [16].

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Đặc điểm hình thái và vi phẫu của muồng Hoàng yến

3.1.1. Đặc điểm hình thái

Thái Nguyên là một tỉnh trung du miền núi phía Bắc của Việt Nam, có nhiệt độ trung bình trong năm từ 21,5 đến 23°C. Tại thành phố Thái Nguyên, nhiệt độ thường ẩm và tương đối ổn định. Cây muồng Hoàng yến tại trường Đại học Sư phạm là cây trồng làm cảnh trong khuôn viên Nhà trường (Hình 1).



Hình 1. Hình thái cây muồng Hoàng yến tại trường Đại học Sư phạm Thái Nguyên

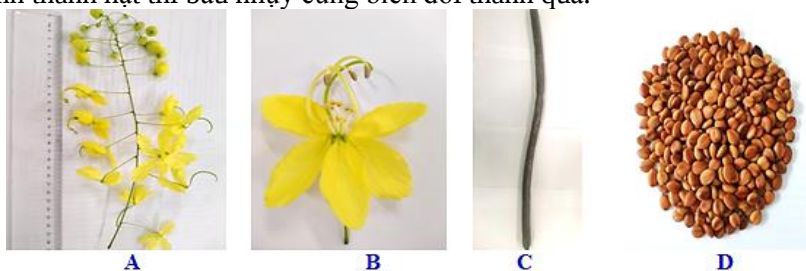
A: Cây muồng Hoàng yến; B: Thân và cành muồng Hoàng yến;

C: Lá kép muồng Hoàng yến; D: Lá đơn muồng Hoàng yến

Hình 1 mô tả hình thái cây muồng Hoàng yến (mẫu TN). Theo đó, cây muồng Hoàng yến là cây gỗ, thân cây hình tròn, có vỏ màu xám, cao đến 15 m. Thân chính lớn, mọc thẳng, trên đó có nhiều cành. Cụm hoa mọc thành chùm ở nách lá, dài 20 - 60 cm, gồm nhiều hoa. Lá kép chân vịt, dài 30 - 40 cm; gồm 3 - 4 đôi lá chét; mặt trên lá chét màu sáng, hình trứng hoặc hình trứng - thuôn, kích thước 8 - 13 × 4 - 8 cm; lá non có lông tơ ở cả 2 mặt, khi già nhẵn; gốc lá chét hình nêm rộng; chóp lá nhọn.

3.1.2. Đặc điểm hình thái hoa, quả và hạt muồng Hoàng yến

Hoa, quả và hạt là cơ quan sinh sản của thực vật hạt kín. Hoa lưỡng tính, sau khi thụ tinh đồng thời với sự hình thành hạt thì bầu nhụy cũng biến đổi thành quả.



Hình 2. Hình thái hoa, quả và hạt muồng Hoàng yến

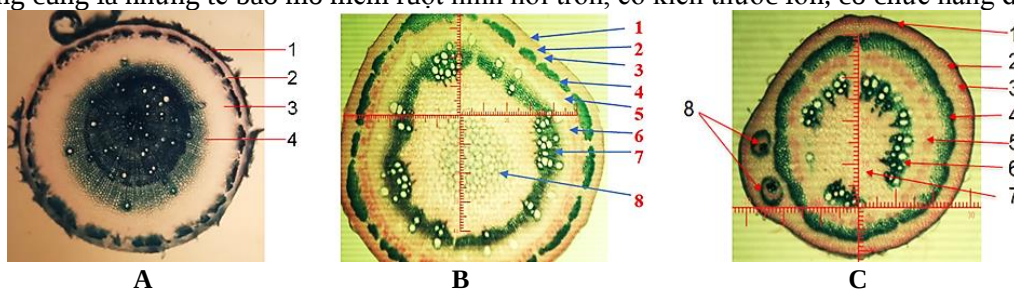
A: Chùm hoa; B: Một hoa; C: Quả; D: Hạt

Hình 2 mô tả hoa, quả và hạt muồng Hoàng yến. Theo đó, cuống hoa mảnh, nhẵn và dài 3-5 cm. Đài hình trứng hẹp, dài 1-1,5 cm, gấp cong lại khi hoa đã nở. Cánh hoa màu vàng, hình trứng rộng, không đều, dài 2,5-3,5 cm, gốc cánh hoa có cuống ngắn. Nhị 10, gồm 3 nhị dài 3-4 cm với chỉ nhị cong vượt quá cánh hoa, bao phấn dài cỡ 5 mm; 4 nhị ngắn dài 6-10 mm với chỉ nhị thẳng; các nhị còn lại tiêu giảm chỉ còn các bao phấn nhỏ. Bầu có cuống, cong hình lưỡi liềm, núm nhụy nhỏ. Quả dạng đậu, chín có màu nâu đen, dài 30-60 cm, đường kính 2-2,5 cm. Mỗi quả nhiều hạt, ngăn cách nhau bởi vách ngăn; hạt hình bầu dục, dẹt, màu nâu bóng.

3.2. Đặc điểm giải phẫu cây muồng Hoàng yến

Gân chính lá, thân và rễ muồng Hoàng Yến được chọn làm tiêu bản và để phân tích vi phẫu (Hình 3). Rễ muồng Hoàng yến dạng rễ cọc, nằm sâu dưới lòng đất. Phần rễ của cây này mầm từ hạt (khoảng 3 tháng tuổi) được chọn làm tiêu bản vi phẫu. Giải phẫu lát cắt ngang của rễ cây muồng Hoàng yến (Hình 3A), từ ngoài vào trong gồm: 1) Bần gồm vài ba lớp tế bào, hình chữ nhật (đường kính theo hướng xuyên tâm nhỏ hơn đường kính theo hướng tiếp tuyến). Vách hóa bần, bắt màu xanh, tế bào rỗng, không nội chất. Các tế bào xếp sát nhau, không chừa ra các khoảng gian bào. Bần không thấm nước và giúp bảo vệ cây. Những tế bào vách thấm chất bần chết đi tạo thành lớp thụ bì ở ngoài cùng. 2) Tầng phát sinh vỏ gồm một vài lớp tế bào sống có vách mỏng, xếp sát nhau, bắt màu đỏ. Chúng phân chia theo hướng tiếp tuyến, phía ngoài cho ra các tế bào bần và phía trong cho ra các tế bào vỏ lục. 3) Vỏ thứ cấp cấu tạo chủ yếu gồm các tế bào libe. 4) Gỗ thứ cấp gồm các mạch gỗ và tia gỗ xếp thành đai liên tục ở phần trụ giữa.

Muồng Hoàng yến có thân gỗ, rất cứng, nên thân dạng bánh tẻ của cành cấp 4 được lựa chọn để làm tiêu bản vi phẫu. Trên lát cắt ngang cấu tạo sơ cấp thân cây muồng Hoàng yến (Hình 3B) từ ngoài vào trong gồm: 1) Biểu bì gồm một lớp tế bào sống, xếp sát nhau, không chứa diệp lục, các tế bào kéo dài dọc theo thân. Tế bào biểu bì có thể biến đổi thành lỗ khí để trao đổi với môi trường bên ngoài. 2) Mô dày gồm 1 hoặc vài lớp tế bào sống, vách cellulose dày bắt màu hồng, có chức năng nâng đỡ. 3) Mô mềm vỏ khoảng 3-5 lớp tế bào có hình hơi tròn cạnh, kích thước lớn. Các tế bào có vách mỏng bằng xenlulose và sắp xếp không sát nhau. 4) Khối mô cứng gồm các đám tế bào nối liền nhau vòng quanh thân cây. 5) Các tế bào có vách dày hóa gỗ, bắt màu xanh của thuốc nhuộm xanh methylen và thực hiện chức năng nâng đỡ. 6) Phần Libe có nguồn gốc sơ cấp, gồm những tế bào sống được hình thành từ tầng trước phát sinh. Libe phân hóa hướng tâm. 7) Tầng trước phát sinh, gồm các tế bào dẹt theo hướng xuyên tâm, có vách mỏng, nhuộm màu đỏ. Các tế bào tầng trước phát sinh có khả năng phân chia theo hướng tiếp tuyến ngoài (cho libe) và hướng tiếp tuyến trong (cho gỗ sơ cấp). 8) Gỗ có nguồn gốc sơ cấp, gồm các tế bào có kích thước nhỏ (vách bắt màu của thuốc nhuộm xanh methylen). Các tế bào gỗ phân hóa li tâm. Bó dẫn ở cấu tạo sơ cấp của thân cây muồng Hoàng yến là bó dẫn chằng chịt hỗn. Trong cùng là những tế bào mô mềm ruột hình hơi tròn, có kích thước lớn, có chức năng dự trữ.

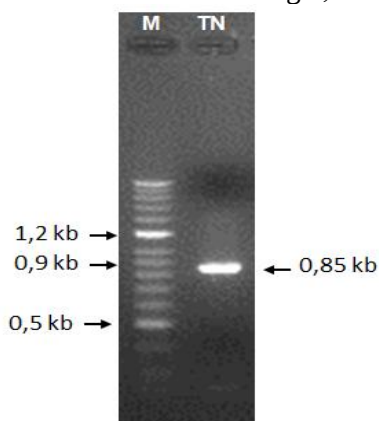


Hình 3. Hình ảnh lát cắt ngang gân chính lá, thân và rễ muồng Hoàng yến dưới kính hiển vi
A: Ảnh vi phẫu rễ. 1. Bần, 2. Tầng phát sinh vỏ, 3. Vỏ thứ cấp, 4. Gỗ thứ cấp. **B:** Ảnh vi phẫu thân. 1. Biểu bì, 2. Mô dày, 3. Mô mềm vỏ, 4. Mô cứng, 5. Libe sơ cấp, 6. Tầng trước phát sinh, 7. Gỗ sơ cấp, 8. Mô mềm ruột; **C:** Ảnh vi phẫu gân chính lá. 1. Biểu bì, 2. Mô dày, 3. Mô mềm vỏ, 4. Mô cứng, 5. Libe, 6. Gỗ, 7. Mô mềm ruột, 8. Bó dẫn của đôi lá kèm.

Gân chính là bộ phận kéo dài từ cuống lá đến cuối phiến lá. Gân chính nổi lên và chia phiến lá thành hai phần tương xứng nhau (Hình 1D). Hình 3C mô tả đặc điểm vi phẫu lát cắt ngang gân chính của lá muồng Hoàng yến. Gân lá chứa các bó dẫn có chức năng vận chuyển nhựa. Tiêu bản vi phẫu gân chính lá cây muồng Hoàng yến có thể quan sát cấu trúc lát cắt ngang. Biểu bì ngoài gồm các tế bào có kích thước nhỏ, vách uốn cong hơn và thực hiện chức năng bảo vệ. Mô dày gồm vài lớp tế bào có vách dày bằng cellulose (nhuộm màu đỏ của thuốc nhuộm carmine). Mô mềm gồm 5-7 lớp tế bào hình đa giác hơi tròn, có kích thước lớn; Mô cứng gồm nhiều lớp tế bào có vách dày (bắt màu xanh mêtylene) tập trung thành vòng xung quanh và nâng đỡ cho bó dẫn. Libe (phloem) có nguồn gốc sơ cấp gồm các tế bào sống (bắt màu hồng của thuốc nhuộm carmine), có hình đa giác, nhỏ, xếp sát nhau tạo thành một vòng liên tục. Gỗ có nguồn gốc sơ cấp gồm 8-9 lớp tế bào chết, bắt màu xanh và có kích thước khác nhau. Ruột gồm các tế bào mô mềm.

3.3. Đặc điểm trình tự nucleotide của vùng gene *matK* phân lập từ cây muồng Hoàng yến

DNA tổng số được tách chiết từ lá non của mẫu thu thập tại Thái Nguyên theo phương pháp CTAB có nồng độ 1,264 ng/ μ L, tỉ lệ A260/A280 đạt 1,87 và A260/A230 ở mức 1,98. Đoạn gene *matK* được khuếch đại từ DNA tổng số của cây muồng Hoàng yến với cặp mồi *matK-F/matK-R* có kích thước ước tính khoảng 0,85 kb (Hình 4).



Hình 4. Hình ảnh điện di kiểm tra sản phẩm PCR nhân bản đoạn gene *matK* từ DNA tổng số của cây muồng Hoàng yến.

M: Thang DNA 100 bp của Hãng Dongsheng Biotech;
TN: Sản phẩm PCR nhân bản đoạn gene *matK* từ DNA tổng số của cây muồng Hoàng yến.

Sản phẩm PCR được tinh sạch bằng bộ kit GeneJET Genomic DNA Purification của hãng Thermo Fisher và giải trình tự tự động trên thiết bị ABI3130xl (hãng Applied Biosystem) tại Công ty TNHH T&N Biosolution, thành phố Hồ Chí Minh. Mẫu phân tích về đoạn gene *matK* của Thái Nguyên được ký hiệu *matK_Cassia_TN*, kết quả giải trình tự đã xác định được đoạn gene *matK* có 816 bp (Hình 5).

Hình 5 mô tả trình tự của 819 nucleotide đoạn gene *matK* của mẫu cây muồng Hoàng yến thu thập tại Thái Nguyên và đoạn gene *matK* thuộc loài *C. fistula* (MG737426.1) trên GenBank [17]. Đoạn gene *matK* của mẫu MG737426.1 được lựa chọn để so sánh vì kết quả xác định mối tương quan lớn nhất bằng cách BLAST trên NCBI (Max core đạt 1142, tổng điểm đạt 1142, tỷ lệ bao phủ đoạn gene đạt 100% và mức độ tương đồng 100%). Dấu chấm trên hình là thể hiện của sự giống nhau về nucleotide. Kết quả trên hình 6 cũng cho thấy có 6 vị trí sai khác, các vị trí sai khác đó là 58 (C->G), 272 (G->C), 316 (G->C), 606 (G->C), 683 (T->A), 684 (A->T) và 722 (T->A). Tỷ lệ sai khác về đoạn gene *matK* chiếm 0,86%. Sử dụng phần mềm MEGA X để phân tích mối quan hệ tương đồng về gene *matK* với 5 trình tự có tỷ lệ bao phủ trên 99% khi BLAST trên GenBank [18]-[21], kết quả thể hiện trên hình 6. Phân tích bootstrap được thực hiện nhằm kiểm tra tính chính xác và độ tin cậy cho từng nhánh trong cây tiến hóa, được biểu diễn bằng tỷ lệ %. Nếu một nhóm cho giá trị từ 95% trở lên thì nhánh của nhóm này được cho là được ủng hộ mạnh mẽ [22].

```

      10      20      30      40      50      60
C.fistula; MG737426.1 GTGTCAGATGTACGAATACCCCTACCCCTATCCATCTGGAAATCTTGGTTCAAACCCCTCGA
matK- Cassia_TN      .....G..

      70      80      90     100     110     120
C.fistula; MG737426.1 TACTGGGTGAAAGATGCCTCTTCTTTTCATTTATTAAGGCTCTTCTTTATGAGTATTTT
matK- Cassia_TN      .....

     130     140     150     160     170     180
C.fistula; MG737426.1 AATTGGAATAGGAATAGTCTTATTACTCAAAAAAATGGGATTTCTACTTTTTCAAAAAGG
matK- Cassia_TN      .....

     190     200     210     220     230     240
C.fistula; MG737426.1 AATCCAAGATTATTCTGTTCTATATAATTTTATGTATGTGAATACGAATCTATCTTT
matK- Cassia_TN      .....

     250     260     270     280     290     300
C.fistula; MG737426.1 CTTTTCTCCGTAACAAATCTTCTATTACGATTAACATCTTCTGGAGTCCTTTTTGAG
matK- Cassia_TN      .....C.

     310     320     330     340     350     360
C.fistula; MG737426.1 CGAATCTATTTCTATGCAAAAAAGAACATTTTTTAAAAGTCTTTGATAAGGATTTTCCG
matK- Cassia_TN      .....C.

     370     380     390     400     410     420
C.fistula; MG737426.1 TCCACCCATGGTTCTTCAAGGACCCTTTCATTATTATGTTAGATATCAAGGAAAAATCC
matK- Cassia_TN      .....

     430     440     450     460     470     480
C.fistula; MG737426.1 ATTCTGGCTTCAAGAAATACGCCCTTTTTTGATGAATAAATGGAAATACTATCTTATCCAT
matK- Cassia_TN      .....

     490     500     510     520     530     540
C.fistula; MG737426.1 TTATGGCAATGTCAATTTTATGTTTGGTCTCAACCAGGAAAGATCCATATAAACCAATTA
matK- Cassia_TN      .....

     550     560     570     580     590     600
C.fistula; MG737426.1 TCCGAGCATTCATTTTACTTTTGGGCTATTTTCAAATGTGCGGCTAAATCCTTCAGTG
matK- Cassia_TN      .....

     610     620     630     640     650     660
C.fistula; MG737426.1 GTACGGAGTCAAATGCTGGAATAATCATTCTAATTGAAATGTATGAAAAGCTTGAT
matK- Cassia_TN      .....C.

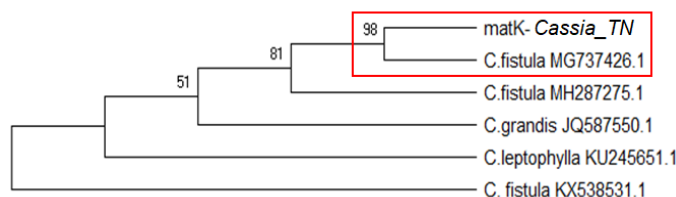
     670     680     690     700     710     720
C.fistula; MG737426.1 ACAATAATTCCAATTATTCCACTAATTAGATCATTGGCTAAAGCGAAATTTTGTAATGTA
matK- Cassia_TN      .....AT.

     730     740     750     760     770     780
C.fistula; MG737426.1 TTAGGGCATCCCATTAGTAAGCCGGTCTGGGCCGATTCCGATTTGGATATTATTGAC
matK- Cassia_TN      .....A.

     790     800     810
C.fistula; MG737426.1 CGATTTTTCGGAGATGCAGAAATCTTCTCATTAT
matK- Cassia_TN      .....

```

Hình 5. Trình tự nucleotide đoạn gene matK của cây muồng Hoàng yến và matK thuộc loài *C. fistula* (MG737426.1) trên GenBank



Hình 6. Sơ đồ hình cây mô tả mối quan hệ di truyền của mẫu muồng Hoàng yến TN dựa trên trình tự vùng gene *matK*

Hình 6 cho thấy, mặc dù đều có sự tương đồng về đoạn gene *matK* đạt trên 99%, song kết quả phân tích bằng phần mềm MEGAX với giá trị bootstrap của 1000 lặp lại cho thấy có sự khác biệt của các mẫu trên cây phát sinh chủng loại. Mẫu muồng Hoàng yến TN và loài *C. fistula* mang mã số MG737426.1 trên GenBank phân bố cùng một nhóm với độ tin cậy cao, hệ số bootstrap là 98%. Như vậy kết hợp các dữ liệu về hình thái, giải phẫu và trình tự gene *matK* cho thấy mẫu muồng Hoàng Yến TN thuộc loài *C. fistula*.

4. Kết luận

Mẫu cây muồng Hoàng yến thu tại Thái Nguyên có thân gỗ, hình tròn, vỏ cây màu xám. Thân chính lớn, mọc thẳng, cao đến 15 m, có nhiều cành. Lá muồng Hoàng yến thuộc kiểu lá kép chân vịt, dài 20-40 cm. Hoa mọc thành chùm ở nách lá, các bông hoa mọc so le nhau và nở không đều. Mỗi bông hoa đều có đài, tràng, bộ nhị và bộ nhụy. Bộ nhị 10. Bầu có cuống, uốn cong hình lưỡi liềm, núm nhụy nhỏ. Quả dạng đậu, chín có màu nâu đen, dài 20-60 cm, đường kính 1,5-2,5 cm. Mỗi quả nhiều hạt, ngăn cách nhau bởi vách ngăn; hạt hình bầu dục, dẹt, màu nâu bóng. Cấu tạo cắt ngang rễ phát hiện thấy tầng bần - tầng sinh vỏ - vỏ thứ cấp - gỗ thứ cấp. Cấu tạo thân, gân chính lá có biểu bì, mô dày, mô mềm, mô cứng, libe, gỗ, ruột. Vùng gene *matK* được khuếch đại từ cây muồng Hoàng yến có kích thước 816 nucleotide. Mẫu muồng Hoàng yến TN phân bố cùng nhóm với loài *C. fistula* trên cây phát sinh chủng loại với hệ số bootstrap là 98%.

Lời cảm ơn

Công trình được hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài cấp Cơ sở có mã số TNUE-2023-05 do trường Đại học Sư phạm- Đại học Thái Nguyên cấp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] T. L. Do, *Vietnamese medicinal plants and medicine taste* (in Vietnamese). Medical Publishing House, Hanoi, 2004.
- [2] M. Danish, P. Singh, G. Mishra, S. Srivastava, K. K. Jha, and R. L. Khosa, "Cassia fistula Linn. (Amulthus)- An important medicinal plant: A Review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties," *Scholars Research Library: J. Nat. Prod. Plant Resour.*, vol. 1, no.1, pp. 101-118, 2011.
- [3] K. Shashank and K. P. Abhay, "Chemistry and biological activities of flavonoid: An overview," *The Scientific World Journal*, vol. 2013, 2013, Art. no. 162750.
- [4] T. Bhakta, S. Banerjee, S. C. Mandal, T. K. Maity, B. P. Saha, and M. Pal, "Epatoprotective activity of Cassia fistula leaf extract," *Phytomedicine*, vol. 8, no. 3, pp. 220-224, 2001.
- [5] H. T. Vu, M. H. Bui, Q. L. Vu, T. D. Nguyen, H. Tran, H. T. Khuat, and L. Le, "Identification of Vietnamese Paphiopedilum Species Using Vegetative Morphology," *Annual Research & Review in Biology*, vol. 34, pp. 1-14, 2019.
- [6] Q. Xu, G. Q. Zhang, Z. J. Liu, and Y. B. Luo, "Two new species of Dendrobium (Orchidaceae: Epidendroideae) from China: Evidence from morphology and DNA," *Phytotaxa*, vol. 174, pp. 129-143, 2014.
- [7] T. T. H. Bui, X. A. Duong, H. C. Nguyen, T. A. Ngo, H. G. Dong, M. T. Ho, H. H. Chu, T. T. H. Tran, H. T. Khuat, and D. K. Tran, "Morphological characteristics and DNA barcoding in bach hop (*Lilium poilanei* Gagnep) in Vietnam," *Aust J Crop Sci*, vol. 16, pp. 471-478, 2022.

- [8] J. Vogel, T. Hübschmann, T. Börner, and W. R. Hess, "Splicing and intron-internal RNA editing of *trnK-matK* transcripts in barley plastids: support for MatK as an essential splice factor," *JMB*, vol. 270, no. 2, pp. 179-187, 1997.
- [9] K. Vijayan and C. Tsou, "DNA barcoding in plants: taxonomy in a new perspective," *Curr Sci (Bangalore)*, vol. 99, pp. 1530-1541, 2010.
- [10] P. M. Hollingsworth, L. L. Forrest, J. L. Spouge, M. Hajibabaei, S. Ratnasingham *et al.*, "DNA Barcode for Land Plants," *Proc Natl Acad Sci USA*, vol. 106, pp. 12794-12797, 2009.
- [11] T. S. Hoang and P. N. Nguyen, *Plant morphology and anatomy* (in Vietnamese). University of Education Publishers, 2008.
- [12] H. H. Pham, *An Illustrated Flora of Vietnam*, vol. 1, Ho Chi Minh City Youth Publishing House, 1999, p. 847.
- [13] S. Li *et al.*, "Flora of China (Fabaceae)," vol. 10, 2010. [Online]. Available: <https://www.FOC.Vol.10@efloras.org>. [Accessed Oct. 23, 2023].
- [14] J. J. Doyle and J. L. Doyle, "A Rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue," *Phytochem Bull*, vol. 19, pp. 11-15, 1987.
- [15] S. Ar. Dev, E. M. Muralidharan, P. Sujanalpal, and M. Balasundaran, "Identification of market adulterants in East Indian sandalwood using DNA barcoding," *Annals of Forest Science*, vol. 71, pp. 517-522, 2014.
- [16] H. M. Chu, P. H. Hoang, and H. Q. Nguyen, *Bioinformatics*. Thai Nguyen University Publishing House, 2019.
- [17] B. Divya and P. K. Karanth, "Cassia fistula isolate JD-018 maturase K (matK) gene, partial cds; chloroplast," *GenBank*: MG737426.1. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MG737426.1>. [Accessed Oct. 23, 2023].
- [18] M. Ali, and J. Hussain, "Cassia fistula voucher QRI 506 maturase K (matK) gene, partial cds; chloroplast," *GenBank*: MH287275.1. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MH287275.1>. [Accessed Oct. 23, 2023].
- [19] Biodiversity Institute of Ontario, University of Guelph, Canada "Cassia grandis voucher BioBot00633 maturase K (matK) gene, partialcds; chloroplast", *GenBank*: JQ587550.1. [Online] Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JQ587550.1>. [Accessed Oct. 23, 2023].
- [20] A.S. Conceicao, B. Marazzi, J. G. Rando, A. R. Barbosa, L. P. Queiroz, G. P. Lewis, and A. Bruneau, "Cassia leptophylla voucher Queiroz 12555 (HUEFS) tRNA-Lys (trnK) gene, intron; and maturase K (matK) gene, partial cds; chloroplast". *GenBank*: KU245651.1. [Online] Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KU245651.1>. [Accessed Oct. 23, 2023].
- [21] A. Bruneau, "Cassia fistula voucher Fougere 5 (MT) trnK gene, partial sequence; and maturase K (matK) gene, partial cds; chloroplast," *GenBank*: KX538531.1. [Online] Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KX538531.1>. [Accessed Oct. 23, 2023].
- [22] J. Felsenstein, "Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap," *Evolution*, vol. 39, pp. 783-791, 1985.