

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

NGUYỄN THỊ LOAN

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM THỰC VẬT HỌC  
VÀ ĐOẠN GEN *MATK/ITS* Ở CÂY Ô ĐÀU  
(*Aconitum carmichaelii* Debx.)

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

THÁI NGUYÊN - 2018

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM**

**NGUYỄN THỊ LOAN**

**NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM THỰC VẬT HỌC  
VÀ ĐOẠN GEN *MATK/ITS* Ở CÂY Ô ĐÀU  
(*Aconitum carmichaelii* Debx.)**

**Ngành: SINH HỌC THỰC NGHIỆM  
Mã ngành: 8.42.01.14**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC**

**Người hướng dẫn khoa học: TS. NGUYỄN THỊ NGỌC LAN**

**THÁI NGUYÊN - 2018**

## **LỜI CAM ĐOAN**

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi. Các kết quả nghiên cứu là trung thực và chưa được công bố ở bất cứ công trình nào khác.

*Thái Nguyên, tháng 4 năm 2018*

**Tác giả**

**Nguyễn Thị Loan**

## LỜI CẢM ƠN

Trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thiện luận văn này, em đã được tạo điều kiện và nhận được sự giúp đỡ quý báu từ thầy cô, cơ quan, bạn bè đồng nghiệp và gia đình.

Trước hết, em xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới TS. Nguyễn Thị Ngọc Lan, người hướng dẫn khoa học đã tận tâm chỉ bảo hướng dẫn em suốt quá trình nghiên cứu và hoàn thành luận văn này.

Em cũng xin gửi lời cảm ơn cảm ơn sâu sắc tới Quý thầy cô khoa Sinh học, Trường Đại học Sư Phạm - ĐH Thái Nguyên đã tận tình hướng dẫn, truyền dạy kiến thức cho em trong suốt khóa học.

Em xin gửi lời cảm ơn chân thành đến các thầy giáo, cô giáo trong Ban giám hiệu trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên, Hội đồng Khoa học của trường và Quý thầy, cô các phòng ban chức năng đã tạo điều kiện và giúp đỡ em trong suốt thời gian học tập tại trường.

Tôi cũng xin được chân thành cảm ơn Ban giám hiệu Trường Phổ thông Dân tộc nội trú tỉnh Quảng Ninh đã tạo điều kiện giúp đỡ cả về vật chất và tinh thần cho tôi trong quá trình học tập.

Và cuối cùng, xin được gửi lời cảm ơn chân thành tới các đồng nghiệp, bạn bè và gia đình đã luôn quan tâm, động viên, ủng hộ và giúp đỡ tôi.

Dù đã rất cố gắng, tuy nhiên không tránh khỏi những thiếu sót trong luận văn, rất mong nhận được những ý kiến đóng góp của Quý thầy/cô để luận văn thêm hoàn thiện.

*Thái Nguyên, tháng 4 năm 2018*

**Tác giả**

**Nguyễn Thị Loan**

# MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN .....	i
LỜI CẢM ƠN .....	ii
MỤC LỤC .....	iii
DANH MỤC NHỮNG TỪ VÀ CHỮ VIẾT TẮT .....	iv
DANH MỤC CÁC BẢNG .....	v
DANH MỤC CÁC HÌNH.....	vi
<b>MỞ ĐẦU .....</b>	<b>1</b>
1. Lý do chọn đề tài .....	1
2. Mục tiêu nghiên cứu .....	2
3. Nội dung nghiên cứu.....	2
<b>Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....</b>	<b>3</b>
1.1. Giới thiệu chung về cây Ô đầu .....	3
1.1.1. Phân loại cây Ô đầu .....	3
1.1.2. Nguồn gốc và phân bố của cây Ô đầu tại Việt Nam.....	3
1.1.3. Vai trò của cây Ô đầu .....	4
1.2. Phương pháp phân loại học phân tử .....	5
1.2.1. Giới thiệu về mã vạch DNA .....	5
1.2.2. Phân loại thực vật học bằng mã vạch DNA.....	6
1.3. Nghiên cứu sử dụng phân loại học phân tử .....	7
1.3.1. Nghiên cứu sử dụng phân loại học phân tử trên thế giới.....	7
1.3.2. Nghiên cứu sử dụng phân loại học phân tử ở Việt Nam .....	8
1.4. Sơ lược về gen <i>matK</i> và <i>ITS</i> .....	10
<b>Chương 2: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>13</b>
2.1. Vật liệu, hóa chất, thiết bị và địa điểm nghiên cứu .....	13
2.1.1. Vật liệu.....	13
2.1.2. Hóa chất và thiết bị.....	13
2.1.3. Địa điểm nghiên cứu.....	13
2.2. Phương pháp nghiên cứu .....	13

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu đặc điểm hình thái .....	13
2.2.2. Phương pháp nghiên cứu cấu tạo giải phẫu rễ, thân, lá .....	14
2.2.3. Phương pháp phân tử .....	15
<b>Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN.....</b>	<b>18</b>
3.1. Đặc điểm hình thái và cấu tạo giải phẫu của cây Ô đầu .....	18
3.1.1. Đặc điểm hình thái .....	18
3.1.2. Cấu tạo giải phẫu của cây Ô đầu .....	20
3.2. Kết quả phân lập đoạn gen <i>matK</i> và trình tự <i>ITS</i> .....	27
3.2.1. Nhận diện mẫu Ô đầu bằng mã vạch <i>matK</i> .....	27
3.2.2. Nhận diện mẫu Ô đầu bằng mã vạch <i>ITS</i> .....	31
<b>KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ.....</b>	<b>34</b>
1. Kết luận.....	34
2. Đề nghị.....	34
<b>DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ KẾT QUẢ NGHIÊN</b>	
<b>CỨU CỦA ĐỀ TÀI LUẬN VĂN.....</b>	<b>35</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO.....</b>	<b>36</b>
<b>PHỤ LỤC</b>	

## DANH MỤC NHỮNG TỪ VÀ CHỮ VIẾT TẮT

BOLD	:	The Barcode of Life Data System
BLAST	:	The Basic Local Alignment Search Tool
CIA	:	Chloroform : Isoamyl Alcohol Solution
CTAB	:	Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide
DNA	:	Deoxyribonucleic acid
DNA barcoding	:	Mã vạch DNA
EDTA	:	Ethylene diamine tetraacetic acid
Genbank	:	Ngân hàng gen
ITS	:	Internal Transcribed Spacer
Kb	:	Kilobase
matK	:	MaturaseK
NCBI	:	The National Center for Biotechnology Information
PCR	:	Polymerase Chain Reaction

## DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 2.1. Trình tự nucleotide của cặp mồi <i>ITS-F/ITS-R</i> và cặp mồi <i>matK-F/matK-R</i> .....	16
Bảng 2.2. Thành phần phản ứng PCR .....	16
Bảng 3.1. Hệ số tương đồng và hệ số phân ly dựa trên trình tự gen <i>matK</i> .....	30
Bảng 3.2. Bảng hệ số tương đồng và hệ số phân ly dựa trên trình tự vùng ITS2 .....	33



## DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Cấu trúc gen <i>matK</i> .....	10
Hình 1.2. Cấu trúc vùng gen <i>ITS</i> .....	11
Hình 3.1. Cây Ô đầu ( <i>Aconitum carmichaelii</i> Debx) .....	18
Hình 3.2. Cơ quan sinh sản của cây Ô đầu .....	19
Hình 3.3. Lớp biểu bì dưới của lá cây Ô đầu .....	21
Hình 3.4. Lớp biểu bì trên của lá cây Ô đầu .....	22
Hình 3.5. Cấu tạo sơ cấp cuống lá .....	22
Hình 3.6. Cấu tạo rễ cây Ô đầu .....	23
Hình 3.7. Cấu tạo sơ cấp thân cây Ô đầu .....	25
Hình 3.8. Kết quả điện di sản phẩm PCR nhân bản đoạn gen <i>matK</i> của mẫu cây Ô đầu .....	27
Hình 3.9. Kết quả phân tích bằng BLAST đoạn gen <i>matK</i> phân lập từ mẫu Ô đầu .....	28
Hình 3.10. Trình tự nucleotide đoạn gen <i>matK</i> của mẫu Ô đầu Hà Giang và của cây Ô đầu mang mã số KY407560 trên GenBanK .....	29
Hình 3.11. Sơ đồ hình cây mô tả mối quan hệ di truyền giữa các loài Ô đầu thuộc chi <i>Aconitum</i> dựa trên trình tự nucleotide của đoạn gen <i>matK</i> .....	30
Hình 3.12. Kết quả điện di kiểm tra sản phẩm PCR nhân bản vùng <i>ITS</i> từ hệ gen cây Ô đầu .....	31
Hình 3.13. Kết quả phân tích bằng BLAST đoạn DNA phân lập từ mẫu Ô đầu Quán Bạ, Hà Giang .....	32
Hình 3.14. Trình tự nucleotide vùng <i>ITS</i> của mẫu Ô đầu Quán Bạ, Hà Giang và của cây Ô đầu mang mã số KU041716 trên GenBanK .....	32
Hình 3.15. Sơ đồ hình cây mô tả mối quan hệ di truyền giữa các loài Ô đầu trong chi <i>Aconitum</i> dựa trên trình tự nucleotide của vùng <i>ITS</i> .....	33

## MỞ ĐẦU

### 1. Lý do chọn đề tài

Việt Nam là một nước có nguồn tài nguyên thực vật đa dạng và phong phú, đặc biệt là nguồn cây dược liệu. Trong đó, nhiều cây có giá trị làm thuốc nhưng cũng có độc tính, được xếp trong Danh mục dược liệu độc làm thuốc như Thầu dầu, Cà độc dược, Ô đầu ... Vì vậy, khi sử dụng những loại dược liệu này làm thuốc cần phải đặc biệt chú ý đến cách sử dụng, liều dùng, đối tượng dùng và phải được chế biến theo quy trình nghiêm ngặt, đúng kỹ thuật để đảm bảo an toàn cho người sử dụng.

Ô đầu, Phụ tử chứa những thành phần có độc tính cao nhưng vẫn được cho là những vị thuốc quý, đã được dùng khá phổ biến trong y dược học cổ truyền. Ô đầu là củ mẹ và Phụ tử là củ con của một số loài thực vật thuộc chi *Aconitum*. Hiện nay, chi *Aconitum* được nghiên cứu nhằm phát triển các sản phẩm theo hướng hiện đại, cũng như nâng cao hiệu quả sử dụng các loài thuộc chi này trong phòng và điều trị bệnh. Do đó, việc nghiên cứu đặc điểm thực vật học sẽ giúp tiêu chuẩn hóa dược liệu, minh chứng cho cách sử dụng Ô đầu và Phụ tử, đồng thời góp phần phát triển các dạng thuốc mới sử dụng trong điều trị và chăm sóc sức khỏe.

Theo phương pháp truyền thống, việc giám định loài thực vật và động vật chủ yếu dựa trên chỉ thị về hình thái. Phương pháp phân loại này trong nhiều trường hợp còn gặp nhiều khó khăn và hạn chế như: nhiều loài có hình thái rất giống nhau nhưng thực tế lại rất khác nhau trong hệ thống phân loại (hệ gen rất khác nhau); ngược lại nhiều loài có hình thái rất khác nhau nhưng lại rất gần nhau trong hệ thống phân loại (hệ gen rất giống nhau). Mặt khác, phương pháp phân loại truyền thống dựa trên các đặc điểm hình thái rất khó phân biệt được sự khác biệt giữa các biến dị dưới loài.

Gần đây nhờ vào sự phát triển của khoa học công nghệ nói chung và các kỹ thuật sinh học phân tử nói riêng đã giúp cho việc xác định nhanh chóng