

ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI VÀ DI TRUYỀN CỦA BA LOÀI THUỘC CHI TRINH NỮ (*Mimosa*)

Đỗ Thị Huỳnh Mai¹, Huỳnh Ngọc Hôn¹, Trần Gia Huy², Nguyễn Huỳnh Bích Liễu³,
 Trần Thanh Mến⁴ và Đỗ Tấn Khang^{2*}

¹Học viên cao học, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

²Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

³Khoa Y, Trường Đại học Nam Cần Thơ

⁴Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Đỗ Tấn Khang (email: dtkhang@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 28/04/2020

Ngày nhận bài sửa: 15/06/2020

Ngày duyệt đăng: 28/10/2020

Title:

Morphological and genetic characteristics of three species of *Mimosa* genus

Từ khóa:

Di truyền, đặc điểm hình thái, ITS, matK, *Mimosa*

Keywords:

Genetic relationship, ITS, matK, *Mimosa*, morphological characteristics

ABSTRACT

Mimosa is a large genus of about 400 species of herbs and shrubs belonging to the Fabaceae family (Leguminosae). Many common species of this genus were reported with several important biological activities including antibacterial, antifungal, anti-inflammation and antioxidant. This study is aimed to investigate morphological characteristics and genetic relationships among 3 species of *Mimosa* genus: *Mimosa pudica*, *Mimosa pigra* and *Mimosa diplotricha*. In this context, morphological characteristics indicated the similarities and differences of stems, leaves, flowers and fruits. It is also showed that all of three species have some typical traits of *Mimosa* genus such as stem with thorns, touched- sensitive leaves, light pink flowers and flowers are grouped into fluffy globular clusters. Individual characteristics of each species recorded show differences such as leaves, stems, flowers and fruits in size, color and shape. This study combined the morphological report with DNA barcoding data to improve the data. Phylogeny indicated that *Mimosa pigra* and *Mimosa diplotricha* are close relationship rather than *Mimosa pudica* based on ITS marker and matK sequences analysis.

TÓM TẮT

Mimosa là một chi lớn gồm khoảng 400 loài thảo mộc và cây bụi thuộc họ Fabaceae (Leguminosae). Nhiều loài phổ biến của chi này đã được báo cáo với một số hoạt động sinh học quan trọng bao gồm kháng khuẩn, kháng nấm, chống viêm và chống oxy hóa. Nghiên cứu được thực hiện nhằm khảo sát đặc điểm hình thái và mối quan hệ di truyền của 3 loài thuộc chi *Mimosa*: mắc cỡ (*Mimosa pudica*), mai dương (*Mimosa pigra*) và trinh nữ móc (*Mimosa diplotricha*). Trong nghiên cứu này, đặc điểm hình thái cho thấy sự giống nhau và khác nhau về đặc điểm thân, lá, hoa và quả. Nó cũng cho thấy rằng cả ba loài đều có một số đặc điểm chung của chi *Mimosa* như thân có gai, lá nhạy cảm, hoa màu hồng nhạt và hoa được nhóm lại thành cụm hình cầu mịn. Đặc điểm riêng của từng loài được ghi nhận cho thấy sự khác biệt như lá, thân, hoa và trái về kích thước, màu sắc và hình dạng. Nghiên cứu đã kết hợp báo cáo hình thái học với các kỹ thuật sinh học phân tử để cải thiện độ tin cậy của kết quả. Giản đồ phát sinh chủng loại chỉ ra rằng mai dương (*Mimosa pigra*) và trinh nữ móc (*Mimosa diplotricha*) có mối quan hệ chặt chẽ hơn là mắc cỡ (*Mimosa pudica*) dựa trên phân tích trình tự ITS và matK.

Trích dẫn: Đỗ Thị Huỳnh Mai, Huỳnh Ngọc Hôn, Trần Gia Huy, Nguyễn Huỳnh Bích Liễu, Trần Thanh Mến và Đỗ Tấn Khang, 2020. Đặc điểm hình thái và di truyền của ba loài thuộc chi trinh nữ (*Mimosa*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(5B): 78-86.

1 GIỚI THIỆU

Chi *Mimosa* là một chi thực vật lớn thuộc họ Đậu, hầu hết các loài thuộc chi *Mimosa* là thân thảo hoặc dưới nước, một số là dây leo, và một số ít là cây thân gỗ. Các loài trong chi này thường có gai. Trong đó, một số loài phổ biến của chi *Mimosa* tại Việt Nam như mắc cở (*Mimosa pudica*), mai dương (*Mimosa pigra*), trinh nữ móc (*Mimosa diplotricha*),... Đặc tính của các loài thuộc chi *Mimosa* là sinh trưởng và phát triển nhanh và xâm chiếm môi trường sống của thảm thực vật, đặc biệt là vùng đất ngập nước. Vì thế chúng đã được liệt kê vào danh sách thực vật xâm lấn ở một số quốc gia có khí hậu nhiệt đới và cận nhiệt đới (Setyawaty *et al.*, 2015).

Nhiều nghiên cứu cho thấy một số loài thuộc chi *Mimosa* có hoạt tính sinh học như kháng khuẩn của mắc cở (Kaur *et al.*, 2011), kháng nấm, kháng viêm (Kannan *et al.*, 2009) và kháng oxy hóa (Rakotomalala *et al.*, 2013), trong y học dân gian chúng còn được dùng để điều trị một số bệnh như nhiễm trùng, tiêu chảy (Islam *et al.*, 2015). Đối với chi *Mimosa*, ngoài những nghiên cứu về hoạt tính sinh học, việc nghiên cứu các đặc điểm hình thái, cũng như sự phân loại, phân tích mối quan hệ di truyền giữa các loài trong chi với nhau cũng đáng được quan tâm. Ngày nay, cùng với sự phát triển của các kỹ thuật sinh học phân tử, việc phân tích mối quan hệ di truyền giữa các loài được ứng dụng thông qua các vùng trình tự gene. Trong đó, ITS (internal transcribed spacers) và *matK* là hai trong số các vùng trình tự được sử dụng phổ biến. ITS là trình tự được sử dụng để nghiên cứu mức độ di truyền của hệ thống phân loại thực vật (Baldwin *et al.*, 1995). Trình tự ITS của DNA ribosome là các dấu phân tử quan trọng trong cây phát sinh loài (Blattner, 1999). rDNA chứa những vùng bảo tồn (18S, 28S, 5,8S) cũng như những vùng ít bảo tồn (ITS) và những vùng biến động hơn (IGS) (Gades and Bruns, 1993). Hai đầu vùng ITS là các trình tự bảo tồn cao, những primer (universal primer) được thiết kế từ những vùng này có thể được sử dụng để khuếch đại và giải trình tự vùng ITS (Gades and Bruns, 1993). Vùng ITS có kích thước nhỏ (600 – 700 bp) và trình tự lặp cao. Nhiều nghiên cứu chứng minh rằng vùng ITS có sự đa dạng cao trong việc phân biệt kiểu hình (Gades and Bruns, 1993).

Vùng *matK* là một trong những gene. ít bảo tồn của lục lạp, có ý nghĩa trong việc thiết lập hệ thống phân loại ở mức độ loài (Steele and Vilalys, 1994). Do *matK* tiến hoá nhanh và có mặt hầu hết trong thực vật nên đã được sử dụng như một chỉ thị trong

nghiên cứu mối quan hệ giữa các loài và phát sinh loài ở thực vật (Vijayan and Tsou, 2010).

Vì vậy, nghiên cứu được thực hiện nhằm khảo sát đặc điểm hình thái và mối quan hệ di truyền của 3 loài thuộc chi *Mimosa*.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Phương tiện

Thu 3 mẫu cây (mỗi mẫu 3 cây) bao gồm mai dương, mắc cở và trinh nữ móc thuộc chi *Mimosa* tại thành phố Cần Thơ. Chọn mẫu cây trưởng thành và ra hoa để thu đặc điểm hình thái. Vùng và địa điểm chọn thu mẫu đều có diện tích 3 mẫu cây. Địa điểm thu mẫu tại quận Bình Thủy, thành phố Cần Thơ.

Các hóa chất, thiết bị sử dụng trong ly trích và giải trình tự DNA được thực hiện tại Phòng thí nghiệm Sinh học Phân tử, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.

2.2 Phương pháp

2.2.1 Mô tả đặc điểm hình thái

Mô tả hình thái thực vật: Dựa vào phương pháp của Nguyễn Nghĩa Thìn (2006), các bộ phận mô tả bao gồm: thân, lá, hoa, quả và hạt.

Thân: Chiều dài mỗi lông tính từ mắt lông này đến khi vừa chạm đến mắt lông tiếp theo, số gai trên một lông, đường kính thân dùng thước kẹp đo ở giữa của lông gốc, hình dạng thân.

Lá: đặc điểm của lá, số lá chét trên một lá kép, kích thước lá, màu sắc.

Hoa: hình dạng, màu sắc và kích thước của hoa.

Quả: hình dạng, màu sắc và kích thước của quả.

2.2.2 Phân tích mối quan hệ di truyền

Trích DNA: Lá non của 3 loài thuộc chi *Mimosa* được thu để trích DNA theo quy trình của Rogers and Bendich (1988) và đã hiệu chỉnh theo Trần Nhân Dũng (2011).

Các mẫu DNA chất lượng tốt được dùng khuếch đại vùng ITS và *matK*. Mẫu DNA sau khi ly trích và được điện di để kiểm tra chất lượng và độ tinh sạch của DNA được sử dụng để thực hiện phản ứng PCR. Trình tự mỗi như sau: ITS1: 5' – TCCGTAGGTGAACCTGCGG – 3' (White *et al.*, 1990); ITS4: 5' – TCCTCCGCTTATTGATATGC – 3' (White *et al.*, 1990); *matK* - 390F: 5' – CGATCTATTCATTCAATATTTTC – 3' (Kyndt *et al.*, 2005); *matK* - 1326R: 5' – TCTAGCACACGAAAGTCGAAGT – 3' (Kyndt *et*

al., 2005). Thực hiện phản ứng PCR bằng máy PCR Bio-Rad C1000 để khuếch đại đoạn gen mục tiêu theo chu kỳ nhiệt sau: phản ứng PCR được biến tính ở 95°C trong 5 phút, sau đó lặp lại 35 chu kỳ với các bước (biến tính ở 95°C trong 30 giây, gắn mồi ở nhiệt độ 55°C trong 30 giây đối với ITS và 40 giây đối với *matK*, kéo dài ở 72°C trong 1 phút), giai đoạn ổn định được duy trì ở 72°C trong 7 phút. Cuối cùng mẫu được trữ ở 10°C.

Kiểm tra sản phẩm PCR trên gel agarose: Sau khi phản ứng PCR được thực hiện, sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5% có bổ sung Safe view. Sản phẩm PCR của các vùng gene sau khi khuếch đại và được giải trình tự. Sau đó được kiểm tra bằng công cụ BLAST trên NCBI để xác định các trình tự tương đồng. Dùng phần mềm BioEdit Sequence Alignment để xếp hàng (alignment) so sánh các trình tự tương đồng. Xếp hàng dựa trên phần mềm tích hợp ClustalW trong BioEdit (Thompson *et al.*, 1994).

Xây dựng giản đồ mối quan hệ di truyền: Các trình tự vùng gene ITS và *matK* được sử dụng để giản đồ mối quan hệ di truyền bằng phần mềm Mega 6.0.6 (Tamura *et al.*, 2013). Sau khi phân tích, giản đồ mối quan hệ di truyền thể hiện mức độ quan hệ di truyền giữa các loài thuộc chi *Mimosa*. Giản đồ mối quan hệ di truyền gồm những nhánh phân loại giống nhau dựa trên kết quả phân tích chỉ số bootstrap với 1.000 lần lặp lại (Felsenstein, 1985).

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

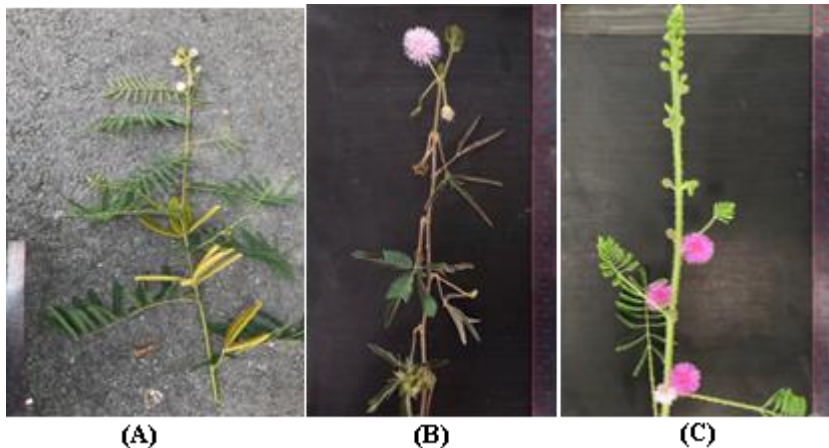
3.1 Kết quả phân tích đặc điểm hình thái

Đặc điểm chung của 3 loài nghiên cứu được ghi nhận như sau: lá kép lông chim, lá cây có tính nhạy cảm đặc trưng của chi *Mimosa* như thường khép lại vào ban đêm và khi bị chạm vào, thân có gai nhọn, hoa có màu hồng và được sắp xếp thành cụm hình cầu.

Mai dương có đặc điểm là cây thân bụi, cây trưởng thành có dạng thẳng đứng, chiều cao khoảng 3 – 6 m. Thân màu xanh lúc còn non và dần hóa thân gỗ với độ dài đến 3 m. Lá thuộc loại lá kép hình lông chim dài khoảng 25 – 30 cm, màu xanh đậm tương đồng với miêu tả trong nghiên cứu của Lonsdale, 1993 (Hình 1A).

Mắc cỡ có đặc điểm thân thảo đối với cây non hoặc bò trườn đối với cây trưởng thành, thân cây có thể dài tới 1,5 m. Thân cây màu nâu nhạt, hình trụ tròn, thân có gai nhọn tương đồng với kết quả nghiên cứu của Ahmad *et al.* (2012). Lá cây kép lông chim 2 lần chẵn, có từ 1 - 2 cặp lá thứ cấp, mỗi lá thứ cấp lại có từ 5 - 13 cặp lá chét (Hình 1B).

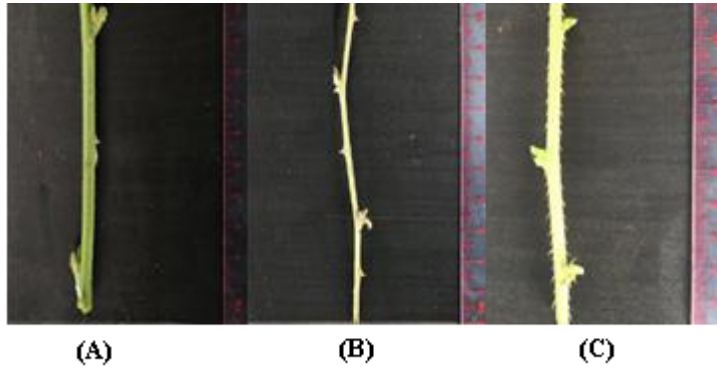
Trinh nữ móc có đặc điểm: là một loại cây bụi, có gai ở thân và lá, là một loài cây phân nhánh mạnh, mọc lộn xộn đan xen vào nhau, có thể cao từ 1 – 2 m. Lá kép lông chim hai lần chẵn và dài khoảng 14 – 17 cm, mỗi lá gồm 5 – 9 cặp lá kép nhỏ hình lông chim, dài 3 – 6 cm (Hình 1C).



Hình 1: Cây mai dương (A), mắc cỡ (B) và trinh nữ móc (C)

Bảng 1: Đặc điểm hình thái của thân mai dương, mắc cỡ và trinh nữ móc

Đặc điểm hình thái	Mai dương (<i>Mimosa pigra</i>)	Mắc cỡ (<i>Mimosa pudica</i>)	Trinh nữ móc (<i>Mimosa diplotricha</i>)
Gai	Có	Có	Có
Chiều dài lông	Thân hình trụ tròn, 8 – 10 cm có 4 – 5 gai nhọn ở mỗi lông	Thân hình trụ tròn, 6 – 7 cm có gai ở cuống lá và 1 gai ở giữa long	Thân hình ngũ giác có 5 hàng gai ở thân chính, 3 hàng gai ở nhánh, 3 hàng gai ở lá. Nhiều gai nhỏ và cong ngược (4 – 6 cm)
Đường kính thân	2,0 – 3,0 cm	0,2 – 0,4 cm	0,4 – 0,6 cm



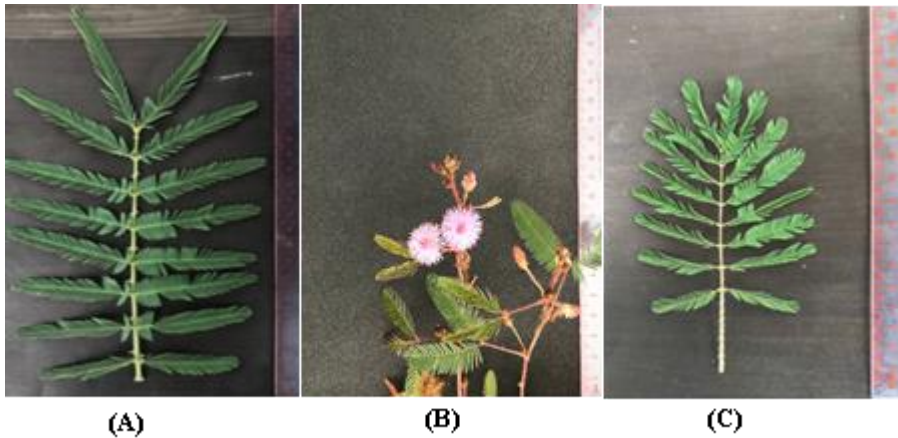
Hình 2: Đặc điểm hình thái thân của mai dương (A), mắc cỡ (B) và trinh nữ móc (C)

Đặc điểm hình thái cho thấy sự khác biệt về đường kính thân cây như mai dương có kích thước lớn hơn khoảng 2 – 3 cm (Bảng 1 và Hình 2A). Đường kính của mắc cỡ và trinh nữ móc không khác biệt lớn như mắc cỡ có đường kính thân từ 0,2 – 0,4 cm (Bảng 1 và Hình 2B) và trinh nữ móc có đường

kính thân từ 0,4 – 0,6 cm (Bảng 1 và Hình 2C). Nhưng về hình dạng thân của trinh nữ móc có hình ngũ giác với 5 hàng gai ở thân chính, 3 hàng gai ở nhánh, gai nhỏ và cong ngược dễ nhận diện để phân loại.

Bảng 2: Đặc điểm hình thái lá của mai dương, mắc cỡ và trinh nữ móc

Đặc điểm hình thái	Mai dương (<i>Mimosa pigra</i>)	Mắc cỡ (<i>Mimosa pudica</i>)	Trinh nữ móc (<i>Mimosa diplotricha</i>)
Đặc điểm lá	Lá kép lông chim hai lần	Lá kép lông chim hai lần	Lá kép lông chim hai lần
Số lá chét/ 1 lá kép	7 – 9 cặp lá chét/ 1 lá kép	1 – 2 cặp lá chét/ 1 lá kép	5 – 9 cặp lá chét/ 1 lá kép
Số lá chét cấp 2/ 1 lá chét	37 – 39 cặp lá chét cấp 2/ 1 lá chét	17 – 21 cặp lá chét cấp 2/ 1 lá chét	24 – 26 cặp lá chét cấp 2/ 1 lá chét
Kích thước	Chiều dài tính từ cuống lá đến chóp lá là 25 – 30 cm	Chiều dài tính từ cuống lá đến chóp lá là 6 – 10 cm	Chiều dài tính từ cuống lá đến chóp lá là 14 – 17 cm
Màu sắc	Xanh	Xanh	Xanh



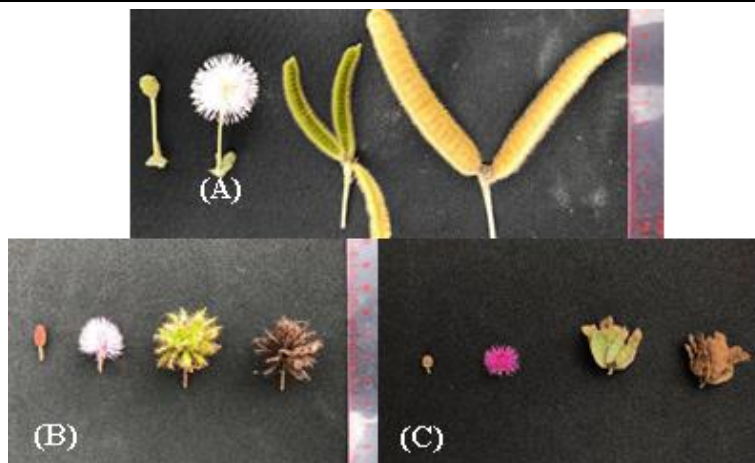
Hình 3: Đặc điểm hình thái về lá của mai dương (A), mắc cỡ (B) và trinh nữ móc (C)

Đặc điểm hình thái cho thấy sự khác biệt về lá như mai dương có kích thước lá từ 25 – 30 cm khác biệt lớn so với kích thước của hai loài cùng nghiên cứu (Bảng 2 và Hình 3A). Kích thước lá lần lượt là

mắc cỡ (6 – 10 cm) và trinh nữ móc (14 – 17 cm) (Bảng 2 và Hình 3B, 3C). Đặc điểm khác biệt là chỉ có mắc cỡ có từ 1 – 2 cặp lá chét trên một lá kép (Bảng 2).

Bảng 3: Đặc điểm hình thái về hoa và quả của mai dương, mắc cỡ và trinh nữ móc

	Đặc điểm hình thái	Mai dương (<i>Mimosapigra</i>)	Mắc cỡ (<i>Mimosa pudica</i>)	Trinh nữ móc (<i>Mimosa diplotricha</i>)
Hoa	Hình dạng	Hồng	Hồng	Hồng đậm
	Màu sắc	Dạng tia chụm lại thành hình cầu	Dạng tia chụm lại thành hình cầu	Dạng tia chụm lại thành hình cầu
	Kích thước	2,0 – 2,5 cm	1 – 1,2 cm	1 – 1,2 cm
Quả	Hình dạng	Đẹt, quả có nhiều lông mịn và là quả nang tự khai	Đẹt, có lông dài và mỗi quả chia làm 3 ngăn chứa hạt	Đẹt, có lông tơ ngắn phân bố đều trên bề mặt quả, mỗi quả chia thành 5 - 6 ngăn chứa hạt
	Màu sắc	Màu xanh khi còn non và màu nâu khi đã già	Màu xanh khi còn non và màu nâu khi đã già	Màu xanh khi còn non và màu nâu khi đã già
	Kích thước	Dài: 18 – 20 cm	Dài 1,5 – 2 cm	Dài 2,0 – 2,5 cm



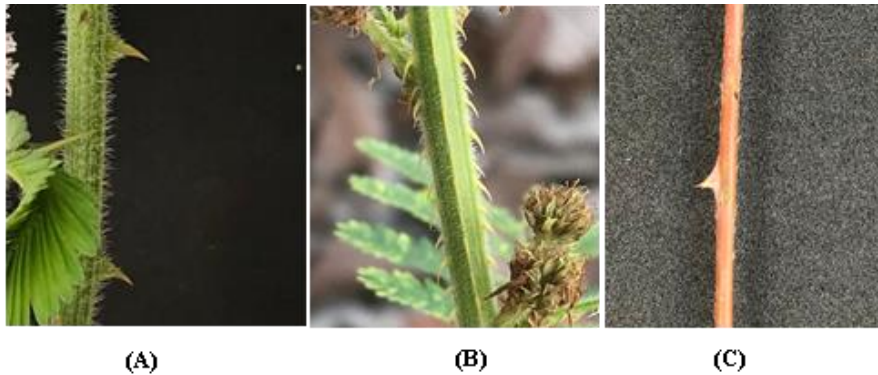
Hình 4: Đặc điểm hình thái hoa và trái của mai dương (A), mắc cỡ (B) và trinh nữ móc (C)

Ngoài những đặc điểm chung của hoa thuộc chi *Mimosa* như dạng tia chụm lại thành hình cầu. Đặc

điểm hình thái cho thấy sự khác biệt về hoa như kích thước hoa của mai dương từ 2,0 – 2,5 cm lớn hơn so

với hai loài trong nghiên cứu với màu hồng nhạt (Bảng 3 và Hình 4A). Kích thước hoa của mắc cỡ và trinh nữ móc gần như giống nhau từ 1 – 1,2 cm rất

khó phân biệt được. Nhưng về màu sắc của hoa thì trinh nữ móc có màu hồng đậm hơn so với hai loài còn lại (Bảng 3 và Hình 4C).



Hình 5: Đặc điểm phân bố gai trên thân của mai dương, trinh nữ móc và mắc cỡ

Đặc điểm phân bố gai trên thân của mai dương, trinh nữ móc và mắc cỡ cho thấy sự khác biệt rõ rệt như mai dương thân có kích thước lớn hơn với mỗi lông dài khoảng 10 cm với 4 – 5 gai nhọn. Theo nghiên cứu của Lonsdale *et al.* 1995, mỗi nách lá của mai dương có gai nhọn và cong ngược (Hình 5A). Trinh nữ móc có đặc điểm thân đặc biệt như thân hình ngũ giác có 5 hàng gai ở thân chính, 3 hàng gai ở nhánh, 3 hàng gai ở lá, nhiều gai nhỏ và cong ngược. Điều này tương tự với nghiên cứu của Ekhtor *et al.* (2013), trinh nữ móc có đặc điểm thân hình góc cạnh và có gai (Hình 5B). Mắc cỡ có đặc điểm thân hình trụ tròn, mỗi lông dài khoảng 5 – 7 cm có gai ở cuống lá và 1 gai ở giữa lông (Hình 5C).

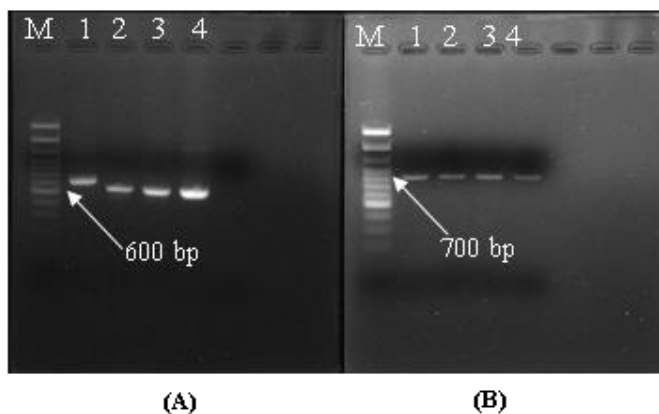
Từ những đặc điểm hình thái có thể giúp phân biệt 3 loài thuộc chi *Mimosa*, cho thấy sự giống nhau và khác nhau về đặc điểm thân, lá, hoa và quả. Từ đó kết hợp với việc nhận diện bằng kỹ thuật sinh học phân tử góp phần nâng cao độ tin cậy của kết quả.

3.2 Kết quả phân tích đặc điểm di truyền

Trình tự ITS của 3 loài trên cơ sở dữ liệu NCBI được sử dụng để làm trình tự tham khảo. Kết quả phân tích mối quan hệ về mặt di truyền của 3 loài thuộc chi *Mimosa*.

DNA tổng số sau khi tách chiết được kiểm tra chất lượng thông qua điện di trên gel agarose 0.8%. Kết quả kiểm tra cho thấy DNA thu được có chất lượng tốt, DNA không bị đứt gãy, các băng vạch đều sáng rõ, đảm bảo độ tinh sạch cho các bước tiếp theo.

DNA tổng số sau đó được sử dụng trong phản ứng PCR khuếch đại các vùng trình tự mục tiêu theo từng chu kỳ phản ứng. Kết quả điện di sản phẩm PCR cho thấy không xuất hiện băng DNA phụ, sản phẩm PCR khuếch đại các vùng gene được tinh sạch và giải trình tự nucleotide (Hình 6).



Hình 6: Kết quả kiểm tra sản phẩm PCR của môi ITS (A) và môi *matK* (B)

(M: thang chuẩn, 1: đối chứng (+), 2: mẫu mai dương, 3: mẫu mắc cỡ, 4: mẫu trinh nữ móc)

3.2.1 Kết quả phân tích vùng trình tự ITS

Trình tự ITS của 3 loài trên cơ sở dữ liệu NCBI được sử dụng để làm trình tự tham khảo. Kết quả phân tích mối quan hệ về mặt di truyền của 3 loài thuộc chi *Mimosa*.

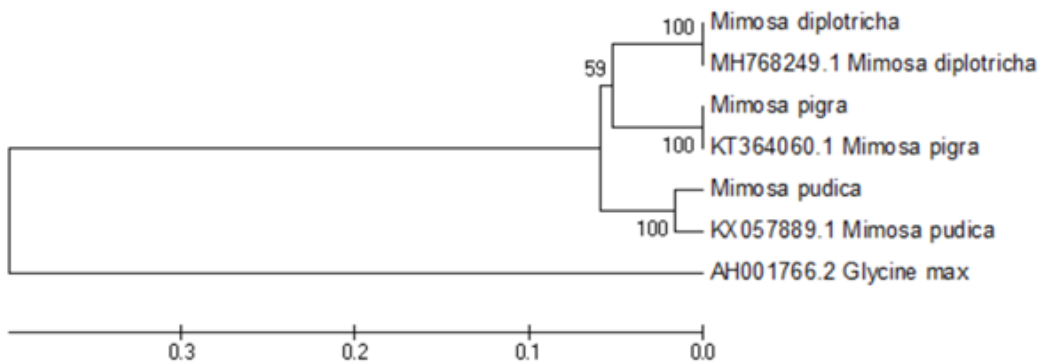
Kết quả giải trình tự vùng gene ITS của mẫu mai dương có chiều dài là 608 nucleotide. Trình tự đã được xác định từ vùng gene ITS của mẫu mai dương có 608 nucleotide, nhưng chỉ sử dụng 568 nucleotide có tính hiệu ổn định để so sánh với các trình tự trong cơ sở dữ liệu GenBank của NCBI. Kết quả so sánh trình tự vùng gene ITS của mẫu mai dương với trình tự gene của các loài khác trong cơ sở dữ liệu GenBank của NCBI bằng công cụ BLAST cho thấy, trình tự vùng gene ITS của mẫu mai dương có độ tương đồng cao nhất với trình tự của loài *Mimosa pigra* KT364060.1 (Simon *et al.*, 2016) là 99,65%.

Kết quả giải trình tự vùng gene ITS của mẫu mắc cỡ có chiều dài là 674 nucleotide. Trình tự đã được xác định từ vùng gene ITS của mẫu mắc cỡ có 674 nucleotide, nhưng chỉ sử dụng 634 nucleotide có tính hiệu ổn định để so sánh với các trình tự trong cơ sở dữ liệu GenBank của NCBI. Kết quả so sánh

trình tự vùng gene ITS của mẫu mắc cỡ với trình tự gene của các loài khác trong cơ sở dữ liệu GenBank của NCBI bằng công cụ BLAST cho thấy, trình tự vùng gene ITS của mẫu mai dương có độ tương đồng cao nhất với trình tự của loài *Mimosa pudica* KX057889.1 (Oshingboye, 2017) là 90,71%.

Kết quả giải trình tự vùng gene ITS của mẫu trinh nữ móc có chiều dài là 616 nucleotide. Trình tự đã được xác định từ vùng gene ITS của mẫu trinh nữ móc có 616 nucleotide, nhưng chỉ sử dụng 596 nucleotide có tính hiệu ổn định để so sánh với các trình tự trong cơ sở dữ liệu GenBank của NCBI. Kết quả so sánh trình tự vùng gene ITS của mẫu trinh nữ móc với trình tự gene của các loài khác trong cơ sở dữ liệu GenBank của NCBI bằng công cụ BLAST cho thấy, trình tự vùng gene ITS của mẫu trinh nữ móc có độ tương đồng cao nhất với trình tự của loài *Mimosa diplotricha* MH768249.1 (Li *et al.*, 2018) là 99,65%.

Kết quả của 3 loài nghiên cứu so với trình tự trong cơ sở dữ liệu của NCBI cho thấy độ tương đồng đều trên 90%. Kết hợp cùng với khảo sát đặc điểm hình thái cho thấy 3 loài nghiên cứu đều thuộc chi *Mimosa*.



Hình 7: Giản đồ phát sinh chủng loại dựa trên trình tự vùng ITS của 3 mẫu nghiên cứu so với cơ sở dữ liệu của NCBI

Giản đồ cho thấy 3 loài được so sánh dựa trên trình tự vùng ITS đều thuộc chi *Mimosa* bao gồm 2 nhánh chính: nhánh I và nhánh II. Nhánh I bao gồm 2 nhánh phụ, nhánh phụ 1 bao gồm 2 nhánh là nhóm mai dương (*Mimosa pigra*) và nhóm trinh nữ móc (*Mimosa diplotricha*). Trong nhóm mai dương bao gồm mẫu *Mimosa pigra* và KT364060.1 *Mimosa pigra* không khác biệt về số nucleotides với chỉ số bootstrap là 100. Trong nhóm trinh nữ móc bao gồm 2 loài thuộc chi *Mimosa* không có khác biệt về số nucleotides với chỉ số bootstrap là 100%. Giữa

nhóm mai dương và nhóm trinh nữ móc khác biệt nhau là 50 nucleotides với chỉ số bootstrap là 59. Trong nhánh phụ 2 là nhóm mắc cỡ giữa mẫu *Mimosa pudica* và KX057889.1 *Mimosa pudica* khác biệt nhau 20 nucleotides với chỉ số bootstrap là 100.

3.2.2 Kết quả phân tích vùng trình tự matK

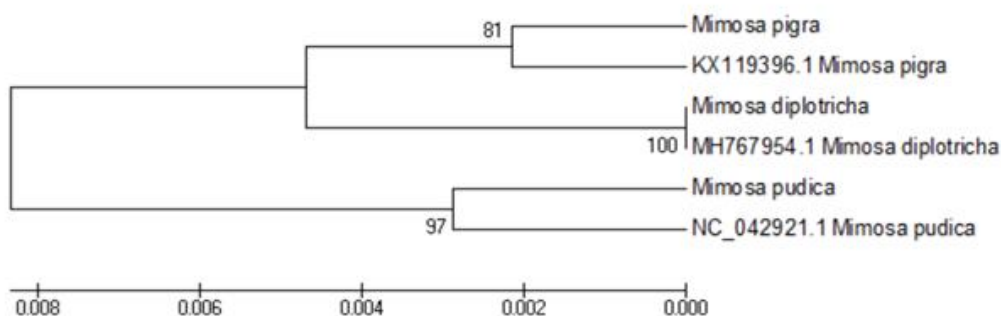
Giản đồ cho thấy 3 loài nghiên cứu so sánh dựa trên trình tự vùng matK đều thuộc chi *Mimosa* bao gồm 2 nhánh chính: nhánh I và nhánh II. Nhánh I

bao gồm hai nhánh phụ, nhánh phụ 1 (mẫu mai dương (*Mimosa pigra*) và KX119396.1 *Mimosa pigra*) và nhánh phụ 2 (Trinh nữ móc (*Mimosa*

diplotricha) và MH767954.1 *Mimosa diplotricha*). Nhánh 2 bao gồm mẫu mắc cỡ (*Mimosa pudica*) và NC_042921.1 *Mimosa pudica* (Hình 8).

Bảng 4: Kết quả phân tích vùng trình tự *matK* của 3 loài thuộc chi *Mimosa*

Trình tự	Độ dài trình tự	Độ tương đồng (%)	Trình tự tương đồng cao nhất
Mai dương	608 nucleotides	99,30%	KX119396.1 <i>Mimosa pigra</i> (Oshingboye, 2017)
Mắc cỡ	731 nucleotides	99,03%	NC_042921.1 <i>Mimosa pudica</i> (Yang et al., 2018)
Trinh nữ móc	606 nucleotides	99,31%	MH767954.1 <i>Mimosa diplotricha</i> (Li et al., 2018)



Hình 8: Giản đồ phát sinh chủng loại dựa trên trình tự vùng *matK* của 3 mẫu nghiên cứu 3 mẫu nghiên cứu so với cơ sở dữ liệu của NCBI

Trong nhóm I, 2 loài mai dương trong nhánh phụ 1 khác biệt nhau là 2 nucleotides với chỉ số bootstrap là 81, 2 loài trinh nữ móc trong nhánh phụ 2 tương đồng nhau không có khác biệt với chỉ số bootstrap là 100. Nhóm mai dương và nhóm trinh nữ khác biệt nhau 4 nucleotides. Trong nhóm II, 2 loài mắc cỡ khác biệt nhau là 3 nucleotides với chỉ số bootstrap 97.

4 KẾT LUẬN

Kết quả khảo sát hình thái cho thấy những đặc điểm giống nhau đặc trưng 3 loài (mai dương, mắc cỡ và trinh nữ móc) trong cùng một chi có những đặc điểm riêng để phân biệt các loài khác nhau. Kết hợp giữa đặc điểm hình thái và đặc điểm di truyền của 3 loài trên cho thấy mối quan hệ di truyền giữa các loài trong cùng một chi *Mimosa* và giúp phân biệt giữa 3 loài với nhau. Dựa vào giản đồ phát sinh chủng loại cho thấy mai dương và trinh nữ móc có mối quan hệ di truyền gần hơn so với mắc cỡ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ahmad, H., Sehgal, S., Mishra, A., and Gupta, R., 2012. *Mimosa pudica* L.(Laajvanti): an overview. Pharmacognosy reviews, 6(12): 115-124.

Baldwin, B.G., Sanderson M.J., Porter, J.M., Wojciechowski, M.F., Campbell C.S. and Donoghue, M.J., 1995. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. Annals of the Missouri Botanical Garden, 82(2): 247-277.

Blattner, F.R., 1999. Direct amplification of the entire ITS region from poorly preserved plant material using recombinant PCR. BioTechniques, 27(6): 1180-1186.

Ekhaton, F., Uyi, O.O., Ikuenobe C.E., and Okeke, C.O., 2013. The distribution and problems of the invasive alien plant, *Mimosa diplotricha* C. Wright ex Sauvalle (Mimosaceae) in Nigeria. American Journal of Plant Sciences, 4(04): 866.

Felsenstein, J., 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. Evolution, 39(4): 783-791.

Gardes, M. and Bruns, T.D., 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes – Application for the identification of mycorrhizae and ruts. Molecular Ecology, 2: 113-118.

Islam, M.T., Ferdous, J., Sultana, I., Riaz T.A., and Sultana, N., 2015. Non-clinical and pre-clinical pharmacological investigations of *Mimosa diplotricha*. Boletim Informativo Geum, 6(4): 72.

- Kannan, S., Jesuraj, S.A.V., Kumar, E.S.J., *et al.*, 2009. Wound healing activity of *Mimosa pudica* Linn formulation. *Inter Journal Pharmtech Research*, 1(4): 1554-1558.
- Kaur, P., Kumar, N. and Shivan, T.N., 2011. Phytochemical screening and antimicrobial activity of the plant extracts of *Mimosa pudica* L. against selected microbes. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(22): 5356-5359.
- Kyndt, T., Droogenbroeck, B.V., Rromeijn-Peeters, E., *et al.*, 2005. Molecular phylogeny and evolution of Caricaceae based on rDNA Internal Transcribed space (ITS) and chloroplast sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37: 442-459.
- Li, S., Qian, X., Zheng, Z., *et al.*, 2018. DNA barcoding the flowering plants from the tropical coral islands of Xisha (China). *Ecology and evolution*, 8(21), 10587-10593.
- Lonsdale, W. M., 1993. Rates of spread of an invading species - *Mimosa pigra* in northern Australia. *Journal of Ecology*, 81(3): 513-521.
- Nguyễn Nghĩa Thìn, 2006. Các phương pháp nghiên cứu thực vật. NXB Giáo dục.
- Oshingboye, A. D., 2017. Molecular Characterization and DNA Barcoding of Arid-Land Species of Family Fabaceae in Nigeria (Doctoral dissertation). University of Lagos Library and Information Service.
- Rakotomalala, G., Agard, C., Tonnerre, P., *et al.*, 2013. Extract from *Mimosa pigra* attenuates chronic experimental pulmonary hypertension. *Journal of Ethnopharmacology*, 148(1): 106-116.
- Rogers, S. O., and Bendich, A. J., 1989. Extraction of DNA from plant tissues. *In: Gelvin, S.B.* (Ed.). *Plant molecular biology manual*, 73-83.
- Setyawaty, T., Narulita, S., Bahri I.P. and Rahario, G.T., 2015. A guide book to in vasive plant species in Indonesia. Research, development and Innovation Agency. Ministry of Enviroment and Forestry.
- Steele, K.P. and Vilgalys, R., 1994. Phylogenetic analyses of Polemoniaceae using nucleotide sequences of the plastid gene *matK*. *Systematic Botany*, 126-142.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski A. and Kumar, S., 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12): 2725-2729.
- Thompson, J.D., Higgins D.G. and Gibson, T.J., 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22(22): 4673-4680.
- Trần Nhân Dũng, 2011. Sổ tay thực hành Sinh học phân tử. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ. 169 trang
- Vijayan, K., and Tsou, C. H., 2010. DNA barcoding in plants: taxonomy in a new perspective. *Current Science*, 99(11): 1530-1541.
- White, T.J., Bruns T., Lee S.J.W.T. and Taylor, J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, 18(1): 315-322.
- Yang, X., Qian, X., and Wang, Z., 2018. The complete chloroplast genome of *Mimosa pudica* and the phylogenetic analysis of mimosoid species. *Mitochondrial DNA Part B*, 3(2): 1265-1266.