

Construction of gene targeting CRISPR/Cas9 vector for genetic mutation inducing on tomato *ADH* genes

Le Thi Hoa, Nguyen Thi Lan Hoa, Dong Huy Gioi, Nguyen Thi Thanh Thuy, Roland Schaffleitner

Abstract

CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat) cas9 system is a novel technique for genome editing. In this study, two guideRNA (gRNA) sequences targeted in two exon 2 and exon 4 of *alcohol dehydrogenase ADH2-4* and *ADH2-6* genes, respectively, were reconstructed into vector pKSE401 carrying Cas9-expression cassette. Two reconstructed plasmids *pKSE401-ADH2-4* and *pKSE401-ADH2-6* were also successfully cloned in *A. tumefaciens* strain GV3101. These systems are in handy for the next step of transformation to tomato explants.

Key words: gRNA, CRISPR/Cas9, *alcohol dehydrogenase*, tomato

Ngày nhận bài: 12/11/2016

Ngày phản biện: 17/11/2016

Người phản biện: TS. Trần Danh Sừ

Ngày duyệt đăng: 21/11/2016

NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG HÀM LƯỢNG AMYLOSE VÀ MỘT SỐ TÍNH TRẠNG CHÍNH CỦA TẬP ĐOÀN LÚA CAO SẢN VÀ LÚA MÙA

Hồ Văn Được¹, Nguyễn Thị Lang¹, Trần Thị Thanh Xà², Nguyễn Thị Thảo Nguyên³, Bùi Chí Bửu³

TÓM TẮT

Việc chọn lọc cây bố mẹ là một trong những bước đầu quan trọng và quyết định đến sự thành công của phương pháp lai tạo ra giống lúa mới. Do đó, để tài được thực hiện nhằm đánh giá mức độ đa dạng giữa 70 giống lúa cao sản và 88 giống lúa mùa trong ngân hàng gen của Viện Lúa Đồng Bằng sông Cửu Long bằng phương pháp đánh giá hình thái và các phương pháp sinh hóa (hàm lượng amylose và đặc tính nông học). Kết quả cho thấy 70 giống lúa cao sản được chia thành 3 nhóm: nhóm I (có TGST <90 ngày), nhóm II (có TGST từ 90-100 ngày), nhóm III (có TGST >100 ngày). Bên cạnh đó, nhóm lúa mùa cũng được chia thành 3 nhóm: nhóm I (có TGST từ 98-114 ngày), nhóm II (có TGST từ 115-127 ngày), nhóm III (có TGST từ 128-136 ngày). Tuy nhiên, hàm lượng amylose của các giống lúa trong cùng nhóm cũng tương đối khác nhau.

Từ khóa: Cây lúa, lúa mùa, lúa cao sản, tính trạng hàm lượng amylose, đa dạng di truyền.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo Vaughan (1994) thì chi *Oryza* có 22 loài, tuy nhiên, chỉ có *O. sativa* và *O. glaberrima* được sử dụng trong canh tác. Hiện nay, loài *O. glaberrima* chỉ được trồng ở một số quốc gia Tây Phi và đang được thay thế dần bởi *O. sativa* (De Datta, 1981). Theo đặc tính sinh lý, nói chung, lúa là cây ngày ngắn, là loại thực vật chỉ cảm ứng ra hoa và kết hạt trong cả điều kiện ngày ngắn và ngày dài, chỉ một số giống phản ứng chặt với ánh sáng ngày ngắn), việc xử lý ngày dài có thể ngăn chặn hoặc trì hoãn sự ra hoa (Vergara and Cheng, 1985). Tuy nhiên, phản ứng đối với quang kỳ thay đổi tùy theo giống lúa. Dựa vào mức độ cảm ứng đối với quang kỳ, người ta chia thành hai nhóm lúa chính là nhóm cảm quang và nhóm không cảm quang (Nguyễn Ngọc Đệ, 2008). Dựa vào thời gian sinh trưởng, các giống lúa ở hai nhóm này lại được

chia thành các nhóm nhỏ hơn. Nghiên cứu đa dạng di truyền tính trạng hàm lượng amylose cũng là cơ sở khoa học chọn ra các cặp bố mẹ phù hợp để tạo ưu thế lai phục vụ cho việc chọn, tạo giống lúa chất lượng cao. Do đó, để tài được thực hiện nhằm đánh giá sự đa dạng di truyền của các giống lúa cao sản và lúa mùa trong ngân hàng gen của Viện Lúa Đồng Bằng Sông Cửu Long để chọn lựa thể hệ bố mẹ phục vụ cho công tác lai tạo giống mới.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Bộ giống lúa gồm 70 giống lúa cao sản và 88 giống lúa mùa từ Viện Lúa Đồng Bằng Sông Cửu Long (Bảng 1) và 4 giống đối chứng IR50404, IR64, Jasmine 85, Nếp OM7348.

¹ Trường Đại học Cần Thơ; ² Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long

³ Viện Khoa học kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam

Bảng 1. Danh sách 70 giống lúa cao sản trong nghiên cứu

Mã số giống	Tên giống	Mã số giống	Tên giống	Mã số giống	Tên giống
A1	AS996	A25	OM6328	A49	TLR393
A2	Cần Thơ 2	A26	OM6526	A50	TLR394
A3	Cần Thơ 3	A27	OM6564	A51	TLR395
A4	OM10000	A28	OM6707	A52	TLR397
A5	OM10029	A29	OM6840	A53	TLR402
A6	OM10040	A30	OM6842	A54	TLR444
A7	OM10041	A31	OM6976	A55	TLR456
A8	OM10042	A32	OM70L	A56	TLR457
A9	OM10043	A33	OM7340	A57	TLR458
A10	OM10050	A34	OM7341	A58	TLR459
A11	OM10105	A35	OM7345	A59	TLR460
A12	OM10236	A36	OM7347	A60	TLR461
A13	OM10252	A37	OM7L	A61	TLR462
A14	OM10258	A38	OM8108	A62	TLR463
A15	OM10357	A39	OM8370	A63	TLR464
A16	OM10373	A40	OM8900	A64	TLR465
A17	OM10383	A41	OM8901	A65	TLR594
A18	OM10385	A42	OMCS2012	A66	TLR601
A19	OM10396	A43	TLR138	A67	TLR602
A20	OM10418	A44	TLR204	A68	TLR604
A21	OM10450	A45	TLR368	A69	TLR605
A22	OM3673	A46	TLR369	A70	TLR606
A23	OM5930	A47	TLR390		
A24	OM6073	A48	TLR392		

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân tích hàm lượng amylose

Định lượng amylose theo phương pháp của Seko (2003), hạt lúa được bóc vỏ, xát trắng, nghiền nhỏ. Lấy 100 mg bột đã nghiền, bổ sung vào 1ml Ethanol 95%, 9 ml NaOH 1N. Đun sôi ở 100°C trong 10 phút và định mức cho đủ 100 ml. Lấy 5 ml dung dịch hoà tan, cho thêm 1 ml CH₃COOH 1M, 2 ml dung dịch iodine. Định mức cho đủ 100 ml, giữ ấm ở 30°C trong thời gian 20 phút rồi đo OD ở bước sóng 620 nm trên máy đo quang phổ và đọc giá trị. Đối chiếu bằng quy đổi tìm ra hàm lượng amylose. Phân nhóm hàm lượng amylose theo tiêu chuẩn IRRI (1996).

2.2.2. Phương pháp đánh giá một số chỉ tiêu nông học

Bố trí thí nghiệm theo phương pháp khối hoàn toàn ngẫu nhiên 3 lần lặp lại trong vụ Xuân Hè 2014 tại Viện lúa Đồng bằng sông Cửu Long. Các chỉ tiêu theo dõi trên đồng ruộng được đánh giá theo tiêu chuẩn “Đánh giá nguồn gen cây lúa” của IRRI (1996).

Các số liệu phân tích thống kê bằng chương trình Excel. Hệ số tương đồng di truyền Jaccard theo phương pháp UPGMA được tính bằng phần mềm NTSYSpc 2.1 để đánh giá sự đa dạng di truyền và phân nhóm (cây di truyền) các mẫu giống lúa nghiên cứu dựa trên 14 tính trạng nông học (thời gian sinh trưởng - TGST, chiều cao cây, số bông/bụi, số hạt lép/bông, số hạt chắc/bông, tỉ lệ hạt lép/bông, khối lượng 1000 hạt, năng suất).

Bảng 2. Danh sách 89 giống lúa mùa trong nghiên cứu

Mã số giống	Tên giống	Mã số giống	Tên giống	Mã số giống	Tên giống
B1	13	B31	Lúa 56	B61	Nếp thái
B2	16	B32	Lúa nao	B62	Nếp trắng
B3	17	B33	Lúa onkaso	B63	Nông nghiệp châu đốc
B4	Ba đồng	B34	Lúa pka Knhây	B64	Ngọc nữ
B5	Ba lê	B35	Lúa Quảng	B65	Nhỏ đỏ
B6	Ba Mia	B36	Lúa Sari	B66	Nhỏ đỏ mái
B7	Base	B37	Lúa Thnom	B67	Nhỏ hương
B8	Bát ngát	B38	Lùn đỏ	B68	Nhỏ thơm
B9	Bay đơm	B39	Lùn trắng kiên giang	B69	Nhỏ thước
B10	Biệt cá trôn	B40	Lùn vàng	B70	Phka Molias
B11	Bonh tia meat	B41	Mashuri	B71	Rẻ hành trắng
B12	Bông sen	B42	Mi Ba Tơ Bô	B72	Rẻ hành vàng
B13	C10	B43	Một bụi chum	B73	Reang cháy
B14	Chệt xanh	B44	Một bụi đỏ	B74	Ronh teas phtuk # 3
B15	Chín tèo	B45	Một bụi đỏ cao	B75	Siminsos
B16	Chip lẹ	B46	Một bụi trắng	B76	So sdech
B17	Đốc trắng	B47	Một bụi vàng	B77	So smal
B18	Đồng xuân	B48	Mùa sớm	B78	Sro em tức leax
B19	Đức hoà	B49	Nàng chá	B79	Tài nguyên
B20	Hai nguyên lựa	B50	Nàng hương	B80	Tài nguyên đục
B21	Hoà bình	B51	Nàng keo	B81	Tàu hương
B22	Hoàng lựa	B52	Nàng quốc	B82	Tép hành
B23	HTA88086	B53	Nàng thơm	B83	Tiêu chệt
B24	HTAFR81031	B54	Nàng thơm đốc	B84	TK Red 35-729
B25	Ki Tơ Bô	B55	Néang con lợn tức	B85	Trắng hòa bình
B26	Kói tấp	B56	Neang OM	B86	Trắng nhỏ
B27	Khaodawmali	B57	Néang so	B87	Trắng tép chum
B28	Lem bụi	B58	Nếp mù u	B88	Trắng tròn
B29	Lem bụi trắng	B59	Nếp pong tia		
B30	Lúa 51	B60	Nếp Smal		

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân tích hàm lượng amylose

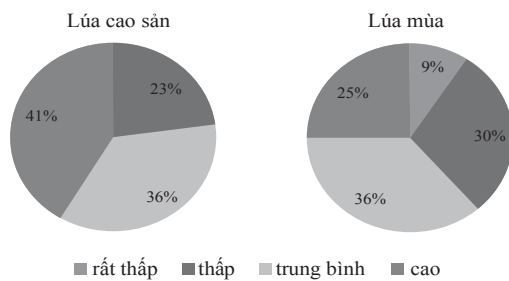
Kết quả phân nhóm hàm lượng amylose được trình bày ở bảng 3. Hàm lượng amylose của các giống lúa cao sản biến động từ 16,45-31,77% và được phân nhóm từ thấp đến cao (với giống thấp nhất là TLR463 và giống cao nhất là OM10373). Trong khi hàm lượng amylose của các giống lúa mùa nằm trong khoảng 7,12-30,75% và được phân nhóm từ rất thấp đến cao (có 8 giống được phân vào nhóm rất thấp).

So với nhóm lúa cao sản thì nhóm lúa mùa có

có nhiều giống được phân vào nhóm có hàm lượng amylose thấp và rất thấp (Hình 1). Trong khi tỷ lệ của các giống lúa được phân vào nhóm có hàm lượng amylose cao của lúa mùa thấp hơn lúa cao sản đến 16%. Kết quả cho thấy đa số các giống lúa mùa có phẩm chất cơm nấu tốt hơn (mềm cơm hơn) khi so với các lúa cao sản. Nguyễn Thanh Tường và ctv., (2005) cũng cho rằng phần lớn người dân các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long chỉ quan tâm đến giống có khả năng cho năng suất cao mà chưa quan tâm nhiều đến yếu tố phẩm chất. Do đó, nhiều giống lúa mùa có phẩm chất cao nhưng không mang lại năng suất cũng dần biến mất.

Bảng 3. Phân nhóm hàm lượng amylose của các giống lúa (IRRI, 1996)

STT	Nhóm amylose	Mã số giống
1	Rất thấp (3-10%)	OM7348, B12, B32, B34, B51, B59, B60, B61, B73,
2	Thấp (10,1-20%)	Jasmine 85, A2, A3, A12, A21, A25, A27, A32, A36, A53, A56, A58, A59, A60, A61, A62, A64, B4, B8, B9, B10, B11, B15, B16, B17, B26, B27, B28, B30, B36, B40, B41, B43, B45, B46, B50, B52, B54, B58, B66, B72, B84, B86,
3	Trung bình (20,1-25%)	IR64, A1, A5, A6, A7, A8, A9, A13, A22, A23, A29, A35, A37, A42, A44, A45, A46, A47, A50, A55, A57, A63, A66, A67, A69, A70, B1, B2, B3, B6, B7, B14, B19, B20, B21, B25, B29, B31, B44, B47, B48, B49, B55, B56, B58, B62, B63, B65, B68, B71, B77, B78, B79, B81, B82, B85, B87, B88
4	Cao (>25%)	IR50404, A4, A10, A11, A14, A15, A16, A17, A18, A19, A20, A24, A26, A28, A30, A31, A33, A34, A38, A39, A40, A41, A43, A48, A49, A51, A52, A54, A65, A68, B5, B13, B18, B22, B23, B24, B33, B35, B37, B38, B39, B42, B53, B64, B67, B69, B70, B74, B75, B76, B80, B83

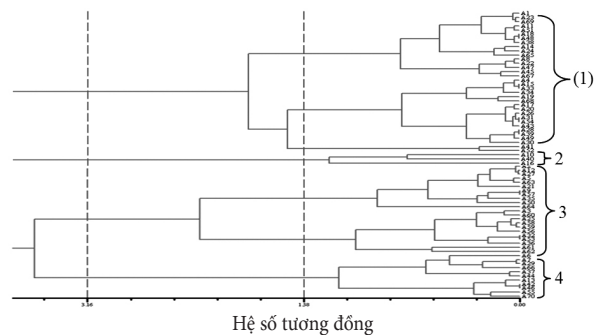


Hình 1. Tỷ lệ các giống lúa cao sản và lúa mùa được phân nhóm theo hàm lượng amylose

3.2. Đa dạng tính trạng hàm lượng amylose của các giống lúa cao sản

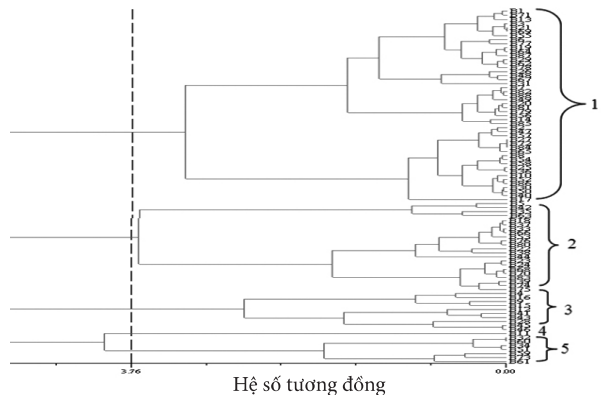
Mức độ đa dạng của 70 giống lúa cao sản dựa trên tính trạng hàm lượng amylose được trình bày ở hình 1. Kết quả phân nhóm cho thấy ở hệ số tương đồng 3,16 thì chúng được phân thành 4 nhóm di truyền. Nhóm 1 bao gồm các giống có hàm lượng amylose thuộc nhóm trung bình và cao (biến động từ 24,29 đến 28,64%). Nhóm 2 cũng được phân vào nhóm có hàm lượng amylose cao nhưng khoảng dao động cao hơn nhóm 1 (từ 29,97 đến 31,77%). Các giống được phân vào nhóm 3 có hàm lượng amylose thuộc nhóm trung bình và thấp (trong khoảng 16,45 đến 20,82%) ở hình 2. Trong khi nhóm 4 cũng được phân nhóm hàm lượng amylose trung bình nhưng hàm lượng amylose biến thiên trong khoảng từ 21,59 đến 23,57%.

Mức độ đa dạng của 88 giống lúa cao sản dựa trên tính trạng hàm lượng amylose được trình bày ở hình 3. Kết quả phân nhóm cho thấy ở hệ số tương đồng 3,76 thì chúng được phân thành 5 nhóm di truyền. Các giống được phân vào nhóm di truyền 1 và 2 có hàm lượng amylose được phân chủ yếu vào nhóm trung bình và cao. Trong khi các giống thuộc nhóm di truyền 3, 4 và 5 có hàm lượng amylose phân vào nhóm thấp và rất thấp.



Hình 2. Sơ đồ tương đồng của 70 giống lúa cao sản

3.3. Đa dạng tính trạng hàm lượng amylose của các giống lúa mùa



Hình 3. Sơ đồ tương đồng của 80 giống lúa mùa

3.4. Đánh giá mối tương quan giữa tính trạng hàm lượng amylose với một số yếu tố cấu thành năng suất và năng suất.

Qua kết quả đánh giá sự tương quan giữa các tính trạng cho thấy: Thời gian sinh trưởng tương quan nghịch với tính trạng hàm lượng amylose, điều này có nghĩa là các giống có thời gian sinh trưởng ngắn thì hàm lượng amylose cao và ngược lại, đồng thời tương quan nghịch với số hạt lép và tỉ lệ hạt lép.

Bảng 4. Mối tương quan giữa tính trạng hàm lượng amylose và các tính trạng khác

	TGST (ngày)	Cao cây (cm)	Bông / bụi	Dài bông (cm)	Số hạt chắc	Số hạt lép	Tỉ lệ lép (%)	P 1000 (g)	Năng suất (t/ha)	Amylose (%)
TGST (ngày)	1									
Cao cây (cm)	0.01ns	1								
Bông / bụi	-0.24**	0.31**	1							
Dài bông (cm)	0.18**	0.46**	0.54**	1						
Số hạt chắc	0.25**	0.35**	0.31**	0.68**	1					
Số hạt lép	0.37**	0.10ns	0.02ns	0.45**	0.44**	1				
Tỉ lệ lép (%)	0.26**	-0.11ns	-0.19**	0.02ns	-0.19**	0.77**	1			
P 1000 (g)	0.07ns	0.31**	0.18**	0.16*	-0.07ns	-0.01ns	0.04ns	1		
Năng suất (t/ha)	0.41ns	0.21**	0.25**	0.55**	0.65**	0.37**	-0.01ns	0.06ns	1	
Amylose (%)	-0.34**	-0.09ns	0.08ns	-0.14*	0.03ns	-0.33**	-0.40**	-0.02ns	-0.07ns	1

IV. KẾT LUẬN

Đánh giá đa dạng di truyền tính trạng hàm lượng amylose trên tập đoàn giống lúa cao sản và lúa mùa cho thấy có sự đa dạng giữa các dòng/giống về các đặc tính nông sinh học và đặc tính hàm lượng amylose. Trong đó các đặc tính thời gian sinh trưởng ở lúa cao sản, thời gian trổ ở lúa mùa tương quan nghịch với tính trạng hàm lượng amylose, điều đó nói lên rằng giữa các dòng/giống có sự đa dạng di truyền.

Kết quả phân tích hàm lượng amylose của các dòng/giống lúa cao sản và lúa mùa thông qua phân nhóm di truyền đã cho thấy có sự phân nhóm rõ rệt giữa các dòng/giống có hàm lượng amylose cao, trung bình và thấp. Từ đó cũng cung cấp thông tin quan trọng trong chọn tạo vật liệu khởi đầu cho nghiên cứu chọn tạo giống lúa chất lượng cao nhằm gia tăng số lượng giống lúa chất lượng đáp ứng nhu cầu người tiêu dùng và cạnh tranh xuất khẩu.

Study on diversity of amylose content and main characteristics of high yielding rice and traditional rice germplasms

Ho Van Duoc, Nguyen Thi Lang, Tran Thi Thanh Xa, Nguyen Thi Thao Nguyen, Bui Chi Bui

Abstract

Selection of parents is one of the most important steps of breeding program. It decided the success of creating new varieties. In this study, the diversity among 70 cultivar and 88 traditional varieties in Gene Bank of Cuu Long Rice Research Institute were evaluated based on morphological and biochemical traits. The results showed that 70 cultivars were divided into 3 groups depending on the growth duration such as: group I (<90 days), group II (90-100 days), group III (> 100 days). In addition, 88 traditional varieties were also divided into 3 groups included: group I (98-114 days), group II (115-127 days), group III (128-136 days). Furthermore, amylose contents of the rice varieties in the same group are different.

Key words: Winter rice, high-yield rice, amylose content, genetic diversity

Ngày nhận bài: 1/11/2016
 Người phản biện: TS. Trần Danh Sửu

Ngày phản biện: 10/11/2016
 Ngày duyệt đăng: 21/11/2016

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Ngọc Đệ**, 2008. *Giáo trình cây lúa*. Trường đại học Cần Thơ, 243 trang.
- De Datta S.K.**, 1981. Principles and practices of rice production. *John Wiley and sons inc. New York*. p. 618.
- International Rice Research Institute (IRRI)**, 1996. *Hệ thống tiêu chuẩn đánh giá nguồn gen lúa*. Viện nghiên cứu lúa quốc tế, Manila, Philippines. p.607-614.
- Seko**, 2003. An introduction manual for determination of apparent amylose content of rice grain in rice breeding program. *Faculty of Agronomy, Hanoi University of Agriculture in cooperation with HAU-JICA ERCB Project Office*, p. 6-10.
- Vaughan, D.A.**, 1994. The wild relatives of rice. *A genetic resources handbook*. International Rice Research Institute, Manila, Philippines. pp. 1-137.
- Vergara B.S. and T.T. Cheng**, 1985. The flowering response of the rice plant to photoperiod. *A review of the literature* (4). p. 509. IRRI.

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM CẤU TẠO CỦA HOÀNG THẢO HẠC VỸ VÀ HOÀNG THẢO NGHỆ TÂM

Nguyễn Thị Lại¹, Phạm Hương Sơn¹, Nguyễn Hữu Cường²

TÓM TẮT

Hoàng thảo Hạc vĩ và Nghệ tâm là hai loài Lan thuộc chi *Dendrobium*, có giá trị làm cảnh, làm dược liệu và đang được xếp vào nhóm nguy cấp. Nghiên cứu này tập trung vào cấu tạo vi phẫu rễ, thân, lá và đặc điểm hình thái, cấu tạo hoa của Hạc vĩ và Nghệ tâm nhằm phục vụ cho các nghiên cứu về phân loại, bảo tồn và nhân giống. Kết quả cho thấy cấu tạo vi phẫu rễ, thân, lá của hai loài khá tương đồng. Rễ Hạc vĩ có đường kính 2,73 mm, nhỏ hơn rễ Nghệ tâm (2,99 mm) nhưng số lượng bó dẫn trong rễ Hạc vĩ (7,3 bó) nhiều hơn trong rễ Nghệ tâm (6,5 bó). Kích thước bó dẫn lớn trong thân, và gân chính ở lá của hai loài tương tự nhau. Số lượng bó dẫn trong thân Hạc vĩ (46,83 bó) nhiều hơn trong thân Nghệ tâm (31,1 bó). Lá Hạc vĩ mềm, phiến rộng, mỏng, còn lá của Nghệ tâm có phiến hẹp, cứng và dày gấp 2,5 lần Hạc vĩ, mô đồng hóa cũng dày gấp 2,78 lần lá Hạc vĩ. Các thành hoa của hai loài cũng tương tự nhau chỉ khác về hình thái: Cánh dài và tràng của Hạc vĩ mảnh và nhọn hơn Nghệ tâm; cánh môi của Hạc vĩ có màu vàng ở trung tâm và có kích thước lớn hơn cánh môi Nghệ tâm (có trung tâm và gân bên phía trong màu tím).

Từ khóa: Đặc điểm cấu tạo, Hạc vĩ, Hoàng thảo, Nghệ tâm

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Họ Lan (Orchidaceae) là một trong những họ thực vật rất phong phú về chủng loại. Chi Hoàng thảo (*Dendrobium*) là chi lớn nhất trong họ Lan, trên thế giới có khoảng 1.184 loài (Leitch *et al.*, 2009).

Hạc vĩ (*Dendrobium aphyllum*(Roxb.) Fisher) và Nghệ tâm (*Dendrobium loddigesii* Rolfe) thuộc chi *Dendrobium* là hai loài Lan rừng đẹp của Việt Nam, có giá trị y học và thương mại cao. Theo y học cổ truyền Trung Quốc, Hạc vĩ dùng trị ho, đau họng, bỏng lửa; toàn cây trị kinh phong trẻ em, ăn uống bị ngộ độc (Sách Đỏ Việt Nam, 2007). Nghệ tâm có chứa hoạt chất chống tế bào ung thư dạ dày và ung thư phổi, chất chống đông máu (Tsai *et al.*, 2010), điều trị bệnh tiểu đường type 2 (Zhang *et al.*, 2011).

Hiện nay, các loài Hoàng thảo đã bị suy giảm nghiêm trọng và đang bị đe dọa do bị khai thác để bán làm cây cảnh, làm thuốc và do nạn chặt phá rừng hủy hoại nơi cư trú của cây (Sách đỏ Việt Nam, 2007; CITES; Romand-Monnier, 2013).

Mặc dù đã có nhiều công trình nghiên cứu về hợp chất có hoạt tính sinh học trong 2 loài Hoàng thảo trên, tuy nhiên các nghiên cứu cơ bản về đặc điểm thực vật học còn rất hạn chế. Đây là lý do nghiên cứu cấu tạo vi phẫu rễ, thân, lá và đặc điểm hình thái, cấu tạo hoa của 2 loài Hoàng thảo Hạc vĩ và Nghệ tâm được tiến hành để cung cấp tư liệu khoa học cho danh lục các loài thực vật ở Việt Nam, làm cơ sở cho việc phân loại và phục vụ công tác bảo tồn, nhân giống các loài trong chi *Dendrobium*.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Vật liệu thực vật: Các mẫu cây *D. aphyllum* được thu thập ở Khánh Hòa và *D. loddigesii* được thu thập ở Thái Nguyên được đem về trồng tại Viện Ứng dụng Công nghệ, Bộ Khoa học và Công nghệ sau 2 năm trong cùng một điều kiện chăm sóc.

- Hóa chất thiết bị:

Hóa chất: Nước cất, cồn 70°, nước Javen, glycerin, xanh methylen 0,01%, carmin-phèn chua 3%.

Thiết bị: Kính hiển vi có gắn trục vi thị kính, kim nhọn và kim mũi mác, lá kính (lamel) và phiến kính (lamd)...

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Đặc điểm vi phẫu rễ, thân, lá của 2 loài Hoàng thảo được thực hiện theo phương pháp cải tiến của Nguyễn Nghĩa Thìn (2007). Các chỉ tiêu nghiên cứu được đo đếm trên 30 lát cắt được lựa chọn ngẫu nhiên của mỗi mẫu giống. Chụp ảnh bằng máy ảnh Sony DSC-HX7V.

- Đặc điểm hình thái và cấu tạo hoa của hai loài Hoàng thảo được tiến hành theo phương pháp hình thái so sánh (Nguyễn Nghĩa Thìn, 2007).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Đặc điểm cấu tạo vi phẫu rễ

Hoàng thảo Hạc vĩ và Nghệ tâm là nhóm thực vật sống bì sinh có rễ buông rủ trong không khí. Cấu trúc vi phẫu rễ của hai loài Hoàng thảo Hạc vĩ và

¹ Viện Ứng dụng Công nghệ, Bộ Khoa học và Công nghệ

² Học viện Nông nghiệp Việt Nam