

DISTINGUISHING OF *Dendrobium amabile* STRAIN BY MORPHOLOGICAL AND ITS MARKER

Nguyen Thi Hai Yen^{1*}, Nguyen Thi Thu Huyen¹, Ngo Xuan Quang², Nguyen Thi Loan³, Chu Hoang Mau⁴

¹TNU – University of Sciences, ²Institute of Tropical Biology - VAST

³Hoa Lu University, ⁴TNU – University of Education

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 09/3/2023	Kieu orchid is a group of genus <i>Dendrobium</i> orchids, belonging to the tribe <i>Chrysotoxae</i> , section <i>Callista</i> . Currently, the classification of the Kieu orchid group is still not unified. There are different views about the number of Kieu orchid species in Vietnam as well as their kinship. This species <i>Dendrobium amabile</i> is divided into 2 groups with large different conservation and economic values, which are namely the Central Purple Kieu and the Northern Purple Kieu. Our paper focus to investigate and find out results of morphological analysis of 4 varieties of purple Kieu orchid of Vietnam. Furthermore, identifying and analyzing the ITS sequences of the two variants Kieu violet in the central region and Kieu violet in Thai Nguyen Province. Morphological analysis also showed that the northern varieties of the Kieu violet differ from the characteristics of the Kieu violet described in the botanical documents in some morphological details and distribution. Moreover, results of DNA analysis of ITS markers showed that the Central Purple Kieu has a sequence similarity of 99.9% comparing to the ITS sequence of species <i>Dendrobium amabile</i> published on the GenBank, while the Northern Purple Kieu variant has lower similarity and much different in the ITS sequence. However, they all belong to a clade with the species <i>Dendrobium amabile</i> and are separated from the rest in the taxonomic. Hence, our results indicate that these taxa could be new species to have further studies to determine the scientific name for the species variable for the Northern Purple Kieu.
Revised: 19/4/2023	
Published: 28/4/2023	
KEYWORDS	
Distingsh	
Strain	
<i>Dendrobium amabile</i>	
ITS	
Kieu orchid	

PHÂN BIỆT BIẾN THỂ LAN KIỀU TÍM (*Dendrobium amabile*) BẰNG ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI VÀ CHỈ THỊ ITS

Nguyễn Thị Hải Yến^{1*}, Nguyễn Thị Thu Huyền¹, Ngô Xuân Quảng², Nguyễn Thị Loan³, Chu Hoàng Mậu⁴

¹Trường Đại học Khoa học – ĐH Thái Nguyên, ²Viện Sinh học Nhiệt đới - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Trường Đại học Hoa Lư, ⁴Trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 09/3/2023	Lan Kiều là nhóm lan <i>Dendrobium</i> , thuộc tông Kiều (<i>Chrysotoxae</i>) section <i>Callista</i> . Hiện nay, việc phân loại nhóm lan Kiều vẫn chưa thực sự thống nhất. Có nhiều quan điểm khác nhau về số lượng loài lan Kiều ở Việt Nam cũng như mối quan hệ họ hàng của chúng. Trên thị trường lan cảnh hiện nay, loài Kiều tím (<i>Dendrobium amabile</i>) ở Việt Nam được chia thành 2 nhóm với giá trị bảo tồn và giá trị kinh tế khác nhau rất lớn là Kiều tím miền trung và Kiều tím bắc. Bài báo này trình bày kết quả phân tích hình thái thực vật của 4 biến thể lan Kiều tím của Việt Nam. Đồng thời, bài báo cũng xác định và phân tích trình tự DNA barcode ITS của 2 biến thể đại diện Kiều tím miền trung và Kiều tím bắc. Kết quả phân tích hình thái cho thấy các biến thể Kiều tím bắc có sự khác biệt với mô tả loài Kiều tím trong các tài liệu phân loại thực vật về một số chi tiết hình thái và nơi phân bố. Bảng mô tả hình thái có thể sử dụng để nhận diện biến thể Kiều tím đại diện cho 2 vùng nghiên cứu. Kết quả phân tích DNA chỉ thị ITS cho thấy, Kiều tím miền trung có độ tương đồng trình tự đến 99,9% so với trình tự ITS của loài <i>Dendrobium amabile</i> công bố trên GenBank; trong khi biến thể Kiều tím bắc có sự tương đồng thấp hơn và nhiều sai khác trong trình tự ITS. Tuy nhiên, trong cây phân loại thì chúng đều thuộc một nhánh với loài <i>Dendrobium amabile</i> và tách biệt với các loài còn lại; do đó cần có các nghiên cứu sâu hơn để xác định tên khoa học cho biến thể Kiều tím bắc.
Ngày hoàn thiện: 19/4/2023	
Ngày đăng: 28/4/2023	
TỪ KHÓA	
Phân biệt	
Biến thể	
<i>Dendrobium amabile</i>	
ITS	
Kiều tím	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.7500>

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

1. Mở đầu

Dendrobium (lan Hoàng thảo) là một trong những chi thực vật có hoa phong phú nhất, với hơn 1148 loài được biết đến, được cho là có số loài đông đảo đứng thứ hai trong họ lan, sau chi lan Lọng (*Bulbophyllum*) [1]. *Dendrobium* đa dạng về hình dáng, màu sắc, kích thước nên là loại hoa cảnh được ưa chuộng. Việt Nam có trên 100 loài *Dendrobium* phân bố rộng trong cả nước [2]. *Dendrobium* nổi tiếng với cả giá trị trang trí và dược liệu của nó [3], do đó các loài của nó đang bị đe dọa do lạm thu.

Lan Kiều (hay còn gọi là Hoàng thảo Thủy tiên) là nhóm lan *Dendrobium* thuộc tông Kiều (*Chrysotoxae*) section *Callista* [4]. Lan Kiều có nhiều loài cho hoa đẹp với chùm hoa to, màu sắc đa dạng từ vàng, cam, tím, hồng, trắng... Các loài trong nhóm lan Kiều có sức sống tốt, dễ thích nghi với nhiều vùng khí hậu khác nhau, đặc biệt một số loài còn có giá trị trong y học.

Việc phân loại nhóm lan Kiều cho đến nay vẫn chưa thực sự thống nhất. Có nhiều quan điểm khác nhau về số lượng loài lan Kiều ở Việt Nam. Theo Phạm Hoàng Hộ, Kiều vàng có hai loài khác nhau là *Dendrobium thyrsiflorum* (Kiều vàng) và *Dendrobium farmeri* (Kiều vuông). Tuy nhiên, giữa *Dendrobium thyrsiflorum* và *Dendrobium densiflorum* (Kiều mỡ gà) lại có nhiều đặc điểm khó phân biệt [4]. Theo cuốn Phong lan Việt Nam của Trần Hợp, bốn tên gọi này chỉ là đồng danh của một loài [5]. Theo Averyanov và cộng sự (2003), *Dendrobium thyrsiflorum* và *Dendrobium densiflorum* là một loài (được gọi chung là Kiều vàng), Kiều trắng có 2 loài là *Dendrobium farmeri* và *Dendrobium palpebrae* đều là nhóm Kiều thân vuông [6]. Cũng có công trình cho rằng, đây là 4 loài khác nhau *Dendrobium densiflorum* (Kiều mỡ gà), *Dendrobium fameri* (Kiều vuông), *Dendrobium palpebrae* (Kiều vàng), *Dendrobium thyrsiflorum* (Kiều cam).

Kiều tím (Kiều hồng, Kiều hường - *Dendrobium amabile*) có đặc điểm khá khác biệt với các loài Kiều còn lại, đây là loài có nhiều biến thể hoa với màu sắc hoa, phát hoa thay đổi từ trắng, tím hồng hoặc tím đậm. *Dendrobium amabile* được biết đến là loài đặc hữu của Việt Nam, cây được mô tả có thân tròn, thân màu nâu hoặc xanh đen; dài từ 40 - 100 cm, lá mọc so le từ khoảng giữa thân đến ngọn, hoa mọc từ mắt đối diện gốc lá. Đồng danh: *Dendrobium bronckartii*, *Callista amabile*.

Thực tế trên thị trường lan cảnh hiện nay, Kiều tím được chia thành 2 nhóm với giá trị bảo tồn và giá trị kinh tế khác nhau rất lớn. Nhóm thứ nhất với tên gọi là Kiều tím miền trung (hay còn gọi là Kiều hồng) với các đặc điểm mô tả trùng khớp với phân loại của loài *Dendrobium amabile*, có vùng phân bố chủ yếu ở miền Trung Việt Nam (Quảng Bình, Huế...) [3]. Nhóm này phổ biến với số lượng cá thể còn khá nhiều, giá thành trên thị trường thấp. Nhóm thứ hai được gọi với tên Kiều tím bắc, nhóm này phân bố chỉ ở một số vùng phía bắc Việt Nam từ Thanh Hóa trở ra. Đây là nhóm Kiều khá hiếm với số lượng rất hạn chế, giá trị bảo tồn và giá trị kinh tế cao, các đặc điểm thực vật cũng có những khác biệt nhất định so với loài *Dendrobium amabile* trong các tài liệu định loài. Có thể xem là biến chủng của loài *Dendrobium amabile*.

Hiện nay, trong các công cụ tin sinh học để nghiên cứu quan hệ di truyền và định danh loài thì mã vạch DNA là một phương pháp hiệu quả được sử dụng phổ biến, đặc biệt là hoa lan. Mã vạch DNA (DNA barcode) là một đoạn gen ngắn, chuẩn của các loài sinh vật đã được xác định nằm trong ngân hàng gen, được sử dụng để định danh các loài sinh vật chưa biết bằng phương pháp so sánh với trình tự DNA. Hiệu quả của việc nhận diện các loài thực vật phụ thuộc rất nhiều vào việc lựa chọn và sử dụng trình tự phù hợp. Nhiều công trình đã chứng minh vùng ITS (Internal Transcript Spacer) chứa nhiều khác biệt di truyền nên được sử dụng để phân loại loài và nghiên cứu mối quan hệ [7], [8], đặc biệt ở *Dendrobium* [9], [10]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi công bố kết quả phân biệt các biến thể Kiều tím *Dendrobium amabile* thông qua so sánh các đặc điểm hình thái và chỉ thị ITS.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng, vật liệu nghiên cứu

Bốn mẫu lan Kiều tím gồm Kiều tím miền trung (Kiều hồng - *Dendrobium amabile*) có nguồn gốc từ Quảng Bình và Kiều tím bắc (thu thập tại các vùng Thái Nguyên, Sơn La, Thanh Hóa) được thu thập làm vật liệu nghiên cứu.

Cặp môi dung để nhân đoạn gen ITS [10] với kích thước nhân được dự kiến 600bp có trình tự như sau:

F,5'-ACGAATTCATGGTCCGGTGAAGTGTTTCG-3'/

R,5'-TAGAATCCCCGGTTCGCTCGCCGTTAC-3'

2.2. Phương pháp tiến hành

2.2.1. Phân tích đặc điểm hình thái các biến thể lan Kiều tím *Dendrobium amabile*

Các biến thể Kiều tím được trồng và chăm sóc trong cùng điều kiện, quan sát trực tiếp hình thái, các số liệu thu thập bao gồm chiều cao thân, kích thước lá, độ dài chùm hoa, kích thước bông... Sử dụng kính lúp để quan sát các chi tiết, các loại thước dây, thước kẹp để đo các thông số hình thái. Số liệu được ghi chép và đối chiếu với tài liệu phân loại lan Kiều [1].

2.2.2. Phân tích trình tự ITS để so sánh các biến chủng lan Kiều tím

Hai mẫu lá của Kiều tím miền trung và biến thể Kiều tím bắc thu thập tại Thái nguyên được sử dụng để tách chiết DNA tổng số (phương pháp dùng CTAB (Collins và Symons, 1992) [11] với một vài cải biến nhỏ). Thành phần phản ứng PCR nhân gen ITS gồm: 12,5 µL (×1) PCR Master Mix (2X), 1 µL (10 µM) mỗi xuôi/mỗi ngược, 4,5 µL nước deion khử trùng, 1 µL DNA (hàm lượng 50 µg/µl). Chu kỳ nhiệt phản ứng PCR: Biến tính cục bộ (94°C trong 5 phút), lặp lại 30 chu kỳ các bước: [biến tính chu kỳ (94°C trong 45 giây), bắt cặp môi (52°C trong 30 giây), kéo dài chuỗi (72°C trong 40 giây)], kết thúc phản ứng (72°C trong 7 phút).

Xác định trình tự nucleotid bằng máy ABI PRISM 3100 Avant Genetic Analyzer. Các trình tự nghiên cứu được Blast trong NCBI. Cây phân loại dựa trên các trình tự gen chỉ thị được dựng bằng phần mềm MegaX. Phân tích tiến hóa thông qua phương pháp Maximum Likelihood. Lịch sử tiến hóa được đưa ra dựa trên việc sử dụng phương pháp Maximum Likelihood và mô hình Tamura-Nei [12]

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

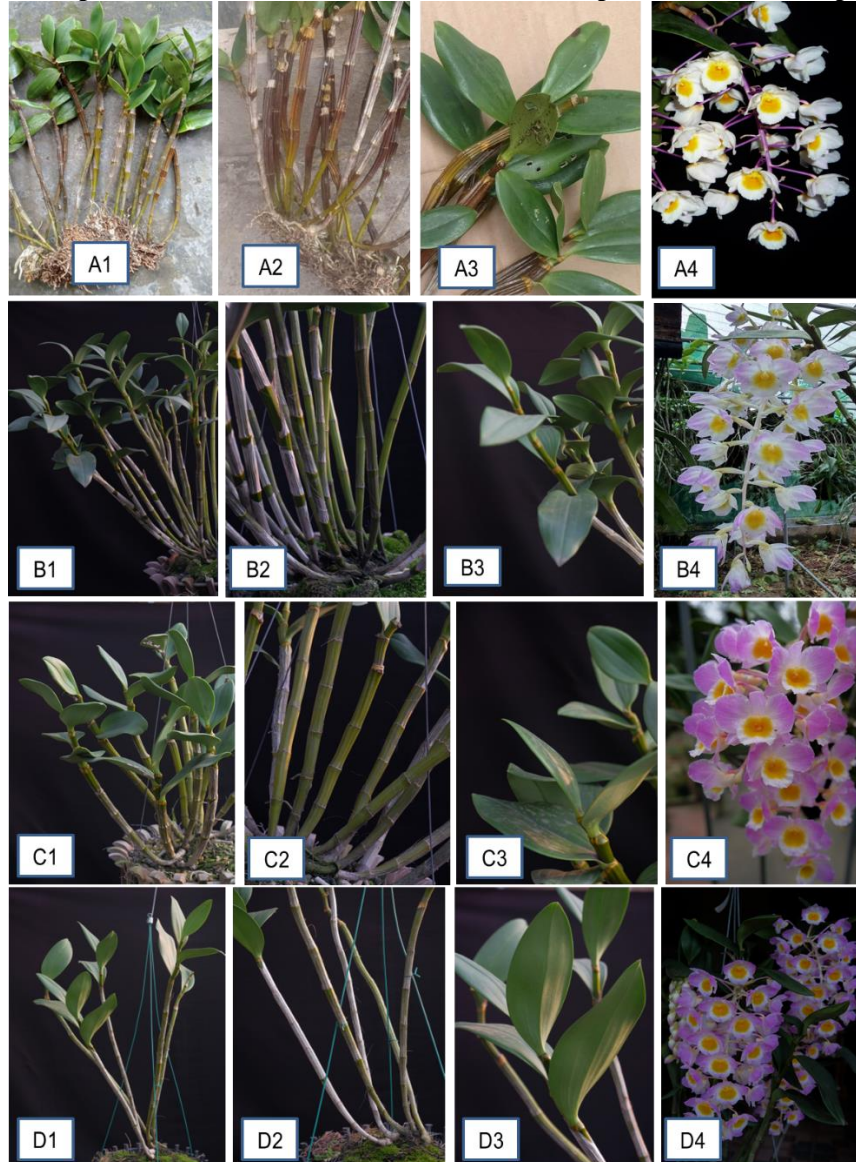
3.1. Đặc điểm thực vật học của các mẫu lan Kiều nghiên cứu

Quan sát trực tiếp các mẫu lan Kiều nghiên cứu, mô tả các đặc điểm thực vật học (thân lá, rễ, hoa...) và trình bày theo bảng 1 và hình 1.

Bảng 1. Đặc điểm thực vật học của các mẫu lan Kiều nghiên cứu

	Kiểu tím miền trung (Kiều hồng - <i>Dendrobium amabile</i>)	Kiểu tím Thái Nguyên	Kiểu tím Sơn la	Kiểu tím Thanh Hóa
Thân				
Chiều cao	40 - 50 cm	40 - 50 cm	25 - 35 cm	40 - 50 cm
Màu sắc thân	Nâu, nâu tím	Xanh	Xanh vàng	Xanh
Hình dáng thân	Tròn, thắt nhỏ ở gốc	Tròn, thuôn đều từ gốc lên ngọn	Tròn, mập	Tròn, thuôn đều từ gốc lên ngọn
Đặc điểm sắp xếp lá	Lá mọc cách từ giữa thân	Lá mọc chụm tập trung nhiều phần ngọn	Lá mọc chụm tập trung nhiều phần ngọn	Lá mọc chụm tập trung nhiều phần ngọn
Lá				
Số lá/giã hành	5 - 7	3 - 5	3 - 5	3 - 5
Hình dạng đầu lá	Thuôn tròn	Nhọn	Nhọn hình tim	Nhọn
Hình dạng lá	Bầu dục rộng, dày vừa phải	Bầu dục dài, dày vừa phải	Bầu dục tim, rất dày	Bầu dục dài, dày vừa phải
Chiều dài lá	8 - 10 cm	6 - 8 cm	6 - 8 cm	6 - 8 cm
Chiều rộng lá	5 - 6 cm	4 - 5 cm	5 - 6 cm	4 - 5 cm
Hình thái viền lá				
Hoa				

Chiều dài phát hoa	18 – 22 cm	22 – 25 cm	18 – 22 cm	22 – 25 cm
Cách phân bông	Bông thưa	Bông dày vừa phải	Phân bông dày	Bông dày vừa phải
Màu sắc phát hoa, cuống hoa	Tím nhạt, tím đậm	Trắng, tím nhạt	Trắng, tím nhạt	Trắng, tím nhạt
Màu sắc bông hoa	Phổ biến trắng, đục	Phổ biến tím, trong	Phổ biến tím, trong	Phổ biến tím, trong
Cánh hoa	Mặt sau tím đục, mặt trước trắng	2 mặt tím trong như nhau, môi vàng	2 mặt tím trong như nhau	2 mặt tím trong như nhau
Lưỡi	Vàng	Vàng	Vàng	Vàng



Hình 1. Hình ảnh đặc điểm hình thái bốn chủng lan Kiều nghiên cứu

Hình ảnh cây, hoa và lá của: Kiều tím miền trung (A1-A4); Kiều tím Thái Nguyên (B1-B4);

Kiều tím Sơn La (C1-C4) và Kiều tím Thanh Hóa (D1-D4)

Kết quả phân tích hình thái cho thấy, những biến thể Kiều tím bắc có nhiều đặc điểm khác biệt so với loài Kiều tím miền trung (Kiều hồng - *Dendrobium amabile*), cụ thể ở màu sắc thân, độ thuôn không đều và cách phân lá. Đặc biệt, hoa có sự khác biệt khá nhiều. Hoa của các biến chủng Kiều tím bắc đa phần là màu tím trong, rất đẹp; trong khi Kiều tím miền trung chỉ tím ở cuống hoa và phát hoa, cách phân bông cũng không dày bằng. Chính điều này làm nên sự khác

biệt về giá trị thẩm mỹ, vì vậy Kiều tím bắc có giá trị cao hơn nhiều lần so với Kiều tím miền trung. Các nghiên cứu phân loại lan Kiều trước đây chỉ chú ý phân biệt giữa các loài với nhau, chưa có công bố nào nghiên cứu phân biệt các biến thể trong loài. Chính vì vậy, nghiên cứu của chúng tôi cung cấp thêm thông tin về biến thể kiều tím của nước ta, đóng góp thêm về cơ sở dữ liệu loài lan Kiều đặc hữu của Việt Nam.

3.2. Phân loại biến chủng lan Kiều tím bằng chỉ thị phân tử

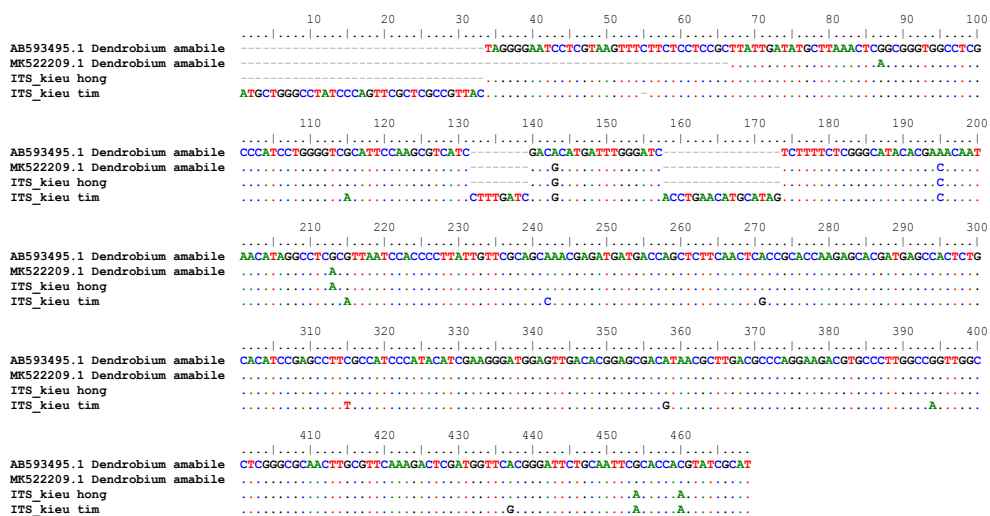
Mẫu lá của lan Kiều tím miền trung (Kiều hồng - *Dendrobium amabile*) và biến chủng Kiều tím Thái Nguyên (Kiều tím bắc) được sử dụng để nhân gen ITS và phân tích trình tự. Các đoạn trình tự gen được khuếch đại từ DNA tổng số bằng phản ứng PCR với cặp mồi đặc hiệu. Sản phẩm PCR được tinh sạch và sử dụng để xác định trình tự nucleotide trực tiếp. Sử dụng BLAST trên NCBI để so sánh các trình tự ITS thu được, xác định và thu thập các loài có trình tự tương đồng gần để phân tích (bảng 2). So sánh trình tự nucleotide, phân tích độ tương đồng di truyền và lập cây phân loại bằng các phần mềm Bioedit, MegaX.

Bảng 2. Các trình tự gen thu thập trên GenBank sử dụng để phân tích quan hệ di truyền với mẫu nghiên cứu

STT	Mã số	Tên loài	Độ che phủ (%)	Tỉ lệ tương đồng (%)	Tổng điểm
1	AB593495.1	<i>Dendrobium amabile</i>	100	98,79	743
2	MK522209.1	<i>Dendrobium amabile</i>	91	99,21	684
3	AB593674.1	<i>Dendrobium thyrsiflorum</i>	100	90,16	545
4	AB972351.1	<i>Dendrobium christyanum</i>	100	92,98	684
5	AB972343.1	<i>Dendrobium infundibulum</i>	100	92,34	667
6	AB972353.1	<i>Dendrobium scabrilingue</i>	100	92,98	684
7	AB972347.1	<i>Dendrobium virgineum</i>	100	91,91	656
8	MN213669.1	<i>Dendrobium densiflorum</i>	79	92,56	654

Kết quả so sánh 2 trình tự nghiên cứu với 2 trình tự loài kiều tím *Dendrobium amabile* thu thập trên GenBank (mã số: AB593495.1 và MK522209.1) tại hình 2 cho thấy, Kiều hồng (Kiều tím miền trung - *Dendrobium amabile*) của Việt Nam có nguồn gốc từ vùng Quảng Bình, có trình tự ITS tương đồng rất cao với 2 loài *Dendrobium amabile* trên GenBank, chỉ có 2 vị trí nucleotid sai khác, sự tương đồng di truyền của 2 loài *Dendrobium amabile* trên GenBank này với 2 mẫu nghiên cứu là cao nhất trong số các trình tự so sánh, sai khác tương ứng là 0,008 và 0,013 (bảng 3). Tuy nhiên, biến chủng Kiều tím bắc có sự khác biệt khá lớn về trình tự nucleotid gen ITS (hình 2), trình tự ITS của Kiều tím bắc có thêm một số đoạn trình tự nucleotid ngắn mà ba mẫu còn lại không có. Hệ số sai khác di truyền của gen ITS mẫu Kiều tím bắc thu thập tại Thái Nguyên với 2 loài *Dendrobium amabile* trên GenBank cũng cao hơn, tương ứng là 0,32 - 0,33.

So sánh trình tự loài hai biến chủng lan Kiều tím nghiên cứu với một số loài trong *Dendrobium* cho thấy chúng có độ tương đồng di truyền cao với các loài khác thuộc tông Kiều là *Dendrobium densiflorum* – Kiều mỡ gà (hệ số sai khác là 0,076 và 0,077) và *Dendrobium thyrsiflorum* – Kiều trắng (hệ số sai khác là 0,050 và 0,055). Độ tương đồng di truyền thấp nhất với loài *Dendrobium virgineum* – Bạch câu (hệ số sai khác là 0,104 và 0,086) (bảng 3).



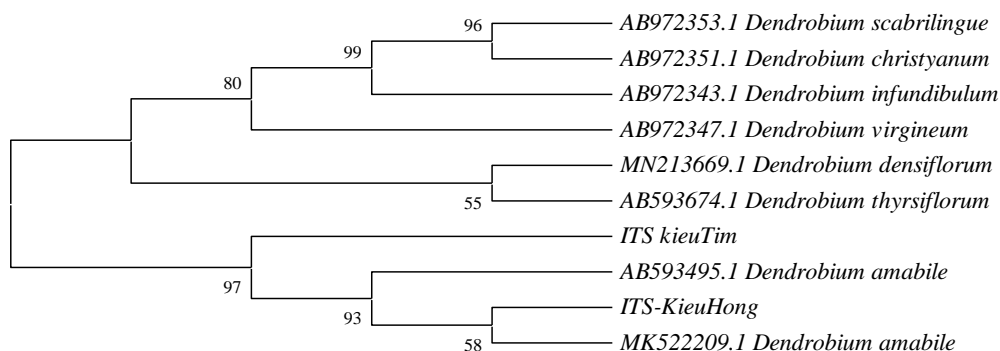
Hình 2. Kết quả so sánh trình tự ITS 2 mẫu biến chủng kiêu tím nghiên cứu với 2 trình tự loài *Dendrobium amabile* thu thập trên GenBank

Bảng 3. Hệ số sai khác giữa các mẫu nghiên cứu và các loài *Dendrobium* trên GenBank dựa trình tự ITS

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
ITS_KieuHong										
ITS_kieuTim		0,024								
MN213669.1_ <i>Dendrobium densiflorum</i>		0,077	0,076							
MK522209.1_ <i>Dendrobium amabile</i>		0,008	0,032	0,073						
AB972353.1_ <i>Dendrobium scabrilingue</i>		0,073	0,067	0,058	0,070					
AB972351.1_ <i>Dendrobium christyanum</i>		0,073	0,067	0,058	0,070	0,000				
AB972347.1_ <i>Dendrobium virgineum</i>		0,104	0,086	0,088	0,100	0,035	0,035			
AB972343.1_ <i>Dendrobium infundibulum</i>		0,082	0,076	0,067	0,079	0,008	0,008	0,044		
AB593674.1_ <i>Dendrobium thyriflorum</i>		0,055	0,050	0,044	0,052	0,044	0,044	0,073	0,053	
AB593495.1_ <i>Dendrobium amabile</i>		0,013	0,033	0,074	0,011	0,070	0,070	0,101	0,080	0,053

Cây phân loại dựa trên trình tự gen ITS của 2 mẫu nghiên cứu với 8 trình tự các loài *Dendrobium* (hình 3) cho thấy, cả hai biến chủng Kiêu tím trong nghiên cứu đều thuộc loài *Dendrobium amabile*. Trên cây phân loại, chúng phân thành một nhóm riêng chỉ có 4 trình tự (2 mẫu nghiên cứu và 2 trình tự loài *Dendrobium amabile* (mã số: AB593495.1 và MK522209.1)) đã phân tích ở trên. Nhánh còn lại được chia thành nhiều nhánh nhỏ, trong đó MN213669.1_*Dendrobium densiflorum* (Kiều mỡ gà) và AB593674.1_*Dendrobium thyriflorum* (Kiều trắng) phân thành 1 nhánh, đều là hai loài thuộc tông Kiều, 4 loài còn lại thuộc nhóm *Dendrobium* có hoa lớn hình phễu phân thành nhóm lớn thứ hai, trong đó tiếp tục được phân thành các nhánh nhỏ khác.

Như vậy, có thể kết luận rằng, ITS là một chỉ thị phù hợp để phân loại các loài lan thuộc chi *Dendrobium*, đặc biệt phù hợp trong phân loại các loài trong tông Kiều. Khi sử dụng chỉ thị ITS, chúng tôi đã tìm thấy sự khác biệt giữa loài Kiều tím miền trung (Kiều hồng) - *Dendrobium amabile* và biến chủng Kiêu tím bắc. Kết quả này có thể phát triển để định thứ cho các biến thể Kiêu tím bắc, loài đang có giá trị cao trong thị trường hoa cảnh.



Hình 3. Cây phân loại xây dựng dựa trên trình tự ITS của các mẫu nghiên cứu và các trình tự trên GenBank

Trong các chỉ thị phổ biến dùng làm mã vạch DNA thực vật, ITS chứa nhiều khác biệt di truyền nên được sử dụng rộng rãi và được coi là mã vạch tiêu chuẩn để phân loại loài và nghiên cứu mối quan hệ. ITS2 đã được đánh giá là có khả năng phân biệt rõ ràng giữa các loài *Dendrobium* [13], [14]. Hai vùng *matK* và *rbcL* cũng đã được xác định là có thể xác định các loài thuộc chi *Dendrobium* [4], [10]. Trần Duy Dương và cộng sự (2015) đã tiến hành kiểm tra tính đa dạng của các loài *Dendrobium* bản địa ở Việt Nam, chủ yếu từ miền Bắc Việt Nam khi sử dụng trình tự ITS [15]. Nhóm tác giả đã xác định được 23/32 mẫu *Dendrobium* [15]. Nguyễn Như Hoa và cộng sự (2017) đã xây dựng cây phát sinh chủng loại cho vùng ITS và tách 12 mẫu *Dendrobium* hoang dã thu hái ở miền Nam Việt Nam và 11 mẫu *Dendrobium* nhập nội từ Thái Lan chia thành 2 nhóm riêng biệt. Kết quả này tương ứng với việc phân loại theo phương pháp định danh truyền thống [16]. Nguyễn Như Hoa (2018) tiếp tục đánh giá ITS trong việc định danh 15 mẫu thuộc chi *Dendrobium thyrsoflorum* được khoanh vùng trên nhánh đơn [17]. ITS cũng được sử dụng trong các nghiên cứu trước đây về xác định các loài *Dendrobium*, trong đó một số nghiên cứu tập trung vào các loài dược liệu để phân biệt dược thảo trong hỗn hợp loài thu hái [13], [14]. Trong các nghiên cứu về phân loại *Dendrobium* của Việt Nam trước đây, ITS không giải quyết được 100% các loài *Dendrobium*. Tuy nhiên, đây là chỉ thị tốt nhất so với *matK* và *rbcL* [18]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, ITS đã cho thấy khả năng phân biệt các biến thể tốt đối với loài Kiều tím.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã phân tích mô tả hình thái thực vật của 4 biến thể lan Kiều tím (*Dendrobium amabile*) của Việt Nam. Kết quả mô tả chi tiết đặc điểm hình thái có thể sử dụng để nhận diện các biến thể Kiều tím miền trung và Kiều tím bắc.

Kết quả phân tích trình tự ITS cho thấy, Kiều tím miền trung có độ tương đồng gần như trùng khớp với trình tự loài *Dendrobium amabile* trên GenBank trong khi Kiều tím bắc có sự sai khác cao hơn. Chúng tôi đề xuất cần nghiên cứu số lượng chỉ thị đa dạng hơn để xác định tên khoa học cho các biến thể Kiều tím bắc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] I. J. Leitch, I. Kahandawala, J. Suda, L. Hanson, M. J. Ingrouille, M. W. Chase, and M. F. Fay, "Genome size diversity in orchids: Consequences and evolution," *Ann. Bot.*, vol. 104, pp. 469-481, 2009.
- [2] D. H. Duong, *Vietnamese flora*. Science and Technology Publishing House, 2007.
- [3] J. Xiaohua, C. Singchi, and L. Yibo, "Taxonomic revision of *Dendrobium moniliforme* complex (Orchidaceae)," *Scientia Horticulturae*, vol. 120, pp. 143-145, 2008, doi: [10.1016/j.scienta.2008.10.002](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.10.002).

- [4] H. H. Pham, *Vietnamese Plant*, vol. 3, Young Publishing House, 1999, pp. 815-816.
- [5] H. Tran, *Vietnamese orchid*. Agriculture Publishing House, 1998.
- [6] L. V. Averyanov, K. L. Phan, T. H. Nguyen, and D. K. Harder, "Phytogeographic review of Vietnam and adjacent areas of Eastern Indochina," *Komarovia, Saint Petersburg*, vol. 3, p. 66, 2003.
- [7] H. Asahina, J. Shinozaki, K. Masuda, Y. Morimitsu, and M. Satake, "Identification of medicinal *Dendrobium* species by phylogenetic analyses using *matK* and *rbcL* sequences," *J. Nat. Med.*, vol. 64, pp. 133-138, 2010.
- [8] P. Hollingsworth, L. Forrest, J. Spouge, M. Hajibabaei, S. Ratnasingham, M. Bank, M. Chase, R. Cowan, D. Erickson, and A. Fazekas, "A DNA barcode for land plants," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 106, pp. 12794-12797, 2009.
- [9] P. Chattopadhyay, G. Banerjee, and N. Banerjee, "Distinguishing orchid species by DNA barcoding: Increasing the resolution of population studies in plant biology," *Omics*, vol. 21, pp. 711-720, 2017.
- [10] S. Peyachoknagul, C. Mongkolsiriwatana, S. Srikulnath, P. Huehne, and K. Srikulnath, "Identification of native *Dendrobium* species in Thailand by PCR-RFLP of rDNA-ITS and chloroplast DNA," *ScienceAsia*, vol. 40, pp. 113-120, 2014.
- [11] G. G. Collins and R. H. Symons, "Extraction of nuclear DNA from grape vine leaves by modified procedure," *Plant Mol Bio Rept*, vol. 10, pp. 233-235, 1992.
- [12] K. Tamura and M. Nei, "Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees," *Molecular Biology and Evolution*, vol. 10, pp. 512-526, 1993.
- [13] H. Wang, L. L. Shi, J. Zhou, and G. P. Zhu, "DNA barcoding identification of *Dendrobium huoshanense* and its adulterants," *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, vol. 43, pp. 4055-4061, 2018.
- [14] H. Liu, C. Fang, T. Zhang, L. Guo, and Q. Ye, "Molecular authentication and differentiation of *Dendrobium* species by rDNA ITS region sequence analysis," *AMB Express*, vol. 9, p. 53, 2019.
- [15] D. D. Tran, H. T. Khuat, H. T. N. La, T. T. T. Nguyen, B. H. Pham, T. K. Nguyen, H. D. Tran, and M. T. Do, "Identification of Vietnamese native *Dendrobium* species based on ribosomal DNA internal transcribed spacer sequence," *Adv. Stud. Biol*, vol. 10, pp. 1-12, 2018.
- [16] N. H. Nguyen, H. D. Tran, H. X. Duong, and H. D. Huynh, "Phylogenetic relationship between several *Dendrobium* strains based on ITS sequence," *Vietnam J. Sci. Technol. Agri.*, vol. 12, pp. 41-45, 2017.
- [17] N. H. Nguyen, "ITS sequence of several strains of *Dendrobium thyrsiflorum*," *J. Sci. Univ. Educ*, vol. 15, pp. 149-153, 2018.
- [18] N. H. Nguyen, H. T. Vu, N. D. Le, T. D. Nguyen, H. X. Duong, and H. D. Tran, "Molecular Identification and Evaluation of the Genetic Diversity of *Dendrobium* Species Collected in Southern Vietnam," *Biology*, vol. 9, p. 76, 2020, doi: 10.3390/biology9040076.