

# ĐỊNH DANH CÂY INSULIN ẤN ĐỘ CÓ TÁC DỤNG PHÒNG TRỊ BỆNH TIỂU ĐƯỜNG

## TÓM TẮT

Cây Insulin Ấn độ thuộc họ *Costaceae* được sử dụng rộng rãi ở Ấn Độ như một thảo dược có tính năng phòng trị bệnh tiểu đường. Việc sử dụng lá cây này được cho là làm giảm đường huyết và những bệnh nhân tiểu đường khi ăn lá cây này đều cho thấy biểu hiện giảm lượng đường trong máu. Do có những giá trị quý này nên loại cây này đã được một số tổ chức du nhập về Việt Nam. Phân loại và định danh loại cây du nhập này là một bước đi cần thiết để phát triển và ứng dụng cây này như một nguồn thảo dược quý. Dựa trên hình thái và **việc giải trình tự** gen *rbcl*, *Matk*, *ITS1* **của mẫu lá** cây insulin Ấn Độ nhập nội cho thấy chúng là loài *Costus pictus* (D. Don, 1833). **(phân tích trình tự...)**

**Từ khóa:** insulin Ấn Độ, tiểu đường, *Costus pictus*, định danh

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây insulin Ấn Độ là cây thân thảo nhiệt đới lâu năm, thuộc họ *Costaceae*, có nguồn gốc từ châu Mỹ và được du nhập vào **Ấn độ** như một loại dược liệu quý và được trồng rộng rãi trong ở nước này. Do cây này được ứng dụng khá rộng rãi trong y học cổ truyền ở **Ấn Độ** cho nên mặc dù có nguồn gốc từ Châu Mỹ nhưng cây này vẫn thường được gọi là cây Insulin Ấn Độ. Một số loài thuộc chi *Costus* L. như *Costus igneus*, *Costus pictus* và *Costus speciosus* đã được sử dụng trong hệ thống y học Unani và Ayurvedic của Ấn Độ. Theo kinh nghiệm của người dân Ấn Độ, nhai 2-3 lá cây insulin Ấn Độ 2 lần trong ngày thì có thể kiểm soát được đường huyết, ngăn ngừa tiểu đường, do đó loài cây này được gọi là cây insulin [1-2]. Lá cây thường được sử dụng để trị bệnh tiểu đường [3-11], hạ lipid máu [11], kháng khuẩn [12-13], chống ung thư [14] và lợi tiểu [15-16]. Ở **Ấn độ** đã có rất nhiều sản phẩm đặc trị bệnh tiểu đường dựa trên sinh khối cây insulin Ấn **độ**.

Nhận thức được tính năng kỳ diệu của loài cây này, một số tổ chức, cá nhân đã mang cây giống insulin Ấn Độ về Việt Nam để trồng. Chi nhánh Viện Ứng dụng Công nghệ tại **TP. HCM** (Bộ Khoa học và Công nghệ) hiện **cũng** đang nhân giống để phát triển nguồn giống cây insulin Ấn Độ **này**. Qua thời gian trồng thử nghiệm cho thấy loài cây này có khả năng thích nghi với điều kiện thổ **nhưỡng và khí hậu ở nước ta, và vẫn đảm bảo được các hoạt chất dược** **(nếu rõ ở vùng nào, đảm bảo chất lượng? nêu tài liệu tham khảo)**. Để có cơ sở khoa học cho việc nghiên cứu phát triển và ứng dụng nguồn dược liệu quý **này**, việc định danh **nguồn giống cây insulin Ấn Độ** **(đổi là mẫu giống)** đang được trồng tại Việt Nam là rất cần thiết.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU **(không thấy có phương pháp?)**

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cây insulin Ấn Độ do Viện Ứng dụng Công nghệ nhập nội, **trồng và chăm sóc.**

### 2.2. Thiết kế thí nghiệm

### 2.2.1. Định danh cây insulin Ấn Độ bằng phương pháp quan sát đặc điểm hình thái.

Quan sát đặc điểm hình thái lá, hoa của cây insulin trưởng thành, sau đó sử dụng phương pháp hình thái so sánh để xác định tên loài. (theo tài liệu nào?)

### 2.2.2. Định danh cây insulin Ấn Độ bằng kỹ thuật sinh học phân tử.

Một phần của gen lục lạp vùng ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase oxygenase large subunit (*rbcL*) *Maturase K* (*MatK*) và gen ITS1 (internal transcribed spacer1) được sử dụng để xác định tên loài của các mẫu lá (bỏ). Các gen này thích hợp để định danh thực vật [17-18]. Mỗi được thiết kế có trình tự (tài liệu tham khảo ?)

Tên Mồi	Trình tự mồi	Chiều dài gen khuếch đại
Rbcl F	CCCTGCGGAAGGATCATTGTTCG	650bp
Rbcl R	GCGCAACTTGCGTTCAAAGACT	
MatKF	TTAGAGGATAAATTATTGCA	910
MatKF	GCCAAAGTTCGGGCACATGA	
ITS1F	CCCTGCGGAAGGATCATTGTTCG	400bp

Tách chiết DNA tổng số: Mẫu lá được nghiền trong nitơ lỏng (-196°C) thành dạng bột mịn, lấy 100 mg bột mẫu để tách DNA tổng số bằng Dneasy plant mini kit (Qiagen, Đức).

Sử dụng kỹ thuật PCR với các đầu đoạn gen đích với các thành phần Taq PCR Mastermix 2X 12,5µl mỗi xuôi và mỗi ngược có nồng độ (10PM) 1µl ADN tổng số 1µl nước 9,5µl. Sản phẩm PCR được điện di kiểm tra trên gel Agarose 1% và tinh sạch bằng Qiaquick gel extraction kit (Qiagen, Đức). Giải trình tự trực tiếp sản phẩm PCR sử dụng mỗi xuôi, mỗi ngược và bộ hóa chất BigDye terminator cycler v3.1, đọc kết quả trên hệ thống ABI 3100 Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Mỹ).

Phân tích kết quả: Sử dụng các phần mềm Blast, Mega 6.0.6 [19-20] để so sánh, phân tích, xây dựng cây phát sinh chủng loại của trình tự thu được và các trình tự tương đồng của loài trên thế giới đã được công bố trên ngân hàng gen.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Định danh cây insulin Ấn Độ bằng phương pháp quan sát đặc điểm hình thái

Cây insulin Ấn Độ được nhập về Việt Nam, trồng và chăm sóc đến khi ra hoa, nảy chồi mới. Trong quá trình trồng và chăm sóc, quan sát và ghi nhận các đặc điểm hình thái, đặc điểm sinh trưởng và phát triển của cây theo thời gian.

#### 3.1. Đặc điểm và kích thước của lá

Lá đơn, mọc thành một đường xoắn ốc rất đặc biệt, phiến lá có hình thon ngược, đầu lá có mũi nhọn, gốc lá nhọn, mép lá nguyên, mặt trên nhẵn, mặt dưới nhẵn, dài trung bình khoảng 20-30 cm, rộng khoảng 6 - 7 cm, gân chính nổi rõ, lá lúc non màu lục nhạt sau chuyển xanh đậm (hình 3.1). Lá có bẹ ôm sát thân. (đây là đặc điểm lá ở tuổi nào, trưởng thành ?).



Hình 3.1. Cách sắp xếp lá hình xoắn ốc và lá của cây insulin Ấn độ

### 3.2. Thời điểm ra hoa và đặc điểm hoa

Khi cây khoảng 4 tháng tuổi thì cây bắt đầu ra hoa, vào mùa nắng thì cây ra hoa nhanh hơn (khoảng 3,5 tháng). Cụm hoa mọc thành bông ở ngọn thân, không cuống, hình trứng, mọc rất sát (hình 3.2). Lá bắc xếp cặp đôi không đối xứng, có kích thước to nhỏ khác nhau. Lá bắc lớn thường có màu xanh ở trên, đỏ ở dưới (hình 3.3.a), trong khi lá bắc nhỏ có màu đỏ và có kích thước khoảng 1,7 cm (hình 3.3.b). Kích thước của hoa dài khoảng 5-6 cm rộng khoảng 2-3cm (hình 3.3.c). 3 lá đài có màu đỏ, hợp và đều (hình 3.3.d), kích thước khoảng 0,7 cm. Tràng hoa không đều, dính ở đáy, gồm 5 cánh hoa trong đó 3 cánh hoa bên ngoài khá đều nhau và có màu vàng, trong khi cánh hoa tiếp theo có kích thước lớn nhất, có màu vàng sọc đỏ phần đầu tạo cho hoa có tràng hình môi; cánh trong cùng có mang nhị hoa (hình 3.3.e). Chỉ nhị tròn và dài khoảng 4-5 cm (hình 3.3.f), 2 bao phấn gắn ở ngọn. Bầu hoa là bầu dưới (bầu hạ), kích thước khoảng 0,5 cm (hình 3.3.g), bộ nhụy cấu tạo bởi 3 lá noãn dính liền nhau thành bầu 3 ô (hình 3.2.h). ?



Hình 3.2. Cụm hoa của cây insulin Ấn Độ 4 tháng tuổi  
(a) chụp nghiêng (b) chụp thẳng



Hình 3.3. Giải phẫu hoa cây insulin Ấn Độ (a) các dạng lá bắc lớn, (b) lá bắc nhỏ, (c) hoa (d) lá đài (e) cánh hoa (f) chỉ nhị (g) bầu noãn (h) bầu noãn cắt ngang.

Đặc điểm hình thái của cụm hoa và hoa cây insulin Ấn Độ nhập nội về Việt Nam giống hoàn toàn với cây *Costus pictus* D. Don ex Lindl đã được các tác giả Murugan P. và Kalidass C. công bố trên tạp chí “Journal on New Biological Reports” số 5, tập 2 năm 2016 [21]. Như vậy có thể phân loại cây insulin Ấn Độ nhập nội về Việt Nam như sau:

- Giới: Thực vật
- Ngành: Tracheophyta
- Lớp: Liliopsida
- Bộ: Zingiberales
- Họ: Costaceae
- Chi: *Costus* L
- Loài: *Costus pictus* **D. Don ex Lindl (bổ sung tên đầy đủ).**

### 2.3. Định danh cây insulin Ấn Độ bằng kỹ thuật sinh học phân tử

Kết quả nghiên cứu một phần trình tự gen lục nạp và gen ITS – rDNA khẳng định thêm kết quả nghiên cứu hình thái. Kết quả giải trình tự DNA đích của các mẫu nghiên cứu sau khi cắt bỏ trình tự môi, thu được trình tự nucleotide đích có chiều dài của các gen *rbcL*, *MatK*, *ITS1* lần lượt là 603 bp, 875bp, 343bp. (vì sao cắt bỏ môi ? không thuộc trình tự gen ?- nên để trình tự đủ như phần tóm tắt đã thông báo độ dài của các gen)

### 2.3.1. So sánh trình tự của các mẫu nghiên cứu:

Các trình tự gen *rbcL*, *MatK* và *ITS1* của hai mẫu CSP1 và CSP2 được so sánh và kết quả cho thấy trình tự của hai mẫu này giống nhau hoàn toàn. Như vậy có thể kết luận rằng 2 cá thể CSP1 và CSP2 thuộc cùng một loài. Để xác định tên loài, việc so sánh trình tự gen *rbcL*, *MatK*, *ITS1* của các mẫu nghiên cứu với các trình tự trên ngân hàng gen được thực hiện bằng phần mềm Blast.

### 2.3.2. Kết quả phân tích trên phần mềm Blast

#### 2.3.2.1. Đối chiếu và so sánh các trình tự DNA gen *rbcL* của các mẫu nghiên cứu

Đối chiếu các trình tự DNA của gen *rbcL* của các mẫu này với cơ sở dữ liệu trình tự DNA (Genbank) bằng chương trình BLAST cho thấy các trình tự DNA của 2 mẫu nghiên cứu đều tương đồng 99% với trình tự của loài *Costus pulverulentus* có mã hiệu Gen Bank KF601573 (vì trên ngân hàng gen không có trình tự gen *rbcL* của loài *Costus pictus*) (hình 3.4.)

*Costus pulverulentus* plastid, partial genome

Sequence ID: [gb|KF601573.1](https://genbank.org/entry/GB|KF601573.1) Length: 163239 Number of Matches: 1

Related Information

Range 1: 59819 to 60421 [GenBankGraphics](#) Next Match Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1098 bits(594)	0.0	600/603(99%)	0/603(0%)	Plus/Plus
Query 1		TTACAGATTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAGTCAAAGATACGGATATCTTGGCAGC		60
Sbjct 59819		TTACAAATTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAGTCAAAGATACGGATATCTTGGCAGC		59878
Query 61		ATTTTCGAGTAACCTCCTCAACCTGGAGTTCGCCCGAAGAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGC		120
Sbjct 59879		ATTTTCGAGTAACCTCCTCAACCTGGAGTTCGCCCGAAGAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGC		59938
Query 121		CGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGCCTTGATCG		180
Sbjct 59939		CGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGCCTTGATCG		59998
Query 181		TTACAAAGGGCGATGCTACCACATCGAGGCCGTTGTTGGGGAGGATAATCAATATATTGC		240
Sbjct 59999		TTACAAAGGGCGATGCTACCACATCGAGGCCGTTGTTGGGGAGGATAATCAATATATTGC		60058
Query 241		TTATGTAGCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTACTAACATGTTTACTTC		300
Sbjct 60059		TTATGTAGCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTACTAACATGTTTACTTC		60118
Query 301		CATTGTGGGTAATGTATTTGGTTTTCAAAGCCTTACGGGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCG		360
Sbjct 60119		CATTGTGGGTAATGTATTTGGTTTTCAAAGCCTTACGGGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCG		60178

```

Query 361      AATTCCCACTTGTTATTCCAAAACCTTCCAAAGGCCCGCCTCACGGCATTACAGGTTGAAAG 420
|||||
Sbjct 60179     AATTCCCACTTGTTATTCCAAAACCTTCCAAAGGCCCGCCTCACGGCATTACAGGTTGAAAG 60238

Query 421      AGATAAGTTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTGTTGGGATGTACTATTAACCCAAAATTGGG 480
|||||
Sbjct 60239     AGATAAGTTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTGTTGGGATGTACTATTAACCCAAAATTGGG 60298

Query 481      ATTATCCGCAAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTT 540
|||||
Sbjct 60299     ATTATCCGCAAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTT 60358

Query 541      TACCAAAGATGATGAAAACGTGAACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCGT 600
|||||
Sbjct 60359     TACCAAAGATGATGAAAACGTGAACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGACCGTTTCTT 60418

Query 601      ATT 603
|||
Sbjct 60419     ATT 60421

```

Hình 3.4. Kết quả so sánh trình tự DNA của gen *rbcL* các mẫu nghiên cứu với cơ sở dữ liệu trình tự DNA (Genbank) bằng phần mềm Blast

### 2.3.2.2. Đối chiếu các trình tự DNA gen *MatK* của các mẫu nghiên cứu

Đối chiếu các trình tự DNA của gen *MatK* các mẫu này với cơ sở dữ liệu trình tự DNA (Genbank) bằng chương trình BLAST cho thấy các trình tự DNA của 2 mẫu nghiên cứu đều tương đồng 100% với trình tự của loài *Costus pictus* có mã hiệu Gen Bank AY994632, AY994631 (hình 3.5.).

*Costus pictus* voucher NY 352/95A tRNA-Lys (trnK) and maturase K-like genes, partial sequence; chloroplast

Sequence ID: [gb|AY994632.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/gb|AY994632.1) Length: 2606 Number of Matches: 1

Related Information

Range 1: 1238 to 2112 [GenBankGraphics](#) Next Match Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1616 bits(875)	0.0	875/875(100%)	0/875(0%)	Plus/Plus
Query 1	TTTAAATTATCTGTCAAATATACTAATAACCCCACTCCATCCATATGGAAATCTTGGTCCA	60		
Sbjct 1238	TTTAAATTATCTGTCAAATATACTAATAACCCCACTCCATCCATATGGAAATCTTGGTCCA	1297		
Query 61	AATCCTTCAATCCTGGATCCAGGATGTTCCCTCTTTGCATTTATTGCGGTTCTTTCTCCA	120		
Sbjct 1298	AATCCTTCAATCCTGGATCCAGGATGTTCCCTCTTTGCATTTATTGCGGTTCTTTCTCCA	1357		
Query 121	CGAATATTATAATTCGAATAGTCTCACTACCCCGAAGAAATCTATTTACGTATTTTCaaa	180		
Sbjct 1358	CGAATATTATAATTCGAATAGTCTCACTACCCCGAAGAAATCTATTTACGTATTTTCAAA	1417		
Query 181	agaaaataaaaaTTATTTTCGGTTCTTATATAATTCTTATGGATCTGAATGCGAATTTTT	240		
Sbjct 1418	AGAAAATAAAAAATTATTTTCGGTTCTTATATAATTCTTATGGATCTGAATGCGAATTTTT	1477		
Query 241	ATTAGTTTTTCTTCGTAAACAATCTTCTTATTACGATTAACATCTTCTGGAGTCTTTCA	300		
Sbjct 1478	ATTAGTTTTTCTTCGTAAACAATCTTCTTATTACGATTAACATCTTCTGGAGTCTTTCA	1537		
Query 301	TGAGCGAACACATTTTTATAGAAAAATAGAACATCTTGTAGTGTGCCGAAATCTAATTA	360		
Sbjct 1538	TGAGCGAACACATTTTTATAGAAAAATAGAACATCTTGTAGTGTGCCGAAATCTAATTA	1597		

```

Query 361 TGTGAGAAGACTCTATGGGTCTTCAAGGATCCTTTTATGCATTATGTTTCGATATCAAGG 420
|
Sbjct 1598 TGTGAGAAGACTCTATGGGTCTTCAAGGATCCTTTTATGCATTATGTTTCGATATCAAGG 1657

Query 421 AAAAGCGATTTTGGGTTCAGAGGGACTCATTTTCTGATGAAGAAATGGAAATGCCACCT 480
|
Sbjct 1658 AAAAGCGATTTTGGGTTCAGAGGGACTCATTTTCTGATGAAGAAATGGAAATGCCACCT 1717

Query 481 TGTCAATTTCTGGCAATATTATTTTCATTTTGGTCTCAACCGTATAGGATTCATATAAA 540
|
Sbjct 1718 TGTCAATTTCTGGCAATATTATTTTCATTTTGGTCTCAACCGTATAGGATTCATATAAA 1777

Query 541 CCAATTATCAAACCTATTCCTTCTATTTTCTGGGTTATTTTCAAGTGTACTAATAAATTC 600
|
Sbjct 1778 CCAATTATCAAACCTATTCCTTCTATTTTCTGGGTTATTTTCAAGTGTACTAATAAATTC 1837

Query 601 TTCGATGGTAAAGAATCAAATGGTAGATAATTCATTTCTAGTGAATACTCTTACTAAGAA 660
|
Sbjct 1838 TTCGATGGTAAAGAATCAAATGGTAGATAATTCATTTCTAGTGAATACTCTTACTAAGAA 1897

Query 661 ATTCGATACTATAGTCCCAATTATTCCTCTTATTCGATCATTGTCTAAAGCTCAATTTTG 720
|
Sbjct 1898 ATTCGATACTATAGTCCCAATTATTCCTCTTATTCGATCATTGTCTAAAGCTCAATTTTG 1957

Query 721 TAACGTATCCGGGCATCCTATTAGTAAGCCAATTTGGACCGATCTATCAGATTGTGATAT 780
|
Sbjct 1958 TAACGTATCCGGGCATCCTATTAGTAAGCCAATTTGGACCGATCTATCAGATTGTGATAT 2017

Query 781 TATTAATCGATTTGGTCGGATATATAGAAATCTTTCTCACTACCATAGTGGATCCTCaaa 840
|
Sbjct 2018 TATTAATCGATTTGGTCGGATATATAGAAATCTTTCTCACTACCATAGTGGATCCTCAA 2077

Query 841 aaaaCAGAGTTTGTATCGAATGAAGTATATACTTC 875
|
Sbjct 2078 AAAACAGAGTTTGTATCGAATGAAGTATATACTTC 2112

```

Hình 3.5. Kết quả so sánh trình tự DNA của gen MatK các mẫu nghiên cứu với cơ sở dữ liệu trình tự DNA (Genbank) bằng phần mềm **Blast**

### 2.3.2.3. Đối chiếu các trình tự DNA gen ITS của các mẫu nghiên cứu

Đối chiếu các trình tự DNA của gen ITS1 các mẫu này với cơ sở dữ liệu trình tự DNA (Genbank) bằng chương trình **BLAST** cho thấy các trình tự DNA của 2 mẫu nghiên cứu đều tương đồng 100% với trình tự của loài *Costus pictus* có mã hiệu Gen Bank AY972932 (hình 3.6.).

*Costus pictus* isolate 98.160.pic internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal DNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence

Sequence ID: [gb|AY972932.1](https://genbank.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank/AY972932.1) Length: 685 Number of Matches: 1

Related Information

Range 1: 33 to 375 [GenBankGraphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
634 bits(343)	4e-178	343/343(100%)	0/343(0%)	Plus/Plus
Query 1	TCGAGACCCTACAAGGAATGACTGCGAATACGTAAACCAAGTGTCACTGTTGGCTTTGGC			60
Sbjct 33	TCGAGACCCTACAAGGAATGACTGCGAATACGTAAACCAAGTGTCACTGTTGGCTTTGGC			92
Query 61	GGGCAAGGTCCCCTTTGGCCAGTGGCTTCGTGCGCCCCATCCCATCTCATCCCATTTGGG			120
Sbjct 93	GGGCAAGGTCCCCTTTGGCCAGTGGCTTCGTGCGCCCCATCCCATCTCATCCCATTTGGG			152

```

Query 121  GTCGGATGGGTAGGACGAACCATGAAAGCCCGGCGCAATGGGCGCCAAGGAACACAAACC 180
          |||
Sbjct 153  GTCGGATGGGTAGGACGAACCATGAAAGCCCGGCGCAATGGGCGCCAAGGAACACAAACC 212

Query 181  TCGGGGGCACATGTTTGGGGCCATGTTGGCCTCTAATGCACTCCCGTGTATGAATCCAAA 240
          |||
Sbjct 213  TCGGGGGCACATGTTTGGGGCCATGTTGGCCTCTAATGCACTCCCGTGTATGAATCCAAA 272

Query 241  CCTCACATGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAA 300
          |||
Sbjct 273  CCTCACATGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAA 332

Query 301  ATGTGATATTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGA 343
          |||
Sbjct 333  ATGTGATATTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGA 375

```

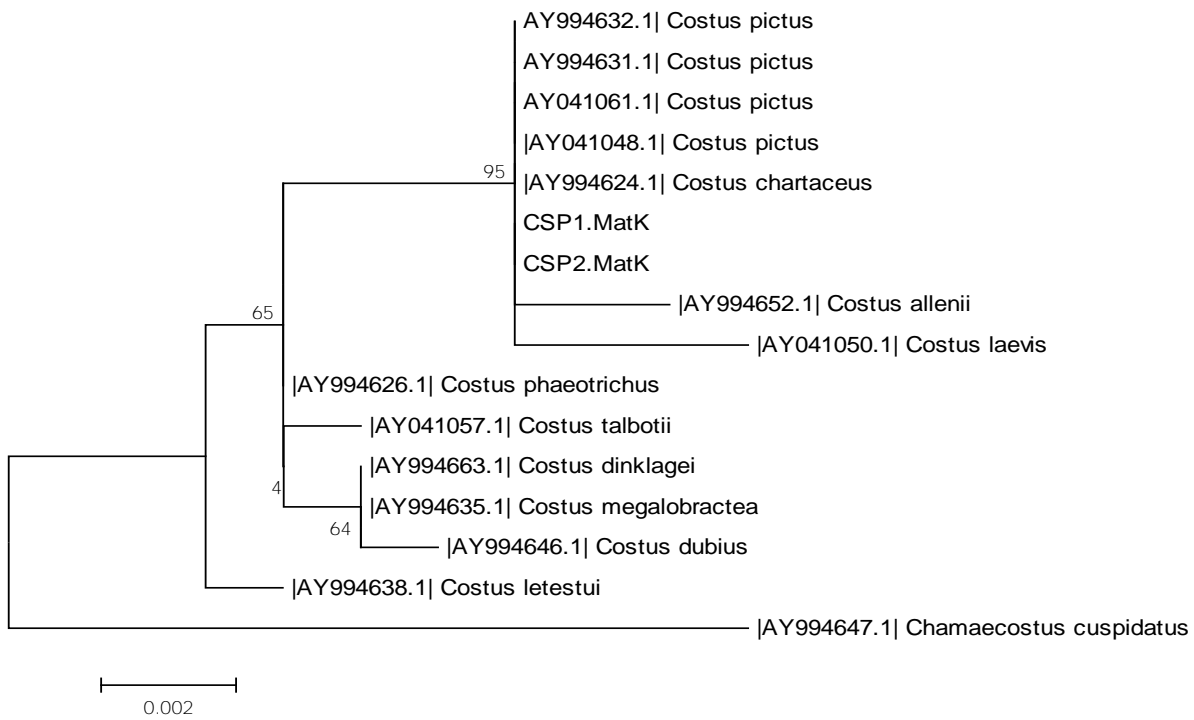
Hình 3.6. Kết quả so sánh trình tự DNA của gen ITS1 các mẫu nghiên cứu với cơ sở dữ liệu trình tự DNA (Genbank) bằng phần mềm Blast.

Kết quả so sánh trình tự gen *rbcl*, *MatK*, *ITS1* của các mẫu nghiên cứu với các trình tự trên ngân hàng gen dự đoán 2 mẫu nghiên cứu được ký hiệu là CSP1 và CSP2 thuộc loài *Costus pictus* họ mía dò (*Costaceae*).

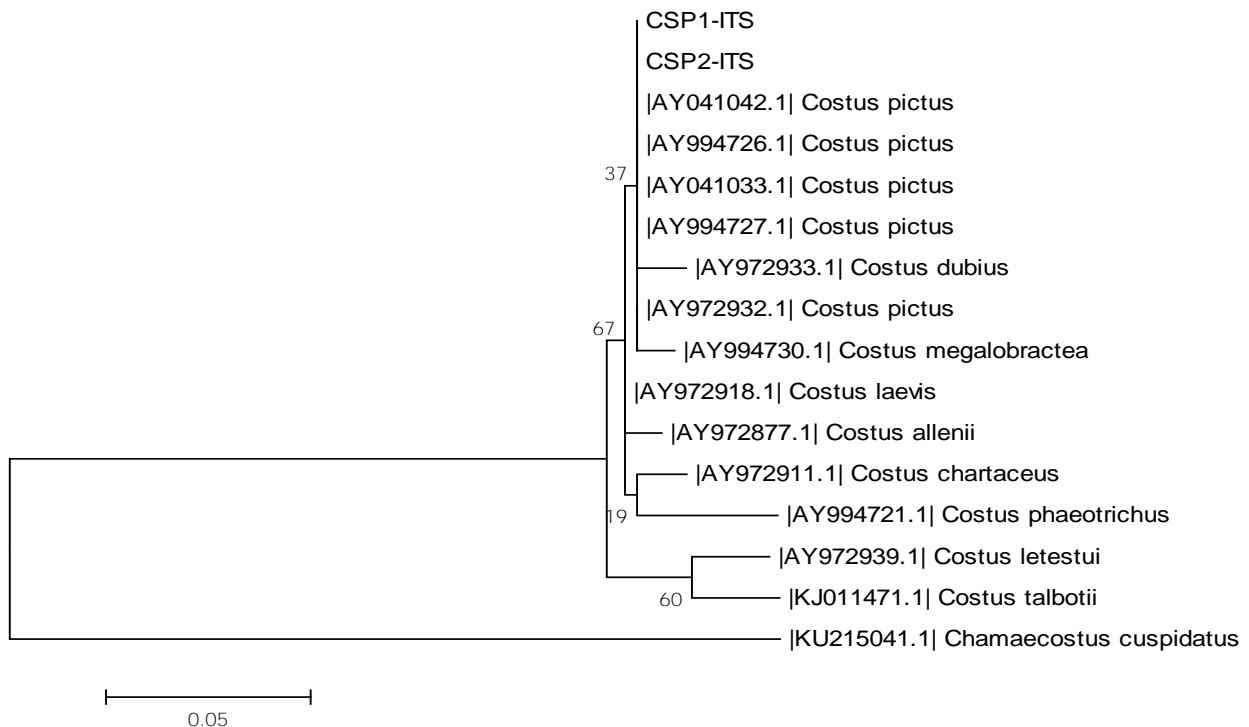
Để có thể xác định một cách chính xác hơn, chúng tôi sử dụng trình tự gen *MatK* và gen *ITS1* của hai mẫu CSP1 và CSP2 để nghiên cứu mối quan hệ di truyền của 2 mẫu này với một số loài thuộc chi *Costus* đã được công bố trên ngân hàng gen.

Hai cây phát sinh chủng loại được xây dựng với gen *MatK* dựa trên mô hình thay thế nucleotide T92 (Tamura 3-parameter) có chỉ số ( $BIC = 2957.817$ ,  $AICc = 2724.026$ ,  $-\ln L = 1330.942$ ,  $R=1.79$  Base frequencies (A = 0.339, C = 0.161, G = 0.161, T = 0.367); với gen *ITS1* dựa trên mô hình K2 (Kimura 2-parameter) có chỉ số ( $BIC = 2287.033$ ,  $AICc = 2082.511$ ,  $-\ln L = 1010.073$ ,  $R=1.79$  Base frequencies (A = 2.05, C = 2.05, G = 2.05, T = 2.05) [20]. Trình tự của loài *Chamaecostus cuspidatus* được sử dụng làm gốc nhóm minh họa rõ hơn cho mối quan hệ di truyền giữa các trình tự nghiên cứu với các trình tự tham khảo.





Hình 3.7. Cây phát sinh chủng loại được xây dựng dựa trên gen MatK để xác định mối quan hệ di truyền của các loài nghiên cứu theo phương pháp ML (Maximum Likelihood)



Hình 3.8. Cây phát sinh chủng loại được xây dựng dựa trên gen ITS1 để xác định mối quan hệ di truyền của các loài nghiên cứu theo phương pháp ML (Maximum Likelihood)

Hình 3.7 và 3.8 cho thấy các trình tự của hai mẫu nghiên cứu nằm cùng vị trí với các trình tự thuộc loài *Costus pictus*. Như vậy có thể khẳng định 2 cá thể CSP1 và CSP2 nhập nội vào Việt Nam đều thuộc loài *Costus pictus* họ mía dò (Costaceae). (tên đầy đủ)

#### 4. KẾT LUẬN

Đã giải trình tự được một phần vùng gen *rbcL* có chiều dài 603bp, gen *Matk* có chiều dài 875bp của hệ gen lục lạp và gen *ITS1* có chiều dài 343 bp của hai cá thể cây insulin Ấn Độ (CPS1 và CPS2) được nhập nội vào Việt Nam. Các trình tự gen *rbcL*, *MatK* và *ITS1* của hai cá thể CPS1 và CPS2 giống nhau hoàn toàn. Kết quả quan sát đặc điểm hình thái cùng với việc giải trình tự gen *rbcL*, *Matk*, *ITS1* của mẫu lá cây insulin Ấn Độ nhập nội đã xác định chúng là loài *Costus pictus* (D. Don, 1833). (số liệu trình tự về độ dài các gen cần thống nhất ở kết luận với mục phương pháp)

#### LỜI CẢM ƠN:

Công trình được sự hỗ trợ kinh phí của đề tài cấp Bộ Khoa học và Công nghệ năm 2016 “Nghiên cứu nhân giống vô tính cây insulin Ấn Độ (*Costus* sp.) cho mục đích phòng trị bệnh tiểu đường”.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Jose B, Reddy LJ (2010), Analysis of the essential oils of the stems, leaves and rhizomes of the medicinal plant *Costus pictus* from Southern India. *Int J Pharmacy Pharm Sci*, 2 (Suppl 2):100-101.
2. Aruna A, Nandhini SR, Karthikeyan V, Bose P, Vijayalakshmi K, Jegadeesh S. (2014) . Insulin plant (*Costus pictus*) leaves: pharmacognostical standardization and phytochemical evaluation. *American Journal of Pharmacy & Health Research* , 2(8): 106-119.
3. Modak M, Dixit P, Londhe J, Ghaskadbi S, Paul T, Devasagayam A. (2007), Indian Herbs and Herbal Drugs used for the treatment of Diabetes. *J Clin Biochem Nutr.*, 40(3): 163-173.
4. Jayasri MA, Gunasekaran S, Radha A, Mathew TL (2008), Antidiabetic effect of *Costus pictus* leaves in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Int J Diabetes and Metabolism*, 16: 117-122.
5. Gireesh G, Thomas SK, Joseph B, Paulose CS(2009), Antihyperglycemic and insulin secretory activity of *Costus pictus* leaf extract in streptozotocin induced diabetic rats and in *in vitro* pancreatic islet culture. *J Ethno Pharmacol*, 123: 470-474.
6. Jothivel N, Ponnusamy SP, Appachi M, Singaravel S, Rasilingam D, Deivasigamani K *et al.*, (2007), Anti-diabetic activity of Methanol leaf extract of *Costus pictus* D. Don in alloxan-induced diabetic rats. *J Health Sci.*, 53: 655-663.
7. Pareek A, Suthar M, Godavarthi A, Goyal M, Bansal V.( 2010), Negative regulation of glucose uptake by *Costus pictus* in L6 myotube cell line. *J Pharm Negative*; 1: 24-26.
8. Al-Romaiyan A, Jayasri MA, Mathew TL, Huang GC, Amiel S, Jones PM *et al.*( 2010), *Costus pictus* extracts stimulate Insulin secretion from mouse and human islets of Langerhans *in vitro*. *Cell Physiol Biochem.*; 26: 1051-1058.

9. Isaac ST, Alphonse JK.( 2011), Comparative study of hypoglycemic activity of *Costus pictus* and *Costus igneus* in streptozotocin induced diabetic rat. J Pharm Res.; 4: 3628-3629.
10. Suganya S, Narmadha R, Gopalakrishnan VK, Devaki K.( 2012), Hypoglycemic effect of *Costus pictus* D. Don on alloxan induced type 2 diabetes mellitus in albino rats. Asian Pac J Trop Disease; 2: 117-123.
11. Mani P, Kumar AR, Bastin TM, Jenifer S, Arumugam M. (2010), Comparative evaluation of extracts of *C. igneus* (or *C. pictus*) for hypoglycemic and hypolipidemic activity in alloxan diabetic rats. Int J Pharm Tech.; 2: 183-195.
12. Reddy LJ, Jose B.( 2010), Evaluation of antibacterial activity of the essential oil of *Costus pictus* D. Don from South India. International Journal of Current Pharmaceutical Research; 2(3): 68-70.
13. Majumdar M, Parihar PS.( 2012), Antibacterial, antioxidant and antiglycation potential of *Costus pictus* from Southern region, India. Asian J Plant Sci Res; 2: 95-101.
14. Nadumane VK, Rajashekar S, Narayana P, Adinarayana S, Vijayan S, Prakash S *et al.* (2011), Evaluation of the anticancer potential of *Costus pictus* on fibrosarcoma (HT-1080) cell line. J Nat Pharm.; 2: 72-76.
15. Caceres A, Grion LM, Martinez AM. (1987), Diuretic activity of plants used for the treatment of urinary ailments in Guatemala. J Ethnopharmacol.; 19: 233-245.
16. Comargo MEM, Najera CR, Torres RS, Alderate MEC.( 2006), Evaluation of the diuretic effect of the aqueous extract of *Costus pictus* D. Don in rat. Poc West Pharmacol Soc.; 49:72-74.
17. Specht C. D., 2006. Systematics and evolution of the tropical monocot family Costaceae (Zingiberales): a multiple dataset approach. *Syst. Bot.* 31: 88–105.
18. Nguyễn Đức Thành, 2014, Các kỹ thuật chỉ thị DNA trong nghiên cứu và chọn lọc thực vật. Tạp chí Sinh học, 36(3): 265-294 DOI:10.15625/0866-7160/v36n3.5974.
19. <http://ncbi.nlm.nih.gov>
20. Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S, 2013. MEGA6.0.6: *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* (MEGA) software version 6.0.6
21. Murugan P. và Kalidass C. (2016), *Costus pictus* D.Don Ex Lindl. (Costaceae) new to Odisha, India. Journal on New Biological Reports; 5(2): 99 – 102.

# IDENTIFICATION INSULIN PLANT FROM INDIA – A HERB FOR DIABETES TREATMENT

## SUMMARY

Indian insulin plant belongs to the family Costaceae is commonly used as a medicinal plant and capable of having magic cure for diabetes. Consumption of the leaves are believed to lower blood glucose levels, and diabetics who consumed the leaves of this plant did report a fall in their blood glucose levels. Because of the **preciuos** medicinal value, **this plant have improrted** to grow in Viet Nam by **some organisation**. **Identification of this plant is a necessary step to develop this plant** as a new herbal medicinal source. Morphological identification and analysis partial sequence of rbcL, Matk, ITS1 genes of **insulin plant's leaves had pointed** out that insulin **plants** which had been imported in Vietnam **are** *Costus pictus* (D. Don, 1833).

**Keyword:** insulin plant, diabetes, *Costus pictus*, identification