

NHẬN DIỆN HAI GIỐNG SƠ RI (*MALPIGHIA GLABRA* L.) CHUA VÀ NGỌT Ở GÒ CÔNG-TIỀN GIANG BẰNG HÌNH THÁI VÀ ĐIỆN DI PRÔTÊIN

TRẦN THỊ THANH TUYỀN, NGUYỄN BẢO TOÀN

Đại học Cần Thơ

Cây sơ ri (*Malpighia glabra* L.) là cây có nguồn gốc từ Nam, Trung Mỹ và được du nhập vào Việt Nam từ khi nào thì không rõ. Cây sơ ri là một trong những loại cây ăn quả được trồng ở nhiều tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long. Nhưng diện tích trồng nhiều nhất là ở vùng Gò Công bao gồm Gò Công Tây, Gò Công Đông và thị xã Gò Công, tỉnh Tiền Giang. Nơi đây hiện đang trồng hai loại sơ ri phổ biến trên thị trường là sơ ri ngọt và sơ ri chua, chiếm gần 600 ha diện tích. Riêng trái sơ ri chua là mặt hàng xuất khẩu có giá trị khá cao, giàu dưỡng chất đặc biệt là hàm lượng đường và vitamin như vitamin A, vitamin C. Các tác giả [2, 6, 7] đã mô tả các đặc tính hình thái thực vật để nhận dạng cây sơ ri. Với các đặc điểm hình thái đã được các tác giả mô tả thì chỉ phân loại ở mức độ loài (species) nhưng ở mức độ dưới loài (variety) thì công việc này trở nên khó khăn. Nông dân Gò Công canh tác cây sơ ri cho rằng chỉ có một giống sơ ri. Sự chua ngọt của cây sơ ri là do vùng đất canh tác gây ra. Nhưng cũng có nông dân cho rằng đây là hai giống (variety) riêng biệt, một giống chua và một giống ngọt. Sự nhận dạng ở mức độ hình thái rất khó phân biệt vì sự biểu hiện hình thái thường bị tác động của yếu tố môi trường.

Điện di prôtêin là một công cụ giúp ích rất nhiều trong việc phân biệt ở cấp độ dưới loài. Sự khác nhau giữa loài có thể cho rằng sự khác nhau của gen. Nhưng so sánh trực tiếp gen là công việc rất khó và tốn nhiều thời gian. Do đó có thể so sánh sự khác nhau sản phẩm hoạt tính gen bằng cách sử dụng prôtêin như là marker kiểu gen (genotype). Kỹ thuật điện di được sử dụng trong phân tích prôtêin và enzym để xác định đặc tính khác nhau của kiểu gen (genotype) ở các loài (species) và giống (variety) được nhiều tác giả nghiên cứu [1, 3, 8]. Trên cơ sở đánh giá về mặt hình thái và phân tích điện di prôtêin. Nghiên cứu này được thực

hiện nhằm nhận diện hai giống sơ ri chua và ngọt được canh tác ở Gò Công, tỉnh Tiền Giang.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

Mẫu vật được sử dụng để nghiên cứu là hai giống sơ ri chua và ngọt được canh tác ở các xã thuộc huyện Gò Công (Đông và Tây), tỉnh Tiền Giang. Mẫu được thu thập trên hai nền đất thịt pha cát và cát.

2. Khảo sát hình thái hai giống sơ ri chua và ngọt

Thân: quan sát và ghi nhận màu sắc và hình dạng thân, nhánh, lỗ khí, lông; **Lá:** đo chiều ngang, chiều dài phiến lá, đếm số gân lá của cả hai loại Sơ ri; **Hoa:** đo đường kính hoa; cánh hoa (chiều ngang, chiều dài) và ghi nhận sự hiện diện của cấu trúc hoa; **Quả:** đo đường kính, cân trọng lượng 30 quả của cả hai giống bằng cân điện tử.

Tất cả chi tiêu được đo 30 mẫu và tính độ lệch chuẩn (standard deviation).

3. Phân tích điện di prôtêin

Tinh sạch prôtêin: Thu mẫu lá của hai giống sơ ri Gò Công. Mẫu thu là các cành mang lá hơi non và có màu xanh lục. Các mẫu thu được cho vào bọc nilông, cột kín, ướp trong thùng lạnh và đưa vào phòng thí nghiệm. Tách và tinh sạch prôtêin: theo phương pháp [4]. Tách lá khỏi cành, dùng gòn thấm cồn 70° lau sạch lá, sau đó cho 1 g mẫu vào cối đựng ni tơ lỏng dùng chày nghiền nhỏ mẫu. Cho 5 ml dung dịch trích mẫu trực tiếp vào trong cối. Dung dịch trích mẫu gồm 0,175 Tris-HCl, pH = 8,8; 5% sodium dodecyl sulfate (SDS); 15% Glycerol; 0,3M DTT (Dithiothreitol). Sau đó cho vào ống ly tâm

và ly tâm 10.000 vòng/phút (rpm) trong thời gian 10 phút. Thêm 4 ml cồn tuyệt đối, trộn lẫn bằng máy lắc và giữ ở -20°C ít nhất 1 giờ để kết tủa prôtêin; ly tâm 5000 vòng/phút trong thời gian 15 phút để thu prôtêin đã kết tủa, lấy chất nổi trên bề mặt và loại bỏ phần cồn còn dư và rửa bằng 15-20 ml cồn 80° . Lặp lại lần nữa. Thu prôtêin đã kết tủa bằng cách ly tâm 5000 vòng/phút trong thời gian 15 phút, bỏ nước và làm khô mẫu thu được bằng máy hút chân không ở 37°C trong 15 phút. Cho TBS (Tris-buffered saline) vào. Ly tâm lần nữa để loại bỏ các phần còn lẫn tạp. Mẫu đã sẵn sàng để phân tích điện di prôtêin.

Điện di prôtêin: Chuẩn bị hộp điện di: rửa sạch khuôn kính đổ gel, lược cài, hộp điện di và lau khô bằng cồn. Chuẩn bị gel phân tích polyacrylamide 12% với tổng thể tích 30 ml/2 gel, bao gồm nước cất: 6,6 ml; dung dịch Acrylamide 8,0 ml; Tris-HCl (pH = 8,8) 5 ml; SDS 10% 0,2 ml; APS (ammonium persulfate) 0,2 ml. Dung dịch này được trộn lẫn bằng máy khuấy từ. Sau đó, cho thêm 0,008 ml TEMED (N, N, N', N'-tetramethylethylenediamine) vào dung dịch, khuấy đều và nhanh chóng dùng pipet cho vào khung kính đổ gel. Gel sẽ được bơm đến vạch cách lược 0,5 cm. Bơm tiếp một lớp nước cất lên bề mặt gel để tạo cho bề mặt gel phẳng. Chờ 20 - 30 phút cho gel đông lại.

Chuẩn bị mẫu prôtêin: Pha mẫu với nước cất theo tỉ lệ 1:1. Cho vào ống đựng mẫu (eppendorf) 100 μl mẫu prôtêin và 100 μl dung dịch đệm đã chuẩn bị như trên. Lắc đều và đun cách thủy ở 95°C trong 5 phút. Sau đó để nguội. Đổ gel tập trung được pha ở nồng độ 4% và gel có thành phần như sau: 0,6 M Tris-HCl, pH = 6,8 1,25 ml; Acrylamide 30%, 0,67 ml; Nước cất 3 ml; SDS 10% 0,05 ml; APS 10% 0,025 ml; Khuấy đều dung dịch này trên máy khuấy từ. Sau đó cho thêm 0,005 ml TEMED. Giống như khi đổ gel phân tích. Cho dung dịch vào khung đổ gel. Đưa lược vào lớp gel. Lược cần phải đưa vào một cách cẩn thận để tránh tạo bọt phía dưới chân lược và chú ý trước khi đổ gel tập trung, phải đổ bỏ phần nước phía trên gel phân tích bằng cách nghiêng và dùng giấy thấm. Gel tập trung sẽ đông lại sau khoảng 20 phút. Đánh dấu lại các vị trí của lỗ giếng.

Đưa mẫu vào các giếng: Sau khi lớp gel tập

trung đã đông lại thì tiến hành lắp bộ khung đổ gel vào khung chạy điện di. Đổ đầy dung dịch chạy điện di vào phía bên dưới và bên trên bộ chạy điện di. Lấy lược ra và cho mẫu vào các giếng. Mẫu có thể tích từ 10-20 μl được trộn với bromophenol R-250. Một giếng được bơm prôtêin chuẩn đã biết trọng lượng.

Chạy điện di: Sau khi hoàn tất việc đưa mẫu vào, đặt nắp hộp điện di và cho dòng điện đi qua. Dòng điện chạy điện di là 25 mA/80 V. Thời gian chạy 2 - 3 giờ. Cũng có thể quan sát quá trình dịch chuyển của prôtêin nhờ vào dải băng màu xanh của bromophenol blue R-250.

Nhuộm gel: Gel được lấy ra khỏi hộp gel và cho vào dung dịch nhuộm gel đã được chuẩn bị như sau (Comassie R-250 0,1 g; Methanol 50 ml; nước cất 40 ml; Acid acetic 100% 10 ml). Để làm nhanh quá trình nhuộm màu, hệ thống sẽ được đặt trên máy lắc đảo, thời gian nhuộm khoảng 1 giờ.

Tẩy màu: Tẩy gel trong dung dịch tẩy trên máy lắc 2 - 3 giờ. Dung dịch tẩy bao gồm: Methanol 100 ml; Acid acetic 100% 70 ml. Sau khi tẩy gel, gel sẽ sạch lớp màu nền và các băng prôtêin hiện rõ trên gel.

Đo và phân tích kết quả: Để xác định trọng lượng phân tử của prôtêin ở các băng có sự sai khác, tiến hành đo khoảng cách (R) từ giếng đến các 6 băng prôtêin chuẩn và đồng thời xác định giá trị $\log M$ (M là trọng lượng phân tử của prôtêin chuẩn ở mỗi băng). Sau đó, dùng chương trình Excel vẽ đồ thị tương quan giữa R và $\log M$ để xác định phương trình chuẩn $y = ax + b$ và tiến hành đo khoảng cách từ giếng đến 3 băng cho thấy sự sai khác giữa hai loại sơ ri ($R = y$), từ đó xác định được giá trị $x = \log M = (y - b)/a$. Như vậy, trọng lượng phân tử M sẽ được xác định bằng $10^{\log M}$.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Đánh giá về mặt hình thái

Kết quả cho thấy rằng về mặt hình thái thực vật của hai giống sơ ri ngọt và chua có những điểm giống nhau và khác biệt như sau:

Thân: Cây sơ ri thân dạng bụi, cao khoảng 3-5 m. Cành dài 1-2 m, phần cành sớm, tán thưa. Thân có dạng hơi thẳng. Vỏ cây hơi nhám và có màu nâu đen. Trên thân và cành cây có

những vân gợn sóng song song với trục thân, cành. Ngoài ra, trên thân và cành còn có nhiều lỗ khí nhỏ. Thân non thì lỗ khí nhỏ, màu vàng. Khi trưởng thành, lỗ khí nhiều hơn, màu trắng. Tuy nhiên, ở đỉnh non của cây không có các lỗ khí này mà thay vào đó là nhiều lông mịn, màu trắng. Khi cây càng già thì thân càng có màu nâu sậm; vân càng rõ, sâu và dài. Bên cạnh đó, lỗ khí cũng lớn và nhô cao hơn. Điểm khác nhau giữa sơ ri chua và sơ ri ngọt thể hiện ở màu sắc của thân thì chưa rõ rệt lắm.

Lá: Lá sơ ri dạng thuôn dài, nhọn ở đỉnh và hơi tù ở cuống lá, mép lá nguyên. Lá mọc đối, dạng đơn độc hay mọc thành cụm ở gần đỉnh cành do khoảng cách giữa các lá ngắn. Trên hai mặt lá đều phủ lông mịn, màu trắng. Lông sẽ mất khi lá trưởng thành. Giữa sơ ri chua và ngọt khác nhau về màu sắc, độ dòn, kích thước và độ dày của lá (bảng 1). Lá sơ ri ngọt màu xanh đậm, dòn hơn và dày hơn lá sơ ri chua. Ngoài ra, kích thước lá sơ ri ngọt lớn hơn lá sơ ri chua về chiều dài lẫn chiều ngang.

Bảng 1

So sánh kích thước lá (cm) sơ ri chua và sơ ri ngọt

Đất canh tác	Giống Sơ ri chua		Giống Sơ ri ngọt	
	Chiều ngang	Chiều dài	Chiều ngang	Chiều dài
Đất thịt pha cát	2,47 ± 0,08	5,85 ± 0,16	3,34 ± 0,18	6,58 ± 0,23
Đất cát	2,42 ± 0,12	5,08 ± 0,17	3,39 ± 0,09	6,79 ± 0,21

Bảng 2

Đường kính hoa (cm) và chiều dài cánh hoa (cm) của hoa sơ ri chua và sơ ri ngọt

Đất canh tác	Giống Sơ ri chua		Giống Sơ ri ngọt	
	Đường kính	Chiều dài	Đường kính	Chiều dài
Đất thịt pha cát	1,6 ± 0,02	0,7 ± 0,02	2,2 ± 0,02	0,9 ± 0,02
Đất cát	1,5 ± 0,02	0,6 ± 0,02	2,0 ± 0,02	0,8 ± 0,02

Hoa: Hoa sơ ri có dạng quạt, mọc đơn độc hay tạo thành cụm gồm vài hoa. Mỗi hoa có 5 cánh rời, màu hồng.

Mép cánh hoa mỏng, mềm, màu hồng nhạt hơn màu trung tâm cánh hoa. Bìa nguyên nhưng hơi gợn sóng của 4 trong tổng số 5 cánh của hoa. Riêng cánh còn lại to hơn một ít đặc biệt bìa có dạng răng cưa và gấp nếp rất nhiều. Mỗi hoa có 10 nhị đực mang bao phấn dạng gần tròn, màu vàng tươi. Hoa có 3 nướm, dạng gần tròn, màu vàng. Vòi rời, dạng thon dài, màu xanh vàng. Có 5 lá đài thon nhọn, phủ lông mịn. Mỗi lá đài có 2 đài phụ ở gốc. Đó là 2 khối u hơi thon và bầu ở đỉnh. Đường kính và chiều dài cánh hoa của cây sơ ri chua và ngọt cho thấy các giá trị trung bình có sự khác biệt (bảng 2). So sánh cấu trúc hoa của hai giống sơ ri chua và ngọt được trình bày ở bảng 3.

Cấu trúc hoa của hai giống sơ ri chua và ngọt thì hầu như giống nhau.

Trái: Trái sơ ri dạng tròn, đẹp. Trái chia làm 3 múi và có vỏ rất mỏng. Khi non trái màu xanh, khi vừa chín trái màu cà và màu đỏ khi

trái chín mọng. Trái Sơ ri ngọt có vỏ hơi nhẵn, nơi tiếp giáp giữa hai múi nhô lên đặc biệt ở gần cuống trái. Khi non vỏ và thịt trái có màu xanh đậm và rất dòn. Khi trái chín, thịt quả rất mềm, màu vàng nhạt và vỏ màu đỏ sậm (đỏ bầm). Đặc biệt, trái sơ ri ngọt có trọng lượng, kích thước lớn hơn trái sơ ri chua nhất là khi được trồng trên đất thịt và có vị ngọt.

Trái sơ ri chua có vỏ láng hơn, nơi tiếp giáp giữa hai múi tạo thành rãnh lõm sâu. Khi non, trái màu xanh nhạt, thịt quả màu xanh vàng và không dòn bằng sơ ri ngọt. Khi chín, thịt quả màu vàng sậm hơn và vỏ trái màu đỏ tươi hơn so với sơ ri ngọt, vị chua. Đường kính trái và trọng lượng trái của hai giống Sơ ri chua và ngọt có sự khác biệt (bảng 4).

Hạt: Trái sơ ri có 3 hạt. Một hạt có 3 khía hẹp tạo thành hai rãnh rộng, chạy suốt từ gốc đến đỉnh hạt. Khía giữa thẳng, hai khía bên nghiêng tạo thành một góc khoảng 100 - 110°. Hạt có dạng to, bầu ở góc và hơi nhọn ở đỉnh.

Các kết quả đạt được ở các bảng trên cho thấy rằng về mặt hình thái của hai giống sơ ri

chua và ngọt được nghiên cứu thì có những đặc tính hình thái mà các tác giả đã mô tả [2, 6, 7]. Trong các đặc điểm hình thái lá, đường kính hoa và trái cho thấy có sự khác biệt. Nhưng các thông số này rất dễ biến động theo yếu tố môi trường [5]. Riêng cấu trúc hoa ít bị tác động của môi trường. Trong phân loại, thực vật hoa là chỉ

tiêu quan trọng nhất để phân biệt sự khác nhau giữa các loài. Phân tích cấu trúc hoa ở bảng 3 cho thấy rằng các thông số của cấu trúc hoa của hai giống sơ ri chua và ngọt đều giống nhau. Như vậy cả hai giống này đều xuất phát cùng loài sơ ri (*Malpighia glabra* L.).

Bảng 3

So sánh các đặc điểm cấu trúc hoa Sơ ri chua và ngọt

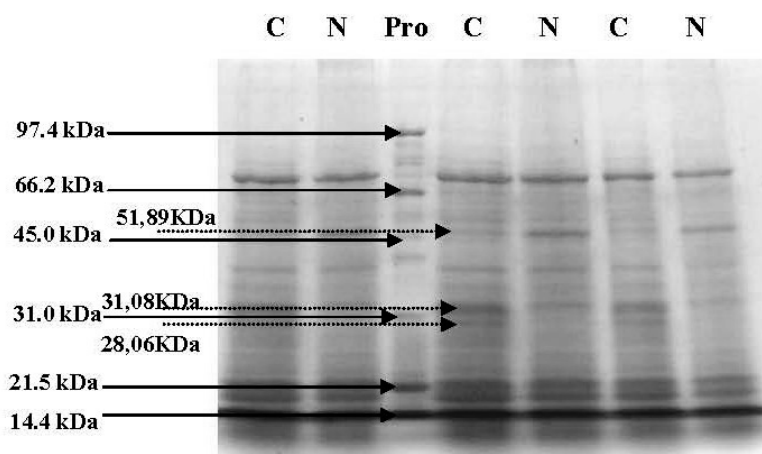
Đặc tính	Hoa sơ ri chua	Hoa sơ ri ngọt
Hoa tự	Cô độc/chùm	Cô độc/chùm
Tiền khai hoa (TKH)	TKH kết hợp	TKH kết hợp
Tính đối xứng	Không đều	Không đều
Phái tính	Lưỡng tính	Lưỡng tính
Số phần tử của hoa	Ngũ phân, dị phân	Ngũ phân, dị phân
Vị trí bầu noãn	Bầu noãn trên (thượng)	Bầu noãn trên (thượng)
Số lượng đài hoa	5	5
Cách xếp của đài	Luân sinh, rời, có lông	Luân sinh, rời, có lông
Màu sắc đài	Xanh vàng	Xanh vàng
Hình dạng đài	Thon nhọn	Thon nhọn
Số lượng cánh hoa	5	5
Cách xếp của cánh hoa	Luân sinh, rời	Luân sinh, rời
Màu sắc cánh	Hồng sậm	Hồng pha sắc tím
Hình dạng cánh hoa	Hình quạt, răng cưa	Hình quạt, răng cưa
Số lượng nhị	10	10
Cách xếp của nhị	Luân sinh, rời, không lông	Luân sinh, rời, không lông
Nơi đính của nhị	Đáy bầu noãn	Đáy bầu noãn
Hình dạng chỉ nhị	Thon; to gốc và hẹp đỉnh	Thon; to gốc và hẹp đỉnh
Màu sắc chỉ nhị	Trắng (chỉ nhị nhỏ), hồng (chỉ nhị to)	Trắng (chỉ nhị nhỏ), hồng (chỉ nhị to)
Hình dạng bao phấn	Gắn tròn, rời	Gắn tròn, rời
Số buồng/bao phấn	2	2
Đường khai bao phấn	1	1
Hướng	Ngoại hướng	Ngoại hướng
Màu sắc bao phấn	Vàng	Vàng
Hình dạng vòi	Thon dài	Thon dài
Kích thước vòi	Dài hơn nhị	Dài hơn nhị
Màu sắc vòi	Xanh vàng	Xanh vàng
Số lượng nướm	3	3
Hình dạng nướm	Gắn tròn, rời	Gắn tròn, rời
Màu sắc nướm	Vàng	Vàng
Số tâm bì	3	3
Số buồng /noãn	3	3
Số tiểu noãn	3	3
Cách đính noãn	Trung trực	Trung trực
Số lượng nhụy	3	3

Bảng 4

So sánh đường kính (cm) và trọng lượng trái (g) của hai giống sơ ri chua và sơ ri ngọt

Đất canh tác	Giống sơ ri chua		Giống sơ ri ngọt	
	Đường kính	Trọng lượng	Đường kính	Trọng lượng
Đất thịt pha cát	$1,92 \pm 0,03$	$3,79 \pm 0,11$	$2,13 \pm 0,03$	$5,42 \pm 0,16$
Đất cát	$1,69 \pm 0,02$	$3,08 \pm 0,17$	$1,87 \pm 0,02$	$4,00 \pm 0,15$

2. Điện di prôtêin



Hình 1. Kết quả điện di prôtêin của sơ ri chua và sơ ri ngọt
C. sơ ri chua; N. sơ ri ngọt; Pro. Prôtêin chuẩn

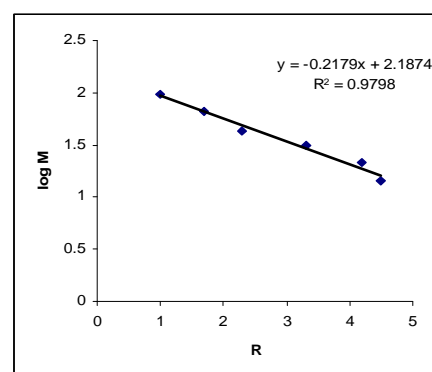
Phân tích prôtêin theo phương pháp điện di SDS - Page cho thấy rằng có 3 băng thể hiện sự khác biệt giữa chúng (hình 1). Giá trị khoảng cách (R) từ giếng đến các 6 băng prôtêin chuẩn và logM (M là trọng lượng phân tử của prôtêin chuẩn ở mỗi băng) được trình bày trong bảng 5.

Bảng 5

Giá trị của prôtêin chuẩn

R (cm)	M (kDa)	LogM
1,0	97,40	1,99
1,7	66,20	1,82
2,3	45,00	1,65
3,3	31,00	1,49
4,2	21,50	1,33
4,5	14,40	1,16

Từ các giá trị trong bảng tiến hành phân tích tương quan giữa giá trị R và log M (hình 2) để đạt được phương trình chuẩn là cơ sở để xác định trọng lượng phân tử của các băng khác biệt.



Hình 2. Đường cong chuẩn của logM theo khoảng cách di chuyển (cm)

Giá trị R^2 (hệ số tương quan) của đồ thị bằng 0,9798 là một giá trị tương quan rất chặt theo phương trình chuẩn:

$$y = -0,2179x + 2,1874$$

Giá trị M của các băng khác biệt sau khi đo khoảng cách cho kết quả ở bảng 6. Phân tích prôtêin thì giữa hai loại sơ ri có sự khác biệt về trọng lượng phân tử, sự khác biệt này thể hiện ở

các băng prôtêin có trọng lượng phân tử 51,89 kDa; 31,08 kDa và 28,06 kDa. Trong đó, băng có trọng lượng 28,06 kDa có thể được xem như là marker, vì cho thấy sự khác biệt rất rõ ràng. Trọng lượng phân tử 28,06 kDa chỉ có ở loại sơ ri chua mà không có ở loại sơ ri ngọt. Còn các prôtêin có trọng lượng 51,89 kDa có nhiều ở loại ngọt hơn loại chua và các prôtêin có trọng lượng 31,08 kDa thì ngược lại. Vì vậy có thể kết luận rằng sơ ri chua và ngọt là hai giống (variety) khác nhau.

Bảng 6

Số liệu của các băng khác biệt

R (cm) = y	M	Log M
2,20	51,89	1,72
3,20	31,08	1,49
3,40	28,06	1,45

III. KẾT LUẬN

Về mặt hình thái có thể phân biệt được hai giống sơ ri chua và sơ ri ngọt qua kích thước lá, hoa, trái và vị chua ngọt. Nhưng các yếu tố này dễ bị tác động của môi trường.

Điện di prôtêin cho thấy rằng đây là hai giống chua và ngọt khác nhau. Sự khác biệt được thể hiện ở các băng có trọng lượng phân tử là 51,89 kDa; 31,08 kDa và 28,06 kDa.

IDENTIFICATION OF TWO SWEET AND SOUR ACEROLA (*MALPIGHIA GLABRA* L.) VARIETIES BY MORPHOLOGY AND PROTEIN ELECTROPHORESIS

TRAN THI THANH TUYEN, NGUYEN BAO TOAN

SUMMARY

Acerola (*Malpighia glabra* L.) was one of the fruit trees cultivated popularly in some provinces of Mekong Delta. The largest cultivated areas of these trees were Go Cong districts (West and East Go Cong), Tien Giang province. Nowadays, there were two sour and sweet acerola varieties: cultivated. Identification of these two varieties through morphology was very difficult and easy to mistake. Protein electrophoresis was a good tool to identify varieties. This research aimed to identify two sour and sweet acerola varieties based on morphology and protein electrophoresis. Acerola samples used in research were collected on two kinds of soil: sandy silt and sandy soils. Protein electrophoresis were analysed according to Hames (1998). Research results showed that there were differences at some morphological characteristics such as flower and fruit diameters. However, morphological characteristics were often influenced easily by environmental impacts. While flower was not influenced. Flower diagram analysis showed that both varieties were very similar. Thus these morphological characteristics have not yet enough information to distinguish two varieties. Results of protein electrophoresis showed that there were quite differences between two sour and sweet acerola varieties. Differences were detected at bands which molecular weights were 51.89 kDa, 31.08 kDa and 28.06 kDa.

Key word: *Acerola (Malpighia glabra L.); morphology, protein electrophoresis.*

Ngày nhận bài: 15-1-2008

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Azeez M. A. and Morakinyo J. A.**, 2004: African Journal of Biotechnology, 3(11): 585-587.
2. **Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương**, 2004: Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, tập 2. Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
3. **Giannasi D. E. and D. J. Crawford**, 1986: Evolutionary Biology, 20: 25-148. Plenum Press, New York.
4. **Hames P. D.**, 1998: Gel electrophoresis of proteins, A practical approach, 3rd ed, Oxford.
5. **Hartmann H. T. et al.**, 1997: Plant propagation principles and practices. Sixth edition. Prentice/Hall Simon & Schuster/A Viacom company, Upper saddle River, New Jersey.
6. **Phạm Hoàng Hộ**, 2000: Cây cỏ Việt Nam, tập 2, Nxb. Trẻ. tp Hồ Chí Minh.
7. **Trần Hợp**, 2002: Tài nguyên cây gỗ Việt Nam, Nxb. Nông nghiệp.
8. **Vries I. M.**, 1996: Genet. Resour. Crop Eval., 43: 193-202.