

ĐÁNH GIÁ SỰ ĐA DẠNG DI TRUYỀN VÀ TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA CÂY LƯỢC VÀNG (*Callisia fragrans* LINDL.)

Huỳnh Kim Diệu¹ và Phan Thị Tư²

¹ Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

² Trường Trung cấp nghề Đồng Tháp Mười

Thông tin chung:

Ngày nhận: 07/08/2014

Ngày chấp nhận: 09/06/2015

Title:

Evaluation of the genetic diversity and the antibacterial activity of *Callisia fragrans* Lindl.

Từ khóa:

Cây Lược Vàng, đa dạng di truyền, hoạt tính kháng khuẩn, RAPD, MIC

Keywords:

Callisia fragrans Lindl., genetic diversity, antibacterial activity, RAPD, MIC

ABSTRACT

To evaluate the genetic diversity and the antibacterial activity of *Callisia fragrans* Lindl., 15 plants in different places in Mekong Delta (Ben Tre, Tien Giang, Vinh Long, Can Tho, Soc Trang, Bac Lieu, Dong Thap and Hau Giang) were collected. Their leaves were used for analyzing genetic diversity employing RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) markers and testing the antibacterial susceptibilities expressed as minimum inhibitory concentrations (MIC) by agar dilution method of eight selected Gram positive and Gram negative strains: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp., *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella ictaluri* and *Edwardsiella tarda*. Results showed that *Callisia fragrans* Lindl. had genetic diversity and consisted 4 groups with the genetic distance from 2,646 to 5,816. All of them had the most effectivity against *Staphylococcus aureus* ($512 \mu\text{g/ml} \leq \text{MIC} \leq 1024 \mu\text{g/ml}$, best in group 1, 3, 4), second against *Edwardsiella tarda* and *Edwardsiella ictaluri* ($1024 \mu\text{g/ml} \leq \text{MIC} \leq 2048 \mu\text{g/ml}$, best in group 1). Antibacterial activity of *Callisia fragrans* Lindl. was lower in the three bacterial strains: *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Aeromonas hydrophila* ($2048 \mu\text{g/ml} \leq \text{MIC} \leq 4096 \mu\text{g/ml}$) and the lowest effectiveness was observed against two strains: *Escherichia coli* and *Salmonella* spp., with $\text{MIC}=6400 \mu\text{g/ml}$.

TÓM TẮT

Để đánh giá sự đa dạng di truyền và khả năng kháng khuẩn của cây Lược Vàng, 15 mẫu cây Lược Vàng đã được thu thập từ nhiều nơi thuộc Đồng bằng sông Cửu Long (tỉnh Bến Tre, Tiền Giang, Vĩnh Long, Cần Thơ, Sóc Trăng, Bạc Liêu, Đồng Tháp và Hậu Giang), được phân tích đa dạng di truyền bằng kỹ thuật đánh dấu phân tử RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) và kiểm tra hoạt tính kháng khuẩn, xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) bằng phương pháp pha loãng trong thạch, trên 8 chủng vi khuẩn G⁺ và G⁻ tiêu biểu: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp., *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella ictaluri* và *Edwardsiella tarda*. Kết quả cho thấy: các mẫu Lược Vàng có sự đa dạng về di truyền DNA và chia làm 4 nhóm với khoảng cách liên kết dao động từ 2,646 đến 5,816. Cao Lược Vàng có khả năng ức chế mạnh nhất trên vi khuẩn *Staphylococcus aureus* ($512 \mu\text{g/ml} \leq \text{MIC} \leq 1024 \mu\text{g/ml}$, nhóm 1, 3, 4 mạnh nhất), kể đến *Edwardsiella tarda* và *Edwardsiella ictaluri* ($1024 \mu\text{g/ml} \leq \text{MIC} \leq 2048 \mu\text{g/ml}$, nhóm 1 mạnh nhất). Khả năng kháng khuẩn của cao Lược Vàng thấp hơn trên *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Aeromonas hydrophila* ($2048 \mu\text{g/ml} \leq \text{MIC} \leq 4096 \mu\text{g/ml}$) và yếu nhất trên 2 chủng: *Escherichia coli* và *Salmonella* spp., với $\text{MIC}=6400 \mu\text{g/ml}$.

1 GIỚI THIỆU

Cây Lược Vàng còn gọi là cây Lan Vòi, đã được sử dụng rất rộng rãi ở Nga, Việt Nam trong hỗ trợ và chữa trị nhiều bệnh như ung thư, bông, viêm nhiễm, lao phổi, bệnh tim mạch; nhưng tác dụng dược lý của cây này chưa được nghiên cứu nhiều (Chemenko *et al.*, 2007). Hiện nay, nhiều thông tin dân gian cho cây Lược Vàng có nhiều công dụng chữa bệnh: bệnh tim mạch, tăng huyết áp, viêm đại tràng mạn tính, viêm gan, táo bón, chảy máu dạ dày, tiểu đường, mỡ máu, thấp khớp, chấn thương trầy xước, bầm tím, viêm họng, viêm mũi, viêm thận, tai biến mạch máu não, u xơ tuyến tiền liệt, ung thư, đau lưng, bông,... Gần đây, Viện Dược liệu chứng minh cây Lược Vàng có khả năng kháng vi khuẩn *Staphylococcus aureus*. Tuy nhiên, công dụng chữa bệnh của cây Lược Vàng chủ yếu qua truyền miệng của dân gian và chưa được kiểm chứng khoa học (Trịnh Thị Điệp, 2008; Trịnh Tố Long, 2008). Đến nay, vẫn chưa có nghiên cứu nào cho biết sự thuần chủng của cây Lược Vàng. Để góp phần tìm hiểu về cây thuốc có nhiều công dụng này, nghiên cứu về sự đa dạng di truyền và khả năng kháng khuẩn của cây Lược Vàng đã được nhóm nghiên cứu của chúng tôi thực hiện.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu

– Địa điểm thu mẫu: 15 mẫu cây Lược Vàng từ nhiều nơi thuộc Đồng bằng sông Cửu Long (tỉnh Bến Tre, Tiền Giang, Vĩnh Long, Cần Thơ, Sóc Trăng, Bạc Liêu, Đồng Tháp và Hậu Giang) được thu mẫu (khoảng cách tối thiểu giữa 2 cây gần nhau nhất là 5 km). Thực hiện phản ứng RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) để nghiên

cứ sự đa dạng di truyền; các cây có sự khác biệt di truyền được trồng lại tại quận Ninh Kiều, thành phố Cần Thơ, để lấy mẫu phân tích khả năng kháng khuẩn.

– Sử dụng các chủng vi khuẩn:

Chủng vi khuẩn nguồn gốc từ viện Pasteur Tp Hồ Chí Minh: *Staphylococcus aureus* 081008 (*S. aureus*), *Streptococcus faecalis* 010408 (*S. faecalis*), *Escherichia coli* 101008 (*E.coli*), *Pseudomonas aeruginosa* 111008 (*P. aeruginosa*), *Salmonella* spp. 291003 (*Sal. spp*), *Edwardsiella tarda* 280208 (*E. tarda*) và *Aeromonas hydrophila* 011004 (*A. hydrophila*).

Chủng vi khuẩn nguồn gốc từ Khoa Thủy sản Trường Đại học Cần Thơ: *Edwardsiella ictaluri* CFA 258 – An Giang, 2006 (*E. ictaluri*).

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Nghiên cứu đa dạng di truyền

– Tách chiết DNA tổng số theo phương pháp CTAB (cetyltrimethyl ammonium bromide) (Doyle, 1991).

– Sử dụng 15 primer ngẫu nhiên (của công ty First BASE, Malaysia) cho kỹ thuật RAPD, mỗi primer dài 10 nucleotide, thông tin về trình tự các primer sử dụng được trình bày trong Bảng 1.

– Dựa vào hình ảnh điện di sản phẩm RAPD, thống kê các băng xuất hiện và không xuất hiện, phân tích Cluster, vẽ sơ đồ hình nhánh thể hiện mối quan hệ di truyền giữa các giống dựa trên ma trận khoảng cách Euclidean, bằng phần mềm Statistica 5.5 theo phương pháp UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) (Sneath và Sokal, 1973).

Bảng 1: Trình tự các nucleotide của 15 primer được sử dụng trong phương pháp chỉ thị RAPD

STT	RAPD primer	Trình tự primer (5'.....3')	STT	RAPD primer	Trình tự primer (5'.....3')
1	OPB01	GTT TCG CTC C	9	OPB09	TGG GGG ACT C
2	OPB02	TGA TCC CTG G	10	OPB10	CTG CTG GGA C
3	OPB03	CAT CCC CCT G	11	OPB11	GTA GAC CCG T
4	OPB04	GGA CTG GAG T	12	OPB12	CCT TGA CGC A
5	OPB05	TGC GCC CTT C	13	OPB13	TTC CCC CGC T
6	OPB06	TGC TCT GCC C	14	OPB14	TCC GCT CTG G
7	OPB07	GGT GAC GCA G	15	OPB15	GGA GGG TGT T
8	OPB08	GTC CAC ACG G			

2.2.2 Thử tính kháng khuẩn

Các cây có sự khác biệt về di truyền được trồng lại trong cùng điều kiện chăm sóc, dinh dưỡng. Sau 4 tháng, cây được sử dụng để kiểm tra tính kháng khuẩn.

Lá cây Lược Vàng được sấy khô và chiết bằng phương pháp ngâm dầm với methanol, loại bỏ dung môi bằng máy cô quay đến cạn, được cao thô, dùng để thử tính kháng khuẩn, xác định nồng độ ức chế tối thiểu MIC (minimum inhibitory

concentration) (Nguyễn Văn Đàn và Nguyễn Việt Tựu, 1985).

Dùng phương pháp pha loãng liên tục trong thạch để xác định MIC (Trương Công Quyền và ctv., 1986; Từ Minh Koóng và ctv., 2001).

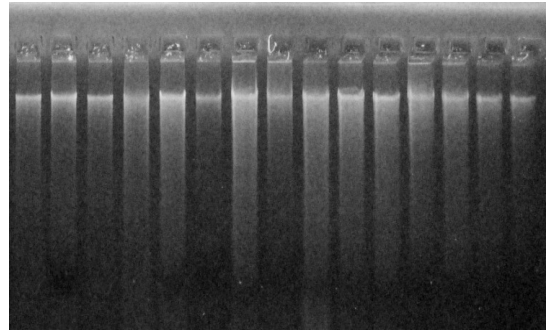
3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Sự đa dạng về di truyền

Sau khi tách chiết DNA tổng số, kiểm tra nhanh sản phẩm bằng cách chạy điện di trên gel agarose 1%, kết quả được thể hiện ở Hình 1.

Để đánh giá sự đa hình của 15 mẫu cây Lược Vàng, 15 primer RAPD đã được sử dụng trong phản ứng PCR. Kết quả thu được từ phổ điện di có 8 primer chỉ ra băng rõ, xuất hiện trên tất cả 15 mẫu và đều cho kết quả đa hình. Tổng cộng có 95 băng được ghi nhận với trung bình trên 1 primer là $11,88 \pm 4,73$ trong đó có 65 băng đa hình chiếm tỉ lệ 66,51% với trung bình là $8,13 \pm 5,54$ băng đa

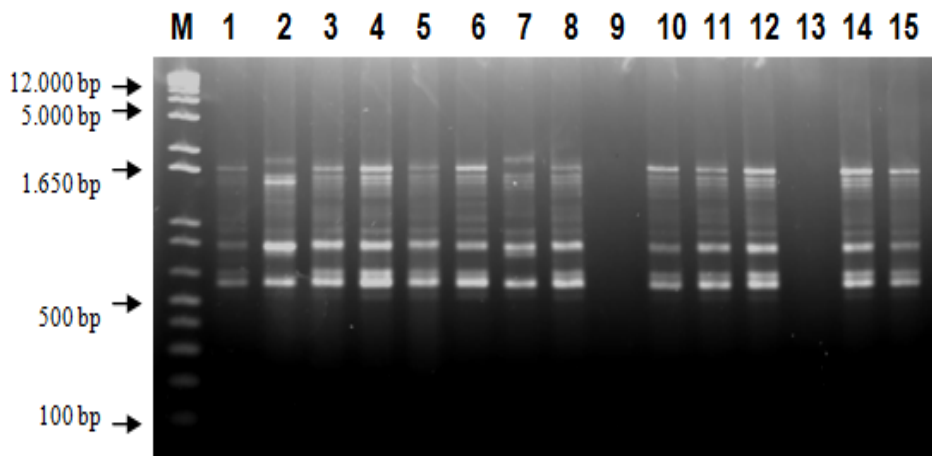
hình trên mỗi primer. Primer cho số băng ít nhất là OPB02 với tổng số băng thu được là 3. Primer OPB08 có tổng số băng cao nhất, số băng ghi nhận được là 19 băng (Hình 3) và có tỉ lệ đa hình cao nhất (100%) như primer OPB04 (Hình 2). Tỉ lệ đa hình thấp nhất ghi nhận được ở primer OPB06 (18,2%) (Bảng 2).



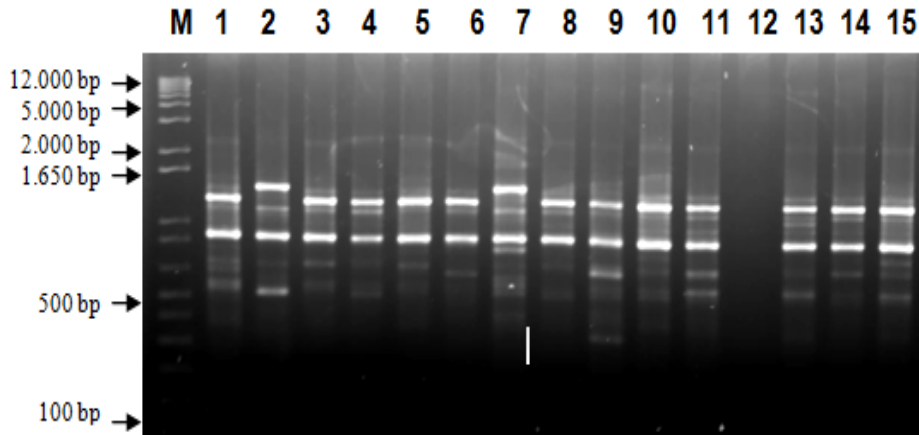
Hình 1: Kết quả điện di kiểm tra mẫu ly trích DNA của 15 mẫu cây Lược Vàng

Bảng 2: Kết quả sự đa hình từ marker RAPD ở 15 mẫu cây Lược Vàng được phân tích

TT	Primer	Tổng số băng DNA	Số băng đa hình	Tỉ lệ đa hình (%)	Thứ tự băng đa hình
1	OPB02	3	2	66,7	2, 3
2	OPB03	16	10	62,5	1, 4, 7, 8, 10, 12, 13, 14, 15, 16
3	OPB04	11	11	100,0	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11
4	OPB05	11	9	81,8	1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11
5	OPB06	11	2	18,2	1, 6
6	OPB07	10	6	60,0	1, 2, 4, 5, 8, 9
7	OPB08	19	19	100,0	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19
8	OPB10	14	6	42,9	1, 2, 3, 5, 13, 14
Tổng cộng		95	65		
Trung bình ± SD		11,88 ± 4,73	8,13 ± 5,54	66,51	



Hình 2: Kết quả điện di sản phẩm RAPD với primer OPB04



Hình 3: Kết quả điện di sản phẩm RAPD với primer OPB08

Từ kết quả phân tích hình ảnh điện di sản phẩm RAPD, bằng phương pháp UPGMA dựa trên 95 băng đánh dấu phân tử RAPD, mối quan hệ di truyền giữa 15 mẫu cây Lược Vàng được thể hiện qua sơ đồ hình nhánh (Hình 4).

Dựa vào sơ đồ hình nhánh của 15 cây Lược Vàng được thu hái ở 8 tỉnh của Đồng bằng sông Cửu Long, sau khi phân tích di truyền được chia thành 4 nhóm:

Nhóm 1: gồm các cây số 1, 3, 5, 4, 6, 8, 14, 10, 15, 11 và 12, các cây này có khoảng cách liên kết nằm trong khoảng từ 2,236 - 4,359.

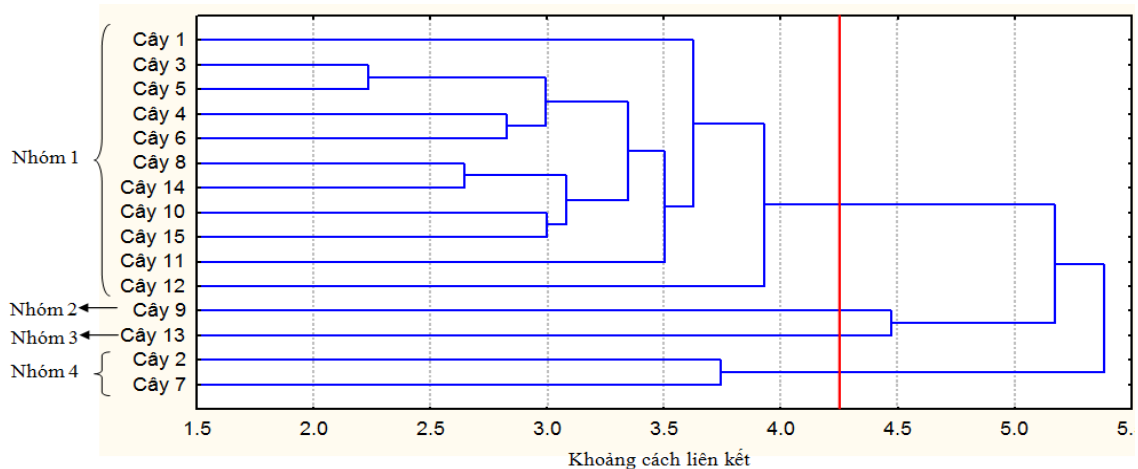
Nhóm 2: chỉ có cây số 9 được thu hái từ huyện

Mỹ Xuyên, tỉnh Sóc Trăng.

Nhóm 3: là cây số 13 có nguồn gốc từ huyện Lấp Vò tỉnh Đồng Tháp.

Nhóm 4: gồm 2 cây, cây số 2 có nguồn gốc từ huyện Chợ Gạo, tỉnh Tiền Giang và cây số 7 ở huyện Phong Điền, thành phố Cần Thơ nằm trong khoảng liên kết 3,742.

Giữa 15 mẫu cây Lược Vàng được phân tích, khoảng cách liên kết thấp nhất là 2,236 (cây 3 có nguồn gốc huyện Tam Bình, tỉnh Vĩnh Long với cây 5 có nguồn gốc huyện Cái Răng, Tp. Cần Thơ) và cao nhất là 5,916 (cây 1 có nguồn gốc huyện Mỏ Cày, tỉnh Bến Tre với cây 7 huyện Phong Điền, Tp. Cần Thơ).



Hình 4: Sơ đồ hình nhánh thể hiện mối quan hệ giữa các cây Lược Vàng theo kiểu phân nhóm UPGMA, dựa trên marker RAPD

3.2 Thử tính kháng khuẩn

Các cây Lược Vàng có sự khác biệt di truyền

được trồng lại trong cùng điều kiện chăm sóc, sau 4 tháng lá các nhóm cây này được thử tính kháng khuẩn, kết quả được trình bày qua Bảng 3.

Bảng 3: Nồng độ ức chế tối thiểu của cao lá các nhóm Lược Vàng (µg/ml)

Nhóm	Vi khuẩn							
	<i>S. aureus</i>	<i>S. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Sal. spp</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>E. ictaluri</i>	<i>E. tarda</i>
1	512	4.096	6.400	4.096	6.400	4.096	1.024	1.024
2	1.024	2.048	6.400	4.096	6.400	2.048	2.048	2.048
3	512	2.048	6.400	2.048	6.400	4.096	2.048	2.048
4	512	4.096	6.400	2.048	6.400	2.048	1.024	2.048

Qua Bảng 3 cho thấy: Khả năng ức chế các chủng vi khuẩn của các nhóm Lược Vàng không giống nhau và trong cùng nhóm Lược Vàng cũng có sự khác biệt. Tuy nhiên, các nhóm Lược Vàng đều ức chế mạnh nhất trên vi khuẩn *S. aureus* (512 µg/ml ≤ MIC ≤ 1.024 µg/ml, chỉ nhóm 2 yếu hơn), kế đến *E. ictaluri* và *E. tarda* (1.024 µg/ml ≤ MIC ≤ 2.048 µg/ml, nhóm 1 mạnh nhất), yếu hơn trên *S. faecalis*, *P. aeruginosa* và *A. hydrophila* (2.048 µg/ml ≤ MIC ≤ 4.096 µg/ml), và thấp nhất trên *E. coli* và *Sal. spp.* (MIC ≤ 6.400 µg/ml).

Cao Lược Vàng tác động tốt trên chủng *S. aureus* ở nồng độ 512 µg/ml (nhóm 1,3 và 4). Theo Trịnh Thị Điệp và ctv. (2008) cao chiết lá, thân Lược Vàng ở nồng độ tối thiểu 0,1171 g/ml và 0,1557 g/ml có tác dụng kháng khuẩn *S. aureus* tương đương với kháng sinh azithromicin ở nồng độ 0,2 µg/ml và 0,21 µg/ml. Kết quả nghiên cứu cũng phù hợp với Trịnh Thị Điệp và ctv. (2011) cao Lược Vàng có khả năng ức chế *S.aureus* và không kháng tốt trên *E. coli*.

S. aureus gây ra nhiều bệnh nhiễm trùng, tạo mủ và gây độc ở người như gây nhọt da, viêm phổi, viêm vú, viêm tĩnh mạch, viêm màng não, nhiễm trùng tiểu và nhiều bệnh nguy hiểm khác như viêm tủy xương, viêm màng trong tim. *S. aureus* cũng là nguyên nhân gây nhiều vụ ngộ độc thực phẩm do tạo độc tố ruột enterotoxin trong thực phẩm và gây hội chứng sốc do tạo siêu kháng nguyên trong máu (Kenneth, 2005). Bên cạnh tính gây bệnh, *S. aureus* còn đề kháng cao với kháng sinh: penicillin (95,8%), ampicillin (89,6%), tetracycline (87,5%) và 75% đối với chloramphenicol (Uwaezuoke et al., 2004). Theo Nawaz et al. (2009) *S. aureus* đề kháng với kháng sinh augmentin, ampicillin, cephradine, ciprofloxacin, gentamycin, ceftriaxone, cefuroxime, clindamycin, imipenem, oxacillin. Kết quả của Ravinder et al. (2011) cho thấy trong số 107 chủng *S. aureus* được phân lập thì vi khuẩn đề kháng

(36,4%) với streptomycin, (33,6%) với oxytetracycline, (29,9%) với gentamycin, (26,2%) với chloramphenicol, pristinomycin và ciprofloxacin là (25,6%).

Bên cạnh khả năng kháng khuẩn *S. aureus*, cao Lược Vàng cũng tác động tốt trên *E. ictaluri* (nhóm 1 và 4 với MIC=1.024 µg/ml) và *E. tarda* (nhóm 1 với MIC=1.024 µg/ml). *E. ictaluri* là nguyên nhân chính gây bệnh nhiễm trùng máu, bệnh gan thận mủ ở cá tra. *E. tarda*, gây áp xe gan thận, gây bệnh trên tôm càng xanh (Quinn, 1994). *E. tarda* còn lây nhiễm từ cá sang người gây tiêu chảy, viêm hệ thống niệu, viêm màng não, viêm nội tâm mạc, viêm dạ dày ruột, áp xe vôi trứng, áp xe vùng chậu; gây viêm dạ dày ruột, nhiễm khuẩn dạ dày, ruột và cũng là nguyên nhân gây viêm ruột già, áp xe ở gan và bệnh kiết lỵ ở người (Janda et al., 1991).

Trong dân gian cây Lược Vàng được cho là “chữa bách bệnh”, nhưng từ kết quả nghiên cứu cho thấy: cao Lược Vàng không có hiệu quả đối với 2 chủng vi khuẩn gây bệnh trên đường tiêu hóa *Sal. spp.* và *E. coli* (cao Lược Vàng ức chế ở nồng độ rất cao 6.400 µg/ml). Theo Chemenko et al. (2007) cây Lược Vàng có tác dụng trị bệnh lao phổi, viêm phổi,...

Khả năng kháng khuẩn của cây Lược Vàng được lý giải do chứa các hoạt chất có tính năng kháng khuẩn. Chemenko et al. (2007) và Olemikov et al. (2008) tìm thấy hợp chất isoorientin trong cây Lược Vàng, và isoorientin thể hiện hoạt tính kháng khuẩn ở nồng độ 100-200 µg/ml (Cottiglia et al.,2001; Becker et al., 2005; Liu et al., 2009). Theo Đỗ Xuân Cẩm (2009), Nguyễn Ngọc Dung và Vĩnh Định (2011), cây Lược Vàng chứa flavonoid có hoạt tính kháng khuẩn. Theo Seyoum et al.(2006), hợp chất flavonoid gồm 2 thành phần: quercetin dùng điều trị viêm thận, viêm khớp hay chống nhiễm trùng và kaempferol có thể điều trị các bệnh nhiễm khuẩn. Ngoài ra, trong cây Lược Vàng còn chứa steroid (Đỗ Xuân Cẩm, 2009) cũng

có tác dụng diệt khuẩn (Nguyễn Văn Đậu và ctv, 2011).

Việc phát hiện tính kháng khuẩn của Lược Vàng trên các loài vi khuẩn có ý nghĩa quan trọng trong tìm những thuốc mới có khả năng kháng khuẩn dùng trong điều trị bệnh ở động vật thủy sinh và gia súc. Cây Lược Vàng tuy không thể thay thế hoàn toàn kháng sinh tân dược nhưng hi vọng có thể cùng với kháng sinh tân dược góp phần trong điều trị bệnh, hạn chế sự đề kháng thuốc cũng như ảnh hưởng xấu của tân dược đến sức khỏe con người và môi sinh.

4 KẾT LUẬN

Thông qua các dữ liệu chỉ thị RAPD cho thấy Lược Vàng không thuần chủng mà gồm 4 nhóm. Các nhóm này đều có khả năng kháng khuẩn, ức chế tốt nhất trên vi khuẩn *S.aureus* và kể đến *E. ictaluri* và *E. tarda*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Becker, H., Scher, J.M., Speakman, J.B, Zapp, J., 2005. Bioactivity guided isolation of antimicrobial compounds from *Lythrum salicaria*. *Fitoterapia*. 76(6): 580-584.
2. Chemenko, T.V., N.T Ul'chenko., A.T. Glushenkova. and D. Redzhepov, 2007. Chemical investigation of *Callisia fragrans*. *Chemistry of Natural Compounds*, 43: 253-255.
3. Cottiglia F., G.Loy, D.Garau, C.Floris, M.Casu, R.Pompei, L.Bonsignore, 2001. Antimicrobial evaluation of coumarins and flavonoids from the stems of *Daphne gnidium* L. *Phytomedicine* 8:302-305
4. Đỗ Xuân Cẩm, 2009. Một vài dẫn liệu sinh học về cây Lược Vàng. *Tạp chí Nghiên cứu và Phát triển*. 3(74):55-58.
5. Dolye J. J.,1991. DNA protocols for plants–CTAB total DNA isolation, In: Hewitt GM (ed) *Molecular techniques intaxonomy*, Springer, Berlin, Heidelberg New York. pp. 283 – 293.
6. Janda, M. J., L. A. Sharon, K. B. Susan, K. C. Wendy, P. Catherine, P. K. Robert, and K. Tamura, 1991. Pathogenic properties of *Edwardsiella* species, *Journal of Clinical Microbiology* September. 29(9): 1997–2001.
7. Kenneth T., 2005. *Todar's online Textbook of bacteriology*. University of Wisconsin – Madison, Department of Bacteriology.

8. Liu M., D.R. Katerere, A.I.Gray, V.Seidel, 2009. Phytochemical and antifungal studies on *Terminalia mollis* and *Terminalia brachystemma*. *Fitoterapia*. 80: 369-373.
9. Nawaz, S. K., R. Samreen, R. Saba and H. Shahida, 2009. Screening for antimethicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bacteriocin producing bacteria. Department of Microbiology and Molecular Genetics, University of the Punjab Lahore, Pakistan: 365-366.
10. Nguyễn Minh Khởi, Trịnh Thị Điệp, Nguyễn Trọng Thông, Phạm Thị Vân Anh, Đỗ Thị Phương, Phạm Nguyệt Hằng, Nguyễn Thị Phương, Phương Thiện Thương, Nguyễn Trang Thúy và Hoàng Thị Diệu Hương, 2011. Nghiên cứu độc tính và tác dụng sinh học của cây Lược Vàng. Công trình nghiên cứu khoa học Viện Dược liệu 2006-2011, NXB Khoa học và Kỹ thuật, tr. 233-241.
11. Nguyễn Thị Ngọc Dung và Vĩnh Định, 2011. Khảo sát thành phần hóa học của cây Lược Vàng (*Callisia fragrans* Lind L.). *Y học thành phố Hồ Chí Minh*. 15(1): 391-394.
12. Nguyễn Văn Đán và Nguyễn Viết Tựu, 1985. Phương pháp nghiên cứu hóa học cây thuốc, Thành phố Hồ Chí Minh, NXB Y học.
13. Nguyễn Văn Đậu, Hoàng Thị Hoa và Nguyễn Hồng Quân, 2011. Góp phần nghiên cứu thành phần hóa học của cây Lược Vàng (*Callisia fragrans* L.). *Tạp chí Dược Học*. 6: 54-55.
14. Olemikov, D. N., T.A. Ibragimov., I.N. Zilfikarov., V.A. Chelombitko, 2008. Chemical composition of *Callisia fragrans* wood, juice and its antioxidative activity (in vitro). *Chemistry Natural Composition*. 44: 776-777.
15. Quinn P., 2004. *Clinical veterinary microbiology*. Elsevier's Health Sciences Rights, Philadelphia, USA.
16. Seyoum, A., K. Asres., F.K. El-Fiky, 2006. Structure radical scavenging relationship of Flavonoids. *Phytochemistry*. 67: 2058-2059.
17. Sneath, P.H.A. and R.R. Sokal, 1973. *Numerical taxonomy*, Freeman, San Francisco: 573.
18. Trịnh Thị Điệp, Đỗ Thị Phương, Nguyễn Kim Phương và Nguyễn Minh Khởi, 2008. Bước đầu nghiên cứu về thành phần hóa học và tác dụng sinh học của cây Lược Vàng

- Callisia fragrans (Lindl.) Woods. Tạp chí Dược liệu. 13(6): 276-279.
19. Trịnh Tổ Long, 2008. Lược Vàng cây thuốc mọi nhà, Tạp chí VietNam Time. 14 (9): 1-2.
 20. Trương Công Quyền và ctv, 1986. Thực hành dược khoa. NXB Y học.
 21. Từ Minh Kóong và ctv, 2001. Kỹ thuật sản xuất dược phẩm Tập I. Đại học Dược Hà Nội.
 22. Uwaezuoke, J. C., L.E. Aririatu, 2004. A Survey of Antibiotic Resistant Staphylococcus aureus Strains from Clinical Sources in Owerri. Department of Microbiology, Imo State University, Owerri. 8(1): 67-69.