ĐẶC ĐIỂM THỰC VẬT VÀ MÃ VẠCH ADN CỦA LOÀI BÌM ĐẸP - *IPOMOEA* SP. HỌ BÌM BÌM (CONVOLVULACEAE)

Nguyễn Thị Thu Hằng, Trần Thị Thu Trang,
Dương Nguyên Xuân Lâm, Nguyễn Đỗ Lâm Điền
Đại Học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh
Email: nguyenthithuhang@ump.edu.vn

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: *Cây Bìm đẹp dùng trị ho, viêm mủ da,…trong y học dân gian nhiều nước, nhưng có ít tài liệu nghiên cứu đã được công bố.* ***Mục tiêu nghiên cứu:*** *Khảo sát đặc điểm hình thái, cấu tạo vi học, mã vạch ADN, xác định chính xác tên khoa học của loài Bìm đẹp.* ***Đối tượng và phương pháp nghiên cứu****: Cây Bìm đẹp tươi thu thập ở tỉnh Hà Nam được phân tích, mô tả, chụp hình đặc điểm hình thái, giải phẫu, bột dược liệu, kèm phân tích ADN lục lạp vùng ITSI.* ***Kết quả:*** *Loài Bìm đẹp được định danh dựa trên hình thái và mã vạch ADN có tên khoa học là Ipomoea cairica (L.) Sweet, kèm dữ liệu giải phẫu và bột dược liệu.* ***Kết luận:*** *Nghiên cứu góp phần cung cấp dữ liệu định danh chính xác loài Bìm đẹp.*

Từ khóa*: Ipomoea cairica, mã vạch ADN, hình thái, giải phẫu, bột dược liệu.*

ABSTRACT

BOTANICAL CHARACTERISTICS AND DNA BARCODE OF MORNING GLORY (*IPOMOEA SP.)* – CONVOLVULACEAE

Nguyen Thi Thu Hang, Tran Thi Thu Trang, Duong Nguyen Xuan Lam, Nguyen Do Lam Dien

University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh city

Background: *Morning glory is used in the traditional medicine of many countries for the treatment of cough, and external infections ... but there have not many scientific reports. Objectives: Survey the morphological characteristics, microbiological structure, DNA barcoding, and accurately determine the scientific name of the Morning glory species.* ***Materials and Method:*** *The Morning glory fresh plants collected in Ha Nam Province are analyzed, described, and photographed with the morphological and anatomical characteristics, the microscopic characteristics of used parts powder; analyzed by the chloroplast DNA barcode on ITS1 region.* ***Results:*** *Morning glory was identified as Ipomoea cairica (L.) Sweet based on morphological characteristics and DNA barcode, and data of anatomy and traditional powder.* ***Conclusions****: The study confirmed the scientific name of "Morning glory" in Viet Nam is Ipomoea cairica (L.) Sweet (Convolvulaceae).*

Keywords: *Ipomoea cairica, DNA barcode, morphology, anatomy, traditional powder.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bìm đẹp - *Ipomoea* sp. thuộc họ Khoai lang (Convolvulaceae) là một loài cổ nhiệt đới được dùng trong y học dân gian ở nhiều nước: Việt Nam, Trung Quốc, Ấn Độ, Hawai, Brazil để chữa ho, giảm niệu, phù thũng, đinh nhọt, viêm mủ da, lợi tiểu chữa đái rắt, làm thuốc xổ [1],[2],[3], thấp khớp [6]. Các nghiên cứu về dược lý cho thấy cây có tác dụng chống viêm, chống oxy hóa, kháng khuẩn, chống HIV [3], gây độc tế bào và hoạt tính chống viêm não Nhật Bản [6]. Ngoài ra, *I. cairica* cũng được sử dụng làm thuốc diệt cỏ và ấu trùng của muỗi [6].

Đặc điểm hình thái và giải phẫu là cơ sở để nhận diện loài Bìm đẹp và để kiểm nghiệm dược liệu bằng phương pháp vi học. Với mong nuốn xác định chính xác tên khoa học của loài Bìm đẹp ở Việt Nam và tạo tiền đề cho các nghiên cứu về thành phần hóa học cũng như công dụng làm thuốc của loài này, đề tài được thực hiện với mục tiêu: Nghiên cứu đặc điểm hình thái, cấu tạo vi học và mã vạch ADN, xác định chính xác tên khoa học của loài Bìm đẹp.

II. ĐỐI TƯỢNG -PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu: là mẫu cây tươi có đầy đủ thân, lá, hoa của loài Bìm đẹp (*Ipomoea* sp.) thu hái vào tháng 11/2020 ở huyện Kim Bảng, tỉnh Hà Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

Khảo sát đặc điểm hình thái: Quan sát bằng mắt thường, kính lúp hay kính hiển vi soi nổi; mô tả và chụp hình các đặc điểm khảo sát. Tên khoa học của loài là được xác định bằng cách dựa vào đặc điểm hình thái đã phân tích của cây so với các tài liệu [1],[2],[3],[4],[7],[9].

Định danh ADN: Chiết ADN, khuếch đại đoạn matK và định danh loài. Trình tự ADN sau khi giải 2 chiều được lắp ráp bằng phần mềm Segman của Lasergene. Sau khi lắp ráp, trình tự đoạn matK được phân tích và so sánh bằng công cụ Blast với ngân hàng

gen NCBI để định danh đến loài. Với những mẫu có kết quả định danh với các loài khá tương đồng sẽ được gióng hàng để tìm loài có mức độ tương đồng cao nhất [8].

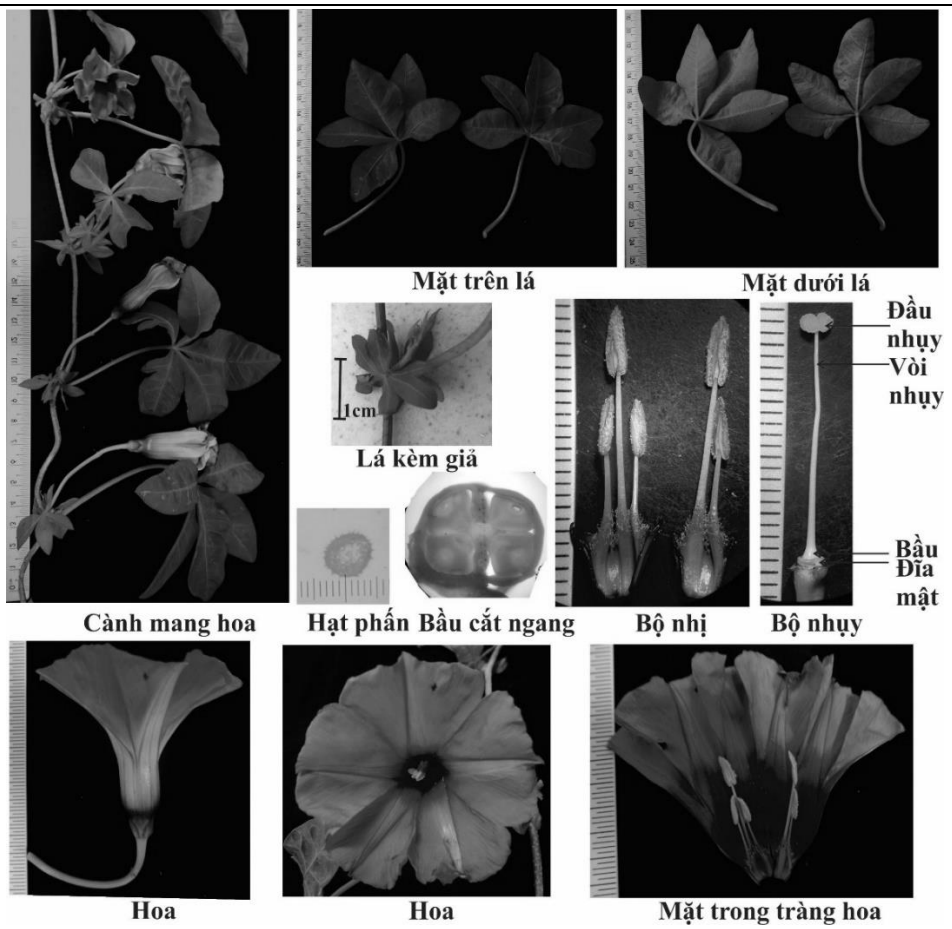
Khảo sát đặc điểm giải phẫu: Cắt ngang thân, lá thành lát mỏng bằng dao lam. Nhuộm vi phẫu bằng son phèn và lục iod. Quan sát vi phẫu bằng kính hiển vi quang học (hiệu Olympus, model CH20) trong nước, chụp ảnh và mô tả cấu trúc.

Bột dược liệu: Bộ phận dùng của cây được cắt nhỏ và sấy ở nhiệt độ 60-70 ^{o}C đến khô, nghiền và rây qua rây số 32. Quan sát các thành phần của bột trong nước cất dưới kính hiển vi quang học. Mô tả và chụp ảnh các thành phần.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Đặc điểm hình thái

Dây leo bằng thân quấn, tiết diện hình đa giác, màu xanh phớt tía, có nhựa mủ, có nhiều nốt sần ở thân già. Lá đơn, mọc cách. Phiến lá chia 5 thùy hình chân vịt; thùy hình mác, đầu tù, dài 4-6,5 cm, rộng 2,5-3,5 cm, màu xanh lục mặt trên đậm hơn mặt dưới. Gân lá hình chân vịt, nổi rõ, màu xanh lục nhạt. Cuống lá dài 5-7 cm, mặt trên màu tím nhạt, có 1 rãnh cạn, mặt dưới màu xanh nhạt, hơi cong, rải rác có nốt sần. Lá kèm giả giống lá thường nhưng kích thước nhỏ 1-3 cm do chồi nách sinh ra. Cụm hoa: Hoa mọc thành xim 1-3 hoa ở nách lá nhưng chỉ có 1 hoa phát triển. Cuống chung hình trụ, dài 2,5-3 cm, màu xanh nhạt. Hoa đều, lưỡng tính, mẫu 5. Cuống hoa hình trụ, dài 1,2-1,5 cm, màu xanh nhạt. Lá bắc và 2 lá bắc con hình vảy tam giác, màu xanh lục nhạt, rụng sớm. Đài hoa: 5 lá đài, gần đều, rời, hình bầu dục, đầu nhọn, dài 5-8 mm, rộng 3-5 mm, màu xanh lục, mặt ngoài 2 lá đài ngoài cùng có nhiều nốt sần, tiền khai năm điểm. Tràng hoa: 5 cánh hoa đều, dính nhau thành ống hình kèn dài 4-5 cm, đường kính loe 4-4,5 cm, màu tím, mép chia 5 thùy cạn, hơi uốn lượn, tiền khai vặn ngược chiều kim đồng hồ. Bộ nhị: 5 nhị, không đều (3 ngắn, 2 dài), rời, đính ở gần đáy ống tràng, xen kẽ cánh hoa, không thò ra ngoài. Chỉ nhị dạng sợi, hơi phình ở đáy, 3 nhị ngắn 1,2 -1,3 cm , 2 nhị dài 2 – 2,2 cm, màu tím nhạt, gốc chỉ nhị được bao bọc bởi đám lông mịn, màu trắng. Bao phấn thuôn dài, màu tím nhạt, 2 ô, nứt dọc, hướng trong, đính đáy. Hạt phấn màu trắng, rời, hình cầu gai, đường kính 72-75µm. Bộ nhụy: Bầu hình tháp rất ngắn, màu vàng nhạt, cao khoảng 1 mm, bị che phủ bởi đĩa mật. 1 vòi nhụy dạng sợi mảnh, màu trắng, dài 2- 2,2 cm, đính ở đỉnh bầu. 1 đầu nhụy hình cầu dạng cuộn bộ não, chia 2 thùy, màu trắng. Đĩa mật hình khoen, màu vàng nhạt nằm quanh đáy bầu. 2 lá noãn dính nhau thành bầu trên 2 ô, có vách giả chia thành bầu 4 ô, mỗi ô 1 noãn, đính noãn trung trụ gần đáy bầu.

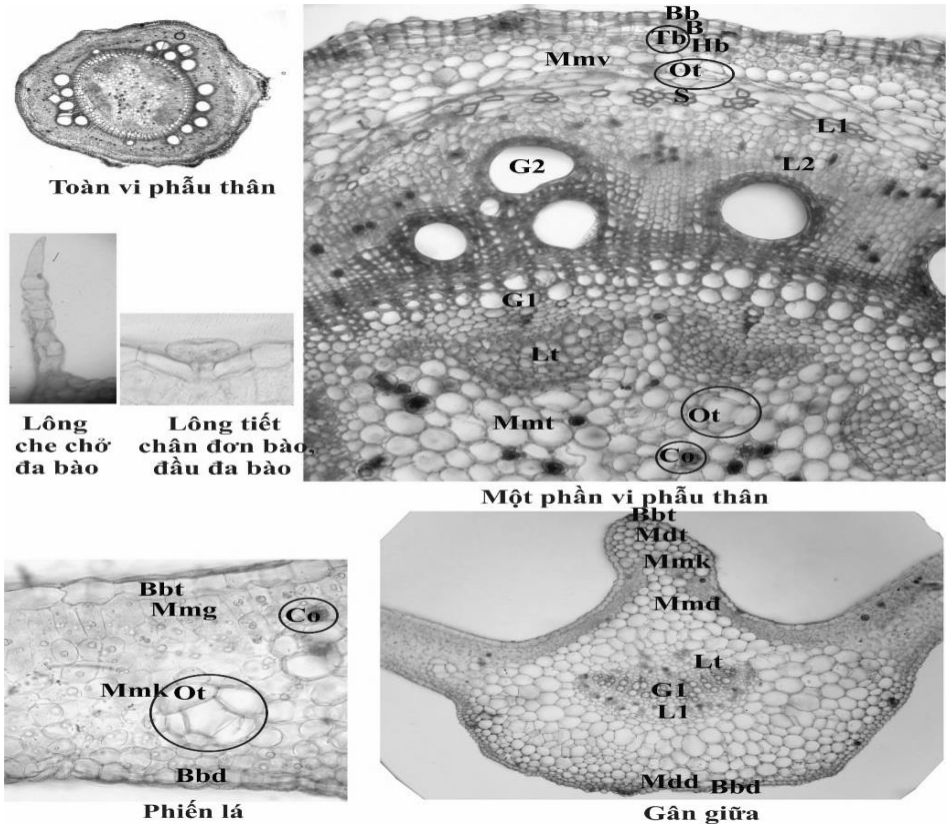


Hình 1. Đặc điểm hình thái cây Bìm đẹp (*Ipomoea cairica* (L.) Sweet)

Đặc điểm giải phẫu

Thân: Vi phẫu hình đa giác. Biểu bì tế bào hình đa giác, mặt ngoài có cutin răng cưa mỏng. Bần 1-2 lớp và lục bì 1-2 lớp tế bào hình chữ nhật, xếp xuyên tâm. Hạ bì 2-3 lớp tế bào gần tròn, xếp chừa các đạo hay khuyết nhỏ, chứa nhiều tinh bột. Mô mềm vỏ đạo 4-5 lớp tế bào hình gần tròn hay bầu dục, vách uốn lượn. Trụ bì 1-2 lớp tế bào, vách dày, uốn lượn, hóa mô cứng thành từng đám. Libe 1 tế bào hình đa giác, xếp thành cụm. Libe 2 3-5 lớp tế bào hình chữ nhật, xếp xuyên tâm. Gỗ 2 có các mạch gỗ rất to nằm gần vùng tượng tầng và xếp lộn xộn, các mạch gỗ nhỏ hơn ở bên trong thường xếp thành dãy. Mô mềm gỗ 2 tế bào xếp xuyên tâm. Gỗ 1 phân hóa ly tâm, tập trung thành cụm. Mô mềm gỗ 1 tế bào xếp lộn xộn. Libe quanh tủy xếp thành cụm ở dưới gỗ 1. Mô mềm tủy đạo, tế bào gần tròn. Mô mềm có nhiều ống tiết kiểu ly bào và tinh thể calci oxalat hình cầu gai. *Lá*: Vi phẫu có mặt trên lồi chữ U, mặt dưới lồi tròn. Gân giữa dày gấp 3-4 lần phiến lá. Gân giữa: Biểu bì trên và biểu bì dưới tế bào hình đa giác, mặt ngoài có cutin răng cưa, đôi khi có lông che chở đa bào. Mô dày góc trên 5-6 lớp và mô dày góc dưới 3-4 lớp tế đa giác. Dưới mô dày trên là mô mềm khuyết 1-2 lớp tế bào đa giác. Mô mềm đạo tế bào gần tròn. Libe gỗ xếp thành hình cung. Libe tế bào hình đa giác, xếp thành từng cụm. Mạch gỗ xếp thành dãy, mỗi dãy gồm 2-5 mạch gỗ, xen giữa 2 dãy mạch gỗ là 1-2 dãy mô mềm gỗ tế bào hình đa giác, vách cellulose. Libe quanh tủy xếp từng cụm. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai và ống tiết kiểu ly bào rải rác trong mô mềm. Phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì

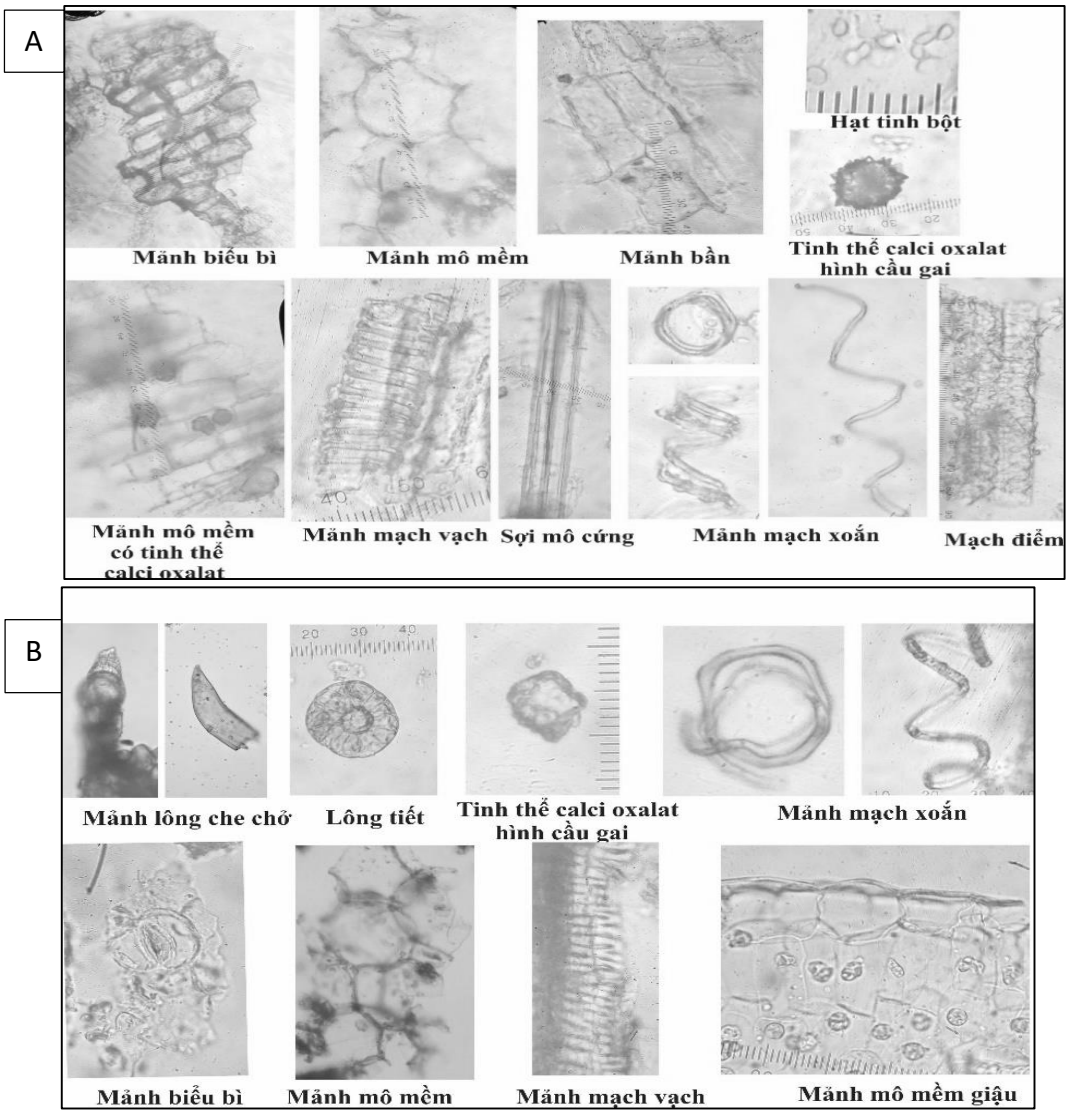
dưới tế bào hình đa giác, rải rác có lỗ khí và lông tiết chân đơn bào, đầu đa bào (4-6 tế bào) ở vị trí lõm của biểu bì. Biểu bì trên tế bào to hơn biểu bì dưới. Mô mềm giậu 1-2 lớp tế bào thuôn dài, rải rác có các tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Mô mềm khuyết dày gấp 2 lần mô mềm giậu, tế bào hình đa giác, rải rác có các bó libe-gỗ và ống tiết ly bào.



Hình 2. Cấu tạo giải phẫu thân cây Bìm đẹp (*Ipomoea cairica* (L.) Sweet):Bb: Biểu bì, B: Bần, Hb: Hạ bì, Mmv: Mô mềm vỏ, S: Sợi trụ bì, Ot: Ống tiết, L1: Libe 1, L2: Libe 2, G2: Gỗ 2, G1: Gỗ 1, Lt: Libe quanh tủy (Libe trong), Mmt: Mô mềm tủy, Co: Calci oxalat hình cầu gai, Tb: Tinh bột. Bbt: Biểu bì trên, Mdt: Mô dày trên, Mmk: Mô mềm khuyết, Mmđ: Mô mềm đạo, Mdd: Mô dày dưới, Bbd: Biểu bì dưới, Mmg: Mô mềm giậu.

Đặc điểm bột dược liệu

Bột thân màu vàng nhạt, có nhiều xơ, không mùi, vị nhạt, có các thành phần sau: mảnh biểu bì tế bào hình đa giác; mảnh mô mềm tế bào hình gần tròn hay đa giác, vách mỏng, đôi khi có chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai; mảnh bần tế bào hình chữ nhật, vách mỏng; mảnh mạch xoắn; mảnh mạch vạch; mảnh mạch điểm; sợi vách mỏng đứng riêng lẻ hay tập trung thành bó; tinh thể calci oxalat hình cầu gai đường kính 43-45 µm; hạt tinh bột hình bầu dục hay thuôn dài, kích thước 2,5-4 µm, tễ không rõ. Bột lá màu xanh hơi vàng, không mùi, vị nhạt, có các thành phần sau: mảnh biểu bì mang lỗ khí kiểu song bào; mảnh lông che chở đa bào; lông tiết ngắn; mảnh mô mềm giậu với biểu bì; tinh thể calci oxalat hình cầu gai kích thước 20-22,5 µm; mảnh mạch xoắn; mảnh mạch vạch; mảnh mô mềm tế bào hình gần tròn, vách mỏng.

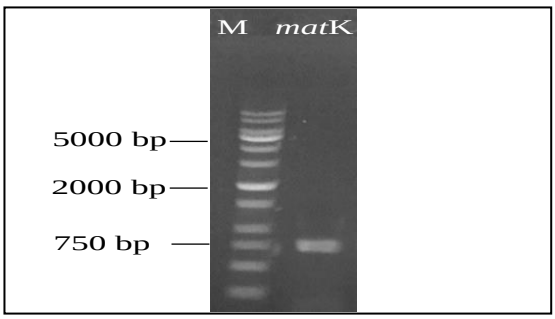


Hình 3. Đặc điểm bột thân (A), bột lá (B) cây Bìm đẹp (*Ipomoea cairica* (L.) Sweet)

Kết quả xác định mã vạch ADN

Kết quả PCR khuếch đại gen matK với mồi:

Kết quả PCR cho thấy đã khuếch đại được gen matK với kích thước khoảng 800 bp.



Kết quả định danh đến loài của mẫu bìm đẹp như sau:

Loài	Điểm lớn nhất	Tổng điểm	Mức độ phủ trình tự	Giá trị E	Mức độ tương đồng	Số truy cập ngân hàng gen
I. cairica voucher Hosam00128	1419	1419	100%	0	100%	KX783695.1
I. cairica	1419	1419	100%	0	100%	KF242480.1
I. cairica	1419	1419	100%	0	100%	FJ795793.1
I. hederifolia voucher Li ZY, Xu SZ, Zhou MH 13516	1413	1413	100%	0	99,87%	MF159504.1
I. leptophylla voucher Steele 1349	1413	1413	100%	0	99,87%	KT176617.1

Kết quả cho thấy mẫu Bìm đẹp thuộc loài *Ipomoea cairica* với mức độ tương đồng là 100%.

Trình tự gen *mat*K của mẫu Bìm đẹp

> *mat*K_Bimbim_768bp

TTACGATTCTTTCTCCACGAGTATTGCAATTTTAATATTTTCATTACTCC
AAAGAGGTCCCGTTCCCCTTTTTCAAAGATAAATCAAAGATTTTTCTTCTTCTT
ATATAACTCTTATGTATGTGAATACGAATCCATTTTTTTATTTCTCCGTAACCA
ATCTCTTCATTTACGATCAACCAGTTTTGGAGCCCTTTTTGAACGAAACATTTT
CTATGGAAAAATAGAATGCTTTGTAAAAGTCTTTGCTAAGGATTTTAAGGCAA
ACCTATGTTTGCTCAAGGATGCGGATCTTTCCATGCATTATTTTAGGTATCGGG
GAAAATCAATTCTGGCTTCAAAAGGAACGCTTCTTTTGATGTCTAAATGGAAC
TATTATTTTATCAATTTTTGGCAATGTTCTTTTTGTTTGTGGTTCCATACTGAAA
GAATCTATATAAGTCAACTATCCAGCCATTCCCTTGACTTTATGGGCTATCTTT
CAAGTATTCCACTAACCCCCTCAACGGTACGGAGTCAAATGCTAGAGAATTCT
TTTTTAATAAATAATGCTATTAAGAAATTCGATACTATTGTTCCAATTATTCCT
ATCATTGGATCATTAGCTAAAGCTAAATTTTGTAATGTACTAGGGAATCCCAT
TAGTAAACCGGTTTGGGCCGATTTATCAGATTCTGATATTATTGAACGGTTTG
GGCGTATATACAGAAATTTTTTTCATTATTATAGTGGATCTTCCAAAAAAAGG
AGTTTGTATCGAATAAAGTAT

IV. BÀN LUẬN

Qua phân tích, so sánh đối chiếu với phần mô tả đặc điểm hình thái của loài trong các tài liệu [1],[2],[3],[4],[7],[9], mẫu cây Bìm đẹp nghiên cứu được xác định là loài *Ipomoea cairica* (L.) Sweet. Tuy nhiên, Bìm đẹp - *Ipomoea cairica* (L.) Sweet, theo Phạm Hoàng Hộ [3], [4] và Võ Văn Chi [2] mô tả lá có 5 lá chét nhưng qua các mẫu khảo sát, chúng tôi nhận thấy lá có phiến lá chia 5 thùy hình chân vịt. Trên thế giới, đã có tài liệu nghiên cứu về giải phẫu thân của loài này ở Ấn Độ [10],[11], Trung Quốc [5] và những đặc điểm giải phẫu thân, lá trong các nghiên cứu này cũng giống với phần mô tả vi phẫu thân, lá mà đề tài đã thực hiện. Tuy nhiên, theo S. Mandal [10], TJ. Shaikh [11], vi phẫu thân có nội bì chứa tinh bột, tế bào chứa nhựa mủ, tủy có nhiều khoang rỗng, nhưng qua các mẫu khảo sát, chúng tôi thấy rằng tinh bột tập trung ở hạ bì, ống tiết ly bào chứa nhựa mủ, mô mềm tủy không có khoang to; theo DS Chen [5], "trong vùng vỏ, có 1 - 3 lớp tế bào nằm sát dưới biểu bì cũng như lớp 1 – 3 các lớp tế bào nằm sâu bên

trong vùng vỏ, cả hai vùng đều là tế bào tiết", nhưng theo chúng tôi, 1 - 3 lớp tế bào nằm sát dưới biểu bì là hạ bì giống với mô tả của S. Mandal [10], TJ. Shaikh [11], 1 – 3 các lớp tế bào nằm sâu bên trong vùng vỏ là trụ bì có vách dày, 2 vùng này đều không phải tế bào tiết.

V. KẾT LUẬN

Loài Bìm đẹp nghiên cứu được định danh dựa trên hình thái và mã vạch ADN có tên khoa học là *Ipomoea cairica* (L.) Sweet, kèm dữ liệu giải phẫu và bột vi học. Các đặc điểm hình thái của thân, lá, hoa; cấu tạo giải phẫu của thân, lá và thành phần bột thân, lá của Bìm đẹp - *Ipomoea cairica* (L.) Sweet được mô tả một cách chi tiết, giúp nhận biết và kiểm nghiệm vi học loài này.

LỜI CÁM ƠN

Nhóm nghiên cứu xin cám ơn Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh đã hỗ trợ kinh phí để thực hiện đề tài này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, 2006, *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Tập I, NXB Khoa học và kỹ thuật, Hà Nội, 205-207.
2. Võ Văn Chi, 2012, *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Tập I, NXB Y học, Hà Nội, 171.
3. Phạm Hoàng Hộ, 2006, *Cây có vị thuốc ở Việt Nam*, NXB Trẻ, TP. HCM, 450.
4. Phạm Hoàng Hộ, 2000, *Cây cỏ Việt Nam*, Tập II, NXB Trẻ, TP. Hồ Chí Minh, 787.
5. Chen Dan-Sheng, Ding You-Xiong, Ma Rui-Jun, Zhu Hui, 2007. Anatomical Structure of Stem of *Ipomoea cairica* (Convolvulaceae). *Acta Botanica Yunnanica*, 29 (2), 189-192.
6. Deepa Srivastava, Shukla K, 2015. *Ipomoea cairica:* a medicinal weed with promising health benefits. *IJIRR*, 2 (5), 687-694.
7. Fang R , G Staples, Flora of China, Vol. 16, 309.
8. Jing Yu, Jian-Hua Xue, Shi-Liang Zhou, 2011. New universal matK primers for DNA barcoding angiosperms. *JSE*, 49(3), 176–181.
9. Kew Royal Botanic Gardens (2017), *Kew science - Plants of the World Online*, http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:268564-1.
10. S. Mandal, S. Choudhury, C. Rahaman, 2015. Studies on *Ipomoea cairica* (L.) Sweet - A Promising Ethnomedicinally Important Plant. *JIPBS*, 2 (4), 378-395.
11. Tarbej J. Shaikh, 2017. Taxonomic study of (*Ipomoea cairica* (L.) Sweet Convolvulaceae). *IJTRS*, 2 (IX), 520-524.

(Ngày nhận bài 13/7/2022 ngày duyệt đăng 15/8/2022)