



DOI:10.22144/ctujos.2025.015

ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI, VI HỌC, MÃ VẠCH ADN VÀ SƠ BỘ THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA CÂY QUÝT GAI (*Atalantia buxifolia* (POIR.) OLIV.)

Nguyễn Thị Ái Thuận*

Trường Đại học Lạc Hồng, Việt Nam

*Tác giả liên hệ (Corresponding author): aithuan@lhu.edu.vn

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 11/07/2024

Sửa bài (Revised): 02/08/2024

Duyệt đăng (Accepted): 17/11/2024

Title: Study on micromorphology, phytochemistry of *Atalantia buxifolia* (Poir.) Oliv. (Rutaceae)

Author(s): Nguyen Thi Ai Thuan*

Affiliation(s): Lac Hong University, Viet Nam

TÓM TẮT

Cây quýt gai (*Atalantia buxifolia* (Poir.) Oliv.) được phân bố nhiều ở miền Trung và miền Bắc Việt Nam, cũng như nhiều nước trên thế giới như Ấn Độ, Trung Quốc, Đài Loan, Nhật Bản, Malaysia, Philipin. Loài này được dùng để trị cúm, cảm mạo, đau đầu, ho, viêm phế quản, sốt rét, đau dạ dày, viêm khớp xương do phong thấp, đau lưng, gỏi. Tuy nhiên, đến nay vẫn chưa có công bố về đặc điểm thực vật học của loài cây này. Do đó, nghiên cứu được tiến hành nhằm mô tả đặc điểm hình thái, giải phẫu, bột dược liệu, mã vạch ADN của cây quýt gai để cung cấp cơ sở dữ liệu giúp định danh loài. Đồng thời, kết quả nghiên cứu cho thấy thân cây và lá cây quýt gai có chứa các nhóm hợp chất tinh dầu, triterpenoid, alkaloid, tannin, coumarin và saponin.

Từ khóa: *Atalantia buxifolia*, đặc điểm giải phẫu, đặc điểm hình thái, đặc điểm, quýt gai, thành phần hoá học

ABSTRACT

Atalantia buxifolia (Poir.) Oliv. is widely distributed in Central and Northern Vietnam, as well as in several countries, including India, China, Taiwan, Japan, Malaysia, and the Philippines. This species is traditionally used for treating flu, headaches, coughs, tracheitis, malaria, stomachache, rheumatoid arthritis, backache, and knee pain. However, to date, there have been no published studies on the botanical characteristics of this species. The study describes the morphological, anatomical and ADN barcode of *Atalantia buxifolia* (Poir.) Oliv. to provide the information for identifying this species. Simultaneously, the results of the analytical preliminary phytochemistry of powder from this plant also demonstrated that the stems and leaves of *Atalantia buxifolia* (Poir.) Oliv. contain essential oil, triterpenoids, alkaloids, tannins, coumarins, and saponins.

Keywords: *Atalantia buxifolia*, anatomy, micromorphology, phytochemical

1. GIỚI THIỆU

Cây quýt gai còn được gọi là tầm xoọng, gai xanh, độc lực, mền tên, cúc keo, quýt hôi, quýt rừng, cây gai xanh, từu bình lặc, cam trời, có tên khoa học là *Atalantia buxifolia* (Poir.) Oliv. thuộc họ Cam (Rutaceae). Cây phân bố ở Hà Nội, Ninh Bình và ven biển Trung Bộ. Trên thế giới, cây quýt gai còn được phân bố ở các nước trên thế giới như: Ấn Độ, Trung Quốc, Đài Loan, Nhật Bản, Malaysia, Philipin. Ở Việt Nam, cây được dùng trị cúm, cảm mạo, đau đầu, ho, viêm phế quản, sốt rét; đau dạ dày, viêm khớp xương do phong thấp, đau lưng gối; rễ được sắc hoặc ngâm rượu chữa tê thấp, trị rắn cắn; quả xanh chữa ho (Vo, 2018). Ở Trung Quốc, loài này cũng được dùng tương tự, để chữa ho, sốt rét và thấp khớp. Các loài trong chi *Atalantia* đã được nghiên cứu và cho thấy có các tác dụng dược lý như chống dị ứng, kháng khuẩn, chống ăn mòn, gây độc tế bào, có tác dụng long đờm và chống sốt rét (Chang et al., 2018). Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu về các tác dụng như chống oxy hóa, kháng viêm, chống côn trùng, cải thiện tình trạng viêm phổi mạn tính và các thành phần hóa học bao gồm alkaloid, triterpenoid, tinh dầu của loài này (Yang et al., 2013; Yin, 2014; Chang et al., 2018; Truong et al., 2019; Liang et al., 2020; Bui et al., 2022). Tuy nhiên, chưa có công bố về đặc điểm hình thái và vi học của loài cây này. Do vậy, đặc điểm hình thái và vi học của mẫu cây quýt gai được thu hái ở huyện Phú Lộc, tỉnh Thừa Thiên Huế đã được nghiên cứu nhằm xác định tên khoa học của loài và cung cấp cơ sở dữ liệu về thực vật học để giúp nhận diện, kiểm nghiệm dược liệu của loài này.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu cây quýt gai được thu hái ở huyện Phú Lộc, tỉnh Thừa Thiên Huế vào tháng 7/2022 và được lưu tại Bộ môn Thực vật - Khoa Dược, Trường Đại học Lạc Hồng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu đặc điểm thực vật học

2.2.1. Đặc điểm hình thái

Đặc điểm hình thái được quan sát bằng mắt thường, kính hiển vi quang học (Olympus CX23 LED) và kính soi nổi Olympus SZ51, chụp hình, mô tả các đặc điểm khảo sát. Tên khoa học của loài được xác định bằng cách đối chiếu với các tài liệu tham khảo (Pham, 1999; Vo, 2018).

2.2.2. Đặc điểm giải phẫu

Cây được cắt ngang rễ, thân, gai, lá, cuống lá thành lát mỏng bằng dao lam; với thân cây, cắt ở phần lông không sát mấu; với phiến lá và cuống lá, cắt ở khoảng 1/3 phía dưới của phiến và cuống nhưng không sát đáy. Vi phẫu được tẩy trắng với Javel và nhuộm bằng thuốc nhuộm son phen và lục iod (carmin vert de mirande). Vi phẫu được quan sát trong nước dưới kính hiển vi quang học, chụp ảnh và mô tả cấu trúc. Mỗi bộ phận quan sát từ 5 đến 10 vi phẫu.

2.2.3. Đặc điểm bột dược liệu

Thân và lá được cắt nhỏ, sấy ở nhiệt độ 50-60°C đến khô, nghiền và cho qua rây số 32 (đường kính mắt rây 0,1 mm). Các thành phần của bột (phân tán trong nước cất) được quan sát dưới kính hiển vi quang học. Mô tả và chụp ảnh các cấu tử.

2.3. Phương pháp phân tích ADN

2.3.1. Hóa chất

Hóa chất ly trích ADN: CTAB Buffer (2% CTAB, 100 mM Tris pH 8,0, 20 mM EDTA pH 8,0, 1,4 M NaCl), β -mercaptoethanol, chloroform:isoamyl alcohol (24:1), enzyme RNase, isopropanol, ethanol (70%).

Hóa chất PCR và điện di: PCR Mix (NEXpro, Korea), agarose tinh khiết, thuốc nhuộm ethidium bromide, TAE 1X, giấy parafilm, loading dye 6x, ladder 1 kb plus, TE, nước tinh sạch (nước cất 2 lần và đã qua thanh trùng ở 121°C trong 20 phút).

2.3.2. Phương pháp ly trích ADN

Đầu tiên, 100 mg mẫu được nghiền mịn với 1 ml dung dịch CTAB 2X (đã ủ ở 65 °C trong 15 phút); thêm vào từng tuýp 10 μ l β -mercaptoethanol, ủ ở nhiệt độ 65°C trong 60 phút (lắc trộn mỗi 10 phút). Tiếp tục, 500 μ l chloroform được thêm vào, ly tâm 13000 vòng/10 phút; rút 750 μ l dung dịch bên trên qua tuýp mới, thêm 500 μ l chloroform, ly tâm 13000 vòng/10 phút (lặp lại bước này 2 lần); rút 400 μ l dung dịch bên trên vào tuýp mới, thêm 400 μ l isopropanol (tỉ lệ 1:1), trộn đều và ủ lạnh ở -20°C/30 phút, sau đó ly tâm, bỏ phần dung dịch, giữ tủa lắng bên dưới. Sau đó, 500 μ l ethanol 70% được thêm vào mỗi tuýp và ly tâm 13000 vòng/5 phút để rửa sạch mẫu, loại phần dịch chứa lại kết tủa; lặp lại 2 lần rồi đem mẫu đi phơi khô 1 giờ; thêm vào mỗi tuýp 30 μ l TE (pH = 8,0) để hòa tan ADN và trữ lạnh ở -20°C (Doyle, 1990).

2.3.3. Kiểm tra ADN bằng phương pháp điện di trên gel agarose

Đầu tiên, 0,25 g agarose được đun sôi với 25 ml dung dịch TAE 1X rồi đổ vào khuôn điện di; sau 30 phút, tháo lược và cho gel vào dung dịch TAE 1X trong bộ điện di sao cho gel ngập trong phần dung dịch; trộn đều mỗi mẫu với 1 µl loading dye 6X, 1 µl ADN và 4 µl nước PCR trên giấy parafilm rồi cẩn thận bơm từng mẫu vào giếng trên gel; đặt nắp bộ điện di lại và bắt đầu chạy điện di mẫu ở 85V trong 30 phút. Sau đó, mẫu được đem nhuộm trong ethidium bromid (10 mg/lít) khoảng 10 phút; kế tiếp đem rửa trong nước cất trong 5 phút và đem chụp ảnh gel với máy đọc gel bằng tia UV (Doyle, 1990).

2.3.4. Phản ứng PCR

Phản ứng khuếch đại ADN gồm 50 µl, sử dụng bộ PCR KIT (NEXpro™ Diagnostics) gồm các thành phần 10X e-Taq Buffer, 10 mM dNTP, e-Taq ADN Polymerase, thêm vào nước tinh sạch, cặp mồi RBCL và ADN. Mẫu được trộn đều rồi cho vào máy PCR GeneAmp PCR System 2700. Phản ứng này được thực hiện trong 35 chu kỳ gia nhiệt, bao gồm: 5 phút ở 95°C, 30 giây ở 95°C, 30 giây ở 60°C, 30 giây ở 72°C; kéo dài chuỗi trong 5 phút ở 72°C và sản phẩm được trữ ở 10°C trong 20 phút (Doyle, 1990).

Bảng 1. Trình tự cặp mồi RBCL trong phản ứng PCR

Tên mồi	Trình tự (5'-3')	Tm (°C)
RBCL.F	ATGTCACCACAAACAG AGACTAAAGC	60
RBCL.R	GTAATAATCAAGTCCAC CRCG	

2.3.5. Điện di sản phẩm PCR và giải trình tự

Sản phẩm PCR được điện di rồi tinh chế bằng bộ kit Wizard SV Gel và PCR Clean-up System (Promega), sau đó được gửi đi giải trình tự bằng phương pháp Sanger, máy ABI PRISM™ 3130XL ADN Genetic Analyzer (Sanger, 1977).

2.3.6. Phân tích số liệu

Trọng lượng phân tử được tính toán bằng phần mềm GelAnalyzer. Kết quả giải trình tự được lưu trữ ở dạng FASTA và phân tích bằng phần mềm BioEdit phiên bản cập nhật mới nhất 7.0.5. Sau đó, phương pháp BLAST trên hệ thống ngân hàng gen NCBI (National Center for Biotechnology Information) được sử dụng để nhận diện loài.

2.4. Phương pháp định tính sơ bộ thành phần hóa thực vật

Phân tích sơ bộ thành phần hóa học của mẫu bột được liệu theo quy trình phân tích của Ciuley (Trường Đại học Dược khoa Bucarest Rumani) được cải tiến bởi Khoa Dược – Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh. Bột thân (10 g), bột lá (10 g) được chiết xuất lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần (diethyl ether, cồn, nước) và thu được các dịch chiết tương ứng. Các nhóm hợp chất trong từng dịch chiết được xác định bằng các phản ứng hóa học đặc trưng (Department of Pharmacognosy, 2016).

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Đặc điểm thực vật học

3.1.1. Đặc điểm hình thái

Thân gỗ nhỏ mọc thành bụi, chiều cao từ 1 đến 2 m, tiết diện thân già hình tròn, màu nâu xám, sần sùi, ở phần thân non tiết diện hình bầu dục, màu xanh. Thân mang các gai thẳng, nhọn, mọc ra từ nách lá, dài từ 2,5 đến 6 cm, đường kính gốc gai là 0,2-0,3 cm, gai thon nhỏ dần về phía đỉnh, thân gai có màu xanh, đầu gai có màu cánh gián. **Lá** đơn, mọc cách. Phiến lá hình bầu dục hoặc hình trứng ngược, dài từ 4,2 đến 4,8 cm, rộng từ 2,5 đến 2,8 cm, gốc tròn, đỉnh hơi lõm, mép lá có răng cưa tròn cạn, màu xanh, mặt trên đậm hơn mặt dưới với nhiều chấm trong mờ của túi tiết tinh dầu, quan sát thấy rõ ở mặt dưới. Cuống lá dài từ 0,2 đến 0,5 mm, hình trụ, mặt trên phẳng, màu xanh lục nhạt. Toàn cây có mùi thơm của tinh dầu. **Cụm hoa** dạng chùm ngắn hoặc xim hai ngã, mang từ 6 đến 10 hoa, mọc ở nách lá, đôi khi gặp hoa riêng lẻ mọc ra từ thân. Hoa đều, lưỡng tính, mẫu 5. Lá bắc hình tam giác nhọn, rộng từ 0,8 đến 1 mm, cao khoảng 2 mm, màu xanh lục nhạt, phủ nhiều lông. Cuống hoa rất ngắn, khoảng 0,8-1 mm, hình trụ, to dần về phía đế hoa, màu xanh lục nhạt và có phủ lông mịn. **Đài hoa**: 5, đều, dính nhau một ít ở bên dưới, trên chia thành 5 phiến hình bán nguyệt, rộng từ 1,6 đến 1,8 mm, cao từ 1,0 đến 1,2 mm, hơi nhọn ở đỉnh, màu xanh lục nhạt, có lông, tiền khai năm điểm. **Tràng hoa**: 5, đều, rời, hình bầu dục hoặc hình trứng ngược, đáy bằng, đỉnh hơi nhọn, rộng từ 3,5 đến 4,5 mm, cao 9-12 mm, màu trắng, có đường gân ở giữa, và các chấm trong mờ của các túi tiết tinh dầu, tiền khai lợp. **Bộ nhị** đảo lưỡng nhị, 10, đều, rời, dính trên 2 vòng. Chỉ nhị hình bản dẹt, đỉnh thon nhọn thành hình tam giác, màu trắng; vòng ngoài rộng 1 mm, cao 2,5 mm, vòng trong rộng khoảng 2 mm, cao khoảng 3,5-4 mm. Bao phấn hình bầu dục, rộng từ 0,6 đến 0,8 mm, cao khoảng 0,8 đến 1 mm, màu vàng, 2 ô, nứt

dọc, đỉnh đáy, hướng trong. Hạt phần rời, hình bầu dục, $10\ \mu\text{m} \times 40\ \mu\text{m}$, 2 đầu khá bằng, màu vàng, có rãnh dọc. **Bộ nhụy:** Bầu trên, hình tháp, màu xanh lục nhạt, cao khoảng 0,7 mm, đường kính 1 mm. Hai lá noãn dính tạo thành bầu 2 ô, mỗi ô mang 1 noãn, đỉnh noãn trung trụ. Đĩa mật bao quanh đáy bầu, màu trắng ngà. 1 vòi nhụy ngắn khoảng 0,2 mm, hình trụ, màu vàng nhạt, có lông. Đầu nhụy hình nón, cao 1,5 mm, màu vàng đậm, có rãnh cạn. **Quả** mỏng, hình cầu, đường kính 8 đến 10 mm. Quả non có màu xanh lục với nhiều chấm trong mờ ở phần vỏ quả ngoài. Quả chín có màu tím than mang các lá đài tồn tại. Lớp vỏ quả giữa và vỏ quả trong mỏng, mỏng nước khi chín. Bên trong quả mang hai hạt, hình bán cầu, dính nhau, màu xanh (Hình 4).

Đặc điểm hình thái mô tả ở trên khi so sánh với tài liệu của (Pham, 1999) và (Vo, 2018) thấy trùng khớp với loài quýt gai (*Atalantia buxifolia* (Poir.) Oliv.) trong mô tả. Theo Pham (1999), loài này có tên khoa học là *Severinia monophylla* L., tuy nhiên theo hệ thống danh pháp thực vật có hoa quốc tế trực tuyến (WFO) tên này đã được đổi thành *Atalantia buxifolia* (Poir.) Oliv.

3.1.2. Đặc điểm giải phẫu

❖ Vi phẫu rễ

Vi phẫu có tiết diện tròn, chia thành 2 vùng. Vùng vỏ chiếm $1/7 - 1/6$ bán kính vi phẫu, vùng trung trụ chiếm $5/6 - 6/7$ bán kính vi phẫu. Bần gồm 6 đến 7 lớp tế bào hình chữ nhật, vách ngoài và vách trong uốn lượn, mỏng tấm bần, xếp thẳng hàng xuyên tâm, dễ bong tróc. Một số lớp tế bào, vách rất dày. Tầng sinh bần là 1 lớp tế bào bên dưới bần, vách mỏng bằng cellulose. Mô mềm vỏ gồm 5 đến 7 lớp tế bào, hình dạng và kích thước thay đổi, xếp khít nhau, nhiều tế bào chứa các hạt tinh bột hình tròn. Mô cứng nằm thành từng cụm quanh thân, mỗi cụm gồm 2 đến 3 lớp tế bào hình đa giác bo tròn ở các góc, vách tấm chất gỗ dày, xếp khít nhau. Libe 1 nằm thành từng cụm, vách mỏng bằng cellulose, xếp lộn xộn, khít nhau. Tia tủy loe rộng ở vùng libe tạo ra các chùy libe có cấu trúc libe 2 kết tầng. Mỗi chùy libe gồm 2 đến 3 tầng mô mềm libe 2 xen kẽ với sợi libe. Libe 2 gồm 6 đến 7 lớp tế bào hình đa giác hoặc hình chữ nhật, vách mỏng bằng cellulose uốn lượn, xếp khít nhau thành dãy xuyên tâm. Sợi libe gồm 2 đến 3 lớp tế bào hình đa giác, vách bằng gỗ mỏng hơn so với sợi trụ bì, tạo thành từng cụm. Vùng gỗ 2 chiếm $\frac{1}{2}$ bán kính vi phẫu. Mạch gỗ 2 hình tròn hoặc hình bầu dục, kích thước không đều, phân bố đều trong vùng gỗ. Mô mềm gỗ dọc với nhiều lớp tế bào hình đa giác, vách tấm chất gỗ, xếp khít nhau thành dãy xuyên tâm. Có khoảng 15 tia gỗ trong toàn

vùng gỗ, mỗi tia gỗ gồm 1 dãy tế bào hình đa giác, xếp khít nhau, vách tấm chất gỗ mỏng hơn so với vùng mô mềm gỗ. Các bó mạch gỗ 1 khó nhận biết, xen lẫn với vùng mô mềm tủy hóa mô cứng (Hình 5).

❖ Vi phẫu thân

Vi phẫu có tiết diện hình bầu dục, chia thành 2 vùng, vùng vỏ chiếm $1/7 - 1/6$ bán kính vi phẫu, vùng trung trụ chiếm $5/6 - 6/7$ bán kính vi phẫu. Ở phần thân già, bần gồm 13 đến 15 lớp tế bào, hình chữ nhật, xếp xuyên tâm, đôi chỗ vách tế bào rất dày, lục bì gồm 2 đến 3 lớp tế bào hình chữ nhật, vách cellulose, xếp xuyên tâm. Ở phần thân non, biểu bì là một lớp tế bào hình đa giác, vách mỏng bằng cellulose, vách ngoài phủ 1 lớp cutin rất dày, rải rác có lông che chở đơn bào và lỗ khí. Mô mềm vỏ ngoài kích thước nhỏ, chứa diệp lục, 4 lớp tế bào hình bầu dục ngang, kích thước không đều, vách mỏng bằng cellulose; mô mềm vỏ trong 4 đến 5 lớp tế bào vách dày hơn vùng mô mềm vỏ ngoài, uốn lượn, trong mô mềm rải rác có túi tiết tiêu ly bào. Trụ bì hóa sợi mô cứng nằm rải rác thành từng cụm quanh thân, từ 5 đến 7 lớp tế bào hình đa giác, kích thước nhỏ, vách dày hóa gỗ. Libe 1 nằm thành cụm dưới trụ bì, tế bào hình đa giác. Libe 2 tế bào hình đa giác hoặc hình chữ nhật xếp thành dãy xuyên tâm; các tế bào gần vùng gỗ có chứa tinh thể calci oxalat hình khối. Ở phần thân già có cấu trúc libe 2 kết tầng. Sợi libe vách hóa gỗ, xếp thành 3 đến 4 lớp tế bào, hình đa giác. Vùng gỗ 2 phát triển không đồng đều quanh thân. Mạch gỗ 2 hình bầu dục đứng hoặc hình trứng nằm rải rác hoặc tập trung thành cụm 2 đến 3 mạch, có khi 5 đến 6 mạch. Mô mềm gỗ 2 có vách tấm gỗ dày, tế bào hình đa giác, xếp khít nhau; nhiều vùng hóa sợi gỗ. Tia gỗ gồm 1 đến 2 dãy tế bào, vách tấm chất gỗ mỏng. Gỗ 1 nằm theo bó, mỗi bó gồm 2 đến 3 mạch gỗ hình bầu dục đứng, phân hóa ly tâm. Mô mềm gỗ 1 hình đa giác, xếp khít nhau, vách tấm chất gỗ mỏng. Mô mềm tủy tế bào hình đa giác gần tròn, căng vào trong kích thước càng lớn, vách gỗ mỏng; một số tế bào có chứa các hạt tinh bột hình bầu dục (Hình 6).

❖ Vi phẫu gai

Vi phẫu gai có tiết diện hình bầu dục, vùng vỏ chiếm $1/7$ bán kính vi phẫu, vùng trung trụ chiếm $6/7$. Biểu bì gồm 1 lớp tế bào, vách ngoài có cutin dày, có lỗ khí. Mô mềm vỏ chia 2 vùng, bên ngoài gồm 5 đến 6 lớp tế bào hình gần tròn, đều nhau có chứa diệp lục; bên trong 5 đến 6 lớp tế bào không đều. Sợi mô cứng tập trung thành từng cụm bao quanh thân. Libe 1 có 3 đến 4 lớp tế bào, hình đa giác, ép dẹp, vách mỏng. Libe 2 có 6 đến 7 lớp tế

bào hình đa giác hoặc hình chữ nhật xếp xuyên tâm. Vùng gỗ 2 gấp 5 lần vùng libe 2. Mạch gỗ 2 hình bầu dục đứng, nằm rải rác. Mô mềm gỗ 2 hình đa giác vách tấm gỗ dày. Tia gỗ 1 đến 2 dãy tế bào hình đa giác đứng. Khoảng 20 bó gỗ 1 phân bố đều quanh vi phẫu, mỗi bó gồm 1 đến 3 mạch gỗ hình bầu dục hoặc tròn, phân hóa li tâm. Mô mềm gỗ 1 kích thước nhỏ, vách tấm gỗ. Mô mềm tủy kích thước lớn, hóa mô cứng (Hình 8).

❖ Vi phẫu lá

Vi phẫu lá lồi ở cả hai mặt, mặt trên lồi ít, mặt dưới lồi nhiều hơn mặt trên. *Gân giữa*: Biểu bì trên và dưới có vách ngoài phủ cutin rất dày. Lông che chở đơn bào hoặc đa bào (2 đến 3 tế bào) với vách dày. Dưới biểu bì trên là 1 lớp tế bào vách cellulose dày, một số tế bào có chứa tinh thể calci oxalat hình khối ở bên trong, bên dưới mô mềm chứa diệp lục, 2 đến 3 lớp tế bào, hình đa giác ngang, kích thước nhỏ, bên trong là 6 đến 8 lớp tế bào kích thước lớn hơn vùng ngoài, kích thước không đều. Túi tiết tiêu ly bào phân bố gần biểu bì. Sợi mô cứng nằm thành từng cụm rời rạc, bao quanh bó dẫn hình tim, tế bào hình đa giác, mỗi cụm từ 5 đến 7 lớp tế bào. Libe 1 gồm các tế bào hình đa giác, ép dẹp, nằm thành cụm. Libe 2 gồm 5 đến 6 lớp tế bào hình đa giác hoặc hình chữ nhật, xếp thẳng hàng xuyên tâm. Gỗ dày gấp 3 lần libe. Mạch gỗ 2 hình bầu dục ngang hoặc đứng, thường xếp thành dãy 2 đến 3 mạch, tập trung ở bên phía trong, vùng tiếp xúc gỗ 1. Mô mềm gỗ 2 hình chữ nhật hoặc hình đa giác, vách tấm chất gỗ dày, nhiều nơi là sợi gỗ với vách dày. Bó mạch gỗ 1 gồm 2 đến 3 mạch hình tròn hoặc đa giác, phân hóa ly tâm, xếp khít nhau. Mô mềm gỗ 1 hình đa giác, kích thước nhỏ, vách tấm gỗ. Mô mềm tủy tế bào hình tròn hoặc đa giác gần tròn, kích thước không đều, vách tấm gỗ. Mô mềm đạo dưới không chứa diệp lục, 10 lớp tế bào hình bầu dục ngang, một số tế bào chứa tinh thể hình khối. Mô dày dưới gồm 2 đến 3 lớp tế bào hình đa giác, kích thước nhỏ hơn mô mềm. *Phiến lá chính thức*: dày khoảng $\frac{1}{4}$ so với gân giữa, cấu tạo theo kiểu dị thể bất đối xứng. Biểu bì trên và biểu bì dưới có phủ lớp cutin dày. Biểu bì dưới mang nhiều lỗ khí. Dưới biểu bì trên và trên biểu bì dưới có một số tế bào kích thước lớn mang tinh thể hình khối. Mô mềm giậu chiếm $\frac{1}{4}$ vùng thịt lá gồm 2 lớp tế bào, lớp trên dài gấp 2 lần lớp dưới, và xen với một số tế bào kích thước lớn mang tinh thể hình khối. Mô mềm khuyết chiếm $\frac{3}{4}$, tế bào hình dạng thay đổi. 2 lớp tế bào dưới cùng nhỏ hơn các lớp tế bào bên trên. Một vài chỗ có bó dẫn phụ bị cắt xéo với gỗ ở trên, libe ở dưới. Túi tiết tiêu ly bào nằm rải rác trên toàn vi phẫu gần biểu bì trên hoặc biểu bì dưới (Hình 7).

❖ Vi phẫu cuống lá

Vi phẫu hình bán nguyệt, mặt trên phẳng. Biểu bì là một lớp tế bào, vách ngoài hóa cutin rất dày, mang lông che chở đơn bào. Mô mềm vỏ từ 12 đến 14 lớp tế bào hình đa giác hoặc đa giác gần tròn, mang tinh thể calci oxalat hình khối, vùng mô mềm bên dưới mang nhiều tinh thể hơn vùng mô mềm bên trên. Mô cứng nằm thành từng cụm bao ngoài bó dẫn, 4 đến 5 lớp tế bào hình đa giác. Bó dẫn hình tim gồm các mô libe 1, libe 2, gỗ 2 và gỗ 1; cấu trúc tương tự bó dẫn của vùng gân giữa. Mô mềm tủy hình gần tròn, vách bằng cellulose, mang tinh thể calci oxalat hình khối (Hình 8).

3.1.3. Đặc điểm bột dược liệu

❖ Bột rễ

Bột rễ có màu vàng nâu, mùi không đặc trưng, vị đắng nhẹ. Quan sát dưới kính hiển vi thấy các mảnh bản, mảnh mô mềm không có hoặc mang hạt tinh bột (hình cầu, màu trắng), tinh thể calci oxalat hình khối và mảnh mạch (hình 9).

❖ Bột thân

Bột thân có màu xám xanh, mùi thơm nhẹ, vị đắng. Quan sát dưới kính hiển vi thấy các cấu tử: Mảnh biểu bì hình chữ nhật hoặc đa giác có vách dày, có thể có lỗ khí; lông che chở đơn bào, mạch điểm, mạch vạch, mạch xoắn, sợi mô cứng, đám sợi mô cứng và rất nhiều tinh thể calci oxalat hình khối (hình 9).

❖ Bột lá

Bột lá có màu xanh lục nhạt, mùi thơm. Quan sát dưới kính hiển vi thấy mảnh biểu bì trên hình chữ nhật vách uốn lượn, biểu bì dưới với nhiều lỗ khí kiểu vòng bào; lông che chở đơn bào, đôi khi đa bào; tinh thể calci oxalat hình khối với nhiều hình dạng khác nhau, túi tiết chứa tinh dầu trong suốt hoặc có màu vàng (gấp nhiều hơn so với bột thân), tế bào mô cứng nằm thành đám (hình 9).

3.2. Kết quả phân tích ADN

3.2.1. Kết quả điện di ADN

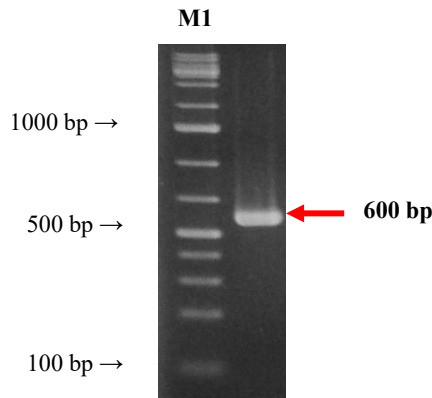
ADN mẫu điện di trên gel Agarose 1% (Hình 1). Đánh giá sơ bộ mẫu lá được ly trích thu được ADN nguyên vẹn không bị đứt gãy.



Hình 1. Phổ điện di ADN mẫu trên gel Agarose 1%

3.2.2. Kết quả điện di sản phẩm PCR

Sản phẩm điện di của mẫu với cặp mồi RBCL được khuếch đại với kích thước là 600 bp (Hình 2).



Hình 2. Phổ điện di sản phẩm PCR của mẫu với cặp mồi RBCL trên gel Agarose 2% (M, thang chuẩn 1kb plus - BioLabs, UK).

Bảng 2. Mức độ tương đồng của mẫu khi BLAST trên NCBI (Chao, 2019)

Mẫu	Kết quả BLAST với cơ sở dữ liệu trong NCBI		
	Loài tương đồng	Mã số	% đồng nhất
1	<i>Atalantia buxifolia</i>	MF623355.1	100,0

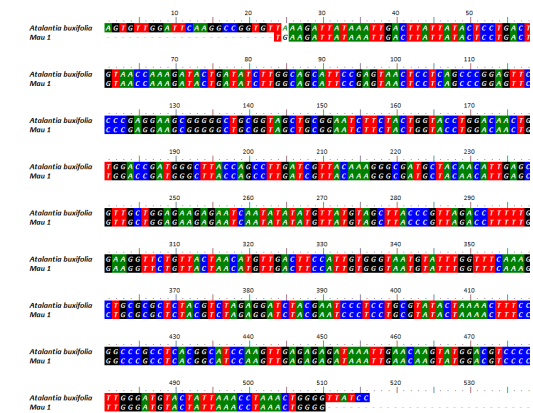
Trình tự của mẫu quýt gai (Mẫu 1) gồm 487 nucleotid như sau:

TGAAGATTATAAATTGACTTATTATACT
CCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATC
TTGGCAGCATTCCGAGTAACTCCTCAGCCC
GGAGTTCCACCCGAGGAAGCGGGGGCTGC
GGTAGCTGCGGAATCTTCTACTGGTACCTG
GACAACTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAG
CCTTGATCGTTACAAAGGGCGATGCTACAA

CATTGAGCCCCGTTGCTGGAGAAGAGAATCA
ATATATATGTTATGTAGCTTACCCGTTAGA
CCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACAT
GTTGACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGT
TTCAAAGCACTGCGCGCTCTACGTCTAGAG
GATCTACGAATCCCCTCCTGCGTATACTAAA
ACTTTCCAAGGCCCGCCTCACGGCATCCAA
GTTGAGAGAGATAAATTGAACAAGTATGG
ACGTCCCCTGTTGGGATGTACTATTAAACC
TAAACTGGGG

Trình tự của mẫu đối chứng (*Atalantia buxifolia*) gồm 552 nucleotid như sau:

AGTGTGGATTCAAGGCCGGTGTTAAAG
ATTATAAATTGACTTATTATACTCCTGACTA
TGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGC
ATTCCGAGTAACTCCTCAGCCCCGAGTTCC
ACCCGAGGAAGCGGGGGCTGCGGTAGCTG
CGGAATCTTCTACTGGTACCTGGACAACCTG
TGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATC
GTTACAAAGGGCGATGCTACAACATTGAGC
CCGTTGCTGGAGAAGAGAATCAATATATAT
GTTATGTAGCTTACCCGTTAGACCTTTTTGA
AGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTGACTTC
CATTGTGGGTAATGTATTTGGTTTCAAAGC
ACTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGATCTACG
AATCCCTCCTGCGTATACTAAAACCTTTCCA
AGGCCCGCCTCACGGCATCCAAGTTGAGAG
AGATAAATTGAACAAGTATGGACGTCCCCT
GTTGGGATGTACTATTAAACCTAAACTGGG
GTTATCCGCTAAGAATTATGGTAGGGCGGT
TTATGAATGTCTA.



Hình 3. Kết quả so sánh trình tự của mẫu quýt gai (Mẫu 1) với trình tự của *Atalantia buxifolia*

3.3. Sơ bộ thành phần hóa thực vật

Kết quả khảo sát thành phần hóa học của thân và lá cây quýt gai được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3. Sơ bộ thành phần hóa thực vật trong thân, lá cây quýt gai (*Atalantia buxifolia* (Poir.) Oliv)

Nhóm chất	Thuốc thử	Kết quả	
		Thân	Lá
Chất béo	Nhỏ dd lên giấy	-	-
Carotenoid	Carr-Price	-	-
	H ₂ SO ₄	-	-
Tinh dầu	Bốc hơi tới cạn	+	++
Triterpenoid tự do	Lieberman – Burchard	+	+
Alkaloid	Thuốc thử chung alkaloid	+	+
Coumarin	Phát quang trong kiềm	+	+
	Đóng mở vòng lacton	+	+
Anthraglycosid	KOH 10%	-	-
Flavonoid	Mg/HClđđ	-	-
Anthocyanosid	HCl	-	-
	KOH	-	-
Proanthocyanidin	HCl/nhiệt độ	-	-
Tannin	Dd FeCl ₃	+	+
	Dd gelatin muối	-	+
Triterpenoid thủy phân	Liebermann-Burchard	+	+
Saponin	Lắc mạnh dung dịch nước	+	+
Acid hữu cơ	Na ₂ CO ₃	+	+
Chất khử	TT Fehling	+	+
Hợp chất polyuronic	Pha loãng với cồn 90%	-	-

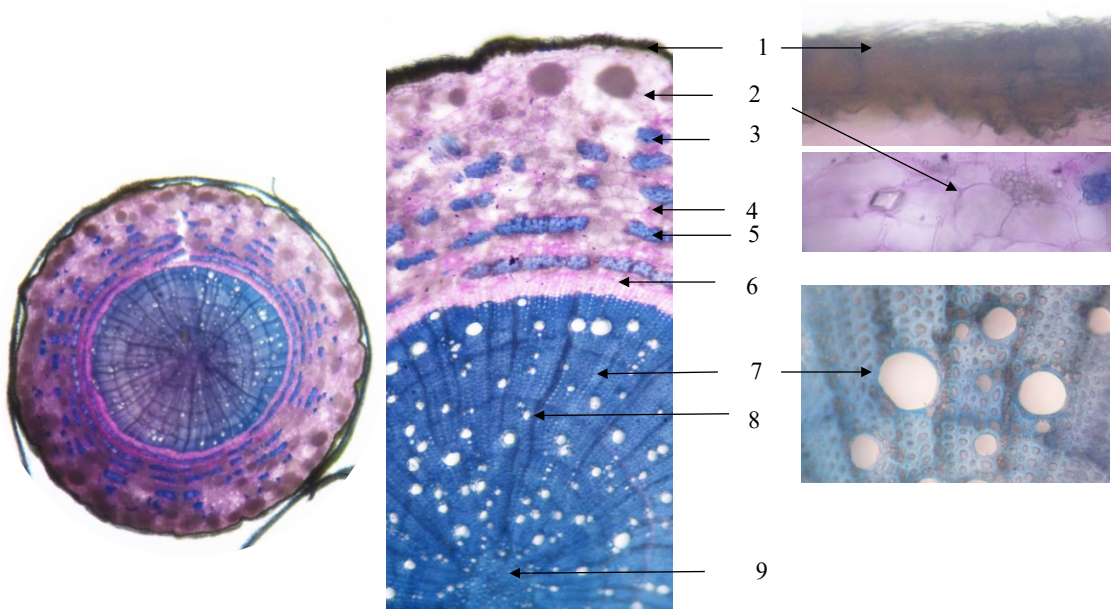
Từ Bảng 3 cho thấy thân và lá cây quýt gai chứa các nhóm hợp chất gồm tinh dầu, triterpenoid tự do, alkaloid, coumarin, polyphenol, saponin, triterpenoid thủy phân, acid hữu cơ và chất khử. Ở phần đặc điểm hình thái, quan sát được nhiều túi tiết tinh dầu ở lá, vị phần lá và cuống lá cũng mang nhiều túi tiết tinh dầu hơn so với vị phần thân, điều này phù hợp với kết quả định tính sơ bộ tinh dầu. Loài quýt gai thu hái ở Phú Lộc, Thừa Thiên Huế cũng chứa nhóm hợp chất coumarin, alkaloid giống với các mẫu thu hái ở Đài Loan và Trung Quốc (Yang, 2013; Chang, 2018; Liang, 2020).

4. KẾT LUẬN

Đặc điểm hình thái, giải phẫu và bột của rễ, thân, lá của cây quýt gai được mô tả chi tiết trong nghiên cứu để cung cấp dữ liệu cho việc xây dựng tiêu chuẩn kiểm nghiệm cây thuốc. Đồng thời, việc đối chiếu với dữ liệu ADN của ngân hàng gen khẳng định đây chính là loài *Atalantia buxifolia* (Poir.) Oliv. Về mặt hóa học, thân và lá loài này có chứa các nhóm hợp chất tinh dầu, triterpenoid tự do, alkaloid, coumarin, polyphenol, saponin, triterpenoid thủy phân, acid hữu cơ và chất khử.

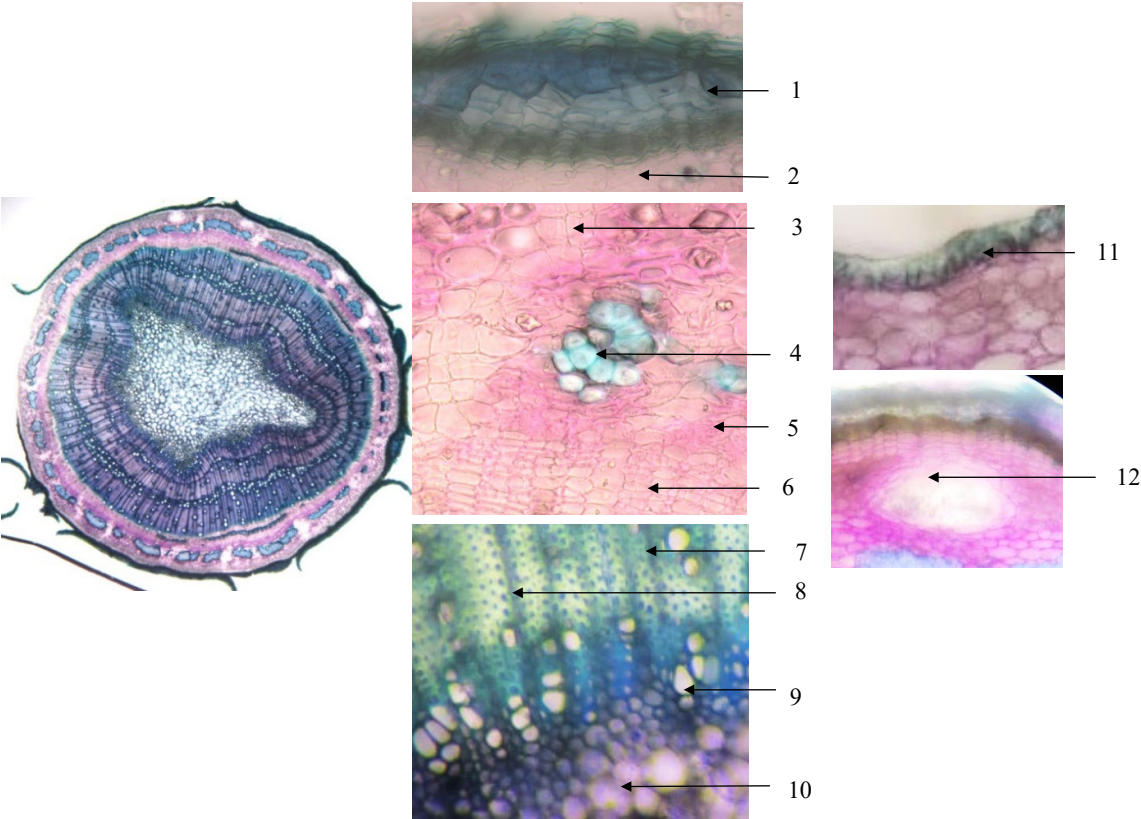


Hình 4. Đặc điểm hình thái cây quýt gai



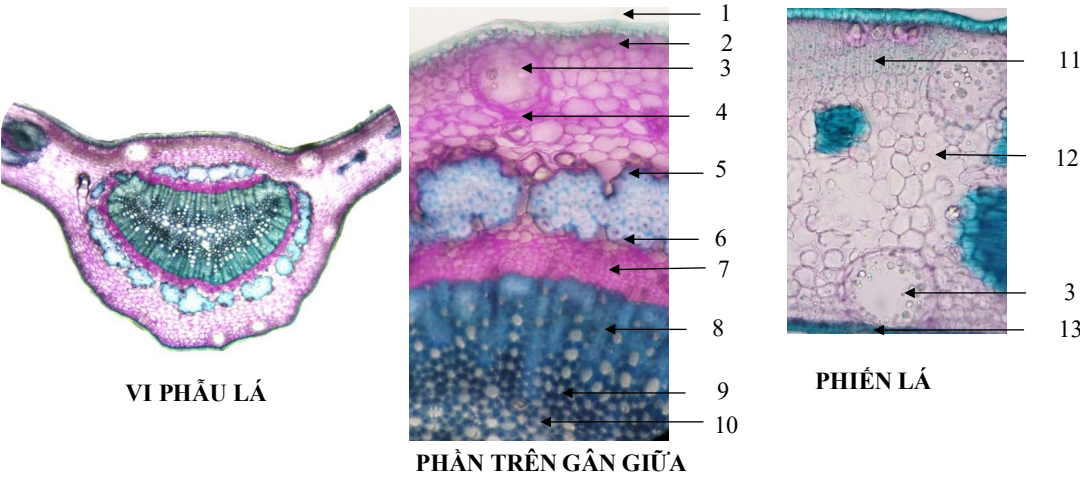
Hình 5. Vi phẫu rế cây quýt gai

1. Bần; 2. Mô mềm vỏ; 3. Sợi mô cứng; 4. Libe 1; 5. Sợi libe; 6. Libe 2; 7. Gỗ 2; 8. Tia gỗ; 9. Mô mềm tủy



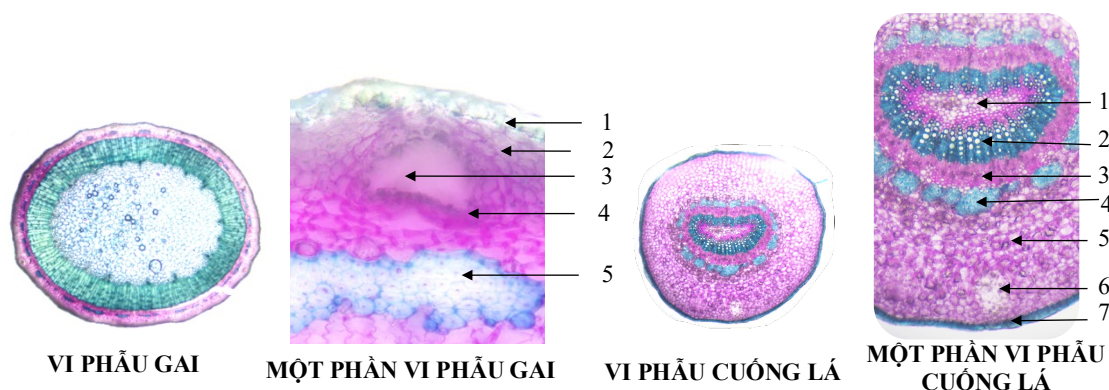
Hình 6. Vi phẫu thân cây quýt gai

1. Bần ở thân già; 2. Lục bì; 3. Mô mềm; 4. Sợi mô cứng; 5. Libe 1; 6. Libe 2; 7. Gỗ 2; 8. Tia gỗ; 9. Gỗ 1; 10. Mô mềm tủy; 11. Biểu bì ở thân non, 12. Túi tiết



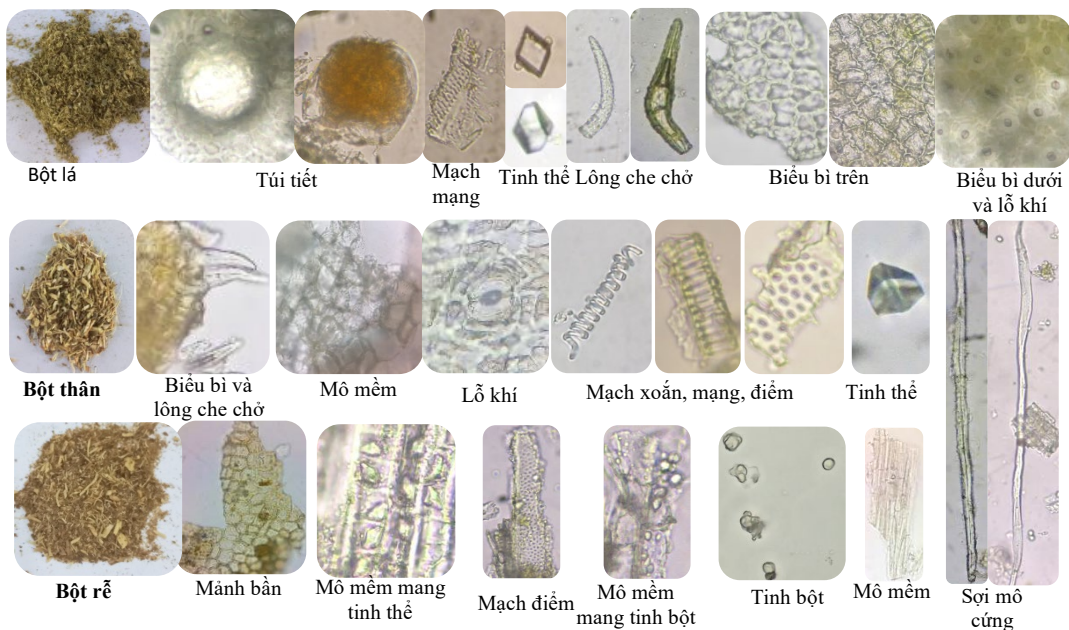
Hình 7. Vi phẫu lá cây quýt gai

1. Biểu bì; 2. Mô mềm; 3. Túi tiết; 4. Tinh thể hình khối; 5. Sợi mô cứng; 6. Libe 1; 7. Libe 2; 8. Gỗ 2; 9. Gỗ 1; 10. Mô mềm tủy; 11. Mô mềm giậu; 12. Mô mềm khuyết; 13. Biểu bì dưới



Hình 8. Vi phẫu gai

(1. Biểu bì; 2. Mô mềm; 3. Túi tiết; 4. Tinh thể hình khối; 5. Sợi mô cứng) và cuống lá (1. Mô mềm túi; 2. Gỗ 1; 3. Libe 1; 4. Mô cứng; 5. Mô mềm (chứa nhiều tinh thể hình khối); 6. Túi tiết; 7. Biểu bì)



Hình 9. Các thành phần trong bột rễ, thân, lá cây quýt gai

TÀI LIỆU THAM KHẢO (REFERENCES)

- Department of Pharmacognosy. (2016), Traditional medicine research methods, University of Medicines and Pharmacy (In Vietnamese).
- Chang, F. R., Li, P. S., Huang Liu, R., Hu, H. C., Hwang, T. L., Lee, J. C., & Cheng, Y. B. (2018). Bioactive phenolic components from the twigs of *Atalantia buxifolia*. *Journal of Natural Products*, 81(7), 1534-1539. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.7b00938>
- Chao, A., Chiu, C. H., Wu, S. H., Huang, C. L., & Lin, Y. C. (2019). Comparing two classes of alpha diversities and their corresponding beta and (dis) similarity measures, with an application to the Formosan sika deer *Cervus nippon taiouanus* reintroduction programme. *Methods in Ecology and Evolution*, 10(8), 1286-1297. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13233>
- Vo, C. V. (2018). *Dictionary of Vietnamese medicinal plants (Episode 2)*. Medical Publishing House, Ha Noi (In Vietnamese).
- Doyle, J. J. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13-15.
- Hall, T. A. (1999, January). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In

- Nucleic acids symposium series (Vol. 41, No. 41, pp. 95-98).
- Pham, H. H. (1999). *Vietnam plants (Episode 2)*. Tre Publishing House (In Vietnamese).
- Levin, R. A., Wagner, W. L., Hoch, P. C., Nepokroeff, M., Pires, J. C., Zimmer, E. A., & Sytsma, K. J. (2003). Family-level relationships of Onagraceae based on chloroplast *rbcL* and *ndhF* data. *American Journal of Botany*, 90(1), 107-115. <https://doi.org/10.3732/ajb.90.1.107>
- Liang, H. X., Sun, J. J., Shen, Z. B., Yu, B. W., Cui, H. H., & Yin, Y. Q. (2020). A novel alkaloid glycoside isolated from *Atalantia buxifolia*. *Natural Product Research*, 34(21), 3042-3047. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1607854>
- Sanger, S., Nicklen, S., & Coulson, A.R (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 74(12), 5463-5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
- Bui, T. B., Nguyen, T. V., Dau, T. B., & Doudkin, R. V. (2022). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from the leaves and stems of *Atalantia buxifolia* from Vietnam. In *Proceeding of the 5th National Scientific Conference on Biological Research and Teaching in Vietnam* (pp. 8-16). <https://doi.org/10.15625/vap.2022.0002>
- Truong, D. H., Nguyen, D. H., Ta, N. T. A., Bui, A. V., Do, T. H., & Nguyen, H. C. (2019). Evaluation of the use of different solvents for phytochemical constituents, antioxidants, and in vitro anti-inflammatory activities of *Severinia buxifolia*. *Journal of Food Quality*, 1, 8178294. <https://doi.org/10.1155/2019/8178294>
- Yang, Y. Y., Yang, W., Zuo, W. J., Zeng, Y. B., Liu, S. B., Mei, W. L., & Dai, H. F. (2013). Two new acridone alkaloids from the branch of *Atalantia buxifolia* and their biological activity. *Journal of Asian Natural Products Research*, 15(8), 899-904. <https://doi.org/10.1080/10286020.2013.803073>
- YIN, Y. Q. (2014). Therapeutic effect of *Atalantia buxifolia* on chronic bronchitis and its mechanism. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2809-2814.