

NGHIÊN CỨU PHÂN BỐ VÀ MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM CỦA CÂY BẢY LÁ MỘT HOA (*Paris polyphylla*) TẠI TỈNH GIA LAI

Võ Thị Thuỳ Ngân^{1,2}, Phan Thị Thảo Nguyên², Trương Thị Bích Phương^{2*}

¹ Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Gia Lai

² Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

*Email: ttbphuong@hueuni.edu.vn

Ngày nhận bài: 6/12/2021; ngày hoàn thành phản biện: 13/12/2021; ngày duyệt đăng: 4/4/2022

TÓM TẮT

Nghiên cứu này mô tả hiện trạng phân bố, xác định đặc điểm hình thái đặc trưng, hóa sinh và giải trình tự DNA dựa trên vùng gen *ITS* của cây Bảy lá một hoa (*Paris polyphylla*) phân bố tại tỉnh Gia Lai (Vườn quốc gia Kon Ka Kinh, huyện Mang Yang và Khu bảo tồn thiên nhiên Kon Chư Răng, huyện Kbang). Kết quả nghiên cứu cho thấy cây Bảy lá một hoa bản địa tại tỉnh Gia Lai có đặc điểm hình thái tương tự đặc điểm của loài *Paris polyphylla* đã được công bố. Hàm lượng saponin toàn phần trong mẫu củ được xác định theo phương pháp đo quang UV-Vis là 1,54 – 4,01%. Hoạt chất saponin chính trong mẫu củ Bảy lá một hoa bản địa tại tỉnh Gia Lai là Paris H với hàm lượng 0,18%; mẫu cây Bảy lá một hoa bản địa tại tỉnh Gia Lai có trình tự gen *ITS* tương thích với loài *Paris polyphylla* (mức độ tương đồng 93,23 – 97,55%, tỷ lệ bao phủ 99-100%).

Từ khóa: Bảy lá một hoa, đặc điểm hình thái, *Paris polyphylla*, *ITS*, saponin.

1. MỞ ĐẦU

Cây Bảy lá một hoa là thực vật thuộc ngành *Magnoliophyta* (Mộc lan, Hạt kín), lớp *Liliopsida* (Hành), bộ *Dioscoreales* (Củ nâu), họ *Trilliaceae* (Trọng lâu), chi *Paris* (Bảy lá một hoa). Cây Bảy lá một hoa còn có tên gọi khác là Thất diệp nhất chi hoa, Độc cước liên, Thiết đăng đài, Chi hoa đầu, Tảo hưu, Thảo hà xa [4].

Cây Bảy lá một hoa là cây thân thảo sống lâu năm [8]. Toàn cây gồm lá, thân và rễ đều được sử dụng làm thuốc nhưng thông dụng nhất là thân rễ. Trong dân gian người ta sử dụng củ của cây Bảy lá một hoa để chữa giải độc khi bị rắn cắn, làm thuốc kháng khuẩn, thuốc kháng virus...[14, 15, 21]. Để không làm mất đi các hoạt chất của cây dược liệu quý này, người ta thường dùng củ tươi để sắc uống. Với nhiều tác dụng chống lại bệnh nên cây Bảy lá một hoa đang là đối tượng được thu mua và khai thác

với số lượng lớn. Hiện nay, nạn phá rừng làm nương rẫy dẫn đến giảm khả năng tái sinh và phân bố của cây, khả năng nảy mầm trong tự nhiên và trong điều kiện phòng thí nghiệm là rất thấp, chính vì vậy số lượng cây còn lại trong tự nhiên bị suy giảm đáng kể [15]. Theo phân hạng về góc độ bảo tồn, cây Bảy lá một hoa được xếp hạng EN A1c,d, loài được ghi trong Sách đỏ Việt Nam (2007) với cấp đánh giá hiếm (R). Cây được khuyến cáo khai thác, sử dụng hợp lý và cần phải lưu giữ, bảo vệ nguồn gen [3].

Chi Paris gồm 24 loài đã được xác định phân bố khắp Châu Âu, Châu Á và vùng Himalaya; ở một số quốc gia như Bhutan, Nepal và Ấn Độ [16]. Ở Việt Nam, chi Paris phân bố chủ yếu ở một số tỉnh miền núi phía Bắc và vùng núi cao Tây Nguyên – nơi có khí hậu mát, độ ẩm cao. Hiện nay, ở nước ta có 8 loài và 2 thứ thuộc chi Paris gồm: *Paris dunniana* H.Lév., *Paris fargesii* Franch., *Paris vietnamensis* (Takht.) H.Li, *Paris caobangensis* Y.H.Ji, H.Li & Z.K.Zhou, *Paris cronquistii* (Takht.) H.Li, *Paris xichouensis* (H. Li) Y.H.Ji, H.Li & Z.K.Zhou, *Paris delavayi* Franch., *Paris polyphylla* Sm., *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. – Mazz., và *Paris polyphylla* var. *chinensis* (Franch.) H.Hara [17].

Mặc dù, cây Bảy lá một hoa có phân bố tự nhiên tại tỉnh Gia Lai nhưng cho đến nay chưa có tài liệu nào đề cập đến thực trạng nguồn gen, chất lượng nguồn gen tại Gia Lai. Vì vậy, việc nghiên cứu hiện trạng phân bố, đặc điểm hình thái, đặc điểm hóa sinh và giải trình tự DNA của cây này tại tỉnh Gia Lai là hết sức cần thiết, nhằm làm cơ sở cho việc bảo tồn, nhân giống và tiến tới phát triển, khai thác bền vững [2, 14, 22]. Trong phạm vi bài báo, chúng tôi trình bày kết quả nghiên cứu về hiện trạng phân bố, đặc điểm hình thái, xác định hàm lượng saponin tổng số và hoạt chất saponin chính có trong mẫu củ và xác định loài trên cơ sở giải trình tự gen *ITS* để phục vụ cho các nghiên cứu tiếp theo về loài được liệt kê có giá trị này.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Vật liệu nghiên cứu là cây Bảy lá một hoa (bao gồm 308 mẫu cây, 10 mẫu củ ký hiệu từ C1 – C10, 50 mẫu lá tươi ký hiệu từ L1 – L50) thu thập trong tự nhiên trên địa bàn tỉnh Gia Lai (Khu bảo tồn thiên nhiên Kon Chư Răng – huyện Kbang – tỉnh Gia Lai và Vườn quốc gia Kon Ka Kinh – huyện Mang Yang – tỉnh Gia Lai) từ tháng 01–02/2021.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Điều tra hiện trạng phân bố cây Bảy lá một hoa trên địa bàn tỉnh Gia Lai

Phương pháp điều tra áp dụng theo “Quy trình điều tra dược liệu” của Bộ Y tế năm 1973 có bổ sung, sửa chữa năm 2006 và “Phương pháp điều tra thu thập cây

thuốc” của Nguyễn Tập (2006) kết hợp với phương pháp kế thừa từ các từ việc phỏng vấn điều tra thứ cấp và điều tra thực địa người dân [5, 11].

Điều tra thứ cấp: Phỏng vấn các tổ chức, cá nhân có liên quan trực tiếp hoặc gián tiếp đến công tác quản lý rừng tự nhiên.

Điều tra thực địa vùng dân cư: Trên cơ sở thông tin thứ cấp tiến hành xác định 4 điểm khảo sát. Sử dụng phương pháp điều tra PRA (Participatory Rural Appraisal – Phương pháp đánh giá nông thôn có tham gia của người dân) [7]. Công cụ điều tra: phiếu điều tra với bộ câu hỏi phỏng vấn gồm 38 chỉ tiêu: Tên phổ thông, địa điểm và thời điểm khai thác, đặc điểm sinh thái nơi cây phân bố, đặc điểm thực vật học cây Bảy lá một hoa mà người dân bắt gặp tại địa phương... Tổng số hộ điều tra: 200 hộ dân, tại 4 điểm khảo sát (xã Kroong, xã Đăk Roong, xã Kon Pnê, xã Sơn Lang thuộc huyện Kbang, tỉnh Gia Lai).

Điều tra thực tế theo tuyến: Điều tra với 10 tuyến khảo sát/02 khu vực theo độ cao từ 750 m đến 1.500 m. Lựa chọn các ô tiêu chuẩn đại diện cho các kiểu trạng thái, các độ cao khác nhau. Số lượng: 04 ô tiêu chuẩn/tuyến, kích thước 01 ô tiêu chuẩn 2.500 m² (50 m × 50 m). Tổng số ô tiêu chuẩn của đợt điều tra là 40 ô. Xác định cây Bảy lá một hoa theo phương pháp so sánh hình thái dựa vào tài liệu mô tả hình thái của Đỗ Huy Bích (2006) [4] và Võ Văn Chi (1996) [8]. Mô tả và ghi chép các điểm lập địa nơi bắt gặp loài Bảy lá một hoa, ghi chú phân loại cây bắt gặp được theo tình trạng sinh trưởng.

2.2.2. Nghiên cứu đặc điểm hình thái của cây Bảy lá một hoa tại Gia Lai

Thu mẫu dùng cho phân tích hình thái theo phương pháp của Trần Công Khánh (1981) [10].

Mô tả hình thái thực vật theo phương pháp của Nguyễn Nghĩa Thìn (2006) có cải tiến, các bộ phận mô tả bao gồm: thân, lá, rễ, hoa, quả [12].

2.2.3. Phân tích thành phần saponin cây Bảy lá một hoa tại Gia Lai

Chọn 01 mẫu củ (03 năm tuổi)/01 tuyến điều tra, đại diện cho vùng sinh thái nhằm phân tích hàm lượng saponin tổng số và định lượng hoạt chất chính có trong củ cây Bảy lá một hoa.

2.2.3.1. Định lượng saponin toàn phần bằng phương pháp đo quang [19]

Thái nhỏ mẫu củ thành các lát có kích thước khoảng 1 cm × 1 cm × 0,5 cm. Sấy ở 50°C tới khi khô. Xay mẫu thành bột và rây qua rây 355 (đường kính lỗ rây 0,355 mm). Xác định hàm ẩm của mẫu bột dược liệu bằng cân sấy hồng ngoại. Thời gian sấy 15 phút, nhiệt độ 105°C. Lượng mẫu thử 1,0 g.

Tổng hàm lượng saponin theo chất chuẩn Gracillin dựa trên mô tả của S.Hiai và cộng sự (1976) [19]. Đường chuẩn xây dựng bằng cách lấy 0,5 mL dung dịch chuẩn Gracillin pha trong ethanol 70% (0,060 mg/mL; 0,121 mg/mL; 0,241 mg/mL; 0,362

mg/mL; 0,603 mg/mL) trộn với 0,5 mL dung dịch vanillin 8% và 4,0 ml dung dịch H₂SO₄ 72% lắc đều. Làm lạnh dung dịch ở nhiệt độ 5 – 10°C trong 10 phút và thực hiện phản ứng ở 60°C trong 20 phút, làm lạnh dung dịch về 5 – 10°C. Đo OD mẫu thử và mẫu chuẩn trong vùng 450 – 700 nm. Xác định bước sóng thực hiện định lượng là 584 nm. Hàm lượng saponin tính theo Gracillin trong mẫu thử:

$$\% \text{Saponin} = \frac{C \times 10}{1000 \times m_{\text{cân}}} \times \frac{100}{100 - \text{hàm ẩm}} \times 100\%$$

Trong đó, C: Nồng độ saponin trong dịch chiết mẫu thử (mg/mL); 10: Thể tích dung môi chiết (mg/mL); m_{cân}: Khối lượng mẫu thử (g)

2.2.3.2. Định lượng thành phần saponin chính bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp (HPLC) [2, 6]

Hệ thống HPLC (HPLC Waters 2695e) được sử dụng để xác định thành phần saponin chính trong mẫu củ Báy lá một hoa và định lượng thành phần này.

- Để xác định thành phần saponin chính sử dụng chất chuẩn Paris II (số kiểm soát: PII012018, hàm lượng: 99,06%); Paris H (số kiểm soát: PH012018, hàm lượng: 98,74%); Gracillin (số kiểm soát: G012018, hàm lượng 100,42%). Chương trình chạy được thực hiện trên cột sắc ký ở nhiệt độ 30°C, dung môi pha động acetonitrile 100%, tốc độ dòng chảy 1 mL/phút, đầu dò PDA 2996 (UV, 196 nm), thể tích mẫu 20 µL.

- Để định lượng thành phần saponin chính tiến hành xây dựng đường chuẩn bằng cách cân 4,64 mg chất chuẩn, thêm 8 mL n-propanol, siêu âm hòa tan hoàn toàn Thêm n-propanol tới định mức 10 mL. Pha mẫu chuẩn ở nồng độ 0,458 mg/mL với thể tích chuẩn gốc 500 µL, 625 µL, 750 µL, 1000 µL, 1250 µL và 2500 µL đến thể tích giai mẫu chuẩn là 5 ml tương ứng nồng độ 0,046 mg/mL, 0,057 mg/mL, 0,069 mg/mL, 0,092 mg/mL, 0,115 mg/mL, 0,229 mg/mL. Tiêm vào hệ thống các dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Xác nồng độ saponin chính trong dịch chiết theo phương trình hồi quy đã dựng. Từ nồng độ này, xác định hàm lượng % saponin trong mẫu theo công thức:

$$\% \text{Saponin chính} = \frac{C \times 5}{1000 \times m_{\text{cân}}} \times \frac{100}{100 - \text{hàm ẩm}} \times 100\%$$

Trong đó, m_{cân} là khối lượng mẫu thử dùng để chiết.

2.2.4. Định danh xác định loài Báy lá một hoa thu thập tại tỉnh Gia Lai

Tách chiết, tinh sạch DNA tổng số từ mẫu lá theo phương pháp của Doyle & Doyle (1990) [13]. Khuếch đại bằng kỹ thuật PCR sử dụng cặp môi ITS (Nguyễn Tiến Dũng, 2018) [9]. (Trình tự ITS-F: 5'-CCGATTGAATGGTCCGGTGAAGTGT-3'; Trình tự ITS-R: 5'-TCCCCGGTTCGCTCGCCGTTAC-3'). Chuẩn bị hỗn hợp phản ứng PCR bao gồm: 5 µL đệm PCR 10X; 5µL dNTPs 10 mM; 0,25 µL mỗi xuôi 10 µM; 0,25 µL mỗi ngược 10 µM; 0,3 µL Taq DNA polymerase 5U/µL; 1µL DNA khuôn mẫu 50 ng/µL.

Thêm nước khử khoáng vừa đủ 50 μ L. PCR được thực hiện với chu trình nhiệt như sau: 95°C/10 phút; 30 chu kỳ: 95°C/30 giây, 60°C/25 giây, 72°C/1 phút; 72°C/5 phút và giữ ở 4°C. Sản phẩm PCR được điện di kiểm tra trên gel agarose 1%. Sản phẩm PCR được phân tích trình tự tại công ty TNHH MTV Sinh hoá Phù Sa (Số 30/4, Phường Hưng Lợi, Quận Ninh Kiều, Thành phố Cần Thơ) bằng phương pháp Sanger. Kết quả giải trình tự hai chiều được đối chiếu với nhau hiệu chỉnh bằng phần mềm SeqMan V 7.1. Trình tự ở định dạng file fasta (.fasta) được đối chiếu với các trình tự trên ngân hàng gen (NCBI) bằng công cụ BLAST để định danh loài.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả điều tra hiện trạng phân bố của cây Bảy lá một hoa tại tỉnh Gia Lai

Qua điều tra đã xác nhận có sự phân bố của cây Bảy lá một hoa tại cả 02 khu vực nghiên cứu là Khu bảo tồn thiên nhiên Kon Chư Răng, huyện Kbang và Vườn quốc gia Kon Ka Kinh, huyện Mang Yang. Tại khu vực điều tra, nhóm thực hiện đã ghi nhận đặc điểm vùng sinh thái và đặc điểm thực vật học của 308 cây Bảy lá một hoa, trong đó có 233 cây tại Khu bảo tồn thiên nhiên Kon Chư Răng, 71 cây tại Vườn quốc gia Kon Ka Kinh. Đặc điểm vùng sinh thái tại vùng phân bố cây Bảy lá một hoa là vùng núi cao trên 800 m, tại các khe suối hay hốc đá, trên loại đất mùn hoặc đất mùn đen pha cát, khí hậu mát mẻ nhiệt độ dao động từ 17 – 21°C, lượng mưa trung bình từ 1.750 – 2.250 mm/năm.



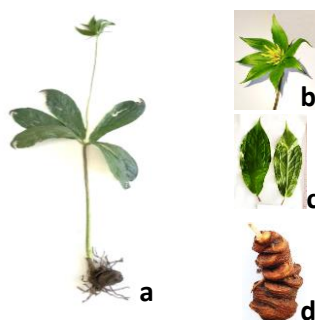
Hình 1. Hình ảnh điều tra vùng phân bố cây Bảy lá một hoa tại Khu bảo tồn thiên nhiên Kon Chư Răng (huyện Kbang – tỉnh Gia Lai) (a) Quần thể cây Bảy lá một hoa; (b) Khu vực thác K50 có phân bố nhiều cây Bảy lá một hoa; (c) Đặc điểm đất vùng phân bố cây Bảy lá một hoa

3.2. Đặc điểm hình thái cây Bảy lá một hoa tại Gia Lai

Cây Bảy lá một hoa có duy nhất 01 nhánh; Chiều cao cây khoảng 15 – 70 cm; Đường kính tán khoảng 15 – 25 cm; Đường kính thân khoảng 0,15 – 0,5 cm, thân có màu xanh, bề mặt thân không có lông; Lá màu xanh có hình mác dài, rộng, nhọn ở đầu lá, bề mặt lá không có lông, chiều dài lá 7 – 16 cm, bề rộng 5 – 9 cm, số lượng 5 – 7 lá; Củ hình trụ dài, chia thành đốt, độ dài 2 – 10 cm, đường kính 1 – 5 cm; Một cây có duy

Nghiên cứu phân bố và một số đặc điểm của cây bảy lá một hoa (Paris polyphylla) tại tỉnh Gia Lai

nhất 01 hoa mọc ở đỉnh thân; lá đài màu xanh, chiều dài lá đài 2 – 3 cm, số lượng 6 – 7 lá đài; cánh hoa màu xanh hơi vàng, hình sợi, số lượng cánh hoa bằng số lượng lá đài, chiều dài của cánh hoa ngắn hơn hoặc bằng chiều dài của lá đài; Số lượng nhị trên một hoa gấp 2 lần số lá đài, chỉ nhị dài bằng bao phấn; Nhụy có phần đầu xẻ 3 thùy, phần gốc vòi nhụy có màu xanh lam.



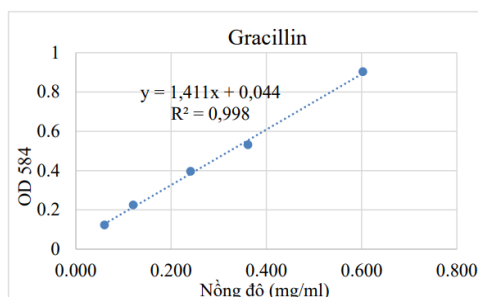
Hình 2. Hình thái cây Bảy lá một hoa ở tỉnh Gia Lai (a). Cây (b). Hoa; (c). Lá; (d). Củ

3.3. Phân tích thành phần saponin cây Bảy lá một hoa tại Gia Lai

3.3.1. Định lượng saponin toàn phần bằng phương pháp đo quang

Kết quả xác định được hàm ẩm của 10 mẫu nghiên cứu: C1 (7,34 %); C2 (7,35%); C3 (7,53%); C4 (7,53%); C5 (7,43%); C6 (7,27%); C7 (7,46%); C8 (7,5%); C9 (7,38%); C10 (7,32%).

Saponin toàn phần trong mẫu củ Bảy lá một hoa thu thập được ở Gia Lai được xác định dựa vào phương trình tuyến tính được trình bày ở Hình 3. Qua kết quả trình bày ở bảng 1 cho thấy hàm lượng saponin toàn phần được xác định bằng phương pháp đo quang UV-Vis trong các mẫu thu thập dao động từ 1,54 – 4,01%.



Hình 3. Đường biểu diễn sự tương quan giữa nồng độ Gracillin và OD 584

Bảng 1. Hàm lượng saponin toàn phần trong mẫu

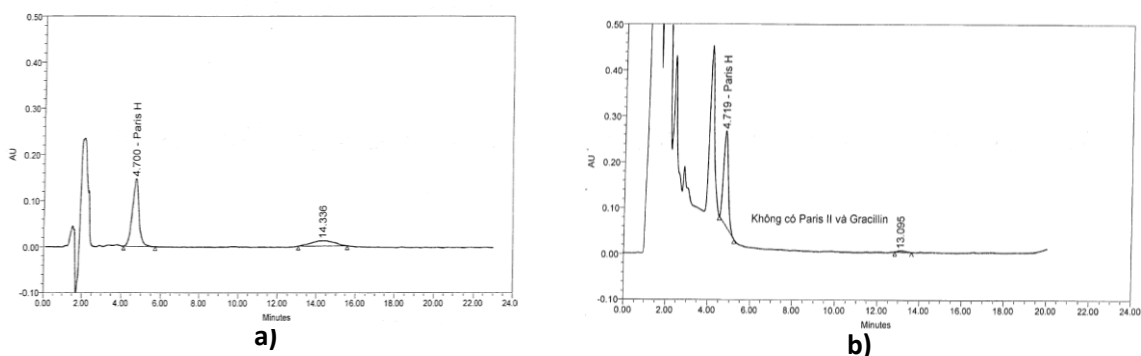
Mẫu	Hàm lượng saponin toàn phần (%)	Mẫu	Hàm lượng saponin toàn phần (%)
C1	2,28	C6	2,60
C2	3,31	C7	2,94

C3	2,15	C8	4,01
C4	2,99	C9	2,92
C5	3,06	C10	1,54

3.3.2. Định lượng thành phần saponin chính bằng HPLC

3.3.2.1. Khảo sát sự hiện diện của các saponin trong mẫu thử nghiệm

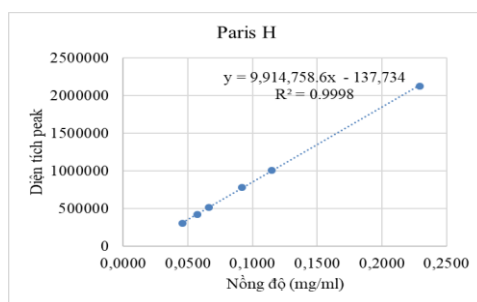
Kết quả phân tích bằng HPLC xác định thành phần saponin chính của 10 mẫu củ cho thấy tất cả các mẫu đều có sự hiện diện của Paris H (Hình 4) tương tự với công bố của Wang YH và cộng sự (2018) và không có thành phần Paris II và Gracillin [20].



Hình 4. Phổ HPLC của dịch chiết Báy lá một hoa: (a) chuẩn Paris H; (b) mẫu C1

3.3.2.2 Định lượng Paris H trong mẫu

Hàm lượng Paris H được xác định dựa trên phương trình tuyến tính ở Hình 5 xây dựng dựa trên diện tích của peak có thời gian lưu tương đương với peak chuẩn.



Hình 5. Đường biểu diễn sự tương quan giữa nồng độ và tín hiệu Paris H

Kết quả định lượng thành phần saponin chính (Paris H) có trong mẫu củ cây Báy lá một hoa thu thập được tại tỉnh Gia Lai được thể hiện tại bảng 2 với hàm lượng trung bình là 0,18%, dao động từ 0,09 – 0,37%, thấp hơn so với kết quả đã được Cao Ngọc Anh và cộng sự (2018) công bố đối với mẫu cây Báy lá một hoa (*Paris polyphylla var chinensis*) thu thập được tại Việt Nam (dao động từ 0 – 0,56%) [1].

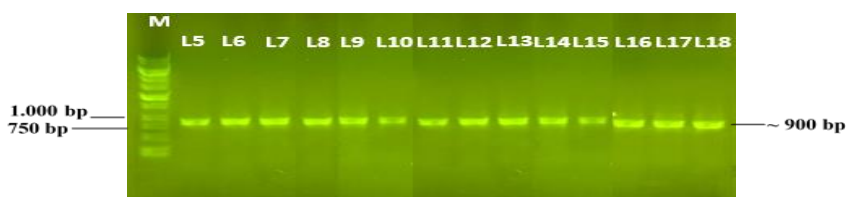
Bảng 2. Hàm lượng Paris H trong mẫu

Mẫu	Hàm lượng Paris H (%)	Mẫu	Hàm lượng Paris H (%)
C1	0,15	C6	0,26
C2	0,15	C7	0,20
C3	0,09	C8	0,18
C4	0,17	C9	0,37
C5	0,10	C10	0,13

3.4. Kết quả định danh loài thực vật

Nghiên cứu của Zhu *et al.* (2010) đã chỉ ra rằng *ITS* là vùng gen thích hợp nhất trong phân loại phân tử đối với các loài thuộc chi *Paris* [23]. Vì vậy, vùng gen có độ biến thiên cao nhất thích hợp làm mã vạch phân tử cho phân loại các loài thuộc chi *Paris* được chọn trong nghiên cứu là *ITS*. Sử dụng phương pháp PCR để nhân bản đoạn gen quan tâm với cặp mồi *ITS*.

Sản phẩm PCR sau khuếch đại được kiểm tra chất lượng thông qua điện di cho thấy gen quan tâm đã được khuếch đại thành công với kích thước khoảng 900 bp (Hình 6).



Hình 6. Kết quả điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 1% (M: 1 kb)

Sau khi đối chiếu với các trình tự trên ngân hàng gen (NCBI) bằng công cụ BLAST để định danh loài, kết quả các trình tự gen tương đồng cao nhất với loài *Paris polyphylla* (mức độ tương đồng 93,23 – 97,55%, tỷ lệ bao phủ 99-100%). Điều này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Quỳnh Nga và cộng sự (2016) [18]. Tuy nhiên, để củng cố kết quả của nghiên cứu này chúng tôi đề xuất tiếp tục sử dụng các chỉ thị phân tử khác dựa trên hệ gen lục lạp trong nghiên cứu phát sinh loài và phân loại cây Báy lá một hoa tại tỉnh Gia Lai.

4. KẾT LUẬN

Có sự phân bố của cây Báy lá một hoa tại tỉnh Gia Lai, cụ thể tại 02 khu vực điều tra là Khu bảo tồn thiên nhiên Kon Chư Răng và Vườn quốc gia Kon Ka Kinh. Đặc điểm thực vật học của cây Báy lá một hoa thu thập được tại tỉnh Gia Lai có sự tương đồng với đặc điểm hình thái của loài *Paris polyphylla*; Hàm lượng saponin trung bình trong mẫu củ theo phương pháp đo quang UV-Vis đạt 1,54 – 4,01%, trong đó thành

phần hoạt chất saponin chính là Paris H với hàm lượng trung bình 0,18%; Trình tự gen *ITS* của Bảy lá một hoa tại tỉnh Gia Lai tương thích với loài *Paris polyphylla* (với mức độ tương đồng 93,23 – 97,55%, tỷ lệ bao phủ 99-100%).

Kết quả của nghiên cứu đưa ra cơ sở dữ liệu tham chiếu về đặc điểm hình thái, đặc điểm hóa sinh và kết quả định danh xác định loài dựa trên vùng gen *ITS* của cây Bảy lá một hoa phân bố tại tỉnh Gia Lai, góp phần làm vật liệu ban đầu phục vụ các nghiên cứu tiếp theo về chọn tạo giống và nhân trồng loại cây dược liệu có giá trị này.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Nguồn Ngân sách sự nghiệp khoa học cấp tỉnh của tỉnh Gia Lai năm 2019 trong đề tài mã số KHGL-0819.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Cao Ngọc Anh (2019). Xây dựng quy trình định lượng paris saponin H (paris H), paris saponin II (paris II) và gracillin chiết xuất, phân lập từ cây Bảy lá một hoa Việt Nam bằng kỹ thuật HPLC, *Tạp chí Dược học*, 2(59), tr.14-16.
- [2]. Hoàng Hải Anh, Nguyễn Minh Cang, Nguyễn Minh Đức (2011). Phân tích thành phần các saponin chính trong sâm Việt Nam nuôi cấy mô bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao, *Tạp chí Y học TP Hồ Chí Minh*, 15, 579-584.
- [3]. Nguyễn Tiến Bàn (2017). *Sách đỏ Việt Nam phần II – Thực vật*, NXB Khoa học tự nhiên và Công nghệ.
- [4]. Đỗ Huy Bích (2006). *Cây dược liệu và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, 1, NXB Khoa học và Kỹ thuật.
- [5]. Bộ Y tế (1973). *Quy trình điều tra dược liệu*, NXB Y học.
- [6]. Bộ Y tế (2009). *Dược điển Việt Nam*, 4, NXB Y học.
- [7]. Nguyễn Duy Cần, Nico Vromant (2009). *PRA – Đánh giá nông thôn với sự tham gia của người dân*, NXB Nông nghiệp.
- [8]. Võ Văn Chi (1996). *Từ điển cây dược liệu Việt Nam*, NXB Y học Hà Nội, tr. 75.
- [9]. Nguyễn Tiến Dũng (2018). Đặc điểm hình thái và mã vạch DNA của cây Bảy lá một hoa (*Paris vietnamensis*) (Takht) H.Li, ở Việt Nam, *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 16 (04), tr.282-289.
- [10]. Trần Công Khánh (1981). *Thực tập hình thái giải phẫu thực vật*, NXB Khoa học và Kỹ thuật.
- [11]. Nguyễn Tập (2003). *Tổng quan về nguồn dược liệu Việt Nam*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
- [12]. Nguyễn Nghĩa Thìn (2006). *Các phương pháp nghiên cứu thực vật*. NXB Giáo dục.
- [13]. Doyle, JJ., Doyle, JL. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue, *Focus*, 12, pp.13-15.

- [14]. Jun HE (2007). Assessment of Genetic Diversity of *Paris polyphylla* (Trilliaceae) by ISSR Markers, *Acta Botanica Yunnanica*, 29, pp.388–392.
- [15]. Kumar MH (2014). Anticancer activity of hydroalcoholic extracts from *Paris polyphylla* rhizomes against human A549 lung cancer cell lines using MTT assay, *International Research Journal of Pharmacy*, 5(4), pp.290-294. DOI: [10.7897/2230-8407.050462](https://doi.org/10.7897/2230-8407.050462)
- [16]. Li H (1984), The phylogeny of the genus ParisL, *Acta Botanica Yunnanica*, 6, pp.351-362.
- [17]. Nguyen Quynh Nga, Pham Thanh Huyen, Phan Van Truong, Hoang Van Toan (2016). Taxonomy of the genus Paris L. (Melanthiaceae) in Vietnam. *Journal of Biology*, 38(3): 333-339.
- [18]. Paul A, Gajurel PR, Das AK, (2015). Threats and conservation of *Paris polyphylla* an endangered, highly exploited medicinal plant in the Indian Himalayan Region, *Biodiversitas*, 16(2), pp.295–302. DOI: [10.13057/biodiv/d160226](https://doi.org/10.13057/biodiv/d160226)
- [19]. Hiai S, Oura H, Nakajima T (1976). Color reaction of some saponins and saponins with vanillin and sulfuric acid, *Planta rmedica*, 29, pp.117–121. DOI: [10.1055/s-0028-1097639](https://doi.org/10.1055/s-0028-1097639)
- [20]. Wang D.K (2009). A novel mechanism controls anther opening and closing in *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*, *Chinese science bulletin*, 54(2), pp. 244–248.
- [21]. Yang C, Cai H, Meng X (2016). Polyphyllin D induces apoptosis and differentiation in K562 human leukemia cells, *Int Immunopharmacol*, 36, pp.17–22.. DOI: [10.1016/j.intimp.2016.04.011](https://doi.org/10.1016/j.intimp.2016.04.011)
- [22]. Zhang J (2004). RAPD variation within and among four populations of *Paris polyphylla*, *Chinese Biodiversity*, 12(5), pp.517–522. DOI: [10.17520/biods.2004064](https://doi.org/10.17520/biods.2004064)
- [23]. Zhu Y (2010). DNA barcoding the medicinal plants of the genus Paris, *Yao Xue Xue Bao*, 45(3), pp.376–82. PMID: [21351516](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21351516/)

RESEARCH ON DISTRIBUTION AND CHARACTERISTICS OF BAY LA MOT HOA (*Paris polyphylla*) IN GIA LAI PROVINCE

Vo Thi Thuy Ngan^{1,2}, Phan Thi Thao Nguyen², Truong Thi Bich Phuong^{2*}

¹Department of Science and Technology, Gia Lai Province

²Faculty of Biology, University of Sciences, Hue University

*Email: ttbphuong@hueuni.edu.vn

ABSTRACT

This study was conducted to describe distribution status, identified specific morphological and biochemical characteristics, and analyzed DNA sequences based on the *ITS* gene region of *Bay la mot hoa* (*Paris polyphylla*) plant distributed in Gia Lai province (Kon Ka Kinh National Park, Mang Yang District and Kon Chu Rang Nature Reserve, Kbang District). The results showed that the indigenous *Bay la mot hoa* in Gia Lai province has similar morphological characteristics to the published *Paris polyphylla* species. Total saponin content was 1.54 – 4.01% by determining the UV–Vis photometric method. The main active saponin in the root sample of *Bay la mot hoa* plant is Paris H with the concentration of 0.18%; Indigenous of *Bay la mot hoa* plant in Gia Lai province has *ITS* gene sequences that are compatible with *Paris polyphylla* (similarity 93,23 – 97,55%, query cover 99-100%).

Keywords: Bay la mot hoa, morphological characteristics, *Paris polyphylla*, *ITS*, saponin.

Nghiên cứu phân bố và một số đặc điểm của cây bảy lá một hoa (Paris polyphylla) tại tỉnh Gia Lai



Võ Thị Thuỳ Ngân sinh năm 1990. Bà tốt nghiệp đại học năm 2012 ngành Công nghệ Sinh học tại Trường Đại học Mở Thành phố Hồ Chí Minh. Hiện tại, Bà đang công tác tại Trung tâm Ứng dụng Tiến bộ Khoa học và Công nghệ, Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Gia Lai.

Lĩnh vực nghiên cứu: Công nghệ Sinh học



Phan Thị Thảo Nguyên sinh năm 1999. Bà tốt nghiệp đại học năm 2021 ngành Sinh học tại Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế. Hiện tại, Bà đang công tác tại Phòng Công nghệ gen, Viện Công nghệ Sinh học, Đại học Huế.

Lĩnh vực nghiên cứu: Sinh học



Trương Thị Bích Phượng sinh năm 1964. Bà tốt nghiệp Cử nhân ngành Sinh học năm 1989 tại Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế. Năm 1995, bà tốt nghiệp Thạc sĩ ngành Sinh học tại Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế. Năm 2004, bà tốt nghiệp Tiến sĩ chuyên ngành Sinh lý học Thực vật tại Đại học Huế; nhận học hàm Phó giáo sư năm 2009. Hiện tại, bà công tác tại Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế.

Lĩnh vực nghiên cứu: Sinh lý học thực vật