

ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI, GIẢI PHẪU VÀ KHẢ NĂNG NHÂN GIỐNG CÂY BÁT GIÁC LIÊN (*Dysosma tonkinense* (Gagnep.) M.Hiroe)

Phạm Ngọc Khánh^{1,3}, Ninh Thị Phíp^{2*}, Phạm Thanh Huyền³

¹NCS Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

²Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

³Viện Dược liệu

*Tác giả liên hệ: ntphip@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 28.10.2020

Ngày chấp nhận đăng: 17.12.2020

TÓM TẮT

Bát giác liên (*Dysosma tonkinense* (Gagnep.) M.Hiroe) là cây thuốc có giá trị, khả năng tái sinh kém, đang bị khai thác quá mức. Nghiên cứu này nhằm xác định đặc điểm hình thái, giải phẫu của cây; thời gian bảo quản hạt; thời vụ giâm hom; xử lý GA3 hom rễ đến khả năng nhân giống hữu tính và vô tính (giâm hom). Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD) với 3 lần nhắc lại. Kết quả nghiên cứu cho thấy Bát giác liên có hoa lưỡng tính với 6-7(8) đài, 6-7(8) tràng, 6 nhị và 1 nhụy. Hạt có vỏ dày với thời gian ngủ nghỉ ngắn. Hạt được gieo ngay sau khi thu hoạch có tỷ lệ nảy mầm cao nhất (84,4%), tỷ lệ xuất vườn đạt 80%. Cấu tạo vi phẫu rễ Bát giác liên gồm các lớp biểu bì, mô mềm vỏ (vỏ), nội bì, trụ bì, các bó dẫn và mô mềm ruột. Mầm bất định hình thành từ lớp tế bào trụ bì rễ. Hom rễ Bát giác liên được giâm ngày 15/5 thời gian giâm hom là 200 ngày và tỷ lệ cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn cao nhất là 81,3%. Xử lý hom rễ bằng GA3 nồng độ 100ppm đến 175ppm rút ngắn thời gian giâm hom còn 150 ngày đến 190 ngày và tỷ lệ cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn cao nhất đạt 86,9% đến 89,5%.

Từ khóa: Bát giác liên, *Dysosma tonkinense*, hình thái, giải phẫu, nhân giống.

Morphological, anatomical characteristics and propagation ability of *Dysosma tonkinense* (Gagnep.) M.Hiroe

ABSTRACT

Dysosma tonkinense (Gagnep.) M.Hiroe - Berberidaceae is a precious medicinal plant species. Due to low regeneration ability and over-exploitation, it has been classified as “Endangered (EN) species” on the Vietnam Red List and required further study for the conservation, suitable exploitation and development of this genetic resource. This study aims to identify the morphological and anatomical characteristics, especially those of flowers and roots; and evaluated the sexual and asexual propagation of *D. tonkinense*. The results showed that flowers were hermaphrodite with 6-7(8) calyxes, 6-7(8) corollas, 6 stamens, and a pistil. Seeds had a thick coat and short time dormancy. The highest germination percentage (84.4%) and rate of standard seedlings were obtained in the BQ0 treatment (sowing seeds after harvesting). The anatomy of *D. tonkinense* root transverse section included the epidermis, cortex (parenchyma), endodermis, pericycle, vascular bundles and pith. Adventitious shoots originated from a cell layer of root pericycle. The suitable time to cutting roots was May 15th with 81.3% of cuttings were established after 200 days. Application of GA3 at the concentration between 100ppm to 175ppm reduced timing for cutting to 150-190 days and improved cutting quality with 86.9% to 89.5% reached out planting standards.

Keywords: *Dysosma tonkinense*, morphology, anatomy, propagation.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi Bát giác liên (*Dysosma* Woodson.) là một chi nhỏ gồm 7 đến 10 loài cây thân thảo

sống lâu năm thuộc họ Hoàng liên (*Berberidaceae*), có phân bố ở Trung Quốc và Việt Nam; trong đó có 6 loài đặc hữu ở Trung Quốc. Loài Bát giác liên ở Việt Nam có tên khoa

học *Dysosma tonkinense* (Gagnep.) M.Hiroe (Hiroe, 1973; Pham & cs., 2020). Do bị khai thác sử dụng làm thuốc thiếu sự kiểm soát trong nhiều năm dẫn đến hiện trạng suy giảm nguồn gen nghiêm trọng trong tự nhiên. Loài Bát giác liên đã được đưa vào Sách Đỏ Việt Nam (2007) với mức phân hạng “nguy cấp” (EN A1a, c, d), cần được nghiên cứu nhân giống và bảo tồn.

Theo một số nghiên cứu cho rằng cây Bát giác liên có tỷ lệ đậu quả rất thấp trong tự nhiên cũng như trong điều kiện trồng trọt nên việc sử dụng hạt làm vật liệu nhân giống rất khó khăn; tuy nhiên có thể nhân giống bằng thân rễ (Nadeem & cs., 2000). Chưa có nghiên cứu nhân giống các loài Bát giác liên (thuộc 2 chi *Dysosma* Woodson và *Podophyllum* L.) bằng rễ, tuy nhiên Phạm Ngọc Khánh & cs. (2017) đã ghi nhận các trường hợp cây Bát giác liên mọc từ rễ trong điều kiện nhà có mái che tại Trung tâm nghiên cứu dược liệu Sa Pa và trong điều kiện trồng dưới tán rừng tại xã Bản Khoang, huyện Sa Pa, tỉnh Lào Cai. Nghiên cứu này nhằm xác định đặc điểm hình thái, giải phẫu và khả năng nhân giống hữu tính bằng hạt và vô tính bằng hom rễ của cây Bát giác liên.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cây Bát giác liên 4-5 năm tuổi được trồng trong nhà màng có lưới đen che giảm ánh sáng 50% tại Trung tâm nghiên cứu dược liệu Sa Pa - Viện Dược liệu. Thân, lá, hoa được thu vào tháng 3 khi cây ra hoa rộ. Quả chín được thu và lấy hạt vào tháng 11. Rễ được thu vào tháng 10. Mỗi loại thu 30 mẫu để mô tả đặc điểm hình thái và thực hiện vi phẫu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Mô tả đặc điểm hình thái, cắt mẫu, nhuộm kép và soi tiêu bản

Mẫu lá, thân rễ, rễ, hoa, quả, hạt sau khi thu về được mô tả đặc điểm hình thái (Hoàng Thị Sản & cs., 1982; Nguyễn Bá, 2007) sau đó được cố định và bảo quản trong dung dịch FAC gồm ethyl alcohol 96°, acetic acid 40%, formalin và nước cất (Nguyễn Khoa Lâm & Ngô Đắc

Chúng, 1997). Mẫu được cắt mỏng bằng dao lam, nhuộm kép và làm tiêu bản tạm thời. Phương pháp nhuộm kép nhằm phân biệt được tế bào có màng bằng cellulose (bắt màu đỏ của thuốc nhuộm carmine) và tế bào có màng thấm lignin (bắt màu xanh của thuốc nhuộm methylene blue) (Hoàng Thị Sản & cs., 1982). Từ đó xác định được sự có mặt và phân bố các loại mô của lá, thân rễ và rễ. Mẫu được quan sát và chụp ảnh tiêu bản dưới kính hiển vi Kruss MBL 2000 - T của Đức.

2.2.2. Nhân giống

- Nhân giống hữu tính:

Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của thời gian bảo quản đến tỷ lệ nảy mầm của hạt Bát giác liên

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD) gồm 3 lần nhắc lại, 4 công thức: không bảo quản BQ0 và bảo quản hạt trong thời gian 1 tháng (BQ1), 2 tháng (BQ2) và 3 tháng (BQ3).

Hạt được tách từ quả chín hoàn toàn (vỏ quả màu vàng chanh), loại bỏ lớp áo hạt, rửa sạch và để ráo nước, phơi trong nắng nhẹ đến khi độ ẩm của hạt còn 15%. Công thức BQ0 hạt được gieo ngay (không bảo quản); các công thức còn lại, hạt được chứa trong túi PE hàn mép và lưu trong điều kiện nhiệt độ 4-5°C. Hạt được gieo trong các khay nhựa với nền 100% mùn núi, 90 hạt trên mỗi công thức.

- Nhân giống vô tính:

Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của thời vụ giâm hom rễ đến khả năng nhân giống Bát giác liên

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD) gồm 3 lần nhắc lại, 90 hom rễ trên mỗi công thức với 6 thời vụ giâm hom là: 15/1 (TV1), 15/3 (TV2), 15/5 (TV3), 15/7 (TV4), 15/9 (TV5) và thời vụ 15/11 (TV6). Các hom rễ đồng đều, được lấy ở khoảng giữa rễ (cách đầu rễ và cuối rễ 10cm), đường kính hom ~ 2,0mm.

Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng xử lý nồng độ Gibberellic acid (GA3) đến khả năng nhân giống Bát giác liên bằng hom rễ.

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD) gồm 3 lần nhắc lại, 20 nồng

độ GA3 từ 25ppm đến 1.500ppm. Các hom rễ được lấy từ khoảng giữa rễ (cách đầu rễ và cuối rễ 10cm), đồng đều về đường kính (~ 2,0mm).

Cách thực hiện: Rễ sau khi thu từ cây mẹ được rửa sạch, sau đó cắt thành các đoạn hom dài 10cm. Đối với thí nghiệm 3, hom được ngâm trong dung dịch GA3 trong 2 giờ. Các hom rễ được giâm trong giá thể là mùn núi; khi giâm đặt hom nằm ngang cách nhau 3-4cm sau đó phủ kín bằng lớp mùn dày 2-3cm; tưới giữ ẩm cho đến khi hom bật mầm và tiếp tục chăm sóc đến khi cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn. Các thí nghiệm được thực hiện trong điều kiện nhà màng có lưới đen che giảm ánh sáng 50%.

Các chỉ tiêu theo dõi: Thời gian từ gieo hạt đến nảy mầm, xuất vườn (ngày); Thời gian từ giâm hom rễ đến bật mầm, xuất vườn (ngày); Tỷ lệ nảy mầm của hạt, tỷ lệ bật mầm của hom rễ, tỷ lệ xuất vườn (%); Chiều cao cây (cm); Số lá (lá); Số rễ (rễ); Số nhánh (nhánh); Số hoa/cây (hoa); Số quả/cây (quả); Số hạt/quả (hạt); Tỷ lệ hạt chắc (%); Kích thước hạt (cm); Khối lượng 1.000 hạt (g).

Thời gian thực hiện: Từ tháng 11/2018 đến tháng 6/2020. Các thí nghiệm được thực hiện tại Trung tâm Nghiên cứu Dược liệu Sa Pa, Viện Dược liệu.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý và phân tích phương sai

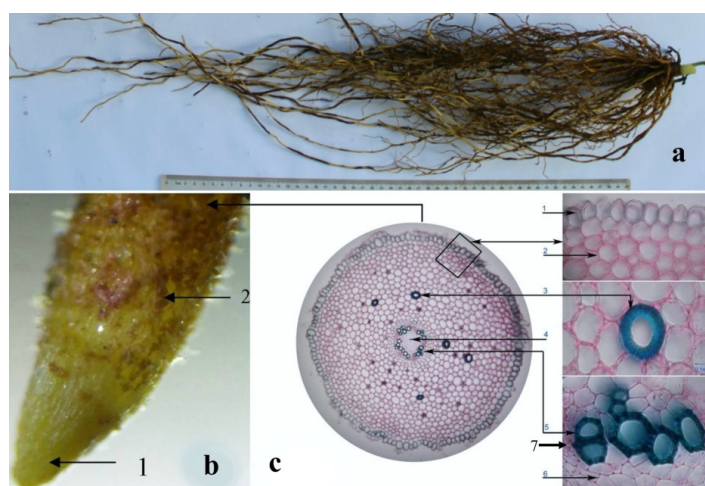
ANOVA bằng phần mềm IRRISTAT 5.0. Các giá trị trung bình được so sánh cặp đôi thông qua giá trị $LSD_{0,05}$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm hình thái và vi phẫu Bát giác liên

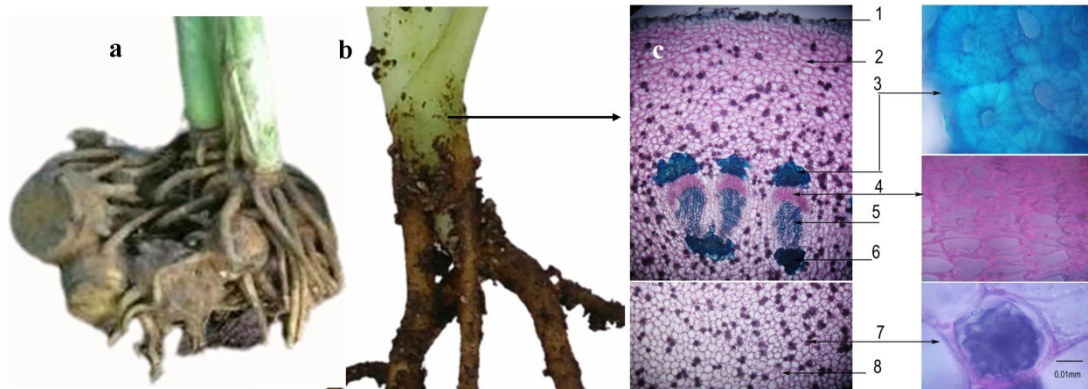
3.1.1. Rễ

Bát giác liên là cây hai lá mầm nhưng có kiểu rễ chùm gồm nhiều rễ nhỏ (cây 4-5 tuổi có đến 25-40 rễ, có khi nhiều hơn) mọc từ thân rễ. Rễ hình sợi, dài 30-70 (có khi dài trên 80cm), đường kính 1,5-2,5mm; mặt ngoài có nhiều lông rễ, màu vàng chanh, khi già có màu nâu nhạt. Khi rễ đã phát triển ổn định, 2/3 chiều dài rễ (phía giáp gốc thân) không phân nhánh, chỉ 1/3 rễ về phía đỉnh sinh trưởng có phân nhánh (Hình 1a). Cấu tạo vi phẫu rễ của các mẫu Bát giác liên tại Sa Pa tương tự như mẫu do Ngô Đức Phương & cs. (2019) thu tại Ba Vì, với mặt cắt ngang rễ hình tròn, biểu bì gồm một lớp tế bào đa giác hay hình gần tròn, xếp tương đối đều đặn. Dưới lớp biểu bì là các lớp mô mềm gồm các tế bào tròn có thành mỏng. Rải rác trong mô mềm vỏ có các tế bào cứng kích thước to hơn tế bào mô mềm. Gỗ và libe tạo thành vòng tròn ngay dưới lớp trụ bì. Phía trong là mô mềm ruột có kích thước nhỏ và có thành mỏng (Hình 1c).



Ghi chú: a: thân rễ mang các rễ; b: rễ Bát giác liên (b1- chóp rễ. b2: vùng rễ sơ cấp mang lông rễ); c: lát cắt ngang tại vùng rễ sơ cấp (c1 - biểu bì, c2 - mô mềm vỏ, c3 - mô cứng, c4 - mô mềm ruột, c5 - gỗ, c6 - nhu mô lõi, c7 - libe).

Hình 1. Đặc điểm hình thái và vi phẫu rễ Bát giác liên



Ghi chú: a,b: thân rễ; c: vi phẫu thân rễ (c1 - chu bì; c2 - mô mềm vỏ; c3, c6 - tế bào cứng; c4 - libe thứ cấp; c5 - gỗ thứ cấp; c7 - tinh thể calci oxalat; c8 - mô mềm ruột).

Hình 2. Cấu tạo và vi phẫu thân rễ Bát giác liên

3.1.2. Thân rễ

Thân rễ Bát giác liên có hình trụ, mập, dạng chuỗi; kích thước 2-3(4)cm màu vàng nâu, có nhiều rễ con. Trên thân rễ có những vết sẹo của lá bao chồi và các mầm ngủ có khả năng phát triển thành một nhánh mới (Hình 2a, 2b).

Lát cắt thân rễ hình tròn, cấu tạo từ ngoài vào trong bao gồm: Lớp bên gồm 2-3 hàng tế bào hình đa giác. Mô mềm vỏ cấu tạo bởi những tế bào thành mỏng, xếp lộn xộn, các tế bào ở phía ngoài nhỏ hơn phía trong. Các bó libe-gỗ kích thước khá đều nhau, trên mỗi bó libe-gỗ có đỉnh 2 cụm tế bào mô cứng, 1 cụm nằm sát libe, 1 cụm nằm sát gỗ. Trong mô mềm vỏ và mô mềm ruột có nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai kích thước 0,01-0,05mm (Hình 2c). Như vậy, hình thái và vi phẫu thân rễ của các mẫu Bát giác liên tại Sa Pa tương tự như mẫu Bát giác liên do Ngô Đức Phương & cs. (2019) thu tại Ba Vì.

3.1.3. Lá

Cây mầm Bát giác liên mọc từ hạt có đặc điểm đặc trưng đó là hai lá mầm dính liền tạo thành dạng hình thoi với cuống mảnh dính ở giữa phiến lá (Hình 6b); tuổi thọ của lá mầm có thể đến 6 tháng, khi cây con có 2-3 lá thật mới rụng. Trên cây trưởng thành, phiến lá Bát giác liên có dạng khiên (cuống lá dính ở giữa phiến lá) đường kính 20-30cm, với hình dạng phiến lá rất đa dạng, từ dạng bầu dục không chia thùy cho đến dạng đa giác với nhiều thùy nông (Hình

3a-x), trong đó có những dạng lá tương tự như mẫu do Ngô Đức phương & cs. (2019) đã mô tả. Vi phẫu gân lá cho thấy: gân phía dưới lồi, phía trên gân phẳng hơi lõm xuống (Hình 3z). Biểu bì trên và dưới là một hàng tế bào nhỏ, hình trứng, xếp liên tục, đều đặn. Mô dày dưới (Hình 3z12) cấu tạo bởi 1-2 lớp tế bào hình tròn, có thành dày ở góc, xếp sát dưới biểu bì. Mô mềm là những tế bào hình đa giác hay tròn, thành mỏng, có kích thước không đều. Ở giữa gân thường có 3 bó libe - gỗ có cấu tạo tương tự nhau. Bó libe - gỗ ở giữa thường có kích thước lớn nhất, libe bao quanh bó gỗ, gỗ cấu tạo bởi các mạch gỗ lớn, xếp thành hàng, tập trung thành bó. Mô mềm cấu tạo bởi các tế bào hình tròn, có thành mỏng (Hình 3z4). Biểu bì trên và dưới của phiến lá là một hàng tế bào hình chữ nhật, to hơn so với biểu bì ở gân lá. Mô giậu cấu tạo bởi 2 hàng tế bào hình chữ nhật, hoặc hình trứng xếp dọc sát nhau và thẳng góc với biểu bì trên. Trong phiến lá có thể có một vài bó libe-gỗ nhỏ của gân phụ. Mô khuyết là những tế bào to nhỏ không đều nhau, có thành mỏng (Hình 3z8).

3.1.4. Đặc điểm hình thái, khả năng ra hoa, kết quả và nhân giống hữu tính cây Bát giác liên

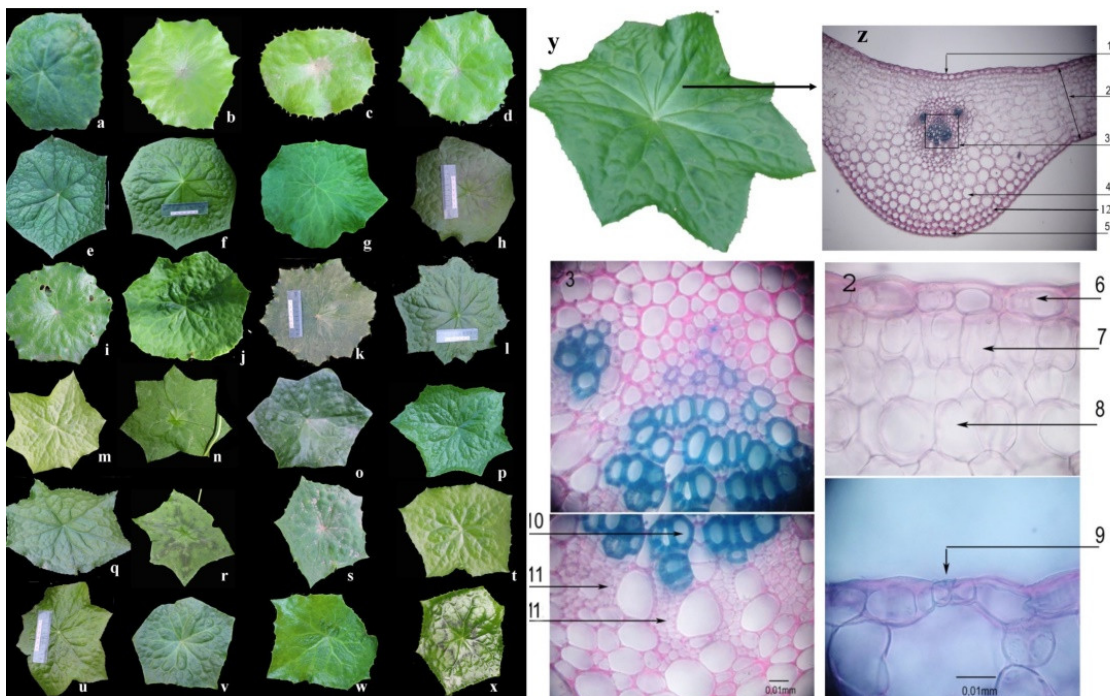
* Đặc điểm hình thái và khả năng ra hoa kết quả

Bát giác liên có thời gian ra hoa từ tháng 1 đến tháng 4. Vào thời điểm tháng 1, khi phần thân lá trên mặt đất của năm trước đã già, lui

thì mầm hoa mới bắt đầu hình thành; khi mầm thoát ra khỏi lá bao mầm thì cụm hoa cũng xuất hiện. Nụ hoa hình thành và phát triển đồng thời với mầm, đến khi mầm đạt kích thước tối đa thì cụm hoa bắt đầu nở (Hình 4a). Về cấu tạo, hoa của loài Bát giác liên ở Việt Nam (*Dysosma tonkinense*) có cấu tạo tương đồng với các loài Bát giác liên thuộc chi *Dysosma* Woodson, đó là đài 6(8) (xếp 2 vòng), kích thước 1,2-3,0cm × 0,5-1,0cm, mặt ngoài có lông mịn màu trắng, mặt trong nhẵn; tràng 6-8 (xếp 2 vòng), kích thước 3,0-3,7cm × 1,0-1,7cm; nhị 6, bao phấn đính lưng; nhụy 1, bầu trên, giá noãn đính bên (Hình 1f). Công thức tổng quát của hoa: $\ast \overline{K}_3+3C_3+3A_3+3G_1\downarrow Vm^{\infty}$. Hoa nở trong thời gian từ 7 đến 10 ngày với dấu hiệu đặc trưng của sự nở hoa đó là đài khô và rụng; tràng màu đỏ, mở rộng, bao phấn mở cạnh; tuy nhiên tràng hoa khum, bao kín nhị và nhụy (Hình 4b). Tràng hoa của Bát giác liên có màu sắc đa dạng, từ màu đỏ tươi, đỏ đậm cho đến màu đỏ tía như tràng hoa của mẫu Bát giác liên do Ngô Đức Phương & cs. (2019) đã thu tại Ba Vì. Giai đoạn này, đầu nhụy màu trắng ngà hoặc màu tía, bề

mặt có lớp nhầy, hạt phấn dễ bám dính (Hình 4c). Với đặc điểm cánh hoa khum, bao kín lấy nhị và nhụy ngăn các loài côn trùng tiếp cận để thụ phấn và giao phấn cho cây; đồng thời khi cánh hoa rụng thì lớp tế bào trên bề mặt nhụy nơi tiếp nhận hạt phấn đã bị chết (Hình 1e) nên sự thụ tinh không thể diễn ra. Những đặc điểm trên chính là nguyên nhân tỷ lệ đậu quả rất thấp (0-10% trong tự nhiên với các quần thể < 20 cá thể và 5-10% trong điều kiện trồng trọt với quần thể > 100 cá thể) mặc dù số lượng hoa lưỡng tính trên cây mỗi cây tương đối lớn, có thể đến 20,2 hoa/cây (Hình 4a, Bảng 1).

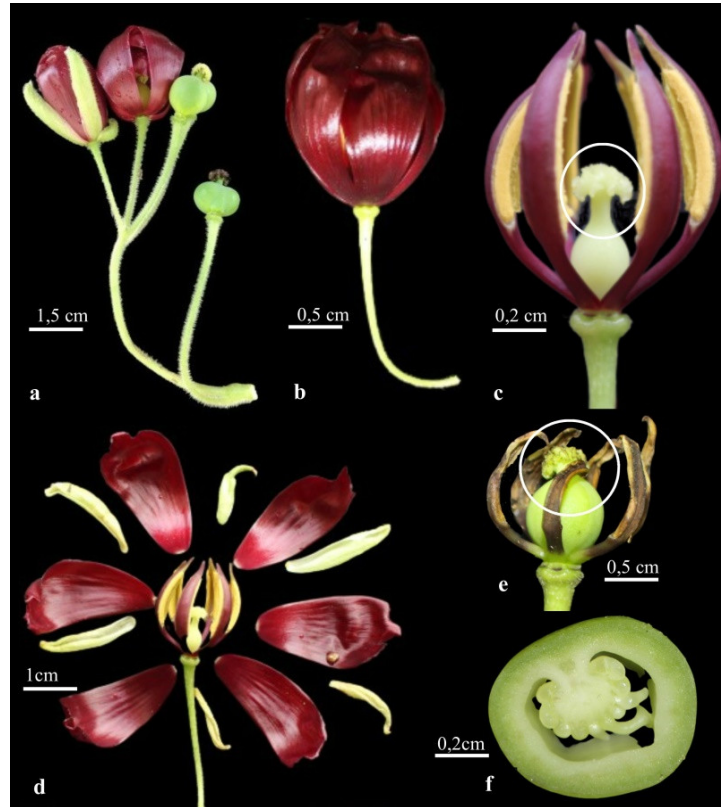
Quả Bát giác liên có hình trứng hoặc hình bầu dục thuôn về phía hai đầu, kích thước 5-6,5 × 4,5-5 cm; khi chín có màu vàng xanh (Hình 5a). Sau khi thụ tinh, noãn phát triển thành hạt, đồng thời cuống noãn phát triển thành áo hạt, tạo thành khối hạt hình cầu gồm nhiều hạt (21,8 hạt) (Hình 5b). Hạt Bát giác liên hình bầu dục dài, dẹt, màu vàng nâu, kích thước 0,9-1,2 × 0,3-0,4cm, hai đầu thon, vỏ hạt màu nâu đậm (Hình 5c). Khối lượng 1000 hạt là 86,8g (từ 84,5g đến 90,0g).



Ghi chú: a-x: Đa dạng hình thái lá Bát giác liên; y: Phiến lá sử dụng vi phẫu; z: Vi phẫu một phần phiến lá (z1, z6 - biểu bì trên; z2 - phần phiến lá; z3 - cụm libe-gỗ; z4 - mô mềm; z5 - biểu bì dưới; z7 - mô giậu; z8 - mô khuyết; z9 - lỗ khí; z10 - gỗ, z11 - libe, z12 - mô dày dưới).

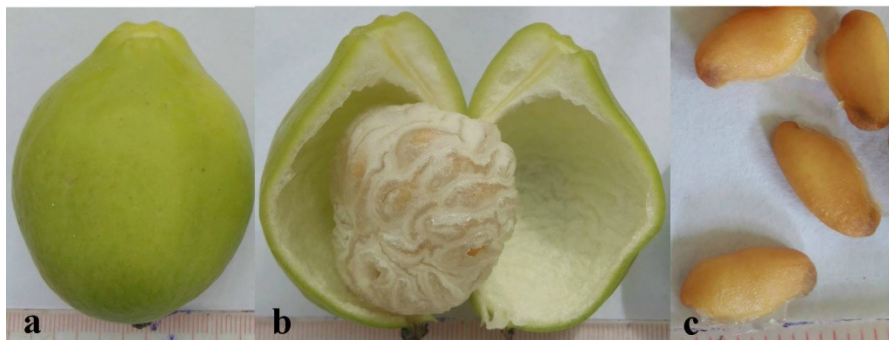
Hình 3. Hình thái và vi phẫu lá Bát giác liên

Đặc điểm hình thái, giải phẫu và khả năng nhân giống cây Bát giác liên (*Dysosma tonkinense* (Gagnep.) M.Hiroe)



Ghi chú: a,b: cụm hoa và một hoa; d: các bộ phận của hoa; c: nhị và nhụy khi hoa nở; e: nhị và nhụy khi cánh hoa rụng; f: mặt cắt ngang bầu.

Hình 4. Các thành phần hoa Bát giác liên



Ghi chú: a: quả chín; b: quả bổ dọc; c: hạt.

Hình 5. Quả và hạt Bát giác liên

Bảng 1. Khả năng hình thành quả và hạt Bát giác liên trong điều kiện trồng trọt tại Sa Pa

Số hoa/cây (hoa)	Số quả/cây (quả)	Số hạt/quả (hạt)	Tỷ lệ hạt chắc (%)	Kích thước hạt (mm)	Khối lượng 1.000 hạt (g)
20,2 ± 5,6	0,6 ± 0,6	21,8 ± 1,5	95,1	9-12 x 3-4	86,8 ± 1,8

Đặc điểm tỷ lệ đậu quả rất thấp của loài Bát giác liên ở Việt Nam tương đồng với các loài khác thuộc chi *Dysosma* Woodson và chi

Podophyllum L. đã được nghiên cứu. Gong & cs., 2015 cho biết rằng các loài Bát giác liên thuộc chi *Dysosma* Woodson và *Podophyllum* L. có tỷ

lệ đậu quả trong tự nhiên rất thấp; trong đó loài *Dysosma pleiantha* có tỷ lệ đậu quả 17,1%. Loài *Podophyllum peltatum* có tỷ lệ đậu quả khoảng 10% và số hạt trung bình trên mỗi quả là 18,8 hạt (Whisler & Snow, 1992). Để giải thích cho hiện tượng tỷ lệ đậu quả trong quần thể rất thấp của các loài thuộc chi *Dysosma* Woodson. và *Podophyllum* L., các nghiên cứu của Whisler & Snow (1992); Gong & cs. (2015) cho biết, các loài Bát giác liên có hiện tượng tự bất thụ và cần phải giao phấn khác cây để có thể đậu quả. Hiện tượng tự bất thụ ở các loài Bát giác liên do một số cơ chế, đó là sự ức chế nảy mầm của hạt phấn và sự ức chế phát triển của ống phấn trên đầu nhụy; đồng thời khi cánh hoa mở để đầu nhụy tiếp nhận hạt phấn thì lớp tế bào trên bề mặt nhụy đã bị hoại tử.

* Ảnh hưởng của thời gian bảo quản hạt đến khả năng nảy mầm

Liu & cs. (2011) đã thực hiện bảo quản hạt

của 489 loài thực vật tại Tây Tạng trong thời gian và điều kiện bảo quản khác nhau, tỷ lệ nảy mầm của hạt giống có thể tăng, giảm hoặc tương đương so với khi thu hoạch (không bảo quản). Một nghiên cứu khác về bảo quản hạt *Syzigium cuminii* cho thấy, hạt bảo quản trong điều kiện ẩm độ 10%, nhiệt độ 20°C đã làm tăng tỷ lệ nảy mầm của hạt từ 89,0% (hạt mới thu hoạch) đến 92,5% sau khi bảo quản 180 ngày (Anandalakshmi, 2005).

Kết quả nghiên cứu ở bảng 2 cho thấy hạt sau khi tách khỏi quả chín, đãi sạch lớp áo hạt, để ráo nước, phơi khô rồi gieo ngay (BQ0) cho tỷ lệ nảy mầm cao nhất (84,4%) (Hình 6a,b), mặc dù thời gian nảy mầm của hạt và thời gian cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn (Hình 6c) dài hơn các công thức còn lại. Thời gian bảo quản càng kéo dài thì tỷ lệ nảy mầm của hạt và tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn càng giảm. Tỷ lệ nảy mầm của hạt giảm 21% (từ 72,2% xuống còn 51,1%) sau bảo quản từ 1 tháng đến 3 tháng.

Bảng 2. Ảnh hưởng của thời gian bảo quản đến thời gian, tỷ lệ nảy mầm và xuất vườn của hạt Bát giác liên

Công thức	Thời gian từ khi gieo hạt đến.... (ngày)		Tỷ lệ hạt nảy mầm (%)	Tỷ lệ cây xuất vườn (%)
	Nảy mầm	Xuất vườn		
BQ0	64	240	84,4	80,0
BQ1	57	240	72,2	67,8
BQ2	55	240	62,2	55,6
BQ3	50	240	51,1	44,4
LSD _{0,05}			8,7	9,4
CV%			3,5	3,7



Ghi chú: a: hạt đang nảy mầm; b: cây mầm; c: cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn.

Hình 6. Sự nảy mầm của hạt Bát giác liên

Bảng 3. Ảnh hưởng của thời gian bảo quản đến khả năng sinh trưởng, phát triển của cây con Bát giác liên tại thời điểm 240 ngày sau gieo

Công thức	Chiều cao cây (cm)	Số lá /cây (lá)	Số rễ/cây (rễ)	Số nhánh/cây (nhánh)
BQ0	12,5	1,7	4,5	1,0
BQ1	12,1	1,7	4,2	1,0
BQ2	11,3	1,6	3,7	1,0
BQ3	10,9	1,5	3,5	1,0
LSD _{0,05}	0,85	0,25	0,34	
CV%	3,9	3,5	4,2	

Đối với cây Bát giác liên mọc từ hạt, cây con thường ít phân nhánh và chỉ phân nhánh sau khi thân rễ đã có 1 đốt (cây 1 tuổi), do đó thời gian bảo quản không ảnh hưởng đến khả năng phân nhánh của cây giống trong giai đoạn vườn ươm; ảnh hưởng đến số lá không rõ ràng, mỗi cây giống có 1-2 lá thật. Với thời gian bảo quản dài (3 tháng - BQ3) chiều cao cây và số rễ có xu hướng thấp hơn so với thời gian bảo quản ngắn (2 tháng - BQ2, và 1 tháng - BQ1) và thấp hơn rõ rệt so với cây con từ hạt không bảo quản (BQ0 - phơi khô và gieo ngay) (Bảng 3).

3.2. Sự hình thành chồi bất định và khả năng nhân giống Bát giác liên bằng rễ

3.2.1. Sự hình thành chồi bất định trên rễ Bát giác liên

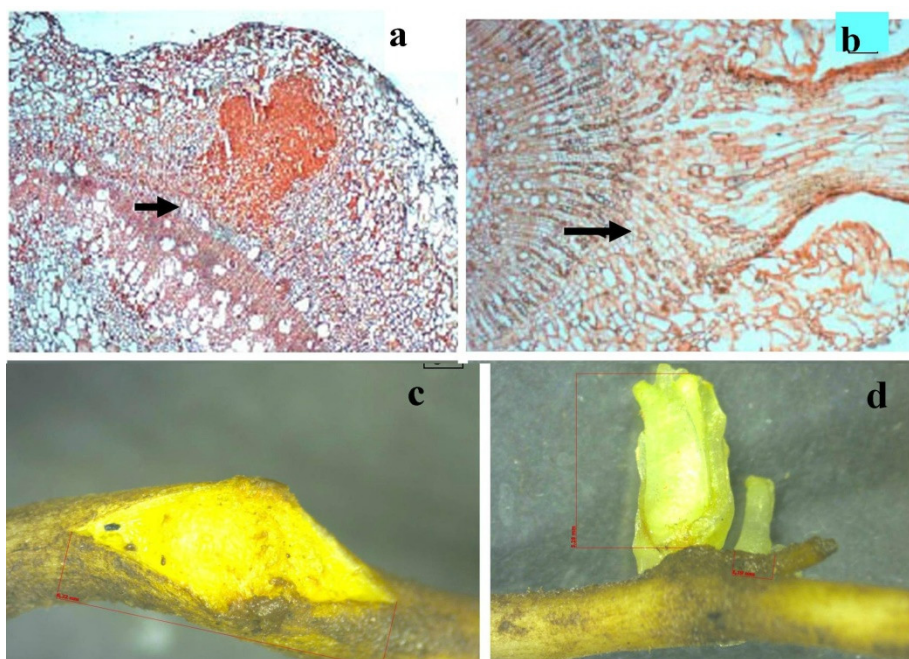
Phản phân hóa của tế bào là quá trình mà tế bào đã phân hóa trong các mô chức năng trong những điều kiện nhất định có thể quay trở lại đóng vai trò như mô phân sinh và có khả năng phân chia cho ra các tế bào mới (Sugimoto & cs., 2011; Feher, 2019). Vì phẫu vị trí rễ đang trong quá trình hình thành mầm bất định cho thấy: tại vị trí rễ hình thành chồi bất định, lớp tế bào của tầng phát sinh rễ phản phân hóa, phân chia mạnh tạo thành một khối mô gồm nhiều tế bào nhỏ, các tế bào tiếp tục phân chia và tăng kích thước (theo cả chiều dài và chiều rộng) làm cho khối mô lớn lên, rách lớp biểu bì, vết rách dài từ 6,0-12,0mm (Hình 7a, 7c). Sau khi lớp biểu bì rách ra, mầm bất định mới hình thành; mầm bất định gồm 3-4 lá bao chồi hình tam giác, màu vàng nhạt hay màu trắng (Hình 7b, 7d); kích thước của chồi bất định phụ thuộc vào độ sâu của rễ trong đất, nếu rễ mọc sâu

trong đất, chồi có thể hình thành và vươn dài đến hơn 5cm. Khi mầm vươn lên khỏi mặt đất thì lá thật mới xuất hiện. Mầm bất định từ rễ thường xuất hiện vào thời điểm từ tháng 9 đến tháng 2 năm sau.

3.2.2. Ảnh hưởng của thời vụ giâm đến khả năng hình thành chồi bất định của hom rễ

Thời vụ giâm có ảnh hưởng đến khả năng nhân giống. Khi giâm hom rễ vào thời vụ 15/5 (TV3) thì hom rễ có thời gian từ khi giâm đến khi nảy mầm (160 ngày) và xuất vườn (200 ngày) ngắn nhất; trong khi giâm hom vào thời vụ 15/9 (TV5) có thời gian nảy mầm là 305 ngày và thời gian xuất vườn là 335 ngày. Rễ Bát giác liên nảy mầm có liên quan chặt chẽ với đặc điểm phát sinh mầm bất định của cây trong tự nhiên, đó là những rễ bị tách khỏi cây mẹ sẽ bật mầm trong khoảng thời gian từ tháng 9 đến tháng 2 năm sau. Do đó, khi giâm hom vào thời vụ từ tháng 1 đến tháng 7, cây có thể phát sinh mầm bất định và nảy mầm vào cuối năm đó hoặc đầu năm sau. Trong khi giâm hom vào thời vụ tháng 9 và tháng 11, hom sẽ nảy mầm vào cuối năm tiếp theo nên thời gian giâm hom kéo dài (đến 305 ngày). Hai thời vụ giâm hom TV3 và TV2 có tỷ lệ hom bật mầm tương đương (83,7% và 78,7%) và thời vụ giâm hom TV3 có tỷ lệ cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn cao nhất (81,3%).

Thời gian bật mầm của hom rễ càng nhanh (giâm hom vào tháng 3 (TV2), tháng 5 (TV3) cây giống sinh trưởng tốt hơn. Cụ thể chiều cao cây (10,2 đến 11,5cm), số lá (1,8 đến 1,9 lá) và số rễ (4,1 đến 4,2 rễ) cao hơn so với cây giống từ hom giâm vào các thời vụ còn lại. Tuy nhiên, số mầm trên hom ở các thời vụ giâm hom là như nhau (1 mầm/hom) (Bảng 5).



Ghi chú: a, c: vi phẫu và vị trí rế đang trong quá trình phân hóa; b, d: hình thái và vi phẫu mầm bất định.

Hình 7. Vi phẫu rế Bát giác liên đang hình thành mầm bất định

Bảng 4. Ảnh hưởng của thời vụ giâm hom rế đến khả năng nhân giống

Công thức	Thời gian từ khi giâm hom đến.... (ngày)		Tỷ lệ hom bật mầm (%)	Tỷ lệ cây xuất vườn (%)
	Bật mầm	Xuất vườn		
TV1	258	308	71,5	67,6
TV2	214	264	78,7	75,1
TV3	160	200	83,7	81,3
TV4	180	230	73,9	71,5
TV5	305	335	62,3	60,0
TV6	245	275	70,3	68,9
LSD _{0,05}			5,2	5,8
CV%			3,1	3,9

Bảng 5. Ảnh hưởng của thời vụ giâm hom đến sinh trưởng của cây bát giác liên tại thời điểm xuất vườn

Công thức	Chiều cao cây (cm)	Số lá /cây (lá)	Số rế/cây (rế)	Số mầm/hom (mầm)
TV1	8,5	1,5	3,5	1,0
TV2	10,2	1,8	4,1	1,0
TV3	11,5	1,9	4,2	1,0
TV4	7,9	1,7	3,9	1,0
TV5	7,5	1,4	3,7	1,0
TV6	8,0	1,4	3,9	1,0
LSD _{0,05}	1,3	0,25	0,2	
CV%	3,5	4,5	4,2	

Bảng 6. Ảnh hưởng của nồng độ xử lý GA3 đến khả năng nhân giống

Công thức	Thời gian từ khi giâm hom đến... (ngày)		Tỷ lệ hom bật mầm (%)	Tỷ lệ cây xuất vườn (%)
	Bật mầm	Xuất vườn		
G0 (0ppm)	265	310	73,8	72,3
G1 (25ppm)	175	220	75,6	74,5
G2 (50ppm)	175	220	77,6	75,8
G3 (75ppm)	140	190	83,7	81,1
G4 (100ppm)	140	190	87,3	86,9
G5 (125ppm)	125	170	88,6	88,1
G6 (150ppm)	110	165	89,1	89,1
G7 (175ppm)	95	150	89,5	89,5
G8 (200ppm)	125	190	83,7	82,6
G9 (225ppm)	135	200	81,3	78,5
G10 (250ppm)	135	210	75,5	74,8
G11 (275ppm)	145	215	71,2	70,3
G12 (300ppm)	155	225	70,7	67,5
G13 (400ppm)	185	265	57,9	50,2
G14 (500ppm)	210	285	45,0	41,3
G15 (600ppm)	235	295	35,7	30,4
G16 (700ppm)	260	295	17,32	11,6
G17 (800ppm)	-	-	-	-
G18 (900ppm)	-	-	-	-
G19 (1000ppm)	-	-	-	-
G20 (1500ppm)	-	-	-	-
LSD _{0,05}			1,2	2,0
CV%			4,5	5,3

Thời vụ giâm hom rễ có ảnh hưởng rõ đến khả năng nhân giống cây Bát giác liên. Do hom rễ nằm trong đất càng lâu thì sức sống của hom càng giảm dần, nên đối với các thời vụ giâm hom 15/3 (TV2), 15/5 (TV3), 15/7 (TV4) gần với khoảng thời gian hình thành mầm bất định của cây trong tự nhiên (tháng 9 đến tháng 1 năm sau) hom rễ bật mầm nhanh hơn và tỷ lệ bật mầm của hom cao hơn so với các thời vụ giâm hom còn lại; đồng thời cây giống có đặc điểm hình thái tốt hơn.

3.2.3. Ảnh hưởng của các nồng độ GA3 đến khả năng nhân giống Bát giác liên

Kết quả nghiên cứu cho thấy, xử lý với nồng độ từ 25ppm đến 700ppm hom rễ có thời gian bật mầm nhanh hơn so với không xử lý

GA3; trong đó nồng độ 175ppm hom rễ có thời gian bật mầm nhanh nhất (95 ngày sau khi giâm hom). Tỷ lệ bật mầm của hom rễ và tỷ lệ xuất vườn cũng tăng dần, từ 75,6% và 74,5% (ở nồng độ 25ppm) đến 89,5% (ở nồng độ 175ppm); sau đó, khi tiếp tục tăng nồng độ GA3 thì tỷ lệ bật mầm của hom rễ giảm dần đến 17,3% và 11,6% (ở nồng độ 700ppm). Nồng độ GA3 từ 800ppm đến 1.500ppm hom rễ không bật mầm (Bảng 6).

Tại thời điểm xuất vườn xử lý GA3 có ảnh hưởng đến sinh trưởng của cây giống (Bảng 7). Chiều cao cây có xu hướng tăng dần (10,5cm đến 13,7cm) khi tăng nồng độ GA3 từ 25ppm đến 250ppm. Tiếp tục tăng nồng độ GA3 đến 700ppm chiều cao cây giảm dần (11,5cm). Tương tự, số lá trên cây tăng dần từ 1,5 lá (25ppm) đến

1,8 lá (175ppm). Khi tiếp tục tăng nồng độ GA3 thì số lá/cây có xu hướng giảm dần và giảm đến 1,0 lá/cây (700ppm). Đặc biệt, khi xử lý hom rễ bằng GA3 đã ảnh hưởng đến số mầm trên cây. Khi không xử lý GA3 và xử lý GA3 ở nồng độ thấp (25ppm đến 75ppm) vị trí phát sinh mầm bất định chỉ hình thành một mầm phát triển thành một cây. Ở các nồng độ GA3 cao hơn thì tại vị trí mầm bất định phát sinh hai mầm trở lên; đặc biệt ở các nồng độ GA3 từ 150ppm đến 250ppm thì điểm phát sinh mầm bất định sẽ hình thành cụm có đến 3 mầm. Trái ngược sự phát sinh số mầm, số lá và chiều cao cây, khi tăng nồng độ GA3 số rễ trên cây sẽ giảm dần từ 4,5 rễ (25ppm) còn 2,0 rễ (700ppm).

4. KẾT LUẬN

Bát giác liên là cây thân thảo sống lâu năm với thân rễ mập, dạng chuỗi, mọc ngang, mang nhiều rễ nhỏ. Thân lá trên mặt đất thường lụi hàng năm vào cuối mùa sinh trưởng (mùa Thu

đến mùa Đông) hoặc có thể tồn tại đến hai năm. Lá Bát giác liên hình khiên, kích thước đến 30cm. Hoa lưỡng tính, cấu tạo của hoa gồm có 6(8) đài, 6(8) tràng xếp thành 2 vòng, 6 nhị và 1 nhụy. Hoa có hiện tượng tự bất thụ nên tỷ lệ đậu quả thấp, khó thu hạt để nhân giống hữu tính. Hạt Bát giác liên gieo ngay sau khi thu hoạch có tỷ lệ nảy mầm 84,4%, thời gian bảo quản càng dài thì tỷ lệ nảy mầm của hạt càng giảm. Rễ của Bát giác liên nhiều, nhỏ; vì phần rễ gồm biểu bì, mô mềm vỏ (vỏ), nội bì, trụ bì và mô mềm ruột; lớp tế bào tầng trụ bì có thể phát triển tạo thành mầm bất định nên có thể sử dụng rễ làm vật liệu nhân giống vô tính. Hom rễ Bát giác liên được giâm vào thời vụ 15/5 cho kết quả nhân giống tốt nhất với thời gian giâm hom là 200 ngày và tỷ lệ cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn là 81,3%. Sử dụng chất điều tiết sinh trưởng GA3 với nồng độ từ 100ppm đến 175ppm cho kết quả nhân giống tốt nhất với thời gian giâm hom từ 150 ngày đến 190 ngày và tỷ lệ cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn từ 86,9% đến 89,5%.

Bảng 7. Ảnh hưởng của nồng độ xử lý GA3 đến sinh trưởng của hom rễ cây bát giác liên tại thời điểm 200 ngày sau giâm

Công thức	Chiều cao cây (cm)	Số lá/cây (lá)	Số rễ/ cây (rễ)	Số mầm/hom (mầm)
G0 (0ppm)	9,3	1,5	4,5	1,0
G1 (25ppm)	10,5	1,5	4,5	1,0
G2 (50ppm)	10,9	1,6	4,4	1,0
G3 (75ppm)	10,9	1,6	4,4	1,0
G4 (100ppm)	11,5	1,7	4,0	2,0
G5 (125ppm)	11,8	1,7	3,5	2,0
G6 (150ppm)	12,5	1,7	3,2	3,0
G7 (175ppm)	12,7	1,8	3,2	3,0
G8 (200ppm)	13,3	1,7	3,1	3,0
G9 (225ppm)	13,5	1,6	3,1	3,0
G10 (250ppm)	13,7	1,6	3,0	3,0
G11 (275ppm)	13,5	1,6	3,0	2,0
G12 (300ppm)	13,4	1,5	3,0	2,0
G13 (400ppm)	12,9	1,3	2,8	2,0
G14 (500ppm)	12,5	1,3	2,5	2,0
G15 (600ppm)	12,1	1,2	2,5	2,0
G16 (700ppm)	11,5	1,0	2,0	2,0
LSD _{0,05}	0,9	0,5	0,6	
CV%	3,9	4,2	5,2	

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Anandalakshmi R., Sivakumar V., Warriar R.R., Parimalam R., Vijayachandran S.N. & Singh B.G. (2005). Seed storage studies in *Syzgium cuminii*. *Journal of Tropical Forest Science*. 17(4): 566-573.
- Feher A. (2019). Callus, Dedifferentiation, Totipotency, Somatic Embryogenesis: What These Terms Mean in the Era of Molecular Plant Biology?. *Frontiers in plant science*. 10: 1-11.
- Gong X., Guan B.C., Zhou S.L. & Ge G. (2015). Reproductive of rare plant *Dysosma pleiantha* (Berberidaceae): Breeding system, polination and implication for conservation. *Pakistan Journal Botany*. 47(3): 951-957.
- Hiroe M. (1973). The plants of Basho's and Buson's Hokku Literature: The Plants of Buson's Collected Haiku. *Ariake*. 8 (3): 328.
- Hoàng Thị Sản, Trần Ba, Phan Nguyên Hồng & Nguyễn Tề Chính (1982). Hình thái giải phẫu học thực vật. Nhà xuất bản Giáo Dục, Hà Nội.
- Liu K., Baskin J.M., Baskin C.C., Bu H., Liu M., Liu W. & Du G. (2011). Effect of storage condition on germination of seeds of 489 species from high elevation grasslands of the eastern Tibet plateau and some implications for climate change. *American Journal of Botany*. 98(1): 12-19.
- Nadeem M., Palni L.M.S., Purohit A.N., Pandey H. & Nandi S.K. (2000). Propagation and conservation of *Podophyllum hexandrum* Royle: an important medicinal herb. *Biological Conservation*. 92: 121-129.
- Ngô Đức Phương, Nguyễn Văn Hiếu, Phạm Ngọc Khanh, Nguyễn Văn Hòa & Nguyễn Hoàng Tuấn. (2019). Đặc điểm hình thái và giải phẫu của cây bát giác liên (*Podophyllum tonkinense* Gagn.), họ Hoàng liên gai (*Berberidaceae*), thu hái ở Ba Vì (Hà Nội). *Tạp chí Dược học*. 515: 67-70.
- Nguyễn Bá (2007). Hình thái học thực vật. Nhà xuất bản giáo dục, Hà Nội.
- Nguyễn Khoa Lân & Ngô Đắc Chứng (1997). Sinh học đại cương. Nhà xuất bản Giáo dục, Hà Nội.
- Nguyễn Tiến Bân, Trần Đình Lý, Nguyễn Tập, Vũ Văn Dũng, Nguyễn Nghĩa Thìn, Nguyễn Văn Tiến & Nguyễn Khắc Khôi. (2007). Sách đỏ Việt Nam. Nhà xuất bản Khoa học tự nhiên và công nghệ, Hà Nội.
- Phạm Ngọc Khánh. (2017). Đánh giá đặc điểm nông sinh học và khả năng sinh trưởng, phát triển của cây Bát giác liên tại Sa Pa. Báo cáo nhiệm vụ thường xuyên, Viện Dược liệu.
- Pham Ngoc Khanh, Pham Thanh Huyen, Nguyen Quynh Nga, Aaron Polden, Ninh Thi Phip, Phan Ke Long & Tran Thi Viet Thanh. (2020). Characterisation of *Dysosma tonkinense* (Gagnep.) M. Hiroe based on morphological characteristics and ITS sequence. *Nordic Journal Botany*. 38(1):1-9.
- Sugimoto K., Gordon S.P. & Meyerowitz E.M. (2001). Regeneration in plants and animals: dedifferentiation, transdifferentiation, or just differentiation? *Trend in cell biology*. 21(4): 212-218.
- Whisler S.L. & Snow A.A. (1992). Potential for the loss of self-incompatibility in pollen-limited populations of mayapple (*Podophyllum peltatum*). *American Journal of Botany*. 79(11): 1273-1278.