MORPHOLOGICAL AND ANATOMICAL CHARACTERISTICS OF WILD AND *IN VITRO* OF *Hoya parasitica* Wall. ex Wight

Pham Thi Thu Hien, Nguyen Thi Thu Ha, Cao Thi Phuong Thao
Nguyen Thi Ngoc Lan, Tu Quang Tan*, Chu Hoang Mau
TNU - University of Education

ARTICLE INFO

Received: 22/11/2022
Revised: 20/12/2022
Published: 20/12/2022

KEYWORDS

Hoya parasitica
Morphological
Anatomy
Leaf blade
In vitro plants

ABSTRACT

The *Hoya parasitica* Wall ex Wight is both an ornamental and precious medicinal plant. Along with the wild plants, *in vitro H. parasitica* plants created by plant tissue culture techniques were also interested in research to develop and exploit the genetic resources of this precious medicinal plant. The question is, what are the similarities and differences between the morphology and anatomy of wild plants and in vitro plants? In this study, the detailed characteristics of roots, stems, and leaves *H. parasitica* plants were analyzed by comparative morphological and anatomical methods. The wild *H. parasitica* plants and *in vitro* plants have similar morphological and microscopic structures of roots, stems, and leaves. The most obvious difference is that the wild *H. parasitica* plants have lateral roots and no hair-sucking; the *in vitro* plants have many white hair-sucking growing around the primary roots.

ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI VÀ GIẢI PHẪU CỦA CÂY LAN TAI CÁO *(Hoya parasitica* Wall. ex Wight.*)* NGOÀI TỰ NHIÊN VÀ CÂY *IN VITRO*

Phạm Thị Thu Hiền, Nguyễn Thị Thu Hà, Cao Thị Phương Thảo
Nguyễn Thị Ngọc Lan, Từ Quang Tân*, Chu Hoàng Mậu
Trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO

Ngày nhận bài: 22/11/2022
Ngày hoàn thiện: 20/12/2022
Ngày đăng: 20/12/2022

TỪ KHÓA

Lan tai cáo
Hình thái
Giải phẫu
Phiến lá
Cây *in vitro*

TÓM TẮT

Cây Lan tai cáo (*Hoya parasitica* Wall ex Wight.) vừa là cây cảnh vừa là cây dược liệu quý. Cùng với dạng tự nhiên, Lan tai cáo *in vitro* được tạo ra bằng kỹ thuật nuôi cấy mô thực vật cũng được quan tâm nghiên cứu nhằm phát triển và khai thác nguồn gen cây dược liệu quý này. Vấn đề đặt ra là hình thái và giải phẫu của cây ngoài tự nhiên và cây *in vitro* có những đặc điểm gì giống và khác nhau? Trong nghiên cứu này, bằng phương pháp hình thái và giải phẫu so sánh, các đặc điểm chi tiết của rễ, thân, lá của Lan tai cao (H. *parasitica*) đã được phân tích. Cây Lan tai cáo tự nhiên và cây *in vitro* cơ bản có hình thái và cấu tạo vi phẫu rễ, thân, lá tương tự nhau. Điểm khác biệt rõ nhất là cây Lan tai cáo tự nhiên là có rễ bên, không có lông hút; còn cây *in vitro* có rất nhiều lông hút màu trắng mọc xung quanh rễ chính.

DOI: https://doi.org/10.34238/tnu-jst.6977

* Corresponding author. *Email: tantq@tnue.edu.vn*

1. Giới thiệu

Loài Lan tai cáo có tên khoa học là *(Hoya parasitica* Wall ex Wight.*)*, thuộc chi *Hoya*, họ Thiên lý (Asclepiadaceae), bộ Thiên lý (Asclepiadales), lớp Ngọc lan (Magnoliopsida), ngành Ngọc lan (Magnoliophyta) [1]. Chi *Hoya* trên thế giới có 500 loài, ở nước ta có khoảng 30 loài. Lan tai cáo còn có tên gọi khác là Dây lưỡi lợn, Lan sao, Cẩm cù…, do cuống lá dài trông như tai cáo hoặc lưỡi lợn. Lan tai cáo là dạng cây dây leo nhỏ sống bám trên vách đá, trên thân cây hay các hốc cây gỗ trong rừng ẩm ở một số nước Đông Nam Á (Thái Lan, Philippin, Malaysia, Indonesia, Việt Nam) và Australia. Ở nước ta, Lan tai cáo phân bố tự nhiên tại các tỉnh từ Lào Cai, Hà Giang, Hà Tây (cũ), núi Dinh (Bà Rịa) tới Đồng Nai [1], [2]. Lan tai cáo có cánh hoa hình sao, màu trắng hồng hoặc vàng, nhị và nhụy màu tím, các hoa tập hợp thành tán hình cầu trên một cuống dài, hoa có hương rất thơm. Vì vậy, những năm gần đây, Lan tai cáo được trồng để trang trí, làm cảnh khá phổ biến ở nước ta. Lan tai cáo còn được dùng làm thuốc lợi sữa, đắp các vết thương, nhựa bôi chữa các vết chàm ở trẻ em. Theo kinh nghiệm của người Mường và người Thái ở Lai Châu, dùng lá tươi giã nát đắp lên các vết thương (như đứt tay, chân, gãy xương) giúp mau liền và ít để lại sẹo [3]-[5].

Trong mục tiêu bảo tồn và phát triển nguồn gen các loài có giá trị dược học thuộc chi *Hoya*, một số báo cáo đã đề cập kết quả ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* để nhân giống cây *Hoya* [6], [7]. Đối với cây Lan tai cáo (*(H. parasitica*) đến nay chưa có công trình nào ở trong nước và nước ngoài nghiên cứu sâu về hình thái, giải phẫu của loài Lan tai cáo. Nghiên cứu này trình bày kết quả so sánh hình thái, giải phẫu của cây tự nhiên với cây *in vitro* làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm đánh giá giá trị sử dụng và khai thác có hiệu quả cây Lan tai cáo *(Hoya parasitica* Wall ex Wight.*)* trong đời sống.

2. Phương pháp nghiên cứu(

2.1. Vật liệu và môi trường nuôi cấy

Mẫu cây Lan tai cáo tự nhiên được thu thập tại tỉnh Thái Nguyên tháng 6 năm 2022 và được trồng tại Vườn Thực nghiệm của Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm–Đại học Thái Nguyên. Mẫu cây *in vitro* tái sinh từ đoạn thân được nuôi cấy trên môi trường MS cơ bản [8] ở thời điểm 10 tuần tuổi. Các mẫu này được sử dụng trong phân tích đặc điểm hình thái và giải phẫu (Hình 1A, 1D).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

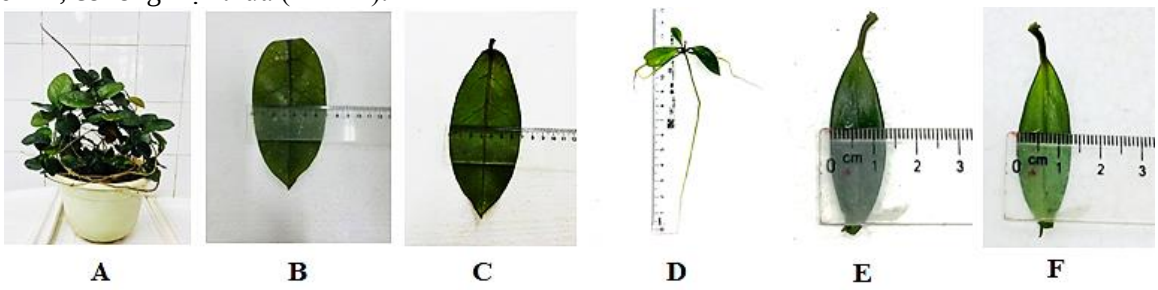
Loài Lan tai cáo được xác định tên khoa học theo phương pháp hình thái so sánh, kết hợp với tài liệu "Cây cỏ Việt Nam" [1]. Chế tạo tiêu bản hiển vi tạm thời các cơ quan sinh dưỡng theo phương pháp mô tả ở [9] với phương pháp nhuộm 2 màu (màu đỏ của carmin và màu xanh của xanh methylen). Phương pháp nhuộm màu này có thể phân biệt màu tương phản trên tiêu bản hiển vi rất rõ ràng, vách xenluloz của tế bào nhuộm màu đỏ, hồng. Vách tế bào thấm lignin hoặc suberin nhuộm màu xanh. Tiến hành quan sát và chụp ảnh vi phẫu trên kính hiển vi quang học có độ phóng đại thị kính 10x, vật kính 10x và 40x. Sử dụng các thuật ngữ của lĩnh vực Thực vật học để mô tả các đặc điểm Lan tai cáo theo Nguyễn Bá (2014) [10].

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Đặc điểm về hình thái cây Lan tai cáo

Về hình thái, cây Lan tai cáo trong phòng thí nghiệm và cây ngoài tự nhiên có nhiều đặc điểm tương đồng. Cụ thể, rễ cây đều thuộc kiểu rễ trụ, có một rễ chính phát triển mạnh. Điểm khác biệt rõ nhất là cây Lan tai cáo ngoài tự nhiên có rễ bên, không có lông hút; cây trong phòng thí nghiệm có rất nhiều lông hút màu trắng mọc xung quanh rễ chính. Thân cây đều có rễ khí sinh, cây trong phòng thí nghiệm có 4 rễ khí sinh dài 20 - 40mm, cây ngoài tự nhiên có nhiều rễ khí sinh dài 5 - 20mm, thân nhỏ leo quấn.

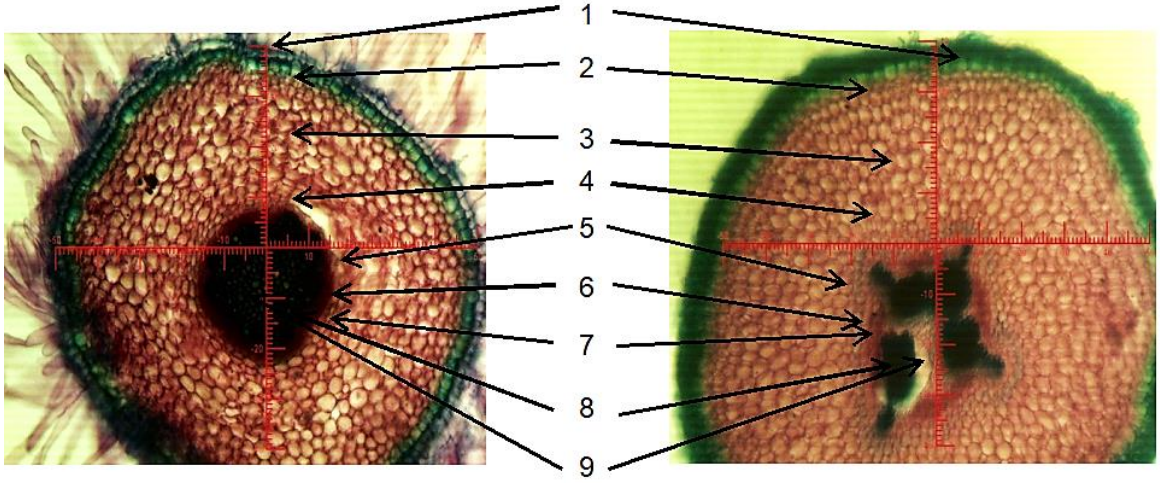
Lá cây Lan tai cáo dạng đơn nguyên, mọc đối trên thân và cành. Cây ngoài tự nhiên và trong phòng thí nghiệm đều có lá mập, phiến lá bầu dục dài tới 7cm, rộng 1,3 - 2,5cm. Cuống lá dài 10 - 20mm, có lông mịn thưa (Hình 1).



Hình 1. *Hình thái cây Lan tai cáo thu từ môi trường tự nhiên (A. Cây Lan tai cáo và rễ khí sinh; B. Mặt trên lá, C. Mặt dưới lá) và hình thái cây Lan tai cáo in vitro trong phòng thí nghiệm (D. Cây Lan tai cáo và rễ khí sinh; E. Mặt trên lá, F. Mặt dưới lá)*

3.2. Đặc điểm vi phẫu Lan tai cáo

Cây Lan tai cáo tự nhiên và cây *in vitro* có đặc điểm cấu tạo khá tương đồng. Hình ảnh vi phẫu lát cắt ngang của rễ cho thấy cấu tạo đặc trưng là cấu tạo sơ cấp. Ngoài cùng là lớp tế bào biểu bì; tiếp theo là lớp vỏ sơ cấp gồm vỏ ngoài, mô mềm vỏ, nội bì; trụ giữa gồm trụ bì, libe và gỗ cấp 1 và mô mềm vỏ (Hình 2).

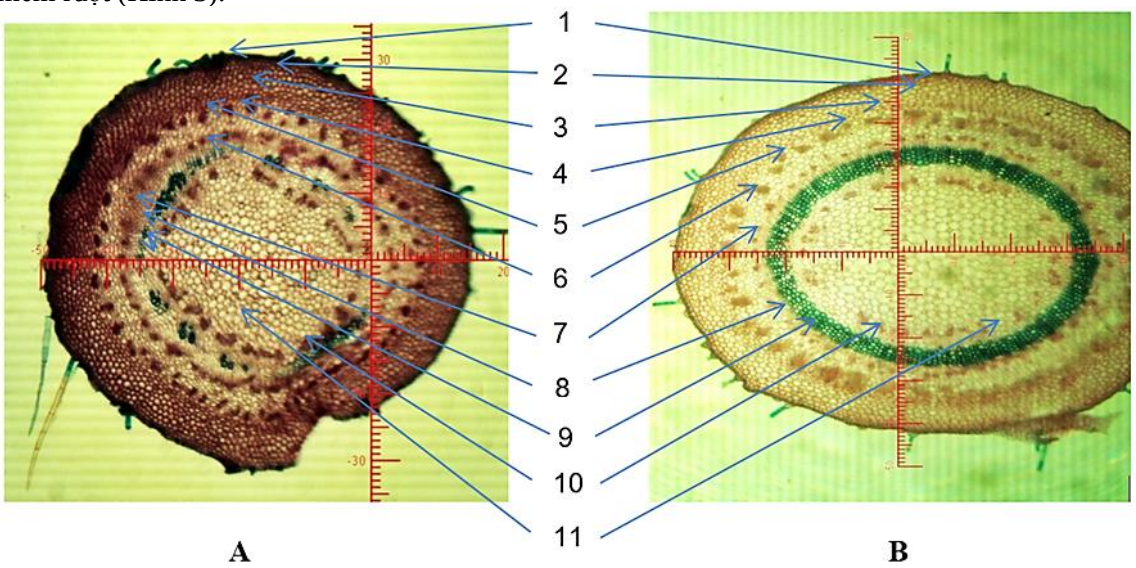


Hình 2. *Hình ảnh vi phẫu lát cắt ngang rễ cây Lan tai cáo. A. Lát cắt ngang rễ cây in vitro; B. Lát cắt ngang rễ cây tự nhiên. 1- Biểu bì, 2- Vỏ ngoài, 3- Mô mềm vỏ, 4- Vỏ trong, 5- Vỏ trụ, 6- Libe cấp 1, 7-Tầng trước phát sinh, 8- Gỗ cấp 1, 9- Mô mềm ruột*

Biểu bì là lớp ngoài cùng của rễ gồm một lớp tế bào có vách ngoài dày hơn vách trong, vách tế bào biểu bì có thấm suberin (nhuộm màu xanh đậm), giúp tăng cường bảo vệ rễ cây. Tế bào biểu bì rễ còn hình thành các lông hút để tăng khả năng hút nước và các chất dinh dưỡng nuôi cây. Tiếp theo là lớp vỏ ngoài gồm 1 lớp tế bào có màu xanh, nằm ngay dưới lớp biểu bì. Mô mềm vỏ gồm các lớp tế bào, hình gần tròn hoặc đa giác, nhuộm màu đỏ. Vỏ trong có một lớp tế bào hình đa giác nhỏ, nhuộm màu đỏ đậm, không thấy rõ đai caspari. Vỏ trụ là một lớp tế bào sống, kích thước nhỏ, xếp sít nhau và nhuộm màu đỏ đậm. Libe cấp 1 gồm những tế bào có hình đa giác nhỏ, nhuộm màu đỏ đậm, làm nhiệm vụ dẫn truyền sản phẩm hữu cơ tạo thành qua quá trình quang hợp của lá (dòng nhựa luyện). Tầng trước phát sinh là những tế bào sống, có khả năng phân chia liên tục cho ra libe cấp 1 ở phía ngoài và gỗ cấp 1 ở phía trong giúp rễ cây phát

triển về đường kính. Gỗ cấp 1 phân hóa hướng tâm (nhuộm màu xanh đậm) làm nhiệm vụ dẫn truyền nước và chất khoáng hòa tan (dòng nhựa nguyên) được rễ hút vào. Phần trong cùng là mô mềm ruột gồm các tế bào có kích thước nhỏ, hình hơi tròn, xếp sít nhau.

Quan sát lát cắt ngang thân cây Lan tai cáo ở vị trí cách đỉnh ngọn cây 2 cm cho thấy mang đặc trưng của cấu tạo sơ cấp, từ ngoài vào trong gồm các cấu trúc: Biểu bì, mô dày, mô mềm vỏ, vỏ trong, vỏ trụ, mô cơ, libe ngoài cấp 1, tầng trước phát sinh, gỗ cấp1, libe trong cấp 1 và mô mềm ruột (Hình 3).



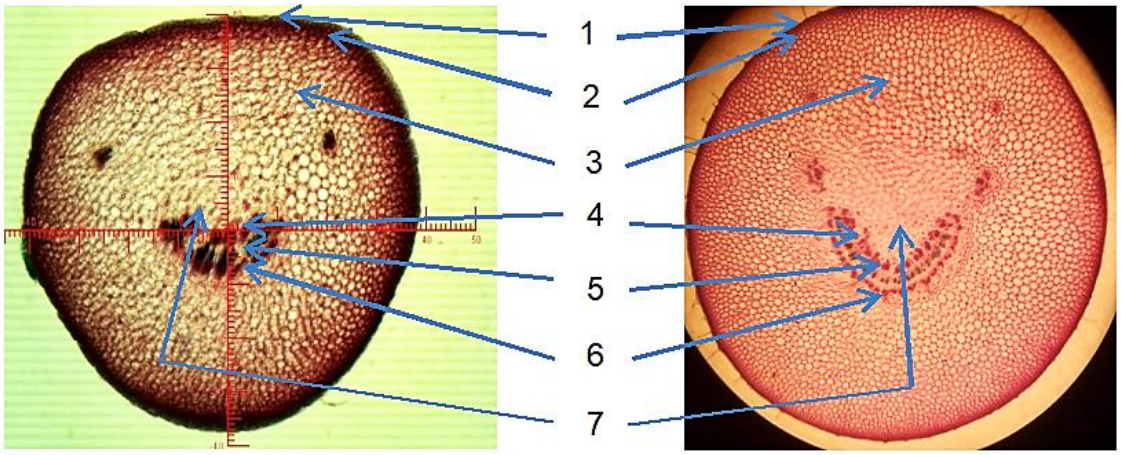
Hình 3. *Hình ảnh vi phẫu lát cắt ngang thân cây Lan tai cáo. A. Lát cắt ngang thân cây in vitro; B. Lát cắt ngang thân cây tự nhiên. 1- Biểu bì, 2- Mô dày, 3- Mô mềm vỏ, 4- Vỏ trong, 5- Vỏ trụ, 6- Mô cơ, 7- Libe ngoài cấp 1, 8- Tầng trước phát sinh, 9- Gỗ cấp 1, 10- Libe trong cấp 1, 11- Mô mềm ruột*

Hình ảnh vi phẫu ở hình 3 cho thấy, biểu bì có một lớp tế bào sống, xếp sít nhau, không chứa diệp lục, các tế bào kéo dài dọc theo thân. Tế bào biểu bì có thể biến đổi thành tế bào lỗ khí để trao đổi khí giữa cây với môi trường bên ngoài và có thể biến đổi thành lông ở phía ngoài. Tiếp theo là mô dày gồm 1- 2 lớp tế bào sống, vách cellulose dày nhuộm màu hồng, có chức năng nâng đỡ thân cây. Phần mô mềm vỏ gồm 5 - 7 lớp tế bào có hình tròn cạnh, kích thước lớn, có vách mỏng bằng cellulose và sắp xếp không sít nhau. Vỏ trong thường có một lớp tế bào hình đa giác không đều. Tiếp theo là vỏ trụ, đó là lớp ngoài cùng của trụ giữa, nó có khả năng phân chia để tăng số lượng các lớp tế bào nhưng các tế bào ở đây lại sớm phân hóa thành mô cơ và mô cơ bản (gồm mô cứng và mô mềm). Ở cây thân leo, mô cơ phát triển mạnh đảm nhiệm chức năng cơ học. Mô cơ gồm các tế bào vách dày có vai trò nâng đỡ cây. Libe cấp 1 có nguồn gốc sơ cấp, gồm những tế bào sống được hình thành từ tầng trước phát sinh, libe phân hóa hướng tâm.

Tầng trước phát sinh gồm các tế bào dẹt theo hướng xuyên tâm, có vách mỏng, nhuộm màu đỏ. Các tế bào này có khả năng phân chia theo hướng tiếp tuyến, phía ngoài cho lớp libe cấp 1 và phía trong cho lớp gỗ cấp 1. Gỗ cấp 1 gồm các tế bào có kích thước nhỏ (nhuộm màu xanh), các tế bào gỗ phân hóa li tâm. Libe trong gồm những tế bào sống, kích thước nhỏ, nhuộm màu đỏ như libe ngoài và nằm ngay phía trong gỗ cấp 1.

Bó dẫn ở cấu tạo cấp 1 của thân cây Lan tai cáo là bó chồng chất hở và là bó chồng chất kép (vì có thêm libe trong ở phía trong của gỗ cấp 1). Các bó dẫn được nối liền nhau xếp thành vòng tròn trong thân và được hệ thống mô cơ nâng đỡ. Tất cả các yếu tố cấu tạo như trên giúp cho thân leo của Lan tai cáo vừa cứng rắn để nâng đỡ cơ thể nhưng lại mềm dẻo dễ dàng quấn bện vào nhau và quấn vào các giá thể khác trong môi trường tự nhiên [11]. Phần trong cùng của thân là những tế bào mô mềm ruột có kích thước lớn, hình gần tròn có chức năng dự trữ.

Lát cắt ngang qua cuống lá có dạng gần tròn (Hình 4), bao gồm: biểu bì, mô dày, mô mềm, libe trong, gỗ cấp 1, libe ngoài, mô mềm ruột.



A **B**

Hình 4. *Hình ảnh vi phẫu lát cắt ngang cuống lá Lan tai cáo. A. Cây in vitro; B. Cây tự nhiên. 1- Biểu bì, 2- Mô dày, 3- Mô mềm, 4- Libe trong, 5- Gỗ cấp 1, 6- Libe ngoài,7- Mô mềm ruột*

Hình ảnh vi phẫu ở hình 4 cho thấy, biểu bì có một lớp tế bào hình đa giác kích thước nhỏ, đều, xếp sít nhau đảm nhận chức năng bảo vệ các cấu trúc bên trong của cuống lá. Mô dày gồm 2-3 lớp tế bào sống hình đa giác, vách dày bằng cellulose. Mô dày của cuống lá nằm sát lớp biểu bì, thực hiện chức năng nâng đỡ phiến lá. Mô mềm gồm nhiều lớp tế bào hình đa giác, hơi tròn, kích thước khác nhau. Hệ thống dẫn gồm gỗ cấp 1 và libe cấp 1 (libe trong, libe ngoài) thường xếp thành hình cung mà mặt lõm quay về phía trên (ứng với mặt trên của phiến lá). Libe trong là những tế bào hình đa giác kích thước nhỏ, nhuộm màu đỏ, nằm ở phía trong mặt lõm của cung; gỗ cấp 1 là những tế bào có vách hóa lignin (nhuộm màu xanh), kích thước nhỏ; libe ngoài là những tế bào hình đa giác giống như libe trong (nhuộm màu đỏ) và nằm ở phía ngoài cùng mặt lồi của cung. Mô mềm ở phần giữa của cuống lá gồm các tế bào hình đa giác gần tròn hoặc tròn.

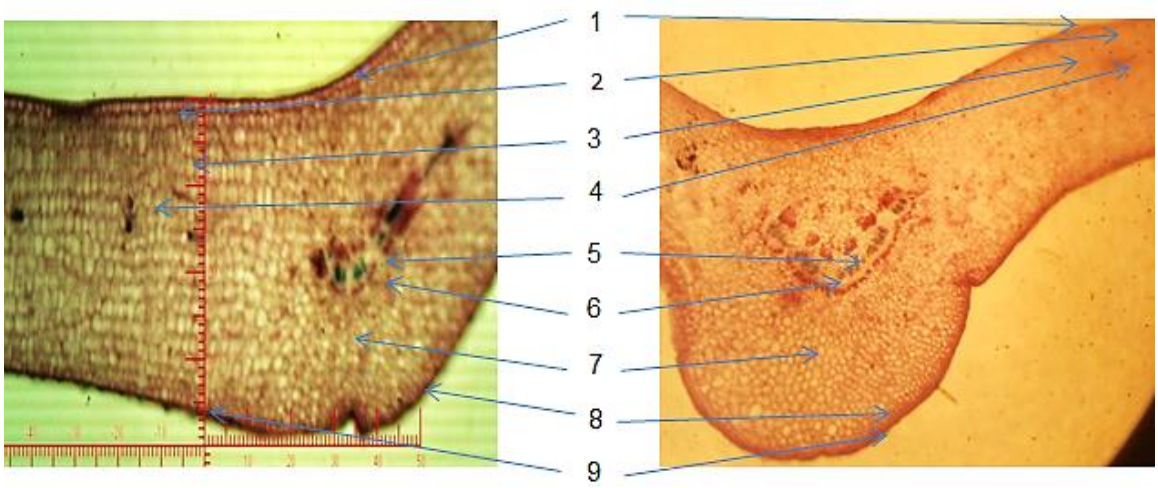
Quan sát lát cắt ngang qua gân chính và phiến lá (Hình 5) cho thấy cấu tạo của gân chính giống như cấu tạo của cuống lá, vì gân chính là phần kéo dài của cuống lá vào phiến lá. Gân chính cũng có chức năng như cuống lá là dẫn truyền các sản phẩm hữu cơ, nước, muối khoáng và nâng đỡ phiến lá. Kết quả quan sát lát cắt ngang phiến lá ở hình 5 cho thấy, phiến lá Lan tai cáo gồm các cấu trúc: biểu bì trên, mô giậu, mô xốp, bó dẫn của phiến lá, gỗ của gân chính, libe của gân chính, mô mềm ruột, mô dày, biểu bì dưới. Biểu bì của phiến lá gồm những tế bào hình đa giác có vách dày, xếp sít nhau, có cấu tạo điển hình (không có lục lạp, vách ngoài thường dày hơn vách phía trong và một số tế bào biến đổi thành lông). Biểu bì trên thường ít hoặc không có lỗ khí (Hình 6).

Các tế bào hình chữ nhật của mô giậu tiếp giáp biểu bì trên xếp khá sít nhau. Lục lạp có nhiều ở và xếp theo chiều dọc của tế bào mô giậu. Khoảng không gian hẹp giữa các tế bào mô giậu dự trữ CO_2 cho quang hợp.

Phía dưới mô giậu là mô xốp (mô khuyết) và giáp với biểu bì dưới của lá. So với mô giậu, mô xốp chứa ít lục lạp hơn.

Hệ thống dẫn của phiến lá gồm các bó dẫn kín (chỉ có gỗ và libe, không có tầng phát sinh) với gỗ ở trên và libe ở dưới. Mô mềm vỏ gồm các lớp tế bào hình tròn hoặc đa giác và chiếm phần lớn diện tích.

Lớp biểu bì dưới phiến lá gồm những tế bào hình chữ nhật, xếp sít nhau. Biểu bì dưới có nhiều khí khổng hơn biểu bì trên, đảm nhận chức năng trao đổi khí và thoát hơi nước ở lá cây (Hình 7).

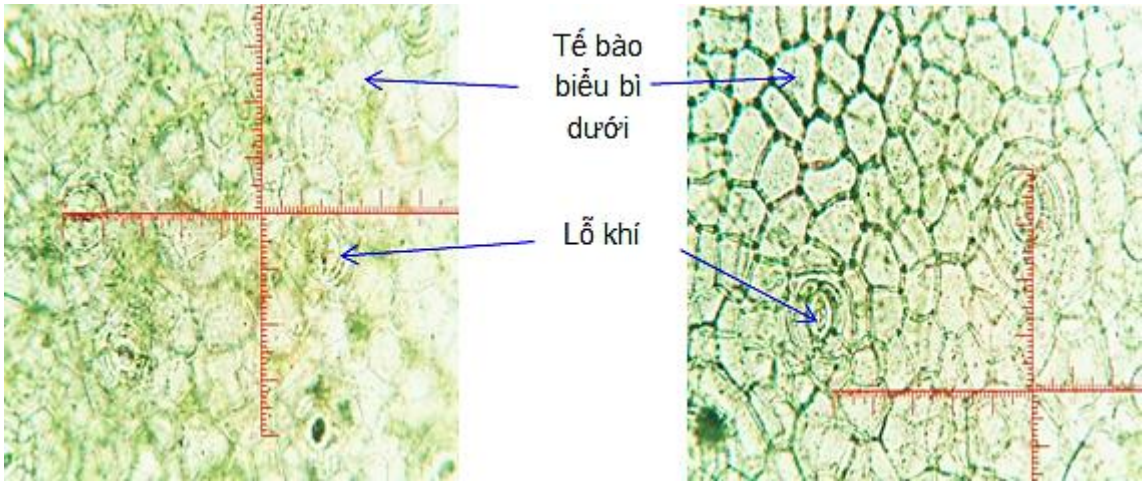


A **B**

Hình 5. *Hình ảnh vi phẫu gân chính và phiến lá Lan tai cáo. A. Cây in vitro; B. Cây tự nhiên. 1- Biểu bì trên phiến lá, 2- Mô giậu, 3- Mô xốp, 4- Bó dẫn của phiến lá, 5- Gỗ của gân chính, 6- Libe của gân chính, 7- Mô mềm vỏ, 8- Mô dày, 9- Biểu bì dưới phiến lá*

A **B**

Hình 6. *Hình ảnh vi phẫu của biểu bì mặt trên lá Lan tai cáo. A. Cây in vitro; B. Cây tự nhiên*



A **B**

Hình 7. *Hình ảnh vi phẫu của biểu bì mặt dưới lá Lan tai cáo. A. Cây in vitro; B. Cây tự nhiên*

4. Kết luận

Hình thái và vi phẫu cây Lan tai cáo *(Hoya parasitica* Wall ex Wight.*)* sống ngoài tự nhiên và cây *in vitro* trong phòng thí nghiệm có khá nhiều đặc điểm tương đồng. Lan tai cáo có kiểu rễ trụ, dạng thân leo quấn, lá đơn nguyên, hình bầu dục, mọc đối. Cấu tạo vi phẫu rễ, thân lá của Lan tai cáo *in vitro* và cây tự nhiên tương tự nhau. Rễ gồm biểu bì, vỏ ngoài, mô mềm vỏ, vỏ trong, vỏ trụ, libe cấp 1, tầng trước phát sinh, gỗ cấp 1, mô mềm ruột. Thân gồm biểu bì, mô dày, mô mềm vỏ, vỏ trong, vỏ trụ, libe ngoài cấp 1, tầng trước phát sinh, gỗ cấp 1, mô mềm ruột. Lá gồm cuống lá với các lớp biểu bì, mô dày, mô mềm, gỗ cấp 1, libe cấp 1, mô mềm ruột; phiến lá gồm biểu bì trên, mô giậu, mô xốp, bó dẫn và biểu bì dưới. Cây Lan tai cáo tự nhiên có rễ bên, không có lông hút; còn cây *in vitro* có nhiều lông hút màu trắng là điểm khác biệt rõ nhất.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Bộ Giáo dục và Đào tạo thông qua đề tài cấp Bộ, mã số B2022-TNA-22-CT 562. Các tác giả xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

[1] H. H. Pham, *Plants of Vietnam*. Ho Chi Minh City Youth Publishing House, pp. 473-475, 2003.

[2] Science and life, "Hoya parasitica Wall ex Wight. Plant," 2005. [Online]. Available: https://vnexpress.net/lan-tai-cao-cay-canh-va-cay-thuoc. [Accessed Aug. 17, 2022].

[3] Look up medicinal herbs, "List of medicinal plants," 2001. [Online]. Available: https://tracuuduoclieu.vn/hoya-parasitica-roxb-wall-ex-wight. [Accessed Aug. 26, 2022].

[4] T. L. Do, *Vietnamese medicinal plants and medicine taste.* Medical Publishing House, Hanoi, 2004.

[5] Green Library, "Hoya," 2018. [Online]. Available: http://thuvienxanh.com/thu-vien/hoa/cam-cu-238. [Accessed June 18, 2021].

[6] T. T. N. Nguyen, S. Syhalaht, and T. H. Tran, "Research on in vitro culture of Hoya multiflora species," *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 226, no10, pp 154 – 162, 2021.

[7] S. R. Lakshmi, J. H. F. Benjamin, T. S. Kumar, G. V. S. Murthy, and M. V. Rao "In vitro propagation of Hoya wightti sp. Palniensis K.T. Mathew, a highly vulnerable and endemic species of Western Ghats of Tamil Nadu, India," *African Journal of Biotechnology*, vol. 9, no. 5, pp. 620-627.

[8] T. Murashige and F. Skoog, "A revised mediumfor rapid growth and bio-assays with tobacco tissuecultures," *Physiologia Plantarum*, vol. 15, pp. 473-497, 1962.

[9] T. S. Hoang and P. N. Nguyen, *Plant morphology and anatomy*. University of Education Publishers, 2008.

[10] B. Nguyen, *Vietnamese Encyclopedia of Botany*. Vietnamese educational publishing house, 2014.

[11] T. L. H. Do and V. B. Tran, "Diversity in the stem anatomycal structure of some herbaceous vine species," *Proceedings of the 4th National Scientific Conference on Ecology and Biological Resources*, Hanoi, 21 October 2011, Agricultural Publishers, 2011, pp. 650-655.