

**ĐẶC ĐIỂM THỰC VẬT VÀ MÃ VẠCH ADN CỦA LOÀI ĐAN SÂM
- *SALVIA MILTIORRHIZA* BUNGE HỌ HOA MÔI (LAMIACEAE)**

Trần Thị Thu Trang*, Lý Ngọc Huyền, Nguyễn Đỗ Lâm Điền

Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

*Email: thutrang@ump.edu.vn

Ngày nhận bài: 25/11/2023

Ngày phản biện: 08/01/2024

Ngày duyệt đăng: 25/01/2024

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Cây Đan sâm là một thảo dược quý, được dùng để trị các bệnh tim mạch từ hàng trăm năm trong y học cổ truyền nhiều nước, nhưng có ít tài liệu nghiên cứu về giải phẫu đã được công bố. **Mục tiêu nghiên cứu:** Khảo sát đặc điểm thực vật và mã vạch ADN để góp phần định danh đúng loài Đan sâm. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Cây Đan sâm tươi thu thập ở tỉnh Lai Châu được phân tích, mô tả, chụp hình đặc điểm hình thái, giải phẫu, bột dược liệu, kèm phân tích ADN vùng ITS. **Kết quả:** Loài Đan sâm được định danh dựa trên hình thái và mã vạch ADN xác định tên khoa học là *Salvia miltiorrhiza* Bunge, kèm dữ liệu giải phẫu và bột vi học. **Kết luận:** Nghiên cứu góp phần cung cấp dữ liệu định danh chính xác loài Đan sâm.

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

ABSTRACT

**BOTANICAL CHARACTERISTICS AND DNA BARCODE
OF *SALVIA MILTIORRHIZA* BUNGE – LAMIACEAE**

Tran Thi Thu Trang*, Ly Ngoc Huyen, Nguyen Do Lam Dien

University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh city

Background: Danshen is a valued herbal plant used in traditional medicine of many countries for treatment of cardiovascular diseases but there have not many anatomical records. **Objectives:** In this study, the botanical characteristics, DNA barcodes of Danshen were performed for plant identification. **Materials and methods:** Danshen fresh plants collected in Lai Chau Province are analysed, described and photographed the morphological and anatomical characteristics, the microscopic characteristics of used parts powder; analyzed the DNA barcode on ITS region. **Results:** Danshen was identified as *Salvia miltiorrhiza* Bunge based on morphological characteristics and DNA barcode, and data of anatomy and traditional powder. **Conclusions:** The study confirmed the scientific name of “Danshen” in Viet Nam is *Salvia miltiorrhiza* Bunge Lamiaceae.

Keywords: *Salvia miltiorrhiza*, DNA barcode, morphology, anatomy, traditional powder.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đan sâm - *Salvia miltiorrhiza* Bunge thuộc họ Hoa môi (Lamiaceae) là một thảo dược quý, đã được dùng rộng rãi và ghi nhận từ hàng trăm năm trong y học cổ truyền thế giới để điều trị nhiều bệnh, đặc biệt là bệnh tim mạch và bổ máu [1], [2]. Trên thế giới, các nghiên cứu về hóa thực vật cho thấy hợp chất có hoạt tính sinh học chủ yếu trong cây là các hợp chất phenolic và tanshinone [1], [3] trong khi đó các nghiên cứu hiện đại về tác dụng sinh học, dược lý của Đan sâm tương đối nhiều, tập trung vào việc mô tả cơ chế về tác dụng bảo vệ tim mạch của loại thuốc cổ truyền này [3], [4] cũng như khám phá tiềm năng mới của Đan sâm như khả năng chống lại COVID-19 [4]. Đặc điểm hình thái và giải phẫu là cơ sở để nhận diện loài Đan sâm và để kiểm nghiệm dược liệu bằng phương pháp vi học, nhưng

ít có tài liệu nghiên cứu về giải phẫu loài này. Với mong muốn xác định chính xác loài Đan sâm ở Việt Nam và tạo tiền đề cho các nghiên cứu về thành phần hóa học cũng như công dụng làm thuốc của loài này, đề tài đã thực hiện: Nghiên cứu đặc điểm hình thái, cấu tạo vi học và mã vạch ADN của loài Đan sâm.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Là mẫu cây tươi có đầy đủ rễ, thân, lá, hoa của loài Đan sâm (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) thu hái vào tháng 6/2023 ở tỉnh Lai Châu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

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

Định danh ADN: Chiết ADN, khuếch đại đoạn gene mục tiêu, định danh loài. Một phần đoạn ADN mã hóa cho gene mục tiêu được khuếch đại bằng iTag, nhiệt độ gắn mồi là 55°C. Các sản phẩm sau khi PCR được kiểm tra sự hiện diện của các băng ADN mục tiêu, gửi giải trình tự ở công ty GeneLab. Trình tự ADN sau khi giải được phân tích, so sánh bằng công cụ BLAST với ngân hàng gen để định danh đến loài. Với mẫu có kết quả định danh với các loài khá tương đồng sẽ được giống hàng để tìm loài có mức độ tương đồng cao nhất [5].

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

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

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả định danh ADN

Kết quả tách chiết ADN mẫu *Salvia miltiorrhiza* (Mẫu Smilt):

Tỷ lệ OD_{260/280} là 1,600 và nồng độ ADN là 20 (ng/ µL).

Kết quả điện di kiểm tra sản phẩm PCR:

Sản phẩm PCR gen ITS của mẫu *Salvia miltiorrhiza* được trình bày như hình 2A.

Kết quả giải trình tự gene ITS mẫu *Salvia miltiorrhiza*

Kết quả giải trình tự gene ITS mẫu *Salvia miltiorrhiza* (671 bp)

```
CATTGTCGAAACCTGCAAAGCAGACCGCGAACACGTGTTTAACAATGC
CGGGTGCGTGCGGTGGGGGCAACCCCGTCATGTACTCGGTCCCCCGCCGGCG
CGCGTCCTCGGGCAGTGTCTGTCGGGCTAACGAACCCCGGCGCGGAATGCGC
CAAGGAAACTAATCGAAGCGTCCGCCCTCGTGCCCCGTTCGCGGTGCGCGC
GGGGGGATTGGATGTCTATCAAATGTCAAAACGACTCTCGGCAACGGATATCT
CGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTG
CAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATT
AGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCGTCGCCCCCTCCCGG
CGCATAGCGTGGGCTGCGGGGGCGGAACTGGCCTCCCGTGCGCCCCGGCGC
GCGGCTGGCCCAAATGCGATCCCTCGGCGACTCGTGTGCGGACAAGTGGTGGT
TGAACAACCTCACTTTCATGTCTGATTCTGCGTCTCGGTATGGGCATCCGTA
```

AACGACCCAACGGTGTAGGCGCCACACGGCGCCCAACCTTCGACCGCGACCC
CAGGTCAGGCGGGATTACCCGCTGAGTTTAAGCATATCAATAA

Kết quả phân tích BLAST trên GenBank

Kết quả so sánh trình tự mẫu *Salvia miltiorrhiza* trên ngân hàng gen trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả so sánh trình tự BLAST trên GenBank của mẫu *Salvia miltiorrhiza*

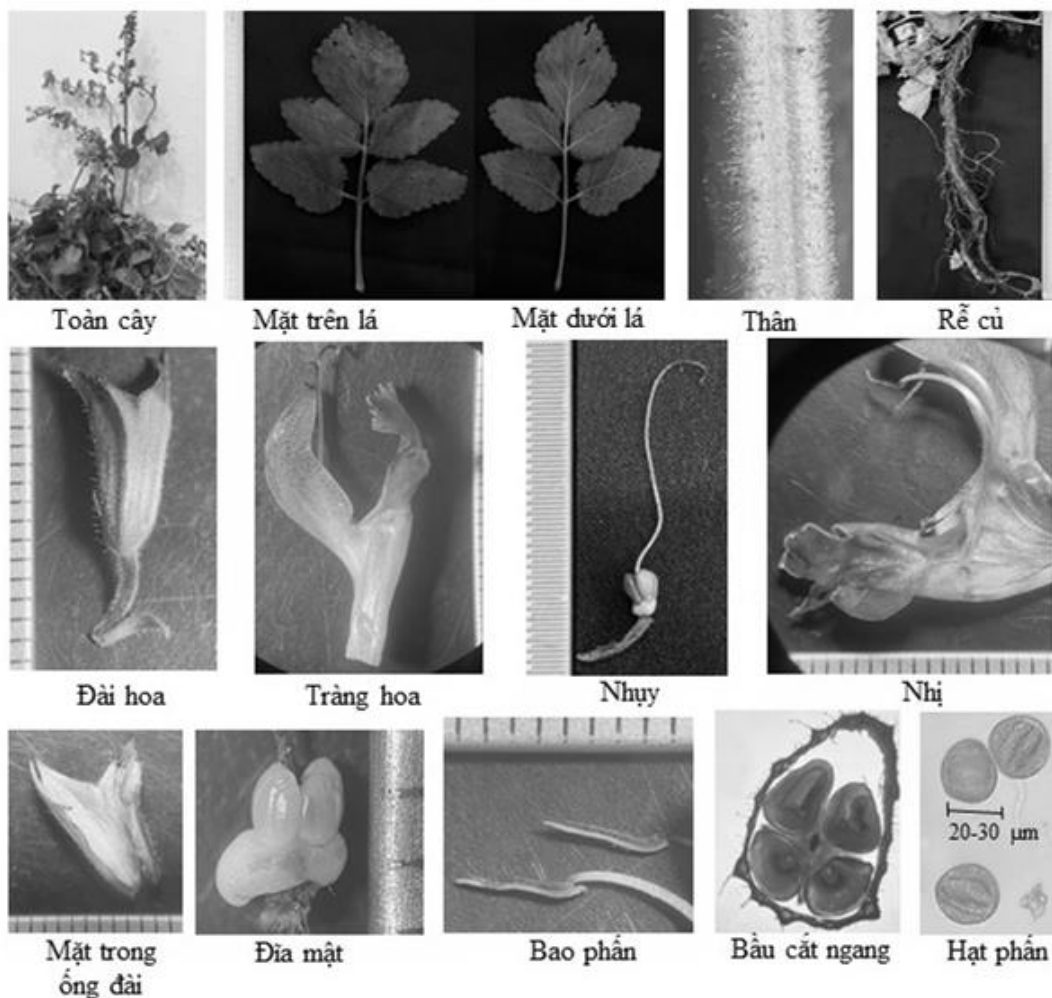
Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	1240	1240	100%	0	100,00%	728	KJ397256.1
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	1240	1240	100%	0	100,00%	708	KC473244.1
<i>Salvia sinica</i>	1234	1234	100%	0	99,85%	728	KJ397257.1
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	1234	1234	100%	0	99,85%	708	KC473243.1
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	1234	1234	100%	0	99,85%	709	EF373608.1

Nhận xét: Kết quả định danh mẫu *Salvia miltiorrhiza* sau khi so sánh trình tự BLAST trên GenBank có mức độ tương đồng 100%.

3.2. Đặc điểm hình thái

Thân cỏ, cao 60-70 cm, mọc đứng. Rễ củ hình trụ, hơi cong queo, đôi khi phân nhánh, rễ con hình sợi nhỏ; mặt ngoài màu đỏ nâu hoặc nâu tối, nhám; vỏ rễ già thường bong ra, màu nâu đỏ; mùi thơm, vị hơi đắng. Thân tiết diện vuông, màu xanh lục, có nhiều lông tuyến, mỗi cạnh có 1 rãnh dọc. Lá kép lông chim 1 lần lẻ gồm 3-5 lá chét, mọc đối chéo chữ thập. Lá chét hình trứng, bìa phiến có răng cưa tròn, màu xanh lục mặt trên đậm hơn mặt dưới, kích thước 4,5-5,5 cm X 3,5-4,5 cm; gân lá hình lông chim, có nhiều lông trắng mịn. Cuống lá chính có rãnh sâu, dài 4,5-5,5 cm, có lông thưa. Cuống lá chét giống cuống lá chính, dài 0,5-1 cm. Cụm hoa: xim có 6-8 hoa mọc ở kẽ 3 lá bắc, các xim có mọc đối nhau tạo thành gié. Cụm hoa mọc ở ngọn cành. Hoa không đều, lưỡng tính, mẫu 5. Lá bắc hình bầu dục, đầu nhọn, kích thước 0,3-0,4 cm X 0,1-0,2 cm, màu xanh, có nhiều lông tuyến, rụng sớm. Cuống hoa hình trụ, màu nâu, dài 0,3-0,4 cm, nhiều lông ngắn màu trắng. Đài hoa: 5 lá đài, không đều, dính nhau bên dưới thành 1 ống hình chuông, cao 0,7-0,8 cm, phía trên chia thành 2 môi kiểu 3/2, môi trên do 3 lá đài tạo thành, hình tam giác, kích thước 0,3-0,4 cm X 0,6-0,7 cm; môi dưới do 2 lá đài tạo thành phiến rộng, phía trên chia thành 2 thùy sâu hình tam giác lệch, kích thước 0,2-0,3 cm X 0,1-0,2 cm. Lá đài màu xanh lục, mặt trong có vòng lông màu trắng, có nhiều gân nổi rõ, mặt ngoài có lông tuyến. Tiền khai van. Tràng hoa: 5 cánh hoa, không đều, dính nhau phía dưới thành ống hẹp, loe rộng dần ở bên trên, dài 0,9-1 cm, màu trắng; phía trên chia thành 2 môi kiểu 2/3; môi trên do 2 cánh hoa tạo thành một phiến hơi cong dạng mũ, đỉnh chia thành 2 thùy cạn tròn, kích thước 0,8-0,9 cm X 0,7-0,8 cm, màu tím, có lông ngắn màu tím bên ngoài; môi dưới do 3 cánh hoa tạo thành một phiến rộng chia 3 thùy sâu, thùy giữa hình tim có răng cưa nhọn ở bìa phiến, rộng hơn 2 thùy bên hình bầu dục, kích thước 1,3-1,4 cm X 0,8-0,9 cm, màu tím, có lông trắng mịn bên ngoài. Tiền khai lõp. Bộ nhị: 4 nhị, 2 nhị hữu thụ ở trước, hướng lên môi trên của tràng, 2 nhị lép ở sau, rời, dính trên ống tràng, gần họng tràng. Chỉ nhị hữu thụ có hình sợi, màu trắng, dài 0,3-0,4 cm; chung đới màu trắng phớt tím, kéo dài dạng đòn bẩy, dài 1-1,2 cm. Bao phấn thuôn dài, màu nâu, 1 ô, nứt dọc, hướng trong, dính giữa. Hạt phấn rời, hình cầu, màu vàng, có 3 rãnh dọc, đường kính 20-30 µm. Nhị lép hình sợi ngắn, màu trắng, dài

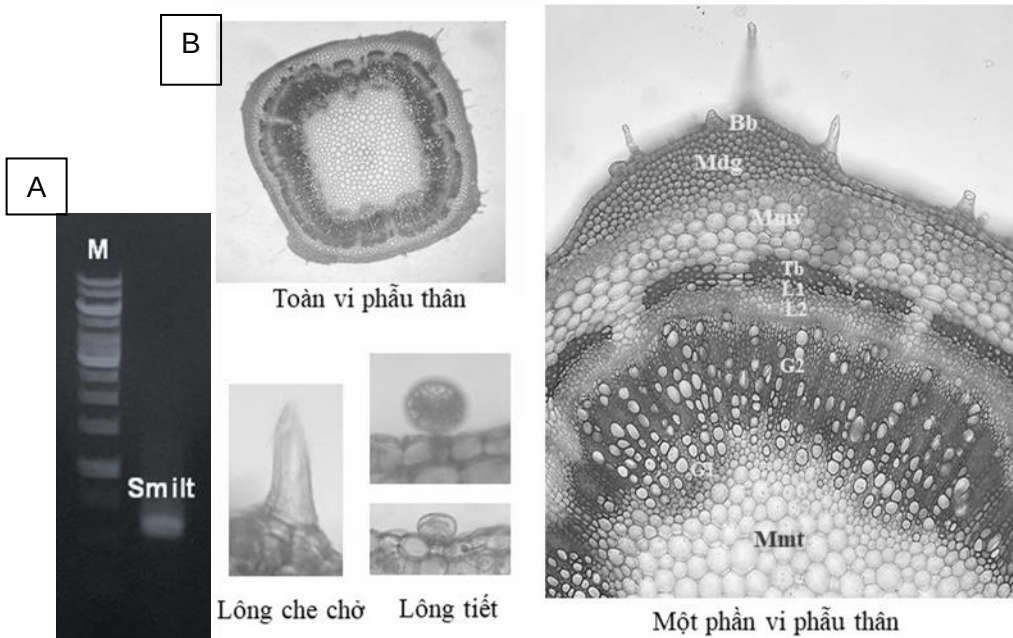
0,1-0,2 cm. Bộ nhụy: 2 lá noãn ở vị trí trước sau tạo thành bầu trên 2 ô; mỗi ô 2 noãn, đính noãn trung trụ. Sau đó, 1 vách giả xuất hiện ở vị trí trước sau tạo thành bầu 4 ô; mỗi ô chứa 1 noãn, đính noãn đáy. Bầu noãn chia thành 4 thùy sâu đến đáy, màu vàng nhạt, cao 0,1-0,2 cm; 1 vòi nhụy hình sợi, màu trắng, đi từ đáy bầu, dài 2-2,5 cm; 1 đầu nhụy chia 2 thùy hình sợi ngắn, màu tím. Đĩa mật màu vàng nhạt ở góc bầu dạng 4 gờ nạc (Hình 1).



Hình 1. Đặc điểm hình thái Đan sâm - *Salvia miltiorrhiza* Bunge

3.3. Đặc điểm giải phẫu

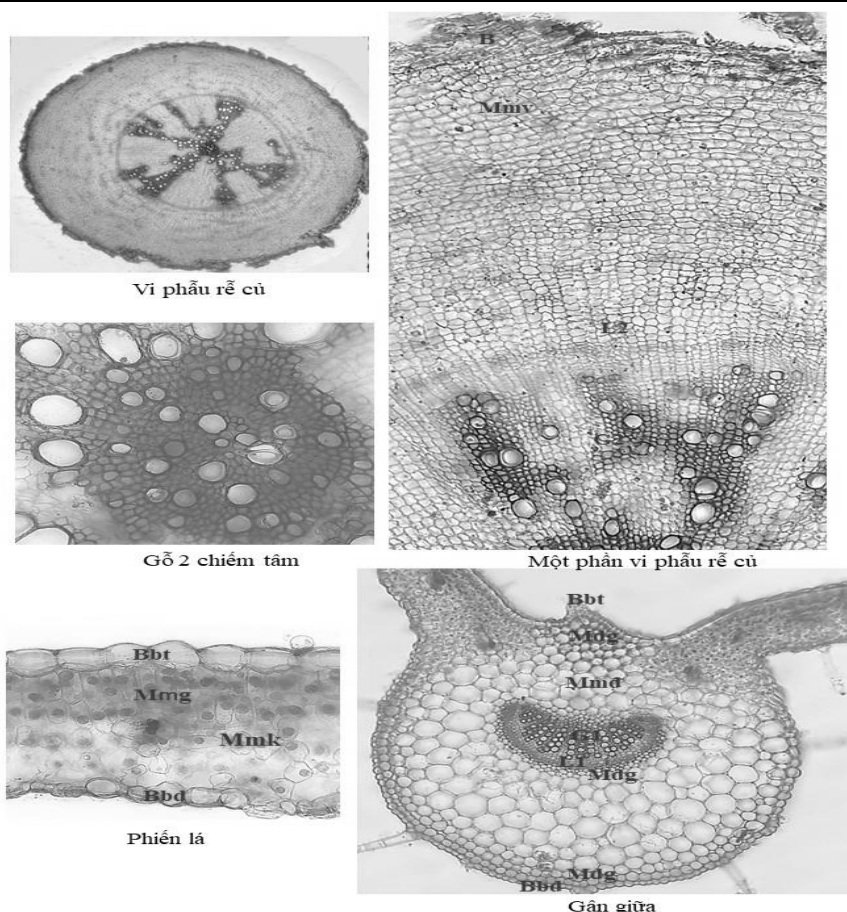
Thân: Vi phẫu cắt ngang hình vuông góc tròn. Biểu bì 1 lớp tế bào hình đa giác, rải rác lông che chở đơn bào hoặc đa bào một dãy 2-3 tế bào thường bị gãy, lông tiết chân 1-2 tế bào đầu tròn hay bầu dục hoặc hơi lõm ở giữa gồm 1-6 tế bào. Mô dày góc 1-2 lớp ở cạnh, 8-10 lớp ở các góc lồi; tế bào hình đa giác. Mô mềm vỏ đạo 4-6 lớp tế bào hình bầu dục. Trụ bì 2-4 lớp tế bào hình đa giác, hóa mô cứng thành tầng đám. Hệ thống dẫn cấu tạo cấp 2 theo kiểu hậu thể gián đoạn. Libe 1 ít, tế bào hình đa giác, xếp lộn xộn. Libe 2 3-5 lớp tế bào hình chữ nhật, xếp thành dãy. Gỗ 2 nhiều; mạch gỗ 2 thường tập trung ở các góc lồi của vi phẫu, tế bào hình đa giác; mô mềm gỗ 2, tế bào vách tấm chất gỗ. Gỗ 1 mỗi cụm thường có 15-18 bó. Mỗi bó gỗ 1 có 2-4 mạch gỗ, phân hóa ly tâm. Mô mềm gỗ 1 vách cellulose. Tia tùy 1-3 dãy tế bào. Khoảng gian bó gồm 3-5 lớp mô mềm vách cellulose và 9-12 lớp mô mềm vách tấm chất gỗ. Mô mềm tùy đạo (Hình 2B).



Hình 2. (A) Sản phẩm PCR gen ITS của mẫu *Salvia miltiorrhiza*,
(B) Đặc điểm giải phẫu thân Đan sâm - *Salvia miltiorrhiza* Bunge Bb: Biểu bì, Mdg: Mô
dày góc, Mmv: Mô mềm vỏ, Tb: Trụ bì, L1: Libe 1, L2: Libe 2, G2: Gỗ 2, G1: Gỗ 1,
Mmt: Mô mềm tủy.

Rễ củ: Vi phẫu cắt ngang hình tròn. Bần 2-4 lớp tế bào hình chữ nhật, vách mỏng, bong tróc. Nhu bì 1-2 lớp tế bào hình chữ nhật, thường ép dẹp. Mô mềm vỏ đạo tế bào hình đa giác hoặc bầu dục nằm ngang. Libe 1 tế bào hình đa giác, xếp lộn xộn thành từng cụm. Libe 2 tế bào hình chữ nhật hoặc hình đa giác, xếp xuyên tâm thành nhiều lớp. Gỗ 2 chiếm tâm; mạch gỗ hình đa giác, tròn hay bầu dục; mô mềm gỗ tế bào hình đa giác, vách cellulose hoặc tẩm chất gỗ. Tia tủy rộng, tế bào hình đa giác, xếp thành nhiều dãy (Hình 3).

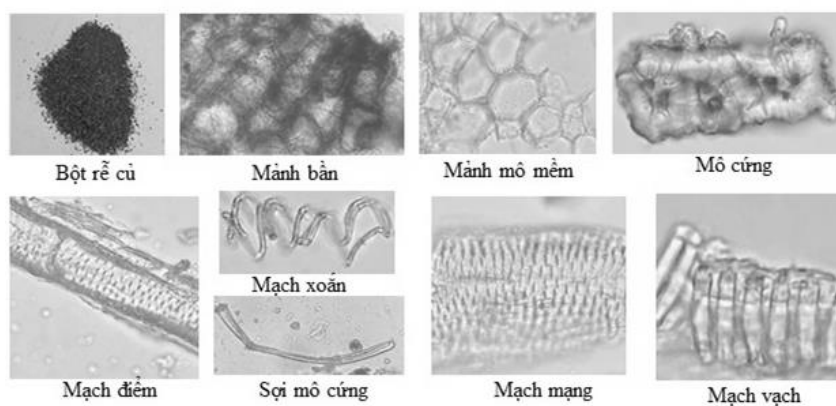
Lá: Tỷ lệ phiến lá và gân giữa là 1:6. Gân giữa: Mặt trên hơi lõm nhón, mặt dưới lõm tròn. Biểu bì trên và dưới 1 lớp tế bào hình đa giác, tế bào biểu bì trên nhỏ hơn hoặc bằng tế bào biểu bì dưới, lớp cutin mỏng. Cả hai lớp biểu bì rải rác có lỗ khí, lông che chở đơn bào hoặc đa bào dài 2-3 tế bào, lông tiết chân 1-2 tế bào và đầu tròn hay bầu dục hoặc hơi lõm ở giữa gồm 1-4 tế bào. Mô dày góc trên 3-5 lớp và mô dày góc dưới 1-2 lớp, tế bào hình đa giác. Mô mềm đạo tế bào hình tròn hoặc hình đa giác gần tròn. Hệ thống dẫn cấu tạo cấp 1 xếp thành hình cung với gỗ ở trên, libe ở dưới. Gỗ 1; mạch gỗ 1, tế bào hình đa giác hay gần tròn, xếp thành 19-23 dãy, mỗi dãy có 3-7 mạch; giữa 2 dãy mạch gỗ là 1-3 dãy tế bào mô mềm hình đa giác, vách cellulose. Libe 1 tế bào hình đa giác, xếp thành cụm. Mô dày góc dưới libe 1 3-4 lớp tế bào tế bào hình đa giác (Hình 3). Phiến lá: Biểu bì trên và dưới, 1 lớp tế bào hình chữ nhật hoặc hình bầu dục nằm ngang, tế bào biểu bì trên lớn hơn tế bào biểu bì dưới. Lỗ khí nhiều hơn ở biểu bì dưới. Cả hai lớp biểu bì rải rác có lông che chở đơn bào hoặc đa bào và lông tiết giống ở thân. Nhiều chỗ biểu bì lõm xuống đỉnh lông tiết. Mô mềm giậu 1-2 lớp tế bào; dưới mỗi tế bào biểu bì trên có 2-3 tế bào mô mềm giậu. Mô mềm khuyết tế bào hình đa giác. Bó gân phụ rải rác trong mô mềm khuyết (Hình 3).



Hình 3. Đặc điểm giải phẫu rễ củ và lá Đan sâm - *Salvia miltiorrhiza* Bunge
B: Bần, Mmv: Mô mềm vỏ, L2: Libe 2, G2: Gỗ 2, Bbt: Biểu bì trên, Mdg: Mô dày góc, Mmd: Mô mềm đạo, G1: Gỗ 1, L1: Libe 1, Bbd: Biểu bì dưới, Mmg: Mô mềm giàu, Mmk: Mô mềm khuyết.

3.4. Đặc điểm bột dược liệu

Bột rễ củ: Màu nâu, mịn, vị hơi đắng. Thành phần: Mảnh bần; mảnh mô mềm; mảnh mạch mạng, mạch điểm, mạch vạch, mạch xoắn; tế bào mô cứng; sợi mô cứng vách dày (Hình 4).



Hình 4. Thành phần bột rễ củ Đan sâm - *Salvia miltiorrhiza* Bunge

IV. BÀN LUẬN

Qua phân tích, mẫu cây Đan sâm mà đề tài khảo sát được xác định là loài *Salvia miltiorrhiza* Bunge Tuy nhiên, Đan sâm - *S. miltiorrhiza* khảo sát đài hoa mặt trong có vòng lông màu trắng, còn theo tài liệu [6], Đỗ Thị Xuyên mô tả đài hoa mặt trong không có vòng lông. Về giải phẫu và bột dược liệu, Dược điển Việt Nam V [7] ghi nhận bộ phận dùng của Đan sâm là rễ và thân rễ, nhưng kết quả khảo sát cho thấy bộ phận dùng là rễ cái của cây phình ra.

V. KẾT LUẬN

Loài Đan sâm định danh dựa trên hình thái, mã vạch ADN xác định tên khoa học là *Salvia miltiorrhiza* Bunge, kèm dữ liệu giải phẫu, bột vi học. Các đặc điểm hình thái thân, lá, hoa; cấu tạo giải phẫu thân, lá, rễ củ và thành phần bột rễ củ của Đan sâm - loài *Salvia miltiorrhiza* Bunge được mô tả một cách chi tiết, giúp nhận dạng và kiểm nghiệm vi học loài này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Wang L., Liu C., Liu H., Zhu R., Guo S. et al. *Salvia miltiorrhiza*: A Potential Red Light to the Development of Cardiovascular Diseases. *Current Pharmaceutical Design*, 2017, 23(7), 1077-1097, doi: 10.2174/1381612822666161010105242.
 2. Viện Dược Liệu. Danh lục cây thuốc Việt Nam. NXB Khoa học và kỹ thuật. 2016. 1191.
 3. Chen W, C.G.. Danshen (*Salvia miltiorrhiza* Bunge): A Prospective Healing Sage for Cardiovascular Diseases. *Current Pharmaceutical Design*, 2017, 23(34), 5125-5135, doi: 10.2174/1381612823666170822101112.
 4. Petitjean SJL, Lelong C., Denis R., Defrère S., Mariage P.A., et al. *Salvia miltiorrhiza* Bunge as a Potential Natural Compound against COVID-19. *Cells*, 2022, 11(8), 1311, doi: 10.3390/cells11081311.
 5. Cheng T., Xu C., Lei L., Li C., Zhang Y., Zhou S.. Barcoding the kingdom Plantae: new PCR primers for ITS regions of plants with improved universality and specificity. *Molecular Ecology Resources*. 2016. 16(1), 138–149. doi: 10.1111/1755-0998.12438.
 6. Đỗ Thị Xuyên, Vũ Xuân Phương. Bổ sung loài *Salvia Japonica* Thunberg (Họ Bạc Hà - Lamiaceae) cho Hệ Thực vật Việt Nam. *Tạp Chí Sinh Học*. 2013, 35(3), 41-43.
 7. Bộ Y tế. Dược điển Việt Nam V. NXB Y học. 2017. 2200. Tập 2.
-