Nymphoides aurantiaca (Dalzell) Kuntze, một loài mới ghi nhận thuộc họ Thủy nữ (Menyanthaceae) cho hệ thực vật Việt Nam

- **Nguyễn Phi Ngà**
- **Trần Triết**
  Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM
- **Nguyễn Thị Thu Thủy**
  Trường THPT Nguyễn Công Trứ TP.HCM

(Bài nhận ngày 21 tháng 09 năm 2016, nhận đăng ngày 12 tháng 06 năm 2017)

TÓM TẮT

Một loài mới ghi nhận cho Việt Nam, Nymphoides aurantiaca (Dalzell) Kuntze thuộc họ Thủy nữ (Menyanthaceae), được phát hiện tại một số khu vực ngập nước thuộc Vườn Quốc gia Lò Gò–Xa Mát (Tân Biên, Tây Ninh). Loài được ghi nhận lần đầu tiên vào năm 2003 qua chương trình nghiên cứu tổng thể về đất ngập nước do Sở Khoa học và Công nghệ Tây Ninh tài trợ. Loài thủy sinh này có lá hình tim, hai hoa ở mỗi mắt, 5 cánh hoa màu vàng sậm với bìa cánh hoa có răng và miệng ống vành có lông. Loài này chỉ hiện diện nơi ngập nước, độ ngập từ 20–40 cm, nơi nước tĩnh với độ trong cao, và nước có tính kiềm nhẹ với pH khoảng 5,4 đến 6,0. Mối quan hệ phả hệ của N. aurantiaca thu tại Việt Nam và các loài Nymphoides khác cũng được xây dựng dựa trên dữ liệu trình tự của đoạn gene matK.

Từ khóa: *Lò Gò–Xa Mát, matK, Menyanthaceae, Nymphoides aurantiaca, Thủy nữ*

MỞ ĐẦU

Nymphoides Séguier (1754:121) là một chi thực vật thuộc họ Thủy nữ (Menyanthaceae). Chi *Nymphoides* là chi có nhiều loài nhất với khoảng 40–50 loài và phân bố rộng chủ yếu ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới Châu Úc, Châu Phi, Châu Á và Châu Mỹ [1, 2, 3]. Sau khi loài *Villarsia cambodiana* Hance được chuyển tên thành loài *Nymphoides cambodiana* (Hance) Tippery [4], và loài *N. hastata* (Dop) Kerr. được mô tả ở trong Cây cỏ Việt Nam [5] nhưng chỉ ghi nhận phân bố ở Lào, chi *Nymphoides* ở Việt Nam hiện có 6 loài bao gồm *N. cambodiana*, *N. cristata* (Roxb.) Kuntze, *N. hydrophylla* (Lour.) Kuntze, *N. indica* (L.) Kuntze, *N. parvifolia* (Griseb.) Kuntze và *N. tonkinensis* (Dop) P.H. Hộ [5]. Các loài thủy sinh này được tìm thấy trong các ruộng, hồ, rạch cạn nước tĩnh tại một số tỉnh miền Bắc, Trung và Nam.

Loài *Nymphoides aurantiaca* (Dalzell) Kuntze được ghi nhận lần đầu tiên cho Việt Nam tại khu vực Bàu Quang và Trảng Tà Nốt thuộc Vườn Quốc gia Lò Gò–Xa Mát (Tây Ninh) vào năm 2003 và được định danh là *Nymphoides hydrophyllaceum* [6] và *Nymphoides* sp. [7]. Các mẫu tiêu bản được đối chiếu hình thái với những mô tả chi tiết về các loài *Nymphoides* hiện có tại Việt Nam như Flore générale de l'Indo–Chine [8], Gentianaceés nouvelles de l'Indo-Chine [9], Cây cỏ Việt Nam [5], và các tài liệu phân loại khác như The genus *Nymphoides* Séguier (Menyanthaceae) in India [10], *Nymphoides* Séguier [1], The genus *Nymphoides* Séguier (Menyanthaceae) in Taiwan [11] và so sánh với tiêu bản mẫu chuẩn số hóa được lưu trữ tại Royal Botanic Gardens, Kew (K). Chúng tôi xác định rằng loài mới ghi nhận này khác hẳn với các loài đã công bố ở Việt Nam và vì vậy được mô tả chi

tiết ở đây để bổ sung thông tin cho hệ thực Việt Nam.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Mẫu vật nghiên cứu (Tân Biên, Tây Ninh; NPN-127, NPN-128, PHH; tọa độ xấp xỉ 11°38'59"N, 105°51'06"E; cao độ khoảng 20 m) của loài *Nymphoides aurantiaca* được thu thập lại từ Trảng Tà Nốt thuộc Vườn Quốc gia Lò Gò-Xa Mát vào ngày 6 tháng 9 năm 2016. Tiêu bản thực vật được xử lý theo quy trình của Kew Botanic Garden [12]. Việc định danh dựa trên mô tả hình thái trong các tài liệu phân loại và đối chiếu với hình chụp mẫu chuẩn.

Đồng thời, một đoạn DNA từ lục lạp của mẫu vật là *matK* đã được giải trình tự và so sánh với các trình tự của các loài *Nymphoides* hiện lưu giữ trên GenBank để chứng minh mối quan hệ gần giữa các loài. Cụ thể, lượng DNA tổng từ lá tươi được ly trích sử dụng Genomic DNA Purification Mini Kit (Thermo, USA). Mồi xuôi và ngược để khuếch đại đoạn gene *matK* theo Fazekas et al. [13]. Phản ứng khuếch đại (PCR) được tiến hành trong máy Eppendorf Mastercycler Gradient với tổng thể tích 25 µL bao gồm: 12,5 µL go taq green master mix (Promega, USA), 1,25 µL cho mỗi mồi ngược và mồi xuôi (10 µM), 9,5 µL nước cất và 0,5 µL DNA mẫu (25 ng). Chu trình nhiệt PCR được tiến hành: 95 °C trong 5 phút; chu kỳ 35 vòng: 94 ^{o}C trong 1 phút, 50 ^{o}C trong 1 phút và 72 ^{o}C trong 1 phút; và cuối cùng 72 °C trong 10 phút. Sản phẩm PCR được tinh sạch và gửi đi giải trình tự trên máy ABI 3130 XL Sequencer tại Công ty Nam Khoa Biotek (Việt Nam). Việc xây dựng cây phả hệ dựa trên phương pháp neighbor joining [14] theo phân tích Kimura 2-parameter và phương pháp bootstrap với 1000 lần lặp lại [15] với outgroup (nhóm ngoại) là *Menyanthes trifoliata* theo Tippery et al. [2] bằng phần mềm MEGA7 [16]. Các loài từ GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) sử dụng trong nghiên cứu này được thể hiện qua Bảng 1.

Bảng 1. Các loài thuộc họ Menyanthaceae từ Genbank được sử dụng

Tên loài	Số hiệu GenBank	Nguồn tài liệu
Menyanthes trifoliata	EF173062	[2]
Nymphoides cristata	EF173070	[2]
Nymphoides geminata	EF173074	[2]
Nymphoides peltata	EF173081	[2]
Nymphoides aurantiaca	FJ391930	[4]
Nymphoides minima	FJ391932	[4]
Nymphoides cambodiana	FJ391936	[4]
Nymphoides crenata	JF926397	[3]
Nymphoides humboldtiana	KR080307	[17]
Nymphoides indica	KR080308	[17]

KẾT QUẢ

***Nymphoides aurantiaca* (Dalzell) Kuntze - Thủy nữ hoa vàng (Hình 1)**

Kuntze. 1891, Revis. Gen. Pl.:429; *Limnanthemum forbesianum* Griseb., 1839. Gen. Sp. Gent.:336-348; *Limnanthemum aurantiacum* Dalzell, 1850. J. Bot. Kew Gard. Misc. 2:136; *Limnanthemum biflorum* Thwaites, 1860. Enum. Pl. Zeyl.:205-206; *Villarsia hydrocharoides* F.Muell, 1868. Fragm. 6:136-142; *Limnanthemum hydrocharoides* (F.Muell.) F.Muell. ex Benth., Fl. Austral. 4: 380; *Nymphoides hydrocharoides* (F.Muell.) Kuntze, 1891. Revis. Gen. Pl.:429*; Villarsia aurantiaca* Ridl. ex C.B.Clarke, 1906. J. As. Soc. Beng., Pt. 2, Nat. Hist. 84:90; *Limnanthemum coronatum* Dunn, 1912. Bull. Misc. Inform. Kew, Additional

Series X: 175; *Nymphoides coronata* (Dunn) Chun ex Y.D.Zhou & G.W.Hu, 2014. Phytotaxa 184: 170-173

Cỏ thủy sinh đa niên, sống chìm với lá và hoa nổi. Thân ngầm, cộng trụ, với nhiều rễ nhỏ màu vàng ngà dài 13–21 cm, đường kính 1–2 mm. Lá đơn hình; phiến lá nổi trên mặt nước, hình tim, hay hình trứng, kích thước 3–6x2–4 cm; mép lá có răng cưa nhỏ và thưa; gân lá không rõ; đôi khi có một chấm màu đỏ tía ở mặt trên của gốc lá; mặt trên màu xanh sáng; mặt dưới màu đỏ tía. Phát hoa mọc chụm; lá bắc nhọn 4–5x1–1,5 mm. Hoa lưỡng phái, 2 hoa ở mỗi mắt, cuống dài 2–5 cm; đài hoa 5 (hiếm khi 4), dài bằng nhau, dính nhau ở đáy, 3–5x2–3 mm, không lông, tiền khai luân xen. Cánh hoa 5 (hiếm khi 4), màu vàng sậm, 6–8x2–4 mm, phân thùy ở phía trên, dính nhau thành ống vành phía dưới, xếp luân xen với lá đài; với bìa cánh hoa có răng và miệng ống vành có lông. Tiểu nhụy 5, xếp luân xen với cánh hoa; chỉ nhị không rõ, đính trên ống vành; bao phấn màu kem nhạt, gắn vào chỉ ở lưng (bối đính), 2 buồng, hướng nội, khai dọc. Nhụy cái 2 tâm bì, noãn sào 1 buồng, đính phôi trắc mô với 2 hàng tiểu noãn; vòi nhụy màu xanh, tận cùng bằng 2 nuốm màu vàng, cao hơn tiểu nhụy. Quả nang tròn 4 mảnh, tự khai bằng một lỗ ở đỉnh quả, cao 7–8 mm, đường kính 4–5 mm và mang trung bình 8–12 hột. Hột màu nâu, hình thấu kính, to khoảng 1 mm.

Hình thái hạt phấn: *tính đối xứng và hình dạng*: dạng một hạt, đối xứng qua tâm, đẳng cực; kiểu 3 (4) rãnh, nối ở cực; có dạng tam giác (đôi khi tứ giác) khi quan sát ở vị trí cực; có dạng elip dẹp khi quan sát ở vị trí xích đạo. *Kích thước*: trục cực P= 15–20 µm, trục xích đạo E= 22–28 µm; P/E= 0,68–0,71. *Cửa*: dạng rãnh, có 3 hoặc 4 rãnh hẹp, màng cửa nhẵn; khoảng cách giữa 2 đầu rãnh khoảng 10–12 µm. *Ngoại mạc*: dày 1,3 µm, có tầng phủ lồi dạng gờ uốn khúc trơn nhẵn với kích thước gờ dài và lớn [7].

Mẫu chuẩn: Dalzell *sine num* (lectotype K000832797, K, photo!). ***Nơi thu mẫu chuẩn***: Bombay, India.

Tên tiếng Việt: Thủy nữ hoa vàng

Sinh thái: Loài chỉ hiện diện nơi ẩm, độ ngập nước từ 20–40 cm, nơi nước tĩnh với độ trong cao, và nước có tính acid nhẹ với pH khoảng 5,4 đến 6,0 [7]. Loài này thường mọc chung với các loài khác như *Eleocharis dulcis* (Burm.f.) Trin. ex Hensch, *Nymphoides parvifolia* (Griseb.) Kuntze, *N. indica* (L.) Kuntze, *N. cambodiana* (Hance) Tippery, *Nymphaea tetragona* Georgi., *Eriocaulon* spp., *Pseudoraphis brunoniana* Griff.,…

Sinh học: Sống bằng căn hành trong đất vào mùa nước cạn, phát triển trở lại vào đầu mùa mưa (tháng 5), ra hoa và trái khoảng tháng 8–10. Tái sinh bằng hạt rất mạnh.

Phân bố: Chỉ ghi nhận tại một số khu vực ngập nước của Vườn Quốc gia Lò Gò- Xa Mát như Bàu Quang, Bàu Điên Điển và Trảng Tà Nốt [7]. Trên thế giới, loài này hiện diện ở Úc, Ấn Độ, Sri Lanka, Đài Loan, Malaysia, Thái Lan [1, 4, 10, 11]

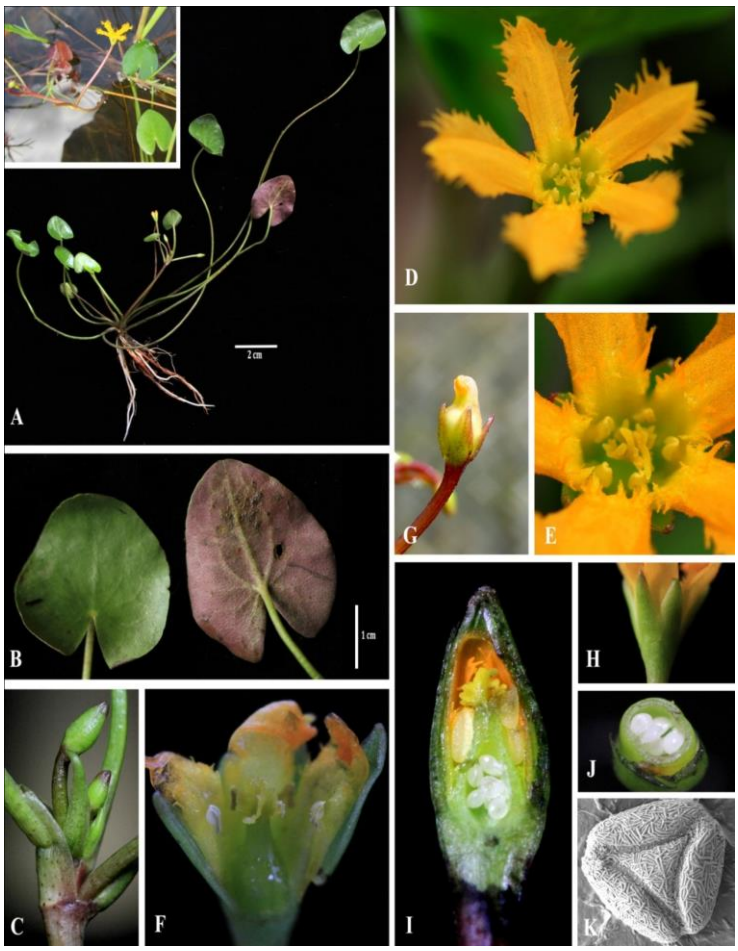
Tình trạng bảo tồn: Loài hiếm gặp, cần có những nghiên cứu thêm về vùng phân bố để xác định tình trạng loài tại Việt Nam. Loài có thể gây trồng như cây cảnh thủy sinh bản địa.

Mối quan hệ phả hệ giữa các loài *Nymphoides* trong nghiên cứu này được thể hiện qua Hình 2. Loài mới ghi nhận đã nhóm chung nhánh với hai loài *N. aurantiaca* và *N. cambodiana* với giá trị bootstrap là 41 %. Giá trị này tuy không cao nhưng đã chứng minh được sự gần gũi về mặt trình tự DNA của nhánh này. Dựa trên trình tự của đoạn gene *matK*, độ tương đồng về trình tự của loài *N. aurantiaca* thu tại Việt Nam và hai loài *N. aurantiaca* và *N. cambodiana* trên GenBank đều là 99,5 %. Trong cây phát sinh loài, các loài có cánh hoa trắng (*N. humboldtiana, N. indica, N. cristata,* và *N.*

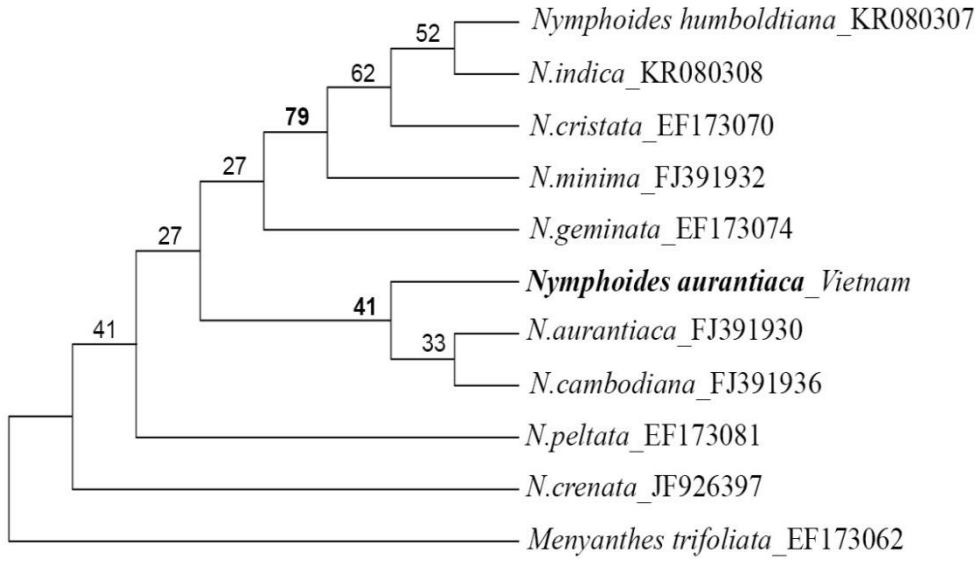
minima) đã nhóm chung trên một nhánh với giá trị bootstrap là 79 % và trong khi các loài *Nymphoides* còn lại có cánh hoa màu vàng (bao gồm loài nghiên cứu). Các kết quả này hoàn toàn phù hợp với những nghiên cứu trước đây [2, 4, 17].

Loài mới ghi nhận này có thể phân biệt rõ ràng với loài gần *N. cambodiana* với phiến lá mọc nổi, hình tim, cánh hoa màu vàng sậm, hai hoa ở mỗi mắt, trong khi *N. cambodiana* có phiến lá mọc chìm, hình mũi mác, cánh hoa màu vàng nhạt, nhiều hoa ở mỗi mắt [4, 5, 7]. Loài *N. tonkinensis* khác biệt với loài nghiên cứu với cánh hoa hình chuông, dính nhau thành ống vành và ống vành cao hơn hay bằng đài [5, 8, 9].

Lời cảm ơn: *Nhóm tác giả xin chân thành cám ơn Sở Khoa học công nghệ Tây Ninh đã tài trợ kinh phí thực hiện đề tài "Quy hoạch bảo tồn và sử dụng bền vững tài nguyên đất ngập nước Vườn Quốc gia Lò Gò- Xa Mát, tỉnh Tây Ninh", Ban Giám đốc Vườn Quốc gia Lò Gò- Xa Mát đã hỗ trợ trong suốt quá trình nghiên cứu về đất ngập nước tại Vườn, ThS. Văn Hồng Thiện (Đại học Công nghiệp Tp.HCM) đã giúp đỡ phần giải trình tự DNA và TS. Lưu Hồng Trường (Viện Sinh thái học miền Nam) đã đóng góp ý kiến cho bài viết này.*



Hình 1. *Nymphoides aurantiaca*. A) Dạng cây và cây mọc ngoài tự nhiên, B) Mặt trên và dưới lá, C) Lá bắc, D) Hoa, E) Tiểu nhụy và vòi nhụy (nhìn trên xuống), F) Tiểu nhụy và nhụy cái (nhìn ngang), G) Trái non, H) Lá đài, I) Búp hoa cắt dọc, J) Bầu nhụy cắt ngang với noãn, K) Ngoại mạc phấn hoa chụp dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM)



Hình 2. Cây phát sinh loài được xây dựng bằng phương pháp neighbor joining dựa trên trình tự đoạn gene *matK* của một số loài thuộc chi *Nymphoides* với *Menyanthes trifoliata* là outgroup. Số thể hiện trên nhánh là giá trị bootstrap (tính theo %) được tính toán qua 1000 lần lặp lại

Nymphoides aurantiaca (Dalzell) Kuntze, a new record of family Menyanthaceae for the flora of Vietnam

- **Nguyen Phi Nga**
- **Tran Triet**
  University of Science, VNU-HCM
- **Nguyen Thi Thu Thuy**
  Nguyễn Công Trứ High School

ABSTRACT

The newly recorded species, Nymphoides aurantiaca (Dalzell) Kuntze belonging to family Menyanthaceae, was discovered at some wetland areas in Lò Gò–Xa Mát National Park (Tân Biên, Tây Ninh). This species was found for the first time in 2003 during a research on wetland biodiversity and conservation funded by Tây Ninh Province's Department of Science and Technology. Special morphological characteristics of the species include floating leaf blades, deeply cordate at base; flowers usually two per node; five dark yellow corollas with fimbriately toothed margins. This aquatic species inhabits standing water bodies such as shallow ponds, flooded lowlands with water depth of 20-40 cm, low turbidity and slightly acidic with pH values ranging from 5.4 to 6.0. The phylogenetic affinity between N. aurantiaca and other Nymphoides species was established based on matK sequence of chloroplast DNA.

Keywords: *Lò Gò-Xa Mát, matK, Menyanthaceae, Nymphoides aurantiaca*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. X.C Shu, *Nymphoides* Séguier, In: Flora of China, 16, 140–142 (1995).

[2]. N.P. Tippery, D.H. Les, et al., Generic circumscription in Menyanthaceae: A phylogenetic evaluation, *Syst. Bot.*, 33, 3, 598–612 (2008).

[3]. N.P. Tippery, D.H. Les, Phylogenetic relationships and morphological evolution in Nymphoides (Menyanthaceae), *Syst. Bot.*, 36, 4, 1101–1113 (2011).

[4]. N.P. Tippery, D.H. Les, et al., Transfer of *Villarsia cambodiana* to *Nymphoides* (Menyanthaceae), *Syst. Bot.*, 34, 4, 818–823 (2009).

[5]. P.H. Hộ, Cây cỏ Việt Nam, Nhà xuất bản Trẻ, Quyển 2, 799–781 (2000).

[6]. T. Triết và nnk, Quy hoạch bảo tồn và sử dụng bền vững tài nguyên đất ngập nước Vườn Quốc gia Lò Gò-Xa Mát, tỉnh Tây Ninh, Sở Khoa học Công nghệ tỉnh Tây Ninh (2005).

[7]. N.T.T. Thủy, N.P. Ngà, Khảo sát chi *Nymphoides* và nghiên cứu đặc điểm sinh học loài *Nymphoides* sp. thuộc họ Menyanthaceae tại Vườn Quốc gia Lò Gò-Xa Mát, tỉnh Tây Ninh, Kỷ yếu hội nghị khoa học lần 9 Trường Đại học Khoa học tự nhiên, ĐHQG-HCM (2014).

[8]. M.P. Dop et Gagnepain, Gentianaceés, In: H. Lecomte, Flore générale de l'Indo-Chine, *Tome IV*, 194–197 (1912).

[9]. M.P. Dop, Gentianaceés nouvelles de l'Indo-Chine, *Bulletin de la Societe Botanique de France*, 59, 145–147 (1912).

[10]. S.S. Sivarajan, K.T. Joseph, The genus *Nymphoides* Séguier (Menyanthaceae) in India, *Aquatic Bot.*, 45, 145–170 (1993).

[11]. S.P. Li et al, The genus *Nymphoides* Séguier (Menyanthaceae) in Taiwan, *Taiwania*, 47, 4, 246–258 (2002)

[12]. D. Bridson, L. Forman, The Herbarium Handbook–Third Edition, Royal Botanic Gardens, Kew, UK (1999).

[13]. A.J. Fazekas et al., Chapter 11: DNA barcoding methods for land plants. In: W.J Kress and D.L. Erickson (eds.), DNA Barcodes: *Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*, 858, 223–252 (2012).

[14]. N. Saitou, M. Nei, The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees, *Molecular Biology and Evolution*, 4, 406–425 (1987).

[15]. J. Felsenstein, Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap, *Evolution*, 39, 783–791 (1985).

[16]. S. Kumar et al., MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets, *Molecular Biology and Evolution*, 33, 1870–1874 (2016).

[17]. N.P. Tippery et al., *Nymphoides grayana* (Menyanthaceae) in Florida verified by DNA and morphological data, *J. Torrey Bot. Soc.*, 142, 4, 325–330 (2015).