

**NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI GIẢI PHẪU VÀ
HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA LOÀI MÀN MÀN TÍM
(*CLEOME RUTIDOSPERMA* DC.) THU THẬP Ở TỈNH THÁI NGUYÊN**

**Dịch Thị Phương Anh, Nguyễn Phương Thảo,
Nguyễn Hữu Quân, Sỹ Danh Thường**
Trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên

Loài Màn màn tím (*Cleome rutidosperma* DC.) thuộc họ Màn màn (Capparaceae Juss.) còn được gọi là Màn ri tím, Màn ri tía, là một loài thực vật làm thuốc, mọc hoang ở nhiều nơi trong cả nước. Theo kinh nghiệm dân gian, các bộ phận của loài này được sử dụng để chữa nhiều bệnh khác nhau như: toàn cây được dùng làm thuốc trị các chứng cảm cúm, nóng lạnh, nhức đầu, ho hen và chữa rắn cắn. Nước sắc của cây chữa viêm gan, viêm lợi răng và bệnh ngoài da. Lá chữa viêm đau thận. Ở Ấn Độ và Malaysia, rễ làm thuốc trị giun, dịch lá cây nhỏ vào tai trị đau tai. Hạt ăn được như hạt cải (Võ Văn Chi 1997, Phạm Hoàng Hộ 1999). Trong khuôn khổ bài báo, chúng tôi sẽ đi sâu phân tích đặc điểm hình thái giải phẫu hiển vi rễ, thân, lá và hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết loài Màn màn tím trên một số loài vi khuẩn nhằm cung cấp đầy đủ các thông tin về loài thực vật làm thuốc này ở Việt Nam.

I. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

- Loài Màn màn tím được thu thập tại tỉnh Thái Nguyên. Mẫu thu gồm: cành mang lá, hoa và quả để làm tiêu bản thực vật; một số đoạn rễ, thân, lá tươi để nghiên cứu cấu tạo giải phẫu hiển vi; mẫu rễ, thân, lá cắt nhỏ, sấy khô để nghiên cứu hoạt tính kháng khuẩn.

- Các loài vi khuẩn kiểm định gồm *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis*, *Serratia marcescens* và *Pseudomonas aeruginosa* do Khoa Sinh học Trường Đại học Sư phạm Thái Nguyên cung cấp để phân tích hoạt tính kháng khuẩn từ cao chiết của loài Màn màn tím.

2. Phương pháp nghiên cứu

- *Phương pháp xác định tên khoa học*: sử dụng phương pháp hình thái so sánh, đối chiếu khóa phân loại và các bản mô tả để xác định tên khoa học, mô tả loài (Phạm Hoàng Hộ 1999, Jacobs 1960).

- *Phương pháp nghiên cứu giải phẫu hiển vi rễ, thân, lá*: theo Nguyễn Bá (1977), quan sát và chụp ảnh với kính hiển vi quang học kết nối với phần mềm Microscope Manager.

- *Chuẩn bị dịch chiết và cao chiết*: cây Màn màn tím được sấy khô đến khối lượng không đổi ở 70°C, nghiền thành bột mịn. Nguyên liệu được tách chiết theo phương pháp ngâm kiệt. Nguyên liệu dạng bột khô được đem đi pha dung môi etanol ở tỷ lệ 20 g/100 ml, sau đó cho vào máy lắc với tốc độ 200 vòng/phút ở các thời gian khác nhau là 48 và 72 giờ, sau đó tiến hành lọc qua giấy lọc. Dịch chiết thu được tiến hành cô cất chân không bằng máy cô quay Buchi-Thuy Sĩ và được cô cao trong tủ sấy chân không ở 50°C (Nguyễn Thượng Đông 2006).

- *Xác định hoạt tính kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch*: chủng vi khuẩn sau khi được hoạt hóa từ ống giống trên môi trường LB đặc, một khuẩn lạc được cấy chuyển sang 5 ml môi trường LB lỏng và lắc qua đêm ở 30°C. Hút 50 µl vi khuẩn mỗi loài (mật độ 10⁶ CFU/ml) vào đĩa petri có chứa môi trường LB đặc chải đều đến khô và đục 5-6 giếng,

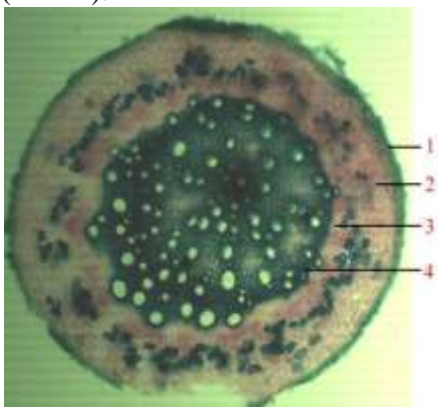
đường kính 7,5 mm sao cho mỗi giếng cách nhau khoảng 2-3 cm. Chuẩn bị cao chiết thử bằng cách hòa cao chiết cây Mần mần tím thu được sau lactic 48 và 72 giờ với dung môi Dimethyl Sulfoxide (DMS) ở các nồng độ lần lượt là 10; 30; 50; 80; 100 và 150 g/l. Hút 100 µl dịch chiết thử ở các nồng độ vào các giếng, đối chứng bổ sung 100 µl DMS và để ở nhiệt độ 4°C từ 1-2 giờ để dịch thử khuếch tán đều vào đĩa thạch, sau đó đặt các đĩa vào tủ ấm ở 37°C trong 24 giờ. Hoạt tính kháng khuẩn được đánh giá bằng cách đo đường kính (ĐK) vòng ức chế vi sinh vật theo công thức: $ĐK (mm) = D-d$; trong đó D = đường kính vòng vô khuẩn và d = đường kính lỗ khoan thạch. Thí nghiệm được lặp lại ba lần và lấy giá trị bán kính trung bình (Trần Mỹ Linh và cs 2013, Hadecek & Greger 2000).

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Đặc điểm hình thái giải phẫu của loài Mần mần tím

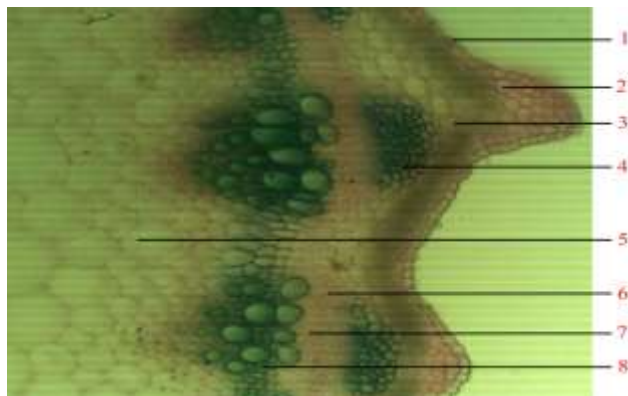
Rễ cây: phía ngoài cùng của rễ cấu tạo bởi một lớp tế bào có thành tế bào hóa *bản* (1) hình chữ nhật độ dày khoảng 0,3 µm. Phía trong là *vỏ thứ cấp* (2) gồm nhiều lớp tế bào libe và mô mềm. Trụ giữa chiếm phần lớn diện tích gồm các mạch gỗ to và tia gỗ đó là *gỗ thứ cấp* (4) (Hình 1).

Thân cây: *Biểu bì* (1): Phủ ngoài thân là một lớp tế bào biểu bì dày 1,1 µm gồm những tế bào hình trứng xếp sát nhau uốn lượn theo thân tạo thành vòng ngoài cùng có 5 đỉnh lồi ra ngoài. *Mô dày xốp* (2) gồm 3-5 lớp tế bào hình đa giác tập trung chủ yếu ở phía các mấu lồi. Các lớp tế bào *mô mềm vỏ* (3) có kích thước lớn hơn ăn sâu xen kẽ với các tế bào nội bì. *Mô cứng* (4) gồm những đám tế bào hình đa giác bất màu xanh tạo thành vòng tròn không liên tục. *Trụ giữa* chiếm thể tích lớn trên lát cắt ngang gồm khoảng 26 bó dẫn hờ. Các bó *gỗ* (8) cạnh nhau được ngăn cách bởi các tia ruột rộng tạo ra khoảng trống khá xa nhau. Phía ngoài đối diện với các bó *gỗ* là các bó *libe* (6) tương ứng bất màu hồng. Xen giữa *gỗ* và *libe* là *tầng phát sinh* (7) gồm các tế bào dẹt có màng rất mỏng. *Mô mềm ruột* (5) nằm ở phần giữa thân gồm các tế bào hình đa giác có kích thước khác nhau. Đây là các tế bào sống thực hiện chức năng chủ yếu là dự trữ (Hình 2).



Hình 1: Ảnh cấu tạo giải phẫu rễ cây Mần mần tím

1. Bản; 2. Vỏ thứ cấp; 3. Tầng phát sinh; 4. Gỗ thứ cấp

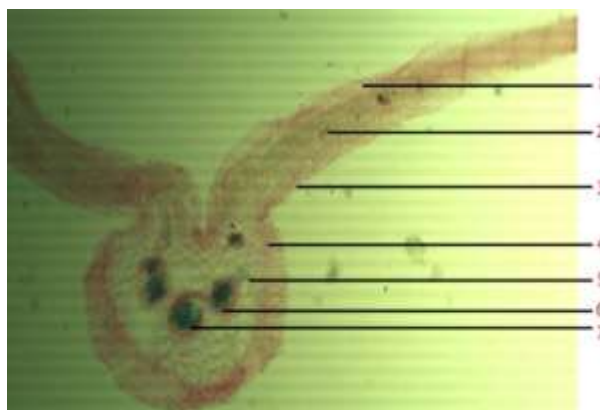


Hình 2: Ảnh cấu tạo giải phẫu thân cây Mần mần tím

1. Biểu bì; 2. Mô dày xốp; 3. Mô mềm vỏ; 4. Mô cứng; 5. Mô mềm ruột; 6. Libe; 7. Tầng phát sinh; 8. Gỗ

Lá cây: phiến lá của Mần mần tím gồm 3 phần: *biểu bì trên* (1), *mô đồng hóa* (2) gồm 3 lớp tế bào mô giậu ở phía trên và 2 lớp mô xốp ở phía dưới, *biểu bì dưới* (3). Gân chính phân biệt mặt trên và mặt dưới rất rõ. Giữa gân chính có các bó dẫn nằm trong khối mô mềm. Có

khoảng 4 bó libe (5), gỗ (6). Libe ở mặt ngoài, gỗ nằm ở phía trong. Các bó dẫn nằm cách khá xa nhau (Hình 3).



Hình 3: Ảnh cấu tạo giải phẫu lá cây Mần mần tím

1. Biểu bì trên; 2. Mô đồng hóa; 3. Biểu bì dưới; 4. Mô dày; 5. Mô mềm; 6. Libe; 7. Gỗ

2. Khả năng kháng vi khuẩn kiểm định của cao chiết từ cây Mần mần tím

Cao chiết cây Mần mần tím thử nghiệm bằng cách hòa cao chiết thu được sau lắ 48 và 72 giờ với dung môi Dimethyl Sulfoxide (DMS) ở các nồng độ lần lượt là 10; 30; 50; 80; 100 và 150 g/l. Sau đó được xác định bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch. Kết quả bảng 1 cho thấy, DMS không có khả năng kháng 5 loài vi khuẩn kiểm định. Do đó DMS là dung môi được sử dụng để hòa tan cao chiết ở các nồng độ thử nghiệm là phù hợp đảm bảo cho cao chiết hòa tan hoàn toàn, đáp ứng cho nghiên cứu. Ngoài ra, nước đã được chứng minh không có ảnh hưởng tới sự phát triển của các chủng vi khuẩn khảo sát.

Bảng 1

Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế đối với 5 loài vi khuẩn từ cao chiết của cây Mần mần tím

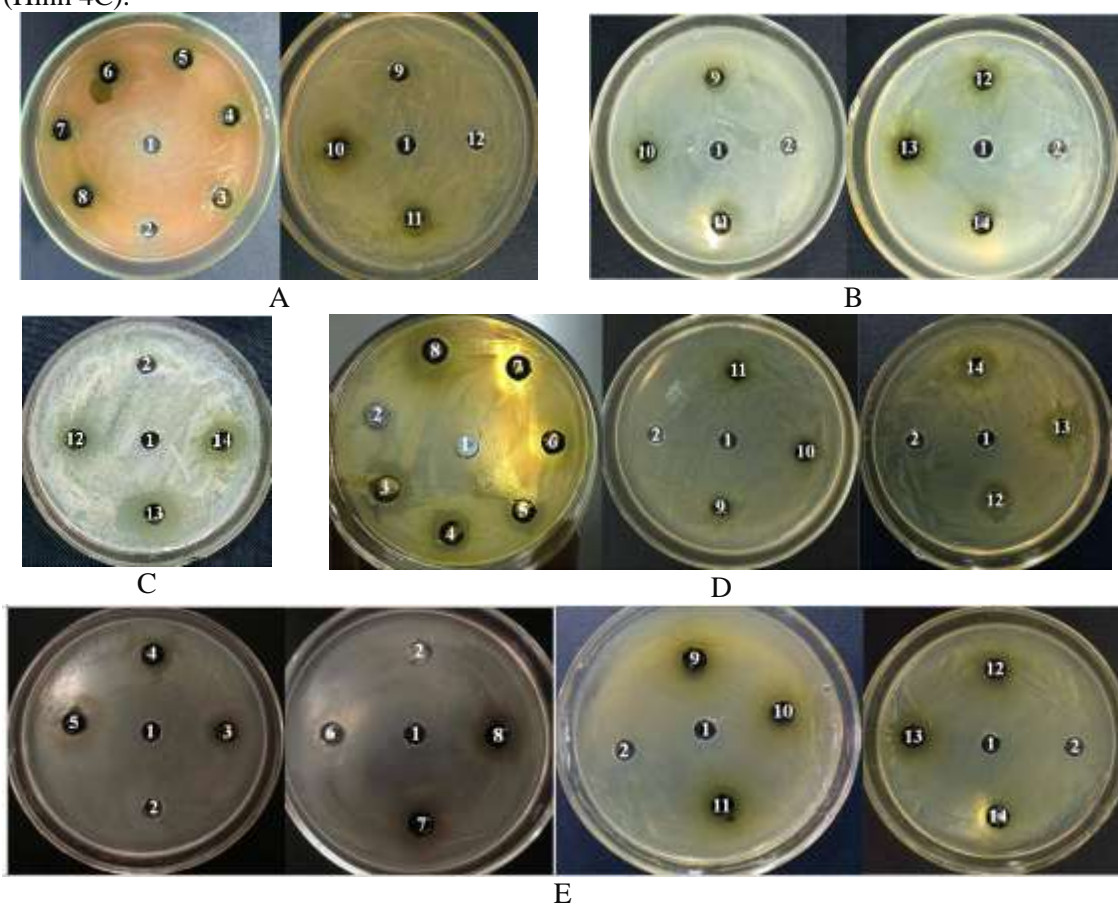
Nồng độ (g/l)	Vi khuẩn kiểm định									
	<i>S. marcescens</i>		<i>L. plantarum</i>		<i>S. aureus</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
	Thời gian lắ (giờ)									
	48	72	48	72	48	72	48	72	8	72
H ₂ O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DMS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	6,5	-	-	-	10,5	2,5	6,5	7,5	-	7,5
30	4,5	-	-	-	7,5	2,5	2,5	-	-	3,5
50	4,5	4,5	-	-	7,5	2,5	-	4	-	7,5
80	4,5	-	-	6,5	4,5	6,5	-	6,5	-	2,5
100	4,5	-	-	16,5	9,5	7,5	6,5	,5	-	2,5
150	2,5	-	-	7,5	10,5	7,5	6,5	8,5	-	-

Ghi chú: Giá trị biểu hiện ở các cột là đường kính vùng ức chế (mm). Dấu (-) biểu hiện không ức chế, vi khuẩn phát triển bình thường.

Vi khuẩn *S. marcescens* được biết đến là loài trực khuẩn, Gram âm, gây bệnh viêm phổi, áp xe não ở người. Trong nghiên cứu này, cao chiết cây Mần mần tím với ethanol lắ ở 48 giờ có khả năng ức chế vi khuẩn ở các nồng độ khảo sát. Đường kính vòng kháng khuẩn mạnh nhất ở

nồng độ 10 g/l (đạt 6,5 mm), đường kính vòng kháng khuẩn giảm xuống 4,5 mm ở các nồng độ từ 30-100 g/l và thấp nhất ở nồng độ 150 g/l (đạt 2,5 mm). Trong khi, cao chiết với ethanol lactic ở 72 giờ không có khả năng kháng vi khuẩn *S. marcescens* ở các nồng độ khảo sát, ngoại trừ nồng độ 50 g/l (đường kính đạt 4,5 mm) (Hình 4A).

Cao chiết với ethanol lactic ở 48 giờ pha ở các nồng độ 10-150 g/l và lactic ở 72 giờ ở nồng độ từ 10-50 g/l không có khả năng kháng lại vi khuẩn *L. plantarium*. Ở nồng độ từ 80-150 g/l, cao chiết ức chế mạnh vi khuẩn *L. plantarium*, trong đó mạnh nhất là nồng độ 100 g/l (đường kính đạt 16,5 mm) (Hình 4B). Vi khuẩn *P. aeruginosa* không bị ảnh hưởng bởi cao chiết với ethanol lactic ở 48 giờ pha ở nồng độ từ 10-150 g/l. Tuy nhiên, cao chiết với ethanol lactic ở 72 giờ pha ở các nồng độ 10-100 g/l lại ức chế vi khuẩn này. Khả năng ức chế mạnh nhất ở nồng độ 10 và 50 g/l (đường kính đạt 7,5 mm). Ở nồng độ 150 g/l không có hoạt tính kháng vi khuẩn *P. aeruginosa* (Hình 4C).



Hình 4: Hoạt tính ức chế vi khuẩn từ cao chiết cây Màng màng tím

A: vi khuẩn *S. marcescens*, B: vi khuẩn *P. aeruginosa*, C: vi khuẩn *L. plantarium*,

D: vi khuẩn *L. plantarium*, E: vi khuẩn *B. subtilis*

1-H₂O, 2-DMS, 3-7: ứng với nồng độ 10; 30; 50; 80; 100 và 150 g/l ở lactic 48 giờ,

8-12: ứng với nồng độ 10; 30; 50; 80; 100 và 150 g/l ở lactic 72 giờ

S. aureus được biết đến là loài vi khuẩn gây ra nhiều bệnh nhiễm trùng, tạo mủ và gây độc ở người, thường xảy ra ở những chỗ xây xước trên bề mặt da như mụn nhọt, viêm loét. Thuộc nhóm cầu khuẩn và có khả năng kháng nhiều loại kháng sinh. Trong khi, vi khuẩn *B. subtilis* là trực khuẩn hình que, có khả năng tạo bào tử, có khả năng chịu đựng các điều kiện môi trường

khắc nghiệt, ngoài ra nó còn có khả năng tạo ra các chất đề kháng. Mặc dù không phải là vi khuẩn gây bệnh nhưng *B. subtilis* lại nhạy cảm với nhiều loại cao chiết từ cây thuốc ngập mặn. Hai loài *S. aureus* và *B. subtilis* đại diện cho nhóm vi khuẩn Gram dương, do đó nghiên cứu khả năng kháng khuẩn từ cao chiết cây Mần mần tím có ý nghĩa quan trọng. Kết quả hình 4E, hình 4D và Bảng 1 cho thấy, cao chiết với ethanol lắ ở 48 và 72 giờ đều có khả năng kháng vi khuẩn *S. aureus* và *B. subtilis* ở các nồng độ từ 10-150 g/l. Trong đó, cao chiết lắ ở 48 giờ kháng vi khuẩn *S. aureus* mạnh hơn lắ ở 72 giờ, đường kính vòng kháng khuẩn lớn nhất ở nồng độ 10 và 150 g/l. Trong khi cao chiết ethanol lắ ở 72 giờ kháng vi khuẩn *B. Subtilis* mạnh hơn ở 48 giờ.

Trên thế giới, nghiên cứu một số loài thuộc họ Mần mần để tìm kiếm các chất có hoạt tính sinh học đã được công bố. Sudhakar và cộng sự (2006) đã chứng minh cao chiết bằng ethanol của lá và hoa cây Mần mần vàng (*Cleome viscosa*) có khả năng kháng được vi khuẩn *Escherichia coli* và *P. aeruginosa* (Sudhakar et al. 2006). Năm 2012, Saradha và Subba sử cao chiết methanol từ cây Mần mần vàng để chống lại 7 loài vi khuẩn, trong đó có vi khuẩn *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. subtilis* và đã chứng minh được cao chiết này có khả năng kháng 3 loài vi khuẩn này ở nồng độ 500 µg/ml. Đường kính vòng kháng khuẩn của *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. subtilis* lần lượt đạt 25; 12 và 18 mm (Saradha & Subba 2010). Upadhyay và cộng sự (2008) đã tiến hành thử nghiệm khả năng kháng khuẩn từ cao chiết từ cây Mần mần vàng bằng các loại dung môi khác nhau (acetone, chloroform, diethyl ether và nước) trên các loài vi khuẩn *E. coli*, *B. subtilis*, *L. acidophilus*, *Pneumococcus*. Kết quả nhận thấy, cao chiết bằng các loại dung môi trên đều kháng tất cả 4 loài vi khuẩn kiểm định ở nồng độ 50 µg/ml, đường kính vòng kháng khuẩn dao động từ 16-31 mm (Upadhyay et al. 2008).

Đối với loài Mần mần trắng, Nimmakayala và cộng sự (2014) đã sử dụng methanol để thu cao chiết và thử hoạt tính kháng khuẩn đối với loài *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* và *P. aeruginosa* ở nồng độ 0,039 mg/ml. Kết quả nhận thấy, cao chiết từ loài Mần mần trắng kháng được 4 loài vi khuẩn trên, đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt là 22; 21; 17 và 16 mm (Nimmakayala et al. 2014). Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp so với các nghiên cứu đã công bố đối với loài thuộc chi Mần mần. Kết quả chứng minh hoạt tính kháng một số loài vi khuẩn kiểm định của cao chiết từ cây Mần mần tím.

Trong nghiên cứu này cao chiết từ cây Mần mần tím lắ ở 48 và 72 giờ có khả năng kháng được các loài vi khuẩn Gram dương (*B. subtilis*, *S. aureus*) ở các nồng độ khảo sát và mạnh nhất ở nồng độ 10 và 100 g/l. Cao chiết lắ ở 48 giờ không có khả năng kháng các loài vi khuẩn Gram âm (*L. plantarium*, *P. aeruginosa*), trong khi cao chiết lắ ở 72 cũng không có khả năng kháng vi khuẩn *S. macescens* ở các nồng độ khảo sát. Như vậy, thời gian lắ ảnh hưởng đến hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết cây Mần mần tím và hoạt tính kháng phụ thuộc vào loài vi khuẩn.

III. KẾT LUẬN

Đã mô tả chi tiết đặc điểm cấu tạo hiển vi (rễ, thân, lá) của loài Mần mần tím. Cấu tạo giải phẫu của rễ, thân, lá đều mang đặc điểm cấu tạo chung của cây 2 lá mầm. Cấu tạo rễ đặc trưng bởi cấu tạo thứ cấp. Cấu tạo của thân có mô mềm ruột rất phát triển, mô dày xốp phân bố chủ yếu ở các góc của thân. Cấu tạo phiến lá phân biệt mô giậu và mô xốp, phần gân chính có 4-5 bó libe gỗ xen kẽ trong khối tế bào mô mềm.

Cao chiết bằng ethanol của cây Mần mần tím ức chế 5 chủng vi khuẩn *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. marcescens*, *L. plantarum*, *P. aeruginosa* tùy theo nồng độ và thời gian lắ chiết. Trong đó, cao chiết ức chế mạnh nhất vi khuẩn *L. plantarum*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* ở nồng độ lần lượt là 100; 150; 50 g/l sau lắ 72 giờ và vi khuẩn *S. aureus*, *S. macescens* ở nồng độ lần lượt là 10 và 150 g/l sau lắ 48 giờ.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 106-NN.03-2015.20.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Bá, 1977. Hình thái học thực vật, tập 1-2. Nxb. Đại học và Trung học chuyên nghiệp, Hà Nội.
2. Võ Văn Chi, 1997. Từ điển cây thuốc Việt Nam, 712-713. Nxb. Y học Tp. Hồ Chí Minh.
3. Nguyễn Thượng Dong, 2006. Nghiên cứu thuốc từ thảo dược, Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
4. Phạm Hoàng Hộ, 1999. Cây Cỏ Việt Nam, 1: 597. Nxb. trẻ, Tp Hồ Chí Minh.
5. Jacobs M., 1960. Flora Malesiana, 6(1): 104-105, Netherlands.
6. Trần Mỹ Linh, Vũ Hương Giang, Lê Quỳnh Liên, Nguyễn Tường Vân, Ninh Khắc Bản, Châu Văn Minh, 2013. Đánh giá hoạt tính ức chế vi khuẩn kiểm định của một số loài thực vật ngập mặn tại Vườn Quốc gia Xuân Thủy, Nam Định. Tạp chí Sinh học, 35(3): 342-347.
7. Hadacek F., Greger H., 2000: Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. Phytochemical Analysis, 11: 137-147.
8. Sudhakar M., Rao Ch. V., Rao P. M., Raju D. B., 2006. Evaluation of antimicrobial activity of *Cleome viscosa* and *Gmelina asiatica*. *Fitoterapia*, 77(1): 47-9.
9. Saradha J. K. and Subba R. B., 2010. *In vitro* antibacterial activity of *Cleome viscosa* LINN. International journal of pharmaceutical sciences, 1(2): 71-78.
10. Upadhyay R. K., Ahmad S., Jaiswal G., Dwivedi P., Tripathi R., 2008. Antimicrobial effects of *Cleome viscosa* and *Trigonella foenum graecum* seed extracts. Journal of Cell and Tissue Research, 8(2) 1355-1360.
11. Nimmakayala S., Bondada V. V. S., Surya K., Donthamsetti T. S., Lakshmi K. K., 2014. *In vitro* antimicrobial screening of methanolic extracts of *Cleome chelidonii* and *Cleome gynandra*. Journal of the Bangladesh Pharmacological Society, 9: 161-166.

RESEARCH ON ANATOMICAL CHARACTERISTICS AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *CLEOME RUTIDOSPERMA* DC. COLLECTED IN THAI NGUYEN PROVINCE

Dich Thi Phuong Anh, Nguyen Phuong Thao,
Nguyen Huu Quan, Sy Danh Thuong

SUMMARY

Microscopic structure characteristics of *Cleome rutidpsperma* (roots, stems, leaves) were studied in detail. On the other hand, antibacterial activity of the same were investigated. The ethanol extract was capable of inhibiting *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. marcescens*, *L. plantarum*, *P. aeruginosa* and *S. aureus* at different effect levels depending on concentration and shaking time. In particular, the strongest inhibition of the extract of *Cleome rutidpsperma* on *L. plantarum*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* was at the concentrations of 100, 150, 50 g/l, respectively after shaking for 72 hours, and on *S. aureus*, *S. macescens* at the concentrations of 10 and 150 g/l, respectively after shaking for 48 hours.