

NGHIÊN CỨU TẠO RỄ VÀ CÂY ĐÔNG HẦU VÀNG (*Turnera ulmifolia* L.) IN VITRO

Phạm Thị Thanh Nhân¹, Hoàng Sầm²

¹Trường Đại học Sư phạm – ĐH Thái Nguyên,

²Viện Y học bản địa Thái Nguyên

TÓM TẮT

Cây Đông hầu vàng (*Turnera ulmifolia* L.) được biết đến như một loại thảo dược nổi tiếng ở châu Mỹ với công dụng tăng cường sức khỏe sinh sản, giúp trị xuất tinh sớm và bất lực ở nam. Arbutin trong cây Đông hầu vàng có tác dụng làm trắng da nhờ khả năng ức chế enzyme sản sinh melanin mà không có tác dụng phụ, chống lão hóa và ngăn các gốc tự do, làm căng da, mịn da. Dịch chiết từ lá kích thích hoạt độ của enzyme chống oxy hóa (glutathione peroxidase, superoxide dismutase và catalase). Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nhóm chất auxin đến khả năng tạo rễ cây Đông hầu vàng nhập từ châu Mỹ nhằm xác định quy trình nhân nhanh để phát triển loài cây này ở Việt Nam. Công thức môi trường thích hợp nhất cho sự tạo rễ cây Đông hầu vàng là MS bổ sung IBA 0,7 mg/l. Giá thể thích hợp nhất cho cây Đông hầu vàng sinh trưởng ở giai đoạn vườn ươm trước khi trồng cây trong sản xuất là đất thịt trung bình: cát: phân vi sinh theo tỷ lệ 2:1:1.

Từ khóa: IBA, làm trắng da, NAA, tạo rễ, *Turnera ulmifolia* L.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, nhu cầu làm đẹp của phái nữ ngày một tăng mạnh mẽ. Tuy nhiên, các mỹ phẩm tổng hợp và pha chế được bán trên thị trường thường gây hại cho da sau một thời gian sử dụng. Vì vậy, các công ty dược- mỹ phẩm phải tìm đến những hợp chất được chiết xuất từ những cây cỏ tự nhiên để thỏa mãn các khách hàng ngày một “khó tính”. Ở Việt Nam có rất nhiều cây thuốc quý được sử dụng để cải thiện sắc đẹp như: Cây trinh nữ Hoàng cung, Hà thủ ô, Nguru tất,... Tuy nhiên, cây Đông hầu vàng hiện là một cây nhập nội với số lượng hạn chế. Trong lĩnh vực giải trí, giống cây đông hầu được nhập vào trồng làm cây cảnh, không được sử dụng làm thuốc.

Cây Đông hầu vàng (*Turnera ulmifolia*) được biết đến như một loại thảo dược nổi tiếng ở châu Mỹ với công dụng tăng cường sức khỏe sinh sản, giúp trị xuất tinh sớm và bất lực ở nam. Arbutin trong cây Đông hầu vàng có tác dụng làm trắng da nhờ khả năng ức chế enzyme sản sinh melanin mà không có tác dụng phụ, chống lão hóa và ngăn các gốc tự do, giảm đau bụng kinh, kinh nguyệt không đều, làm căng da, mịn da [6]. Chất thymol có

tác dụng kích thích lên cơ thể và giúp hồi phục hệ thần kinh trong điều trị bệnh suy nhược hay suy nhược thần kinh ở mức độ nhẹ cho đến vừa phải. Chất nhựa trong cây có tác dụng như dịch vị dạ dày giúp tiêu hóa tốt, do đó cây cũng được dùng để trị bệnh táo bón do cơ ruột co bóp kém [2], [6]. Theo các nhà khoa học Brazil, hoạt chất chủ yếu của cây Đông hầu trong thân và lá là các hợp chất flavonoid, glutathione có tác dụng chống oxy hóa và chống các vết loét ở các cơ quan tiết niệu, dạ dày và hành tá tràng [5]. Dịch chiết từ lá kích thích hoạt độ enzyme chống oxy hóa (glutathione peroxidase, superoxide dismutase và catalase) trong cơ thể [1], [2] [5].

Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu tạo rễ *in vitro* và ra rễ cây Đông hầu vàng trên giá thể nhằm hoàn thiện quy trình nhân nhanh loài cây này ở Việt Nam.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu và hóa chất

Hạt của cây Đông hầu vàng do Viện Y học bản địa, tỉnh Thái Nguyên cung cấp được sử dụng làm vật liệu nuôi cấy *in vitro*.

Các hóa chất như cồn, javen, axit benzoic, axit citric, thành phần môi trường MS cơ bản, sucrose, agar, than hoạt tính, các hóa chất

* Tel: 0989 516346; Email: ptnhansptn@gmail.com

điều hòa sinh trưởng α -NAA, IBA có nguồn gốc từ Việt Nam, Trung Quốc, Mỹ.

Các thiết bị chính dùng trong nghiên cứu gồm có: Nồi hấp khử trùng Tomy (Nhật Bản), tủ lạnh (Nhật Bản), tủ cấy vô trùng esco (Singapore), cân điện tử (Đức)...

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp tạo rễ và cây hoàn chỉnh:

Môi trường được sử dụng: MS + 30 g/l đường saccharose + 8,5 g/l agar + 1 g/l than hoạt tính và bổ sung thêm chất kích thích sinh trưởng (α -NAA, IBA) với các nồng độ khác nhau (0,2, 0,4, 0,7, 1,0 mg/l), pH 5,8. Tất cả các thí nghiệm được tiến hành trong điều kiện nhiệt độ 25-27°C, thời gian chiếu sáng 12/24h, cường độ chiếu sáng 2000 lux.

Phương pháp: Cắt chồi ngọn của cây Đông hầu vàng khoảng 2-3 cm, cắt bớt lá, cấy vào môi trường đã chuẩn bị sẵn. Mỗi công thức cấy 30 chồi. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Sau đó theo dõi sự phát triển của cây sau 6 tuần và 8 tuần. Chỉ tiêu theo dõi là: Tỷ lệ chồi ra rễ, số rễ/mẫu.

Phương pháp đưa cây in vitro ra vườn ươm:

Trước khi đem cây *in vitro* ra trồng ngoài vườn ươm, bình cây được đặt trong điều kiện nhiệt độ phòng, bỏ nắp giấy và nút bông. Sau 24 giờ, cây được lấy ra khỏi bình, đem trồng trong các bầu giá thể. Các bầu này được đặt nơi ánh sáng khuếch tán, thoáng mát, tưới đủ ẩm mỗi ngày. Mỗi loại giá thể trồng 30 cây.

Phương pháp xử lý kết quả: Các số liệu thống kê được xử lý bằng phần mềm Excel theo Chu Văn Mẫn (2000) [4].

Các thí nghiệm được thực hiện tại phòng thí nghiệm Công nghệ tế bào, Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Ảnh hưởng của α -NAA đến khả năng tạo rễ cây Đông hầu vàng

Ra rễ là khâu cuối cùng của giai đoạn nghiên cứu *in vitro*. Chất kích thích sinh trưởng được dùng chủ yếu ở giai đoạn này thuộc nhóm auxin. IBA và α -NAA là những chất kích

thích chủ yếu tác động lên quá trình phân chia tế bào và sự hình thành rễ.

α -NAA là chất kích thích sinh trưởng thuộc nhóm auxin, có tác dụng làm tăng hô hấp của tế bào và mô nuôi cấy, tăng hoạt tính enzyme và ảnh hưởng mạnh đến trao đổi nito, tăng khả năng tiếp nhận và sử dụng đường trong môi trường nuôi cấy. α -NAA có tác dụng tạo rễ mạnh hơn các auxin khác.

Các chồi đỉnh của cây Đông hầu vàng được nuôi cấy trong môi trường có chứa α -NAA ở các nồng độ khác nhau để nghiên cứu sự ảnh hưởng của α -NAA đến sự hình thành rễ. Trong thí nghiệm này sẽ nghiên cứu ảnh hưởng của α -NAA đến sự hình thành rễ cây Đông hầu vàng trong 4 công thức môi trường với nồng độ α -NAA tương ứng là 0,2, 0,4, 0,7 và 1,0 mg/l. Cây trong môi trường tạo đa chồi được sử dụng để cắt lấy các chồi, mỗi chồi cao khoảng 2-3 cm, cắt bớt bớt lá, cấy vào môi trường tạo rễ. Mỗi công thức môi trường cấy 30 chồi. Theo dõi sự hình thành rễ của các chồi sau 6 tuần và 8 tuần. Kết quả theo dõi được thể hiện trong bảng 1, hình 1.

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, chồi Đông hầu vàng có thể tạo rễ trên tất cả môi trường. Tuy nhiên trong mỗi môi trường, tỷ lệ chồi ra rễ, số rễ/ chồi và chất lượng rễ của các chồi là khác nhau. Trong môi trường đối chứng không có chất kích thích sinh trưởng, tỷ lệ chồi ra rễ là rất thấp, rễ mảnh và ngắn. Trong môi trường có chất kích thích sinh trưởng, tỷ lệ chồi ra rễ nhiều hơn và rễ dài hơn môi trường đối chứng. Sau 6 tuần, môi trường CT1, CT2 và CT4, tỷ lệ chồi ra rễ vẫn còn thấp, tương ứng là 28,57, 32,14 và 25%, môi trường CT3 là môi trường có tỷ lệ chồi ra rễ cao nhất (42,86%), và có số lượng rễ nhiều, rễ dài. Sau 8 tuần, môi trường CT3 vẫn là môi trường cho tỷ lệ chồi ra rễ cao nhất (75%), rễ dài và nhiều, cây phát triển tốt, thân mập, lá xanh và to bản.

Như vậy trong thí nghiệm này, môi trường CT3 (môi trường MS bổ sung α -NAA 0,7 mg/l) là môi trường thích hợp để tạo rễ.

Bảng 1. Ảnh hưởng của α -NAA đến khả năng tạo rễ cây Đông hầu vàng

Công thức	Nồng độ α -NAA (mg/l)	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Tổng số rễ/ mẫu	Chất lượng rễ
Sau 6 tuần				
ĐC	0	3,57	0,10 $\pm$ 0,04	+
CT1	0,2	28,57	1,21 $\pm$ 0,29	++
CT2	0,4	32,14	1,46 $\pm$ 0,33	++
CT3	0,7	42,86	1,36 $\pm$ 0,31	+++
CT4	1,0	25	1,11 $\pm$ 0,31	++
Sau 8 tuần				
ĐC	0	10,71	0,32 $\pm$ 0,12	+
CT1	0,2	50	1,36 $\pm$ 0,32	++
CT2	0,4	64,23	1,64 $\pm$ 0,41	+++
CT3	0,7	75	1,39 $\pm$ 0,24	+++
CT4	1,0	50	1,79 $\pm$ 0,35	+++

(Ghi chú: +: Rễ mảnh, ngắn; ++: Rễ mảnh, dài; +++: Rễ mảnh, dài, nhiều)

Môi trường CT4 (α -NAA 1,0 mg/l) cho số rễ/mẫu cao hơn môi trường CT3 (α -NAA 0,7 mg/l) nhưng lại cho tỷ lệ ra rễ thấp hơn vì khi nồng độ chất kích thích sinh trưởng cao sẽ gây hiệu quả ngược lại là ức chế quá trình phát sinh rễ.

Từ kết quả trên cho thấy, khả năng kích thích ra rễ ở chồi cây Đông hầu vàng của α -NAA là chưa cao, IBA cũng là chất kích thích ra rễ được sử dụng rộng rãi và có hoạt tính cao. Do đó, chúng tôi tiến hành thí nghiệm nghiên cứu khả năng kích thích ra rễ của IBA trên cây Đông hầu vàng.

**Hình 1.** Kết quả tạo rễ cây Đông hầu vàng trên môi trường CT3

Ảnh hưởng của IBA đến khả năng tạo rễ cây Đông hầu vàng

Cũng như thí nghiệm trên, thí nghiệm nghiên cứu sự ảnh hưởng của IBA đến khả năng hình thành rễ cây Đông hầu vàng được tiến hành với các nồng độ khác nhau, kết quả thu được

sau nuôi cấy 6 tuần và 8 tuần được thể hiện trong bảng 2, hình 2.

Từ kết quả trình bày ở bảng 2 cho thấy, tất cả các môi trường đều hình thành rễ, tuy nhiên khả năng hình thành rễ của chồi cây Đông hầu vàng khác nhau ở các môi trường khác nhau. Các môi trường có chất kích thích sinh trưởng IBA đều cho tỷ lệ chồi ra rễ cao hơn nhiều so với môi trường đối chứng (môi trường không có chất kích thích sinh trưởng IBA). Trong các công thức môi trường có chất kích thích sinh trưởng thì môi trường CT3 (môi trường có IBA với nồng độ 0,7 mg/l) là môi trường cho tỷ lệ chồi ra rễ cao nhất (sau 8 tuần đạt 75%). Môi trường CT4 có nồng độ IBA (1,0 mg/l) cao hơn môi trường CT3 (0,7 mg/l) nhưng tỷ lệ chồi ra rễ thấp hơn, cho thấy nồng độ IBA cao gây ức chế khả năng hình thành rễ cây Đông hầu vàng.

Bảng 2. Ảnh hưởng của IBA đến khả năng tạo rễ cây Đông hầu vàng

Công thức	Nồng độ IBA (mg/l)	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Tổng số rễ/ mẫu	Chất lượng rễ
Sau 6 tuần				
ĐC	0	3,57	0,10 $\pm$ 0,04	+
CT1	0,2	53,57	0,43 $\pm$ 0,15	+
CT2	0,4	53,57	0,82 $\pm$ 0,30	+
CT3	0,7	60,71	0,86 $\pm$ 0,26	+
CT4	1,0	46,43	0,64 $\pm$ 0,26	+
Sau 8 tuần				
ĐC	0	10,71	0,32 $\pm$ 0,12	+
CT1	0,2	50	1,11 $\pm$ 0,25	+
CT2	0,4	53,57	1,62 $\pm$ 0,38	+++
CT3	0,7	75	1,89 $\pm$ 0,34	+++
CT4	1,0	67,86	1,29 $\pm$ 0,32	+++

(Ghi chú: +: Rễ mảnh, ngắn; ++: Rễ mảnh, dài; +++: Rễ mảnh, dài và nhiều)

Vì vậy, trong thí nghiệm này, công thức môi trường CT3 là môi trường chứa IBA thích hợp cho sự tạo rễ cây Đông hầu vàng.

Từ kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của các chất kích thích sinh trưởng thuộc nhóm auxin (α -NAA, IBA) cho thấy, môi trường chứa IBA 0,7 mg/l là môi trường thích hợp nhất cho sự tạo rễ cây Đông hầu vàng. Ta thấy môi trường có α -NAA 0,7 mg/l và môi trường có IBA 0,7 mg/l đều cho tỷ lệ chồi ra rễ cao nhất

là 75% nhưng môi trường có IBA 0,7 mg/l cho số lượng rễ/chồi trung bình (sau 8 tuần là 1,89 rễ/ chồi) cao hơn môi trường có α -NAA 0,7 mg/l (sau 8 tuần là 1,39 rễ/ chồi). Do vậy, môi trường thích hợp cho sự tạo rễ cây Đông hầu vàng là MS bổ sung IBA 0,7 mg/l.

Các cây được tạo thành sau khi cấy trong môi trường tạo rễ sẽ được chọn lọc để đưa ra ngoài môi trường. Chọn các cây có đủ rễ (≥ 3 rễ), đủ lá (≥ 8 lá), đủ chiều cao (≥ 7 cm), mập và khỏe để đưa ra môi trường bên ngoài.

Nghiên cứu giá thể thích hợp đưa cây Đông hầu vàng ra ngoài tự nhiên

Lựa chọn giá thể thích hợp để đưa cây ra ngoài vườn ươm cũng là một khâu quan trọng trong quá trình nhân giống vô tính. Cây in vitro được nuôi trong điều kiện ổn định về nguồn dinh dưỡng, ánh sáng, nhiệt độ... Khi chuyển ra ngoài môi trường tự nhiên hoàn toàn khác nên cây con dễ bị chết do mất nước, nhiệt độ cao... Vì thế ta phải tiến hành làm cho cây con thích nghi dần với điều kiện ngoài tự nhiên. Trước khi đem cây ra trồng ngoài vườn ươm, ta đưa cây ra khỏi phòng cấy đặt trong điều kiện nhiệt độ phòng bình thường, bỏ nắp giấy và nút bông, để khoảng 24h. Sau đó lấy cây ra khỏi bình, đem trồng trong các giá thể nghiên cứu. Trong thời gian cây con thích nghi với điều kiện môi trường (tối thiểu là khoảng 2-3 tuần), cây con cần được chăm sóc và bảo vệ cẩn thận.

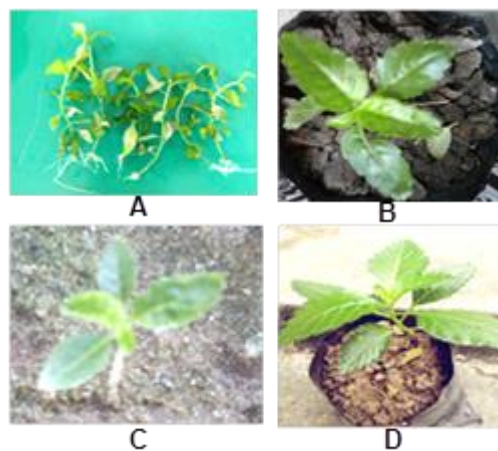
Cây con sau khi được đưa ra khỏi bình (hình 3) sẽ được trồng vào các loại giá thể. Các bầu này được cho vào các khay, đặt nơi ánh sáng khuếch tán, thoáng mát, tưới đủ ẩm mỗi ngày để cây con dần thích nghi với điều kiện bên

ngoài. Tỷ lệ cây con sống sau 8 tuần trên các loại giá thể khác nhau thu được ở bảng 3 và hình 3.

Kết quả bảng 3 cho thấy: Trên giá thể là đất thịt trung bình: Phân vi sinh, tỷ lệ cây sống đạt rất thấp là 50% do cây con đang còn non yếu mà lại được trồng trong giá thể có lượng phân vi sinh lớn nên cây không thích nghi được với loại giá thể này nên chỉ có 15 cây sống trên tổng số 30 cây được trồng.

Đối với giá thể là cát, tỷ lệ cây sống đạt thấp là 56,67% do cây con đang còn non được trồng trong giá thể không tơi xốp, khi tưới nước, cát nén chặt xuống làm cây phát triển kém và không thích nghi được với loại giá thể này.

Đối với giá thể là đất thịt trung bình và đất thịt trung bình: Cát, tỷ lệ cây sống đạt lần lượt là 80, 83,33%. Tỷ lệ này tương đối cao nhưng đây không phải là giá thể thích hợp để trồng cây vì một số cây con không thích nghi được đã bị chết và cây con phát triển còn chậm.



Hình 3. Cây Đông hầu vàng in vitro trong vườn ươm (A: Cây in vitro, B: DC, C: CT2, D: CT5)

Bảng 3. Ảnh hưởng của giá thể đến cây trồng trong bầu

Công thức	Thành phần giá thể	Tỷ lệ	Số cây trồng	Tỷ lệ cây sống (%)	Chiều cao cây (cm)
ĐC	Đất thịt	1	30	80	6,06 $\pm$ 0,60
CT1	Cát	1	30	56,67	4,01 $\pm$ 0,66
CT2	Đất thịt: Cát	2:1	30	83,33	6,25 $\pm$ 0,53
CT3	Đất thịt: Phân vi sinh	2:1	30	50	6,10 $\pm$ 1,15
CT4	Đất thịt: Cát: Phân vi sinh	2:1:1	30	90	9,19 $\pm$ 0,65

Trên giá thể đất thịt trung bình: Cát: phân vi sinh, tỷ lệ cây con sống cao (đạt 90%), cây mập, khỏe, lá to, xanh thẫm, dày bản, chiều cao cây trung bình đạt 9,19 cm. Như vậy, trong phạm vi

của thí nghiệm này, giá thể phù hợp giai đoạn luyện cây trong vườn ươm là giá thể gồm đất thịt trung bình: cát: phân vi sinh theo tỷ lệ 2:1:1.

KẾT LUẬN

Công thức môi trường thích hợp nhất cho sự tạo rễ cây Đông hầu vàng là MS bổ sung IBA 0,7 mg/l. Giá thể thích hợp nhất cho cây Đông hầu vàng sinh trưởng ở giai đoạn vườn ươm trước khi trồng cây trong sản xuất là đất thịt trung bình: cát: phân vi sinh theo tỷ lệ 2:1:1.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Brito N. J., López J. A., Do Nascimento M. A., Macêdo J. B., Silva G. A., Oliveira C. N., De Rezende A. A., Brandão-Neto J., Schwarz A., Almeida M. D. (2012), "Antioxidant activity and protective effect of *Turnera ulmifolia* Linn. var. *elegans* against carbon tetrachloride-induced oxidative damage in rats", *Food Chem. Toxicol.*, 50(12), pp. 4340-4347.
2. Gracioso J. de S., Vilegas W., Hiruma-Lima C. A., Souza Brito A. R. (2002), "Effects of tea from *Turnera ulmifolia* L. on mouse gastric mucosa support the Turneraceae as a new source of antiulcerogenic drugs", *Biol. Pharm. Bull.*, 25(4), pp. 487-491.
3. Kalimuthu K., Prabakaran R. and Preeetha V. (2014), "Direct and indirect micropropagation of *Turnera ulmifolia* L. A medicinal plant", *World Journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 3 (8), pp. 785- 793.
4. Chu Văn Mẫn (2000), *Ứng dụng tin học trong sinh học*, Nxb Đại học quốc gia Hà Nội.
5. Nascimento M. A., Silva A. K., França L. C., Quignard E. L., López J. A., Almeida M. G. (2006), "*Turnera ulmifolia* L. (Turneraceae): preliminary study of its antioxidant activity", *Bioresour Technol.*, 97(12), pp. 1387-1391.
6. "Họ Đông hầu- cây Đông hầu (*Turnera diffusa* loài biến thể *Aphrodisiaca* (Turneraceae)", <http://www.bachkhoatrithuc.vn>, trích dẫn 22/3/2015.

SUMMARY

STUDY ON CREATION OF *IN VITRO* ROOTS AND TREES IN *Turnera ulmifolia* PLANTS

Phạm Thị Thanh Nhân^{1*}, Hoàng Sam²

¹TNU - University of Education

²Institute of Native Medicine

"Yellow alder" (*Turnera ulmifolia* L.) is well-known for a popular medical plant in the Americas with the uses to enhance reproductive health, treat premature ejaculation and impotence in men. Arbutin in it has an effect on whitening our skin naturally due to the ability to inhibit enzymes, which produce melanin without harm side-effects, prevent anti-aging and free radicals, tighten and smoothen skin. The extracted solution from leaves stimulates the activity of antioxidant enzymes (glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase). This paper presents the results of studying on sterilizing plant materials and effects of auxin on root formation of *T. ulmifolia* from Americas in order to find a multiplication process to develop this plant in Vietnam. The optimum medium formula for the root formation of *T. ulmifolia* is the basal MS medium supplemented with 0.7mg/l IBA. The suitable medium for them to develop at the nursery stage before growing in the mass-production is medium soil: sand: microbiological fertilizer with the ratio of 2: 1: 1.

Key words: IBA, whitening, NAA, shoot formation, *Turnera ulmifolia* L.

Ngày nhận bài: 25/12/2017; Ngày phản biện: 07/01/2018; Ngày duyệt đăng: 30/01/2018

* Tel: 0989 516346; Email: ptnhansptn@gmail.com