

DOI:10.22144/ctu.jvn.2022.121

## HOẠT TÍNH KHÁNG NẤM CỦA RUTIN VÀ CÁC CAO CHIẾT TỪ CÂY THỐC LÉP BA HOA *Desmodium triflorum*: NGHIÊN CỨU PHÂN LẬP, BIOASSAY VÀ BÀO CHẾ DẠNG NANO

Nguyễn Ngọc Hiếu<sup>1</sup>, Lê Thế Tâm<sup>2</sup>, Vũ Đình Hoàng<sup>3</sup>, Võ Thị Kiều Anh<sup>4</sup>, Lê Đăng Quang<sup>4\*</sup>, Đoàn Minh Dũng<sup>5</sup>, Nguyễn Hữu Tùng<sup>1</sup>, Nghiêm Đức Trọng<sup>6</sup>, Nguyễn Thị Duyên<sup>7</sup>, Nguyễn Cường Quốc<sup>8</sup> và Trần Quang Đệ<sup>8\*</sup>

<sup>1</sup>Khoa Dược, Trường Đại học Phenika

<sup>2</sup>Viện công nghệ hóa sinh và Môi trường, Đại học Vinh

<sup>3</sup>Bộ môn Hóa Dược và Bảo vệ Thực vật, Đại học Bách khoa Hà Nội

<sup>4</sup>Viện Kỹ thuật Nhiệt Đới - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>5</sup>Khoa Công nghệ Sinh học, Đại học Tây Nguyên

<sup>6</sup>Bộ môn Thực vật, Đại học Dược Hà Nội

<sup>7</sup>Viện Hóa học Công nghiệp Việt Nam

<sup>8</sup>Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Lê Đăng Quang (email: ledangquang2011@gmail.com);

Trần Quang Đệ (email: tqde@ctu.edu.vn)

### ABSTRACT

*Desmodium triflorum* is a common and widely used medicinal plant in folk medicine. In the ongoing project, the in vivo and in vitro bioassays of the extracts and rutin isolated from *Desmodium triflorum* against some plant pathogenic fungi were conducted. The extracts of *D. triflorum* displayed in vitro antifungal activity against *Magnaporthe grisea*, *Sclerotium rolfsii* (SR), *Fusarium oxysporum* and the strains of *Colletotrichum sp.* at 1000 µg/mL. In addition, the methanol extract suppressed rice blast caused by *M. grisea* on the rice seedlings by 50% at 1000 and 3000 µg/mL in vivo. The presence of rutin in this plant was determined as a major flavonoid by isolation and HPLC analysis. Besides, in vitro antifungal activity of rutin and its nanoformulation (the average particle size of 669.3 nm and zeta potential of -18.5 mV) was evaluated against *Colletotrichum sp.* and SR. Both rutin and nanorutin showed good inhibition for SR; of which nanorutin exhibited an enhancement of its inhibition for SR and *Colletotrichum gloeosporioides*. The study results confirmed the antifungal activity of *D. triflorum* and its botanical materials and suggested that they could be used for controlling fungal plant diseases.

### TÓM TẮT

Thốc lép ba hoa (*Desmodium triflorum*) là cây thuốc nam được sử dụng phổ biến và rộng rãi trong y học dân gian. Thử nghiệm in vivo và in vitro của các cao chiết và hoạt chất rutin từ cây thốc lép ba hoa với một số nấm gây bệnh thực vật đã được tiến hành. Các cao chiết từ cây thốc lép ba hoa thể hiện hoạt tính in vitro ức chế nấm *Magnaporthe grisea*, *Sclerotium rolfsii* (SR), *Fusarium oxysporum* và các chủng *Colletotrichum sp.* ở 1000 µg/mL. Ngoài ra, cao methanol ức chế bệnh đạo ôn do *M. grisea* gây ra trên cây lúa 50% ở 1000 và 3000 µg/mL in vivo. Sự hiện diện của rutin trong cây được tiến hành bằng phân tách và HPLC. Hoạt tính in vitro của rutin và nanorutin (kích thước hạt 669,3 nm và thế zeta -18,5 mV) được đánh giá với SR và *Colletotrichum sp.* Cả rutin và nanorutin đều ức chế nấm SR và nanorutin thể hiện hoạt tính tốt hơn khi thử với SR và *Colletotrichum gloeosporioides*. Các kết quả nghiên cứu đã xác nhận hoạt tính kháng nấm của thốc lép ba hoa và hoạt chất từ nó có thể được sử dụng để kiểm soát bệnh nấm hại cây trồng.

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 27/04/2022

Ngày nhận bài sửa: 26/05/2022

Ngày duyệt đăng: 14/06/2022

### Title:

Antifungal activity of rutin and extracts from *Desmodium triflorum*: Isolation, bioassay and nanoformulation studies

### Từ khóa:

Cây thốc lép ba hoa, *Colletotrichum spp.*, hoạt tính kháng nấm, nano rutin

### Keywords:

Antifungal activity, *Colletotrichum spp.*, *Desmodium triflorum*, nano rutin

## 1. GIỚI THIỆU

Cây thóc lép ba hoa còn gọi là hàn the ba hoa hay tràng quả ba hoa (Hình 1), là cây dược liệu có vị đắng, tính mát, có tác dụng giải nhiệt, thông tiểu và điều hòa kinh nguyệt. Lá cây có tác dụng lợi sữa, cầm tiêu chảy và kiết lỵ, tác dụng tiêu viêm tiêu sưng. Đây là hoa là loài cây liên nhiệt đới, thường mọc dại ở sân cỏ, dọc đường đi, vùng đồng bằng khắp nước ta. Cây bụi mọc lan có thể tới 50 cm. Lá có 3 lá chét, nhỏ, phiến lá chét hình xoan ngược kích thước khoảng 1 cm (Bích và ctv., 2004; Chi, 2012). Hiện nay chưa có nhiều nghiên cứu về thành phần và hoạt tính kháng nấm hại cây trồng của cây thóc lép ba hoa.



Hình 1. Hình ảnh cây thóc lép ba hoa (*D. triflorum*)

Những năm gần đây, việc ứng dụng hợp chất tự nhiên và công nghệ nano trong lĩnh vực nông nghiệp đang là một hướng đi mới nhiều triển vọng và ngày càng được nghiên cứu chuyên sâu (Martin et al., 2017; Nisha et al., 2021). Công nghệ nano trong lĩnh vực nông nghiệp cung cấp các tác nhân hóa học mới, kết quả là sản xuất phân bón nano, thuốc diệt cỏ nano, thuốc trừ sâu nano, ... Trong nông nghiệp, công nghệ nano cho phép cải thiện năng suất, chất lượng cây trồng, hứa hẹn sẽ giảm lượng thuốc trừ sâu trong sản xuất nông nghiệp, giúp tăng hiệu quả kinh tế và thân thiện với môi trường (Dũng và ctv., 2017; Thiago et al., 2020). Trong nghiên cứu này, hoạt tính kháng nấm của các cao chiết từ cây thóc lép ba hoa đã được khảo sát với một số nấm gây bệnh hại cây trồng. Phân lập rutin và sử dụng rutin bào chế một dạng công thức nano có hoạt tính kháng nấm gây bệnh hại cây trồng.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nguyên liệu và hóa chất

#### 2.1.1. Nguyên liệu

Mẫu cây thóc lép ba hoa được thu mua tại chợ dược liệu (3,8 kg) tháng 11/2019 và được nhận dạng bởi ThS. Nghiêm Đức Trọng - Đại học Dược Hà Nội. Tiêu bản được lưu trữ tại trường Đại học Dược Hà Nội.

#### 2.1.2. Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu

Một số hóa chất sử dụng trong nghiên cứu gồm: methanol (MeOH); *n*-hexane (Hex); ethyl acetate

(EtOAc); dichloromethane (DCM), *n*-butanol (BuOH), toluene, acid formic, Tween 80, polyethylene glycol 400 (PEG 400); dung môi ethanol, acetonitrile (ACN) và nước cất.

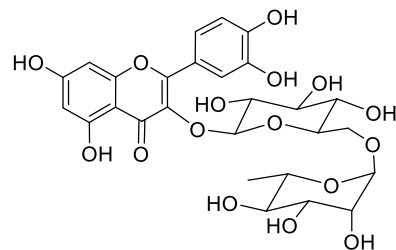
Các chủng nấm sử dụng trong nghiên cứu là nấm *SR* gây bệnh héo rũ gốc, nấm *Fusarium oxy sporum* gây bệnh héo vàng trên cây cà chua, nấm *Colletotrichum orbiculare*; nấm *Colletotrichum coccodes*; nấm *Colletotrichum gloeosporioides*; *Colletotrichum acutatum* gây bệnh thán thư và nấm *Magnaporthe grisea* gây bệnh đạo ôn. Các chủng nấm sử dụng do Viện Bảo vệ Thực vật và Viện Nghiên cứu Công nghệ hóa học Hàn Quốc (KRICT) cung cấp.

Môi trường nuôi cấy nấm sử dụng trong nghiên cứu là môi trường potato dextrose agar (PDA) có thành phần (g/L): agar 20g, dextrose 20g và khoai tây 200g.

### 2.2. Chế tạo cao chiết và phân lập hoạt chất rutin

Ba gram cao chiết BuOH từ cây thóc lép ba hoa được cho lên cột sắc kí silica-gel (40–63 µm, 3x23 cm). Dung môi rửa giải theo gradient nồng độ Hex/EtOAc (70:30–0:100, v/v) tới hệ EtOAc/MeOH (80:20–0:100, v/v), hứng vào các ống nghiệm thể tích 20ml, sau đó, gộp các ống có  $R_f$  vết giống nhau vào cùng một ống nghiệm thu được 12 phân đoạn từ 1-12.

Tinh chế phân đoạn 7 được tiến hành nhiều lần trong hỗn hợp dung môi EtOAc/MeOH thu được tinh thể màu vàng, định tính lại trong hệ dung môi EtOAc/acid formic/nước (8:1:1, v/v/v), kết quả thu được 1 vết tròn chứng tỏ cấu tử là đơn chất. Đơn chất này được kiểm tra với chất chuẩn rutin bằng phương pháp sắc kí lớp mỏng TLC và kết hợp với phân tích HPLC cho thấy đơn chất này là rutin (Hình 2).



Hình 2. Cấu trúc hóa học của rutin

Bên cạnh đó, dữ liệu  $^1\text{H-NMR}$  cũng phù hợp với dữ liệu của rutin đã công bố.  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 7,59 (1H, *dd*,  $J = 9,0$ ; 2,1 Hz, C<sub>6</sub>-H), 7,54 (1H, *d*,  $J = 2,1$  Hz, C<sub>2</sub>-H), 6,85 (1H, *d*,

$J = 9,0$  Hz,  $C_5\text{-H}$ ), 6,40 (1H,  $d$ ,  $J = 2,0$  Hz,  $C_8\text{-H}$ ), 6,20 (1H,  $d$ ,  $J = 2,0$  Hz,  $C_6\text{-H}$ ), 5,32 (1H,  $d$ ,  $J = 7,2$  Hz,  $C_{1'}$ ), 4,39 (1H,  $d$ ,  $J = 1,6$  Hz,  $C_{1''}$ ), 3,83–3,35 (10H,  $m$ ,  $H\text{-}2''\text{-}6ab''$  và  $2''\text{-}5''$ ), 0,99 (3H,  $d$ ,  $J = 6,2$  Hz).

### 2.3. Phương pháp sắc kí lỏng hiệu năng cao HPLC

Cao MeOH thóc lép ba hoa được phân tích định lượng hàm lượng rutin bằng phương pháp HPLC. Mẫu cao MeOH và hợp chất rutin được hòa tan trong dung môi DMSO, lắc đều bằng vortex rồi siêu âm 05 phút, sau đó lọc qua màng lọc 0,45  $\mu\text{m}$ . Bảo quản ở  $-20^\circ\text{C}$ . Sau đó, máy Agilent 1260 Infinity II HPLC được chạy với điều kiện sau: Cột Agilent Eclipse XDB-C18 (4,6  $\times$  250mm; 5  $\mu\text{m}$ ), dung dịch rửa giải: A (0.1% acid formic trong  $\text{H}_2\text{O}$ ), B (ACN) 0–40 phút: 5–50% B, tốc độ dòng 1,0 mL/phút, nhiệt độ  $40^\circ\text{C}$ , thể tích mẫu: 10  $\mu\text{L}$ , nồng độ mẫu cao chiết  $\sim 10$  mg/mL, nồng độ mẫu chất:  $\sim 1$  mg/mL.

### 2.4. Tổng hợp nano rutin

#### 2.4.1. Tổng hợp nano rutin

Nano rutin được điều chế dựa trên phương pháp khuấy kết hợp với siêu âm (Senthil & Mohan, 2015; Ahmad et al., 2017). Thành phần nano rutin gồm rutin, Tween 80, PEG 400, ethanol và nước cất. 5 g rutin được sử dụng để hòa vào 30 mL nước, sau đó bổ sung thêm 5 g Tween 80 và 10g PEG 400. Hỗn hợp được đặt trong bể siêu âm và khuấy đều trên máy khuấy cơ tốc độ 500 vòng/phút trong 10 phút thu được dung dịch I<sub>1</sub>. Tiếp đến, 10g Tween 80 được hòa vào 40 mL nước cất và khuấy đều trên máy khuấy cơ tốc độ 500 vòng/phút trong 10 phút thu được dung dịch II<sub>2</sub>. Sau khi thu được 2 dung dịch trên, dung dịch I<sub>1</sub> được tiến hành nhỏ giọt từ từ vào dung dịch II<sub>2</sub> ở tốc độ 3s/giọt trong điều kiện đặt trong bể siêu âm và khuấy đều trên máy khuấy cơ tốc độ 500 vòng/phút. Sau khi nhỏ hết dung dịch I<sub>1</sub> vào dung dịch II<sub>2</sub>, tiếp tục siêu âm hỗn hợp thêm 4 giờ. Kết quả thu được là dung dịch nano sử dụng trong thực nghiệm.

#### 2.4.2. Đánh giá cấu trúc hạt mẫu nano rutin

Đánh giá phân bố kích thước hạt và giãn độ thể zeta bằng phương pháp đo tán xạ động học (DLS: dynamic light scattering) trên máy ZS-100 của hãng Horiba.

### 2.5. Thử hoạt tính *in vitro*

Thử nghiệm hoạt tính kháng nấm bằng phương pháp gây ngộ độc môi trường (poisoned-food technique) để khảo sát hoạt tính của mẫu đối với các chủng nấm thử nghiệm, xác định bằng cách hòa tan

mẫu trong dung môi DMSO, sau đó, mẫu được trộn vào môi trường PDA nóng chảy theo đúng nồng độ thử nghiệm (Grover & Moore, 1962; Do et al., 2022). Hoạt chất difenoconazole (Score 250EC) được sử dụng làm đối chứng dương. Các khoan nấm 7 ngày tuổi được cấy vào trung tâm đĩa môi trường PDA. Sau khi cấy, chủng nấm được nuôi trong tủ định ôn ở nhiệt độ  $25^\circ\text{C}$  trong 2–4 ngày và đo đường kính tản nấm.

Hiệu quả kháng nấm được tính theo công thức (1):

$$C_V(\%) = 100 \times \frac{D_c - D_t}{D_c - 4} \quad (1)$$

Trong đó  $D_c$  là đường kính tản nấm trên đĩa petri đối chứng (mm); 4 là đường kính khoan agar-nấm;  $D_t$  là đường kính tản nấm trên đĩa petri trộn chất thí nghiệm (mm) tại thời điểm kiểm tra.

### 2.6. Thử hoạt tính *in vivo*

Hoạt tính kháng nấm *in vivo* của cao chiết MeOH từ cây thóc lép ba hoa được thử nghiệm trên chủng nấm *M. grisea* gây bệnh đạo ôn trên cây lúa. Thí nghiệm *in vivo* được thực hiện tại nhà kính tại KRICT. Tại mỗi nồng độ thí nghiệm, mẫu đánh giá lặp lại 3 lần. Thuốc được phun 2 lần, lượng nước thuốc sử dụng 30 mL/1 công thức. Cao MeOH được hòa tan trong dung môi DMSO trước khi thử hoạt tính sinh học. Đối chứng âm là nước cất, đối chứng dương là thuốc hóa học tricyclazole nồng độ 10  $\mu\text{g/mL}$ . Phương pháp lây bệnh nhân tạo: Cây trồng thử nghiệm được trồng trong chậu nhỏ đường kính 7 cm. Sau 20 ngày, dịch bào từ nấm *M. grisea* được phun với nồng độ  $10^4$  bào tử/mL. Chăm sóc và giữ ẩm cho nấm gây bệnh xâm nhập và phát triển (Do et al., 2022). Hiệu lực ức chế được đánh giá dựa trên đếm số vết bệnh đạo ôn trên lá lúa so sánh với mẫu đối chứng.

### 2.7. Phân tích kết quả và xử lý thống kê

Số liệu thí nghiệm được thu thập và tổng hợp bằng phần mềm Microsoft Excel và phân tích phương sai ANOVA, kết quả phân hạng theo Duncan bằng phần mềm thống kê SAS 9.1.3.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Kết quả thử nghiệm *in vitro* các cao chiết cây thóc lép ba hoa

Thử hoạt tính *in vitro* với các cao chiết của cây thóc lép ba hoa trên các nấm gây bệnh: *S. Rolfsii* gây bệnh héo rũ gốc mốc trắng, *F. oxysporum* gây bệnh héo vàng trên cây cà chua và nấm *C. orbiculare* gây bệnh thán thư (Bảng 1).

**Bảng 1. Hiệu quả ức chế một số nấm của các cao chiết ở điều kiện *in vitro* tại nồng độ 1000 µg/mL**

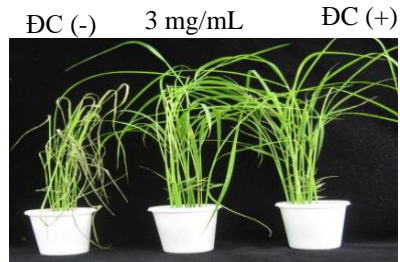
Tên cao	Hiệu quả ức chế (%)			
	<i>S. rolfssii</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>C. orbiculare</i>	<i>M. grisea</i>
MeOH	23,94 <sup>c</sup>	15,12 <sup>a</sup>	29,14 <sup>a</sup>	35,65 <sup>a</sup>
Hex	55,06 <sup>b</sup>	7,71 <sup>b</sup>	29,29 <sup>b</sup>	
DCM	40,07 <sup>bc</sup>	17,40 <sup>ab</sup>	34,29 <sup>ab</sup>	
EtOAc	53,65 <sup>bc</sup>	15,42 <sup>ab</sup>	49,29 <sup>ab</sup>	
BuOH	73,79 <sup>a</sup>	15,20 <sup>a</sup>	28,21 <sup>a</sup>	
Nước	28,95 <sup>bc</sup>	7,05 <sup>b</sup>	28,57 <sup>b</sup>	

Hiệu quả ức chế được xác định tại thời điểm 2 ngày sau khi nuôi cấy. Các giá trị cùng một cột có chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa qua phép thử Duncan. Điều kiện nuôi trong tủ định ôn ở nhiệt độ 25°C.

Thử nghiệm hoạt tính kháng nấm của các cao chiết từ cây thóc lép ba hoa cho thấy, cao chiết EA và BuOH có hiệu lực ức chế tốt nhất, sau đó đến cao chiết Hex, cao DCM, cao MeOH và cao nước. Nhìn chung, hiệu lực ức chế nấm của các cao thể hiện tốt nhất với nấm *S. rolfssii* gây bệnh héo rũ gốc mốc trắng, hiệu lực trung bình với nấm *C. orbiculare* gây bệnh thán thư và đều có hiệu lực ức chế yếu với nấm *F. oxysporum* gây bệnh héo vàng trên cây cà chua. Cao chiết BuOH có hiệu lực ức chế *S. rolfssii* tốt nhất trên tất cả các nấm so với các cao chiết còn lại của thóc lép ba hoa.

**3.2. Thử hoạt tính *in vivo* cao chiết MeOH cây thóc lép ba hoa**

Thử nghiệm *in vivo* của cao chiết MeOH trên cây lúa non với tác nhân gây bệnh đạo ôn *M. grisea* ở nồng độ 1 và 3 mg/mL. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần, kết quả thu được cho thấy rằng ở nồng độ 1-3 mg/mL cao chiết MeOH có hiệu quả đối với bệnh đạo ôn và đồng thời không gây độc thực vật trên cây lúa thử nghiệm (Hình 3). Cao chiết MeOH cho hiệu lực ức chế cao nhất đạt 50% ở cả 2 nồng độ 1 mg/mL và 3 mg/mL và không gây độc cho cây lúa khi nồng độ tăng từ 1 tới 3 mg/mL. Khi tăng nồng độ thử nghiệm từ 1mg/ml lên 3mg/mL, hiệu quả kháng nấm *M. grisea* của cao MeOH không tăng, do đó nồng độ 1mg/mL là nồng độ tối ưu. Trên mẫu thử nghiệm sử dụng cao chiết MeOH xuất hiện ít các vết bệnh đạo ôn, cây phát triển xanh tốt, chiều cao vượt trội so với mẫu thử nghiệm đối chứng âm.

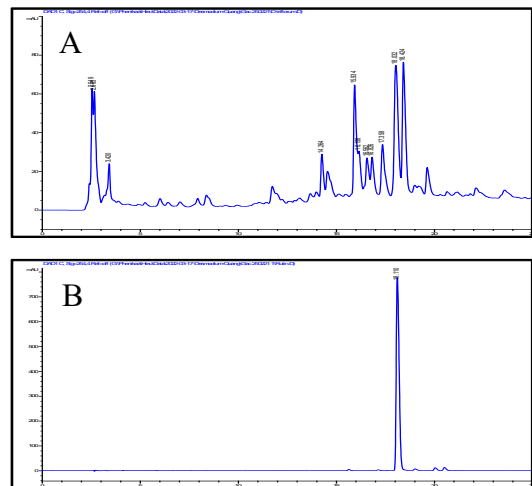


**Hình 3. Hình ảnh thử *in vivo* của cao chiết MeOH thóc lép ba hoa với nấm *M. grisea* ở nồng độ 3 mg/mL**

ĐC (-): Đối chứng âm; ĐC (+): Đối chứng dương

**3.3. Xác định lượng rutin trong cao chiết methanol thô của cây thóc lép ba hoa**

Phân tích hàm lượng hợp chất rutin trong cao chiết MeOH bằng phương pháp HPLC, sắc kí đồ của cao chiết MeOH thô và hoạt chất rutin thể hiện trong Hình 4.



**Hình 4. Sắc kí đồ HPLC của cao chiết MeOH (A) và hợp chất rutin (B)**

(Điều kiện chạy: Cột Agilent Eclipse XDB-C18 (4.6 × 250 mm; 5 µm); dung môi rửa giải: A (0.1% acid formic trong H<sub>2</sub>O); B (ACN) 0–40 phút: 5–50% B; tốc độ dòng 1.0 mL/phút; nhiệt độ cột 40 °C; thể tích mẫu tiêm: 10 µL, nồng độ mẫu cao chiết ~ 10 mg/mL; nồng độ mẫu chất: ~ 1 mg/mL)

So sánh sắc kí đồ của cao chiết MeOH và hợp chất rutin nhận thấy hợp chất rutin là một hợp chất chính trong cao MeOH.

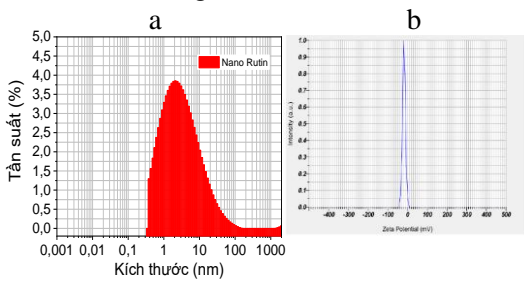


Rutin có nhiều tác dụng trong y học như tăng cường tuần hoàn máu, ngăn chặn hình thành cục máu đông, giảm cholesterol, giảm đau khớp, bảo vệ thành mạch chống xuất huyết (Hương và ctv., 2002; Hằng và ctv., 2008). Tuy nhiên chưa có nhiều nghiên cứu về hoạt tính của rutin về lĩnh vực kháng nấm gây bệnh hại cây trồng, đặc biệt là nghiên cứu về chế tạo một vật liệu nano từ hoạt chất rutin.

**3.4. Bào chế nano rutin**

Nghiên cứu thử nghiệm công thức nano rutin thu được một công thức nano rutin có màu vàng nhạt, hàm lượng rutin cao lên tới 5%, không quan sát thấy hiện tượng kết tủa, đông tụ hoặc keo tụ của các chất phân tán. Mẫu ổn định với chất hoạt động bề mặt Tween 80 giúp tăng độ tan, độ phân tán của hoạt chất, ổn định và tăng độ bền mẫu.

Kết quả phân tích bằng phương pháp tán xạ ánh sáng động DLS với mẫu nano rutin nhằm đo đường kính hạt và xác định độ phân tán của mẫu. Kết quả được thể hiện trong Hình 5.



**Hình 5. Phân tích đặc điểm của mẫu nano rutin bằng DLS**

(a. phân bố kích thước hạt; b. thế zeta)

Kết quả cho thấy, mẫu nano rutin thu được có kích thước hạt trung bình đạt 699,3 nm với chỉ số phân tán đa sắc PI là 0,267. Thế zeta thường được sử dụng để đánh giá cho sự ổn định. Thế zeta dưới ±15 mV, các hạt sẽ có xu hướng kết tụ (lực đẩy giữa các hạt không đủ lớn), trong khi nếu thế zeta ngoài khoảng ±40 mV tập hợp hạt cũng mất sự ổn định do khoảng cách quá xa giữa các hạt (Katharina et al., 2020). Thế zeta đo được của mẫu đạt -18,5 mV (Hình 5b). Như vậy, với kết quả đo được thì thế zeta đạt được là khá tối ưu, khẳng định tính bền vững và ổn định của hệ nano rutin đang được nghiên cứu.

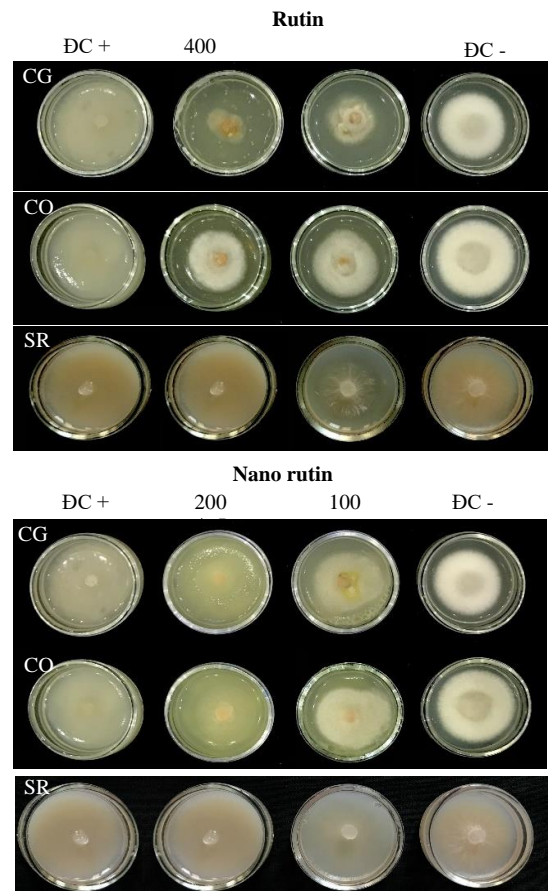
**3.5. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ nano rutin đến sự phát triển của nấm**

Thử hoạt tính hợp chất rutin với một số nấm như nấm *C. orbiculare*; nấm *C. gloeosporioides* và nấm *S. rolfisii* tại nồng độ 100–200 µg/mL đối với nano rutin và 200–400 µg/mL đối với rutin. Kết quả cho thấy hợp chất rutin và nanorutin cho kết quả như Bảng 2.

**Bảng 2. Kết quả thử hoạt tính hợp chất rutin và nanorutin sau 3 ngày thử nghiệm**

Thử nghiệm	Rutin		Nano rutin	
	Nồng độ (µg/mL)	3DAT	Nồng độ (µg/mL)	3DAT
<i>C. gloeosporioides</i>	200	40,08 <sup>b</sup>	100	14,94 <sup>b</sup>
	400	58,04 <sup>a</sup>	200	54,60 <sup>a</sup>
<i>C. orbiculare</i>	200	31,34 <sup>a</sup>	100	12,19 <sup>a</sup>
	400	14,43 <sup>a</sup>	200	27,11 <sup>a</sup>
<i>S. rolfisii</i>	200	43,96 <sup>b</sup>	100	38,86 <sup>b</sup>
	400	100 <sup>a</sup>	200	100 <sup>a</sup>
Score 250 EC	100	100 <sup>a</sup>	100	100 <sup>a</sup>

Score 250 EC - thuốc làm đối chứng dương; DAT- ngày sau thử nghiệm. Nuôi trong tủ định ôn ở nhiệt độ 25°C). Các giá trị thử nghiệm với mỗi nấm, trong cùng một cột có chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa qua phép thử Duncan.



**Hình 6. Khả năng ức chế nấm của rutin và nanorutin đối với các nấm bệnh cây trồng.**

(CO: *C. orbiculare*, CG: *C. gloeosporioides*, SR: *S. rolfisii*, DAT- ngày sau thử nghiệm. Nuôi trong tủ định ôn ở nhiệt độ 25°C)

Thử nghiệm rutin và nano rutin với các nấm gây bệnh giống nhau ở nồng độ hoạt chất của nano rutin nhỏ hơn rutin 2 lần, cụ thể là tại nồng độ 100-200 µg/mL đối với nano rutin và 200-400 µg/mL đối với rutin. Kết quả cho thấy, hiệu lực của nano rutin ở 100–200 µg/mL đối với các nấm CO và CG tương đương và không chênh lệch nhiều hiệu lực của rutin ở nồng độ 200–400 µg/mL. Ở nồng độ 400 µg/mL đối với rutin và 200 µg/mL đối với nano rutin cho thấy hiệu lực ức chế đạt trên 50% đối với tất cả các nấm đã thử, đặc biệt là hiệu lực ức chế với *S. rolfsii* đạt 100% khi nồng độ rutin trong dạng nano đạt 200 µg/mL. Trong khi chỉ thử nghiệm một mình rutin tại 200 µg/mL thì hiệu quả ức chế đạt 43,96% (Bảng 2 và Hình 6).

Kết quả nghiên cứu đã gợi mở tiềm năng sử dụng nano rutin để kiểm soát nấm bệnh cây trồng. Trong tương lai, cần nghiên cứu tối ưu hóa dạng nano rutin

có hiệu lực cao, thử nghiệm hoạt tính kháng nấm của nó trên các nấm bệnh khác và đánh giá hiệu lực trên cây ở quy mô lớn hơn.

#### 4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu góp phần làm rõ đặc điểm của các cao chiết và rutin từ cây thóc lép ba hoa với hoạt tính ức chế một số nấm bệnh hại cây trồng. Bên cạnh đó, công thức nano rutin có hoạt tính tốt với nấm *S. rolfsii* đã được chế tạo thành công. Kết quả nghiên cứu cũng gợi mở hướng phát triển các chế phẩm bảo vệ thực vật thảo mộc từ cây thóc lép ba hoa.

#### 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 106.03-2019.17.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ahmad, M., Sahabjada, S., Akhtar, J., Hussain, A., Badaruddeen, Arshad, M., & Mishra, A. (2017). Development of a new rutin nanoemulsion and its application on prostate carcinoma PC3 cell line. *EXCLI Journal*, 16, 810–823.
- Bích, Đ. H., Chung, Đ. Q., Chương, B. X., Dong, N. T., Đàm, Đ. T., Hiến, P. V., Lộ, V. N., Mai, P. D., Mãn, P. K., Như, Đ. T., Tập, N., & Toàn, T. (2004). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, tập 1*. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
- Chi, V. V. (2012). *Từ điển cây thuốc Việt Nam. Tập 1*. NXB Y học, Hà Nội.
- Do, T. H. T., Pham, T. H., Pham, G. V., Vo, K. A., Nguyen, T. T. T., Vu, D. H., Nguyen, X. C., Vu, V. H., Nghiem, D. T., Choi, G. J., Nguyen Ngoc, H., Nguyen, H. T., Trinh, X. H., & Le., D. Q. (2022). Potential use of extracts and active constituent from *Desmodium sequax* to control fungal plant diseases. *International Journal of Agricultural Technology*, 18(2), 489–502.
- Dũng, P. Đ., Thắng, N. T., Hiệt, H. Đ., Hung, L. T., Nghĩa, Đ. H., & Lê, B. V. (2017). Nghiên cứu khả năng kháng nấm *Colletotrichum gloeosporioides* gây bệnh thán thư trên cây ớt (*Capsicum frutescens* L.) của chế phẩm Oligochitosan – nano silica (SiO<sub>2</sub>). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 48(B), 66–70. <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2017.618>
- Grover, R. K., & Moore, J.D. (1962). Toxicometric studies of fungicides against brown rot organisms *Sclerotinia fructicola* and *S. laxa*. *Phytopathology*, 52, 876–880.
- Hằng, N. T. B., Kỳ, P. T., Linh, N. T., & Kiệm, P. V. (2008). Rutin, scutellariosid II và leonuisid A phân lập từ lá cây vọng cách (*Premna corymbosa* Rottl.ex Willd). *Tạp chí Dược học*, 4(384), 32–36.
- Hương, H. T., Hoa, T. Q., Bảo, H. V. & Thục, N. D. (2002). Góp phần nghiên cứu thành phần flavonoid chiết xuất từ cây diếp cá của Việt Nam. *Tạp chí Dược học*, 9, 13-15.
- Martin, M. G., Angeline, W. M., & John, M. W. (2017). Antifungal activity of essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. against selected *Fusarium* spp. *International Journal of Microbiology*, 2017, 8761610. <https://doi.org/10.1155/2017/8761610>
- Nisha, R. S., Anooj, E. S., Sugumari, V., Karthikeyan, R., & Sugumari, V. (2021). A comprehensive review on regulatory invention of nano pesticides in agricultural nano formulation and food system. *Journal of Molecular Structure*, 1239, 130517. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130517>
- Senthil, K. C., & Mohan, S. (2015). Fabrication, characterization and evaluation of hepatoprotective activity drug loaded flavono nanoparticle delivery system. *The Journal of Phytopharmacology*, 4(2), 90–96. <https://doi.org/10.31254/phyto.2015.4206>
- Thiago, O. M., Sebastian, J. B., Jochen, F., Beate, M., Claudia, S., Pedro, H. H. de A., Katharina, L., & Frederik R. W. (2020). Bio-based lignin nanocarriers loaded with fungicides as a versatile platform for drug delivery in plants. *Biomacromolecules*, 21(7), 2755–2763. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.0c00487>