

Nghiên cứu tính ức chế thực vật của 6 loài cây họ cúc (Asteraceae) và định lượng hàm lượng phenolic và flavonoid tổng

Ngô Chí Nam¹, Phan Khánh Linh², Hồ Lệ Thi^{2*}

¹Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

²Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long

Ngày nhận bài 2/2/2021; ngày chuyển phản biện 8/2/2021; ngày nhận phản biện 5/4/2021; ngày chấp nhận đăng 9/4/2021

Tóm tắt:

Mục đích của nghiên cứu này là xác định khả năng đối kháng thực vật của dịch trích MeOH từ 6 loài cây họ cúc (Asteraceae), bao gồm sài đất (*Wedelia chinensis*), hướng dương (*Helianthus annuus*), sao nháy (*Cosmos bipinnatus*), vạn thọ (*Tagetes erecta*), dã quỳ (*Tithonia diversifolia*) và cúc nhám (*Zinnia elegans*) lên cỏ lồng vực nước (*Echinochloa crus-galli* L.) và cải bẹ xanh (*Brassica juncea*) ở các nồng độ khác nhau: 0,03, 0,1, 0,3 và 1 g/ml. Kết quả cho thấy, dịch trích 6 loài cây họ cúc có khả năng ức chế chiều dài thân và rễ cỏ lồng vực nước, cải bẹ xanh ở mức độ khác nhau, trong đó dịch trích từ cây sao nháy cho kết quả ức chế ổn định nhất. Ở nồng độ 0,03 g/ml, dịch trích này ức chế chiều dài thân, rễ cây cải bẹ xanh là 23,01 và 56,45%; cỏ lồng vực nước là 8,5 và 36,35%. Ở nồng độ 1 g/ml, dịch trích cây sao nháy ức chế chiều dài thân cải bẹ xanh và cỏ lồng vực nước lần lượt là 97,54 và 88,15%, chiều dài rễ lần lượt là 93,52 và 99,99%. Hàm lượng phenolic tổng của dịch trích cây sao nháy, sài đất, hướng dương, dã quỳ, vạn thọ và cúc nhám lần lượt là 4,51, 3,96, 1,05, 1,45, 3,61 và 0,99 mg/g; hàm lượng flavonoid tổng tương ứng là 1,58, 0,76, 0,29, 0,39, 0,65 và 0,45 mg/g. Như vậy, dịch trích từ cây sao nháy có triển vọng cao để ứng dụng trong việc phòng trừ cỏ lồng vực nước bằng biện pháp sinh học, an toàn với môi trường.

Từ khóa: Asteraceae cải bẹ xanh (*Brassica juncea*), cỏ lồng vực nước (*Echinochloa crus-galli* L.), flavonoid, phenolic, tính đối kháng thực vật.

Chỉ số phân loại: 4.1

Đặt vấn đề

Cỏ lồng vực nước thuộc nhóm thực vật C4, kích thước lớn, thích hợp nơi đất ẩm, giàu đạm, có mặt rộng khắp ở các vùng trồng lúa nước, khả năng cạnh tranh cao về dinh dưỡng, nước, ánh sáng... với cây lúa, ảnh hưởng rõ rệt đến năng suất, thậm chí có thể làm giảm đến 100% năng suất lúa.

Tính kháng thuốc diệt cỏ có tác động tiêu cực đến sản xuất mà một trong những nguyên nhân quan trọng là sử dụng cùng một loại thuốc diệt cỏ trong nhiều mùa vụ [1]. Tại Brazil, cỏ lồng vực nước thể hiện tính kháng với hoạt chất imidazilinone 81% (624 mẫu) và quinclorac 19% [2]. Một nghiên cứu cho thấy, cỏ lồng vực nước có thể kháng nhiều loại hoạt chất như: bispyribac-sodium, quinclorac, metamifop... [3]. Cỏ lồng vực nước (An Giang, Kiên Giang, Vĩnh Long) thể hiện tính kháng thuốc ở liều khuyến cáo với hóa chất quinclorac (9/15 mẫu).

Do có khả năng ức chế sinh trưởng và phát triển của cỏ dại, không ảnh hưởng đến môi trường cũng như sức khỏe con người, các chất chuyển hóa thứ cấp từ thực vật đã và đang có xu hướng được sử dụng nhiều trong sản xuất [4-6]. Allelopathy là một cơ chế đối kháng thực vật diễn ra trong cây, các chất hóa học được gọi là allelochemicals (CDK) do cây sinh ra sẽ tác động đến sự phát triển của một số loài cây khác bao gồm cả cỏ dại. Những chất này được phóng thích từ thực vật vào đất bằng

cách tiết ra từ rễ hoặc từ sự phân hủy các mô thực vật [7, 8].

Một số công trình nghiên cứu trên thế giới khẳng định, các loài cây họ cúc chứa CDK như Alpha-terthienyl (α -T) trong rễ cây vạn thọ (*Tagetes erecta*), phenylheptatriene (PHT) từ lá cây cúc áo (*Bidens pilosa* L.) ức chế nảy mầm cỏ ba lá (*Trifolium pratense*), cỏ đuôi mèo (*Phleum pratense*) [9]; hợp chất phenolic [10] từ cây hướng dương, terpenoides từ lá cây hướng dương khô trong dung môi CH_2Cl_2 ức chế lúa mì (*Triticum aestivum* L. cv. Duro) [11]; dehydrocostus lactone, costunolide, 15-isovaleroyloxycostunolide trong cây sao nháy [12] ức chế cỏ lồng vực nước và cây rau dền (*Amaranthus hypochondriacus*); dịch trích cây hướng dương ức chế cây mù tạt (*Brassica kaber*) [13], cải dại (*Sinapis arvensis*), cỏ đuôi chồn (*Setaria viridis*) [14]; dịch trích cây dã quỳ ức chế cây bắp (*Zea mays* L.) [15], lúa [16]; dịch trích cây sài đất ức chế cây rau dền (*Alternanthera philoxeroides*), cỏ hôi (*Eragrostis ciliaris*) [17], lúa (*Oryza sativa* L.) [18], cỏ gà (*Cynodon dactylon*) và cỏ Bahia (*Paspalum notatum*) - một loài cỏ bản địa ở Mexico [19]; dịch trích của cây cúc nhám ức chế cây bắp [20]; dịch trích sao nháy có khả năng làm giảm tỷ lệ nảy mầm, chiều dài rễ hoặc thân mầm cây lúa mì, cỏ ba lá, cỏ lúa mạch (*Lolium multiflorum*), cải bẹ xanh, cà chua Tomatillo (*Physalis ixocarpa*) và củ cải (*Raphanus sativus*) [21].

* Tác giả liên hệ: Email: thihl.clrri@mard.gov.vn

A study on the allelopathic activity and quantitative determination of total phenolic and flavonoid of six plants in the Asteraceae family

Chi Nam Ngo¹, Khanh Linh Phan², Le Thi Ho^{2*}

¹College of Agriculture, Can Tho University

²Cuu Long Delta Rice Research Institute

Received 2 February 2021; accepted 9 April 2021

Abstract:

This study aims to determine the allelopathic activities of six plants that belong to Asteraceae family such as China wedelia (*Wedelia chinensis*), sunflower (*Helianthus annuus*), cosmos (*Cosmos bipinnatus*), marigolds (*Tagetes erecta*), Mexico sunflower (*Tithonia diversifolia*), and zinnia (*Zinnia elegans*) by applying their methanolic extracts on barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* L.) and mustard green (*Brassica juncea*) with different concentrations (0.03, 0.1, 0.3, 1 g/ml). Results conducted from the study showed that the aqueous solutions extracted from the above-mentioned plants inhibited shoot and root length of barnyardgrass, mustard green at different intensity ranges in which cosmos aqueous extract gave the strongest impact, says, 23.01 and 97.54% of shoot length inhibition; 56.45 and 93.52% of root length inhibition at 0.3 and 1.0 g/ml respectively for mustard green. In case of barnyardgrass, the same results were also reported, says, 8.5 and 88.15% of shoot length inhibition; 36.35 and 99.99% of root length inhibition at 0.3 and 1.0 g/ml respectively. Total phenolic contents of the fresh plants of cosmos, China wedelia, sunflower, Mexico sunflower, marigolds and zinnia were 4.51, 3.96, 1.05, 1.45, 3.61, and 0.99 mg/g, respectively; their total flavonoid contents were 1.58, 0.76, 0.29, 0.39, 0.65, and 0.45 mg/g, respectively. It is obvious that cosmos aqueous extract can be effectively and safely used for biological control of barnyardgrass.

Keywords: allelopathic activities, Asteraceae, *Brassica juncea*, *Echinochloa crus-galli* L., flavonoid, phenolic.

Classification number: 4.1

Cho tới nay, Việt Nam vẫn chưa có công trình khoa học nào về phân loại tính đối kháng cỏ dại trong các loài cây trồng thuộc họ cúc nên nghiên cứu vấn đề này để làm cơ sở cho việc phân lập và định danh các CĐK, ứng dụng CĐK trong phòng trừ sinh học cỏ lồng vực nước trong ruộng lúa là rất cần thiết.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

Cây vật liệu: dã quỳ, sài đất, cúc nhám, hướng dương, sao nháy và vạn thọ được thu tại Cần Thơ và Vĩnh Long vào giai đoạn ra hoa.

Cây thử nghiệm: hạt cỏ lồng vực nước, cỏ lồng vực cạn được thu từ ruộng thực nghiệm của Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long. Cải bẹ xanh, sử dụng như là loài so sánh được lấy giống từ Công ty TNHH thương mại Trang Nông (xã Vĩnh Lộc B, huyện Bình Chánh, TP Hồ Chí Minh).

Các loại hóa chất, thiết bị và dụng cụ thí nghiệm có nguồn gốc rõ ràng và được phép sử dụng trong các phòng thí nghiệm.

Phương pháp nghiên cứu

Tách chiết chất đối kháng thực vật: rửa sạch thân, lá, rễ từng loài cúc vào giai đoạn ra hoa, cắt nhỏ 40 g hỗn hợp các bộ phận của cây rồi cho vào bình tam giác với 400 ml MeOH (60%) ngâm trong 48h, sau đó lọc qua giấy thấm, lấy dịch chiết lần thứ nhất trữ vào tủ mát (5-8°C) rồi tiếp tục chiết lần hai bằng 200 ml MeOH 100% ngâm trong 48h. Dung dịch trích cả 2 lần được làm bay hơi dung môi MeOH ở 40-55°C bằng máy cô quay chân không thu được 80 ml dịch trích nước có khả năng chứa chất đối kháng. Dịch trích sau đó được chuẩn độ pH bằng phosphate buffer để đạt được 6,5.

Đánh giá khả năng ức chế của dịch trích lên cây thử nghiệm: cho dịch trích vào đĩa petri có lót giấy lọc với nồng độ tính theo khối lượng tươi của cây họ cúc sử dụng trong thí nghiệm là 0,03, 0,1, 0,3 và 1 g chất tươi/ml. Dịch trích được cho bốc hơi khô trong buồng hút cho tới khi khô hoàn toàn nhằm loại bỏ toàn bộ MeOH còn dư trong dịch trích, sau đó giấy lọc có chứa CĐK khô được làm ẩm lại với 1 ml dung dịch tween 20 (0,05%). 10 hạt cỏ lồng vực nước đã nảy mầm được gieo trên giấy lọc, đặt nắp đĩa và ủ tối ở 25°C. Đối với nghiệm thức đối chứng, hạt cỏ nảy mầm được gieo lên trên giấy lọc với 1 ml dung dịch tween 20 [22]. Thực hiện tương tự với cải bẹ xanh. Chiều dài thân và rễ của cỏ lồng vực nước và cải bẹ xanh được đo sau 48h; tính độ hữu hiệu theo công thức của Abbott.

Đánh giá định tính và định lượng hàm lượng phenolic tổng và flavonoid tổng từ dịch trích:

- Đánh giá định tính hợp chất phenolic và flavonoid: sử dụng 50 µl dịch trích MeOH của mỗi loài cây họ cúc, thêm 500 µl H₂O và 2-3 giọt FeCl₃ (5%), nếu dịch trích có kết tủa màu xanh lam, xanh lá cây hoặc đen tức là có sự hiện diện của hợp chất phenolic và tannin [23].

Sử dụng 50 µl dịch trích MeOH của mỗi loài cây họ cúc, thêm 500 µl Pb(CH₃COO)₂ (10%). Nếu kết quả dịch trích cho kết tủa màu vàng tức là có sự hiện diện của hợp chất flavonoid [24].

- Định lượng phenolic tổng trong dịch trích: hàm lượng phenolic tổng được xác định theo mô tả của Yadav và Agarwala (2011) [25]. Sử dụng MeOH pha loãng dịch trích tới nồng độ 1 mg/ml. Xây dựng đường chuẩn axit gallic theo dãy nồng độ 0,02, 0,04, 0,06, 0,08, 0,10 và 0,12 mg/ml và thuốc thử folin-ciocalteu 10%. Hòa trộn 1 ml axit gallic của đường chuẩn hoặc mẫu dịch trích vào 2,5 ml folin-ciocalteu 10% để phản ứng trong 5 phút rồi thêm 2 ml Na_2CO_3 2% và ủ 45 phút, cuối cùng xác định độ hấp thụ bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 765 nm.

- Định lượng flavonoid tổng trong dịch trích: hàm lượng flavonoid tổng được xác định theo mô tả của Chang và cs (2002) [26]. Dịch trích được pha loãng với MeOH đạt nồng độ 1 mg/ml. Xây dựng đường flavonoid chuẩn quercetin theo dãy nồng độ 0,02, 0,04, 0,06, 0,08 và 0,1 mg/ml. Pha loãng 0,5 ml dung dịch quercetin của đường chuẩn hoặc mẫu dịch trích trong 1,5 ml MeOH, sau đó nhỏ 0,1 ml AlCl_3 10% để phản ứng trong 6 phút rồi thêm 0,1 ml CH_3COOK 1 M và 2,8 ml nước cất, lắc đều và ủ trong 45 phút, cuối cùng xác định độ hấp thụ bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 415 nm.

Kết quả và thảo luận

Khả năng ức chế của dịch trích MeOH từ 6 loài cây họ cúc lên chiều dài thân và rễ cây cải bẹ xanh

Dịch trích MeOH từ 6 loại cây vật liệu có khả năng ức chế chiều dài thân và rễ cây cải bẹ xanh (bảng 1), trong đó, các cây sao nháy, dã quỳ (hình 1), cúc nhám và vạn thọ ở nồng độ 1 g/ml có hiệu quả ức chế chiều dài thân cải bẹ xanh mạnh nhất (lần lượt là 97,54, 97,01, 91,26 và 91,12%), khác biệt có ý nghĩa so với dịch trích cây hướng dương (80,35%) và sài đất (76,01%). Tương tự, ở nồng độ 0,03 g/ml, dịch trích MeOH của cây sao nháy và vạn thọ ức chế thân cải bẹ xanh lần lượt là 23,01 và 23,74%, khác biệt ý nghĩa với 4 dịch trích còn lại, tuy nhiên dịch trích MeOH của cây dã quỳ ở nồng độ này không có hiệu quả ức chế và dịch trích MeOH của cây cúc nhám lại gây kích thích 6,99% sự phát triển của thân cây cải bẹ xanh.

Bảng 1. Hiệu quả ức chế chiều dài thân cải bẹ xanh của dịch trích 6 loại cây họ cúc.

Thí nghiệm	Tỷ lệ ức chế (%)				Trung bình
	0,03 g/ml	0,1 g/ml	0,3 g/ml	1,0 g/ml	
Sao nháy	23,01 ^a	26,17 ^{bc}	52,22 ^a	97,54 ^a	48,56
Sài đất	26,80 ^a	32,41 ^b	32,60 ^d	76,01 ^b	41,28
Hướng dương	1,13 ^b	2,37 ^d	40,25 ^c	80,35 ^b	27,94
Dã quỳ	0 ^b	20,19 ^c	61,22 ^a	97,01 ^a	41,58
Vạn thọ	23,74 ^a	44,52 ^a	56,97 ^{ab}	91,12 ^a	53,37
Cúc nhám	-6,99 ^c	-17,78 ^c	32,17 ^d	91,26 ^a	16,71
Trung bình	10,08	14,72	45,67	90,47	
Ý nghĩa	**				
CV (%)	4,1				

Ghi chú: các giá trị trong cùng một cột có chữ cái đi kèm khác nhau biểu thị sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha=5\%$; **: khác biệt ý nghĩa 1%. Số liệu được chuyển sang dạng $\arcsin(\sqrt{(x/2+1)/100})$ khi thống kê và chuyển ngược lại khi trình bày. So sánh: nghiệm thức x nồng độ, $\text{LSD}_{5\%}=2,26$, $\text{LSD}_{1\%}=3,01$. Dấu “-” thể hiện tính kích thích thân cải bẹ xanh.



Hình 1. Ảnh hưởng của dịch trích MeOH của sao nháy (trái) và dã quỳ (phải) lên chiều dài thân và rễ cải bẹ xanh. Từ trái qua phải nồng độ lần lượt 0, 0,03, 0,1, 0,3 và 1 g/ml chất tươi.

Rễ cây cải bẹ xanh bị ức chế cao khi tiếp xúc với dịch trích MeOH của các cây vật liệu tại nồng độ 0,03 g/ml. Cây vạn thọ và sao nháy cho hiệu quả ức chế cao nhất (60,41 và 56,45%) và tỷ lệ thuận với nồng độ xử lý. Dịch trích MeOH của cây sài đất cho hiệu quả ức chế thấp nhất trên chiều dài rễ cây cải bẹ xanh một cách khác biệt có ý nghĩa thống kê ở nồng độ dịch trích là 0,3 g/ml (bảng 2). Tuy nhiên, ở nồng độ cao nhất (1,0 g/ml), dịch trích MeOH của cả 6 loài cây họ cúc đều gây ức chế cao đến sự tăng trưởng rễ của cải bẹ xanh và đạt từ 88,19 (hướng dương) đến 93,37% (sao nháy).

Bảng 2. Hiệu quả ức chế chiều dài rễ cải bẹ xanh của dịch trích 6 loại cây họ cúc.

Thí nghiệm	Tỷ lệ ức chế (%)				Trung bình thí nghiệm
	0,03 g/ml	0,1 g/ml	0,3 g/ml	1,0 g/ml	
Sao nháy	56,45 ^{ab}	63,94 ^b	76,15 ^b	93,37 ^a	74,20
Sài đất	51,61 ^b	52,01 ^c	54,82 ^c	90,24 ^a	61,70
Hướng dương	9,67 ^e	24,78 ^d	57,55 ^d	88,19 ^a	40,77
Dã quỳ	14,12 ^d	51,40 ^c	80,41 ^c	90,38 ^a	55,72
Vạn thọ	60,41 ^a	75,03 ^a	87,92 ^a	92,75 ^a	78,83
Cúc nhám	28,87 ^c	57,71 ^{bc}	79,14 ^{bc}	92,08 ^a	62,96
Trung bình	34,13	53,27	72,40	91,88	
Ý nghĩa	**				
CV (%)	4,5				

Ghi chú: các giá trị trong cùng một cột có chữ cái đi kèm khác nhau biểu thị sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha=5\%$; **: khác biệt ý nghĩa 1%. Số liệu được chuyển sang dạng $\arcsin(\sqrt{(x/2)/100})$ khi thống kê và chuyển ngược lại khi trình bày. So sánh: nghiệm thức x nồng độ, $\text{LSD}_{5\%}=2,49$, $\text{LSD}_{1\%}=3,32$.

Kết quả bảng 1 và 2 cho thấy, dịch trích MeOH từ các cây họ cúc thử nghiệm có tiềm năng chứa chất đối kháng cỏ dại và dịch trích MeOH của cây sao nháy có khả năng ức chế chiều dài thân cây cải bẹ xanh cao và ổn định nhất trong 6 loại cúc.

Ở nồng độ thấp nhất (0,03 g/ml), chiều dài rễ của cây cải bẹ xanh bị ức chế khi tiếp xúc với 6 loại dịch trích. Khả năng ức chế chiều dài thân và rễ của cây cải bẹ xanh gia tăng tỷ lệ thuận với nồng độ dịch trích. Trong nghiên cứu này, sao nháy và vạn thọ là hai cây cho khả năng ức chế cây cải bẹ xanh cao nhất (trên 30% với chiều dài thân và trên 75% với chiều dài rễ ở nồng độ 0,3 g/ml), chứng tỏ chúng có tiềm năng allelopathy trong 6 loại cây họ cúc.

Khả năng ức chế của dịch trích MeOH từ 6 loài cây họ cúc lên chiều dài thân và rễ cỏ lồng vực nước

Sau khi xác định cây cải bẹ xanh là loài mẫn cảm và dễ bị ức chế bởi dịch trích thực vật phù hợp với nghiên cứu trước kia [27], nghiên cứu tiếp tục tiến hành trên cây cỏ lồng vực nước tương tự như cây cải bẹ xanh. Bảng 3 và 4 cho thấy hiệu quả ức chế chiều dài thân và rễ của dịch trích MeOH cây sao nháy lên cỏ lồng vực nước đạt cao nhất và dịch trích MeOH của cây dã quỳ cho khả năng ức chế cỏ lồng vực nước gần tương đương với cây sao nháy (hình 2).

Bảng 3. Hiệu quả ức chế chiều dài thân cỏ lồng vực nước của dịch trích 6 loại cây họ cúc.

Thí nghiệm	Tỷ lệ ức chế (%)				Trung bình thí nghiệm
	0,03 g/ml	0,1 g/ml	0,3 g/ml	1,0 g/ml	
Sao nháy	8,50 ^a	22,32 ^a	54,23 ^a	88,15 ^a	42,25
Sải đất	4,87 ^a	4,76 ^b	8,19 ^c	74,44 ^b	21,41
Hướng dương	0,34 ^a	5,12 ^b	11,10 ^c	50,80 ^{cd}	15,79
Dã quỳ	2,28 ^a	11,39 ^{ab}	24,69 ^b	91,17 ^a	25,39
Vạn thọ	-26,69 ^c	-9,97 ^c	19,64 ^{bc}	62,96 ^{bc}	6,24
Cúc nhám	-8,69 ^b	5,46 ^b	10,25 ^c	42,59 ^d	11,19
Trung bình	-4,17	8,39	22,51	63,91	
Ý nghĩa	**				
CV (%)	6,9				

Ghi chú: các giá trị trong cùng một cột có chữ cái đi kèm khác nhau biểu thị sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha=5\%$; **: khác biệt ý nghĩa 1%. Số liệu được chuyển sang dạng $\arcsin(\sqrt{(x/2+1)/100})$ khi thống kê và chuyển ngược lại khi trình bày. So sánh thí nghiệm x nồng độ, $LSD5\%=3,6$, $LSD1\%=4,8$. Dấu “-” thể hiện sự kích thích thân cỏ lồng vực nước.

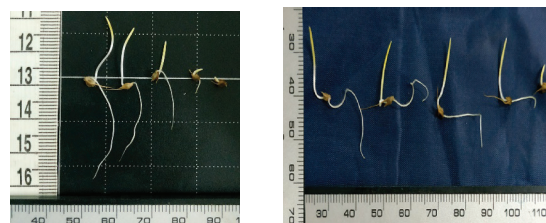
Bảng 4. Hiệu quả ức chế chiều dài rễ cỏ lồng vực nước của dịch trích 6 loại cây họ cúc.

Thí nghiệm	Tỷ lệ ức chế (%)				Trung bình thí nghiệm
	0,03 g/ml	0,1 g/ml	0,3 g/ml	1,0 g/ml	
Sao nháy	36,35 ^a	45,57 ^a	87,93 ^a	99,99 ^a	66,14
Sải đất	28,71 ^b	35,39 ^b	57,07 ^c	97,16 ^a	52,88
Hướng dương	4,04 ^c	11,94 ^c	34,72 ^c	79,47 ^b	27,51
Dã quỳ	21,94 ^c	37,15 ^b	68,66 ^b	99,99 ^a	51,98
Vạn thọ	-1,38 ^f	26,24 ^c	56,91 ^c	93,39 ^a	34,96
Cúc nhám	15,37 ^d	17,37 ^d	35,83 ^d	83,88 ^b	35,07
Trung bình	13,10	27,51	54,38	92,94	
Ý nghĩa	**				
CV (%)	5,5				

Ghi chú: các giá trị trong cùng một cột có chữ cái đi kèm khác nhau biểu thị sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha=5\%$; **: khác biệt ý nghĩa 1%. Số liệu được chuyển sang dạng $\arcsin(\sqrt{(x/2+1)/100})$ khi thống kê và chuyển ngược lại khi trình bày. So sánh thí nghiệm x nồng độ, $LSD5\%=2,58$, $LSD1\%=3,45$. Dấu “-” thể hiện kích thích trên rễ cỏ lồng vực nước.

Thân cỏ lồng vực nước ít chịu ảnh hưởng của dịch trích MeOH của các cây họ cúc ở nồng độ thấp (0,03 và 0,1 g/ml), thậm chí dịch trích MeOH của cây vạn thọ và cúc nhám còn gây kích thích sự phát triển thân của cỏ lồng vực nước ở nồng độ 0,03 g/ml với các giá trị tương ứng là 26,69 và 8,69%. Khi

nồng độ dịch trích tăng đến 0,3 và 1 g/ml, cây sao nháy cho hiệu quả ức chế 54,23 và 88,15% cao nhất và khác biệt ý nghĩa so với cây sải đất, hướng dương, vạn thọ, cúc nhám. Tuy nhiên, ở nồng độ 1,0 g/ml, dịch trích MeOH của cây dã quỳ đã ức chế 91,17% sự phát triển của thân cỏ lồng vực nước, khác biệt không có ý nghĩa thống kê với dịch trích MeOH của cây sao nháy (88,15%) (bảng 3, hình 2).



Hình 2. Ảnh hưởng của dịch trích MeOH của sao nháy (trái) và dã quỳ (phải) lên chiều dài thân và rễ cỏ lồng vực nước. Từ trái qua phải nồng độ lần lượt 0, 0,03, 0,1, 0,3 và 1 g/ml chất tươi.

Rễ cỏ lồng vực nước nhạy cảm hơn với dịch trích MeOH từ các cây họ cúc so với thân. Sử dụng dịch trích cây sao nháy nồng độ thấp (0,03 g/ml) ức chế cao nhất 36,35% chiều dài rễ. Khi nồng độ dịch trích tăng đến 0,3 g/ml, nó bắt đầu biểu hiện rõ hiệu suất ức chế chiều dài rễ cỏ lồng vực, trong đó dịch trích MeOH của cây sao nháy cho hiệu quả ức chế cao nhất 87,93%, khác biệt ý nghĩa so với dịch trích MeOH của 5 cây họ cúc còn lại. Nhìn chung, nồng độ dịch trích 1 g/ml ức chế rất cao chiều dài rễ cỏ lồng vực, dịch trích MeOH của cây sao nháy, dã quỳ (hình 2) ức chế gần 100% rễ cỏ lồng vực nước, khác biệt ý nghĩa với dịch trích cây hướng dương (79,47%) và cúc nhám (83,88%). Khả năng ức chế của dịch trích MeOH các loài cây họ cúc tỷ lệ thuận với nồng độ xử lý (bảng 4).

Chiều dài thân và rễ cỏ lồng vực nước bị dịch trích MeOH từ 6 loại cây họ cúc ức chế khi sử dụng nồng độ thấp và khả năng ức chế tăng dần khi nồng độ dịch trích tăng lên.

Nghiên cứu của Respatie và cs (2019) [5] đã cho thấy, dịch trích 40% (dung môi nước) của hoa sao nháy khô (*C. sulphureus*) có chứa hợp chất đối kháng thực vật, làm giảm chiều dài rễ và số lượng rễ cỏ cú (*Cyperus rotundus*). Mata và cs (2002) [12] khẳng định rằng, dịch trích từ rễ cây *C. pringlei* ức chế được cây cỏ lồng vực và cây rau họ dền (*A. hypochondriacus*), và từ đó phân lập được 3 hợp chất mới có khả năng ức chế 2 loại cỏ dại này. Trong đó, hợp chất dehydrocostus lactone có chỉ số $IC_{50}=1,3 \times 10^{-3}$ M đối với cỏ lồng vực nước. Điều đó chứng tỏ, hợp chất đối kháng cỏ lồng vực này có thể cũng được ly trích từ cây sao nháy là đối tượng trong nghiên cứu của chúng tôi. Ngoài cỏ cú và cây rau họ dền, dịch trích cây sao nháy còn ức chế một số loài cây khác như: lúa mì, cỏ ba lá, cỏ lúa mạch, cải bẹ xanh, cà chua Tomatillo và củ cải [21]. Như vậy, cho đến nay, sao nháy là cây có tiềm năng nghiên cứu allelopathy lớn.

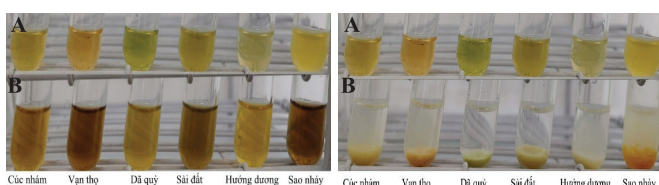
Ngoài cây sao nháy, các cây dã quỳ và sải đất cũng có tiềm năng allelopathy khá lớn. Điều đó từng được chứng minh bởi Oyerinde và cs (2009) [15] và Tongma và cs (1998) [28]. Trong đó, cây dã quỳ đã ức chế cây màn màn (*Cleome gynandra*), cây

đắp cá (*Raphanus sativus* L.), cây lúa (*Oryza sativa* L.) và cỏ chác (*Cyperus iria* L.); sài đất có thể ức chế tốt đối với nhiều loài cây như đậu xanh, dưa leo, cây củ cải [17], cây lúa [18] và cỏ gà, cỏ Bahia [19].

Tuy rằng hướng dương đã được chứng minh có khả năng allelopathy [29-32], nhưng trong nghiên cứu này tiềm năng allelopathy của nó thấp hơn so với các loài cây họ cúc khác, đặc biệt là sao nháy, dã quỳ và sài đất.

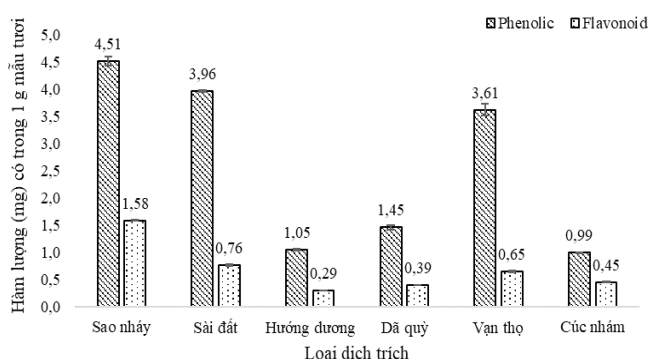
Định lượng hàm lượng phenolic tổng và flavonoid tổng từ dịch trích

Kết quả định tính cho thấy, dịch trích MeOH của 6 loài cây thử nghiệm (hình 3A và 4A) đều có chứa hợp chất phenolic và flavonoid (hình 3B và 4B).



Hình 3. Định tính phenolic (A: mẫu ban đầu, B: mẫu nhỏ thuốc thử). **Hình 4. Định tính flavonoid (A: mẫu ban đầu, B: mẫu nhỏ thuốc thử).**

Xây dựng đường chuẩn phenolic với chất chuẩn là axit gallic trong khoảng nồng độ từ 0,02 đến 0,12 (mg/ml) và đường chuẩn flavonoid với chất chuẩn quercetin trong khoảng nồng độ từ 0,02 đến 0,1 (mg/ml). Kết quả thu được 2 phương trình hồi quy tuyến tính tương ứng: $y = 5,2321x + 0,001$; $y = 7,6957x + 0,0038$ với hệ số tương quan $R=0,9994$ và $R=0,9962$. Dựa trên cơ sở hai đường chuẩn này, hàm lượng tổng phenolic, flavonoid, tỷ lệ flavonoid/phenolic trong các mẫu cây vật liệu được xác định và trình bày ở hình 5.



Hình 5. Hàm lượng phenolic tổng và flavonoid tổng của 6 loài cây họ cúc.

Kết quả hình 5 cho thấy, hàm lượng tổng phenolic và flavonoid trong dịch trích lớn nhất là 0,226 và 0,079 mg/ml trong 1 mg mô cây sao nháy tươi, từ đó suy ra được hàm tổng phenolic và flavonoid trong mô cây sao nháy tươi là 4,51 và 1,58 mg/g. Theo Respatie và cs (2019) [5], hàm lượng phenolic acid tổng trong hoa sao nháy khô là 155,4 μ g gallic acid/g, chỉ

bằng 1/29 so với cây tươi theo nghiên cứu này của chúng tôi. Điều đó chứng tỏ các bộ phận còn lại của cây sao nháy chứa hợp chất phenolic gấp nhiều lần trong hoa. Hàm lượng phenolic tổng từ dịch trích của lá cúc nhám là 143,17 μ g gallic acid/g chất khô [20], trong nghiên cứu của chúng tôi, hàm lượng này là 0,99 mg/g mô tươi. Từ các kết quả trên cho chúng ta thấy mỗi bộ phận của cây cho hàm lượng phenolic tổng khác nhau.

Nghiên cứu này chứng tỏ cả 6 loài cây họ cúc có thành phần chất chuyển hóa thứ cấp là flavonoid, phenolic và chúng có chứa axit gallic, chất gây ức chế sự nảy mầm của đậu Hà Lan (*Pisum sativum*) ở 1 mM [33]. Hợp chất phenolic ức chế khả năng phát triển của cây bằng cách thay đổi tính thấm của màng, qua đó ức chế khả năng hấp thu dinh dưỡng của cây và cuối cùng tác động lên quá trình sinh tổng hợp hormones nội sinh, chức năng và các hoạt động khác nhau của các enzyme, quá trình quang hợp, tổng hợp protein, phân chia và kéo dài tế bào thực vật [34]. Thêm vào đó, phenolic có thể làm giảm hàm lượng diệp lục bằng cách ức chế tổng hợp diệp lục tố hoặc phân hủy diệp lục tố [35]. Điều này giải thích tại sao hàm lượng phenolic tổng trong cây sao nháy cao đã ảnh hưởng đến khả năng ức chế của dịch trích MeOH của cây sao nháy lên cỏ lồng vực nước và cải bẹ xanh cao. Do đó, có thể sử dụng hợp chất này trong dịch trích cây họ cúc như một thành phần của thuốc diệt cỏ sinh học.

Hàm lượng flavonoid tổng trong dịch trích MeOH từ 6 loài cúc chiếm 18-45% so với tổng hàm lượng phenolic. Trong dịch trích cây sao nháy, hàm lượng phenolic tổng và flavonoid tổng cao vượt trội so với dịch trích từ những cây còn lại. Tuy nhiên, khả năng ức chế của dịch trích MeOH từ 6 loài cúc tại một số nồng độ không khác biệt ý nghĩa. Điều đó chứng tỏ khả năng ức chế của các loại dịch trích này còn có thể phụ thuộc vào sự đóng góp của một số hợp chất khác ngoài phenolic và flavonoid.

Kết luận

Dịch trích MeOH của 6 loài cúc: dã quỳ, sài đất, cúc nhám, hướng dương, sao nháy và vụn thò đều có chứa chất đối kháng thực vật.

Dịch trích MeOH từ cây sao nháy có khả năng ức chế thân và rễ cây cải bẹ xanh và cỏ lồng vực nước với hàm lượng phenolic tổng và flavonoid tổng cao hơn các loài cúc còn lại.

Hiệu quả ức chế của các loại dịch trích lên chiều dài thân và rễ mạnh hơn so với tác động lên chiều dài thân của cây cải bẹ xanh và cỏ lồng vực nước.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M. Jasieniuk, et al. (1996), "The evolution and genetics of herbicide resistance in weeds", *Weed Science*, **44**, pp.176-193.
- [2] F. Matzenbacher, et al. (2015), "Distribution and analysis of the mechanisms of resistance of barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) to imidazolinone and quinclorac herbicides", *The Journal of Agricultural Science*, **153**, pp.1044-1058.

- [3] G. Chen, et al. (2016), "Penoxsulam-resistant barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) in rice fields in China", *Weed Biology and Management*, **16**(1), pp.16-23.
- [4] D. Musyimi, et al. (2012), "Allelopathic effects of Mexican sunflower [*Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray] on germination and growth of spiderplant (*Cleome gynandra* L.)", *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)*, **2**(8), pp.26-35.
- [5] D. Respatie, et al. (2019), "The potential of *Cosmos sulphureus* flower extract as a bioherbicide for *Cyperus rotundus*", *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, **20**(12), pp.3568-3574.
- [6] S.S. Narwal (1999), *Allelopathy in weed management*, Springer.
- [7] H.P. Bais, et al. (2004), "How plants communicate using the underground information superhighway", *Trends in Plant Science*, **9**(1), pp.26-32.
- [8] H.P. Bais, et al. (2006), "The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms", *Annual Review of Plant Biology*, **57**(1), pp.233-266.
- [9] G. Campbell, et al. (1982), "Allelopathic properties of α -terthienyl and phenylheptatriyne, naturally occurring compounds from species of Asteraceae", *Journal of Chemical Ecology*, **8**(6), pp.961-972.
- [10] I.S. Alsaadawi, et al. (2012), "Differential allelopathic potential of sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes on weeds and wheat (*Triticum aestivum* L.) crop", *Archives of Agronomy and Soil Science*, **58**(10), pp.1139-1148.
- [11] F.A. Macías, et al. (2002), "Bioactive terpenoids from sunflower leaves cv. Peredovick®", *Phytochemistry*, **61**(6), pp.687-692.
- [12] R. Mata, et al. (2002), "Sesquiterpene lactones and phenylpropanoids from *Cosmos pringlei*", *Journal of Natural Products*, **65**(7), pp.1030-1032.
- [13] G.R. Leather (1983), "Sunflowers (*Helianthus annuus*) are allelopathic to weeds". *Weed Science*, **31**, pp.37-42.
- [14] Z.Y. Ashrafi, et al. (2010), "Allelopathic potential of sunflower (*Helianthus annuus*) against seed germination in wild mustard (*Sinapis arvensis*) and foxtail (*Setaria viridis*)", *Indian Journal of Weed Science*, **42**, pp.82-87.
- [15] R. Oyerinde, et al. (2009), "Allelopathic effect of *Tithonia diversifolia* on the germination, growth and chlorophyll contents of maize (*Zea mays* L.)", *Scientific Research and Essay*, **4**(12), pp.1553-1558.
- [16] O. Ilori, et al. (2007), "Phytotoxic effects of *Tithonia diversifolia* on germination and growth of *Oryza sativa*", *Research Journal of Botany*, **2**(1), pp.23-32.
- [17] Z. Rensen, et al. (1994), *Studies on the allelopathic effects of wedelia chinensis aqueous extraction*.
- [18] C.R. Nie, et al. (2004), "Allelopathic potentials of *Wedelia trilobata* L. on rice", *Acta Agronomica Sinica*, **30**(9), pp.942-946.
- [19] H. Xu, et al. (2011), *Allelopathic effect of extracts from Wedelia trilobata on two turfgrass plants [J]*, Guangdong Agricultural Sciences.
- [20] H. Nawaz, et al. (2013), "Screening Faisalabad flora for allelopathic potential", *J. Sci. Res.*, **25**(1), pp.1-23.
- [21] C.L. Céspedes, et al. (2006), "Plant growth inhibitory activities by secondary metabolites isolated from Latin American flora", *Advances in Phytomedicine*, **2**, pp.373-410.
- [22] H.L. Thi, et al. (2014), "Isolation and purification of growth-inhibitors from Vietnamese rice cultivars", *Weed Biology and Management*, **14**(4), pp.221-231.
- [23] A. Sofowora (1993), "Screening plants for bioactive agents", *Medicinal Plants and Traditional Medicinal in Africa*.
- [24] P. Tiwari, et al. (2011), "Phytochemical screening and extraction: a review", *Internationale Pharmaceutica Scientia*, **1**(1), pp.98-106.
- [25] R. Yadav, M. Agarwala (2011), "Phytochemical analysis of some medicinal plants", *Journal of Phytology*, **3**, pp.10-14.
- [26] C.C. Chang, et al. (2002), "Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods", *Journal of Food and Drug Analysis*, **10**(3), DOI: 10.38212/2224-6614.2748.
- [27] M. Olofsdotter, et al. (2002), "Why phenolic acids are unlikely primary allelochemicals in rice", *Journal of Chemical Ecology*, **28**(1), pp.229-242.
- [28] S. Tongma, et al. (1998), "Allelopathic activity of Mexican sunflower (*Tithonia diversifolia*) in soil", *Weed Science*, **46**, pp.432-437.
- [29] M.M.A.S.K Abeysekera, R.P. Robles (1993), "Comparative study of inhibitory effect of wild sunflower (*Tithonia diversifolia* (Herm SL.) Gray) and common sunflower (*Helianthus annuus* L.) on rice and *Echinochloa colona* (L.) Link", *Annual Scientific Meeting of the Pest Management*.
- [30] M. Cholid (2004), *Effect of incorporated common sunflower (*Helianthus annuus* L.) leaves on the growth of selected weeds and crops grown solely or in combination*.
- [31] R. Bogatek, et al. (2006), "Allelopathic effects of sunflower extracts on mustard seed germination and seedling growth", *Biologia Plantarum*, **50**(1), pp.156-158.
- [32] T. Anjum, R. Bajwa (2010), "Sunflower phytochemicals adversely affect wheat yield", *Nat. Prod. Res.*, **24**(9), pp.825-837.
- [33] Z.H. Li, et al. (2010), "Phenolics and plant allelopathy", *Molecules*, **15**(12), pp.8933-8952.
- [34] M.R. Abenavoli, et al. (2003), "Coumarin inhibits the growth of carrot (*Daucus carota* L. cv. Saint Valery) cells in suspension culture", *Journal of Plant Physiology*, **160**(3), pp.227-237.
- [35] C.M. Yang, et al. (2004), "Effects of three allelopathic phenolics on chlorophyll accumulation of rice (*Oryza sativa*) seedlings: II. Stimulation of consumption-orientation", *Bot. Bull. Acad. Sin.*, **45**, pp.119-125.