

# Tính đối kháng thực vật và định lượng một số chất đối kháng trong cây cỏ đậu (*Arachis pintoii*)

Phan Khánh Linh, Phòng Ngọc Hải Triều, Nguyễn Lê Vân, Hồ Lệ Thi\*

Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long

Ngày nhận bài 5/7/2021; ngày chuyển phản biện 9/7/2021; ngày nhận phản biện 11/8/2021; ngày chấp nhận đăng 16/8/2021

## Tóm tắt:

Cỏ đậu (*Arachis pintoii*) - loài cây họ đậu có khả năng cải tạo đất và làm thức ăn gia súc được sử dụng làm đối tượng nghiên cứu về tính đối kháng thực vật đã được biết với sự nảy mầm và phát triển của hạt cỏ hôi (*Ageratum conyzoides* L.), tai hùm (*Comnyza canadensis*), hoa xuyên chi (*Bidens pilosa* L.), cà chua (*Solanum lycopersicum*) và tiêu (*Capsicum annum*) thông qua dịch chiết methanol (MeOH) từ các bộ phận khác nhau của cỏ đậu trên cải bẹ xanh (*Brassica juncea*), cỏ lồng vực nước (*Echinochloa crusgalli*) và lồng vực cạn (*Echinoloa colonum*). Đánh giá sự phát triển thân và rễ của 3 loài này sau 48 giờ ủ với dịch chiết cho thấy, dịch chiết MeOH từ thân cỏ đậu ức chế 100% sự phát triển của cải bẹ xanh; 77,7% lên thân và 93,5% lên rễ cỏ lồng vực nước; 57,2% lên thân và 92,7% lên rễ cỏ lồng vực cạn ở nồng độ 1,0 g/ml, cao hơn so với dịch chiết của các bộ phận khác. Khả năng đối kháng thực vật qua quá trình chiết lỏng - lỏng của pha ethyl acetate cao hơn so với pha nước. Dịch chiết từ cột C18 được tinh sạch bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp (HPLC) thu được 6 hợp chất phenolic có hàm lượng trong 1 g trọng lượng tươi của cỏ đậu là các axit cinamic 0,214  $\mu$ g, caffeic 0,8344  $\mu$ g, coumaric 7,7676  $\mu$ g, ferullic 2,2354  $\mu$ g, salicylic 32,1162  $\mu$ g và 2-4 dimehydroxy benzoic 0,045  $\mu$ g. Những kết quả này góp phần vào việc nghiên cứu các loại thuốc diệt cỏ tự nhiên tiềm năng mới.

**Từ khóa:** cỏ đậu, cỏ lồng vực cạn, cỏ lồng vực nước, đối kháng thực vật, phenolic acids.

**Chỉ số phân loại:** 4.1

## Đặt vấn đề

Cỏ đậu (còn gọi là cỏ đậu phộng, hoàng lạc thảo) thuộc họ Đậu (*Fabaceae*) có nguồn gốc từ Nam Mỹ, với khoảng 70-80 loài được tìm thấy ở Braxin, Bolivia, Paraguay, Argentina và Uruguay, là cây thân thảo lâu năm, chiều cao 20-40 cm, rễ phát triển trung bình đến độ sâu 30 cm [1]. Với khả năng chịu hạn và úng tốt, cỏ đậu có thể trồng được quanh năm ở Việt Nam nhưng tốt nhất là vào mùa xuân và mùa thu với các tỉnh miền Bắc, mùa mưa với các tỉnh miền Trung, Tây Nguyên và miền Nam. Khi trồng xen dưới tán cây ăn quả, cỏ đậu có khả năng sinh trưởng tốt, không cạnh tranh ánh sáng với cây trồng chính, tạo độ che phủ cao, hạn chế quá trình xói mòn vào mùa mưa, duy trì độ ẩm đồng ruộng vào mùa khô. Cỏ đậu có thể trồng thuần (dạng đồng cỏ) hay trồng xen với các loại cỏ khác hoặc trong vườn cây ăn quả trên nhiều loại đất (từ đất xấu bạc màu, nghèo dinh dưỡng, đất đồi núi dốc đến đất cát, đất chua mặn ven biển) vừa giúp cải tạo đất (có khả năng cố định 200-300 kg N/ha/năm hoặc với lượng chất xanh có thể cung cấp cho đất mỗi năm 595 kg N/ha, 140 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ha và 200 kg K<sub>2</sub>O/ha), vừa làm phân xanh và thức ăn cho gia súc.

Một số nghiên cứu trên thế giới còn cho thấy, trồng cỏ đậu xen kẽ với cây cà phê giúp cung cấp đạm cho cây và giảm lượng N<sub>2</sub>O thải ra từ đất so với đất phủ cỏ thông

thường [2]; trồng xen cỏ đậu vào đồng cỏ giúp giải phóng 50% N và P tồn dư trong đất trong 130 ngày vào mùa khô và 20 ngày vào mùa mưa, tạo điều kiện thuận lợi cho vi sinh vật hòa tan P trong đất phát triển, phục hồi đồng cỏ bị suy thoái [3]. Tuy nhiên, cây cỏ đậu lại gây ảnh hưởng không tốt đến năng suất của chuối, cụ thể là trên đất trồng chuối có cỏ đậu, ở độ sâu 30 cm, nồng độ một số nguyên tố trong đất tăng lên (cacbon hữu cơ 5,6%, tổng nitơ 8,5%, kali trao đổi 52%, canxi 26%...) dẫn đến làm giảm 9% số nải chuối và 4% số trái trên nải, từ đó làm sụt giảm năng suất và làm tăng giá thành sản phẩm [4].

Tiềm năng đối kháng thực vật trên cây cỏ đậu đã được nghiên cứu đối với sự nảy mầm và phát triển của hạt cà chua và tiêu [1] trên một số cỏ họ cúc (*Asteraceae*) như cỏ hôi, cỏ tai hùm và hoa xuyên chi. Kết quả cho thấy, dịch chiết từ lá cỏ đậu kìm hãm sự nảy mầm, phát triển của hạt cỏ hôi và cỏ tai hùm, trong khi dịch chiết từ rễ lại không có tác động [5].

Mặc dù cỏ đậu được coi là cây có tính đối kháng thực vật cao nhưng với một số loài cỏ phổ biến trong ruộng lúa, các công trình nghiên cứu ở Việt Nam gần như chưa có. Xuất phát từ thực tiễn nêu trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm đánh giá và làm rõ hơn khả năng đối kháng thực vật của dịch chiết từng bộ phận cây cỏ đậu lên một loài cây mầm cảm là cải bẹ xanh và 2 loài cỏ dại phổ biến trên ruộng

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

# Allelopathy and allelochemical quantitative analysis in Pinto peanut (*Arachis pintoi*)

Khanh Linh Phan, Ngoc Hai Trieu Phong,  
Le Van Nguyen, Le Thi Ho\*

Cuu Long Delta Rice Research Institute

Received 5 July 2021; accepted 16 August 2021

## Abstract:

Pinto peanut (*Arachis pintoi*) considered as a perennial legume animal fed plant with good soil fertility improvement was used for its allelopathy that had been reported on the germination of *Ageratum conyzoides* L., *Comnyza canadensis* L. Cronq., *Bidens pilosa* L., *Solanum lycopersicum* and *Capsicum annum*. through the solutions extracted from different parts of pinto peanut on mustard greens (*Brassica juncea*), barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) and junglerice (*Echinochloa colonum*). Consideration of the growth of hypocotyls and rootlets at 48 hours after incubation with pinto peanut extracts, results showed that 1.0 g/ml of the methanolic pinto peanut stem extract greatly inhibited 100% mustard greens growth, 77.7% and 93.5% the hypocotyls and rootlets growth of barnyardgrass, 57.2% and 92.7% the hypocotyls and rootlets growth of junglerice, respectively. The allelopathic activity after liquid-liquid extraction of the ethyl acetate phase greater than the aqueous phase. Allelopathic extract loading from C18 chromatographic column was purified by HPLC to obtain 6 phenolic compounds with the contents in 1 g fresh pinto peanut weight were 0.214 µg (cinamic acid), 0.8344 µg (caffeic acid), 7.7676 µg (coumaric acid), 2.2354 µg (ferullic acid), 0.045 µg (2-4 dimehydroxy benzoic) and 32.1162 µg (salicylic acid). These results should be accordingly considered in the production of biological herbicides.

**Keywords:** allelopathy, *Arachis pintoi*, *Echinochloa colonum*, *Echinochloa crusgalli*, phenolic acids.

**Classification number:** 4.1

lúa (cỏ lồng vực nước và lồng vực cạn) làm tiền đề cho việc tạo chế phẩm sinh học trừ cỏ phục vụ cho hệ thống canh tác lúa bền vững trong tương lai, góp phần bảo vệ môi trường.

## Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### Vật liệu

*Cây cỏ đậu:* thu thập từ khu vực ruộng thí nghiệm của Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long.

*Cây thử nghiệm:* hạt cỏ lồng vực nước, lồng vực cạn được thu từ ruộng thí nghiệm của Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long. Hạt cải bẹ xanh mua từ cửa hàng (Công ty TNHH - Thương mại Trang Nông, TP Hồ Chí Minh).

*Hóa chất thí nghiệm:* MeOH, Ethyl acetate (EtOAC), Hexane (H)... và một số chất hóa học thông thường trong phòng thí nghiệm.

*Dụng cụ:* đĩa petri đường kính 30 mm, giấy lọc Whatman (Vietchem ltd. Hà Nội, Việt Nam), máy đo pH (SI Analytics lab 875), máy thu hồi dung môi dưới áp suất thấp (Rotary Evaporator RE-2000), bộ dụng cụ tách chiết, bộ sắc ký lỏng...

### Phương pháp nghiên cứu [6]

*Tách chất đối kháng thực vật từ từng bộ phận cây cỏ đậu bằng dịch chiết MeOH:* thu mẫu cây cỏ đậu (rễ/thân rễ, thân, lá) rửa sạch, cân 100 g trọng lượng tươi mỗi bộ phận, sau đó đem tách chiết bằng 1000 ml MeOH 60% trong 48 giờ, lọc lấy dịch chiết bằng phễu Buncher sử 320 ml Fisherbrand™ và giấy lọc Whatman™. Bã được chiết tiếp tục với 500 ml MeOH 100% trong 48 giờ tiếp theo và lọc lần 2. Hỗn hợp dịch chiết thu được đem bay hơi hết MeOH ở 42°C bằng thiết bị cô quay (Evaporator). Trữ dịch chiết ở 4°C đến khi sử dụng.

Các thí nghiệm đánh giá tính đối kháng của dịch chiết với hạt đã nảy mầm của 3 loài cây thử nghiệm được tiến hành trên các đĩa petri đặt trong phòng với 6 nghiệm thức, 3 lần lặp bao gồm đối chứng không chứa dịch chiết và 5 nồng độ dịch chiết (0,03, 0,1, 0,3, 0,5 và 1,0 g/ml tính theo khối lượng mẫu tươi), theo dõi chiều dài thân và rễ cây thử nghiệm sau 48 giờ ủ trong tối ở 25°C.

Số liệu được xử lý và phân tích thống kê bằng phần mềm Excel và SPSS.

*Tách chất đối kháng thực vật từ bộ phận cây cỏ đậu cho hiệu quả đối kháng thực vật cao nhất bằng phương pháp tách lỏng - lỏng với EtOAC:* dịch chiết MeOH từ bộ phận cây cỏ đậu cho hiệu quả đối kháng thực vật cao nhất sẽ được tách chiết với EtOAC với tỷ lệ 1:2. Sau khi tách chiết 3 lần thu được 2 pha chiết chứa chất đối kháng là pha H<sub>2</sub>O và pha EtOAC. Hai pha chiết này sẽ được tiến hành thử nghiệm sinh học lên hai loài cỏ dại với 5 nồng độ dịch chiết là 0,03, 0,1, 0,3, 0,5 và 1,0 g/ml cùng với đối chứng không chứa chất đối kháng.

Làm tinh khiết chất đối kháng thực vật bằng phương pháp HPLC: dịch chiết từ phân đoạn tách lỏng - lỏng sẽ được phân cắt bằng phương pháp chiết pha rắn qua các cột sắc ký Silica gel, Sephadex và C18. Dịch chiết từ cột C18 sẽ được đưa vào hệ thống HPLC để phân tích.

Hệ thống HPLC sử dụng được tiến hành trên hệ thống Shimadzu LC-2030C và được trang bị hệ thống -10A VP kết hợp với phần mềm CLASS-VP (Shimadzu Co., Ltd) đầu dò PDA; cột VertiSep™ GES C18 HPLC Column (250x4,6 mm, 5,0 μm). Hệ dung môi rửa giải bao gồm MeOH (A) và H<sub>2</sub>O + 0,1% Formic axit (B) với chương trình gradient 25% A trong 3 phút, 25-40% A trong 5 phút, giữ 40% A trong 5 phút, 40-60% A đến phút thứ 16, 60% A trong 5 phút, 60-80% A trong 3 phút, 80% A trong 3 phút, sau đó hạ về 25% A đến phút thứ 35. Hệ phân tích rửa giải với tốc độ dòng là 0,8 ml/phút, với dãy sóng UV quét từ 200 đến 400 nm.

**Kết quả và bàn luận**

**Hiệu quả đối kháng thực vật của dịch chiết MeOH từ từng bộ phận cây cỏ đậu lên cải bẹ xanh và 2 loài cỏ dại**

Đối với cải bẹ xanh: dịch MeOH tách chiết từ từng bộ phận cây cỏ đậu với các mức nồng độ khác nhau đều có tác động đến sự phát triển của cải bẹ xanh thể hiện số đo chiều dài thân và rễ ở các nghiệm thức đều khác biệt có ý nghĩa ở mức 5% so với đối chứng (bảng 1), trong đó hiệu quả ức chế bắt đầu xảy ra ở nồng độ 0,1 g/ml và đạt hiệu quả cao nhất (100% thân và rễ cải không phát triển) ở nồng độ 1,0 g/ml.

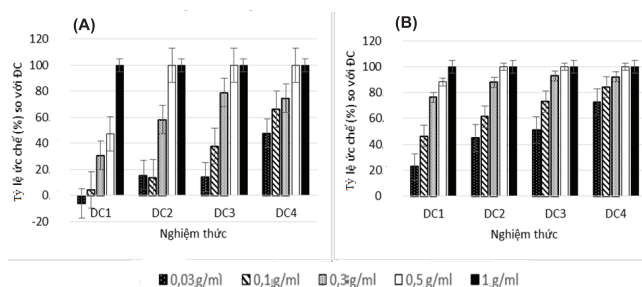
**Bảng 1. Sự phát triển (mm) của cải bẹ xanh dưới ảnh hưởng của dịch chiết MeOH từ cây cỏ đậu.**

Nồng độ (g/ml)	DC1	DC2	DC3	DC4
Thân	ĐC (0,0)	18,54 <sup>a</sup>		
	0,03	19,67 <sup>a</sup>	15,56 <sup>b</sup>	15,93 <sup>a</sup>
	0,1	17,74 <sup>b</sup>	15,89 <sup>b</sup>	11,52 <sup>b</sup>
	0,3	12,81 <sup>c</sup>	7,74 <sup>c</sup>	3,82 <sup>c</sup>
	0,5	9,76 <sup>d</sup>	0 <sup>d</sup>	0 <sup>d</sup>
	1,0	0 <sup>e</sup>	0 <sup>d</sup>	0 <sup>e</sup>
Rễ	ĐC (0,0)	35,42 <sup>a</sup>		
	0,03	27,41 <sup>a</sup>	19,54 <sup>b</sup>	17,19 <sup>b</sup>
	0,1	19,02 <sup>b</sup>	13,64 <sup>c</sup>	9,71 <sup>c</sup>
	0,3	8,39 <sup>c</sup>	4,22 <sup>d</sup>	2,22 <sup>d</sup>
	0,5	4,19 <sup>d</sup>	0 <sup>e</sup>	0 <sup>d</sup>
	1,0	0 <sup>e</sup>	0 <sup>e</sup>	0 <sup>d</sup>

Ghi chú: các giá trị trong cùng một cột có chữ cái đi kèm khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. Kết quả so sánh Duncan<sup>0,05</sup> dịch chiết x nồng độ; ĐC: đối chứng; DC1: dịch chiết 1 - cả cây; DC2: dịch chiết 2 - rễ/thân rễ; DC3: dịch chiết 3 - thân; DC4: dịch chiết 4 - lá.

So sánh hiệu quả ức chế của 4 loại dịch chiết lên thân và rễ cải bẹ xanh cho thấy, hiệu quả ức chế của DC1 thấp hơn so với dịch chiết từ từng bộ phận riêng lẻ. Ở nồng độ 0,03 g/ml, DC1 có tác động kích thích lên thân cải bẹ xanh, chiều dài thân trung bình cao hơn 6,1% so với đối chứng. Bên cạnh đó, ở nồng độ 0,5 g/ml, DC1 có hiệu quả ức chế

lên thân cải bẹ xanh đạt 47,3% và lên rễ đạt 88,2%, thấp hơn cả 3 loại dịch chiết còn lại. DC2, DC3 và DC4 đều cho hiệu quả ức chế lên đến 100% đối với cả thân và rễ cải bẹ xanh ở nồng độ 0,5 g/ml (hình 1).



**Hình 1. Ảnh hưởng của dịch chiết MeOH từ cây cỏ đậu lên sự phát triển của thân (A) và rễ (B) cải bẹ xanh.**

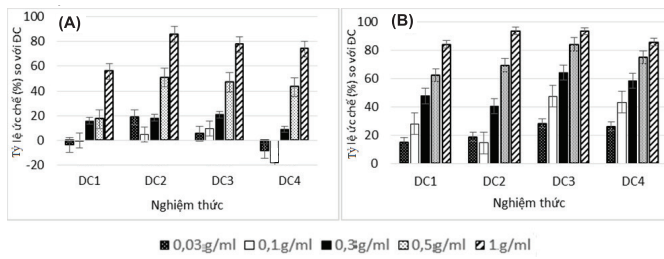
Đối với cỏ lồng vực nước: kết quả bảng 2 cho thấy, chiều dài trung bình của thân cỏ khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng ở nghiệm thức 0,5 g/ml của tất cả các dịch chiết. Rễ cỏ lồng vực nước nhạy cảm hơn so với thân, chiều dài trung bình của rễ khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng ngay từ nghiệm thức 0,03 g/ml ở tất cả các dịch chiết.

**Bảng 2. Sự phát triển (mm) của cỏ lồng vực nước dưới ảnh hưởng của dịch chiết MeOH từ cây cỏ đậu.**

Nồng độ (g/ml)	DC1	DC2	DC3	DC4
Thân	ĐC (0,0)	23,70 <sup>a</sup>		
	0,03	24,56 <sup>a</sup>	19,25 <sup>b</sup>	22,4 <sup>a</sup>
	0,1	23,71 <sup>a</sup>	22,59 <sup>a</sup>	21,43 <sup>ab</sup>
	0,3	19,93 <sup>b</sup>	19,35 <sup>b</sup>	18,79 <sup>b</sup>
	0,5	19,59 <sup>b</sup>	11,68 <sup>c</sup>	12,71 <sup>c</sup>
	1,0	10,42 <sup>c</sup>	3,29 <sup>d</sup>	5,18 <sup>d</sup>
Rễ	ĐC (0,0)	26,6 <sup>a</sup>		
	0,03	22,55 <sup>b</sup>	21,58 <sup>b</sup>	19,1 <sup>b</sup>
	0,1	19,18 <sup>c</sup>	22,8 <sup>b</sup>	14,07 <sup>c</sup>
	0,3	13,96 <sup>d</sup>	15,78 <sup>c</sup>	9,62 <sup>d</sup>
	0,5	9,98 <sup>e</sup>	8,28 <sup>d</sup>	4,29 <sup>e</sup>
	1,0	4,25 <sup>f</sup>	1,27 <sup>e</sup>	0,97 <sup>f</sup>

Ghi chú: các giá trị trong cùng một cột có chữ cái đi kèm khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. Kết quả so sánh Duncan<sup>0,05</sup> dịch chiết x nồng độ; ĐC: đối chứng; DC1: dịch chiết 1 - cả cây; DC2: dịch chiết 2 - rễ/thân rễ; DC3: dịch chiết 3 - thân; DC4: dịch chiết 4 - lá.

Sự phát triển của thân và rễ cỏ lồng vực nước đều bị ảnh hưởng bởi 4 loại dịch chiết từ cây cỏ đậu. DC1 và DC4 có tác động kích thích đối với thân cỏ ở nồng độ thấp và gây ức chế ở các nồng độ cao hơn. Rễ cỏ lồng vực nước nhạy cảm hơn so với thân, bị ức chế ở cả 4 loại dịch chiết ngay từ nồng độ thấp nhất là 0,03 g/ml. Trong đó, DC3 gây ức chế lên cả thân và rễ cỏ ở nồng độ thấp nhất, tỷ lệ ức chế tăng tỷ lệ thuận với nồng độ dịch chiết và đạt cao nhất ở nồng độ 1,0 g/ml (78,7% đối với thân và 93,7% đối với rễ cỏ) (hình 2).



**Hình 2. Ảnh hưởng của dịch chiết MeOH từ cây cỏ đậu lên sự phát triển của thân (A) và rễ (B) cỏ lồng vực nước.**

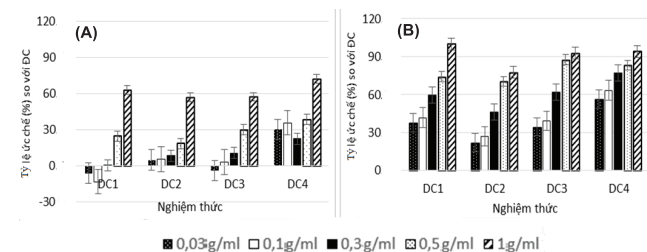
Đối với cỏ lồng vực cạn: dưới ảnh hưởng của 4 loại dịch chiết, rễ cỏ lồng vực cạn nhạy cảm hơn so với thân. Chiều dài trung bình thân cỏ khác biệt so với đối chứng ở nồng độ 0,5 g/ml đối với nghiệm thức DC1, DC3 và DC4, trong khi chiều dài rễ khác biệt từ nồng độ thấp nhất là 0,03 g/ml ở cả bốn loại dịch chiết (bảng 3).

**Bảng 3. Sự phát triển (mm) của cỏ lồng vực cạn dưới ảnh hưởng của dịch chiết MeOH từ cây cỏ đậu.**

Nồng độ (g/ml)		DC1	DC2	DC3	DC4
Thân	ĐC (0,0)	17,38 <sup>a</sup>			
	0,03	18,61 <sup>a</sup>	16,54 <sup>a</sup>	17,99 <sup>a</sup>	12,06 <sup>b</sup>
	0,1	19,67 <sup>a</sup>	16,27 <sup>a</sup>	16,86 <sup>ab</sup>	11,09 <sup>b</sup>
	0,3	17,38 <sup>a</sup>	15,97 <sup>a</sup>	16,04 <sup>ab</sup>	13,49 <sup>ab</sup>
	0,5	13,01 <sup>b</sup>	14,10 <sup>a</sup>	11,60 <sup>b</sup>	10,72 <sup>b</sup>
	1,0	5,99 <sup>c</sup>	7,57 <sup>b</sup>	5,32 <sup>c</sup>	2,14 <sup>c</sup>
Rễ	ĐC (0,0)	23,17 <sup>a</sup>			
	0,03	14,67 <sup>b</sup>	17,85 <sup>b</sup>	15,24 <sup>b</sup>	10,08 <sup>b</sup>
	0,1	13,52 <sup>b</sup>	16,96 <sup>b</sup>	14,50 <sup>b</sup>	8,35 <sup>b</sup>
	0,3	9,72 <sup>c</sup>	12,46 <sup>c</sup>	8,86 <sup>c</sup>	5,31 <sup>c</sup>
	0,5	6,13 <sup>d</sup>	7,04 <sup>d</sup>	1,45 <sup>d</sup>	4,28 <sup>c</sup>
	1,0	0 <sup>e</sup>	5,19 <sup>d</sup>	1,36 <sup>d</sup>	1,37 <sup>d</sup>

Ghi chú: các giá trị trong cùng một cột có chữ cái đi kèm khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. Kết quả so sánh Duncan<sup>0,05</sup> dịch chiết x nồng độ; ĐC: đối chứng; DC1: dịch chiết 1 - cả cây; DC2: dịch chiết 2 - rễ/thân rễ; DC3: dịch chiết 3 - thân; DC4: dịch chiết 4 - lá.

Hiệu quả ức chế của từng loại dịch chiết lên thân và rễ cỏ lồng vực cạn ở hình 3 cho thấy, DC4 thể hiện sự ức chế lên thân cỏ không ổn định khi tăng dần nồng độ dịch chiết từ 0,03 đến 0,5 g/ml và đạt cao nhất là 72,2% ở nồng độ 1,0 g/ml. DC1 gây ức chế 100% lên rễ cỏ ở nồng độ 1,0 g/ml nhưng lại kích thích sự phát triển thân cỏ ở nồng độ 0,03 và 0,5 g/ml. DC2 và DC3 cho tỷ lệ ức chế lên thân và rễ cỏ lồng vực cạn tăng tỷ lệ thuận với nồng độ dịch chiết, ở nồng độ 1,0 g/ml đạt trên 50,0% đối với thân và trên 75,0% đối với rễ cỏ.



**Hình 3. Ảnh hưởng của dịch chiết MeOH từ cây cỏ đậu lên sự phát triển của thân (A) và rễ (B) cỏ lồng vực cạn.**

Dịch chiết MeOH từ cây cỏ đậu có hiệu quả ức chế rất cao lên cải bẹ xanh và hai loài cỏ dại. Ở nồng độ 1,0 g/ml, cả 4 loại dịch chiết đều cho hiệu quả ức chế cao hơn 50% đối với cả thân và rễ cây thử nghiệm. Các nghiên cứu về đối kháng thực vật của các loài thực vật khác bằng dịch chiết MeOH của chúng cũng ghi nhận kết quả tương tự, chẳng hạn chiết xuất MeOH của các loài thuộc họ Bóng nước (*Impatiens* sp.) gây ức chế mạnh lên sự nảy mầm của hạt giống cây mù tạt trắng (*Leucosinapis alba*) và hạt cải dầu (*Brassica napus*) [7]; dịch chiết MeOH của rễ cây cỏ mù (*Euphorbia heterophylla* L.) gây ức chế 100% sự nảy mầm, sự phát triển rễ và chồi của các cây chỉ thị là cỏ miến (*Sorghum bicolor*) và xà lách (*Lactuca sativa*) ở nồng độ 2,0 mg/ml [8]; dịch chiết MeOH của cây lá lốt (*Piper sarmentosum*) gây ức chế tất cả 12 loài thực vật thử nghiệm, trong đó có cỏ lồng vực nước và cỏ lồng vực cạn với các giá trị ức chế khác nhau [9]; chiết xuất MeOH của 14 giống lúa Bangladesh có tác dụng ức chế sự kéo dài chồi và rễ đối với sự phát triển của ba loài thực vật mục tiêu là cải xoong (*Lepidium sativum* L.), cỏ càng cua (*Digitaria sanguinalis* L.) và cỏ timothy (*Phleum pratense* L.) [10]; chiết xuất MeOH của thân và lá cây tầm gửi năm nhĩ (*Dendrophthoe pentandra*) gây ức chế hơn 80% đối với hạt cỏ mần trầu (*Eleusine indica*) ở nồng độ 5 mg/ml [11].

Đối với cỏ đậu, DC3 có hiệu quả ức chế cao và ổn định lên cả ba loài cây thử nghiệm và có xu hướng tăng dần theo nồng độ dịch chiết nên được chọn để tách chiết tiếp theo bằng phương pháp tách lỏng - lỏng nhằm làm rõ hơn cơ chế đối kháng thực vật của loài này.

**Hiệu quả đối kháng thực vật của hai pha cất sau khi tách lỏng - lỏng DC3 lên hai loài cỏ dại**

Với cỏ lồng vực nước: kết quả bảng 4 cho thấy, chiều dài trung bình thân cỏ có sự khác biệt ý nghĩa so với đối chứng ở nghiệm thức 0,3 g/ml ở pha H<sub>2</sub>O và nghiệm thức 0,1 g/ml ở pha EtOAC. Đối với rễ cỏ, pha H<sub>2</sub>O cho thấy sự khác biệt ý nghĩa ở nồng độ 1,0 g/ml, trong khi đó, sự khác biệt này ở pha EtOAC thể hiện từ nồng độ thấp nhất là 0,03 g/ml.

**Bảng 4. Sự phát triển (mm) của cỏ lồng vực nước dưới ảnh hưởng của 2 pha cất lỏng - lỏng từ DC3.**

Nồng độ (g/ml)	Pha H <sub>2</sub> O		Pha EtOAC	
	Thân	Rễ	Thân	Rễ
ĐC (0,0)	20,6 <sup>bc</sup>	26,27 <sup>a</sup>	19,68 <sup>a</sup>	20,21 <sup>a</sup>
0,03	32,22 <sup>a</sup>	26,75 <sup>a</sup>	18,26 <sup>ab</sup>	14,39 <sup>b</sup>
0,1	31,08 <sup>a</sup>	23,29 <sup>a</sup>	17,33 <sup>b</sup>	11,2 <sup>c</sup>
0,3	24,32 <sup>b</sup>	17,87 <sup>a</sup>	16,81 <sup>bc</sup>	10,12 <sup>c</sup>
0,5	17,97 <sup>c</sup>	14,9 <sup>ab</sup>	14,84 <sup>c</sup>	7,34 <sup>d</sup>
1,0	8,36 <sup>d</sup>	3,7 <sup>b</sup>	10,22 <sup>d</sup>	4,23 <sup>c</sup>

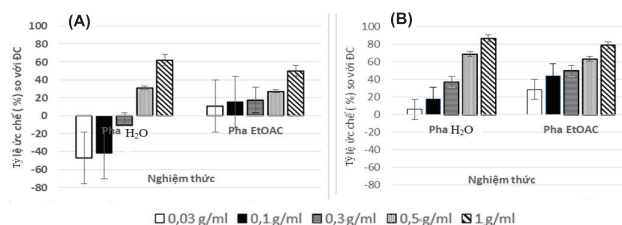
Ghi chú: trong cùng một cột, các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5%; kết quả so sánh pha chiết x nồng độ.

Liên quan đến hiệu quả đối kháng thực vật lên cỏ lồng vực nước, số liệu bảng 4 cho thấy có sự ức chế lên thân và rễ, ở cả hai pha, thể hiện rõ ngay ở ngưỡng nồng độ 0,5 g/ml. Đối với thân lồng vực nước, các hoạt chất trong pha H<sub>2</sub>O có sự kích thích tương đối mạnh (-47,3% ở nồng độ 0,03 g/ml và -42% ở nồng độ 0,1 g/ml), tuy nhiên khi nâng nồng độ lên 0,3 g/ml, hiệu quả lại giảm đi

khá rõ (-10,8%). Ở pha EtOAC, các hoạt chất ức chế thân và rễ thể hiện ngay từ nồng độ thấp 0,03 g/ml (79% trên rễ và 48% trên thân ở nồng độ 1,0 g/ml, hình 4 và 5).



**Hình 4. Sự phát triển của cỏ lồng vực nước dưới ảnh hưởng của pha H<sub>2</sub>O (A) và pha EtOAC (B) từ DC3 với các nghiệm thức (g/ml) từ trái sang: ĐC, 0,03, 0,1, 0,3, 0,5 và 1,0.**



**Hình 5. Ảnh hưởng của hai pha chiết lỏng - lỏng từ DC3 lên thân (A) và rễ (B) cỏ lồng vực nước.**

Với cỏ lồng vực cạn: tác động của các hoạt chất trong pha H<sub>2</sub>O đến chiều dài thân và rễ xảy ra ngay ở ngưỡng nồng độ 0,03 g/ml, khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng. Còn trong pha EtOAC, sự khác biệt này được ghi nhận ở nồng độ 0,3 g/ml đối với thân và 0,1 g/ml đối với rễ cỏ (bảng 5).

**Bảng 5. Sự phát triển (mm) của cỏ lồng vực cạn dưới ảnh hưởng của 2 pha chiết lỏng - lỏng từ DC3.**

Nồng độ (g/ml)	Pha H <sub>2</sub> O		Pha EtOAC	
	Thân	Rễ	Thân	Rễ
ĐC (0,0)	16,13 <sup>a</sup>	21,42 <sup>a</sup>	15,24 <sup>a</sup>	18,26 <sup>a</sup>
0,03	14,48 <sup>b</sup>	15,82 <sup>b</sup>	14,63 <sup>a</sup>	14,25 <sup>ab</sup>
0,1	13,9 <sup>bc</sup>	9,96 <sup>c</sup>	12,09 <sup>ab</sup>	10,7 <sup>bc</sup>
0,3	13,41 <sup>bc</sup>	8,24 <sup>c</sup>	10,12 <sup>bc</sup>	7,58 <sup>cd</sup>
0,5	12,39 <sup>c</sup>	4,02 <sup>d</sup>	8,69 <sup>c</sup>	6,73 <sup>cd</sup>
1,0	6,33 <sup>d</sup>	3,27 <sup>d</sup>	7,74 <sup>c</sup>	4,18 <sup>d</sup>

Ghi chú: trong cùng một cột, các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5%; kết quả so sánh pha chiết x nồng độ.

Về hiệu quả đối kháng thực vật, hai pha chiết đều thể hiện khả năng ức chế lên cả thân và rễ, xảy ra ngay ở nồng độ thấp nhất (0,03 g/ml) và tăng dần lên theo sự tăng của nồng độ. Sự ức chế của cả 2 pha thể hiện rõ hơn đối với rễ cỏ, đạt 84,6% (pha H<sub>2</sub>O) và 77,4% (pha EtOAC) ở nồng độ 1,0 g/ml. Tuy nhiên, các hoạt chất trong pha H<sub>2</sub>O có hiệu quả ức chế cao hơn so với pha EtOAC đối với cỏ lồng vực cạn (hình 6).



**Hình 6. Sự phát triển của cỏ lồng vực cạn dưới ảnh hưởng của pha H<sub>2</sub>O (A) và pha EtOAC (B) từ DC3 với các nghiệm thức (g/ml) từ trái sang: ĐC, 0,03, 0,1, 0,3, 0,5 và 1,0.**

Kết quả nghiên cứu của một số công trình liên quan cũng chỉ ra rằng, dịch chiết từ 2 pha cắt của phân đoạn tách lỏng - lỏng đều có chứa những chất đối kháng có hiệu quả đối kháng thực vật nhất định lên các loài mục tiêu. Dịch chiết EtOAC từ hạt của cây *Amburana cearensis* làm giảm 50% chiều dài rễ của dưa (*Melon*), trong khi dịch chiết H<sub>2</sub>O làm giảm hơn 50% [12]. Ở cây măng cầu nước (*Annona crassiflora*), chiết xuất EtOAC từ hạt làm giảm sự phát triển rễ và thân mầm của cỏ mủ (*Euphorbia heterophylla*) [13]. Dịch chiết EtOAC lá cây atiso dại (*Cynara cardunculus* var. *altilis*) cho hiệu quả ức chế mạnh nhất (gần 100%) so với dịch chiết từ MeOH, etanol và nước lên tỷ lệ nảy mầm, chiều dài rễ và chiều dài chồi của sáu loài cỏ dại, trong đó có cỏ lồng vực nước [14]. Ở cây cỏ đậu, dịch chiết của hai pha H<sub>2</sub>O và EtOAC từ DC3 đều cho hiệu quả ức chế cao, hơn 50% lên thân và rễ của 2 loài cỏ dại ở nồng độ 1,0 g/ml. Tuy nhiên, ở nồng độ 0,01-0,3 g/ml, các chất đối kháng chứa trong pha H<sub>2</sub>O gây kích thích đối với thân cỏ lồng vực nước, trong khi các chất đối kháng ở pha EtOAC lại cho hiệu quả ức chế.

Trên nền tảng hiệu quả đối kháng thực vật của 2 pha chiết lỏng - lỏng được ghi nhận từ DC3 với tác dụng ức chế tương đối ổn định, tăng dần theo nồng độ dịch chiết lên cả thân và rễ của hai loài cỏ dại ở pha EtOAC, chúng tôi tiếp tục phân tách chất đối kháng ở pha này nhằm làm rõ vai trò của các chất đối kháng thực vật có trong cây cỏ đậu.

**Làm tinh khiết chất đối kháng thực vật bằng phương pháp HPLC**

Phân tích các pha cắt từ cột C18 bằng phương pháp HPLC để xác định các chất/nhóm chất đối kháng thực vật chứa trong các pha này, kết quả ghi nhận được sự hiện diện của các chất đối kháng như: axit salicylic, coumaric, caffeic, ferulic... Các chất này phần lớn thuộc nhóm phenolic acids. Hợp chất Flavonoid chưa được tìm thấy trong các pha cắt này hoặc do nồng độ quá thấp không thể phát hiện (bảng 6).

**Bảng 6. Nồng độ các chất đối kháng thực vật có trong pha cắt C18 từ DC3 khi được phân tích bằng HPLC.**

TT	Tên chất/nhóm chất	Nồng độ trong dịch chiết (mg/l)	Trong 1 g trọng lượng tươi (µg/g)
1	Cinamic acid	1,07	0,214
2	Caffeic acid	4,172	0,8344
3	Coumaric acid	38,838	7,7676
4	Ferullic acid	11,177	2,2354
5	2-4 dimehydroxy benzoic	0,225	0,045
6	Salicylic acid	160,581	32,1162

Ghi chú: nồng độ dịch chiết ban đầu 1 g/ml (theo khối lượng tươi).

Các hợp chất phenolic có dạng vòng thơm, mang một hoặc nhiều nhóm hydroxyl [15, 16], có khả năng ức chế quá trình sinh trưởng, phát triển của cây bằng cách làm 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 [17]. 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 [18].

Tác dụng của các axit phenolic đã được nghiên cứu nhiều trên các loài thực vật khác nhau cho thấy, caffeic ở nồng độ 0,1 mM làm giảm sự hình thành rễ và ức chế sự phát triển rễ của cây đậu xanh (*Phaseolus aureus*) [19]. Axit ferulic làm giảm đáng kể chiều dài rễ và trọng lượng tươi của cây ngô (*Zea mays* L.), sự phát triển của rễ bị ức chế nhiều hơn so với thân [20]. Axit caffeic, coumaric, ferulic, cinnamic và vanillic ở nồng độ 10-30  $\mu\text{mol/l}$  gây ức chế đáng kể sự phát triển của đậu tương (*Glycine max*) [21]. Kết quả nghiên cứu của Li và cs (1993) [22] cho thấy, axit trans-Cinnamic và axit o-, m-, p-coumaric đã ức chế sự phát triển của xà lách ở nồng độ cao hơn  $10^{-4}$  M và sự nảy mầm của hạt ở nồng độ cao hơn  $10^{-3}$  M; coumarin ức chế sự phát triển của cây con và sự nảy mầm của hạt ở  $10^{-5}$  M trở lên. Axit chlorogenic ức chế sự phát triển của cây con trên  $10^{-4}$  M, nhưng không ức chế sự nảy mầm của hạt ở  $10^{-5}$ - $5 \times 10^{-3}$  M. Nồng độ thấp (dưới  $10^{-3}$  M) của các axit caffeic và ferulic thúc đẩy sự kéo dài của các lá mầm, nhưng nồng độ cao hơn (trên  $10^{-3}$  M) đã ức chế sự phát triển của cây con và sự nảy mầm của hạt. Những kết quả này cho thấy, trong tự nhiên axit trans-cinnamic, axit o-, m-, p-coumaric, coumarin và chlorogenic ức chế sự phát triển của thực vật không phụ thuộc vào nồng độ. Tuy nhiên, axit caffeic và ferulic có thể kích thích hoặc ức chế sự phát triển của thực vật tùy theo nồng độ của chúng.

Trong nghiên cứu này, 4 loại dịch chiết MeOH và các pha cất lỏng - lỏng của DC3, bên cạnh tạo nên hiệu quả ức chế ở nồng độ thấp (0,03-0,3 g/ml) còn có tác động kích thích quá trình sinh trưởng, phát triển của loài mục tiêu. Điều này có thể do sự có mặt của axit caffeic và ferulic đã góp phần thúc đẩy số lượng và kích thước các tế bào thực vật khi ở nồng độ thấp và kìm hãm sinh trưởng khi ở nồng độ cao.

## Kết luận

1. Dịch chiết MeOH từ thân rễ, thân và lá cỏ đậu đều có tác động ức chế cao lên cải bẹ xanh, cỏ lồng vực nước và lồng vực cạn, đạt 100% ở nồng độ 1,0 g/ml, trong đó, DC3 cho hiệu quả ức chế ổn định và tỷ lệ thuận với nồng độ dịch chiết. Hai pha cất lỏng - lỏng từ DC3 đều gây ức chế lên hai loài cỏ dại với tỷ lệ ức chế đều cao hơn 50% ở nồng độ 1,0 g/ml.

2. Kết quả HPLC của pha cất C18 từ pha EtOAc của DC3 ghi nhận được sự có mặt của 6 hợp chất phenolic với hàm lượng trong 1 g chất tươi thấp nhất là 0,045  $\mu\text{g}$  (2-4 dimehydroxy benzoic) và cao nhất là 32,1162  $\mu\text{g}$  (axit salicylic).

3. Cây cỏ đậu có tiềm năng đối kháng cỏ dại cao và có thể sử dụng trong nghiên cứu phòng trừ sinh học cỏ dại trong canh tác lúa bền vững.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] F. Monteles, et al. (2011), "Efeito alelopático dos extratos aquosos de amendoim forrageiro (*Arachis pintoi*) e da erva-de-touro (*Tridax procumbens*) sobre a germinação de sementes de tomate (*Solanum lycopersicum*) e pimentão

(*Capsicum annum*)", *Cadernos De Agroecologia*, **6**, pp.1-5.

[2] T.J. Rose, et al. (2019), "Pinto peanut cover crop nitrogen contributions and potential to mitigate nitrous oxide emissions in subtropical coffee plantations", *Sci. Total. Environ.*, **656**, pp.108-117.

[3] Christiane Abreu Oliveira, et al. (2002), "Decomposition of *Arachis pintoi* litter intercropped with forage grass in "Cerrado" soil in the dry and wet seasons", *Biology and Fertility of Soils*, **36**, pp.405-410.

[4] G.G. Johns (1994), "Effect of *Arachis pintoi* groundcover on performance of bananas in northern New South Wales", *Australian Journal of Experimental Agriculture*, **34**, pp.1197-1204.

[5] Zhu Chaohua, et al. (2006), *Allelopathy of Manihot utilissima and Arachis pintoi*, [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTotal-RDZX200601020.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotal-RDZX200601020.htm).

[6] H. Thi, et al. (2014), "Isolation and identification of an allelopathic phenylethylamine in rice", *Phytochemistry*, **108**, pp.109-121.

[7] N. Vrchotová, et al. (2011), "Allelopathic activity of extracts from *Impatiens* species", *Plant, Soil and Environment*, **57**, pp.57-60.

[8] U.P. Da Silva, et al. (2018), "Allelopathic activity and chemical constituents of extracts from roots of *Euphorbia heterophylla* L.", *Natural Product Research*, **1-4**, DOI: 10.1080/14786419.2018.1460829.

[9] Piyatida Pukclai, Hisashi Kato-Noguchi (2011), "Allelopathic activity of *Piper sarmentosum* Roxb", *Asian Journal of Plant Sciences*, **10**, pp.147-152.

[10] M.A. Salam, H. Kato-Noguchi (2010), "Allelopathic potential of methanol extract of Bangladesh rice seedlings", *Journal Article: Asian Journal of Crop Science*, **2**, pp.70-77.

[11] L. Alharits, et al. (2020), "Allelopathic activity of *Dendrophthoe pentandra* as a potential bioherbicide to inhibit seed germination and seedling growth of *Eleusine indica*", *Nusantara Bioscience*, **12**, pp.33-39.

[12] A.K.D. Oliveira, et al. (2019), "Allelopathic activity of *Amburana cearensis* seed extracts on melon emergence", *Technical. Note Rev. Caatinga*, **33**, DOI: 10.1590/1983-21252020v33n130rc.

[13] M.H. Inoue, et al. (2010), "Avaliação do potencial alelopático de substâncias isoladas em sementes de araticum (*Annona crassiflora*)", *Planta Daninha*, **28**, pp.735-741.

[14] A. Scavo, et al. (2019), "The extraction procedure improves the allelopathic activity of cardoon (*Cynara cardunculus* var. *altitilis*) leaf allelochemicals", *Industrial Crops and Products*, **128**, pp.479-487.

[15] M. Leri, et al. (2020), "Healthy effects of plant polyphenols: molecular mechanisms", *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, DOI: 10.3390/ijms21041250.

[16] B. Tohidi, et al. (2016), "Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran", *Food Chem.*, **220**, pp.153-161.

[17] 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**, pp.227-237.

[18] 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.

[19] D.R. Batish, et al. (2008), "Caffeic acid affects early growth, and morphogenetic response of hypocotyl cuttings of mung bean (*Phaseolus aureus*)", *J. Plant Physiol.*, **165**, pp.297-305.

[20] S.R. Devi, M.N.V. Prasad (1992), "Effect of ferulic acid on growth and hydrolytic enzyme activities of germinating maize seeds", *Journal of Chemical Ecology*, **18**, pp.1981-1990.

[21] D.T. Patterson (1981), "Effects of allelopathic chemicals on growth and physiological response of soybean (*Glycine max*)", *Weed Sci.*, **29**, pp.53-58.

[22] H.H. Li, et al. (1993), "Interaction of trans-cinnamic acid, its related phenolic allelochemicals, and abscisic-acid in seedling growth and seed-germination of lettuce", *J. Chem. Ecol.*, **19**, pp.1775-1787.