

for the *in vitro* root induction. Next, the 'ĐX22' explants were co-cultured with *Agrobacterium* strain harboring pPhaso-dest-VrD1 vector. Our results confirmed the presence of target gene in 5 T₀ lines by PCR technique. Among them, 'ĐX1-3' and 'ĐX1-7' (T₁ generation) were recorded to express VrD1 protein with the approximate content of 6.24 and 9.26 µg/mg total proteins, respectively. Our results could provide important information for mungbean breeding towards the *C. chinensis* resistance.

Keywords: Mung bean, defensin, transformation, VrD1, protein

Ngày nhận bài: 3/6/2019
Ngày phản biện: 12/6/2019

Người phản biện: TS. Nguyễn Thanh Tuấn
Ngày duyệt đăng: 14/6/2019

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG THỰC VẬT CỦA 8 GIỐNG LÚA OM TRÊN CỎ LÔNG VỰC NƯỚC VÀ PHÂN LẬP CÁC CHẤT ĐỐI KHÁNG THỰC VẬT CÓ TRONG GIỐNG LÚA OM4498

Nguyễn Lê Văn¹, Phan Khánh Linh¹, Phòng Ngọc Hải Triều¹,
Nguyễn Thế Cường¹, Lê Văn Vàng², Hồ Lệ Thi¹

TÓM TẮT

Dựa trên các nghiên cứu trong và ngoài nước về tính đối kháng thực vật trên cây lúa, 8 giống lúa OM được trồng phổ biến (bao gồm OM5451, OM Nếp 406 (N406), OM7347, OM6976, OM4498, OM5930, OM3536 và OM2395) được tiến hành nghiên cứu về hoạt động cạnh tranh cỏ dại trên loài cỏ gây hại chính - cỏ lông vực nước (*E. crus-galli*). Kết quả khảo sát ban đầu từ thí nghiệm đối kháng trực tiếp cho thấy giống lúa OM5930 có khả năng ức chế mạnh nhất đến sự phát triển cỏ lông vực nước. Tuy nhiên, khi thử nghiệm hoạt tính sinh học của dịch trích các giống lúa bằng methanol (MeOH) lại cho thấy hiệu quả ức chế tốt và ổn định của giống OM4498. Do đó, dịch trích giống OM4498 đã được chọn sử dụng cho các bước tách chiết chất đối kháng (CĐK) tiếp theo. CĐK được tách chiết sử dụng phương pháp tách pha lỏng/lỏng, sau đó pha nước được dùng để tách các CĐK bằng kỹ thuật chiết pha rắn lần lượt sử dụng các cột Silicagel, Sephadex và C18 với các dây nồng độ dung môi khác nhau. Hoạt chất ức chế cỏ dại được xác định trong phần chiết với 100% MeOH qua cột Silicagel, 40% MeOH qua cột Sephadex LH-20 và 20% MeOH qua cột C₁₈ Sep-Pak với tỷ lệ ức chế từ 41,6 - 83,3% đối với thân và 90,6 - 95% đối với rễ. Kết quả này cho thấy giống lúa OM4498 có khả năng chứa CĐK triển vọng, cần được định danh và khai thác nhằm phục vụ cho công tác quản lý cỏ dại bằng biện pháp sinh học, tiến tới một nền nông nghiệp bền vững.

Từ khóa: Chất đối kháng thực vật, cỏ lông vực nước, đối kháng thực vật, OM4498

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa (*Oryza sativa* L.) là một trong những cây lương thực quan trọng và được trồng khắp nơi trên thế giới. Cỏ dại là dịch hại quan trọng nhất cạnh tranh về chất dinh dưỡng, nước và ánh sáng, từ đó, làm giảm năng suất và chất lượng lúa. Các loài cỏ dại xâm lấn và có ảnh hưởng nghiêm trọng bao gồm cỏ lông vực nước (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.), cỏ đuôi phụng (*Leptochloa chinensis* L.) và cỏ chác (*Fimbristylis miliaceae*). Năng suất của cây lúa có thể giảm đến 50 - 70% do sự cạnh tranh của các loài cỏ này (Chin, 2001; Labrada *et al.*, 2003; Xuan *et al.*, 2006). Ngày nay, để đẩy mạnh sản xuất nông nghiệp, việc sử dụng hóa chất nông nghiệp đã gia tăng nhanh chóng ở Việt Nam gây ô nhiễm môi trường, làm mất cân bằng sinh thái và ảnh hưởng tiêu cực đến sức

khỏe cộng đồng, đồng thời dẫn đến tồn dư thuốc trừ cỏ quá mức cho phép trong lúa gạo. Đây cũng là nguyên nhân làm giảm sức cạnh tranh của nông sản, hàng hoá của Việt Nam trên thị trường thế giới (Chí Nhân, 2016).

Tính đối kháng cỏ dại trên cây lúa đã được nghiên cứu nhiều nơi trên thế giới (Kato-Noguchi and Ino, 2005; Kato-Noguchi *et al.*, 2008, 2010; Chau *et al.*, 2008; Khanh *et al.*, 2009; Asaduzzaman *et al.*, 2010; Salam and Kato-Noguchi, 2011; Kato-Noguchi *et al.*, 2012; Khanh *et al.*, 2013; Thi *et al.*, 2014a, b). Tiềm năng đối kháng thực vật ở lúa có thể đóng vai trò quan trọng trong việc cải thiện hiệu quả và tính bền vững trong kiểm soát cỏ dại. Đây là một trong những biện pháp sinh học giúp loại trừ tồn dư thuốc trừ cỏ trong lúa gạo có triển vọng và đáng lưu ý.

¹ Phòng Thí nghiệm Trung tâm, Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long

² Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

Vì vậy, thí nghiệm “Nghiên cứu triển vọng đối kháng thực vật trên 8 giống lúa OM và phân lập chất đối kháng thực vật có trong giống lúa OM4498” được tiến hành nhằm tìm hiểu hoạt động cạnh tranh cỏ dại của 8 giống lúa OM được trồng phổ biến trên loài cỏ gây hại chính (cỏ lồng vực nước) và phân lập các chất đối kháng thực vật có trong giống lúa OM4498 nhằm ứng dụng trong công tác quản lý sinh học cỏ dại trong ruộng lúa bằng biện pháp sinh học, tiến tới một nền nông nghiệp bền vững.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các giống lúa OM thu thập tại Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long bao gồm OM5930, OM Nếp 406, OM5451, OM3536, OM4498, OM7347, OM2395, OM6976 và hạt cỏ lồng vực nước.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đánh giá khả năng đối kháng trực tiếp của 8 giống lúa OM5930, OM Nếp 406, OM5451, OM3536, OM4498, OM7347, OM2395, OM6976

Hạt lúa nảy mầm được đặt vào các đĩa Petri (đường kính 10 cm) có lót giấy thấm đã qua tiệt trùng và làm ẩm với 4ml dung dịch Tween 20 (0,05%) (10 hạt/đĩa). Các đĩa Petri này được đặt trong buồng nuôi cấy (25°C, 80 - 100 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) có điều chỉnh 12 giờ sáng tối xen kẽ trong vòng 2 ngày. Sau đó, hạt cỏ lồng vực đã được ngâm ủ cho nảy mầm được đưa vào trồng chung với cây lúa trong buồng nuôi cấy ở cùng điều kiện trong vòng 2 ngày tiếp theo. Phương pháp đánh giá tính ức chế của các giống lúa lên sự sinh trưởng và phát triển của cỏ lồng vực nước được thực hiện dựa trên việc tính tỉ lệ chiều dài thân và rễ của cỏ đo được so với cây cỏ đối chứng không cho nảy mầm chung với lúa (Thi *et al.*, 2014b).

2.2.2. Tách chiết chất đối kháng thực vật (CĐK) bằng Methanol (MeOH) và thử nghiệm hoạt tính sinh học của dịch trích

100 g lúa được chiết xuất với 1 lít dung môi MeOH 60%, ngâm trong 48 giờ. Phần chiết xuất được thu thập bằng phương pháp lọc sử dụng phễu Buchner sứ 320 ml Fisherbrand™ và giấy lọc Whatman™

(đường kính 90 mm); sau đó phần bã được chiết xuất tiếp tục với MeOH 100% (500 ml). Cả hai phần dịch chiết xuất (1,5 l) được hỗn hợp chung và làm bay hơi dung môi MeOH ở 40°C bằng thiết bị bay hơi (evaporator) để có được 400 ml dịch chiết chỉ có nước và chất đối kháng thực vật.

Dịch chiết thu được được thử nghiệm khả năng đối kháng thực vật bằng cách cho dịch chiết vào đĩa Petri (đường kính 54 mm) có lót giấy lọc. Nồng độ dịch trích (dựa trên trọng lượng tươi của lúa) sử dụng cho thí nghiệm là 0,01; 0,03; 0,06; 0,10; 0,20 và 0,30 g/ml. MeOH được bốc hơi đến khô trong buồng thổi khí, sau đó giấy thấm được làm ẩm với 1ml dung dịch Tween 20 (0,05%). Mười hạt cỏ lồng vực nước (đã ủ cho nảy mầm) được gieo trên giấy lọc đã được làm ẩm trên, đặt nắp đĩa Petri và ủ tối ở nhiệt độ 25°C. Đối với nghiệm thức đối chứng, hạt cỏ nảy mầm được đặt lên giấy lọc ẩm với dung dịch Tween 20 (không sử dụng dịch trích). Chiều dài thân và rễ của cỏ lồng vực nước được đo sau 48 giờ (Thi *et al.*, 2014a).

2.2.3. Phương pháp tách pha lỏng/lỏng (Liquid/liquid extraction)

Chọn dịch trích giống lúa cho kết quả ức chế tốt ở thí nghiệm tách CĐK bằng MeOH để tách pha lỏng/lỏng. Đây là phương pháp tách các hợp chất dựa trên khả năng hòa tan tương đối của chúng vào các dung môi khác nhau, thường là nước (có phân cực) và dung môi hữu cơ (không phân cực). CĐK được tách bằng Ethyl acetate (EtOAc) theo tỷ lệ dịch trích: EtOAc là 1 : 2 (V/V) cho mỗi lần chiết với tổng cộng 3 lần chiết giống nhau.

2.2.4. Phương pháp chiết pha rắn bằng cột Silicagel, Sephadex LH-20 và C₁₈Sep-Pak

Pha chiết có hoạt động ức chế mạnh được tiếp tục tách CĐK bằng kỹ thuật chiết pha rắn (Solid Phase Extraction - SPE) lần lượt sử dụng các cột Silicagel, Sephadex LH-20 và C₁₈ Sep-Pak. Dịch chiết được cô quay đến khô và được đưa vào các cột SPE, rửa với các gradient dung môi khác nhau (Bảng 1), sau đó được cô quay đến khô và hòa tan, trữ trong 5 ml MeOH dùng để thử nghiệm hoạt tính sinh học.

Bảng 1. Các nồng độ dung môi sử dụng trong chiết pha rắn

Tên cột	Pha 1	Pha 2	Pha 3	Pha 4	Pha 5	Pha 6
Silicagel	80% Hexane 20% EtOAc	60% Hexane 40% EtOAc	40% Hexane 60% EtOAc	20% Hexane 80% EtOAc	100% EtOAc	100% MeOH
Sephadex	20% MeOH	40% MeOH	60% MeOH	80% MeOH	100% MeOH	
C ₁₈	20% MeOH	40% MeOH	60% MeOH	80% MeOH	100% MeOH	

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trong thời gian từ tháng 3 đến tháng 12 năm 2018 tại Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá khả năng đối kháng trực tiếp của các giống lúa OM trên đối tượng cỏ lồng vực nước

Phương pháp đánh giá khả năng đối kháng trực tiếp (Donor - receiver bioassay) hữu hiệu và cần thiết cho bước đầu thanh lọc giống lúa có tiềm năng

đối kháng thực vật khi đây là phương pháp đơn giản nhất, tiết kiệm không gian và thời gian (Khanh *et al.*, 2007).

Kết quả khảo sát khả năng đối kháng thực vật dựa trên sự phát triển của thân và rễ cỏ lồng vực nước khi đặt nảy mầm chung với các giống lúa sau 48 giờ được thể hiện qua bảng 2 và hình 1. Khi trồng chung với các giống lúa được khảo sát, thân cỏ có chiều dài từ 25 - 75% và rễ có chiều dài từ 13 - 64% so với đối chứng. Tất cả các giống lúa đều tác động ức chế đến sự phát triển của thân và rễ, khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với đối chứng.



Hình 1. Sự phát triển của cỏ lồng vực nước khi trồng chung với 8 giống lúa OM tại thời điểm 2 ngày sau khi đưa vào trồng chung

Bảng 2. Ảnh hưởng của các giống lúa lên sự phát triển cỏ lồng vực nước

STT	Giống	Tỷ lệ chiều dài (%)	
		Thân	Rễ
1	OM4498	30,6 ± 1,1ef	63,7 ± 2,4b
2	OM5930	24,9 ± 1,0g	46,4 ± 1,3d
3	OM3536	28,8 ± 1,1f	53,4 ± 2,0c
4	OM2395	74,8 ± 3,1b	52,2 ± 2,5c
5	OM6976	32,4 ± 1,6e	22,8 ± 2,2e
6	OM5451	49,4 ± 1,0c	46,8 ± 2,4d
7	OM7347	28,1 ± 1,2f	13,5 ± 0,9f
8	N406	42,5 ± 2,1d	44,5 ± 2,2d
9	Đối chứng	100 a	100 a
P value		2.31E-18***	5.88E-18***
CV (%)		2.3	2.5

Ghi chú: Số liệu là trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua kiểm định Duncan; ***: khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1%. Số liệu đã được chuyển đổi sang dạng $\sqrt{(x + 0,5)}$ trước khi phân tích.

Trong 8 giống lúa, giống OM5930 cho hiệu quả ức chế thân cao nhất khi chiều dài thân chỉ có 24,9% so với đối chứng và khác biệt có ý nghĩa thống kê so

với các giống còn lại. Kết quả này phù hợp với báo cáo của Thi và cộng tác viên (2014b). Giống OM2395 ít ảnh hưởng đến sự phát triển của thân nhất. Chiều dài thân trung bình của cỏ khi trồng chung với giống lúa này đạt 74,8% so với đối chứng. Các giống OM4498, OM3536, OM7347 và OM6976 cho hiệu quả ức chế thân tương đối cao, chiều dài thân nằm trong khoảng 28,1 - 32,4% so với đối chứng tương đương hiệu quả ức chế đạt 70%.

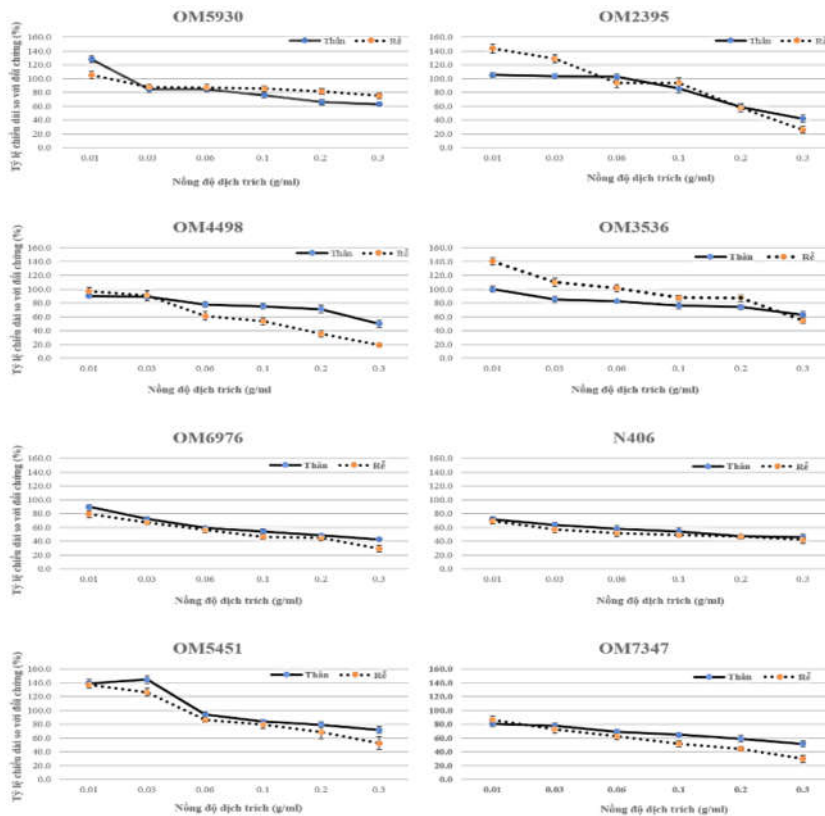
Đối với rễ, giống OM7347 cho hiệu quả ức chế rễ mạnh nhất (chiều dài rễ đạt 13,5% so với đối chứng) và giống OM4498 ức chế rễ thấp nhất (chiều dài rễ đạt 63,7% so với đối chứng). Hiệu quả ức chế trên rễ diễn ra ít hơn đối với thân khi có đến 6 giống có hiệu quả ức chế tương đương 50% hoặc thấp hơn. Chỉ có 2 giống có hiệu quả ức chế cao là OM7347 (ức chế ~85%) và OM6976 (ức chế ~75%).

Đây là các giống lúa đã được chọn lọc ban đầu có tiềm năng đối kháng thực vật nên khả năng ức chế sự phát triển cỏ khá cao so với các nghiên cứu trước đây. Salam và Kato (2009) đã nghiên cứu khả năng đối kháng thực vật của 42 giống lúa cao sản và 60 giống lúa địa phương ở Bangladesh, chỉ có rất ít giống ức chế đến 25% đối với thân và 45% đối với rễ cỏ lồng vực nước.

3.2. Thử nghiệm dịch chiết từ MeOH của 8 giống lúa OM trên đối tượng cỏ lồng vực nước

Kết quả thử nghiệm dịch trích bằng MeOH của các giống lúa với các nồng độ khác nhau cho thấy có 4 giống lúa gây kích thích sự phát triển của cỏ ở nồng độ 0,01g/ml bao gồm OM5930, OM2395, OM3536 và OM5451. Các giống còn lại đều thể hiện sự ức chế từ nồng độ thấp nhất, trong đó, giống OM Nếp N406 có chiều dài thân và rễ thấp nhất (khoảng 70% so với đối chứng). Nồng độ dịch trích càng tăng càng ức chế đến sự phát triển của thân và rễ. Ở nồng độ

thử nghiệm cao nhất (0,3 g/ml), giống OM4498 ức chế mạnh nhất (chiều dài rễ ~ 20% và chiều dài thân ~50% so với đối chứng). Dịch trích giống OM5930 có tác dụng ức chế thấp nhất (chiều dài thân ~60% và chiều dài rễ ~75% so với đối chứng). Điều này không giống với kết quả thanh lọc khả năng đối kháng trực tiếp khi giống OM5930 cho kết quả đối kháng trực tiếp với cỏ lồng vực nước khá tốt. Hầu hết các giống lúa đều thể hiện sự ức chế lên rễ cao hơn trên thân. Riêng giống OM5930 và OM3536 cho kết quả ngược lại (Hình 3).



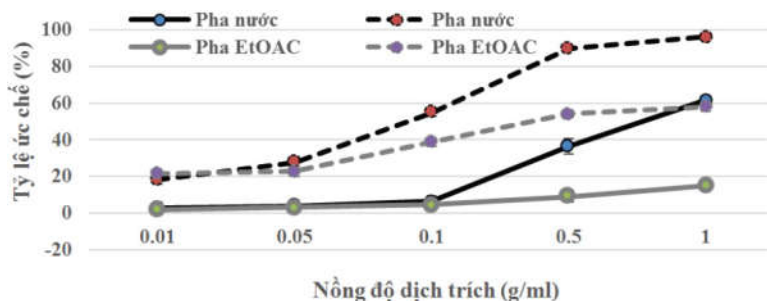
Hình 2. Ảnh hưởng của nồng độ dịch trích MeOH của 8 giống lúa OM lên sự phát triển cỏ lồng vực nước Trung bình và sai số chuẩn dựa trên 3 lần lặp lại, mỗi lần 10 hạt.

3.3. Kết quả đánh giá khả năng đối kháng thực vật của các pha chiết CĐK bằng phương pháp tách pha lỏng/lỏng (liquid/liquid extraction) trên giống OM4498

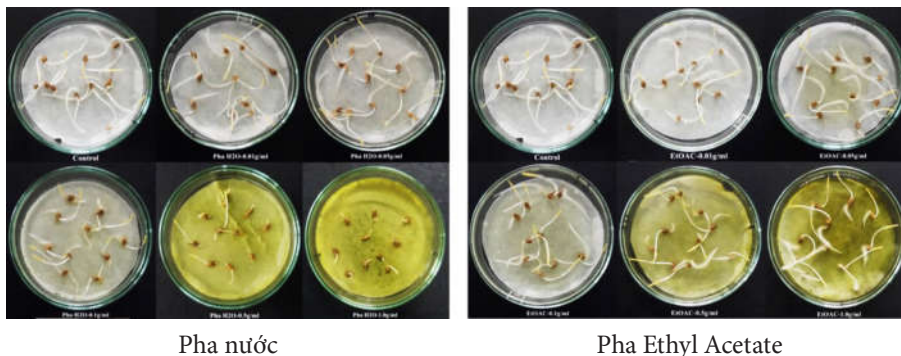
Dịch trích bằng MeOH của giống lúa OM4498 cho kết quả ức chế tốt được sử dụng tách chiết CĐK bằng phương pháp tách pha lỏng/lỏng (Hình 4 và 5). Việc đánh giá khả năng đối kháng thực vật của các pha chiết (nước và EtOAC) được thực hiện trên đối tượng cỏ lồng vực nước với dãy nồng độ 0,01; 0,05; 0,10; 0,50 và 1,00 g/ml (dựa trên trọng lượng tươi của lúa). Kết quả hình 4 cho thấy cả 2 pha nước và EtOAC đều ức chế sự phát triển rễ từ nồng độ thấp

nhất là 0,01 g/ml. Nồng độ dịch trích tỷ lệ thuận với tỷ lệ ức chế của cỏ lồng vực nước cho thấy khả năng chứa chất ức chế sinh trưởng và tiềm năng đối kháng thực vật của giống lúa này.

Dựa trên hình 4 và 5, pha nước thể hiện sự ức chế mạnh mẽ và tăng dần qua các nồng độ. Ở nồng độ 1 g/ml, tỷ lệ ức chế lên thân là 60% và ức chế rễ lên đến 95%. Trong khi đó, pha EtOAC, thân cỏ lồng vực nước gần như không bị ảnh hưởng ở nồng độ từ 0,01 - 0,10 g/ml. Ở nồng độ 0,5 và 1 g/ml, thân cỏ chỉ bị ức chế nhẹ từ 9 - 15%. Sự ức chế ở rễ diễn ra mạnh hơn đối với thân tương tự như khi khảo sát trên dịch trích bằng MeOH.



Hình 3. Sự ức chế của pha nước và pha Ethyl Acetate của giống OM4498 lên cỏ lồng vực nước



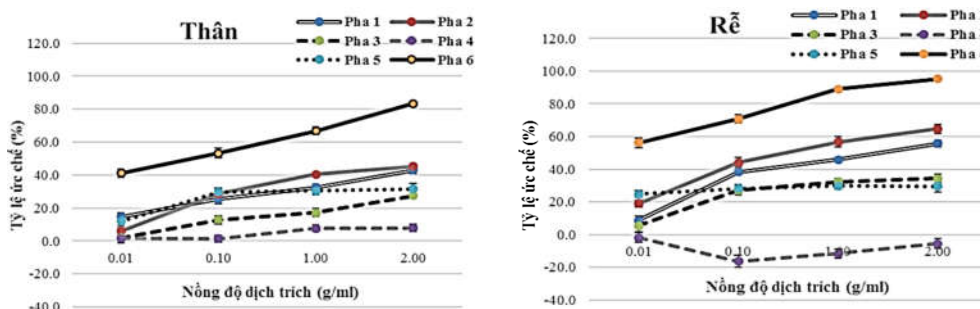
Hình 4. Sự ức chế của pha nước và pha Ethyl Acetate của giống OM4498 sau khi chiết bằng kỹ thuật tách lỏng /lồng lên cỏ lồng vực nước

Kết quả đánh giá khả năng đối kháng thực vật của các dịch chiết bằng phương pháp tách pha lỏng/lồng cho thấy pha nước ức chế mạnh hơn pha EtOAC lên sự phát triển của cỏ lồng vực nước, do đó pha nước được chọn để tách CĐK trong thí nghiệm tiếp theo bằng cột Silicagel.

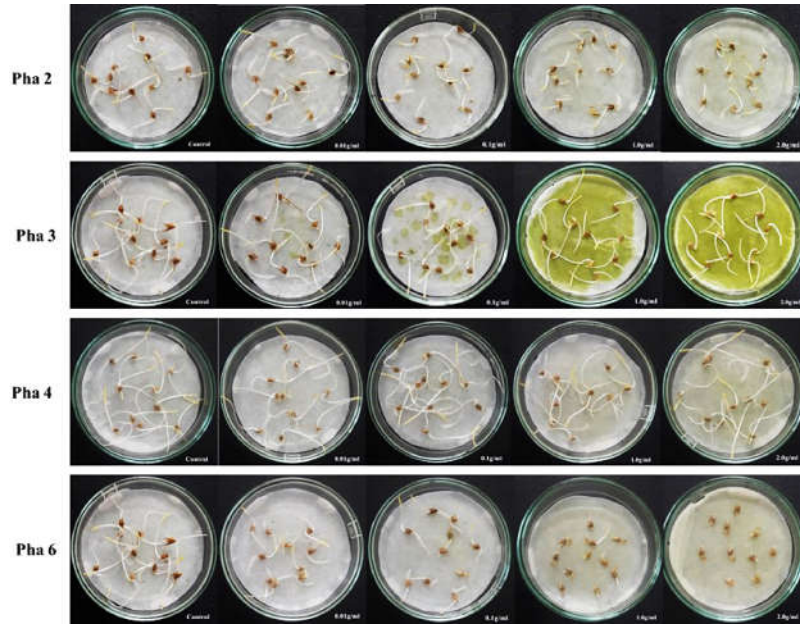
3.4. Đánh giá khả năng đối kháng thực vật các pha cất bằng cột Silicagel

Hoạt tính sinh học của các pha chiết được trình bày ở hình 6 và hình 7. Kết quả kiểm tra cho thấy cả 5 pha 1, 2, 3, 5 và 6 đều ức chế chiều dài thân và rễ cỏ lồng vực nước. Trong đó, pha cất thứ 6 (100% MeOH) thể hiện sự ức chế mạnh nhất từ nồng độ 0,01 g/ml. Ở nồng độ thấp nhất này tỷ lệ ức chế thân là 41,1% và rễ là 56,1%. Ở nồng độ 2 g/ml,

tỷ lệ ức chế thân lên đến 83,3% và rễ là 95,2%. Đây là pha được chọn để tiếp tục tách CĐK. Pha 1, 2 và 3 đều thể hiện sự ức chế tương đối lên cả thân và rễ. Pha cất thứ 5 sử dụng 100% EtOAC cũng thể hiện sự ức chế từ nồng độ 0,01 g/ml. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ dịch trích, chiều dài của thân và rễ đều không thay đổi đáng kể, nằm trong khoảng 70% so với đối chứng. Pha 4 sử dụng dung môi gồm 20% Hexane và 80% EtOAC không ảnh hưởng đáng kể đến sự phát triển thân (chiều dài thân nằm trong khoảng 92 - 98% so với đối chứng), tuy nhiên, lại có tác động kích thích lên sự phát triển của rễ. Ở cả 4 nồng độ dịch trích sử dụng trong thí nghiệm, chiều dài rễ đều vượt trội so với đối chứng, cao nhất ở nồng độ 0,1 g/ml (116,4% so với đối chứng).



Hình 5. Ảnh hưởng của các pha chiết bằng cột Silicagel dịch trích OM4498 lên cỏ lồng vực nước
Pha 1: 20% EtOAC; pha 2: 40% EtOAC; pha 3: 60% EtOAC; pha 4: 80% EtOAC; pha 5: 100% EtOAC; pha 6: 100% MeOH.



Hình 6. Thử nghiệm dịch trích một số pha chiết bằng silicagel giống lúa OM4498
Pha 2: 40% EtOAc; pha 3: 60% EtOAc; pha 4: 80% EtOAc; pha 6: 100% MeOH.

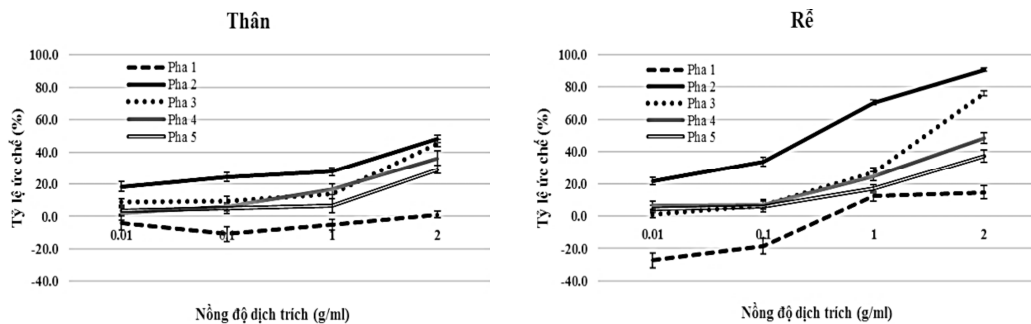
3.5. Đánh giá khả năng đối kháng thực vật các pha cắt bằng cột Sephadex LH-20

Hoạt tính sinh học của các pha chiết được trình bày ở hình 8. Tất cả các pha đều thể hiện sự ức chế ở rễ mạnh hơn ở thân, trong đó pha 2 (sử dụng dung môi 40% MeOH) thể hiện sự ức chế mạnh nhất. Ở nồng độ 2 g/ml, pha 2 có tỷ lệ ức chế đạt 48,4% đối với thân và 90,6% đối với rễ, trong khi các pha khác ở cùng nồng độ có tỷ lệ ức chế từ 1 - 45% đối với thân và từ 14 - 75% đối với rễ.

Pha 1 (sử dụng dung môi 20% MeOH) ít ảnh hưởng nhất đến sự phát triển của cỏ lồng vực nước.

Ở nồng độ 0,01 - 1,0 g/ml dịch trích thể hiện sự kích thích nhẹ lên sự phát triển chiều dài thân (4 - 11%) và ở nồng độ thử nghiệm cao nhất (2 g/ml), chiều dài thân tương đương so với đối chứng. Đối với rễ, sự kích thích diễn ra ở nồng độ 0,01 và 1,0 g/ml với tỷ lệ kích thích lần lượt là 27,4 và 18,4%. Từ nồng độ 1 g/ml trở lên, sự ức chế diễn ra rất ít, chỉ từ 12 - 14%.

Tóm lại, ở thí nghiệm tách CĐK bằng cột Sephadex LH-20 xác định được pha cắt số 2 (dung môi 40% MeOH) cho hiệu quả ức chế tốt hơn các pha còn lại.

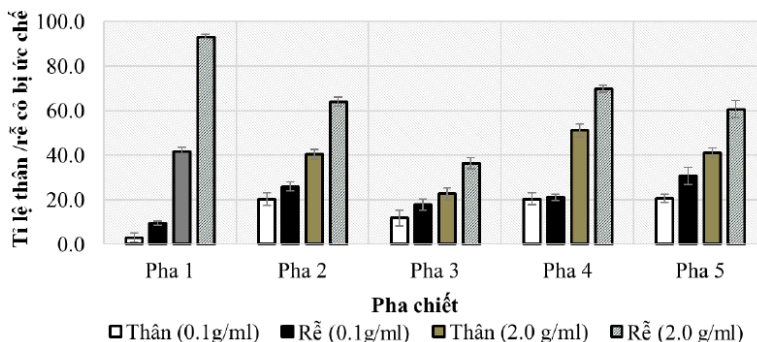


Hình 7. Đánh giá khả năng ức chế cỏ lồng vực nước của các pha cắt bằng cột Sephadex LH-20 dịch trích giống OM4498
Pha 1: 20% MeOH; pha 2: 40% MeOH; pha 3: 60% MeOH; pha 4: 80% MeOH và pha 5: 100% MeOH.

3.6. Đánh giá khả năng đối kháng thực vật các pha chiết bằng cột C₁₈ Sep-Pak

Ở nồng độ 0,01 g/ml cả thân và rễ đều ít bị ức chế ở cả 5 pha chiết, dao động từ 3,0 - 20,7% đối với thân

và 9,5 - 30,7% đối với rễ. Ở nồng độ 2 g/ml, khả năng ức chế lên thân cao nhất là pha 4 (80% MeOH) và ức chế rễ mạnh nhất ở pha 1 (20% MeOH) với tỷ lệ ức chế lần lượt là 51,1% và 93,2% (Hình 9).



Hình 8. Đánh giá khả năng ức chế cỏ lồng vực nước của các pha cất bằng cột C_{18} Sep-Pak dịch trích giống OM4498
Pha 1: 20% MeOH; pha 2: 40% MeOH; pha 3: 60% MeOH; pha 4: 80% MeOH và pha 5: 100% MeOH.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Thí nghiệm đánh giá tính đối kháng trực tiếp cho thấy hoạt động ức chế có khuynh hướng diễn ra ở thân mạnh hơn ở rễ cỏ lồng vực nước, thể hiện rõ ở 2 giống OM5930 và OM3536, trong đó giống OM5930 có khả năng ức chế mạnh nhất. Tuy nhiên, thử nghiệm dịch trích bằng MeOH lại cho thấy hiệu quả tác động của dịch trích lên rễ diễn ra mạnh hơn so với thân. Dịch trích giống OM4498 có hiệu quả ức chế tốt và ổn định nên được sử dụng phục vụ cho các thí nghiệm tách chiết chất đối kháng.

Dựa trên kết quả đánh giá khả năng đối kháng thực vật của các dịch chiết bằng phương pháp tách pha lỏng/lỏng, pha nước của giống OM4498 đã thể hiện sự ức chế mạnh hơn pha EtOAc với khả năng ức chế thân và rễ cỏ lồng vực nước là 60% và 95%.

Tách CDK bằng phương pháp chiết pha rắn sử dụng các cột silicagel, Sephadex LH-20 và C_{18} Sep-Pak xác định được các pha cất cho hiệu quả ức chế tốt nhất sử dụng các dung môi lần lượt là 100%, 40% và 20% MeOH với tỷ lệ ức chế từ 41,6 - 83,3% đối với thân và 90,6 - 95,2% đối với rễ.

Dịch trích từ giống lúa OM4498 được tinh sạch qua các phương pháp tách pha lỏng/ lỏng, chiết pha rắn thể hiện sự ức chế mạnh mẽ lên đối tượng cỏ lồng vực nước cho thấy giống OM4498 có khả năng chứa chất đối kháng, cần được tiến hành các bước định danh nhằm xác định CDK phục vụ cho công tác quản lý và phòng trừ cỏ dại trong ruộng lúa bằng biện pháp sinh học.

LỜI CẢM ƠN

Công trình này được hỗ trợ tài chính bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia Việt Nam (NAFOSTED) với mã Dự án là 106.03-2017.45.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Chí Nhân, 2016. *Lúa gạo đối mặt nguy cơ thua ngay trên sân nhà*, ngày truy cập: 25/03/2019. Địa chỉ: <http://>

thanhvien.vn/kinh-doanh/lua-gao-doi-mat-nguy-co-thua-ngay-tren-san-nha-657813.html.

Asaduzzaman M.D., Mohammad Mahbub Islam and Shamima Sultana, 2010. Allelopathy and allelochemicals in rice weed management. *Bangladesh Research Publications Journal*, 4: 01-14.

Chau D.P.M, Kieu T.T, and Chin D.V, 2008. Allelopathic effects of Vietnamese rice varieties. *J. Allelopathy*, 22: 409-412.

Chin D.V, 2001. Biology and management of barnyard grass, red sprangletop and weedy rice. *Weed Biol. Manage*, 1: 37-41.

Kato-Noguchi H. and Ino T., 2005. Possible involvement of momilactone B in rice allelopathy. *J. Plant Physiol*, 162: 718-721.

Kato-Noguchi H., Ino T. and Ota K., 2008. Secretion of momilactone A from rice roots to the rhizosphere. *J. Plant Physiol.*, 165: 691-696.

Kato-Noguchi H., Hasegawa M., Ino T., Ota K. and Kujime H., 2010. Contribution of momilactone A and B to rice allelopathy. *J. Plant Physiol.*, 167: 787-791.

Kato-Noguchi H., Tamura K., Sasaki H. and Suenaga K., 2012. Identification of twophytotoxins, blumenol A and grasshopper ketone, in the allelopathic Japanese rice variety Awaakamai. *J. Plant Physiol.*, 169: 682-685.

Khanh T.D, Linh L.H, Linh T.H, Quan N.T, Cuong D.M, Hien V.T.T, Ham H, Trung K.H and Xuan T.D, 2013. Integration of allelopathy to control weeds in rice. Ch. 4:75-99, In *Herbicides - Current Research and Case Studies in Use*. [Dx.doi.org/10.5772/56035](https://doi.org/10.5772/56035).

Khanh T.D, Xuan T.D và Chung I.M, 2007. Rice allelopathy and the possibility for weed management. *Ann. Applied Biol.*, 151: 325-339.

Khanh T.D., Cong L.C., Chung I.M., Xuan T.D. and Shinkichi T., 2009. Variation of weed-suppressing potential of Vietnamese rice cultivars against barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) in laboratory, greenhouse and field screenings. *J. Plant Interact*, 3: 209-218.

- Labrada R., Nations F. and A.O. of the U.**, 2003. Weed Management for Developing Countries: Addendum, Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Salam A and Kato H.N.**, 2009. Screening of allelopathic potential Bangladesh rice cultivars by donor - receiver bioassay. *Asian Journal of Plant Sciences*, 8 (1): 20-27.
- Salam A and Kato-Noguchi H.**, 2011. Isolation and characterisation of two potent growth inhibitory substances from aqueous extract of Bangladeshi rice cultivar BR17. In: *Allelopathy J.*, 27.
- Thi L. Ho, Chung-Ho Lin, Nathan D, Leigh, Wei G, Wycoff, Reid J, Smeda and Felix B. Fritschi**, 2014b. Isolation and Identification of a Novel Allelochemical in Rice. *Phytochemistry*, 108: 109-121.
- Thi L. Ho, Chung-Ho Lin, Reid J, Smeda and Felix B, Fritschi**, 2014a. Allelopathic Potential of Vietnamese Rice Cultivars - Exploration of an Allelochemical. *Weed Biology and Management*, 14: 221-231.
- Xuan T.D., Chung I.M., Khanh T.D., Tawata S.**, 2006. Identification of phytotoxic substances from early growth of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*) root exudates. *J. Chem. Ecol.*, 32: 895-906.

Allelopathic influences of 8 OM rice varieties on barnyard grass and allelochemical extraction in OM4498

Nguyen Le Van, Phan Khanh Linh, Phong Ngoc Hai Trieu, Nguyen The Cuong, Le Van Vang, Ho Le Thi

Abstract

Based on previous studies of allelopathy in rice, 8 popular OM varieties were used to assess the weed competition with the main invasive weed on rice fields - barnyard grass. Donor - receiver bioassay showed that OM5930 rice variety has the strongest ability to inhibit the development of barnyard grass. However, when testing the biological activity of the extracts of rice varieties by methanol, it showed good and stable inhibitory effect of OM4498 variety. Therefore, OM4498 extract has been selected for the next steps of allelochemical extraction. Allelochemicals were extracted using liquid/liquid extraction method, then the collected aqueous phase is purified by solid phase extraction technique using Silicagel, Sephadex and C18 column, accordingly, with a range of different solvent concentrations. The active phases that may contain weed inhibitors were determined in 100% MeOH via Silicagel column, 40% MeOH via Sephadex LH-20 column and 20% MeOH via C₁₈ Sep-Pak column. Inhibition rates are from 41.6 - 83.3% on shoot and 90.6 - 95.2% on root of barnyard grass. This result shows that the OM4498 rice variety may contain potential allelochemicals which needs to be identified and exploited to serve weed management by biological measures, towards a sustainable agriculture.

Keywords: Allelopathy, allelochemicals, OM4498, barnyard grass

Ngày nhận bài: 16/5/2019
Ngày phản biện: 27/5/2019

Người phản biện: PGS. TS. Dương Văn Chính
Ngày duyệt đăng: 14/6/2019

MỘT SỐ BIỆN PHÁP KỸ THUẬT TRONG NHÂN GIỐNG ĐỔ QUYÊN CÀ RỐT BẰNG PHƯƠNG PHÁP GIÂM CÀNH

Đỗ Thị Thu Lai¹, Nguyễn Thị Kim Lý², Phạm Thị Minh Phượng³

TÓM TẮT

Kết quả nghiên cứu kỹ thuật nhân giống cây đổ quỳên Cà rớt (*Rhododendron simsii* Planch) bằng phương pháp giâm cành cho thấy: Thời gian có thể nhân giống vào các tháng 3, 9, 10; tuy nhiên kết quả tốt nhất là vào tháng 10 với thời gian từ khi giâm cành đến xuất hiện rễ 27,8 ngày, tỷ lệ ra rễ đạt 80,9%. Sử dụng giá thể giâm cành là đất ruộng khô: Trấu mục (phối trộn theo thể tích tỉ lệ 7 : 3) có tỷ lệ xuất vườn cao nhất, đạt 83,7%, với chiều cao cây xuất vườn 20,5 cm. Cành giâm có chiều dài 12 cm, cho ra rễ nhiều, số lá là 17,7 lá, thời gian xuất vườn ngắn (96,7 ngày). Xử lý thuốc kích thích ra rễ IBA đạt hiệu quả cao nhất ở nồng độ 2.500 ppm, số rễ trung bình 14,5 rễ, chiều dài rễ 6,1 cm. Các kết quả trên góp phần hoàn thiện quy trình nhân giống hoa đổ quỳên bằng phương pháp giâm cành.

Từ khóa: Đổ quỳên Cà rớt, giâm cành, giá thể, tỷ lệ ra rễ

¹ Ban quản lý Lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh; ² Viện Di truyền Nông nghiệp; ³ Học viện Nông nghiệp Việt Nam