

KHẢO SÁT MỨC ĐỘ MẮN CẢM VÀ KHÁNG THUỐC DIỆT CỎ CYHALOFOP-BUTYL CỦA CỎ LÔNG VỰC (*Echinochloa* spp.) VÀ CỎ ĐUÔI PHỤNG (*Dinebra* spp.) TẠI TỈNH ĐỒNG THÁP

Huỳnh Trọng Nhân¹, Nguyễn Minh Chơn¹, *

¹ Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Đại học Cần Thơ

*Email: nmchon@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Sự gia tăng nhanh chóng của cỏ lông vực (*Echinochloa* spp.) và cỏ đuôi phụng (*Dinebra* spp.) có khả năng kháng thuốc diệt cỏ đang gây áp lực lên sản xuất lúa nói chung và ở đồng bằng sông Cửu Long nói riêng. Nghiên cứu này nhằm đánh giá mức độ miễn cảm và kháng thuốc diệt cỏ cyhalofop-butyl điển hình của các quần thể cỏ lông vực (*Echinochloa* spp.) và cỏ đuôi phụng (*Dinebra* spp.) thu thập tại tỉnh Đồng Tháp, đồng thời định danh loài cỏ dại dựa trên chỉ thị phân tử ITS. Có 33 mẫu cỏ được xử lý với cyhalofop-butyl ở 3 mức liều lượng dựa trên liều lượng khuyến cáo (1X). Liều thuốc diệt cỏ được tăng lên 1,5 lần (1,5X), 2 lần (2X) và đối chứng là phun với nước (0X). Kết quả cho thấy, ở liều khuyến cáo, cyhalofop-butyl đạt độ hữu hiệu 81,34 - 100% đối với các mẫu cỏ miễn cảm. Tuy nhiên, hiệu lực này sụt giảm mạnh trên nhóm cỏ kháng, đặc biệt là mẫu L18 với độ hữu hiệu chỉ đạt 33,46%. Xét trên số lượng mẫu, có 69,7% (23/33 mẫu) miễn cảm, trong khi 30,3% số mẫu còn lại xuất hiện tính kháng ở các mức độ khác nhau. Đặc biệt, hai mẫu cỏ L11 và L18 duy trì khả năng sống sót cao ngay cả khi tăng liều lên 2X. Phân tích vùng gen ITS xác định các biotype kháng thuốc thuộc loài *Dinebra chinensis*. Đáng chú ý, mẫu L24 có sự tách nhóm di truyền rõ rệt (tương đồng cao với *D. panicea*) và vẫn duy trì sự miễn cảm với thuốc. Nghiên cứu phản ánh thực trạng diễn tiến tính kháng của cỏ đuôi phụng tại địa phương, cung cấp cơ sở cho việc điều chỉnh chiến lược quản lý cỏ dại bền vững.

Từ khóa: Cyhalofop-butyl, *Dinebra*, *Echinochloa*, miễn cảm, tính kháng.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa gạo đóng vai trò then chốt trong việc đảm bảo an ninh lương thực quốc gia và là mặt hàng xuất khẩu chủ lực của Việt Nam, đặc biệt tại vùng đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL). Việc thâm canh tăng vụ liên tục đã làm cho dịch hại phát triển, trong đó cỏ dại là một trong những tác nhân sinh học gây suy giảm năng suất và chất lượng nông sản quan trọng.

Những chi và loài cỏ dại trong họ hòa thảo (Poaceae hay Gramineae) có đặc tính gần với cây lúa như cỏ lông vực (*Echinochloa* spp.) và cỏ đuôi phụng (*Dinebra* spp.), là đối tượng khó kiểm soát nhất trong ruộng lúa. Chúng cạnh tranh gay gắt với cây lúa về dinh dưỡng, nước, ánh sáng và không gian sống. Hai chi này có chu kỳ sinh trưởng ngắn hơn cây lúa, khả năng sinh trưởng mạnh và sản sinh lượng hạt lớn. Hình thái của chúng lại rất giống cây lúa ở giai đoạn cây con,

nên việc nhận diện và kiểm soát chúng gặp nhiều khó khăn.

Việc kiểm soát cỏ dại hiện nay chủ yếu dựa vào biện pháp hóa học. Việc sử dụng thuốc trừ cỏ liên tục trên ruộng lúa đã cho thấy tính kháng thuốc trên nhiều hoạt chất. Việc lạm dụng thuốc diệt cỏ và sử dụng liên tục thuốc diệt cỏ với một cơ chế tác động trong thời gian dài đã tạo ra áp lực chọn lọc tự nhiên rất mạnh mẽ. Điều này dẫn đến nguy cơ hình thành các quần thể cỏ dại kháng thuốc và làm giảm hiệu lực phòng trừ cỏ. Khi hiệu quả phòng trừ cỏ dại theo liều khuyến cáo giảm, việc tăng liều sử dụng đã làm tăng chi phí và gây ô nhiễm môi trường. Cyhalofop-butyl là một hoạt chất thuốc diệt cỏ thuộc nhóm ức chế enzyme Acetyl-CoA Carboxylase (ACCase) đã được sử dụng rộng rãi trong nhiều năm qua nhờ khả năng diệt cỏ hòa bản hiệu quả, nhưng cũng đã ghi nhận có tính kháng đối với hoạt chất này. Thực tế sản xuất lúa tại tỉnh Đồng Tháp gần đây

đã ghi nhận hiện tượng cỏ lồng vực và cỏ đuôi phụng sống sót sau khi phun thuốc, đặt ra nghi vấn lớn và lo ngại sâu sắc về sự xuất hiện của tính kháng thuốc diệt cỏ. Việc nghiên cứu đánh giá mức độ kháng thuốc của các chi cỏ dại rất cần thiết để tìm ra giải pháp quản lý cỏ dại hiệu quả.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Bảng 1. Vị trí và nguồn gốc các mẫu cỏ dại thu ở tỉnh Đồng Tháp

Kí hiệu mẫu	Nguồn mẫu	Kí hiệu mẫu	Nguồn mẫu
L1	Xã Mỹ Thọ, tỉnh Đồng Tháp	L18	Xã Mỹ An Hưng, tỉnh Đồng Tháp
L2	Xã Ba Sao, tỉnh Đồng Tháp	L19	Xã Mỹ An Hưng, tỉnh Đồng Tháp
L3	Xã Bình Hàng Trung, tỉnh Đồng Tháp	L20	Xã Mỹ An Hưng, tỉnh Đồng Tháp
L4	Xã Bình Hàng Trung, tỉnh Đồng Tháp	L21	Xã Mỹ Thọ, tỉnh Đồng Tháp
L5	Xã Tháp Mười, tỉnh Đồng Tháp	L22	Xã Tháp Mười, tỉnh Đồng Tháp
L6	Xã Tháp Mười, tỉnh Đồng Tháp	L23	Xã Mỹ Quý, tỉnh Đồng Tháp
L7	Xã Tháp Mười, tỉnh Đồng Tháp	L24	Xã Mỹ An Hưng, tỉnh Đồng Tháp
L8	Xã Tháp Mười, tỉnh Đồng Tháp	L25	Xã Tân Khánh Trung, tỉnh Đồng Tháp
L9	Xã Tháp Mười, tỉnh Đồng Tháp	L26	Xã Tân Khánh Trung, tỉnh Đồng Tháp
L10	Xã Tháp Mười, tỉnh Đồng Tháp	L27	Xã Phú Cường, tỉnh Đồng Tháp
L11	Xã Thanh Mỹ, tỉnh Đồng Tháp	L28	Xã Phú Cường, tỉnh Đồng Tháp
L12	Xã Thanh Mỹ, tỉnh Đồng Tháp	L29	Xã Phú Cường, tỉnh Đồng Tháp
L13	Xã Mỹ Quý, tỉnh Đồng Tháp	E4	Đại học Cần Thơ
L14	Xã Mỹ Quý, tỉnh Đồng Tháp	E8	Đại học Cần Thơ
L15	Xã Mỹ Quý, tỉnh Đồng Tháp	ETT2	Xã Tân Thạnh, tỉnh Tây Ninh
L16	Xã Mỹ Quý, tỉnh Đồng Tháp	ETT9	Xã Tân Thạnh, tỉnh Tây Ninh
L17	Xã Mỹ Quý, tỉnh Đồng Tháp		

2.2. Phương pháp

Tại mỗi địa điểm thu mẫu, hạt giống từ ít nhất 50 cá thể cỏ trưởng thành được thu thập ngẫu nhiên trong một ruộng lúa để đảm bảo tính đại diện cho quần thể. Sau khi thu mẫu, các mẫu được phơi khô, bảo quản trong túi giấy ở 4°C [1 - 3]. Thông tin về lịch sử sử dụng thuốc được ghi nhận lại [4].

2.2.1. Thử nghiệm đánh giá tính kháng thuốc trong nhà lưới

Hạt cỏ được phá miên trạng [5], được gieo vào chậu nhựa với độ sâu 1 cm [6]. Sau 14 ngày gieo, giai đoạn có 2 - 3 lá [6 - 8], tiến hành phun hoạt chất Cyhalofop-butyl với 3 liều lượng thuốc:

Tổng cộng 33 mẫu cỏ đã được sử dụng trong nghiên cứu, bao gồm 29 mẫu cỏ đuôi phụng (ký hiệu L) được thu thập tại các huyện trọng điểm trồng lúa của tỉnh Đồng Tháp vào tháng 5 năm 2023 và 4 mẫu cỏ lồng vực (ký hiệu E/ETT) đang được lưu giữ ở Phòng thí nghiệm Sinh hóa ứng dụng, Bộ môn Sinh học phân tử, Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Đại học Cần Thơ (Bảng 1).

1X, 1,5X và 2X, với X là liều khuyến cáo (X = 100 g a.i./ha) và đối chứng được phun nước: 0X [9]. Thiết kế thí nghiệm nhằm sàng lọc nhanh mức độ mẫn cảm của các quần thể. Thí nghiệm có 4 lần lặp lại. Các chỉ tiêu được đánh giá sau khi phun thuốc 2 tuần. Ở giai đoạn 14 ngày sau khi phun (NSKP), độ hữu hiệu (ĐHH) của thuốc được xác định bằng cách đếm số cây sống và chết trong nghiệm thức [10]:

$$\text{ĐHH (\%)} = \left(1 - \frac{Ta \times Cb}{Tb \times Ca} \right) \times 100$$

Trong đó: Ca là số cây cỏ đối chứng vào 14 NSKP; Cb là số cây cỏ đối chứng vào thời điểm trước khi xử lý; Ta là số cây cỏ có xử lý thuốc vào 14 NSKP; Tb là số cây cỏ có xử lý thuốc.

Phân loại mức độ kháng: Dựa trên thang đánh giá của Moss và cs (2007) [11], các quần thể được phân nhóm: Mẫn cảm (S): ĐHH 81 - 100%; kháng ít (R): 72 - 80%; kháng vừa (RR): 36 - 71% và kháng mạnh (RRR): 0 - 35%.

2.2.2. Phân tích sinh học phân tử

Theo Zhang và cs (2021) [12]; González-Torralva và Norsworthy (2023) [13], các mẫu cỏ mang đặc tính kháng thuốc ở các liều lượng: 1X, 1,5X và 2X sẽ được lựa chọn vào thí nghiệm ly trích ADN. Mẫu lá non được ly trích theo phương pháp của Doyle và Doyle (1987) [14], ADN sau khi ly trích được kiểm tra nồng độ và độ tinh sạch bằng máy quang phổ Nanodrop Denovix DS-11 (Denovix, Hoa Kỳ). Sản phẩm ADN được điện di trên gel agarose 0,8% cùng với thang chuẩn 100 bp ADN Ladder (Phusa Genomics, Việt Nam) để kiểm tra và phân tích. Phản ứng PCR với các thành phần như: 2X PCR Master mix (Phusa Genomics, Việt Nam), 10 μ M mỗi ITS1 (TCCGTAGGTGAA CCTGCGG) [15], 10 μ M mỗi ITS4 (TCCTCCGC TTATTGATATGC) [15], PCR water và ADN khuôn mẫu, chu kỳ nhiệt phản ứng PCR với 98°C, 5 phút; 98°C, 30 giây; 55°C, 30 giây; 72°C, 40 giây và 72°C, 5 phút trong 35 chu kỳ. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 2% cùng với thang chuẩn 100 bp ADN Ladder (Phusa Genomics, Việt Nam) để kiểm tra và phân tích. Vùng ITS được giải trình tự bằng Bigdye Terminator 3.1, trên máy giải trình tự gen ABI 3130xl 16 capillary (Thermo Fisher Scientific, Hoa Kỳ).

Dựa trên kết quả điện di và giải trình tự, các trình tự thu được sẽ được so sánh và tìm kiếm bằng công cụ BLAST trên GenBank cho từng mẫu riêng biệt. Cây phả hệ được xây dựng bằng phần mềm Geneious Prime theo phương pháp Neighbor-Joining (NJ) với độ hỗ trợ bootstrap 1.000 lần lặp lại [16, 17].

2.3. Xử lý số liệu

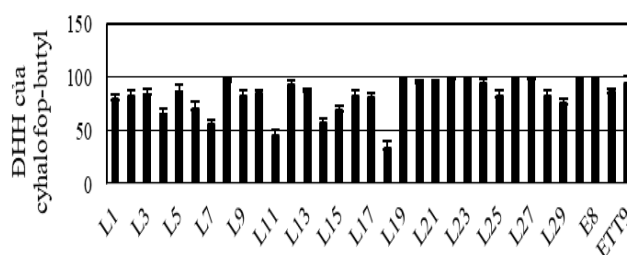
Các số liệu phân tích sự mẫn cảm với hoạt chất Cyhalofop-butyl được xử lý bằng chương trình Microsoft Excel và phân tích thống kê thí nghiệm bằng chương trình SPSS 20.0. Phân tích phương sai (ANOVA) được sử dụng để đánh giá sự khác biệt giữa các nghiệm thức. So sánh các giá trị trung bình bằng kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 5%. Do nghiên cứu này tập trung vào sàng lọc nhanh mức độ mẫn cảm ở cấp độ quần

thể, các chỉ số GR_{50} và Resistance Index (RI) không được tính toán mà sẽ được xác định trong các nghiên cứu chuyên sâu tiếp theo.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sự mẫn cảm với Cyhalofop-butyl của cỏ lồng vực (*Echinochloa* spp.) và cỏ đuôi phụng (*Dinebra* spp.)

Quan sát hình thái cho thấy, hiệu lực của Cyhalofop-butyl thể hiện rõ rệt theo thời gian. Tại liều lượng khuyến cáo (1X tương đương 100 g a.i./ha), vào thời điểm 2 NSKP, các mẫu cỏ nhạy cảm bắt đầu xuất hiện triệu chứng điển hình của nhóm thuốc ức chế ACCase như vàng lá, xoắn đọt và khô chót lá. Ở 8 NSKP, cây chết hoàn toàn. Kết quả này sớm hơn so với kết quả nghiên cứu của Damalas và cs (2008) [17] ghi nhận sau 30 ngày. Tuy nhiên, diễn tiến gây chết cây là tương đồng. Ngược lại, ở các mẫu thể hiện tính kháng, cây chỉ biểu hiện vàng nhẹ ở lá và thân, sau đó có dấu hiệu hồi phục sinh trưởng từ 4 NSKP.



Hình 1. Sự mẫn cảm của cỏ lồng vực và cỏ đuôi phụng với hoạt chất cyhalofop-butyl ở liều lượng 1X

Ghi chú: Các ký hiệu mẫu bao gồm: E (mẫu cỏ lồng vực *Echinochloa*), ETT (mẫu cỏ lồng vực thu thập tại xã Tân Thạnh, tỉnh Tây Ninh) và L (mẫu cỏ đuôi phụng *Dinebra*).

Kết quả đánh giá tại thời điểm 14 NSKP (Hình 1) cho thấy sự phân hóa rõ rệt về mức độ mẫn cảm giữa hai chi cỏ: Các mẫu cỏ lồng vực (*Echinochloa* spp.) thể hiện sự mẫn cảm hoàn toàn, trong khi các mẫu cỏ đuôi phụng (*Dinebra* spp.) có phản ứng đa dạng. Chỉ có 69,70% số mẫu (23/33 mẫu) thuộc nhóm mẫn cảm (S) với ĐHH đạt từ 81,34 - 100%. Số mẫu còn lại thể hiện các mức độ kháng thuốc khác nhau, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với nhóm mẫn cảm. Đáng chú ý, mẫu L18 biểu hiện kháng thuốc mạnh (RRR) khi ĐHH chỉ đạt 33,46%. Nhóm kháng RR bao gồm

các mẫu L4, L6, L7, L11, L14, L15 với ĐHH dao động từ 45,05 - 70,57%. Các mẫu L1 và L29 bị không chế lần lượt 79,55% và 72,25%, nên được xem là kháng thấp (R). Độ hữu hiệu của thuốc cỏ với mẫu L28 tuy thấp (82,15%) nhưng vẫn nằm trong giới hạn của nhóm mẫn cảm (S).

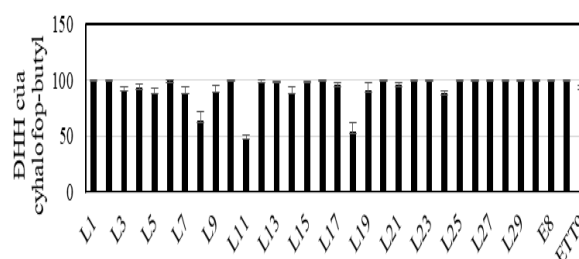
Khi tăng liều lượng xử lý lên 1,5X (150 g a.i./ha) và 2X (200 g a.i./ha), hiệu quả kiểm soát trung bình trên toàn bộ các mẫu tăng lên đáng kể, lần lượt đạt 92,83% và 95,96% (Hình 2 và 3). Nhiều mẫu thể hiện tính kháng ở liều lượng 1X lại bị kiểm soát tốt hơn khi tăng liều. Cụ thể, mẫu L7 có dấu hiệu kháng thuốc (mức RR) ở liều lượng 1X (ĐHH 56,08%), nhưng lại trở nên mẫn cảm ở liều lượng 1,5X (ĐHH 89,02%). Điều này cho thấy, liều lượng 100 g a.i./ha có thể chưa đủ để kiểm soát triệt để các quần thể cỏ đuôi phụng (*Dinebra* spp.) có sức sống cao hoặc ở giai đoạn sinh trưởng lớn. Tuy nhiên, hai biotype L11 và L18 vẫn duy trì khả năng kháng thuốc mạnh mẽ ngay cả ở liều lượng cao. Tại liều lượng 1,5X, ĐHH của hai mẫu này chỉ đạt 48,43 - 53,80% (mức kháng RR). Ở liều lượng gấp đôi khuyến cáo, mẫu L18 vẫn chỉ bị kiểm soát khoảng 51,74% (Hình 3). Việc duy trì tỷ lệ sống sót đáng kể dưới áp lực liều cao là dấu hiệu thường thấy ở các quần thể có khả năng mang cơ chế kháng mục tiêu. Các nghiên cứu trước đây trên thế giới đã chỉ ra rằng, các đột biến điểm trên gen mã hóa enzyme ACCase (Gln-1756-Glu, Ile-1781-Leu, Thr-1805-Ser, Lys-1930-Arg, Trp-1999-Cys, Trp-2027-Cys, Ile-2041-Asn...) thường mang lại khả năng kháng thuốc mạnh mẽ đối với nhóm Aryloxyphenoxypropionate (APP) ở chi *Dinebra* [18 - 21]. Tuy nhiên, cần có các nghiên cứu giải trình tự gen ACCase tiếp theo để xác nhận giả thuyết này.

3.2. Định danh và mối quan hệ di truyền phân tử

Dựa trên kết quả đánh giá kiểu hình, toàn bộ 33 mẫu (bao gồm 29 mẫu cỏ đuôi phụng và 4 mẫu cỏ lồng vực) đã được lựa chọn để khuếch đại PCR và giải trình tự vùng ITS nhằm xác định chính xác tên loài. Dữ liệu trình tự thu được sau đó được kiểm tra, căn chỉnh và so sánh với các trình tự tham chiếu trên ngân hàng gen (GenBank) bằng công cụ BLASTn.

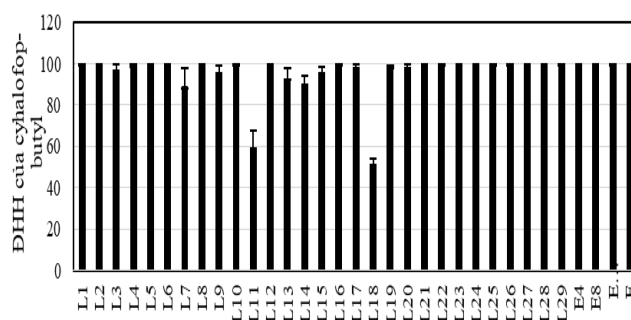
Kết quả phân tích cho thấy, hầu hết các mẫu cỏ đuôi phụng thu tại tỉnh Đồng Tháp (28/29 mẫu, từ L1 - L29, ngoại trừ L24) có độ tương đồng di

truyền rất cao (99,66 - 100%) với loài *Dinebra chinensis* đã công bố trên GenBank. Điều quan trọng là nhóm này bao gồm cả hai biotype kháng thuốc L11 và L18. Riêng mẫu L24 thể hiện sự khác biệt rõ rệt. Kết quả BLAST của mẫu L24 có độ tương đồng từ 96,57 - 98,79% với nhóm các loài cỏ đuôi phụng (*D. panicea*, *D. xerophila*, *D. retroflexa* và *D. squarrosa*), trong đó chỉ số tương đồng cao nhất nghiêng về loài cỏ đuôi phụng *Dinebra panicea* (98,79%). Sự khác biệt về loài này bước đầu giải thích cho việc mẫu L24 vẫn duy trì sự mẫn cảm với thuốc diệt cỏ trong khi các biotype *D. chinensis* khác đã bắt đầu xuất hiện tính kháng.



Hình 2. Sự mẫn cảm của cỏ lồng vực và cỏ đuôi phụng với hoạt chất cyhalofop-butyl ở liều lượng 1,5X

Ghi chú: Các ký hiệu mẫu bao gồm: E (mẫu cỏ lồng vực *Echinochloa*), ETT (mẫu cỏ lồng vực thu thập tại xã Tân Thạnh, tỉnh Tây Ninh) và L (mẫu cỏ đuôi phụng *Dinebra*).



Hình 3. Sự mẫn cảm của cỏ lồng vực và cỏ đuôi phụng với hoạt chất cyhalofop-butyl ở liều lượng 2X

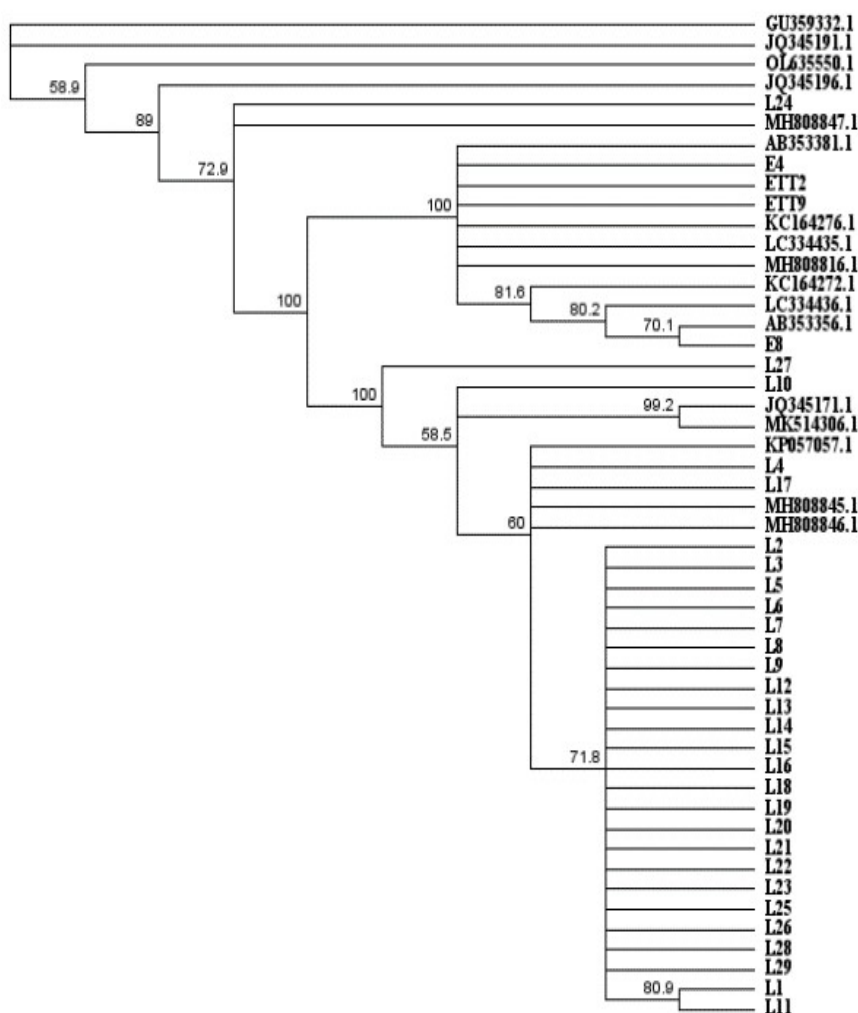
Ghi chú: Các ký hiệu mẫu bao gồm: E (mẫu cỏ lồng vực *Echinochloa*), ETT (mẫu cỏ lồng vực thu thập tại xã Tân Thạnh, tỉnh Tây Ninh) và L (mẫu cỏ đuôi phụng *Dinebra*).

Đối với nhóm cỏ lồng vực, kết quả định danh cụ thể như sau: Mẫu E4 tương đồng 97,37 - 98,11% với

loài cỏ lồng vực *Echinochloa crus-galli* và cỏ lồng vực *Echinochloa colona*. Mẫu E8 có độ tương đồng rất cao (99,65 - 99,82%) với loài cỏ lồng vực *Echinochloa crus-galli* (bao gồm các biến chủng var. *formosensis* và var. *crus-galli*) và cỏ lồng vực *Echinochloa oryzoides*. Mẫu ETT2 có độ tương đồng 92,59 - 92,76% với loài cỏ lồng vực *Echinochloa colona*. Mẫu ETT9 tương đồng 97,24 - 97,40% với loài cỏ lồng vực *Echinochloa glabrescens*. Các loài trong nghiên cứu đều thuộc họ hòa thảo (Poaceae) và đều là cỏ dại nguy hiểm đối với nền nông nghiệp [22]. Kết quả phân tích vùng gen ITS trong nghiên cứu này đóng vai trò xác nhận danh tính loài dại, làm nền tảng cho các phân tích về sinh thái kháng thuốc tiếp theo.

3.3. Phân tích quan hệ di truyền trên cây phả hệ

Kết quả phân tích mối quan hệ di truyền dựa trên vùng gen ITS đã khẳng định độ tin cậy của phương pháp phân loại phân tử trong việc định danh các loài cỏ dại nghiên cứu. Cây phả hệ được xây dựng bằng phương pháp Neighbor-Joining (NJ) cho thấy sự phân hóa dòng rõ rệt với độ hỗ trợ bootstrap cao tại các nút phân nhánh chính, tách biệt hoàn toàn quần thể mẫu thành hai chi riêng biệt là *Echinochloa* và *Dinebra* (Hình 4). Trong đó, nhóm *Echinochloa* thể hiện sự tập trung cao độ về mặt di truyền khi các mẫu phân tích nhóm chặt chẽ với trình tự tham chiếu của *E. crus-galli*.

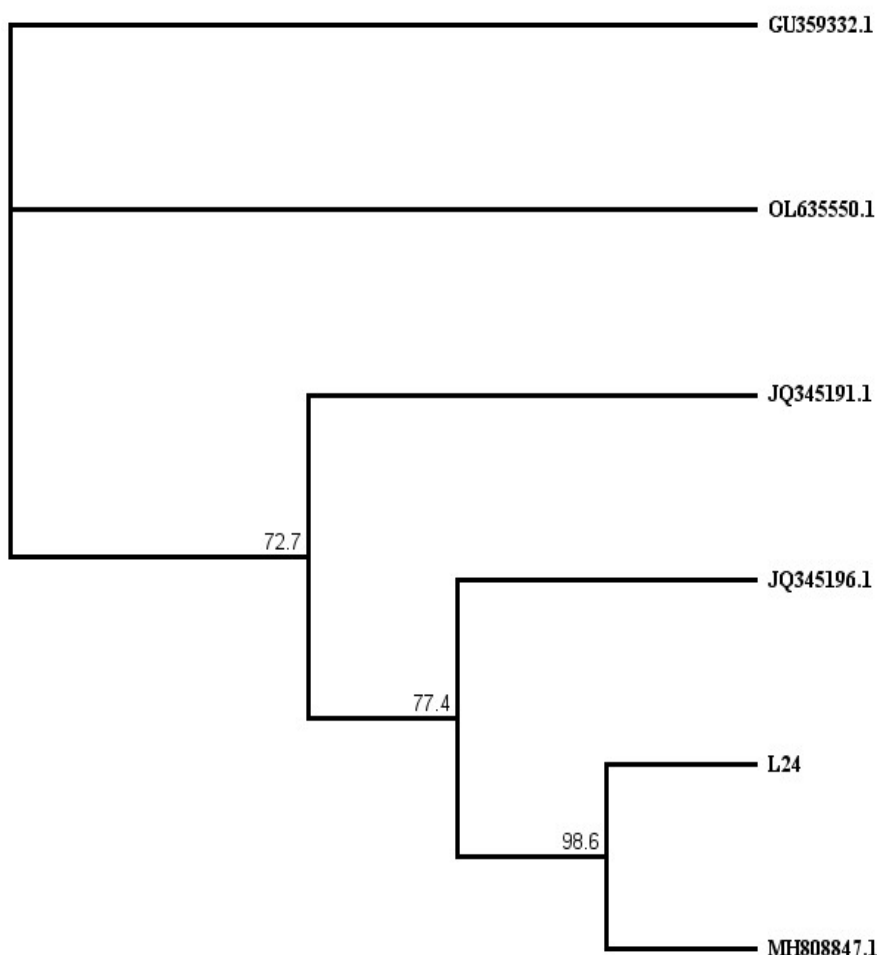


Hình 4. Cây phả hệ thể hiện mối quan hệ di truyền giữa 33 mẫu cỏ nghiên cứu và các trình tự tham chiếu từ GenBank dựa trên vùng gen ITS

Ghi chú: Cây phả hệ được xây dựng trên phần mềm Geneious Prime sử dụng phương pháp Neighbor-Joining (NJ). Các con số tại các điểm nút thể hiện giá trị bootstrap. Các mã số (ví dụ: MH808847.1, JQ345191.1...) là các trình tự tham chiếu được truy cập từ ngân hàng gen NCBI.

Đối với chi *Dinebra*, cấu trúc cây phả hệ làm sáng tỏ sự đa dạng của loài tiềm ẩn. Điểm đáng chú ý nhất là sự tách biệt rõ rệt của mẫu L24. Kết quả ở hình 5 và bảng 2 cho thấy, mẫu L24 có độ tương đồng trình tự lên đến 98,50% với loài cỏ đuôi phụng *Dinebra panicea* (mã số MH808847.1). Kết quả này được củng cố bởi phân tích cây phả hệ (Hình 5), nơi mẫu L24 nhóm chặt chẽ với trình tự tham chiếu của *D. panicea*

với giá trị bootstrap rất cao, đạt 98,60%. Phát hiện này có ý nghĩa quan trọng khi đối chiếu với kết quả kiểu hình: Mẫu L24 vẫn duy trì tính miễn cảm cao với cyhalofop-butyl ở liều lượng 1X (100 g a.i./ha). Sự khác biệt về mặt phân loại cho thấy tính kháng thuốc trong nghiên cứu này không phải là đặc tính chung của cả chi *Dinebra*, mà là kết quả của quá trình thích nghi đang diễn ra trong nội bộ loài *Dinebra chinensis*.



Hình 5. Cây phả hệ thể hiện mối quan hệ di truyền giữa mẫu L24 và các trình tự tham chiếu từ GenBank dựa trên vùng gen ITS

Ghi chú: Cây phả hệ được xây dựng trên phần mềm Geneious Prime sử dụng phương pháp Neighbor-Joining (NJ). Các con số tại các điểm nút thể hiện giá trị bootstrap. Các mã số (ví dụ: MH808847.1, JQ345191.1...) là các trình tự tham chiếu được truy cập từ ngân hàng gen NCBI.

Ngược lại, vị trí di truyền của các biotype kháng thuốc mạnh như L11 và L18 trong quần thể *D. chinensis* cung cấp bằng chứng về sự tiến hóa dưới áp lực chọn lọc. Sự hiện diện của mẫu L1 (miễn cảm) và L11 (kháng thuốc) trên cùng một phân nhánh với chỉ số bootstrap 80,90% cho thấy sự tương đồng rất cao về trình tự ITS giữa hai biotype này. Vì vùng gen ITS chủ yếu dùng

cho mục đích định danh loài, sự tương đồng này cho thấy tính kháng thuốc không liên quan đến sự khác biệt phân loại học. Do đó, để xác định chính xác cơ chế phân tử (như đột biến điểm trên gen đích ACCase hay cơ chế kháng đa điểm P450/GST), các nghiên cứu giải trình tự chuyên sâu về gen mục tiêu cần được thực hiện trong tương lai.

Bảng 2. Ma trận độ tương đồng (%) về trình tự vùng gen ITS giữa mẫu L24 và các trình tự tham chiếu từ GenBank

	L24	GU359332.1	OL635550.1	JQ345191.1	JQ345196.1	MH808847.1
L24		96,50	96,30	96,30	96,90	98,50
GU359332.1	96,50		99,53	98,81	98,14	97,68
OL635550.1	96,30	99,53		98,64	97,97	97,52
JQ345191.1	96,30	98,81	98,64		97,29	97,29
JQ345196.1	96,90	98,14	97,97	97,29		97,13
MH808847.1	98,50	97,68	97,52	97,29	97,13	

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã cung cấp những bằng chứng khoa học bước đầu về sự phân hóa mức độ miễn cảm với thuốc trừ cỏ cyhalofop-butyl giữa các quần thể cỏ dại tại tỉnh Đồng Tháp. Kết quả cho thấy áp lực chọn lọc tính kháng hiện đang tập trung chủ yếu vào loài cỏ đuôi phụng (*Dinebra chinensis*), trong khi các quần thể cỏ lồng vực (*Echinochloa* spp.) và loài *Dinebra panicea* (mẫu L24) vẫn duy trì mức độ miễn cảm cao với hoạt chất này. Đáng chú ý là sự xuất hiện của các biotype *D. chinensis* (L11 và L18) mang tính kháng ở mức độ cao (RR) đến rất cao (RRR), với khả năng sống sót qua liều lượng gấp đôi khuyến cáo (200 g a.i./ha). Sự đồng nhất về trình tự vùng gen ITS giữa các biotype kháng và miễn cảm gợi ý rằng tính kháng này có khả năng là kết quả của quá trình tiến hóa thích nghi nội tại dưới áp lực chọn lọc của thuốc diệt cỏ liên tục.

Tuy nhiên, để làm rõ bản chất phân tử của tính kháng quan sát được, các nghiên cứu tiếp theo cần tập trung vào việc xác định cơ chế kháng tại vị trí đích (TSR) thông qua giải trình tự gen ACCase, cũng như đánh giá sự tham gia của cơ chế kháng không tại vị trí đích (NTSR) liên quan đến các enzyme chuyển hóa. Bên cạnh đó, thí nghiệm liều đáp ứng đầy đủ cần được thực hiện để định lượng chính xác mức độ kháng thuốc của các biotype thông qua các chỉ số GR₅₀ và Resistance Index (RI), từ đó cung cấp cơ sở khoa

học vững chắc hơn cho công tác quản lý cỏ dại kháng thuốc tại địa phương.

Kết quả nghiên cứu cũng ghi nhận sự dịch chuyển về đối tượng cỏ dại khó phòng trừ tại khu vực khảo sát. Trong khi cỏ lồng vực hiện vẫn được kiểm soát tốt bởi cyhalofop-butyl, thì cỏ đuôi phụng lại đang nổi lên như một thách thức mới trong công tác bảo vệ thực vật. Từ thực trạng trên, việc tiếp tục tăng liều lượng cyhalofop-butyl để kiểm soát cỏ đuôi phụng *D. chinensis* tại các địa điểm đã xuất hiện tính kháng là giải pháp kém hiệu quả. Để quản lý tính kháng bền vững, cần áp dụng các chiến lược luân phiên nhóm thuốc có cơ chế tác động khác nhau kết hợp với các biện pháp canh tác tổng hợp.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả chân thành cảm ơn Phòng Thí nghiệm Sinh hóa Ứng dụng, Bộ môn Sinh học Phân tử, Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Đại học Cần Thơ đã tạo điều kiện thuận lợi về trang thiết bị, cơ sở vật chất và hỗ trợ cung cấp nguồn vật liệu phục vụ cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Guo, W., Zhang, L., Wang, H., Li, Q., Liu, W. & Wang, J. (2017). A rare Ile-2041-Thr mutation in the ACCase gene confers resistance to ACCase-inhibiting herbicides in shortawn foxtail (*Alopecurus aequalis*). *Weed Science*, 65(2): 239 - 246.

2. Liu, J., Fang, J., He, Z., Li, J. & Dong, L. (2019). Target site-based resistance to penoxsulam in late watergrass (*Echinochloa phyllopogon*) from China. *Weed Science*, 67(4): 380 - 388.
3. Jiang, M., Wang, Y., Li, W., Li, Q., Zhang, J., Liao, M., ... & Cao, H. (2022). Investigating resistance levels to cyhalofop-butyl and mechanisms involved in Chinese sprangletop (*Leptochloa chinensis* L.) from Anhui province, China. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 186, 105165.
4. Ritz, C., Kniss, A. R. & Streibig, J. C. (2015). Research methods in weed science: Statistics. *Weed Science*, 63(SP1): 166 - 187.
5. Cao, Z., Liu, M., Cao, W., Zhan, Y., Bai, L. & Pan, L. (2023). A glutathione S-transferase and a cytochrome P450 may confer cyhalofop-butyl resistance in *Leptochloa chinensis* (L.) Nees. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 197, 105691.
6. Iwakami, S., Hashimoto, M., Matsushima, K. I., Watanabe, H., Hamamura, K. & Uchino, A. (2015). Multiple-herbicide resistance in *Echinochloa crus-galli* var. *formosensis*, an allohexaploid weed species, in dry-seeded rice. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 119, 1 - 8.
7. Keshtkar, E., Mathiassen, S. K., Moss, S. R. & Kudsk, P. (2015). Resistance profile of herbicide-resistant *Alopecurus myosuroides* (black-grass) populations in Denmark. *Crop Protection*, 69, 83 - 89.
8. Yang, Q., Yang, X., Zhu, J., Wei, T., Lv, M. & Li, Y. (2022). Metabolic resistance to acetyl-CoA carboxylase-inhibiting herbicide cyhalofop-butyl in a Chinese *Echinochloa crus-galli* population. *Agronomy*, 12(11): 2724.
9. Duhoux, A., Pernin, F., Desserre, D. & Délye, C. (2017). Herbicide safeners decrease sensitivity to herbicides inhibiting acetolactate-synthase and likely activate non-target-site-based resistance pathways in the major grass weed *Lolium* sp. (Rye-grass). *Frontiers in Plant Science*, 8, 1310.
10. Henderson, C. F. & Tilton, E. W. (1955). Tests with acaricides against the brown wheat mite. *Journal of Economic Entomology*, 48(2): 157 - 161.
11. Moss, S. R., Perryman, S. A. & Tatnell, L. V. (2007). Managing herbicide-resistant blackgrass (*Alopecurus myosuroides*): Theory and practice. *Weed Technology*, 21(2): 300 - 309.
12. Zhang, Y., Chen, L., Song, W., Cang, T., Xu, M., Zhou, G. & Wu, C. (2021). Reference genes for the study of herbicide stress responses in *Leptochloa chinensis* (L.) Nees and estimation of ACCase expression in cyhalofop-butyl resistant populations. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 171, 104739.
13. González-Torralva, F. & Norsworthy, J. K. (2023). Overexpression of acetyl CoA carboxylase 1 and 3 (ACCase1 and ACCase3), and CYP81A21 were related to cyhalofop resistance in a barnyardgrass accession from Arkansas. *Plant Signaling & Behavior*, 18(1): 2172517.
14. Doyle, J. J. & Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, 11 - 15.
15. White, T. J., Bruns, T., Lee, S. & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, 18(1): 315 - 322.
16. Chin, D. V. (2001). Biology and management of barnyardgrass, red sprangletop and weedy rice. *Weed Biology and Management*, 1(1): 37 - 41.
17. Damalas, C. A., Dhima, K. V. & Eleftherohorinos, I. G. (2008). Morphological and physiological variation among species of the genus *Echinochloa* in Northern Greece. *Weed Science*, 56(3): 416 - 423.
18. Beckie, H. J. & Tardif, F. J. (2012). Herbicide cross resistance in weeds. *Crop Protection*, 35, 15 - 28.
19. Collavo, A., Panozzo, S., Lucchesi, G., Scarabel, L. & Sattin, M. (2011). Characterisation and management of *Phalaris paradoxa* resistant to ACCase-inhibitors. *Crop Protection*, 30(3): 293 - 299.
20. Délye, C. (2005). Weed resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors: An update. *Weed Science*, 53(5): 728 - 746.

21. Kaundun, S. S., Hutchings, S. J., Dale, R. P. & McIndoe, E. (2013). Role of a novel I1781T mutation and other mechanisms in conferring resistance to acetyl-CoA carboxylase inhibiting herbicides in a black-grass population. *PLoS one*, 8(7): e69568.
22. Ye, F., Ma, P., Zhang, Y. Y., Li, P., Yang, F. & Fu, Y. (2018). Herbicidal activity and molecular docking study of novel ACCase inhibitors. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1850.

EXAMINATION ON SUSCEPTIBILITY AND RESISTANCE TO CYHALOFOP-BUTYL OF *Echinochloa* spp. AND *Dinebra* spp. IN DONG THAP PROVINCE

Huynh Trong Nhan¹, Nguyen Minh Chon¹

¹Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University

Abstract

The rapid increase in herbicide-resistant barnyardgrass (*Echinochloa* spp.) and Chinese sprangletop (*Dinebra* spp.) is exerting significant pressure on rice production in general and in the Mekong Delta in particular. This study aimed to evaluate the susceptibility and resistance levels of *Echinochloa* spp. and *Dinebra* spp. populations collected in Dong Thap province to cyhalofop-butyl, while simultaneously identifying weed species using Internal Transcribed Spacer (ITS) molecular markers. Thirty-three weed samples were treated with cyhalofop-butyl at three dosage levels, the recommended rate (1X), 1.5 times (1.5X) and twice the recommended rate (2X), along with a water-sprayed control (0X). Results indicated that at the recommended rate, cyhalofop-butyl achieved an efficacy of 81.34 - 100% for sensitive samples. However, this efficacy significantly declined in the resistant group, most notably in sample L18, which exhibited an efficacy of only 33.46%. Among the total samples, 69.7% (23/33) were classified as sensitive, while the remaining 30.3% displayed varying degrees of resistance. Notably, biotypes L11 and L18 maintained high survival rates even at the 2X dosage. ITS gene sequence analysis identified the resistant biotypes as *Dinebra chinensis*. Interestingly, sample L24 showed distinct genetic divergence (high sequence similarity with *D. panicea*) and remained highly sensitive to the herbicide. This study reflects the evolving resistance status of *Dinebra* spp. in the region and provides a scientific basis for adjusting sustainable weed management strategies.

Keywords: *Cyhalofop-butyl*, *Dinebra*, *Echinochloa*, *susceptibility*, *resistance*.

Ngày nhận bài: 6/01/2026

Ngày chuyển phản biện: 12/01/2026

Ngày thông qua phản biện: 30/01/2026

Ngày duyệt đăng: 16/3/2026