

TIỀM NĂNG ỨC CHẾ SINH HỌC CỦA DỊCH CHIẾT CÂY KÉ ĐẦU NGỰA (*Xanthium strumarium* L.) ĐỐI VỚI CỎ MẦN TRẦU (*Eleusine indica* L.)

Lê Hữu Phước^{1,*}

¹ Khoa Nông nghiệp - Tài nguyên thiên nhiên,

Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

* Email: lhphuoc@agu.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện để đánh giá tiềm năng ức chế sinh học của dịch chiết ethanol từ các bộ phận cây ké đầu ngựa (*Xanthium strumarium* L.) đối với cỏ mần trầu (*Eleusine indica* L.). Hàm lượng phenolic tổng (TPC) và flavonoid tổng (TFC) được xác định bằng phương pháp quang phổ, kết hợp phân tích thành phần hóa học qua sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) trang bị đầu dò mảng diode (DAD). Kết quả cho thấy, lá có TPC cao nhất (168,33 mg GAE/g), trong khi quả tích lũy TFC cao nhất (86,78 mg QE/g). Phân tích HPLC đã xác định được các hợp chất chủ đạo gồm: Procyanidins (chiếm hơn 53% tổng diện tích pic), catechin, rutin và epigallocatechin gallate (EGCG). Trong thử nghiệm sinh học, dịch chiết thể hiện tác động ức chế mạnh mẽ lên sự nảy mầm và sinh trưởng của cây ké đầu ngựa theo mỗi quan hệ liều lượng - đáp ứng. Mô hình hồi quy Log-logistic xác định nồng độ ức chế 50% số hạt nảy mầm (ED50) là 0,0420 g/mL. Tại nồng độ 0,08 g/mL, dịch chiết có hiệu quả ức chế thân và rễ lần lượt là 80,3% và 81,95%. Ở nồng độ 0,32 g/mL đã ức chế 100% số hạt cỏ thử nghiệm. Kết quả nghiên cứu cho thấy, tiềm năng sử dụng dịch chiết cây ké đầu ngựa làm nguồn nguyên liệu để phát triển chế phẩm phòng trừ cỏ sinh học tiền nảy mầm.

Từ khóa: *Xanthium strumarium*, *Eleusine indica*, ức chế sinh học (allelopathy), HPLC, hồi quy log - logistic.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cỏ mần trầu (*Eleusine indica* L. Gaertn) là một trong những loài cỏ dại gây hại nghiêm trọng nhất đối với sản xuất nông nghiệp tại các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, với khả năng sinh trưởng mạnh và cạnh tranh dinh dưỡng cao [1]. Hiện nay, biện pháp kiểm soát chủ yếu vẫn dựa vào hóa chất bảo vệ thực vật, tuy nhiên việc lạm dụng thuốc trừ cỏ tổng hợp trong thời gian dài đã dẫn đến sự xuất hiện của các quần thể cỏ dại kháng thuốc [2]. Bên cạnh đó, các vấn đề về ô nhiễm môi trường và an toàn sinh thái đã thúc đẩy nhu cầu tìm kiếm các giải pháp quản lý cỏ dại bền vững hơn, trong đó việc khai thác các chất ức chế sinh học (allelochemicals) từ thực vật để phát triển thuốc trừ cỏ sinh học đang là hướng đi triển vọng [3].

Trong số các loài thực vật có tiềm năng, ké đầu ngựa (*Xanthium strumarium* L.) thuộc họ Cúc (Asteraceae) được ghi nhận là chứa hàm lượng lớn các hợp chất thứ cấp có hoạt tính sinh học mạnh [4]. Các nghiên cứu trước đây đã chỉ

ra rằng cây ké đầu ngựa là một loài thực vật có khả năng ức chế sinh trưởng (allelopathic plant) mạnh mẽ, với dịch chiết của nó có thể kìm hãm sự nảy mầm của nhiều loài thực vật khác nhau [5]. Cơ chế tác động này thường liên quan đến sự hiện diện của các nhóm hợp chất phenolic và flavonoid, những chất có khả năng can thiệp vào các quá trình sinh lý thiết yếu như phân chia tế bào, ức chế quang hợp và hấp thu dinh dưỡng của cây mục tiêu [6, 7].

Mặc dù độc tính thực vật của cây ké đầu ngựa đã được khẳng định, nhưng các nghiên cứu định lượng chi tiết về mối liên hệ giữa thành phần hóa học cụ thể (thông qua phân tích sắc ký lỏng hiệu năng cao - HPLC) với mức độ ức chế trên cỏ mần trầu vẫn còn hạn chế. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục tiêu xác định thành phần, hàm lượng phenolic và flavonoid trong dịch chiết ethanol từ các bộ phận của cây ké đầu ngựa, đồng thời đánh giá hiệu lực ức chế nảy mầm và sinh trưởng đối với cỏ mần trầu thông qua mô hình liều lượng - đáp ứng (Dose-Response).

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được thực hiện tại Trường Đại học An Giang, từ tháng 10/2024 đến tháng 5/2025.

2.1. Thành phần hợp chất phenolic và flavonoid từ cây ké đầu ngựa

2.1.1. Chuẩn bị dịch chiết



Hình 1. Các bộ phận và bột nguyên liệu các bộ phận thực vật của ké đầu ngựa (lá, thân, trái)

Mẫu sau khi sấy khô được nghiền và rây qua rây 0,5 mm trước khi tiến hành chiết xuất. Dịch chiết thực vật được chuẩn bị theo phương pháp của Nguyễn Thị Thùy Trang (2020) [8]. Một trăm gram bột nguyên liệu thực vật khô (Hình 1) được ngâm chiết hai lần với ethanol: Lần đầu với 1 L ethanol 70% và lần sau với 700 mL ethanol tuyệt đối (mỗi lần 48 giờ, khuấy đảo định kỳ). Dịch lọc gộp từ hai lần trích được cô quay chân không ở 42°C để loại bỏ dung môi, sau đó điều chỉnh về pH 7,0 bằng đệm phosphate 1 M. Quá trình cô quay được tiến hành dưới áp suất giảm cho đến khi thể tích dịch chiết không còn thay đổi; mẫu sau đó được để trong tủ hút đến khối lượng không đổi nhằm đảm bảo dung môi còn sót lại đã bay hơi hết. Nồng độ dịch chiết được quy đổi theo khối lượng mẫu khô ban đầu trên thể tích cuối cùng (g DW eq./mL).

2.1.2. Định tính và định lượng dịch chiết (hàm lượng tổng số) bằng phương pháp quang phổ hấp phụ

Định tính: Sự hiện diện của các nhóm hợp chất chính trong dịch chiết *X. strumarium* được xác định thông qua các phản ứng màu đặc trưng theo phương pháp của Sofowora (1993) [9], Tiwari và cs (2011) [10]. Cụ thể, sự xuất hiện kết tủa màu xanh đen với thuốc thử FeCl_3 (5%) chỉ

thị sự hiện diện của hợp chất phenolic, trong khi kết tủa vàng với $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ (10%) chỉ thị sự hiện diện của flavonoid.

Định lượng: Hàm lượng phenolic tổng số (TPC) được xác định bằng phương pháp folin-ciocalteu [11] có hiệu chỉnh. Dịch chiết (hoặc chất chuẩn axit gallic, 0,02 - 0,12 mg/mL) được phản ứng với thuốc thử folin - ciocalteu 10% trong 5 phút, sau đó trung hòa bằng Na_2CO_3 2%. Hỗn hợp phản ứng được ủ ở nhiệt độ phòng trong 45 phút và đo độ hấp thụ quang tại bước sóng 765 nm (máy UV-Vis JASCO V-730). Kết quả được biểu thị bằng mg đương lượng axit gallic trên gam dịch chiết khô (mg GAE/g DW).

Hàm lượng flavonoid tổng số (TFC) được thực hiện theo quy trình của Chang và cs (2002) [12]. Mẫu dịch chiết (hoặc chất chuẩn quercetin, 0,02 - 0,10 mg/mL) được trộn với AlCl_3 10%, CH_3COOK 1M và nước cất. Sau khi ủ 45 phút, độ hấp thụ của hỗn hợp được đo tại bước sóng 415 nm. Kết quả được biểu thị bằng mg đương lượng quercetin trên gam dịch chiết khô (mg QE/g DW).

Hàm lượng hợp chất trong mẫu được tính toán dựa trên phương trình hồi quy tuyến tính của đường chuẩn axit gallic ($R^2 > 0,99$) và quercetin

($R^2 > 0,99$). Tất cả các phép đo được thực hiện lặp lại ba lần.

2.2. Phân tích thành phần hóa học bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC-DAD)

Thành phần hóa học trong dịch chiết được phân tích trên hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC - Agilent 1260 Infinity, Hoa Kỳ) trang bị đầu dò mảng diode (DAD), sử dụng cột pha đảo C18 (250 x 4,6 mm; kích thước hạt 5 μ m). Mẫu dịch chiết sau khi lọc qua màng PTFE 0,45 μ m được rửa giải bằng hệ pha động gồm dung dịch axit formic 0,1% trong nước cất hai lần (pha A) và methanol (pha B). Chương trình gradient dung môi được thiết lập như sau: giai đoạn khởi đầu giữ ở 10% B trong 5 phút; tiếp theo tăng tuyến tính lên 30% B từ phút thứ 5 đến phút thứ 15; tăng lên 60% B ở phút thứ 30 và đạt 90% B ở phút thứ 40; sau đó giữ nguyên ở 90% B trong 5 phút để rửa giải các tạp chất trước khi giảm về điều kiện ban đầu (10% B) trong 5 phút cuối để cân bằng lại hệ thống. Tốc độ dòng được duy trì ở mức 1,0 mL/phút, thể tích tiêm mẫu là 20 μ L và nhiệt độ buồng cột được giữ ổn định ở 30°C. Các tín hiệu sắc ký được ghi nhận tại bước sóng 280 nm (đối với nhóm phenolic) và 360 nm (đối với nhóm flavonoid). Việc định danh các hợp chất được thực hiện dựa trên sự so sánh thời gian lưu và phổ hấp thụ UV với các chất chuẩn tương ứng trong cùng điều kiện phân tích.

2.3. Khảo sát ảnh hưởng của 2 loại dịch chiết từ cây ké đầu ngựa đến sinh trưởng của cỏ màn trâu

2.3.1. Chuẩn bị vật liệu

Hạt cỏ màn trâu được thu thập, phơi khô và bảo quản lạnh trong 3 tháng để phá ngủ và đảm bảo tỷ lệ nảy mầm đồng đều. Trước khi bố trí thí nghiệm, hạt được khử trùng bề mặt bằng dung dịch sodium hypochlorite (NaClO 1%) trong 5 phút, sau đó rửa sạch 5 lần bằng nước cất vô trùng. Hạt sạch được ngâm trong nước ấm (2 sôi: 3 lạnh) trong 24 giờ và ủ trong điều kiện tối ở nhiệt độ phòng trong 48 giờ cho đến khi nứt nanh (radicle emergence) để tuyển chọn hạt đạt tiêu chuẩn cho thí nghiệm [13].

2.3.2. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên 1 nhân tố, gồm 8 nghiệm thức với 4 lặp lại trong đĩa petri.

Nghiệm thức 1: Sử dụng nước cất (0,0 g/mL).

Nghiệm thức 2: Dịch chiết ké đầu ngựa nồng độ 0,01 g/mL.

Nghiệm thức 3: Dịch chiết ké đầu ngựa nồng độ 0,02 g/mL.

Nghiệm thức 4: Dịch chiết ké đầu ngựa nồng độ 0,04 g/mL.

Nghiệm thức 5: Dịch chiết ké đầu ngựa nồng độ 0,08 g/mL.

Nghiệm thức 6: Dịch chiết ké đầu ngựa nồng độ 0,16 g/mL.

Nghiệm thức 7: Dịch chiết ké đầu ngựa nồng độ 0,32 g/mL.

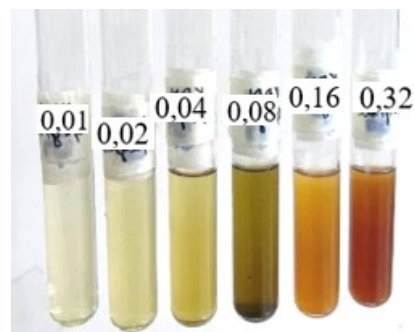
Nghiệm thức 8 (đối chứng): Sử dụng thuốc trừ cỏ hóa học (thuốc trừ cỏ tiền nảy mầm, hoạt chất pretilachlor, nồng độ 0,94 mg/mL).



(a)



(b)



(c)

Hình 2. Chuẩn bị thí nghiệm

((a) Hạt cỏ màn trâu đã ngâm ủ; (b) Thuốc trừ cỏ tiền nảy mầm (pretilachlor);

(c) Dãy nồng độ dịch chiết ké đầu ngựa)

Để loại bỏ ảnh hưởng độc tính của dung môi ethanol lên hạt cỏ, một lượng dịch chiết xác định

theo từng nồng độ được nhỏ vào đĩa petri đã lót giấy lọc. Các đĩa được đặt trong tủ hút khí ở 25°C

cho đến khi dung môi bay hơi hoàn toàn. Sau đó, bổ sung 5 mL nước cất để hoàn nguyên các hoạt chất và đặt 10 hạt cỏ đã nứt nanh vào mỗi đĩa. Các đĩa petri được bọc kín bằng màng parafilm để giữ ẩm và ủ trong tủ định ôn ở 28°C (điều kiện tối hoàn toàn).

Tiến hành thí nghiệm: Sử dụng micropipette, hút một lượng dịch chiết tương ứng của từng loại, với các nồng độ khác nhau và cho vào các đĩa petri đã được lót giấy lọc. Các đĩa này sau đó được đặt trong tủ hút ở nhiệt độ 25°C đến khi ethanol bay hơi hết, được xác định khi giấy lọc khô hoàn toàn và không còn mùi ethanol [14]. Làm ẩm lại giấy lọc bằng nước cất rồi đặt 10 hạt cỏ đã được xử lý nứt nanh vào mỗi đĩa petri. Sau đó, đặt nắp lại và ủ tối trong 48 giờ. Các đĩa petri được đặt ở tủ ôn nhiệt, 28°C để cho nảy mầm.

2.2.3. Các chỉ tiêu theo dõi

Các chỉ tiêu được ghi nhận sau 48 giờ xử lý nhằm đánh giá tác động ức chế sớm (early inhibition). Chiều dài rễ mầm (radicle) và thân mầm (hypocotyl) của 10 cây mầm trong mỗi đĩa được đo bằng thước kẹp kỹ thuật số.

Tỷ lệ ức chế (I) được xác định theo công thức:

$$I(\%) = \frac{L_{\text{control}} - L_{\text{treatment}}}{L_{\text{control}}} \times 100$$

Trong đó: L_{control} là chiều dài trung bình (rễ hoặc thân) của nghiệm thức đối chứng nước; $L_{\text{treatment}}$ là chiều dài trung bình (rễ hoặc thân) của nghiệm thức xử lý.

Số liệu về tỷ lệ sống sót của hạt cỏ màn trâu ở các nồng độ dịch chiết khác nhau được phân tích bằng phương pháp hồi quy phi tuyến (non-linear regression analysis) nhằm xác định mối quan hệ liều lượng - đáp ứng. Mô hình log-logistic bốn tham số được sử dụng để so sánh tương quan với dữ liệu thực nghiệm thông qua phần mềm thống kê R (version 4.3.1, gói mở rộng drc) (Dose-Response Curve) [15].

Mối tương quan giữa nồng độ dịch chiết và tỷ lệ sống sót của cỏ màn trâu được mô tả bằng phương trình sau [15, 16]:

$$Y = c + \frac{d - c}{1 + \exp\{b[\ln(x) - \ln(ED_{50})]\}}$$

Trong đó: Y : Tỷ lệ sống sót của cỏ màn trâu (biến đáp ứng); x : Nồng độ dịch trích ké đầu ngựa (liều lượng); c : Giới hạn dưới của đường cong (mức đáp ứng tại nồng độ rất cao); d : Giới hạn trên của đường cong (mức đáp ứng của đối chứng, nồng độ bằng 0); b : Hệ số góc (slope), phản ánh độ dốc của đường cong tại vùng quanh điểm uốn; ED_{50} : Nồng độ dịch trích gây ức chế 50% tỷ lệ sống sót so với đối chứng.

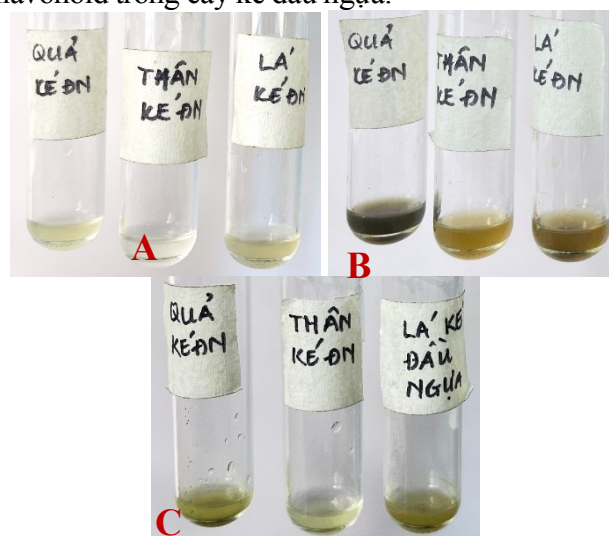
Các giá trị ED_{50} và ED_{90} (nồng độ gây ức chế 90%) được ước lượng trực tiếp từ các tham số của mô hình. Độ phù hợp của mô hình được đánh giá thông qua hệ số xác định R^2 (coefficient of determination) và sai số chuẩn của ước lượng.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định thành phần hợp chất phenolic và flavonoid từ cây ké đầu ngựa

3.1.1. Định tính hợp chất phenolic và flavonoid từ dịch chiết

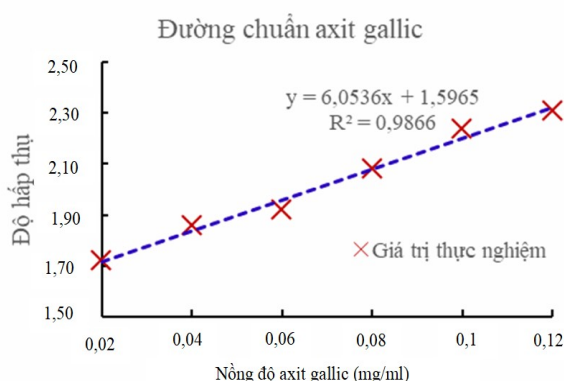
Kết quả định tính hợp chất phenolic và flavonoid đều hiện diện trong cây ké đầu ngựa (Hình 3). Ở phép thử định tính phenolic (Hình 3B), các mẫu dịch chiết đều xuất hiện sự đổi màu đặc trưng sang xanh đậm, chứng tỏ sự hiện diện của hợp chất phenolic. Đối với phép thử định tính flavonoid (Hình 3C), các mẫu dịch chiết sau phản ứng xuất hiện màu vàng nhạt đến vàng xanh, xác nhận sự có mặt của flavonoid trong cây ké đầu ngựa.



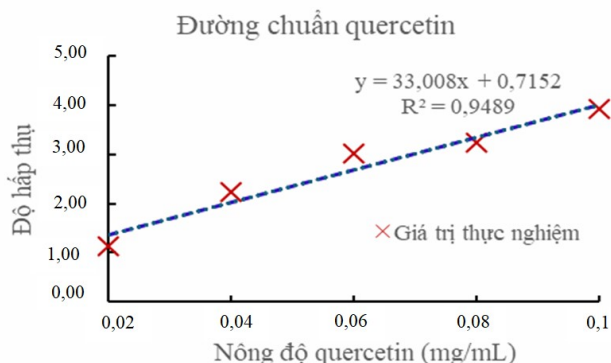
Hình 3. Kết quả định tính dịch chiết từ các bộ phận cây ké đầu ngựa
(A: Mẫu ban đầu; B: Định tính phenolic; C: Định tính flavonoid)

3.1.2. Định lượng hàm lượng phenolic tổng và flavonoid tổng từ dịch chiết

Hình 4 thể hiện đường chuẩn axit gallic được xây dựng trong khoảng nồng độ 0,02 - 0,12 mg/mL. Phương trình hồi quy tuyến tính thu được là $y = 6,0536x + 1,5965$ với hệ số tương quan $R^2 = 0,9866$, phản ánh mối tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ axit gallic và độ hấp thụ quang (OD) tại bước sóng 280 nm. Các điểm thực nghiệm phân bố gần sát với đường hồi quy cho thấy độ chính xác và độ lặp cao của phép thử. Từ đường chuẩn này, có thể xác định hàm lượng tổng hợp chất phenolic trong mẫu dịch chiết.



Hình 4. Đường chuẩn axit gallic



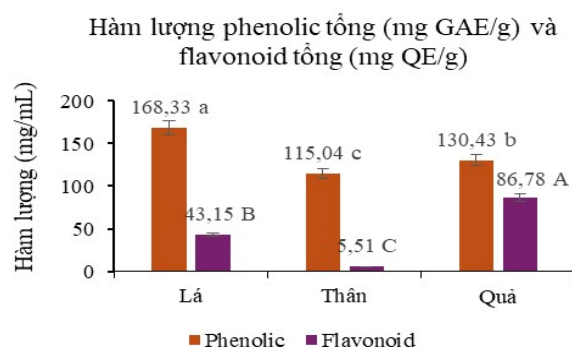
Hình 5. Đường chuẩn quercetin

Hình 5 mô tả đường chuẩn quercetin được thiết lập trong dải nồng độ từ 0,02 - 0,1 mg/mL. Phương trình hồi quy $y = 33,008x + 0,7152$ thu được với hệ số tương quan $R^2 = 0,9489$, cho thấy mối tương quan tuyến tính tốt giữa nồng độ quercetin và độ hấp thụ quang đo tại bước sóng 360 nm.

Kết quả định lượng hàm lượng tổng phenolic và flavonoid trong các bộ phận của cây ké đầu ngựa được thể hiện ở hình 6. Trong đó, lá cho hàm lượng phenolic tổng cao nhất với 168,33 mg GAE/g dịch chiết, tiếp theo là quả (130,43 mg

GAE/g) và thấp nhất là thân (115,04 mg GAE/g). Điều này cho thấy lá là bộ phận giàu hợp chất phenolic hơn so với quả và thân.

Hàm lượng flavonoid tổng lại cao nhất trong quả với giá trị 86,78 mg QE/g, kể đến là lá (43,15 mg QE/g) và thấp nhất ở thân (5,51 mg QE/g). Kết quả này phản ánh sự khác biệt rõ rệt về sự tích lũy flavonoid giữa các cơ quan thực vật, trong đó quả là bộ phận giàu flavonoid nhất. Đặc biệt, sự chênh lệch lớn giữa hàm lượng flavonoid và phenolic trong thân (5,51 mg QE/g so với 115,04 mg GAE/g) cho thấy thành phần flavonoid hiện diện rất ít trong bộ phận này.



Hình 6. Hàm lượng phenolic tổng (mg GAE/g) và flavonoid tổng (mg QE/g) trong dịch chiết ké đầu ngựa. Các chữ cái khác nhau (abc/ABC) trong cùng một chỉ tiêu (phenolic hoặc flavonoid) biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (Tukey, $p < 0,05$)

Những kết quả tương tự cũng được ghi nhận trong kết quả nghiên cứu của Ngô Chí Nam và cs (2021) [17], trong đó hàm lượng flavonoid trong dịch chiết của sáu loài thuộc họ Cúc chỉ chiếm khoảng 18 - 45% tổng hàm lượng phenolic, cho thấy flavonoid chỉ là một phần bên cạnh nhóm các hợp chất phenolic. Tương tự, kết quả nghiên cứu của Đặng Gia Lệ và cs (2020) [18] cũng ghi nhận sự phân bố không đồng đều giữa phenolic và flavonoid trong các bộ phận của cây sao nhái hồng và sao nhái vàng, trong đó hoa chứa nhiều phenolic hơn, còn lá lại chứa nhiều flavonoid hơn. Theo Trần Thanh Mến và cs (2019) [19], cao chiết từ hoa của cây sài đất ba thùy có hàm lượng phenolic và flavonoid cao hơn so với thân và lá, cho thấy sự tích lũy hợp chất sinh học trong các bộ phận phát triển mạnh như hoa hoặc quả có thể là cơ chế bảo vệ thực vật khỏi tác nhân gây hại và góp phần vào quá trình sinh sản.

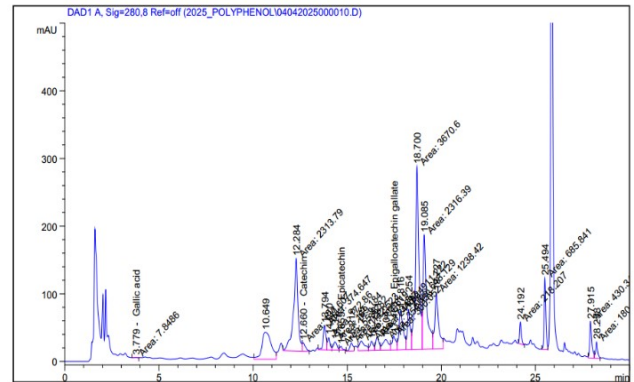
3.1.3. Phân tích xác định một số thành phần hóa học của hợp chất phenolic và flavonoid bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao đầu dò tia cực tím (HPLC-UV)

Bảng 1. Kết quả định lượng bằng chất chuẩn một số thành phần hóa học bằng HPLC-UV

Nhóm	Hợp chất định lượng	Kế đầu ngựa ($\mu\text{g/mL}$)*
Phenolic axits (Phenolic)	Gallic axit	4,45
Flavan-3-ols (Flavonoid)	Catechin	88,2
	Epicatechin	145,0
	Epigallocatechin gallate (EGCG)	290,0
Flavonols (Flavonoid)	Rutin (quercetin-3-rhamnoglucoside)	41,6
	Quercetin	41,58
	Kaempferol	1,35

Bảy chất được định lượng chính xác với chất chuẩn gồm: gallic axit, catechin, epicatechin, epigallocatechin gallate (EGCG), rutin, quercetin và kaempferol đều có các phenolic (Bảng 1) (một nhóm lớn của phenolic có tác động mạnh lên cơ thể) và flavonoid đã được chứng minh có hoạt tính sinh học mạnh, liên quan trực tiếp đến cơ chế ức chế cơ thể [4, 6]. Các hợp chất này tác động thông qua nhiều con đường như: ức chế nảy mầm và kéo dài rễ (gallic axit, catechin, epicatechin) [20, 21], gây stress oxy hóa và tổn thương màng tế bào (EGCG, quercetin) [22], ức chế quang hợp và tổng hợp diệp lục (rutin, kaempferol) [23]. Ngoài ra, đây cũng là các hoạt chất phổ biến

trong thực vật, dễ xác định và có thể chiết tách hiệu quả.



Hình 7. Sắc ký đồ phân tích dịch chiết kế đầu ngựa

Phân tích sắc ký xác định Procyanidins (đặc biệt là B2 dimer và C1 trimer) là thành phần chủ đạo (>53%), kết hợp với flavonols (rutin) và flavan-3-ols (catechin). Hàm lượng cao Procyanidins (tannin ngưng tụ) có khả năng liên kết không thuận nghịch với protein enzyme, làm bất hoạt alpha-amylase và protease, ngăn chặn quá trình chuyển hóa tinh bột và protein dự trữ thành năng lượng cho phôi phát triển [6]. Ngoài ra, sự hiện diện của catechin đã được chứng minh là tác nhân kích hoạt sản sinh phản ứng quá mức tại mô phân sinh rễ, dẫn đến peroxy hóa lipid màng và chết tế bào cơ thể [21]. Các hợp chất flavonoid như rutin can thiệp vào quá trình vận chuyển phân cực của auxin và ức chế sinh tổng hợp Gibberellin, từ đó kìm hãm sự giãn dài của tế bào rễ mầm và trụ dưới lá mầm [24]. Do đó, các thành phần hóa học góp phần ức chế nảy mầm qua cắt đứt nguồn năng lượng (do Procyanidins) và gây tổn thương cấu trúc tế bào (do catechin/rutin).

Bảng 2. Thành phần hóa học và độ phong phú tương đối của các hợp chất trong dịch chiết *Xanthium strumarium* phân tích bằng HPLC (các giá trị diện tích pic quá nhỏ không được liệt kê trong bảng này)

Hợp chất (Compounds)	Thời gian lưu (phút)	Diện tích pic tương đối (%)
I. Flavan-3-ols (Catechins)		
Catechin	13,79	2,28
Gallocatechin	14,02	1,05
Epigallocatechin	14,34	1,03
Epicatechin	14,66	0,34
Catechin gallate	15,22	0,87
Epicatechin gallate	15,75	1,85
Gallocatechin gallate	16,29	1,06

Hợp chất (Compounds)	Thời gian lưu (phút)	Diện tích pic tương đối (%)
Epicatechin gallate isomer	16,58	1,47
Epigallocatechin gallate (EGCG)	17,47	1,82
Epigallocatechin gallate isomer	17,04	2,16
II. Procyanidins (Condensed tannins)		
Procyanidin B1	18,25	3,94
Procyanidin B2	17,82	5,54
Procyanidin B2 dimer	18,70	22,32
Procyanidin C1 (trimer)	19,09	14,08
Procyanidin dimer isomer	19,73	7,53
III. Flavonol Glycosides		
Isoquercitrin (Quercetin-3-O-glucoside)	24,19	1,33
Rutin (Quercetin-3-O-rutinoside)	25,49	4,17
Kaempferol-3-O-glucoside	27,92	2,62
Myricetin glycoside	28,24	1,10

3.2. Khảo sát ảnh hưởng của dịch chiết cây ké đầu ngựa đến sự nảy mầm và sinh trưởng của cỏ màn trâu

3.2.1. Tỷ lệ sống sót

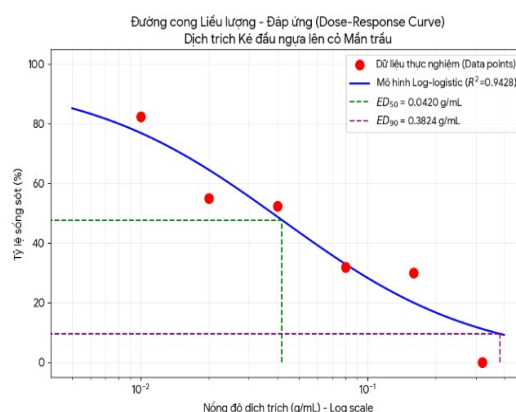
Bảng 3. Tỷ lệ sống sót của cỏ màn trâu sau 48 giờ khi sử dụng dịch chiết ké đầu ngựa

Nghiệm thức	Tỷ lệ sống sót
NT1 (0,00 g/mL)	95,00 a
NT2 (0,01 g/mL)	82,50 a
NT3 (0,02 g/mL)	55,00 b
NT4 (0,04 g/mL)	52,50 b
NT5 (0,08 g/mL)	32,00 c
NT6 (0,16 g/mL)	30,00 c
NT7 (0,32 g/mL)	0,00 d
NT8 (ĐC thuốc hóa học)	0,00 d
F	*
CV%	27,03

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có cùng ký tự theo sau không khác biệt có ý nghĩa thống kê theo phép thử Duncan. *: mức ý nghĩa 5%.

Tỷ lệ sống sót của cỏ màn trâu giảm theo sự gia tăng nồng độ dịch chiết từ cây ké đầu ngựa (Bảng 8). Ở nghiệm thức 1 (đối chứng sử dụng nước cất), tỷ lệ sống đạt giá trị cao nhất là 95%. Khi sử dụng dịch chiết ở nồng độ thấp (NT2), tỷ lệ này vẫn giữ ở mức cao (82,5%), không có sự khác biệt thống kê với nghiệm thức không sử dụng dịch chiết. Tuy nhiên, từ nghiệm thức 3 trở đi, tỷ lệ sống giảm dần. Từ NT5 - NT6, tỷ lệ này

tương đương với nhau, dao động từ 30 - 32%. Hiệu quả ức chế mầm cỏ ở NT7 không khác biệt thống kê với nghiệm thức đối chứng sử dụng thuốc hóa học (NT8) cao nhất (0%). Kết quả này cho thấy sự ức chế của dịch chiết từ ké đầu ngựa lên mầm cỏ màn trâu là khả thi. Theo Sharma và Rana (2011) [25], cây ké đầu ngựa chứa các hợp chất trong nhóm phenolic axit, có thể gây độc sinh học đến hạt cỏ, làm rối loạn quá trình hấp thu nước và trao đổi chất cần thiết cho nảy mầm.



Hình 8. Đường cong đáp ứng liều mô tả ảnh hưởng của nồng độ dịch chiết ké đầu ngựa lên tỷ lệ sống sót của cỏ màn trâu theo mô hình Log-logistic

Nghiên cứu xác định dịch chiết ké đầu ngựa chứa hàm lượng vượt trội procyanidins (hơn 53%) cùng các flavonoids (rutin, catechin). Cơ chế ức chế nảy mầm cỏ màn trâu được xác định

là tác động cộng hưởng: vừa vô hoạt enzyme thủy phân (alpha -amylase) làm giảm năng lượng phôi [6], vừa gây stress oxy hóa và rối loạn điều hòa hormone sinh trưởng [26].

Mô hình hồi quy Log-logistic ($R^2 = 0,94$) cho thấy ngưỡng ED50 rất thấp (0,0420 g/mL), độc tính thực vật khá mạnh của dịch chiết và tiềm năng ứng dụng thực tiễn làm thuốc trừ cỏ sinh học tiền nảy mầm [27].

3.2.2. Chiều dài thân mầm và tỷ lệ ức chế thân mầm

Bảng 4. Chiều dài thân mầm trung bình và tỷ lệ ức chế thân mầm sau 48 giờ khi sử dụng dịch chiết ké đầu ngựa

Nghiệm thức	Chiều dài thân mầm trung bình (mm)	Tỷ lệ ức chế thân (%)
NT1 (0,00 g/mL)	2,67 a	-
NT2 (0,01 g/mL)	1,72 b	35,50 c
NT3 (0,02 g/mL)	0,85 c	68,20 b
NT4 (0,04 g/mL)	0,87 c	67,20 b
NT5 (0,08 g/mL)	0,52 cd	80,30 ab
NT6 (0,16 g/mL)	0,42 cd	84,10 ab
NT7 (0,32 g/mL)	0,00 d	100,00 a
NT8 (ĐC thuốc hóa học)	0,00 d	100,00 a
F	**	**
CV (%)	31,48	16,55

*Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có cùng ký tự theo sau không khác biệt có ý nghĩa thống kê theo phép thử Duncan. **: biểu thị mức ý nghĩa 1%.*

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, dịch chiết từ ké đầu ngựa có ảnh hưởng đến chiều dài thân mầm và tỷ lệ ức chế thân mầm của cỏ màn trâu. Khi tăng nồng độ dịch chiết thì chiều dài thân mầm giảm dần, đồng thời tỷ lệ ức chế thân tăng tương ứng, thể hiện xu hướng phụ thuộc vào nồng độ.

Cụ thể, ở nghiệm thức đối chứng NT1 (0,0 g/mL), chiều dài thân mầm đạt giá trị cao nhất là 2,67 mm. Khi bổ sung dịch chiết ở nồng độ 0,01 g/mL (NT2), chiều dài thân giảm còn 1,72 mm và tương ứng với tỷ lệ ức chế 35,5%, điều này cho

thấy đã có tác động ức chế của dịch chiết dù chỉ ở nồng độ thấp. Sự suy giảm vẫn tiếp diễn ở các nồng độ cao hơn. Tại 0,02 g/mL (NT3) và 0,04 g/mL (NT4), chiều dài thân lần lượt giảm xuống 0,85 mm và 0,87 mm, tương ứng với tỷ lệ ức chế 68,2% và 67,2%, không khác biệt đáng kể về mặt thống kê.

Từ nồng độ 0,08 g/mL trở lên (NT5 - NT6), chiều dài thân tiếp tục giảm mạnh, dao động từ 0,00 - 0,52 mm, với tỷ lệ ức chế tăng lên 80,3% - 100%. So với nghiệm thức đối chứng sử dụng thuốc hóa học (NT8) không phát triển thân mầm thì nồng độ từ 0,08 - 0,32 g/mL cho hiệu quả ức chế khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

3.2.3. Chiều dài rễ mầm và tỷ lệ ức chế rễ mầm
Bảng 5. Chiều dài rễ mầm trung bình và tỷ lệ ức chế rễ mầm sau 48 giờ khi sử dụng dịch chiết ké đầu ngựa

Nghiệm thức	Chiều dài rễ mầm trung bình (mm)	Tỷ lệ ức chế rễ (%)
NT9 (0,00 g/mL)	3,32 a	-
NT10 (0,01 g/mL)	1,92 b	42,10 b
NT11 (0,02 g/mL)	1,57 bc	52,60 b
NT12 (0,04 g/mL)	1,47 bc	55,60 b
NT13 (0,08 g/mL)	0,60 cd	81,95 a
NT14 (0,16 g/mL)	0,47 cd	85,71 a
NT15 (0,32 g/mL)	0,00 d	100,00 a
NT16 (ĐC)	0,00 d	100,00 a
F	*	*
CV (%)	31,49	21,48

*Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có cùng ký tự theo sau không khác biệt có ý nghĩa thống kê theo phép thử Duncan. *: mức ý nghĩa 5%.*

Kết quả ở bảng 5 cho thấy dịch chiết từ ké đầu ngựa ảnh hưởng mạnh đến sự phát triển rễ mầm của cỏ màn trâu, thể hiện qua sự suy giảm chiều dài rễ mầm và gia tăng tỷ lệ ức chế khi nồng độ dịch chiết tăng. Ở nghiệm thức đối chứng (NT1 - 0 g/mL), chiều dài rễ mầm đạt giá trị cao nhất là 3,32 mm, cho thấy sự phát triển bình thường khi không chịu tác động của dịch

chiết. Khi bổ sung dịch chiết ở nồng độ 0,01 g/mL (NT2), chiều dài rễ giảm xuống còn 1,92 mm, tương ứng với tỷ lệ ức chế 42,1%.

Tại các nồng độ từ 0,08 g/mL trở đi, hiệu quả ức chế trở nên rõ rệt. Ở nồng độ 0,08 g/mL (NT5), chiều dài rễ chỉ còn 0,60 mm (ức chế 81,95%). Hiệu quả ức chế rễ mầm của các NT5 - NT7 khác biệt không ý nghĩa, dao động từ 81,95% - 100%. Điều này cho thấy, dịch chiết ké đầu ngựa từ nồng độ 0,08 g/mL đã bắt đầu cho thấy hiệu quả ức chế tốt.

Các nghiên cứu trước đã cho thấy, các hợp chất phenolic và flavonoid trong ké đầu ngựa có thể làm tăng tính thấm màng sinh chất, dẫn đến rò rỉ ion và chất điện giải, gây mất cân bằng áp suất thẩm thấu và ảnh hưởng đến hoạt động sống của tế bào. Điều này khiến cho rễ không thể phát triển bình thường, đồng thời làm giảm khả năng hút nước và dinh dưỡng từ môi trường. Theo Rice (2012) [28], đây là biểu hiện điển hình khi rễ tiếp xúc trực tiếp với môi trường chứa chất độc sinh học.

Như vậy, có thể thấy dịch chiết từ cây ké đầu ngựa có tác động ức chế rõ rệt đến quá trình nảy mầm và sinh trưởng ban đầu của cỏ mần trầu. Ở nồng độ thấp, dịch chiết chỉ gây ức chế nhẹ hoặc không đáng kể; tuy nhiên, khi nồng độ tăng cao, tỷ lệ nảy mầm, chiều dài thân và chiều dài rễ mầm đều giảm mạnh, cho thấy tác động ức chế mạnh và thay đổi theo nồng độ. Tỷ lệ sống sót của cỏ giảm dần từ 95% ở nghiệm thức đối chứng (0,0 g/mL) xuống chỉ còn 0% ở nồng độ cao nhất (0,32 g/mL), tương đương với nghiệm thức đối chứng hóa học (NT8).

Ở nồng độ 0,08 g/mL (NT5), khả năng ức chế rễ của dịch chiết lên đến 81% và ức chế thân đạt 80%, với chiều dài rễ và thân mầm lần lượt là 0,60 mm và 0,52 mm.

4. KẾT LUẬN

Kết quả phân tích sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC-DAD) đã định danh và định lượng chính xác với chất chuẩn 7 chất thuộc nhóm phenolic và flavonoid, bao gồm: gallic axit, catechin, epicatechin, EGCG, rutin, quercetin và kaempferol. Trong đó, nhóm procyanidins (đặc biệt là B2 dimer) chiếm tỷ lệ cao nhất (hơn 53%) trong phổ sắc ký. Sự phân bố hoạt chất có sự khác biệt rõ rệt giữa các bộ phận: Lá là cơ quan tích lũy hàm lượng

phenolic tổng cao nhất (168,33 mg GAE/g), trong khi quả chứa hàm lượng flavonoid tổng cao nhất (86,78 mg QE/g)

Dịch chiết ké đầu ngựa thể hiện hoạt tính độc tế bào mạnh mẽ đối với sự nảy mầm và sinh trưởng của cỏ mần trầu theo mối quan hệ liều lượng - đáp ứng. Ở nồng độ 0,08 g/mL, hiệu quả ức chế chiều dài thân và rễ mầm đều đạt trên 80%. Mô hình hồi quy Log-logistic xác định giá trị ED50 ở mức thấp là 0,0420 g/mL, độc tính thực vật cao của dịch chiết và tiềm năng sử dụng làm chế phẩm phòng trừ cỏ dại sinh học

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh (ĐHQG-HCM) trong khuôn khổ đề tài mã số C2024-16-21.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Zareen, S., Fawad, M., Haroon, M., Ahmad, I. and Zaman, A. (2022). Allelopathic potential of summer weeds on germination and growth performance of wheat and chickpea. *Journal of Natural Pesticide Research*, 1, 100002.
- [2]. Busi, R., Vila Aiub, M. M., Beckie, H. J., Gaines, T. A., Goggin, D. E., Kaundun, S. S., Lacoste, M., Neve, P., Nissen, S. J. and Norsworthy, J. K. (2013). Herbicide - resistant weeds: from research and knowledge to future needs. *Evolutionary applications*, 6, 1218 - 1221.
- [3]. Scavo, A. and Mauromicale, G. (2021). Crop allelopathy for sustainable weed management in agroecosystems: Knowing the present with a view to the future. *Agronomy*, 11, 2104.
- [4]. Fan, W., Fan, L., Peng, C., Zhang, Q., Wang, L., Li, L., Wang, J., Zhang, D., Peng, W. and Wu, C. (2019). Traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology, pharmacokinetics and toxicology of *Xanthium strumarium* L.: A review. *Molecules*, 24, p. 359.
- [5]. Mekonnen, G., Sharma, J. J., Negatu, L., & Tana, T. (2015). Effect of integrated weed management practices on weeds infestation, yield components and yield of Cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. Eastern Wollo, Northern Ethiopia. *American Journal of Experimental Agriculture*, 7(5), 326 - 346.

- [6]. Li, Z.-H., Wang, Q., Ruan, X., Pan, C.-D., and Jiang, D.-A. (2010). Phenolics and plant allelopathy. *Molecules*, 15, 8933 - 8952.
- [7]. Umiljendić, J. G., Sarić-Krsmanović, M., Đorđević, T., Šćepanović, M., Šantrić, L., Šoštarčić, V. and Radivojević, L.(2022). Phytotoxicity of velvetleaf (*Abutilon theophrasti* Medik.), common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) and common cocklebur (*Xanthium strumarium* L.) to lettuce and tomato. *Allelopathy Journal*, 56, 159 - 172.
- [8]. Nguyễn Thị Thùy Trang (2020). Ảnh hưởng của dịch chiết Metanol từ tám giống lúa (*Oryza sativa* L.) OM lên cỏ lồng vực nước (*Echinochloa crus-galli* L.) và cải xoang (*Lepidium sativum*). *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, 56, 136 - 142.
- [9]. Sofowora, A(1993). *Medicinal Plant and Traditional Medicine in Africa*; Spectrum Book Limited, Ibadan, 1-12, 101 - 108.
- [10]. Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G. and Kaur, H., (2011). Phytochemical screening and extraction: A review. *Internationale pharmaceutica sciencia*, 1, 98 - 106.
- [11]. Yadav, R. N. S. and Agarwala, M. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of phytology*, 3(12), 10 - 14.
- [12]. Chang, C., Yang, M. H., Wen, H. M. & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug analysis*, 10(3), 178 - 182.
- [13]. Allen, E. and Alvarez, S. (2020). International rules for seed testing 2020, *The International Seed Testing Association: Bassersdorf, Switzerland*.
- [14]. Lương Thị Mỹ Ngân, Lê Thị Kim Lan, Nguyễn Thị Thùy Linh, Nguyễn Ngọc Quý, Lê Thị Thanh Loan, Trương Thị Huỳnh Hoa, Trần Trung Hiếu. (2018). Nghiên cứu hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết lá và hoa dâm bụt *Hibiscus rosa-sinensis* L. lên *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Klebsiella pneumoniae*. *Tạp chí phát triển khoa học và công nghệ: Chuyên san Khoa học Tự nhiên*, 2(1), 19-26.
- [15]. Ritz, C., Baty, F., Streibig, J. C. and Gerhard, D. (2015). Dose-response analysis using R. *PloS one*, 10, e0146021.
- [16]. Seefeldt, S. S., Jensen, J. E. and Fuerst, E. P. (1995). Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. *Weed technology*, 9, 218 - 227.
- [17]. Ngô Chí Nam, Phan Khánh Linh và Hồ Lê Thị (2021). Nghiên cứu tính ức chế thực vật của 6 loài cây họ cúc (Asteraceae) và định lượng hàm lượng phenolic và flavonoid tổng. *Bản B của Tạp Chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 65(5), 35 - 40.
- [18]. Đặng Gia Lê, Lê Thị Gấm, Phạm Đoàn Vi, Huỳnh Ngọc Trung Dung (2020). Khảo sát hàm lượng polyphenol, flavonoid, hoạt tính kháng oxy hóa từ lá và hoa của ba loài Sao nhái (Họ Cúc-Asteraceae). *Tạp chí Nghiên cứu Khoa học và Phát triển kinh tế, Trường Đại học Tây Đô*, 9, 259 - 269.
- [19]. Trần Thanh Mến, Nguyễn Trọng Tuấn, Sầm Hải Lý, Đỗ Tấn Khang, Nguyễn Đình Hải Yến (2019). Đánh giá thành phần hóa học và tác dụng ức chế sự nảy mầm và phát triển của hạt cỏ lồng vực (*Echinochloa crus-galli* L.) từ cao chiết cây bồ công anh (*Hypochaeris radicata* L.). *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển*, 18, 18 - 23.
- [20]. Xu, Z., Yang, B., Fan, J., Yuan, Q., He, F., Liang, H., Chen, F., Liu, W. (2024). Gallic acid regulates primary root elongation via modulating auxin transport and signal transduction. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1464053.
- [21]. Bais, H. P., Vepachedu, R., Gilroy, S., Callaway, R. M. Vivanco, J. M. (2003). Allelopathy and exotic plant invasion: From molecules and genes to species interactions. *Science*, 301, 1377 - 1380.
- [22]. Wang, Z.-Y., Yan, K.-L., Qin, Y.-M., Zhang, N.-C., Chen, X.-C., Chen, M. (2025). Effects of allelochemicals from plants on seed germination. *Seed Biology*, 4, 14 - 24.
- [23]. Hussain, M. I. and Reigosa, M. J. (2016). Plant secondary metabolite rutin affects the photosynthesis and excitation energy flux responses in *Arabidopsis thaliana*. *Allelopath. J*, 38, 215 - 228.
- [24]. Song, R., Xia, Y., Zhao, Z., Yang, X., and Zhang, N. (2023). Effects of plant growth regulators on the contents of rutin, hyperoside and quercetin in *Hypericum attenuatum* Choisy. *PloS one*, 18, e0285134.
- [25]. Sharma, O. P. and Rana, V. S. (2011). *Xanthium strumarium* L. - A potent allelopathic

plant. *Journal of Environmental Biology*, 32, 591 - 597.

[26]. Golisz, A., Lata, B., Gawronski, S. W., and Fujii, Y. (2007). Specific and total activities of the allelochemicals identified in buckwheat. *Weed Biology and Management*, 7, 164 - 171.

[27]. Dukpa, R., Tiwari, A., and Kapoor, D. (2020). Biological management of allelopathic plant *Parthenium* sp., *Open Agriculture*, 5, 252 - 261.

[28]. Rice, E. L. (2012). *Allelopathy*. 2nd (ed.) Acad. Press, Inc. Orlando. Florida, USA, 266 - 291.

ALLELOPATHIC POTENTIAL OF PHENOLIC- AND FLAVONOID-RICH EXTRACT FROM COCKLEBUR (*Xanthium strumarium* L.) EXTRACTS AGAINST (*Eleusine indica* L.)

Le Huu Phuoc¹

¹ *Faculty of Agriculture and Natural Resources,*

An Giang University, VNU-HCM

Abstract

This study was conducted to evaluate the allelopathic potential of ethanol extracts derived from different parts of *Xanthium strumarium* L. against *Eleusine indica* L. Total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC) were determined using spectrophotometry, complemented by chemical composition analysis via high-performance liquid chromatography with diode array detection (HPLC-UV-DAD). The results indicated that the leaves exhibited the highest TPC (168.33 mg GAE/g), whereas the fruits accumulated the highest TFC (86.78 mg QE/g). HPLC analysis identified the dominant compounds, including Procyanidins (accounting for >53% of the total peak area), catechin, Rutin, and Epigallocatechin gallate (EGCG). In bioassays, the extracts demonstrated strong inhibitory effects on the germination and seedling growth of *E. indica* in a dose-response relationship. The Log-logistic regression model determined the effective dose causing 50% inhibition of germination (ED₅₀) to be 0.0420 g/mL. At a concentration of 0.08 g/mL, the extract inhibited shoot and root growth by 80.3% and 81.95%, respectively. At 0.32 g/mL, 100% of the tested weed seeds were inhibited. These findings suggest the potential of using *X. strumarium* as a raw material source for developing pre-emergence bioherbicides.

Keywords: *Xanthium strumarium*, *Eleusine indica*, allelopathy, HPLC, log-logistic regression.

Ngày nhận bài: 30/12/2025

Ngày chuyển phản biện: 19/01/2026

Ngày thông qua phản biện: 02/02/2026

Ngày duyệt đăng: 13/4/2026