

## KHẢ NĂNG KÍCH KHÁNG BỆNH CHÁY BÌA LÁ LÚA CỦA HAI LOẠI DỊCH TRÍCH THỰC VẬT Ở KHÍA CẠNH MÔ HỌC

Lê Thanh Toàn\*, Vãng Việt Bình

Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ, Đường 3/2, Ninh Kiều, Cần Thơ, Việt Nam

\* Tác giả liên hệ Lê Thanh Toàn <ltoan@ctu.edu.vn>  
(Ngày nhận bài: 28-04-2020; Ngày chấp nhận đăng: 05-09-2020)

**Tóm tắt.** Cháy bìa lá là một trong những bệnh do vi khuẩn gây hại nghiêm trọng ở hầu hết các nước trồng lúa trên thế giới. Do đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm tìm ra loại dịch trích thực vật có hiệu quả ức chế căn bệnh này. Dịch trích củ tỏi, lá mù u và lá dứa cạn đã được sử dụng dưới dạng dịch trích đơn thuần và dịch trích kết hợp với dung dịch kẽm acetate 1 mM. Trong điều kiện *in vitro*, dịch trích lá dứa cạn và dịch trích lá dứa cạn kết hợp kẽm acetate cho hiệu quả ức chế sự phát triển khuẩn lạc *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* lần lượt là 24,32 và 100%. Ở điều kiện nhà lưới, xử lý dịch trích lá dứa cạn thông qua áo hạt và phun lên tán lá lúa ở 15, 30 và 45 ngày sau gieo giúp kích thích tế bào cây lúa tổng hợp polyphenol kháng khuẩn sớm và kéo dài đến 96 h sau lây bệnh. Thời gian giảm bệnh trên lá lúa sau khi xử lý dịch trích kéo dài đến 14 ngày sau lây bệnh. Ở thời điểm này, mật số vi khuẩn gây bệnh trong lá lúa xử lý bằng dịch trích thấp hơn so với đối chứng không xử lý.

**Từ khóa:** cháy bìa lá, dịch trích, lá dứa cạn, lúa, *Xanthomonas oryzae*

## Plant extracts against rice leaf blight from histopathological aspect

Le Thanh Toan\*, Vang Viet Binh

College of Agriculture, Can Tho University, 3/2 St., Ninh Kieu, Can Tho, Vietnam

\* Correspondence to Le Thanh Toan <ltoan@ctu.edu.vn>  
(Received: 28 April 2020; Accepted: 05 September 2020)

**Abstract.** Leaf blight is one of the most severe bacterial diseases in most rice-cultivating countries all over the world. Therefore, this research was carried out to seek effective plant extracts for managing this disease. The extracts of garlic, tamanu, and periwinkle were utilized as pure and combined with the zinc acetate solution 1 mM. Under *in vitro* conditions, the pure extract of periwinkle and its combination with zinc acetate induces the inhibition efficiency against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* of approximately 24.32 and 100%, respectively. In net houses, the seed-soaked and foliar sprayed treatments at 15, 30, and 45 days after growing cause rice plants to produce bactericide polyphenol compounds, and the effect lasts until 96 hours after pathogen inoculation. The disease reduction of treated rice leaves lasts to the 14<sup>th</sup> day after pathogen inoculation. At this moment, the pathogen density in treated leaves is lower than that of the control.

**Keywords:** plant extract, leaf blight, rice, periwinkle, *Xanthomonas oryzae*

## 1 Đặt vấn đề

Lúa (*Oryza sativa* L.) là cây lương thực quan trọng ở Việt Nam, đồng thời cũng là nguồn cung cấp tinh bột cho gần một nửa dân số thế giới [1]. Cháy bìa lá do vi khuẩn và cháy lá do nấm là hai bệnh phổ biến và gây hại nghiêm trọng ở hầu hết các nước trồng lúa, làm giảm sản lượng từ 6 đến 60% [2, 3]. Ở Việt Nam, bệnh này gây hại trên các giống lúa mùa trước đây và các giống lúa cao sản hiện nay [4]. Ở đồng bằng sông Cửu Long, các giống lúa kháng có hiệu quả phòng trừ bệnh trước đây thì nay năng suất không cao và cũng không còn hiệu quả kháng bệnh trước sự biến đổi thành phần quần thể vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, nên bệnh cháy bìa lá càng bộc phát nặng, nhất là trong vụ Hè Thu và Thu Đông. Bên cạnh đó, nông dân sử dụng các loại thuốc trừ vi khuẩn một cách bất hợp lý trong thời gian dài với liều lượng lớn để phòng trị bệnh, làm ảnh hưởng không tốt đến môi trường, sức khỏe cộng đồng và người tiêu dùng.

Vì thế, việc tìm ra biện pháp quản lý bệnh đạt hiệu quả cao và hạn chế việc sử dụng thuốc hóa học là nhu cầu cấp thiết hiện nay. Một trong những biện pháp quản lý bệnh đạt hiệu quả và có thể hạn chế việc sử dụng thuốc hóa học là sử dụng dịch trích thực vật và các tác nhân sinh học. Dịch trích thực vật hoặc các tác nhân sinh học có thể tạo ra tín hiệu hoặc là chất kích thích sự tổng hợp của những tín hiệu. Các tín hiệu đó có thể là dòng ion hay tín hiệu điện tử trong cây. Sau khi xuất hiện, tín hiệu di chuyển nhanh trong cây làm hoạt hóa các gen và lưu dẫn đến các phần không xử lý khác của cây, từ đó tăng cường sự tổng hợp các protein có tính gây bệnh gọi là các PR protein (pathogenesis-related protein) [5]. Khi cây trồng và mầm bệnh tiếp xúc nhau, cây trồng nhận biết sự có mặt của mầm bệnh nhờ sự phóng thích các chất như glycoprotein, carbohydrate, acid béo, peptide và oligosaccharide của mầm bệnh [5]. Các chất này hoạt động như chất mồi, có nguồn gốc từ mầm bệnh được ký chủ

nhận dạng; các tín hiệu này sau khi được nhận diện sẽ chuyển nhanh vào trong cây. Sự chuyển tín hiệu là khác nhau từ các chất protein kinase,  $Ca^{2+}$ -phosphorylase, phospholipase, ATPase, hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), ethylene và những chất khác. Sự chuyển tín hiệu lưu dẫn đưa đến các kích kháng lưu dẫn do acid salicylic, acid jasmonic, systemin, acid béo, ethylene và các chất khác. Các tín hiệu này hoạt hóa gen và lưu dẫn sản phẩm kích kháng đến các phần không được xử lý khác của cây, từ đó tăng cường tổng hợp các protein. Những PR protein có khả năng kháng nấm, kháng vi khuẩn bằng cách phân giải màng polysaccharide của vách tế bào nấm [6]. Ngoài ra, một số PR protein ức chế sự phóng thích và nảy mầm của bào tử, hoặc có khả năng kéo dài vách tế bào, làm vách tế bào sinh trưởng quá mức, phá vỡ cấu trúc chitin của vách tế bào vi sinh vật gây hại. Bên cạnh đó, một số PR có khả năng phân giải những phân tử glucosamine và muramic của vách tế bào vi khuẩn. Các hợp chất được do cây ký chủ tổng hợp tạo ra hàng rào bảo vệ bằng sự tích tụ callose và lignin, sự tích tụ các chất glycoprotein giàu hydroxyl ở vách tế bào, gia tăng sự tổng hợp polypeptide, gia tăng các enzyme thủy phân như chitinase và gia tăng sự tích lũy glycoprotein giàu hydroxyproline [7]. Trong quá trình cây trồng kháng bệnh, polyphenol tích lũy nhanh sau khi cây trồng bị nấm bệnh xâm nhiễm và hình thành thông qua sự biến đổi của nhóm phenylpropanoid. Các polyphenol có vai trò trong phản ứng tự vệ của cây trồng vì chúng gây độc với mầm bệnh và hầu hết các phytoalexin có nguồn gốc từ các phenol. Bên cạnh đó, các hợp chất phenol cũng tham gia vào sự thay đổi của vách tế bào làm cho chúng trở nên kháng hơn đối với các enzyme phân hủy vách tế bào do mầm bệnh tiết ra. Khi có sự có mặt của mầm bệnh, hợp chất này hình thành nhanh xung quanh vị trí xâm nhiễm và hạn chế sự xâm nhiễm của mầm bệnh bằng phản ứng tự chết nhanh của tế bào (phản ứng siêu nhạy cảm, HR) [8].

Một số nghiên cứu sử dụng dịch trích thực vật đối với bệnh lúa đã được thực hiện. Nguyễn Chí Cương [9] cho biết một số dịch trích thực vật có khả năng kháng lại bệnh cháy bìa lá lúa. Nguyễn Ngọc Thiều [10] đã cho thấy việc ngâm hạt lúa với dịch trích cỏ cút lợn (cỏ hôi) 4% có khả năng hạn chế sự phát triển vết bệnh đốm vằn và có khả năng giảm tương đối chiều dài vết bệnh cháy bìa lá từ 19,1 đến 37,8% so với đối chứng không kích kháng. Như vậy, đa số nghiên cứu về dịch trích thực vật chỉ mới đánh giá hiệu quả giảm vết bệnh trên lúa, chưa khảo sát sự tích tụ phenol và mật số mầm bệnh có mặt trong lá lúa.

Các kết quả nghiên cứu trên cây họ bầu bí cho thấy sự tích tụ các hợp chất phenol có liên quan đến phản ứng tự vệ và sự kích kháng trên cây dưa leo. Thực vật được xử lý kích kháng với acibenzolar-S-methyl có khả năng kháng lại nấm *Pythium ultimum*. Sự giảm bệnh cũng liên quan tới hàm lượng tế bào phát sáng cao tại vị trí nấm bắt đầu xâm nhiễm [12]. Tương tự, khi xử lý kích kháng bệnh thán thư do nấm *Coletotrichum lagenarium* gây ra trên dưa leo, Lê Minh Châu [12] ghi nhận các chất  $CaCl_2$ , chitosan và  $CuCl_2$  kích thích tế bào gia tăng tổng hợp hợp chất phenol tại thời điểm 96 h sau khi lây bệnh.

Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm tìm ra loại dịch trích mới giúp cây lúa chống chịu tốt bệnh cháy bìa lá thông qua đặc điểm tổng hợp

polyphenol, giảm mật số mầm bệnh trong lá và sự giảm chiều dài vết bệnh.

## 2 Phương tiện và phương pháp

### 2.1 Nguồn vi khuẩn, giống lúa và loại dịch trích

Vi khuẩn, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), với độc tính cao do Phòng thí nghiệm Phòng trừ Sinh học, Bộ môn Bảo vệ Thực vật, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ cung cấp. Giống lúa được sử dụng trong nghiên cứu này là Jasmine 85. Dịch trích từ củ tỏi (*Allium sativum*), lá dứa cạn (*Catharanthus roseus*) và lá mù u (*Calophyllum inophyllum*) [13-15] được sử dụng trong nghiên cứu.

### 2.2 Đánh giá hiệu quả của các loại dịch trích thực vật đối với *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* trong điều kiện *in vitro*

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên gồm tám nghiệm thức (Bảng 1) với bốn lần lặp lại. Nghiệm thức đối chứng là môi trường King's B không chứa dịch trích. Nhân mật số Vi khuẩn *Xoo* trên môi trường King's B. Thu huyền phù vi khuẩn sau 48 h nuôi cấy và pha loãng với nước cất thanh trùng. Đo độ đục của huyền phù bằng máy đo quang phổ ở bước sóng  $\lambda$  600 nm về OD có giá trị là 0,3, tương ứng với mật số vi khuẩn khoảng  $1 \times 10^8$  cfu/mL.

Bảng 1. Các nghiệm thức được sử dụng trong thí nghiệm *in vitro*

Tên nghiệm thức	Nồng độ
Dịch trích củ tỏi	1,66% tỏi
Dịch trích củ tỏi có xử lý với kẽm acetate	1,66% tỏi + 1,66 mM kẽm acetate
Dịch trích lá mù u	1,66% mù u
Dịch trích lá mù u có xử lý với kẽm acetate	1,66% mù u + 1,66 mM kẽm acetate
Dịch trích lá dứa cạn	1,66% dứa cạn
Dịch trích lá dứa cạn có xử lý với kẽm acetate	1,66% dứa cạn + 1,66 mM kẽm acetate
Kẽm acetate	1,66 mM kẽm acetate
Đối chứng	Môi trường King's B

Mẫu thực vật sau khi thu về được rửa sạch bằng nước cất và để khô tự nhiên (khoảng 12–14 ngày). Đối với nghiệm thức chỉ sử dụng dịch trích thực vật, thực vật khô được nghiền mịn bằng chày và cối, thêm nước cất, rồi chung cách thủy ở 62 °C trong 15 min, khuấy đều. Đối với nghiệm thức sử dụng dịch trích thực vật có xử lý với kềm acetate: thực vật khô sẽ được nghiền mịn bằng chày và cối, thêm nước cất, chung cách thủy ở 62 °C trong 15 min, khuấy đều. Lọc lấy dịch trích và thêm 10 mL dung dịch kềm acetate, khuấy đều trong 2 h (bổ sung phương pháp từ [13, 14]). Sau đó, nấu tan 50 mL môi trường PDA trong lò vi sóng. Khi chai môi trường đạt nhiệt độ 55–60 °C thì đưa lượng dịch trích hoặc hóa chất thích hợp đã chuẩn bị vào chai, lắc cho môi trường để hòa tan đều vào môi trường. Sau đó, chuyển môi trường trong chai vào các đĩa Petri bằng dispenser với lượng 10 mL môi trường/đĩa. Sau khi môi trường đặc lại, 1 mL huyền phù vi khuẩn *Xoo* với mật số  $1 \times 10^8$  cfu/mL được cho vào đĩa Petri và dùng que chà vi khuẩn bằng inox để chà, giúp vi khuẩn phân bố đều khắp bề mặt đĩa Petri. Các đĩa Petri thí nghiệm được đặt ở nhiệt độ phòng. Số lượng và diện tích khuẩn lạc của vi khuẩn *Xoo* được ghi nhận vào các thời điểm 1, 3, 5 và 7 ngày sau khi cấy (NSKC). Hiệu quả ức chế của dịch trích được tính theo công thức (1).

$$HQUC = \frac{KL_{đc} - KL_t}{KL_{đc}} \times 100\% \quad (1)$$

trong đó HQUC là hiệu quả ức chế của dịch trích;  $KL_{đc}$  là số lượng khuẩn lạc của nghiệm thức đối chứng nước cất;  $KL_t$  là số lượng khuẩn lạc của nghiệm thức dịch trích.

Thí nghiệm được thực hiện hai lần, với điều kiện tương tự nhau. Từ kết quả thí nghiệm, dịch trích thực vật cho hiệu quả cao nhất được chọn để thực hiện thí nghiệm tiếp theo.

### 2.3 Đánh giá hiệu quả giảm bệnh cháy bìa lá và sự tích tụ polyphenol trong tế bào lá lúa xử lý trong điều kiện nhà lưới

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm tám nghiệm thức (Bảng 2) với bốn lần lặp lại. Mỗi lượt thí nghiệm là một chậu với hai cây/chậu.

Huyền phù vi khuẩn và dịch trích thực vật được áp dụng tương tự thí nghiệm trong Mục 2.2. Lấy 4 kg đất và cho vào chậu nhựa trồng cây với đường kính 35 cm; bón lót trước khi gieo. Ngâm hạt lúa trong nước ba sôi hai lạnh trong 30 min. Hạt lúa được ủ 48 h trong giấy thấm ướt, để trong buồng tối. Bốn hạt lúa nảy mầm tốt sẽ được gieo vào bốn góc trong một chậu nhựa trồng cây đã chuẩn bị đất. Bón phân theo công thức 120N-40P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-30K<sub>2</sub>O [16]. Khi cây được 50 ngày tuổi thì tiến hành lây bệnh nhân tạo bằng phương pháp cắt chóp lá, khoảng 3 cm từ chóp. Trên mỗi cây lúa, 12 lá nõ hoàn toàn được chọn để cắt chóp lá (hai lá để thu mẫu ở mỗi thời điểm 0, 24, 48, 72 và 96 h; hai lá để ghi nhận chỉ tiêu bệnh). Các cây lúa sau khi lây bệnh được để trong phòng lây bệnh nhân tạo, giữ trong 36 h trong tối ở độ ẩm tương đối khoảng 98%, và điều chỉnh nhiệt độ về 25 °C. Sau đó, chuyển các chậu thí nghiệm ra nhà phun sương và cứ 30 min thì phun một lần; che mát 50% nhằm giúp cho bệnh phát triển.

**Bảng 2.** Các nghiệm thức được sử dụng trong thí nghiệm ở nhà lưới

Nghiệm thức	Cách kích thích tính kháng	Lây nhiễm bệnh
Dịch trích dừa cạn	Áo hạt, phun lên tán lá ở 15, 30 và 45 ngày sau gieo (NSG)	Có
Dịch trích dừa cạn	Áo hạt, phun lên tán lá ở 15, 30 và 45 NSG	Không
Dịch trích dừa cạn với kềm acetate	Áo hạt, phun lên tán lá ở 15, 30 và 45 NSG	Có
Dịch trích dừa cạn với kềm acetate	Áo hạt, phun lên tán lá ở 15, 30 và 45 NSG	Không
Salicylic acid 1 mM	Áo hạt, phun lên tán lá ở 15, 30 và 45 NSG	Có

Nghiệm thức	Cách kích thích tính kháng	Lây nhiễm bệnh
Salicylic acid 1 mM	Áo hạt, phun lên tán lá ở 15, 30 và 45 NSG	Không
Đối chứng	Phun nước cất thanh trùng	Có
Đối chứng	Phun nước cất thanh trùng	Không

Mẫu lá để khảo sát sự tích tụ phenol được thu ở thời điểm 0, 24, 48, 72 và 96 h sau khi lây nhiễm bệnh (GSLB). Lá lúa được tẩy diệt lục tố bằng dung dịch ethanol/acetic acid (3:1, v/v). Giấy thấm và dung dịch ethanol/acetic acid được thay mỗi ngày cho đến khi mẫu lá không còn màu xanh của diệt lục tố. Cuối cùng, mẫu được chuyển sang nước cất trong một giờ, và giữ trong lactoglycerol (lactic acid/glycerin/nước cất với tỉ lệ 1:1:1, v/v/v) đến khi quan sát. Nhuộm mẫu bằng Toluidine Blue O (0,05%, pH 6,8) ở 60 °C trong một giờ [17] và quan sát dưới kính hiển vi thường. Quan sát hai lá ở mỗi nghiệm thức; ở mỗi lá quan sát tế bào vùng thịt lá ở phần chóp lá. Đồng thời, ghi nhận chỉ tiêu phenol tích tụ (tế bào có màu xanh lá cây) theo ba mức độ: (+) tế bào màu xanh lá cây nhạt, (++) tế bào màu xanh lá cây trung bình, (+++) tế bào màu xanh lá cây sậm [18]. Ở 14 ngày sau lây bệnh (NSLB), ghi nhận cấp bệnh hại trên hai lá lúa còn lại của mỗi cây đã được lây bệnh nhân tạo theo thang đánh giá cấp bệnh của Ezuka và Horino [trích dẫn từ 19]. Tại 14 NSLB, thu các lá đã lây bệnh nhân tạo, lấy 1 g lá lúa rồi nghiền thật kỹ; cho vào ống nghiệm chứa 5 mL nước cất và dung dịch Tween 80 (1‰) và lắc đều trên máy lắc tự động; vớt bỏ xác bã lá lúa. Sử dụng phương pháp pha loãng và chà huyền phù vi khuẩn trên đĩa Petri để xác định mật số vi khuẩn trong lá. Các chỉ tiêu ghi nhận bao gồm mức độ

phenol tích tụ trên lá, mật số vi khuẩn trong 1 g lá lúa và chỉ số bệnh. Tính hiệu quả giảm bệnh so với đối chứng theo công thức (2).

$$HQGB = \frac{TLNB_{idc} - TLNB_i}{TLNB_{idc}} \times 100\% \quad (2)$$

#### 2.4 Phân tích số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel và chạy thống kê bằng phần mềm SPSS 16.0 qua kiểm định Duncan.

### 3 Kết quả và thảo luận

#### 3.1 Hiệu quả của các loại dịch trích thực vật đối với vi khuẩn *Xoo* trong điều kiện *in vitro*

Cả ba nghiệm thức dịch trích lá mù u với kẽm acetate, dịch trích lá dừa cạn với kẽm acetate và dịch trích tỏi với kẽm acetate đều cho hiệu quả giảm mật số tương đương nghiệm thức kẽm acetate, không còn khuẩn lạc trên đĩa Petri. Các kết quả đều khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng. Số liệu ở Bảng 3 còn cho thấy dịch trích lá dừa cạn cho hiệu quả tốt, giúp giảm mật số xuống  $5,6 \times 10^3$  vi khuẩn, thấp hơn có ý nghĩa so nghiệm thức đối chứng nước là  $7,4 \times 10^3$  vi khuẩn. Các dịch trích thực vật còn lại cho cho mật số vi khuẩn khác biệt không ý nghĩa so với đối chứng (Bảng 3).

**Bảng 3.** Mật số vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* trong điều kiện *in vitro*

Nghiệm thức	Mật số vi khuẩn trên đĩa Petri ( $\times 10^3$ khuẩn lạc)
Dịch trích củ tỏi	6,90 <sup>a</sup>
Dịch trích củ tỏi với kẽm acetate	0,00 <sup>c</sup>
Dịch trích lá mù u	7,10 <sup>a</sup>
Dịch trích lá mù u với kẽm acetate	0,00 <sup>c</sup>

Nghiệm thức	Mật số vi khuẩn trên đĩa Petri ( $\times 10^3$ khuẩn lạc)
Dịch trích lá dừa cạn	5,60 <sup>b</sup>
Dịch trích lá dừa cạn với kẽm acetate	0,00 <sup>c</sup>
Kẽm acetate 1,67 mM	0,00 <sup>c</sup>
Đối chứng nước cất	7,40 <sup>a</sup>
Mức ý nghĩa	**
CV (%)	7,96

<sup>1/</sup>Trong cùng một cột, những số có cùng chữ cái theo sau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 1% qua kiểm định Duncan.

Ở chỉ tiêu tổng diện tích khuẩn lạc trên đĩa Petri, các nghiệm thức xử lý dịch trích lá dừa cạn, lá mù u, tỏi cho tổng diện tích khuẩn lạc tương đương nhau và không có khác biệt ý nghĩa so đối chứng. Các nghiệm thức dừa cạn với kẽm acetate, mù u với kẽm acetate, tỏi với kẽm acetate có tổng diện tích khuẩn lạc thấp so với nghiệm thức kẽm acetate và có khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (Bảng 4).

Ở thời điểm 7 ngày, các nghiệm thức xử lý dịch trích thuần có tổng diện tích khuẩn lạc đạt khoảng 5,83–5,93 (đơn vị diện tích), khác biệt không ý nghĩa về mật thống kê so với đối chứng.

Trong đó, diện tích khuẩn lạc của nghiệm thức xử lý dịch trích dừa cạn là nhỏ nhất. Các nghiệm thức xử lý dịch trích với kẽm acetate đều cho thấy khả năng ức chế hiệu quả sự phát triển của khuẩn lạc *Xoo*. Diện tích khuẩn lạc ở các nghiệm thức dịch tỏi với kẽm acetate, mù u với kẽm acetate, dừa cạn với kẽm acetate và nghiệm thức kẽm acetate lần lượt là 5,49, 3,66, 3,08 và 3,74 đơn vị diện tích, thấp hơn có ý nghĩa so với đối chứng (5,89). Nếu so sánh các nghiệm thức khác thì dịch trích dừa cạn với kẽm acetate cho hiệu quả tốt nhất (Hình 1). Như vậy, hai nghiệm thức dịch trích lá dừa cạn và dịch trích lá dừa cạn với kẽm acetate được chọn để tiếp tục đánh giá hiệu quả giảm bệnh cháy bìa lá và tích tụ polyphenol ở điều kiện nhà lưới.

**Bảng 4.** Tổng diện tích khuẩn lạc vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* trong điều kiện *in vitro*

Nghiệm thức	Tổng diện tích khuẩn lạc (đơn vị diện tích)			
	Ngày 1 <sup>1/</sup>	Ngày 3 <sup>1/</sup>	Ngày 5 <sup>1/</sup>	Ngày 7 <sup>1/</sup>
Dịch trích củ tỏi	5,83 <sup>c</sup>	5,89 <sup>d</sup>	5,90 <sup>e</sup>	5,87 <sup>d</sup>
Dịch trích củ tỏi với kẽm acetate	2,29 <sup>a</sup>	5,24 <sup>c</sup>	5,45 <sup>d</sup>	5,49 <sup>c</sup>
Dịch trích lá mù u	5,65 <sup>c</sup>	5,77 <sup>d</sup>	5,91 <sup>e</sup>	5,95 <sup>d</sup>
Dịch trích lá mù u với kẽm acetate	2,62 <sup>a</sup>	2,68 <sup>a</sup>	3,03 <sup>b</sup>	3,66 <sup>b</sup>
Dịch trích lá dừa cạn	5,61 <sup>c</sup>	5,65 <sup>d</sup>	5,79 <sup>e</sup>	5,83 <sup>d</sup>
Dịch trích lá dừa cạn với kẽm acetate	2,50 <sup>a</sup>	2,53 <sup>a</sup>	2,87 <sup>a</sup>	3,08 <sup>a</sup>
Kẽm acetate 1,67 mM	3,32 <sup>b</sup>	3,58 <sup>b</sup>	3,63 <sup>c</sup>	3,74 <sup>b</sup>
Đối chứng nước cất	5,79 <sup>c</sup>	5,83 <sup>d</sup>	5,87 <sup>e</sup>	5,89 <sup>d</sup>
Mức ý nghĩa	*	*	*	*
CV (%)	5,84	5,18	2,28	1,57

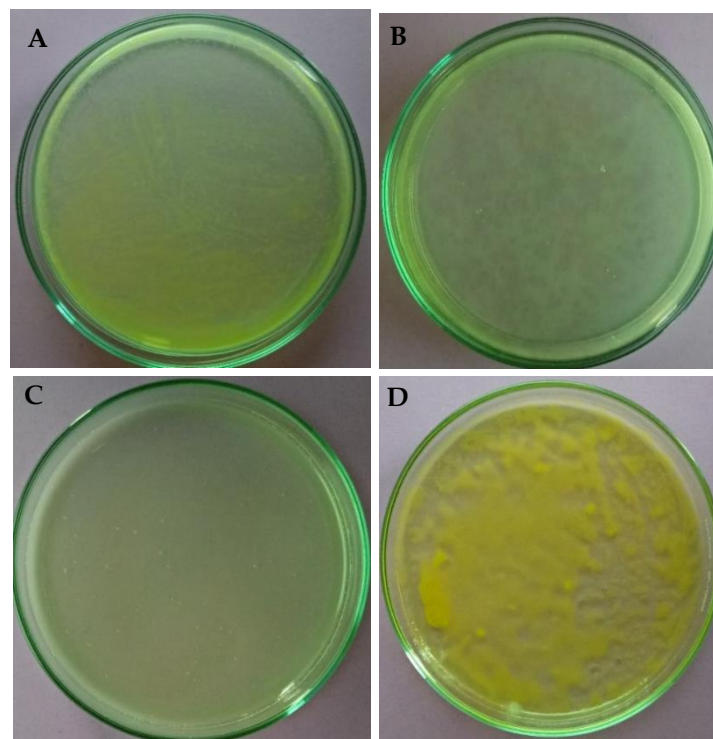
<sup>1/</sup>Trong cùng một cột, những số có cùng chữ cái theo sau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% qua kiểm định Duncan.

### 3.2 Hiệu quả giảm bệnh cháy bìa lá và tích tụ polyphenol khi được xử lý với dịch trích trong điều kiện nhà lưới

Sự tổng hợp polyphenol được quan sát dưới kính hiển vi quang học sau khi lá lúa được xử lý với dịch trích lá dừa cạn (có lây bệnh–CLB và không lây bệnh–KLB), dịch trích lá dừa cạn với kẽm acetate (CLB và KLB) ở các thời điểm 24, 48, 72 và 96 GSLB. Sự tổng hợp polyphenol được thể hiện bằng màu xanh lá cây ở vùng tế bào liền kề vị trí cắt chóp lá lây bệnh khi nhuộm với Toluidine Blue O.

Số liệu ở Bảng 5 cho thấy những lá CLB cho phản ứng tổng hợp polyphenol sớm hơn những lá không được lây bệnh. Tại thời điểm 24 GSLB, các nghiệm thức dịch trích dừa cạn KLB, dịch trích dừa cạn với kẽm acetate KLB, acid salicylic KLB và đối chứng nước KLB chưa thấy sự xuất hiện của polyphenol. Trong các nghiệm thức có lây bệnh,

nghiệm thức SA (đối chứng dương) và dịch trích dừa cạn cho hiệu quả tổng hợp polyphenol cao, các nghiệm thức dừa cạn với kẽm acetate và đối chứng cho kết quả tổng hợp polyphenol thấp hơn. Đối chứng dương đã được ghi nhận giúp cây lúa có khả năng tổng hợp polyphenol sớm [18]. Kết quả của SA cũng tương tự khi xử lý trên cây dưa leo giúp kháng lại bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum* spp. [12]. Đến thời điểm 48 GSLB, hai nghiệm thức dừa cạn CLB và nghiệm thức SA CLB cho thấy sự tổng hợp polyphenol tăng lên, đạt cấp ++, lần lượt là 12,50 và 25,00%. Các nghiệm thức có lây bệnh còn lại chỉ đạt cấp +. Trong khi đó, các nghiệm thức KLB không cho thấy sự tổng hợp polyphenol hoặc có thì chỉ đạt mức + nhưng với tỉ lệ rất thấp (Bảng 5). Tại thời điểm 72 GSLB, sự tổng hợp polyphenol của nghiệm thức SA CLB đạt được mức +++ nhưng với tỉ lệ thấp. Đến thời điểm quan sát cuối (96 GSLB), tất cả các nghiệm thức KLB có chỉ số



**Hình 1.** Hiệu quả in vitro của dịch trích thực vật ở 7 NSKC  
A. Nghiệm thức dừa cạn; B. Nghiệm thức dừa cạn với kẽm acetate;  
C Nghiệm thức kẽm acetate; D. Đối chứng nước cất

polyphenol chỉ đạt mức +. Các nghiệm thức có xử lý với SA và dịch trích thì cho sự tổng hợp phenol cao đạt mức ++, có khác biệt với đối chứng CLB. Nghiệm thức dứa cặn CLB và SA cho sự tổng hợp polyphenol cao đạt mức +++ (Bảng 6). Như vậy, SA, dứa cặn và dứa cặn với kẽm acetate đều cho sự

tổng hợp polyphenol cao trong tế bào và tăng dần so với nghiệm thức đối chứng nước cất. Kết quả tương tự được ghi nhận khi xử lý kích kháng trên cây lúa để chống lại nấm *Pyricularia grisea* gây bệnh cháy lá [18].

**Bảng 5.** Khảo sát phần trăm lá tổng hợp phenol theo cấp +, ++, +++ ở các thời điểm 24 và 48 h

Nghiệm thức	24 h		48 h	
	+	++	+	++
Dừa cặn có lây bệnh	37,50 <sup>a</sup>		50,00 <sup>a</sup>	12,50 <sup>b</sup>
Dừa cặn không lây bệnh	0,00 <sup>d</sup>		12,50 <sup>bc</sup>	0,00 <sup>c</sup>
Dừa cặn kẽm có lây bệnh	12,50 <sup>c</sup>		62,50 <sup>a</sup>	0,00 <sup>c</sup>
Dừa cặn kẽm không lây bệnh	0,00 <sup>d</sup>		0,00 <sup>c</sup>	0,00 <sup>c</sup>
Salicylic acid có lây bệnh	50,00 <sup>a</sup>		50,00 <sup>a</sup>	25,00 <sup>a</sup>
Salicylic acid không lây bệnh	0,00 <sup>d</sup>		12,50 <sup>bc</sup>	0,00 <sup>c</sup>
Đối chứng có lây bệnh	12,50 <sup>c</sup>		25,00 <sup>b</sup>	0,00 <sup>c</sup>
Đối chứng không lây bệnh	0,00 <sup>d</sup>		0,00 <sup>c</sup>	0,00 <sup>c</sup>
Mức ý nghĩa	**		**	**
CV (%)	14,76		29,77	4,32

<sup>1/</sup>Trong cùng một cột, những số có cùng chữ cái theo sau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 1% qua kiểm định Duncan.

**Bảng 6.** Khảo sát phần trăm lá tổng hợp phenol theo cấp +, ++, +++ ở các thời điểm 72 và 96 h

Nghiệm thức	72 h			96 h		
	+	++	+++	+	++	+++
Dừa cặn có lây bệnh	37,50 <sup>a</sup>	12,50 <sup>a</sup>	0,00 <sup>b</sup>	25,00 <sup>b</sup>	25,00 <sup>b</sup>	12,50 <sup>a</sup>
Dừa cặn không lây bệnh	25,00 <sup>b</sup>	12,50 <sup>a</sup>	0,00 <sup>b</sup>	25,00 <sup>b</sup>	0,00 <sup>d</sup>	0,00 <sup>b</sup>
Dừa cặn kẽm có lây bệnh	37,50 <sup>a</sup>	12,50 <sup>a</sup>	0,00 <sup>b</sup>	12,50 <sup>c</sup>	37,50 <sup>a</sup>	0,00 <sup>b</sup>
Dừa cặn kẽm không lây bệnh	0,00 <sup>d</sup>	0,00 <sup>b</sup>	0,00 <sup>b</sup>	37,50 <sup>a</sup>	0,00 <sup>d</sup>	0,00 <sup>b</sup>
Salicylic acid có lây bệnh	50,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>b</sup>	12,50 <sup>a</sup>	37,50 <sup>a</sup>	37,50 <sup>a</sup>	0,00 <sup>b</sup>
Salicylic acid không lây bệnh	37,50 <sup>a</sup>	0,00 <sup>b</sup>	0,00 <sup>b</sup>	0,00 <sup>d</sup>	0,00 <sup>d</sup>	0,00 <sup>b</sup>
Đối chứng có lây bệnh	12,50 <sup>c</sup>	0,00 <sup>b</sup>	0,00 <sup>b</sup>	37,50 <sup>a</sup>	12,50 <sup>c</sup>	0,00 <sup>b</sup>
Đối chứng không lây bệnh	0,00 <sup>d</sup>	0,00 <sup>b</sup>	0,00 <sup>b</sup>	37,50 <sup>a</sup>	0,00 <sup>d</sup>	0,00 <sup>b</sup>
Mức ý nghĩa	**	**	**	**	**	**
CV (%)	8,96	23,71	4,08	7,67	2,90	4,08

<sup>1/</sup>Trong cùng một cột, những số có cùng chữ cái theo sau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 1% qua kiểm định Duncan.



Sự tổng hợp polyphenol đã xảy ra khi cây lúa bị mầm bệnh tấn công. Đây là hợp chất kháng nấm và kháng khuẩn ở cây trồng. Sự tổng hợp polyphenol có liên quan đến phản ứng siêu nhạy cảm và sự phát sáng tế bào. Các polyphenol tích tụ ở tế bào có phản ứng siêu nhạy cảm cùng với sự tích tụ  $H_2O_2$  và phytoalexin, là những phản ứng tự vệ có hiệu quả ở nhiều loại cây trồng kháng bệnh. Như vậy, sự tổng hợp polyphenol ở giai đoạn sớm của tế bào lá lúa sau khi lây nhiễm vi khuẩn *Xoo* liên quan đến việc gia tăng sự chống chịu bệnh cháy bìa lá trên cây lúa. Hiệu quả giảm vết bệnh cháy bìa lá ở cây lúa tiếp tục được đánh giá ở 14 NSLB. Kết quả cho thấy chỉ số bệnh của ba nghiệm thức xử lý thấp hơn có ý nghĩa so với đối chứng. Trong đó, nghiệm thức SA cho chỉ số bệnh thấp nhất (53,57%); hai nghiệm thức dịch trích lá dừa cạn và dừa cạn với kẽm acetate có chỉ số bệnh lần lượt là 64,29 và 69,68%. Các nghiệm thức đều cho hiệu quả giảm bệnh tốt, trong đó nghiệm thức xử lý với SA và dịch trích lá dừa cạn cho hiệu quả giảm bệnh cao, tương tự nhau về mặt thống kê. Nghiệm thức xử lý dịch trích dừa cạn với kẽm acetate cho hiệu quả giảm bệnh thấp hơn (17,10%) (Bảng 7). Mật số vi khuẩn trong 1 g lá ở thời điểm 14 NSLB ở các nghiệm thức đều khác biệt có ý

nghĩa thống kê và thấp hơn nhiều so với đối chứng. Trong đó, nghiệm thức xử lý với dịch lá dừa cạn cho mật số thấp nhất ( $7,20 \times 10^3$ ) và thấp hơn cả SA ( $18,60 \times 10^3$ ). Nghiệm thức dịch lá dừa cạn với kẽm acetate cũng cho hiệu quả giảm mật số, đạt  $31,30 \times 10^3$  vi khuẩn (Bảng 7).

#### 4 Kết luận và đề nghị

Trong các loại dịch trích củ tỏi, lá mù u và lá dừa cạn, khi sử dụng đơn hoặc kết hợp kẽm acetate 1,67 mM, nghiệm thức dịch trích lá dừa cạn và nghiệm thức dịch trích lá dừa cạn với kẽm acetate thể hiện khả năng hạn chế sự phát triển của vi khuẩn *Xoo* trong điều kiện *in vitro*. Hai nghiệm thức xử lý này giúp cây lúa gia tăng sự tổng hợp polyphenol ở lá vào các thời điểm từ 24 đến 96 GSLB, góp phần ức chế sự phát triển vết bệnh cháy bìa lá và giảm mật số vi khuẩn *Xoo* trong lá ở 14 NSLB. Các cơ chế kháng bệnh như sự hình thành cấu trúc papillae, sự phát sáng tế bào, sự tổng hợp phytoalexin, sự tổng hợp  $H_2O_2$ , callose hay sự lignin hóa tế bào sẽ được thực hiện trong các nghiên cứu tiếp theo. Ngoài ra, hiệu quả của các loại dịch trích sẽ được đánh giá ở điều kiện ngoài đồng.

**Bảng 7.** Hiệu quả giảm bệnh cháy bìa và mật số vi khuẩn *Xoo* trong lá lúa ở 14 ngày sau lây bệnh

Nghiệm thức	Chỉ số bệnh	Hiệu quả giảm bệnh	Mật số vi khuẩn trong lá ( $\times 10^3$ vi khuẩn)
Dịch trích dừa cạn	64,29 <sup>b</sup>	23,40 <sup>a</sup>	7,20 <sup>d</sup>
Dịch trích dừa cạn với kẽm acetate	69,68 <sup>b</sup>	17,10 <sup>b</sup>	31,30 <sup>b</sup>
Salicylic acid	53,57 <sup>c</sup>	36,17 <sup>a</sup>	18,60 <sup>c</sup>
Đối chứng	83,93 <sup>a</sup>	0,00 <sup>c</sup>	126,30 <sup>a</sup>
Mức ý nghĩa	**	**	**
CV (%)	7,09	11,51	4,19

Trong cùng một cột, những số có cùng chữ cái theo sau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 1% qua kiểm định Duncan.

## Tài liệu tham khảo

1. Vũ NQH, Hồng HTK. Đặc điểm sinh trưởng và năng suất của giống lúa Đài Thom 8 trong vụ Đông Xuân 2017-2018 tại Thừa Thiên Huế. Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học Tự nhiên. 2018;127(1C):171-179.
2. Tê LL. Trồng trọt (tập 2). Hà Nội (VN): Nhà xuất bản Giáo dục; 2000. 147 p.
3. Hải NTT, Phương TNM, Thủy NTT, Hòa TT. Tổng hợp vật liệu nano bạc và đánh giá khả năng kháng nấm *Pyricularia oryzae* gây bệnh đạo ôn trên lúa. Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học Tự nhiên. 2019;128(1C):69-76.
4. Tê LL, Mân VT. Bệnh vi khuẩn và virus hại cây trồng. Hà Nội (VN): Nhà xuất bản Giáo dục; 1999. 207 p.
5. Walters D, Newton A, Lyon G. Induced resistance for plant defence, 2nd ed. New Jersey (USA): Wiley-Blackwell; 2014. 331 p.
6. Kim PV. Các nguyên lý về bệnh hại cây trồng. Cần Thơ (VN): Trường Đại học Cần Thơ; 2000. 190 p.
7. Agrios GN. Plant Pathology. Massachusetts (US): Academic Press; 2005. p. 93-142.
8. Thủy TTT. Infection biology of *Bipolaris oryzae* in Mekong Delta of Vietnam [dissertation]. Copenhagen: The Royal Veterinary and Agricultural University. Department of Plant Biology. Plant Pathology section; 2002. 121 p.
9. Cương NC. Bước đầu đánh giá hiệu quả kích kháng lưu dẫn chống lại bệnh cháy lá lúa (*Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc) của một số dịch trích từ thực vật. Cần Thơ (VN): Trường Đại học Cần Thơ; 2002. 51 p.
10. Thiều NN. Khảo sát khả năng kích kháng lưu dẫn của một số loại dịch trích thực vật đối với bệnh đốm vằn do nấm *Rhizoctonia solani* Kuhn trên lúa. Cần Thơ (VN): Trường Đại học Cần Thơ; 2008. 40 p.
11. Vân NTK. Khảo sát kích thích tính kháng bệnh thán thư (*Colletotrichum sp.*) trên cây ớt của salicylic acid, clorua đồng và monopotassium phosphate trên khía cạnh mô học [luận văn]. Cần Thơ: Trường Đại học Cần Thơ. 2008. 82 p.
12. Châu LM. Khảo sát mô học khả năng kích kháng của một số hóa chất đối với bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum lagenarium* trên dưa leo (*Cucumis sativus L.*). Cần Thơ: Trường Đại học Cần Thơ. 2007. 66 p.
13. Bhumi G, Savithamma N. Biological synthesis of zinc oxide nanoparticles from *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. leaf extract and validation for antibacterial activity. International Journal of Drug Development and Research. 2014;6(1):208-214.
14. Jamdagni P, Khatri P, Rana JS. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using flower extract of *Nyctanthes arbor-tristis* and their antifungal activity. Journal of King Saud University – Science. 2016;30: 168-175.
15. Raut S, Thorat DPV, Thakre R. Green synthesis of zinc oxide (ZnO) nanoparticles using *Ocimum tenuiflorum* leaves. International Journal of Science and Research (IJSR). 2013;4/5:1225-1228.
16. Đệ NN. Giáo trình cây lúa. Cần Thơ: Trường Đại học Cần Thơ; 2008. 187 p.
17. Neergaard ED. Methods in botanical histopathology. Denmark: Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries; 1997. 191 p.
18. Châu HM. Sinh học về sự xâm nhiễm của nấm *Pyricularia grisea* trên lúa và khả năng kích thích tính kháng bệnh cháy lá lúa của cloarua đồng và acibenzolar-s-methyl trên khía cạnh mô học [luận văn]. Cần Thơ: Trường Đại học Cần Thơ; 2003. 79 p.
19. Koch M. Methods for assessing resistance to bacterial blight. In: International Rice Research Institute. Bacterial blight of rice: Proceedings of the International Workshop on bacterial blight of rice. Manila (Philippines): International Rice Research Institute; 1989. p. 114.