

ẢNH HƯỞNG CỦA LƯỢNG PHÂN ĐẠM TRÊN HOẠT TÍNH CỦA PHENYLALANINE AMMONIA-LYASE VÀ TRÊN HIỆU QUẢ KÍCH KHÁNG LƯU DẪN CHỐNG BỆNH CHÁY LÁ LÚA (*P. grisea*)

Trần Vũ Phấn¹ và Phạm Văn Kim¹

ABSTRACT

*Effect of nitrogen fertilizer quantities on the activity phenylalanine-ammonia-lyase (PAL) and on systemic acquired resistance (SAR) against rice blast disease was studied on rice cultivar OMCS 2000 (susceptible to blast disease). SAR induced by soaking and incubating the seeds with Sporothrix sp. (10^7 spores.ml⁻¹), acibenzolar-S-methyl (ASM) (300ppm) . Challenge by *P. grisea* (50000 fresh spores/ml) took place at 14-day after sowing. Disease severity was assessed at 7 days after challenging. Samples for PAL-activity estimation were collected at different times after inoculating. Either Sporothrix sp. or acibenzolar-S-methyl give rise the disease resistance of the rice. However, the higher nitrogen fertilizer applied (180N) the less disease was suppressed by the inducers. ASM treatments have demonstrated better results than Sporothrix sp. one. Time course of PAL activities overall increased in compared with control and related with SAR, their activities varied dependently with different inducers or nitrogen fertilizer amount, whenever lower nitrogen fertilizer but higher enzyme activity.*

Keywords: phenylalanine-ammonia-lyase, systemic acquired resistance (SAR), blast disease

Title: Effect of nitrogen fertilizer quantities on the activity of phenylalanine-ammonia-lyase and on the systemic acquired resistance against rice blast disease (*P. grisea*)

TÓM TẮT

Ảnh hưởng của lượng phân đạm trên hiệu quả kích kháng chống bệnh cháy lá (*Pyricularia grisea*) của hai tác nhân kích kháng, chủng nấm *Sporothrix sp.* (mật số 10^7 bào tử/ml), hoặc acibenzolar-S-methyl (Bion) (300ppm), xử lý bằng cách ngâm, ủ hạt, được khảo sát qua thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, trên giống lúa OMCS 2000, nhiễm bệnh cháy lá. Nấm gây bệnh cháy lá (mật số 50000 bào tử/ml) được chủng vào 14 ngày sau khi gieo. Chỉ tiêu đánh giá bao gồm mức độ nhiễm bệnh vào 7 ngày sau khi tấn công. Hoạt tính của phenylalanine ammonia-lyase (PAL) được phân tích theo phương pháp của Brueske (1980). Kết quả cho thấy *Sporothrix sp.* và acibenzolar-S-methyl đều cho hiệu quả kích kháng chống bệnh cháy lá lúa, tuy nhiên hiệu quả giảm bệnh ở mức phân N cao (180N) thường kém hơn so với các mức phân N thấp. Acibenzolar-s-methyl cho hiệu quả giảm bệnh cao hơn *Sporothrix*. Hoạt tính của PAL trong cây được kích kháng gia tăng và có liên quan đến sự thể hiện của hiệu quả kích kháng, diễn biến hoạt tính có khác nhau tùy theo tác nhân kích kháng và lượng phân đạm áp dụng.

Từ khóa: phenylalanine-ammonia-lyase (PAL), kích kháng (SAR), bệnh cháy lá

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Các kết quả nghiên cứu về tương tác giữa phân đạm (N) và mức độ cảm nhiễm của cây đối với mầm bệnh gây hại đã khẳng định lượng đạm hữu dụng cho cây có thể ảnh hưởng đến tính kháng của cây đối với tác nhân gây bệnh (Huber và

¹ Bộ Môn Bảo Vệ Thực Vật, Khoa Nông Nghiệp & SHƯD, Trường Đại Học Cần Thơ

Watson, 1974). Ảnh hưởng này có thể khác nhau tùy theo mầm bệnh chuyên biệt và có lẽ phụ thuộc vào sự khác nhau về nguồn dinh dưỡng cần thiết cho mầm bệnh hoặc sự nhạy cảm của mầm bệnh đối với các phản ứng kháng của cây chủ, hoặc bao gồm cả 2 nhân tố này (Hooland *et al.*, 2000). Đạm làm tăng mức độ trầm trọng của bệnh do các tác nhân như *Pyricularia oryzae*, *Phytophthora infestans*, *Erysiphe graminis* và *Puccinia* spp.. Tuy nhiên, cơ chế của sự thay đổi mức độ nhiễm bệnh do N tuy chưa được biết đầy đủ, nhưng thường được cho là có liên quan đến các thay đổi về dạng hình tăng trưởng của cây, vi khí hậu, cũng như các thay đổi về mặt giải phẫu và sinh lý học trong cây (Jensen và Munk, 1997).

Đối với bệnh cháy lá lúa (*Magnaporthe grisea*), phân đạm có ảnh hưởng rõ rệt đến phản ứng của cây đối với nấm bệnh và lượng phân đạm sử dụng thừa làm tăng mức độ trầm trọng của bệnh (Ou, 1985; Teng, 1994). Để đối phó với bệnh, bên cạnh các biện pháp thông thường, hiện nay các biện pháp nhằm giúp tăng cường khả năng phòng vệ của cây, như biện pháp kích thích tính kháng bệnh lưu dẫn (SAR) cũng được áp dụng (Manandhar *et al.*, 2000) và gần đây BIO-SAR3, một sản phẩm của Trường Đại Học Cần Thơ có hiệu quả trong quản lý bệnh cháy lá lúa theo cơ chế này đã đang được thử nghiệm rộng rãi (Phạm Văn Kim, thông tin nội bộ). Trong cây hình thành phản ứng SAR, bên cạnh sự gia tăng hoạt tính của nhiều protein có liên quan đến sự phát sinh bệnh (PRs), còn có các biểu hiện về mặt mô học, trong đó phenylalanine ammonia-lyase (PAL), enzyme khởi đầu cho con đường phenylpropanoid dẫn đến tạo ra nhiều hợp chất có chức năng phòng vệ cho cây khác nhau như phytoalexins và các phenolics khác liên quan đến sự lignin hóa (Wang *et al.*, 2004). PAL còn được cho là có liên quan đến sự gia tăng sinh tổng hợp SA, do đó, khả năng kích hoạt sự biểu hiện của PAL sẽ làm tăng tín hiệu SAR, và do đó làm tăng cường hoạt hóa gen phòng vệ (Cools và Ishii, 2002).

Tuy nhiên, hiệu quả biểu hiện của SAR trên cây cũng đôi khi biến động qua các vùng và mùa vụ, cho thấy SAR có thể bị tác động bởi điều kiện ngoại cảnh, trong đó có lượng phân đạm mà nông dân áp dụng. Do đó, trong nghiên cứu này, khảo sát về ảnh hưởng của lượng phân đạm trên sự biểu hiện của bệnh cháy lá được khảo sát thông qua sự biểu hiện của mức độ trầm trọng của bệnh, và qua hoạt tính của PAL trong cây được kích kháng. Chủng nấm *Sporothrix* sp. (được định danh bởi CABI BioScience, số đăng nhập 029/05), phân lập từ cỏ mần trầu (*Eleusine indica* L.), có khả năng kích thích hình thành tính kháng lưu dẫn chống lại bệnh cháy lá lúa (Trần Vũ Phấn và Phạm Văn Kim, 1999), được dùng làm tác nhân kích kháng có nguồn gốc sinh vật và acibenzolar-s-methyl (Bion 50WP, sản phẩm của Syngenta Vietnam Ltd.) được dùng làm tác nhân kích kháng là hóa chất.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Thí nghiệm

Thí nghiệm thừa số, 2 nhân tố (tác nhân kích kháng và liều lượng phân đạm) được thực hiện trong nhà lưới. Được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, với 4 lặp lại cho đánh giá bệnh và nhiều lặp lại cho thu thập mẫu khảo sát hoạt tính của enzyme, mỗi lặp lại là một chậu nhựa (10 x 12 cm), với 1 kg đất thịt pha sét, pH#6. Giống lúa dùng trong thí nghiệm có phản ứng tương hợp với chủng nấm *P.*

grisea dùng tần công (mã nội 103.4 theo Kiyasawa, 1984). Bón phân theo các mức của nghiệm thức, với công thức nền là công thức N-40-10, chia làm 3 lần bón.

2.2 Xử lý kích kháng và chủng nấm tần công

Hạt giống lúa đã xử lý ở 54°C, trong 15 phút, hong khô được ngâm và ủ trong dịch kích kháng là huyền phù bào tử của nấm *Sporothrix* sp. (10^7 bào tử/ml), hoặc dung dịch acibenzolar-s-methyl (ASM) (300 ppm a.i.). Hạt của nghiệm thức đối chứng được ngâm ủ với nước cất.

Nguồn bào tử nấm cháy lá dùng xử lý tần công được thu sau 10 ngày nuôi nhân trên môi trường oat meal agar, được chỉnh về mật số 50.000 bào tử/ml (nước cất có chứa 0,01% Tween 20, rồi phun trên toàn cây (3 ml/chậu) vào 15 ngày sau khi gieo, lúc lá thứ 5 vừa phát triển hoàn toàn.

2.3 Đánh giá bệnh

Mức độ nhiễm bệnh cháy lá được đánh giá vào 7 ngày sau khi tần công (NSKTC), trên lá thứ 5, theo phương pháp của Pinnschmidt *et al.* (1993), sau đó tính ra tỉ lệ diện tích nhiễm bệnh trên lá và hiệu quả giảm bệnh so với đối chứng.

2.5 Thu thập mẫu và ly trích enzyme

Mẫu được thu vào nhiều thời điểm khác nhau cho đến 7 ngày, tính từ sau khi xử lý tần công. Mẫu sau thu, được bảo quản ở -20 °C. Enzyme được ly trích bằng cách nghiền 0.2 gr. lá lúa, với dung dịch đệm là 100 mM Na-borate; pH 8.8, ở 4°C. Thu dịch trích protein thô sau khi ly tâm (máy ly tâm Hermle Labortechnik - Z 323 K) ở 10.000 rpm, trong 30 min, ở 4°C.

Hàm lượng protein trong dịch protein thô (nguồn enzyme) được ước lượng theo phương pháp của Bradford (1976).

2.6 Hoạt tính của enzyme Phenylalanine ammonia-lyase (PAL)

Xác định theo phương pháp của Brueske (1980) được mô tả bởi Sadasivam và Manickam (1996), với chất nền là L-Phenylalanine. Sau khi phản ứng, đo OD_{abs} của hỗn hợp ở bước sóng 290 nm. Sử dụng máy đo độ truyền quang Helios γ-UNICAM UV-Vis Spectrometry. Dựa trên đường chuẩn trans-cinnamic acid tính ra hoạt tính của PAL, thể hiện bằng μM trans-cinnamic acid/mg protein/phút.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Ảnh hưởng của các mức phân đạm lên hiệu quả kích kháng lên bệnh cháy lá qua triệu chứng bệnh

Tỉ lệ diện tích lá nhiễm bệnh (%): Kết quả trình bày ở Bảng 1 cho thấy trên giống nhiễm bệnh, ở các nghiệm thức được xử lý kích kháng bằng nấm *Sporothrix* sp. và acibenzolar-s-methyl đều có tỉ lệ diện tích lá bị nhiễm bệnh (%) thấp hơn so với đối chứng (xử lý nước cất) (8,12; 4,63 và 16,68 % theo thứ tự) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% so với đối chứng.

Hiệu quả này có tương tác với lượng phân đạm sử dụng, nhìn chung lượng phân N sử dụng càng cao thì cây càng nhiễm bệnh nặng hơn (Ou, 1985; Teng, 1994),

không kể có kích kháng hay không. Tuy nhiên, khi được xử lý kích kháng thì hiệu quả kích kháng vẫn thể hiện rõ và luôn thấp hơn có ý nghĩa so với đối chứng, mức độ ảnh hưởng do phân N cũng khác nhau tùy theo tác nhân kích kháng. Trừ ở mức phân 120 kg N/ha, ở các mức phân N còn lại tỉ lệ diện tích nhiễm bệnh của các nghiệm thức kích kháng với ASM hoặc *Sporothrix* sp. không khác biệt nhau.

Tỉ lệ diện tích lá bệnh của nghiệm thức kích kháng với nấm *Sporothrix* sp., ở mức đạm 20N thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê đối với 3 mức đạm còn lại. Mức đạm 180 kg N/ha, có tỉ lệ diện tích lá nhiễm bệnh cao nhất.

Hiệu quả giảm bệnh (%): Kết quả cho thấy ở mức phân đạm cao nhất (180kg /ha), hiệu quả giảm bệnh thấp nhất, và có khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các mức phân còn lại. Về tác nhân kích kháng, ASM cho hiệu quả giảm bệnh cao hơn so với *Sporothrix* sp. Có thể thấy có tương tác giữa mức phân và tác nhân kích kháng về hiệu quả giảm bệnh, hiệu quả giảm bệnh do ASM tương đối ổn định hơn so với *Sporothrix* sp.. Khi xử lý với ASM, trừ ở mức phân 180, hiệu quả giảm bệnh không khác biệt giữa các mức phân còn lại. Ở nghiệm thức xử lý kích kháng bằng nấm *Sporothrix* sp., hiệu quả giảm bệnh với mức đạm 20N cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% so với mức đạm 120N, 180N (Bảng 1).

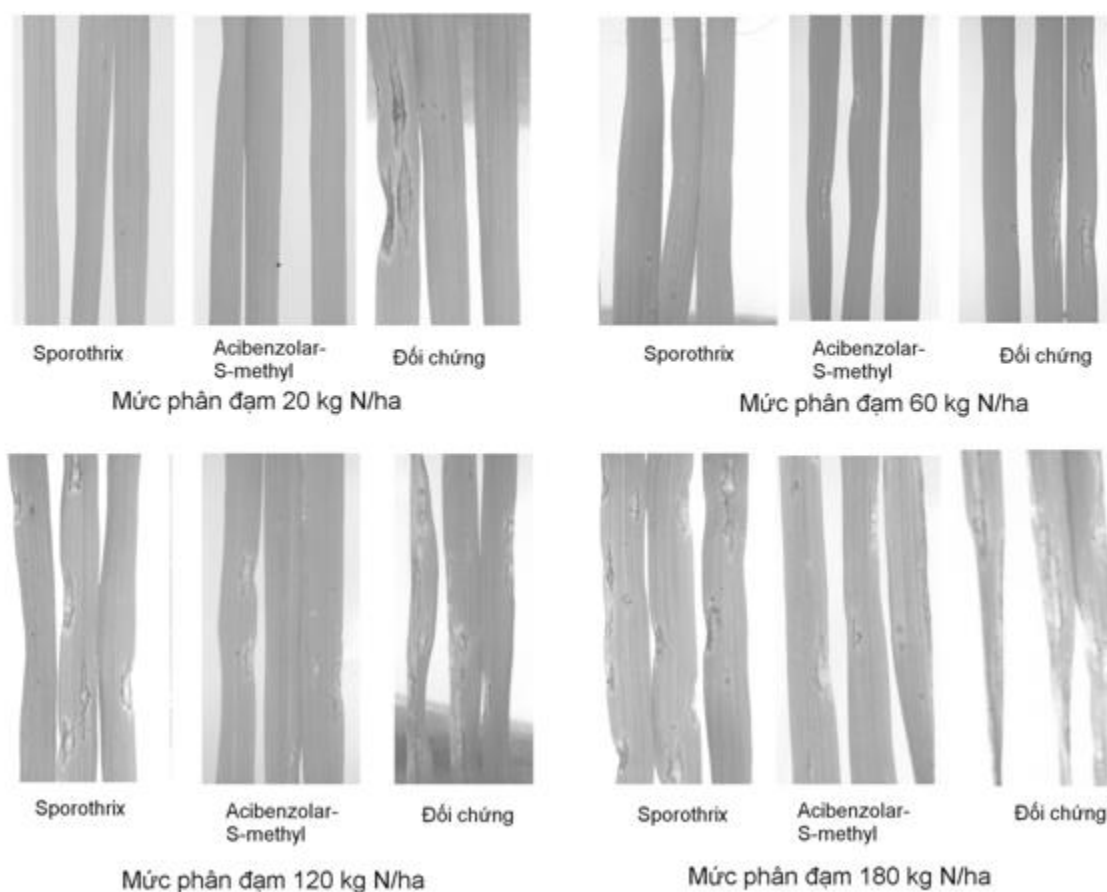
Bảng 1: Ảnh hưởng của các mức phân đạm lên hiệu quả kích kháng của các tác nhân kích kháng lên mức độ bệnh cháy lá. ĐHCT, 2006

Hiệu quả kích kháng	Tác nhân kích kháng	Mức phân đạm (kg N/ha)				Trung bình KK	CV (%)
		20	60	120	180		
Tỉ lệ diện tích lá nhiễm bệnh (%)	<i>Sporothrix</i> sp.	0.50 f	2.60 de	11.27 c	18.11 b	8.12 B	
	Acibenzolar-s-methyl	0.32 f	0.86 ef	4.19 d	13.14 bc	4.63 C	20.92
	Đối chứng	2.95 de	9.16 c	27.08 a	27.52 a	16.68 A	%
	Trung bình N	1.26 D	4.21 C	14.18 B	19.59 A	9.81	
Hiệu quả giảm bệnh so với đối chứng (%)	<i>Sporothrix</i> sp.	82.33 ab	68.42 bc	58.02 c	29.34 d	59.52 B	
	Acibenzolar-s-methyl	81.38 ab	88.80 a	83.14 ab	52.95 c	76.57 A	24.41
	Đối chứng	0.00 e	0.00 e	0.00 e	0.00 e	0.00 C	%
	Trung bình N	54.57 A	52.40 A	47.05 A	27.43 B	45.36	

Trong cùng chỉ tiêu, các số trung bình nghiệm thức được theo sau bởi cùng một (các) chữ thường giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5%, theo pháp thử DMRT. Số liệu được chuyển sang Arcsin(can x) khi phân tích thống kê. Mẫu tự chữ in hoa: Trung bình mức phân N (so theo hàng), trung bình tác nhân kích kháng (KK) so theo cột.

Qua các kết quả có thể thấy là đối với bệnh cháy lá lúa, tùy theo tác nhân kích kháng mà liều lượng phân đạm có ảnh hưởng khác nhau lên hiệu quả giảm bệnh. Nhìn chung, mức phân N càng cao thì hiệu quả giảm bệnh có khuynh hướng giảm và ngược lại, nói cách khác phân đạm có ảnh hưởng lên tính kích kháng lưu dẫn.

Acibenzolar-s-methyl là hợp chất kích kháng đã thương mại hóa, có hiệu quả đối với nhiều mầm bệnh trên nhiều loài cây đơn và song tử diệp, theo cơ chế SAR (Friedrich *et al.*, 1996; Görlach *et al.*, 1996) và trên lúa (Diệp Đông Tùng, 2000). Từ kết quả so sánh trên, có thể thấy là *Sporothrix* sp. cũng là một tác nhân kích kháng bệnh lưu dẫn chống bệnh cháy lá lúa triển vọng, có nguồn gốc vi sinh vật.



Hình 1: Triệu chứng bệnh cháy lá lúa của các nghiệm thức xử lý kích kháng ở các mức phân N khác nhau. ĐHCТ, 2006

3.2 Diễn biến hoạt tính của của phenylalanine ammonia-lyase (PAL)

Kết quả ở Bảng 2, Hình 2 và 3 cho thấy:

- Hoạt tính của PAL trong cây lúa được xử lý kích kháng với nấm *Sporothrix* sp. hoặc acibenzolar-s-methyl thường cao hơn khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng. Biểu hiện này được ghi nhận vào các thời điểm 8 giờ, 16 giờ, 24 giờ (chỉ với *Sporothrix* sp.), 36 giờ, 2 ngày sau khi chủng nấm tấn công (STC).
- Ở mức phân đạm 20 kg N/ha, hoạt tính của PAL cao hơn, khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% vào tất cả các thời điểm khảo sát (trừ thời điểm 8 giờ). Tương tự như vậy, hoạt tính của PAL ở mức phân đạm 60 kg N/ha cao hơn so với mức đạm 120 kg N/ha vào 36 giờ và 2 ngày STC, cao hơn mức phân 180 kg N/ha vào 8, 24, 36 giờ, 2 và 5 ngày STC. Mức phân 180 kg N/ha luôn có biểu hiện hoạt tính PAL thấp hơn.

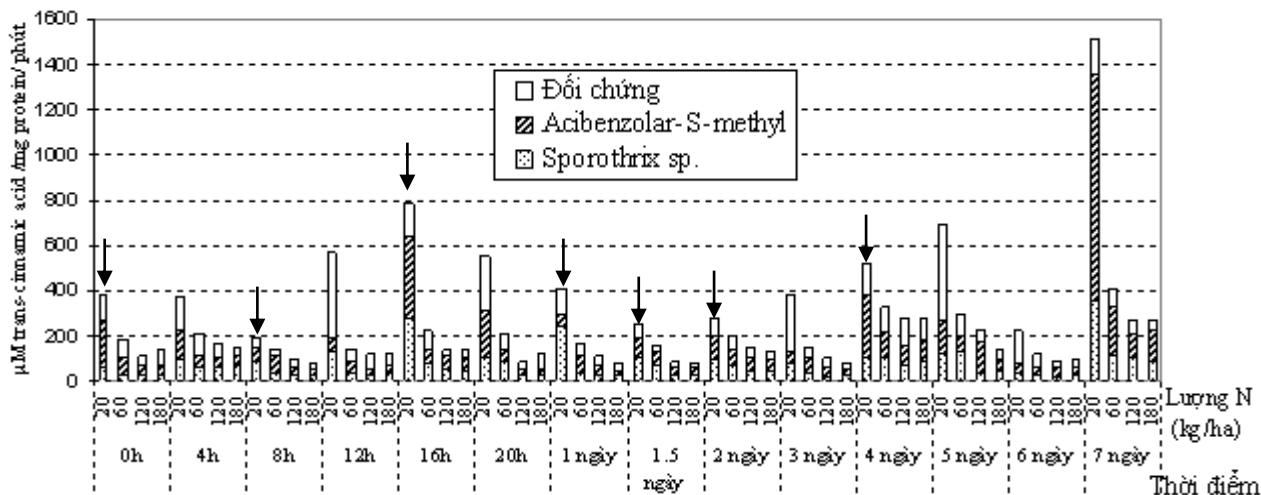
Trong các cây lúa được xử lý khác nhau, hoạt tính của PAL cũng thay đổi theo chiều hướng tương tự. Khác biệt có thể thấy rõ ở thời điểm 16 giờ STC, nghiệm thức xử lý với ASM, mức phân 20 kg N/ha có hoạt tính cao nhất, kể đến là ở nghiệm thức xử lý với *Sporothrix* sp., cao hơn khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng (360, 280.89 và 144.8 μM trans-cinnamic acid /mg protein/ phút, tương ứng). Ở thời điểm 24 giờ STC, hoạt tính của PAL ở nghiệm thức kích kháng với *Sporothrix* sp. đạt cao nhất ở mức phân 20 kg N/ha, còn ở thời điểm 4 ngày STC, hoạt tính của PAL đạt cao nhất ở nghiệm thức xử lý với acibenzolar-s-methyl. So

sánh hoạt tính theo thời gian còn cho thấy, hoạt tính của PAL có khuynh hướng tăng cao vào các thời điểm về sau.

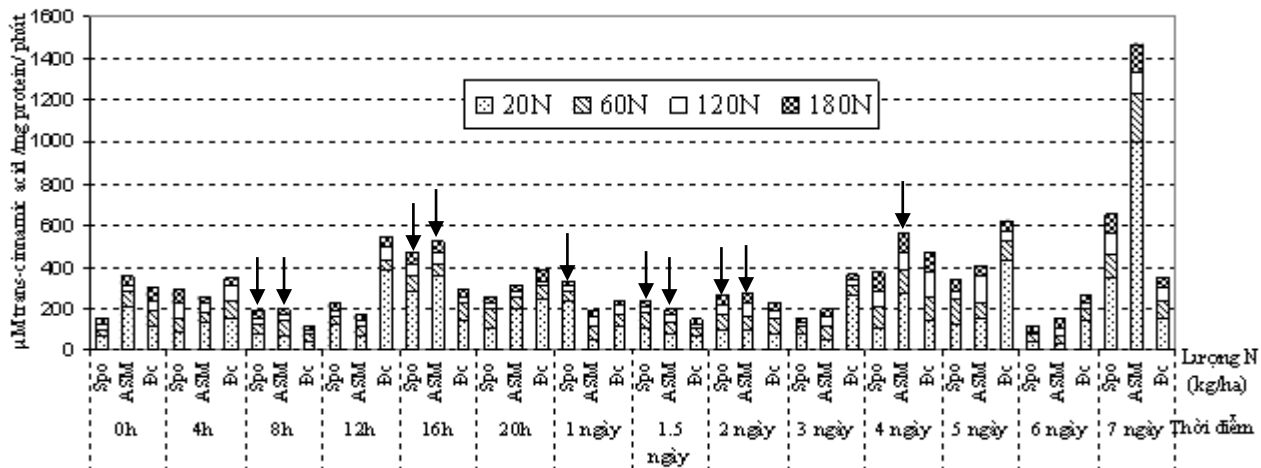
Bảng 2: Ảnh hưởng của lượng phân N (kg/ha) trên hoạt tính của phenylalanine ammonia-lyase ($\mu\text{M trans-cinnamic acid / mg protein/ phút}$) trong cây lúa thuộc giống nhiễm bệnh cháy lá được kích kháng (ĐHCT, 2006)

Thời điểm	Phân N (kg/ha)	<i>Sporothrix</i> sp.	Acibenzolar-S-methyl	Đối chứng	TB phân N
0 giờ	20	62.97 bc	206.67 a	116.51 b	128.7 A
	60	34.31 c	72.48 bc	77.82 bc	61.53 B
	120	30.20 c	39.86 c	42.54 c	37.53 B
	180	34.15 c	37.91 c	61.36 bc	44.47 B
	TB KK	40.41 B	89.23 A	74.56 A	68.06
8 giờ	20	85.17	63.18	41.75	63.36 A
	60	37.87	76.41	29.06	47.78 AB
	120	32.82	34.49	25.47	30.92 BC
	180	32.60	25.66	23.05	27.1 C
	TB KK	47.12 A	49.93 A	29.83 B	42.29
16 giờ	20	280.89 b	360.40 a	144.79 c	262.03 A
	60	79.70 d	57.51 d	89.16 cd	75.45 B
	120	57.71 d	51.32 d	24.63 d	44.55 B
	180	51.53 d	54.46 d	34.62 d	46.87 B
	TB KK	117.46 A	130.92 A	73.30 B	107.23
24 giờ	20	239.21 a	52.94 c	118.31 b	136.82 A
	60	43.99 c	66.87 c	54.20 c	55.02 B
	120	26.07 c	45.94 c	40.93 c	37.65 BC
	180	25.10 c	25.83 c	26.90 c	25.94 C
	TB KK	83.59 A	47.90 B	60.09 B	63.86
36 giờ	20	107.97	83.41	65.73	85.70 A
	60	72.75	51.46	38.86	54.36 B
	120	29.04	38.71	19.62	29.12 C
	180	32.14	28.71	21.46	27.44 C
	TB KK	60.48 A	50.57 A	36.42 B	49.15
2 ngày	20	96.38	101.07	84.12	93.86 A
	60	74.26	63.66	62.59	66.83 B
	120	46.75	55.80	47.90	50.15 C
	180	47.20	51.47	27.65	42.11 C
	TB KK	66.15 A	68.00 A	55.57 B	63.24
4 ngày	20	104.18 b	276.36 a	140.31 b	173.62 A
	60	106.36 b	106.51 b	113.42 b	108.76 B
	120	75.43 b	86.30 b	116.42 b	92.72 B
	180	86.65 b	94.23 b	100.68 b	93.85 B
	TB KK	93.16 B	140.85 A	117.71 AB	117.24

Trong cùng một thời điểm khảo sát, các số trung bình nghiệm thức được theo sau bởi cùng một (các) chữ (thường) giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5%, theo pháp thử DMRT. Mẫu tự chữ in hoa: Trung bình mức phân N (so theo cột), trung bình tác nhân kích kháng (KK) so theo hàng.



Hình 2: Diễn biến hoạt tính của PAL theo các mức phân N và tác nhân kích kháng trên giống nhiễm. ĐHCT, 2006



Hình 3: Diễn biến hoạt tính của PAL theo tác nhân kích kháng và mức phân N (20, 60, 120, 180 kg N/ha) trên giống nhiễm. ĐHCT, 2006

Ghi chú: ASM: Acibenzolar-S-methyl; Spo: *Sporothrix sp.*, Đc: Đôi chứng
 ↓ : Khác biệt có ý nghĩa thống kê

Như vậy, qua kết quả Bảng 3 và Hình 2, 3 cho thấy có tương tác có ý nghĩa giữa mức phân đạm và hoạt tính của PAL hình thành do tác động của các tác nhân kích kháng khác nhau và điều này có liên quan đến kết quả biểu hiện của hiệu quả kích kháng qua triệu chứng bệnh (Bảng 1).

Trong số các enzyme và PR-protein có liên quan đến phản ứng phòng vệ của cây, PAL xúc tác phản ứng khử amine chuyển L-phenylalanine thành trans-cinnamic acid, khởi đầu cho con đường phenylpropanoid, dẫn đến tổng hợp các hợp chất liên quan đến sự phòng vệ (lignin, phytoalexins,...), PAL cũng tham gia vào con đường sinh tổng hợp salicylic acid (Way *et al.*, 2002). PAL được cảm ứng gia tăng hoạt tính trong nhiều phản ứng kháng bệnh và sau khi xử lý với các chất kích kháng khác nhau. Ức chế hoạt tính của PAL làm giảm tính kháng bệnh của cây (Sticher *et al.*, 1997). Trên cà chua và đậu điều kiện thiếu đạm làm tăng đáng kể

hoạt tính của L-phenylalanine ammonia-lyase (PAL) (Bongue-Bartelsman và Phillips, 1995; Sánchez *et al.*, 2000), cùng theo đó là sự gia tăng hoạt động sinh tổng hợp và tích tụ các hợp chất phenolic (Dakora & Phillips, 1996). Sự gia tăng hoạt tính của PAL cũng được ghi nhận khi cây lúa bị xâm nhiễm bởi nấm gây bệnh cháy lá (Ouyang *et al.*, 1987), hoặc với *Clavibacter michiganensis* spp. *tesselarius* hoặc xử lý với chất môi glycoprotein từ *P. grisea* (Thieron *et al.*, 1995). Trong tương tác không tương hợp với *P. grisea*, hoạt tính này cao hơn một cách có ý nghĩa so với trong tương tác tương hợp, hoặc trong cây lúa được chủng tấn công với *P. grisea* sau khi xử lý kích kháng (Manandhar *et al.*, 2000). Kervinen *et al.* (1998), ghi nhận sự gia tăng nhanh hoạt tính của PAL vào 40 h sau khi chủng tấn công với nấm *Bipolaris sorokiniana* hoặc phun trên cây lúa mạch với $HgCl_2$, trùng với thời điểm triệu chứng biểu hiện và có liên quan đến sự tăng cường tính kháng trong cây đối với *B. sorokiniana*.

Trong khảo sát này, có thể thấy là sự gia tăng hoạt tính có ý nghĩa vào một số thời điểm của PAL trong cây lúa được kích kháng do xử lý với ASM hoặc nấm *Sporothrix* sp., so với đối chứng, là có liên quan đến sự biểu hiện của SAR.

Kết quả trên cho thấy phân đạm có ảnh hưởng đến hoạt tính enzyme PAL. Ở mức phân N càng thấp thì hoạt tính enzyme PAL càng cao và ngược lại, nói cách khác hoạt tính của PAL trong cây lúa được kích kháng có tương quan nghịch với mức phân N áp dụng. Không trùng hợp với Wiese *et al.* (2003) ghi nhận hiệu quả kích kháng do acibenzolar-s-methyl chống lại bệnh phần trắng (*Blumeria graminis* f.sp. *hordei*) trên cây lúa mạch không tương tác với tình trạng dinh dưỡng của cây mà chỉ ảnh hưởng bởi loại đất. Có thể do sự khác biệt trong tương tác giữa nấm gây bệnh cháy lá lúa và cây lúa, đặc biệt là tính nhạy cảm đối với nguồn N của *P. grisea* (Ou, 1985).

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Lượng phân đạm có ảnh hưởng đến hoạt tính của enzyme phenylalanine ammonia-lyase. Hoạt tính PAL thể hiện cao ở những mức phân đạm thấp và ngược lại.

Phân đạm có ảnh hưởng đến hiệu quả kích kháng khi xử lý kích kháng bằng *Sporothrix* sp và acibenzolar-s-methyl. Mức phân N càng cao tuy cây vẫn có biểu hiện kích kháng nhưng bệnh vẫn biểu hiện trầm trọng hơn.

Khi áp dụng biện pháp kích kháng ngoài thực tế cần phải sử dụng chỉ với lượng cần thiết cho nhu cầu của cây để tránh ảnh hưởng lượng phân N thừa lên hiệu quả kích kháng.

CẢM ƠN

Đề tài được thực hiện với sự giúp đỡ về kinh phí của cơ quan DANIDA-ENRECA, sự tham vấn về chuyên môn từ Department of Plant Biology (RVAU) và hướng dẫn về kỹ thuật từ Bộ môn Thực Vật học ứng dụng, bệnh hạt giống và công nghệ sinh học, Trường Đại Học Mysore (Ấn Độ). Các tác giả chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bongue-Bartelsman M and Phillips D A 1995 Nitrogen stress regulates gene expression of enzymes in the flavonoid biosynthetic pathway of tomato. *Plant Physiol. Biochem.* 33, 539–546.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Cools H.J., H. Ishii. 2002. Pre-treatment of cucumber plants with acibenzolar-S-methyl systemically primes a phenylalanine ammonia lyase gene (PAL1) for enhanced expression upon attack with a pathogenic fungus. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 61, 273-280.
- Dakora FD; Phillips DA. 1996. Diverse functions of isoflavonoids in legumes transcend antimicrobial definitions of phytoalexins. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 49(1):1-20.
- Diệp Đông Tùng. 2000. Khảo sát đặc tính kích kháng của hoá chất Bion 50 WG chống bệnh cháy lá lúa (*Pyricularia oryzae*). Luận án thạc sĩ Nông Học. Trường ĐH Cần Thơ.
- Friedrich L, K. Lawton, W. Reuss, P. Masner, N. Specker, M. G. Rella, B. Meier, S. Dincher, T. Staub, S. Uknes, J.P. Metraux, H. Kessmann and J. Ryals. 1996. A benzothiadiazole derivative induces systemic acquired resistance in tobacco. *Plant J.* 10(1):61–70.
- Görlach J., S. Volrath, G. Knauf-Beiter, G. Hengy, U. Beckhove, K.H. Kogel, M. Oostendorp, T. Staub, E. Ward, H. Kessmann, and J. Ryals. 1996. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *Plant Cell* 8: 629–643.
- Hoffland, E., M. J. Jeger and M. L. van Beusichem. 2000. Effect of nitrogen supply rate on disease resistance in tomato depends on the pathogen. *Plant and Soil* 218: 239–247.
- Huber DM, Watson RD. 1974. Nitrogen form and plant disease. *Annual Review of Phytopathology* 12: 139–155.
- Jensen B., and L. Munk. 1997. Nitrogen-induced changes in colony density and spore production of *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei* on seedlings of six spring barley cultivars. *Plant Pathology* 46, 191–202.
- Kervinen T., S. Peltonen, T. H. Teeri. and R. Karjalainen. 1998. Differential expression of phenylalanine ammonia-lyase genes in barley induced by fungal infection or elicitors. *New Phytol.* 139: 293-300.
- Kiyosawa, S. 1984. Establishment of differential varieties for pathogenicity test of rice blast fungus. *Rice Genet. Newsl.* 1:95-97.
- Manandhar, H.K., H.J. Lyngs Jorgensen, S.B. Mathur & V. Smedegaard-Petersen. 2000. Induced resistance against rice blast. In: Tharreau, D., M.H. Lebrun, N.J. Talbot & J.L. Nottoghem (Eds), *Advances in rice blast research*. Kluwer Academic Pubs, pp: 93-104.
- Ou, S.H.. 1985. *Rice diseases*, 2nd edn. Kew, UK: Common Wealth Mycological Institute. Part 3: 109-200.
- Ouyang, G.C., C. Y. Ying, M.H. Zhu and Y.L. Xue. 1987. Induction of disease resistance by spores and toxins of *Pyricularia oryzae* in rice and its relation to the phenylpropane pathway. *Plant Physiology Communication*, No. 4, 40-42.
- Pinnschmidt, H., Teng, P.S., Bonman, J.M., and Kranz, J. 1993. A new assessment key for leaf blast. *I.R.R.N.* 18(1): 45-46.
- Sadasivam, S., Manickam, A. 1996. *Biochemical methods*. New Age International Publishers, New Delhi. 2nd Ed. p: 136-137.
- Sánchez E, J.M. Soto, P.C. Garcia, L.R. López-Lefebvre, R.M. Rivero, J.M. Ruiz and L. Romero. 2000. Phenolic and oxidative metabolism as bioindicators of nitrogen deficiency in French bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv Strike). *Plant Biol.* 2, 272–277.

- Sticher L., B. Mauch-Mani, and J.P. Métraux. 1997. Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 1997. 35:235–70.
- Stout, M. J., Brovont, R. A., and Duffey, S. S. 1998. Effect of nitrogen availability on expression of constitutive and inducible chemical defenses in tomato, *Lycopersicon esculentum*. *J. Chem. Ecol.* 24:945-963.
- Teng PS. 1994. The epidemiological basis for blast management. In: Zeigler RS, Leong SA, Teng PS, eds. *Rice blast disease*. Wallingford, UK: CAB International, 409–433.
- Thieron, M., U. Schaffrath, H.J. Reisener & H. Scheinpflug 1995. Systemic acquired resistance in rice: studies on the mode of action of diverse substances inducing resistance in rice to *Pyricularia oryzae*. 47th Inter.Symp. on crop protection, Belgium, 9 May, 60(2b): 421-429.
- Tran Vu Phen & Pham Van Kim. 1999. Ability of induced resistance induction of some herbaceous fungal isolates against rice blast disease *Pyricularia oryzae*. Proceeding of the 2nd Workshop of DANIDA - ENRECA PROJECT.
- Van den Ackerveken, G. F. J. M. , R. M. Dunn, A. J. Cozijnsen, J. P. M. J. Vossen, H. W. J. Van den Broek, P. J. G. M. De Wit. 1994. Nitrogen limitation induces expression of the avirulence gene *avr9* in the tomato pathogen *Cladosporium fulvum*. *Mol Gen Genet* (1994) 243:277-285.
- Wang Y.C., D.W. Hu, Z.G. Zhang, Z.C. Ma, X.B. Zheng, D.B. Li. 2003. Purification and immunocytolocalization of a novel *Phytophthora boehmeriae* protein inducing the hypersensitive response and systemic acquired resistance in tobacco and Chinese cabbage. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 63 (4): 223-232.
- Way. H. M., K. Kazan, N. Mitter, K. C. Goulter, R. G. Birch and J. M. Manners. 2002. Constitutive expression of a phenylalanine ammonia-lyase gene from *Stylosanthes humilis* in transgenic tobacco leads to enhanced disease resistance but impaired plant growth. *Physiological & Molecular Plant Pathology* 60: 275-282.
- Wiese J., M.M.K. Bagy, and S. Schubert. 2003. Soil properties, but not plant nutrients (N,P,K) interact with chemically induced resistance against powdery mildew in barley. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 166: 379-384.