



DOI:10.22144/ctu.jvn.2018.136

HIỆU QUẢ GIẢM BỆNH VÀ CƠ CHẾ KÍCH KHÁNG LIÊN QUAN ĐẾN ENZYME PHENYLALANINE AMMONIA-LYASE VÀ POLYPHENOL OXIDASE ĐỐI VỚI BỆNH CHÁY BÌA LÁ LÚA KHI PHUN QUA LÁ VỚI DỊCH TRÍCH LÁ SỐNG ĐỜI

Nguyễn Thị Thu Hương, Lâm Tấn Hào và Nguyễn Đắc Khoa*

Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Đắc Khoa (email: ndkhoa@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 02/03/2018

Ngày nhận bài sửa: 27/04/2018

Ngày duyệt đăng: 29/10/2018

Title:

Effects of foliar spraying of *Kalanchoe pinnata* leaf extract on rice bacterial leaf blight involving phenylalanine ammonia-lyase and polyphenol oxidase activities in induced resistance

Từ khóa:

Cháy bìa lá, *Kalanchoe pinnata*, kích kháng, lúa, sống đời, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Keywords:

Bacterial leaf blight, induced resistance, *Kalanchoe pinnata*, life plant, rice, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

ABSTRACT

Bacterial leaf blight of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) is a destructive disease which constrains the production of this staple crop in many rice-cultivation regions. This study aims at testing for the disease-reducing effects and demonstrating the involvement of induced resistance in the observed effects of an aqueous leaf extract of *Kalanchoe pinnata* (life plant) using foliar spraying. A total of six concentrations (1, 2, 3, 4, 5 and 10% [w/v]) of the plant extract were sprayed at 14 or 7 days before inoculation. Under greenhouse conditions, 1% at 14 days before inoculation was the lowest concentration at which the extract showed the disease-reducing effects similar to those of the chemical control at all assessment time points (7, 14, and 21 days after inoculation). Induction of systemic resistance was shown by the increased accumulation of the two enzymes phenylalanine ammonia-lyase and polyphenol oxidase following foliar spraying with the *K. pinnata* extract and challenge inoculation with *Xoo*.

TÓM TẮT

Bệnh cháy bìa lá lúa do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) gây ra là một trong những nguyên nhân chính gây thiệt hại về năng suất và kinh tế. Đề tài được thực hiện nhằm khảo sát hiệu quả giảm bệnh và cơ chế kích thích tính kháng bệnh (kích kháng) liên quan đến enzyme phenylalanine ammonia-lyase và polyphenol oxidase của dịch trích lá sống đời (*Kalanchoe pinnata*) bằng biện pháp phun qua lá đối với bệnh cháy bìa lá lúa. Dịch trích lá sống đời được khảo sát ở các nồng độ 1, 2, 3, 4, 5 và 10% (w/v) bằng phương pháp phun qua lá tại thời điểm 7 và 14 ngày trước chủng bệnh. Hiệu quả giảm bệnh được đánh giá thông qua khả năng làm giảm chiều dài vết bệnh trên lá. Trong điều kiện nhà lưới, nghiệm thức phun dịch trích 1% tại 14 ngày trước chủng bệnh thể hiện hiệu quả giảm bệnh đến 21 ngày sau chủng bệnh. Cơ chế kích kháng có liên quan đến khả năng giảm bệnh cháy bìa lá lúa của dịch trích lá sống đời. Điều này được chứng minh thông qua khảo sát hoạt tính enzyme phenylalanine ammonia-lyase và polyphenol oxidase. Khi cây lúa được phun dịch trích và được chủng bệnh với vi khuẩn *Xoo*, hoạt tính hai enzyme tăng, trong đó phenylalanine ammonia-lyase tăng tại thời điểm 2 ngày sau chủng bệnh, còn polyphenol oxidase tăng tại 4 ngày sau chủng bệnh.

Trích dẫn: Nguyễn Thị Thu Hương, Lâm Tấn Hào và Nguyễn Đắc Khoa, 2018. Hiệu quả giảm bệnh và cơ chế kích kháng liên quan đến enzyme phenylalanine ammonia-lyase và polyphenol oxidase đối với bệnh cháy bìa lá lúa khi phun qua lá với dịch trích lá sống đời. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 54(7B): 13-21.

1 GIỚI THIỆU

Bệnh cháy bìa lá lúa (hay còn gọi là bệnh bạc lá) do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) gây ra, là một trong những tác nhân tàn phá nghiêm trọng cho cả vùng trồng lúa nhiệt đới và ôn đới, đặc biệt khu vực Châu Á (Ou, 1985). Ở Nhật Bản, ước tính bệnh cháy bìa lá lúa gây thiệt hại từ 20% đến 50% tổng diện tích trồng lúa và trên 75% ở khu vực ở Đông Nam Á (Reddy *et al.*, 1979; Ou, 1985; Son, 1993). Riêng Việt Nam, bệnh xuất hiện thường xuyên và gây thiệt hại đặc biệt nghiêm trọng vào mùa mưa, là nguyên nhân làm giảm năng suất từ 25-65% (Son, 1993). Mặt khác, nhiệt độ cao do tác động của biến đổi khí hậu đã góp phần làm cây lúa dễ mắc cảm với vi khuẩn *Xoo* và tạo môi trường thuận lợi để mầm bệnh này phát triển (Webb *et al.*, 2010).

Để quản lý bệnh cháy bìa lá lúa, nông dân thường phun thuốc hóa học ngừa bệnh 3-4 lần/vụ, chủ yếu bằng hỗn hợp Bordeaux, nickel, dung dịch chlorine (Mizukami and Wakimoto, 1969; Chand *et al.*, 1979; Khan *et al.*, 2012). Nhưng thuốc hóa học có giá thành khá cao (Fawcett and Spencer, 1970), dễ tích tụ gây ô nhiễm môi trường, đồng thời ảnh hưởng đến sức khỏe nông dân và người tiêu dùng (Schantz *et al.*, 2001). Lai tạo giống lúa mang gen *Xoo* cũng là một biện pháp để quản lý bệnh cháy bìa lá (Bhasin *et al.*, 2012), nhưng việc canh tác các giống kháng dễ phá vỡ tính kháng do quần thể vi khuẩn dễ đột biến, làm xuất hiện chủng vi khuẩn mới có độc tính cao hơn (Khoa, 2005; Webb *et al.*, 2010). Mặc khác, lai tạo thành công một giống kháng tốn nhiều thời gian và chi phí dẫn đến giá thành sản xuất cao (Khoa *et al.*, 2011). Sử dụng vi sinh vật đối kháng để quản lý bệnh cháy bìa lá như vi khuẩn *Bacillus stratosphericus* và *B. safensis* (Võ Thị Phương Trang, 2013), *B. aerophilus* (Nguyễn Đặng Ngọc Giàu, 2014), xạ khuẩn *Streptomyces toxytricini* (Phuong Hoa *et al.*, 2014) đang được quan tâm. Tuy nhiên, việc phát tán số lượng lớn vi sinh vật dễ làm thay đổi quần thể vi sinh vật bản địa hoặc chúng có thể bị biến đổi di truyền trở thành vi sinh vật gây hại (Duffy *et al.*, 2003; Kado, 2009). Gần đây, kích thích tính kháng bệnh trên cây lúa (gọi tắt là kích kháng) là phương pháp giúp cây lúa bị nhiễm bệnh có khả năng kháng được bệnh ở một mức độ nào đó sau khi được xử lý bằng tác nhân kích kháng (Kloepper *et al.*, 1992), được xem là phương pháp quản lý bệnh hại trên cây trồng hiệu quả, bền vững và thân thiện với môi trường (Walters *et al.*, 2014). Các tác nhân kích kháng không tác động trực tiếp lên mầm bệnh mà chỉ tạo ra các tín hiệu giúp kích thích cơ chế tự vệ có sẵn trong thực vật như sự tăng tích lũy các hợp chất phenol, các phytoalexin và sự tăng

hoạt tính các protein liên quan đến quá trình phát sinh bệnh (pathogenesis-related proteins) hoặc các enzyme (peroxidase, polyphenol oxidase, phenylalanine ammonia-lyase...) nhằm ngăn chặn sự phát triển của mầm bệnh (Vidhyasekaran *et al.*, 1997; van Loon *et al.*, 1998). Các tác nhân kích kháng có thể là vi sinh vật, chất hóa học, dịch trích thực vật. Quản lý bệnh bằng việc sử dụng tác nhân kích kháng có nguồn gốc tự nhiên như dịch trích thực vật sẽ lợi thế như phương pháp thực hiện đơn giản, tận dụng nguồn tài nguyên tại chỗ và ít tích tụ các hóa chất gây độc cho con người và động vật. Ở Việt Nam, khảo sát dịch trích cỏ hôi (*Eupatorium odoratum*) (Trần Thị Thu Thủy và Hans Jorgen Lyng Jorgensen, 2016), húng quế (*Ocimum basilicum*), sống đời (*Kalanchoe pinnata*) (Khoa *et al.*, 2017) bằng phương pháp ngâm hạt, bước đầu đã có hiệu quả trên bệnh cháy bìa lá, đốm nâu và đốm vằn. Tuy nhiên, dưới áp lực bệnh ngày càng cao, xử lý dịch trích thực vật xa thời điểm cây lúa nhạy cảm nhất với bệnh làm cơ chế kích kháng của cây ít phát huy tác dụng hoặc không kích thích tính kháng kịp thời với mầm bệnh. Do đó, đề tài được thực hiện nhằm khảo sát hiệu quả giảm bệnh và cơ chế kích kháng liên quan đến enzyme phenylalanine ammonia-lyase (PAL) và polyphenol oxidase (PPO) của dịch trích lá sống đời bằng biện pháp phun qua lá đối với bệnh cháy bìa lá lúa, là cơ sở để ứng dụng vào thực tế phòng trị bệnh một cách hiệu quả, kinh tế, thân thiện với môi trường và thuận tiện cho người nông dân.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Khảo sát hiệu quả giảm bệnh cháy bìa lá của dịch trích lá sống đời bằng phương pháp phun qua lá trong điều kiện nhà lưới

Các thí nghiệm được thực hiện theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại và mỗi cây lúa tương đương một lần lặp lại. Thí nghiệm được thực hiện trên giống lúa Jasmine 85 (Trung tâm Nghiên cứu và Sản xuất giống, An Giang). Đất trồng lúa được thu trong khuôn viên Khu II, Trường Đại học Cần Thơ đã qua xử lý với vôi bột (Ca(OH)_2) sau khi đã phơi khô, chuyển 2 kg đất vào chậu (16 x 16 x 14 cm^3) và ngâm trong nước 7 ngày trước khi gieo. Hạt giống được xử lý 3 sôi 2 lạnh (50-55°C) để hạn chế mầm bệnh tiềm ẩn trên hạt (Khoa, 2005). Mỗi cây lúa trong một chậu tương đương một lần lặp lại, được chăm sóc và bón phân theo Khoa *et al.* (2017).

Vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (XCT-13) được phân lập bởi nhóm Nghiên cứu Bệnh cây, Phòng Sinh học Phân tử, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học. Vi khuẩn *Xoo* được nuôi tăng sinh trên môi trường

Wakimoto cải tiến (20 g sucrose; 5 g peptone; 5 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 0,82 g Na_2HPO_4 ; 0,05 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ và 15 g agar, nước cất vừa đủ 1000 mL, pH 7,0) và ủ ở nhiệt độ $28 \pm 2^\circ\text{C}$ (Karganilla *et al.*, 1973). Huyền phù vi khuẩn được chuẩn bị gồm vi khuẩn đã qua 2 ngày nuôi cấy và hòa tan trong 10 mL nước cất thanh trùng để tạo mật số 2×10^9 CFU/mL (Khoa, 2005).

Thí nghiệm bao gồm 12 nghiệm thức được xử lý kích kháng. Nguồn kích kháng sống đời (*K. pinnata*) ở dạng tươi, được thu vào buổi chiều mát và nghiền bằng máy xay sinh tố, lọc và pha đúng nồng độ (nồng độ dịch trích = khối lượng lá/thể tích nước dùng ly trích), dịch trích được khảo sát ở các nồng độ 1, 2, 3, 4, 5 và 10% bằng phương pháp phun qua lá lần lượt tại thời điểm 14 và 7 ngày trước chủng bệnh (NTCB). Đối chứng dương được xử lý bằng thuốc hóa học Staner 20 WP (1 mg/mL, hoạt tính oxolinic acid 20% của tập đoàn Sumitomo Chemical Co., Ltd, Osaka, Nhật Bản), được phun vào 3, 5 và 7 NTCB và đối chứng âm phun nước cất thanh trùng. Chủng bệnh vào thời điểm 45 ngày sau khi gieo (NSKG), bằng phương pháp cắt chóp lá (Kauffman *et al.*, 1973) có tâm huyền phù vi khuẩn *Xoo* mật số 2×10^9 CFU/mL. Trước khi chủng bệnh, khử trùng kéo bằng cùn 70° và cắt tại vị trí cách chóp lá 2-3 cm của tất cả lá trưởng thành (Khoa *et al.*, 2017). Chỉ tiêu được ghi nhận bằng cách đo chiều dài vết bệnh tính từ vị trí cắt đến vết lan cuối cùng trên lá qua 3 thời điểm 7, 14 và 21 ngày sau chủng bệnh (NSCB). Xử lý số liệu và chọn ra nghiệm thức có nồng độ dịch trích lá sống đời thấp nhất nhưng cho hiệu quả giảm bệnh tương đương nghiệm thức đối chứng dương.

2.2 Khảo sát hoạt tính enzyme trong mô lá lúa

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên 3 lần lặp lại, gồm 4 nghiệm thức: (1) phun dịch trích lá sống đời, có chủng bệnh; (2) phun dịch trích, không chủng bệnh; (3) phun nước vô trùng, có chủng bệnh và (4) phun nước vô trùng, không chủng bệnh. Chuẩn bị đất, gieo hạt, chuẩn bị mầm bệnh và chủng bệnh được thực hiện tương tự thí nghiệm thứ nhất. Nồng độ dịch trích sống đời được chọn từ thí nghiệm trên là 1% phun tại 14 NTCB (nồng độ thấp nhất nhưng cho hiệu quả giảm bệnh kéo dài đến 21 NSCB).

Các cặp nghiệm thức được thực hiện nhằm so sánh hoạt tính của enzyme khi chỉ có mầm bệnh (nước, chủng bệnh và nước, không chủng bệnh) và chỉ có mật của dịch trích (dịch trích, không chủng bệnh và nước, không chủng bệnh). Tính kích kháng của dịch trích còn được so sánh thông qua cặp nghiệm thức (nước, không chủng bệnh) và (dịch trích, không chủng bệnh). Hoạt tính của enzyme

được xác định thông qua độ hấp thụ quang phổ của sản phẩm sinh ra hay lượng cơ chất mất đi trong đơn vị thời gian dưới sự xúc tác của enzyme cần khảo sát bằng máy đo chỉ số hấp thụ quang phổ Thermo Scientific™ GENESYS™ 10S UV-Vis.

2.2.1 Chuẩn bị mẫu lá và ly trích enzyme

Mẫu lá được thu và ngâm trong Nitơ lỏng ngay sau khi chủng vi khuẩn *Xoo* (45 NSKG), tiếp tục thu tại các thời điểm cách nhau 24 giờ trong 7 NSCB và được trữ lạnh -80°C . Trích enzyme thô: Cắt nhuyễn và cân 0,1 g mẫu lá cho vào ống Eppendorf vô trùng, có chứa bi sắt đã khử trùng. Ngâm cả ống Eppendorf có chứa mẫu vào Nitơ lỏng 5 phút, tiếp theo nghiền thành bột mẫu lá bằng máy nghiền Retsch MM200 với vận tốc 27 dao động/giây và được lặp lại 3 lần. Cho vào mỗi ống Eppendorf 1,5 mL dung dịch đệm borate 0,1 M, pH 8,7 khi ly trích enzyme PAL hoặc dung dịch đệm Na-P 0,1 M, pH 6,5 nếu ly trích enzyme PPO, trộn thật đều. Ly tâm lạnh hỗn hợp ở 4°C với tốc độ 10.000 vòng/phút trong 30 phút. Thu dịch lỏng bên trên và tiến hành thí nghiệm khảo sát hoạt tính enzyme.

2.2.2 Khảo sát hoạt tính enzyme phenylalanine ammonia-lyase (PAL)

Hoạt tính enzyme PAL được thể hiện thông qua sự thay đổi giá trị hấp thụ quang phổ (hay còn gọi là mật độ quang) ở bước sóng 290 nm (ký hiệu $\text{OD}_{290\text{nm}}$) của nồng độ sản phẩm *trans*-cinnamic acid trong phản ứng tách nhóm NH_2 từ L-phenylalanine dưới sự xúc tác của enzyme PAL. Giá trị này có chiều hướng gia tăng theo thời gian phản ứng (Sadasivam and Manickam, 1996). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, bao gồm mẫu đối chứng (blank) và mẫu khảo sát. Mẫu đối chứng (blank) được đo ở bước sóng 290 nm và chỉnh về 0 gồm 0,7 mL dung dịch đệm borate 0,1 M pH 8,7; 1 mL dung dịch L-Phe 1,0 M và 0,15 mL nước cất. Hỗn hợp phản ứng ở mỗi lần đo gồm 0,5 mL dung dịch đệm borate 0,1 M, pH 8,7; 1 mL dung dịch L-Phe 0,1 M; 0,15 mL nước cất và 0,2 mL dung dịch enzyme. Phản ứng được tiến hành ở nhiệt độ 37°C trong 40 phút, sau đó dừng phản ứng bằng 0,2 mL dung dịch HCl 5,0 N.

2.2.3 Khảo sát hoạt tính enzyme PPO

Hoạt tính enzyme PPO được thể hiện thông qua sự thay đổi giá trị hấp thụ quang phổ ($\text{OD}_{490\text{nm}}$) của nồng độ sản phẩm benzoquinone sinh ra từ phản ứng chuyển hóa catechol dưới sự xúc tác của enzyme PPO. Giá trị này có chiều hướng gia tăng theo thời gian phản ứng (Mayer *et al.*, 1966; Nisha *et al.*, 2012). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, bao gồm mẫu đối chứng (blank) và mẫu khảo sát. Mẫu đối chứng (blank) tại giá trị $\text{OD}_{490\text{nm}}$ được điều

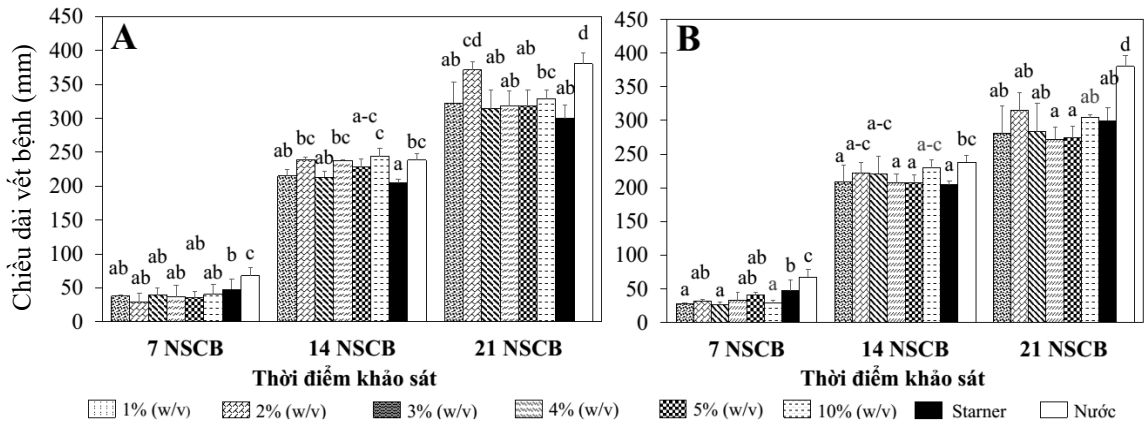
chính về 0 gồm 1,75 mL dung dịch catechol 0,2 M và 0,15 mL dung dịch đệm Na-P 0,1 M, pH 6,5. Mẫu khảo sát gồm hỗn hợp 1,75 mL dung dịch catechol 0,2 M và 0,15 mL dung dịch enzyme được pha loãng 2 lần trong dung dịch đệm Na-P 0,1 M, pH 6,5. Giá trị OD_{490nm} được ghi nhận từ lúc bắt đầu phản ứng đến 2 phút và mỗi 30 giây ghi nhận một lần.

2.3 Xử lý số liệu

Phần mềm thống kê IBM SPSS 22.0 phân tích phương sai 1 chiều (One-way ANOVA), kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 5% được sử dụng để so sánh các trung bình nghiệm thức khảo sát hiệu quả giảm bệnh trong nhà lưới.

Giá trị đo OD được trình bày dưới dạng biểu đồ bằng phần mềm Microsof Excel 2013, thể hiện sự thay đổi hoạt tính enzyme của 4 nghiệm thức từ 0 đến 7 NSCB.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN



Hình 1: Chiều dài vết bệnh cháy bìa lá (mm) trên giống lúa Jasmine 85 An Giang tại 3 thời điểm 7, 14 và 21 ngày sau chủng bệnh (NSCB) khi phun dịch trích lá sống đời (*Kalanchoe pinnata*) ở các nồng độ 1, 2, 3, 4, 5 và 10% (w/v) và được xử lý dịch trích ở 2 thời điểm A: vào 7 NTCB và B: vào 14 NTCB. Đối chứng dương: Phun thuốc hóa học Starnier 20 WP tại 3, 5 và 7 NSCB. Đối chứng âm: Phun nước cất

Trong cùng một thời điểm, các cột được ký hiệu bởi một hay nhiều chữ cái giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa ở mức 5% qua kiểm định Duncan.

Như vậy, qua 3 thời điểm khảo sát, tất cả các nghiệm thức được xử lý tại 14 NTCB và 1%, 3% và 5% tại 7 NTCB cho hiệu quả giảm bệnh bền vững và duy trì đến 21 NSCB. Theo tiêu chí tiết kiệm nguyên liệu và thời điểm cách xa chủng bệnh thì việc xử lý dịch trích, nồng độ 1% tại 14 NTCB được xác định là nghiệm thức phù hợp nhất và được áp dụng cho thí nghiệm tiếp theo. So với phương pháp ngâm hạt cần nồng độ 1,5% (Khoa et al., 2017), phương pháp phun qua lá đời nồng độ thấp hơn (1%). Có thể do phun dịch trích sống đời gần thời điểm chủng bệnh hơn nên chỉ cần

3.1 Hiệu quả giảm bệnh cháy bìa lá lúa trong điều kiện nhà lưới của dịch trích lá sống đời

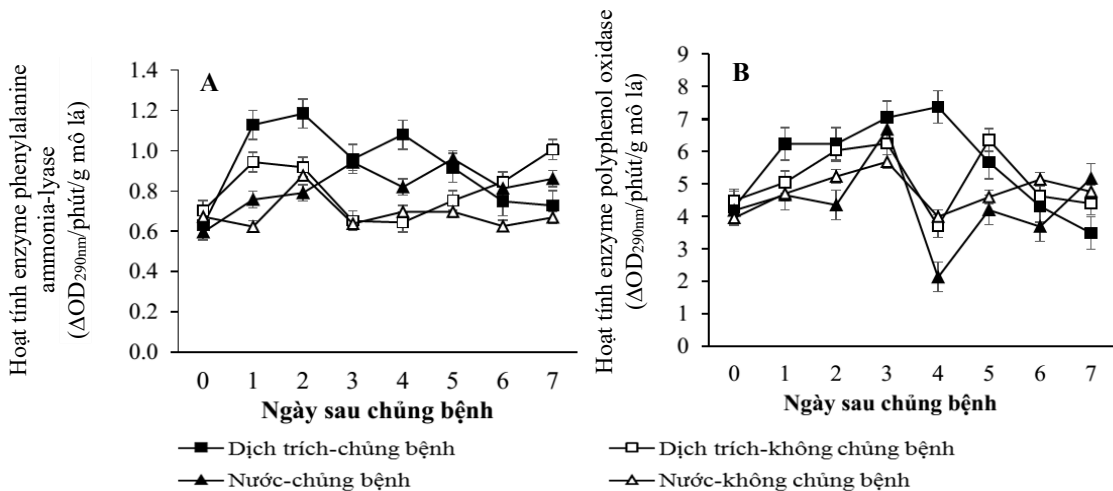
Qua 3 thời điểm khảo sát, tại 7 NSCB, tất cả nghiệm thức được xử lý dịch trích lá sống đời ở hai thời điểm 7 và 14 NTCB đều có chiều dài vết bệnh tương đương nghiệm thức phun thuốc Starnier 20 WP và khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng âm (phun nước cất thanh trùng). Sau 14 ngày chủng bệnh, hiệu quả giảm bệnh thể hiện rõ khi được xử lý dịch trích 14 NTCB. Trong đó, phun dịch trích nồng độ 1%, 4% và 5% có chiều dài vết bệnh ngắn nhất và tương đương nghiệm thức phun thuốc hóa học. Đến 21 NSCB, chiều dài vết bệnh các nghiệm thức được xử lý dịch trích tại thời điểm 14 NTCB ngắn hơn 7 NTCB và tương đương nghiệm thức xử lý thuốc hóa học. Chỉ riêng phun dịch trích 2% được xử lý 7 NTCB có chiều dài vết bệnh khác biệt không có ý nghĩa so với đối chứng âm (Hình 1).

lượng nhỏ dịch trích để tạo tín hiệu phân tử kích hoạt cơ chế kháng bệnh của cây. Tuy nhiên, khi xử lý với nồng độ cao, sự kích kháng lại không hiệu quả nữa, có khả năng tính kích kháng phụ thuộc rất lớn vào nồng độ tác nhân kích kháng. Rất có thể khi xử lý với nồng độ cao, các chất kích kháng có thể kích hoạt nhiều cơ chế kháng bệnh trên cây trồng, các cơ chế này lại điều hòa lẫn nhau, do đó cây lúa có thể kháng nhiều mầm bệnh nhưng sự đề kháng đặc hiệu với *Xoo* sẽ giảm (Handelsman and Stabb, 1996).

3.2 Cơ chế kích thích tính kháng bệnh cháy bìa lá lúa của dịch trích lá sống đời

Hoạt tính enzyme PAL: Ở trạng thái sinh lý bình thường (nước - không chủng bệnh), hoạt tính PAL luôn giữ ở mức thấp nhất và dao động quanh mức 0,7-0,9. Có mặt mầm bệnh, giá trị hấp thụ quang phổ tăng đều đến 3 NSCB và giảm từ 4 NSCB. Nguyên nhân làm hoạt tính enzyme PAL tăng liên quan mật thiết đến cơ chế xâm nhiễm của vi khuẩn *Xoo*, chúng bắt đầu nhân mật số và di chuyển đến các mô lân cận sau khoảng 2-4 ngày nhiễm bệnh (Leach *et al.*, 1989; Vidhyasekaran, 1998). Các enzyme trực tiếp tham gia vào cơ chế ngăn chặn vi sinh vật ký sinh sống trong cây được thực hiện như peroxide hoặc catalase (Khoa *et al.*, 2017) sẽ được kích hoạt, cũng là nguyên nhân giảm hoạt tính PAL tại 4 NSCB. Khi chỉ phun dịch trích, hoạt tính enzyme PAL tăng nhanh đến ngày thứ hai, nhưng giảm xuống mức thấp tương đương nước, không chủng bệnh từ ngày khảo sát thứ 3 (Hình 2A). Ở trường hợp này, có thể thấy dịch

trích là nguyên nhân thay đổi nồng độ enzyme PAL khi so với nghiệm thức đối chứng. Khi có mặt đồng thời dịch trích sống đời và mầm bệnh, giá trị OD tăng vọt từ 1 NSCB và luôn giữ mức cao hơn các nghiệm thức còn lại đến 4 NSCB, đặc biệt đạt mức cao nhất tại 2 NSCB. Tuy nhiên, từ thời điểm 3 đến 5 NSCB, giá trị hấp thụ quang phổ bắt đầu giảm, đến 7 NSCB, giá trị OD gần như tương đương nghiệm thức nước - không chủng bệnh (Hình 2A). Theo Xiangyang *et al.*, (2009), enzyme PAL tham gia vào con đường sinh tổng hợp jasmonic acid (JA), các hợp chất hóa các gen kháng trong thực vật trong cơ chế tự vệ của cây. Chính nhờ nhóm gen này cây được bảo vệ ngăn chặn các tác nhân bên ngoài tốt hơn, bằng cách tăng độ dày thành tế bào hoặc sản sinh các hợp chất có tính oxy hóa cao như quinone. Tóm lại, khi phun dịch trích sống đời và có sự xâm nhiễm của vi khuẩn *Xoo*, hoạt tính enzyme PAL đặc biệt tăng cao hơn các nghiệm thức khác trong suốt 4 NSCB, và cao nhất được ghi nhận tại 2 NSCB.



Hình 2: Sự thay đổi hoạt tính của enzyme PAL (A) và PPO (B) trong mô lá của giống lúa Jasmine 85 An Giang ở những thời điểm cách nhau 24 giờ trong 7 NSCB

Cây lúa được xử lý với dịch trích lá sống đời nồng độ 1% (w/v) tại 14 NTCB. Enzyme được pha loãng 2 lần trong dung dịch đệm sodium phosphate 0,1 M, pH 6,5 (PPO)

Hoạt tính enzyme PPO: Nghiệm thức nước-không chủng bệnh, sự thay đổi hoạt tính enzyme PPO là không đáng kể nếu xét từ lúc vừa chủng bệnh (từ 0 NSCB) đến ngày khảo sát thứ bảy (Hình 2B). Tương tự như enzyme PAL, hoạt tính PPO tăng cao tại 3 NSCB và đến ngày thứ 4 giá trị này giảm đột ngột xuống mức thấp nhất khi có mặt mầm bệnh. Trong trường hợp tác nhân kích thích là vi sinh vật ký sinh sống trong ký chủ, cơ chế đặc trưng để kháng lại các tác nhân này liên quan mật thiết tới các tín hiệu salicylic acid (SA). Trong đó PAL và PPO được xúc tác trực tiếp dưới tín hiệu

JA, hai tín hiệu SA và JA có quan hệ điều hòa lẫn nhau (Constabel *et al.*, 1995). Do đó, hoạt tính PPO giảm sẽ là sự tăng hoạt tính của các nhóm enzyme khác được kích hoạt bởi tín hiệu SA. Nếu chỉ phun dịch trích lá sống đời (nghiệm thức dịch trích-không chủng bệnh), hoạt tính PPO tăng đến ngày khảo sát thứ 5. Nhưng khi có mặt cả dịch trích và mầm bệnh, trị số OD_{490nm} tăng vọt trong suốt 4 NSCB, cao nhất tại 4 NSCB nhưng giảm nhanh (Hình 2B). Tóm lại, giá trị hấp thụ quang phổ của nghiệm thức phun dịch trích, chủng bệnh bắt đầu tăng từ 1 đến 4 NSCB và luôn giữ mức cao

hơn so với các nghiệm thức còn lại và đạt mức cao nhất tại thời điểm 3,4 NSCB.

Nhìn chung, cây luôn có những cơ chế tự vệ giúp giảm sự tấn công của các tác nhân bên ngoài và giảm biểu hiện bệnh đến mức thấp nhất (Garcion *et al.*, 2014). Sự thay đổi hoạt tính của enzyme là một trong những dấu hiệu rõ nhất chứng tỏ tính kháng bệnh trên cây trồng đã được kích hoạt (Hammond-Kosack and Jones, 1996). Cơ chế này có thể hoạt động hiệu quả hơn nếu cây được kích thích bằng các tác nhân kích thích phù hợp (Khoa, 2010). Tuy nhiên, phun dịch trích sống đời 1% tại 14 NTCB chỉ mới là điều kiện cần để kích thích cây lúa hoạt hóa enzyme cần thiết cho cơ chế tự vệ, điều kiện đủ là phải có sự tấn công của mầm bệnh thì hoạt tính các enzyme sẽ được kích hoạt một cách mạnh mẽ, giúp bảo vệ cây lúa trước sự xâm nhiễm và phát triển của mầm bệnh tốt hơn. Dễ dàng nhận thấy từ kết quả thí nghiệm trên khi so sánh với nghiệm thức không xử lý dịch trích sống đời hay chỉ xử lý dịch trích lá sống đời nhưng vắng mặt mầm bệnh (Hình 2A và 2B).

Kết quả phù hợp với các nghiên cứu của Kagale *et al.* (2004), Govindappa *et al.* (2011), Nisha *et al.* (2012), Shivalingaihand Sateesh (2013) và Khoa *et al.* (2017) trong quản lý bệnh cháy bìa lá lúa bằng dịch trích cây Càng mai (*A. vasica*), Cà độc dược (*D. metel*), Ngũ trảo (*V. negundo*), *C. hirsutus* và sống đời (*K. pinnata*). Tác giả đều ghi nhận hoạt tính enzyme PAL và PPO tăng cao nhất lần lượt tại 3 và 4 NSCB, chứng tỏ rằng 2 enzyme này có vai trò quan trọng trong kháng bệnh cháy bìa lá lúa.

Sự khác nhau về thời gian tăng hoạt tính 2 enzyme (PAL tăng cao nhất vào 2 NSCB và PPO tại 4 NSCB, Hình 2A và 2B) khi có mặt đồng thời dịch trích lá sống đời và mầm bệnh *Xoo*, bởi chúng giữ vai trò khác nhau trong cơ chế kháng bệnh của cây lúa. PAL giữ vai trò quan trọng trong chu trình phenylpropanoid và xúc tác cho phản ứng chuyển L-phenylalanine thành *trans*-cinnamic acid trong phản ứng đầu tiên của chuỗi sinh tổng hợp các hợp chất phenol như flavonoid và isoflavonoid, phytoalexin và các đơn phân của lignin (Tanaka *et al.*, 1989; Garcion *et al.*, 2014). Các hợp chất này có chức năng chính giúp cây chống mầm bệnh (Mierziak *et al.*, 2014). Các hợp chất flavonoid và isoflavonoid cùng với các hợp chất phenol khác được xem là những chất biến dưỡng thứ cấp ở thực vật và có cấu trúc hóa học rất đa dạng. Chúng thực hiện nhiều chức năng khác nhau như chống oxy hóa và bảo vệ cây trồng trước sự tấn công của mầm bệnh bằng các phản ứng siêu nhạy cảm, biến đổi cấu trúc tế bào hay tiết hợp chất gây ức chế enzyme của mầm bệnh (Nicholson and

Hammerschmidt, 1992). Chính vì thế, PAL tăng nhanh trong 1 và 2 ngày đầu để tổng hợp những hợp chất biến dưỡng nêu trên sẽ giúp ngăn chặn kịp thời vi khuẩn *Xoo* xâm nhập vào tế bào. Trong khi đó, PPO tăng ở giai đoạn sau (4 NSCB) các hợp chất phenol được tích lũy trước đó sẽ là cơ chất dưới sự xúc tác của PPO trong chuỗi phản ứng kế tiếp. PPO là enzyme chứa nhóm đồng, có chức năng chính trong hydroxyl hóa và oxy hóa các hợp chất phenol thành *ortho*-quinone, có tính kháng khuẩn cao (Constabel and Barbehenn 2008). Mặt khác, các quinone có khả năng trung hợp oxy hóa và alkyl hóa các protein, tạo thành các polymer có độc tính với mầm bệnh hoặc các sắc tố nâu không tan, đóng vai trò như rào cản ngăn chặn mầm bệnh lây lan đến các mô khỏe (Li and Steffens, 2002). Kết quả cuối cùng của các quá trình này làm tăng cường quá trình lignin hóa hoặc phản ứng siêu nhạy cảm trong cây. Xét về mầm bệnh, *Xoo* thường bắt đầu nhân mật số và lây lan đến các vùng lân cận khoảng sau 2-4 ngày chủng bệnh (Leach *et al.*, 1989). Sự tăng hoạt tính của 2 enzyme PAL và PPO trong 2 đến 4 NSCB đặc biệt có ý nghĩa trong cơ chế kháng bệnh của cây. Chính nhờ sự phối hợp hoạt động của 2 enzyme PAL và PPO mà cây lúa được bảo vệ khỏi mầm bệnh tốt và kịp thời hơn so với không được kích kháng.

Nhiều nghiên cứu còn chỉ ra cơ chế kích kháng có liên quan đến các đường truyền tín hiệu. Tác nhân kích kháng từ môi trường có thể kích hoạt đến tín hiệu JA làm tăng biểu hiện gen mã hóa enzyme, tiêu biểu như enzyme PAL và PPO (Constabel and Barbehenn, 2008; Thaler *et al.*, 2012). Còn có tín hiệu khác là SA là nguyên nhân tích lũy ROS và H₂O₂, giúp cây trồng chống lại sự tấn công của các mầm bệnh ký sinh trong mô sống (Rao *et al.*, 1997; Shetty *et al.*, 2007; Shetty *et al.*, 2008). Hai đường truyền tín hiệu này lại có quan hệ ức chế lẫn nhau (Thaler *et al.*, 2012). *Xoo* là mầm bệnh ký sinh trong mô sống, do đó khi bị tấn công, cây lúa có những cơ chế nhận ra sự tấn công của mầm bệnh để hoạt hóa tín hiệu SA. Trong nghiên cứu này, giá trị hấp thụ quang phổ khi khảo sát hoạt tính enzyme PAL (3,0-7,5) và PPO (0,6-1,2) cao hơn khi so sánh với nghiên cứu của Khoa *et al.* (2017) là 0,13-0,23 và 1,6-3,1. Sự khác nhau này có thể do các hợp chất trong dịch trích lá sống đời (các phân tử kích hoạt tín hiệu) có khả năng kích hoạt đường truyền tín hiệu JA mạnh mẽ hơn, cũng được lý giải cho hoạt tính PAL tăng sớm ở 2 NSCB thay vì 3 NSCB (Govindappa *et al.*, 2011; Khoa *et al.*, 2017). Nhưng khi chỉ có mặt của *Xoo*, đường truyền tín hiệu SA sẽ phát huy tác dụng, nhưng sự tích lũy H₂O₂ cũng gây độc cho bản thân cây trồng nên nồng độ các enzyme chuyển hóa H₂O₂ như peroxidase và catalase cũng tăng để phân

giải cơ chất này (Khoa *et al.*, 2017), có thể lý giải chính sự ức chế lẫn nhau giữa 2 đường truyền tín hiệu JA và SA mà ở nghiệm thức nước-chúng bệnh hoạt tính enzyme PAL và PPO chỉ tăng đến 3 NSCB và giảm ở những ngày tiếp theo (Hình 2A và 2B).

Kích kháng là quá trình tiêu tốn nhiều năng lượng và nguyên liệu do phải khuếch đại các tín hiệu và kích hoạt các gen kháng bệnh bình thường vốn ở trạng thái bất hoạt hoặc không được biểu hiện nhiều (Heil, 2009; Walters *et al.*, 2014). Tuy nhiên, sự tiêu tốn này là cần thiết để giảm thất thu năng suất khi cây bị mầm bệnh tấn công (Khoa, 2010; Hammerschmidt, 2014). Chính vì lý do này, sau khi các cơ chế kháng bệnh được kích hoạt tối đa để ngăn chặn sự tấn công và lây lan của mầm bệnh, ở các thời điểm về sau (từ 3 NSCB đối với PAL và 5 NSCB đối với PPO trở đi), hoạt tính enzyme PAL và PPO có xu hướng giảm nhằm bảo toàn năng lượng và nguyên liệu cho các quá trình chuyên hóa của cây, nhất là vào giai đoạn lúa trổ và chín.

4 KẾT LUẬN

Đề tài đã khảo sát được khả năng làm giảm bệnh cháy bìa lá lúa của dịch trích lá sống đời thông qua phương pháp phun qua lá trước chúng bệnh, trong đó tuyển chọn được nồng độ dịch trích 1% được phun 14 NTCB là nồng độ thấp nhất nhưng vẫn thể hiện hiệu quả giảm bệnh ổn định đến 21 NSCB. Cơ chế kích kháng được chứng minh giữ vai trò quan trọng đến khả năng giảm bệnh, thể hiện qua sự tăng hoạt tính của enzyme PAL (cao nhất 2 NSCB) và PPO (cao nhất 4 NSCB) trong mô lá đối với nghiệm thức phun dịch trích lá sống đời và chúng bệnh 45 NSKG.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bhasin, H., Bhatia, D., Raghuvanshi, S., Lore, J.S., Sahi, G.K. and Kaur, B., Vikal, Y. And Singh, K., 2012. New PCR-based sequence-tagged site marker for bacterial blight resistance gene *Xa38* of rice. *Molecular breeding*. 30(1): 607-11.

Chand, T., Sing, N., Sing, H. and Thind, B.S., 1979. Field efficacy of stable bleaching powder to control bacterial blight of rice in rice. *International Rice Research Newsletter*. 4: 12-3.

Constabel, C.P. and Barbehenn, R., 2008. Defensive roles of polyphenol oxidase in plants. *In: Schaller, A. (Ed.) Induced Plant Resistance to Herbivorous*. S. Netherlands, Dordrecht, pp. 253-270.

Constabel, C.P., Bergey, D.R. and Ryan, C.A., 1995. Systemin activates synthesis of wound-inducible tomato leaf polyphenol oxidase via the octadecanoid defense signaling pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 92(2): 407-411.

Duffy, B., Schouten, A. and Raaijmakers, J.M., 2003. Pathogen self-defense: Mechanisms to counteract microbial antagonism. *Annual Review of Phytopathology*. 41: 501-538.

Fawcett, C.H. and Spencer, D.M., 1970. Plant chemotherapy with natural products. *Annual Review of Phytopathology*. 8: 403-418.

Garcion, C., Lamotte, O., Cacas, J.L. and Metraux, J.P., 2014. Mechanism of defense to pathogens: biochemistry and physiology. *In: Walters, D.R., Newton, A.C., Lyon, G.D. (Eds.) 2014. Induced resistance for plant defense: A Sustainable Approach to Crop Protection*. 2nd Edition. Chichester: John Wiley & Sons, pp. 106-136.

Govindappa, M., Umesh, S. and Lokesh, S., 2011. *Adathoda vasica* leaf extract induces resistance in rice against bacterial leaf blight disease (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*). *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*. 3(1): 6-14.

Hammerschmidt, R., 2014. Introduction: definitions and some history. *In: Walters, D.R., Newton, A.C., and Lyon, G.D. (Eds.) Induced Resistance for Plant Defense: A Sustainable Approach to Crop Protection*. 2nd ed. Chichester: John Wiley & Sons, pp. 1-10.

Hammond-Kosack, K.E. and Jones, J.D.G., 1996. Resistance gene-dependent plant defense responses. *The Plant Cell*. 8(10): 1773-1791.

Handelsman, J. and Stabb, E.V., 1996. Biocontrol of soilborne plant pathogens. *The Plant Cell*. 8: 1855-1869.

Heil, M., 2009. Damaged-self recognition in plant herbivore defence. *Trends Plant in Science*. 14(7): 356-363.

Kado, C.I., 2009. Horizontal gene transfer: sustaining pathogenicity and optimizing host-pathogen interactions. *Molecular Plant Pathology*. 10: 143-150.

Kagale, S., Marimuthu, T., Thayumanavan, B., Nandakumar, R. and Samiyappan, R., 2004. Antimicrobial activity and induction of systemic resistance in rice by leaf extract of *Datura metel* against *Rhizoctonia solani* and *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 65: 91 -100.

Karganilla, A., Natural, M.P. and Ou, S.H. 1973. A comparative study of culture media for *Xanthomonas oryzae*. *Philippine Agriculturist*. 57: 141-152.

Khan, J.A., Siddiq, R., Arshad, H.M.A, Anwar, H.S., Saleem, K. and Jamil, F.F., 2012. Chemical control of bacterial leaf blight of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Pakistan Journal of Phytopathology*. 24: 97-100.

Khoa, N.D., 2005. Effect of single resistance genes and their pyramind on the diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* population under field conditions as revealed by insertions

- sequence-polymerase chain reaction (IS-PCR). Master of Science Thesis, University of the Philippines Los Banos, 105 pages.
- Khoa, N.D., 2010. Control of Sheath Blight and Other Rice Diseases by Induced Resistance Using an Extract of the Plant *Chromolaena odorata*. PhD Thesis, Department of Plant Biology and Biotechnology, University of Copenhagen, Denmark, 100 pages.
- Khoa, N.Đ, Xạ, T.V., and Hào, L.T., 2017. Disease-reducing effects of aqueous leaf extract of *Kalanchoe pinnata* on rice bacterial leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* involve induced resistance. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 100: 57-66.
- Khoa, N.Đ., Thúy, P.T.H., Thúy, T.T.T., Collinge, D.B. and Jørgensen, H.J.L., 2011. Disease-reducing effect of *Chromolaena odorata* extract on sheath blight and other rice diseases. *Phytopathology*. 101(2): 231-240.
- Kloepper, J.W, Tuzun, S. and Kuć, J.A., 1992. Proposed definitions relates to induced disease resistance. *Biocontrol Science and Technology*. 2: 349-351.
- Leach, J.E., Roberts, P.D., Guo, A. and Barton-Willis, P., 1989. Multiplication of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* in rice leaves. In: Proceedings of the International Workshop on Bacterial Blight of Rice, International Rice Research Institute, Manila, pp. 43-53.
- Li, L. and Steffens, J.C., 2002. Overexpression of polyphenol oxidase in transgenic tomato plants results in enhanced bacterial disease resistance. *Plant taxonomy*. 215: 239-247.
- Mayer, A.M., Harel, E. and Ben-Shaul, R., 1966. Assay of catechol oxidase—a critical comparison of methods. *Phytochemistry*. 5: 783-789.
- Mierziak, J.K., Kostyn K. and A. Kulma, 2014. Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. *Molecules*. 77: 5-12.
- Mizukami, T., and Wakimoto, S., 1969. Epidemiology and control of bacterial leaf blight of rice. *Annual Review of Phytopathology*. 7: 51-72.
- Nguyễn Đăng Ngọc Giàu, 2014. Phân lập, định danh và khảo sát khả năng phòng trừ bệnh cháy bìa lá lúa của vi khuẩn trong đất ở Thành phố Cần Thơ và tỉnh Hậu Giang. Luận văn tốt nghiệp Cao học ngành Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ. Thành phố Cần Thơ.
- Nicholson, R.L. and Hammerschmidt, R., 1992. Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annual Review of Phytopathology*. 30: 369-389.
- Nisha, S., Revathi, K., Chandrasekaran, R., Kirubakaran, S.A., Narayanan, S., Stout, M.J. and Nathan, S.S., 2012. Effect of plant compounds on induced activities of defense-related enzymes and pathogenesis related protein in bacterial blight disease susceptible rice plant. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 80: 1-9.
- Ou, S.H, 1985. Rice disease 2nd edition. Commonwealth Mycological Institute.
- Phuong Hoa, P.T, Hop, D.V., Quang, N.D., Ton, P.H, Ha, T.H. and Hung, N.V., 2014. Biological control of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* causing rice bacterial blight disease by *Streptomyces toxytricini* VN08-A-12, isolated from soil and leaf-litter samples in Vietnam. *Biocontrol science*. 19: 103-111.
- Rao, M.V., Paliyath, G., Ormrod, D.P., Murr, D.P. and Watkins, C.B., 1997. Influence of salicylic acid on H₂O₂ production, oxidative stress, and H₂O₂-metabolizing enzymes (Salicylic acid-mediated oxidative damage requires H₂O₂). *Plant Physiology*. 115(1): 137-149.
- Reddy, A.P.K., Mackenzie, D.R., Rouse, D.I and Rao, A.V., 1979. Relationship of bacterial leaf blight severity to grain yield of rice. *Phytopathology*. 69: 967-969.
- Sadasivam, S. and Manickam A., 1996. *Biochemical Methods*. New Delhi: New Age International (P) Limited. 136–137.
- Schantz, S.L., Gasior, D.M., Polverejan, E., McCaffrey, R.J., Sweeney, A.M. and Humphrey, H.E.B., 2001. Impairments of memory and learning in older adults exposed to polychlorinated biphenyls via consumption of Great Lakes fish. *Environmental Health Perspectives*. 109: 605-611.
- Shetty, N.P., Mehrabi, R., Lutken, H., Halddrup, A., Kema, G.H., Collinge, D.B. and Jørgensen, H.J.L., 2007. Role of hydrogen peroxide during the interaction between the hemibiotrophic fungal pathogen *Septoria tritici* and wheat. *New Phytologist*. 174: 637-647.
- Shetty, N.P., Jørgensen, H.J.L., Jensen, J.D., Collinge, D.B. and Shetty, H.S., 2008. Roles of reactive oxygen species in interactions between plants and pathogens. *European Journal Plant Pathology*. 121: 267-280.
- Shivalingaiah, S.U. and Sateesh, M.K., 2013. *Cocculus hirsutus* extract inhibits the *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, the bacterial leaf blight pathogen in rice. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 46(15):1885-1894.
- Son, T.M., 1993. Breeding rice cultivars resistant to bacterial leaf blight (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) in Vietnam. In: Jacobs, T., and Parlevliet, J.E. (Eds.). *Durability of Disease Resistance*, Springer, Netherlands. pp. 351-351.
- Tanaka, Y., Matsuoka, M., Yamanoto, N., Ohashi, Y., Kano-Murakami, Y. and Ozeki, Y., 1989. Structure and characterization of a cDNA clone for phenylalanine ammonialyase from cut-

- injured roots of sweet potato. *Plant Physiology*. 90: 1403-1407.
- Thaler, J.S., Humphray, P.T. and Whiteman, N.K., 2012. Evolution of jasmonate and salicylate signal crosstalk. *Trends Plant in science*. 17: 260-270.
- Trần Thị Thu Thủy và Hans Jorgen Lyng Jorgensen, 2016. Quản lý bệnh hại lúa bằng dịch trích thực vật. *Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ*: 111-119.
- van Loon, L.C, Bakker, P.A.H. and Peiterse, C.M.J., 1998. Systemic resistance induced by *Rhizosphere* bacteria. *Annual Review of Phytopathology*. 36: 453-483.
- Vidhyasekaran, P., Ponmalar, T.R., Samiyappan, R., Velazhahan, R., Vimala, R. and Ramanathan, A., 1997. Host specific toxin production by *Rhizoctonia solani*, the rice sheath blight pathogen. *Phytopathology*. 87: 1258-1263.
- Vidhyasekaran, P., 1998. Molecular biology of pathogenesis and induced systemic resistance. *Indian Phytopathology*. 51: 111-120.
- Võ Thị Phương Trang, 2013. Phân lập định danh và khảo sát khả năng phòng trừ bệnh cháy bìa lá lúa của vi khuẩn đối kháng trong đất tỉnh An Giang. Luận văn tốt nghiệp Cao học ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ, 86 trang.
- Walters, D., Newton, A. and Lyon, G., 2014. Induced resistance for plant defence. Black well Publishing, pp. 321-323.
- Webb, K.M., Oña, I., Bai, J., Garrett, K.A., Mew, T. and Vera Cruz, C.M., 2010. A benefit of high temperature: increased effectiveness of a rice bacterial blight disease resistance gene. *New Phytologist*. 185: 568-576.
- Xiangyang, H., Wansha, L., Chen, Q. and Yongping, Y., 2009. Early signal transduction linking the synthesis of jasmonic acid in plant. *Plant Signal and Behavior*. 4(8): 696-697.