



DOI:10.22144/ctu.jvn.2018.139

NGHIÊN CỨU HIỆU QUẢ CỦA THỰC KHUẨN THỂ PHÒNG TRỊ BỆNH THỐI HẠT DO VI KHUẨN *Burkholderia glumae* TRÊN LÚA

Đoàn Thị Kiều Tiên¹, Lê Quốc Uy¹, Bùi Thị Thanh Mỹ¹, Kaeko Kamei² và Nguyễn Thị Thu Nga^{1*}

¹Khoa Nông Nghiệp và Sinh học Ứng Dụng, trường Đại học Cần Thơ

²Viện Công Nghệ Kyoto, Nhật Bản

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Thị Thu Nga (email: ntnnga@ctu.edu.v)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 02/03/2018

Ngày nhận bài sửa: 17/04/2018

Ngày duyệt đăng: 29/10/2018

Title:

Study the effect of bacteriophage in controlling the bacterial grain rot caused by *Burkholderia glumae* on rice

Từ khóa:

Bệnh thối hạt, *Burkholderia glumae*, cây lúa, chất phụ gia, thực khuẩn thể

Keywords:

Additives, bacterial grain rot, bacteriophage, *Burkholderia glumae*, rice

ABSTRACT

Evaluation the effect of six bacteriophages (i. e. Φ BurVL34, Φ BurVL39, Φ BurAG58, Φ BurDT47a, Φ BurDT48a) on controlling bacterial grain rot caused by *B. glumae* in greenhouse conditions. All six bacteriophages expressed disease control with the percentage of infected grain significantly lower than the control. In which, the treatment applied with bacteriophage Φ BurDT47a showed a higher level of disease protection than other treatments at 20 days after pathogen inoculation. In addition, all four tested titers of the bacteriophage Φ BurDT47a (10^5 pfu/ml, 10^6 pfu/ml, 10^7 pfu/ml and 10^8 pfu/ml) could prevent grain rot disease, of which the 10^8 pfu/ml titer was the best treatment in giving disease protection. The result of study on additives combined with phage suspension for enhance disease control showed that three additives (carrot flour, soya flour and corn flour) gave a lower level of percentage of grain infection than phage suspension without additives.

TÓM TẮT

Đánh giá hiệu quả của 6 dòng thực khuẩn thể (Φ BurVL34, Φ BurVL39, Φ BurAG58, Φ BurDT46, Φ BurDT47a, Φ BurDT48a) phòng trị bệnh thối hạt do vi khuẩn *B. glumae* trong điều kiện nhà lưới. Tất cả 6 dòng thực khuẩn thể thể hiện phòng trị bệnh với tỷ lệ hạt bệnh thấp hơn nghiệm thức đối chứng. Trong đó, dòng thực khuẩn thể Φ BurDT47a cho hiệu quả phòng trị cao hơn so với các dòng thực khuẩn thể còn lại vào thời điểm 20 ngày sau khi lây bệnh. Ngoài ra, tất cả bốn mật số thực khuẩn thể Φ BurDT47a (10^5 pfu/ml; 10^6 pfu/ml; 10^7 pfu/ml; 10^8 pfu/ml) có thể ngăn chặn bệnh và mật số 10^8 pfu/ml cho hiệu quả tốt nhất. Kết quả nghiên cứu về chất phụ gia bổ sung vào huyền phù thực khuẩn thể để gia tăng hiệu quả phòng trị bệnh cho thấy ba chất phụ gia (bột cà rốt, bột đậu nành và bột bắp) cho tỷ lệ bệnh thấp hơn so với nghiệm thức chỉ áp dụng thực khuẩn thể không có chất phụ gia.

Trích dẫn: Đoàn Thị Kiều Tiên, Lê Quốc Uy, Bùi Thị Thanh Mỹ, Kaeko Kamei và Nguyễn Thị Thu Nga, 2018. Nghiên cứu hiệu quả của thực khuẩn thể phòng trị bệnh thối hạt do vi khuẩn *Burkholderia glumae* trên lúa. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 54(7B): 41-47.

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh thối hạt hay còn gọi là bệnh lép vàng trên lúa do vi khuẩn *Burkholderia glumae* là mầm bệnh

quan trọng trong sản xuất lúa gạo toàn cầu có thể ảnh hưởng năng suất khoảng 75% và nó trở nên nghiêm trọng hơn khi trái đất ngày càng ấm dần và thiếu các biện pháp kiểm soát (Chien *et al.*,1983;

Tsushima *et al.*, 1986 Jeong *et al.*, 2003, Ham *et al.*, 2011). Theo Frampton *et al.* (2012), vi khuẩn gây bệnh trên cây trồng đã kháng với các thuốc bảo vệ thực vật chứa hoạt chất là kháng sinh hoặc thuốc gốc đồng. Tuy nhiên, ở Việt Nam do tập quán canh tác của nông dân chủ lực dựa vào biện pháp hóa học vì vậy rất khó quản lý bệnh do vi khuẩn. Do đó, biện pháp phòng trừ sinh học bằng thực khuẩn thể (TKT) là một trong những công cụ được sử dụng trong phòng trị bệnh cây trồng do vi khuẩn ngày càng được nghiên cứu và ứng dụng trong nông nghiệp vì thực khuẩn thể rất chuyên tính, không phải là hoạt chất kháng sinh và ít ảnh hưởng đến môi trường (Frampton *et al.*, 2012). Thật vậy, nhiều nghiên cứu chứng minh rằng thực khuẩn thể có khả năng phòng trị hiệu quả đối với bệnh thối hạt (Adachi *et al.*, 2012; Phan Quốc Huy và *ctv.*, 2016). Trên cơ sở đó, “Nghiên cứu hiệu quả của

thực khuẩn thể phòng trị bệnh thối hạt do vi khuẩn *Burkholderia glumae* trên lúa” được thực hiện nhằm tuyển chọn dòng TKT cũng như mật số TKT mang lại hiệu quả phòng trị, đồng thời tìm ra chất phụ gia góp phần bảo vệ chúng trên bề mặt tán lá cây nhằm gia tăng hiệu quả phòng trừ bệnh.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đánh giá hiệu quả phòng trị bệnh thối hạt do vi khuẩn *Burkholderia glumae* bằng những dòng thực khuẩn thể triển vọng

Vật liệu: 6 dòng thực khuẩn thể triển vọng (ΦBurVL34, ΦBurVL39, ΦBurAG58 ΦBurDT47a, ΦBurDT48a) và một dòng vi khuẩn *Burkholderia glumae* KG 52 mẫu cảm được cung cấp bởi Bộ môn Bảo vệ Thực vật, Trường Đại học Cần Thơ.

Bảng 1: Đặc điểm các dòng thực khuẩn thể trong thí nghiệm

Dòng TKT	Địa điểm phân lập	Hình dạng plaque trên vi khuẩn <i>B. glumae</i> KG52	Đường kính (mm) Plaque trên vi khuẩn <i>B. glumae</i> KG52
ΦBurVL34	Long Hồ - Vĩnh Long	Trong, tròn	3,45
ΦBurVL39	Măng Thít - Vĩnh Long	Trong, Tròn	5,29
ΦBurAG58	Phú Tân - An Giang	Trong, tròn	4,03
ΦBurDT46	Tháp Mười - Đồng Tháp	Trong, tròn	3,73
ΦBurDT47a	Tháp Mười - Đồng Tháp	Trong, tròn	4,85
ΦBurDT48a	Tháp Mười - Đồng Tháp	Trong, tròn	3,40

Phương pháp: Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 7 nghiệm thức (6 dòng thực khuẩn thể khác nhau và một nghiệm thức đối chứng không có thực khuẩn thể) với 4 lần lặp lại.

Trong đó, mỗi lần lặp lại là 1 chậu lúa với 10 chồi hữu hiệu ở giai đoạn lúa trổ đều.

Chuẩn bị: Đất trồng lúa được lấy ở độ sâu 0-20 cm được phơi khô tự nhiên, làm nhuyễn cho vào chậu nhựa đường kính 25 cm (diện tích S=0,049 m²), mỗi chậu chứa 7 kg đất.

Hạt giống lúa OM4900 xác nhận được xử lý bằng nước ấm với nhiệt độ khoảng 54⁰C trong 30 phút, ủ hạt giống trong tủ úm 48 giờ ở nhiệt độ 37⁰C cho hạt nảy mầm, sau đó gieo hạt vào chậu nhựa đã chuẩn bị đất, 20 hạt/chậu.

Chăm sóc: Bón phân lúa theo công thức 120 N – 40 P₂O₅ – 50 K₂O (kg/ha)(Nguyễn Ngọc Đê, 2008), lượng phân bón được quy ra để bón cho từng chậu là: 0,472 g urea – 0,167 g supper lân – 0,16 g KCl trên chậu (0,049 m²). Phân được hòa tan vào nước tưới đều cho các chậu.

Qui trình bón phân:

- Bón lót (1 ngày trước sạ): Toàn bộ phân lân.

- Bón thúc đợt 1 (8-10 ngày sau khi sạ (NSKS)): 30% lượng đạm, 50% lượng kali.
- Bón thúc đợt 2 (18-20 NSKS): 30% lượng đạm.
- Bón thúc đợt 3 (42-45 NSKS): 40% lượng đạm và 50% lượng kali.

Phương pháp xử lý thực khuẩn thể và vi khuẩn: Xử lý thực khuẩn thể và vi khuẩn khi lúa trong giai đoạn trổ đều (60 ngày sau khi gieo). Phun 50 ml/chậu huyền phù TKT (10⁸ pfu/ml) tương ứng từng dòng TKT khác nhau. Sau 2 giờ, tiến hành phun 50 ml/chậu huyền phù vi khuẩn *B. glumae* KG 52 với OD_{600nm} = 0,3 (tương đương mật số 9 x 10⁸ cfu/ml) trên bông lúa.

Ghi nhận và đánh giá: Bệnh bắt đầu xuất hiện triệu chứng thối hạt điển hình (ghi nhận trên 10 bông/chậu).

- Tỷ lệ hạt bệnh (%) = tổng số hạt bệnh/tổng số hạt quan sát trên một bông x 100
- AUDPC (area under the disease progress curve): diện tích bên dưới đường cong tiến triển bệnh được tính theo công thức của Simko and Piepho (2011):

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} (y_i + y_{i+1})(t_{i+1} - t_i)/2$$

Trong đó, n = số lần lấy chỉ tiêu; y_i = tỷ lệ hạt bệnh tại lần đo thứ i; t_i = thời gian của lần đo thứ i.

2.2 Khảo sát mật số thực khuẩn thể lên hiệu quả phòng trị bệnh thối hạt trên lúa

Vật liệu: một dòng thực khuẩn thể hiệu quả được chọn từ thí nghiệm 2.1 và một dòng vi khuẩn *B. glumae* KG52 được cung cấp bởi Bộ môn Bảo vệ Thực vật, Trường Đại học Cần Thơ.

Phương pháp: Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 5 nghiệm thức (4 nghiệm thức chứa mật số thực khuẩn thể khác nhau 10^5 pfu/ml, 10^6 pfu/ml, 10^7 pfu/ml, và 10^8 pfu/ml, và 1 nghiệm thức không áp dụng TKT) với 5 lần lặp lại. Trong đó, mỗi lần lặp lại là 1 chậu lúa với 10 chồi hữu hiệu ở giai đoạn lúa trổ đều.

Chuẩn bị: Chậu trồng lúa được chuẩn bị như đã trình bày ở thí nghiệm 2.1.

Chăm sóc: Cách chăm sóc lúa được trình bày ở thí nghiệm 2.1.

Phương pháp xử lý thực khuẩn thể và vi khuẩn: tương tự thí nghiệm 2.1

Ghi nhận và đánh giá: tương tự thí nghiệm 2.1

2.3 Khảo sát ảnh hưởng của chất phụ gia lên hiệu quả phòng trị của thực khuẩn thể đối với bệnh thối hạt do vi khuẩn *Burkholderia glumae*

Vật liệu: 01 dòng thực khuẩn thể và nồng độ hiệu quả được chọn từ thí nghiệm 2.1 và 2.2 và 01 dòng vi khuẩn *B. glumae* KG 52, bột đậu xanh, bột đậu nành, bột bắp, bột cà rốt, bột sữa gạn béo.

Phương pháp: Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 7 nghiệm thức và 4 lần lặp lại. Trong đó, mỗi lần lặp lại là 1 chậu lúa với 10 chồi hữu hiệu ở giai đoạn lúa trổ đều.

– 0,5% bột đậu xanh + huyền phù TKT (10^8 pfu/ml).

– 0,5% bột đậu nành + huyền phù TKT (10^8 pfu/ml).

– 0,5% bột bắp + huyền phù TKT (10^8 pfu/ml).

– 0,5% bột cà rốt + huyền phù TKT (10^8 pfu/ml).

– 0,5% bột sữa gạn béo + huyền phù TKT (10^8 pfu/ml).

– Thực khuẩn thể (10^8 pfu/ml).

– Không xử lý TKT.

Phương pháp áp dụng thực khuẩn thể và vi khuẩn: Tương tự thí nghiệm 2.1

Ghi nhận và đánh giá: Tương tự thí nghiệm 2.1.

2.4 Xử lý số liệu

Tất cả các số liệu thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Excel và phân tích thống kê bằng chương trình MSTAT-C 1.2 sử dụng kiểm định DUNCAN.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Hiệu quả phòng trị bệnh thối hạt do vi khuẩn *Burkholderia glumae* của những dòng thực khuẩn thể triển vọng

Kết quả đánh giá hiệu quả phòng trị của các dòng thực khuẩn thể triển vọng được thể hiện qua tỷ lệ hạt bệnh và diện tích bên dưới đường cong tiến triển bệnh (Bảng 2), giữa các nghiệm thức có tỷ lệ hạt bệnh và diện tích bên dưới đường cong tiến triển bệnh thấp hơn khác biệt so với đối chứng ở mức ý nghĩa 5% về mặt thống kê. Triệu chứng bệnh thối hạt đã biểu hiện vào thời điểm 5 ngày sau khi lây bệnh (NSKLB), triệu chứng thối hạt được biểu hiện như sau: quan sát ở phần vỏ hạt lúa bị biến màu hoặc có màu vàng nhạt, sau đó vỏ hạt lúa chuyển sang màu nâu là triệu chứng xuất hiện đầu tiên, dần dần vết bệnh nhanh chóng lan ra trên toàn bộ vỏ hạt. Những hạt bị bệnh có thể phân biệt rõ ranh giới giữa mô khỏe và mô bệnh là một đường màu nâu cắt ngang trên vỏ hạt, giống miêu tả của Ou (1985), Yuan (2004) và Phạm Văn Kim (2015). Quá trình tiến triển bệnh được ghi nhận cụ thể như sau:

Ở thời điểm 5 NSKLB, cả 6 nghiệm thức xử lý thực khuẩn thể đều có tỷ lệ hạt bệnh từ 3,56% đến 7,32%, thấp hơn và khác biệt so với nghiệm thức đối chứng 11,99%. Trong đó, 6 nghiệm thức xử lý TKT có tỷ lệ hạt bệnh tương đương nhau.

Tương tự, thời điểm 10 và 15 NSKLB, bệnh đã phát triển nhiều hơn so với thời điểm 5 NSKLB. Ở cả hai thời điểm này, 6 nghiệm thức có tỷ lệ hạt bệnh không khác biệt nhau và thấp hơn khác biệt so với nghiệm thức đối chứng không xử lý TKT với tỷ lệ hạt bệnh lần lượt là 16,17% (10 NSKLB) và 20,98% (15 NSKLB).

Đến thời điểm 20 NSKLB, tất cả 6 nghiệm thức xử lý TKT vẫn thể hiện hiệu quả với tỷ lệ hạt bệnh thấp hơn và khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng. Trong đó, tỷ lệ hạt bệnh giữa các nghiệm thức có xử lý TKT bắt đầu có khác biệt ý

nghĩa về mặt thống kê, cụ thể là tỷ lệ hạt bệnh ở nghiệm thức có xử lý dòng thực khuẩn thể ΦBurDT47a (6,22%) thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa so với 3 nghiệm thức có xử lý thực khuẩn thể còn lại là ΦBurVL34 (11,26%), ΦBurVL39 (13,98%) và ΦBurAG58 (12,70%).

Tương tự, ở thời điểm 25 NSKLB, tỷ lệ hạt bệnh ở nghiệm thức có gia tăng theo thời gian. Nghiệm thức xử lý dòng thực khuẩn thể ΦBurDT47a (7,19%) cũng có tỷ lệ hạt bệnh thấp hơn và khác biệt 3 nghiệm thức xử lý thực khuẩn thể ΦBurVL34 (11,26%), ΦBurVL39 (13,89%) và ΦBurAG58(12,70%).

Đồng thời, theo kết quả đánh giá quá trình phát triển bệnh AUDPC, (Bảng 2), giá trị AUDPC ở nghiệm thức xử lý thực khuẩn thể trong khoảng 135,23 đến 232,47 đều thấp hơn và khác biệt so với nghiệm thức đối chứng (390,25) và giá trị AUDPC giữa các nghiệm thức xử lý thực khuẩn thể không có khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê.

Tóm lại, qua 5 thời điểm ghi nhận về tỷ lệ hạt bệnh và AUDPC, tất cả các nghiệm thức xử lý thực khuẩn thể đều có hiệu quả phòng trị bệnh thối hạt lúa trong điều kiện nhà lưới. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Phan Quốc Huy và *ctv.* (2016). Như vậy, TKT thể hiện khả năng phòng trị bệnh thối hạt do vi khuẩn *B. glumae*. Adachi *et al.* (2012) cũng đã sử dụng thực khuẩn thể BGPP-Ar cho hiệu quả phòng trị bệnh thối cây con trên lúa do vi khuẩn *Burkholderia glumae*. Những chứng minh trên thấy rằng thực khuẩn thể có triển vọng trong phòng trừ bệnh. Trong thí nghiệm này, tỷ lệ hạt bệnh ở nghiệm thức xử lý với dòng thực khuẩn thể ΦBurDT47a có khác biệt về mặt thống kê so với ba nghiệm thức ΦBurVL34, ΦBurVL39 và ΦBurAG58 khác ở thời điểm 20 và 25 NSKLB, nhưng sự khác biệt này không quá lớn. Do đó, để chọn ra một dòng thực khuẩn thể có tiềm năng phòng trị cho các thí nghiệm tiếp theo phải kết hợp vào khả năng kí sinh trên nhiều dòng vi khuẩn *B. glumae* cũng như đường kính phân giải (chưa công bố) đã chọn dòng thực khuẩn thể ΦBurDT47a cho các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 2: Tỷ lệ bệnh thối hạt do vi khuẩn *Burkholderia glumae* được phòng trị bằng các dòng TKT

Dòng TKT	Tỷ lệ bệnh (%)					AUDPC
	5NSKLB	10 NSKLB	15 NSKLB	20 NSKLB	25 NSKLB	
ΦBurVL34	7,32 b	8,59 b	9,52 b	10,73 b	11,26 b	190,69 b
ΦBurVL39	5,63 b	10,38 b	13,33 b	12,98 b	13,98 b	232,47 b
ΦBurAG58	4,23 b	6,82 b	12,39 b	12,69 b	12,70 b	201,84 b
ΦBurDT46	3,56 b	5,22 b	7,03 b	8,37 bc	9,30 bc	135,23 b
ΦBurDT47a	4,31 b	7,59 b	8,40 b	6,22 c	7,19 c	139,80 b
ΦBurDT48a	3,87 b	6,51 b	7,72 b	8,63bc	10,24 bc	149,62 b
Đối chứng	11,99 a	16,17 a	20,98 a	22,82 a	24,17 a	390,25 a
Mức ý nghĩa	*	*	*	*	*	*
CV (%)	21,68	20,72	16,66	12,94	11,47	28,95

Chú thích: Số liệu được chuyển sang arcsin trước khi xử lý thống kê. Các số trung bình trong cùng một cột theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo phép thử Duncan. *: Khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%

3.2 Hiệu quả phòng trị bệnh thối hạt lúa do vi khuẩn *Burkholderia glumae* bằng dòng TKT ΦBurDT47a ở mật số khác nhau

Kết quả đánh giá hiệu quả phòng trị của dòng thực khuẩn thể ΦBurDT47a ở những mật số khác nhau thể hiện qua Bảng 3 với tỷ lệ hạt bệnh và diện tích bên dưới đường cong tiến triển bệnh giữa các nghiệm thức khác biệt so với đối chứng ở mức ý nghĩa 5% về mặt thống kê.

Ở thời điểm 5 NSKLB, cả 4 nghiệm thức có xử lý thực khuẩn thể (10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 pfu/ml) có tỷ lệ hạt bệnh khác nhau và thấp hơn so với nghiệm thức đối chứng. Trong đó, nghiệm thức đối chứng không có xử lý thực khuẩn thể có tỷ lệ hạt bệnh (13,46%) cao hơn và khác biệt với các nghiệm thức

còn lại. Tỷ lệ hạt bệnh giảm dần qua các nghiệm thức xử lý thực khuẩn thể với mật số 10^5 pfu/ml (6,20%), 10^6 pfu/ml (4,93%), 10^7 pfu/ml (4,07%), đặc biệt tỷ lệ hạt bệnh ở nghiệm thức xử lý thực khuẩn thể với mật số 10^8 pfu/ml (1,26%) thấp hơn và khác biệt so với các nghiệm thức còn lại.

Thời điểm 10 NSKLB, cả 4 nghiệm thức đều có tỷ lệ hạt bệnh trong khoảng 3,55% đến 9,14% thấp hơn và khác biệt so với nghiệm thức đối chứng (18,66%). Trong đó, nghiệm thức xử lý thực khuẩn thể ΦBurDT47a với mật số 10^8 pfu/ml có tỷ lệ hạt bệnh (3,55%), thấp hơn và có khác biệt ý nghĩa so với cả 3 mật số còn lại, kể đến là nghiệm thức xử lý thực khuẩn thể với mật số 10^7 pfu/ml (7,36%) thấp hơn và khác biệt so với 2 mật số 10^6 và 10^5 pfu/ml.

Tương tự vào thời điểm 15 và 20 NSKLB, cả 4 mật số thực khuẩn thể đều có tỷ lệ hạt bệnh thấp hơn so với đối chứng. Trong đó, nghiệm thức với mật số 10^8 pfu/ml có tỷ lệ hạt bệnh lần lượt là 5,81% (15 NSKLB) và 6,65% (20 NSKLB), thấp hơn và khác biệt với các nghiệm thức còn lại ở cả 2 thời điểm quan sát.

Đến thời điểm 25 NSKLB, tỷ lệ hạt bệnh ở các nghiệm thức xử lý thực khuẩn thể vẫn duy trì tỷ lệ hạt bệnh thấp hơn và khác biệt so với nghiệm thức đối chứng. Tiêu biểu, nghiệm thức phun thực khuẩn thể với mật số 10^8 pfu/ml (8,89%) có tỷ lệ hạt bệnh thấp nhất.

Song song đó, theo kết quả thống kê ở Bảng 3, giá trị AUPDC ở các nghiệm thức xử lý thực khuẩn thể ΦBurDT47a với các mật số thực khuẩn thể khác nhau trong khoảng 105,43 đến 248,10 đều thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (421,95). Điều này chứng tỏ, các nghiệm thức xử lý thực khuẩn thể đều giúp giảm được sự phát triển của bệnh. Trong đó, nghiệm thức xử lý thực khuẩn thể với mật số 10^8 pfu/ml thể

hiện hiệu quả giảm bệnh tốt nhất do có AUDPC thấp nhất (105,43), khác biệt ý nghĩa so với 3 mật số thực khuẩn thể còn lại. Kết quả này cho thấy, quá trình phát triển bệnh ở nghiệm thức phun thực khuẩn thể với mật số 10^8 pfu/ml tiến triển chậm hơn so với các nghiệm thức còn lại. Theo Jones *et al.* (2007), mật số thực khuẩn thể có ảnh hưởng tới hiệu quả phòng trị bệnh cây trồng do vi khuẩn gây ra. Thực vậy, Balogh (2002) đã phun huyền phù thực khuẩn thể với mật số 10^6 và 10^8 pfu/ml làm giảm đáng kể bệnh đốm vi khuẩn trên cà chua, tuy nhiên phun huyền phù thực khuẩn thể với mật số 10^4 pfu/ml không thể hiện hiệu quả. Điều này cũng thể hiện rõ qua kết quả sử dụng thực khuẩn thể ΦBurDT47a với 4 mật số 10^5 pfu/ml, 10^6 pfu/ml, 10^7 pfu/ml và 10^8 pfu/ml. Trong đó, mật số thực khuẩn thể ΦBurDT47a với mật số 10^8 pfu/ml cho hiệu quả phòng trị cao hơn ba mật số còn lại và hiệu quả giảm dần khi giảm mật số thực khuẩn thể ΦBurDT47a. Từ đó, chọn mật số thực khuẩn thể ΦBurDT47a ở 10^8 pfu/ml được chọn cho thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 3: Tỷ lệ bệnh thối hạt do vi khuẩn *Burkholderia glumae* KG 52 được phòng trị bằng thực khuẩn thể ΦBurDT47a ở mật số khác nhau

Mật số (pfu/ml)	Tỷ lệ hạt bệnh (%)					AUDPC
	5NSKLB	10NSKLB	15 NSKLB	20 NSKLB	25 NSKLB	
10^8	1,26 e	3,55 d	5,81 e	6,65 e	8,89 e	105,43 c
10^7	4,07 d	7,36 c	9,51 d	10,85 d	14,88 c	185,97 b
10^6	4,93 c	9,14 b	11,19 c	11,89 c	14,32 d	209,25 b
10^5	6,20 b	8,80 b	12,43 b	14,59 b	21,41 b	248,10 b
Đối chứng	13,46 a	18,66 a	21,25 a	24,37 a	26,76 a	421,95 a
Mức ý nghĩa	*	*	*	*	*	*
CV (%)	23,83	12,76	7,82	12,97	9,87	19,64

Chú thích: Số liệu được chuyển sang arcsin trước khi xử lý thống kê. Các số trung bình trong cùng một cột theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo phép thử Duncan. *: Khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%

3.3 Hiệu quả phòng trị bệnh thối hạt do vi khuẩn *Burkholderia glumae* bằng dòng thực khuẩn thể ΦBurDT47a kết hợp với các chất phụ gia

Kết quả hiệu quả phòng trị bệnh thối hạt bằng một dòng thực khuẩn thể triển vọng kết hợp với các chất phụ gia khác nhau thể hiện qua tỷ lệ hạt bệnh và diện tích bên dưới đường cong tiến triển bệnh (Bảng 4), nhìn chung tất cả các nghiệm thức xử lý thực khuẩn thể có bổ sung chất phụ gia và không bổ sung chất phụ gia đều có tỷ lệ hạt bệnh và diện tích bên dưới đường cong tiến triển bệnh thấp hơn và khác biệt ý nghĩa so với đối chứng không xử lý.

Ở giai đoạn 5 NSKLB, bệnh đã xuất hiện ở tất cả các nghiệm thức, trong đó nghiệm thức thực

chẩn thể có bổ sung các chất phụ gia đều có tỷ lệ hạt bệnh trong khoảng (0,99-1,65%), thấp hơn và khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (3,05%), tuy nhiên giữa các nghiệm thức có bổ sung chất phụ gia khác nhau và không bổ sung chất phụ gia chưa thể hiện sự khác biệt.

Tương tự vào thời điểm 15NSKLB, cả 5 nghiệm thức xử lý TKT có bổ sung và không bổ sung chất bảo vệ tiếp tục cho hiệu quả phòng trị với tỷ lệ hạt bệnh/bông (từ 6,04-8,72%) thấp hơn và không có sự khác biệt ý nghĩa, nhưng thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng (15,9%).

Riêng thời điểm 25 NSKLB, cả ba nghiệm thức TKT bổ sung bột đậu nành, TKT bổ sung bột bắp và TKT bổ sung bột cà rốt thể hiện hiệu quả giảm

bệnh với tỷ lệ hạt bệnh trong khoảng (7,73%-11,83%) thấp hơn và khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức TKT không có chất phụ gia. Tuy nhiên, nghiệm thức xử lý thực khuẩn thể bổ sung bột đậu xanh có tỷ lệ hạt bệnh cao hơn và khác biệt so với nghiệm thức chỉ xử lý thực khuẩn thể. Bên cạnh đó, chỉ số AUDPC (Bảng 4) cho thấy tất cả nghiệm thức thực khuẩn thể có bổ sung và không bổ sung với chất bảo vệ đều có chỉ số AUDPC tương đương nhau và thấp hơn, khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng không xử lý TKT.

Qua kết quả trên, xử lý thực khuẩn thể có bổ sung chất phụ gia như bột cà rốt, bột bắp, hay bột đậu nành góp phần gia tăng hiệu quả phòng trị cao hơn so với nghiệm thức đối chứng và nghiệm thức không có chất phụ gia ở thời điểm 25 NSKLB. Ba loại bột này có thể làm tăng khả năng tồn tại và kéo dài sự sống của thực khuẩn thể bằng cách chống hoặc hấp thụ tia UV. Bởi vì trong thành phần chất phụ gia bột bắp, bột đậu nành và bột cà rốt đều chứa các hợp chất phenolics, có khả năng hấp thụ tia UV. Điều này phù hợp với nghiên cứu của Born *et al.* (2015) cho rằng trong bột cà rốt, bột bắp và bột đậu nành chứa các hợp chất phenolics có khả năng hấp thụ tia UV đặc biệt nằm trong dãy bước sóng 200-400 nm. Từ đó, kết quả này đã lý giải tại sao các nghiệm thức có kết hợp các chất

phụ gia như: bột đậu nành, bột bắp, bột cà rốt, có hiệu quả hơn nghiệm thức đối chứng không có chất phụ gia. Thực vậy, kết quả này mở ra một hướng nghiên cứu vô cùng khả thi về chất phụ gia giúp thực khuẩn thể tồn tại tốt trên môi trường khi áp dụng trong phòng trị bệnh vi khuẩn trên môi trường tán lá cây. Tuy nhiên, trong thí nghiệm này bột sữa gạo béo lại không cho hiệu quả vì tỷ lệ hạt bệnh trên bông không khác biệt với nghiệm thức chỉ có thực khuẩn thể không có chất phụ gia, trong khi theo Balogh *et al.* (2003), chất phụ gia là bột sữa gạo béo có khả năng duy trì mật số thực khuẩn thể trên lá trong phòng trị bệnh đốm lá cà do vi khuẩn *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* trong điều kiện nhà lưới và gần đây nhất tại Việt Nam, Huỳnh Thanh Suôi và *ctv.*, (2017) đã sử dụng bột sữa gạo béo là chất phụ gia hiệu quả nhất trong những chất phụ gia đã khảo sát giúp duy trì mật số thực khuẩn thể trên lá lúa để quản lý bệnh cháy bìa lá do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Các kết quả trên khác với kết quả trong thí nghiệm này có thể do một số nguyên nhân sau: (1) thực khuẩn thể định vị các vị trí khác nhau ví dụ như bột sữa gạo béo có hiệu quả khi phun trực tiếp trên lá trong khi thí nghiệm này bột sữa gạo béo được phun trên bông lúa, (2) nguồn thực khuẩn thể khác nhau và khác kí chủ.

Bảng 4: Tỷ lệ bệnh thối hạt do vi khuẩn *B. glumae* được xử lý bằng thực khuẩn thể Φ BurDT47a kết hợp với các chất phụ gia khác nhau

Nghiệm thức	Tỷ lệ hạt bệnh (%)			AUDPC
	5 NSKLB	15 NSKLB	25 NSKLB	
TKT+bột đậu xanh	1,61 b	8,72 b	31,28 a	211,3 b
TKT+bột đậu nành	1,45 b	8,72 b	11,81 c	145,3 cd
TKT+bột bắp	0,99 b	6,95 b	8,97 c	115,5 cd
TKT+bột cà rốt	1,32 b	6,04 b	7,73 c	101,4 d
TKT+ bột sữa gạo béo	1,25 b	6,65 b	24,54 ab	167,8 bc
TKT	1,41 b	7,02 b	20,51 b	156,9 bcd
Đối chứng	3,05 a	15,9 a	27,16 ab	333,4 a
Mức ý nghĩa	*	*	*	*
CV (%)	47,3	29,89	27,00	20,48

Ghi chú: Số liệu được chuyển sang arcsin trước khi xử lý thống kê. Các số trung bình trong một cột theo sau bởi một hoặc nhiều chữ giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa ở mức 5% qua phép thử Duncan. *: Khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5%

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

Tất cả 5 dòng TKT Φ BurVL34, Φ BurVL39, Φ BurDT47a, Φ BurDT48a, Φ BurAG58 đều thể hiện hiệu quả phòng trị bệnh, trong đó dòng thực khuẩn thể Φ BurDT47a có hiệu quả phòng trừ bệnh thối hạt do vi khuẩn *B. glumae* cao hơn còn lại. Tất cả 4 mật số TKT (10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 pfu/ml) đều thể hiện hiệu quả phòng trừ bệnh, trong đó 10^8 pfu/ml có hiệu quả phòng trừ bệnh thối hạt cao nhất. Ba chất phụ gia (bột cà rốt, bột bắp, bột đậu

nành) bổ sung vào huyền phù TKT có khả năng gia tăng hiệu quả phòng trị bệnh thối hạt.

Những nghiên cứu tiếp theo cần khảo sát sự tồn tại của dòng thực khuẩn thể Φ BurDT47a bổ sung chất phụ gia như bột cà rốt, bột bắp, bột đậu xanh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Adachi, N., Tsukamoto, S., Inoue, Y., and Azegami, K., 2012. Control of bacterial seedling rot and seedling blight of rice by bacteriophage. Plant disease. 96(7): 1033-1036.

- Balogh, B., 2002. Strategies for improving the efficacy of bacteriophages for controlling bacterial spot of tomato. Master thesis. University of Florida, Florida.
- Balogh, B., Jones, J.B., Momol, M.T., *et al.*, 2003. Improved efficacy of newly formulated bacteriophages for management of bacterial spot on tomato. *Plant Disease*. 87(8): 949-954.
- Born, Y., Bosshard, L., Duffy, B., Loessner, M. J., and Fieseler, L., 2015. Protection of *Erwinia amylovora* bacteriophage Y2 from UV-induced damage by natural compounds. *Bacteriophage*. 5(4): 1-20.
- Chien, C.C., Chang, Y.C., Liao, Y.M., and Ou, S.H., 1983. Bacterial grain rot of rice-a new disease in Taiwan. *Journal of Agricultural Research of China*, 32(4): 360-366.
- Frampton, R. A., Pitman A. R., Fineran P. C., 2012. Advances in bacteriophage-mediated control of plant pathogens. *International Journal of Microbiology*. 1-11.
- Jeong, Y., Kim, J., Kim, S., Kang, Y., Nagamatsu, T., and Hwang, I., 2003. Toxoflavin produced by *Burkholderia glumae* causing rice grain rot is responsible for inducing bacterial wilt in many field crops. *Plant disease*. 87(8), 890-895.
- Jones, J.B., Vallad, G.E., Iriarte, F.B., *et al.*, 2012. Considerations for using bacteriophages for plant disease control. *Bacteriophage*. 2(4): 208-214.
- Ham, J.H., Melanson, R.A., and Rush, M.C., 2011. *Burkholderia glumae*: next major pathogen of rice?. *Molecular plant pathology*. 12(4): 329-339.
- Huỳnh Thanh Suôi, Ngô Bá Tước và Nguyễn Thị Thu Nga, 2017. Nghiên cứu điều kiện tồn trữ và hiệu quả của chất bảo vệ sự tồn tại thực khuẩn thể trong quản lý bệnh cháy bìa lá lúa do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* trong điều kiện nhà lưới. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 53b: 71-78.
- Phạm Văn Kim, 2015. Các bệnh hại lúa quan trọng ở đồng bằng sông Cửu Long. Nhà Xuất bản Nông Nghiệp. Việt Nam. 55 trang.
- Phan Quốc Huy, Nguyễn Minh Trung, Hồ Cảnh Thịnh và Nguyễn Thị Thu Nga, 2016. Đánh giá hiệu quả của thực khuẩn thể trong phòng trừ bệnh thối hạt trên lúa do vi khuẩn *Burkholderia glumae*. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 45b: 70-78.
- Ou, S.H., 1985. *Rice Diseases*. Second Edition. Commonwealth Agricultural Bureaux. England. 411 pages.
- Nguyễn Ngọc Đệ, 2008. Giáo trình cây lúa. Viện nghiên cứu phát triển Đồng bằng sông Cửu Long. Trường Đại học Cần Thơ. Cần Thơ. 243 trang.
- Simko, I., and Piepho, H.P., 2011. The area under the disease progress stairs: Calculation, Advantage, and Application. *Phytopathology*. 102 (4): 381-389.
- Tsushima, S., Wakimoto, S., and Mogi, S., 1986. Selective medium for detecting *Pseudomonas glumae* Kurita et Tabei, the causal bacterium of grain rot of rice. *Japanese Journal of Phytopathology*. 52(2): 253-259.
- Yuan, X., 2004. Identification of bacterial pathogens causing panicle blight of rice in Louisiana. Master thesis. Louisiana State University, Louisiana State.