

KHẢO SÁT MÔ HỌC VỀ KHẢ NĂNG KÍCH KHÁNG LƯU DẪN CỦA BENZOIC ACID, CLORUA ĐỒNG VÀ CHITOSAN ĐỐI VỚI BỆNH CHÁY LÁ LÚA DO NẤM *Pyricularia grisea* (COOK) SACC.

Trần Thị Thu Thủy¹, Nguyễn Hồng Tín², Đặng Thị Tho¹,
Huỳnh Minh Châu¹ và Phạm Văn Kim¹

ABSTRACT

*Histological studies on the ability of systemic acquired resistance (SAR) of benzoic acid, copper chloride and chitosan against rice blast disease were conducted in 2005 to evaluate the ability of SAR of these chemicals when challenged with a race of *Pyricularia grisea* encoded 103.4 based on cellular reaction and H₂O₂ accumulation. The experiments were carried out with completely randomized block design on susceptible cultivar OMCS2000 and resistant cultivar MTL265 used as a positive control. The susceptible cultivar was induced by seed soaking with either benzoic acid (0.5 mM), copper chloride (0.05 mM) or chitosan (200 ppm) for 24 hours before incubation and sowing and challenged with the concentration of 50,000 spores /ml at fifth-leaf stage. Samples were collected at 24 and 48 hours after challenge (hac) for observation of cellular reaction and 0, 4, 8, 12, 16, 18, 20, 24, 36, 48 hac for observation of H₂O₂ accumulation. Results showed that benzoic acid, copper chloride and chitosan had ability of SAR by induction of fluorescent epidermal cells, fluorescent cell walls and H₂O₂ accumulation.*

Keywords: Blast disease, *Pyricularia grisea*, systemic acquired resistance (SAR), H₂O₂ accumulation, fluorescent epidermal cells and fluorescent cell walls

Title: Histopathological studies on ability of systemic acquired resistance of benzoic acid, copper chloride and chitosan against rice blast disease caused by *Pyricularia grisea*

TÓM TẮT

Khảo sát mô học về khả năng kích thích tính kháng bệnh lưu dẫn (SAR) của benzoic acid, clorua đồng và chitosan đối với bệnh cháy lá lúa được thực hiện năm 2005 nhằm đánh giá khả năng kích thích tính kháng lưu dẫn của ba hóa chất này đối với bệnh cháy lá lúa khi được phun nấm *Pyricularia grisea* có mã số nòi 103,4 dựa trên phản ứng của tế bào và sự tích tụ H₂O₂. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức khối hoàn toàn ngẫu nhiên trên giống lúa nhiễm OMCS2000 và giống kháng MTL256 được sử dụng như một đối chứng dương. Giống lúa nhiễm được kích kháng bằng cách ngâm hạt trong benzoic acid (0,5 mM), clorua đồng (0,05 mM) hoặc chitosan (200 ppm) trong 24 giờ trước khi ủ và gieo, phun nấm tấn công với mật số 50.000 bào tử/ml khi lúa có lá thứ 5. Mẫu lá bệnh được thu thập vào thời điểm 24 và 48 giờ sau khi phun nấm tấn công (GSTC) để nghiên cứu sự phát sáng tế bào và ở các thời điểm 0, 4, 8, 12, 16, 18, 20, 24, 36, 48 GSTC để nghiên cứu sự tích tụ H₂O₂. Kết quả cho thấy benzoic acid, clorua đồng và chitosan có khả năng kích thích tính kháng bệnh thông qua làm gia tăng phần trăm đĩa áp tạo sự phát sáng tế bào, vách tế bào và sự tích tụ H₂O₂ trong tế bào.

Từ khóa: Bệnh cháy lá, *Pyricularia grisea*, kích thích tính kháng bệnh lưu dẫn (SAR), sự tích tụ H₂O₂, sự phát sáng tế bào và vách tế bào

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Kích thích tính kháng bệnh lưu dẫn (systemic acquired resistance, SAR) là phương pháp đã và đang được các nhà khoa học nghiên cứu và ứng dụng để quản lý bệnh

¹ Bộ Môn Bảo Vệ Thực Vật, Khoa Nông Nghiệp & Sinh Học Ứng Dụng

² Viện Nghiên Cứu và Phát Triển Đồng Bằng Sông Cửu Long

hại cây trồng (Steiner & Schonbeck, 1993; Kessmann *et al.*, 1994). Các tác nhân kích kháng bao gồm cả tác nhân sinh học và tác nhân hóa học, nhiều tác nhân có khả năng giúp cây lúa chống bệnh cháy lá (đạo ôn) đã được công bố trên thế giới và ở Việt Nam. Trong các tác nhân hóa học đã được tuyển chọn cho thấy có hiệu quả giảm bệnh tốt như clorua đồng, benzoic acid, acibenzolar-S-methyl, di-potassium hydrogen phosphat, oxalic acid và natri tetraborat (Manandhar, 1998; Diệp Đông Tùng, 2000; Trịnh Ngọc Thúy, 2000; Huỳnh Minh Châu, 2003; Phạm Văn Dư *et al.*, 2004; Phạm Văn Kim *et al.*, 2004) được xử lý hạt hoặc phun lên lá cũng có khả năng kích thích tính kháng. Tuy nhiên, hiệu quả kích kháng của các hóa chất trên chưa được đánh giá dựa trên phản ứng của tế bào ký chủ. Do đó đề tài được thực hiện nhằm đánh giá khả năng kích kháng bệnh cháy lá lúa của 3 hóa chất benzoic acid, clorua đồng và chitosan thông qua sự phát sáng tế bào và sự tích tụ H₂O₂.

2 PHƯƠNG PHÁP

2.1 Khảo sát khả năng kích thích tính kháng lưu dẫn của hóa chất thông qua sự phát sáng tế bào

Khảo sát phản ứng phát sáng tế bào được thực hiện trên giống lúa nhiễm OMCS2000 và giống kháng MTL265 được sử dụng như đối chứng dương. Kích thích tính kháng trên giống nhiễm bằng cách ngâm hạt với các hóa chất kích kháng là acid benzoic (0,5 mM), chitosan (200 ppm) hoặc CuCl₂ (0,05 mM) và nước cất (đối chứng) trong 24 giờ, sau đó ủ trong đĩa petri có lót khoảng 2 mm giấy thấm và 20 ml nước cất. Khi cây lúa được 17 ngày tuổi (lá thứ 5), chuyển vào phòng chủng bệnh và cố định lá lúa trước khi phun nấm tấn công theo phương pháp của Jorgensen *et al.* (1998). Mẫu lá được thu vào thời điểm 24 và 48 giờ sau khi chủng nấm tấn công (GSTC) bằng cách cắt lá thành những đoạn dài 4 cm, tẩy diệp lục tố bằng dung dịch ethanol : acetic acid (3:1) và tồn trữ trong dung dịch lactoglycerol (lactic acid : glycerol : nước cất với tỉ lệ 1: 1: 1) cho đến khi quan sát. Trên mỗi nghiệm thức quan sát 4 lá, mỗi lá quan sát ngẫu nhiên 25 đĩa áp. Lá được quan sát dưới kính hiển vi huỳnh quang (bước sóng 400-440 nm) bằng dung dịch Aniline Blue (0,01%) theo phương pháp của Jorgensen *et al.* (1998). Ở mỗi đĩa áp ghi nhận có hay không có phản ứng phát sáng của tế bào, loại tế bào phát sáng (tế bào biểu bì hoặc tế bào thịt lá) và các mức độ phát sáng: + (tế bào phát sáng có màu vàng nhạt), ++ (tế bào phát sáng có màu vàng) và +++ (tế bào phát sáng có màu vàng đậm). Đối với đĩa áp tạo sự phát sáng tế bào biểu bì được phân biệt thành 2 dạng phát sáng là phát sáng vách đơn tế bào và vách đa tế bào. Từ đó suy ra phần trăm đĩa áp tạo sự phát sáng tế bào, tế bào thịt lá, phần trăm đĩa áp tạo sự phát sáng tế bào ở mức độ +, ++ và +++ và số lượng vách tế bào phát sáng trên mỗi đĩa áp.

2.2 Khảo sát khả năng kích thích tính kháng của hóa chất thông qua sự tích tụ hydrogen peroxide (H₂O₂)

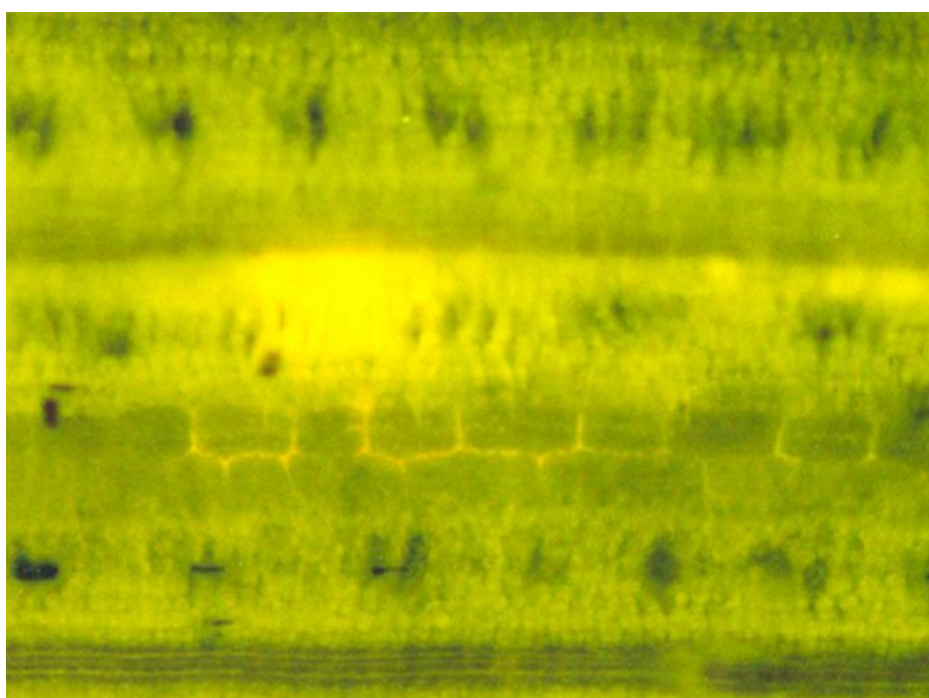
Khảo sát sự tích tụ H₂O₂ ở tế bào lá lúa cũng được thực hiện trong điều kiện nhà lưới tương tự như khảo sát sự phát sáng tế bào. Mẫu bệnh được thu thập ở các thời điểm 0, 4, 8, 12, 16, 18, 20, 24, 36 và 48 GSTC, sau đó nhuộm DAB (3,3-Diaminobenzidine) ở pH 3,5 trong 8 giờ theo phương pháp của Thordal-

Christensen *et al.* (1997). Sau khi nhuộm mẫu lá được cắt thành từng đoạn dài 4 cm, tẩy diệp lục tố và tồn trữ cho đến khi quan sát tương tự như thí nghiệm trên. Sự tích tụ H₂O₂ được biểu hiện ở tế bào bên dưới đĩa áp có màu nâu đỏ khi quan sát dưới kính hiển vi thường. Ghi nhận các chỉ tiêu về số đĩa áp tạo sự tích tụ H₂O₂, diện tích H₂O₂ được tổng hợp và các mức độ tích tụ H₂O₂ tế bào ở mức độ +, ++ và +++.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Khảo sát sự phát sáng của tế bào lá lúa

Sự phát sáng của tế bào lá lúa được quan sát ở 24 và 48 giờ sau khi phun nấm tấn công bằng kính hiển vi huỳnh quang. Dưới ánh sáng huỳnh quang, những tế bào có phản ứng phát sáng sẽ có màu vàng sáng (Hình 1).



Hình 1: Sự phát sáng tế bào ở thời điểm 48 giờ sau khi phun nấm tấn công

Bảng 1: Phản ứng phát sáng tế bào ở thời điểm 24 giờ sau khi chủng nấm tấn công

Nghiệm thức	% đĩa áp tạo phát sáng ^{2/}	Số vách tế bào phát sáng/đĩa áp
Acid benzoic	0,9 b	2,8 ab
Copper chloride	3,4 a	3,4 ab
Chitosan	2,2 ab	1,6 ab
Đối chứng nhiễm	0,5 b	0,0 b
Đối chứng kháng	2,7 ab	8,6 a
Mức ý nghĩa	*	*
CV (%)	35,74	39,17

Trong cùng một cột các trung bình có cùng mẫu tự theo sau khác biệt không ý nghĩa qua phép thử Duncan ở mức ý nghĩa 5%. Số liệu được chuyển sang: logx (1/) và arcsin (2/) khi xử lý thống kê.

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy ở thời điểm 24 giờ sau khi chủng nấm tấn công, tỷ lệ đĩa áp tạo phát sáng tế bào cao nhất chỉ 3,4% khi được kích kháng bởi clorua đồng, khác biệt so với đối chứng nhiễm không kích kháng (0,5%). Điều này cũng được ghi nhận tương tự như kết quả nghiên cứu của Huỳnh Minh Châu *et al.* (2003) khi

kích kháng bằng clorua đồng cho thấy phần trăm đĩa áp tạo phản ứng phát sáng cao (3,0 %) khác biệt so với không kích kháng (0,0 %). Trong khi đó, số vách tế bào phát sáng, diện tích tế bào phát sáng trung bình trên mỗi đĩa áp và các mức độ phát sáng không khác nhau trên tất cả các nghiệm thức.

Ở thời điểm 48 giờ sau khi phun nấm tấn công, phần trăm đĩa áp tạo phát sáng xuất hiện cao hơn so với thời điểm 24 giờ và mức độ phát sáng cũng tăng lên đến mức +++.

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy nghiệm thức xử lý clorua đồng, benzoic acid và chitosan có phần trăm đĩa áp tạo phản ứng phát sáng tế bào, số vách tế bào phát sáng trung bình trên mỗi đĩa áp cao hơn so với đối chứng trên giống nhiễm và tương đương với đối chứng trên giống kháng. Tuy nhiên, số vách tế bào và diện tích tế bào phát sáng trung bình trên mỗi đĩa áp và các mức độ phát sáng ++, +++ không khác nhau trên tất cả các nghiệm thức xử lý kích kháng và không xử lý kích kháng qua phân tích thống kê.

Bảng 2: Phản ứng phát sáng tế bào ở thời điểm 48 giờ sau khi chủng nấm tấn công

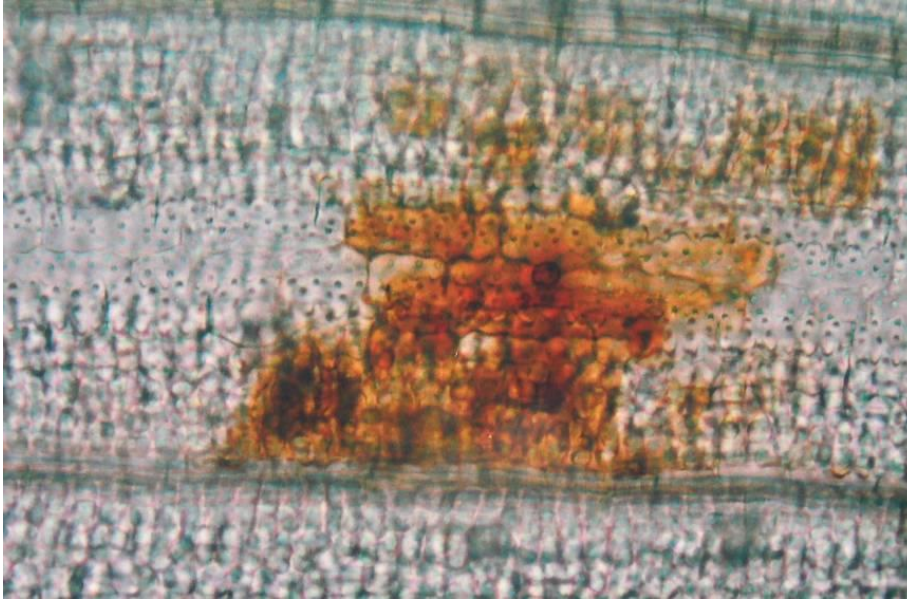
Nghiệm thức	% đĩa áp tạo phát sáng ^{2/}	Số vách tế bào phát sáng/đĩa áp	Diện tích tế bào thịt lá phát sáng/đĩa áp ^{1/}	% đĩa áp tạo phát sáng ở các mức độ ^{2/}	
				++	+++
Acid benzoic	32,6 a	161,4 a	1353,8	10,8	89,2
Copper chloride	34,5 a	117,1 a	1264,8	19,3	80,7
Chitosan	34,2 a	148,5 a	1494,4	22,9	77,2
Đối chứng nhiễm	8,2b	17,6 b	683,4	26,8	60,7
Đối chứng kháng	29,7 a	98,9a	1338,4	32,4	69,1
Mức ý nghĩa		*	ns	ns	Ns
CV (%)	21,18	9,2	15,56	35,2	16,41

Trong cùng một cột các trung bình có cùng mẫu tự theo sau khác biệt không ý nghĩa qua phép thử Duncan ở mức ý nghĩa 5%. Số liệu được chuyển sang: logx (1/) và arcsin (2/) khi xử lý thống kê.

Qua kết quả khảo sát về khả năng kích kháng của 3 hóa chất trên khía cạnh mô học cho thấy cả 3 chất kích kháng clorua đồng, benzoic acid và chitosan đều có khả năng kích thích cây lúa chống lại bệnh cháy lá thể hiện qua phần trăm đĩa áp tạo phản ứng phát sáng tế bào và số lượng vách tế bào phát sáng tạo ra trên mỗi đĩa áp cao. Trong đó nghiệm thức xử lý clorua đồng thể hiện khả năng kích kháng sớm hơn các nghiệm thức xử lý bằng benzoic acid hoặc chitosan.

3.2 Khảo sát sự tích tụ hydrogen peroxide (H₂O₂)

Khảo sát sự tích tụ H₂O₂ của tế bào lá lúa được quan sát ở các thời điểm 0, 4, 8, 12, 16, 18, 20, 24, 36 và 48 GSTC. Sự tích tụ H₂O₂ được biểu hiện ở tế bào bên dưới đĩa áp có màu nâu đỏ khi quan sát dưới kính hiển vi thường (Hình 2). Kết quả quan sát ở các thời điểm từ 4 đến 18 GSTC cho thấy chưa có sự tích tụ H₂O₂ trên tất cả các nghiệm thức. Tuy nhiên, đến thời điểm 20 GSTC, sự tích tụ H₂O₂ xuất hiện trên tất cả các nghiệm thức kể cả trên đối chứng. Theo kết quả nghiên cứu của Huỳnh Minh Châu *et al.* (2004) ghi nhận sự tổng hợp H₂O₂ xuất hiện muộn hơn (24 GSTC). Sự khác biệt này có thể do sự khác nhau về giống lúa và nòi nấm tấn công.



Hình 2: Sự tổng hợp H₂O₂ ở thời điểm 48 giờ sau khi phun nấm tấn công

Nhìn chung, vào thời điểm 20 GSTC trên giống nhiễm không được kích kháng sự tích tụ H₂O₂ trong tế bào rất thấp so với các nghiệm thức có xử lý kích kháng. Kết quả ở Bảng 3 cho thấy tỷ lệ đĩa áp tạo sự tích tụ H₂O₂ tế bào giữa các nghiệm thức kích kháng cao hơn và khác biệt so với đối chứng nhiễm không xử lý kích kháng. Trên nghiệm thức clorua đồng, tỷ lệ đĩa áp tạo sự tích tụ H₂O₂ tế bào là 42,0%, benzoic acid là 41,2% và chitosan là 27,8% và đối chứng không xử lý kích kháng là 1,4%. Đặc biệt, hai nghiệm thức được kích kháng bởi clorua đồng và benzoic acid có tỷ lệ đĩa áp tạo sự tích tụ H₂O₂ tế bào cao tương đương trên giống kháng. Sự tích tụ H₂O₂ ở tế bào thịt lá cũng xuất hiện vào thời điểm này trên tất cả các nghiệm thức có xử lý kích kháng, khác biệt ý nghĩa so với đối chứng nhiễm. Trong đó, clorua đồng cho tỷ lệ đĩa áp tạo sự tích tụ H₂O₂ tương đương trên giống kháng. Ngoài ra, kết quả ở Bảng 3 cũng cho thấy tỷ lệ đĩa áp tạo sự tích tụ H₂O₂ đơn tế bào, đa tế bào, mức độ tích tụ H₂O₂ +, ++, và diện tích tế bào tích tụ H₂O₂ ở các nghiệm thức có xử lý kích kháng đều cao hơn nghiệm thức đối chứng nhiễm. Trong đó, benzoic acid có khả năng kích kháng thông qua tỷ lệ đĩa áp tạo sự tích tụ H₂O₂ đơn tế bào, đa tế bào, mức độ tích tụ H₂O₂ + và ++ cao tương đương trên giống kháng. Đặc biệt, clorua đồng ngoài khả năng kích kháng thông qua tỷ lệ đĩa áp tạo sự tích tụ H₂O₂ đơn tế bào, mức độ tích tụ H₂O₂ + và ++ cao còn có khả năng kích kháng thông qua việc gia tăng mức độ tích tụ H₂O₂ đạt mức +++ và diện tích tế bào có sự tích tụ H₂O₂ cao, tương đương trên giống kháng.

Ở thời điểm 24 GSTC, trong 3 hóa chất kích kháng chỉ có clorua đồng và chitosan thể hiện khả năng kích kháng. Chitosan chỉ thể hiện khả năng kích kháng thông qua tỷ lệ đĩa áp tạo sự tích tụ H₂O₂ tế bào thịt lá. Ngược lại, clorua đồng không những thể hiện khả năng kích kháng thông qua tỷ lệ đĩa áp tạo sự tích tụ H₂O₂ tế bào thịt lá mà còn thể hiện khả năng kích kháng thông qua tỷ lệ đĩa áp tạo sự tích tụ H₂O₂ tế bào, sự tích tụ H₂O₂ đa tế bào, mức độ tích tụ H₂O₂ ++ và +++ cao. Trong đó, tỷ lệ đĩa áp tạo sự tích tụ H₂O₂, sự tích tụ H₂O₂ tế bào thịt lá và mức độ tích tụ H₂O₂ +++ cao hơn trên giống kháng (Bảng 3).

Đến thời điểm 36 GSTC, cả ba hóa chất kích kháng đều thể hiện khả năng kích kháng thông qua sự tích tụ H_2O_2 tế bào thịt lá, mức độ tích tụ H_2O_2 ++ và diện tích tế bào có sự tích tụ H_2O_2 cao. Benzoic acid còn có khả năng kích kháng thông qua sự tích tụ H_2O_2 đơn tế bào. Đặc biệt, chitosan còn thể hiện khả năng kích kháng thông qua tỷ lệ đĩa áp tạo sự tích tụ H_2O_2 tế bào, sự tích tụ H_2O_2 đa tế bào và mức độ tích tụ H_2O_2 +++ cao tương đương trên giống kháng (Bảng 4).

Đến thời điểm 48 GSTC, trong 3 hóa chất kích kháng chỉ có clorua đồng và chitosan có khả năng kích kháng thông qua tỷ lệ đĩa áp tạo sự tích tụ H_2O_2 tế bào thịt lá cao hơn nghiệm thức đối chứng nhiễm. Ngoài ra, chitosan còn có khả năng kích kháng qua tỷ lệ đĩa áp tạo sự tích tụ H_2O_2 tế bào thịt lá cao hơn trên giống kháng và diện tích tế bào tích tụ H_2O_2 trên đĩa áp tương đương trên giống kháng (Bảng 4).

Qua kết quả khảo sát khả năng kích thích tính kháng bệnh cháy lá *Pyricularia grisea* của 3 hóa chất thông qua sự tích tụ H_2O_2 ở 4 thời điểm cho thấy cả 3 hóa chất đều có khả năng kích kháng và có sự bùng phát phản ứng oxy hóa ở thời điểm 20 và 36 giờ sau khi chủng nấm tấn công. Cả 3 hóa chất đều thể hiện khả năng kích kháng thông qua tỷ lệ đĩa áp tạo sự tích tụ H_2O_2 , tỷ lệ đĩa áp tạo sự tích tụ H_2O_2 tế bào thịt lá, đơn tế bào, đa tế bào, mức độ +, ++ và diện tích tế bào có sự tích tụ H_2O_2 cao. Benzoic acid chỉ biểu hiện khả năng kích kháng thông qua sự tích tụ H_2O_2 ở thời điểm 20 và 36 GSTC. Trong khi đó, clorua đồng và chitosan thể hiện khả năng kích kháng ở cả 4 thời điểm quan sát và còn có khả năng làm gia tăng mức độ tích tụ H_2O_2 (+++), trong đó clorua đồng thể hiện khả năng kích kháng sớm hơn (20 GSTC) và chitosan thể hiện muộn (36 GSTC). Ngoài ra, clorua đồng và chitosan còn có khả năng kích kháng thông qua sự tích tụ H_2O_2 tế bào thịt lá kéo dài đến 48 GSTC. Riêng chitosan còn có khả năng làm gia tăng diện tích tế bào tích tụ H_2O_2 trên đĩa áp ở 48 GSTC.

Hydrogen peroxide (H_2O_2) là một trong những hợp chất tương đối bền được tạo ra trong phản ứng oxy-hóa khử (Thordal-Christensen *et al.*, 1997; Talarczyk & Hennig, 2001). Đây là một phản ứng xảy ra rất sớm, nhanh và có liên quan đến tính kháng bệnh của cây trồng đã được ghi nhận qua nhiều công trình nghiên cứu (Chen *et al.*, 1993; Mehdy, 1994; van Loon, 2000). Hợp chất H_2O_2 được tạo ra trong phản ứng oxy hóa là một hợp chất độc đối với mầm bệnh và có thể dẫn đến sự chết tế bào (phản ứng siêu nhạy cảm) (Levine *et al.*, 1994; Lamb & Dixon, 1997; Wojtaszek, 1997; Huckelhoven *et al.*, 1999; Vacacker *et al.*, 2000) hoặc liên kết chéo (cross-linking) làm vững chắc vách tế bào (Foyer *et al.*, 1994; Levine *et al.*, 1994; Talarczyk & Hennig, 2001). Do đó, nếu so sánh kết quả về sự phát sáng tế bào và sự tổng hợp H_2O_2 ở thời điểm 24 và 48 GSTC cho thấy đối với nghiệm thức xử lý bằng clorua đồng có tỷ lệ đĩa áp tạo sự tích tụ H_2O_2 cao đồng thời có tỷ lệ đĩa áp tạo phản ứng phát sáng tế bào và vách tế bào cũng cao. Điều này cho thấy có sự trùng hợp về sự phát sáng tế bào và sự tích tụ H_2O_2 ở 2 thời điểm trên. Thêm vào đó, có sự bùng phát phản ứng oxy hóa ở thời điểm 20 và 36 GSTC chứng tỏ có thể có xảy ra phản ứng siêu nhạy cảm đồng thời cũng có thể có sự liên kết chéo làm vững chắc vách tế bào do sự tổng hợp các hợp chất như lignin, callose, phenol ở 48 GSTC.

Bảng 3: Sự tổng hợp H₂O₂ trong tế bào lá lúa khi được kích kháng bởi các hóa chất ở thời điểm 20 và 24 GSTC

Nghiệm Thử	Tỉ lệ đĩa áp có sự tích tụ hợp chất H ₂ O ₂ (%)							Diện tích TB tích tụ H ₂ O ₂ /app
	Đĩa áp tổng hợp H ₂ O ₂	TB thịt lá	Đơn TB	Đa tế bào	Mức độ +	Mức độ ++	Mức độ +++	
Thời điểm 20 giờ								
Benzoic acid	41,2ab	12,2 b	4,3 b	24,7ab	13,6a	22,9a	4,6 bc	8,6 b
Clorua đồng	42,0ab	18,4ab	9,9a	13,7 b	9,0a	14,7ab	18,2ab	20,7ab
Chitosan	27,8 b	9,3 b	6,0ab	12,5 b	9,9a	13,2 b	4,6 bc	6,7 b
Đối chứng nhiễm	1,4 c	1,0 c	0,5 c	0,0 c	0,5 b	1,0 c	0,0 c	0,2 c
Đối chứng kháng	66,5a	25,7a	5,4ab	35,4a	5,4a	20,9ab	40,2a	46,1a
Mức ý nghĩa	*	*	*	*	*	*	*	*
CV (%)	26,3	20,0	19,1	30,0	26,0	14,5	49,6	19,6
Thời điểm 24 giờ								
Benzoic acid	20,2 b	8,3abc	4,8	7,1 b	9,5	10,7ab	0,0 b	1,9
Clorua đồng	55,0a	19,3a	9,2	26,5a	20,4	22,3a	12,3a	7,6
Chitosan	31,7ab	15,9ab	7,8	8,0ab	14,4	14,7ab	2,7 b	5,6
Đối chứng nhiễm	17,3 b	4,0 c	8,9	4,4 b	11,7	5,6 b	0,0 b	0,2
Đối chứng kháng	20,8 b	5,6 bc	5,8	9,4ab	7,2	13,7ab	0,0 b	2,0
Mức ý nghĩa	*	*	ns	*	ns	*	*	ns
CV (%)	18,5	28,5	40,6	36,1	26,8	23,1	25,7	20,8

Trong cùng một cột các trung bình có cùng mẫu tự theo sau không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử Duncan. Số liệu được chuyển sang: arcsin√x, √x⁽¹⁾ và logx⁽²⁾ khi xử lý thống kê.

Bảng 4: Sự tổng hợp H₂O₂ trong tế bào lá lúa khi được kích kháng bởi các hóa chất ở 36 và 48 GSTC

Nghiệm Thử	Tỉ lệ đĩa áp có sự tích tụ hợp chất H ₂ O ₂ (%)							Diện tích TB tổng hợp H ₂ O ₂ /đĩa áp ⁽²⁾
	Tỷ lệ đĩa áp ⁽¹⁾	TB thịt lá	Đơn TB	Đa tế bào	Mức độ +	Mức độ ++	Mức độ +++	
Thời điểm 36 giờ								
Benzoic acid	46,8 bc	21,3ab	14,8a	10,7 c	13,7ab	22,2 b	10,9ab	8,2ab
Clorua đồng	39,8 bc	13,8ab	7,8ab	18,2 bc	8,2 c	24,9 b	6,ab	4,6 b
Chitosan	60,8ab	12,7 b	11,3ab	36,8ab	14,5ab	25,1 b	21,1a	6,6 b
Đối chứng nhiễm	17,7 c	3,3 c	5,3 b	9,1 c	10,1 bc	7,7 c	0,0 b	0,7 c
Đối chứng kháng	79,3a	24,8a	8,8ab	45,7a	15,4a	37,6a	26,3a	20,4a
Mức ý nghĩa	*	*	*	*	*	*	*	*
CV (%)	22,9	18,2	19,7	26,2	9,8	13,0	52,6	19,6
Thời điểm 48 giờ								
Benzoic acid	49,3	17,5 bc	3,0	28,9	21,3	17,3	10,8	8,2ab
Clorua đồng	56,6	19,2ab	8,9	28,5	11,9	24,1	20,6	6,1ab
Chitosan	59,6	28,0a	4,9	26,8	19,3	23,1	17,2	18,8a
Đối chứng nhiễm	32,6	9,9 c	3,9	18,8	14,4	12,6	5,7	1,9 b
Đối chứng kháng	60,8	14,3 bc	10,8	35,8	19,9	27,2	13,7	6,3ab
Mức ý nghĩa	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	*
CV (%)	19,8	13,3	33,2	30,8	16,9	28,8	49,2	10,4

Trong cùng một cột các trung bình có cùng mẫu tự theo sau không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử Duncan. Số liệu được chuyển sang: arcsin√x, √x⁽¹⁾ và logx⁽²⁾ khi xử lý thống kê.

4 KẾT LUẬN

- Cả 3 hóa chất đều có khả năng kích kháng thông qua phản ứng phát sáng của tế bào thể hiện qua tỷ lệ đĩa áp tạo phản ứng phát sáng tế bào và số vách tế bào phát sáng cao. Trong đó, clorua đồng có khả năng kích thích tạo phản ứng phát sáng sớm hơn benzoic acid và chitosan.
- 3 hóa chất kích kháng đều có khả năng kích thích cây lúa gia tăng sự tổng hợp H₂O₂ thông qua tỷ lệ đĩa áp tạo sự tổng hợp H₂O₂ tế bào, tỷ lệ đĩa áp tạo sự tổng hợp H₂O₂ tế bào thịt lá, đơn tế bào, đa tế bào, diện tích tế bào tích tụ H₂O₂ và các mức độ tổng hợp H₂O₂ +, ++. Đặc biệt, clorua đồng có khả năng kích kháng thông qua tỷ lệ đĩa áp tạo sự tích tụ H₂O₂, tỷ lệ đĩa áp tạo sự tổng hợp H₂O₂ tế bào thịt lá, đơn tế bào, đa tế bào, diện tích tế bào tổng hợp H₂O₂ và các mức độ tổng hợp H₂O₂ +, ++, +++ cao hơn hoặc tương đương trên giống kháng. Benzoic acid có khả năng kích kháng thông qua tỷ lệ đĩa áp tạo sự tổng hợp H₂O₂, đơn tế bào, diện tích tế bào tổng hợp H₂O₂ và mức độ tổng hợp H₂O₂ +, ++ cũng cao hơn hoặc tương đương trên giống kháng. Chitosan cũng có khả năng kích kháng thông qua tỷ lệ đĩa áp tạo sự tổng hợp H₂O₂ tế bào thịt lá, đơn tế bào, đa tế bào và mức độ +, +++ cao hơn hoặc tương đương trên giống kháng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Chen, Z., H. Silva and D.F. Klessig. 1993. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. *Science* 262: 1883 – 1886.
- Diệp Đông Tùng. 2000. Khảo sát đặc tính kích kháng của hóa chất Bion 50WG chống bệnh cháy lá (*Pyricularia grisea*). Luận án thạc sĩ khoa học Nông Học, Trường Đại Học Cần Thơ.
- Foyer, C.H., M.L. Elandais, K.J. Kunert. 1994. Photooxidative stress in plants. *Physiol. Plant* 92: 696-717.
- Huckelhoven, R., J. Fodor, C. Preis and K.H. Kogel. 1999. Hypersensitive cell death and papilla formation in barley attacked by the powdery mildew fungus are associated with hydrogen peroxide but not salicylic acid accumulation. *Plant Physiol.* 119: 1251 – 1260.
- Huỳnh Minh Châu. 2003. Sinh học về sự xâm nhiễm của nấm *Pyricularia grisea* trên lúa và khả năng kích thích tính kháng bệnh cháy lá của clorua đồng và acibenzolar-S-methyl trên khía cạnh mô học. Luận án thạc sĩ khoa học Nông Học. Trường Đại Học Cần Thơ.
- Huỳnh Minh Châu, Trần Thị Thu Thủy và Phạm Văn Kim. 2003. So sánh khả năng kích kháng bệnh cháy lá lúa (*Pyricularia grisea*) của clorua đồng và acibenzolar – S – methyl trên khía cạnh mô học. Tạp Chí Khoa Học Đại Học Cần Thơ, chuyên ngành: Bảo Vệ Thực Vật. Trường Đại học Cần Thơ. Trang 10-15.
- Jorgensen, H.J.L., P.S. Liibeck, H.Thordal-Christensen, E. de Neergaard and V. Smedegaard-Petersen. 1998. Mechanisms of induced resistance in barley against *Drechslera teres*. *Phytopathology* 88: 698-707.
- Kessmann, H., T. Staub, C. Hofmann, T. Maetzke, J. Hezog, E. Ward, S. Uknes and T. Ryals. 1994. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. *Ann. Rev. Phytopathol.* 32: 439 – 459.
- Lamb, C. J. and R.A Dixon. 1997. The oxidative burst in plant disease resistance. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 251-275.
- Levine, A., R. Tenhaken, R. Dixon, C. Lamb. 1994. H₂O₂ from the oxidative burst orchestrate the plant hypersensitive disease resistance response. *Plant Biology Laboratory* 79 (4): 583-593.

- Manandhar, H.K., H.J. Lyngs Jorgensen, S.B. Mathur and V.Smedegaard-petersen. 1998. Resistance to rice blast induced by ferri chloride, Di-potassium hydrogen phosphat and silicilic acid. *Crop Protection* 17 (14): 323-329.
- Mehdy, M.C. 1994. Active oxygen species in plant defense against pathogen. *Plant Physiology* 105: 467-472.
- Phạm Văn Dư, Lê Cẩm Loan và Nguyễn Bé Sáu. 2004. Kết quả nghiên cứu chất kích kháng và khả năng ứng dụng trong quản lý bệnh cháy lá *Pyricularia grisea* trên lúa ở đồng bằng sông Cửu Long. Hội thảo: Kích thích tính kháng bệnh lưu dẫn trên lúa. NXB Nông nghiệp, Trang: 9-25.
- Phạm Văn Kim, Eigil de Neergaard, Hans Jorgen Lyngs Jorgensen, Hunthrike Shekar Shetty và Viggo Smedegaard-Petersen. 2004. Ứng dụng nguyên lý kích thích tính kháng bệnh lưu dẫn như biện pháp sinh học đối với bệnh cháy lá lúa *Pyricularia grisea* tại Đồng bằng sông Cửu Long. Hội thảo: Kích thích tính kháng bệnh lưu dẫn trên lúa. NXB Nông nghiệp, Trang: 3-8.
- Steiner, U. and F. Schonbeck. 1993. Induced resistance as a means of plant disease control.. In Altman, J. (eds). *Pesticide interactions in Crop Production Beneficial and Deleterous Effects*. SRC press. Pp. 495-509.
- Talarczyk, A and Hennig. 2001. Early defence response in plants infected with pathogenic organisms. *Celluar and Molecular Biology Letters* 6: 955-970.
- Thordal-Christensen, H.; Zhang, Z.; Wei, Y. & Collinge, D. B. 1997. Subcellular localization of H₂O₂ in plants: H₂O₂ accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley-powdery mildew interaction. *Plant Journal* 11: 1187-1194.
- Trịnh Ngọc Thúy. 2000. Chọn lọc hóa chất có khả năng kích thích tính kháng bệnh cháy lá lúa (*Pyricularia grisea*) ở giai đoạn cây lúa non. Luận văn tốt nghiệp đại học. Trường Đại Học Cần Thơ.