

## SELECTION OF EFFECTIVE *Bacillus* STRAINS TO CONTROL BACTERIAL LEAF BLIGHT OF RICE CAUSED BY THE *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ISOLATED FROM SOME RICE GROWING AREAS IN THE MEKONG DELTA

Ho Xuan Uyen\*, Tran Vu Phen, Phung Ngoc Yen Phuong

College of Agriculture – Can Tho University

| ARTICLE INFO                                                                                                                                             | ABSTRACT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><b>Received:</b> 06/9/2023</p> <p><b>Revised:</b> 17/10/2023</p> <p><b>Published:</b> 18/10/2023</p>                                                  | <p>This research investigated the ability to control bacterial leaf blight (BLB) of rice caused by three strains of <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> (Xoo) of 10 strains of <i>Bacillus</i> spp. based on its <i>in vitro</i> antagonistic ability to Xoo, and its effectiveness in BLB disease suppression under greenhouse conditions. Each experiment consisted of 2 factors, completely randomized design, with 4 replications. The results showed that 3 strains of <i>Bacillus</i>, i.e. BR15, B42 and B61 showed very strong antagonistic activity against all three strains of Xoo, with the inhibition zone radius at 7 days of 17.93 mm, 14.93 and 14.53 mm, respectively. Under net house conditions, all three strains B42, B61 and BR15 showed high BLB disease suppression, in which, strain BR15 had superior (48.94%), with higher efficiency than the control (Starnier 20WP). Consequently, it can be seen that BR15 is a promising <i>Bacillus</i> strain and can be used for further study in the production of biological products.</p> |
| <p><b>KEYWORDS</b></p> <p><i>Bacillus</i></p> <p>Bacterial leaf blight</p> <p><i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i></p> <p>Control</p> <p>Rice</p> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |

## TUYỂN CHỌN VI KHUẨN *Bacillus* CÓ HIỆU QUẢ KIỂM SOÁT BỆNH CHÁY BÌA LÁ LÚA DO VI KHUẨN *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* PHÂN LẬP TỪ MỘT SỐ VÙNG TRỒNG LÚA Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Hồ Xuân Uyển\*, Trần Vũ Phấn, Phùng Ngọc Yến Phương

Trường Nông nghiệp - Trường Đại học Cần Thơ

| THÔNG TIN BÀI BÁO                                                                                                                                  | TÓM TẮT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><b>Ngày nhận bài:</b> 06/9/2023</p> <p><b>Ngày hoàn thiện:</b> 17/10/2023</p> <p><b>Ngày đăng:</b> 18/10/2023</p>                               | <p>Nghiên cứu này đã khảo sát khả năng kiểm soát bệnh cháy bìa lá lúa do 3 dòng vi khuẩn <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> (Xoo) của 10 chủng vi khuẩn <i>Bacillus</i> sp. dựa trên khả năng đối kháng với Xoo ở điều kiện <i>in vitro</i> và hiệu quả giảm bệnh ở điều kiện nhà lưới. Các thí nghiệm gồm 2 nhân tố, bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, với 5 lần lặp lại. Kết quả cho thấy 3 chủng <i>Bacillus</i> BR15, B42 và B61 đều có khả năng đối kháng rất mạnh với cả 3 dòng vi khuẩn Xoo, với bán kính vành khăn vô khuẩn ở thời điểm 7 ngày là 17,93 mm, 14,93 và 14,53, theo thứ tự. Ở điều kiện nhà lưới, cả 3 chủng B42, B61 và BR15 đều cho hiệu quả giảm bệnh cao, trong đó, chủng BR15 có hiệu quả giảm bệnh cao vượt trội (48,94%). Từ đó thấy rằng, BR15 là chủng <i>Bacillus</i> triển vọng và có thể được nghiên cứu cho ứng dụng trong sản xuất chế phẩm sinh học.</p> |
| <p><b>TỪ KHÓA</b></p> <p><i>Bacillus</i></p> <p>Cháy bìa lá lúa</p> <p><i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i></p> <p>Kiểm soát</p> <p>Lúa</p> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.8691>

\* Corresponding author. Email: [uyenm1021017@student.ctu.edu.vn](mailto:uyenm1021017@student.ctu.edu.vn)

## 1. Giới thiệu

Bệnh cháy bìa lá lúa do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) là một trong những bệnh gây hại nặng nề nhất ở hầu hết các nước trồng lúa, đặc biệt là các nước thuộc vùng khí hậu nhiệt đới với điều kiện mưa nhiều như Châu Á [1]. Thiệt hại có thể đến 70% năng suất đối với các giống lúa mẫn cảm trong điều kiện môi trường thuận lợi cho bệnh lây nhiễm [2]. Nhiều chiến lược khác nhau đã được sử dụng để quản lý bệnh cháy bìa lá, tuy nhiên, các biện pháp bao gồm hóa học, canh tác, giống kháng,... cũng không cho hiệu quả trong mọi trường hợp [3] và bệnh này vẫn là hạn chế chính đối với sản xuất lúa gạo [4]. Các chủng vi khuẩn cụ thể đã được sử dụng để phòng trừ sinh học đối với bệnh cháy bìa lá lúa như *Bacillus* spp. và *Pseudomonas* spp. [5], [2]. Trong đó, *Bacillus subtilis* là một trong những tác nhân kiểm soát sinh học có khả năng đối kháng với nhiều tác nhân gây bệnh *in vitro*, nhà kính và thực địa [6], [7]. Tuy nhiên, một số nghiên cứu cũng cho thấy hiệu quả của tác nhân phòng trừ sinh học có thể biến động theo nguồn mầm bệnh, do chúng phải thích ứng với điều kiện môi trường ở những vùng phân bố nên đã phát triển các cơ chế tự bảo vệ khác nhau [8]. Từ những vấn đề trên, nghiên cứu được thực hiện nhằm tuyển chọn được chủng vi khuẩn có khả năng đối kháng tốt và có hiệu quả quản lý bệnh cháy bìa lá lúa do Xoo ở các vùng canh tác lúa khác nhau của Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL).

## 2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Khảo sát khả năng đối kháng của vi khuẩn *Bacillus* đối với các chủng vi khuẩn Xoo trong điều kiện *in vitro*

- Vật liệu: Nguồn vi khuẩn đối kháng: 10 chủng vi khuẩn *Bacillus* (B42, TT116, BR15, TT229, T259, B81, V358, V104, B61, PQ22) được tuyển chọn từ kết quả của những nghiên cứu trước đó của Khoa Bảo vệ thực vật, trường Nông nghiệp, trường Đại học Cần Thơ. Nguồn vi khuẩn gây bệnh: vi khuẩn Xoo được phân lập từ mẫu lá lúa nhiễm bệnh cháy bìa lá thu từ 6 tỉnh thuộc ĐBSCL, sau khi đánh giá sơ bộ khả năng gây hại trên giống lúa IR50404, 3 dòng Xoo từ An Giang (Xoo.AG), Cần Thơ (Xoo.CT), Kiên Giang (Xoo.KG) được chọn sử dụng cho nghiên cứu này.

- Phương pháp: Chuẩn bị nguồn vi sinh vật: vi khuẩn *Bacillus* spp. được nhân mật số trong môi trường King's B lỏng trên máy lắc ngang (150 vòng/phút) trong 36-48 giờ; vi khuẩn Xoo được nhân nuôi trong môi trường Wakimoto lỏng trong 36 giờ. Xác định mật số và điều chỉnh về  $10^8$  cfu/ml với nước cất vô trùng.

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 2 nhân tố (chủng *Bacillus* và dòng Xoo), với 5 lần lặp lại, thực hiện dựa trên phương pháp cấy kép được mô tả bởi Lemessa và Zeller [9]. Rút 10  $\mu$ l huyền phù vi khuẩn Xoo (mật số  $10^9$  cfu/ml) cho vào ống nghiệm chứa môi trường Wakimoto agar được giữ trong waterbath ở khoảng 53°C, tiếp tục lắc trên vortex đổ vào các đĩa petri và để khô. Sau đó sử dụng khoan giấy thấm đường kính 6 mm tẩm huyền phù *Bacillus* ( $10^8$  cfu/ml), Starner 20WP (ĐC+) và nước cất (ĐC-) lên mặt đĩa thạch. Các đĩa được ủ trong tủ định ôn với nhiệt độ 30°C.

Chỉ tiêu theo dõi: Đo bán kính vùng vi khuẩn Xoo bị ức chế bởi vi khuẩn *Bacillus* spp. theo 2 đường thẳng vuông góc tại tâm định kỳ (1 ngày/lần) đến khi vùng ức chế vi khuẩn gây bệnh Xoo bị giảm. Mức độ đối kháng được đánh giá định tính theo Ahmed và Zahran (2006) [10], dựa trên bán kính vòng vô khuẩn (vùng vi khuẩn gây bệnh bị ức chế): ++++ Rất mạnh >12 mm; +++ Mạnh (9-12 mm); ++ Trung bình (5-8 mm); + Yếu (1-4 mm); - Không ức chế.

### 2.2. Khảo sát khả năng phòng trị bệnh cháy bìa lá lúa do các chủng Xoo được phân lập từ một số vùng trồng lúa của vi khuẩn *Bacillus* trong điều kiện nhà lưới

- Vật liệu: Giống lúa: IR50404 xác nhận; 3 chủng *Bacillus* và 3 dòng vi khuẩn Xoo được chọn từ kết quả thí nghiệm 2.1.

- Phương pháp: Xử lý các tác nhân kiểm soát bệnh: huyền phù vi khuẩn *Bacillus* sau khi nhân nuôi và điều chỉnh về mật số  $10^8$  cfu/ml, sau đó tiến hành phun đều khắp mặt lá lúa (10

ml/nghiệm thức), thuốc Starner 20WP và nghiệm thức ĐC (-) phun nước cất được xử lý cùng thời điểm.

Lây nhiễm bệnh cháy bìa lá theo phương pháp phun huyền phù vi khuẩn lên tán lá lúa của Mew (1984) [11] vào 1 ngày sau khi xử lý tác nhân phòng trừ sinh học (giai đoạn lúa được 42 ngày sau khi gieo). Xoo được nuôi nhân 72 giờ trong môi trường Wakimoto cải tiến và điều chỉnh về  $10^8$  cfu/ml + vài giọt Tween 20 (ở đây Tween 20 sử dụng như chất hoạt động bề mặt giúp bám đều trên bề mặt lá lúa), sau đó được phun bằng bình phun sương mịn đồng đều lên tán lá lúa (10 ml/ chậu). Sau lây nhiễm bệnh, cây lúa được giữ ẩm 24 giờ trong túi polythene, ở 28–30°C, trong phòng ủ với chu kỳ ánh sáng/tối 12 giờ, sau đó được chuyển ra nhà lưới che mát (80% ánh sáng tự nhiên) để bệnh phát triển.

Chỉ tiêu theo dõi: Đánh giá trên 3 lá đã phát triển đầy đủ vào thời điểm xử lý tác nhân phòng trừ sinh học, bằng cách đo tổng chiều dài của các vết bệnh và chiều dài lá (5 cây/chậu) vào 7 ngày và 14 ngày sau khi xử lý. Tính tỉ lệ (%) diện tích lá nhiễm bệnh (TLDTLNB) theo Gnanamanickam và cộng sự (1999) [12]:  $TLDTLNB = (DVB/DL) \times 100$  (với: DVB: chiều dài vết bệnh; DL: chiều dài lá) và hiệu quả giảm bệnh (HQGB) (%) =  $[(TLDTLNB_{đc} - TLDTLNB_i) / TLDTLNB_{đc}] \times 100$  (với TLDTLNB<sub>đc</sub>: tỉ lệ diện tích lá nhiễm bệnh của đối chứng, lặp lại lần thứ i; TLDTLNB<sub>i</sub>: tỉ lệ diện tích lá nhiễm bệnh của nghiệm thức, lặp lại lần thứ i).

### 3. Kết quả và bàn luận

#### 3.1 Khả năng đối kháng của vi khuẩn *Bacillus* đối với các dòng chủng vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* trong điều kiện in vitro

Kết quả Bảng 1 cho thấy, ở thời điểm 3 ngày sau thí nghiệm, bán kính vành khăn vô khuẩn (BKVK) thể hiện đối kháng của 10 chủng *Bacillus* với 3 dòng Xoo dao động từ 0,93–6,13 mm. Trong đó, chủng BR15 cho bán kính lớn nhất với 6,13 mm, tiếp theo là chủng B61 với 5,60 mm và khác biệt có ý nghĩa với các nghiệm thức còn lại.

**Bảng 1.** Bán kính vành khăn vô khuẩn (mm) của 10 chủng *Bacillus* đối với 3 chủng Xoo An Giang, Cần Thơ và Kiên Giang ở 3 và 7 ngày sau thí nghiệm

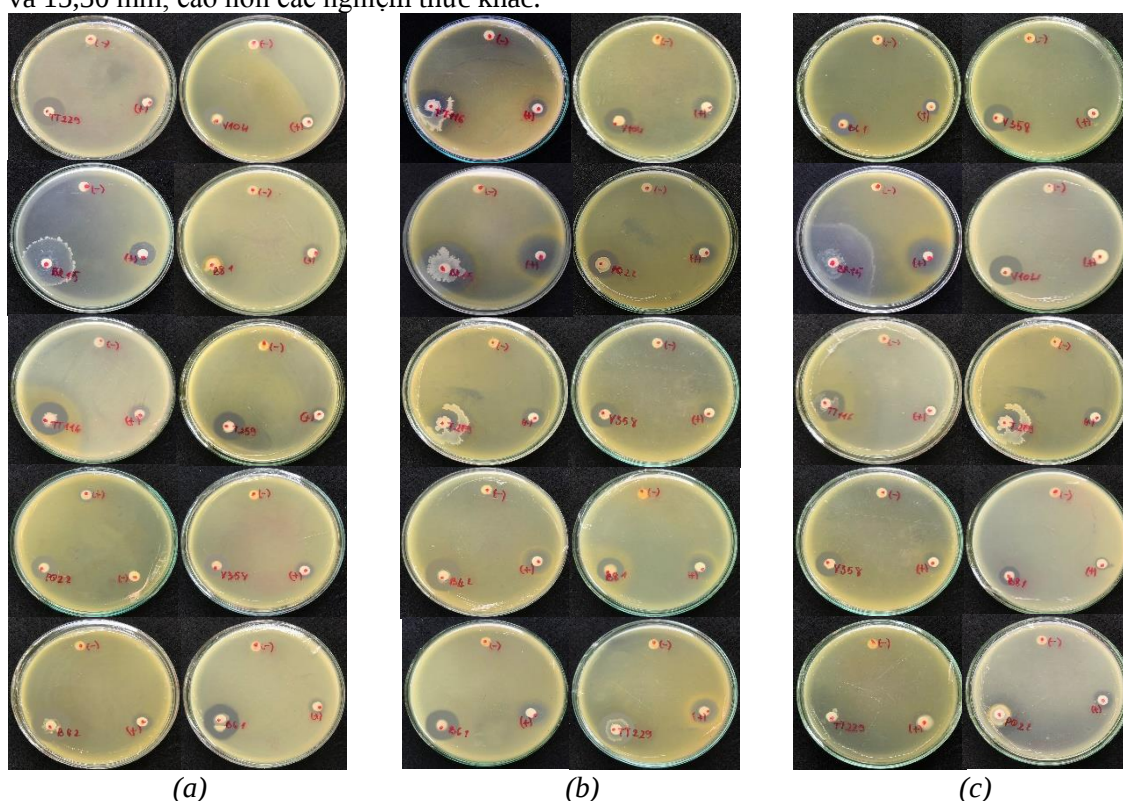
| Nghiệm thức<br>(B) | BK vành khăn vô khuẩn đối với các<br>chủng Xoo (A) ở 3 NSTN |                         |                         |                         | BK vành khăn vô khuẩn đối với các chủng<br>Xoo (A) ở 7 NSTN |                          |                          |                           |
|--------------------|-------------------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
|                    | Xoo.AG                                                      | Xoo.CT                  | Xoo.KG                  | TB(B)                   | Xoo.AG                                                      | Xoo.CT                   | Xoo.KG                   | TB(B)                     |
| B81                | 1,00 <sup>g</sup>                                           | 0,80 <sup>e</sup>       | 1,00 <sup>g</sup>       | <b>0,93<sup>G</sup></b> | 5,90 <sup>j</sup>                                           | 7,60 <sup>f</sup>        | 6,90 <sup>h</sup>        | <b>6,80<sup>H</sup></b>   |
| B42                | 4,80 <sup>c</sup>                                           | 5,30 <sup>c</sup>       | 5,10 <sup>b</sup>       | <b>5,07<sup>C</sup></b> | 15,10 <sup>b</sup>                                          | 14,00 <sup>b</sup>       | 15,70 <sup>b</sup>       | <b>14,93<sup>B</sup></b>  |
| B61                | 6,00 <sup>a</sup>                                           | 6,00 <sup>b</sup>       | 4,80 <sup>bc</sup>      | <b>5,60<sup>B</sup></b> | 14,20 <sup>c</sup>                                          | 14,10 <sup>b</sup>       | 15,30 <sup>b</sup>       | <b>14,53<sup>C</sup></b>  |
| V104               | 1,00 <sup>g</sup>                                           | 0,80 <sup>e</sup>       | 1,00 <sup>g</sup>       | <b>0,93<sup>G</sup></b> | 10,50 <sup>gh</sup>                                         | 11,70 <sup>d</sup>       | 11,00 <sup>f</sup>       | <b>11,07<sup>F</sup></b>  |
| V358               | 1,80 <sup>e</sup>                                           | 4,20 <sup>d</sup>       | 1,70 <sup>f</sup>       | <b>2,57<sup>F</sup></b> | 13,20 <sup>d</sup>                                          | 10,90 <sup>e</sup>       | 12,60 <sup>d</sup>       | <b>12,23<sup>D</sup></b>  |
| TT116              | 5,20 <sup>b</sup>                                           | 5,20 <sup>c</sup>       | 5,00 <sup>b</sup>       | <b>5,13<sup>C</sup></b> | 11,70 <sup>e</sup>                                          | 11,30 <sup>de</sup>      | 12,20 <sup>de</sup>      | <b>11,73<sup>E</sup></b>  |
| TT229              | 1,30 <sup>f</sup>                                           | 5,00 <sup>c</sup>       | 4,40 <sup>de</sup>      | <b>3,57<sup>E</sup></b> | 11,20 <sup>ef</sup>                                         | 11,50 <sup>de</sup>      | 13,50 <sup>c</sup>       | <b>12,07<sup>DE</sup></b> |
| T259               | 5,20 <sup>b</sup>                                           | 5,20 <sup>c</sup>       | 4,80 <sup>bc</sup>      | <b>5,07<sup>C</sup></b> | 10,80 <sup>fg</sup>                                         | 12,60 <sup>c</sup>       | 13,30 <sup>c</sup>       | <b>12,23<sup>D</sup></b>  |
| BR15               | 6,20 <sup>a</sup>                                           | 6,70 <sup>a</sup>       | 5,50 <sup>a</sup>       | <b>6,13<sup>A</sup></b> | 16,20 <sup>a</sup>                                          | 17,80 <sup>a</sup>       | 19,80 <sup>a</sup>       | <b>17,93<sup>A</sup></b>  |
| PQ22               | 4,00 <sup>d</sup>                                           | 4,30 <sup>d</sup>       | 4,20 <sup>e</sup>       | <b>4,17<sup>D</sup></b> | 10,00 <sup>h</sup>                                          | 11,80 <sup>d</sup>       | 11,80 <sup>e</sup>       | <b>11,20<sup>F</sup></b>  |
| Starner 20WP       | 4,91 <sup>c</sup>                                           | 6,09 <sup>b</sup>       | 4,61 <sup>cd</sup>      | <b>5,20<sup>C</sup></b> | 6,74 <sup>i</sup>                                           | 8,27 <sup>f</sup>        | 8,47 <sup>g</sup>        | <b>7,83<sup>G</sup></b>   |
| <b>TB (A)</b>      | <b>3,77<sup>B</sup></b>                                     | <b>4,51<sup>A</sup></b> | <b>3,83<sup>B</sup></b> |                         | <b>11,41<sup>C</sup></b>                                    | <b>11,96<sup>B</sup></b> | <b>12,78<sup>A</sup></b> |                           |
| <b>Mức ý nghĩa</b> | F(A)**; F(B)**; F(A*B)**                                    |                         |                         |                         | F(A)**; F(B)**; F(A*B)**                                    |                          |                          |                           |
| <b>CV %</b>        | 5,97                                                        |                         |                         |                         | 4,08                                                        |                          |                          |                           |

Ghi chú: Các trung bình nghiệm thức trong bảng theo sau bởi một hay những chữ cái (in thường) giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê trong phép thử Duncan với mức ý nghĩa 5%. (\*\*): Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%, (\*): Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%, (ns): Khác biệt không có ý nghĩa. NSTN: Ngày sau thí nghiệm

Khả năng đối kháng có biểu hiện khác nhau tùy dòng Xoo, cụ thể: ở dòng Xoo.AG chủng BR15 và B61 có BKVK lần lượt là 6,20 mm và 6,00 mm, cao hơn các nghiệm thức khác. Đối với dòng Xoo.CT và Xoo.KG, chủng BR15 có BKVK 6,70 mm và 5,50 mm, theo thứ tự, cao hơn các nghiệm thức còn lại. Xét trung bình tương tác của các chủng vi khuẩn với 3 dòng vi khuẩn ở thời

điểm này thì *Xoo.CT* thể hiện đối kháng mạnh nhất với BKVK là 4,51 mm, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với 2 dòng còn lại là *Xoo.AG* và *Xoo.KG*.

Đến thời điểm 7 NSTN (Hình 1), các chủng *Bacillus* đều thể hiện khả năng đối kháng với BKVK từ 6,80-17,93 mm, trong đó, chủng BR15 cho BKVK lớn nhất (17,93 mm), kế đến là B42 (14,95 mm) và B61 (14,53 mm), đều thuộc nhóm đối kháng rất mạnh theo thang đánh giá đối kháng giữa vi khuẩn với vi khuẩn [10], khác biệt có ý nghĩa với các nghiệm thức còn lại, bao gồm đối chứng dương là thuốc Starner 20WP (7,83 mm). Trong đó, chủng BR15 thể hiện khả năng ức chế vi khuẩn *Xoo* vượt trội hơn các chủng khác. Khả năng đối kháng có sự khác nhau ở từng dòng *Xoo*, với dòng *Xoo.AG* có 3 chủng *Bacillus* cho BKVK lần lượt là BR15 (16,20 mm), B42 (15,10 mm), B61(15,20 mm) và khác biệt có ý nghĩa với các nghiệm thức còn lại. Đối với dòng *Xoo.CT*, chủng BR15 có BKVK lớn nhất (17,80 mm), kế đến là B61 (14,10 mm) và B42 (14,00 mm) tương đương nhau nhưng cao hơn so với các nghiệm thức còn lại. Ba chủng BR15, B42 và B61 cũng đối kháng mạnh với dòng *Xoo.KG*, với BKVK lần lượt là 19,80 mm, 15,70 mm và 15,30 mm, cao hơn các nghiệm thức khác.



**Hình 1.** Bán kính vành khản vô khuẩn của các chủng *Bacillus* với 3 dòng *Xoo*: (a) *Xoo.AG*; (b) *Xoo.CT*; (c) *Xoo.KG* ở thời điểm 7 ngày sau thí nghiệm.

(-): Đối chứng âm (nước cất); (+): Đối chứng dương (Starner 20WP)

Đối với sự tương tác của các chủng *Bacillus* với 3 dòng *Xoo* tại thời điểm này thì *Xoo.KG* mạnh nhất với BKVK là 12,78 mm và khác biệt có ý nghĩa với 2 dòng còn lại. Các kết quả trên cho thấy các chủng *Bacillus* có khả năng đối kháng với 3 dòng *Xoo* trong điều kiện *in vitro*, tại 2 thời điểm ghi nhận chủng BR15 đều cho BKVK cao nhất ở cả 3 dòng *Xoo* và được đánh giá đối kháng rất mạnh (++++) [10]. Tương tự, nghiên cứu của Kannan và cộng sự (2021) [13] đã thu thập các chủng *Bacillus* từ rễ và đất xung quanh của cây lúa khỏe mạnh và bệnh Sheath Blight ở Guilan, Iran. Các chủng này đã được chứng minh có khả năng đối kháng với *Rhizoctonia solani* và *Xoo*. Cụ thể, các chủng *B. velezensis*, *B. subtilis* và *B. paralicheniformis* có khả năng ức chế sự phát triển của *R. solani* và *Xoo* lên đến 53,59% trên môi trường thạch trong đĩa petri.

### 3.2. Khả năng kiểm soát bệnh cháy bìa lá lúa do 3 dòng *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* của 3 chủng *Bacillus* triển vọng trong điều kiện nhà lưới

#### 3.2.1. Tỷ lệ chiều dài vết bệnh

Thí nghiệm này ghi nhận tại 2 thời điểm là 7 và 14 ngày sau lây bệnh (NSLB). Kết quả trình bày ở Bảng 2 cho thấy, ở 7 NSLB tỷ lệ bệnh của các nghiệm thức có xử lý *Bacillus* thấp hơn nghiệm thức ĐC (-) (60,79%) và xử lý Starner 20WP (40,94%). Trong đó, nghiệm thức xử lý BR15 có tỷ lệ bệnh thấp nhất với 33,45% và khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại. Xét tương tác theo từng dòng vi khuẩn, với Xoo.AG chủng BR15 (37,28%) có tỷ lệ bệnh thấp nhất tương đương với Starner 20WP (32,64%) và khác biệt có ý nghĩa với các nghiệm thức khác; với dòng Xoo.CT cả 3 chủng *Bacillus* cho tỷ lệ bệnh tương đương nhau và thấp hơn đối chứng; đối với dòng Xoo.KG, chủng BR15 và B61 giúp cây có tỷ lệ bệnh tương đương nhau, thấp nhất có ý nghĩa thống kê với các nghiệm thức còn lại.

Đến 14 NSLB, tỷ lệ chiều dài vết bệnh ở các nghiệm thức dao động từ 34,33-67,40%. Trong đó, nghiệm thức xử lý BR15 có tỷ lệ bệnh thấp nhất với 34,33%, nghiệm thức xử lý B61 (43,09%) tương đương với Starner 20WP (47,44%), B42 có tỷ lệ bệnh cao nhất (53,19%) tuy nhiên vẫn thấp hơn ĐC (-). Thời điểm này sự tương tác giữa 3 chủng *Bacillus* với 3 dòng vi khuẩn Xoo khác biệt không có ý nghĩa và ở đây cũng cho thấy tỷ lệ bệnh trung bình của các dòng vi khuẩn không có khác biệt về mặt thống kê.

**Bảng 2.** Tỷ lệ chiều dài vết bệnh cháy bìa lá lúa (%) ở 7 và 14 ngày sau khi lây bệnh

| Nghiệm thức<br>(B) | Tỷ lệ chiều dài vết bệnh đối với các<br>chủng Xoo (A) ở 7 NSLB |                          |                          |                           | Tỷ lệ chiều dài vết bệnh đối với các chủng<br>Xoo (A) ở 14 NSLB |                    |                     |                          |
|--------------------|----------------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------------------------------------------------|--------------------|---------------------|--------------------------|
|                    | Xoo.AG                                                         | Xoo.CT                   | Xoo.KG                   | TB(B)                     | Xoo.AG                                                          | Xoo.CT             | Xoo.KG              | TB(B)                    |
| B42                | 40,89 <sup>bc</sup>                                            | 30,05 <sup>c</sup>       | 45,31 <sup>b</sup>       | <b>38,75<sup>B</sup></b>  | 49,54 <sup>b</sup>                                              | 52,64 <sup>b</sup> | 57,40 <sup>ab</sup> | <b>53,19<sup>B</sup></b> |
| B61                | 49,34 <sup>b</sup>                                             | 30,73 <sup>c</sup>       | 33,65 <sup>c</sup>       | <b>37,91<sup>BC</sup></b> | 50,36 <sup>b</sup>                                              | 34,49 <sup>c</sup> | 44,43 <sup>c</sup>  | <b>43,09<sup>C</sup></b> |
| BR15               | 37,28 <sup>c</sup>                                             | 32,59 <sup>c</sup>       | 30,49 <sup>c</sup>       | <b>33,45<sup>C</sup></b>  | 36,82 <sup>b</sup>                                              | 33,02 <sup>c</sup> | 33,15 <sup>a</sup>  | <b>34,33<sup>D</sup></b> |
| Starner 20WP       | 32,64 <sup>c</sup>                                             | 39,52 <sup>b</sup>       | 50,64 <sup>b</sup>       | <b>40,94<sup>B</sup></b>  | 44,63 <sup>b</sup>                                              | 45,62 <sup>b</sup> | 52,08 <sup>b</sup>  | <b>47,44<sup>C</sup></b> |
| ĐC (-)             | 65,41 <sup>a</sup>                                             | 54,31 <sup>a</sup>       | 63,20 <sup>a</sup>       | <b>60,97<sup>A</sup></b>  | 70,61 <sup>a</sup>                                              | 67,51 <sup>a</sup> | 64,07 <sup>a</sup>  | <b>67,40<sup>A</sup></b> |
| <b>TB (A)</b>      | <b>45,12<sup>A</sup></b>                                       | <b>37,44<sup>B</sup></b> | <b>44,66<sup>A</sup></b> |                           | <b>50,39</b>                                                    | <b>46,65</b>       | <b>50,23</b>        |                          |
| <b>Mức ý nghĩa</b> | F(A)**; F(B)**; F(A*B)**                                       |                          |                          |                           | F(A) <sup>ns</sup> ; F(B)**; F(A*B) <sup>ns</sup>               |                    |                     |                          |
| <b>CV %</b>        | 13,06                                                          |                          |                          |                           | 14,18                                                           |                    |                     |                          |

Ghi chú: Các trung bình nghiệm thức trong bảng theo sau bởi một hay những chữ cái (in thường) giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê trong phép thử Duncan với mức ý nghĩa 5%. (\*\*): khác biệt ở mức ý nghĩa 1%, (\*): khác biệt ở mức ý nghĩa 5%, (ns): khác biệt không có ý nghĩa. NSLB: ngày sau khi lây bệnh. ĐC (-): nước cất. Số liệu được chuyển đổi arcsin  $\sqrt{X/100}$  (với X tính bằng %), khi phân tích thống kê.

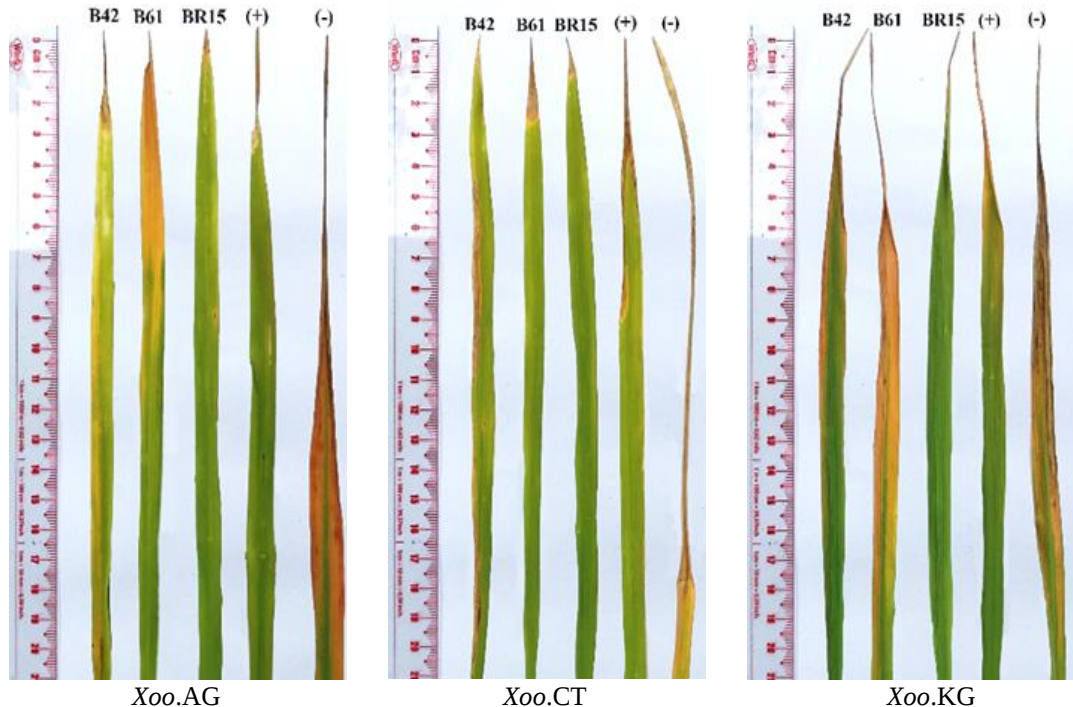
#### 3.2.2. Hiệu quả giảm bệnh

**Bảng 3.** Hiệu quả giảm bệnh cháy bìa lá (%) ở thời điểm 7 và 14 ngày sau khi lây bệnh

| Nghiệm thức<br>(B) | Hiệu quả giảm bệnh đối với chủng Xoo<br>(A) ở 7 NSLB |                     |                    |                           | Hiệu quả giảm bệnh đối với chủng Xoo (A)<br>ở 14 NSLB |                          |                          |                           |
|--------------------|------------------------------------------------------|---------------------|--------------------|---------------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
|                    | Xoo.AG                                               | Xoo.CT              | Xoo.KG             | TB(B)                     | Xoo.AG                                                | Xoo.CT                   | Xoo.KG                   | TB(B)                     |
| B42                | 37,51 <sup>ab</sup>                                  | 44,30 <sup>a</sup>  | 27,92 <sup>b</sup> | <b>36,57<sup>AB</sup></b> | 30,57                                                 | 21,92 <sup>b</sup>       | 10,16 <sup>c</sup>       | <b>20,88<sup>C</sup></b>  |
| B61                | 24,59 <sup>b</sup>                                   | 43,52 <sup>a</sup>  | 46,14 <sup>a</sup> | <b>38,08<sup>AB</sup></b> | 28,41                                                 | 48,92 <sup>a</sup>       | 30,21 <sup>b</sup>       | <b>35,85<sup>B</sup></b>  |
| BR15               | 42,99 <sup>a</sup>                                   | 39,65 <sup>ab</sup> | 51,64 <sup>a</sup> | <b>44,76<sup>A</sup></b>  | 47,85                                                 | 51,08 <sup>a</sup>       | 47,89 <sup>a</sup>       | <b>48,94<sup>A</sup></b>  |
| Starner 20WP       | 50,09 <sup>a</sup>                                   | 26,99 <sup>b</sup>  | 19,92 <sup>b</sup> | <b>32,33<sup>B</sup></b>  | 36,45                                                 | 32,42 <sup>b</sup>       | 18,63 <sup>bc</sup>      | <b>29,17<sup>BC</sup></b> |
| <b>TB (A)</b>      | <b>38,80</b>                                         | <b>38,62</b>        | <b>36,40</b>       |                           | <b>35,81<sup>A</sup></b>                              | <b>38,59<sup>A</sup></b> | <b>26,72<sup>B</sup></b> |                           |
| <b>Mức ý nghĩa</b> | F(A) <sup>ns</sup> ; F(B)*; F(A*B)**                 |                     |                    |                           | F(A)*; F(B)**; F(A*B) <sup>ns</sup>                   |                          |                          |                           |
| <b>CV %</b>        | 25,97                                                |                     |                    |                           | 32,66                                                 |                          |                          |                           |

Ghi chú: Các trung bình nghiệm thức trong bảng theo sau bởi một hay những chữ cái (in thường) giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê trong phép thử Duncan với mức ý nghĩa 5%. (\*\*): khác biệt ở mức ý nghĩa 1%, (\*): khác biệt ở mức ý nghĩa 5%, (ns): khác biệt không có ý nghĩa. NSLB: ngày sau khi lây bệnh. ĐC (-): nước cất. Số liệu được chuyển đổi arcsin  $\sqrt{X/100}$  (với X tính bằng %), khi phân tích thống kê.

Hiệu quả giảm bệnh cháy bìa lá (HQGB) ghi nhận ở thời điểm 7 và 14 NSLB (Bảng 3). Ở thời điểm 7 NSLB, các nghiệm thức có xử lý *Bacillus* cho HQGB tương đương nhau, tuy nhiên BR15 cho HQGB (44,76%) cao hơn nghiệm thức Starner 20WP (32,33%).



Hình 2. Mức độ nhiễm bệnh cháy bìa lá ở các nghiệm thức ở 14 NSLB

Vào thời điểm 14 NSLB (Hình 2), sự tương tác giữa *Bacillus* và vi khuẩn *Xoo* khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê. Tuy nhiên, HQGB ở nghiệm thức B42, B61 và Starner 20WP giảm so với thời điểm 7 NSLB, chỉ riêng nghiệm thức BR15 cho HQGB tăng với 48,94%.

Đối với dòng Xoo.AG, nghiệm thức BR15 có HQGB cao tương đương với Starner 20WP và cao hơn các nghiệm thức còn lại. Với dòng Xoo.CT, cả 3 chủng *Bacillus* cho hiệu quả tương đương nhau, trong đó B42 (44,30%) và B61 (43,53%) cho HQGB 44,30% và 43,53%, theo thứ tự cao hơn nghiệm thức Starner 20WP (26,99%). Ở dòng Xoo.KG, HQGB do chủng BR15 (51,64%) và B61 (46,14%) cao tương đương nhau và cao hơn so với nghiệm thức còn lại (Hình 2). HQGB tương đối thấp của Starner 20WP khi xử lý ở nồng độ khuyến cáo trong thí nghiệm này (29,17%) có thể do áp lực bệnh cao, ngoài ra cũng có thể liên quan đến khả năng chống chịu của Xoo. Ahmed và Zahran (2006) [10] ghi nhận có sự hình thành tính kháng đối với oxolinic acid ở loài *X. campestris* pv. *malvacearum*.

Phòng trừ sinh học được xem là một giải pháp sinh thái và tiết kiệm chi phí đối với bệnh cháy bìa lá lúa. Một số vi khuẩn vùng rễ thuộc chi *Bacillus* có khả năng đối kháng cao (BKVK 6-20 mm) khi được xử lý hạt trước khi gieo kết hợp với phun tán lá vào 35 và 45 ngày sau khi trồng cho HQGB trong điều kiện nhà lưới và ngoài đồng trong khoảng 31,4 - 58,8% so với đối chứng [1]. Nghiên cứu của Ooi và cộng sự đã xác định các chủng *Bacillus* (USML8, USML9, USMR1) khi xử lý với mật số  $10^9$  cfu/ml vào nhiều thời điểm (7 lần) cho hiệu quả giảm bệnh do Xoo trong điều kiện nhà lưới đạt 52,1-85,3% [2]. Trong nghiên cứu này, các chủng *Bacillus* BR15, B42 và B61 thể hiện khả năng đối kháng rất mạnh với cả 3 dòng Xoo, phân lập từ các tỉnh An Giang, TP. Cần Thơ và Kiên Giang (Bảng 1), trong đó chủng BR15 tuy chỉ xử lý phun tán lá 1 lần đã cho hiệu quả giảm bệnh đạt 48,94% đối với cả 3 nguồn Xoo, cao hơn đối chứng dương là thuốc Starner 20WP. Tuy nhiên, khả năng đối kháng đối với Xoo và hiệu quả kiểm soát bệnh cháy bìa lá lúa của từng chủng *Bacillus* có khác nhau tùy theo vùng canh tác lúa mà dòng Xoo được phân lập.

#### 4. Kết luận

Ba chủng *Bacillus* BR15, B42 và B61 có khả năng đối kháng rất mạnh đối với vi khuẩn *Xoo* trong điều kiện *in vitro* với bán kính vành khăn vô khuẩn lần lượt là 17,93 mm, 14,93 mm và 14,53 mm vào 7 ngày sau thí nghiệm.

Ở điều kiện nhà lưới, 3 chủng *Bacillus* BR15, B42 và B61 cho khả năng kiểm soát tốt bệnh cháy bìa lá, tương đương và cao hơn nghiệm thức đối chứng Starner 20WP.

Hiệu quả của chủng *Bacillus* BR15 ổn định và kéo dài đối với nhiều nguồn *Xoo* cho hiệu quả giảm bệnh lên đến 48,94% (ở 14 ngày sau khi lây bệnh). Đây là chủng triển vọng để tiếp tục nghiên cứu phát triển và ứng dụng như một tác nhân phòng trừ sinh học bệnh cháy bìa lá lúa ở DBSCL.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] S. S. Gnanamanickam, *Biological Control of Rice Diseases*. Springer, 2009.
- [2] Y. S. Ooi, N. M. I. Mohamed Nor, G. Furusawa, M. Tharek, and A. H. Ghazali, "Application of Bacterial Endophytes to Control Bacterial Leaf Blight Disease and Promote Rice Growth," *The Plant Pathology Journal*, vol. 38, no. 5, pp. 490-502, Oct. 2022, doi: 10.5423/ppj.oa.01.2022.0014.
- [3] M. M. Rahman *et al.*, "Potential Role of Rice Plant Growth Promoting Phylloplane and Rhizospheric Bacteria in Controlling *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*," in *Integrative advances in rice research*. M. Huang, Ed. London: Intechopen, 2022.
- [4] X. Chen *et al.*, "Melatonin Treatment Inhibits the Growth of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*," *Frontiers in Microbiology*, vol. 9, Oct. 2018, doi: 10.3389/fmicb.2018.02280.
- [5] S.-I. Kim, J. T. Song, J.-Y. Jeong, and H. S. Seo, "Niclosamide inhibits leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae* in rice," *Scientific Reports*, vol. 6, no. 1, Feb. 2016, doi: 10.1038/srep21209.
- [6] X. Q. Wang, D. L. Zhao, L. L. Shen, C. L. Jing, and C. S. Zhang, "Application and Mechanisms of *Bacillus subtilis* in Biological Control of Plant Disease," *Role of Rhizospheric Microbes in Soil*, pp. 225-250, 2018, doi: 10.1007/978-981-10-8402-7\_9.
- [7] F. U. Rajer *et al.*, "Bacillus spp.-Mediated Growth Promotion of Rice Seedlings and Suppression of Bacterial Blight Disease under Greenhouse Conditions," *Pathogens*, vol. 11, no. 11, p. 1251, Oct. 2022, doi: 10.3390/pathogens11111251.
- [8] R. Lahlali *et al.*, "Biological Control of Plant Pathogens: A Global Perspective," *Microorganisms*, vol. 10, no. 3, p. 596, Mar. 2022, doi: 10.3390/microorganisms10030596.
- [9] F. Lemessa and W. Zeller, "Screening rhizobacteria for biological control of *Ralstonia solanacearum* in Ethiopia," *Biological Control*, vol. 42, no. 3, pp. 336-344, Sep. 2007, doi: 10.1016/j.biocontrol.2007.05.014.
- [10] N. A. Ahmed và E. B. Zahran, "Inhibition of soil borne *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* in cotton by *Bacillus* spp.," in *Proceedings of the 1st International Symposium on Biological Control of Bacterial Plant Diseases*, W. Zeller và C. Ullrich, Eds., Berlin, Germany: Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, 2006, pp. 86-92.
- [11] T. W. Mew, "Scanning Electron Microscopy of Virulent and Avirulent Strains of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* on Rice Leaves," *Phytopathology*, vol. 74, no. 6, p. 635, 1984, doi: 10.1094/phyto-74-635.
- [12] S. S. Gnanamanickam, V. B. Priyadarisini, N. N. Narayanan, P. Vasudevan, and S. Kavitha, "An overview of bacterial blight disease of rice and strategies for its management," *Current Science*, vol. 77, no. 11, pp. 1435-1444, 1999.
- [13] C. Kannan, D. Mishra, G. Rekha, P. Maruthi, H. Shaik, and R. M. Sundaram, "Diversity analysis of antagonistic microbes against bacterial leaf and fungal sheath blight diseases of rice," *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, vol. 31, no. 1, Aug. 2021, doi: 10.1186/s41938-021-00462-x.