

**ẢNH HƯỞNG CỦA CAO CHIẾT LÁ SỐNG ĐỜI LY TRÍCH BẰNG DUNG MÔI
DICHLOROMETHANE LÊN BỆNH BẠC LÁ VÀ SỰ TÍCH LŨY CÁC HỢP CHẤT
POLYPHENOL TRONG MÔ LÁ LÚA**

Trương Văn Xạ¹, Trần Kim Thoa¹, Nguyễn Đắc Khoa^{2*}

TÓM TẮT

Nghiên cứu này đánh giá khả năng giảm bệnh bạc lá (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) và sự tích lũy các hợp chất polyphenol trong mô lá lúa khi được phun với cao chiết lá sống đời (*Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers.) ly trích bằng dung môi dichloromethane. Thí nghiệm được thực hiện với ba nồng độ cao chiết (1; 1,5 và 2%) và ba biện pháp phun [ở 14, 7 và kết hợp 14 và 7 ngày trước lây bệnh (NTLB)] trong điều kiện nhà lưới. Tất cả nghiệm thức đều có khả năng giảm bệnh khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng âm không xử lý cao chiết. Phun cao chiết 1% ở 7 NTLB có hiệu quả cao nhất và tương đương với đối chứng dương sử dụng thuốc Starner 20WP. Các hợp chất polyphenol tổng và nhóm hợp chất flavonoid tích lũy cao hơn trong mô lá lúa được phun cao chiết. Hàm lượng polyphenol tổng tăng cao ở thời điểm 7 ngày sau lây bệnh (NSLB) và duy trì cao hơn đối chứng âm đến 21 NSLB. Hàm lượng nhóm hợp chất flavonoid cũng tăng tương tự sau khi cây lúa được lây bệnh và duy trì ổn định ở các thời điểm tiếp theo. Sự tích lũy các hợp chất polyphenol đóng vai trò quan trọng trong cơ chế kháng bệnh của thực vật, nên hiệu quả giảm bệnh của cao chiết lá sống đời có liên quan đến cơ chế kích kháng.

Từ khóa: Bạc lá, dichloromethane, flavonoid, *Kalanchoe pinnata*, kích kháng, lúa, polyphenol

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh bạc lá (cháy bìa lá) lúa do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* là một trong những bệnh hại nghiêm trọng, gây tổn thất về năng suất và chất lượng lúa. Các biện pháp kiểm soát hiện nay chủ yếu dựa vào thuốc hóa học, tuy nhiên, hiệu quả chưa ổn định, đồng thời tiềm ẩn nguy cơ hình thành tính kháng thuốc và tác động tiêu cực đến môi trường và sức khỏe con người. Do đó, nghiên cứu và phát triển các giải pháp sinh học theo hướng kích hoạt cơ chế kháng tự nhiên (kích kháng) của cây lúa đang trở thành một hướng tiếp cận cấp thiết và bền vững (Walters *et al.*, 2013; Mauch-Mani *et al.*, 2017). Trong hệ thống kích kháng của thực vật, các hợp chất phenolic như polyphenol và flavonoid đóng vai trò trung tâm thông qua việc tham gia vào con đường phenylpropanoid, giúp tăng lignin hóa vách tế bào, tăng tổng hợp phytoalexin và các hợp chất kháng khuẩn, từ đó hạn chế sự xâm nhiễm và phát triển của mầm bệnh (Dixon *et al.*, 2002; Lattanzio *et al.*, 2006). Ngoài ra, khả năng chống oxy hóa của các hợp chất phenolic giúp điều hòa phản ứng oxy hóa khử, giúp giảm thiểu tổn thương tế bào trong quá trình phản ứng với tác nhân gây bệnh (Michalak, 2006; Daglia, 2012). Đặc biệt, hợp chất flavonoid tham gia điều hòa con đường tín hiệu liên quan đến kích kháng như axit salicylic và axit jasmonic, góp phần kích hoạt biểu hiện các gen phòng vệ (Agati *et al.*, 2012). Sự tích lũy các hợp chất phenolic có mối liên hệ chặt chẽ với khả năng kháng bệnh của cây trồng thông qua cả cơ chế kháng trực tiếp và cảm ứng miễn dịch thực vật (Cho & Lee, 2015; Salunke & Koche, 2023).

Cây sống đời (*Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers.) đã ghi nhận có hiệu quả trong việc giúp giảm bệnh bạc lá lúa khi sử dụng dịch chiết nước để ngâm hạt lúa giống hoặc phun lên lá, cơ chế kích kháng giúp giảm bệnh đã được chứng minh thông qua khả năng tăng các enzyme có liên quan đến quá trình kích kháng như enzyme peroxidase, catalase, polyphenol oxidase và phenylalanine ammonia lyase (Khoa *et al.*, 2017; Nguyễn Thị Thu Hương và cs., 2018; Xa *et al.*, 2023a). Các nghiên cứu gần đây cho thấy dịch chiết methanol từ lá sống đời có hiệu quả cao hơn so với dịch chiết nước, cho thấy vai trò quan trọng của dung môi trích ly trong việc thu nhận các hợp chất có hoạt tính sinh học liên quan đến khả năng kích kháng (Xa *et al.*, 2023b; Nguyễn Trần Bảo Duy và cs., 2024). Tuy nhiên, vai trò của các dung môi có độ phân cực trung bình như dichloromethane trong việc trích ly các hợp chất có kích hoạt giúp cây lúa tăng tích lũy hợp chất phenolic và ảnh hưởng của chúng đến khả năng kích kháng của cây lúa vẫn chưa được làm rõ. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của cao chiết lá sống đời trích ly bằng dung môi dichloromethane đến hàm lượng hợp chất phenolic trong lá lúa nhiễm bệnh bạc lá, từ đó góp phần làm sáng tỏ cơ chế kích kháng bệnh bạc lá và định hướng phát triển các chế phẩm sinh học an toàn, hiệu quả trong quản lý bệnh hại trên cây lúa.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Giống lúa Jasmine 85 sử dụng trong nghiên cứu được cung cấp từ Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long. Giống lúa Jasmine 85 là giống nhiễm bệnh bạc lá lúa.

¹ Khoa Sinh hóa - Thực phẩm, Đại học Sư phạm Kỹ thuật Vĩnh Long; ² Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Đại học Cần Thơ
* Tác giả liên hệ, email: ndkhoa@ctu.edu.vn

Mầm bệnh bạc lá lúa là vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* XCT-13 (Xoo) được cung cấp từ nhóm nghiên cứu bệnh học thực vật, Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ.

Cây sống đời (*Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers.) sử dụng trong nghiên cứu được thu từ nhà lưới của Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Vĩnh Long. Cây được trồng từ 18 đến 20 tháng tuổi; các lá được chọn là lá trưởng thành, không nhiễm sâu bệnh, có chiều dài từ 8 đến 10 cm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Điều chế cao chiết

Cao chiết lá sống đời được điều chế bằng phương pháp tách chiết lỏng-lỏng được thực hiện theo phương pháp Hanson (2013) và điều chỉnh theo Kagale và cộng sự (2004). Sử dụng 300 g lá sống đời cắt nhỏ (2 - 3 cm) và cho vào 1500 mL dichloromethane 100% (tỷ lệ 1/5, w/v), xay nhuyễn bằng máy xay trong 5 phút. Hỗn hợp được xử lý sóng siêu âm bằng bể siêu âm ở 37 kHz, công suất 120W trong 60 phút. Sau đó, hỗn hợp được lọc bằng Na_2SO_4 khan và giấy lọc để thu được dịch chiết. Dịch chiết được cô quay chân không bằng máy cô quay ở tốc độ 5.000 vòng/phút và nhiệt độ bể chứa bình cô quay 50°C. Cao chiết được sấy ở nhiệt độ 50°C và được trữ ở nhiệt độ -4°C để sử dụng cho nghiên cứu tiếp theo.

2.2.2. Khảo sát khả năng giảm bệnh bạc lá khi phun lên lá lúa cao chiết lá sống đời trích ly bằng dung môi dichloromethane

Thí nghiệm được bố trí trong chậu (30 × 45 × 20 cm) chứa khoảng 7 kg đất đã được ngâm nước làm tơi trước khi gieo lúa. Phân bón được sử dụng theo khuyến cáo của Trung tâm Khuyến nông tỉnh Vĩnh Long là 120 N - 40 P - 60 K; cụ thể, ở từng chậu gồm: bón lót ở thời điểm 2 ngày trước gieo với lượng 2,4 g P và bón thúc vào 10, 20, 40 và 70 ngày sau gieo với lượng 0,5 g N và 0,12 g K.

Vi khuẩn Xoo nuôi trên môi trường Wakimoto từ 48 giờ được sử dụng để tạo huyền phù mật số 10^9 CFU/mL dùng để lây bệnh nhân tạo.

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 11 nghiệm thức và 3 lần lặp lại, một chậu là một lần lặp lại (3 bụi lúa/chậu). Ba nồng độ cao chiết (1; 1,5 và 2%) và ba biện pháp xử lý gồm: (1) phun lên lá lúa ở thời điểm 7 ngày trước lây bệnh (NTLB), (2) phun lên lá lúa ở thời điểm 14 NTLB, (3) phun lên lá lúa ở cả hai thời điểm 14 và 7 NTLB. Nghiệm thức đối chứng dương phun thuốc hóa học Starner 20WP theo liều lượng khuyến cáo trên bao bì. Nghiệm thức đối chứng âm phun nước cất.

Lây bệnh nhân tạo: cây lúa được trồng trong chậu ở nhà lưới đến giai đoạn 45 ngày sau khi gieo được sử dụng

để lây bệnh nhân tạo. Lây bệnh nhân tạo được thực hiện theo phương pháp của Khoa và cộng sự (2017) gồm: dùng kéo đã thanh trùng nhúng vào huyền phù vi khuẩn Xoo 10^9 CFU/mL. Cắt 3 chóp lá/cây, mỗi bụi cắt ngẫu nhiên 5 cây.

Khảo sát chiều dài vết bệnh bạc lá được đo ở thời điểm 7, 14 và 21 ngày sau lây bệnh (NSLB) (Khoa *et al.*, 2017; Xa *et al.*, 2023ab). Chiều dài vết bệnh trên lá lúa được tính từ đầu lá lúa đến hết vị trí vết bệnh lan trên lá.

2.2.3. Khảo sát hàm lượng các hợp chất phenolic có liên quan đến khả năng giảm bệnh khi phun lên lá lúa cao chiết lá sống đời trích ly bằng dung môi dichloromethane

a) Chuẩn bị mẫu dịch chiết lá lúa

Mẫu lá lúa được thu ở thời điểm 7, 14 và 21 NSLB cùng nghiệm thức và thời điểm với thí nghiệm khảo sát khả năng giảm bệnh. Mẫu lá lúa được thu ngẫu nhiên theo nguyên tắc sau: mỗi nghiệm thức chọn một chậu, mỗi chậu chọn hai bụi, mỗi bụi chọn ba chồi, mỗi chồi thu lá thứ ba từ trên xuống. Mẫu lá được vận chuyển ngay về phòng thí nghiệm để chuẩn bị dịch chiết lá lúa. Sử dụng 2,0 g lá lúa nghiền bằng cối đá trong 50 mL dung dịch methanol 100%. Sau đó, hỗn hợp được xử lý sóng siêu âm ở 37 kHz, công suất 120W trong 5 phút. Sau đó, mẫu được lọc bằng giấy lọc định tính để thu dịch chiết mẫu lá lúa. Mẫu được sử dụng để khảo sát ngay sau đó.

b) Hàm lượng polyphenol có trong lá lúa

Khảo sát hàm lượng polyphenol có trong lá lúa được thực hiện theo phương pháp của Yadav và Agarwala (2011). Quy trình thực hiện gồm: sử dụng 0,5 mL dịch chiết mẫu lá lúa với 1 mL dung dịch Folin-Ciocalteu 10%, để phản ứng trong 5 phút. Sau đó, thêm 1 mL Na_2CO_3 2%. Ủ tối trong 45 phút và tiến hành đo quang phổ hấp thụ tại bước sóng 765 nm.

Sử dụng axit gallic để xây dựng đường chuẩn ở dãy nồng độ từ 1; 2,5; 5; 7,5 và 10 mg/mL. Hàm lượng polyphenol được tính bằng cách dựa vào phương trình $y = 0,0582x + 0,087$ ($R^2 = 0,9988$) của chất chuẩn axit gallic.

$$\text{Hàm lượng polyphenol: } P = \frac{c \times V \times 1.000}{m}$$

Trong đó: P: Hàm lượng polyphenol tổng (mg GAE/g lá lúa).
c: Giá trị x từ đường chuẩn acid gallic (mg/mL). V: Tổng thể tích mẫu lúa (mL). m: Khối lượng mẫu lúa có trong thể tích V (mg).

c) Hàm lượng flavonoid có trong lá lúa

Khảo sát hàm lượng flavonoid có trong lá lúa được thực hiện theo phương pháp của Chang và cộng sự (2002). Quy trình thực hiện gồm: sử dụng 0,3 mL dịch chiết mẫu lá lúa với 0,5 mL dung dịch methanol. Tiếp đến, thêm 0,1 mL AlCl_3 10% và để phản ứng trong 6 phút.

Sau đó, cho 0,1 mL CH₃COOK 1M, tiếp tục ủ 5 phút và thêm 1,2 mL nước cất. Sau 45 phút ủ ở nhiệt độ phòng, tiến hành ghi nhận độ hấp thụ tại bước sóng 415 nm.

Sử dụng quercetin để xây dựng đường chuẩn ở dãy nồng độ 1; 2,5; 5; 7,5 và 10 mg/mL. Hàm lượng flavonoid được tính bằng cách dựa vào phương trình $y = 0,00588x + 0,0807$ ($R^2 = 0,9955$) của chất chuẩn quercetin.

Hàm lượng flavonoid:
$$F = \frac{c \times V \times 1.000}{m}$$

Trong đó: F: Hàm lượng flavonoid tổng (mg QE/mL lá lúa), c: Giá trị x từ đường chuẩn quercetin (mg/mL). V: Tổng thể tích mẫu lúa (mL). m: Khối lượng mẫu lúa có trong thể tích V (mg).

2.2.4. Khảo sát hàm lượng các hợp chất phenolic có trong lá lúa khi phun cao chiết lá sống đời trích ly bằng dung môi dichloromethane

Các nghiệm thức được bố trí thành từng cặp gồm: phun cao chiết lên lá lúa và phun nước cất; cây lúa có lây bệnh và cây lúa không lây bệnh. Nồng độ cao chiết và thời điểm phun lên lá lúa được tuyển chọn từ các nghiệm thức có hiệu quả giảm bệnh trong thí nghiệm khảo sát khả năng giảm bệnh (phun cao chiết nồng độ 1% ở thời điểm 7 NTLB).

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, 4 nghiệm thức với 3 lần lặp lại gồm: (1) phun 1% ở 7 NTLB + có lây bệnh, (2) phun 1% ở 7 NTLB + không lây bệnh, (3) phun nước + có lây bệnh, (4) phun nước + không lây bệnh.

Mẫu lá lúa được thu ở thời điểm 0, 7, 14 và 21 NSLB. Mỗi nghiệm thức sử dụng 2,0 g lá lúa nghiền bằng cối đá trong 50 mL dung dịch methanol 100%. Quy trình chuẩn bị mẫu dịch chiết lá lúa được thực hiện tương tự như trên.

Khảo sát hàm lượng polyphenol và flavonoid có trong lá lúa được thực hiện tương tự như trên.

2.2.5. Xử lý số liệu

Số liệu khảo sát khả năng giảm bệnh bạc lá, hàm lượng polyphenol, hàm lượng flavonoid được tính trung bình, phân tích phương sai và so sánh bằng phép thử Duncan với mức ý nghĩa 5% theo từng chỉ tiêu khảo sát bằng phần mềm thống kê SPSS 16.0.

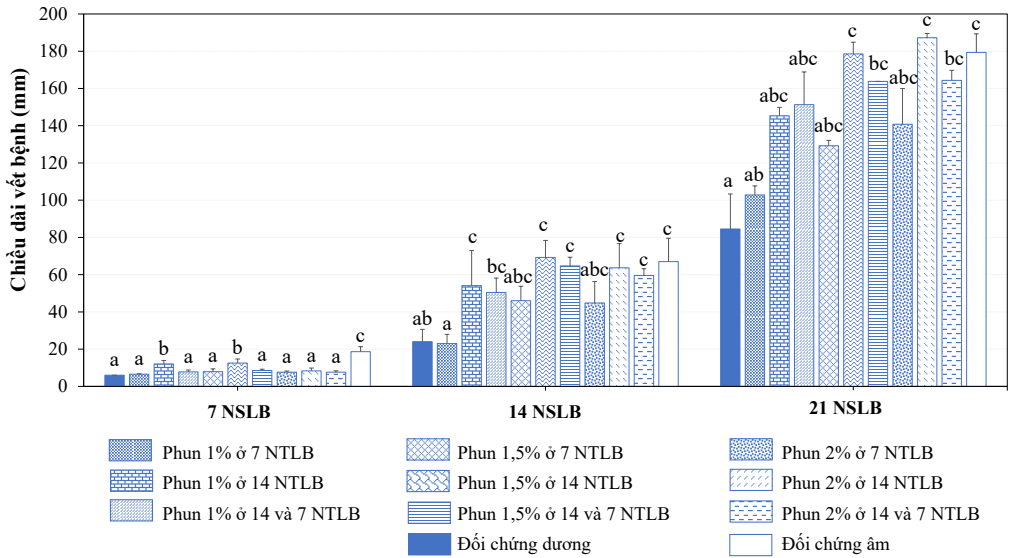
2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 3 năm 2024 đến tháng 10 năm 2025 tại nhà lưới của Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Vĩnh Long.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khả năng giảm bệnh khi phun lên lá lúa cao chiết lá sống đời trích ly bằng dung môi dichloromethane

Kết quả ở hình 1 cho thấy chiều dài vết bệnh bạc lá ở tất cả các nghiệm thức xử lý bằng cao chiết lá sống đời trích ly bằng dung môi dichloromethane đều có xu hướng giảm so với nghiệm thức đối chứng âm. Tại thời điểm 7 NSLB, các nghiệm thức phun cao chiết ghi nhận chiều dài vết bệnh ngắn hơn so với đối chứng âm; đồng thời, hiệu quả giảm bệnh có xu hướng tăng theo nồng độ cao chiết.



Hình 1. Chiều dài vết bệnh bạc lá khi phun lên lá lúa cao chiết sống đời trích ly bằng dung môi dichloromethane ở thời điểm 7, 14 và 21 ngày sau lây bệnh

Ghi chú: NSLB: ngày sau lây bệnh; NTLB: ngày trước lây bệnh; đối chứng dương: phun Starner 20WP; đối chứng âm: phun nước cất; các chữ cái trên các cột giống nhau ở cùng thời điểm khảo sát thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo kiểm định Duncan.

Ở các thời điểm 14 và 21 NSLB, các nghiệm thức phun cao chiết tại thời điểm 7 NTLB cho chiều dài vết bệnh thấp hơn so với các nghiệm thức còn lại. Trong đó, nghiệm thức phun cao chiết nồng độ 1% tại thời điểm 7 NTLB cho kết quả khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng âm và không khác biệt so với đối chứng dương.

Như vậy, việc phun cao chiết lên lá lúa có khả năng làm giảm chiều dài vết bệnh bạc lá, trong đó nghiệm thức phun nồng độ 1% tại thời điểm 7 NTLB cho hiệu quả giảm bệnh tương đương với thuốc hóa học Starner 20WP.

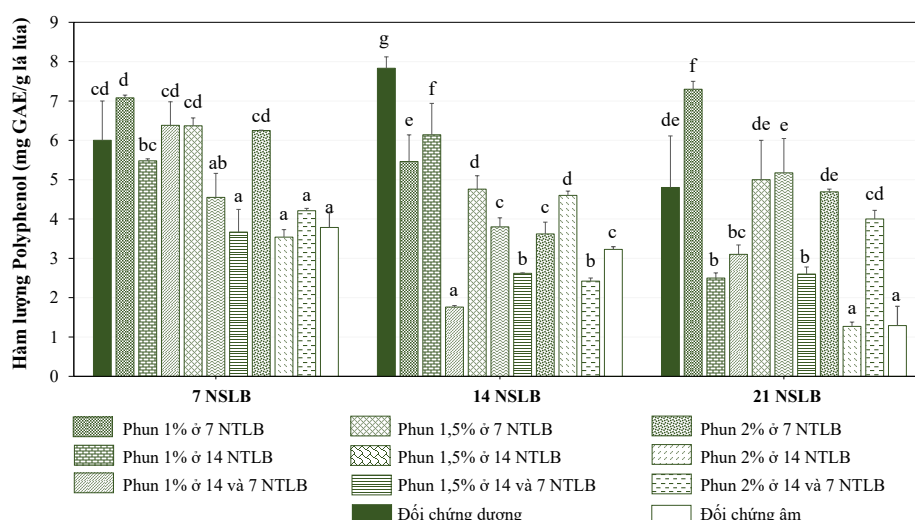
3.2. Hàm lượng các hợp chất phenolic có liên quan đến khả năng giảm bệnh bạc lá khi phun lên lá lúa cao chiết lá sống đời trích ly bằng dung môi dichloromethane

Kết quả ở hình 2 cho thấy hàm lượng polyphenol có trong lá lúa của nghiệm thức đối chứng dương luôn cao hơn so với nghiệm thức đối chứng âm ở tất cả ba thời điểm khảo sát. Các nghiệm thức phun cao chiết có hàm lượng polyphenol có xu hướng giảm từ thời điểm 7 đến 21 NSLB.

Tại thời điểm 7 NSLB, tất cả nghiệm thức phun cao chiết đều ghi nhận hàm lượng polyphenol trong lá lúa cao hơn so với nghiệm thức đối chứng âm. Trong đó, nghiệm thức phun cao chiết 1% ở thời điểm 7 NTLB có hàm lượng polyphenol trong lá lúa tương đương với đối chứng dương.

Tại thời điểm 14 NSLB, nghiệm thức phun cao chiết cả ba nồng độ (1, 1,5 và 2%) tại hai thời điểm (7 và 14 NTLB) đều ghi nhận hàm lượng polyphenol trong lá lúa cao hơn so với nghiệm thức phun kết hợp hai thời điểm 7 và 14 NTLB. Trong đó, nghiệm thức phun cao chiết 1% ở thời điểm 7 NTLB có hàm lượng polyphenol trong lá lúa khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng âm.

Tại thời điểm 21 NSLB, nghiệm thức phun cao chiết 1% ở thời điểm 7 NTLB có hàm lượng polyphenol trong lá lúa cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng dương.



Hình 2. Hàm lượng polyphenol có trong lá lúa khi phun lên lá lúa cao chiết sống đời trích ly bằng dung môi dichloromethane ở thời điểm 7, 14 và 21 ngày sau lây bệnh

Ghi chú: NSLB: ngày sau lây bệnh; NTLB: ngày trước lây bệnh; đối chứng dương: phun Starner 20WP; đối chứng âm: phun nước cất; các chữ cái trên các cột giống nhau ở cùng thời điểm khảo sát thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo kiểm định Duncan.

Kết quả ở hình 3 cho thấy hàm lượng flavonoid có trong lá lúa của nghiệm thức đối chứng dương luôn cao hơn so với nghiệm thức đối chứng âm ở tất cả ba thời điểm khảo sát. Các nghiệm thức phun cao chiết có hàm lượng flavonoid có xu hướng giảm từ thời điểm 7 đến 21 NSLB.

Ở cả ba thời điểm khảo sát, nghiệm thức phun cao chiết 1% ở thời điểm 7 NTLB có hàm lượng flavonoid trong lá cao hơn tất cả các nghiệm thức còn lại và khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng âm.

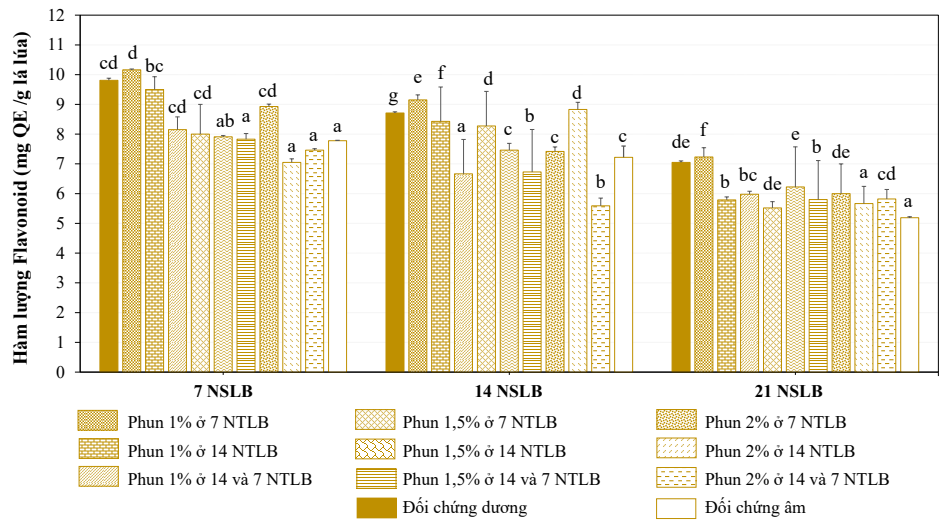
Kết quả nghiên cứu cho thấy cao chiết lá sống đời

trích ly bằng dung môi dichloromethane có khả năng làm giảm chiều dài vết bệnh bạc lá lúa, trong đó nghiệm thức phun cao chiết nồng độ 1% ở 7 NTLB có khả năng giảm bệnh tốt nhất và tương đương với sử dụng thuốc hóa học Starner 20WP (Hình 1).

Khả năng giảm bệnh có mối liên hệ chặt chẽ với sự gia tăng hàm lượng polyphenol và flavonoid có trong lá lúa (Hình 2, 3). Hàm lượng polyphenol trong lá lúa tăng cao ở các nghiệm thức có phun cao chiết, đặc biệt ở giai đoạn sớm sau khi lây bệnh (7 NSLB), cho thấy

sự kích hoạt nhanh chóng của con đường chuyển hóa phenylpropanoid để sinh tổng hợp các hợp chất phòng vệ như lignin, phytoalexin và các chất phenolic hòa tan (Dixon *et al.*, 2002). Polyphenol không chỉ có tác dụng kháng khuẩn trực tiếp thông qua việc làm biến tính protein và ức chế enzyme của tác nhân gây bệnh; ngoài ra

còn tham gia vào quá trình lignin hóa vách tế bào, từ đó hạn chế sự xâm nhiễm và lan rộng của vi khuẩn gây bệnh bạc lá (Lattanzio *et al.*, 2006). Ngoài ra, vai trò chống oxy hóa mạnh của polyphenol giúp kiểm soát sự tích lũy các dạng oxy hoạt hóa (ROS), giảm thiểu tổn thương tế bào trong quá trình phản ứng siêu nhạy (Michalak, 2006).



Hình 3. Hàm lượng flavonoid có trong lá lúa khi phun lên lá lúa cao chiết sống đời trích ly bằng dung môi dichloromethane ở thời điểm 7, 14 và 21 ngày sau lây bệnh

Ghi chú: NSLB: ngày sau lây bệnh; NTLB: ngày trước lây bệnh; đối chứng dương: phun Starner 20WP; đối chứng âm: phun nước cất; các chữ cái trên các cột giống nhau ở cùng thời điểm khảo sát thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo kiểm định Duncan.

Bên cạnh đó, hàm lượng flavonoid cũng được ghi nhận tích lũy với hàm lượng cao ở các nghiệm thức có phun cao chiết, đặc biệt là nghiệm thức phun cao 1% ở 7 NTLB (Hình 3). Flavonoid có khả năng kháng khuẩn thông qua nhiều cơ chế như ức chế tổng hợp axit nucleic, rối loạn chức năng màng tế bào và bất hoạt enzyme của vi sinh vật gây bệnh (Daglia, 2012). Bên cạnh tác dụng trực tiếp, flavonoid còn tham gia điều hòa tín hiệu trong các con đường phòng vệ của cây, bao gồm các tín hiệu axit salicylic và axit jasmonic, từ đó kích hoạt biểu hiện các gen liên quan đến kháng bệnh (Agati *et al.*, 2012).

Hàm lượng polyphenol và flavonoid có xu hướng giảm dần theo thời gian (từ 7 đến 21 NSLB) nhưng các nghiệm thức xử lý sớm (7 NTLB) vẫn duy trì mức cao hơn và tương ứng với hiệu quả giảm bệnh tốt hơn. Điều này cho thấy cây trồng sau khi được phun cao chiết sẽ ở trạng thái sẵn sàng đáp ứng nhanh và mạnh hơn khi bị tấn công bởi tác nhân gây bệnh (Mauch-Mani *et al.*, 2017). Cơ chế này cho phép cây tối ưu hóa chi phí năng lượng trong phòng vệ, đồng thời nâng cao hiệu quả chống chịu trong giai đoạn đầu của quá trình nhiễm bệnh.

Sự tương quan giữa hàm lượng polyphenol, flavonoid và khả năng giảm bệnh trong nghiên cứu này cũng có giả

thuyết rằng cao chiết lá sống đời đóng vai trò như một tác nhân cảm ứng sinh học, kích thích hệ thống miễn dịch tự nhiên của cây lúa. Trong đó, nghiệm thức phun cao chiết nồng độ 1% ở 7 NTLB có chiều dài vết bệnh tương đương thuốc hóa học và hàm lượng các hợp chất polyphenol, flavonoid luôn duy trì mức cao và ổn định. Kết quả này tương đồng với các nghiên cứu trước đây về vai trò của chiết xuất thực vật trong việc tăng cường sức đề kháng thông qua điều hòa chuyển hóa thứ cấp (Walters *et al.*, 2013). Điều này cho thấy tiềm năng ứng dụng của cao chiết thực vật như một giải pháp sinh học thay thế hoặc bổ trợ cho thuốc hóa học trong quản lý bệnh hại cây trồng theo hướng bền vững.

3.3. So sánh hàm lượng các hợp chất phenolic có trong lá lúa giữa các nghiệm thức có và không phun cao chiết, trong điều kiện có và không lây bệnh

Kết quả ở hình 4 cho thấy, các nghiệm thức được phun cao chiết đều ghi nhận hàm lượng polyphenol cao hơn so với các nghiệm thức không phun cao chiết, ở cả hai điều kiện có và không lây bệnh.

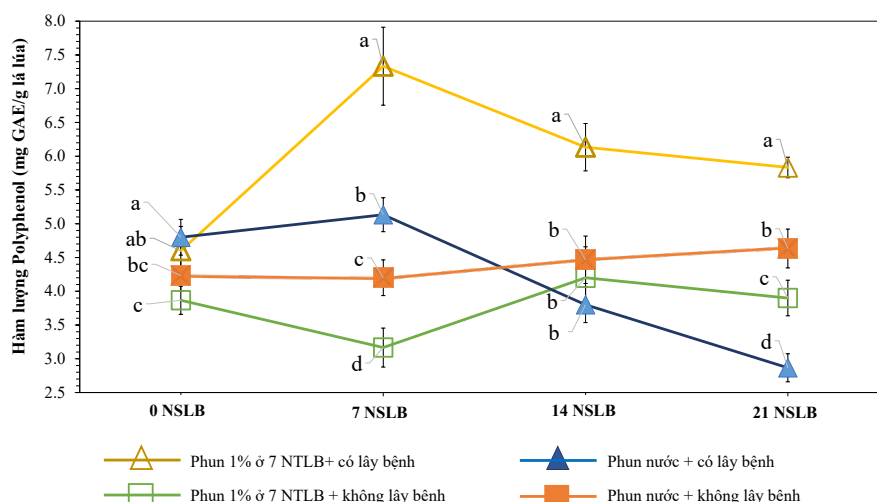
Hàm lượng polyphenol trong lá lúa ghi nhận tăng mạnh từ 0 đến 7 NSLB ở các nghiệm thức có lây bệnh và

tăng mạnh hơn khi cây lúa được phun cao chiết (Hình 4). Điều này cho thấy sự kết hợp giữa tác động của cao chiết và phản ứng cảm ứng của cây khi bị tác nhân gây bệnh đã thúc đẩy quá trình tích lũy polyphenol.

Ngược lại, ở các nghiệm thức không phun cao chiết, hàm lượng polyphenol thấp hơn và ít biến động hơn giữa

hai điều kiện lây bệnh và không lây bệnh, cho thấy khả năng kích kháng của cây lúa chưa được kích hoạt mạnh.

Như vậy, việc phun cao chiết không chỉ làm gia tăng hàm lượng polyphenol trong lá lúa mà còn góp phần tăng cường phản ứng phòng vệ của cây trong điều kiện bị lây bệnh.

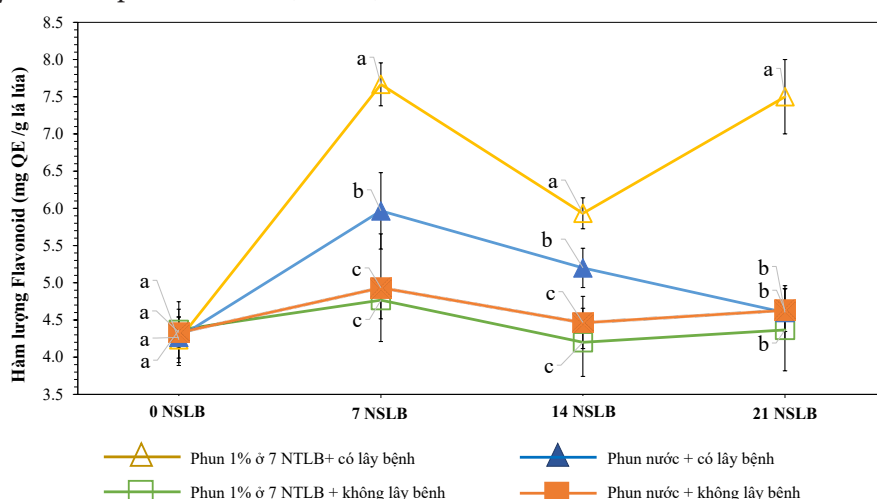


Hình 4. So sánh hàm lượng polyphenol trong lá lúa giữa nghiệm thức có và không phun cao chiết lá sống đời trích ly bằng dung môi dichloromethane, điều kiện có và không chủng bệnh

Ghi chú: NSLB: ngày sau lây bệnh; các chữ cái trong cùng thời điểm giống nhau ở cùng thời điểm khảo sát thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo kiểm định Duncan.

Tương tự hàm lượng polyphenol, hàm lượng flavonoid có trong lá lúa cũng ghi nhận tăng mạnh từ 0 đến 7 NSLB ở các nghiệm thức có lây bệnh và tăng mạnh hơn khi cây lúa được phun cao chiết (Hình 5).

Hàm lượng flavonoid của hai nghiệm thức có phun cao chiết và không phun cao chiết có cùng xu hướng giữ tương đối ổn định từ 0 đến 21 NSLB.



Hình 5. So sánh hàm lượng flavonoid trong lá lúa giữa nghiệm thức có và không phun cao chiết lá sống đời trích ly bằng dung môi dichloromethane, điều kiện có và không lây bệnh

Ghi chú: NSLB: ngày sau lây bệnh; các chữ cái trong cùng thời điểm giống nhau ở cùng thời điểm khảo sát thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo kiểm định Duncan.

Kết quả nghiên cứu cho thấy khi phun lên lá lúa cao chiết lá sống đời trích ly bằng dung môi dichloromethane

giúp cây lúa tăng tổng hợp các hợp chất phenolic trong lá lúa, càng tăng mạnh hơn khi có lây bệnh. Sự gia tăng

mạnh của hàm lượng polyphenol trong giai đoạn 7 NSLB (Hình 5) ở các nghiệm thức có phun cao chiết cho thấy sự tương quan giữa các chất có trong cao chiết đã phun lên lá lúa và phản ứng kích kháng của cây lúa khi bị nhiễm bệnh. Điều này phù hợp với cơ chế sinh tổng hợp phenolic thông qua con đường phenylpropanoid, trong đó các hợp chất phenolic giúp tăng quá trình lignin hóa vách tế bào và tổng hợp các chất kháng khuẩn, từ đó góp phần hạn chế sự xâm nhập và phát triển của mầm bệnh *Xoo* (Dixon *et al.*, 2002; Lattanzio *et al.*, 2006). Ngược lại, ở các nghiệm thức không xử lý cao chiết, hàm lượng polyphenol thấp và ít biến động ở các thời điểm khảo sát, từ đó cho thấy khả năng đáp ứng kích kháng của cây không được kích hoạt mạnh. Kết quả này cho thấy cao chiết đóng vai trò như một tác nhân cảm ứng sinh học, giúp kích hoạt hệ thống phòng vệ, từ đó tăng cường tốc độ và cường độ đáp ứng khi cây gặp tác nhân gây bệnh (Walters *et al.*, 2013; Mauch-Mani *et al.*, 2017).

Xu hướng tương tự cũng được ghi nhận đối với hàm lượng flavonoid, với mức tăng rõ rệt trong giai đoạn đầu sau lây bệnh và cao hơn ở các nghiệm thức có phun cao chiết. Vai trò của flavonoid trong phản ứng kháng bệnh đã được ghi nhận thông qua khả năng kháng khuẩn trực tiếp và tham gia điều hòa các con đường tín hiệu kích kháng để biểu hiện các gen kháng bệnh trong cây (Agati *et al.*, 2012). Tuy nhiên, sự ổn định tương đối của hàm lượng flavonoid sau 7 NSLB cho thấy phản ứng phòng vệ mạnh mẽ chủ yếu diễn ra ở giai đoạn sớm của quá trình nhiễm bệnh, sau đó cây thiết lập trạng thái cân bằng sinh lý. Như vậy, sự gia tăng đồng thời của polyphenol và flavonoid khẳng định hiệu quả của cao chiết dichloromethane từ lá cây sống đời có tác dụng kích thích và khuếch đại phản ứng phòng vệ của cây lúa, từ đó góp phần nâng cao khả năng kháng bệnh bạc lá.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy cao chiết dichloromethane từ lá sống đời có khả năng làm giảm chiều dài vết bệnh bạc lá lúa, trong đó nghiệm thức phun ở nồng độ 1% tại thời điểm 7 NTLB có hiệu quả giảm bệnh cao nhất và tương đương với thuốc hóa học Starnar 20WP. Đồng thời, các nghiệm thức xử lý cao chiết ghi nhận hàm lượng polyphenol và flavonoid trong lá lúa cao hơn so với đối chứng âm. Hàm lượng polyphenol tăng mạnh tại thời điểm 7 NSLB, sau đó giảm dần đến 21 NSLB nhưng vẫn duy trì ở mức cao hơn so với các nghiệm thức không xử lý. Tương tự, hàm lượng flavonoid cũng tăng ở giai đoạn đầu sau lây bệnh và có xu hướng ổn định trong khoảng từ 7 đến 21 NSLB. Như vậy, việc phun cao chiết lá sống đời trích ly bằng

dung môi dichloromethane có khả năng giúp tăng tổng hợp các hợp chất phenolic trong lá lúa, từ đó giúp tăng kháng bệnh bạc lá.

4.2. Đề nghị

Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng phenolic, đặc biệt là polyphenol và flavonoid, có liên quan đến khả năng giảm bệnh ở cây lúa và có tiềm năng làm chỉ thị sinh hóa để đánh giá trạng thái kích kháng. Do đó, cần tiếp tục khảo sát trong điều kiện đồng ruộng và trên các giống lúa khác nhau nhằm đánh giá tính ổn định và khả năng ứng dụng thực tiễn của chỉ thị này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Thị Thu Hương, Lâm Tấn Hào, 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 Đại học Cần Thơ*, 54 (7): 13-21.
- Nguyễn Trần Bảo Duy, Trương Văn Xạ, Nguyễn Đắc Khoa, 2024. Khảo sát cơ chế kích kháng bệnh bạc lá khi phun lên lá lúa cao chiết lá sống đời ly trích bằng dung môi methanol. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, 16: 18-28.
- Agati G., Azzarello E., Pollastri S., Tattini M., 2012. Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. *Plant Science*, 196: 67-76.
- Chang C.C., Yang M.H., Wen H.M., Chern J.C., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10 (3): 178-182.
- Cho M.H. & Lee S.W., 2015. Phenolic phytoalexins in rice: biological functions and biosynthesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 16 (12): 29120-29133.
- Daglia M., 2012. Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23 (2): 174-181.
- Dixon R.A., Achnine L., Kota P., Liu C.J., Reddy M.S., Wang L., 2002. The phenylpropanoid pathway and plant defence-a genomics perspective. *Molecular Plant Pathology*, 3 (5): 371-390.
- Hanson C., 2013. *Recent Advances in Liquid-Liquid Extraction*. Pergamon Press.
- Kagale S., Marimuthu T., Thayumanavan B., Nandakumar R., 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 (2): 91-100.
- Khoa N.D., Xa T.V., Hao 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.

- Lattanzio V., Lattanzio V.M., Cardinali A., 2006. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. *Phytochemistry: Advances in Research*, 661 (2): 23-67.
- Mauch-Mani B., Baccelli I., Luna E., Flors V., 2017. Defense priming: an adaptive part of induced resistance. *Annual Review of Plant Biology*, 68: 485-512.
- Michalak A., 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15 (4): 523-530.
- Salunke P. & Koche D., 2023. Role of phenolic compounds in plant defense mechanism: an updated review. *Indian Journal of Applied & Pure Biology*, 38 (3): 1199-1215.
- Walters D.R., Ratsep J., Havis N.D., 2013. Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future. *Journal of Experimental Botany*, 64 (5): 1263-1280.
- Xa T.V., Thoa T.K., Do N.D., Khoa N.D., 2023b. Seed soaking using methanol *Kalanchoe pinnata* leaf extracts induces rice resistance against bacterial leaf blight. *International Journal of Plant Biology*, 14: 1155-1166.
- Xa T.V., Thoa T.K., Thu T.T.A., Khoa N.D., 2023a. Effects of seed soaking and foliar spraying of *Kalanchoe pinnata* aqueous leaf extracts against rice bacterial leaf blight. *Can Tho University Journal of Innovation and Sustainable Development*, 15 (3): 12-22.
- Yadav R.N.S. & Agarwala M., 2011. Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of Phytology*, 3 (12): 10-14.

Effects of dichloromethane *Kalanchoe pinnata* leaf extracts on bacterial leaf blight and accumulations of polyphenols in rice leaf tissues

Truong Van Xa, Tran Kim Thoa, Nguyen Dac Khoa

Abstract

This study tested the effects of dichloromethane *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. leaf extracts on bacterial leaf blight (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) and accumulations of polyphenols in rice leaf tissues using foliar spraying. Three extract concentrations (1, 1.5 and 2%) and three application methods [spraying at 14, at 7 and at both 14 and 7 days before pathogen inoculation (DBI)] were tested under net house conditions. All treatments showed significant disease reduction compared to that of the untreated control. Spraying 1% extract at 7 DBI provided the strongest protection similar to that of the chemical control (Starnar 20WP). Significant accumulations of total polyphenols and flavonoids were observed in rice leaf tissues treated with the extracts. Higher levels of polyphenols accumulation were recorded from 7 to 21 days after pathogen inoculation (DAI) compared to those of the untreated control. The accumulation of flavonoids increased and maintained in the same manner. As the accumulation of polyphenols in plant tissues play important roles in plant defense responses against pathogen infections, results of this study suggested the involvement of induced resistance in the observed reduction of rice bacterial leaf blight after treatment of dichloromethane *K. pinnata* leaf extracts.

Keywords: Bacterial leaf blight, dichloromethane, flavonoid, induced resistance, *Kalanchoe pinnata*, polyphenol, rice

Ngày nhận bài: 04/5/2026

Người phản biện: TS. Nguyễn Quốc Thái, PGS.TS. Nguyễn Văn Nam

Ngày duyệt đăng: 11/6/2026

Ngày phản biện: 06/5/2026

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG ỨC CHẾ CỦA DỊCH CHIẾT XẠ HƯƠNG VÀ CẨM QUỲ ĐỐI VỚI NẤM *Colletotrichum* spp. GÂY BỆNH THÁN THƯ TRÊN CÂY CÀ CHUA TẠI NGHỆ AN

Võ Thị Dung^{1*}, Vũ Triệu Mân², Vương Thị Thuý Hằng¹, Nguyễn Hữu Hiền³,
Hồ Thị Nhung³, Đinh Thị Thu Hương¹, Nguyễn Hoàng Tiến¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu ảnh hưởng của dịch chiết xạ hương và cẩm quỳ đến khả năng phòng trừ nấm *Colletotrichum* spp. gây bệnh trên cây cà chua cho thấy, dịch chiết xạ hương nồng độ 5% sau 48 giờ có hiệu lực ức chế đạt 70,24%, trong khi dịch chiết xạ hương nồng độ 10%, 15% và dịch chiết cẩm quỳ nồng độ 5%, 10%, 15% sau 12 giờ, 24 giờ và 48 giờ hiệu lực ức chế đối với sự nảy mầm của bào tử nấm *Colletotrichum* spp. đạt 100%. Trong điều kiện nhà lưới, phun dịch chiết xạ hương và cẩm quỳ với nồng độ 5%, 10% và 15% lên cây cà chua sau 24 giờ lây bệnh cho thấy hiệu lực ức chế tính gây bệnh của *Colletotrichum* spp. ở giai đoạn cây bắt đầu ra hoa đạt 50,68 - 69,09% (xạ hương) và 56,10 - 73,29% (cẩm quỳ); khi cây có quả với đường kính 3 - 4 cm đạt 46,08 - 62,80% (xạ hương) và 47,83 - 67,02% (cẩm quỳ); và sau thu hoạch quả lần đầu đạt 44,93 - 52,78% (xạ hương) và 46,22 - 59,70 (cẩm quỳ). Trên đồng ruộng sử dụng dịch chiết xạ hương nồng độ 15% hiệu lực phòng trừ đạt 49,95 - 61,26% và dịch chiết cẩm quỳ nồng độ 10% cho HLPT đạt 45,61 - 65,82%.

Từ khóa: Cà chua, cẩm quỳ, *Colletotrichum* spp., xạ hương

¹ Trường Đại học Nghệ An; ² Hội Nghiên cứu Bệnh hại Thực vật Việt Nam; ³ Trường Đại học Vinh

* Tác giả liên hệ, email: dungvt@nau.edu.vn