



DOI:10.22144/ctu.jvn.2016.527

## ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ CỦA THỰC KHUẨN THỂ TRONG PHÒNG TRỪ BỆNH THỐI HẠT TRÊN LÚA DO VI KHUẨN *Burkholderia glumae*

Phan Quốc Huy, Nguyễn Minh Trung, Hồ Cảnh Thịnh và Nguyễn Thị Thu Nga

Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 03/05/2016

Ngày chấp nhận: 30/08/2016

### Title:

Evaluation effect of bacteriophages in controlling grain rot disease on rice caused by *Burkholderia glumae*

### Từ khóa:

Bệnh thối hạt, *Burkholderia glumae*, lúa, thực khuẩn thể

### Keywords:

Bacteriophages, *Burkholderia glumae*, grain rot, rice

### ABSTRACT

Study on the use of bacteriophage in control of grain rot disease on rice caused by bacterium *Burkholderia glumae* was conducted in vitro and nethouse conditions. Under in vitro conditions, evaluation of the lytic ability of six bacteriophages i.e.  $\Phi$ HG17,  $\Phi$ VL30,  $\Phi$ VL34,  $\Phi$ VL39,  $\Phi$ AG58 and  $\Phi$ AG60 to host bacterium *Burkholderia glumae* isolate CT4 revealed that two bacteriophages  $\Phi$ HG17 and  $\Phi$ VL34 expressed higher diameter plaques compared to others. Under nethouse conditions, all six bacteriophages showed effect in reduction of grain rot by spraying a  $10^8$  pfu/ml bacteriophage suspension two hour prior pathogen inoculation. The bacteriophage  $\Phi$ VL34 showed highest stability effect in reduction of disease in terms of lower percentage of grain infection and disease scales combined with higher yield compared to the control treatment. Phages  $\Phi$ VL39 and  $\Phi$ AG58 aslo gave good effect in reduction of disease. Disease prevention effect involves to the multiplication of bacteriophages on plant surface after application.

### TÓM TẮT

Nghiên cứu thực khuẩn thể (TKT) trong phòng trừ bệnh thối hạt lúa gây ra bởi vi khuẩn *Burkholderia glumae* được thực hiện trong điều kiện phòng thí nghiệm và nhà lưới. Trong điều kiện in vitro, khi đánh giá khả năng thực khuẩn của sáu dòng TKT bao gồm  $\Phi$ HG17,  $\Phi$ VL30,  $\Phi$ VL34,  $\Phi$ VL39,  $\Phi$ AG58 và  $\Phi$ AG60 đối với vi khuẩn *Burkholderia glumae* Bur CT4, kết quả cho thấy hai dòng TKT  $\Phi$ HG17 và  $\Phi$ VL34 có đường kính phân giải vi khuẩn cao hơn so với bốn dòng TKT còn lại. Trong điều kiện nhà lưới, tất cả sáu dòng TKT đều thể hiện hiệu quả giảm bệnh thối hạt khi phun huyền phù TKT với mật số  $10^8$  pfu/ml hai giờ trước khi lây bệnh nhân tạo. Dòng TKT  $\Phi$ VL34 cho hiệu quả giảm bệnh thối hạt ổn định cao nhất thông qua tỷ lệ bệnh và cấp bệnh thấp kết hợp với năng suất cao hơn, hiệu quả tiếp theo là dòng TKT  $\Phi$ VL39 và  $\Phi$ AG58. Hiệu quả giảm bệnh liên quan tới sự nhân mật số của TKT trên bề mặt cây trồng sau khi áp dụng.

Trích dẫn: Phan Quốc Huy, Nguyễn Minh Trung, Hồ Cảnh Thịnh và Nguyễn Thị Thu Nga, 2016. Đánh giá hiệu quả của thực khuẩn thể trong phòng trừ bệnh thối hạt trên lúa do vi khuẩn *Burkholderia glumae*. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 45b: 70-78.

### 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh thối hạt do vi khuẩn *Burkholderia glumae* (*B. glumae*) là bệnh gây hại quan trọng ở các nước trồng lúa trên thế giới trong nhiều năm qua. Vi khuẩn gây bệnh được ghi nhận lần đầu tiên tại Nhật

Bản bởi Goto và Ohata (1956). Những năm sau đó vi khuẩn *B. glumae* cũng được báo cáo như là một tác nhân gây bệnh trên lúa từ các nước trồng lúa ở Đông Á (Chien và Chang, 1987; Cottyn *et al.*, 1996; Jeong *et al.*, 2003; Luo *et al.*, 2007), châu

Mỹ Latin (Zeigler và Alvarez, 1989), Nam Phi (Zhou, 2014), Ecuador (Riera *et al.*, 2014). Ở Việt Nam, bệnh mới được phát hiện và điều tra gần đây, bệnh gây hại nghiêm trọng làm lép hạt lúa, giảm trọng lượng hạt và gây thất thu năng suất lên tới 75% nếu như không có biện pháp phòng ngừa, ngoài ra vi khuẩn còn ức chế sự nảy mầm khi lưu tồn trong hạt giống (Trung *et al.*, 1993; Phạm Văn Kim, 2015). Biện pháp phòng trừ hiện nay chủ yếu dựa vào thuốc hóa học, tuy nhiên để tránh mầm bệnh bộc phát nội kháng thuốc cũng như giảm ô nhiễm môi trường, mất cân bằng sinh thái cần có biện pháp phòng trừ hiệu quả. Do đó, biện pháp sinh học được xem như là một hướng đi mới đang được các nhà khoa học nghiên cứu và áp dụng, đặc biệt sử dụng thực khuẩn thể (TKT) trong phòng trừ các bệnh do vi khuẩn gây ra. Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu cho thấy hiệu quả kiểm soát một số bệnh do vi khuẩn gây ra như đốm lá cà chua, đào, cam quýt, cháy lá hành, loét trên cây có múi do *Xanthomonas* spp. (Civerolo và Kiel, 1969; McNeil *et al.*, 2001, Balogh *et al.*, 2008), đốm vi khuẩn trên nấm rơm do *Pseudomonas* spp. (Munsch và Olivier, 1995), thối mềm do *Erwinia* spp. (Schnabel *et al.*, 1999; Svircev *et al.*, 2005; Ravensdale *et al.*, 2007), héo xanh trên thuốc lá do *Ralstonia* (Tanaka *et al.*, 1990). Ở Việt Nam đã có một số nghiên cứu về TKT được ghi nhận trong phòng trừ bệnh cháy bìa lá lúa (Nguyễn Thị Trúc Giang và *ctv.*, 2014; Nguyễn Thị Thu Nga và Lương Hữu Tâm, 2014). Hồ Cảnh Thịnh (2015) đã phân lập được 41 dòng TKT và 61 dòng vi khuẩn *B. glumae* gây bệnh thối hạt tại các ruộng lúa thuộc các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long và tìm ra được 6 dòng TKT bao gồm ΦHG17, ΦVL30, ΦVL34, ΦVL39, ΦAG58 và ΦAG60 có khả năng ký sinh nhiều dòng vi khuẩn *B. glumae* đã phân lập. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm tiếp tục đánh giá khả năng tiêu diệt vi khuẩn *B. glumae* của 6 dòng TKT trong điều kiện phòng thí nghiệm và khả năng phòng trừ bệnh của TKT trong điều kiện nhà lưới, với mục đích nhằm tìm ra dòng TKT cho hiệu quả phòng trừ bệnh cao để có thể ứng dụng nghiên cứu trong điều kiện ngoài đồng.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Đánh giá khả năng tiêu diệt vi khuẩn *Burkholderia glumae* của TKT trong điều kiện phòng thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 6 nghiệm thức là 6 dòng TKT (ΦHG17, ΦVL30, ΦVL34, ΦVL39, ΦAG58 và ΦAG60) được phân lập từ Vĩnh Long và An Giang có khả năng ký sinh nhiều dòng vi khuẩn *B. glumae* và 1 dòng vi khuẩn *B. glumae* Bur CT4 phân lập từ tỉnh

Cần Thơ bị ký sinh nhiều nhất bởi các dòng TKT (Hồ Cảnh Thịnh, 2015) với 5 lần lặp lại.

Cách tiến hành: Nhân mật số 6 dòng TKT trên đĩa petri trong 24 giờ, thực hiện đếm mật số TKT có trong huyền phù bằng phương pháp pha loãng và đổ đĩa. Dựa vào mật số xác định sau 24 giờ, thực hiện pha loãng để tạo huyền phù các dòng TKT khác nhau ở mật số  $10^3$  pfu/ml. Rút 30  $\mu$ l huyền phù từng dòng TKT ( $10^3$  pfu/ml) + 100  $\mu$ l huyền phù vi khuẩn *B. glumae* ( $OD_{600} = 0,3$  tương ứng với mật số  $10^{10}$  cfu/ml) cho vào đĩa petri, sau đó tiến hành đổ đĩa bằng môi trường King's B 0,8% agar đã được nấu tan để nguội ở  $50^{\circ}C$  và hòa đều đĩa bằng cách lắc nhẹ, đĩa được đặt trong điều kiện phòng.

Chỉ tiêu ghi nhận: Quan sát và ghi nhận đường kính vòng vô khuẩn (plaque) của từng dòng TKT phân giải vi khuẩn trên đĩa petri vào các thời điểm 12, 24, 36, 48 giờ sau khi bố trí bằng cách đo đường kính 10 vòng vô khuẩn cố định và lấy trung bình. Xử lý số liệu bằng Excel và phân tích thống kê bằng phần mềm MstatC qua phép thử Duncan.

### 2.2 Đánh giá hiệu quả phòng trừ bệnh thối hạt do vi khuẩn *Burkholderia glumae* của TKT trong điều kiện nhà lưới

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 7 nghiệm thức (6 dòng TKT có khả năng ký sinh nhiều dòng vi khuẩn *B. glumae*: ΦHG17, ΦVL30, ΦVL34, ΦVL39, ΦAG58 và ΦAG60; 1 đối chứng không phun TKT) và 5 lần lặp lại, trong đó mỗi lần lặp lại là 1 chậu lúa với 20 chồi hữu hiệu ở giai đoạn trổ đều.

Chuẩn bị cây lúa: Lúa giống OM4900 cấp xác nhận được xử lý nước muối 15%, sau đó ngâm trong nước sạch 24 giờ và ủ trong tủ úm 48 giờ. Hạt nảy mầm được gieo trong chậu có diện tích  $0,049 m^2$  chứa 7 kg đất, mỗi chậu gieo 10 hạt. Lúa sau khi gieo được 7 – 10 ngày thì cho nước vào chậu ngập khoảng 1 cm so với mặt đất trong chậu và thay đổi tùy theo giai đoạn sinh trưởng của cây lúa. Bón phân cho lúa theo công thức 90 N – 40  $P_2O_5$  – 30  $K_2O$  (kg/ha) (Nguyễn Ngọc Đệ, 2008), lượng phân bón được quy ra theo trọng lượng đất ( $kg/m^2$  diện tích:  $1 m^2 \times 0,2 m$  độ sâu  $\times 1,3$ ), được cân và bón vào chậu như sau: Bón lót vào 1 – 2 ngày trước khi gieo toàn bộ lượng phân lân (0,54 g super lân/chậu) + 1/2 lượng phân kali (0,07 g KCl/chậu); bón thúc lần 1 vào 8 – 10 ngày sau khi gieo (NSKG): 1/5 lượng phân đạm (0,11 g ure/chậu); bón thúc lần 2 vào 18 – 20 NSKG: 2/5 lượng phân đạm (0,21 g ure/chậu); bón nuôi đòng vào 42 – 45 NSKG: 1/5 lượng phân đạm (0,11 g urea/chậu) + 1/2 lượng phân kali (0,07 g

KCl/chậu); bón nuôi hạt khi lúa trở đều: 1/5 lượng phân đạm (0,11 g urea/chậu).

Chuẩn bị TKT: Nhân mật số 6 dòng TKT trên môi trường King's B 0,8% agar chứa vi khuẩn ký chủ trong 24 giờ, thu hoạch huyền phù TKT và xác định mật số TKT bằng phương pháp pha loãng và đổ đĩa. Sau đó, thực hiện pha loãng để tạo huyền phù các dòng TKT khác nhau đạt mật số  $10^8$  pfu/ml.

Chuẩn bị vi khuẩn *B. glumae* lây bệnh: Dòng vi khuẩn *B. glumae* Bur CT4 bị ký sinh nhiều nhất bởi các dòng TKT được nuôi cấy trên đĩa petri chứa môi trường King's B trong 48 giờ sau đó cho nước cất thanh trùng vào đĩa và thu huyền phù vi khuẩn (Hồ Cảnh Thịnh, 2015). Xác định mật số vi khuẩn trong huyền phù bằng phương pháp đo độ quang truyền ở bước sóng 600 nm, thực hiện pha loãng để đạt OD = 0,3 tương ứng với mật số  $10^{10}$  cfu/ml.

Cách tiến hành: Trước khi lây bệnh 1 ngày cây được chuyển vào phòng ủ bệnh (25°C). Phun huyền phù từng dòng TKT lên từng bông lúa của từng nghiệm thức cho đến khi ướt đều (50 ml/chậu), riêng nghiệm thức đối chứng không phun TKT. Sau 2 giờ, tiếp tục phun huyền phù vi khuẩn *B. glumae* Bur CT4 ướt đều toàn bông lúa của từng nghiệm thức (50 ml/chậu). Các chậu lúa được đặt trong ngăn tối và giữ ẩm, sau 24 giờ chuyển tất cả chậu lúa ra nhà lưới và phun sương tạo độ ẩm, tiến hành lấy chỉ tiêu khi bệnh xuất hiện.

Ghi nhận chỉ tiêu về tỷ lệ bệnh (đếm số hạt bị nhiễm bệnh trên tổng số hạt trên bông, ghi nhận 14 bông/chậu, lấy trung bình) và cấp bệnh dựa theo tỷ lệ bệnh (theo IRR1 (2002) phân thành 5 cấp bệnh như sau: Cấp 1: < 1% số hạt bị bệnh trên tổng số hạt; Cấp 3: > 1 đến 5 % số hạt bị bệnh trên tổng số hạt; Cấp 5: > 5 đến 25 % số hạt bị bệnh trên tổng số hạt; Cấp 7: > 25 đến 50 % số hạt bị bệnh trên tổng số hạt; Cấp 9: > 50 % số hạt bị bệnh trên tổng số hạt).

Xác định mật số TKT tồn tại trên bông lúa qua các thời điểm sau khi xử lý TKT và vi khuẩn: Tiến hành cắt 1 bông lúa/chậu của tất cả nghiệm thức trừ đối chứng ở 6 thời điểm sau khi xử lý: 0, 6, 24, 48, 72 giờ và 10 ngày; cân trọng lượng từng bông lúa, ghi nhận cụ thể, mỗi nghiệm thức chỉ khảo sát mật số TKT tồn tại trên 3 chậu, tương ứng với 3 lặp lại, mỗi chậu khảo sát 1 bông lúa ở từng thời điểm. Cho từng bông lúa vào từng bình tam giác có chứa 100 ml nước cất thanh trùng và che tối. Lắc trên máy lắc ngang (100 vòng/phút) trong 20 phút. Rút 1 ml huyền phù trong từng bình tam giác cho vào từng ống eppendorf cộng thêm 50  $\mu$ l chloroform, lắc đều bằng vortex và ly tâm với vận tốc 6000

vòng/phút trong 5 phút, sau đó rút lấy 700  $\mu$ l phần dung dịch trong bên trên và tiến hành đếm mật số TKT ở các nồng độ pha loãng  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$ . Rút 50  $\mu$ l từng nồng độ pha loãng + 100  $\mu$ l huyền phù vi khuẩn *B. glumae* Bur CT4 cho vào đĩa petri, sau đó tiến hành đổ đĩa bằng môi trường King's B 0,8% agar đã được nấu tan để nguội ở 50°C và hòa đều đĩa bằng cách lắc nhẹ. Sau 24 giờ, ghi nhận mật số TKT bằng cách đếm số thực khuẩn (plaques) hình thành trên đĩa petri, thực hiện tính toán và chuyển đổi mật số TKT về đơn vị pfu/g. Riêng thời điểm 10 ngày chỉ đếm mật số ở nồng độ pha loãng  $10^0$ ,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ .

Chỉ tiêu thành phần năng suất: số hạt chắc/bông, tỷ lệ hạt chắc/bông (%), trọng lượng 1000 hạt (âm độ 14%), năng suất lý thuyết (g/chậu), năng suất thực tế (g/chậu).

Xử lý số liệu bằng Excel và phân tích thống kê bằng phần mềm MstatC qua phép thử Duncan.

### 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1 Khả năng tiêu diệt vi khuẩn

##### *Burkholderia glumae* Bur CT4 của 6 dòng TKT trong điều kiện *in vitro*

Kết quả Bảng 1 cho thấy khả năng thực khuẩn của 6 dòng TKT khác nhau qua bốn thời điểm khảo sát.

Tại thời điểm 12 giờ sau khi nuôi cấy (GSKNC) TKT trên môi trường King's B 0,8% agar chứa vi khuẩn *B. glumae* cho thấy hiệu quả thực khuẩn của các dòng TKT đạt từ 2,06 – 2,36 mm. Trong đó, dòng TKT  $\Phi$ VL34 có đường kính phân giải cao hơn đạt 2,36 mm và khác biệt ý nghĩa so với các dòng TKT còn lại. Dòng TKT  $\Phi$ VL30 có đường kính phân giải thấp hơn (2,06 mm), nhưng không khác biệt so với hai dòng TKT  $\Phi$ AG58 (2,15 mm) và  $\Phi$ AG60 (2,16 mm).

Tại thời điểm 24 GSKNC, đường kính phân giải của 6 dòng TKT đạt từ 4,12 – 4,92 mm và khác biệt ý nghĩa thống kê. Dòng TKT  $\Phi$ VL34 vẫn cho hiệu quả diệt vi khuẩn cao hơn và khác biệt so với các dòng còn lại với đường kính phân giải đạt 4,92 mm. Kế đến là dòng TKT  $\Phi$ HG17,  $\Phi$ VL30 và  $\Phi$ VL39 với đường kính lần lượt là 4,64; 4,72 và 4,54 mm không khác biệt nhau, cao hơn và khác biệt so với 2 dòng TKT còn lại là  $\Phi$ AG58 (4,14 mm) và  $\Phi$ AG60 (4,12 mm).

Tại thời điểm 36 GSKNC, đường kính phân giải của 6 dòng TKT đạt từ 4,84 – 5,86 mm và khác biệt ý nghĩa thống kê. Trong đó, dòng TKT  $\Phi$ VL34 vẫn có đường kính phân giải cao hơn đạt 5,84 mm và khác biệt so với các dòng TKT còn lại. Kế đến là dòng TKT  $\Phi$ AG58 có đường kính phân

giải 5,44 mm và khác biệt so với các dòng TKT còn lại.

Đến thời điểm 48 GSKNC, đường kính phân giải của 6 dòng TKT đạt từ 6,76 – 9,26 mm và khác biệt ý nghĩa thống kê giữa các dòng TKT. Dòng TKT ΦHG17 và ΦVL34 lại có khả năng thực khuẩn mạnh và có đường kính phân giải lần lượt là 9,18 và 9,2 mm không khác biệt ý nghĩa thống kê, cao hơn và khác biệt so với các dòng còn lại. Dòng TKT ΦVL39 có đường kính phân giải là 6,76 mm thấp nhất.

Như vậy, dòng TKT ΦHG17 và ΦVL34 có khả năng tiêu diệt vi khuẩn *B. glumae* Bur CT4 cao hơn các dòng TKT ΦVL30, ΦVL39, ΦAG58 và

ΦAG60 trong điều kiện *in vitro*.

Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Tan *et al.* (2009) khi phân lập 132 dòng TKT từ nước cống thì có 30 dòng TKT cho khả năng phân giải với vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* và 5 dòng TKT trên *Erwinia chrysanthemi* với đường kính phân giải từ 6 – 17 mm trong 24 – 48 giờ. Tương tự, Nguyễn Thị Trúc Giang *et al.* (2014) cũng phân lập được 26 dòng TKT đối với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, trong đó có 4 dòng TKT cho khả năng phân giải cao đạt từ 5,9 – 11,7 mm trong 36 – 48 giờ. Khả năng tiêu diệt vi khuẩn trong điều kiện *in vitro* là khảo sát bước đầu cần thiết để nghiên cứu về hiệu quả của các dòng TKT trong điều kiện nhà lưới hoặc ngoài đồng.

**Bảng 1: Đường kính phân giải của 6 dòng TKT qua từng thời điểm khảo sát**

Dòng thực khuẩn thể	Địa điểm phân lập	Đường kính phân giải (mm)			
		12 giờ	24 giờ	36 giờ	48 giờ
ΦHG17	Phụng Hiệp – Hậu Giang	2,20 b	4,64 b	5,14 c	9,18 a
ΦVL30	Long Hồ – Vĩnh Long	2,06 c	4,72 b	4,94 d	8,08 b
ΦVL34	Long Hồ – Vĩnh Long	2,36 a	4,92 a	5,86 a	9,26 a
ΦVL39	Mang Thít – Vĩnh Long	2,22 b	4,54 b	4,84 d	6,76 d
ΦAG58	Phú Tân – An Giang	2,15 bc	4,14 c	5,44 b	7,80 c
ΦAG60	Chợ Mới – An Giang	2,16 bc	4,12 c	4,52 e	7,64 c
Mức ý nghĩa		*	*	*	*
CV (%)		4,15	3,07	2,61	1,97

Ghi chú: Trong cùng một cột những số có cùng chữ cái theo sau giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% trong phép thử Duncan, \* khác biệt ở mức ý nghĩa 5%

### 3.2 Hiệu quả phòng trừ bệnh thối hạt do vi khuẩn *Burkholderia glumae* Bur CT4 của 6 dòng TKT trong điều kiện nhà lưới

#### 3.2.1 Tỷ lệ bệnh và cấp bệnh

Kết quả Bảng 2 cho thấy qua 3 thời điểm khảo sát, cả 6 nghiệm thức có xử lý TKT đều cho tỷ lệ bệnh khác nhau, thấp hơn và khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng không xử lý TKT. Tại thời điểm 5 NSKLB, tỷ lệ bệnh của các nghiệm thức dao động từ 1,24 – 27,23%. Nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦVL34 và ΦVL39 có tỷ lệ bệnh tuần tự 1,24% và 1,42 %, thấp hơn và khác biệt ý nghĩa so với các nghiệm thức ΦHG17 và ΦAG60, nhưng không khác biệt ý nghĩa so với hai nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦAG58 và ΦVL30 với tỷ lệ bệnh lần lượt là 2,32 và 3,20%; nghiệm thức đối chứng có tỷ lệ bệnh cao nhất đạt 27,23%. Tại thời điểm 10 NSKLB, tỷ lệ bệnh của các nghiệm thức đều tăng, dao động từ 2,52 – 32,52%. Nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦVL34 có tỷ lệ bệnh (2,52%) thấp hơn và khác biệt ý nghĩa so với các nghiệm thức ΦHG17 (7,28%), ΦVL30 (6,32%), ΦAG60 (8,44%) và đối chứng (32,52%), nhưng không khác biệt so với nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦVL39 (2,96%) và ΦAG58 (3,89%). Đến thời điểm 15

NSKLB, tỷ lệ bệnh của các nghiệm thức đều tăng, nhưng tỷ lệ bệnh của 6 nghiệm thức xử lý TKT vẫn giữ thấp hơn trong khoảng 3,66 – 11,93%, thấp hơn và khác biệt so với đối chứng (73,23%). Ba nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦVL34, ΦVL39 và ΦAG58 có tỷ lệ bệnh thấp nhất trong khoảng 3,66 – 4,77%, khác biệt so với nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦHG17 (9,32%), ΦVL30 (8,27%), ΦAG60 (11,93%) và đối chứng (73,23%) (Hình 1).

Về cấp bệnh, kết quả Bảng 3 qua các thời điểm khảo sát các nghiệm thức có xử lý TKT đều có cấp bệnh khác nhau, thấp hơn và khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng. Tại thời điểm 5 NSKLB, các nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦVL34, ΦVL39 và ΦAG58 có cấp bệnh trong khoảng 1,83 – 2,20; thấp hơn và khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦHG17 (3,17), ΦVL30 (2,97), ΦAG60 (3,14) và đối chứng (6,11). Tại thời điểm 10 NSKLB, cấp bệnh của các nghiệm thức đều tăng, dao động từ 2,51 – 6,46. Nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦVL34 có cấp bệnh (2,51) thấp hơn và khác biệt ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại, nhưng không khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦVL39 (2,86). Đến thời điểm 15 NSKLB, cấp bệnh của

các nghiệm thức đều tăng, nhưng 6 nghiệm thức có xử lý TKT đều có cấp bệnh trong khoảng 3,09 – 4,86; thấp hơn và khác biệt ý nghĩa so với đối chứng (8,86). Nghiệm thức xử lý dòng TKT  $\Phi$ VL34 vẫn có cấp bệnh (3,09) thấp hơn và khác biệt ý nghĩa so với các nghiệm thức xử lý TKT còn lại bao gồm  $\Phi$ HG17 (4,71),  $\Phi$ VL30 (4,54),  $\Phi$ AG58 (3,75) và  $\Phi$ AG60 (4,86), nhưng không khác biệt so với nghiệm thức xử lý dòng TKT

$\Phi$ VL39 với cấp bệnh là 3,46.

Nhìn chung, kết quả tỷ lệ bệnh và cấp bệnh cho thấy tất cả 6 dòng TKT đều thể hiện được hiệu quả giảm bệnh thối hạt so với đối chứng. Trong đó, nghiệm thức xử lý dòng TKT  $\Phi$ VL34 cho thấy khả năng ức chế bệnh thối hạt do *B. glumae* một cách hiệu quả và ổn định qua 3 thời điểm khảo sát, kể đến là dòng TKT  $\Phi$ VL39.

**Bảng 2: Tỷ lệ bệnh trên bông khi xử lý với các dòng TKT khác nhau**

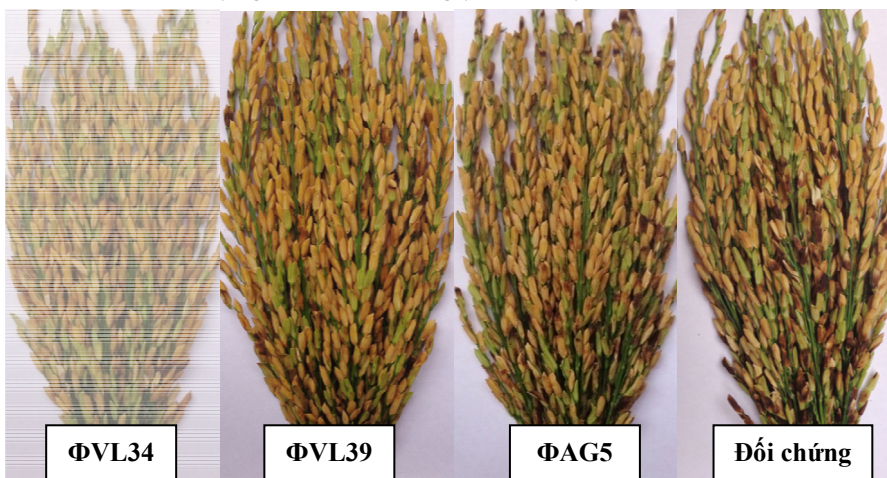
Dòng thực khuẩn thể	Địa điểm phân lập	Tỷ lệ bệnh trên bông qua các thời điểm (%)		
		5 NSKLB	10 NSKLB	15 NSKLB
$\Phi$ HG17	Phụng Hiệp – Hậu Giang	4,02 bc	7,28 b	9,32 c
$\Phi$ VL30	Long Hồ – Vĩnh Long	3,20 bcd	6,32 bc	8,27 c
$\Phi$ VL34	Long Hồ – Vĩnh Long	1,24 d	2,52 d	3,66 d
$\Phi$ VL39	Mang Thít – Vĩnh Long	1,42 d	2,96 d	3,93 d
$\Phi$ AG58	Phú Tân – An Giang	2,32 cd	3,89 cd	4,77 d
$\Phi$ AG60	Chợ Mới – An Giang	4,68 b	8,44 b	11,93 b
Đối chứng		27,23 a	32,52 a	73,23 a
Mức ý nghĩa		*	*	*
CV (%)		25,73	22,47	6,05

Ghi chú: Trong cùng một cột những số có cùng chữ cái theo sau giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% trong phép thử Duncan, \* khác biệt ở mức ý nghĩa 5%, NSKLB: ngày sau khi lấy bệnh

**Bảng 3: Cấp bệnh trên bông khi xử lý với các dòng TKT khác nhau**

Dòng thực khuẩn thể	Địa điểm phân lập	Cấp bệnh trên bông qua các thời điểm		
		5 NSKLB	10 NSKLB	15 NSKLB
$\Phi$ HG17	Phụng Hiệp – Hậu Giang	3,17 b	4,57 b	4,71 b
$\Phi$ VL30	Long Hồ – Vĩnh Long	2,97 b	4,06 b	4,54 b
$\Phi$ VL34	Long Hồ – Vĩnh Long	1,83 c	2,51 d	3,09 d
$\Phi$ VL39	Mang Thít – Vĩnh Long	1,93 c	2,86 cd	3,46 cd
$\Phi$ AG58	Phú Tân – An Giang	2,20 c	3,15 c	3,75 c
$\Phi$ AG60	Chợ Mới – An Giang	3,14 b	4,57 b	4,86 b
Đối chứng		6,11 a	6,46 a	8,86 a
Mức ý nghĩa		*	*	*
CV (%)		16,87	10,33	7,89

Ghi chú: Trong cùng một cột những số có cùng chữ cái theo sau giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% trong phép thử Duncan, \* khác biệt ở mức ý nghĩa 5%, NSKLB: ngày sau khi lấy bệnh



**Hình 1: Hiệu quả phòng trừ bệnh thối hạt của các dòng TKT so với đối chứng ở thời điểm thu hoạch lúa (98 ngày)**

3.2.2 Mật số của 6 dòng thực khuẩn thể tồn tại trên bông lúa sau khi xử lý

Kết quả Bảng 4 cho thấy mật số của 6 dòng thực khuẩn thể khác nhau qua các thời điểm khảo sát.

Tại thời điểm 0 giờ sau khi lây bệnh (SKLB), log<sub>10</sub> mật số TKT (pfu/g) không có sự khác biệt giữa 6 nghiệm thức xử lý TKT. Tại thời điểm này mật số chưa biến động là do TKT chưa có thời gian ký sinh lên vi khuẩn ký chủ để tăng sinh mật số và chưa bị các yếu tố bất lợi của môi trường làm giảm mật số.

Tại thời điểm 6 giờ SKLB, log<sub>10</sub> mật số TKT của 6 nghiệm thức tăng. Nghiệm thức xử lý TKT dòng ΦVL34 có log<sub>10</sub> mật số TKT là 8,66 cao hơn và khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức xử lý TKT dòng ΦAG60 (7,93), nhưng không khác biệt so với các nghiệm thức còn lại. Đây là thời điểm TKT đã ký sinh lên vi khuẩn ký chủ nên mật số của các dòng TKT đều tăng.

Tại thời điểm 24 giờ SKLB nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦVL34 có log<sub>10</sub> mật số TKT (8,62) đạt cao nhất và khác biệt so với 3 nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦHG17, ΦVL30 và ΦAG60 với log<sub>10</sub> mật số TKT lần lượt là 7,79; 8,11 và 7,91; nhưng không khác biệt so với 2 nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦVL39 (8,48) và ΦAG58 (8,31).

Tại thời điểm 48 giờ SKLB, log<sub>10</sub> mật số TKT của 6 nghiệm thức có khuynh hướng giảm. Nghiệm thức xử lý TKT dòng ΦVL34 và ΦVL39 và có log<sub>10</sub> mật số TKT 8,21 và 8,27 cao hơn và khác biệt ý nghĩa so với 3 nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦHG17, ΦVL30 và ΦAG60 với log<sub>10</sub> mật số TKT tương ứng là 6,93; 7,71 và 6,73; nhưng không khác

biệt so với nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦAG58 (7,94).

Tại thời điểm 72 giờ SKLB, mật số của tất cả nghiệm thức đều giảm và không có sự khác biệt.

Đến thời điểm 10 ngày SKLB, sự hiện diện của TKT trên bông còn thấp với log<sub>10</sub> mật số TKT (pfu/g) trong khoảng 3,70 – 4,44.

Trong khoảng thời gian từ 0 giờ SKLB đến 24 giờ SKLB, đây là thời điểm vi khuẩn ký chủ *B. glumae* phát triển và gia tăng mật số trên bông lúa đồng thời là điều kiện để TKT bắt đầu tăng sinh và ký sinh vào vi khuẩn ký chủ. Qua thời điểm 24 giờ SKLB thì mật số TKT bắt đầu giảm ở tất cả các nghiệm thức, có thể thấy qua thời điểm 24 giờ SKLB mật số vi khuẩn đã giảm xuống thấp nên TKT không còn vi khuẩn để ký sinh nên mật số TKT cũng giảm theo, đồng thời sau thời điểm này là thời điểm cây lúa được đưa ra ngoài điều kiện tự nhiên chịu tác động trực tiếp của ánh sáng mặt trời, điều kiện nhiệt độ, ẩm độ của nhà lưới.

Kết quả về mật số TKT, đặc biệt giai đoạn 0 – 24 giờ SKLB, có tương quan thuận với khả năng giảm bệnh của các dòng TKT. Giai đoạn này cây lúa được ủ bệnh trong điều kiện ẩm độ cao, che tối cẩn thận, tránh được các tác động bất lợi khác, vi khuẩn ký chủ đang tăng sinh. Đó là những điều kiện tối hảo để TKT đã phát huy khả năng ký sinh và tiêu diệt vi khuẩn *B. glumae*, hạn chế sự xâm nhiễm vào bông lúa giúp tăng hiệu quả giảm bệnh so với đối chứng không xử lý TKT. Bên cạnh đó, khả năng tăng mật số giữa các dòng TKT là khác nhau nên hiệu quả giảm bệnh cũng khác nhau. Sự nhân mật số TKT càng cao càng thể hiện hiệu quả giảm bệnh cao, như quan sát được ở nghiệm thức xử lý ΦVL34, kế đến là ΦVL39 và ΦAG58.

**Bảng 4: Mật số của 6 dòng thực khuẩn thể trên hạt lúa ở từng thời điểm khảo sát**

Dòng thực khuẩn thể	Log <sub>10</sub> mật số TKT (pfu/g mẫu hạt) qua các thời điểm khảo sát					
	0 giờ SKLB	6 giờ SKLB	24 giờ SKLB	48 giờ SKLB	72 giờ SKLB	10 ngày SKLB
ΦHG17	7,64	8,11 ab	7,79 c	6,93 c	6,03	3,70 b
ΦVL30	7,21	8,30 ab	8,11 bc	7,71 b	6,02	4,10 a
ΦVL34	7,29	8,66 a	8,62 a	8,21 a	6,23	4,21 a
ΦVL39	7,56	8,40 ab	8,48 ab	8,27 a	6,11	4,29 a
ΦAG58	7,47	8,46 ab	8,31 ab	7,94 ab	6,35	4,44 a
ΦAG60	7,56	7,93 b	7,91 c	6,73 c	6,04	4,15 a
Mức ý nghĩa	ns	*	*	*	ns	*
CV (%)	3,25	3,70	2,61	3,49	4,38	4,77

Ghi chú: Trong cùng một cột những số có cùng chữ cái theo sau giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% trong phép thử Duncan, \* khác biệt ở mức ý nghĩa 5%, SKLB: sau khi lây bệnh

3.2.3 Ảnh hưởng của các dòng TKT khác nhau đến thành phần năng suất lúa

Kết quả thành phần năng suất được thể hiện qua Bảng 5 cho thấy các nghiệm thức có xử lý TKT điều mang lại hiệu quả về chỉ tiêu năng suất so với nghiệm thức đối chứng không xử lý TKT.

Về chỉ tiêu số hạt chắc/bông, các nghiệm thức có xử lý TKT đều có sự khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng không xử lý TKT trừ ΦAG60. Trong đó, nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦVL34 có số hạt chắc/bông là 125,3; cao hơn và khác biệt so với 4 nghiệm thức bao gồm đối chứng, ΦAG60, ΦVL30 và ΦHG17 với số hạt chắc trong khoảng 64,20 – 99,43 hạt, nhưng không khác biệt so với hai nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦVL39 và ΦAG58 với số hạt chắc/bông lần lượt là 114,80 và 113,00.

Về tỷ lệ hạt chắc, các nghiệm thức có xử lý TKT đều tỷ lệ hạt chắc trong khoảng 55,43 – 85,32% cao hơn và có sự khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (45,25%). Tỷ lệ hạt chắc cao nhất ở nghiệm thức xử lý TKT dòng ΦVL34 (85,32%), lần lượt đến các nghiệm thức ΦVL39 (76,17%) và ΦAG58 (74,82%), trong khi đối chứng không xử lý chỉ đạt 45,28%.

Theo Yoshida (1981) cho rằng trọng lượng hạt là đặc tính ổn định và kích thước hạt bị kiểm soát chặt chẽ bởi vỏ trấu hạt, kích thước vỏ trấu thay đổi chút ít do bức xạ mặt trời trong 2 tuần trước trổ gié. Do đó, hạt không thể sinh trưởng lớn hơn khả năng của vỏ trấu dù điều kiện thuận lợi. Kết quả

Bảng 5 cũng phù hợp với nhận định của Yoshida (1981) và Nguyễn Ngọc Đệ (2008), trọng lượng 1000 hạt chắc do đặc tính di truyền quyết định. Giữa các nghiệm thức không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê, trọng lượng 1000 hạt chắc dao động ở khoảng 26,87 g (nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦVL34) đến 25,21 g (nghiệm thức đối chứng).

Năng suất lý thuyết (NSLT) được hình thành và chịu ảnh hưởng của bốn thành phần năng suất là: số hạt chắc/bông, số bông trên một đơn vị diện tích, tỷ lệ phần trăm hạt chắc, trọng lượng 1000 hạt chắc. Các thành phần năng suất này có liên quan mật thiết với nhau, khi bốn thành phần đạt được tối hảo thì năng suất sẽ đạt tối đa. Qua Bảng 5 cho thấy, giữa các nghiệm thức có sự khác biệt ý nghĩa, NSLT cao nhất ở nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦVL34 (40,34 g/chậu), tiếp đến là nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦVL39 (32,23 g/chậu) và ΦAG58 (30,95 g/chậu), trong đó nghiệm thức đối chứng không xử lý TKT cho NSLT thấp nhất (10,34 g/chậu).

Năng suất thực tế (NSTT) là trọng lượng hạt chắc thu hoạch được trên từng nghiệm thức sau khi sấy đạt ẩm độ 14%. Kết quả Bảng 5 cho thấy NSTT giữa các nghiệm thức có sự khác biệt ý nghĩa, dao động từ 21,15 đến 45,58 g/chậu. Trong đó, cao nhất là nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦVL34 (45,58 g/chậu), tiếp đến là nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦVL39 và ΦAG58 (42,07 và 41,31 g/chậu). Nghiệm thức đối chứng có NSTT thấp nhất với chỉ 21,15 g/chậu.

**Bảng 5: Ảnh hưởng của các dòng TKT khác nhau đến thành phần năng suất lúa**

Dòng thực khuẩn thể	Chỉ tiêu năng suất				
	Số hạt chắc/bông	Tỷ lệ hạt chắc (%)	Trọng lượng 1000 hạt (g)	Năng suất lý thuyết (g/chậu)	Năng suất thực tế (g/chậu)
ΦHG17	99,43 bc	63,59 c	25,86 ab	23,16 cd	36,09 bc
ΦVL30	98,92 bc	66,56 c	26,04 ab	24,31 bc	36,01 bc
ΦVL34	125,30 a	85,32 a	26,87 a	40,34 a	45,58 a
ΦVL39	114,80 ab	76,17 b	26,20 ab	32,23 b	42,07 ab
ΦAG58	113,00 ab	74,82 b	26,33 ab	30,95 bc	41,31 ab
ΦAG60	79,89 cd	55,43 d	25,60 ab	16,04 de	28,81 cd
Đối chứng	64,20 d	45,28 e	25,21 b	10,34 e	21,15 d
Mức ý nghĩa	*	*	*	*	*
CV (%)	16,11	8,59	3,91	23,18	18,58

Ghi chú: Trong cùng một cột những số có cùng chữ cái theo sau giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% trong phép thử Duncan, \* khác biệt ở mức ý nghĩa 5%

Nhìn chung, nghiệm thức xử lý dòng TKT ΦVL34 cho hiệu quả giảm bệnh cao nên dẫn đến các thành phần năng suất đạt tốt nhất so với tất cả các nghiệm thức còn lại. Điều này cho thấy dòng TKT ΦVL34 cho hiệu quả giảm bệnh thối hạt cao hơn trong 6 dòng TKT khảo sát trong điều kiện nhà lưới. Đường kính phân giải 6 dòng TKT qua 4 thời

điểm là 12 giờ, 24 giờ, 36 giờ và 48 giờ thì dòng TKT ΦVL34 có đường kính phân giải lớn hơn, kết hợp với Bảng 4 ghi nhận dòng TKT ΦVL34 có mật số trên bông lúa sau khi xử lý trong điều kiện nhà lưới đạt cao hơn tại các thời điểm khảo sát. Tiếp đến là 2 nghiệm thức xử lý 2 dòng TKT ΦVL39 và ΦAG58 thể hiện hiệu quả giảm bệnh tốt, đạt thành

phần năng suất tốt và lại có mật số hiện diện trên bông lúa cao tại từng thời điểm khảo sát, mặc dù 2 dòng TKT này có đường kính phân giải không cao so với dòng TKT ΦHG17. Từ đó có thể thấy rằng nếu TKT có khả năng nhân mật số trên cây trồng sau khi xử lý thì hiệu quả giảm bệnh cao. Kết quả này được ghi nhận tương tự Nga *et al.* (2016).

#### 4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

Sáu dòng TKT đều có đường kính phân giải vi khuẩn cao đạt trong khoảng 6,76-9,26 mm vào 48 giờ sau khi nuôi cấy, trong đó hai dòng TKT ΦHG17 và ΦVL34 thể hiện khả năng tiêu diệt vi khuẩn cao với đường kính phân giải đạt 9,12 và 9,26 mm cao hơn khác biệt ý nghĩa so các dòng TKT còn lại.

Thí nghiệm đánh giá hiệu quả phòng trừ bệnh của 6 dòng TKT ở mật số  $10^8$  pfu/ml cho thấy cả 6 dòng TKT đều thể hiện hiệu quả giảm bệnh thông qua tỷ lệ bệnh và cấp bệnh, trong đó dòng TKT ΦVL34 thể hiện hiệu quả giảm bệnh cao hơn các dòng TKT khác, kể đến là dòng TKT ΦVL39 và ΦAG58, và năng suất 3 dòng TKT này thể hiện tốt hơn so với các nghiệm thức khác. Sự nhân mật số và tồn tại của TKT trên bông lúa có liên quan đến khả năng giảm bệnh của TKT.

Cần thực hiện thí nghiệm ngoài đồng để đánh giá khả năng phòng trừ bệnh thối hạt do vi khuẩn *B. glumae* gây ra của 3 dòng TKT triển vọng là ΦVL34, ΦVL39, ΦAG58.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Balogh, B., Canteros, B. I., Stall, R. E. and Jones, J. B. (2008). Control of citrus canker and citrus bacterial spot with bacteriophages. *Plant Dis*, 92: 1048-1052.

Chien, C.C. and Chang, Y.C. (1987). The susceptibility of rice plants at different growth stages and of 21 commercial rice varieties to *Pseudomonas glumae*. *J. Agric. Res. China*, 36: 302-310.

Civerolo, E. L. (1982). Disease management my cultural practices and environmental control. In: *Phytopathogenic Prokaryotes*, Mount, M.S., Lacy, G.H., Eds.; Academic Press: New York, pp. 343- 360.

Cottyn, B., Cerez, M.T., Van Outryve, M.F. and Barroga, J. (1996). Bacterial diseases of rice I. Pathogenic bacteria associated with sheath rot complex and grain discoloration of rice in the Philippines. *Plant Dis*, 80: 429-437.

Goto, K. and Ohata, K. (1956). New bacterial diseases of rice (brown stripe and grain rot). *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.*, 21: 46-47.

Jeong, Y., Kim, J., Kim, S., Kang, Y., Nagamatsu, T. and Hwang, I. (2003). Toxoflavin produced by

*Burkholderia glumae* causing rice grain rot is responsible for inducing bacterial wilt in many field crops. *Plant Dis*, 87: 890-895.

Luo, J., Xie, B. and Lihui, X. (2007). First report of *Burkholderia glumae* isolated from symptomless rice seeds in China. *Plant Dis*, 91: 1363.

Hồ Cảnh Thịnh. (2015). Phân lập và tuyển chọn các dòng thực khuẩn thể trong phòng trừ bệnh thối hạt trên lúa do vi khuẩn *Burkholderia glumae* và khảo sát môi trường, điều kiện nhân nuôi thực khuẩn thể. Luận văn tốt nghiệp kỹ sư Bảo vệ Thực vật. Đại học Cần Thơ.

McNeil, D. L., Romero, S., Kandula, J., Stark, C., Stewart, A. and Larsen, S. (2001). Bacteriophages: a potential biocontrol agent against walnut blight (*Xanthomonas campestris* pv. *juglandis*). *N.Z. Plant Prot.*, 54: 220-224.

Munsch, P. and Olivier, J. M. (1995). Biocontrol of Bacterial Blotch of the Cultivated Mushroom with Lytic Phages: Some Practical Considerations. In: *Science and Cultivation of Edible Fungi, Proceedings of the 14th International Congress*, Elliott, T. J. Ed., Balkema, AA., Rotterdam, The Netherlands, vol. II, pp. 595-602.

Nga, N.T.T., Balogh, B., Jones, B. (2016). Multiplication of bacteriophage in phyllosphere may be good predictor of in planta efficacy for controlling bacterial leaf spot on tomato caused by *Xanthomonas perforans*. 3rd International Symposium on Biological Control of Plant Bacterial Diseases.

Nguyễn Ngọc Đệ (2008). Giáo trình cây lúa. Thư viện Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng. Trường Đại học Cần Thơ. 242 trang.

Nguyễn Thị Thu Nga và Lương Hữu Tâm (2014). Bước đầu phân lập và đánh giá khả năng ký sinh, tính đặc hiệu một số chủng thực khuẩn thể của vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Tạp chí Hội thảo quốc gia Bệnh hại Thực vật*. 13: 76-84.

Nguyễn Thị Trúc Giang, Đoàn Thị Kiều Tiên và Nguyễn Thị Thu Nga (2014). Phân lập thực khuẩn thể và đánh giá hiệu quả phòng trị bệnh cháy bìa lá do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 4: 194-203.

Phạm Văn Kim (2015). Các bệnh hại lúa quan trọng ở Đồng bằng sông Cửu Long. Nhà xuất bản Nông Nghiệp. 126 trang.

Ravensdale, M., Blom, T. J., Gracia-Garza, J. A., Svircev, A. M. and Smith, R. J. (2007). Bacteriophages and the control of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. *Can. J. Plant Pathol.*, 29: 121-130.

Riera-Ruiz, C., J. Vargas, J. M. Cevallos-Cevallos, M. Ratti, and E. L. Peralta (2014). First Report of *Burkholderia glumae* Causing Bacterial Panicle Blight on Rice in Ecuador. *Plant Dis*, 98(11): 1577.



- Schnabel, E. L. and Jones, A. L. (2001). Isolation and characterization of five *Erwinia amylovora* bacteriophages and assessment of phage resistance in strains of *Erwinia amylovora*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67(1): 59-64.
- Svircev, A. M., Lehman, S. M., Kim, W. S., Barszcz, E., Schneider, K. E. and Castle, A. J. (2005). In: Proceedings of the 1st International Symposium on Biological Control of Bacterial Plant Diseases, Zeller, W., Ullrich, C., Eds., Die Deutsche Bibliothek - CIPEinheitsaufnahme: Berlin, Germany, pp. 259-261.
- Tanaka, H., Negishi, H. and Maeda, H. (1990). Control of tobacco bacterial wilt by an avirulent strain of *Pseudomonas solanacearum* M4S and its bacteriophage. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn*, 56, 243- 246.
- Trung, H.M., Van, N.V., Vien, N.V., Lam, D.T. and Lien, M. (1993). Occurrence of rice grain rot disease in Vietnam. *Int. Rice Res. Notes*, 18, 30
- Yoshida, S. (1981). Cơ sở khoa học về cây lúa. Viện Nghiên cứu lúa gạo Quốc tế. (Người dịch: Trần Minh Thành, Trường Đại học Cần Thơ). Trang 105-256.
- Zeigler, R.S. and Alvarez, E. (1989). Grain discoloration of rice caused by *Pseudomonas glumae* in Latin America. *Plant Dis.* 73, 368.
- Zhou, X. G. (2014). First report of bacterial panicle blight of rice caused by *Burkholderia glumae* in south Africa. *Plant Dis.* 98(4): 556.