

**LIÊN HIỆP CÁC HỘI KHOA HỌC VÀ KỸ THUẬT VIỆT NAM
HỘI CÁC NGÀNH SINH HỌC VIỆT NAM
HỘI NGHIÊN CỨU BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM
(V.P.S)**

**HỘI THẢO QUỐC GIA
BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM**

Lần thứ 20

Kỷ niệm 20 năm thành lập Hội Nghiên cứu Bệnh hại thực vật Việt Nam

The 20th National Conference of Phytopathological Society of Vietnam
V.P.S. - 2021

ISBN: 978-604-60-3373-8

**NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP
HÀ NỘI - 2021**

HỘI THẢO QUỐC GIA BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM

Ban Biên tập

- | | |
|----------------------------|-------------------------------------|
| 1. GS.TS. Vũ Triệu Mân | Trưởng ban |
| 2. PGS.TS. Nguyễn Đắc Khoa | Ủy viên thường trực |
| 3. GS.TS. Bùi Chí Bửu | Ủy viên |
| 4. GS.TS. Bùi Cách Tuyến | Ủy viên |
| 5. GS.TS. Nguyễn Văn Tuất | Ủy viên |
| 6. PGS.TS. Phạm Văn Dư | Ủy viên |
| 7. PGS.TS. Hà Việt Cường | Ủy viên |
| 8. PGS.TS. Nguyễn Văn Việt | Ủy viên |
| 9. TS. Đặng Vũ Thị Thanh | Ủy viên |
| 10. ThS. Phạm Thanh Thủy | Ủy viên phụ trách công tác xuất bản |

(Tranh bìa: Tranh của GS.TS. Vũ Triệu Mân ký họa phong cảnh nơi đoàn du lịch của Hội dồng chân nghỉ ở Nghĩa Lộ, Yên Bái năm 2015)

KỶ NIỆM 20 NĂM NGÀY THÀNH LẬP HỘI NGHIÊN CỨU BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM (29/9/2001 - 29/9/2021)

Kính thưa các vị khách quý,

Kính thưa các vị đại biểu,

Hội Nghiên cứu Bệnh hại thực vật Việt Nam chúng ta được thành lập ngày 29/9/2001, năm nay là Hội thảo Quốc gia về bệnh hại thực vật Việt Nam lần thứ 20 cũng là kỷ niệm 20 năm thành lập Hội. Nhớ lại những năm xưa khi ngành Bệnh cây còn bé nhỏ, nhiều thế hệ đàn anh chúng ta đã nghiên cứu bệnh cây trong chiến tranh ở chiến khu hay trong vùng địch tạm chiếm. Phương tiện nghèo nàn với những kính hiển vi nhỏ bé trong phòng thí nghiệm đơn sơ nhưng một thời các anh chị đã góp phần quan trọng bảo vệ sản xuất. Ở miền Bắc, Tổ Nghiên cứu Bệnh cây đầu tiên đã được thành lập tại Viện Khảo cứu Nông nghiệp Việt Nam tại Văn Điển do Kỹ sư Phan Thị Liễu làm tổ trưởng. Thành tựu đầu tiên là các bài báo của bà Phan Thị Liễu về bệnh đạo ôn hại lúa, bệnh thối rễ cà phê, bệnh phòng lá chè. Trong chiến tranh ngành Bệnh cây đã dần phát triển với sự trưởng thành của việc đào tạo kỹ sư bảo vệ thực vật tại Trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội. Từ nguồn cán bộ này kết hợp nguồn cán bộ đào tạo từ các nước trở về, chúng ta dần hình thành hệ thống bảo vệ thực vật gồm cục, viện, trường và mạng lưới mở rộng xuống cấp tỉnh/thành, huyện, xã trong toàn quốc. Những trận dịch lớn xảy ra liên tiếp thử thách ngành Bệnh cây Việt Nam ngay từ những năm 59 - 60 của thế kỷ XX như bệnh tiêm lửa, bệnh lúa von, bệnh khô vằn, bệnh đạo ôn, bệnh bạc lá, bệnh vàng lụi trên lúa; nhiều bệnh trên ngô như đốm lá, gỉ sắt, bạch tạng; các bệnh phòng lá chè, sùi cành chè; bệnh gỉ sắt cà phê; bệnh phấn trắng, xì mù cao su; bệnh khảm lá thuốc lá... Rất nhiều bệnh trên rau vùng ngoại vi Hà Nội, Hải Phòng như bệnh mốc sương cà chua, khoai tây, bệnh nấm hạch, bệnh vi khuẩn cải bắp, bệnh xoắn lá cà chua, khoai tây..., bệnh tiêm lửa, đốm nâu gây tình trạng thiếu mạ, lúa còi cọc, năng suất thấp, những năm 60 bệnh đã dần được khắc phục nhờ biện pháp phòng trừ bằng canh tác. Bệnh đạo ôn, bạc lá được khoanh vùng dập dịch. Một trận dịch lớn gây hiện tượng vàng lụi lúa từ miền Tây Bắc đến đồng bằng, từ Lạng Sơn đến vùng trung du Bắc Bộ liên tục từ năm 1963 đến năm 1969 đã tàn phá nhiều vụ lúa ở miền Bắc và Bắc Trung Bộ nước ta. Tác giả Đường Hồng Dật có công lớn trong việc xác định nguyên nhân cùng các nhà khoa học của Trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội như tác giả Hồ Khắc Tín, Lê Khôi,

Nguyễn Ngọc Tiến nghiên cứu bộ rày xanh đuôi đen truyền bệnh, tác giả Lê Trường nghiên cứu sử dụng thuốc hợp lý diệt bộ rày. Nhiều nghiên cứu điều tra và phòng trừ của các tác giả Bùi Văn Ích, Đặng Thái Thuận, Nguyễn Hữu Thụy, Trần Huy Thọ, Phan Đình Phụng, Vũ Khắc Nhượng, Hà Minh Trung... đã giúp việc phòng chống bệnh thành công ở miền Bắc nước ta và giống lúa phải thay đổi, cải tạo lại cơ cấu giống và mùa vụ. Tác giả Bùi Huy Đáp đã có công phát triển lúa Xuân, vụ lúa mới của miền Bắc. Tác giả Vũ Tuyên Hoàng đã thực hiện ý tưởng đưa lúa Mùa trồng trong vụ Xuân với việc tạo các giống Đông Xuân 2, 3, 4, 5 đạt hiệu quả năng suất cao. Bệnh bạc lá lúa được hạn chế dần với các nghiên cứu của các tác giả Lê Lương Tề, Vũ Khắc Nhượng và nhiều nhóm nghiên cứu của Viện Bảo vệ thực vật và Trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội. Bệnh đạo ôn, khô vằn, tiêm hạch đã được Viện và Trường cùng Cục, Viện Bảo vệ thực vật đưa ra nhiều biện pháp hạn chế tác hại có hiệu quả. Ngoài nghiên cứu về lúa các tác giả còn có nhiều công bố về bệnh trên cây trồng khác, đó là: Tác giả Đặng Thái Thuận công bố về bệnh hại lạc ở Nghệ An; Tác giả Lê Lương Tề công bố về bệnh giác ban bông, bệnh loét cam, bệnh hại chè; Tác giả Vũ Hoan công bố về bệnh mốc sương cà chua; Tác giả Vũ Triệu Mân công bố về bệnh nấm gây chết cây khoai tây; Tác giả Phan Quốc Sùng và *ctv.* có nhiều kết quả nghiên cứu về bệnh tuyến trùng, bệnh gỉ sắt cà phê. Cùng thời gian này những nghiên cứu về bệnh virus thực vật bắt đầu phát triển, việc chẩn đoán, xác định bệnh virus không chỉ dùng côn trùng lây bệnh làm bằng chứng mà đã dùng phương pháp tạo kháng huyết thanh chẩn đoán. Tác giả Nguyễn Hữu Thụy (1966) đã điều chế thử kháng huyết thanh chẩn đoán virus X khoai tây. Từ năm 1969 đến đầu những năm 1970 tác giả Nguyễn Thọ đã chế tạo thành công kháng huyết thanh chẩn đoán virus TMV trên cà chua và trên thuốc lá. Đây là kháng huyết thanh đầu tiên được sản xuất tại Việt Nam và đã phòng trừ bệnh xoắn lá cà chua và bệnh virus thuốc lá có hiệu quả tại khu vực Hà Nội. Năm 1969, tác giả Vũ Triệu Mân đã thực hiện phòng trừ các virus trên khoai tây ở miền Bắc Việt Nam. Về các tài liệu xuất bản trong giai đoạn này phải kể đến tài liệu dịch của KS. Vũ Minh về *Phương pháp nghiên cứu bệnh cây trong phòng thí nghiệm và điều tra đồng ruộng*, trở thành một trong những cẩm nang về Phương pháp nghiên cứu khoa học bệnh lý thực vật Việt Nam trong những năm 1960; Cuốn *Bệnh hại lúa và phương pháp phòng trị* (1963); *Phương pháp đơn giản theo dõi sâu bệnh trên đồng ruộng* (1965); *Bệnh lúa vàng lụi* (1966) của Đường Hồng Dật; *Giáo trình Bệnh cây đại cương* (1965) của Đường Hồng Dật, Đặng Thái Thuận; Cuốn *Thực hành bệnh cây nông nghiệp* (1971) của Lê Lương Tề là những cuốn sách đầu tiên ở giai đoạn này về bệnh cây. Năm 1967 - 1968, Bộ Nông nghiệp đã quyết định thành lập Ban Điều tra cơ bản côn trùng và bệnh cây. Bộ môn Bệnh cây do ông Hà Minh Trung là Trưởng Bộ môn, Bộ môn Côn trùng do ông Hồ Khắc Tín làm Trưởng Bộ môn đã cùng các chuyên gia thu thập mẫu và kiểm tra pháp hiện nhiều loại bệnh và sâu

hại cây trồng ở Việt Nam. Ông Diệp Chấn khánh, Nguyễn Công Thuật, Nguyễn Văn Cẩm là những cán bộ chuyên môn có nhiều đóng góp cho Ban. Quan hệ giữa côn trùng truyền bệnh và bệnh cây được quan tâm. Cùng thời gian này ở miền Nam 4 tác phẩm của TS. Hoàng Thị Mỹ đó là: *Tình hình bệnh lý khoai tây tại vùng cao nguyên và những đề nghị đối phó; Những bệnh hại lúa ở Việt Nam và các đề nghị phòng trừ; Danh mục các bệnh nấm đã được giám định ở Việt Nam (1964); Luận khảo về các bệnh thường hại cây cối tại miền Nam Việt Nam và những phương pháp bài trừ (1966)*. Đây là những tài liệu cơ bản về bệnh cây ở miền Nam Việt Nam lúc bấy giờ. Về tuyển trùng tác giả Nguyễn Bá Khương là người công bố nhiều công trình nhất ở miền Nam Việt Nam trên các tạp chí trong nước và sau này là nhiều công trình trên các tạp chí quốc tế. Bệnh lúa vàng lụi, bệnh đạo ôn hại lúa và nhiều bệnh trên lúa và trên những cây trồng khác đã xuất hiện ở miền Nam gây những tác hại rất lớn trong sản xuất.

Năm 1975 miền Nam hoàn toàn giải phóng, thống nhất nước nhà, TS. Nguyễn Đăng Long nghiên cứu về sinh lý cây bệnh virus đã ở lại làm việc ở Đại học Nông Lâm Sài Gòn, hồi ấy PGS. Phạm Văn Kim vừa hoàn thành chương trình học tập sau đại học ở Nhật Bản đã không ngại khó khăn trở về miền Nam xây dựng quê hương, năm 1976 ông đã có bài đăng trên Tạp chí Bệnh cây Nhật Bản về “*Bệnh vi khuẩn Xanthomonas oryzae hại lúa và các thực khuẩn thể của chúng*”. Rất nhiều đồng chí, đồng nghiệp từ chiến khu trở về, từ miền Bắc về lại quê hương lao vào công việc xây dựng lại phòng thí nghiệm, chương trình giảng dạy, nghiên cứu. Tinh thần yêu nước của các anh đã động viên nhiều sinh viên và đồng nghiệp noi theo hăng hái xây dựng ngành. Sau ngày đất nước thống nhất, ngành Bệnh cây Việt Nam đã phát triển mạnh mẽ ở cả hai miền Nam - Bắc. Vào giai đoạn này một số sách và tài liệu đã được xuất bản như: *Giáo trình Bệnh cây nông nghiệp* do Lê Lương Tề chủ biên (1977). Một số sách phổ biến khoa học của Đường Hồng Dật và ctv. như: *Sổ tay bệnh hại cây trồng; Những nghiên cứu về bảo vệ thực vật; Tìm hiểu về khoa học bảo vệ thực vật (1976 - 1979); Cuốn Những phương pháp nghiên cứu bệnh cây* của Hà Minh Trung và Vũ Khắc Nhượng (1983). Những năm 1980 tác giả Hà Minh Trung có rất nhiều công trình nghiên cứu về bệnh hại cây lương thực, cây công nghiệp, rau, quả. Ông đã góp phần đào tạo nhiều cán bộ nghiên cứu cho Viện Bảo vệ thực vật và cho ngành Bệnh cây Việt Nam từ năm 1980 tới năm 2000. Năm 1982 Phạm Quý Hiệp và Nguyễn Văn Mẫn đã xác định virus Tristeza bằng kính hiển vi điện tử. Năm 1978 Vũ Triệu Mân công bố xác định 7 virus gây bệnh trên khoai tây ở miền Bắc Việt Nam, các nghiên cứu tổng hợp về một nhóm virus được trình bày lần đầu trong cuốn *Bệnh virus hại khoai tây* của Vũ Triệu Mân - NXB Khoa học (1985). Vũ Triệu Mân và ctv. đã ứng dụng kỹ thuật miễn dịch liên kết men (ELISA) và sớm áp dụng phương pháp PCR để chẩn đoán các bệnh virus tại Phòng Virus thực vật do Pháp viện trợ thành lập đầu tiên trong nước vào năm 1980 ở Trường Đại học Nông nghiệp I

Hà Nội. Một số phòng thí nghiệm khác trong nước ở các Viện, Trường cũng lần lượt mua kit ELISA và nhập phương pháp PCR để thử nghiệm. Ngành Bệnh cây nước ta đã chuyển sang giai đoạn mới hòa nhập với khu vực và thế giới trong kỹ thuật chẩn đoán bệnh bằng ELISA và các phương pháp sinh học phân tử. Năm 1980 - 1985 nhóm nghiên cứu gồm Vũ Triệu Mân, Nguyễn Văn Viêt, Đặng Phúc Lạn... đã áp dụng có kết quả biện pháp chọn lọc vệ sinh chống bệnh virus trong đề tài cấp nhà nước ở đồng bằng sông Hồng. Phạm Văn Kim và *ctv.* nghiên cứu phòng chống nhiều bệnh lúa và là tác giả của cuốn sách *Sâu bệnh hại lúa quan trọng ở đồng bằng sông Cửu Long*, NXB Đồng Tháp, 1996. Bản dịch tiếng Anh của Bùi Cách Tuyến về *Phương pháp chẩn đoán bệnh hại đậu phụng (đậu tương) và bệnh hại cây ớt*, NXB Nông nghiệp năm 1994 và 1998 đã giúp cho việc chẩn đoán ngoài đồng thuận lợi. Sách của hai tác giả Lê Lương Tề, Vũ Triệu Mân với tên *Bệnh virus và vi khuẩn hại thực vật*, NXB Giáo dục xuất bản năm 1999 là tài liệu cần giai đoạn này.

Các công trình nghiên cứu về giống lúa chống bệnh đạo ôn, bạc lá của Bùi Chí Bửu, Nguyễn Thị Lang bằng phân tích tính di truyền và sử dụng marker phân tử là những hướng đi mới trong chọn giống những năm 1998 - 1999.

Năm 1981 Nguyễn Thị Thu Cúc và *các ctv.* đã công bố nhiều bài báo về tuyến trùng hại lúa ở đồng bằng sông Cửu Long trên tạp chí trong và ngoài nước. Năm 1983 Nguyễn Ngọc Châu, Nguyễn Vũ Thanh đã công bố thành phần loài tuyến trùng ký sinh trên cây trồng miền Bắc. Năm 1996 Nguyễn Ngọc Châu và Nguyễn Vũ Thanh là tác giả của cuốn sách *Tuyến trùng ký sinh thực vật Việt Nam*, NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, 1996.

Nhóm nghiên cứu bệnh Greening và Tristeza của Hà Minh Trung, Ngô Vĩnh Viễn, Nguyễn Văn Tuất, Vũ Đình Phú và *ctv.* (Viện Bảo vệ thực vật) đã nghiên cứu chẩn đoán bệnh bằng phương pháp PCR và ELISA tạo vùng cam sạch bệnh. Hoàng Lâm, Đỗ Thành Lâm, Hà Minh Trung nghiên cứu côn trùng *Diaphorina citri* truyền bệnh virus hại cam chanh. Tiếp tục sau này nhóm các tác giả Nguyễn Thị Bích Ngọc, Phan Bích Thu, Vũ Thị Phương Bình, Ngô Thị Thanh Hương đã tiếp tục thực hiện chương trình này tại nhiều tỉnh miền Bắc. Tại miền Nam, nhóm nghiên cứu của Lê Thị Thu Hồng, Nguyễn Thị Ngọc Trúc, Bùi Thị Ngọc Lan, Nguyễn Văn Hòa, Nguyễn Minh Châu và *ctv.* (Viện Cây ăn quả miền Nam) giai đoạn 1996 - 2003 đã nghiên cứu bệnh Tristeza và Greening tạo vùng cây có múi sạch bệnh cho các tỉnh phía Nam. Nhóm nghiên cứu của Bùi Cách Tuyến, Nguyễn Thị Ngọc Bích và *ctv.* đã phát hiện virus TSWV trên thuốc lá tại Tây Ninh và điều tra bệnh xoắn lá hồ tiêu.

Sau nhiều năm tổ chức không thành, năm 2000, GS.TS. Vũ Triệu Mân đã triệu tập các đồng nghiệp gồm GS.TS. Phạm Văn Biên - Viện trưởng Viện KHKT Nông nghiệp

miền Nam, GS.TS. Bùi Cách Tuyến - Hiệu trưởng Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh, GS.TS. Nguyễn Văn Tuất - Viện trưởng Viện Bảo vệ thực vật, PGS.TS. Nguyễn Văn Viết - Trưởng Bộ môn Bảo vệ thực vật, Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm, sau đó đã vận động được 60 hội viên ở các Trường và Viện trong toàn quốc tham gia. Ngày 29/9/2001, Đại hội thành lập **Hội Sinh học phân tử bệnh lý thực vật Việt Nam** đã được tổ chức tại Trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội với sự có mặt của đông đủ các bộ, ngành, các chuyên gia bệnh cây của Pháp và Australia và nhiều doanh nghiệp. Đặc biệt Đại hội đã được GS.VS. Vũ Tuyên Hoàng - Chủ tịch Liên hiệp các Hội Khoa học và Kỹ thuật Việt Nam tham dự và cho ý kiến chỉ đạo. Tới năm 2008 do cần mở rộng hợp tác Quốc tế, Hội đã xin được đổi tên là **Hội Nghiên cứu Bệnh hại thực vật Việt Nam**. Hội đã phấn đấu không ngừng trong suốt 20 năm, kế tục và phát triển các thành tựu của ngành Bệnh cây Việt Nam trước đây.

Trong 20 năm qua Hội đã tổ chức 20 cuộc Hội thảo Quốc gia tại các địa điểm khác nhau trong nước như: Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh, Đại học Nông nghiệp Hà Nội (nay là Học viện Nông nghiệp Việt Nam), Viện Cây ăn quả miền Nam - Long Định - Mỹ Tho - Tiền Giang, Đại học Vinh - Nghệ An, Viện KHKT Nông Lâm nghiệp Tây Nguyên, Viện KHKT Nông Lâm nghiệp miền núi phía Bắc, Viện Nghiên cứu Cây bông và PTNN Nha Hồ - Ninh Thuận, Đại học Nông Lâm Huế, Đại học Sư phạm Đà Nẵng, Đại học Vinh, Đại học Cần Thơ. Các cuộc hội thảo đã công bố 668 công trình nghiên cứu khoa học với trên 5.891 trang in. Trong số các công trình này có tới 564 công trình có ứng dụng phòng trừ trực tiếp mang lại hiệu quả kinh tế thiết thực cho cây trồng gồm lúa, các cây rau, hoa, quả, cây công nghiệp, có nhiều cây có giá trị xuất khẩu cao. Nhiều vi sinh vật gây bệnh mới có tên các tác giả Việt Nam đã có trong Ngân hàng Gene của Thế giới.

Đưa ra các hệ thống, các phương hướng phòng trừ mới đã thực sự đi đúng định hướng mà Hội nêu lên trong kế hoạch hoạt động 20 năm qua:

Theo hướng tạo thực phẩm sạch và bảo vệ môi trường sống của cây trồng và con người, Hội đã phối hợp với Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ sức khỏe cây trồng, vật nuôi và Công ty Vinaxanh của KS. Nguyễn Thanh Thủy thực hiện áp dụng chăm sóc cây trồng theo hướng hữu cơ sinh học kết hợp phòng chống thành công nhiều bệnh hại nguy hiểm như bệnh gây chết cây hồ tiêu, bệnh tuyến trùng hại hồ tiêu, bệnh *Phytophthora* hại thực vật, bệnh thán thư trên ớt, bệnh hại thanh long, cây cam, cây xoài và các cây ăn quả xuất khẩu. Đã thực nghiệm thành công ở các điểm thí nghiệm trên hơn 10 tỉnh/thành và hơn 20 loại cây trồng khác nhau trong 8 năm gần đây. Đây là một kết quả rất quan trọng. Hiện nay chương trình áp dụng hữu cơ sinh học đang được GS. Nguyễn Thơ chủ trì phối hợp với các nhà khoa học Nhật Bản triển khai ở Tây Nguyên và hai miền Nam - Bắc có triển vọng tốt.

Đặc biệt trong chẩn đoán nhanh và trong nghiên cứu nhiều kỹ thuật mới đã được áp dụng, Hội trở thành nơi tập hợp các đơn vị đi đầu trong nước về nghiên cứu cải tiến kỹ thuật mới trong nghiên cứu bệnh lý thực vật và giống kháng bệnh. Hiện nay các nhà nghiên cứu của Hội đã phát hiện thêm hàng trăm bệnh hại mới và đang nghiên cứu nhiều biện pháp sinh học và giống kháng để hạn chế bệnh hại.

Hội cũng cho ra đời nhiều sản phẩm chẩn đoán và phòng trừ bệnh hại, ví dụ như: Hội và phòng thí nghiệm Trung tâm Bệnh cây nhiệt đới (Chi hội Học viện Nông nghiệp Việt Nam) đã sản xuất Kit ELISA virus Tristeza, PVX, PVY, ToMV, virus lúa lùn xoắn lá - RRSV, virus lúa cỏ-RGSV, virus lúa vàng lụi - RYSV và virus lúa lùn sọc đen phương Nam - SRBSDV bằng phương pháp tái tổ hợp protein thành công (Hà Viết Cường, Vũ Triệu Mân, Ngô Bích Hảo, Trần Thị Như Hoa và các ctv.). Các bộ Kit chẩn đoán đã được nhận Cúp Vàng trong Hội chợ Triển lãm kinh tế kỹ thuật Việt Nam - ASEAN + 3 năm 2009 (Kit đã được Trung tâm Kiểm định sinh phẩm - Bộ Y tế làm thử nghiệm so sánh với một số Kit do Hãng AGDIA (Mỹ) nhập khẩu và cho kết quả tương đương). Đây là kết quả vô cùng quan trọng giúp các tỉnh vùng dịch tiết kiệm kinh phí và đã phục vụ chẩn đoán bệnh virus RRSV và RGSV hại lúa ở miền Tây Nam bộ trong đợt dịch 2005 - 2010. Nghiên cứu sản xuất Kit chẩn đoán bệnh vàng lá Greening 2017 - 2020 (Phạm Bích Ngọc - Viện Bảo vệ thực vật); Chế phẩm *Trichoderma* (Dương Minh và các ctv. - Chi hội Trường Đại học Cần Thơ) đã đạt kết quả phòng trừ cao với bệnh hại cây ăn quả ở đồng bằng sông Cửu Long và đã được thương mại hóa nhiều năm mang lại kết quả lớn cho vùng cây ăn quả, giúp chống bệnh hại cây ăn quả có nguồn gốc từ đất hiệu quả. Các chế phẩm *Trichoderma* và chế phẩm sinh học khác của Viện Bảo vệ thực vật có tác dụng trừ nấm *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora* spp., *Sclerotinia sclerotium* Lib De Bary. Ngoài ra, Viện Bảo vệ thực vật còn có các chế phẩm: Chế phẩm sinh học trừ nấm thối xám *Botrytris cinerea* 2010 - 2012 (Đặng Đức Quyết và ctv.); chế phẩm trừ nấm *Fusarium* sp. hại cà chua và dưa chuột 2011 - 2013 (Lê Thu Hiền và ctv.); hoàn thiện chế phẩm chống bệnh chết nhanh, chết chậm cây hồ tiêu 2014 - 2016 (Hà Minh Thanh và ctv.); chế phẩm Phyto-M phòng trừ nấm *Phytophthora* trên cây có múi, xoài, sầu riêng và hồ tiêu; Viện Nghiên cứu Bông và Phát triển Nông nghiệp Nha Hồ sản xuất *Trichoderma* đã có hiệu quả trừ bệnh trên cây bông, cây nho và cây trồng trong khu vực Ninh Thuận; *Trichoderma* của Học viện Nông nghiệp Việt Nam đã có tác dụng ở nhiều địa phương trên các cây trồng cạn; chế phẩm vi sinh nấm Vinana và chế phẩm Hugo trừ tuyến trùng trên cây cà phê, hồ tiêu của Chi hội Đại học Tây Nguyên (Nguyễn Văn Nam và các ctv.) đã kết hợp được kỹ thuật của Hàn Quốc thành công tại Đắk Lắk; chế phẩm sinh học trừ nấm *Beauveria* và *Metarizhium* năm 2007 của Chi hội Viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long (Nguyễn

Thị Lộc và *ctv.*); chế phẩm vi khuẩn *Pseudomonas putida* của Chi hội Đại học Nông Lâm Huế (Trần Thị Thu Hà và *ctv.*) chống bệnh hại vùng rễ cây có hiệu quả được công nhận là sản phẩm Tự hào trí tuệ Việt Nam 2016, ngoài giải thưởng trên tác giả còn nhận 22 giải thưởng cấp Bộ và cấp tỉnh/thành khác; Nguyễn Vĩnh Trường và *ctv.* - Đại học Nông Lâm Huế, Nguyễn Thị Mão và *ctv.* - Đại học Nông Lâm Thái Nguyên đã tổ chức tập huấn các biện pháp phòng chống bệnh cây kết hợp bảo vệ môi trường; Nguyễn Thị Phong Lan và *ctv.* - Viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long thực hiện quy trình quản lý tổng hợp bệnh đạo ôn lúa; chế phẩm *Chaetomium* CP2-VMNPB trừ nấm hại chè, cà phê, cao su 2015 (Nguyễn Văn Thiệp, Nguyễn Hữu La và *ctv.*); chế phẩm CP1TT-VMNPB chống tuyến trùng 2020 (Nguyễn Văn Thiệp, Nguyễn Thị Kim Oanh, Trịnh Thị Kim Mỹ và *ctv.*) của Viện KHKT Nông Lâm nghiệp miền núi phía Bắc; chế phẩm sinh học HTD-CNSH-CF do nhóm tác giả Nguyễn Thị Hồng Hà và *các ctv.* khảo sát ảnh hưởng sinh trưởng của cây cà phê; chế phẩm sinh học CAFÉ-HTDO1, HOTIEU-HTDO3 chống bệnh hại hồ tiêu, cà phê 2020 (Hà Việt Sơn và *ctv.*). Một số vi khuẩn, xạ khuẩn cũng đã được Viện Công nghệ Sinh học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam nghiên cứu có tác dụng chống nấm *Penicillium digistatum*, *Colletotrichum* sp. Viện Công nghệ Sinh học cũng đã nghiên cứu nấm *Paecilomyces* sp. có khả năng hạn chế tiêu diệt các loại tuyến trùng. Viện Công nghệ Sinh học còn là nơi ứng dụng nhiều kỹ thuật sinh học phân tử như: Ứng dụng cơ chế RNAi, lập bản đồ liên kết gene bằng chỉ thị SSR, tạo đột biến gene, chỉnh sửa gene, chuyển gene đa đoạn... Trịnh Quang Pháp, Nguyễn Ngọc Châu nghiên cứu tuyến trùng liên quan đến bệnh chết héo cây thông, tuyến trùng hại cà phê, tuyến trùng hại vải và thử nghiệm thuốc thảo mộc Sông Lam ND50 trừ tuyến trùng thực vật. Lê Như Kiều, Nguyễn Ngọc Cường, Đào Thị Thu Hằng, Hoàng Hoa Long, Vũ Bích Hậu, Phạm Công Minh, Nguyễn Thị Hồng Hải và *các ctv.* phối hợp với tác giả Shin san Ichi Ito đã có nhiều năm nghiên cứu vi sinh vật đối kháng chống vi khuẩn *Pseudomonas solanacearum* Smith gây bệnh héo xanh cây họ Cà, năm 2003 nhóm nghiên cứu đã công bố chế phẩm vi khuẩn đối kháng *Pseudomonas monteilli*. Nguyễn Xuân Hồng và *ctv.* nghiên cứu phòng trừ bệnh vi khuẩn héo xanh lạc và các bệnh lạc. Nguyễn Anh Nghĩa và cán bộ Viện Nghiên cứu Cao su thực hiện 6 đề tài cấp Tập đoàn phòng chống bệnh cây cao su, trong đó có đề tài sử dụng chế phẩm gây rụng lá nhân tạo phòng trừ bệnh phấn trắng trên vườn cao su giao tán. Trần Thị Kim Loang, Đào Thị Lan Hoa và *ctv.* - Viện KHKT Nông Lâm nghiệp Tây Nguyên nghiên cứu biện pháp chống tuyến trùng cho cây cà phê và hồ tiêu, chống bệnh *Phytophthora* hại cây ca cao. Mai Văn Hào, Phan Công Kiên, Nguyễn Văn Chính, Hoàng Thị Mỹ Lệ nghiên cứu phòng chống bệnh nấm trên cây bông và nho tại Nam Trung Bộ. Phạm Văn Biên và *các ctv.* - Viện Khoa học Nông

nghiệp miền Nam đã thực hiện nhiều quy trình phòng trừ bệnh cho cây trồng từ năm 2000 - 2004. Chu Trung Kiên và *ctv.* từ 2017 - 2019 đã ứng dụng chế phẩm sinh học phòng trừ tuyến trùng hại cây khổ qua (mướp đắng), cây cà tím và đã ứng dụng chế phẩm nano bạc trong phòng trừ bệnh rau tại Bà Rịa Vũng Tàu. Nguyễn Vũ Mai Linh, Phan Thị Hồng Thảo và *ctv.* - Viện Công nghệ Sinh học đã ứng dụng nano bạc và đồng ức chế nấm *Penicillium digitatum* gây bệnh mốc xanh. Phan Hữu Tôn - Học viện Nông nghiệp Việt Nam nghiên cứu chỉ thị phân tử AND trong chọn tạo giống lúa, cà chua chống bệnh, chủ nhiệm 3 dự án hợp tác quốc tế về nghiên cứu chọn giống chống bệnh.

Trước tình hình dịch bệnh lúa lùn xoắn lá, lúa cỏ lan rộng gây thiệt hại nặng cho hàng trăm ngàn héc-ta lúa của miền Tây Nam bộ, ngày 27/02/2007 Hội đã thành lập Hội đồng tư vấn phòng chống bệnh lúa lùn xoắn lá và lúa cỏ tại thành phố Hồ Chí Minh do GS.TS. Vũ Triệu Mân làm Chủ tịch với 14 ủy viên Hội đồng dưới sự bảo trợ của Liên hiệp hội và Bộ Nông nghiệp và PTNT, Hội nghị có chuyên gia FAO Marjion Fedric tham dự. Sáng kiến gieo mạ trong mùng và gieo sạ đồng loạt né rầy do Phạm Văn Dư và *ctv.* - Chi hội Viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long đề xuất đã được Hội đồng thông qua và đề nghị Bộ Nông nghiệp và PTNT áp dụng. Kết quả tại miền Tây Nam bộ năm 2009 bảo vệ được mạ non chống rầy truyền bệnh virus tạo vụ mùa bội thu ở miền Tây Nam bộ. Sau khi được phát động các cán bộ Hội đã tích cực tham gia, Cục phó Cục Bảo vệ thực vật Nguyễn Hữu Huân, Giám đốc Trung tâm BVTV miền Nam Hồ Văn Chiến, Trưởng phòng Nông nghiệp huyện Cai Lậy, Tiền Giang Lê Hữu Hải là những người tham gia đóng góp nhiều trong chiến dịch phòng trừ này. Viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long, Đại học Cần Thơ, Viện Cục Bảo vệ thực vật và nhiều cơ quan đã tham gia tích cực chương trình này.

Các hội viên của Hội đã xác định nhiều bệnh mới ở thực vật, có thể kể đến một số tiêu biểu như: Nguyễn Thị Thanh Bình, Nguyễn Thơ, Vũ Triệu Mân phát hiện và nghiên cứu bệnh xanh lùn bông ở Viện Nghiên cứu Cây bông Nha Hồ; Hà Viết Cường phát hiện một số bệnh virus mới ở thực vật tại miền Bắc Việt Nam như Kurzu mosaic virus, bệnh lúa vàng lụi, bệnh lúa lùn sọc đen phương Nam; Nguyễn Văn Viết, Hà Viết Cường, Nguyễn Đức Huy, các tác giả Viện Bảo vệ thực vật phát hiện các virus trên chanh leo; Ngô Bích Hảo đã phát hiện nhiều bệnh hại truyền qua hạt giống các cây trồng như lúa, ngô, rau và bệnh trên cây dứa; Ngô Bích Hảo, Vũ Triệu Mân (1995) nghiên cứu bệnh chùm ngọn chuối (Banana bunchy top virus) ở Việt Nam; Bùi Cách Tuyến, Trịnh Xuân Hoạt và *ctv.* phát hiện các virus gây bệnh khảm lá sắn ở Việt Nam; Tác giả Trịnh Xuân Hoạt đã nghiên cứu các bệnh *Phytoplasma* ở Việt Nam như bệnh chồi cỏ mía, trắng lá mía, *Phytoplasma* hại lúa, bệnh chồi rỗng hại nhãn bằng phương pháp sinh học phân tử góp phần định loại nhóm bệnh *Phytoplasma* ở Việt Nam; Viện

Bảo vệ thực vật đã chủ trì và cùng tham gia phát hiện 8 bệnh virus mới, 29 bệnh nấm, 1 bệnh tuyến trùng, Viện đã gửi mẫu lúa bệnh đi giám định ở Pháp và Trung Quốc khẳng định kết quả xác định bệnh lúa lùn sọc đen phương Nam ở Việt Nam là kết quả chính xác; Phạm Văn Kim, Nguyễn Văn Huỳnh và các *ctv.* - Đại học Cần Thơ đã hướng dẫn nông dân phòng chống dịch rầy nâu ở miền Tây Nam bộ chống rầy lây lan bệnh virus bảo vệ sản xuất trong nhiều năm; Ngô Vĩnh Viễn và *ctv.* - Viện Bảo vệ thực vật từ 2007 - 2011 đã tổ chức phòng trừ rầy nâu và bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá cho vùng lúa Nam bộ, đồng bằng sông Hồng và miền Trung; Nguyễn Văn Viêt, Nguyễn Thị Ngọc Huệ năm 2012 đã công bố kết quả nghiên cứu nhiều năm tại Viện Khoa học Nông nghiệp phát hiện virus trên tập đoàn khoai môn, khoai, khoai sọ; Ngô Vĩnh Viễn, Đặng Lưu Hoa, Fiona H.L.Benyon, Brett A.Summerell, Lester W. Burgess phát hiện nấm *Phytophthora* là nguyên nhân gây bệnh thối nõn cây dứa; Nguyễn Văn Viên đã xác định bệnh do nấm *Phytophthora* hại cây cói ở miền Bắc Việt Nam; Nguyễn Thị Phong Lan và *ctv.* - Viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long năm 2016 áp dụng quy trình quản lý tổng hợp bệnh đạo ôn hại lúa.

Trong nhiều năm Bộ môn Bảo vệ thực vật - Trường Đại học Cần Thơ được sự cộng tác của các nhà khoa học Đan Mạch đã nghiên cứu sử dụng chất kích kháng có nguồn gốc khác nhau trong phòng chống bệnh hại cây do Trường Bộ môn Phạm Văn Kim chủ trì, nhóm dùng hóa chất gây kích kháng do Trần Thị Thu Thủy và *ctv.* nghiên cứu, nhóm dùng vi sinh vật đối kháng do Nguyễn Thị Thu Nga và *ctv.* nghiên cứu, nhóm dùng dịch trích thực vật do Nguyễn Đắc Khoa và *ctv.* nghiên cứu. Những nghiên cứu này mở thêm một hướng nghiên cứu mới có triển vọng cho ngành Bệnh cây Việt Nam trong những năm tới.

Tại Viện Cây ăn quả miền Nam có một cách tiếp cận với nông dân trong việc hướng dẫn phòng trừ bệnh cây đã được thực hiện, đó là việc tổ chức Bệnh viện cây trồng theo kinh nghiệm của các nhà khoa học Đan Mạch. Các tác giả Lê Thị Thu Hồng, Nguyễn Văn Hòa, Nguyễn Thị Ngọc Trúc, Trần Thị Mỹ Hạnh, Nguyễn Văn Sơn, Nguyễn Hồng Tuấn, Trần Thị Oanh Yến đã thành công trong việc thực hiện mô hình này. Hiện nay tiếp tục phụ trách phát triển Bệnh viện cây trồng là nhóm nghiên cứu của Trần Thị Mỹ Hạnh và *ctv.*, nhiều cơ quan trong nước đã học tập mô hình này để mở rộng chuyển giao kỹ thuật phòng chống bệnh hại cây trồng cho nông dân.

Đặc biệt có những đề tài phục vụ các đảo xa như nghiên cứu biện pháp phòng chống tổng hợp các loại sâu bệnh chính hại cây xanh che bóng trên quần đảo Trường Sa (Hà Minh Thanh và *ctv.* - Viện Bảo vệ thực vật) và các giải pháp mang tính tổng hợp như “Ba giảm ba tăng” trong sản xuất thâm canh lúa hay cánh đồng mẫu lớn (Phạm Văn Dư, Viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long).

Một số sách, tài liệu bệnh cây và liên quan đến bệnh cây trong khoảng 20 năm qua đã được xuất bản:

- Nguyễn Ngọc Châu, Nguyễn Vũ Thanh (2000), *Tuyển trùng ký sinh thực vật Việt Nam*, NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
- Bùi Chí Bửu (2002), *Tương tác giữa ký sinh và ký chủ trong bệnh cây trên cơ sở sinh học phân tử*, NXB Nông nghiệp.
- Bùi Chí Bửu (Chủ biên) (2002), *Cơ sở di truyền tính kháng sâu bệnh hại cây trồng*, NXB Nông nghiệp (Nguyễn Thị Lang, Phạm Văn Dư, Hồ Xuân Thiện tham gia viết phần di truyền và bệnh cây).
- Vũ Triệu Mân (2003), *Chẩn đoán nhanh bệnh hại cây trồng*, NXB Nông nghiệp.
- Phạm Văn Biên, Bùi Cách Tuyến (Đồng Chủ biên) (2003, 2004), *Cẩm nang sâu bệnh hại cây trồng Quyển 1, 2*, NXB Nông nghiệp.
- Nguyễn Văn Viên, Đỗ Tấn Dũng (2003), *Bệnh cà chua do nấm, vi khuẩn và biện pháp phòng chống*, NXB Nông nghiệp.
- Đặng Vũ Thị Thanh (2008), *Các loại nấm gây hại cây trồng ở Việt Nam* (Sách chuyên khảo), NXB Nông nghiệp.
- Vũ Triệu Mân (2009), *Bệnh virus hại lúa*, NXB Nông nghiệp.
- Vũ Triệu Mân (Chủ biên) (2010 - 2012), *Bệnh virus hại thực vật ở Việt Nam Tập 1 và 2* (Sách chuyên khảo), NXB Nông nghiệp.
- Phạm Quang Thu (2011), *Sâu bệnh hại rừng trồng*, NXB Nông nghiệp.
- Nguyễn Văn Tuất (2011), *Nghiên cứu và ứng dụng các tác nhân, chế phẩm sinh học trong bảo vệ thực vật*, NXB Nông nghiệp.
- Nguyễn Văn Tuất, Phạm Ngọc Dung (2012), *Nghiên cứu nấm Phytophthora gây bệnh chết nhanh cây hồ tiêu và biện pháp quản lý bệnh tổng hợp*, NXB Nông nghiệp. Tác giả Nguyễn Văn Tuất còn tham gia viết 5 cuốn sách tiếng Anh xuất bản ở nước ngoài và ở Việt Nam.
- Bùi Cách Tuyến (Chủ biên) (2013), *Tuyển trùng hại cây trồng*, NXB Nông nghiệp.
- Bùi Cách Tuyến (Đồng Chủ biên) (2013), *Cây hồ tiêu, bệnh hại và biện pháp phòng trừ*, NXB Nông nghiệp.
- Phạm Văn Kim (2016), *Các bệnh hại lúa quan trọng ở đồng bằng sông Cửu Long*, NXB Nông nghiệp.
- Vũ Triệu Mân, Nguyễn Văn Tuất, Bùi Cách Tuyến, Phạm Văn Kim (Đồng Chủ biên) và 82 tác giả (2018), *Bệnh hại cây trồng Việt Nam* (Sách chuyên khảo), 643 trang, KT 19 × 27cm, NXB Học viện Nông nghiệp Việt Nam, là một tài liệu tổng hợp.

- Chu Hoàng Hà, Đỗ Tiến Phát, Phạm Bích Ngọc, Lê Trần Bình, Phạm Thị Vân (2021), *Ứng dụng công nghệ sinh học trong chọn tạo giống cây trồng kháng bệnh virus* (Sách chuyên khảo), NXB Khoa học tự nhiên và Công nghệ.

Cùng với sách xuất bản trong và ngoài nước, rất nhiều công trình đã được công bố trên các tạp chí quốc tế. Các tác giả đã góp phần giới thiệu và tạo mối liên lạc quốc tế, trong đó có nhiều bài đăng trên các tạp chí hàng đầu về bệnh cây như *Phytopathology*, *Journal of General Virology*, *Archive of Virology*, *Nemethodology*.

Ở trong nước, tác giả Phạm Văn Kim và một số hội viên còn tham gia suốt 20 năm qua trong các chương trình hướng dẫn phòng trừ bệnh hại cây trồng trên Đài Truyền hình Trung ương và các tỉnh/thành miền Nam. Ở miền Bắc, trong một số năm gần đây tác giả Đinh Văn Đức cũng đã tham gia giải đáp các kỹ thuật phòng chống bệnh hại cây trên Truyền hình.

Về tài chính của Hội: Nguồn tài chính của Hội luôn chỉ có số lượng nhỏ phục vụ cho mỗi kỳ Hội thảo và xuất bản tài liệu, cho chi phí văn phòng và cho hợp tác quốc tế. Hàng năm hội phí của các hội viên, tiền ủng hộ của các đơn vị và cá nhân được đưa vào quỹ của Hội. Một số đơn vị đã cho mượn hội trường, góp cơ sở vật chất cho các cuộc Hội thảo cũng giúp giảm kinh phí hàng năm.

Nói về tài trợ cho Hội, chúng ta luôn tưởng nhớ tới Giám đốc Công ty Hợp danh Sinh học nông nghiệp Trần Minh Thành đã rất nhiều năm lúc sinh thời anh luôn tài trợ, giúp đỡ Hội, giúp Hội chúng ta ổn định hoạt động. Chúng tôi cũng luôn nhớ Công ty Nông Việt do Giám đốc Đinh Quốc Hòa đã nhiều năm đóng góp cho các cuộc Hội thảo của Hội. Công ty cổ phần Bảo vệ thực vật Trung ương 1, nhiều công ty, doanh nghiệp, nhiều Chi hội hàng năm ngoài hội phí đã quan tâm tài trợ cho Hội như: Chi hội Đại học Cần Thơ, các Chi hội Viện Công nghệ Sinh học Hà Nội, Chi hội Học viện Nông nghiệp Việt Nam, Chi hội Viện Bảo vệ thực vật, Chi hội Viện Di truyền Nông nghiệp, Chi hội Phú Thọ (Viện KHKT Nông Lâm nghiệp miền núi phía Bắc), Chi hội Viện Cây ăn quả miền Nam, Chi hội Viện Nghiên cứu Cây bông và PTNN Nha Hồ, Chi hội Viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long, Chi hội Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh, Chi hội Viện KHKT Nông nghiệp miền Nam, Chi hội Đại học Tây Nguyên và Viện KHKT Nông Lâm nghiệp Tây Nguyên, Chi hội Đại học Thái Nguyên, Chi hội Đại học Nông Lâm Huế, các trường đại học ở Đà Nẵng... Kể cả các hội viên ở Sơn La, Thanh Hóa, Tây Nguyên, Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Đại học Mở TP. Hồ Chí Minh, Cục Bảo vệ thực vật... đều đã nỗ lực giúp Hội ổn định hoạt động. Đặc biệt trong dịp Đại hội thành lập Hội có tư cách pháp nhân ngày 03/8/2019, TS. Trần Thanh Hùng và Viện KHKT Nông nghiệp miền Nam đã giúp đỡ nhiệt tình cho Đại hội, ông Trần Văn Toàn đối tác của Viện đã tài trợ Đại hội 100 triệu đồng. ThS. Chu Trung Kiên và *ctv.* hiện đang tích cực vận động các đơn vị ủng hộ Hội. Sau Đại hội, tầm hoạt động của Hội ngày càng rộng lớn, việc gây quỹ cho hoạt động Hội càng cần thiết.

Kỷ yếu Hội thảo quốc gia của chúng ta đã hình thành và phát triển đúng 20 năm, nhiều năm gần đây đã được công nhận là tài liệu khoa học có giá trị cao có chỉ số ISBN. Đóng góp vào việc này là công lao của toàn Hội trong đó Ban biên tập có công lớn cho việc duy trì chất lượng tài liệu này. Biên tập viên Phạm Thanh Thủy - thường trực Ban Biên tập là người sắp bài đưa in cuối cùng, là cán bộ Ban Biên tập có công lao lớn suốt 20 năm qua cho sự duy trì chất lượng của Kỷ yếu. Những năm gần đây biên tập viên Nguyễn Đắc Khoa - Phó Tổng thư ký Hội được phân công cùng thường trực Ban Biên tập đã đóng góp cho việc tiếp tục nâng cao chất lượng bài. Năm nay Ban Biên tập chính thức thành lập, mặc dù bận nhiều công việc, các thành viên đã rất cố gắng duyệt và góp ý các bài đúng thời hạn. Ban Chấp hành Hội chân thành cảm ơn các anh, chị. Ban Chấp hành cũng cảm ơn các Hội viên đã thường xuyên đóng hội phí, các đơn vị tài trợ đã giúp cho kỷ yếu duy trì và phát triển.

Ngày thành lập Hội chỉ có 60 hội viên, đến nay chúng ta đã có 783 hội viên và rất nhiều hội viên không chính thức. Tham gia Hội có 10 giáo sư (Hà Minh Trung, Vũ Triệu Mân, Nguyễn Thơ, Bùi Chí Bửu, Nguyễn Thị Lang, Nguyễn Thị Thu Cúc, Nguyễn Văn Tuất, Bùi Cách Tuyến, Phạm Hữu Tôn, Phạm Xuân Hội), hơn 20 Phó Giáo sư và hơn 100 Tiến sĩ. Với các hoạt động trong và ngoài nước rất phong phú, thể hiện rõ vai trò của ngành Bệnh cây với sản xuất và đời sống xã hội. Ngày nay Hội đã có tư cách pháp nhân, là thành viên của Hội Bệnh cây châu Á Thái Bình Dương và có quan hệ với nhiều Hội Bệnh cây trên Thế giới.

Toàn thể Hội chúng ta luôn tưởng nhớ đến các thế hệ đi trước và các đồng nghiệp đã mãi đi xa, đó là các nhà nghiên cứu bệnh cây Nguyễn Hữu Thụy, Bùi Văn Ích, Vũ Khắc Nhượng, Lê Văn Thuyết, Vũ Hoan, Phạm Văn Biên...; các cán bộ chuyên môn về thuốc, côn trùng học đã cộng tác tích cực với ngành Bệnh cây như anh Lê Trường, Hồ Khắc Tín, Hà Quang Hùng, Diệp Chấn Khánh, Nguyễn Công Thuật. Đóng góp của các anh dù là trực tiếp hay gián tiếp giúp cho ngành Bệnh cây Việt Nam sẽ mãi mãi được chúng tôi ghi nhớ.

Hà Nội tháng 10/2021

GS.TS. Vũ Triệu Mân - Chủ tịch Hội

TƯỞNG NHỚ GIÁO SƯ, TIẾN SĨ VŨ HOAN



GS.TS. Vũ Hoan nguyên giảng viên Bộ môn Bệnh cây, Khoa Nông học, Trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội, nguyên Phó Chủ tịch Hội Các ngành Sinh học Việt Nam, Chủ tịch Liên hiệp các Hội KHKT Hà Nội. Do tuổi cao, bệnh nặng, GS.TS. Vũ Hoan đã ra đi vào hồi 5h30 ngày 13 tháng 8 năm 2019 (tức ngày 13/7 năm Kỷ Hợi) hưởng thọ 83 tuổi.

GS.TS. Vũ Hoan sinh ngày 24 tháng 4 năm 1937, quê quán xã Yên Thành, huyện Yên Mô, tỉnh Ninh Bình. Trú quán tại số nhà 41, ngách 180A/3, phố Nguyễn Lương Bằng, phường Quang Trung, quận Đống Đa thành phố Hà Nội. Từ khi còn nhỏ ông đã sớm có ý thức tự lập, thời còn đi học phổ thông ở Thanh Hóa, ông đã vừa học vừa lao động để trang trải cuộc sống. Khi mới 17 tuổi ông đã tình nguyện nhập ngũ hai năm vào Trung đoàn 55 Quân đội nhân dân Việt Nam từ tháng 4/1954 đến tháng 10/1956, ông được chuyển ngành đi học tại Trường Đại học Nông Lâm Hà Nội. Từ tháng 9/1959 ông được cử đi học tại Học viện Nông nghiệp Nam Kinh - Trung Quốc. Tháng 7/1968 ông trở về nước và trở thành giảng viên Bộ môn Bảo vệ thực vật, Khoa Trồng trọt, Trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội. Tháng 7/1968 ông lại được cử đi Nghiên cứu sinh tại Trường Đại học Nông nghiệp Bucaret - Nước CHXHCN Rumani. Trở về nước tháng 9/1972 ông tiếp tục giảng dạy tại Trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội, tham gia công tác Chủ nhiệm Khoa Bảo vệ thực vật, Bí thư Đảng ủy Khoa, Đảng ủy viên Trường, Chủ tịch Công đoàn Trường và là Trung đoàn Phó trung đoàn tự vệ của nhà trường. Tới tháng 11/1981 ông tiếp tục được cử đi làm thực tập sinh cao cấp tại Viện Bảo vệ thực vật Bungari. Tháng 1/1984 ông lại trở về giảng dạy tại Trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội, là Chủ nhiệm Khoa Nông học, Phó Bí thư Đảng ủy Khoa.

Từ tháng 6/1986 ông được chuyển về công tác tại thành phố Hà Nội và đã đảm nhiệm nhiều chức vụ như: Phó Chủ nhiệm Ủy ban KHKT Hà Nội, Phó Bí thư Đảng ủy cơ quan, Phó Giám đốc Sở Khoa học công nghệ và Môi trường, Phó Chủ tịch rồi Chủ tịch Liên hiệp các Hội Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, Ủy viên Ban Chấp hành Hội Nông dân Hà Nội, Chủ tịch Hội Các ngành Sinh học Hà Nội, Phó Chủ tịch Hội Các ngành Sinh học Việt Nam, Phó Chủ tịch Hội Bảo vệ thiên nhiên và Môi trường Việt Nam, Phó Chủ tịch không chuyên trách Ủy ban MTTQ thành phố Hà Nội, Ủy viên Thường vụ Hội KHKT Bảo vệ thực vật Việt Nam, Ủy viên Ban Chấp hành Hội Hữu nghị Việt Nam - Rumani. Trong công tác chuyên môn về bệnh hại thực vật, GS.TS. Vũ Hoan đã có nhiều

năm nghiên cứu về nấm *Phytophthora infestans* hại cà chua và một số cây thuộc họ Cà; điều tra, phát hiện nhiều bệnh nấm và vi khuẩn trên lúa từ năm 1965 đến 1977.

Ông nhận học vị Tiến sĩ năm 1972 và học hàm Giáo sư năm 1996. GS. Vũ Hoan đã toàn tâm toàn ý cống hiến trọn đời mình cho sự nghiệp đào tạo đại học và quản lý khoa học. Ông đã có 20 năm giảng dạy tại Trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội, ông cũng đã có rất nhiều năm làm công tác quản lý khoa học cho sự phát triển của Thủ đô Hà Nội. Khi nghỉ hưu về địa phương ông đã tích cực tham gia công tác, 15 năm liên tục là Đảng ủy viên - Đảng ủy phường - Chủ tịch Ủy ban MTTQ phường Quang Trung, quận Đống Đa. Với công lao đóng góp trong hơn 60 năm công tác GS.TS. Vũ Hoan đã được Đảng và Nhà nước trao tặng nhiều phần thưởng cao quý như: Huân chương Kháng chiến hạng Ba, Huân chương Lao động hạng Ba; Công dân ưu tú của Thủ đô năm 2015; ông vào Đảng ngày 7/12/1963 và đã nhận Huy hiệu 55 năm tuổi Đảng; GS. Vũ Hoan là nhà khoa học bệnh cây lớn tuổi, thuộc lớp trước nhưng ông rất nhiệt tình tham gia các hoạt động của Hội chúng ta. Trên cương vị là Phó Chủ tịch Hội Các ngành Sinh học Việt Nam nhiều lần ông đã thay mặt Hội đến dự Hội thảo Quốc gia của Hội chúng ta. Sự ra đi của GS.TS. Vũ Hoan đã để lại lòng tiếc thương vô hạn với gia đình, đồng nghiệp và toàn thể hội viên Hội Nghiên cứu Bệnh hại thực vật Việt Nam. Hình ảnh một người anh, một người đồng chí tận tâm tận lực với công việc, có lối sống giản dị, hiền hòa được anh chị em đồng nghiệp rất trân trọng và quý mến sẽ còn mãi, đồng viên toàn Hội chúng ta đoàn kết phấn đấu xây dựng Hội ngày thêm vững mạnh.

GS.TS. Vũ Triệu Mân

CHẨN ĐOÁN XÁC ĐỊNH VIRUS GÂY BỆNH KHẢM XOĂN VÀNG LÁ TRÊN CÂY CÀ CHUA (*Solanum lycopersicum* L.) Ở HUYỆN ĐƠN DƯƠNG, TỈNH LÂM ĐỒNG

Bùi Cách Tuyền^{1*}, Phạm Đức Toàn²,
Danh Hiếu², Lê Cao Lượng³, Huỳnh Văn Biết⁴

¹Khoa Môi trường và Tài Nguyên;

²Khoa Khoa học Sinh học; ³Khoa Nông học;

⁴Viện Nghiên cứu Công nghệ sinh học và Môi trường
- Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh

*Tác giả liên hệ: buicachtuyen@gmail.com

TÓM TẮT

Cây cà chua (*Solanum lycopersicum* L.) là một loại rau ăn quả thuộc họ Solanaceae. Hiện nay, cây cà chua đang bị các loại dịch bệnh khác nhau tấn công, đặc biệt là các bệnh do virus gây ra làm tổn hại nghiêm trọng đến năng suất và sản lượng. Mục đích của nghiên cứu này là xác định đối tượng virus gây bệnh khảm vàng lá cây cà chua trên địa bàn huyện Đơn Dương, tỉnh Lâm Đồng bằng kỹ thuật PCR. Kết quả chẩn đoán phát hiện 10/30 mẫu dương tính với virus ToMV, không phát hiện có sự hiện diện của CMV, ToMMV trong 30 mẫu phân tích. Do vậy, có thể kết luận ToMV là một trong những virus gây ra bệnh khảm vàng xoăn lá trên cây cà chua tại huyện Đơn Dương, tỉnh Lâm Đồng. Kết quả này là một trong những thông tin hữu ích giúp trong việc quản lý và phòng trừ đối tượng ToMV trong canh tác cây cà chua.

Từ khóa: cà chua, Đơn Dương, ToMV, khảm vàng lá, virus.

ABSTRACT

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is a vegetable fruits belong to the Solanaceae family. Currently, tomato is being attacked by various diseases, especially viral diseases that seriously reduce the yield. The purpose of this study was to identify the virus causing yellow mosaic disease on tomato in Don Duong district, Lam Dong province using PCR technique. The results showed that 10/30 samples were positive for ToMV virus, not detected the presence of CMV, ToMMV in 30 samples analyzed. Therefore, it can be concluded that ToMV is one of the viruses causing the yellow-leaf mosaic disease on tomato in Don Duong district, Lam Dong province. This result would be one of useful information to help the management and control of ToMV in tomato cultivation.

Keywords: tomato, Don Duong, ToMV, yellow mosaic, virus.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây cà chua (*Solanum lycopersicum* L.) là một loại rau ăn quả thuộc họ Solanaceae. Là cây rau có giá trị, cho thu hoạch nhanh phù hợp với mọi loại đất, có sản lượng chiếm 1/6 tổng sản lượng rau hàng năm trên thế giới và luôn đứng ở vị trí số 1 về sản lượng. Theo Somraj và ctv. (2017), Nalla và ctv. (2016) thì cà chua là một loại cây rau quan trọng, phổ biến và được trồng rộng rãi khắp nơi trên thế giới, đặc biệt là ở các vùng nhiệt đới, cận nhiệt đới và ôn đới. Cà chua có tầm quan trọng chỉ sau khoai tây ở nhiều quốc gia và đứng thứ nhất về rau được bảo quản, chế biến và cả mục đích sử dụng tươi. Hiện nay, dịch bệnh trên cây trồng diễn biến rất phức tạp, một loại cây trồng có thể bị nhiễm nhiều loại bệnh khác nhau, đặc biệt là các bệnh do virus gây nên, làm ảnh hưởng nghiêm trọng đến năng suất cũng như chất lượng cây trồng. Một trong những vấn đề lớn gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến ngành sản xuất cà chua là sự xuất hiện của dịch bệnh khảm trên cây cà chua. Đây là bệnh do virus gây ra nghiêm trọng nhất trên cây cà chua, điển hình là *Tomato mosaic virus* (ToMV), *Tomato mottle mosaic virus* (ToMMV) và *Cucumber mosaic virus* (CMV) gây bệnh trên cà chua tại Việt Nam hiện nay. Do đó, cần có các phương pháp phát hiện kịp thời để kiểm tra, phát hiện sớm với đối tượng virus gây bệnh khảm trên cây cà chua trên diện rộng, nâng cao khả năng quản lý phòng trừ. Kỹ thuật PCR là phương pháp tiên tiến đã được sử dụng để kiểm tra, phát hiện, nhận dạng virus gây bệnh. Do vậy, mục đích của nghiên cứu này là xác định đối tượng virus gây bệnh

khảm vàng lá cây cà chua trên địa bàn huyện Đơn Dương, tỉnh Lâm Đồng bằng kỹ thuật RT-PCR.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu mẫu phân tích là mẫu lá bị bệnh khảm, gồm 30 mẫu lá của cây cà chua được thu thập trên địa bàn huyện Đơn Dương, tỉnh Lâm Đồng. Trình tự cặp primer được sử dụng trong phản ứng khuếch đại virus ToMV chiều 5' - 3': AAGATGTCAAACCAACTTTA - GAAACATCCAAGTACG lần lượt được đặt tên là ToMV-F và ToMV-R với kích thước đoạn khuếch đại là 595 bp. Virus ToMMV được khuếch đại từ trình tự CGACCCTGTAGAATTAATAAATAT; CACTCTGCGAGTGGCATCCAAT lần lượt được đặt tên là ToMMV-F và ToMMV-R với chiều dài đoạn khuếch đại là 289 bp (Sui và ctv., 2017). Trình tự primer chiều 5'-3': GCGCGAAACAAGCTTCTTATC - GTAGACATCTGTGACGCGA được sử dụng trong khuếch đại virus CMV lần lượt được gọi tên là Primer D (downstream primer) và Primer U (upstream primer) với kích thước đoạn khuếch đại là 540 bp (Singh và ctv., 1995; Zitikaite và ctv., 2010). Phản ứng tổng hợp cDNA với tổng thể tích là 20 µl bao gồm những thành phần sau: 4 µl RNA; 1 µl RNase inhibitor 10 u/µl; 1 µl Reverse transcriptase 200 u/µl; 1 µl dNTP mix 10 mM; 4 µl Reaction buffer 5X; 1 µl Random hexamer primer mix 200 µM và 8 µl DEPC treated water. Thành phần cho một phản ứng PCR phát hiện virus trong ba chủng virus ToMV, ToMMV và CMV với tổng thể tích là 12,5 µl bao gồm những

thành phần phản ứng sau: 6,25 μ l Master mix 2X, 0,25 μ l primer F (10mM), 0,25 μ l primer R (10mM), 1 μ l cDNA và 4,75 μ l nước. Chu trình nhiệt dùng cho phản ứng PCR phát hiện virus ToMV, ToMMV và CMV được thực hiện qua các giai đoạn sau: Đầu tiên là biến tính trước ở 94°C trong 5 phút, tiếp theo là 35 chu kỳ được lặp lại qua ba giai đoạn: biến tính ở 94°C trong 30 giây; nhiệt độ bắt cặp $T_a = 54^\circ\text{C}$ trong 30 giây; giai đoạn kéo dài ở 72°C

trong 40 giây, tiếp theo là giai đoạn sau kéo dài ở 72°C trong 7 phút và cuối cùng mẫu được giữ ở nhiệt độ 4°C. Sản phẩm của phản ứng PCR được phân tích bằng phương pháp điện di trên gel agarose 1,5% trong dung dịch đệm TBE 0.5X, sử dụng 5 μ l sản phẩm PCR và 1 μ l GelRed bơm vào từng giếng, điện di trong 30 phút. Gel sau khi điện di được quan sát trên đèn UV trong buồng soi gel.



Hình 1. Triệu chứng cà chua bị khảm vàng lá và trên quả

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Sau khi khảo sát nhiệt độ bắt cặp ở các nhiệt độ bắt cặp khác nhau từ 54°C đến 57°C, kết quả tìm được nhiệt độ bắt cặp tối ưu là 54°C dựa trên các primer đặc hiệu cho 3 chủng virus CMV, ToMMV và ToMV. Nhiệt độ này được tiếp tục sử dụng để khảo sát một số loại virus gây bệnh khảm trên cây cà chua từ nguồn mẫu thu được tại một số nhà vườn cà chua trồng trong điều kiện

nhà lưới trên địa bàn huyện Đơn Dương, tỉnh Lâm Đồng. Tổng số 30 mẫu được phân tích bằng kỹ thuật PCR ở nhiệt độ bắt cặp tối ưu là 54°C, kết quả ghi nhận được so sánh đối chiếu với các mẫu đối chứng dương tương ứng của CMV, ToMMV, ToMV, nếu các mẫu được đánh giá là âm tính với từng loại virus CMV, ToMMV, ToMV có khả năng gây bệnh khảm là những mẫu không xuất hiện đoạn khuếch đại (band) có kích

thước trùng khớp với đoạn khuếch đại của đối chứng dương khi điện di trên gel agarose 1,5%. Tổng số 30 mẫu được phân tích kiểm tra virus gây bệnh khảm vàng xoắn lá gồm CMV, ToMMV và ToMV (bảng 1).

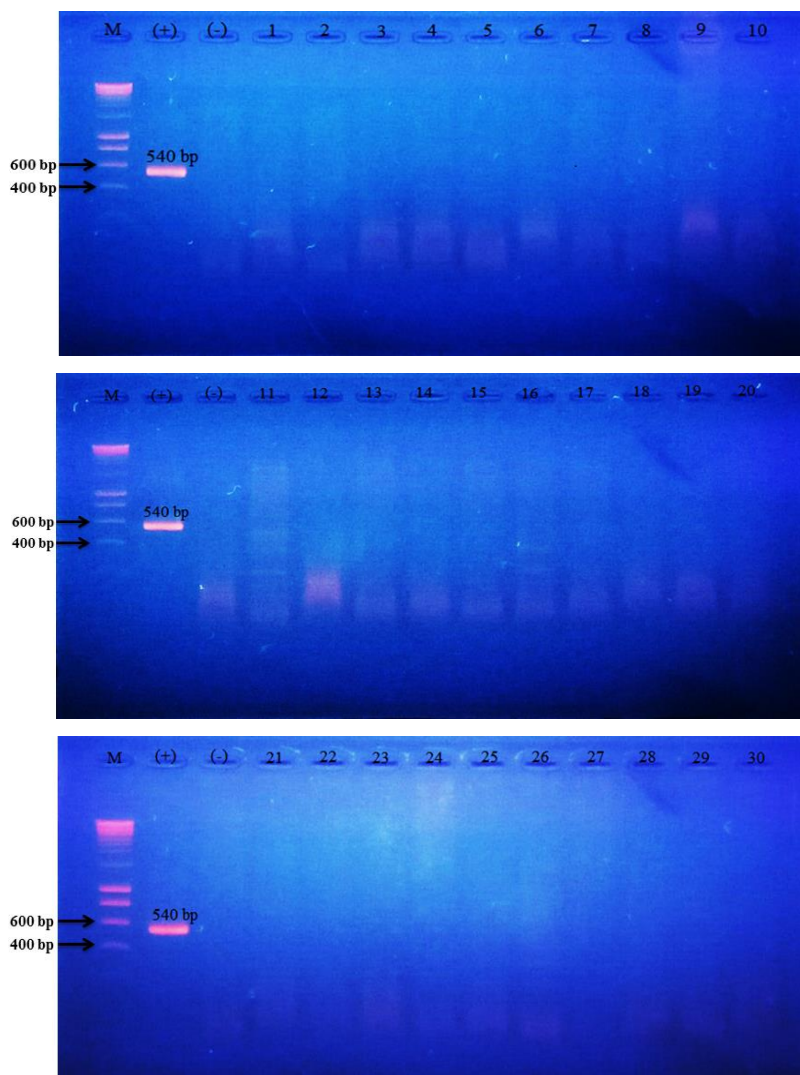
Bảng 1. Kết quả phân tích kiểm tra virus gây bệnh khảm vàng xoắn lá trên cây cà chua

STT	Mã số/ Tên mẫu	Địa điểm thu thập	Kết quả kiểm tra virus		
			CMV	ToMMV	ToMV
1	LD1	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Dương tính
2	LD2	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Dương tính
3	LD3	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Dương tính
4	LD4	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Dương tính
5	LD5	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Dương tính
6	LD6	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Dương tính
7	LD7	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Âm tính
8	LD8	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Dương tính
9	LD9	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Dương tính
10	LD10	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Dương tính
11	LD11	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Âm tính
12	LD12	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Âm tính
13	LD13	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Âm tính
14	LD14	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Âm tính
15	LD15	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Âm tính
16	LD16	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Âm tính
17	LD17	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Âm tính
18	LD18	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Âm tính
19	LD19	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Âm tính
20	LD20	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Dương tính
21	LD21	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Âm tính
22	LD22	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Âm tính
23	LD23	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Âm tính
24	LD24	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Âm tính
25	LD25	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Âm tính
26	LD26	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Âm tính
27	LD27	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Âm tính
28	LD28	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Âm tính
29	LD29	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Âm tính
30	LD30	Đơn Dương - Lâm Đồng	Âm tính	Âm tính	Âm tính

Ghi chú: ToMV: Tomato mosaic virus; ToMMV: Tomato mottle mosaic virus; CMV: Cucumber mosaic virus.

Kết quả chẩn đoán CMV: Kết quả ghi nhận không có sự xuất hiện của các band sáng trùng khớp với đoạn khuếch đại của đối chứng dương có kích thước là

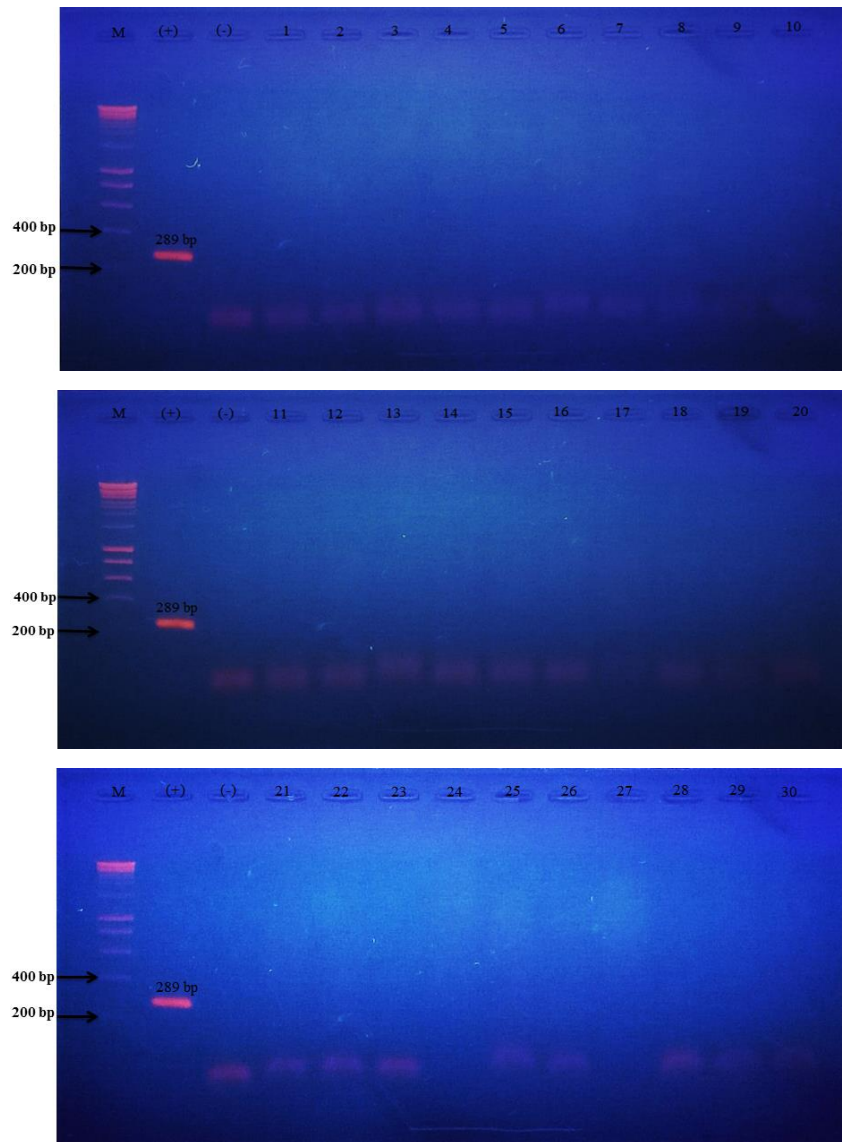
540 bp khi điện di trên gel agarose ở các giếng từ 1 - 30 (hình 2). Vì vậy, kết quả đã cho thấy 30 mẫu cà chua được thu thập đều âm tính với virus CMV.



Hình 2. Kết quả điện di sản phẩm PCR kiểm tra virus CMV trên 30 mẫu vật liệu thu thập (M: Ladder 1 kb; (+): Đối chứng dương; (-): Đối chứng âm; giếng 1 - 30: 30 mẫu vật liệu LD1 - LD30 (bảng 1). Sản phẩm được điện di trên gel 1,5%, trong dung dịch TBE 0.5X, 30 phút ở hiệu điện thế 100 V)

Kết quả chẩn đoán ToMMV: Kết quả không ghi nhận có sự xuất hiện của các band sáng trùng khớp với đoạn khuếch đại của đối chứng dương ToMMV ở kích thước khuếch đại 289 bp, của các giếng từ

1 - 30. Như vậy, kết quả đã cho thấy 30 mẫu cà chua có biểu hiện khảm xoắn lá được phân tích đều âm tính với virus ToMMV (hình 3). Do vậy, kết luận 30 mẫu thu được đều âm tính với virus ToMMV.



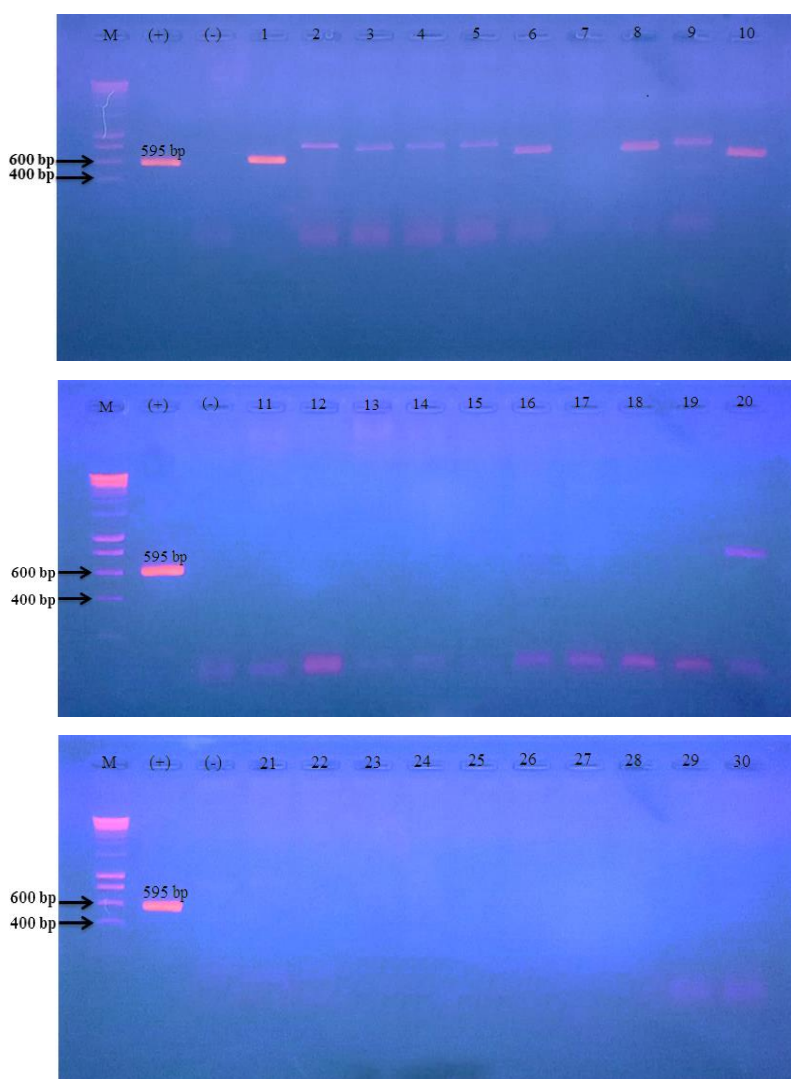
Hình 3. Kết quả điện di sản phẩm PCR kiểm tra virus ToMMV trên 30 mẫu vật liệu thu thập (M: Ladder 1 kb; (+): Đối chứng dương; (-): Đối chứng âm; giếng 1 - 30: 30 mẫu vật liệu LD1 - LD30 (bảng 1). Sản phẩm được điện di trên gel 1,5%, trong dung dịch TBE 0.5X, 30 phút ở hiệu điện thế 100 V)

Kết quả chẩn đoán ToMV gây hại cà chua: Những mẫu được cho là dương tính với virus ToMV có khả năng gây bệnh khảm là những mẫu có xuất hiện đoạn khuếch đại (band) với kích thước trùng khớp với đoạn khuếch đại của đối chứng dương khi điện di trên gel agarose. Kết quả ghi nhận có sự xuất hiện của các

band sáng có kích thước 595 bp trùng với kích thước của đối chứng dương, trong đó có 10 trên tổng số 30 mẫu cà chua được phân tích dương tính với virus ToMV, còn những mẫu còn lại không thấy xuất hiện band khuếch đại nào, do vậy đây là những mẫu âm tính với ToMV (hình 4). Như vậy, tổng số 30 mẫu cà chua thu thập

được có các biểu hiện khảm vàng xoắn lá, từ địa bàn Đơn Dương, tỉnh Lâm Đồng thì chỉ có 10/30 mẫu dương tính với chủng virus ToMV. Kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đây của nhóm tác giả Kmar và *ctv.*, 2011; Sui và *ctv.*, 2017, cho rằng virus ToMV gây ra các triệu chứng khảm vàng xoắn lá, đốm trái trên hầu hết các cây họ cà, trong đó điển hình trên cà chua và cây ớt. Và

tương tự, ToMV là virus thuộc nhóm Tobamoviruses gây hại rất nghiêm trọng trên nhóm cây họ Cà như cà chua, ớt, chúng có nhiều ký chủ trên các loài khác nhau và chúng rất dễ lan truyền thông qua cơ giới, Tobamoviruses này có thể tồn tại trên bề mặt hạt giống, tàn dư thực vật và cũng có thể tồn tại trên bề mặt bàn ghế trong nhà kính, nhà lưới (Spence và *ctv.*, 2001; Kumar và *ctv.*, 2011).



Hình 4. Kết quả điện di sản phẩm PCR kiểm tra virus ToMV trên 30 mẫu vật liệu thu thập (M: Ladder 1 kb; (+): Đối chứng dương; (-): Đối chứng âm; giếng 1 - 30: 30 mẫu vật liệu LD1 - LD30 (bảng 1). Sản phẩm được điện di trên gel 1,5%, trong dung dịch TBE 0.5 X, 30 phút ở hiệu điện thế 100 V)

4. KẾT LUẬN

Tổng số 30 mẫu cà chua có triệu chứng bệnh khảm vàng xoắn lá được thu thập từ các ruộng cà chua trên địa bàn huyện Đơn Dương, tỉnh Lâm Đồng để chẩn đoán phát hiện virus. Trong đó, phát hiện 10/30 mẫu dương tính với virus ToMV, không phát hiện có sự hiện diện của CMV, ToMMV trong 30 mẫu phân tích. Do vậy, có thể kết luận ToMV là một trong những virus gây ra bệnh khảm vàng xoắn lá trên cây cà chua tại huyện Đơn Dương, tỉnh Lâm Đồng. Kết quả này là một trong những thông tin hữu ích cung cấp thêm dữ liệu về triệu chứng và khả năng gây hại của virus ToMV trên cây cà chua, để từ đó có các giải pháp phòng ngừa hiệu quả.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả gửi lời cảm ơn đến tất cả quý đồng nghiệp ở các địa phương nơi đã thu thập mẫu cà chua tại huyện Đơn Dương, tỉnh Lâm Đồng và quý đồng nghiệp tại Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh (NLU) đã tận tình hỗ trợ và giúp đỡ hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kumar, S., Udaya Shankar, A. C., Nayaka, S. C., Lund, O. S., & Prakash, H. S. (2011), Detection of Tobacco mosaic virus and Tomato mosaic virus in pepper and tomato by multiplex RT-PCR. Letters in Applied Microbiology, 53(3), 359 - 363.
2. Nalla M.K., Pandav A.K., Aslam T. and M.K. Rana (2016), Studies on Variability, Heritability and Genetic Advance in Tomato (*Solanum lycopersicon* L.). Advances in Life Sciences: 1536 - 1539.
3. Somraj, B., Reddy, R. V. S. K., Reddy, K. R., Saidaiah, P., & Reddy, M. T. (2017), Genetic variability, heritability and genetic advance for yield and quality attributes in heat tolerant exotic lines of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 6(4), 1956 - 1960.
4. Singh Z., Jones R. A. C., Jones M. G. K (1995), Identification of Cucumber mosaic virus subgroup I isolates from banana plants affected by infectious chlorosis disease using RT-PCR. Plant Disease, vol. 79, p. 713
5. Spence, N.J., Scaly, I., Mills, P.R. and Foster, G.D. (2001), Characterization of a Tobamovirus from Trailing Petunias. Eur J Plant Pathol 107, 633 - 638.
6. Sui, X., Zheng, Y., Li, R., Padmanabhan, C., Tian, T., Groth-Helms, D.,... & Ling, K. S. (2017), Molecular and Biological Characterization of Tomato mottle mosaic virus and Development of RT-PCR Detection. Plant disease, 101(5), 704 - 711.
7. Zitikaitė, I., Staniulis, J., Urbanavičienė, L., & Žižytė, M. (2011), Cucumber mosaic virus identification in pumpkin plants. Žemdirbystė Agriculture, 98(4), 421 - 6.

ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ CHỦNG VI KHUẨN NỘI SINH CHỌN LỌC ĐẾN TUYẾN TRÙNG *Pratylenchus coffeae* VÀ SINH TRƯỞNG CỦA CÂY CÀ PHÊ VỚI GIAI ĐOẠN KIẾN THIẾT CƠ BẢN TẠI ĐẮK LẮK

Đỗ Thị Kiều An^{1*}, Nguyễn Văn Nam¹,
Trần Thị Huế¹, Nguyễn Thị Hương Cẩm¹

¹Trường Đại học Tây Nguyên

*Tác giả liên hệ: dtkan@ttn.edu.vn

TÓM TẮT

Vi khuẩn nội sinh thực vật là những vi khuẩn sống trong mô thực vật, không gây hại hay cạnh tranh dinh dưỡng với cây chủ, trái lại, chúng còn kích thích sinh trưởng của cây chủ một cách trực tiếp hoặc/và gián tiếp thông qua nhiều cơ chế khác nhau. Bài báo này trình bày kết quả đánh giá ảnh hưởng của hỗn hợp các chủng vi khuẩn nội sinh rễ cây cà phê đến mật độ tuyến trùng *Pratylenchus coffeae* và sinh trưởng của cây cà phê với giai đoạn kiến thiết cơ bản. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên 2 yếu tố (hỗn hợp vi khuẩn và lượng huyền phù vi khuẩn), gồm 12 công thức được lặp lại 3 lần. Kết quả cho thấy xử lý hỗn hợp B2 (*B. subtilis* EK17+ *B. pumilus* BMT4) có ảnh hưởng tốt nhất đến hiệu quả diệt tuyến trùng *P. coffeae* và tăng khả năng sinh trưởng của cây cà phê với tái canh giai đoạn kiến thiết cơ bản. Hỗn hợp huyền phù vi khuẩn B2 phát huy hiệu quả tốt nhất khi được xử lý ở mức 20 - 30 ml/cây (4 đợt/năm): hiệu quả diệt tuyến trùng đạt trên 80%; số cặp cành cơ bản tăng 8,2 - 18,4%; chiều dài cành cơ bản tăng 17,6 - 21,2% so với đối chứng.

Từ khóa: cà phê, kích thích sinh trưởng, kiến thiết cơ bản, *P. coffeae*, vi khuẩn nội sinh.

ABSTRACT

Effects of some of selected endophytic bacteria on the nematode *Pratylenchus coffeae* and growth of coffee plant in the vegetative stage in Daklak

Endophytic bacteria are those reside inside plant tissues but do not harm or compete for nutrients with the host plant, on the contrary, they stimulate the growth of the host plants directly or/and indirectly via various mechanisms. Evaluation of mixtures of the three selected endophytic bacteria (*B. subtilis* EK17, *B. cereus* BMT4 and

B. cereus M15) on the density of Pratylenchus coffeae nematode and the vegetative growth of Robusta coffee trees was presented in this article. The experiment was conducted in Buon Ma Thuot, RCBD, two factors (mixture of bacteria strains and dosage). Application of the mixtures of B2 (B. subtilis EK17+ B. pumilus BMT4) showed the highest effectiveness on the nematode (> 80%) and the vegetative growth of Robusta coffee plants. The dosage of 20 - 30 ml of bacterial suspension (10^9 CFU/mL) per tree per time, 4 times per year was the best: increased pairs of primary branch 8,2 - 18,4%; increased the length of primary branch 17,6 - 21,2% as compared with the control.

Keywords: endophytic bacteria, *P. coffeae*, plant growth promotion, Robusta coffee, vegetative stage.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi khuẩn nội sinh là một trong những thành phần quan trọng của hệ vi sinh vật thực vật, chúng hình thành mối quan hệ cùng có lợi với cây chủ trong quá trình tiến hoá kéo dài. Vi khuẩn nội sinh cư trú trong gian bào hoặc nội bào của cây chủ nhưng không gây ra thiệt hại có thể nhìn thấy hoặc thay đổi hình thái cây chủ (Sturz *et al.*, 2000). Đây là những vi khuẩn có lợi hơn cho sự sinh trưởng của cây chủ như: cố định đạm, phân giải lân khó tan, sinh tổng hợp kích thích tố sinh trưởng thực vật axit indoleacetic (IAA), các hợp chất kháng sinh, siderophore, tăng độ xốp, không chế các tác nhân gây bệnh thông qua cạnh tranh về nơi cư trú và chất dinh dưỡng (Mekete *et al.*, 2009). Chính vì vậy, vi khuẩn nội sinh hiện đang là đối tượng được rất nhiều nhà khoa học trên thế giới quan tâm nghiên cứu để ứng dụng trong canh tác cây trồng bền vững.

Cà phê là một trong những loại cây trồng chính tại Đắk Lắk, với tổng diện tích gieo trồng lên đến 206.414 ha (Sở Nông nghiệp và PTNT tỉnh Đắk Lắk, 2020). Trong số đó, khoảng 1/3 diện tích cà phê cho năng suất kém cần phải được

tái canh. Tuy nhiên, tỷ lệ tái canh thành công chưa cao. Tuyến trùng *Pratylenchus coffeae* là một trong những tác nhân chính gây hại cây cà phê, làm cho cây cà phê bị vàng lá và thối rễ, giảm tỷ lệ thành công khi tái canh. Chủ trương của Nhà nước và tỉnh Đắk Lắk là hình thành vùng trồng cà phê lớn và sản xuất bền vững. Một trong những giải pháp để đạt được mục tiêu trên là ứng dụng các chế phẩm sinh học trong sản xuất cà phê bền vững nhằm nâng cao chất lượng sản phẩm hàng hóa (UBND tỉnh Đắk Lắk, 2017).

Những kết quả nghiên cứu ban đầu trên thế giới và ở Việt Nam cho thấy một số chủng vi khuẩn nội sinh cây cà phê có hoạt tính cố định đạm, phân giải lân, tổng hợp kích thích tố và đối kháng cao với một số tác nhân gây bệnh hại cây cà phê vối (Silva *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2013; Ngô Văn Anh *et al.*, 2017) trong điều kiện *in vitro*. Kết quả nghiên cứu trong điều kiện nhà lưới của Đỗ Thị Kiều An và cs. (2017) cho thấy các chủng *B.cereus* M15, *B. pumilus* BMT4 và *B. subtilis* EK17 là những chủng có hiệu quả trong việc kích thích sinh trưởng của cây cà phê vối giai đoạn vườn ươm. Ngoài ra, các chủng vi khuẩn *B.cereus* (Oka *et al.*,

1993), *B. pumilus* và *B. subtilis* (Abd-El-Khair *et al.*, 2019) cũng đã được ghi nhận là các tác nhân kiểm soát sinh học tuyến trùng ký sinh thực vật có hiệu quả. Xuất phát từ thực tiễn trên, nghiên cứu này được triển khai ngoài đồng ruộng nhằm đánh giá ảnh hưởng của các chủng vi khuẩn nội sinh *B.cereus* M15, *B. pumilus* BMT4 và *B. subtilis* EK17 và lượng huyền phù vi khuẩn xử lý đến tuyến trùng hại rễ và sinh trưởng của cây cà phê với giai đoạn kiến thiết cơ bản nhằm ứng dụng trong canh tác cà phê bền vững.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

Đánh giá ảnh hưởng của hỗn hợp và lượng huyền phù vi khuẩn nội sinh đến tuyến trùng hại rễ cây cà phê với giai đoạn kiến thiết cơ bản.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Ba chủng vi khuẩn có ảnh hưởng tốt nhất đến sinh trưởng của cây cà phê với giai đoạn vườn ươm được chọn lọc từ kết quả nghiên cứu trong nhà lưới của Đỗ Thị Kiều An và cs. (2017) gồm: *B. cereus* M15, *B. subtilis* EK17 và *B. pumilus* BMT4.

- Cây cà phê với giai đoạn kiến thiết cơ bản trồng trên đất đỏ bazan.

2.2.2. Phương pháp chuẩn bị dịch khuẩn

Các chủng vi khuẩn được nhân nuôi trên môi trường M1 ở điều kiện nhiệt độ phòng với tốc độ lắc 150rpm trong thời gian nuôi cấy 48 giờ. Dịch nuôi cấy vi khuẩn sau đó được ly tâm ở 4.000 v/phút để tách vi khuẩn ra khỏi môi trường nuôi cấy. Sau ly tâm, thu phần dịch nổi bên trên và lọc qua 2 lớp giấy lọc Whatman số 1 (Mekete *et al.*, 2009). Điều chỉnh để mật độ vi khuẩn đạt 10^9 CFU/mL. Kết quả thu được được coi là dịch huyền phù vi khuẩn tiêu chuẩn và bảo quản ở điều kiện nhiệt độ 4°C để sử dụng.

2.2.3. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được tiến hành trên vườn cà phê thực sinh, có 5 - 6 cặp lá thật, tái canh trên nền đất nâu đỏ bazan tại thành phố Buôn Ma Thuột. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên 2 yếu tố với 4 tổ hợp các chủng vi khuẩn và 3 mức liều lượng. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Tổng số ô cơ sở thí nghiệm là 36. Mỗi ô cơ sở gồm 9 cây. Giữa các ô cơ sở được cách ly bởi 1 hàng cà phê. Các nghiệm thức thí nghiệm như sau:

Hỗn hợp vi khuẩn	B0	B1	B2	B3
Liều lượng	(Đối chứng)	(<i>B. cereus</i> + <i>B. subtilis</i>)	(<i>B. subtilis</i> + <i>B. pumilus</i>)	(<i>B. cereus</i> + <i>B. pumilus</i>)
D1 (10 ml/cây)	B0D1 (CT1)	B1D1 (CT4)	B2D1 (CT7)	B3D1 (CT10)
D2 (20 ml/cây)	B0D2 (CT2)	B1D2 (CT5)	B2D2 (CT8)	B3D2 (CT11)
D3 (30 ml/cây)	B0D3 (CT3)	B1D3 (CT6)	B2D3 (CT9)	B3D3 (CT12)

Ghi chú: D: Các mức liều lượng hỗn hợp vi khuẩn; B: Hỗn hợp các chủng vi khuẩn.

Các cây cà phê trong thí nghiệm được chăm sóc dựa theo Quy trình tái canh cây cà phê vối (Bộ Nông nghiệp và PTNT, 2016) với chế độ phân bón hóa học như sau:

- Các nghiệm thức đối chứng B0: Bón phân hóa học theo quy trình tái canh cây cà phê vối;

- Các nghiệm thức xử lý hỗn hợp huyền phù vi khuẩn nội sinh (CT4 đến CT12): (i) Năm thứ nhất: Giảm 25% phân N so với quy trình (bón 111 kg urê + 550 kg lân nung chảy + 70 kg KCl); (ii) Năm thứ hai: Giảm 25% phân N và 25% P so với quy trình (bón 150 kg urê + 75 kg SA + 412,5 kg lân nung chảy + 150 kg KCl).

* **Phương pháp xử lý:** Hỗn hợp huyền phù vi khuẩn (10^9 CFU/mL) được xử lý 4 đợt/năm. Hỗn hợp huyền phù vi khuẩn được pha trong 2 - 5 lít nước/cây, tùy vào tháng tuổi của cây. Tưới vào đất ở vị trí gốc và xung quanh tán cây cà phê. Trước khi xử lý, cây cà phê được tưới nước đủ ẩm. Vật liệu che phủ gốc được cào ra trước khi xử lý huyền phù vi khuẩn và lấp lại sau khi xử lý xong để giữ ẩm. Phân bón hóa học được chia thành 4 lần bón theo Quy trình tái canh cây cà phê vối.

* **Chỉ tiêu theo dõi:** Mật độ tuyến trùng trong đất (con/50 g đất), mật độ tuyến trùng trong rễ (con/5 g rễ), hiệu quả diệt tuyến trùng trong đất (%) được hiệu chỉnh theo công thức Henderson - Tilton (1955), hiệu quả diệt tuyến trùng trong rễ được hiệu chỉnh theo công thức Abbott (1925), số cặp cành cơ bản (cặp cành/cây); chiều dài cành cơ bản (cm/cành); số đốt/cành cơ bản (đốt/cành cơ bản).

* **Thời gian theo dõi:** Định kỳ theo dõi 2 tháng/lần (trước khi bón phân và xử lý thuốc hoá học, nếu có). Tuy nhiên, trong phạm vi bài báo này, chỉ trình bày

kết quả theo dõi các chỉ tiêu tại những thời điểm thích hợp.

2.2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu sau khi ghi nhận được xử lý trung bình bằng phần mềm Microsoft Office Excel, phân tích ANOVA và kiểm định khác biệt bằng Duncan với phần mềm SAS 9.1.3. Các số liệu % được chuyển đổi sang dạng phù hợp trước khi xử lý thống kê.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của vi khuẩn nội sinh đến tuyến trùng *P. coffeae* gây hại cây cà phê vối

Kết quả trình bày trong bảng 1 cho thấy trước xử lý (TXL), mật độ tuyến trùng *P. coffeae* ở tất cả các nghiệm thức tương đối đồng đều, dao động trong khoảng 42,4 - 61,1 con/50 g đất và khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Ngay từ thời điểm theo dõi 2 tháng sau xử lý (TSXL) trở đi, mật độ *P. coffeae* ở tất cả các nghiệm thức xử lý các hỗn hợp vi khuẩn đều thấp hơn so với ở các nghiệm thức đối chứng và có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$. Trong khi mật độ tuyến trùng *P. coffeae* tăng dần theo thời gian ở tất cả các nghiệm thức đối chứng và đạt đỉnh ở thời điểm 12T SXL, chúng lại giảm dần ở các nghiệm thức có xử lý vi khuẩn. Đáng chú ý, mật độ tuyến trùng *P. coffeae* trung bình ở các nghiệm thức xử lý hỗn hợp B2 (*B. subtilis* EK17 + *B. pumilus* BMT4) và B3 (*B. cereus* M15 + *B. pumilus* BMT4) luôn thấp nhất và khác biệt so với ở các nghiệm thức xử lý hỗn hợp vi khuẩn B1 (*B. cereus* M15 + *B. subtilis* EK17). Tuy nhiên, sự khác biệt về mật độ tuyến trùng *P. coffeae* giữa các nghiệm thức xử lý hỗn hợp B2 (*B. subtilis* EK17+ *B. pumilus* BMT4) và B3 (*B. cereus* M15

+ *B. pumilus* BMT4) không có ý nghĩa thống kê ở tất cả các thời điểm theo dõi sau xử lý.

Ở thời điểm 18T SXL, mật độ tuyến trùng *P. coffeae* ở tất cả các nghiệm thức, kể cả đối chứng đều giảm so với ở thời điểm 12T SXL. Tuy nhiên, mật độ tuyến trùng *P. coffeae* ở các nghiệm thức đối chứng vẫn cao hơn so với ở các nghiệm thức xử lý khoảng 2,5 - 6,5 lần. Lúc này, mật độ tuyến trùng *P. coffeae* ở các nghiệm thức xử lý vi khuẩn giảm xuống còn thấp nhất, chỉ dao động trong khoảng 14,7 - 38,0 con/50 g đất.

Ở tất cả các thời điểm theo dõi, mật độ tuyến trùng *P. coffeae* trung bình ở các mức xử lý vi khuẩn khác nhau đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Ngoài ra, tương tác giữa hỗn hợp và mức huyền phù vi khuẩn xử lý cũng không có ý nghĩa thống kê. Bảng 1 cũng cho thấy tuy mật độ tuyến trùng *P. coffeae* ở tổ hợp B2D3 (CT9: 30 ml *B. subtilis* EK17 + *B. pumilus* BMT4) luôn thấp nhất trong số tất cả các nghiệm thức nhưng lại khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với ở các nghiệm thức có xử lý các hỗn hợp vi khuẩn khác.

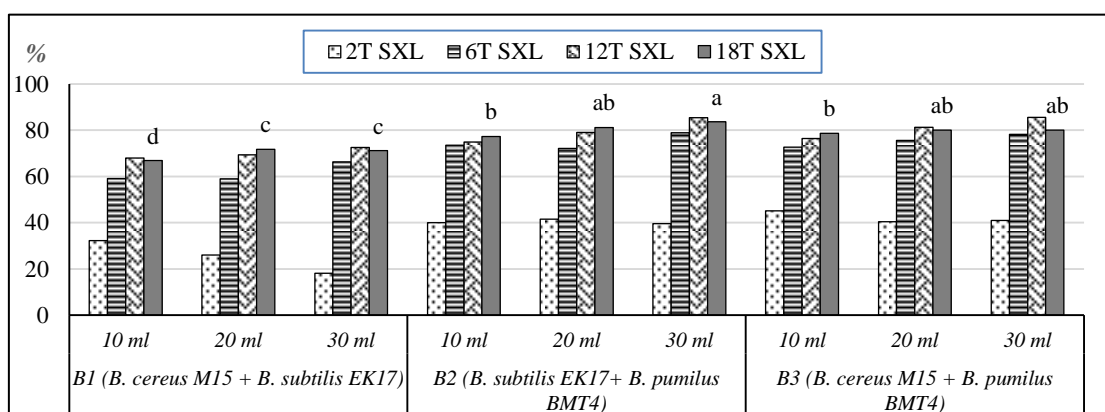
Bảng 1. Ảnh hưởng của vi khuẩn nội sinh đến mật độ tuyến trùng *P. coffeae* trong đất trồng cây cà phê với giai đoạn kiến thiết cơ bản

Thời gian	Lượng huyền phù vi khuẩn D (ml/cây)	Mật độ tuyến trùng <i>P. coffeae</i> (con/50 g đất)				
		Hỗn hợp vi khuẩn (B)				Trung bình (D)
		B0 (Đ/C)	B1	B2	B3	
TXL	D1 (10)	52,5	60,2	42,4	46,8	50,47
	D2 (20)	57,6	48,7	49,2	49,9	51,34
	D3 (30)	54,5	48,0	48,0	61,1	52,90
	Trung bình (B)	54,9	52,3	46,5	52,6	
	<i>D: p > 0,05; B: p > 0,05; tương tác D*B: p > 0,05; CV% = 22,06</i>					
2T SXL	D1 (10)	80,1 ^a	63,6 ^{ab}	37,5 ^c	39,3 ^c	55,11
	D2 (20)	81,6 ^a	52,0 ^{bc}	40,0 ^c	42,0 ^c	53,91
	D3 (30)	72,9 ^a	53,1 ^c	39,4 ^c	48,5 ^{bc}	53,45
	Trung bình (B)	78,2 ^A	56,2 ^B	38,9 ^C	43,3 ^C	
	<i>D: p > 0,05; B: p < 0,05; tương tác D*B: p > 0,05; CV% = 20,62</i>					
6T SXL	D1 (10)	105,7 ^a	49,3 ^b	23,6 ^{cd}	26,7 ^{cd}	51,3
	D2 (20)	113,2 ^a	39,7 ^{bc}	25,9 ^{cd}	24,1 ^{cd}	50,7
	D3 (30)	114,9 ^a	33,5 ^{cd}	20,8 ^d	28,3 ^{cd}	49,4
	Trung bình (B)	111,3 ^A	40,8 ^B	23,4 ^C	26,4 ^C	
	<i>D: p > 0,05; B: p < 0,05; tương tác D*B: p > 0,05; CV% = 17,22</i>					
12T SXL	D1 (10)	143,1 ^b	52,6 ^c	30,1 ^c	30,7 ^c	64,1
	D2 (20)	183,0 ^a	47,9 ^c	33,2 ^c	29,9 ^c	73,5
	D3 (30)	156,7 ^{ab}	38,6 ^c	20,9 ^c	25,1 ^c	60,3
	Trung bình (B)	160,9 ^A	46,4 ^B	28,1 ^C	28,6 ^C	
	<i>D: p > 0,05; B: p < 0,05; tương tác D*B: p > 0,05; CV% = 26,12</i>					
18T SXL	D1 (10)	97,3 ^a	38,0 ^b	19,0 ^c	19,0 ^c	43,3
	D2 (20)	96,7 ^a	23,3 ^{bc}	15,0 ^c	16,7 ^c	37,9
	D3 (30)	99,3 ^a	25,3 ^{bc}	14,7 ^c	22,0 ^c	40,3
	Trung bình (B)	97,8 ^A	28,9 ^B	16,2 ^C	19,2 ^C	
	<i>D: p > 0,05; B: p < 0,05; tương tác D*B: p > 0,05; CV% = 21,73</i>					

Ghi chú: Các trung bình theo sau bởi ký tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Kết quả tính hiệu quả diệt tuyến trùng *P. coffeae* của các hỗn hợp huyền phù vi khuẩn nội sinh cho thấy các chủng vi khuẩn nội sinh đã phát huy hiệu quả diệt tuyến trùng *P. coffeae* ngay từ thời điểm 2T SXL. Tuy nhiên, hiệu quả diệt tuyến trùng *P. coffeae* tại thời điểm này chưa cao, chỉ dao động ở mức 18,1 - 45,2%. Hiệu quả diệt tuyến trùng *P. coffeae* tiếp tục tăng dần ở các đợt theo dõi tiếp theo và đạt trên 80% ở một số nghiệm thức từ thời điểm 12T SXL. Từ thời điểm này,

hiệu quả diệt tuyến trùng của các nghiệm thức xử lý vi khuẩn duy trì khá ổn định theo thời gian theo dõi. Biểu đồ 1 cho thấy, hiệu quả diệt tuyến trùng trung bình ở các nghiệm thức xử lý hỗn hợp B2 (*B. subtilis* EK17+ *B. pumilus* BMT4) và B3 (*B. cereus* M15 + *B. pumilus* BMT4) luôn cao hơn và khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với ở các nghiệm thức xử lý hỗn hợp B1 (*B. cereus* M15 + *B. subtilis* EK17) ở tất cả các thời điểm theo dõi.



Biểu đồ 1. Ảnh hưởng của vi khuẩn nội sinh đến hiệu quả diệt tuyến trùng *P. coffeae* trong đất trồng cây cà phê với giai đoạn kiến thiết cơ bản

Hiệu quả làm giảm mật độ tuyến trùng *P. coffeae* của các hỗn hợp vi khuẩn nội sinh trong nghiên cứu này tương đương với hiệu quả của thuốc hóa học Imicyafos diệt tuyến trùng *Pratylenchus penetrans* gây hại cây cải củ (Wada *et al.*, 2011). Iis *et al.* (2015) cũng đã kết luận vi khuẩn *B. subtilis* có hiệu quả tương đương như thuốc hóa học carbofuran đối với tuyến trùng *Pratylenchus coffeae* gây hại cây cà phê chè giai đoạn vườn ươm. Loài vi khuẩn này có khả năng làm giảm đến 71,3% số lượng tuyến trùng *Pratylenchus coffeae*, do đó, làm giảm 87% số lượng vết thương

do tuyến trùng gây ra trên rễ cây cà phê chè. Hiệu quả này cũng tương đương với hiệu quả của chế phẩm sinh học SH-BV1 (cũng bao gồm cả vi khuẩn *B. subtilis*) đối với tuyến trùng gây hại cây cà phê vối tại Đắk Nông (Nguyễn Thị Chúc Quỳnh và cs., 2016).

3.2. Ảnh hưởng của vi khuẩn nội sinh đến một số chỉ tiêu sinh trưởng của cây cà phê với giai đoạn kiến thiết cơ bản

Song song với việc theo dõi mật độ tuyến trùng *P. coffeae*, một số chỉ tiêu sinh trưởng của cây cà phê vối cũng được theo dõi.

Cà phê là cây công nghiệp dài ngày, khả năng cho năng suất cao và ổn định phụ thuộc rất lớn vào bộ khung tán, đặc biệt là cành cơ bản mọc từ thân cây cà phê (cành cấp 1). Trung bình số cặp cành cơ bản ở các nghiệm thức xử lý hỗn hợp các huyền phù vi khuẩn cao hơn có ý nghĩa so với trung bình ở các nghiệm thức đối chứng ($p < 0,05$). Trung bình số cặp cành cơ bản giữa các nghiệm thức xử lý các hỗn hợp huyền phù vi khuẩn khác nhau B1, B2 và B3 chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê mặc dù số cặp cành cơ bản trung bình ở các nghiệm thức xử lý hỗn hợp B2 luôn lớn hơn so với ở B1 và B3. Tuy nhiên, các mức huyền phù vi khuẩn khác nhau đã ảnh hưởng có ý nghĩa đến trung bình số cặp cành cơ bản

của cây, với số cặp cành cơ bản tỷ lệ thuận với mức huyền phù vi khuẩn xử lý.

Tuy tương tác giữa các hỗn hợp vi khuẩn và các mức huyền phù vi khuẩn không khác biệt có ý nghĩa, tổ hợp B2D3 có trung bình số cặp cành cơ bản cao nhất, cao hơn 18,4% so với ở nghiệm thức đối chứng tương ứng. Đây là kết quả của sự gia tăng hấp thu N, P và hàm lượng diệp lục trong lá cây cà phê khi xử lý tổ hợp các chủng vi khuẩn nội sinh. Sự gia tăng hàm lượng N, P và diệp lục sẽ làm gia tăng quá trình quang hợp, phân chia tế bào và kết quả làm tăng sinh trưởng của cây. Gia tăng số cặp cành cơ bản là cơ sở để cây cà phê phát triển bộ khung tán vững chắc và là tiền đề để đạt năng suất cao.

Bảng 2. Ảnh hưởng của vi khuẩn nội sinh đến số cặp cành cơ bản trên cây cà phê với giai đoạn kiến thiết cơ bản (18T SXL)

Lượng huyền phù vi khuẩn D (ml/cây)	Số cặp cành cơ bản (cặp cành/cây)				
	Hỗn hợp vi khuẩn				Trung bình (D)
	B0 (Đ/C)	B1	B2	B3	
D1 (10)	13,6 ^e	15,3 ^{abcd}	14,9 ^{bcde}	15,0 ^{bcde}	14,70 ^Y
D2 (20)	14,7 ^{cde}	15,2 ^{abcd}	15,9 ^{abc}	16,0 ^{ab}	15,44 ^{XY}
D3 (30)	14,1 ^{de}	15,8 ^{abc}	16,7 ^a	15,3 ^{abcd}	15,47 ^X
Trung bình (B)	14,11 ^B	15,44 ^A	15,81 ^A	15,44 ^A	

Ghi chú: Các trung bình theo sau bởi ký tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức xác suất với D: $p < 0,05$; B: $p < 0,05$; tương tác D*B: $p > 0,05$; CV% = 15,6.

Khả năng gia tăng số cặp cành cơ bản của các hỗn hợp chủng vi khuẩn trong nghiên cứu này tương tự như kết quả nghiên cứu của Petkar *et al.* (2018) khi xử lý hỗn hợp hai chủng vi khuẩn *B. subtilis* và *B. japonicum* kết hợp bón 75% lượng phân N và P theo khuyến cáo. Số cành cơ

bản của đậu tương khi được xử lý bằng hỗn hợp hai chủng vi khuẩn này cao hơn 7,1% so với đối chứng bón 100% lượng phân hóa học theo khuyến cáo và lần lượt cao hơn 21,0% và 43,2% so với khi xử lý riêng lẻ từng chủng vi khuẩn *B. subtilis* và *B. japonicum*.

Bảng 3. Ảnh hưởng vi khuẩn nội sinh đến chiều dài cành cơ bản trên cây cà phê với giai đoạn kiến thiết cơ bản (18T SXL)

Lượng huyền phù vi khuẩn D (ml/cây)	Chiều dài cành cơ bản (cm)				Trung bình (D)
	Hỗn hợp vi khuẩn (B)				
	B0 (Đ/C)	B1	B2	B3	
D1 (10)	99,7 ^d	109,6 ^c	115,4 ^{bc}	108,8 ^c	108,4 ^Y
D2 (20)	100,5 ^d	110,9 ^c	118,2 ^{ab}	110,2 ^c	109,9 ^{XY}
D3 (30)	101,3 ^d	115,4 ^{bc}	122,8 ^a	112,8 ^{bc}	113,1 ^X
Trung bình (B)	100,5 ^C	112,0 ^B	118,8 ^A	110,6 ^B	

Ghi chú: Các trung bình theo sau bởi ký tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức xác suất với D: $p < 0,05$; B: $p < 0,05$; tương tác D*B: $p > 0,05$; CV% = 13,5.

Chiều dài cành cơ bản trung bình lớn nhất ở các nghiệm thức xử lý hỗn hợp B2. Tuy tương tác giữa các hỗn hợp vi khuẩn và mức huyền phù vi khuẩn xử lý ảnh hưởng không có ý nghĩa đến chỉ tiêu chiều dài cành cơ bản, chiều dài cành cơ bản ở 2 tổ hợp nghiệm thức B2D3 và B2D2 lớn nhất, khác biệt có ý nghĩa với phần lớn các nghiệm thức còn lại và cao hơn 21,3% và 17,7% so với ở các nghiệm thức đối chứng tương ứng. Chiều dài cành cơ bản phụ thuộc vào nhiều yếu tố, một trong những yếu tố tác động mạnh nhất là chế độ dinh dưỡng. Như vậy, mặc dù lượng phân N và P đã giảm 25% so với quy trình, việc bổ sung hỗn hợp huyền phù vi khuẩn nội sinh vào gốc cây cà phê đã có ảnh hưởng tích cực làm tăng chiều dài cành cơ bản so với ở các nghiệm thức đối chứng. Nhìn chung, hỗn hợp B1 và B2 có ảnh hưởng tốt hơn đến chiều dài cành cơ bản so với hỗn hợp B3.

Tương tự như đối với chỉ tiêu chiều dài cành cơ bản, số đốt trên cành cơ bản trung bình ở các nghiệm thức xử lý các hỗn hợp vi khuẩn nội sinh cũng cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$. Số đốt trung bình ở các nghiệm thức xử lý hỗn hợp B2 cũng cao nhất nhưng không khác biệt có ý nghĩa so với ở các nghiệm thức xử lý hỗn hợp B1 (bảng 4). Lượng hỗn hợp huyền phù vi khuẩn xử lý đã có ảnh hưởng có ý nghĩa đến số đốt trên cành cơ bản của cây cà phê với giai đoạn kiến thiết cơ bản với số đốt/cành tỷ lệ thuận với lượng hỗn hợp huyền phù vi khuẩn xử lý. Tuy nhiên, không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa mức 20 ml/cây và 30 ml/cây. Tuy tương tác giữa hỗn hợp và mức huyền phù vi khuẩn xử lý không có ý nghĩa thống kê, tổ hợp B2D3 có trung bình số đốt/cành lớn nhất, khác biệt có ý nghĩa so với tất cả các nghiệm thức còn lại và cao hơn 31,5% so với ở nghiệm thức đối chứng tương ứng (B0D3).

Bảng 4. Ảnh hưởng vi khuẩn nội sinh đến số đốt trên cành cơ bản của cây cà phê với giai đoạn kiến thiết cơ bản (18T SXL)

Lượng huyền phù vi khuẩn D (ml/cây)	Số đốt/cành				Trung bình (D)
	Hỗn hợp vi khuẩn (B)				
	B0 (Đ/C)	B1	B2	B3	
D1 (10)	14,1 ^e	17,4 ^b	17,7 ^b	16,0 ^d	16,3 ^Y
D2 (20)	14,4 ^e	18,0 ^b	17,9 ^b	16,3 ^{cd}	16,6 ^Y
D3 (30)	14,6 ^e	18,0 ^b	19,2 ^a	17,0 ^{bc}	17,2 ^X
Trung bình (B)	14,3 ^C	17,8 ^A	18,2 ^A	16,4 ^B	

Ghi chú: Các trung bình theo sau bởi ký tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức xác suất với D: $p < 0,05$; B: $p < 0,05$; tương tác D*B: $p > 0,05$; CV% = 13,72.

B. subtilis, *B. pumilus* và *B. cereus* là những vi khuẩn Gram dương rất phổ biến, không độc và không gây hại cho người, động vật và môi trường (de-Bashan *et al.*, 2010; Janarthine *et al.*, 2010; Huang *et al.*, 2011). Nhiều nghiên cứu đã kết luận rằng *B. subtilis*, *B. pumilus* và *B. cereus* có quan hệ mật thiết với thực vật, có khả năng kích thích sinh trưởng phát triển cây trồng nhờ sản sinh các kích thích tố thực vật, gia tăng khả năng hấp thu dinh dưỡng và bảo vệ cây khỏi một số tác nhân gây hại (Mekete *et al.*, 2009; Petkar *et al.*, 2018). Ngoài ra, các chủng vi khuẩn *Bacillus* còn có khả năng hình thành nội bào tử và có khả năng chịu nhiệt, giúp chúng có thể dễ dàng được phát triển thành các sản phẩm sinh học và thương mại hóa (Krebs *et al.*, 1998). Kết quả của nghiên cứu này khẳng định thêm rằng *B. cereus* M15, *B. subtilis* EK17 và *B. pumilus* BMT4 còn có khả năng hạn chế mật độ tuyến trùng *P. coffeae* và thúc đẩy sinh trưởng của cây cà phê với giai đoạn kiến thiết cơ bản trồng trên đất nâu đỏ bazan tại Buôn Ma Thuột.

Cơ chế của tác dụng này cũng đã được nhiều nhà khoa học nghiên cứu và thảo luận. Ongena and Jacques (2008) cho rằng các loài vi khuẩn thuộc chi *Bacillus* không những có thể ức chế sự phát triển của các tác nhân gây bệnh mà còn có khả năng xâm chiếm bộ rễ cây trồng và kích thích khả năng miễn dịch của cây. Đây là những loài có khả năng sản sinh một lượng lớn các phân tử có hoạt tính sinh học ức chế sự tăng trưởng của các tác nhân gây bệnh thực vật (Krebs *et al.*, 1998). Ngoài ra, enzyme protease, chitinase phân hủy chitin sản sinh bởi các chủng vi khuẩn *Bacillus* cũng đóng vai trò quan trọng trong việc cân bằng mật độ tuyến trùng trong đất (Lian *et al.*, 2007). *B. pumilus* là một trong những loài được biết đến nhiều nhất trong sản xuất protease và lipase công nghiệp (Ahmadian *et al.*, 2007). Các chất chuyển hóa có khả năng ức chế tuyến trùng gây hại như: uracil, 9H-purine và dihydrouracil đã được chiết xuất từ các chủng vi khuẩn *B. cereus* và *B. subtilis* (Oliveira *et al.*, 2014). Trong số đó, dihydrouracil có liều lượng gây chết 50%

tuyến trùng LC50 còn thấp hơn cả thuốc diệt tuyến trùng carbofuran (204 µg/mL so với 260 µg/mL).

4. KẾT LUẬN

Hỗn hợp B2 (*B. subtilis* EK17 + *B. pumilus* BMT4) có ảnh hưởng tốt nhất đến hiệu quả diệt tuyến trùng *P. coffeae* trong đất trồng cà phê và khả năng sinh trưởng của cây cà phê với tái canh giai đoạn kiến thiết cơ bản. Xử lý hỗn hợp này ở mức 20 - 30 ml huyền phù vi khuẩn/cây (4 đợt/năm) đem lại hiệu quả tốt nhất. Kết quả này mở ra tiềm năng nghiên cứu sản xuất chế phẩm sinh học từ việc phối trộn các chủng vi khuẩn nội sinh *B. cereus* M15, *B. cereus* BMT4 và *B. subtilis* EK17 để ứng dụng trong canh tác cà phê bền vững.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sở Nông nghiệp và PTNT tỉnh Đắk Lắk (2020), Báo cáo Tổng kết thực hiện kế hoạch năm 2019 và triển khai nhiệm vụ năm 2020 ngành Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (Số: 06/BC-SNN).
2. Đỗ Thị Kiều An, Võ Thanh Thảo và Nguyễn Anh Dũng (2017), “Ảnh hưởng của một số chủng vi khuẩn nội sinh chọn lọc đến sinh trưởng của cây con cà phê vối lai TRS1 trong điều kiện nhà lưới”, Tạp chí Khoa học Trường Đại học Tây Nguyên, Vol. 26: 1 - 6.
3. Ngô Văn Anh, Nguyễn Anh Dũng and Trần Trung Dũng (2017), “Phân lập, tuyển chọn các chủng vi khuẩn nội sinh trong rễ cây cà phê (*Coffea canephora* Pierre var. *robusta*) có hoạt tính cố định đạm và sinh tổng hợp Indole Acetic Acid (IAA) tại Đắk Lắk”, Tạp chí Khoa học Trường Đại học Tây Nguyên, Vol. 23: 59 - 64.
4. Bộ Nông nghiệp và PTNT (2016), Quy trình Tái canh cây cà phê vối.
5. Nguyễn Thị Chúc Quỳnh, Trần Văn Huy, Nguyễn Thu Hà, Lê Văn Trinh, Vũ Thị Hiền, Phạm Thị Minh Thắng và Phùng Quang Tùng (2016), Nghiên cứu sản xuất, ứng dụng chế phẩm sinh học SH-BV1 phòng trừ tuyến trùng và nấm bệnh hại rễ hồ tiêu, cà phê ở Gia Lai và Đắk Nông, Hội thảo quốc gia về Khoa học cây trồng lần 2, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam, Cần Thơ: 960 - 965.
6. UBND tỉnh Đắk Lắk (2017), Quyết định số 2811/QĐ-UBND về việc phê duyệt Đề án Phát triển cà phê bền vững của tỉnh Đắk Lắk đến năm 2020 và định hướng đến năm 2030, Đắk Lắk.
7. Abd-El-Khair, Hassan, El-Nagdi, Wafaa M. A., Youssef, Mahmoud M. A., Abd-Elgawad, Mahfouz M. M. and Dawood, Mona G. (2019), “Protective effect of *Bacillus subtilis*, *B. pumilus*, and *Pseudomonas fluorescens* isolates against root knot nematode *Meloidogyne incognita* on cowpea”, Bulletin of the National Research Centre, Vol. 43(1): 64.
8. Ahmadian, G., Degrassi, G., Venturi, V., Zeigler, D. R., Soudi, M. and Zanguinejad, P. (2007), “*Bacillus pumilus* SG2 isolated from saline conditions produces and secretes two chitinases”, Journal of Applied Microbiology, Vol. 103: 1081 - 1089.
9. de-Bashan, Luz E., Hernandez, Juan-Pablo, Bashan, Yoav and Maier, Raina (2010), “*Bacillus pumilus* ES4: candidate plant growth-promoting bacterium to enhance establishment of plants in mine tailings”, Environmental and Experimental Botany, Vol. 69(3): 343 - 352.
10. Huang, B., Lv, C., Zhuang, P., Zhang, H. and Fan, L. (2011), “Endophytic colonisation of *Bacillus subtilis* in the roots of *Robinia pseudoacacia* L.”, Plant Biology, Vol. 13(6): 925 - 931.
11. Iis, Nur Asyiah, Wiryadiputra, Soekadar, Irfan, Fauzi and Soekadar, Wiryadiputra (2015), “Population of *Pratylenchus coffeae* (Z.) and growth of Arabica coffee seedling inoculated by *Pseudomonas diminuta* L. and *Bacillus subtilis* (C.)”, Pelita Perkebunan, Vol. 31(1): 30 - 40.

12. Janarthine, Sona, Palanisami, Eganathan and Thangavel, Balasubramanian (2010), "Plant growth promoting of endophytic *Bacillus cereus* isolated from the pneumatophores of *Avicennia marina*", *International Journal of Current Research*, Vol. 5: 9 - 13.
13. Krebs, Birgit, Höding, Birgit, Kübart, Sabine, Workie, Melkamu, Junge, Helmut, Schmiedeknecht, G., Grosch, Rita, Bochow, Helmut and Hevesi, Mária (1998), "Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. I. Activities and Characterization of *Bacillus subtilis* strains", *Journal of Plant Diseases and Protection*, Vol. 105(2): 181 - 197.
14. Lian, L.H., Tian, B.Y., Xiong, R., Zhu, M.Z., Xu, J. and Zhang, K.Q. (2007), "Proteases from *Bacillus*: a new insight into the mechanism of action for rhizobacterial suppression of nematode populations", *Letters in Applied Microbiology*, Vol. 45(3): 262 - 269.
15. Mekete, Tesfamariam, Hallmann, Johannes, Kiewnick, Sebastian and Sikora, Richard (2009), "Endophytic bacteria from Ethiopian coffee plants and their potential to antagonise *Meloidogyne incognita*", *Nematology*, Vol. 11(1): 117 - 117.
16. Oka, Yuji, Chet, Ilan and Spiegel, Yitzhak (1993), "Control of the rootknot nematode *Meloidogyne javanica* by *Bacillus cereus*", *Biocontrol Science and Technology*, Vol. 3(2): 115 - 126.
17. Oliveira, Denilson F., Júnior, Helvécio M. Dos Santos, Nunes, Alexandre, S., Campos, Vicente P., Pinho, Renata S. C. De and Gajo, Giovanna C. (2014), "Purification and identification of metabolites produced by *Bacillus cereus* and *B. subtilis* active against *Meloidogyne exigua*, and their in silico interaction with a putative phosphoribosyltransferase from *M. incognita*", *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, Vol. 86(2): 525 - 538.
18. Oliveira, Marcelo N. V., Santos, Thiago M. A., Vale, Helson M. M., Delvaux, Júlio C., Cordero, Alexander P., Ferreira, Alessandra B., Miguel, Paulo S. B., Tótola, Marcos R., Costa, Maurício D., Moraes, Célia A. and Borges, Arnaldo C. (2013), "Endophytic microbial diversity in coffee cherries of *Coffea arabica* from Southeastern Brazil", *Canadian Journal of Microbiology*, Vol. 59(4): 221 - 230.
19. Ongena, M. and Jacques, P. (2008), "Bacillus lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol", *Trends Microbiology*, Vol. 16(3): 115 - 25.
20. Petkar, V.V., Deshmukh, T.T. and Jadhav, A.N. (2018), "Effect of dual inoculation of *Bacillus subtilis* and *Bradyrhizobium japonicum* on growth parameters of soybean (*Glycine max* L.)", *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, Vol. 7(10): 563 - 567.
21. Silva, Harllen S. A., Tozzi, João P. L., Terrasan, César R. F. and Bettiol, Wagner (2012), "Endophytic microorganisms from coffee tissues as plant growth promoters and biocontrol agents of coffee leaf rust", *Biological Control*, Vol. 63(1): 62.
22. Sturz, A. V., Christie, B. R. and Nowak, J. (2000), "Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable systems of crop production", *Critical Reviews in Plant Sciences*, Vol. 19(1): 1 - 30.
23. Wada, Satoko, Toyota, Koki and Takada, Atsushi (2011), "Effects of the nematicide imicyafos on soil nematode community structure and damage to radish caused by *Pratylenchus penetrans*", *Journal of Nematology*, Vol. 43(1): 1 - 6.

ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG NẤM CỦA XẠ KHUẨN NỘI SINH *Streptomyces* sp. T3T6 PHÂN LẬP TỪ CÂY CÀ PHÊ TẠI TỈNH LÂM ĐỒNG

Nguyễn Thị Hồng Hà¹, Hoàng Thị Huyền Trang¹,
Trần Thị Hoa¹, Phạm Bích Ngọc¹,
Chu Hoàng Hà¹, Đỗ Tiến Phát¹

¹Viện Công nghệ Sinh học,
Viện Hàn lâm Khoa học và Công Nghệ Việt Nam

ABSTRACT

Different factors such as fungi, bacteria, nematodes, aphids, beetles... have been demonstrated to cause coffee root diseases. The root diseases could have severe effects on plant growth and development as well as crop yield. The Streptomyces, endophytic bacteria, have shown great potential for agricultural and pharmaceutical application and research. In this study, Streptomyces were isolated from coffee roots grown in Lam Dong province. Amongst 24 isolated strains, T3T6 showed the highest inhibition of Fusarium oxysporum and also produced several extracellular enzymes. The T3T6 strain exhibited the highest antifungal activity at 30°C. From morphological, physiological and biochemical analysis, we found that T3T6 strain grew well at temperatures from 28 - 30°C and pH medium from neutral to alkaline. This Streptomyces strain showed poor salt tolerance which the suitable salt concentrations of media ranged from 0 - 2%. Due to the high antifungal property, this Streptomyces strain should be potential for further researches on probiotic production.

Keywords: coffee, endophytic, *Fusarium oxysporum*, *Streptomyces*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi sinh vật nội sinh (endophytes) được định nghĩa là các vi sinh vật cư trú trong các mô thực vật sống (rễ, cành và lá) mà không gây hại cho cây chủ và có thể được phân lập từ các mô thực vật sau

khi khử trùng bề mặt hoặc chiết xuất từ bên trong thực vật (M. Shimizu, 2011). Theo Kandpal và cộng sự (2012), vi sinh vật nội sinh có thể được tìm thấy trong hầu hết các loài thực vật được nghiên cứu cho đến nay và được công nhận là có mối tương tác và đóng vai trò quan trọng đối với sự phát triển của cây ký chủ. Trong

Người phân biệt: TS. Lê Thị Nhi Công.

đó, endophytes nhận chất dinh dưỡng (chủ yếu là carbohydrate) từ cây chủ, các hợp chất hoặc chất chuyển hóa thứ cấp và kháng sinh do endophytes tạo ra giúp tăng cường sinh trưởng và bảo vệ khỏi cây trồng khỏi các mầm bệnh (Mercado-Blanco và cộng sự, 2014). Trong số các loài endophytes đã được nghiên cứu, loài *Streptomyces* được xem là một trong những nhóm đặc biệt được quan tâm do có khả năng tổng hợp kháng sinh cũng như các chất chuyển hóa thứ cấp khác. Trong đó có khoảng 23.000 chất chuyển hóa thứ cấp có hoạt tính sinh học (Gangwar và cộng sự, 2014). Ngoài ra, hầu hết các xạ khuẩn nội sinh từ thực vật có thể sản xuất các hợp chất quan trọng và một số trong đó có cấu trúc hóa học mới. Do vậy, các xạ khuẩn, đặc biệt là các loài *Streptomyces* rất có giá trị khoa học và ý nghĩa kinh tế. Các loài này có thể cung cấp hơn hai phần ba số thuốc kháng sinh và các hợp chất hoạt tính sinh học sử dụng hiện nay (Carvalho và cộng sự, 2016).

Nấm *Fusarium oxysporum* làm rễ cây cà phê bị thối đen, sinh trưởng chậm, lá vàng úa và rụng. Triệu chứng bệnh rất dễ nhầm với vàng lá do kém chăm sóc và thiếu dinh dưỡng. Một phần cổ rễ bị khuyết dần vào trong, sau đó vết khuyết sâu hơn, cây vàng dần và chết. Bệnh thường nặng hơn trong mùa mưa, đất bị ngập úng, chủ yếu gây hại trên cà phê khoảng hai năm tuổi và cả trong giai đoạn vườn ươm. Trong khuôn khổ đề tài nghiên cứu cấp nhà nước mã số: KHCN-

TN/16-20, chúng tôi đã phân lập, đánh giá và xác định được hoạt tính của một số chủng vi sinh vật tiềm năng trên cây cà phê. Thông qua đánh giá hình thái, phân định loài, phân tích hoạt tính enzyme và khả năng sản sinh chất điều tiết sinh trưởng, chúng tôi đã lựa chọn được các chủng xạ khuẩn T3T6 trong thử nghiệm ức chế mầm bệnh *Fusarium oxysporum*. Kết quả này là cơ sở để chúng tôi mở rộng thử nghiệm và phát triển ứng dụng các chế phẩm nông nghiệp trong tương lai.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Các mẫu rễ, cành và lá đã được thu thập từ cây cà phê bảy năm tuổi trồng ở tỉnh Lâm Đồng được dùng cho phân lập vi sinh vật. Chủng nấm *Fusarium oxysporum* (héo *fusarium*) được lưu trữ tại Phòng Công nghệ Tế bào Thực vật.

Các cặp mồi được thiết kế dùng trong khuếch đại rDNA 16S của hãng Invitrogen (Hong Kong).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập các xạ khuẩn nội sinh

Mẫu thực vật đã được khử trùng bề mặt như mô tả của Shutsrirung và cộng sự (2013). Sau đó, các mẫu được đồng nhất trong 2 - 5mL nước vô trùng. Dịch lỏng được thu thập và trải trên môi trường sàng lọc có chứa (g/l): K_2HPO_4 2,0, $CaCO_3$ 0,02, KNO_3 2,0, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,01,

2,0 NaCl 2,0, (g/L) MgSO₄.H₂O 0,05, 1,0 axit humic 1,0, NaOH 0,2 N 10 ml và thạch agar 18,0, pH 7,0. Để ngăn chặn sự phát triển của vi khuẩn và nấm, nystatin và axit nalidixic được thêm vào môi trường đến nồng độ cuối cùng tương ứng là 100 và 10 mg/L. Các đĩa được ủ ở 28°C. Khuẩn lạc xạ khuẩn điển hình được chọn lọc từ ngày thứ 15 đến ngày thứ 60 và được tinh chế bằng cách tạo vệt liên tiếp trên môi trường ISP2 chứa 10 g/L glucose, 5 g/L cao thịt và 18 g/L agar, pH 7,0.

2.2.2. Phân tích đặc điểm hình thái và trình tự gen

Đặc điểm hình thái và môi trường của các chủng phân lập được nghiên cứu theo các quy trình của ISP (Nomomura và cộng sự, 1974). Thành phần môi trường (g/l): ISP1: tryptone 5, cao nấm men 3, agar 20, pH 7,0; ISP2: cao nấm men 4, dịch chiết malt 10, glucose 4, Agar 20, pH 7,3; ISP3: bột yến mạch 20, Agar 20, dung dịch muối vi lượng 1,0 ml, pH 7,0; ISP4: tinh bột 10, K₂HPO₄ 1, MgSO₄.7H₂O 1, NaCl 1, (NH₄)₂SO₄ 2, CaCO₃ 2, dung dịch muối vi lượng 1.0 ml, agar 20, pH 7,0; ISP5: L-asparagin 1; glycerin 10; K₂HPO₄ 1; dung dịch muối vi lượng 1,0ml; agar 20, pH 7,0; ISP6: peptone 10, cao nấm men 1, xitrat sắt 0,5, agar 20, pH 7,0; ISP7: glycerin 15; L-tyrosin 0,5; L-asparagin 1; K₂HPO₄ 0,5; MgSO₄.7H₂O 0,5; NaCl 0,5; FeSO₄.7H₂O 0,01; dung dịch muối vi lượng 1,0ml, agar 20, pH 7,0. GauseI: K₂HPO₄ 0,5; MgSO₄.7H₂O 1,0; KNO₃ 1, NaCl 0,5; FeSO₄.7H₂O 0,1. GauseII: (NH₄)₂SO₄ 4;

NaCl 6; K₂HPO₄ 1; MgSO₄ 0,1; CaCl₂ 0,1 pH 7,0.

Tách chiết DNA và khuếch đại gen 16S rRNA. Việc nuôi cấy phân lập được thực hiện theo Ishikawa (2000).

Các gen 16S rRNA được khuếch đại sử dụng cặp mồi 27F (5' - TAACACATGCAAGTCGAACG-3') và 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') với chu trình nhiệt cho PCR thực hiện theo Shutsrirung và cộng sự (2013). Trình tự nucleotide 16S rDNA của các dòng phân lập được phân tích và so sánh với các trình tự hiện có trên ngân hàng gen quốc tế NCBI sử dụng công cụ BLAST. Phân tích phát sinh loài được thực hiện bởi chương trình CLC DNA workbench 6.6.

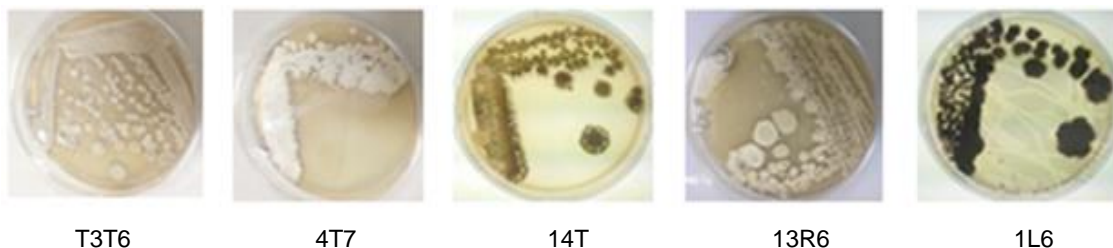
2.3. Đánh giá hoạt tính kháng nấm

Thí nghiệm được thực hiện bằng phương pháp khuếch tán thạch hoặc phương pháp đồng cấy (Intra và cộng sự, 2011).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập xạ khuẩn nội sinh

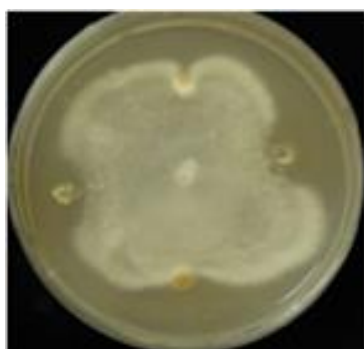
Sau khi mẫu thực vật đã được khử trùng bề mặt và cấy trên các môi trường chọn lọc, các khuẩn lạc của xạ khuẩn điển hình đã được chọn lọc từ ngày thứ 15 đến ngày thứ 60 và được cấy chuyển liên tiếp trên môi trường ISP. Chúng tôi đã phân lập được 24 chủng xạ khuẩn nội sinh từ mẫu cà phê của tỉnh Lâm Đồng. Các chủng có đặc điểm hình thái và môi trường của các chủng phân lập được miêu tả theo các quy trình của ISP (hình 1).



Hình 1. Khuẩn lạc của một số chủng xạ khuẩn

3.1.1. Kiểm tra tính kháng nấm

Trong số các chủng phân lập được, có 4 chủng xạ khuẩn (chiếm 16,7%) cho thấy hoạt động kháng nấm chống lại sinh vật thử nghiệm. Trong đó, chủng T3T6 thể hiện hoạt tính cao nhất chống lại nấm gây bệnh thử nghiệm *Fusarium oxysporum* với đường kính kháng nấm khoảng 3,5 cm (hình 2).



Hình 2. Sàng lọc xạ khuẩn nội sinh có hoạt tính kháng nấm
Đặc điểm sinh học của chủng T3T6

3.1.2. Đặc điểm sinh học

Khuẩn lạc của chủng T3T6 có màu trắng sữa, li rắn chắc, nhân lồi mặt thạch, viền trong suốt trên GauseI, tốc độ phát triển nhanh, sinh sắc tố melanin mạnh. Đường kính khuẩn lạc 2 - 3 mm sau 5 ngày. Sợi nấm trên không và chất nền có màu xám đến nâu nhạt hoặc vàng nhạt

đến vàng nâu trên môi trường nuôi cấy ISP2, ISP3, ISP4, ISP5 và ISP7. Sắc tố vàng hòa tan được quan sát trên môi trường ISP2 và ISP3. Màu sắc khuẩn lạc của một chủng xạ khuẩn khi nuôi trên các môi trường từ ISP1 đến ISP7 thường khác nhau, đây là yếu tố đầu tiên để phân loại xạ khuẩn theo khóa định tên loài xạ khuẩn ISP (1974) và khóa phân loại Bergey (Stanley *et al.*, 1989). Cùng với màu sắc của khuẩn lạc thì khả năng sinh sắc tố tan và sự hình thành melanin cũng là một trong những tiêu chuẩn cơ bản để phân biệt các chủng xạ khuẩn.

Khả năng đồng hóa các nguồn carbon là một trong những chỉ tiêu quan trọng để phân loại xạ khuẩn sử dụng môi trường ISP. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nuôi chủng xạ khuẩn T3T6 trên môi trường ISP9 có bổ sung các nguồn carbon khác nhau. Kết quả cho thấy, chủng có khả năng đồng hóa tốt các nguồn carbon như: D-maltose, sucrose, glucose, inositol. Với mannitol sinh trưởng kém và gần như không sinh trưởng trong môi trường có chứa CMC.

Quá trình sống và trao đổi chất của vi sinh vật chịu tác động mạnh mẽ bởi các yếu tố môi trường. Vì vậy, chủng T3T6 được quan sát khả năng sinh trưởng ở

các điều kiện nhiệt độ, pH và nồng độ muối khác nhau. Kết quả cho thấy chủng sinh trưởng tốt nhất ở 28 - 30°C, khi lên tới 37°C hoặc xuống 24°C sinh trưởng kém. T3T6 thích hợp với môi trường trung tính hoặc kiềm. Ở pH trong khoảng

3 - 6, chủng xạ khuẩn này gần như không sinh trưởng. Khả năng chịu mặn được ghi nhận ở mức kém, thích hợp với nồng độ muối từ 0 - 2%. Khi nồng độ muối trong môi trường từ 3 - 7%, chủng không sinh trưởng.

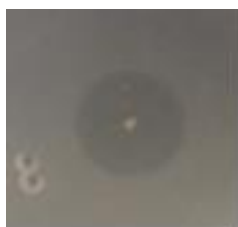
Bảng 1. Đặc điểm nuôi cấy của chủng xạ khuẩn T3T6 trên hệ thống ISP và Gause

Môi trường	Sau 7 ngày
ISP3	Tâm màu ghi lốm, viền trắng tinh nổi trên mặt thạch, mép trong, đế vàng cam, sinh sắc tố vàng.
ISP4	Bề mặt trắng sữa lồi mặt thạch. Tâm bụi phấn, lấm tấm vàng, xốp, viền vàng, đế cam vàng, sinh sắc tố vàng mạnh.
ISP5	Tâm vàng lồi mặt thạch, viền ngoài trắng sữa, mép trong, đế vàng nhạt, không sinh sắc tố.
ISP6	Tâm vàng lồi trên mặt thạch, viền ghi, sinh sắc tố tan xung quanh khuẩn lạc màu nâu, đế nâu đen.
GauseI	Trắng sữa, lì rắn chắc, nhân lồi mặt thạch, viền trong suốt, sinh sắc tố vàng.
GauseII	Bề mặt trắng tinh lồi, xù xì, nhân màu cam đế vàng cam, không sinh sắc tố.

3.1.3. Khả năng sản sinh enzyme

Chúng tôi tiến hành kiểm tra khả năng sinh enzyme ngoại bào chủng xạ khuẩn nghiên cứu bởi không phải tất cả các vi sinh vật đều có khả năng sinh enzyme như nhau và ngay cả những chủng trong cùng một loài cũng không có hoạt tính như nhau. Đây cũng là tiêu chí quan trọng khi tuyển chọn giống trong quá trình phân lập để lựa chọn các chủng

có các hoạt tính enzyme mong muốn theo từng mục đích. Kết quả phân tích cho thấy, chủng T3T6 có khả năng sinh cả 03 loại enzyme ngoại bào. Với enzyme protease cho hoạt tính khá mạnh, chỉ sau 48 giờ vòng phân giải đạt 10mm. Trong khi đó, cellulase có hoạt tính không cao chỉ đạt 10mm sau 6 ngày. Riêng amylase cho hoạt tính thấp nhất, chỉ đạt 1mm sau 12 ngày trên ISP4 (tinh bột 1%) và GauseI (tinh bột 2%).



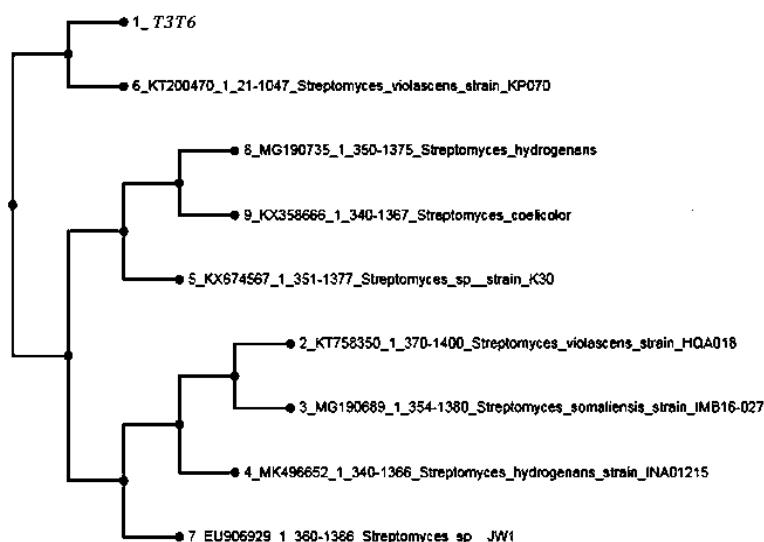
Protease Amylase Cellulase

Hình 3. Hoạt tính một số enzyme của chủng T3T6

3.2. Phân trình tự nucleotide 16S rDNA

Trình tự 16S của chủng T3T6 được so sánh với các trình tự trên cơ sở dữ liệu GenBank và cho thấy độ tương đồng cao (99%) với trình tự của *Streptomyces*

violascens (KT200470) (hình 4). Mặc dù có độ tương đồng cao như vậy với *Streptomyces violascens* nhưng chủng vẫn có một chút khác biệt về hình thái bào tử. Do vậy, chúng tôi được đặt tên là *Streptomyces* sp. T3T6.

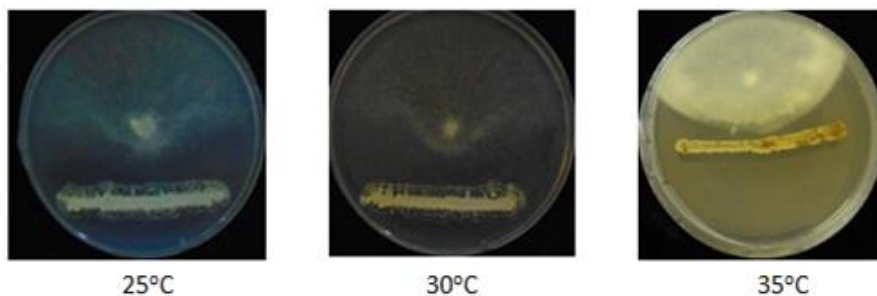


Hình 4. Cây phân loại của chủng T3T6

3.3. Độ ổn định nhiệt và pH của hoạt chất kháng nấm

Xử lý ở các nhiệt độ khác nhau cho thấy khả năng kháng nấm của chủng T3T6 bị ảnh hưởng rõ rệt. Nếu coi hoạt tính kháng nấm ở 30°C là 100% thì ở 25°C và 35°C giảm xuống 77 và 60%, tương ứng. Kết quả này phù hợp với đặc điểm của chủng T3T6 trước đó là sinh trưởng tốt nhất ở 28 - 30°C, khi lên tới

37°C hoặc xuống 24°C sinh trưởng kém và có thể ảnh hưởng đến hoạt tính kháng nấm của chủng. Các nghiên cứu trước đó đã chứng minh rằng khả năng ức chế nấm của các xạ khuẩn nội sinh chủ yếu do sản xuất các hợp chất hoạt tính sinh học, chẳng hạn như thuốc kháng sinh và enzyme phân hủy vách tế bào và nhân mạnh tầm quan trọng trong kiểm soát sinh học.



Hình 5. Khả năng kháng nấm của chủng T3T6 ở các nhiệt độ

4. KẾT LUẬN

Đã phân lập được 24 chủng xạ khuẩn nội sinh từ mẫu rễ cây cà phê trồng tại Lâm Đồng. Trong đó, chủng T3T6 thể hiện hoạt tính kháng nấm *Fusarium oxysporum* cao nhất với đường kính kháng nấm lên tới 3,5cm. Hoạt tính kháng nấm của chủng T3T6 tốt nhất là ở nhiệt độ 30°C.

Chủng T3T6 sinh trưởng tốt nhất ở 28 - 30°C, thích hợp với môi trường trung tính hoặc kiềm, khả năng chịu mặn kém và thích hợp với nồng độ muối từ 0 - 2%. Chủng xạ khuẩn này có khả năng sinh một số loại enzyme ngoại bào như protease, amylase, cellulase.

Lời cảm ơn: Kinh phí nghiên cứu được hỗ trợ bởi đề tài “Nghiên cứu hoàn thiện công nghệ sản xuất chế phẩm vi sinh CAFE-HTD01 và HOTIEU-HTD03 và sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh, hóa học nhằm phát triển hiệu quả và bền vững cây cà phê và hồ tiêu ở Tây Nguyên” mã số KHCN-TN/16-20.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Carvalho. T and Van Der Sand (2016), “Evaluation of antimicrobial activity of the endophytic actinomycete R18(6) against multiresistant Gram-negative bacteria”. Anais da Academia Brasileira de Ciencias, vol. 88, no. 1, pp. 154 - 163.
2. Shutsrirung. Chromkaew A, Y., W. (2013), Pathom-Aree, S. Choonluchanon, and N. Boonkerd, “Diversity of endophytic actinomycetes in mandarin grown in northern Thailand, their phytohormone production potential and plant growth promoting activity”, Soil Science and Plant Nutrition, vol. 59, no. 3, pp. 322 - 330.
3. Tarabily KA - El, Nassar AH, Gest JH, Sivasithamparam K (2009), Plant growth promotion and biological control of *Pythium aphanidermatum*, a pathogen of cucumber, by endophytic actinomycetes. Appl Microbiol 106: 13 - 26.
4. J. Ishikawa, N. Tsuchizaki, M. Yoshida, D. Ishiyama, and K. Hotta (2000), “Colony PCR for detection of specific DNA sequences in actinomycetes,” Actinomycetologica, vol. 14, no. 1, pp. 1 - 5,.
5. K. C. Kandpal, D. A. Jain, U. Kumar (2012), “Isolation and screening of endophytic actinomycetes producing antibacterial compound from Citrus aurantifolia Fruit,” European Journal of Experimental Biology, vol. 2, no. 5, pp. 1733- 1737.
6. Mercado-Blanco. J and Lugtenberg. B (2014), “Biotechnological applications of bacterial endophytes,” Current Biotechnology, vol. 3, no. 1, pp. 60 - 75.
7. Nomomura H. (1974), “Key for classification and identification of 458 species of the Streptomyces included in ISP,” Journal of Fermentation Technology, vol. 52, no. 2, pp. 78 - 92.
8. Gangwar.M, S. Dogra, U. P. Gupta, and R. N. Kharwar (2014), “Diversity and biopotential of endophytic actinomycetes from three medicinal plants in India,” African Journal of Microbiology Research, vol. 8, no. 2, pp. 184 - 191.
9. Shimizu. M (2011), “Endophytic actinomycetes: biocontrol agents and growth promoters,” in Bacteria in Agrobiolgy: Plant Growth Responses, D. K. Maheshwari, Ed., pp. 201 - 220, Elsevier Academic Press, San Diego, Calif, USA.
10. Khieu TN, Liu MJ, Nimaichand S, Quach NT, Chu KS, Vu TT, Nguyen TD, Xiong Z, Deene MP, Li WJ (2015). Characterization and evaluation of antimicrobial and cytotoxic effects of *Streptomyces* sp. HUST012 isolated from medicinal plant *Dracaena cochinchinensis* Lour. Front. Microbiol 6: 574.
11. Intra. B, I. Mungsuntisuk, T. Nihira, Y. Igarashi, and W. Panbangred (2011), “Identification of actinomycetes from plant rhizospheric soils with inhibitory activity against *Colletotrichum* spp., the causative agent of anthracnose disease,” BMC Research Notes, vol. 4, article 98.
12. Trần Kim Loang (2002), Nghiên cứu một số nguyên nhân gây hiện tượng vàng lá, thối rễ trên cà phê vối (*Coffea canephora pierre exfrohner*) tại Đắk Lắk và khả năng phòng trừ, Luận án Tiến sĩ nông nghiệp.

HIỆU QUẢ SỬ DỤNG VI KHUẨN HÒA TAN SILIC VÀ PHÂN SILIC LÊN KHẢ NĂNG CHỐNG CHỊU CỦA CÂY LÚA ĐỐI VỚI BỆNH ĐẠO ÔN DO NẤM *Pyricularia* sp. GÂY RA Ở ĐIỀU KIỆN NHÀ LƯỚI

Nguyễn Thị Thu Hà¹, Nguyễn Trường Trinh²,
Nguyễn Khởi Nghĩa^{1*}

¹Bộ môn Khoa học Đất, Khoa Nông nghiệp,
Trường Đại học Cần Thơ, thành phố Cần Thơ

²Sinh viên ngành Bảo vệ thực vật Khóa 43,
Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

*Tác giả liên hệ: nknghia@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm đánh giá ảnh hưởng của vi khuẩn hòa tan silic (VKHTS) và phân bón silic (PBS) lên tính kháng của cây lúa với nấm bệnh đạo ôn *Pyricularia* sp.. Thí nghiệm trong chậu được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 13 nghiệm thức, 3 lặp lại trong nhà lưới. Giống lúa được ngâm với VKHTS. Vi khuẩn được cố định trong xỉ than trước khi chôn vào đất. Siêu Canxi Bo được bón 600 kg.ha⁻¹. Nấm bệnh được phun 10mL/chậu (5×10^4 bào tử.mL⁻¹) vào 28 ngày sau gieo. Tỷ lệ bệnh và hiệu quả giảm bệnh được khảo sát. Kết quả cho thấy tất cả các nghiệm thức có xử lý có tỉ lệ nhiễm bệnh thấp và các nghiệm thức kết hợp PBS với VKHTS cho hiệu quả giảm bệnh cao và ổn định. Nghiệm thức PBS kết hợp dòng PTST-30 cho hiệu quả giảm bệnh cao nhất ở 3, 14 và 21 ngày sau chôn bệnh tương ứng 82,67%; 82,49% và 74,09%. Nghiệm thức bón PBS kết hợp chủng nấm dòng vi khuẩn và nghiệm thức chỉ dòng MCM-15 cho hiệu quả giảm bệnh ổn định trên 70% ở tất cả các lần khảo sát.

Từ khóa: bệnh đạo ôn lá, cây lúa, nấm *Pyricularia oryzae*, phân bón silic, vi khuẩn hòa tan silic.

ABSTRACT

Efficiency of silicate solubilizing bacteria and silicate fertilizer on enhancing the capacity of rice to resist rice blast caused by *Pyricularia* sp. under greenhouse conditions

The study was aimed to evaluate efficiency of silicate solubilizing bacteria and silicate fertilizer on resistance of rice to rice blast caused by *Pyricularia* sp.. A completely

randomized design was conducted in pot with 13 treatments and 3 replicates under greenhouse conditions. Rice seeds were soaked in silicate solubilizing bacterial solution and bacteria were immobilized on used coal and applied to the soil before seedling. Siêu Calcium Bo was applied at a dose of 600 kg.ha⁻¹. At 28 days after sowing, *Pyricularia* sp. was inoculated by spraying on rice with an amount of 10mL of spore suspension for each pot (5×10^4 spores.mL⁻¹). Disease incidence and disease reduction effect indicators were surveyed. The results showed that in all handling treatments, including treatment received only silicate fertilizer had an effectiveness in reducing the incidence of rice blast and most the treatments received both silicate fertilizer and silicate solubilizing bacteria gave a high and stable disease reduction effect. In particular, the treatment received silicate fertilizer and PTST-30 strain had the highest disease reduction effect at 3, 14 and 21 days after pathogenic fungal inoculation with a value of 82.67%, 82.49%, and 74.09%, respectively. Treatment introduced with silicate fertilizer together with five bacteria strains mixed and the MCM-15 strain treatment showed their stability in disease reduction effect and reached over 70% at all surveying times.

Keywords: *Pyricularia oryzae*, rice, rice blast disease, silicate fertilizer, silicate solubilizing bacteria.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây lúa (*Oryza sativa*) là cây lương thực chính và được trồng quanh năm ở Việt Nam. Vì thế, các đối tượng dịch hại trên cây lúa rất phát triển, đặc biệt là nấm *Pyricularia* sp. gây bệnh đạo ôn, gây hại cả trên lá và cổ bông. Từ năm 1972 đến nay, bệnh đạo ôn đã trở thành dịch bệnh ở nhiều vùng trọng điểm thâm canh lúa (Nguyễn Văn Viên và ctv., 2013) làm giảm năng suất lúa từ 20 - 80% (Nguyễn Thị Kim Oanh, 2008). Đa số nông dân phòng trị bệnh đạo ôn chủ yếu bằng thuốc hóa học vì có hiệu quả nhanh. Tuy nhiên, việc lạm dụng thuốc hóa học gây ô nhiễm môi trường, ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe con người, đặc biệt có thể làm tăng khả năng kháng thuốc của nấm bệnh. Do đó, các biện pháp phòng trừ bệnh đạo ôn khác cần được nghiên cứu và ứng dụng trong canh tác lúa hiện nay. Nhiều nghiên cứu cho thấy phân bón silic có vai trò quan trọng đối

với cây lúa trong việc làm tăng cường sức khỏe, gia tăng khả năng chống chịu đối với các yếu tố bất lợi như sâu bệnh, mặn, khô hạn, phèn, độc chất,... Đặc biệt, một số kết quả nghiên cứu còn cho thấy việc bón phân silic vào đất giúp giảm tỉ lệ bệnh đạo ôn và giúp tăng cường tính chống chịu của cây lúa với bệnh hại này (OU, 1983). Tuy nhiên, nếu không có vi sinh vật hòa tan silic thì hàm lượng silic hữu dụng cho cây lúa hấp thu trong đất là rất ít do silic bị cố định rất chặt bởi keo đất và các khoáng chất. Hiện nay, ở nước ta hầu như chưa có nghiên cứu về việc kết hợp bón phân silic với sử dụng vi khuẩn hòa tan silic lên khả năng kích kháng của cây lúa đối với bệnh đạo ôn. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả sử dụng kết hợp vi khuẩn hòa tan silic và phân silic lên khả năng chống chịu của cây lúa đối với bệnh đạo ôn lá do nấm *Pyricularia* sp. gây ra ở điều kiện nhà lưới.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- **Nguồn nấm bệnh:** Nấm *Pyricularia* sp. P3 được phân lập từ lá lúa nhiễm bệnh đạo ôn được thu thập từ ruộng chuyên canh lúa ở khu vực xã Thới An Đông, phường Bình Thủy, Tp. Cần Thơ. Kết quả kiểm tra độc lực theo qui trình Koch tại 4, 5 và 6 ngày sau khi chủng bệnh dòng nấm P3 cho tỷ lệ bệnh lần lượt 60,68%; 68,05% và 71,91%, đồng thời tỷ lệ diện tích nhiễm bệnh tương ứng: 8,22%, 13,26% và 15,81% diện tích mặt lá.

- **Nguồn vi khuẩn hòa tan silic:** Năm dòng vi khuẩn hòa tan silic ký hiệu PTST-30, MCM-15, LCT-01, TCM-39 và RTTV-12 được nuôi tăng sinh trong môi trường TSB đạt mật số 10^7 cfu.mL⁻¹ dùng để ngâm hạt giống 24 giờ trước khi ủ, được cố định trong xỉ than (10^{10} cfu.mL⁻¹) khi chủng vào đất.

- **Giống lúa:** Giống lúa thuần OM4900, thời gian sinh trưởng 95 - 100 ngày.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm được bố trí trong chậu theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 13 nghiệm thức và 3 lặp lại, mỗi lặp lại tương ứng 1 chậu chứa 5 kg đất khô kiệt và được trồng 5 hạt lúa. Các nghiệm thức gồm:

NT1: Đối chứng (không bón phân silic, không chủng vi khuẩn).

NT2: Phân bón silic (Siêu Canxi Bo - 600kg/ha) (Si).

NT3: Si + dòng vi khuẩn PTST-30.

NT4: Si + dòng vi khuẩn MCM-15.

NT5: Si + dòng vi khuẩn LCT-01.

NT6: Si + dòng vi khuẩn TCM-39.

NT7: Si + dòng vi khuẩn RTTV-12.

NT8: Si + hỗn hợp của 5 dòng vi khuẩn.

NT9: Dòng vi khuẩn PTST-30.

NT10: Dòng vi khuẩn MCM-15.

NT11: Dòng vi khuẩn LCT-01.

NT12: Dòng vi khuẩn TCM-39.

NT13: Dòng vi khuẩn RTTV-12.

Vi khuẩn hòa tan silic được bón vào đất 1 lần duy nhất vào giai đoạn bón lót. Tất cả các nghiệm thức đều có bón phân hóa học theo công thức 100N - 60P₂O₅ - 40K₂O. Quản lý nước theo phương pháp khô ngập xen kẽ với chiều cao mực nước ban đầu là 5 cm, quản lý cỏ dại và sâu hại theo biện pháp thủ công.

Chủng bệnh nhân tạo được thực hiện vào thời điểm 28 ngày sau khi gieo hạt. Nấm *Pyricularia* sp. P3 đạt mật số 5×10^4 bào tử.mL⁻¹ khi chủng bệnh, liều lượng phun 10 mL.chậu⁻¹ và được phun vào chiều mát. Việc chủng bệnh được thực hiện ngoài nhà lưới có che mát còn 60% ánh sáng tự nhiên, sau khi chủng bệnh các chậu lúa được che tối trong 24 giờ. Sau đó các chậu lúa được tưới phun sương thường xuyên để bệnh phát triển (các lần phun cách nhau ít nhất 2 giờ).

* Các chỉ tiêu theo dõi:

Các chỉ tiêu được ghi nhận vào thời điểm 3, 7, 14 và 21 ngày sau khi chủng bệnh.

(1) Tỷ lệ bệnh (TLB) (%):

Đếm tổng số lá và số lá bị bệnh ở mỗi chậu, sau đó tính tỷ lệ bệnh theo công thức:

$$TLB = \frac{\text{Số lá bệnh}}{\text{Tổng số lá}} \times 100\%$$

(2) Hiệu quả giảm tỷ lệ bệnh:

Hiệu quả kích kháng được đánh giá dựa trên so sánh mức độ nhiễm bệnh đạo ôn trong các nghiệm thức có xử lý kích kháng với nhau và giữa các nghiệm thức có xử lý kích kháng với đối chứng.

$$HQGTLB (\%) = (TLBđc - LBxl) / TLBđc \times 100$$

Trong đó:

TLBđc: Tỷ lệ bệnh ở nghiệm thức đối chứng.

TLBxl: Tỷ lệ bệnh ở nghiệm thức xử lý.

(3) Tỷ lệ diện tích vết bệnh:

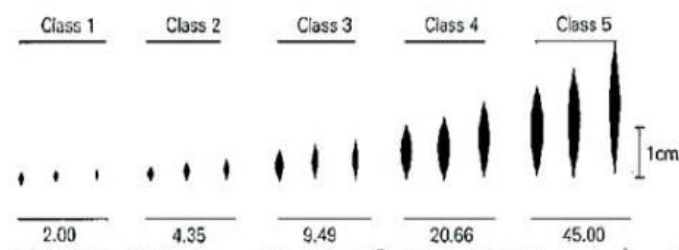
$$\text{Tỷ lệ diện tích vết bệnh (TLDTVB) (\%) = (Sb/S) \times 100$$

Sb: Tổng diện tích vết bệnh (mm²).

S: diện tích lá (mm²).

Trong đó: Sb được tính theo phương pháp của Pinnschmidt *et al.* (1993) (trích dẫn từ Trần Vũ Phấn, 2010) như sau:

Đầu tiên, dựa trên cách phân cấp bệnh được trình bày trong hình 1, các vết bệnh được xác định cấp bệnh.



Hình 1. Đánh giá định lượng diện tích nhiễm bệnh dựa vào tổng diện tích số vết bệnh theo nhóm kích thước

Sau đó, qui đổi diện tích vết bệnh tương ứng ở từng cấp bệnh. Cụ thể:

Cấp 0: Vết bệnh nhỏ bằng đầu kim, ứng với diện tích là 0,25 mm² (S₀).

Cấp 1: Chiều dài vết bệnh nhỏ hơn 3 mm, ứng với diện tích là 2 mm² (S₁).

Cấp 2: Chiều dài vết bệnh 3 - 5 mm, ứng với diện tích là 4,35 mm² (S₂).

Cấp 3: Chiều dài vết bệnh 7 - 9 mm, ứng với diện tích là 9,49 mm² (S₃).

Cấp 4: Chiều dài vết bệnh 13 - 17 mm, ứng với diện tích là 20,66 mm² (S₄).

Cấp 5: Chiều dài vết bệnh lớn hơn 17 mm, ứng với diện tích là 45 mm² (S₅).

Đồng thời, đếm tổng số vết bệnh theo từng cấp trên lá và tính tổng diện tích vết bệnh trên lá theo công thức:

$$Sb (\text{mm}^2) = \sum (S_0a_0 + S_1a_1 + S_2a_2 + S_3a_3 + S_4a_4 + S_5a_5)$$

Trong đó:

S₀, S₁, S₂, S₃, S₄, S₅: Diện tích bệnh ở mỗi cấp trên lá.

a₀, a₁, a₂, a₃, a₄, a₅: Số vết bệnh ứng với mỗi cấp trên lá.

(4) Hiệu quả giảm tỷ lệ diện tích bệnh:

$$HQGTLDTB (\%) = (TLDTNđc - TLDTNxl) / TLDTNđc \times 100$$

Trong đó:

TLDTNđc: Tính tỷ lệ diện tích lá nhiễm bệnh ở nghiệm thức đối chứng.

TLDTNxl: Tính tỷ lệ diện tích lá nhiễm bệnh ở nghiệm thức xử lý.

Số liệu được tổng hợp và xử lý bằng phần mềm Excel. Thống kê theo phương pháp Tukey bằng phần mềm MINITAB 16.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Tỷ lệ bệnh

Kết quả thí nghiệm cho thấy tỉ lệ bệnh trên lá của các nghiệm thức đều tăng và thay đổi liên tục theo xu hướng không

ổn định qua các thời điểm lấy chỉ tiêu. Ngoài ra, hầu hết các nghiệm thức có xử lý với vi khuẩn đơn hoặc vi khuẩn kết hợp phân bón silic đều cho tỉ lệ bệnh thấp hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với nghiệm thức đối chứng và nghiệm thức chỉ bón phân silic qua các giai đoạn 3, 7, 14 và 21 ngày sau khi chủng bệnh (NSCB) (bảng 1).

Bảng 1. Tỷ lệ bệnh đạo ôn trên lá lúa tại 3, 7, 14 và 21 ngày sau khi chủng bệnh ở điều kiện nhà lưới

STT	Nghiệm thức	Tỷ lệ bệnh (%)			
		3 NSCB	7 NSCB	14 NSCB	21 NSCB
1	Đối chứng	27,61 ^a	28,53 ^{ab}	35,80 ^a	59,52 ^{abc}
2	Si	27,05 ^a	29,39 ^{ab}	31,41 ^{abc}	62,74 ^a
3	Si+PTST-30	23,37 ^{ab}	24,85 ^{abcd}	25,108 ^{de}	49,71 ^{cde}
4	Si+MCM-15	20,35 ^{abcd}	21,75 ^{bcd}	27,74 ^{cde}	43,52 ^e
5	Si+LCT-01	15,54 ^{bcde}	17,45 ^d	29,83 ^{bcd}	53,12 ^{abcde}
6	Si+TCM-39	14,22 ^{bcde}	21,00 ^{bcd}	27,92 ^{cde}	55,39 ^{abcd}
7	Si+RTTV-12	7,32 ^e	24,37 ^{abcd}	26,79 ^{cde}	48,27 ^{de}
8	Si+MIX	10,99 ^{de}	25,08 ^{abcd}	26,73 ^{cde}	46,32 ^{de}
9	PTST-30	21,79 ^{abc}	26,84 ^{abc}	31,46 ^{abc}	50,64 ^{bcde}
10	MCM-15	14,59 ^{bcde}	18,36 ^{cd}	24,56 ^e	45,43 ^{de}
11	LCT-01	26,74 ^a	27,96 ^{ab}	28,63 ^{cde}	53,46 ^{abcde}
12	TCM-39	12,39 ^{cde}	17,35 ^d	31,35 ^{abc}	60,20 ^{ab}
13	RTTV-12	16,75 ^{bcde}	32,74 ^a	31,16 ^{ab}	47,13 ^{de}
	F	*	*	*	*
	CV (%)	37,96	21,95	12,19	12,68

Ghi chú: * Là khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở mức ý nghĩa 5%. Trong cùng một cột các giá trị trung bình có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử Tukey's.

Ở thời điểm 3 NSCB, tỉ lệ bệnh dao động 7,32 - 27,61% ở các nghiệm thức. Trong đó nghiệm thức bón phân Silic kết hợp với dòng RTTV-12 có tỷ bệnh thấp nhất đạt 7,23% và khác biệt thống kê so với nghiệm thức đối chứng và chỉ bón phân silic. Ở giai đoạn 7 NSCB, nghiệm thức bón phân silic kết hợp với chủng dòng vi khuẩn LCT-01 và nghiệm thức chủng dòng vi khuẩn TCM-39 cho tỉ lệ

bệnh thấp nhất, tương ứng 17,45% và 17,35%. Vào thời điểm 14 NSCB, nghiệm thức chỉ xử lý dòng vi khuẩn MCM-15 cho kết quả về tỉ lệ bệnh thấp nhất với 24,56%. Ở giai đoạn 21 NSCB có tỉ lệ bệnh ở các nghiệm thức rất cao và dao động từ 43,52 - 62,7%. Trong đó, nghiệm thức bón phân silic kết hợp với dòng vi khuẩn MCM-15 cho tỉ lệ bệnh thấp nhất đạt 43,52%.

3.2. Hiệu quả giảm tỷ lệ bệnh

Kết quả trình bày trong bảng 2 cho thấy hiệu quả giảm tỷ lệ bệnh ở đa số các nghiệm thức xử lý với vi khuẩn hòa tan Si cao hơn so với nghiệm thức đối chứng. Tuy nhiên, khả năng ức chế tỷ lệ bệnh không giống nhau giữa các nghiệm thức và luôn biến động qua các thời điểm theo dõi. Trong đó, tại thời điểm 3 NSCB, hầu hết các nghiệm thức có chủng vi khuẩn cho hiệu quả giảm tỷ lệ bệnh cao hơn so với nghiệm thức chỉ bón phân silic (1,48%). Tại thời điểm 7 NSCB, chỉ có 3 nghiệm thức gồm nghiệm thức bón riêng lẻ dòng vi khuẩn MCM-15 (10,17%), dòng TCM-39 (11,18%) và nghiệm thức bón kết hợp phân silic với dòng vi khuẩn LCT-01 (11,08%) cho hiệu quả giảm tỷ lệ bệnh cao hơn so với nghiệm thức chỉ bón phân silic (1,08%).

Tương tự, tại thời điểm 14 NSCB, chỉ có 4 nghiệm thức có xử lý cho hiệu quả giảm tỷ lệ bệnh cao hơn so với nghiệm thức chỉ bón phân silic. Tuy nhiên, tại 21 NSCB, đa số các nghiệm thức có xử lý vẫn duy trì được khả năng ức chế tỷ lệ bệnh trên 10% trong khi nghiệm thức chỉ bón phân silic không còn hiệu quả giảm tỷ lệ bệnh (0%).

Như vậy, đa số nghiệm thức có xử lý vi khuẩn hòa tan silic cho hiệu quả giảm tỷ lệ bệnh cao hơn so với nghiệm thức chỉ bón phân silic và nghiệm thức đối chứng không xử lý với Si và vi khuẩn. Đặc biệt, nghiệm thức xử lý bằng dòng vi khuẩn MCM-15, nghiệm thức xử lý kết hợp phân bón silic với dòng RTTV-12 và hỗn hợp 5 dòng vi khuẩn cho hiệu quả giảm tỷ lệ bệnh tốt và tương đối ổn định qua các thời điểm theo dõi.

Bảng 2. Hiệu quả giảm tỷ lệ bệnh đạo ôn trên lá lúa tại 3, 7, 14 và 21 ngày sau khi chủng bệnh ở điều kiện nhà lưới

STT	Nghiệm thức	Hiệu quả giảm tỷ lệ bệnh (%)			
		3 NSCB	7 NSCB	14 NSCB	21 NSCB
1	Si	1,48 ^e	1,08 ^b	4,40 ^{cd}	0,00 ^d
2	Si+PTST-30	4,48 ^{de}	3,68 ^{ab}	10,70 ^{ab}	9,80 ^{ab}
3	Si+MCM-15	7,26 ^{cde}	6,78 ^{ab}	8,06 ^{abc}	15,99 ^a
4	Si+LCT-01	12,07 ^{abcd}	11,08 ^a	5,97 ^{bcd}	6,40 ^{abcd}
5	Si+TCM-39	13,38 ^{abcd}	7,53 ^{ab}	7,88 ^{abc}	4,13 ^{bcd}
6	Si+RTTV-12	20,28 ^a	4,15 ^{ab}	9,02 ^{ab}	11,25 ^{ab}
7	Si+MIX	16,62 ^{ab}	3,45 ^{ab}	9,08 ^{ab}	13,20 ^{ab}
8	PTST-30	5,81 ^{de}	1,75 ^b	4,34 ^{cd}	8,88 ^{abc}
9	MCM-15	13,01 ^{abcd}	10,17 ^a	11,24 ^a	14,09 ^{ab}
10	LCT-01	1,30 ^e	1,42 ^b	7,17 ^{abc}	6,06 ^{abcd}
11	TCM-39	15,22 ^{abc}	11,18 ^a	4,46 ^{cd}	0,00 ^d
12	RTTV-12	10,86 ^{bcd}	0,00 ^b	2,37 ^d	12,39 ^{ab}
	<i>F</i>	*	*	*	*
	<i>CV (%)</i>	63,51	86,58	42,16	78,61

Ghi chú: * Là khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở mức ý nghĩa 5%. Trong cùng một cột các giá trị trung bình có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử Tukey's.

3.3. Tỷ lệ diện tích vết bệnh

Kết quả trình bày ở bảng 3 cho thấy hầu hết các nghiệm thức có xử lý với vi khuẩn hòa tan Si đều cho tỉ lệ diện tích vết bệnh đạo ôn trên lá thấp hơn và khác biệt thống kê ($p < 0,05$) so với nghiệm thức đối chứng tại tất cả các thời điểm theo dõi. Trong đó, đa số các nghiệm thức kết hợp bón phân silic với các dòng vi khuẩn hòa tan silic cho thấy khả năng ức chế được sự phát triển diện tích vết bệnh tốt

và ổn định hơn. Đặc biệt, hai nghiệm xử lý kết hợp bón phân silic với dòng PTST-30 hoặc tổ hợp năm dòng vi khuẩn hòa tan silic có khả năng ức chế sự phát triển diện tích vết bệnh trên lá tốt và ổn định nhất, đều đạt 1% tại 14 NSCB và tương ứng 2,9% và 3,14% tại 21 NSCB. Điều này cũng chứng tỏ vai trò quan trọng của vi khuẩn hòa tan silic trong việc giúp tăng lượng silic hữu dụng cho cây lúa hấp thu trong đất.

Bảng 3. Tỷ lệ diện tích vết bệnh đạo ôn lá tại 3, 7, 14 và 21 ngày sau khi chủng bệnh ở điều kiện nhà lưới

STT	Nghiệm thức	Tỷ lệ diện tích vết bệnh (%)			
		3 NSCB	7 NSCB	14 NSCB	21 NSCB
1	Đối chứng	1,71 ^a	2,53 ^a	5,69 ^a	11,19 ^a
2	Phân Silic	0,77 ^{cd}	0,96 ^{de}	1,30 ^{fg}	9,93 ^{ab}
3	Si+PTST-30	0,30 ^f	0,79 ^{ef}	1,00 ^g	2,90 ^f
4	Si+MCM-15	0,61 ^{de}	0,69 ^{ef}	1,91 ^{def}	5,53 ^{de}
5	Si+LCT-01	0,29 ^f	0,52 ^f	1,53 ^{efg}	3,68 ^{ef}
6	Si+TCM-39	0,47 ^{ef}	2,18 ^b	2,90 ^b	5,00 ^{def}
7	Si+RTTV-12	0,26 ^f	1,61 ^c	2,16 ^{cd}	2,91 ^f
8	Si+MIX	0,47 ^{ef}	0,55 ^f	1,00 ^g	3,14 ^f
9	PTST-30	0,44 ^{ef}	0,84 ^{def}	2,15 ^{cde}	3,99 ^{ef}
10	MCM-15	0,28 ^f	0,75 ^{ef}	1,33 ^{fg}	3,11 ^f
11	LCT-01	0,43 ^{ef}	1,14 ^d	2,67 ^{bc}	6,24 ^d
12	TCM-39	1,03 ^c	2,32 ^{ab}	3,22 ^b	6,68 ^{cd}
13	RTTV-12	1,33 ^b	2,19 ^b	5,56 ^a	8,77 ^{bc}
	<i>F</i>	*	*	*	*
	CV (%)	69,28	54,67	61,09	49,97

Ghi chú: * Là khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở mức ý nghĩa 5%. Trong cùng một cột các giá trị trung bình có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử Tukey's.

3.4. Hiệu quả giảm tỷ lệ diện tích bệnh

Kết quả trình bày trong bảng 4 cho thấy hiệu quả giảm tỷ lệ diện tích bệnh ở tất cả các nghiệm thức xử lý với vi khuẩn hòa tan Si đều cao hơn so với đối chứng. Tuy nhiên, khả năng ức chế làm giảm sự phát triển của các mầm bệnh là không đồng đều giữa các nghiệm thức và luôn biến động qua các thời điểm theo dõi. Trong đó, tại thời điểm 3 NSCB, hầu hết các nghiệm thức có chủng vi khuẩn cho hiệu quả giảm tỷ lệ diện tích bệnh tốt, đạt từ 72,6% đến 84,89%, cao hơn ở mức ý nghĩa $P < 0,05$ so với nghiệm thức chỉ bón phân silic (54,93%).

Tại 7 NSCB, hiệu quả giảm tỷ lệ diện tích bệnh của nghiệm thức chỉ bón phân silic tăng lên đạt 62,14% và chỉ

thấp hơn so với hai nghiệm thức bón phân silic kết hợp dòng LCT-01 (79,33%) và bón phân silic kết hợp hỗn hợp nấm dòng vi khuẩn (78,23%). Tương tự, tại thời điểm 14 NSCB, hiệu quả giảm tỷ lệ diện tích bệnh của nghiệm thức chỉ bón phân silic tiếp tục tăng lên, đạt mức 77,18% và cho hiệu quả giảm bệnh cao nhất. Tuy nhiên, tại 21 NSCB, hiệu quả giảm tỷ lệ diện tích bệnh của nghiệm thức chỉ xử lý phân bón Si giảm mạnh còn 11,27%, không khác biệt thống kê so với nghiệm thức xử lý bằng dòng vi khuẩn RTTV-12 (21,63%). Trong khi đó, các nghiệm thức còn lại có hiệu quả giảm tỷ lệ diện tích bệnh đạt từ 40,33% đến 74,09% và đều cao hơn so với nghiệm thức chỉ bón phân silic.

Bảng 4. Hiệu quả giảm tỷ lệ diện tích bệnh (%) trên lá lúa của các nghiệm thức xử lý tác nhân kích kháng so với đối chứng qua các thời điểm 3, 7, 14, 21 ngày sau khi chủng bệnh

STT	Nghiệm thức	Hiệu quả giảm tỷ lệ diện tích bệnh (%)			
		3 NSCB	7 NSCB	14 NSCB	21 NSCB
1	Si	54,93 ^{cd}	62,14 ^{cd}	77,18 ^{ab}	11,27 ^e
2	Si+PTST-30	82,67 ^a	69,01 ^{abc}	82,49 ^a	74,09 ^a
3	Si+MCM-15	64,24 ^{ab}	72,95 ^{abc}	66,36 ^{bc}	50,57 ^{cd}
4	Si+LCT-01	82,86 ^a	79,33 ^a	73,07 ^{abc}	67,13 ^{abc}
5	Si+TCM-39	72,47 ^{ab}	13,93 ^f	49,05 ^e	55,29 ^{bcd}
6	Si+RTTV-12	84,89 ^a	36,30 ^e	61,97 ^{cd}	74,02 ^a
7	Si+MIX	72,60 ^{ab}	78,23 ^{ab}	82,47 ^a	71,52 ^{ab}
8	PTST-30	74,19 ^{ab}	66,93 ^{bcd}	62,20 ^{cd}	64,32 ^{abc}
9	MCM-15	83,71 ^a	70,33 ^{abc}	76,57 ^{ab}	72,25 ^{ab}
10	LCT-01	74,92 ^{ab}	55,19 ^d	53,03 ^{de}	44,23 ^d
11	TCM-39	39,81 ^d	8,52 ^f	43,34 ^e	40,33 ^d
12	RTTV-12	22,07 ^e	13,60 ^f	2,51 ^f	21,63 ^e
	<i>F</i>	*	*	*	*
	<i>CV (%)</i>	28,95	50,27	36,19	39,15

Ghi chú: * Là khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở mức ý nghĩa 5%. Trong cùng một cột các giá trị trung bình có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử Tukey's.

Như vậy, khi bón kết hợp phân bón silic với một số dòng vi khuẩn hòa tan silic cho hiệu quả giảm tỷ lệ diện tích bệnh cao hơn so với chỉ bón phân silic và nghiệm thức đối chứng không xử lý. Mặt khác, theo Trịnh Ngọc Thúy (2000) và Nguyễn Hữu An Nhi (2002) cho thấy việc xử lý hạt lúa bằng clorua đồng và Bezoiic acid (0,05mM) đã làm hiệu quả kích kháng kéo dài đến 34 ngày sau khi gieo và giảm bệnh đạo ôn 60 - 62% và 66 - 67%. Bên cạnh đó, Phạm Văn Dư và *ctv.* (2003) đã chứng minh Osalic acid dùng trong xử lý hạt giống có tác dụng làm giảm đạo ôn lá và đạo ôn cổ bông trong vụ đông xuân 30 - 60% và còn có khả năng kích thích sinh trưởng của cây lúa như tăng chiều cao cây, tăng hạt chắc trên bông và tăng năng suất hạt. Ngoài ra, nghiên cứu của Trần Võ Hải Đường và Nguyễn Khởi Nghĩa (2020) cho thấy cả năm dòng vi khuẩn hòa tan Si tuyển chọn có hiệu quả gia tăng khả năng chống chịu mặn, kích thích sinh trưởng và tăng năng suất lúa. Do vậy, các dòng vi khuẩn hòa tan silic này được sử dụng trong điều kiện đất mặn vừa có thể giảm bệnh đạo ôn vừa có thể giúp cây lúa kháng mặn, tăng sinh trưởng và năng suất.

4. KẾT LUẬN

Việc bón phân silic cho đất có hiệu quả giúp giảm tỉ lệ nhiễm bệnh đạo ôn do nấm *Pyricularia* sp. P3 gây ra và việc kết hợp bón phân bón silic với chủng các dòng vi khuẩn hòa tan silic cho hiệu quả giảm bệnh đạo ôn cao và ổn định.

Nghiệm thức bón phân bón silic (600 kg/ha) kết hợp chủng dòng vi khuẩn hoàn tan silic PTST-30, kết hợp chủng dòng vi khuẩn RTTV-12, kết hợp chủng 5 dòng vi khuẩn hòa tan silic và nghiệm

thức chỉ xử lý với dòng vi khuẩn MCM-15 có hiệu quả cao và ổn định trong việc làm giảm tỉ lệ bệnh, giảm tỉ lệ diện tích vết bệnh đạo ôn trên lá lúa ở điều kiện nhà lưới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Hữu An Nhi (2002), Hiệu quả kích kháng lưu dẫn chống bệnh đạo ôn lúa *Pyricularia grisea* của một số tác nhân bằng biện pháp ngâm hạt. Luận văn tốt nghiệp đại học chuyên ngành trồng trọt, Trường Đại học Cần Thơ, 58 trang.
2. Nguyễn Thị Kim Oanh (2008), Giáo trình dịch học bảo vệ thực vật, Đại học Nông nghiệp 1 - Hà Nội, 102 trang.
3. Nguyễn Văn Viên, Hồ Viết Cường, Đỗ Tấn Dũng và Nguyễn Đức Huy (2013), Bệnh đạo ôn hại lúa và biện pháp phòng trừ. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.
4. Ou S.H. (1983), Bệnh hại lúa. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội, trang 73 - 123.
5. Phạm Văn Dư, Nguyễn Bé Sáu, Lê Cẩm Loan và Trần Thị Ngọc Bích (2003), Hiệu lực xử lý hạt của acid Oxalic (C₂H₂O₄) - chất kích thích sinh trưởng và kích kháng đối với bệnh đạo ôn lúa *Pyricularia grisea* ở điều kiện đồng ruộng". Hội thảo Quốc gia Bệnh cây và sinh học phân tử, lần 2, trang 103 - 107.
6. Trần Võ Hải Đường và Nguyễn Khởi Nghĩa (2020), Hiệu quả của 5 dòng vi khuẩn hòa tan silic lên sinh trưởng và năng suất lúa một bụi đò trên nền đất nhiễm mặn trong mô hình canh tác lúa-tôm tại huyện Phước Long, tỉnh Bạc Liêu. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, Tập 56, Số chuyên đề: Khoa học đất, trang 47 - 57.
7. Trần Vũ Phén (2010), Hiệu quả và cơ chế sinh hóa học của tính kích kháng lưu dẫn do tác nhân sinh học chống bệnh đạo ôn trên lúa (*Pyricularia oryzae cavara*). Luận án Tiến sĩ nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ.
8. Trịnh Ngọc Thúy (2000), Chọn lọc chất hóa học có khả năng kích thích tính kháng bệnh đạo ôn lúa *Pyricularia oryzae* ở giai đoạn lúa còn non. Luận văn tốt nghiệp đại học chuyên ngành Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ, 64 trang.

HIỆU QUẢ CỦA THỰC KHUẨN THỂ PHÒNG TRỪ BỆNH HÉO XANH TRÊN CÂY HOA VẠN THỌ (*Tagetes erecta* L.) DO VI KHUẨN *Ralstonia solanacearum* Smith

Nguyễn Thị Thúy Hằng², Đoàn Thị Kiều Tiên^{1*},
Đặng Hải Đông¹, Trần Đức Huy¹, Nguyễn Thị Thu Nga¹

¹Trường Đại học Cần Thơ

²Trường Cao đẳng nghề Sóc Trăng

*Tác giả liên hệ: dtktien@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Ralstonia solanacearum là mầm bệnh trong đất và gây bệnh héo xanh trên nhiều loại cây trồng. Nghiên cứu này nhằm xử lý đất với hỗn hợp thực khuẩn thể phòng trị bệnh héo xanh trên cây vạn thọ do vi khuẩn *R. solanacearum* ở điều kiện nhà lưới và ngoài đồng. Trong điều kiện nhà lưới, các nghiệm thức xử lý đất với hỗn hợp TKT ở các mật số gồm 10^6 PFU/g đất, 10^7 PFU/g đất, 10^8 PFU/g đất, 10^9 PFU/g đất đều thể hiện hiệu quả giảm bệnh với tỷ lệ bệnh và cấp bệnh thấp hơn, khác biệt so với đối chứng. Ở điều kiện ngoài đồng, khảo sát hiệu quả của 3 nghiệm thức xử lý đất trước khi trồng (với TKT 10^7 PFU/g, 10^8 PFU/g, oxolinic acid) và 3 nghiệm thức xử lý đất trước khi trồng kết hợp định kỳ 10 ngày/lần (với TKT 10^7 PFU/g, 10^8 PFU/g, oxolinic acid) so với đối chứng. Kết quả ba nghiệm thức (10^8 PFU/g đất, 10^8 PFU/g đất kết hợp tưới đất 10 ngày một lần, oxolinic acid kết hợp tưới đất 10 ngày một lần) cho hiệu quả giảm bệnh ổn định qua các thời điểm khảo sát.

Từ khóa: cây hoa vạn thọ, *Ralstonia solanacearum*, thực khuẩn thể.

ABSTRACT

Effectiveness of bacteriophages for prevention of bacterial wilt disease on marigold (*Tagetes erecta* L.) caused by *Ralstonia solanacearum* Smith

Ralstonia solanacearum is a soil plant pathogen and causes bacterial wilt in many crops. This study on the application of soil treatment with a mixture of bacteriophages for controlling bacterial wilt on marigold caused by *R. solanacearum* in greenhouse and field conditions. In the greenhouse conditions, the treatments of soil treatment with phage cocktail at density 10^6 PFU/g soil, 10^7 PFU/g soil, 10^8 PFU/g soil, 10^9 PFU/g soil, all showed effective in disease reduction with lower disease incidence and disease

Người phân biên: PGS.TS. Trần Vũ Phên.

severity compared with the control. In field conditions, evaluation disease protection of 3 treatments of soil treatment before planting (with phage cocktail at 10^7 PFU/g soil, 10^8 PFU/g soil, oxolinic acid) and 3 treatments of soil treatment before planting and 10 days intervals (with phage cocktail at 10^7 PFU/g soil, 10^8 PFU/g soil, oxolinic acid) compared with the control. The results revealed that three treatments i.e soil treatment before planting with phage cocktail 10^8 PFU/g soil, soil treatment combined 10 days interval with phage cocktail 10^8 PFU/g soil or oxolinic acid showed stable effects in disease reduction over the time of the survey.

Keywords: bacteriophage, marigold, *Ralstonia solanacearum*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh héo xanh do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* rất phổ biến ở nhiều vùng trồng hoa tại đồng bằng sông Cửu Long, đặc biệt gây thiệt hại rất quan trọng trên cây vạn thọ (Nguyễn Thị Thu Cúc và Trần Thị Thu Thủy, 2014). Vi khuẩn *R. solanacearum* có phạm vi ký chủ rộng, khả năng lưu tồn lâu dài trong hạt giống, trong đất và trong cỏ dại (Nguyễn Tất Thắng và ctv., 2015) nên việc phòng trị bệnh gặp rất nhiều khó khăn. Để giảm việc lạm dụng thuốc hóa học và kháng sinh lâu dài sẽ dẫn đến tính kháng thuốc và ảnh hưởng xấu đến môi trường, sức khỏe con người. Một nghiên cứu bước đầu của Nguyễn Thúy An và ctv. (2017) đã phân lập và xác định khả năng phòng trừ bệnh héo xanh trên cây vạn thọ của thực khuẩn thể trong điều kiện nhà lưới có hiệu quả khả quan. Tuy nhiên, một trở ngại lớn trong thực tế sản xuất, nông dân sử dụng giá thể của vụ trước nhằm giảm chi phí sản xuất, chính vì vậy mầm bệnh lưu tồn và rất khó phòng trị, vì vậy nhằm giải quyết khó khăn trên nghiên cứu “Hiệu quả của thực khuẩn thể phòng trừ bệnh héo xanh trên cây hoa vạn thọ (*Tagetes erecta* L.) do vi

khẩn *Ralstonia solanacearum* Smith” được thực hiện nhằm xác định mật số TKT cũng như cách xử lý mang hiệu quả cao trong phòng trị bệnh héo xanh trên cây hoa vạn thọ trong điều kiện nhà lưới và ngoài đồng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đánh giá hiệu quả của xử lý giá thể bằng hỗn hợp thực khuẩn thể trong phòng trị bệnh héo xanh do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* gây hại trên cây hoa vạn thọ trong điều kiện nhà lưới

Vật liệu: Hỗn hợp thực khuẩn thể triển vọng (ΦTG4, ΦOM, ΦBT, ΦDT3) và dòng vi khuẩn *R. solanacearum* mẫn cảm (cung cấp bởi Bộ môn Bảo vệ thực vật).

Phương pháp: Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên một nhân tố gồm 5 nghiệm thức (10^6 pfu/g đất, 10^7 pfu/g đất, 10^8 pfu/g đất, 10^9 pfu/g đất, đối chứng) với 4 lặp lại, mỗi lặp lại là một chậu (10 cây/chậu).

Chuẩn bị nguồn thực khuẩn thể: Thực khuẩn thể được nhân nuôi trên môi trường KB 0,8% agar trong 24 giờ, thu hoạch và đếm mật số TKT bằng phương

pháp đếm đốm tan hình thành bằng phương pháp pha loãng và hòa đĩa chứa vi khuẩn *R. solanacearum*. Sau đó, dựa vào mật số ban đầu thực hiện pha loãng đưa về mật số tương ứng với từng nghiệm thức.

Chuẩn bị vi khuẩn *R. solanacearum*: Vi khuẩn nuôi trên môi trường King'B agar 2% trong 48 giờ, sau đó thu hoạch huyền phù vi khuẩn và pha loãng về $OD_{600nm} 0,3$ (10^9 cfu/ml).

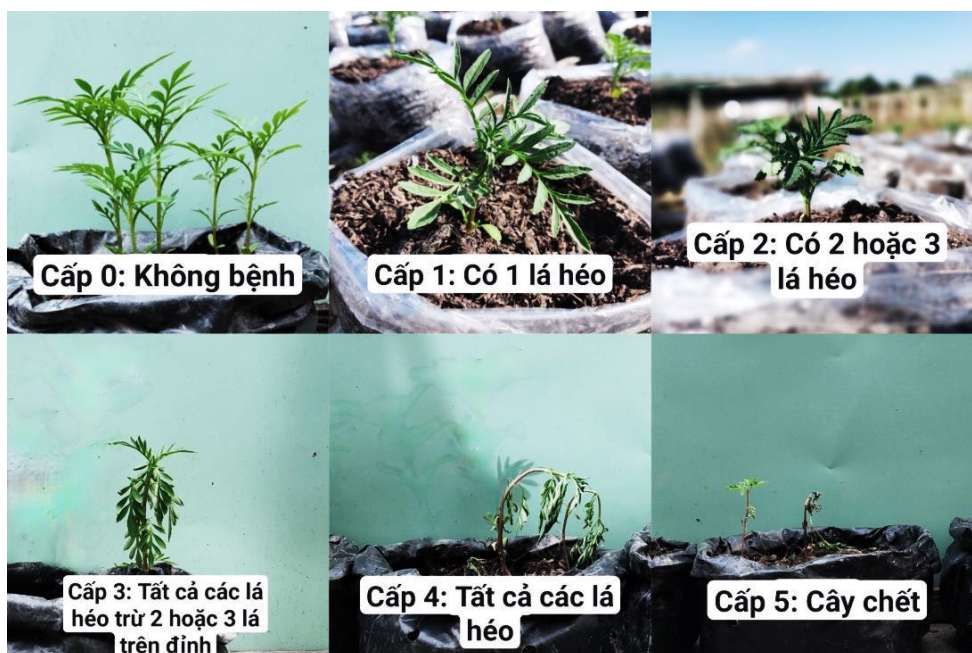
Cách xử lý thực khuẩn thể: Tươi trực tiếp 200ml hỗn hợp thực khuẩn thể tương ứng mật số của từng nghiệm thức kết

hợp với 20ml vi khuẩn *R. solanacearum* CT3 vào mỗi chậu (2 kg đất/chậu) và trộn đều. Sau đó, trồng trực tiếp cây vạn thọ đã được ươm sẵn (cây vạn thọ được 10 ngày tuổi) vào từng chậu và để ở điều kiện nhà lưới có mái che.

Chỉ tiêu ghi nhận:

+ Tỷ lệ bệnh (%) = $\frac{\text{Tổng số cây bệnh}}{\text{Tổng số cây quan sát}} \times 100$

+ Cấp bệnh: Được ghi nhận và đánh giá theo thang đánh giá của Ateka *et al.* (2001):



Hình 1. Minh họa các cấp bệnh héo xanh trên cây hoa vạn thọ

+ Diện tích bên dưới đường cong tiến triển bệnh (Area Under Disease Proressvive Curve, AUDPC) (Shaner and Finney (1977).

2.2. Đánh giá bệnh héo xanh trên cây vạn thọ qua xử lý giá thể bằng hỗn hợp thực khuẩn thể ở điều kiện ngoài đồng

Vật liệu: Tương tự thí nghiệm 2.1, giá thể bệnh được thu gom từ vụ trước bổ sung vi khuẩn *R. solanacearum* mầm cảm (Thí nghiệm 2.1).

Phương pháp: Thí nghiệm được bố trí theo thể thức khối hoàn toàn ngẫu nhiên một nhân tố gồm 7 nghiệm thức với 4 lần lặp lại:

Bảng 1. Mật số và liều lượng xử lý của các nghiệm thức trong thí nghiệm

STT	Nghiệm thức	Mật số hoặc liều lượng	Lượng nước phun/chậu	Thời gian Xử lý
1	Hỗn hợp TKT	10 ⁷ pfu/g đất	200 ml	Xử lý giá thể trước khi gieo
2	Hỗn hợp TKT	10 ⁷ pfu/g đất	200 ml	Xử lý giá thể trước khi gieo kết hợp tưới 10 ngày/lần
3	Hỗn hợp TKT	10 ⁸ pfu/g đất	200 ml	Xử lý giá thể trước khi gieo
4	Hỗn hợp TKT	10 ⁸ pfu/g đất	200 ml	Xử lý giá thể trước khi gieo kết hợp tưới 10 ngày/lần
5	Oxolinic axit	0,375 g	200 ml	Xử lý giá thể trước khi gieo
6	Oxolinic axit	0,375 g	200 ml	Xử lý giá thể trước khi gieo kết hợp tưới 10 ngày/lần
7	Đối chứng	Nước tưới	200 ml	Không xử lý

Chuẩn bị thực khuẩn thể: Tương tự thí nghiệm 2.1.

Chuẩn bị vi khuẩn *R. solanacearum*: Tương tự thí nghiệm 2.1.

Xử lý vi khuẩn và thực khuẩn thể: Tương tự thí nghiệm 2.1.

Chuẩn bị cây giống: Cây giống được ương trong khay được 10 ngày tuổi, chuyển qua chậu bố trí thí nghiệm tương ứng từng nghiệm thức (5 cây/chậu, một lặp lại gồm 4 chậu = 20 cây/lặp lại).

Ghi nhận chỉ tiêu: Tương tự thí nghiệm 2.1.

Xử lý số liệu: Số liệu thu thập được tổng hợp bằng phần mềm Microsoft Excel và phân tích phương sai ANOVA qua phép thử Duncan.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hiệu quả xử lý giá thể bằng hỗn hợp thực khuẩn thể trong phòng trị bệnh héo xanh do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* gây hại trên cây hoa vạn thọ trong điều kiện nhà lưới

Kết quả đánh giá hiệu quả xử lý giá thể của hỗn hợp TKT ở các mật số khác

nhau (10⁶ pfu/g đất, 10⁷ pfu/g đất, 10⁸ pfu/g đất, 10⁹ pfu/g đất), tất cả các nghiệm thức khác biệt với nghiệm thức đối chứng qua các thời điểm ghi nhận (bảng 2).

3.1.1. Về tỉ lệ bệnh

Ở thời điểm 19 NSKLB, cả 4 nghiệm thức xử lý giá thể với các mật số khác nhau (10⁶ pfu/g đất, 10⁷ pfu/g đất, 10⁸ pfu/g đất, 10⁹ pfu/g đất) có tỷ lệ bệnh lần lượt là 7,5%, 5,0%, 5,0%, 0,0% thấp hơn và khác biệt với nghiệm thức đối chứng với tỷ lệ bệnh 45,0%.

Ở thời điểm 33 NSKLB, cả 4 nghiệm thức xử lý giá thể với các mật số khác nhau (10⁶ pfu/g đất, 10⁷ pfu/g đất, 10⁸ pfu/g đất, 10⁹ pfu/g đất) có tỷ lệ bệnh từ 0,0% đến 12,5% thấp hơn và khác biệt với nghiệm thức đối chứng với tỷ lệ bệnh 60,0%. Trong đó, xử lý giá thể ở mật số 10⁹ pfu/g đất có tỷ lệ bệnh thấp hơn và khác biệt với nghiệm thức xử lý giá thể ở mật số 10⁶ pfu/g đất, tuy nhiên tương đương với mật số 10⁷ pfu/g đất và 10⁸ pfu/g đất.

3.1.2. Về trung bình cấp bệnh (TBCB)

Tương tự chỉ tiêu TLB, ở thời điểm 19 NSKLB, các nghiệm thức xử lý TKT ở các mật số khác nhau đều có TBCB tương đương nhau thấp hơn và khác biệt so với nghiệm thức đối chứng. Vào thời điểm 33 NSKLB, nghiệm thức xử lý giá thể ở mật số 10^9 pfu/g đất có trung bình cấp bệnh cũng thấp hơn và khác biệt với

nghiệm thức xử lý giá thể ở mật số 10^6 pfu/g đất, và cũng tương đương với mật số 10^7 pfu/g đất và 10^8 pfu/g đất.

3.1.3. Về chỉ số AUDPC

Cả bốn nghiệm thức xử lý hỗn hợp TKT không khác biệt với nhau và nhưng thấp hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với đối chứng.

Bảng 2. Ảnh hưởng của các mật số thực khuẩn thể đến tỷ lệ bệnh và trung bình cấp bệnh trong điều kiện nhà lưới

Nghiệm thức	Tỷ lệ bệnh (%)		Trung bình cấp bệnh		AUDPC
	19 NSKLB	33 NSKLB	19 NSKLB	33 NSKLB	
10^6 pfu/g	7,5 ^b	12,5 ^b	0,38 ^b	0,63 ^b	187,5 ^b
10^7 pfu/g	5,0 ^b	5,0 ^{bc}	0,25 ^b	0,25 ^{bc}	25,00 ^b
10^8 pfu/g	5,0 ^b	5,0 ^{bc}	0,25 ^b	0,25 ^{bc}	12,50 ^b
10^9 pfu/g	0,0 ^b	0,0 ^c	0,00 ^b	0,00 ^c	0,00 ^b
Đối chứng	45,0 ^a	60,0 ^a	2,20 ^a	2,88 ^a	1620 ^a
Mức ý nghĩa	**	**	*	*	**
CV (%)	49,53	40,66	50,51	36,16	75,20

Ghi chú: Các số trung bình trong cùng một cột theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau không khác biệt ở mức ý nghĩa 1%, 5% qua phép thử Duncan; **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1 %; *: Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%.

Tóm lại, qua kết quả khảo sát xử lý giá thể phòng trị bệnh héo xanh trên cây hoa vạn thọ do vi khuẩn *R. solanacearum* trong điều kiện nhà lưới thấy rằng cả 4 nghiệm thức xử lý giá thể ở mật số 10^6 pfu/g đất, 10^7 pfu/g đất, 10^8 pfu/g đất, 10^9 pfu/g đất có hiệu quả giảm bệnh so với nghiệm thức đối chứng, đặc biệt nghiệm thức 10^9 pfu/g đất không có cây bệnh. Tuy nhiên nghiệm thức xử lý giá thể 10^9 pfu/g đất khi áp dụng sẽ gặp khó khăn là nhân nuôi mật số cao mới có thể áp dụng trên diện rộng. Hai mật số 10^7 và 10^8 pfu/g đất tương đương với nghiệm thức đạt hiệu quả cao nhất 10^9 pfu/ml, vừa có

giảm chi phí nhân nuôi khi áp dụng nên được chọn để khảo sát hiệu quả phòng trị bệnh ở điều kiện ngoài đồng

3.2. Hiệu quả xử lý giá thể bằng hỗn hợp thực khuẩn thể trong phòng trị bệnh héo xanh do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* gây hại trên cây hoa vạn thọ ở điều kiện ngoài đồng

Kết quả xử lý giá thể phòng trị bệnh héo xanh do vi khuẩn *R. solanacearum* ở điều kiện ngoài đồng thể hiện tại bảng 3 về tỷ lệ bệnh, trung bình cấp bệnh qua các thời điểm ghi nhận có sự khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng.

Vào thời điểm 16 NSKBT, cả bốn nghiệm thức (xử lí đất hỗn hợp TKT 10^8 pfu/g đất trước khi trồng, xử lí đất hỗn hợp TKT 10^8 pfu/g đất trước khi trồng và 10 ngày/lần, xử lí đất Oxolinic axit đất trước khi trồng, xử lí đất Oxolinic axit trước khi trồng và 10 ngày/lần) có tỷ lệ bệnh cũng như trung bình cấp bệnh thấp hơn và khác biệt với nghiệm thức đối chứng. Hai nghiệm thức (xử lí đất 10^7 pfu/g đất, xử lí đất 10^7 pfu/g đất, 10 ngày/lần) cho tỷ lệ bệnh và trung bình cấp bệnh

tương đương không khác biệt ý nghĩa với nghiệm thức đối chứng.

Tại 33 NSKBT, ba nghiệm thức gồm (1) xử lí đất hỗn hợp TKT 10^8 pfu/g đất trước khi trồng, (2) xử lí đất hỗn hợp TKT 10^8 pfu/g đất trước khi trồng và 10 ngày/lần; (3) xử lí đất với Oxolinic acid trước khi trồng và 10 ngày/lần đều có TLB và TBCB tương đương nhau, thấp hơn và khác biệt ý nghĩa với nghiệm thức đối chứng.

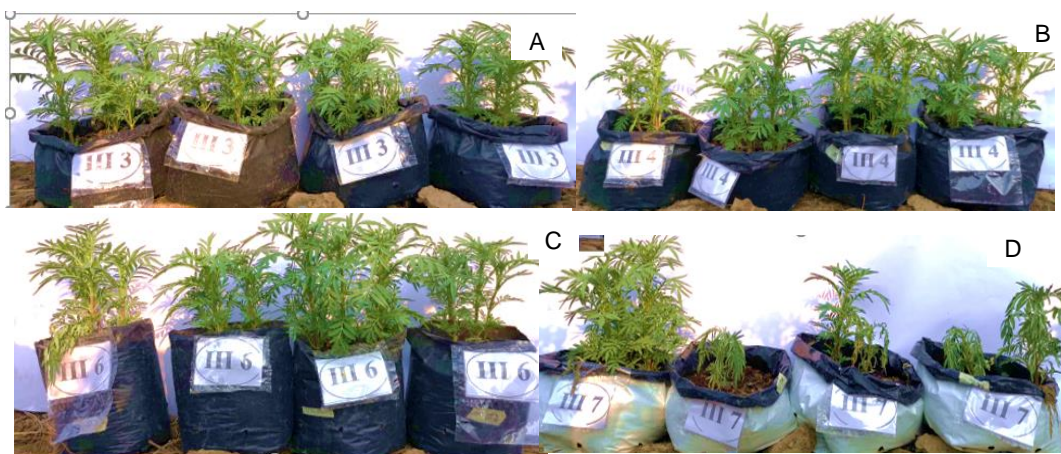
Bảng 3. Ảnh hưởng của các mật số thực khuẩn thể đến tỷ lệ bệnh và trung bình cấp bệnh ở điều kiện ngoài đồng

Nghiệm thức	Tỷ lệ bệnh (%)		TBCB	
	16 NSKBT	33 NSKBT	16 NSKBT	33 NSKBT
Xử lí đất 10^7 pfu/g đất	62,50 ^{abc}	90,00 ^{abc}	3,00 ^{abc}	4,46 ^{ab}
Xử lí đất 10^7 pfu/g đất, 10 ngày/lần	71,25 ^{ab}	96,25 ^{ab}	3,32 ^{ab}	4,78 ^a
Xử lí đất 10^8 pfu/g đất	33,75 ^d	50,0 ^c	1,61 ^d	3,67 ^b
Xử lí đất 10^8 pfu/g đất, 10 ngày/lần	45,00 ^{bcd}	80,00 ^{bc}	2,05 ^{bcd}	3,80 ^b
Xử lí đất Oxolinic axit	36,25 ^{cd}	86,5 ^{abc}	1,70 ^d	4,16 ^{ab}
Xử lí đất Oxolinic axit, 10 ngày/lần	45,00 ^{bcd}	78,75 ^{bc}	2,06 ^{cd}	3,82 ^b
Đối chứng	80,00 ^a	100,0 ^a	3,91 ^a	5,00 ^a
Mức ý nghĩa	*	*	*	*
CV (%)	32,29	13,3	31,6	13,89

Ghi chú: Các số trung bình trong cùng một cột theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử Duncan; *: Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; ns: Không khác biệt ý nghĩa. NSKBT: Ngày sau khi bố trí.

Kết quả xử lí giá thể ở điều kiện ngoài đồng với 2 cách xử lí (xử lí giá thể trước khi trồng cây hoặc xử lí giá thể trước khi trồng cây kết hợp tưới định kỳ 10 ngày một lần) ở hai mật số 10^7 pfu/g đất, 10^8 pfu/g đất nhận thấy rằng mật số xử lí giá thể 10^7 pfu/g đất ở hai cách xử lí chưa thể hiện được hiệu quả giảm bệnh so với nghiệm thức đối chứng. Có thể do điều kiện áp lực bệnh khá cao vì trong giá thể ngoài đồng là thu gom giá thể bệnh của vụ trước kết hợp lây bệnh nhân tạo

với mật số vi khuẩn 10^7 pfu/g đất (tương ứng OD_{600nm}: 0,3 với mật số 10^9 cfu/ml) nên thực khuẩn thể không thể hiện hiệu quả trong khi mật số TKT tăng lên 10 lần (tức 10^8 pfu/g đất) thì cho hiệu quả tương đương nghiệm thức đối chứng. Ngoài ra có rất nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng trong liệu pháp thực khuẩn thể phòng trị bệnh cây trồng do vi khuẩn, mật số càng cao thì khả năng tiêu diệt mầm bệnh càng cao (Adichi *et al.*, 2012; Balogh *et al.*, 2002; Lang *et al.*, 2007).



Hình 2. Hiệu quả xử lý giá thể của hỗn hợp thực khuẩn thể phòng trị bệnh héo xanh trên cây vạ thọ do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* ở thời điểm 10 ngày sau khi bố trí
(A) xử lý giá thể 10^8 pfu/g đất, (B) 10^8 pfu/g kết hợp tưới đất 10 ngày/lần,
(C) xử lý giá thể Oxolinic axit kết hợp tưới đất 10 ngày/lần, (D) đối chứng

4. KẾT LUẬN

Xử lý đất trồng (giá thể) với hỗn hợp TKT ở mật số 10^6 pfu/g đất, 10^7 pfu/g đất, 10^8 pfu/g đất, 10^9 pfu/g đất giúp giảm bệnh héo xanh trên cây vạ thọ trong điều kiện nhà lưới.

Xử lý đất trồng (giá thể) với hỗn hợp TKT ở mật số 10^8 pfu/g, xử lý đất trồng (giá thể) với hỗn hợp tkt ở mật số 10^8 pfu/g kết hợp tưới định kỳ 10 ngày/lần, xử lý đất trồng (giá thể) với Oxolinic axit kết hợp tưới 10 ngày một lần mang lại hiệu quả giảm bệnh tốt ở điều kiện ngoài đồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Adachi, N., Tsukamoto S., Inoue Y., Azegami K. (2012), Control of bacterial seedling rot and seedling blight of rice by bacteriophage. *Plant Disease* 96, 1033 - 6.
2. Ateka, E. M., Mwang'Ombe, A. W., and Kimenju, J. W. (2001), Reaction of potato cultivars to *Ralstonia solanacearum* in Kenya. *African Crop Science Journal*, 9(1): 251 - 256.
3. Balogh, B. (2002), *Strategies for Improving the Efficacy of Bacteriophages for Controlling Bacterial Spot of Tomato*. M.S., University of Florida.
4. Kutner, E., and Sulakvelidze, A. (Eds.) (2004), *Bacteriophages: biology and applications*. Crc press, 405 pages.
5. Lang, J. M., Gent, D. H., Schwartz, H. F. Management of *Xanthomonas* leaf blight of onion with bacteriophages and a plant activator. *Plant Dis.*, 2007, 91, 871 - 878.
6. Nguyễn Tất Thắng, Đỗ Tấn Dũng và Nguyễn Văn Tuất (201). Nghiên cứu bệnh héo xanh vi khuẩn (*Ralstonia solanacearum* Smith) hại cây khoai tây vùng Hà Nội - phụ cận và biện pháp phòng trừ. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 9(5): 725 - 734.
7. Nguyễn Thị Thu Cúc, Trần Thị Thu Thủy (2014), Dịch hại trên hoa hồng, cúc, mai, vạ thọ. NXB Trường Đại học Cần Thơ, trang 112.
8. Nguyễn Thúy An, Nguyễn Văn Minh Phụng, Nguyễn Thị Thu Nga và Phạm Văn Kim (2017), Phân lập và tuyển chọn các dòng thực khuẩn thể trong phòng trừ bệnh héo xanh trên cây hoa vạ thọ (*Tagetes papula* L.) do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* Smith. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 49b: 44 - 52. Shaner, G., and Finney, R. E., 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology*, 67(8), 1051 - 1056.

MỘT SỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG VI KHUẨN ĐỐI KHÁNG *Serratia nematodiphila* CT-78 PHÒNG TRỊ BỆNH BẠC LÁ VÀ KÍCH THÍCH CÂY LÚA TĂNG TRƯỞNG

Nguyễn Đắc Khoa^{1*}, Nguyễn Thị Phi Oanh²

¹Bộ môn Công nghệ Sinh học Phân tử,
Viện NC & PT Công nghệ Sinh học

²Bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự nhiên,
Trường Đại học Cần Thơ

*Tác giả liên hệ: ndkhoa@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Bài viết này trình bày một số kết quả nghiên cứu trong năm 2021 về ứng dụng vi khuẩn đối kháng *Serratia nematodiphila* CT-78 phòng trị bệnh bạc lá và kích thích cây lúa tăng trưởng của Nhóm Nghiên cứu Bệnh cây tại Viện NC&PT Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ. Vi khuẩn CT-78 đối kháng với mầm bệnh *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* do có khả năng tạo ra các hợp chất siderophore, enzyme protease và lipase. Ngoài khả năng đối kháng với mầm bệnh, vi khuẩn CT-78 còn có khả năng cố định đạm, hòa tan lân khó tan, tạo indole-3-acetic acid (IAA) và gibberellin (GA) để kích thích cây lúa tăng trưởng. Kết quả so sánh tốc độ tăng trưởng của vi khuẩn CT-78 trong các môi trường phổ biến gồm nutrient broth, cám, trấu và bột talc cho thấy trấu là môi trường thích hợp để ứng dụng sản xuất sinh khối. Kết quả nghiên cứu tồn trữ cho thấy vi khuẩn CT-78 duy trì được hiệu quả giảm bệnh bạc lá trên ruộng lúa sau 12 tháng trong các môi trường cám, trấu và bột talc.

Từ khóa: bạc lá, đối kháng, kích thích tăng trưởng, lúa, *Serratia nematodiphila*, tồn trữ.

ABSTRACT

Recent studies on control of bacterial leaf blight and rice growth promotion using the antagonistic *Serratia nematodiphila* CT-78

This paper presents the recent results on control of bacterial leaf blight and rice growth promotion using the antagonistic *Serratia nematodiphila* CT-78 of the Plant Pathology Research Group at the Biotechnology R&D Institute of Can Tho University during 2021. Strain CT-78 could produce siderophores, protease and lipase responsible

in the observed antagonism against Xanthomonas oryzae pv. oryzae. This bacterium was furthermore shown to be capable of fixing nitrogen, solubilizing phosphates and producing indole-3 - acetic acid (IAA) and gibberellin (GA) responsible for rice growth promotion. CT-78 growth rate was tested in different media, i.e., nutrient broth (NB), rice bran, rice husk and talc powder, where the fastest growth rate was observed in treatment using rice husk. This is therefore a potential medium for biomass production. It was found that CT-78 could maintain its disease-reducing effects after 12 - month storage in rice bran, rice husk and talc powder.

Keywords: *antagonistic, bacterial leaf blight, growth promotion, rice, Serratia nematodiphila, storage.*

Bệnh bạc lá (cháy bìa lá) do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* (Xoo) gây ra là một trong những bệnh phổ biến và nghiêm trọng nhất trên ruộng lúa, đặc biệt vào mùa mưa. Phòng trừ sinh học sử dụng vi sinh vật đối kháng hiện đang là giải pháp được quan tâm vì có tính bền vững và thân thiện với môi trường (Nguyễn Đắc Khoa và ctv., 2010). Sáu chủng vi khuẩn đối kháng được phân lập từ đất ruộng lúa tại các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) có khả năng giúp giảm bệnh trong điều kiện ngoài đồng đã được định danh lần lượt là *Serratia nematodiphila* CT-78, *Bacillus safensis* AG-131, *B. stratosphericus* AG-62, *B. aerophilus* HG-33, *B. pumilus* TG-71 và *B. subtilis* ST-115 (Võ Thị Phương Trang, 2013; Nguyễn Đặng Ngọc Giàu, 2014; Nguyễn Mộng Huyền Trang, 2015; Phạm Trút My, 2015; Trần Kim Thoa, 2015; Khoa *et al.*, 2016; Nguyễn Ngọc Lộc, 2018). Hiệu quả giảm bệnh của sáu chủng vi khuẩn đối kháng này được so sánh để tìm ra chủng vi khuẩn có mật số thấp nhất nhưng vẫn còn duy trì hiệu quả giảm bệnh trong điều kiện nhà lưới. Qua hai thí nghiệm độc lập, chủng *S. nematodiphila* CT-78 mật số 10^5 cfu/mL cho thấy hiệu quả giảm bệnh tốt nhất (Nguyễn Huỳnh Nhã Uyên và ctv., 2018). Vi khuẩn đối

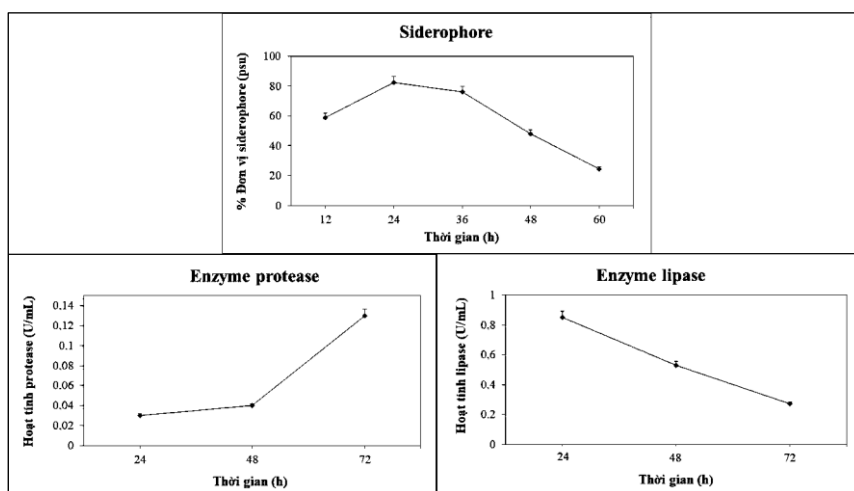
kháng CT-78 cũng đã được nghiên cứu tồn trữ trong các chất mang (bột talc, cám, trấu, than bùn và mùn cưa) với các phương pháp xử lý khác nhau. Sau 12 tháng, chế phẩm trong chất mang cám và trấu có độ ẩm 50%; bột talc được lên men bán rắn và trữ ở độ ẩm 20% duy trì được mật số trên 10^6 cfu/g chế phẩm, duy trì được khả năng đối kháng với vi khuẩn Xoo và hiệu quả giảm bệnh cháy bìa lá lúa trong điều kiện nhà lưới (Hò Nguyễn Lam Linh, 2018). Bài viết này trình bày các kết quả nghiên cứu tiếp theo trên vi khuẩn đối kháng CT-78 của Nhóm Nghiên cứu Bệnh cây tại Viện NC & PT Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ, tập trung vào khảo sát cơ chế đối kháng của vi khuẩn CT-78 với mầm bệnh thông qua khả năng tạo ra các hợp chất siderophore, enzyme protease và lipase; khả năng cố định đạm, hòa tan lân khó tan, tạo indole-3-acetic acid (IAA) và gibberellin (GA) để kích thích cây lúa tăng trưởng; so sánh tốc độ tăng trưởng của vi khuẩn CT-78 trong các môi trường phổ biến gồm Nutrient Broth (NB), cám, trấu và bột talc để ứng dụng sản xuất sinh khối và khảo sát hiệu quả giảm bệnh bạc lá trên ruộng lúa sau 12 tháng trong các môi trường cám, trấu và bột talc.

1. XÁC ĐỊNH MỘT SỐ HỢP CHẤT LIÊN QUAN ĐẾN CƠ CHẾ ĐỐI KHÁNG CỦA VI KHUẨN *Serratia nematodiphila* CT-78 VỚI MẦM BỆNH *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Hiệu quả làm giảm bệnh của vi khuẩn CT-78 có khả năng liên quan đến hai cơ chế đối kháng và kích kháng (kích thích tính kháng bệnh của cây trồng). Cơ chế kích kháng đã được khảo sát thông qua hoạt tính của 4 loại enzyme gồm phenylalanine ammonia-lyase (PAL), polyphenol oxydase (PPO), catalase (CAT) và peroxiadse (POX) do cây lúa tạo ra khi được xử lý với vi khuẩn CT-78; kết quả cho thấy vi khuẩn có khả năng kích thích cây lúa sản sinh ra các enzyme này để kháng bệnh (Hồ Nguyễn Minh Phúc, 2019; Nguyễn Đắc Khoa và Nguyễn Thị Phi Oanh, 2020).

Nghiên cứu này tập trung khảo sát cơ chế đối kháng của vi khuẩn CT-78 thông qua định tính và định lượng một số chất do vi khuẩn CT-78 sinh ra trong môi trường nuôi cấy, gồm siderophore, enzyme

protease và lipase. Siderophore là những hợp chất giữ nguyên tố sắt, nguyên tố cần thiết cho sự sống của vi sinh vật, trong đó có mầm bệnh. Các vi khuẩn đối kháng sinh ra các hợp chất siderophore để cạnh tranh nguyên tố sắt trong đất, hạn chế sự phát triển của mầm bệnh (Loper và Henkels, 1999). Enzyme lipase và protease là hai enzyme thủy phân được ứng dụng để ức chế mầm bệnh trên cây trồng. Enzyme protease có khả năng bất hoạt các protein do mầm bệnh tiết ra để tấn công vào mô cây hoặc phân hủy vách tế bào của mầm bệnh (Van Loon và Van Strien, 1999). Enzyme lipase có thể phân hủy các yếu tố gây độc (Lipid A) trên màng tế bào vi khuẩn gây bệnh (Raetz, 1990; Ahn *et al.*, 2004). Kết quả khảo sát cho thấy vi khuẩn CT-78 ở mật số 10^7 cfu/mL có khả năng tạo hợp chất siderophore đạt 82 psu (percent siderophore unit) sau 24 giờ nuôi cấy; enzyme protease với hoạt tính protease cao nhất là 0,13 U/mL sau 72 giờ nuôi cấy và enzyme lipase với hoạt tính cao nhất là 0,85 U/mL sau 24 giờ nuôi cấy (hình 1).



Hình 1. Hàm lượng hợp chất siderophore (percent siderophore unit-psu), hoạt tính enzyme protease (U/mL) và enzyme lipase (U/mL) do vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 sinh ra trong môi trường nuôi cấy

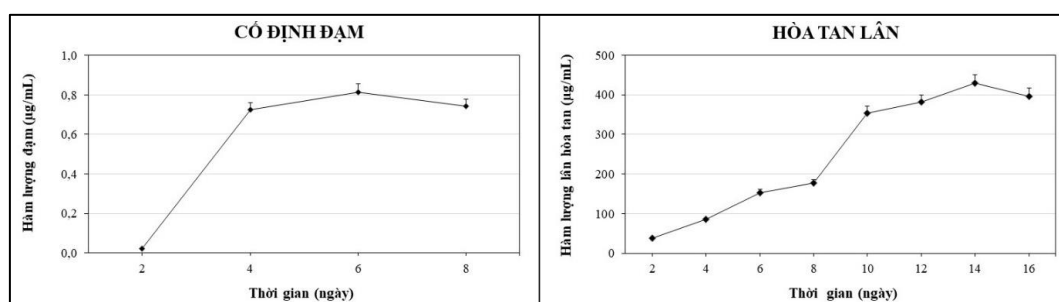
2. HIỆU QUẢ KÍCH THÍCH CÂY LÚA TĂNG TRƯỞNG CỦA VI KHUẨN ĐỐI KHÁNG *Serratia nematodiphila* CT-78

Serratia nematodiphila là một vi khuẩn vùng rễ, ngoài khả năng đối kháng và kích kháng, vi khuẩn này còn có khả năng kích thích tăng trưởng cây trồng thông qua khả năng cố định đạm, hòa tan lân (Devi *et al.*, 2016; Tang *et al.*, 2018); tổng hợp indole-3-acetic acid (IAA), gibberellin (GA) (Kang *et al.* 2015; Liu *et al.* 2016; Basharat *et al.* 2018). Do đó, nghiên cứu này được thực hiện để xác định được hiệu quả cố định đạm, hòa tan lân, tạo IAA và GA của vi khuẩn CT-78 lên sự sinh trưởng của cây lúa trong điều kiện phòng thí nghiệm và nhà lưới.

Hàm lượng đạm và lân được xác định dựa vào đường chuẩn giá trị quang phổ hấp thụ ở các bước sóng tương ứng 636 và 882 nm. Kết quả cho thấy hàm lượng đạm (NH_4^+) do vi khuẩn CT-78 sinh ra đạt cao nhất (0,83 $\mu\text{g/mL}$) sau 6 ngày (Nguyễn Thị Thủy Tiên, 2021) (hình 2).

Trong quá trình xác định hàm lượng lân do vi khuẩn CT-78 hòa tan trong môi trường nuôi cấy, hóa chất calcium phosphate [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$] thương mại được xác định có chứa một lượng lân hòa tan nhất định làm ảnh hưởng đến kết quả thu được. Để khắc phục hiện tượng trên, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ thương mại được xử lý với CaCO_3 trong dung dịch NaOH 2,5 M để loại trừ lượng lân hòa tan có sẵn. Sau khi xử lý, hàm lượng lân được vi khuẩn CT-78 hòa tan được ghi nhận đạt cao nhất (429,09 $\mu\text{g/mL}$) sau 14 ngày (Nguyễn Thị Thủy Tiên, 2021) (hình 2).

Trong điều kiện nhà lưới, lúa được xử lý bằng phương pháp ngâm hạt với huyền phù vi khuẩn CT-78 mật số 10^7 cfu/mL trước khi gieo. Sau khi ghi nhận và phân tích các chỉ tiêu chiều cao cây, chiều dài rễ, khối lượng rễ, khối lượng thân, số chồi/bụi, số bông lúa, chiều dài bông lúa, khối lượng khô rom, năng suất và chất lượng hạt; kết quả cho thấy vi khuẩn CT-78 ở mật số 10^7 cfu/mL có thể thay thế 25% lượng phân đạm và lân hóa học cần bón cho cây lúa (Nguyễn Thị Thủy Tiên, 2021).



Hình 2. Hàm lượng đạm ($\mu\text{g/mL}$) và lân hòa tan ($\mu\text{g/mL}$) trong dịch nuôi cấy vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 theo thời gian

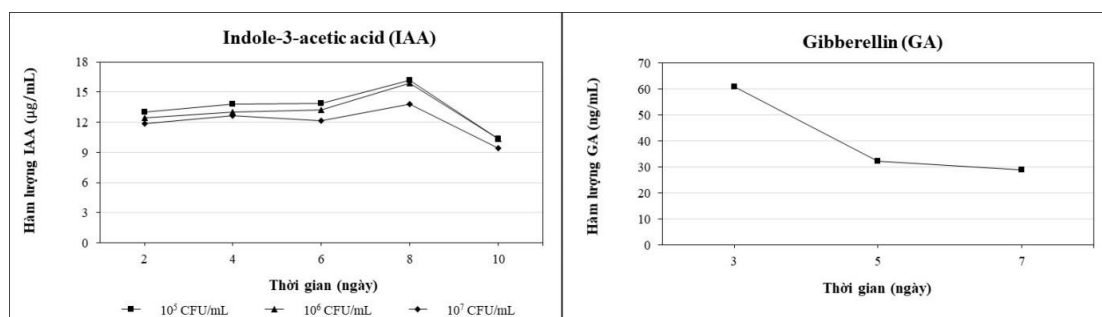
Kết quả khảo sát khả năng tạo IAA cho thấy vi khuẩn CT-78 ở mật số 10^5 ; 10^6 và 10^7 cfu/mL sinh được IAA với

hàm lượng tương ứng là 16,17; 15,91 và 13,84 $\mu\text{g/mL}$ sau 8 ngày nuôi cấy trong điều kiện phòng thí nghiệm (Nguyễn

Vân Anh và *ctv.*, 2020). Vi khuẩn CT-78 ở mật số 10^7 cfu/mL cũng có khả năng sinh GA, đạt 60,8 ng/mL sau 3 ngày (hình 3).

Kết quả thí nghiệm khảo sát khả năng kích thích cây lúa tăng trưởng bằng phương pháp đặt hạt trên giấy thấm (blotting) trong điều kiện phòng thí nghiệm cho thấy vi khuẩn CT-78 mật số 10^7 cfu/mL giúp gia tăng chiều dài mầm đến 16,9% và chiều dài rễ đến 54,4% so

với nghiệm thức đối chứng sau 5 ngày. Trong điều kiện nhà lưới, khi khảo sát các chỉ tiêu gồm chiều cao cây, chiều dài rễ, số lượng rễ, khối lượng (tươi và khô) của thân lá và khối lượng (tươi và khô) của rễ, vi khuẩn CT-78 mật số 10^7 và 10^8 cfu/mL có khả năng kích thích cây lúa tăng trưởng cao ở các chỉ tiêu gồm chiều cao cây, số lượng rễ, khối lượng tươi/khô của thân lá và khối lượng khô của rễ (Nguyễn Vân Anh, 2021).



Hình 3. Hàm lượng Indole-3-acetic acid (µg/mL) và Gibberellin (ng/mL) do vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 sinh ra trong điều kiện phòng thí nghiệm

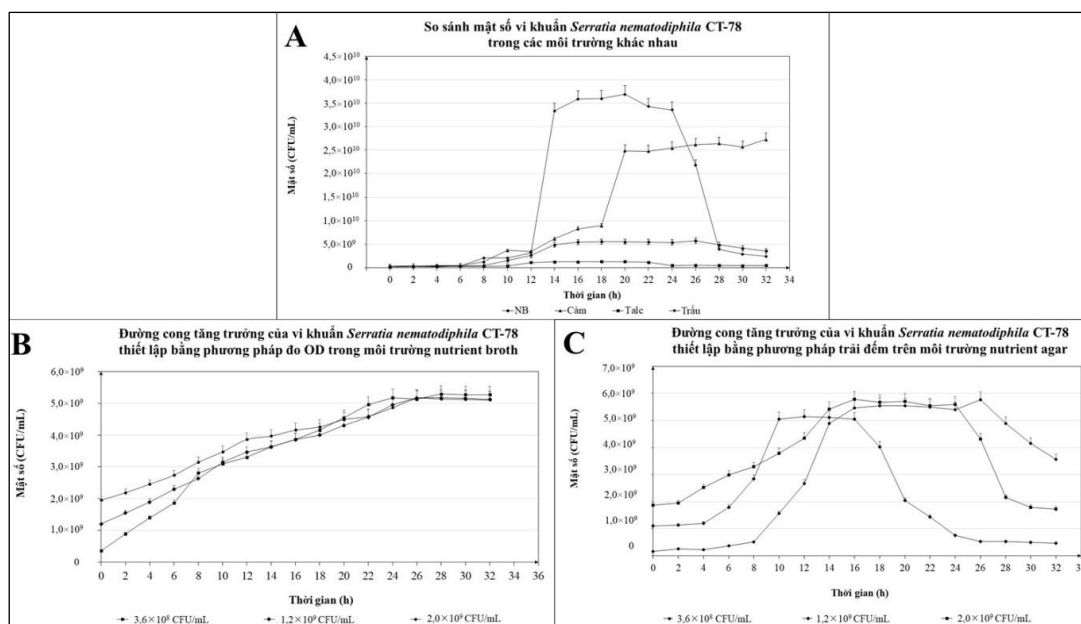
3. ẢNH HƯỞNG CỦA MÔI TRƯỜNG LÊN QUÁ TRÌNH TĂNG TRƯỞNG CỦA VI KHUẨN ĐỐI KHÁNG *Serratia nematodiphila* CT-78

Hồ Nguyễn Lam Linh (2018) đã tuyển chọn được các chất mang gồm cám, trấu và bột talc để tồn trữ chủng vi khuẩn đối kháng CT-78, ứng dụng tạo chế phẩm sinh học. Tiếp theo đó, vi khuẩn CT-78 được nuôi trong các môi trường khác nhau gồm NB, cám, trấu và bột talc để so sánh tốc độ tăng trưởng bằng cách thiết lập đường cong tăng trưởng mật số, qua đó xác định môi trường thích hợp cho sự tăng trưởng của vi khuẩn CT-78 để sản xuất sinh khối, ứng dụng phòng trừ bệnh ngoài đồng.

Trong môi trường lỏng NB, mật số vi khuẩn ban đầu được sử dụng lần lượt là $3,6 \times 10^8$; $1,2 \times 10^9$ và $2,0 \times 10^9$ cfu/mL; mỗi hai giờ sau khi chủng, vi khuẩn tiếp tục được xác định mật số bằng hai phương pháp là đo mật độ quang (OD) ở bước sóng 600 nm và trải đếm huyền phù vi khuẩn cho đến 32 giờ nuôi cấy. Đối với phương pháp đo OD, kết quả cho thấy vi khuẩn ở nghiệm thức sử dụng mật số $3,6 \times 10^8$ tế bào/mL tăng trưởng nhanh hơn khi vào giai đoạn cân bằng, sớm hơn vi khuẩn ở hai nghiệm thức còn lại (24 giờ so với 26 giờ). Bằng phương pháp trải đếm huyền phù vi khuẩn, kết quả cho thấy nghiệm thức sử dụng mật số $3,6 \times 10^8$ cfu/mL cũng có tốc độ sinh trưởng cao nhất, đạt $4,9 \times 10^9$ cfu/mL sau 14 giờ nuôi cấy.

Trong các môi trường rắn (cám, trấu và bột talc), mật số vi khuẩn ban đầu được sử dụng là 10^8 cfu/mL; vi khuẩn được nuôi trong môi trường trấu cũng vào pha cân bằng tại thời điểm 14 giờ nuôi cấy, tuy nhiên mật số đạt $3,3 \times 10^{10}$ cfu/g, gấp

gần 7 lần so với mật số đạt được khi nuôi trong môi trường NB. Do đó, trấu là môi trường thích hợp cho sự tăng trưởng của vi khuẩn CT-78 để ứng dụng sản xuất sinh khối (hình 4) (Lê Thị Hồng Thanh, 2020).



Hình 4. Đường cong tăng trưởng của vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 trong các môi trường nuôi cấy với các phương pháp xác định mật số khác nhau

- (A): Đường cong tăng trưởng của vi khuẩn trong các môi trường NB, cám, trấu và bột talc;
- B: Đường cong tăng trưởng của vi khuẩn trong môi trường NB với phương pháp đo mật độ quang;
- C: Đường cong tăng trưởng của vi khuẩn trong môi trường NB với phương pháp trải đếm huyền phù vi khuẩn)

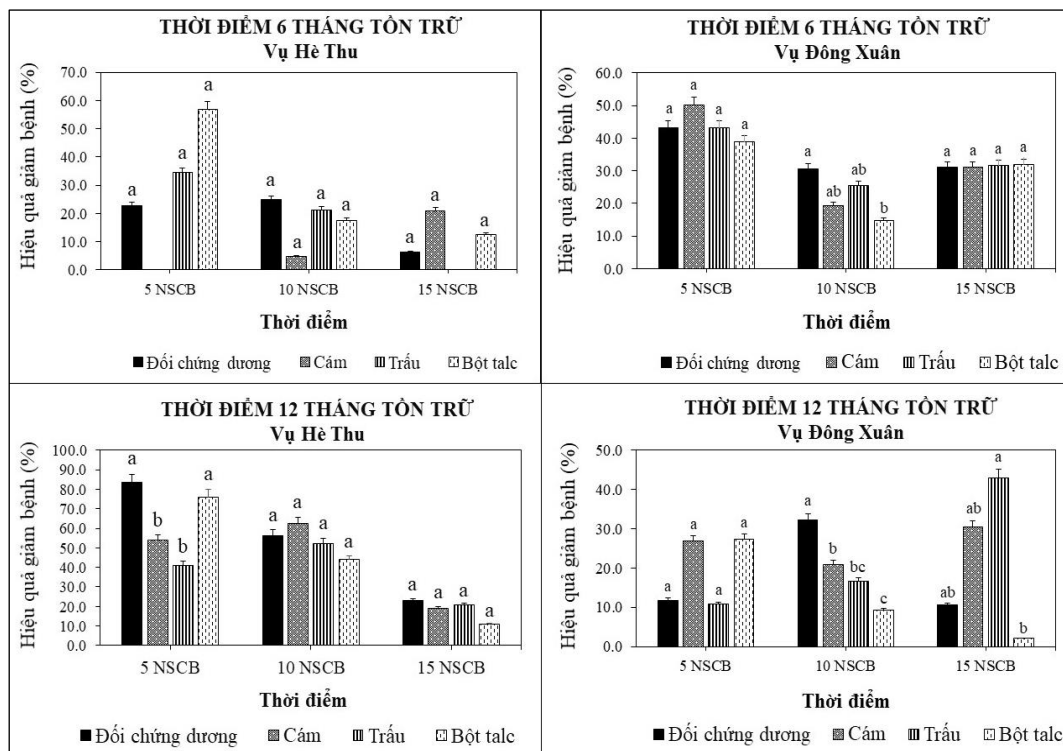
4. HIỆU QUẢ PHÒNG TRỊ BỆNH BẠC LÁ TRÊN RUỘNG LÚA CỦA VI KHUẨN *Serratia nematodiphila* CT-78 SAU THỜI GIAN TỒN TRỮ

Ba loại chất mang gồm cám, trấu và bột talc là những nguyên liệu tốt nhất để tồn trữ vi khuẩn CT-78, giúp vi khuẩn duy trì được hiệu quả làm giảm bệnh trong điều kiện nhà lưới (Hồ Nguyễn Lam Linh, 2018). Do đó, 3 loại nguyên liệu tiếp tục được sử dụng để tồn trữ vi khuẩn CT-78 trong nghiên cứu khảo sát hiệu quả làm giảm bệnh bạc lá trong điều

kiện ngoài đồng. Các túi chế phẩm được khảo sát ở hai thời điểm 6 và 12 tháng tồn trữ và mỗi thời điểm được thực hiện ở hai vụ Hè Thu và Đông Xuân, tổng cộng có 4 thí nghiệm được thực hiện. Hạt lúa được ngâm với huyền phù vi khuẩn trong các túi chế phẩm trước khi gieo (các nghiệm thức đều duy trì được mật số vi khuẩn hơn 10^6 cfu/g chế phẩm) và cây lúa được chủng bệnh tại thời điểm 45 ngày sau sạ. Kết quả cho thấy hiệu quả giảm bệnh bạc lá của vi khuẩn CT-78 sau 6 và 12 tháng tồn trữ trong ba loại chất mang cám, trấu và bột talc vẫn được duy trì ở cả hai vụ

lúa Đông Xuân và Hè Thu (Nguyễn Thanh Tùng, 2020; Nguyễn Thị Thùy Dung, 2020). Tuy nhiên, hiệu quả làm giảm bệnh của vi khuẩn trong vụ Đông Xuân tốt hơn vụ Hè Thu do đặc điểm

thời tiết mưa nhiều kèm theo bão ở vụ Hè Thu tạo điều kiện thuận lợi cho bệnh bạc lá phát triển mạnh hơn so với vụ Đông Xuân (Ou, 1972; Nguyễn Thị Thùy Dung, 2020).



Hình 5. Hiệu quả giảm bệnh bạc lá lúa trong hai vụ Hè Thu và Đông Xuân khi được xử lý với vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 trong các chất mang sau 6 và 12 tháng tồn trữ

5. KẾT LUẬN

Vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 được xác định có khả năng tạo ra các hợp chất siderophore, enzyme protease và lipase; các chất này có liên quan đến cơ chế đối kháng của vi khuẩn với mầm bệnh. Ngoài ra, vi khuẩn CT-78 còn có khả năng cố định đạm, hòa tan lân khó tan, tạo indole-3-acetic acid (IAA) và gibberellin (GA) để kích thích cây lúa tăng trưởng. Trong các môi trường phổ biến gồm NB, cám, trấu và bột talc; vi

khuẩn CT-78 tăng trưởng tốt nhất trong môi trường trấu, cho thấy trấu là môi trường thích hợp để ứng dụng sản xuất sinh khối vi khuẩn. Kết quả nghiên cứu tồn trữ cho thấy vi khuẩn CT-78 duy trì được hiệu quả giảm bệnh bạc lá trên ruộng lúa ở cả hai thời điểm 6 và 12 tháng trong các môi trường cám, trấu và bột talc. Tóm lại, vi khuẩn CT-78 có tiềm năng ứng dụng vào thực tiễn để phòng trị bệnh hại bệnh bạc lá lúa và hỗ trợ quá trình tăng trưởng, chống chịu của cây lúa với các điều kiện bất lợi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ahn, J.M., P. Wentworth Jr and K.D. Janda (2004), Probing lipase/esterase libraries for lipid A hydrolases - discovery of biocatalysts for the detoxification of bacterially-expressed recombinant protein. *Chemical Communications*, 4: 364 - 365.
2. Basharat, Z., F. Tanveer, A. Yasmin, Z.K. Shinwari, T. He and Y. Tong (2018), Genome of *Serratia nematodiphila* MB307 offers unique insights into its diverse traits. *Genome*, 61(7): 469 - 476.
3. Devi, K.A., P. Pandey and G.D. Sharma (2016), Plant growth-promoting endophyte *Serratia marcescens* AL2 - 16 enhances the growth of *Achyranthes aspera* L., a medicinal plant. *Hayati Journal of Biosciences*, 23(4): 173 - 180.
4. Hồ Nguyễn Lam Linh (2018), Tuyển chọn chất mang tồn trữ vi khuẩn *Serratia nematodiphila* đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây bệnh cháy bìa lá lúa. Luận văn tốt nghiệp Đại học. Ngành Công nghệ sinh học. Trường Đại học Cần Thơ.
5. Hồ Nguyễn Minh Phúc (2019), Khảo sát cơ chế kích kháng thông qua hoạt tính các enzyme phenylalanine ammonia-lyase, polyphenol oxidase, peroxidase và catalase của vi khuẩn *Bacillus aerophilus* và *Serratia nematodiphila* đối với bệnh cháy bìa lá lúa. Luận văn tốt nghiệp Đại học. Ngành Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.
6. Kang, S.M., A.L. Khan, M. Waqas, Y.H. You, M. Hamayun, G.J. Joo, R. Shahzad and K.S. Choi (2015), Gibberellin-producing *Serratia nematodiphila* PEJ1011 ameliorates low temperature stress in *Capsicum annuum* L.. *European Journal of Soil Biology*, 68: 85 - 93.
7. Khoa, N.Đ., N.Đ.N. Giau, and T.Q. Tuan (2016), Effects of *Serratia nematodiphila* CT-78 on bacterial leaf blight of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Biological Control*, 103: 1 - 10.
8. Lê Thị Hồng Thanh (2020), Khảo sát ảnh hưởng của môi trường nuôi lên mật số vi khuẩn *Serratia nematodiphila*. Luận văn tốt nghiệp Đại học. Ngành Công nghệ sinh học. Trường Đại học Cần Thơ.
9. Liu, X., Y. Wu, Y. Chen, F. Xu, N. Halliday, K. Gao, K.G. Chan and M. Cámara (2016), RpoS differentially affects the general stress response and biofilm formation in the endophytic *Serratia plymuthica* G3. *Research in Microbiology*, 167(3): 168 - 177.
10. Loper, J.E. and M.D. Henkels (1999), Utilization of heterologous siderophores enhances levels of iron available to *Pseudomonas putida* in the rhizosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, 65: 5357 - 5363.
11. Nguyễn Đắc Khoa và Nguyễn Thị Phi Oanh (2020), Một số kết quả nghiên cứu ứng dụng cơ chế đối kháng và kích kháng trong phòng trị bệnh bạc lá lúa, lúa von và thối nhũn hành tím. Hội thảo Quốc gia Bệnh hại Thực vật Việt Nam lần thứ 19, ngày 23 - 25/10/2020. Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Hà Nội. Việt Nam.
12. Nguyễn Đắc Khoa, Dương Minh và Phạm Văn Kim (2010), Sản xuất các sản phẩm sinh học để quản lý bệnh hại lúa, cây ăn quả và rau màu theo hướng bền vững và không ô nhiễm môi trường. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 16b: 117 - 126.
13. Nguyễn Đặng Ngọc Giàu (2014), Phân lập, định danh và khảo sát khả năng phòng trừ bệnh cháy bìa lá lúa của vi khuẩn trong đất thành phố Cần Thơ và tỉnh Hậu Giang. Luận văn tốt nghiệp Cao học. Ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ. Cần Thơ.
14. Nguyễn Huỳnh Nhã Uyên, Nguyễn Thị Cẩm Vân và Nguyễn Đắc Khoa (2018), So sánh hiệu quả giảm bệnh của các chủng vi khuẩn *Bacillus* sp. và *Serratia nematodiphila* đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây bệnh cháy bìa lá lúa. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 54(9B): 59 - 66.
15. Nguyễn Mộng Huyền Trang (2015), Khảo sát hiệu quả phòng trừ bệnh cháy bìa lá của vi

- khuẩn *Bacillus aerophilus* trên ruộng lúa. Luận văn tốt nghiệp Cao học. Ngành Sinh thái học. Trường Đại học Cần Thơ. Cần Thơ.
16. Nguyễn Ngọc Lộc (2018), Khảo sát hiệu quả phòng trị bệnh cháy bìa lá lúa của vi khuẩn *Bacillus subtilis* và *Bacillus pumilus* trên đồng ruộng. Luận văn tốt nghiệp Cao học. Ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ. Cần Thơ.
 17. Nguyễn Thanh Tùng, Cao Đình An Giang và Nguyễn Đắc Khoa (2020), Khảo sát hiệu quả phòng trị bệnh bạc lá trên ruộng lúa của vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 sau 6 tháng tồn trữ. Hội thảo Quốc gia Bệnh hại Thực vật Việt Nam lần thứ 19, ngày 23 - 25/10/2020. Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Hà Nội. Việt Nam.
 18. Nguyễn Thị Thùy Dung, Nguyễn Nguyệt Ánh và Nguyễn Đắc Khoa (2020), Khảo sát hiệu quả phòng trị bệnh bạc lá trên ruộng lúa của vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 sau 12 tháng tồn trữ. Hội thảo Quốc gia Bệnh hại Thực vật Việt Nam lần thứ 19, ngày 23 - 25/10/2020. Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Hà Nội. Việt Nam.
 19. Nguyễn Thị Thủy Tiên (2021), Khảo sát khả năng cố định đạm, hòa tan lân, sinh protease, lipase và ảnh hưởng lên sự tăng trưởng cây lúa của vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78. Luận văn tốt nghiệp cao học. Ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ.
 20. Nguyễn Văn Anh (2021), Khảo sát khả năng tạo IAA, gibberellin, siderophore, nano bạc và ảnh hưởng lên sự tăng trưởng cây lúa của vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78. Luận văn tốt nghiệp cao học. Ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ.
 21. Nguyễn Văn Anh, Nguyễn Quang Tiến và Nguyễn Đắc Khoa (2020), Khảo sát khả năng tạo chất kích thích tăng trưởng Indole-3-acetic acid (IAA) của vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78. Hội thảo Quốc gia Bệnh hại Thực vật Việt Nam lần thứ 19, ngày 23 - 25/10/2020. Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Hà Nội. Việt Nam.
 22. Ou, S.H. (1972), Bacterial disease. Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey, England, 51 - 79.
 23. Phạm Trút My (2015), Khảo sát hiệu quả phòng trừ bệnh cháy bìa lá của vi khuẩn *Serratia nematodiphila* trên ruộng lúa. Luận văn tốt nghiệp Cao học ngành Sinh thái học. Trường Đại học Cần Thơ. Cần Thơ.
 24. Raetz, C. R. (1990), Biochemistry of endotoxins. Annual review of biochemistry, 59(1): 129 - 170.
 25. Tang, A., A.O. Haruna and N.M.A. Majid (2018), Potential PGPR properties of cellulolytic, nitrogen-fixing, and phosphate-solubilizing bacteria of a rehabilitated tropical forest soil. ResearchGate, 1 - 60.
 26. Trần Kim Thoa (2015), Phân lập, định danh và khảo sát khả năng phòng trừ bệnh cháy bìa lá lúa của vi khuẩn trong đất hai tỉnh Tiền Giang và Sóc Trăng. Luận văn tốt nghiệp Cao học. Ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ. Cần Thơ.
 27. Van Loon, L.C. and E.A. Van Strien (1999), The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. Physiological and Molecular Plant Pathology, 55(2): 85 - 97.
 28. Võ Thị Phương Trang (2013), Phân lập, định danh và khảo sát khả năng phòng trừ bệnh cháy bìa lá lúa của vi khuẩn đối kháng trong đất tỉnh An Giang. Luận văn tốt nghiệp Cao học. Ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ. Cần Thơ.

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN THỰC KHUẨN THỂ TRONG PHÒNG TRỪ BỆNH CHÁY LÁ DO *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* TRÊN CÂY KIỂU (*Allium chinense*)

Nguyễn Thị Thu Nga^{1*}, Trần Ngọc Trúc¹, Giảng Thanh Như¹,
Đoàn Thị Kiều Tiên¹, Võ Thị Bích Thủy², Trần Thị Ba²

¹Bộ môn Bảo vệ thực vật, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

²Bộ môn Khoa học Cây trồng, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

*Tác giả liên hệ: ntnnga@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Bệnh cháy lá do vi khuẩn *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* trên cây kiệu (*Allium chinense*) tại huyện Tam Nông, tỉnh Đồng Tháp gây thiệt hại nặng suất nghiêm trọng vào mùa mưa. Nghiên cứu phân lập và tuyển chọn thực khuẩn thể (TKT) trong phòng trừ bệnh là hướng đi an toàn, góp phần giảm thuốc hóa học vào môi trường. Kết quả nghiên cứu đã thu thập và phân lập được 20 dòng TKT từ mô lá, đất và nước từ các ruộng kiệu tại Tam Nông. Thực hiện tuyển chọn TKT triển vọng, 5 dòng TKT gồm ΦK13, ΦK16, ΦK19, Φ17 và Φ31 có khả năng nhân mật số cao trên vi khuẩn gây bệnh. Khi so sánh đường kính đốm tan (plaque), dòng TKT K13 có đường kính đốm tan lớn nhất, kế đến là 3 dòng TKT ΦK16, Φ17 và ΦK19, thấp nhất là dòng TKT Φ31. Đánh giá hiệu quả phòng trừ bệnh của 4 dòng TKT (K13, ΦK16, Φ17 và ΦK19) khi xử lý đơn lẻ và xử lý hỗn hợp ở điều kiện nhà lưới, kết quả ghi nhận cả 4 nghiệm thức xử lý TKT đơn lẻ và nghiệm thức hỗn hợp 4 dòng TKT đều mang lại hiệu quả giảm bệnh, trong đó 2 dòng TKT ΦK13 và Φ17 mang lại phòng trừ bệnh tốt và ổn định qua các thời gian khảo sát.

Từ khóa: *Allium chinense*, bacteriophage, biological control, *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*.

ABSTRACT

Isolation and screening bacteriophages in controlling bacterial leaf blight disease caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* on Chinese onion (*Allium chinense*)

Leaf blight disease caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* on the Chinese onion (*Allium chinense*) in Tam Nong district, Dong Thap province is a disease that

causes serious loss of productivity in the rainy season. Studying of phage isolation and selection in disease control is a safe control method, contributing to reducing chemicals into the environment. Results showed that 20 bacteriophages were collected and isolated from leaf tissues, soil and water from Kieu fields in Tam Nong. Selection of promising phages in laboratories, five promising phages i.e. Φ K13, K16, Φ 17, Φ K19 and Φ 31 were capable of multiplying high densities on pathogenic bacteria Xaa. When comparing plaque diameter of 5 promising phages, Φ K13 had the largest plaque diameter, followed by Φ K16, Φ 17 and Φ K19, and the lowest was Φ 31. Evaluate disease control effectiveness of 4 promising phages when treated alone and four phage cocktail in the greenhouse, the result showed all four individual phage treatment and phage cocktail treatment expressed disease reduction, in which phage Φ K13 and Φ 17 provide good and stable disease control over the time of the survey.

Keywords: *Allium chinense*, bacteriophage, biological control, *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Kiêu (*Allium chinense*) là cây rau được trồng với diện tích lớn ở huyện Tam Nông, tỉnh Đồng Tháp với diện tích trồng tập trung đến 100 ha (Chi cục Trồng trọt và Bảo vệ thực vật tỉnh Đồng Tháp, 2018). Thời gian canh tác vụ chính (vụ Tết) trùng vào thời điểm mùa mưa, nên bệnh hại là yếu tố gây thiệt hại năng suất quan trọng. Đặc biệt bệnh cháy lá do vi khuẩn *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* (Phan Đức Thanh, 2019) là bệnh gây thiệt hại diện rộng trên kiêu làm ảnh hưởng nghiêm trọng đến năng suất và chất lượng. Để phòng trị bệnh, nông dân đã sử dụng một lượng lớn thuốc hoá học và thuốc có nguồn gốc kháng sinh, nên ảnh hưởng xấu đến môi trường và sức khỏe người tiêu dùng (Đặng Thị Cúc, 2007). Vì vậy, biện pháp quản lý sinh học quản lý mầm bệnh ngày nay đang được quan tâm (Agrios, 2005), trong đó thực khuẩn thể (TKT), virus kí sinh và tiêu diệt tế bào vi khuẩn là tác nhân phòng trừ triển vọng

được ghi nhận thành công trong phòng trừ bệnh hại vi khuẩn trên cây trồng cũng như các lĩnh vực như y học, thú y, môi trường và nông nghiệp (Jones *et al.*, 2007). Tại Việt Nam, TKT cũng được ghi nhận mang lại hiệu quả trong phòng trị bệnh cháy bìa lá lúa do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*, bệnh héo rũ vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* trên dưa leo, bệnh cháy lá trên hành do vi khuẩn *X. axonopodis* pv. *allii* (Nguyễn Thị Trúc Giang và *ctv.*, 2014, Đoàn Thị Kiều Tiên và *ctv.*, 2017, Nga *et al.*, 2021). Tuy nhiên đối với bệnh cháy lá trên kiêu do vi khuẩn *X. axonopodis* pv. *allii* chưa có nghiên cứu được ghi nhận. Vì vậy, nghiên cứu “*Phân lập và tuyển chọn thực khuẩn thể để ứng dụng phòng trừ bệnh cháy lá do vi khuẩn Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* gây hại trên kiêu” được thực hiện nhằm tìm các dòng thực khuẩn thể triển vọng có khả năng phòng trị bệnh cháy lá là tiền đề cho việc ứng dụng TKT trong quản lý mầm bệnh trong tương lai.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Phân lập TKT kí sinh vi khuẩn *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* (*Xaa*) gây bệnh cháy lá kiệu

Phương pháp: Phương pháp phân lập TKT được thực hiện theo (Nguyễn Thị Thu Nga và Nguyễn Thị Trúc Giang, 2014). Mẫu lá kiệu bị bệnh, rửa, cắt kết hợp 5ml nước cất thanh trùng cho vào cối sứ nghiền mịn. Sau đó mẫu nghiền được ly tâm ở vận tốc 6000 vòng trong 5 phút để loại bỏ xác bã thực vật, thu phần dịch trong. Thực hiện loại bỏ vi khuẩn trong dịch trong bằng dung dịch Chloroform. Ly tâm và thu phần dịch trong để phân lập TKT trên vi khuẩn *Xanthomonas* gây bệnh trên kiệu bằng phương pháp nhỏ huyền phù TKT trên đĩa petri chứa môi trường King B 0,8% có hòa vi khuẩn gây bệnh. Sau 24 giờ, chọn những đốm tan đơn, thực hiện tách rỗng trên môi trường King'B 0,8% agar chứa vi khuẩn kí chủ, sau đó thu huyền phù TKT trữ trong tối ở 4°C cho các thí nghiệm sau (Nguyễn Thị Thu Nga và Nguyễn Thị Trúc Giang, 2014).

2.2. Tuyển chọn TKT kí sinh vi khuẩn *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* gây bệnh cháy lá kiệu

2.2.1. Tuyển chọn TKT dựa vào khả năng nhân mật số trên chủng vi khuẩn *X. axonopodis* pv. *allii* gây hại kiệu

Mục tiêu: Xác định các dòng thực khuẩn thể có mật số cao trên vi khuẩn *Xaa* trên kiệu để thực hiện, chọn làm nghiệm thức đơn trong thí nghiệm nhà lưới.

Phương pháp: Khảo sát khả năng nhân mật số của 23 dòng TKT trên vi khuẩn *Xaa* gây bệnh cháy lá kiệu với 3 lần lặp lại. Cách thực hiện: Huyền phù các dòng thực khuẩn thể được nhân nuôi và pha loãng về cùng mật số 10^8 pfu/ml trên vi khuẩn *Xaa* (chủng 1), sau đó thực hiện đếm mật số trên chủng vi khuẩn *Xaa* (chủng gây hại nặng qua lây bệnh nhân tạo) bằng phương pháp pha loãng, sau đó thực hiện rút 100 μ L huyền phù vi khuẩn và 100 μ L huyền phù từng loại TKT ở dãy nồng độ pha loãng cho vào từng đĩa petri, sau đó dùng môi trường King'B 0,8% agar đã nấu tan để nguội ở 50°C đổ vào đĩa petri, lắc đều dung dịch, mỗi đĩa petri là một lần lặp lại. Đĩa được đặt ở điều kiện nhiệt độ phòng thí nghiệm. Sau 24 giờ, ghi nhận số lượng đốm tan (plaques) của 23 dòng TKT trên vi khuẩn *Xaa*, dựa vào hệ số pha loãng quy ra mật số của từng dòng TKT hình thành trên chủng *Xaa* gây bệnh.

2.2.2. So sánh đường kính đốm tan của các dòng TKT triển vọng trên chủng vi khuẩn *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* gây hại kiệu

Mục đích: Tìm ra dòng thực khuẩn thể có khả năng tiêu diệt cao vi khuẩn *Xaa* trên kiệu thông qua đường kính đốm tan (plaque).

Phương pháp: Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 3 lần lặp lại và 5 nghiệm thức trên 5 dòng TKT có khả năng nhân mật số cao được tuyển chọn từ thí nghiệm 2.2.1. Chuẩn bị huyền phù 5 dòng TKT mật số 10^8 pfu/ml. Thực hiện pha loãng về nồng độ 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} pfu/ml và

rút 100 µL huyền phù vi khuẩn cùng 100 µL huyền phù TKT từng loại cho vào từng đĩa petri, dùng môi trường King's B 0,8% agar ở 50°C đổ vào đĩa Petri, lắc đều hỗn hợp trên. Đĩa được đặt ở điều kiện nhiệt độ phòng thí nghiệm. Chỉ tiêu ghi nhận là đo đường kính đốm tan (plaque) (10 đốm tan/lặp lại) qua các thời điểm sau 24, 48 và 72 giờ.

2.2.3. Đánh giá hiệu quả phòng trị bệnh cháy lá trên kiệu do vi khuẩn *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* của các dòng thực khuẩn thể triển vọng trong điều kiện nhà lưới

Mục tiêu: Xác định dòng TKT và thời điểm xử lý mang lại hiệu quả phòng trừ bệnh cháy lá do vi khuẩn *Xaa* trên kiệu.

Phương pháp: Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên hai nhân tố: nhân tố A gồm 6 nghiệm thức (4 nghiệm thức xử lý 4 dòng TKT đơn lẻ được tuyển chọn từ thí nghiệm 2.2.2, một nghiệm thức xử lý hỗn hợp 4 dòng TKT và nghiệm thức đối chứng). Nhân tố B là thời điểm xử lý TKT (xử lý trước khi lây bệnh, xử lý phối hợp trước và sau khi lây bệnh). Mỗi nghiệm thức gồm 4 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại là 1 chậu, mỗi chậu 8 cây.

Chuẩn bị cây kiệu: Cây kiệu được trồng từ củ kiệu giống vào bọc với vật liệu đã được chuẩn bị sẵn, tưới ẩm mỗi ngày cho kiệu phát triển tốt. Sau khi trồng khoảng 45 ngày thì tiến hành chuyển vào phòng lạnh chuẩn bị lây bệnh.

Chuẩn bị nguồn vi khuẩn: Vi khuẩn *Xaa* (chủng gây bệnh) được nuôi cấy trên

đĩa petri chứa môi trường King's B 2% agar trong 2 ngày, sau đó cho 10 ml nước cất thanh trùng vào đĩa thu hoạch huyền phù vi khuẩn thực hiện pha loãng huyền phù đạt giá trị OD₆₀₀ 0,3 (tương ứng với mật số 8 × 10⁸ cfu/mL).

Chuẩn bị nguồn thực khuẩn thể: Các dòng thực khuẩn thể được nhân nuôi trên chủng vi khuẩn gây bệnh, huyền phù được xác định mật số sau thực hiện pha loãng đưa về mật số 10⁸ pfu/ml dùng trong thí nghiệm.

Cách thực hiện: Thực hiện phun 10ml/chậu huyền phù thực khuẩn thể một lần vào hai giờ trước khi lây bệnh (đối với nghiệm thức phun trước), hai lần vào hai giờ trước khi và 2 ngày sau khi lây bệnh đối với nghiệm thức phối hợp phun trước sau. Thực hiện lây bệnh nhân tạo cho toàn bộ nghiệm thức vào hai giờ sau khi phun TKT lần 1 bằng cách phun 10ml huyền phù vi khuẩn/chậu. Thực hiện ủ bệnh trong tối, nhiệt độ 25°C trong hai ngày. Hai ngày sau khi lây bệnh, thực hiện phun TKT lần hai khi mặt trời lặn và các chậu được đặt ở điều kiện nhà lưới có che mưa.

Ghi nhận chỉ tiêu: Theo dõi và quan sát triệu chứng bệnh hằng ngày. Khi triệu chứng bệnh xuất hiện tiến hành ghi nhận tỉ lệ bệnh từng chậu 3 ngày/lần

$$TLB (\%) = \frac{\text{Số lá bị bệnh}}{\text{Tổng số lá quan sát}} \times 100$$

2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng Microsoft Excel và phân tích thống kê bằng phần mềm Mstatc qua phép thử Duncan.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả phân lập thực khuẩn thể của vi khuẩn *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* gây bệnh cháy lá trên kiệu

Kết quả phân lập được 20 dòng TKT từ các mẫu lá và đất được thu thập từ các vị trí khác nhau trên các ruộng kiệu ở huyện Tam Nông, tỉnh Đồng Tháp (bảng 1). Kết quả cho thấy TKT của vi khuẩn *Xaa* hiện diện mô lá bị bệnh có sự hiện diện của vi khuẩn kí chủ và trong đất. Theo Kutter và Sulakvellide (2005), nơi nào có mặt của vi khuẩn kí chủ thì nơi đó có sự tồn tại của TKT. Gill và Abedon (2003) cũng ghi nhận TKT của *Erwinia amylovora* gây bệnh cháy cành lê táo được phân lập nhiều từ đất và mô cây bị bệnh. Cũng giống với nghiên cứu về TKT của Huỳnh Thị Thúy Vi (2017), trên *X. axonopodis* pv. *citri* cho thấy TKT kí sinh vi khuẩn gây bệnh tán lá cây được phân lập từ cả mẫu đất và lá bị bệnh. Điều này có thể được giải thích là do TKT từ đất xâm nhập vào tán lá cây khi hạt nảy mầm. Trong tự nhiên, TKT được ghi nhận có khả năng tồn tại cả khi vắng

mặt tế bào vi khuẩn kí chủ. Điều này hợp lý khi kết quả ghi nhận TKT kí sinh vi khuẩn *Xaa* được phân lập từ mẫu đất. Kết quả này hợp lý vì đất là môi trường chứa TKT từ mô thực vật bị bệnh trên tán lá cây rơi xuống và có thể tồn tại khi không có mặt kí chủ (Gill và Abedon, 2003).

3.2. Kết quả tuyển chọn thực khuẩn thể dựa trên khả năng nhân mật số trên vi khuẩn *X. axonopodis* pv. *allii* gây bệnh cháy lá trên kiệu

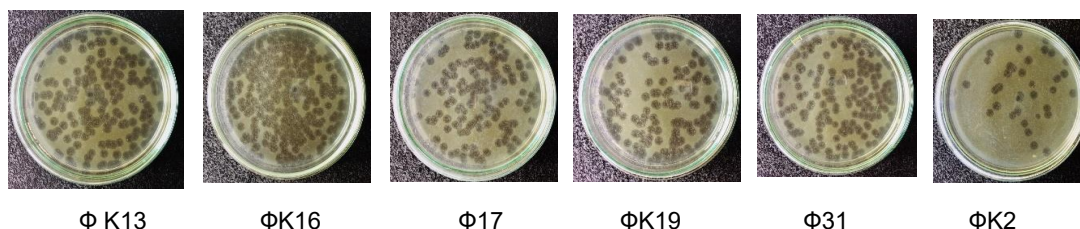
Khả năng nhân mật số của 23 dòng TKT trên vi khuẩn *Xaa* chủng R2 (là chủng gây hại qua lây bệnh nhân tạo) thể hiện qua bảng 1 cho thấy log mật số pfu/mL hình thành sau 24 giờ của từng dòng TKT trên chủng vi khuẩn *Xaa* (R2) ở kiệu là khác nhau, mặc dù mật số ban đầu của các dòng TKT này đều là 10^8 pfu/ml khi đếm trên chủng *Xaa* (R1). Trong đó 5 dòng thực khuẩn thể (ΦK16, Φ31, ΦK13, Φ17, ΦK19) có log mật số pfu/mL cao (bảng 1, hình 1) và được chọn để tiếp tục khảo sát khả năng phân giải vi khuẩn thông qua đường kính đốm tan (plaque) và hiệu quả phòng trừ.

Bảng 1. Khả năng nhân mật số của 23 dòng TKT trên vi khuẩn *X. axonopodis* pv. *allii* R2 gây bệnh cháy lá trên kiệu

Nghiệm thức	Log (mật số TKT) (pfu/ml)	Địa điểm thu mẫu	Vị trí phân lập
ΦK1	9,03 ^{e-h}	Tam Nông, Đồng Tháp	Lá
ΦK2	7,30 ^l	Tam Nông, Đồng Tháp	Lá
ΦK3	8,97 ^{gh}	Tam Nông, Đồng Tháp	Lá
ΦK4	8,79 ⁱ	Tam Nông, Đồng Tháp	Lá
ΦK5	8,98 ^{fgh}	Tam Nông, Đồng Tháp	Lá
ΦK6	8,47 ^j	Tam Nông, Đồng Tháp	Lá
ΦK7	8,95 ^h	Tam Nông, Đồng Tháp	Lá
ΦK8	8,99 ^{fgh}	Tam Nông, Đồng Tháp	Lá

Nghiệm thức	Log (mật số TKT) (pfu/ml)	Địa điểm thu mẫu	Vị trí phân lập
ΦK9	9,17 ^{b-e}	Tam Nông, Đồng Tháp	Lá
ΦK10	9,15 ^{b-e}	Tam Nông, Đồng Tháp	Lá
ΦK11	9,16 ^{b-e}	Tam Nông, Đồng Tháp	Lá
ΦK12	9,06 ^{d-h}	Tam Nông, Đồng Tháp	Lá
ΦK13	9,23 ^{bc}	Tam Nông, Đồng Tháp	Đất
ΦK14	9,14 ^{b-e}	Tam Nông, Đồng Tháp	Đất
ΦK15	9,06 ^{d-h}	Tam Nông, Đồng Tháp	Đất
ΦK16	9,41 ^a	Tam Nông, Đồng Tháp	Đất
ΦK17	9,12 ^{c-f}	Tam Nông, Đồng Tháp	Đất
ΦK18	8,16 ^k	Tam Nông, Đồng Tháp	Đất
ΦK19	9,20 ^{bcd}	Tam Nông, Đồng Tháp	Đất
ΦK20	9,10 ^{c-g}	Tam Nông, Đồng Tháp	Đất
Φ16	9,17 ^{b-e}		
Φ17	9,23 ^{bc}	Được cung cấp từ Bộ môn Bảo vệ thực vật	
Φ31	9,27 ^b		
<i>Mức ý nghĩa</i>		*	
<i>CV (%)</i>		0,85	

Ghi chú: Số liệu được chuyển sang log(mật số) trước khi xử lý thống kê. Các số trung bình trong cùng một cột theo sau bởi những chữ cái giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% trong phép thử Duncan.*: Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%.



Hình 1. Khả năng nhân mật số của các dòng thực khuẩn thể trên chủng vi khuẩn *X. axonopodis* pv. *allii* R2 ở nồng độ pha loãng 10⁻⁷

3.3. Khả năng phân giải của 5 dòng thực khuẩn thể đối với vi khuẩn *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* R2 trên kiệu

Kết quả khảo sát khả năng tiêu diệt chủng vi khuẩn *Xaa* R2 trên kiệu của 5 dòng TKT thông qua đường kính đốm tan (bảng 2) qua ba thời điểm 24, 48 và 72 giờ.

Ở thời điểm 24 giờ, đường kính đốm tan dao động từ 5,45 mm đến 6,08 mm. Trong đó, dòng TKT ΦK13 có đường kính đốm tan cao nhất, cao hơn và khác biệt ý nghĩa so với dòng TKT còn lại. Dòng TKT Φ31 có đường kính đốm tan thấp nhất.

Ở thời điểm 48 giờ và 72 giờ, đường kính đốm tan tăng lên. Dòng TKT ΦK13

vẫn có đường kính đốm tan cao nhất là 6,89 mm và 7,10 mm, cao hơn khác biệt ý nghĩa thống kê với tất cả các dòng TKT còn lại (hình 2).

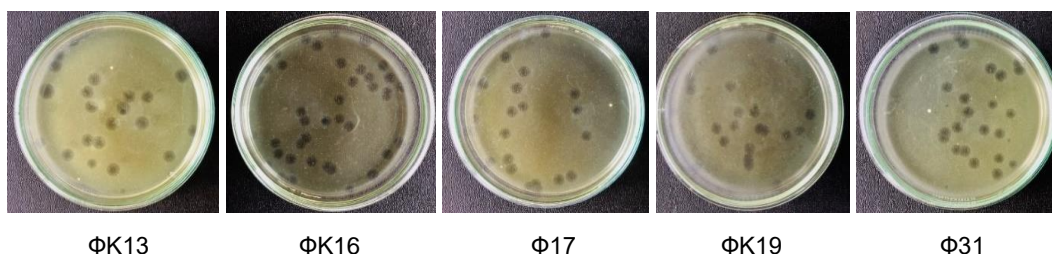
Như vậy, qua 3 thời điểm ghi nhận cho thấy dòng TKT ΦK13 có trung bình

đường kính phân giải vi khuẩn *Xanthomonas* sp. lớn nhất khác biệt với các dòng TKT còn lại ở cả 3 thời điểm ghi nhận, kể đến là 3 dòng TKT (ΦK16, Φ17 và ΦK19), thấp nhất là dòng TKT Φ31.

Bảng 2. Trung bình đường kính đốm tan (plaque) các dòng TKT triển vọng trên vi khuẩn *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* R2

Nghiệm thức	Đường kính đốm tan (mm)		
	24 giờ	48 giờ	72 giờ
ΦK13	6,08 ^a	6,89 ^a	7,10 ^a
ΦK16	5,77 ^b	6,26 ^b	6,51 ^b
Φ17	5,65 ^{bc}	6,27 ^b	6,40 ^b
ΦK19	5,71 ^{bc}	6,29 ^b	6,48 ^b
Φ31	5,45 ^c	6,03 ^b	6,16 ^b
Mức ý nghĩa	*	*	*
CV (%)	2,70	3,55	3,84

Ghi chú: Số liệu được quy đổi ra giá trị trung bình trước khi xử lý thống kê. Các số trung bình trong cùng một cột theo sau bởi những chữ cái giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% trong phép thử Duncan. (*): Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%.



Hình 2. Đường kính đốm tan (plaque) của 5 dòng TKT trên vi khuẩn *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* ở thời điểm 48 giờ

3.4. Hiệu quả phòng trị bệnh cháy lá trên kiệu do vi khuẩn *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* của các dòng thực khuẩn thể triển vọng trong điều kiện nhà lưới

Kết quả đánh giá hiệu quả phòng trừ của 4 dòng TKT (ΦK13, ΦK16, Φ17 và

ΦK19) khi xử lý đơn lẻ và hỗn hợp ở điều kiện nhà lưới được ghi nhận qua chỉ tiêu tỉ lệ bệnh (TLB) (bảng 3).

Ở thời điểm 6 NSKLB, TLB của các nghiệm thức dao động từ 4,5 đến 6,8%, trong đó các nghiệm thức xử lý TKT ΦK13, ΦK16, Φ17 và hỗn hợp TKT có

TLB trong khoảng 4,5 - 5,4%, thấp hơn khác biệt ý nghĩa so với đối chứng (6,8%). Nghiệm thức ΦK19 có TLB 6,4% không khác biệt ý nghĩa với nghiệm thức đối chứng (bảng 3).

Ở 12 NSKLB, hai nghiệm thức ΦK13 và Φ17 với TLB là 5,6% và 6,0% thấp hơn khác biệt so với nghiệm thức đối chứng với TLB 7,7%. Nghiệm thức

ΦK16, ΦK19 và hỗn hợp TKT không khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng (bảng 3).

Ở thời điểm, các nghiệm thức xử lý thực khuẩn thể ΦK13, Φ17, ΦK19 và hỗn hợp TKT có TLB trong khoảng 7,2 - 7,8%, thấp hơn khác biệt so với đối chứng 9,8%. Nghiệm thức ΦK16 TLB 8,3% và không khác biệt so với đối chứng (bảng 3).

Bảng 3. Tỷ lệ lá bị bệnh cháy lá (%) do vi khuẩn *X. axonopodis* pv. *allii* trên kiểu của các nghiệm thức ở điều kiện nhà lưới

Nghiệm thức (A)/ Thời điểm xử lý (B)	6 NSKLB			12 NSKLB			18 NSKLB		
	PT	PT+PS	TB (A)	PT	PT+PS	TB (A)	PT	PT+PS	TB (A)
ΦK13	4,8	4,7	4,8 ^{CD}	5,7	5,5	5,6 ^C	7,4	7,1	7,3 ^B
ΦK16	5,6	6,1	5,9 ^{ABC}	6,5	6,9	6,7 ^{ABC}	8,3	8,3	8,3 ^{AB}
Φ17	4,1	4,8	4,5 ^D	5,7	6,2	6,0 ^{BC}	7,2	7,2	7,2 ^B
ΦK19	7,0	5,7	6,40 ^{AB}	7,4	6,6	7,0 ^{AB}	7,9	7,4	7,6 ^B
Hỗn hợp TKT	5,8	5,0	5,4 ^{BCD}	7,2	6,3	6,7 ^{ABC}	8,3	7,3	7,8 ^B
Đối chứng	7,2	6,4	6,8 ^A	8,0	7,4	7,7 ^A	10,0	9,5	9,8 ^A
TB (B)	5,8	5,4		6,7	6,5		8,2	7,8	
Mức ý nghĩa	$F(A)^{**}; F(B)^{ns}; F(AxB)^{ns}$			$F(A)^{*}; F(B)^{ns}; F(AxB)^{ns}$			$F(A)^{*}; F(B)^{ns}; F(AxB)^{ns}$		
CV (%)	19,6			18,68			18,92		

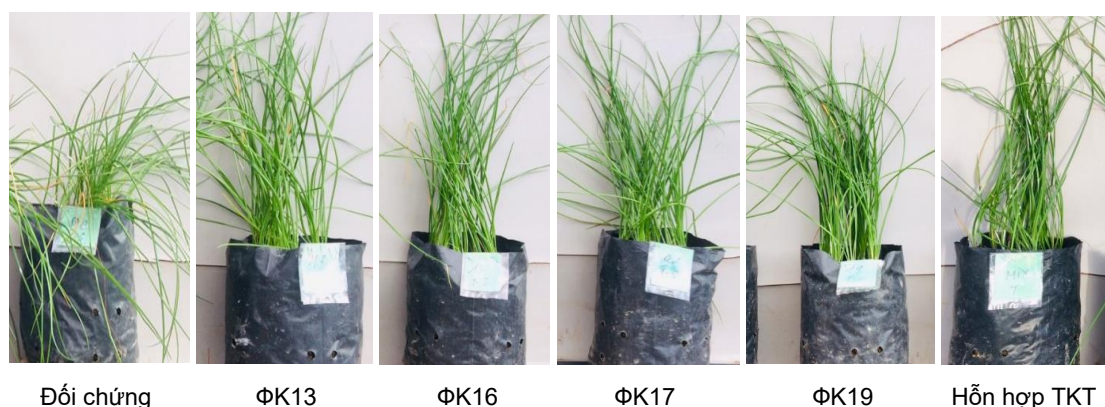
Ghi chú: Các số trung bình trong một bảng theo sau bởi một hoặc nhiều chữ in thường giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê qua kiểm định Duncan. (*): Khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%, (**): Khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1%, ns: Không khác biệt ý nghĩa thống kê, PT: Phun TKT 2 giờ trước khi lây bệnh, PS: Phun TKT 2 ngày sau khi lây bệnh (NSKLB).

Về TLB giữa biện pháp phun trước và Phun trước + Phun sau, qua 3 thời điểm cho thấy TLB trung giữa hai biện pháp không có khác biệt ý nghĩa thống kê. Kết quả này cho thấy rằng việc phun thực khuẩn thể 1 lần và 2 lần cho hiệu quả tương đương nhau.

Như vậy, qua kết quả TLB qua cả 3 thời điểm cho thấy, 3 dòng TKT ΦK13, ΦK17, ΦK19 và nghiệm thức hỗn hợp TKT thể hiện hiệu quả giảm bệnh ít nhất ở 1 thời điểm khảo sát, trong đó nghiệm thức TKT ΦK13 và TKT ΦK17 thể hiện hiệu quả cao hơn và ổn định cả ba thời

điểm khảo sát. Dòng TKT ΦK13 mang lại hiệu quả phòng trừ bệnh tốt cũng là dòng có đường kính đóm tan lớn, như vậy khả năng nhân mật số nhiều trên vi khuẩn kí chủ có thể liên quan đến hiệu quả giảm bệnh. Tuy nhiên hai dòng TKT ΦK17, ΦK19 thể hiện đường kính đóm tan như

nhau, nhưng dòng TKT ΦK17 thể hiện hiệu quả phòng trừ ổn định hơn dòng TKT ΦK19, điều này cho thấy có thể liên quan đến khả năng thích nghi TKT trên bề mặt tán lá cây, nghiên cứu này cần được thực hiện để hiểu rõ đặc tính của TKT giúp quá trình tuyển chọn tốt hơn.



Hình 3. Mức độ bệnh cháy lá do *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* trên kiệu các nghiệm thức ở điều kiện nhà lưới vào 18 ngày sau khi lây bệnh

Tóm lại, việc xử lý TKT góp phần giảm được bệnh cháy bệnh cháy lá do vi khuẩn *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* trên kiệu. Kết quả nghiên cứu cũng được ghi nhận bởi Nga *et al.* (2021) khi sử dụng TKT có hiệu quả phòng trừ bệnh cháy lá trên hành do vi khuẩn *Xaa*, hay Balogh (2006) khi sử dụng TKT để kiểm soát mầm bệnh loét trên cây có múi ở điều kiện nhà lưới và ngoài đồng. Tuy nhiên kết quả phòng trị bệnh của TKT trên vi khuẩn *Xaa* trên kiệu trong nghiên cứu này chưa cao, cần thực hiện các nghiên cứu sao cải thiện được hiệu quả giảm bệnh của TKT trên tán lá cây.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Hai mươi dòng thực khuẩn thể được phân lập từ mẫu lá bệnh và mẫu đất ruộng

canh tác kiệu tại huyện Tam Nông, tỉnh Đồng Tháp. Trong đó, bốn dòng TKT ΦK13, ΦK16, Φ17 và ΦK19 được tuyển chọn dựa vào khả năng nhân mật số và đường kính đóm tan trong điều kiện phòng thí nghiệm. Khảo sát khả năng phòng trị bệnh trong điều kiện nhà lưới, khi phun huyền phù TKT ba dòng TKT ΦK13, ΦK17 và ΦK19 đơn lẻ hay và hỗn hợp 3 dòng TKT ở mật số 10^8 pfu/ml thể hiện hiệu quả giảm bệnh, trong đó nghiệm thức TKT ΦK13 và TKT ΦK17 thể hiện hiệu quả cao hơn và ổn định hơn các nghiệm thức còn lại. Thời điểm xử lý TKT một lần (hai giờ trước lây bệnh) và hai lần (hai giờ trước khi lây bệnh và hai ngày sau khi lây bệnh) mang lại hiệu quả tương đương.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Agrios, G.N. (2005), Plant Pathology. 5th edition Elsevier publisher. 992 pages.
2. Balogh, B. (2006), *Characterization and use of bacteriophages associated with citrus bacterial pathogens for disease control*. Doctoral dissertation, University of Florida.
3. Chi cục Trồng trọt và Bảo vệ thực vật tỉnh Đồng Tháp. Báo cáo năm 2018.
4. Đặng Thị Cúc (2007), *Giáo trình Vi sinh đại cương*, Trường Đại học Nông Lâm, trang 47 - 48.
5. Đoàn Thị Kiều Tiên, Nguyễn Thị Thu Nga, Nguyễn Minh Tâm (2017), Phân lập và đánh giá khả năng phòng trị bệnh héo xanh do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* trên dưa leo bằng thực khuẩn thể. Hội thảo Quốc gia Bệnh hại thực vật, Đại học Đà Nẵng. 16. 101 - 110.
6. Gill, J. and S.T. Abedon (2003), Bacteriophage Ecology and Plants. *APSnet Features*. 1103p.
7. Huỳnh Thị Thúy Vy (2017), *Phân lập, tuyển chọn thực khuẩn thể có khả năng ký sinh trên vi khuẩn Xanthomonas axonopodis pv. citri gây bệnh loét trên cam quýt*. Luận văn tốt nghiệp ngành kỹ sư Bảo vệ thực vật, Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ.
8. Jones J.B., L.E, Jackson, B, Balogh, A, Obradovic, F,B, Iriarte, and M,T, Momol (2007), Bacteriophages for Plant Disease Control. *The Annual Review of Phytopathology*, 45:244 - 262.
9. Nga, N.T.T., Tran, T.N.; Holtappels, D.; Kim Ngan, N.L.; Hao, N.P.; Vallino, M.; Tien, D.T.K.; Khanh-Pham, N.H.; Lavigne, R.; Kamei, K.; Wagemans, J.; Jones, J.B. (2021), Phage Biocontrol of Bacterial Leaf Blight Disease on Welsh Onion Caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*. *Antibiotics*, 10, 517. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050517>.
10. 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 lúa do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv, *oryzae*. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, 4: 194 - 203.
11. Phan Đức Thạnh (2020), *Xác định tác nhân vi khuẩn gây bệnh cháy lá kiệu và khảo sát khả năng kích kháng của một số loại hóa chất ở điều kiện nhà lưới*. Luận văn tốt nghiệp đại học ngành Bảo vệ thực vật. Đại học Cần Thơ.
12. Trần Thị Ba (2007), *Kỹ thuật trồng hành lá*, Bộ môn Khoa học cây trồng, Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ.

KHẢO SÁT KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG CỦA HAI DÒNG VI KHUẨN PHÂN LẬP M5.1 và M6 TỪ HẠT MÈ LÊN MEN VỚI NẤM *Fusarium solani* GÂY BỆNH VÀNG LÁ THỐI RỄ TRÊN CÂY CAM SÀNH TRONG ĐIỀU KIỆN *IN VITRO*

Đặng Thị Yến Nhung¹, Nguyễn Thị Mụi², Nguyễn Khởi Nghĩa^{1*}

¹Bộ môn Khoa học Đất, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

²Sinh viên ngành Bảo vệ thực vật Khóa 43, Khoa Nông nghiệp,
Trường Đại học Cần Thơ

*Tác giả liên hệ: nknghia@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm đánh giá khả năng đối kháng với nấm *Fusarium solani* gây bệnh vàng lá thối rễ trên cam sành của hai dòng vi khuẩn M5.1 và M6 được phân lập từ hạt mè lên men trong điều kiện *in vitro* trên môi trường PDA với 3 phương pháp bố trí khác nhau bao gồm: (1) Vi khuẩn đối kháng được đặt cùng thời điểm với nấm *Fusarium solani*, (2) Vi khuẩn đối kháng được đặt trước nấm *Fusarium solani* 24 giờ và (3) Vi khuẩn đối kháng được đặt sau nấm *Fusarium solani* 24 giờ. Kết quả khảo sát cho thấy hai dòng vi khuẩn M5.1 và M6 được phân lập đều thể hiện khả năng đối kháng ổn định khi được đặt trên môi trường PDA trước nấm *Fusarium solani* 24 giờ, với hiệu suất đối kháng của hai dòng vi khuẩn ở phương pháp bố trí này lần lượt đạt 82,7% và 77,3% tại thời điểm 3 ngày sau bố trí cao hơn so với hai phương pháp bố trí còn lại. Bên cạnh đó, hai dòng vi khuẩn này còn thể hiện khả năng ức chế tốt sự hình thành bào tử nấm *Fusarium solani* trong môi trường PDB.

Từ khóa: *Fusarium solani*, hiệu suất đối kháng, mè lên men, ức chế, vàng lá thối rễ.

ABSTRACT

The antagonistic capabilities of two isolated bacteria from fermented sesame grains against *Fusarium solani*, the casual agent of root rot disease of king orange plant under *in vitro*

*The main objective of this study was to evaluate the antagonistic ability of two bacterial strains M5.1 and M6 isolated from fermented sesame grains against fungus *Fusarium solani* causing root rot yellow leaf disease on orange under *in vitro* conditions on PDA medium with the three different lay-out methods including:*

Người phân biên: TS. Lê Phước Thành.

(1) Antagonistic bacteria was placed at the same time as the pathogenic fungus *Fusarium solani*, (2) Antagonistic bacteria was placed 24 hours before the pathogenic fungus *Fusarium solani* placed; (3) Antagonistic bacteria was placed 24 hours after the pathogenic fungus *Fusarium solani* placed. The results showed that both isolated bacterial strains M5.1 and M6 evenly exhibited the stable antagonism when they were placed on PDA medium 24 hours before the pathogenic fungus *Fusarium solani* placed and the antagonistic performance of the two bacterial strains in this experiment was up to 82.7 percents and 77.3 percents at 3 days of incubation, respectively and higher than the other two experimental methods. In addition, these two bacterial strains also revealed the good inhibition of the spore formation of fungus *Fusarium solani* in PDB medium.

Keywords: antagonistic performance, fermented sesame, *Fusarium solani*, inhibition, root rot yellow leaf.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam, diện tích trồng cây có múi khoảng 107.380 ha và chiếm sản lượng khoảng 731.203 tấn (Đoàn Hữu Tiến, 2006). Trong quá trình canh tác cây có múi, nông dân phải đối mặt với nhiều bệnh hại như bệnh vàng lá gân xanh do vi khuẩn *Candidatus Liberibacter* spp. gây ra (Hà Minh Trung và ctv., 2001), bệnh loét do vi khuẩn *Xanthomonas campestris* pv. *citri*, bệnh vàng lá thối rữa do nấm *Fusarium solani*. Trong đó, bệnh vàng lá thối rữa là bệnh hại quan trọng trên cây cam quýt, nhất là trên cam sành (Nguyễn Thị Thu Cúc và Phạm Hoàng Oanh, 2002). Để phòng trị bệnh vàng lá thối rữa, hầu hết nông dân sử dụng các loại thuốc bảo vệ thực vật hóa học để phòng trị vì có hiệu lực nhanh. Tuy nhiên, việc lạm dụng các loại thuốc hóa học sẽ làm mầm bệnh dễ hình thành tính kháng, làm mất cân bằng hệ sinh thái, ô nhiễm môi trường, đồng thời còn gây ra hiện tượng lưu tồn các hóa chất độc hại trong nông sản gây ảnh hưởng đến sức khỏe người tiêu dùng

(Dương Minh, 2010). Do đó, các biện pháp khác an toàn hơn cho môi trường sinh thái cũng như sức khỏe cộng đồng như việc sử dụng giống kháng, kích thích tính kháng bệnh cây trồng để quản lý mầm bệnh đang được thu hút sự quan tâm cho nghiên cứu và ứng dụng trong quản lý bệnh vàng lá thối rữa trên cam sành. Trong đó, tiềm năng sử dụng vi khuẩn từ các hạt ngũ cốc lên men có chức năng đối kháng với nấm bệnh cây trồng là rất cao nhưng chưa được khai thác để được ứng dụng. Nghiên cứu của Nguyễn Hữu Thiện và Nguyễn Thị Thúy Kiều (2019) cho thấy các loài vi khuẩn được phân lập lần lượt từ ngũ cốc lên men có khả năng đối kháng tốt với ba dòng nấm gây bệnh trên ớt gồm nấm *Colletotrichum* sp., nấm *Fusarium oxysporum* và nấm *Rhizoctonia solani* ở quy mô phòng thí nghiệm. Tuy nhiên, hiệu quả đối kháng của chúng với dòng nấm *Fusarium solani* gây bệnh vàng lá thối rữa trên cam sành vẫn chưa được khảo sát và đánh giá; vì vậy, nghiên cứu này rất cần thiết để được thực hiện. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm

mục tiêu khảo sát khả năng đối kháng với nấm *Fusarium solani* gây bệnh vàng lá thối rữa trên cam sành của hai dòng vi khuẩn phân lập từ hạt mè lên men ở điều kiện *in vitro*.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Nguồn nấm *Fusarium solani* gây bệnh vàng lá thối rữa trên cam sành được cung cấp từ Phòng Thí nghiệm Sinh học Đất, Bộ môn Khoa học Đất, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ.

Hai dòng vi khuẩn M5.1 và M6 được phân lập từ hạt mè lên men được cung cấp từ Phòng Thí nghiệm Sinh học Đất, Bộ môn Khoa học Đất, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ.

Môi trường TSB (Tryptose Soybean Broth) dùng để nuôi cấy vi khuẩn trong 1 L dung dịch gồm: 17 g Tryptone, 3 g Papaic digest soybean meal, 2,5 g Glucose, 2,5 g Dipotassium phosphate và 5 g Sodium chloride.

Môi trường TSA (Tryptose Soybean Agar) dùng để xác định mật số vi khuẩn trong 1L dung dịch gồm: 30 g Tryptose Soybean Broth (TSB) và 15 g Agar.

Môi trường PDA dùng để nuôi cấy nấm. Thành phần môi trường PDA trong 1L dung dịch gồm: 4 g Extract Potatoes, 20 g Dextrose và 15 g Agar.

Môi trường lỏng Potato Dextrose Broth (PDB) được chuẩn bị như sau: Đun 200 g khoai tây trong 1 L nước khử khoáng trong 40 phút. Lọc thu dịch chiết

và loại bỏ cặn. Hòa tan 20 g Dextrose vào dịch chiết, thêm nước khử khoáng đến thể tích 1 L.

2.2. Đánh giá khả năng đối kháng của hai dòng vi khuẩn M5.1 và M6 với nấm *Fusarium solani* gây bệnh vàng lá thối rữa trên môi trường PDA

2.2.1. Chuẩn bị nguồn nấm và vi khuẩn

Nguồn nấm *Fusarium solani* được nuôi cấy trên môi trường PDA 5 ngày trước thời gian bố trí thí nghiệm. Sau đó, dùng pasteur pipette tiệt trùng có đường kính 0,6 cm để cắt thành các khối agar có chứa sợi nấm phát triển.

Vi khuẩn: Sinh khối khuẩn lạc của hai dòng vi khuẩn được cho vào bình tam giác 100 mL có chứa 50 mL môi trường TSB tiệt trùng. Mẫu được đặt lên trên máy lắc tròn với tốc độ 120 vòng/phút trong 48 giờ dưới điều kiện phòng thí nghiệm. Hút 100 μ L dung dịch huyền phù của hai dòng vi khuẩn sau khi được tăng sinh để kiểm tra mật số vi khuẩn theo phương pháp nhỏ giọt (Hoben and Somasegaran, 1982), bằng cách pha loãng dung dịch vi khuẩn theo hệ số 10 với các nồng độ pha loãng khác nhau, sau đó hút 50 μ L dung dịch vi khuẩn của mỗi nồng độ pha loãng và nhỏ 5 giọt lên trên bề mặt môi trường TSA, thực hiện 3 lần lặp lại cho mỗi dòng vi khuẩn. Các đĩa petri chứa vi khuẩn được đặt trong tủ ủ ở nhiệt độ 35°C trong 24 giờ, đếm số khuẩn lạc hiện diện trên bề mặt đĩa từ đó tính mật số vi khuẩn sau 48 giờ nuôi cấy lỏng trong môi trường TSB. Sau đó, tiến hành hiệu chỉnh mật số vi khuẩn về 10^7 CFU.mL⁻¹ bằng nước cất tiệt trùng.

2.2.2. Bố trí thí nghiệm

Việc khảo sát khả năng đối kháng của hai dòng vi khuẩn M5.1 và M6 với nấm *Fusarium solani* gây bệnh vàng lá thối rễ trên cam sành được thực hiện với 3 phương pháp bố trí khác nhau nhằm tìm ra thời điểm xử lý để hai dòng vi khuẩn đối kháng cho hiệu quả tốt nhất. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 3 nghiệm thức với 6 lần lặp lại, hai lặp lại được thực hiện trên 1 đĩa petri chứa 20 mL môi trường PDA tiệt trùng. Các nghiệm thức thí nghiệm như sau: (1) Vi khuẩn đối kháng được đặt lên trên môi trường PDA cùng thời điểm với nấm *Fusarium solani*; (2) Vi khuẩn đối kháng được đặt lên trên môi trường PDA trước nấm *Fusarium solani* 24 giờ; và (3) Vi khuẩn đối kháng được đặt lên trên môi trường PDA sau nấm *Fusarium solani* 24 giờ.

Việc khảo sát khả năng đối kháng với nấm *Fusarium solani* gây bệnh vàng lá thối rễ trên cam sành được thực hiện theo phương pháp của Denis and Webster (1971). Việc đặt vi khuẩn hoặc nấm vào trong đĩa môi trường PDA được thực hiện cùng lúc hoặc trước hoặc sau. Tuy nhiên, phương pháp bố trí thí nghiệm được mô tả ngắn gọn như sau: Trước tiên, dùng bút lông chia đĩa môi trường ra làm 4 phần đều nhau, sau đó đặt một khối agar có đường kính 0,6 cm chứa hệ sợi của dòng nấm *Fusarium solani* đang phát triển tốt lên trên đĩa petri chứa môi trường PDA vào vị trí chính giữa đĩa. Tiến hành cho giấy lọc có đường kính 1cm đã được tiệt trùng vào dung dịch huyền phù vi khuẩn có nồng độ 10^7 cfu.mL⁻¹ trong 10 phút và

đặt các khoanh giấy thấm chứa sinh khối vi khuẩn này lên trên bề mặt đĩa môi trường nuôi cấy ở hai vị trí đối xứng nhau tương ứng với 1 dòng vi khuẩn, hai vị trí còn lại là vị trí chứa mẫu đối chứng được thực hiện tương tự với giấy lọc tuy nhiên giấy lọc được nhúng trong nước cất tiệt trùng. Giấy lọc được đặt lên trên bề mặt đĩa môi trường nuôi cấy trong 1 phút và tiến hành gấp giấy lọc ra khỏi đĩa petri. Các đĩa petri chứa mẫu được đặt vào trong tủ ủ ở nhiệt độ ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) và ghi nhận khả năng đối kháng của hai dòng vi khuẩn với nấm *Fusarium solani* bằng cách đo bán kính nấm về phía có vi khuẩn và bán kính nấm về phía đối chứng vào các thời điểm 3, 5, 7 và 9 ngày sau bố trí và tính phần trăm đối kháng theo công thức (3.1).

Phần trăm đối kháng của vi khuẩn (Percent Inhibition - PI) được tính theo công thức được tính theo công thức Abbott (Phạm Văn Biên và ctv., 2005):

$$PI = (R - r)/R \times 100 \quad (3.1)$$

Trong đó: PI: Phần trăm đối kháng của vi khuẩn.

R: Bán kính khuẩn ty của dòng nấm gây bệnh về phía đối chứng (mm).

r: Bán kính khuẩn ty của dòng nấm gây bệnh về phía có vi khuẩn (mm).

2.3. Đánh giá khả năng ức chế sự hình thành và phát triển bào tử nấm *Fusarium solani* của 2 dòng vi khuẩn tuyển chọn M5.1 và M6 trong môi trường PDB

2.3.1. Nguyên vật liệu

Việc chuẩn bị nguồn vi khuẩn đối kháng được thực hiện tương tự như mục 2.2.1.

Chuẩn bị huyền phù nấm *Fusarium solani*: Nấm *Fusarium solani* được nuôi cấy trên môi trường PDA 7 ngày trước khi bố trí thí nghiệm. Cho 15 mL nước cất thanh trùng và 1 giọt Tween 80 vào đĩa petri chứa nấm *Fusarium solani*, sau đó dùng lame kính tiệt trùng cạo nhẹ trên bề mặt môi trường để thu hết nguồn nấm đang phát triển trên bề mặt môi trường. Cho huyền phù nấm vừa thu được vào falcon tiệt trùng và trộn đều bằng cách vortex trong 1 phút. Sau đó hỗn hợp huyền phù nấm này được lọc qua 3 lớp vải mỏng để loại bỏ khuẩn ty nấm. Xác định mật số nấm thu được bằng cách đếm số lượng bào tử có trong huyền phù bằng lame đếm hồng cầu và hiệu chỉnh mật số nấm về 10^6 bào tử.mL⁻¹.

2.3.2. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm 3 nghiệm thức với 3 lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức. Nghiệm thức đối chứng là môi trường PDB không chứa huyền phù vi khuẩn. Các nghiệm thức được liệt kê như sau:

- Nghiệm thức 1: Đối chứng.
- Nghiệm thức 2: Huyền phù vi khuẩn M5.1.
- Nghiệm thức 2: Huyền phù vi khuẩn M6.

Thí nghiệm khảo sát khả năng ức chế hình thành bào tử được thực hiện theo phương pháp của Dương Minh (2010). Cho huyền phù bào tử nấm *Fusarium solani* đã được chuẩn bị trước đó vào bình tam giác 50mL có chứa 30mL môi trường PDB tiệt trùng để mật số nấm trong bình đạt 10^6 bào tử.mL⁻¹ môi trường nuôi cấy. Hút 1mL huyền phù vi khuẩn M5.1 hoặc

M6 có mật số 10^7 cfu.mL⁻¹ cho vào các bình tam giác với nghiệm thức tương ứng. Sau đó, các bình tam giác chứa mẫu được đặt trên máy lắc với tốc độ 80 vòng/phút ở điều kiện nhiệt độ phòng thí nghiệm và tiến hành ghi nhận chỉ tiêu số lượng bào tử/mL môi trường nuôi cấy, đồng thời quan sát hình dạng bào tử nấm ở các thời điểm 3, 5 và 7 ngày sau khi bố trí thí nghiệm.

$$\text{HQƯC (\%)} = \frac{\text{BTNT}_{\text{đc}} - \text{BTNT}_i}{\text{BTNT}_{\text{đx}}} \times 100$$

Trong đó: HQƯC: Hiệu quả ức chế của vi khuẩn (%).

BTNT_{đc}: Số lượng bào tử của nấm bệnh ở nghiệm thức đối chứng (bào tử).

BTNT_i: Số lượng bào tử nấm bệnh ở các nghiệm thức có bổ sung huyền phù vi khuẩn (bào tử).

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thí nghiệm được tổng hợp, tính toán bằng phần mềm Microsoft Excel và kiểm định thống kê ANOVA bằng phần mềm Minitab 16.2.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá hiệu quả đối kháng của hai dòng vi khuẩn M5.1 và M6 với nấm *Fusarium solani* gây bệnh vàng lá thối rễ trên môi trường PDA

* **Phương pháp bố trí 1:** Vi khuẩn đối kháng được đặt lên trên môi trường PDA cùng thời điểm với nấm *Fusarium solani*.

Kết quả khảo sát khả năng đối kháng của hai dòng vi khuẩn M5.1 và M6 khi vi khuẩn đối kháng được đặt cùng thời điểm với nấm *Fusarium solani* được

trình bày ở bảng 1. Nhìn chung, cả hai dòng vi khuẩn đều thể hiện khả năng đối kháng rất tốt với nấm *Fusarium solani* và có hiệu suất đối kháng (HSDK) dao động từ 53,1 - 69,1%. Cụ thể, ở thời điểm 3 ngày sau bố trí (NSBT), dòng vi khuẩn M5.1 có HSDK đạt 69,1%; sau đó, HSDK của dòng vi khuẩn M5.1 giảm dần ở thời điểm 5 và 7 NSBT lần lượt

đạt 65,7% và 60,8%; tuy nhiên, tại thời điểm 9 NSBT dòng vi khuẩn này có HSDK tăng lên đạt 68,0%. Đối với dòng vi khuẩn M6 tại thời điểm 3 và 5 NSBT có HSDK lần lượt đạt 53,8% và 53,1%; sau đó, dòng vi khuẩn này có HSDK tăng dần vào thời điểm 7 và 9 NSBT với HSDK lần lượt đạt 65,9% và 66,9%.

Bảng 1. Hiệu suất đối kháng của hai dòng vi khuẩn được đặt cùng một thời điểm với nấm *Fusarium solani* ở các thời điểm 3, 5, 7 và 9 ngày sau bố trí

STT	Nghiệm thức	Hiệu suất đối kháng (%)			
		3 NSBT	5 NSBT	7 NSBT	9 NSBT
1	M5.1	69,1 ^a	65,7 ^a	60,8 ^b	68,0 ^a
2	M6	53,8 ^b	53,1 ^b	65,9 ^a	66,9 ^a
	F	*	*	*	ns
	CV (%)	13,1	11,1	4,52	1,88

Ghi chú: *: Khác biệt ý nghĩa ở mức 5%; ns: Không khác biệt ý nghĩa thống kê; NSBT: Ngày sau bố trí; M: Mê; Trong cùng một cột, các chữ số có mẫu tự theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo phép thử Tukey's.

Tóm lại, có thể thấy HSDK của dòng vi khuẩn M5.1 có xu hướng không ổn định qua mỗi thời điểm ghi nhận. Trong khi, dòng vi khuẩn M6 có xu hướng tăng dần qua các thời điểm lấy chỉ tiêu với HSDK lần lượt là 53,3%, 53,1%, 65,9% và 66,9%.

*** Phương pháp bố trí 2:** Vi khuẩn đối kháng được đặt lên trên môi trường PDA trước nấm *Fusarium solani* 24 giờ.

Kết quả khảo sát khả năng đối kháng của hai dòng vi khuẩn M5.1 và M6 khi vi khuẩn đối kháng được đặt trước nấm *Fusarium solani* 24 giờ được trình bày trong bảng 2. Nhìn chung, cả hai dòng vi khuẩn đều thể hiện khả năng đối kháng rất tốt với nấm *Fusarium solani* và có HSDK dao động từ 61,4 - 82,7%. Cụ thể, ở thời điểm 3 NSBT, cả hai dòng vi khuẩn đều có HSDK cao nhất lần lượt

đạt 82,7% (M5.1) và 77,3% (M6) so với các thời điểm theo dõi. Sang thời điểm 5 NSBT, cả hai dòng vi khuẩn M5.1 và M6 đều có hiệu quả đối kháng giảm rõ rệt so với thời điểm 3 NSBT với HSDK lần lượt đạt 66,7% và 61,4%. Tại thời điểm 7 NSBT, HSDK của hai dòng vi khuẩn tăng trở lại, tuy nhiên không nhiều so với thời điểm 5 NSBT. Đến thời điểm 9 NSBT, dòng vi khuẩn M6 thể hiện khả năng đối kháng cao hơn với HSDK đạt 69,3% và khác biệt ý nghĩa thống kê khi so sánh với dòng vi khuẩn M5.1 đạt 66,9% ($p < 0,05$). Qua đó có thể thấy, khi hai dòng vi khuẩn M5.1 và M6 được đặt lên trên môi trường PDA trước nấm *Fusarium solani* 24 giờ có HSDK lần lượt đạt 82,7% và 77,3% cao hơn so với phương pháp bố trí khi vi khuẩn được đặt cùng thời điểm với nấm gây bệnh tại thời điểm 3 NSBT.

Bảng 2. Hiệu suất đối kháng của hai dòng vi khuẩn được đặt trước nấm *Fusarium solani* 24 giờ ở các thời điểm 3, 5, 7 và 9 ngày sau bố trí

STT	Nghiệm thức	Hiệu suất đối kháng (%)			
		3 NSBT	5 NSBT	7 NSBT	9 NSBT
1	M5.1	82,7 ^a	66,7 ^a	68,3 ^a	66,9 ^b
2	M6	77,3 ^b	61,4 ^b	64,4 ^b	69,3 ^a
	F	*	*	*	*
	CV (%)	3,65	4,66	3,43	2,47

Ghi chú: *: Khác biệt ý nghĩa ở mức 5%; NSBT: Ngày sau bố trí; M: Mè; Trong cùng một cột, các chữ số có mẫu tự theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo phép thử Tukey's.

* **Phương pháp bố trí 3:** Vi khuẩn đối kháng được đặt lên trên môi trường PDA sau nấm *Fusarium solani* 24 giờ

Kết quả khảo sát khả năng đối kháng của hai dòng vi khuẩn M5.1 và M6 khi vi khuẩn đối kháng được đặt sau nấm *Fusarium solani* 24 giờ được trình bày trong bảng 3. Nhìn chung, cả hai dòng vi khuẩn đều thể hiện khả năng đối kháng rất tốt với nấm *Fusarium solani* với HSDK dao động 24,7 - 61,7%. Cụ thể, ở thời điểm 3 NSBT, dòng vi khuẩn M5.1 có HSDK cao hơn đạt 36,1% và khác biệt ý nghĩa thống kê khi so sánh với dòng vi khuẩn M6 đạt 24,7% ($p < 0,05$). Đến thời điểm 5 NSBT cả hai dòng vi khuẩn M5.1 và M6 đều có HSDK tăng mạnh, với HSDK lần lượt đạt 61,1% và 56,5%. Đến thời điểm 7 NSBT, dòng vi

khuẩn M5.1 vẫn duy trì khả năng đối kháng cao với nấm *Fusarium solani* với HSDK là 61,7% và khác biệt ý nghĩa thống kê khi so sánh với dòng vi khuẩn M6 đạt 52,6% ($p < 0,05$). Ở thời điểm 9 NSBT, hiệu quả đối kháng của dòng vi khuẩn M5.1 có xu hướng giảm với HSDK đạt 58,6%. Trong khi đó, dòng vi khuẩn M6 có HSDK đạt 58,3% cao hơn so với thời điểm 7 NSBT, tuy nhiên không khác biệt ý nghĩa thống kê khi so sánh với dòng vi khuẩn M5.1 ($p > 0,05$). Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi hai dòng vi khuẩn M5.1 và M6 được đặt sau nấm *Fusarium solani* 24 giờ có HSDK lần lượt đạt 36,1% và 24,7% thấp hơn so với phương pháp bố trí khi vi khuẩn được đặt trước nấm gây bệnh 24 giờ ở thời điểm 3 NSBT.

Bảng 3. Hiệu suất đối kháng của hai dòng vi khuẩn được đặt sau nấm *Fusarium solani* 24 giờ ở các thời điểm 3, 5, 7 và 9 ngày sau bố trí

STT	Nghiệm thức	Hiệu suất đối kháng (%)			
		3 NSBT	5 NSBT	7 NSBT	9 NSBT
1	M5.1	36,1 ^a	61,1 ^a	61,7 ^a	58,6 ^a
2	M6	24,7 ^b	56,5 ^b	52,6 ^b	58,3 ^a
	F	*	*	*	ns
	CV (%)	19,7	4,65	8,64	2,14

Ghi chú: *: Khác biệt ý nghĩa ở mức 5%; ns: Không khác biệt; NSBT: Ngày sau bố trí; M: Mè; Trong cùng một cột, các chữ số có mẫu tự theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo phép thử Tukey's.

3.2. Đánh giá khả năng ức chế sự hình thành và phát triển bào tử nấm *Fusarium solani* của 2 dòng vi khuẩn tuyển chọn M5.1 và M6 trong môi trường PDB

Kết quả khảo sát khả năng ức chế sự hình thành bào tử nấm *Fusarium solani* của 2 dòng vi khuẩn M5.1 và M6 được trình bày trong bảng 4. Nhìn chung, hai dòng vi khuẩn M5.1 và M6 đều có khả năng ức chế tốt sự hình thành bào tử khi có mật số bào tử nấm *Fusarium solani*

đếm được ở tất cả các thời điểm thấp hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê khi so sánh với nghiệm thức đối chứng ($p < 0,05$). Cụ thể, ở thời điểm 3 NSBT mật số bào tử đếm được ở nghiệm thức chủng riêng lẻ từng dòng vi khuẩn M5.1 và M6 lần lượt là 5,61 log(bào tử/mL) và 5,39 log(bào tử/mL), không khác biệt ý nghĩa thống kê khi so sánh với nhau ($p > 0,05$), đồng thời thấp hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê khi so sánh với nghiệm thức đối chứng đạt 6,44 log(bào tử/mL) ($p < 0,05$).

Bảng 4. Mật số bào tử nấm *Fusarium solani* trong môi trường PDB ở các nghiệm thức theo thời gian nuôi cấy

STT	Nghiệm thức	Log mật số bào tử (log(bào tử/mL))		
		3 NSBT	5 NSBT	7 NSBT
1	Đối chứng	6,44 ^a	7,07 ^a	7,31 ^a
2	M5.1	5,61 ^b	5,46 ^b	5,71 ^b
3	M6	5,39 ^b	5,37 ^b	5,47 ^b
	<i>F</i>	*	*	*
	<i>CV</i> (%)	8,31	14,1	12,3

Ghi chú: *: Khác biệt ý nghĩa ở mức 5%; NSBT: Ngày sau bố trí; M: Mè; Trong cùng một cột, các chữ số có mẫu tự theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo phép thử Tukey's.

Tại thời điểm 5 NSBT, mật số bào tử đếm được ở nghiệm thức chủng riêng lẻ từng dòng vi khuẩn M5.1 và M6 lần lượt là 5,46 log(bào tử/mL) và 5,37 log(bào tử/mL) thấp hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê khi so sánh với nghiệm thức đối chứng đạt 7,07 log(bào tử/mL) ($p < 0,05$). Đối với thời điểm 7 NSBT, mật số bào tử đếm được ở các nghiệm thức lần lượt là 7,31 log(bào tử/mL) (đối chứng), 5,71 log(bào tử/mL) ở nghiệm thức chủng dòng vi khuẩn M5.1 và 5,47 log (bào tử/ml) ở nghiệm thức chủng dòng vi

khuẩn M6. Điều này có thể là do hai dòng vi khuẩn này tiết ra một số enzyme hoặc chất có hoạt tính gây ức chế hoặc giết chết sự hình thành sợi nấm và bào tử nấm *Fusarium solani* trong môi trường PDB.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu này chứng minh được hai dòng vi khuẩn phân lập M5.1 và M6 có chức năng đối kháng sinh học với nấm *Fusarium solani* gây bệnh vàng lá thối rễ trên cây cam Sành và đồng thời xác định được thời điểm chủng thích hợp

để hai dòng vi khuẩn đối kháng cho hiệu quả tốt nhất khi ứng dụng trong việc phòng trừ bệnh hại cây trồng. Hai dòng vi khuẩn M5.1 và M6 tuyển chọn có khả năng đối kháng cao với nấm *Fusarium solani* khi vi khuẩn đối kháng được đặt lên trên môi trường PDA trước nấm gây bệnh 24 giờ so với các điều kiện thí nghiệm còn lại (đặt cùng thời điểm và đặt sau nấm gây bệnh 24 giờ). Bên cạnh đó, hai dòng vi khuẩn M5.1 và M6 tuyển chọn có hiệu quả ức chế cao đối với sự hình thành và phát triển bào tử nấm *Fusarium solani* trong môi trường PDB ở điều kiện phòng thí nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dennis, C. and Webster, J. (1971), Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: II. Production of volatile antibiotics. Transactions of the British Mycological Society, 57: 363 - 369.
2. Dương Minh (2010), Khảo sát tác động đối kháng của nấm *Trichoderma* sp. đối với nấm *Fusarium solani* gây bệnh thối rễ trên cam quýt tại ĐBSCL. Luận án Tiến sĩ Nông nghiệp chuyên ngành Bảo vệ thực vật. Khoa Nông nghiệp. Trường Đại học Cần Thơ.
3. Đoàn Hữu Tiến (2006), Đánh giá và phân tích hiệu quả kinh tế cây cam Sành tại nông hộ ở Tiền Giang và Vĩnh Long. Luận văn Thạc sĩ Kinh tế. Khoa Kinh tế. Trường Đại học Cần Thơ.
4. Hà Minh Trung, Ngô Vĩnh Viễn, Vũ Đình Phú, Đặng Thị Bình, Trần Duy Thọ và Trịnh Thị Toàn (2001), Hiện tượng bệnh vàng lá greening trên cây có múi và một số kết quả nghiên cứu ở miền Bắc. Hội thảo lần 2 Bệnh vàng lá greening trên cây có múi, SOFRI.
5. Hoben, H.J. and Somasegaran, P. (1982), Comparison of the pour, spread and drop-plate methods for the enumeration of *Rhizobium* spp. in inoculants made from presterilized peat. Appl. Environ. Microbiol, 44: 1246 - 1247.
6. Nguyễn Hữu Thiện và Nguyễn Thị Thúy Kiều (2019), Phân lập và định danh một số dòng vi khuẩn từ hạt ngũ cốc lên men có khả năng đối kháng với một số nấm bệnh gây hại trên ớt trong điều kiện in vitro. Luận văn Đại học chuyên ngành Bảo vệ thực vật. Khoa Nông nghiệp. Trường Đại học Cần Thơ.
7. Nguyễn Thị Thu Cúc và Phạm Hoàng Oanh (2002), Dịch hại trên cam, chanh, quýt, bưởi (Rutaceae) và IPM. NXB Nông nghiệp, Cần Thơ, 258 trang.
8. Phạm Văn Biên, Bùi Cách Tuyến và Nguyễn Mạnh Chính (2005), Cẩm nang sâu bệnh hại cây trồng, Quyển 1: Cây lương thực, Cây thực phẩm, Cây hoa cảnh. NXB Nông nghiệp, Thành phố Hồ Chí Minh, 595 trang.

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG KIỂM SOÁT BỆNH THÁN THƯ TRÊN ỚT DO NẤM *Colletotrichum* sp. CỦA HAI DÒNG VI KHUẨN *Bacillus* sp. M3 VÀ *Bacillus* sp. G5 Ở ĐIỀU KIỆN NHÀ LƯỚI

Nguyễn Hữu Thiện², Trần Thị Cẩm Nhung¹, Nguyễn Khởi Nghĩa^{2*}

¹Cựu sinh viên ngành Bảo vệ thực vật, Khoa Nông nghiệp,
Trường Đại học Cần Thơ

²Bộ môn Khoa học đất, Khoa Nông nghiệp,
Trường Đại học Cần Thơ

*Tác giả liên hệ: nknghia@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện trong điều kiện nhà lưới nhằm mục tiêu đánh giá hiệu quả kiểm soát bệnh thán thư trên ớt do nấm *Colletotrichum* sp. gây ra của hai dòng vi khuẩn *Bacillus* sp. M3 và *Bacillus* sp. G5 với ba biện pháp gồm; (1) Phun vi khuẩn hai ngày trước chủng bệnh; (2) Phun vi khuẩn hai ngày trước và sau chủng bệnh; (3) Phun vi khuẩn hai ngày sau chủng bệnh. Kết quả cho thấy cả hai dòng vi khuẩn đều có hiệu quả tốt trong kiểm soát bệnh. Trong đó, dòng *Bacillus* sp. M3 ức chế hiệu quả mầm bệnh và duy trì đến 16 ngày sau chủng bệnh. Chỉ số bệnh ở nghiệm thức phun vi khuẩn M3 ở hai thời điểm trước và sau chủng bệnh đạt 22,2% và không khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức phun thuốc hóa học. Bên cạnh đó, hiệu quả phòng trị bệnh thán thư của hai dòng vi khuẩn *Bacillus* sp. M3 và *Bacillus* sp. G5 riêng lẻ thể hiện tốt nhất khi được phun trước và sau khi chủng bệnh.

Từ khóa: *Bacillus* sp., bệnh thán thư, *Colletotrichum* sp., phòng trừ sinh học, vi khuẩn.

ABSTRACT

Assessment of potential in controlling anthracnose disease on chili causing by *Colletotrichum* sp. of two bacteria *Bacillus* sp. M3 and *Bacillus* sp. G5 under net house condition

The study was conducted under net house condition to evaluate the effectiveness of two bacterial strains, *Bacillus* sp. M3 and *Bacillus* sp. G5 in controlling anthracnose on caused by *Colletotrichum* sp. by observing the disease index when conducted with 3 treatments including: (1) Spraying bacterial solution two days before pathogenic inoculation; (2) Spraying the bacterial solution two days before and after pathogenic

Người phân biên: PGS.TS. Nguyễn Thị Thu Nga.

innoculation; and (3) Spraying the bacterial solution two days after pathogenic inoculation. Results showed that both strains of *Bacillus* sp. M3 and *Bacillus* sp. G5 were very effective singly in controlling anthracnose in chilli. However, the strain of *Bacillus* sp. M3 exhibited the most pathogenic inhibitory effects and remained effectively for up to 16 days after pathogenic inoculation. Index of chilli anthracnose in treatment with M3 strain at two times before and after the pathogenic inoculation reached 22.2%, and equivalent with the chemical fungicide spray treatment. Besides, the effectiveness of anthracnose prevention of *Bacillus* sp. M3 and *Bacillus* sp. G5 performed singly best when treated before and after the pathogen was inoculated.

Keywords: anthracnose, bacteria, *Bacillus* sp., bio-control, *Colletotrichum* sp.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cũng như nhiều loại cây trồng khác, chất lượng và sản lượng của cây ớt cay (*Capsicum* sp.) bị đe dọa nghiêm trọng bởi các loại bệnh hại, trong đó, bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum* spp. gây ra là một trong những bệnh đặc biệt quan trọng do mầm bệnh có khả năng gây hại vào tất cả các giai đoạn sinh trưởng trên nhiều bộ phận của cây, làm mất giá trị thương phẩm. Việc sử dụng thuốc hóa học liên tục trong thời gian dài để phòng trừ bệnh hại sẽ làm mầm bệnh dễ hình thành tính kháng, ô nhiễm môi trường, mất cân bằng hệ sinh thái nông nghiệp, đồng thời còn gây ra hiện tượng lưu tồn các hóa chất độc hại trong nông sản gây ảnh hưởng đến sức khỏe người tiêu dùng (Trần Ánh Lua, 2016). Nhiều công trình nghiên cứu đã ghi nhận các dòng vi khuẩn thuộc chi *Bacillus* có khả năng kiểm soát tốt nấm *Colletotrichum* spp. gây hại trên nhiều loại cây trồng và mang lại hiệu quả cao. Điển hình như nghiên cứu của Nguyễn Hữu Thiện và Nguyễn Thị Thúy Kiều (2019) đã cho thấy hai chủng vi khuẩn thuộc chi *Bacillus* có ký hiệu *Bacillus subtilis* M3 và *Bacillus velezensis* G5 được phân lập lần lượt từ hạt mè và hạt gạo lên men có khả

năng đối kháng tốt với ba dòng nấm gây bệnh trên ớt gồm nấm *Colletotrichum* sp., *Rhizoctonia solani* và *Fusarium oxysporum* ở quy mô phòng thí nghiệm, trong đó dòng vi khuẩn M3 có khả năng đối kháng cao nhất với nấm *Colletotrichum* sp. với hiệu suất đối kháng đạt 45,15%. Tuy nhiên, việc đánh giá hiệu quả của hai dòng vi khuẩn *Bacillus* sp. phân lập này lên khả năng đối kháng với nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên ớt ở điều kiện nhà lưới vẫn chưa thực hiện. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục tiêu đánh giá hiệu quả phòng trừ sinh học bệnh thán thư trên ớt do nấm *Colletotrichum* sp. gây ra của hai dòng vi khuẩn phân lập có chức năng đối kháng sinh học tốt nấm *Colletotrichum* sp. ở điều kiện nhà lưới.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Hai dòng vi khuẩn *Bacillus* sp. M3 và *Bacillus* sp. G5 được phân lập lần lượt từ hạt mè và hạt gạo lên men có khả năng đối kháng tốt với dòng nấm *Colletotrichum* sp., trong đó dòng vi khuẩn M3 có hiệu suất đối kháng đạt 45,15% và dòng vi khuẩn G5 đạt 37,61% trong điều kiện in

in vitro (Nguyễn Hữu Thiện và Nguyễn Thị Thúy Kiều, 2019) được cung cấp từ phòng thí nghiệm Vi sinh vật Đất, Bộ môn Khoa học Đất, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ (bảng 1).

Nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên ớt được cung cấp từ phòng thí nghiệm Vi sinh vật Đất, Bộ môn Khoa học Đất, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ.

Bảng 1. Thông tin hai dòng vi khuẩn *Bacillus* sp. M3 và *Bacillus* sp. G5 được sử dụng trong nghiên cứu

Dòng	Nguồn gốc	Độ tương đồng (%)	Các dòng vi khuẩn trên cơ sở dữ liệu		Định danh
			Tên loài vi khuẩn	Số đăng ký	
M3	Hạt mè	99,70%	<i>Bacillus</i> sp. IAM 12118	NR 112116.2	<i>Bacillus</i> sp. M3
G5	Hạt gạo	99,61%	<i>Bacillus</i> sp. FZB42	NR 075005.2	<i>Bacillus</i> sp. G5

2.2. Phương pháp nghiên cứu

* **Chuẩn bị ớt khỏe:** Trồng và chăm sóc theo quy trình của Trần Thị Ba và Võ Thị Bích Thủy (2019). Giá thể trồng ớt được trộn với tỉ lệ 2 đất:2 phân bò:1 xơ dừa theo thành phần khối lượng. Ngoài ra, thực hiện phun thuốc theo định kỳ nhằm phòng ngừa bọ trĩ và nhện vào giai đoạn cây con và trước khi chủng bệnh 15 ngày.

* **Nguồn vi khuẩn đối kháng:** Vi khuẩn được tăng sinh bằng môi trường TSB (trong 1 lít dung dịch TSB gồm: 17 g Tryptone; 3 g Papaic digest soybean meal; 2,5 g Glucose; 2,5 g Dipotassium phosphate và 5 g Sodium chloride) trên máy lắc tròn với tốc độ 120 vòng/phút trong 48 giờ. Tiến hành hiệu chỉnh mật số vi khuẩn về 10^7 cfu/mL bằng nước cất tiệt trùng để thực hiện thí nghiệm đánh giá khả năng phòng trị bệnh thán thư trên ớt của hai dòng vi khuẩn ở điều kiện nhà lưới thông qua việc kiểm tra mật số vi khuẩn bằng phương pháp đếm sống nhỏ giọt (Hoben and Somasegaran, 1982).

* **Nấm *Colletotrichum* sp.:** Được nuôi cấy trên môi trường PDA trong 10

ngày để tạo bào tử. Thu bào tử nấm bằng cách cho 10 mL nước cất vô trùng vào đĩa petri chứa nguồn nấm đang phát triển, thu lấy bào tử nấm và cho qua vải lọc 2 lớp vô trùng nhằm loại bỏ sợi nấm, xác định mật số nấm bằng lam đếm hồng cầu và hiệu chỉnh mật số đạt $2,5 \times 10^6$ bào tử/mL. Huyền phù sau khi chuẩn bị xong được thêm vào 1% Tween 80 theo thể tích trước khi sử dụng để chủng bệnh nhân tạo.

2.3. Nghiệm thức thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 11 nghiệm thức, 3 lần lặp lại, mỗi lặp lại được thực hiện trên 1 cây ớt khỏe, cho trái đồng đều, các nghiệm thức gồm:

Nghiệm thức 1: Phun nước cất tiệt trùng (Đối chứng).

Nghiệm thức 2: Phun vi khuẩn M3 2 ngày trước chủng bệnh (PT-M3).

Nghiệm thức 3: Phun vi khuẩn G5 2 ngày trước chủng bệnh (PT-G5).

Nghiệm thức 4: Phun vi khuẩn M3 và G5 2 ngày trước chủng bệnh (PT-M3+G5).

Nghiệm thức 5: Phun vi khuẩn M3 2 ngày trước và sau chủng bệnh (PT+PS-M3).

Nghiệm thức 6: Phun vi khuẩn G5 2 ngày trước và sau chủng bệnh (PT+PS-G5).

Nghiệm thức 7: Phun vi khuẩn M3 và G5 2 ngày trước và sau chủng bệnh (PT+PS-M3+G5).

Nghiệm thức 8: Phun vi khuẩn M3 2 ngày sau chủng bệnh (PS-M3).

Nghiệm thức 9: Phun vi khuẩn G5 2 ngày sau chủng bệnh (PS-G5).

Nghiệm thức 10: Phun vi khuẩn M3 và G5 2 ngày sau khi chủng bệnh (PS-M3+G5).

Nghiệm thức 11: Phun thuốc hóa học hoạt chất Kresoxim-methyl theo nồng độ khuyến cáo (250 mg/L) sau chủng bệnh 2 ngày (HH).

2.4. Tiến hành thí nghiệm

Việc đánh giá hiệu quả phòng và trị đối với dòng nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên ớt trong điều kiện nhà lưới của hai dòng vi khuẩn thử nghiệm được tiến hành theo phương pháp của Huỳnh Thị Ngọc Hân (2016).

Chọn những cây ớt có số lượng và chất lượng trái tương đối đồng đều để thực hiện bố trí thí nghiệm, sau đó dùng dụng

cụ phun vi sinh vật (hand sprayer) để phun 40 mL huyền phù bào tử nấm/chậu với mật số $2,5 \times 10^6$ bào tử/mL, phun ướt đều toàn cây vào lúc chiều mát (không tạo vết thương nhân tạo trên quả), sau đó thực hiện che mát và tạo điều kiện giữ ẩm cho nấm bệnh xâm nhiễm. Các nghiệm thức phun vi khuẩn đối kháng được thực hiện tương tự như phun huyền phù bào tử nấm, tuy nhiên với thể tích phun 80 mL ở mật số 10^7 cfu/mL cho một lần lặp lại (mỗi cây) và phun ướt đều lên toàn cây theo từng nghiệm thức tương ứng.

2.5. Chỉ tiêu theo dõi

Đo đường kính phát triển của vết bệnh và so sánh với bảng phân cấp chỉ số bệnh theo quy chuẩn Việt Nam được ban hành bởi Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn năm 2014 (QCVN 01-160: 2014/BNNPTNT) để đánh giá chỉ số nhiễm bệnh của quả ớt trên từng lặp lại. Đồng thời, đếm số lượng quả ớt bị nhiễm bệnh vào thời điểm 4, 8, 12 và 16 ngày sau khi chủng bệnh để xác định tỷ lệ nhiễm bệnh và hiệu quả giảm bệnh ở từng lặp lại của mỗi nghiệm thức.

* Công thức tính chỉ số bệnh:

$$\text{Chỉ số bệnh (\%)} = \frac{(n_1 \times 1) + (n_3 \times 3) + (n_5 \times 5) + (n_7 \times 7) + (n_9 \times 9)}{(N \times C)} \times 100$$

Trong đó: n_1, n_3, n_5, n_7, n_9 lần lượt là số trái bị bệnh cấp 1, 3, 5, 7, 9.

N: Tổng số trái điều tra.

C: Cấp bệnh quy ước cao nhất (9).

n_1 : Số trái bị bệnh ở cấp 1 với $\geq 5\%$ diện tích trái nhiễm bệnh.

n_3 : Số trái bị bệnh ở cấp 3 với $> 5 - 15\%$ diện tích trái nhiễm bệnh.

n_5 : Số trái bị bệnh ở cấp 5 với $> 15 - 25\%$ diện tích trái nhiễm bệnh.

n_7 : Số trái bị bệnh ở cấp 7 với $> 25 - 50\%$ diện tích trái nhiễm bệnh.

n_9 : Số trái bị bệnh ở cấp 9 với $> 50\%$ diện tích trái nhiễm bệnh.

2.6. Xử lý số liệu

Số liệu thí nghiệm được xử lý trên phần mềm MS Excel và kiểm định thống kê ANOVA, so sánh bằng phép thử Tukey's bằng phần mềm Minitab 16.2.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả khảo sát khả năng phòng, trị của 2 dòng vi khuẩn M3 và G5 với nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên ớt trong điều kiện nhà lưới thông qua chỉ số bệnh được trình bày ở bảng 2 cho thấy cả 2 dòng vi khuẩn M3 và G5 đều thể hiện khả năng kiểm soát tốt mầm bệnh khi được sử dụng đơn lẻ hoặc kết hợp khi chỉ số bệnh ở các nghiệm thức xử lý duy trì ở mức 0,19% đến 98,9%. Trong đó, các nghiệm thức phun dòng đơn vi khuẩn M3 có chỉ số bệnh dao động từ 0,19% đến 34,8%, trong khi các nghiệm thức phun dòng đơn vi khuẩn G5 dao động từ 0,74% đến 91,3% và các nghiệm thức phun kết hợp 2 dòng vi khuẩn đạt 1,1% đến 98,9%.

Cụ thể, ở thời điểm 4 NSCB, các nghiệm thức phun dòng vi khuẩn M3 đều ức chế tốt nấm bệnh, chỉ số bệnh dao động từ 0,19% đến 1,1% và khác biệt không ý nghĩa so với thuốc hóa học (0,56%) ($p > 0,05$), đồng thời nhỏ hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo phép thử Tukey's khi so với nghiệm thức đối chứng (8,9%). Trong đó, nghiệm thức phun dòng đơn vi khuẩn M3 vào thời điểm trước khi chủng bệnh có chỉ số bệnh thấp nhất (0,19%) so với 2 thời điểm phun vi khuẩn M3 còn lại (phun vi khuẩn vào 2 thời điểm trước và sau khi

chủng bệnh là 0,74% và phun sau khi chủng bệnh là 1,1%). Bên cạnh đó, các nghiệm thức được phun dòng đơn vi khuẩn G5 tỏ ra kém hiệu quả hơn so với các nghiệm thức được phun dòng đơn vi khuẩn M3, đặc biệt là nghiệm thức phun dòng đơn vi khuẩn G5 sau chủng bệnh 2 ngày với chỉ số bệnh lên đến 7,0%, chỉ thấp hơn nghiệm thức đối chứng (8,9%).

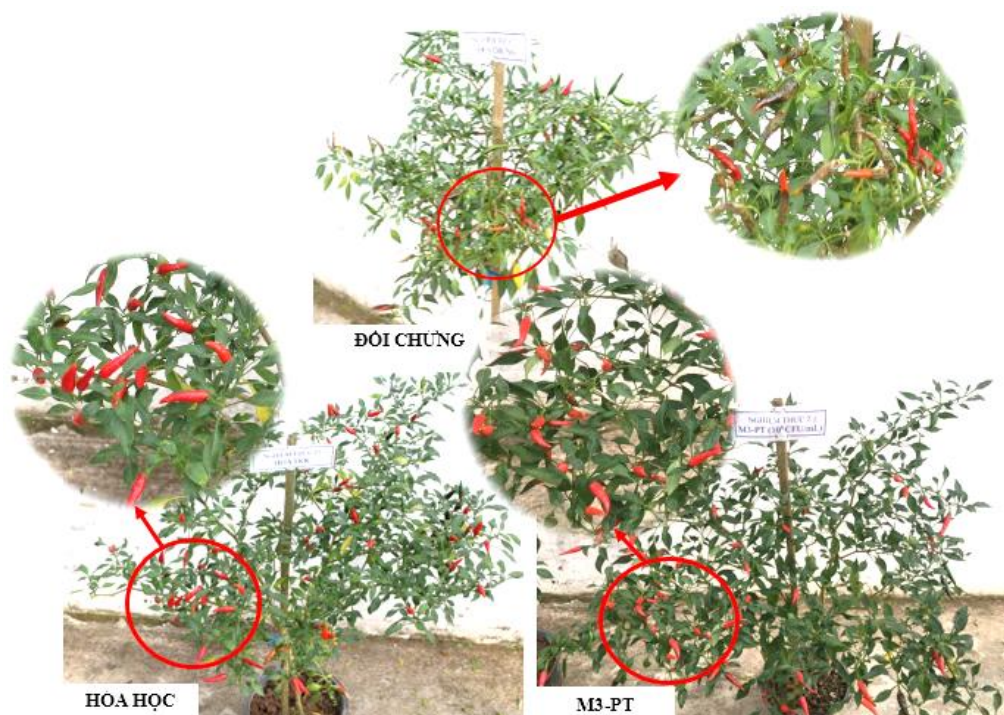
Đến thời điểm 8 NSCB, chỉ số bệnh ở các nghiệm thức tăng dần. Tuy vậy, nghiệm thức phun dòng đơn vi khuẩn M3 kết hợp phun trước và sau khi chủng bệnh vẫn kiểm soát tốt mầm bệnh với chỉ số bệnh luôn đạt thấp nhất (3,1%) và không khác biệt ý nghĩa so với thuốc hóa học (3,3%).

Sang thời điểm 12 NSCB, hai nghiệm thức phun vi khuẩn M3 trước và sau khi chủng nấm bệnh và nghiệm thức phun thuốc hóa học tiếp tục có chỉ số bệnh thấp nhất so với các nghiệm thức còn lại với tỉ lệ lần lượt là 12% và 4,4% ($p < 0,05$) và không khác biệt khi so sánh với nhau ($p > 0,05$). Đồng thời nghiệm thức phun dòng vi khuẩn G5 ở hai thời điểm trước và sau khi chủng bệnh không còn duy trì tốt khả năng kiểm soát bệnh khi chỉ số bệnh tăng đột biến từ 7,8% (thời điểm 8 NSCB) lên 35,4%. Trong khi các nghiệm thức còn lại vẫn duy trì chỉ số bệnh ở mức thấp (ngoại trừ nghiệm thức phun dòng vi khuẩn G5 sau chủng bệnh 2 ngày và nghiệm thức phun dòng vi khuẩn G5 trước chủng bệnh 2 ngày), đặc biệt là 2 nghiệm thức phun dòng đơn vi khuẩn M3 trước chủng bệnh (17,4%) và phun dòng vi khuẩn M3 sau chủng bệnh (30,4%).

Bảng 2. Chỉ số bệnh ghi nhận qua các thời điểm khảo sát

STT	Nghiệm thức	Chỉ số bệnh qua các thời điểm khảo sát (%)			
		4 NSCB	8 NSCB	12 NSCB	16 NSCB
1	Đối chứng	8,9 ^a	66,3 ^a	85,0 ^a	100 ^a
2	M3 - PT	0,19 ^f	8,9 ^e	17,4 ^{de}	27,4 ^{fg}
3	G5 - PT	1,7 ^d	36,7 ^c	59,3 ^b	63,5 ^c
4	M3 + G5 - PT	4,4 ^c	38,7 ^c	57,8 ^b	60,7 ^c
5	M3 - PT + PS	0,74 ^{ef}	3,1 ^g	12,0 ^{ef}	22,2 ^{gh}
6	G5 - PT + PS	0,74 ^{ef}	7,8 ^{ef}	35,4 ^c	30,9 ^{ef}
7	M3 + G5 - PT + PS	1,1 ^{de}	25,2 ^d	22,6 ^d	49,1 ^d
8	M3 - PS	1,1 ^{de}	1,5 ^e	20,0 ^{de}	34,8 ^e
9	G5 - PS	7,04 ^b	54,3 ^b	61,5 ^b	91,3 ^b
10	M3 + G5 - PS	1,9 ^d	27,6 ^d	43,9 ^c	98,9 ^a
11	Hóa học	0,56 ^{ef}	3,3 ^g	4,4 ^f	15,6 ^h
	<i>F</i>	*	*	*	*
	<i>CV (%)</i>	110,19	80,53	64,87	56,15

Ghi chú: *: Khác biệt ý nghĩa ở mức 5%; NSCB: Ngày sau chúng bệnh; M: Mè, G: Gạo; PT: Phun trước; PS: Phun sau; Trong cùng một cột, các chữ số có mẫu tự theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo phép thử Tukey's.



Hình 1. Cây ớt ở các nghiệm thức cho hiệu quả kiểm soát bệnh tốt nhất ghi nhận ở thời điểm 16 ngày sau chúng bệnh

Đến thời điểm 16 NSCB, chỉ số bệnh ở nghiệm thức đối chứng đạt 100%, cao nhất và khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo phép thử Tukey's so với các nghiệm thức còn lại ($p < 0,05$), tuy nhiên không khác biệt so với nghiệm thức phun kết hợp 2 dòng vi khuẩn M3 và G5 trước và sau khi chủng bệnh ($p > 0,05$). Trong khi nghiệm thức phun dòng đơn vi khuẩn M3 trước và sau khi chủng bệnh cho hiệu quả nhất khi có chỉ số bệnh thấp nhất (22,2%) và cao tương đương với nghiệm thức phun thuốc hóa học (15,6%). Đồng thời các nghiệm thức phun vi khuẩn M3 trước khi chủng bệnh (27,4%), phun vi khuẩn G5 trước và sau khi chủng bệnh có chỉ số bệnh thấp thứ 2 (30,9%). Tiếp theo là nghiệm thức phun vi khuẩn M3 vào thời điểm sau chủng bệnh, cao thứ 3 với chỉ số bệnh là 34,8%. Trong khi các nghiệm thức còn lại có chỉ số bệnh tương đối cao, dao động từ 49,1% đến 91,3%, mặc dù thấp hơn và khác biệt ý nghĩa ở mức 5% so với nghiệm thức đối chứng.

Tóm lại, qua kết quả khảo sát cho thấy các nghiệm thức phun vi khuẩn M3 thể hiện khả năng kiểm soát tốt bệnh thán thư và duy trì hiệu quả ổn định hơn so với dòng vi khuẩn G5, đồng thời không chế chỉ số bệnh ở mức thấp và không khác biệt ý nghĩa so với thuốc hóa học. Bên cạnh đó, có sự khác biệt về chỉ số bệnh ở các biện pháp phun cho thấy các nghiệm thức phun vi khuẩn ở hai thời điểm trước và sau khi chủng bệnh cho hiệu quả cao hơn so với phun vi khuẩn 1 lần (trước hoặc sau khi chủng bệnh) ở hầu hết các thời điểm khảo sát, đặc biệt là so với nghiệm thức phun sau khi chủng bệnh 2 ngày. Điển hình nhất là các nghiệm thức phun vi khuẩn M3 cho thấy hầu hết ở các thời điểm khảo sát nghiệm thức phun

trước và sau khi chủng bệnh cho hiệu quả cao nhất (chỉ số bệnh thấp nhất) đồng thời không khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức phun thuốc hóa học. Qua đó cho thấy, cả 2 dòng vi khuẩn M3 và G5 đều thể hiện hiệu quả kiểm soát tốt bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum* sp. gây ra trong điều kiện nhà lưới thông qua khả năng khống chế sự tiến triển chỉ số bệnh qua các thời điểm thu thập chỉ tiêu. Tuy nhiên, dòng vi khuẩn M3 cho hiệu quả tốt hơn so với dòng vi khuẩn G5 và kể cả khi kết hợp phun 2 dòng vi khuẩn với nhau. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Huỳnh Thị Ngọc Hân (2016) ghi nhận ba chủng vi khuẩn *Bacillus*-P2, P17, P81 thể hiện khả năng đối kháng tốt với nấm *Colletotrichum* spp. gây bệnh thán thư trên ớt trong điều kiện *in vitro* với hiệu suất đối kháng trung bình (52,59 - 56,57%) cho hiệu quả phòng trị cao và kiểm soát bệnh hiệu quả trong điều kiện nhà lưới với hiệu quả giảm bệnh trên trái vào thời điểm 13 ngày sau khi xử lý lần lượt là 72,83%; 81%; 81,09%; 77,09% và 76,66%. Đồng thời, thời điểm xử lý một lần trước khi lây nhiễm bệnh cho hiệu quả cao hơn xử lý sau khi lây bệnh. Theo Bailey (2006) hiệu quả của tác nhân phòng trừ sinh học liên quan đến nhiều cơ chế tác động khác nhau. Trong nhóm vi sinh vật có lợi, vi khuẩn *Bacillus* spp. là một trong những tác nhân kiểm soát sinh học được nghiên cứu và ứng dụng rộng rãi trong canh tác nông nghiệp bền vững. Cùng với ưu điểm nổi bật là khả năng hình thành cấu trúc nội bào tử nhằm giúp chống chịu tốt trong điều kiện môi trường bất lợi. Ngoài ra, chúng còn sở hữu nhiều cơ chế quan trọng thể hiện tiềm năng cao trong quản lý bệnh hại trên các loại cây trồng như khả năng tiết kháng sinh, cạnh tranh dinh

dưỡng và không gian sống hoặc ký sinh, cơ chế tiêu sinh, kích thích tính kháng bệnh của cây trồng, cạnh tranh sắt (Pal and Gardener, 2006). Do đó, một tác nhân kiểm soát sinh học nhất định có thể hoạt động thông qua một số cơ chế có khả năng được biểu hiện liên tiếp, đồng thời hoặc hiệp đồng khi tác động lên mầm bệnh. Thêm vào đó, hiệu quả của tác nhân phòng trừ sinh học cũng chịu tác động của điều kiện ngoại cảnh (nhiệt độ, độ ẩm, bức xạ), khả năng thích ứng sinh thái (sống sót, thiết lập quần thể) của tác nhân phòng trừ sinh học (Bardin *et al.*, 2015). Theo đó, hiệu quả kiểm soát bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum* sp. điều kiện ngoài nhà lưới của 2 dòng vi khuẩn *Bacillus* sp. M3, *Bacillus* sp. G5 có thể do cả 2 dòng vi khuẩn có khả năng thích ứng với điều kiện sinh thái môi trường đồng thời sở hữu nhiều cơ chế tác động đến mầm bệnh. Ngoài ra, vi khuẩn đối kháng phải có khả năng sống sót và phát triển bền vững để cho sự cạnh tranh diễn ra hiệu quả yêu cầu nhân tố đối kháng phải chiếm giữ một nơi cư trú và có đặc điểm phát triển tương tự mầm bệnh (Bardin *et al.*, 2015). Bardin *et al.* (2015) ghi nhận mối tương quan giữa liều lượng xử lý tác nhân kiểm soát sinh học với độc tính của mầm bệnh gây hại cây trồng. Điều này có thể giải thích cho các nghiệm thức áp dụng phun vi khuẩn đối kháng ở hai thời điểm trước và sau khi chủng bệnh thể hiện khả năng ức chế tốt mầm bệnh và duy trì hiệu quả kiểm soát bệnh theo thời gian.

4. KẾT LUẬN

Trong điều kiện nhà lưới, cả hai dòng vi khuẩn *Bacillus* sp. M3 và *Bacillus* sp. G5 đều thể hiện khả năng kiểm soát tốt bệnh thán thư trên ớt do nấm

Colletotrichum sp. gây ra. Trong đó dòng vi khuẩn *Bacillus* sp. M3 thể hiện khả năng kiểm soát nấm *Colletotrichum* sp. hiệu quả hơn khi được phun vào thời điểm trước khi trái ớt bị nhiễm bệnh hoặc phun hai lần vào thời điểm trước và sau khi trái bị nhiễm bệnh sẽ giúp trái ớt có chỉ số nhiễm bệnh thấp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bailey, M. J. (2006), Microbial Ecology of Aerial Plant Surfaces. CABI.
2. Bardin, M., Ajouz, S., Comby, M., Lopez-Ferber, M., Graillot, B., Siegwart, M., & Nicot, P. C., (2015), Is the efficacy of biological control against plant diseases likely to be more durable than that of chemical pesticides? *Frontiers in Plant Science*. 6.
3. Hoben, H.J. and Somasegaran, P. (1982), Comparison of the Pour, Spread and Drop plate methods for enumeration of *Rhizobium* spp. in inoculants made from presterilized peat. *Applied and environmental microbiology*. 5: 1246 - 1247.
4. Huỳnh Thị Ngọc Hân (2016), *Đánh giá hiệu quả của một số chủng vi khuẩn Bacillus đối với bệnh thán thư trên ớt trong điều kiện phòng thí nghiệm và nhà lưới* (luận văn cao học), Trường Đại học Cần Thơ.
5. Nguyễn Hữu Thiện và Nguyễn Thị Thúy Kiều (2019), *Phân lập và định danh một số dòng vi khuẩn từ hạt ngũ cốc lên men có khả năng đối kháng với một số nấm bệnh gây hại trên ớt trong điều kiện in vitro* (luận văn tốt nghiệp đại học), Trường Đại học Cần Thơ. 107 trang.
6. Pal, K. K., and Mc Spadden Gardener, B. (2006), Biological Control of Plant Pathogens, The Plant Health Instructor.
7. Trần Ánh Lua (2016), *Khảo sát khả năng kích kháng lưu dẫn của vi khuẩn Bacillus spp. đối với bệnh cháy lá lúa do nấm Pyricularia oryzae cavara trong điều kiện nhà lưới* (luận văn cao học), Trường Đại học Cần Thơ.
8. Trần Thị Ba & Võ Thị Bích Thủy (2019), *Giáo trình cây rau*. Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ, 233 trang.

KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA MÔI TRƯỜNG LÊN QUÁ TRÌNH TĂNG TRƯỞNG CỦA VI KHUẨN ĐỐI KHÁNG *Serratia nematodiphila* CT-78 ĐỂ PHÒNG TRỊ BỆNH BẠC LÁ LÚA

Nguyễn Quang Tiến¹, Lê Thị Hồng Thanh¹, Nguyễn Đắc Khoa^{1*}

Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học,
Trường Đại học Cần Thơ

* Tác giả liên hệ: ndkhoa@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 có khả năng giúp giảm bệnh bạc lá (cháy bìa lá) lúa. Bài viết này trình bày đường cong tăng trưởng của vi khuẩn CT-78 trong bốn loại môi trường khác nhau gồm nutrient broth (NB), cám, trấu và bột talc, qua đó xác định môi trường thích hợp cho sự tăng trưởng của vi khuẩn CT-78 để sản xuất sinh khối, ứng dụng phòng trừ bệnh ngoài đồng. Ba mật số $3,6 \times 10^8$; $1,2 \times 10^9$ và $2,0 \times 10^9$ cfu/mL được sử dụng trong môi trường NB, kết quả cho thấy nghiệm thức sử dụng mật số $3,6 \times 10^8$ cfu/mL (10%) đạt tốc độ sinh trưởng cao nhất ($4,9 \times 10^9$ cfu/mL sau 14 giờ nuôi cấy). Mật số 10^8 cfu/mL được sử dụng trong các môi trường rắn (cám, trấu và bột talc), nghiệm thức trấu đạt tốc độ sinh trưởng cao nhất ($3,3 \times 10^{10}$ cfu/g sau 14 giờ nuôi cấy). Trấu là môi trường thích hợp cho sự tăng trưởng của vi khuẩn CT-78 để ứng dụng sản xuất sinh khối.

Từ khóa: bột talc, cám, đường cong tăng trưởng, mật số, *Serratia nematodiphila*, trấu.

ABSTRACT

Effects of culture media on the growth of antagonistic *Serratia nematodiphila* CT-78 against rice bacterial leaf blight

The antagonistic *Serratia nematodiphila* CT-78 showed strong disease-reducing effects against rice bacterial leaf blight. This paper presents the growth curves of CT-78 in four different culture media, i.e., nutrient broth (NB), rice bran, rice husk and talc powder, to select the potential medium for biomass production to control the disease. Three initial cell densities including 3.6×10^8 , 1.2×10^9 and 2.0×10^9 cfu/mL were tested in NB medium. Treatment using 3.6×10^8 cfu/mL (10%) showed the fastest growth rate (4.9×10^9 cfu/mL after 14 hours). The initial cell density of 10^8 cfu/mL was

used in the solid media (rice bran, rice husk and talc powder) where the fastest growth rate was obtained in rice husk (3.3×10^{10} cfu/g after 14 hours). Rice husk is therefore the potential medium for biomass production among others tested.

Keywords: cell density, growth curve, rice bran, rice husk, *Serratia nematodiphila*, talc powder.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) gây bệnh bạc lá (cháy bìa lá) lúa và gây hại nghiêm trọng trên đồng ruộng (SwinGS. *et al.*, 1990). Để phòng trừ bệnh bạc lá, người nông dân thường sử dụng thuốc hóa học và giống kháng. Tuy nhiên các biện pháp này chưa tối ưu vì chi phí cao, gây ô nhiễm môi trường, ảnh hưởng sức khỏe của con người và vật nuôi, mầm bệnh kháng thuốc và dễ phát sinh nòi mới phá vỡ tính kháng (Kiyosawa, 1989). Do đó, phòng trừ bệnh hại bằng biện pháp sinh học đang được quan tâm nghiên cứu để tạo ra các sản phẩm sinh học sử dụng vi sinh vật/dịch trích thực vật để đối kháng hoặc kích kháng cây trồng, góp phần quản lý bệnh hại lúa theo hướng nông nghiệp bền vững (Nguyễn Đắc Khoa và ctv., 2010; Khoa *et al.*, 2011; Khoa *et al.*, 2016; Khoa *et al.*, 2017; Nguyễn Đắc Khoa, 2018; Nguyễn Đắc Khoa, 2019; Nguyễn Đắc Khoa và Nguyễn Thị Phi Oanh, 2020).

Chủng vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78, được phân lập từ đất trồng lúa tại Cần Thơ, đã được xác định có khả năng phòng trừ bệnh cháy bìa lá lúa cho hiệu quả cao với số chồi bệnh giảm đến 83%, số lá bệnh giảm đến 88% và chỉ số bệnh giảm đến 4,5 lần. Sau đó, Hồ Nguyễn Lam Linh (2018) đã tiến hành tuyển chọn chất mang tồn trữ vi khuẩn đối kháng

S. nematodiphila CT-78 để ứng dụng tạo chế phẩm sinh học. Kết quả cho thấy vi khuẩn được tồn trữ trong các chất mang cám, trấu và bột talc vẫn được duy trì mật số vi khuẩn trên 10^6 cfu/g chế phẩm và hiệu quả giảm bệnh trong điều kiện nhà lưới sau 12 tháng tồn trữ. Nghiên cứu này được thực hiện để so sánh tốc độ tăng trưởng của vi khuẩn *S. nematodiphila* CT-78 trong các môi trường khác nhau dựa vào các đường cong tăng trưởng của vi khuẩn được xây dựng trong các môi trường đó; qua đó xác định môi trường thích hợp cho sự tăng trưởng của vi khuẩn để sản xuất sinh khối.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 được Nhóm Nghiên cứu Bệnh cây thuộc Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ cung cấp. Các nguyên liệu làm môi trường nuôi cấy gồm bột talc thương mại, cám tách dầu (Cái Lân), vỏ trấu và nutrient broth (Shivaji *et al.*, 2006).

2.2. Thiết lập đường chuẩn mật số vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 trong môi trường nutrient broth

Một loop vi khuẩn *S. nematodiphila* CT-78 nuôi trên môi trường nutrient agar

(NA) được cho vào bình môi trường NB và ủ lắc trong 24 giờ. Sau đó, huyền phù vi khuẩn được pha loãng 2, 4, 8, 10, 16 và 20 lần trong các ống nghiệm. Huyền phù vi khuẩn trong bình và ống nghiệm được đo mật độ quang (OD) ở bước sóng 600 nm (dung dịch blank là môi trường NB). Sau đó, vi khuẩn trong bình (huyền phù gốc) được xác định mật số bằng phương pháp trải đếm khuẩn lạc trên môi trường NA. Từ đó mật số vi khuẩn trong các ống pha loãng cũng được xác định và kết hợp với giá trị OD của từng ống đã đo trước đó để thiết lập đường chuẩn mật số vi khuẩn *S. nematodiphila* CT-78.

2.3. Nhân giống vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 trong môi trường Nutrient Broth

Trong nghiên cứu này, đường cong tăng trưởng của vi khuẩn *S. nematodiphila* CT-78 được thiết lập bằng cách ghi nhận mật số vi khuẩn trong các môi trường khảo sát mỗi hai giờ cho đến khi ghi nhận được pha suy vong. Thời gian thực hiện thí nghiệm kéo dài đến 32 giờ tính từ lúc chủng khuẩn và các thời điểm vào ban đêm không thể thực hiện được. Do đó, vi khuẩn *S. nematodiphila* CT-78 được nhân giống trong hai bình môi trường NB khác nhau trong cùng điều kiện, mỗi bình cách nhau 12 giờ để có thể cùng lúc ghi nhận được mật số vi khuẩn ở hai thời điểm cách nhau 12 giờ.

Giai đoạn nhân giống được thực hiện hai lần. Lần 1, mỗi bình nhân giống được chuẩn bị bằng cách cho một loop vi khuẩn *S. nematodiphila* CT-78 trên môi trường

NA vào bình tam giác chứa 100 mL môi trường NB, ủ lắc ở nhiệt độ phòng ($26 \pm 2^\circ\text{C}$). Lần 2 được thực hiện sau đó 24 giờ (tính từ thời điểm chủng vi khuẩn của mỗi bình), huyền phù vi khuẩn từ hai bình ban đầu được chuyển sang hai bình môi trường NB mới với tỷ lệ 10% v/v, ủ lắc ở nhiệt độ phòng ($26 \pm 2^\circ\text{C}$).

2.4. Thiết lập đường cong tăng trưởng của vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 trong môi trường lỏng (Nutrient Broth)

Sau 24 giờ tính từ thời điểm chủng vi khuẩn của mỗi bình nhân giống, huyền phù vi khuẩn từ mỗi bình được cấy chuyển sang ba bình môi trường NB mới, tương ứng với ba nghiệm thức mật số lần lượt là $3,6 \times 10^8$; $1,2 \times 10^9$ và $2,0 \times 10^9$ cfu/mL, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Mật số vi khuẩn trong mỗi bình được xác định mỗi hai giờ bằng hai phương pháp là đo OD của huyền phù vi khuẩn ở bước sóng 600 nm (dựa vào đường chuẩn mật số ở mục 2.2 để xác định mật số vi khuẩn) và trải huyền phù để đếm khuẩn lạc trên môi trường NA. Dựa vào mật số vi khuẩn để thiết lập đường cong tăng trưởng của vi khuẩn trong từng nghiệm thức.

2.5. Thiết lập đường cong tăng trưởng của vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 trong môi trường rắn (cám, trấu và bột talc)

Thí nghiệm này gồm bốn nghiệm thức ba loại môi trường rắn cám, trấu và bột talc và môi trường lỏng NB. Các môi trường rắn được phối trộn theo công thức của Vidhyasekaran và Muthamilan (1995)

và khử trùng nhiệt uớt 2 lần, mỗi lần cách nhau 24 giờ trước khi chủng vi khuẩn. Ở mỗi nghiệm thức, vi khuẩn được chủng vào hai bình nhân giống với mật số 10^8 cfu/mL. Mật số vi khuẩn được ghi nhận mỗi hai giờ bằng phương pháp trải huyền phù để đếm khuẩn lạc trên môi trường NA. Dựa vào mật số vi khuẩn để thiết lập đường cong tăng trưởng của vi khuẩn trong từng nghiệm thức.

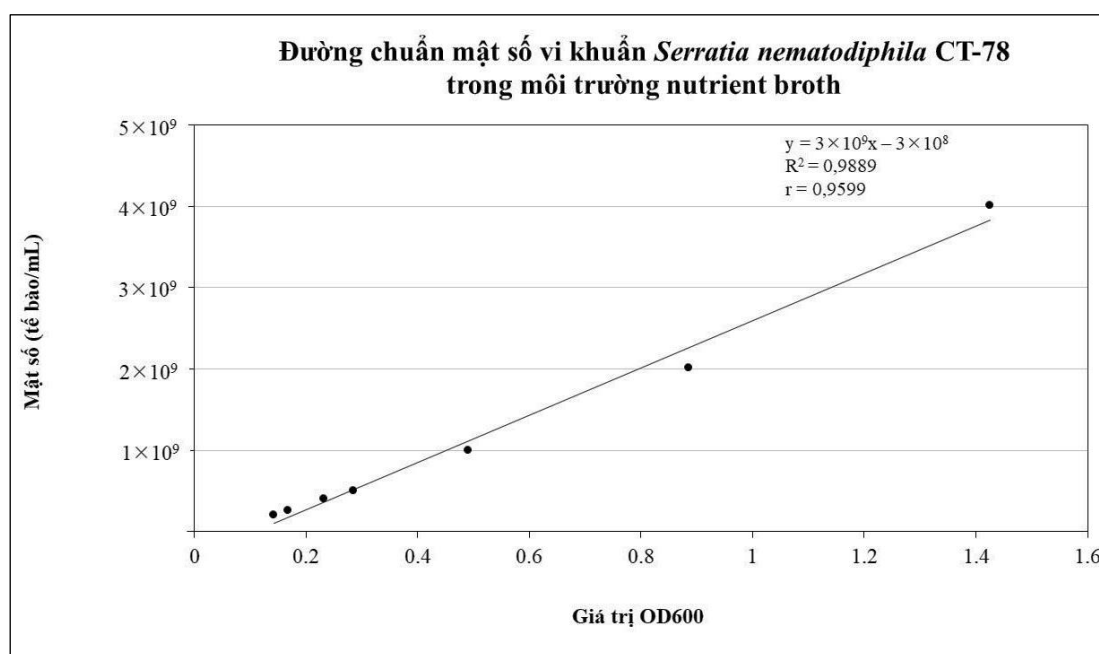
2.6. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý sơ bộ bằng phần mềm Microsoft Excel 2013. Mật số vi khuẩn được chuyển về dạng log10 và so sánh trung bình bằng phương pháp phân tích phương sai một chiều (One-way ANOVA) bằng phần mềm R 4.0.2, kiểm định Duncan với $\alpha = 5\%$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đường chuẩn mật số vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 trong môi trường nutrient broth

Đường chuẩn mật số vi khuẩn *S. nematodiphila* CT-78 được thiết lập bằng phương pháp đo OD trong môi trường NB (hình 1). Hệ số R^2 của phương trình đường chuẩn là 0,9889 thể hiện giá trị OD và mật số vi khuẩn có mối liên hệ chặt chẽ với nhau. Hệ số tương quan r là 0,9599; giá trị r lớn hơn 0 và gần bằng 1 cho thấy giá trị đo OD và mật số vi khuẩn *S. nematodiphila* CT-78 có sự tương quan tuyến tính và tỷ lệ thuận với nhau. Do đó, phương trình đường chuẩn này có thể dựa sử dụng để xác định mật số tế bào vi khuẩn gián tiếp thông qua giá trị OD ở bước sóng 600 nm để thực hiện các thí nghiệm sau.



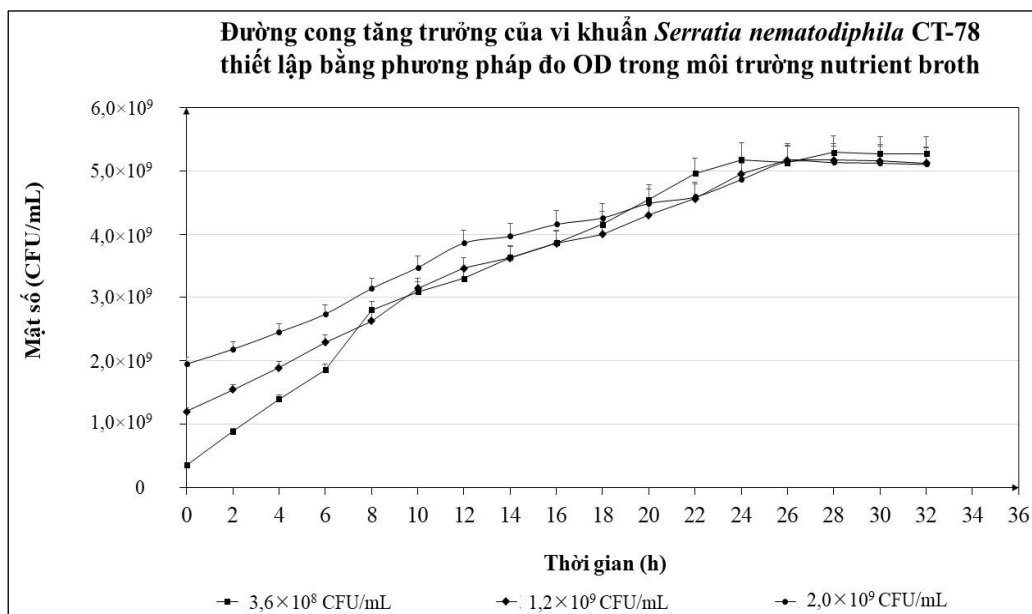
Hình 1. Đường chuẩn mật số vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 được nuôi trong môi trường Nutrient Broth

3.2. Đường cong tăng trưởng của vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 trong môi trường lỏng (Nutrient Broth) bằng phương pháp đo mật độ quang (OD)

Vi khuẩn trong ba nghiệm thức mật số ban đầu khác nhau được khảo sát mật số đến 32 giờ nuôi cấy để thiết lập các đường cong tăng trưởng (hình 2). Dựa vào độ đục của huyền phù, mật số vi khuẩn được xác định bằng phương pháp đo OD với bước sóng 600 nm. Đối với phương pháp này, mật số vi khuẩn xác định được bao gồm cả tế bào sống và chết nên đường cong tăng trưởng chỉ thể hiện 3 giai đoạn gồm pha lag, pha log và pha cân bằng.

Ở nghiệm thức mật số $3,6 \times 10^8$ cfu/mL, mật số vi khuẩn tăng liên tục và đạt $5,2 \times 10^9$ cfu/mL sau 24 giờ. Sau đó, mật số ổn định và khác biệt không có ý nghĩa thống kê trong các thời điểm tiếp

theo. Đối với hai nghiệm thức gồm mật số $1,2 \times 10^9$ cfu/mL và $2,0 \times 10^9$ cfu/mL, sự tăng trưởng của vi khuẩn vào pha cân bằng tại thời điểm 26 giờ với mật số $5,2 \times 10^9$ cfu/mL. Trong cùng điều kiện và thể tích môi trường thì mật số ban đầu là yếu tố ảnh hưởng đến tốc độ tăng trưởng của vi khuẩn, dẫn đến sự khác nhau về đường cong tăng trưởng của 3 nghiệm thức. Sau 14 giờ, mật số vi khuẩn ở hai nghiệm thức mật số $3,6 \times 10^8$ cfu/mL và $1,2 \times 10^9$ cfu/mL khác biệt không có ý nghĩa. Sau 22 giờ, mật số vi khuẩn ở nghiệm thức $3,6 \times 10^8$ cfu/mL đạt cao nhất và khác biệt có ý nghĩa so với hai nghiệm thức còn lại. Về tốc tăng trưởng, vi khuẩn ở nghiệm thức $3,6 \times 10^8$ cfu/mL tăng trưởng nhanh hơn khi vào giai đoạn cân bằng sớm hơn vi khuẩn ở hai nghiệm thức còn lại (24 giờ so với 26 giờ) mặc dù mật số vi khuẩn ở pha cân bằng của cả ba nghiệm thức là tương đương nhau.

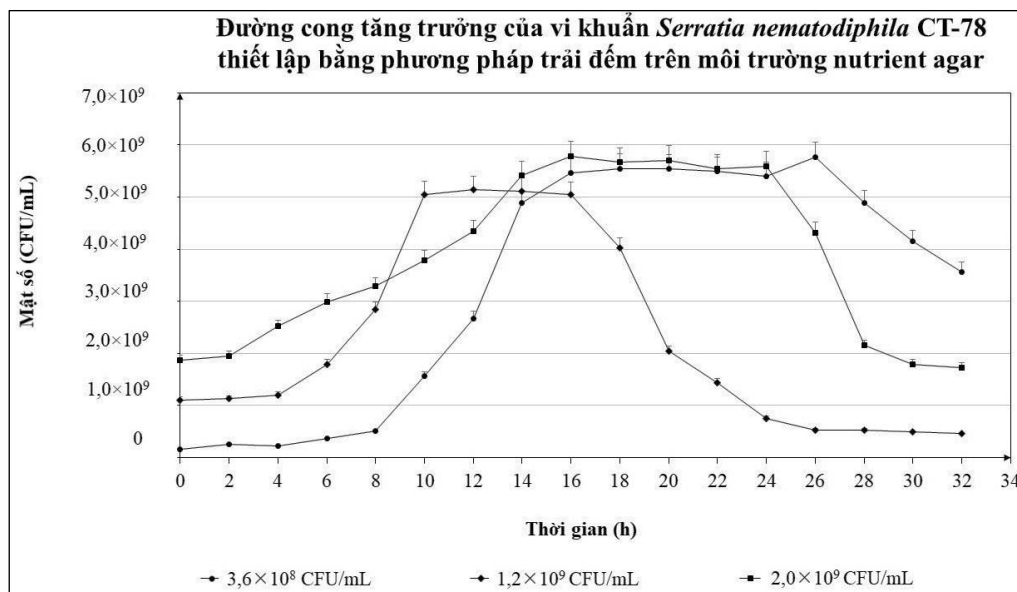


Hình 2. Mật số (cfu/mL) của vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 sau 32 giờ nuôi trong môi trường Nutrient Broth bằng phương pháp đo mật độ quang

3.3. Đường cong tăng trưởng của vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 trong môi trường lỏng Nutrient Broth bằng phương pháp trải đếm khuẩn lạc

Trong thí nghiệm này, đường cong tăng trưởng của vi khuẩn cũng được xây

dựng từ các mật số ban đầu là $3,6 \times 10^8$ cfu/mL; $1,2 \times 10^9$ cfu/mL và $2,0 \times 10^9$ cfu/mL đến 32 giờ bằng phương pháp trải đếm khuẩn lạc trên môi trường NA. Phương pháp này xác định được số tế bào nên thể hiện rõ 4 pha gồm pha lag, pha log, pha cân bằng và pha suy vong (hình 3).



Hình 3. Mật số (cfu/mL) của vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 sau 32 giờ nuôi trong môi trường Nutrient Broth bằng phương pháp trải đếm khuẩn lạc

Ở nghiệm thức mật số $3,6 \times 10^8$ cfu/mL, pha lag của vi khuẩn kéo dài 8 giờ, sau đó số lượng vi khuẩn tăng nhanh (pha log), vào pha cân bằng ở mật số $4,9 \times 10^9$ cfu/mL tại thời điểm 14 giờ và bắt đầu pha suy vong tại thời điểm 26 giờ. Đối với nghiệm thức $1,2 \times 10^9$ cfu/mL, vi khuẩn thích nghi trong 4 giờ đầu, bắt đầu tăng nhanh đến 10 giờ và ổn định ở khoảng $5,1 \times 10^9$ cfu/mL trong 6 giờ tiếp theo và cuối cùng giảm dần đến $4,6 \times 10^8$ cfu/mL tại thời điểm 32 giờ. Vi khuẩn ở nghiệm thức $2,0 \times 10^9$ cfu/mL) cần hai giờ để thích nghi với môi trường, đến 14 giờ thì đạt đến $5,4 \times 10^9$ cfu/mL trong pha

cân bằng, mật số này duy trì đến 24 giờ thì giảm dần đến $1,7 \times 10^9$ cfu/mL tại thời điểm 32 giờ.

Tương tự như phương pháp đo OD, đường cong tăng trưởng của vi khuẩn được xây dựng bằng phương pháp đếm khuẩn lạc cũng thể hiện sự tăng trưởng khác nhau trong từng nghiệm thức. Tuy được chủng với mật số ít nhất nhưng vi khuẩn ở nghiệm thức $3,6 \times 10^8$ cfu/mL đạt mật số tương đương với vi khuẩn trong hai nghiệm thức còn lại sau 14 giờ nuôi. Đối với nghiệm thức $1,2 \times 10^9$ cfu/mL, vi khuẩn có thời gian thích nghi với môi trường mới ngắn, mật số tăng

nhau và đạt cân bằng nhanh nhất; tuy nhiên, giai đoạn cân bằng ngắn, vi khuẩn nhanh chóng tiến đến giai đoạn suy vong và mật số giảm mạnh. Trong nghiệm thức còn lại, mật số ban đầu sử dụng cao nhất nhưng trong quá trình tăng trưởng lại đạt mật số khác biệt không ý nghĩa đối thống kê đối với mật số vi khuẩn trong nghiệm thức $3,6 \times 10^8$ cfu/mL từ thời điểm 14 giờ đến 32 giờ. Do đó, để tiết kiệm nguyên liệu, chi phí và thời gian, mật số vi khuẩn ban đầu là $3,6 \times 10^8$ cfu/mL là lựa chọn tốt ưu cho việc nhân mật số vi khuẩn *S. nematodiphila* CT-78.

Tăng trưởng của vi sinh vật phụ thuộc vào nhiều yếu tố, trong đó yếu tố quan trọng và ảnh hưởng trực tiếp đến vi sinh

là dinh dưỡng. Trong một thể tích nuôi cấy nhất định, thể tích huyền phù vi khuẩn chùng vào tỷ lệ nghịch với thể tích môi trường dinh dưỡng. Do đó, khi mật số vi khuẩn ban đầu cao, môi trường dinh dưỡng ít, vi khuẩn nhanh chóng sử dụng hết dinh dưỡng và thải ra các chất biến dưỡng thứ cấp, đó có thể là độc tố đối với sự nhân đôi của tế bào, làm cho giai đoạn cân bằng ngắn và nhanh chóng đến giai đoạn suy vong. Điều đó hoàn toàn phù hợp với các thí nghiệm nêu trên, các đường cong tăng trưởng của vi khuẩn *S. nematodiphila* CT-78 được xây dựng bằng cả hai phương pháp đo OD và trải đếm khuẩn lạc đều cho thấy mật số $3,6 \times 10^8$ cfu/mL là phù hợp nhất cho sự tăng trưởng của vi khuẩn trong môi trường NB.



Hình 4. Mật số của vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 được xác định bằng hai phương pháp đo mật độ quang và trải đếm khuẩn lạc sau 32 giờ nuôi trong môi trường Nutrient Broth

Đường cong tăng trưởng của vi khuẩn *S. nematodiphila* CT-78 được xây

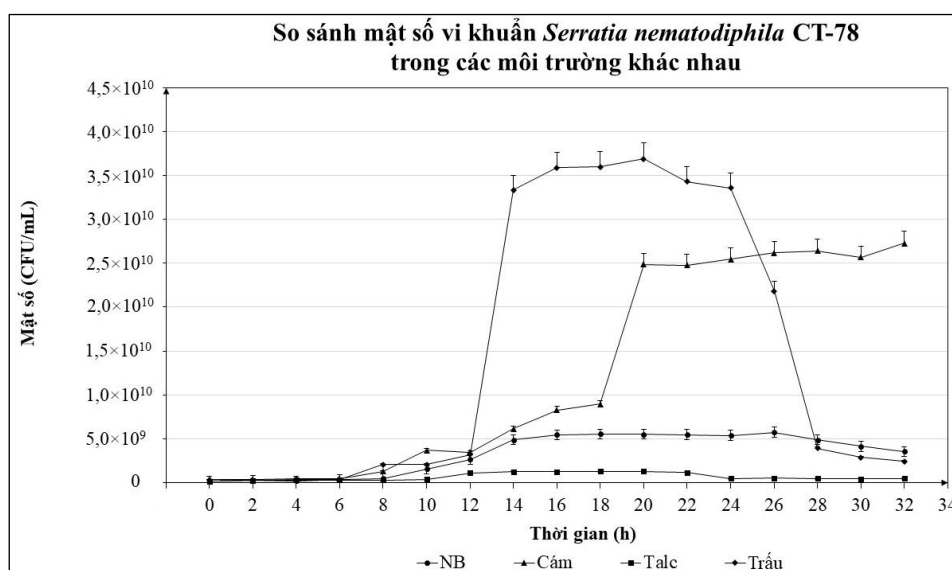
dựng bằng hai phương pháp có sự khác nhau của các giai đoạn tăng trưởng khi

được chủng mật số ban đầu giống nhau (hình 4). Kết quả cho thấy trong giai đoạn thích nghi và tăng trưởng của vi khuẩn thì phương pháp đo OD cho giá trị mật số cao hơn, khi vi khuẩn dần ổn định và bước sang giai đoạn cân bằng thì giá trị mật số vi khuẩn theo phương pháp đếm khuẩn lạc cao hơn. Sự khác biệt này chủ yếu bị ảnh hưởng bởi phương pháp đo OD mà nguyên nhân trực tiếp có thể là các chất biến dưỡng thứ cấp do vi khuẩn sinh ra và kích thích tế bào vi khuẩn thay đổi trong quá trình sinh trưởng và phát triển. Tóm lại, phương pháp trải đếm khuẩn lạc giúp đánh giá tốc độ tăng

trưởng của vi khuẩn chính xác hơn phương pháp đo OD.

3.4. Đường cong tăng trưởng của vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 trong các môi trường lỏng và rắn (cám, trấu, bột talc) bằng phương pháp trải đếm khuẩn lạc

Tốc độ tăng trưởng của vi khuẩn *S. nematodiphila* CT-78 khác nhau trong các môi trường nuôi khác nhau. Bằng phương pháp đếm khuẩn lạc, đường cong tăng trưởng của vi khuẩn trong môi trường NB, cám, trấu và bột talc được thiết lập và trình bày trong hình 5.



Hình 5. Mật số (CFU/g) của vi khuẩn *Serratia nematodiphila* CT-78 sau 32 giờ nuôi trong các môi trường lỏng (Nutrient Broth) và rắn (cám, trấu và bột talc) bằng phương pháp trải đếm khuẩn lạc

Trong môi trường cám, vi khuẩn thích nghi trong 8 giờ nuôi. Từ 8 giờ đến 20 giờ là giai đoạn tăng sinh (pha log), vi khuẩn tăng nhanh về số lượng tế bào, từ $1,3 \times 10^9$ cfu/g tăng lên $2,5 \times 10^{10}$ cfu/g và bắt đầu pha cân bằng tại thời điểm 20 giờ. Trong đường cong tăng trưởng này

không thể hiện giai đoạn suy vong của vi khuẩn do quá trình đếm mật số vi khuẩn kết thúc trước khi kết thúc pha cân bằng. Trong môi trường trấu, sau 6 giờ thích nghi với môi trường, mật số vi khuẩn tăng nhanh đến $3,3 \times 10^{10}$ cfu/g tại thời điểm 14 giờ nuôi. Mật số vi khuẩn duy trì

cân bằng từ 14 giờ đến 24 giờ sau đó giảm mạnh. Đối với môi trường bột talc, vi khuẩn cần 8 giờ để thích nghi. Sau đó, mật số vi khuẩn tăng nhanh và đạt cao nhất ở $1,1 \times 10^9$ cfu/g tại thời điểm 12 giờ, duy trì giai đoạn cân bằng đến 22 giờ và giảm mạnh từ 24 giờ đến 32 giờ đạt $4,9 \times 10^8$ cfu/g.

Khi so sánh sự tăng trưởng của vi khuẩn *S. nematodiphila* CT-78 trong các loại môi trường (NB, cám, trấu và talc), hai loại môi trường cám và trấu, mật số vi khuẩn luôn cao hơn so với hai môi trường còn lại và mật số vi khuẩn trong môi trường trấu luôn cao hơn trong môi trường cám từ 12 đến 24 giờ. Điều này có thể do hàm lượng dinh dưỡng (carbohydrate, protein, cellulose...) trong hai loại chất mang này cao thích hợp cho sự sinh trưởng của vi khuẩn (Chakraborty *et al.*, 2013). Thí nghiệm này đã chỉ ra rằng trấu là môi trường thích hợp cho sự tăng trưởng của vi khuẩn *S. nematodiphila* CT-78 để ứng dụng sản xuất sinh khối. Bên cạnh đó, trấu cũng là sản phẩm nông nghiệp có rất nhiều ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long, là nguồn nguyên liệu phổ biến và rẻ tiền có thể áp dụng trong nuôi vi khuẩn với quy mô lớn.

4. KẾT LUẬN

Đường cong tăng trưởng của vi khuẩn *S. nematodiphila* CT-78 được xây dựng bằng phương pháp đếm khuẩn lạc đánh giá sự tăng trưởng của vi khuẩn chính xác hơn phương pháp đo OD. Về tốc độ tăng trưởng trong môi trường lỏng, vi khuẩn ở nghiệm thức mật số ban đầu $3,6 \times 10^8$ cfu/mL tăng trưởng nhanh hơn

vi khuẩn ở hai nghiệm thức còn lại. Trong môi trường rắn, trấu là môi trường thích hợp cho sự tăng trưởng của vi khuẩn *S. nematodiphila* CT-78 để ứng dụng sản xuất sinh khối.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chakraborty, U., B.N. Chakraborty, A.P. Chakraborty, K. Sunar and P.L. Dey (2013), Plant growth promoting rhizobacteria mediated improvement of health status of tea plants. *Indian Journal of Biotechnology*, 12(1): 20 - 31.
2. Hồ Nguyễn Lam Linh (2018), Tuyển chọn chất mang tồn trữ vi khuẩn *Serratia nematodiphila* đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây bệnh cháy bìa lá lúa. Luận văn tốt nghiệp Đại học. Ngành Công nghệ sinh học. Trường Đại học Cần Thơ.
3. Khoa, N.Đ., N.Đ.N. Giau, and T.Q. Tuan (2016), Effects of *Serratia nematodiphila* CT-78 on bacterial leaf blight of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Biological Control*, 103: 1 - 10.
4. Khoa, N.Đ., P.T.H. Thủy, T.T.T. Thủy, D.B. Collinge and H.J.L. Jørgensen (2011), Disease-reducing effect of *Chromolaena odorata* extract on sheath blight and other rice diseases. *Phytopathology*, 101: 231 - 240.
5. Khoa, N.Đ., T.V. Xa, and L.T. Hào (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.
6. Kiyosawa, S. (1989), Breakdown of blast resistance in rice in relation to general strategies of resistance gene deployment to prolong effectiveness of disease resistance in plants. *Plant disease epidemiology*, 2: 251 - 283.
7. Nguyễn Đắc Khoa và Nguyễn Thị Phi Oanh (2020), Một số kết quả nghiên cứu ứng dụng cơ chế đối kháng và kích kháng trong phòng

- trị bệnh bạc lá lúa, lúa von và thối nhũn hành tím. Hội thảo Quốc gia Bệnh hại Thực vật Việt Nam lần thứ 19, 23 - 25/10/2020. Học viện Nông nghiệp Việt Nam, Hà Nội, Việt Nam.
8. Nguyễn Đắc Khoa (2018), Phòng trừ sinh học bệnh bạc lá lúa và thối củ hành tím bằng vi sinh vật đối kháng và dịch trích thực vật. Hội thảo Quốc gia Bệnh hại Thực vật Việt Nam lần thứ 17, 20/7/2018. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, Hà Nội, Việt Nam.
 9. Nguyễn Đắc Khoa (2019), Tuyển chọn chất mang tạo chế phẩm sinh học chứa vi khuẩn đối kháng để phòng trừ bệnh bạc lá lúa. Hội thảo Quốc gia Bệnh hại Thực vật Việt Nam lần thứ 18, 3 - 4/8/2019. Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam.
 10. Nguyễn Đắc Khoa, Dương Minh và Phạm Văn Kim (2010), Sản xuất các sản phẩm sinh học để quản lý bệnh hại lúa, cây ăn quả và rau màu theo hướng bền vững và không ô nhiễm môi trường. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, 16b: 117 - 126.
 11. Shivaji, S., P. Chaturvedi, K. Suresh, G.S. Reddy, C.B. Dutt, M. Wainwright, J.V. Narlikar and P.M. Bhargava (2006), *Bacillus aerius* sp. nov., *Bacillus aerophilus* sp. nov., *Bacillus stratosphericus* sp. nov. and *Bacillus altitudinis* sp. nov., isolated from cryogenic tubes used for collecting air samples from high altitudes. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 56: 1465 - 1473.
 12. Swings, J. , M.V.D. Mooter, L. Vauterin, B. Hoste, M. Gillis, T. W. Mew and K. Kersters (1990), Reclassification of the Causal Agents of Bacterial Blight (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) and Bacterial Leaf Streak (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola*) of Rice as Pathovars of *Xanthomonas oryzae* (ex Ishiyama 1922) sp. nov., nom. rev. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 40: 309 - 311.
 13. Vidhyasekaran, P. and M. Muthamilan (1995), Development of Formulation of *Pseudomonas fluorescens* for Control of Chickpea wilt. Plant Disease, 79: 782 - 786.

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN VI KHUẨN *Pseudomonas* PHÁT HUỖNH QUANG CÓ KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG VỚI NẤM *Rhizoctonia solani* Kuhn

Lê Thanh Toàn¹,
Nguyễn Phương Kiều Duyên¹, Ngô Thanh Tâm¹

¹Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

TÓM TẮT

Nghiên cứu đã được thực hiện nhằm phân lập và tuyển chọn ra dòng *Pseudomonas* phát huỳnh quang có khả năng đối kháng nấm *R. solani* Kuhn. Các mẫu đất thuộc vùng rễ của năm loại cây trồng (cây lúa, bắp, mía, hành và huệ) được thu trên địa bàn 5 huyện Tháp Mười, Thanh Bình, Tam Nông, Lai Vung và Lấp Vò thuộc tỉnh Đồng Tháp. Từ 80 mẫu đất thu thập, 39 dòng *Pseudomonas* phát huỳnh quang đã được phân lập và làm thuần. Kết quả đánh giá khả năng đối kháng cho thấy hầu hết các dòng *Pseudomonas* đều thể hiện khả năng đối kháng nấm *R. solani* với hiệu suất đối kháng từ 10,25 - 22,56%. Trong đó, ba dòng vi khuẩn TB.ND-1502, TB.ND-1701 và LV.ND-3202 thể hiện khả năng đối kháng cao hơn các dòng còn lại. Dòng vi khuẩn triển vọng LV.ND-3202 được chọn để khảo sát khả năng tạo sinh khối trong 3 loại môi trường nhân nuôi lỏng gồm King's B, PMS và Succinate. Kết quả cho thấy môi trường King's B lỏng cho mật số vi khuẩn cao nhất.

Từ khóa: đối kháng, *Pseudomonas* phát huỳnh quang, *Rhizoctonia solani*.

ABSTRACT

Isolation and selection of fluorescent *Pseudomonas* strains having antagonistic ability to *Rhizoctonia solani* Kuhn

The research was carried out to isolate and select antagonistic strains of fluorescent *Pseudomonas* against *Rhizoctonia solani* Kuhn. Soil samples of rhizosphere of rice, maize, sugarcane, onion and tuberose plants were collected at 5 districts Thap Muoi, Thanh Binh, Tam Nong, Lai Vung and Lap Vo, Dong Thap province. From 80 soil samples, 39 strains of fluorescent *Pseudomonas* were isolated and purified. Results showed that most *Pseudomonas* strains had antagonistic ability against *R. solani* with antagonistic efficacy at approximately 10.25 - 22.56%. Among them, three strains of

TB.ND-1502, TB.ND-1701 and LV.ND-3202 had higher antagonistic efficacy than other strains. The strain of LV.ND-3202 was chosen to evaluate biomass at 3 kinds of media including liquid King's B, PMS and Succinate. The result indicated that the medium of liquid King's B had highest bacterial density.

Keywords: *antagonistic, fluorescent Pseudomonas, Rhizoctonia solani.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tại Việt Nam, cây lúa là cây trồng chủ lực với khoảng 2/3 dân số tập trung trong lĩnh vực sản xuất nông nghiệp. Thâm canh tăng vụ, lượng phân bón và thuốc hóa học được sử dụng ngày càng nhiều trên các ruộng lúa (Nguyễn Thị Xuân Mai, 2016). Đây là những nguyên nhân dẫn đến sự xuất hiện nhiều dịch bệnh trên lúa như bệnh cháy bìa lá, lúa von, đạo ôn hay đốm vằn. Trong đó, bệnh đốm vằn do nấm *Rhizoctonia solani* Kuhn được xem là bệnh hại lúa quan trọng ở đồng bằng sông Cửu Long và thường xuyên có mặt trên đồng ruộng. Thuốc bảo vệ thực vật được nông dân sử dụng để đối phó bệnh đốm vằn vì thuốc có khả năng phòng trị bệnh với hiệu quả nhanh. Nhưng việc lạm dụng thuốc hóa học là một trong những nguyên nhân gây ô nhiễm môi trường, làm mất cân bằng hệ sinh thái tự nhiên, gây bùng phát và tái phát dịch hại, xuất hiện quần thể dịch hại kháng thuốc, đặc biệt là để lại tồn dư hóa chất trên nông sản, gây độc cho con người và nhiều loài động vật. Vì vậy, biện pháp sinh học đang được các nhà nghiên cứu quan tâm và đánh giá cao trong quản lý bệnh, giúp cân bằng sinh học, bảo vệ môi trường và an toàn thực phẩm cho con người. Trong đó, ứng dụng vi sinh vật có lợi như nhóm vi khuẩn *Pseudomonas* spp. để quản lý tác nhân

gây bệnh cây đang được các nhà khoa học nghiên cứu nhiều. Chẳng hạn vi khuẩn *Pseudomonas monteilli* vk58 có khả năng ức chế mạnh vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* (Lê Như Kiều và ctv., 2007). Tương tự, Lại Văn Ê (2003) ghi nhận vi khuẩn *Pseudomonas* spp. có khả năng đối kháng với nấm *Fusarium* sp. và *R. solani* Kuhn. Từ đó, nghiên cứu đã được thực hiện với mục tiêu phân lập và tuyển chọn các dòng vi khuẩn vùng rễ *Pseudomonas* phát huỳnh quang có khả năng đối kháng đối với nấm *R. solani* Kuhn.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguồn nấm bệnh

Nấm *R. solani* AG206 (có độc tính cao) được cung cấp từ phòng thí nghiệm Phòng trừ Sinh học, Bộ môn Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ.

2.2. Thu thập mẫu đất, phân lập và xác định vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang

Các mẫu đất đã được thu thập ở 80 ruộng (cây lúa, bắp, mía, hành và huệ) tại các huyện Tháp Mười, Lai Vung, Tam Nông và Thanh Bình, thuộc tỉnh Đồng Tháp. Mẫu đất được bảo quản trong túi nylon và đưa về phòng thí nghiệm, trữ ở 5°C trước khi phân lập.

Quá trình phân lập được thực hiện theo phương pháp của Noori and Saud (2012, có hiệu chỉnh; trích dẫn từ Nguyễn Thị Xuân Mai, 2016). Một gam đất được cân và cho vào 9 ml nước cất thanh trùng trong ống nghiệm, vortex ống nghiệm với tốc độ 120 vòng/phút, pha loãng 3 lần ở độ pha loãng là 10^{-1} , 10^{-2} và 10^{-3} . Tiếp theo, 100 μ l huyền phù nước cất và đất từ mỗi nồng độ pha loãng được rút bằng micropipette và chà đều lên bề mặt môi trường King's B đã chuẩn bị sẵn trên đĩa petri khử trùng. Các đĩa petri này được ủ ở nhiệt độ phòng trong 2 ngày. Sau khi ủ, khuẩn lạc vi khuẩn phát triển trên môi trường King's B được quan sát dưới ánh sáng đèn UV ở bước sóng 365nm. Vi khuẩn phát huỳnh quang (PHQ) được xác định dựa trên đặc điểm có ánh sáng huỳnh quang phát ra từ khuẩn lạc, các dòng vi khuẩn đã xác định được cấy truyền sang đĩa petri có môi trường King's mới.

Xác định vi khuẩn *Pseudomonas* PHQ dựa trên đặc điểm hình thái: Tiếp tục nuôi cấy các dòng vi khuẩn đã phát sáng ở trên lên môi trường King's B để ghi nhận đặc điểm hình thái của các khuẩn lạc như: màu sắc khuẩn lạc, bề mặt khuẩn lạc, rìa khuẩn lạc..., từ đó so sánh với kết quả được mô tả bởi King *et al.* (1954) để xác định những khuẩn lạc này thuộc nhóm vi khuẩn *Pseudomonas* PHQ.

Xác định vi khuẩn *Pseudomonas* PHQ dựa trên phản ứng nhuộm gram: phản ứng nhuộm g được thực hiện đối với các dòng vi khuẩn *Pseudomonas* PHQ theo phương pháp của IRRI (1994) với các

bước tiến hành như sau: que cấy vô trùng được sử dụng để lấy một ít vi khuẩn đã được chuẩn bị trước 24 giờ, hòa vi khuẩn vào 1 giọt nước cất ở giữa phiến kính, làm khô trong không khí, hơ nhanh vết bôi trên ngọn lửa đèn cồn 2 - 3 lần để gắn chặt vi khuẩn vào phiến kính. Cố định vết bôi bằng cách nhỏ lên vết bôi 1 - 2 giọt cồn 95°, hơ nhanh qua ngọn lửa đèn cồn trong 10 giây, cố định vết bôi nhằm 3 mục đích: giết chết vi khuẩn, gắn chặt vi khuẩn vào phiến kính và làm vết bôi bắt màu tốt hơn vì các tế bào chết bắt màu tốt hơn tế bào sống. Mẫu được nhuộm bằng dung dịch Crystal violet trong 30 giây đến 1 phút, rửa nhanh qua nước cất. Mẫu được nhuộm thêm dung dịch lugol và giữ trong 1 phút, rửa nhanh qua nước cất. Mẫu được nhỏ dịch tẩy màu Ethanol 95%, giữ khoảng 30 giây (cho đến khi vừa thấy mất màu), rửa nhanh qua nước cất. Mẫu được nhuộm tiếp bằng dung dịch nhuộm bổ sung trong 1 phút, rửa nhanh với nước cất, để khô. Vi khuẩn Gram âm bắt màu đỏ. Tiêu bản được quan sát ở vật kính 100X, vi khuẩn Gram âm bắt màu đỏ của carbol-fuchsin.

2.3. Khảo sát khả năng đối kháng của các dòng vi khuẩn *Pseudomonas* PHQ đối với nấm *R. solani* trong điều kiện phòng thí nghiệm

Trước khi bố trí thí nghiệm, 39 dòng vi khuẩn được khảo sát sơ bộ để đánh giá nhanh khả năng đối kháng, với 2 lặp lại. Từ đó, 7 dòng vi khuẩn *Pseudomonas* PHQ được chọn để thực hiện thí nghiệm.

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên (HTNN) gồm 7

thí nghiệm thức là 7 dòng vi khuẩn và 4 lặp lại. Nấm *R. solani* được nuôi cấy trên môi trường PDA 3 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm. Vi khuẩn *Pseudomonas* PHQ được nhân nuôi trên môi trường King'B trong 2 ngày. Chuẩn bị ống eppendorf có chứa giấy thấm đã được đục thành từng khoanh tròn (Ø: 0,5 cm). Sau đó, 1.000 µl King'B lỏng được cho vào ống. Vi khuẩn *Pseudomonas* PHQ từ môi trường nhân nuôi được cấy vào ống, tiếp tục để 2 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm.

Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của Noori and Saud (2012, có hiệu chỉnh). Khoanh khuẩn ty nấm *R. solani* (Ø: 0,5 cm) đã nuôi cấy 3 ngày được đặt lên bề mặt đĩa chứa môi trường King'B (10 ml) với khoảng cách tính từ rìa đĩa petri là 2,5 cm. Tiếp theo, khoanh giấy thấm tẩm huyền phù vi khuẩn *Pseudomonas* PHQ được đặt tại vị trí đối diện khoanh khuẩn ty nấm *R. solani* và cũng cách rìa đĩa petri 2,5 cm. Đĩa petri được đặt ở nhiệt độ phòng trong 5 ngày, đồng thời ghi nhận các chỉ tiêu. Ở nghiệm thức đối chứng chỉ đặt khoanh khuẩn ty nấm cách rìa đĩa petri 2,5 cm.

Bán kính sợi nấm phát triển ở nghiệm thức đối chứng và nghiệm thức có vi khuẩn được ghi nhận ở thời điểm 1, 3 và 5 ngày sau đặt khoanh nấm (NSĐKN), từ đó quy ra hiệu suất đối kháng (HSDK) theo công thức:

$$\text{HSDK (\%)} = \frac{\text{BK}_{\text{đc}} - \text{BK}_{\text{vk}}}{\text{BK}_{\text{đc}}} \times 100\%$$

Trong đó: $\text{BK}_{\text{đc}}$ là bán kính sợi nấm ở nghiệm thức đối chứng; BK_{vk} là bán kính sợi nấm ở nghiệm thức có vi khuẩn.

Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Từ kết quả thí nghiệm, dòng vi khuẩn có HSDK cao được chọn để thực hiện ở thí nghiệm tiếp theo.

2.4. Khảo sát mật số dòng vi khuẩn *Pseudomonas* PHQ triển vọng trong các loại môi trường nhân nuôi lỏng trên máy lắc ngang

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức HTNN, gồm 3 nghiệm thức là 3 loại môi trường King's B, PMS và Succinate, 3 lặp lại. Ba loại môi trường nhân nuôi lỏng gồm King's B, PMS và Succinate được chứa trong ống falcon, mỗi loại 3 ống ứng với 3 lần lặp lại. Sau đó, 15 ml huyền phù vi khuẩn được pha và cho vào ống falcon. Tiếp theo, 1 ml huyền phù vi khuẩn được rút và cho vào các ống falcon chứa 30 ml môi trường mỗi loại. Sau đó, các ống này được đặt trong máy lắc ngang với tần số 75 lần/phút ở điều kiện phòng và đo mật số vi khuẩn bằng máy quang phổ ở bước sóng 400 nm tại thời điểm 0 và 96 giờ sau bố trí (GSBT).

2.5. Xử lý số liệu

Số liệu được tổng hợp, thống kê phân tích ANOVA và so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức bằng phần mềm MSTATC qua phép thử Duncan.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả thu thập mẫu đất, phân lập vi khuẩn đối kháng

Từ 80 mẫu đất đã được thu thập tại Đồng Tháp, 39 dòng *Pseudomonas* PHQ đã được phân lập và làm thuần (bảng 1).

Bảng 1. Số mẫu đất vùng rễ cây và số dòng vi khuẩn phân lập tại 5 huyện thuộc tỉnh Đồng Tháp

STT	Số mẫu đất thu	Số dòng vi khuẩn phân lập	Địa điểm thu mẫu
1	30	19	Huyện Lai Vung
2	20	8	Huyện Lấp Vò
3	10	2	Huyện Tam Nông
4	10	7	Huyện Thanh Bình
5	10	3	Huyện Tháp Mười
Tổng	80	39	5 huyện thuộc tỉnh Đồng Tháp

3.2. Đặc điểm hình thái, khả năng phát quang và phản ứng nhuộm Gram của các dòng vi khuẩn *Pseudomonas* PHQ đã làm thuần

Trên môi trường King’s B, hình thái các dòng vi khuẩn *Pseudomonas* PHQ được phân lập rất đa dạng về màu sắc và hình thái khuẩn lạc. Trong đó, hai nhóm hình thái và màu sắc khuẩn lạc đã được ghi nhận. Vi khuẩn nhóm I: khuẩn lạc dạng nhầy, hình tròn nhỏ, phẳng có màu trắng sữa gồm các dòng đại diện là TM.ND-0602, TB.ND-1201, TB.ND-1502 và TB.ND-1701. Vi khuẩn nhóm II: khuẩn lạc hơi to, thô, rìa có răng cưa màu vàng, với các dòng đại diện là LO.ND-2701, LV.ND-3202 và TN.ND-4202. Kết quả phân lập các dòng vi khuẩn và ghi nhận đặc điểm hình thái khuẩn lạc của chúng trên môi trường King’s B trong nghiên cứu này phù hợp với kết quả đã công bố về vi khuẩn *Pseudomonas*. Kết quả thực hiện nhuộm Gram đối với các dòng vi khuẩn PHQ được phân lập cho thấy tế bào vi khuẩn có dạng hình que, nhuộm màu đỏ. Dựa trên kết quả nhuộm Gram, kết luận đây là nhóm vi khuẩn Gram âm. Các vi khuẩn thuộc chi

Pseudomonas cũng là vi khuẩn Gram âm (IRRI, 1994). Tất cả các dòng đều thể hiện khả năng phát huỳnh quang với ánh sáng phản quang có màu xanh lam phát ra từ khuẩn lạc khi quan sát dưới ánh đèn cực tím ở bước sóng 365 nm.

3.3. Khả năng đối kháng của dòng vi khuẩn *Pseudomonas* PHQ đối với nấm *R. solani* trong điều kiện phòng thí nghiệm

Kết quả khảo sát sơ bộ về khả năng đối kháng của 39 dòng vi khuẩn *Pseudomonas* PHQ cho thấy các dòng vi khuẩn PHQ đều có biểu hiện đối kháng nấm *R. solani* với hiệu suất đối kháng (HSDK) và bán kính vành khăn vô khuẩn (BKVKVK) thay đổi qua các thời điểm quan sát từ 1 ngày sau đặt khoanh nấm (NSĐKN) đến 5 NSĐKN (kết quả không được trình bày). Từ kết quả này, 7 dòng vi khuẩn đạt kết quả tốt đã được chọn để so sánh.

HSDK của 7 dòng vi khuẩn *Pseudomonas* PHQ với nấm *R. solani* được ghi nhận ở bảng 2. Cụ thể ở thời điểm 1 NSĐKN, các dòng vi khuẩn *Pseudomonas* PHQ thể hiện hiệu quả đối kháng qua chỉ tiêu HSDK ở tỉ lệ khác nhau.

Trong đó, dòng TB.ND-1701 có HSDK cao nhất (23,9%), dòng TB.ND-1502 và TB.ND-1201 cũng thể hiện hiệu quả đối kháng tương đối cao, có HSDK lần lượt là 23,63% và 20,19%, dòng TM.ND-0602 có HSDK 7,42% thể hiện khả năng đối kháng thấp nhất. Đến thời điểm 3 NSĐKN, dòng TB.ND-1701 vẫn thể hiện HSDK cao nhất (29,61%) và cao hơn ý nghĩa so với đối chứng. Dòng TN.ND-4202 có HSDK thấp nhất, chỉ đạt 6,68%, nhưng vẫn khác biệt có ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng. Các nghiệm thức vi khuẩn còn lại có HSDK khoảng 7,51 - 24,51%. Ở thời điểm khảo sát cuối (5 NSĐKN), các nghiệm thức vẫn duy trì hiệu quả đối kháng, khác biệt có ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng. Dòng LV.ND-3202 thể hiện khả năng đối kháng cao nhất với

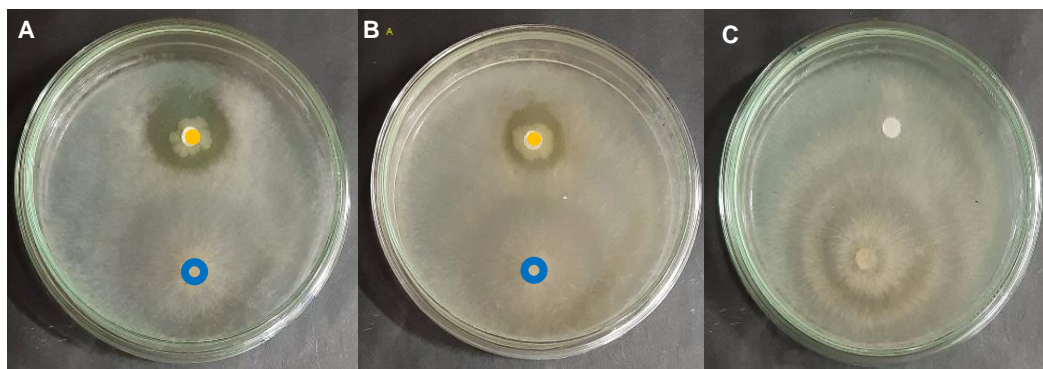
HSDK là 20,47%, các dòng TM.ND-0602, TB.ND-1502, TB.ND-1701, LO.ND-2701, TN.ND-4201 có HSDK từ 13,90 - 15,72% và không có khác biệt ý nghĩa thống kê giữa 5 dòng này. Ngược lại, dòng TB.ND-1201 có HSDK thấp nhất và khác biệt ý nghĩa so với các dòng còn lại (1,86%) (bảng 2, hình 2).

Nhìn chung, HSDK của các dòng vi khuẩn *Pseudomonas* PHQ có sự thay đổi qua từng thời điểm. Trung bình tại ba thời điểm khảo sát các dòng vi khuẩn đối kháng đạt trên 10%, cao hơn ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng. Dòng TB.ND-1701 và TM.ND-0602 thể hiện khả năng HSDK lần lượt là 22,56% và 10,25%. Hai dòng TB.ND-1502 và LV.ND-3202 thể hiện hiệu suất đối kháng tương đối cao (20,68% và 17,84%) (bảng 2).

Bảng 2. Hiệu suất đối kháng (%) của các dòng vi khuẩn *Pseudomonas* đối với nấm *R. solani* ở các thời điểm sau khi bố trí thí nghiệm

Nghiệm thức	Hiệu suất đối kháng của nấm (%)			
	1 NSĐKN	3 NSĐKN	5 NSĐKN	Trung bình
TM.ND-0602	7,42 ^a	9,38 ^{bc}	13,94 ^a	10,25 ^a
TB.ND-1201	20,19 ^a	20,85 ^{abc}	1,86 ^b	14,30 ^a
TB.ND-1502	23,63 ^a	24,51 ^{ab}	13,90 ^a	20,68 ^a
TB.ND-1701	23,90 ^a	29,61 ^a	14,18 ^a	22,56 ^a
LO.ND-2701	9,07 ^a	7,51 ^{bc}	15,72 ^a	10,77 ^a
LV.ND-3202	16,90 ^a	16,16 ^{abc}	20,47 ^a	17,84 ^a
TN.ND-4202	10,71 ^a	6,68 ^c	14,41 ^a	10,60 ^a
Đối chứng	0,00 ^b	0,00 ^d	0,00 ^c	0,00 ^b
<i>Mức ý nghĩa</i>	**	**	**	**
CV (%)	10,98	15,13	32,74	25,77

Ghi chú: Các trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi các chữ cái giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê Duncan ở mức 1%, **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%, NSĐKN: Ngày sau đặt khoanh nấm.



Hình 2. Khả năng đối kháng của hai dòng *Pseudomonas* PHQ TM.ND-0602 và TB.ND-1502 đối với nấm *R. solani* ở thời điểm 5 ngày sau đặt khuẩn ty
(A: TM.ND-0602, B: TB.ND-1502 và C: Đối chứng)

Ghi chú: ●: Vị trí đặt khoanh nấm; ●: Vị trí đặt vi khuẩn.

Như vậy, ba dòng vi khuẩn TB.ND-1701, TB.ND-1502, LV.ND-3202 thể hiện khả năng đối kháng cao hơn các dòng còn lại. Các kết quả trong nghiên cứu này phù hợp một số công trình đã được công bố trước đây. Theo ghi nhận của Đỗ Tấn Dũng (2004; trích dẫn từ Võ Thanh Hùng, 2013), vi khuẩn *P. fluorescens* có khả năng cạnh tranh, đối kháng, ức chế sự xâm nhiễm và gây hại của vi khuẩn *Ralstonia solanacearum*. Bên cạnh đó, Trần Thị Kiều (2017) đã ghi nhận các dòng *Pseudomonas* PHQ đánh giá đều cho hiệu quả ức chế vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ổn định kéo dài đến 72 giờ và đều có khả năng tiết enzyme protease phân giải protein trong điều kiện phòng thí nghiệm.

Từ kết quả thí nghiệm cho thấy, hầu hết các dòng vi khuẩn *Pseudomonas* PHQ đã khảo sát có khả năng đối kháng đối với sự phát triển của khuẩn ty nấm *R. solani*, có thể do nhiều cơ chế như cạnh tranh dinh dưỡng, không gian sống, tiết enzyme hay kháng sinh gây ức chế sự tăng trưởng của sợi nấm. Theo Phạm Văn Kim (2000),

một số vi sinh vật trong quá trình sống tiết ra bên ngoài nhiều chất có tác dụng như chất kiềm chế hoạt động của các vi sinh vật khác cùng môi trường sống. Tương tự, Nguyễn Thị Thu Nga (2003) cho rằng vi khuẩn *Burkholderia cepacia* TG17 khi cùng sống với nấm *R. solani* có khả năng hạn chế sự phát triển của khuẩn ty nấm và ức chế sự hình thành hạch nấm. Hiện tượng này có thể do vi khuẩn tiết ra chất bactericin hay enzyme phân hủy vách tế bào của sợi nấm làm sợi nấm chết đi hay làm chúng phát triển chậm lại.

Dòng vi khuẩn LV.ND-3202 được chọn để tiếp tục thực hiện thí nghiệm tiếp theo.

3.4. Kết quả mật số dòng vi khuẩn *Pseudomonas* PHQ triển vọng trong các loại môi trường nhân nuôi lỏng trên máy lắc ngang

Kết quả ghi nhận bằng máy đo quang phổ và tính toán mật số cho thấy mật số vi khuẩn tăng qua các thời điểm 24, 48, 72 và 96 GSBT. Ở thời điểm 0 GSBT, mật số vi khuẩn trong môi trường King's B

cao nhất là $1,39 \times 10^8$ cfu/ml, môi trường PMS thấp nhất là $1,02 \times 10^8$ cfu/ml, tuy nhiên không khác biệt về ý nghĩa thống kê. Tương tự, thời điểm 24 và 48 GSBT, môi trường King's B và PMS vẫn lần lượt duy trì mật số cao nhất và thấp nhất. Ở thời điểm 72 GSBT, môi trường King's B đạt mật số cao nhất là $2,20 \times 10^8$ cfu/ml, kế đó là môi trường Succinate $1,99 \times 10^8$ cfu/ml, thấp nhất là môi trường PMS $1,66 \times 10^8$ cfu/ml, và

khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê. Đến thời điểm 96 GSBT, môi trường King's B và Succinate giảm so với thời điểm 72 GSBT nhưng vẫn có mật số cao ($2,19 \times 10^8$ cfu/ml và $1,88 \times 10^8$ cfu/ml), môi trường PMS tăng nhưng thấp nhất với mật số $1,79 \times 10^8$ cfu/ml. Qua đây, kết luận rằng môi trường King's B lỏng cho mật số vi khuẩn cao nhất, tiếp theo là môi trường Succinate và thấp nhất là môi trường PMS (bảng 3).

Bảng 3. Mật số dòng vi khuẩn LV.ND-3202 trong môi trường nhân nuôi lỏng ở các thời điểm sau khi bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm	Mật số vi khuẩn ($\times 10^8$ cfu/ml) ở OD = 400 nm				
	0 GSBT	24 GSBT	48 GSBT	72 GSBT	96 GSBT
King's B	1,39 ^a	1,72 ^a	1,87 ^a	2,20 ^a	2,19 ^a
Succinate	1,41 ^a	1,44 ^b	1,66 ^b	1,99 ^b	1,88 ^{ab}
PMS	1,02 ^a	1,19 ^c	1,42 ^c	1,66 ^c	1,79 ^b
Mức ý nghĩa	ns	*	*	*	*
CV (%)	2,24	6,5	4,91	3,73	7,38

Ghi chú: Các trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi các chữ cái giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê Duncan, *: Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%, **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%. GSBT: Giờ sau bố trí.

Việc nhân nuôi này từng được thực hiện trên các loại môi trường tổng hợp, bán tổng hợp và tự nhiên. Bora *et al.* (2004) khi tiến hành nhân nuôi vi khuẩn *P. fluorescens* trong môi trường King's B lỏng trên máy lắc ngang với tần số 150 vòng/phút ở nhiệt độ phòng sau 48 giờ mật số đạt 9×10^8 cfu/ml. Sản xuất siderophore tối đa thu được trong môi trường succinate (125 μ M) sau đó là môi trường B của King (105 μ M) (Sasirekha and Srividya, 2016). Theo nghiên cứu của Chancharoensin *et al.* (2010), PMS là môi trường chi phí thấp được ứng dụng để sản

xuất sinh khối vi khuẩn. Tuy nhiên, các nguồn carbon và chất dinh dưỡng trong môi trường PMS đã được thử nghiệm và phát hiện ra rằng mật đường có thể thay thế glucose và bột đậu nành. Nồng độ tối ưu cho mật rỉ ở mức 4% và bột đậu nành ở nồng độ 1% sẽ cho mật số cao nhất.

4. KẾT LUẬN

Trong tổng số 80 mẫu đất vùng rẫy cây lúa, bắp, mía, hành và huệ đã được thu thập tại tỉnh Đồng Tháp, 39 dòng *Pseudomonas* PHQ đã được phân lập và làm thuần. Các dòng vi khuẩn này có đặc

điểm Gram âm, phát huỳnh quang, đa dạng về màu sắc và hình thái khuẩn lạc. Trong tổng số 39 dòng vi khuẩn, 7 dòng thể hiện khả năng đối kháng cao. Trong đó, 3 dòng TB.ND-1502, TB.ND-1701 và LV.ND-3202 thể hiện HSĐK tốt. Kết quả khảo sát mật số của dòng vi khuẩn LV.ND-3202 trong môi trường nhân nuôi lỏng trên máy lắc ngang cho thấy môi trường King's B lỏng cho mật số cao nhất ở thời điểm 72 GSBT.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bora, T., Ozaktan, H., Gorenand, E. and, Aslan, E. (2004), Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* by wettable powder formulations of two strains of *Pseudomonas putida*. Journal of Phytopathology 152: 471 - 475.
2. Chancharoensin, S., Luechai, S. and Banditwattanawong, C. (2010), Media development for biomass production of antifungal strains of *Pseudomonas aeruginosa*. International Journal of Applied Agricultural Research 5: 669 - 677.
3. IRRI (1994), A Manual of Rice Seed Health. International Rice Research Institute. P.O.Box 933, 1099 Manila, Philippine.
4. Lại Văn Ê (2003), Nghiên cứu sử dụng vi sinh vật đối kháng trong phòng trừ sinh học nấm *Fusarium oxysporum* và *Rhizoctonia solani* Kuhn gây bệnh chết trên bông vải (*Gosypium hirsutum* L). Luận văn Tốt nghiệp Thạc sỹ. Trường Đại học Cần Thơ.
5. Lê Như Kiều, Phan Quốc Hưng, Nguyễn Hữu thành Thành và Nguyễn Việt Hiệp (2007), Tương tác giữa chủng vi khuẩn đối kháng *Pseudomonas monteilii* vk58 với các chủng vi khuẩn phân lập từ đất. Tạp chí Khoa học và Công nghệ 5(5): 35 - 40.
6. Nguyễn Thị Thu Nga (2003), Khảo sát đặc tính sinh học, khả năng đối kháng của vi khuẩn *Burkholderia cepacia* TG17 đối với nấm *Rhizoctonia solani* Kuhn và tìm môi trường nhân nuôi vi khuẩn này. Luận văn Tốt nghiệp Thạc sỹ. Trường Đại học Cần Thơ.
7. Nguyễn Thị Xuân Mai (2016), Đánh giá khả năng phòng trừ của vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang đối với bệnh đạo ôn do nấm *Pyricularia oryzae* gây ra trong điều kiện nhà lưới. Luận văn Tốt nghiệp Thạc sỹ. Trường Đại học Cần Thơ.
8. Noori, M. S. S. and Saud, H. M. (2012), Potential plant growth-promoting activity of *Pseudomonas* sp. Isolated from paddy soil in Malaysia as biocontrol agent. Journal of Plant Pathology and Microbiology 3(2): 1 - 4.
9. Sasirekha, B. and Srividya, S. (2016), Siderophore production by *Pseudomonas aeruginosa* FP6, a biocontrol strain for *Rhizoctonia solani* and *Colletotrichum gloeosporioides* causing diseases in chili. Agriculture and Natural Resources 50: 250 - 256.
10. Trần Thị Kiều (2017), Đánh giá khả năng phòng trừ của vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang đối với bệnh cháy bìa lá lúa do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây ra trong điều kiện nhà lưới. Luận văn Tốt nghiệp Thạc sỹ. Trường Đại học Cần Thơ.

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC CHỦNG VI KHUẨN VÙNG RỄ CÂY HỒ TIÊU (*Piper nigrum* L.) ĐẾN KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG VÀ KHÁNG TUYẾN TRÙNG CỦA CÂY HỒ TIÊU GIAI ĐOẠN VƯỜN ƯƠM

Trịnh Thị Huyền Trang^{1*}, Trần Thị Phương Hạnh¹,
Nguyễn Thị Tinh¹, Trần Thị Huế¹, Nguyễn Thị Vân¹

¹Trường Đại học Tây Nguyên

*Tác giả liên hệ: tthtrang@ttn.edu.vn

TÓM TẮT

Hồ tiêu là cây công nghiệp có giá trị kinh tế và xuất khẩu cao của Việt Nam. Tuy nhiên, sản xuất hồ tiêu đang phải đối mặt với nhiều thách thức và phát triển thiếu bền vững do tình hình dịch bệnh. TUYẾN TRÙNG SẴN RỄ *Meloidogyne* sp. là một trong những nhóm đối tượng gây bệnh chủ yếu trên cây hồ tiêu. Nghiên cứu được tiến hành trên 06 chủng vi khuẩn vùng rễ cây hồ tiêu có khả năng kháng tuyến trùng với 8 nghiệm thức để đánh giá ảnh hưởng của chúng lên sinh trưởng và khả năng kháng tuyến trùng trong điều kiện vườn ươm, nhằm ứng dụng trong phòng trừ tuyến trùng gây bệnh trên cây hồ tiêu. Kết quả ghi nhận mỗi chủng vi khuẩn đều có tác động tốt đến một vài chỉ tiêu sinh trưởng và khả năng kháng tuyến trùng của cây hồ tiêu nhưng xét về tổng thể thì nghiệm thức có sử dụng chủng vi khuẩn RB.EK7 có tính đồng đều và vượt trội hơn các nghiệm thức còn lại. Chủng này được định danh bằng phương pháp giải trình tự 16S rRNA với tên khoa học học *Bacillus velezensis* EK7.

Từ khóa: cây hồ tiêu, tuyến trùng, vi khuẩn vùng rễ.

ABSTRACT

The effects of rhizosphere bacteria strains on the growth and resistance ability against nematodes of the nursery black pepper plant (*Piper nigrum* L.)

Pepper is an industrial crop with high economic and export value in Vietnam. However, the current pepper production is facing many challenges and unsustainable development due to the epidemic situation. Root-knot nematode *Meloidogyne* sp. is one of the predominant pathogen groups on pepper plants. In the present study, 8 treatments using 06 target antagonistic rhizobacteria strains against nematode in the pepper root zone were conducted to evaluate their effects on the growth and nematode resistance ability of black pepper under nursery conditions. The results from this study could contribute to prevent and control nematodes on the pepper plant. The findings show that the treatment using RB.EK7 bacterial strain performed the best effects on almost

all growth and nematode resistance indicators of black pepper plants while each of the remaining strains showed typical impacts on only a few such indicators of black pepper plants. The RB.EK7 strain was also identified by the 16S rRNA sequencing method and confirmed as Bacillus velezensis EK7.

Keywords: blackpepper, nematodes, rhizobacteria.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hồ tiêu (*Piper nigrum* L.) là cây công nghiệp có giá trị xuất khẩu cao của Việt Nam. Ở nước ta, vùng trồng tiêu lớn nhất hiện nay tập trung ở các tỉnh Đông Nam Bộ (Bình Phước, Bà Rịa Vũng Tàu, Đồng Nai) và Tây Nguyên (Đắk Nông, Đắk Lắk và Gia Lai). Năm 2020, xuất khẩu hạt tiêu đạt 23 nghìn tấn, trị giá 62 triệu USD, tăng 38% về lượng và tăng 54,4% về trị giá so với tháng 12/2019 (Bộ Công Thương, 2020). Tình hình sản xuất hồ tiêu trong nước đang đối mặt với nhiều thách thức và phát triển thiếu bền vững, nhất là diện tích hồ tiêu phát triển quá nhanh, vườn cây được đầu tư thâm canh cao độ trong giai đoạn giá tốt. Hơn nữa, giá hồ tiêu xuống thấp nên nhiều nông dân không đầu tư, chăm sóc khiến vườn cây sinh trưởng kém, sâu, bệnh hại (Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2020). Hiện nay, dịch bệnh trên cây hồ tiêu vẫn chưa có biện pháp phòng trừ hiệu quả trong đó có bệnh chết chậm mà một trong những nguyên nhân là do tuyến trùng gây ra.

Tuyến trùng sần rễ *Meloidogyne* có khả năng ký sinh trên hầu hết các loại cây trồng bao gồm từ cây một lá mầm đến cây hai lá mầm (Bird và Kaloshian, 2003). Một số loài tuyến trùng sần rễ *Meloidogyne* có phạm vi ký chủ rộng như *M. incognita*, *M. arenaria* có khả năng ký sinh trên nhiều loại cây so với các loài tuyến trùng sần rễ *Meloidogyne* khác.

Trên hồ tiêu, tuyến trùng sần rễ *Meloidogyne incognita* gây ra triệu chứng vàng lá, làm suy giảm khả năng sinh trưởng của cây, khiến cây chết chậm (Ichinohe, 1976). Trước đây, nhiều loại thuốc hóa học được sử dụng để kiểm soát tuyến trùng như organophosphate và carbamate. Tuy nhiên, sử dụng các chất hóa học dẫn đến hậu quả nghiêm trọng về môi trường và ảnh hưởng sức khỏe đến con người. Do đó, nhằm kiểm soát tuyến trùng một cách hiệu quả và thân thiện với môi trường cần sử dụng các chất không phải thuốc hóa học. Các chủng vi khuẩn vùng rễ được lựa chọn vừa là tác nhân sinh học hiệu quả trong kiểm soát tuyến trùng vừa là tác nhân thúc đẩy tăng trưởng thực vật và tăng năng suất thực vật (Karthik *et al.*, 2017). Vi khuẩn vùng rễ cạnh tranh với vi sinh vật tại vùng rễ để thúc đẩy sinh trưởng ở thực vật một cách trực tiếp thông qua kích thích sinh trưởng thực vật và một cách gián tiếp làm giảm nguồn bệnh phát sinh từ đất. Sử dụng vi khuẩn vùng rễ làm chế phẩm vi sinh được coi là xu hướng trong tương lai vì nó làm giảm đáng kể việc sử dụng hóa chất từ đó góp phần làm tăng năng suất cây trồng một cách bền vững (Kaushal *et al.*, 2017). Kế thừa kết quả từ nghiên cứu trước sau khi tuyển chọn được 06 chủng vi khuẩn vùng rễ cây hồ tiêu có vừa có hoạt tính kháng tuyến trùng vừa có hoạt tính kích thích sinh trưởng trong điều kiện *in vitro*. Nghiên cứu này được tiến hành với mục tiêu đánh giá được ảnh

hưởng của các chủng vi khuẩn vùng rễ đến sinh trưởng và khả năng kháng tuyến trùng trong điều kiện vườn ươm từ đó tuyển chọn được vi khuẩn vùng rễ kháng tuyến trùng cao trên cây hồ tiêu

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

(1) Ảnh hưởng của các chủng vi khuẩn vùng rễ đến khả năng kháng tuyến trùng *Meloidogyne* spp. và sinh trưởng của cây hồ tiêu vườn ươm.

(2) Định danh chủng có hoạt tính kháng tuyến trùng cao.

2.2. Đối tượng và vật liệu nghiên cứu

- **Đối tượng nghiên cứu:** 6 chủng vi khuẩn vùng rễ cây hồ tiêu được phân lập và tuyển chọn có khả năng kháng tuyến trùng *Meloidogyne* sp. đang được bảo quản tại Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường (CNSH&MT) và Bộ môn Sinh học thuộc chương trình đề tài cấp Bộ “*Nghiên cứu phát triển bền vững cây hồ tiêu ở Tây Nguyên*”; tuyến trùng và trứng gây u sưng rễ cây hồ tiêu *Meloidogyne* sp.

- **Vật liệu nghiên cứu:** Môi trường nuôi cấy vi khuẩn Luria-Bertani (LB) Agar gồm: Tryptone (10 g), cao nấm men (5 g), NaCl (10 g), Agar (20 g), nước cất (1000 ml), pH 7,5 - 8,0 được sử dụng; cây hồ tiêu giống Vĩnh Linh.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp đánh giá ảnh hưởng của các chủng vi khuẩn vùng rễ đến khả năng kháng tuyến trùng và sinh trưởng của cây hồ tiêu trong điều kiện vườn ươm

- **Chuẩn bị vườn ươm:** Vườn ươm có lưới che phía trên và xung quanh, nhiệt

độ từ 25 - 30°C, độ ẩm từ 70 - 80%, cường độ ánh sáng 50 - 500 $\mu\text{mol m}^2/\text{s}^{-1}$ (đo từ 8h - 16h).

- **Chuẩn bị đất trồng hồ tiêu:** Đất ươm tiêu được chọn là đất tốt, lấy ở những vùng không bị nhiễm tuyến trùng và/hoặc nấm bệnh gây hại. Đất được đập nhỏ, tạo lớp mỏng phơi nắng 1 ngày trước khi đóng bầu ươm cây hồ tiêu. Bầu ươm có kích thước: 13 × 22 cm, có 8 lỗ thoát nước ở nửa dưới của bầu phân bố thành 2 hàng, hàng dưới cách đáy bầu khoảng 2cm. Thành phần đất trồng trong bầu theo tỷ lệ đất:cát:phân chuồng là 2:1:1. Phôi trộn, ẩm độ 60 - 70%. Đóng bầu: 1 kg/bầu. Hấp khử trùng: 90 - 95°C, 1 giờ, để nguội, ươm trồng tiêu.

- **Chuẩn bị dịch vi khuẩn:** Các chủng vi khuẩn được nuôi cấy trên môi trường LB Agar trong 24 giờ, sau đó chuyển vào bình 500 ml chứa 200 ml chứa môi trường LB lỏng, ủ trong máy lắc với tốc độ 150 vòng/phút trong 2 ngày ở 25°C. Mật độ vi khuẩn được điều chỉnh đạt 10^8 cfu/ml được coi là dịch vi khuẩn gốc.

- **Chuẩn bị hom giống hồ tiêu:** Theo Tiêu chuẩn cơ sở về cây giống hồ tiêu (TCCS 07:2012/BP). Chọn dây lươn bánh tẻ giống hồ tiêu Vĩnh Linh ở các vườn tiêu 4 tuổi không có triệu chứng bệnh. Cắt dây thành các hom giống, mỗi hom 2 đốt. Hom được cắt hết lá khi đem ươm, cắt hom vào buổi sáng, khi trời mát.

- **Phương pháp bố trí thí nghiệm:** Gồm 8 nghiệm thức (2 nghiệm thức đối chứng và 6 nghiệm thức sử dụng vi khuẩn), được bố trí với 3 lần lặp lại. Ngâm hom trong 10 ml dịch vi khuẩn với mật độ 10^8 cfu/ml, thời gian 30 phút trước khi giâm hom. Giâm hai hom/bầu. Mỗi nghiệm thức 15 bầu. Chăm sóc cây hồ

tiêu theo đúng quy trình chăm sóc cây trong vườn ươm của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (Quyết định số 730/QĐ-BNN-TT). Sau khi tiêu đạt 5 lá thật, loại bỏ những cây không đủ số lá, 1 cây con/bầu, chiều cao đồng đều, tiến hành lây bệnh nhân tạo. Các nghiệm thức BH11, EK2, CJ4, CS30, DS33, EK7, DC1 được chủng nhiễm tuyến trùng *Meloidogyne* sp., sau 15 ngày tưới các chủng vi khuẩn với mật độ đã chuẩn bị

lần lượt là RB.BH11, RB.EK2, RB.CJ4, RB.CS30, RB.DS33, RB.EK7. Nghiệm thức Đ/C 2: Không chủng nhiễm tuyến trùng và không bổ sung vi khuẩn.

- *Phương pháp lây bệnh nhân tạo:* Thí nghiệm lây bệnh nhân tạo được tiến hành trong nhà lưới, thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên (RCBD). Tổng số cây thí nghiệm: 8 nghiệm thức × 10 cây/công thức × 3 lần nhắc lại = 240 cây.

Bảng 1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm

Lần lặp lại	1	2	3	4	5	6	7	8
I	EK2	CJ4	BH11	EK7	ĐC1	CS30	DS33	ĐC2
			CÁCH LY					
II	ĐC1	CS30	DS33	EK2	ĐC2	EK7	CJ4	BH11
			CÁCH LY					
III	ĐC2	EK2	CJ4	CS30	BH11	DS33	EK2	ĐC1

Chủng nhiễm tuyến trùng 3 lần, mỗi lần cách nhau 5 ngày vào mỗi bầu tiêu. Lượng tuyến trùng chủng nhiễm mỗi đợt: 350 J2/lần. Theo dõi 4 tháng sau khi chủng nhiễm tuyến trùng các chỉ tiêu sau:

+ Số u sung: Đếm tất cả số u sung có trên rễ.

+ Tỷ lệ rễ u sung = (Tổng số rễ bị u sung/Tổng số rễ điều tra) × 100.

+ Mật độ tuyến trùng trong đất (con/50g đất): Tuyến trùng trong đất được lọc bằng phương pháp lọc Berman có cải tiến.

+ Mật độ tuyến trùng trong rễ (con/5g rễ): Tuyến trùng trong rễ được ly trích bằng phương pháp lọc qua rây.

+ Các chỉ tiêu sinh trưởng bao gồm (1) Số lá/cây: Tính bằng cách đếm tất cả số lá có trên dây tiêu; (2) Diện tích lá (mm²): Tính bằng cách sử dụng giấy đo diện tích lá chuyên dụng từ; (3) Chiều dài

dây tiêu (cm): Tính bằng cách đo từ gốc dây đến đỉnh; (4) Đường kính cây tiêu (mm): Sử dụng thước cặp điện tử HT-022 chuyên dụng để đo đường kính thân; (5) Khối lượng cây tươi (g): Cân toàn bộ cây tiêu. Thân cây được tính từ nơi mọc lên của từng hom tiêu, không kể đoạn hom. Trọng lượng tươi của cây xác định ngay sau khi nhổ cây; (6) Khối lượng rễ tươi (g): Được tính bằng cách cân toàn bộ rễ sau khi đã rửa sạch đất và để ráo nước và (7) Khối lượng rễ khô (g): Sau khi cân khối lượng rễ tươi, mẫu được gói trong giấy báo và sấy ở 70°C cho đến khi mẫu khô hoàn toàn, lấy ra cân khối lượng khô; (8) Số rễ hồ tiêu được tính bằng cách đếm toàn bộ số rễ chính; (9) Chiều dài rễ (cm): Được tính bằng cách đo chiều dài từ gốc rễ đến chóp rễ của rễ dài nhất; (10) Hàm lượng diệp lục tố (chlorophyll) và carotenoid được phân tích bằng phương pháp quang phổ.

2.3.2. Định danh sinh học phân tử

Chủng vi khuẩn có hoạt tính cao được gửi định danh bằng phương pháp giải trình tự 16S rRNA tại Công ty Cổ phần công nghệ TBR. Địa chỉ: 553 Hương Lộ 2, phường Bình Trị Đông, quận Bình Tân, TP. Hồ Chí Minh.

2.3.3. Xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý thống kê bằng chương trình SAS (Statistical Analysis Systems) phiên bản 9.1 dùng cho Windows. Sự khác biệt có ý nghĩa ở mức 0,05 của giá trị được biểu hiện bằng các mẫu tự khác nhau. Các số liệu % được chuyển đổi sang dạng $\arcsin\sqrt{x}$ trước khi xử lý thống kê.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của một số chủng vi khuẩn vùng rễ đến một số chỉ tiêu bệnh của cây hồ tiêu giai đoạn vườn ươm

Kết quả bảng 2 cho thấy, số u sung ở các nghiệm thức xử lý vi khuẩn không

có sự khác biệt về mặt thống kê. Trong khi đó, tỷ lệ rễ bị u sung thấp nhất ở nghiệm thức EK7 đạt 20,9% và tỷ lệ rễ bị u sung cao nhất ở nghiệm thức CJ4, đạt 31,7%. Nhìn chung, ở các nghiệm thức xử lý với vi khuẩn vùng rễ tỷ lệ u sung đều giảm so với đối chứng 1 từ 7,04% đến 38,71%. Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của Khan *et al.* (2008) khi tiến hành bổ sung dịch lọc nuôi cấy và huyền phù vi khuẩn vùng rễ *Paenibacillus polymyxa* GBR-1 vào đất trồng cà chua đã lây nhiễm 2.000 tuyến trùng *M. incognita* tuổi 2. Kết quả làm giảm số rễ u sung và quần thể tuyến trùng đồng thời kích thích sinh trưởng của cây cà chua cũng như sinh khối rễ so với đối chứng không xử lý tuyến trùng ($P \leq 0,05$). Số rễ bị u sung giảm từ 4,8 xuống còn 1,4 và 1,8 tương ứng với công thức xử lý bằng dịch lọc nuôi cấy và huyền phù vi khuẩn nồng độ 10% so với đối chứng không được xử lý.

Bảng 2. Ảnh hưởng của các chủng vi khuẩn đến một số chỉ tiêu bệnh

Nghiệm thức	Số u sung/rễ	Tỷ lệ rễ bị u sung (%)	Mật độ tuyến trùng trong đất (con/50 g đất)	Mật độ tuyến trùng trong rễ (con/5 g rễ)	Vi sinh vật tổng số ($\times 10^6$ cfu/g)
EK2	1,4 ^a	24,1 ^{cd}	657,0 ^d	1866,7 ^d	75,3 ^c
EK7	1,6 ^a	20,9 ^d	865,3 ^c	1600,0 ^e	90,0 ^b
CJ4	1,6 ^a	31,7 ^{ab}	1106,7 ^b	2333,3 ^c	51,3 ^c
CS30	1,5 ^a	25,9 ^{bcd}	620,0 ^d	2300,0 ^c	29,3 ^e
BH11	1,5 ^a	30,1 ^{abc}	755,7 ^{cd}	2300,0 ^c	77,0 ^c
DS33	1,7 ^a	28,4 ^{abc}	748,7 ^{cd}	2833,3 ^b	119,7 ^a
Đ/C1	1,7 ^a	34,1 ^a	2431,0 ^a	3566,7 ^a	10,2 ^f
Đ/C2	0 ^b	5,56 ^e	0 ^e	0 ^f	5,4 ^f
CV (%)	12,5	15,3	12,3	6,8	6,7
LSD	0,3	6,7	200,6	252,1	11,6

Ghi chú: Sự khác biệt của các chữ cái trong cùng một cột là khác biệt có ý nghĩa ở mức xác suất với $p < 0,05$. Số liệu được chuyển đổi sang dạng $\log(X+0,5)$ (số u sung) và $\arcsin\sqrt{x}$ (tỷ lệ rễ bị u sung) trước khi xử lý thống kê.

Mật độ tuyến trùng *Meloidogyne* sp. trong đất ở tất cả các nghiệm thức đều giảm, cụ thể, mật độ tuyến trùng ở nghiệm thức CS30 thấp nhất, thấp hơn 1811 con/50 g đất, giảm 74,50% so với đối chứng Đ/C1 (xử lý với tuyến trùng, không xử lý vi khuẩn). Nhìn chung, các chủng vi khuẩn vùng rễ đều tác động làm giảm mật độ tuyến trùng trong đất từ 54,48 - 74,50% so với đối chứng Đ/C1. Trong khi đó, mật độ tuyến trùng trong rễ cao hơn rất nhiều lần so với mật độ tuyến trùng trong đất, giảm từ 20,56 - 55,14% so với đối chứng Đ/C1. Mật độ tuyến trùng giảm mạnh nhất ở nghiệm thức EK7, thấp hơn 1966 con/5g rễ và giảm ít nhất ở nghiệm thức DS33, thấp hơn 733,4 con/5g rễ so với đối chứng Đ/C1. Kết quả

nghiên cứu cao hơn so với Ann (2013) đã đánh giá ảnh hưởng của các chủng vi khuẩn *Bacillus* phân lập từ vùng rễ cây hồ tiêu ở Malaysia, kết quả cho thấy chủng *Bacillus* MPB04 và MPB93 đều có khả năng làm giảm mật độ tuyến trùng *M. incognita* trong đất còn 60,95% và 35,28%. Mật độ vi sinh vật tổng số trong đất trồng tiêu được xác định nhằm đánh giá khả năng kháng tuyến trùng cũng như khả năng thích ứng của các chủng vi khuẩn vùng rễ trên nền đất trồng tiêu. Kết quả bảng trên cho thấy, mật độ vi sinh vật tổng số trong các nghiệm thức có sự biến động lớn, đặc biệt nghiệm thức DS33 và EK7 có mật độ vi khuẩn cao hơn gấp 16,67 - 22,16 lần so với các nghiệm thức còn lại.



Hình 1. Cây hồ tiêu vườn ươm (A) và rễ cây hồ tiêu ở các nghiệm thức xử lý vi khuẩn (B)

3.2. Ảnh hưởng của các chủng vi khuẩn đến sinh trưởng của cây hồ tiêu giai đoạn vườn ươm

Bảng 3. Ảnh hưởng của các chủng vi khuẩn nghiên cứu đến thân của cây hồ tiêu

Nghiệm thức	Chiều cao (cm)	Đường kính (mm)	Khối lượng thân tươi (g/cây)
EK2	49,83 ± 8,31 ^{abc}	3,33 ± 0,23 ^{ab}	16,3 ± 4,85 ^{bcd}
EK7	59,80 ± 15,82 ^a	3,53 ± 0,05 ^a	21,41 ± 1,68 ^a
CJ4	50,53 ± 4,66 ^{abc}	3,33 ± 0,06 ^{ab}	18,87 ± 3,65 ^{ab}
CS30	48,73 ± 10,04 ^{abc}	3,40 ± 0,03 ^{ab}	19,79 ± 1,24 ^{ab}
BH11	42,03 ± 4,55 ^{bc}	3,30 ± 0,15 ^{ab}	17,39 ± 2,11 ^{abcd}
DS33	53,97 ± 9,04 ^a	3,30 ± 0,08 ^{ab}	17,99 ± 2,85 ^{abc}
Đ/C1	39,47 ± 1,61 ^c	3,23 ± 0,07 ^b	13,37 ± 2,44 ^d
Đ/C2	50,60 ± 8,34 ^{ab}	3,27 ± 0,08 ^b	13,58 ± 2,45 ^{cd}
CV (%)	12,85	3,78	15,14
LSD	11,11	0,22	4,59

Ghi chú: Sự khác biệt của các chữ cái a, b, c, d trong cùng một cột là khác biệt có ý nghĩa ở mức xác suất với p < 0,05.

Kết quả bảng 3 có sự khác biệt về mật thống kê giữa các nghiệm thức xử lý với vi khuẩn và tuyến trùng. Cụ thể chiều cao cây ở các nghiệm thức có sử dụng vi khuẩn đạt từ 42,03 - 59,80 cm/cây, tăng cao hơn so với Đ/C1 không sử dụng vi khuẩn từ 2,57 - 20,33 cm/cây.

Đường kính thân cây hồ tiêu ở nghiệm thức có sử dụng vi khuẩn đều lớn hơn đối chứng và tăng so với đối chứng. Trong đó tăng cao nhất ở nghiệm thức EK7, tăng 9,29% so với Đ/C1 và 7,95% so với Đ/C2. Khối lượng tươi của thân cây hồ tiêu trong các nghiệm thức sử dụng vi khuẩn biến

động từ 16,330 - 21,407g/cây, trong khi đó ở Đ/C1 và Đ/C2 biến động từ 13,37 - 13,58g/cây. Ở nghiệm thức EK7 tác động mạnh nhất, tăng 60,11% so với Đ/C1 và 30,60% so với Đ/C2. Kết quả của nghiên cứu này thấp hơn của Jamal *et al.* (2017) khi tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của chủng vi khuẩn *Bacillus amyloliquefaciens* Y1 kháng lại tuyến trùng *Meloidogyne incognita* trên cây cà chua trong điều kiện vườn ươm sau 9 tuần thử nghiệm với chiều cao chồi cao nhất đạt 40,1 cm, trọng lượng tươi của thân đạt 27,6 g và trọng lượng khô của thân đạt 3,2 g.

Bảng 4. Ảnh hưởng của các chủng vi khuẩn nghiên cứu đến lá của cây hồ tiêu

Nghiệm thức	Số lá/cây	Diện tích lá (mm ²)	Diệp lục a (mg/g)	Diệp lục b (mg/g)	Carotenoid (mg/g)
EK2	12,33 ± 2,28 ^{cd}	3520,3 ± 134,5 ^d	0,46 ± 0,02 ^d	0,29 ± 0,01 ^{cde}	0,29 ± 0,02 ^{de}
EK7	16,00 ± 1,91 ^a	4170,7 ± 49,2 ^{ab}	0,74 ± 0,02 ^a	0,48 ± 0,03 ^a	0,37 ± 0,01 ^a
CJ4	15,00 ± 0,76 ^{ab}	4409,3 ± 239,2 ^a	0,68 ± 0,06 ^a	0,39 ± 0,03 ^{abc}	0,33 ± 0,01 ^{bc}
CS30	14,00 ± 1,72 ^{abc}	4000,0 ± 323,3 ^{bc}	0,53 ± 0,02 ^{bc}	0,35 ± 0,03 ^{bode}	0,22 ± 0,01 ^f
BH11	12,00 ± 2,64 ^{cd}	4195,7 ± 278,8 ^{ab}	0,55 ± 0,07 ^b	0,36 ± 0,16 ^{bcd}	0,30 ± 0,04 ^{cd}
DS33	13,67 ± 0,49 ^{bcd}	4290,3 ± 246,2 ^a	0,70 ± 0,01 ^a	0,39 ± 0,05 ^{ab}	0,34 ± 0,02 ^{ab}
Đ/C1	8,33 ± 1,67 ^e	3845,3 ± 68,2 ^c	0,38 ± 0,02 ^e	0,25 ± 0,03 ^e	0,26 ± 0,02 ^e
Đ/C2	11,67 ± 3,00 ^d	4125,0 ± 64,9 ^{abc}	0,47 ± 0,02 ^{cd}	0,27 ± 0,02 ^{de}	0,32 ± 0,02 ^{bcd}
CV (%)	10,26	4,05	6,99	17,89	6,49
LSD	2,31	288,84	0,07	0,11	0,03

Ghi chú: Sự khác biệt của các chữ cái a, b, c, d trong cùng một cột là khác biệt có ý nghĩa ở mức xác suất với p < 0,05.

Bảng 4 cũng cho thấy có sự biến động rõ về số lá. Ở các nghiệm thức có sử dụng vi khuẩn đều có số lá biến động từ 12 - 16 lá/cây. Có sự khác biệt về mật thống kê giữa nghiệm thức EK7 so với đối chứng không sử dụng vi khuẩn, số lá nhiều hơn 92,08% so với Đ/C1 và 37,10% so với Đ/C2. Nhìn chung, vi khuẩn RB.EK7 đã có ảnh hưởng nổi bật đến số lá trên cây hồ tiêu giai đoạn vườn

ươm. Về diện tích lá, nghiệm thức CJ4 có diện tích lá lớn nhất tăng từ 6,89% đến 14,67% so với Đ/C1. Cây hồ tiêu vườn ươm được xử lý với các chủng vi khuẩn vùng rễ hầu hết đều có ảnh hưởng tích cực đến hàm lượng diệp lục a, diệp lục b và carotenoid so với hai công thức đối chứng Đ/C1 và Đ/C2. Hàm lượng diệp lục a ở các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn dao động từ 0,46 - 0,74mg/g, hàm

lượng diệp lục b từ à 0,29 - 0,48 mg/g, hàm lượng carotenoid là 0,22 - 0,37 mg/g. So với công thức đối chứng Đ/C1, hàm lượng diệp lục a, b và carotenoid cao nhất ở nghiệm thức EK7 lần lượt tăng 94,74%, 92% và 42,31%.

Bảng 5. Ảnh hưởng của các chủng vi khuẩn đến rễ của cây hồ tiêu

Nghiệm thức	Số rễ/cây	Chiều dài rễ (cm)	Khối lượng rễ tươi (g/cây)	Khối lượng rễ khô (g/cây)
EK2	6,67	22,19 ^{ab}	1,38 ^{ab}	0,25 ^b
EK7	7,00	24,06 ^a	1,75 ^a	0,38 ^a
CJ4	7,67	22,77 ^{ab}	1,21 ^{bc}	0,24 ^b
CS30	7,00	20,66 ^{ab}	1,39 ^{ab}	0,27 ^b
BH11	7,00	22,17 ^{ab}	1,34 ^b	0,25 ^b
DS33	7,00	22,57 ^{ab}	1,33 ^b	0,28 ^b
Đ/C1	6,67	19,12 ^b	0,90 ^c	0,20 ^b
Đ/C2	6,67	20,80 ^{ab}	1,11 ^{bc}	0,26 ^b
CV (%)	12,49	11,99	17,39	20,79
LSD	ns	4,57	0,39	0,09

Ghi chú: Sự khác biệt của các chữ cái trong cùng một cột là khác biệt có ý nghĩa ở mức xác suất với $p < 0,05$.

Kết quả bảng 5 cho thấy, số rễ của nghiệm thức CJ4 nhiều nhất, tăng 14,99% so với đối chứng Đ/C1 và Đ/C2. Chiều dài rễ lớn nhất ở nghiệm thức EK7, dài hơn 4,94 cm/cây, tăng 25,842% so với đối chứng Đ/C1 và dài hơn 3,26 cm/cây, tăng 15,66% so với đối chứng Đ/C2. Về trọng lượng rễ tươi, nghiệm thức EK7 cao nhất hơn 0,85 g/cây, tăng 93,72% so với đối chứng Đ/C1 và hơn 0,65 g/cây, tăng 58,29% so với đối chứng Đ/C2. Trọng lượng rễ khô ở nghiệm thức EK7 cao hơn 0,18 g/cây tăng 90,64% so với Đ/C1 và cao hơn 0,12 g/cây tăng 47,15% so với đối chứng Đ/C2.

Nhìn chung tác động đến sinh trưởng của cây hồ tiêu, mỗi vi khuẩn đều tác động tốt nhất lên một vài chỉ tiêu, nhưng tổng thể thì nghiệm thức có sử dụng vi khuẩn RB.EK7 có tính đồng đều và vượt trội hơn so với các nghiệm thức còn lại.

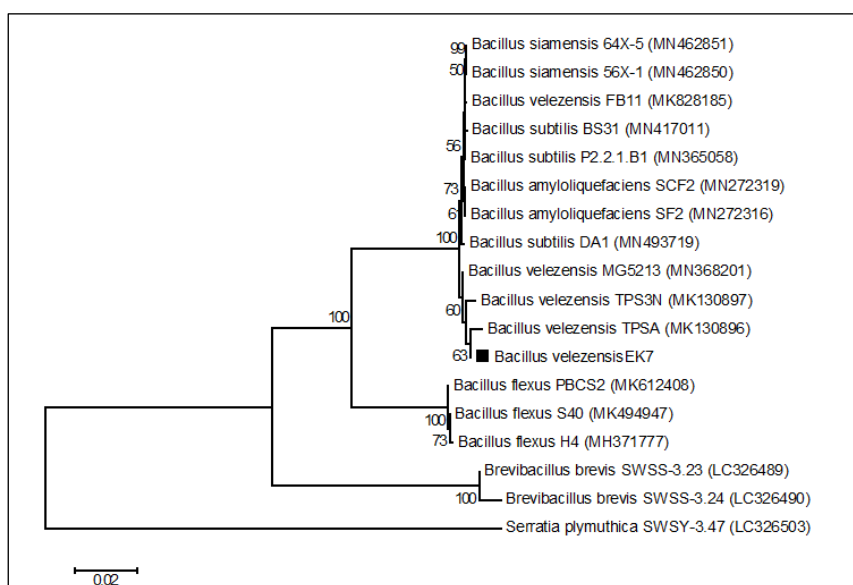
3.3. Định danh sinh học phân tử chủng có hoạt tính kháng tuyến trùng cao

Chủng RB.EK7 có hoạt tính kháng tuyến trùng cao đã được định danh sinh học phân tử bằng phương pháp giải trình tự gen 16S rRNA tại Công ty Cổ phần Công nghệ TBR. Kết quả BLASTn search trên NCBI cho thấy trình tự nucleotide (1418 bp) của gen 16S rRNA của chủng EK7 có độ bao phủ và tương đồng là 100% với các trình tự gen 16S rRNA của *Bacillus velezensis* MG5213 (MN368201), *B. velezensis* TPS3N (MK130897) và *B. velezensis* TPSA (MK130896). Kết quả phân tích phát sinh loài bằng phần mềm MEGA 6.0 (hình 2) cho thấy chủng EK7 có quan hệ di truyền gần gũi nhất với *B. velezensis*.

Theo Rabbee *et al.* (2009), *Bacillus velezensis* là một loại vi khuẩn hiếu khí, gram dương, hình thành nội bào tử, thúc

đầy sinh trưởng ở thực vật. Nhiều chủng của loài này có khả năng ức chế lại sự phát triển nhiều bệnh ở thực vật do vi khuẩn, nấm và tuyến trùng gây ra. Khi phân tích bộ gen của *B. velezensis* cho thấy, chúng mang các gen đặc hiệu liên quan đến sinh tổng hợp các chất chuyển hóa thứ cấp, đóng vai trò quan trọng trong cả ức chế mầm bệnh và thúc đẩy

tăng trưởng thực vật như gen mã hóa cho quá trình tổng hợp lipopeptide cyclic (tức là, Surfactin, bacillomycin-D, fengycin và bacillibactin) và polyketide (tức là, macrolactin, bacillaene và difficidin). Ngoài ra, các chất chuyển hóa thứ cấp được tạo ra bởi *B. velezensis* cũng có thể kích hoạt hệ thống kháng cảm ứng ở thực vật.



Hình 2. Cây phân loại thể hiện mối liên quan giữa chủng EK7 với các loài gần gũi dựa trên trình tự 16S rRNA

4. KẾT LUẬN

Chủng RB.EK7 vừa có khả năng vừa kiểm soát tuyến trùng sắn rễ *Meloidogyne* sp. (giảm số u sưng, tỷ lệ rễ bị u sưng và mật độ tuyến trùng trong rễ) vừa kích thích sinh trưởng cây hồ tiêu (tăng chiều cao, đường kính thân, khối lượng tươi, số lá, diện tích lá, và carotenoid cũng như chiều dài rễ, số lượng tươi và khô của rễ) so với các chủng còn lại. Chủng này được định danh bằng phương pháp giải trình tự 16S rRNA với tên khoa học học *Bacillus velezensis* EK7. Chủng này sẽ được

nghiên cứu điều kiện nhân nuôi thích hợp để lên men trong bioreactor nhằm sản xuất chế phẩm phòng trừ bệnh do tuyến trùng trên cây hồ tiêu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ann, Y. C. (2013), Screening for nematicidal activities of *Bacillus* species against root knot nematode (*Meloidogyne incognita*), *Journal of Experimental Agriculture International*, Vol.?, 794 - 805.
2. Basyony, A. G., & Abo-Zaid, G. A. (2018), Biocontrol of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, using an eco-friendly formulation from *Bacillus subtilis*, lab. and

- greenhouse studies. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28(1), 87.
3. Bird, D. M., & Kaloshian, I. (2003), Are roots special? Nematodes have their say. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 62(2), 115 - 123.
 4. Bộ Công thương, Bản tin thị trường Nông, lâm, thủy sản, số ra ngày 31/12/2020.
 5. Cetintas, R., Kusek, M., & Fateh, S. A. (2018), Effect of some plant growth-promoting rhizobacteria strains on root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, on tomatoes, *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28(1), 7.
 6. Gao, H., Qi, G., Yin, R., Zhang, H., Li, C., & Zhao, X. (2016), *Bacillus cereus* strain S2 shows high nematocidal activity against *Meloidogyne incognita* by producing sphingosine. *Scientific reports*, 6, 28756.
 7. Hallmann, J., Mekete, T., Sikora, R., & Kiewnick, S. (2009), Endophytic bacteria from Ethiopian coffee plants and their potential to antagonise *Meloidogyne incognita*, *Nematology*, 11(1), 117 - 127.
 8. Ichinohe, M. (1976), Infestation of black peppers by the root-knot nematode in Brazil. *JARQ Jap Agric Res Q.* Vol. 10, No. 1, 18 - 20.
 9. Jamal, Q., Cho, J. Y., Moon, J. H., Munir, S., Anees, M., & Kim, K. Y. (2017), Identification for the first time of cyclo (d-Pro-I-Leu) produced by *Bacillus amyloliquefaciens* Y1 as a nematocide for control of *Meloidogyne incognita*, *Molecules*, 22(11), 1839.
 10. Karthik, C., & Arulselvi, P. I. (2017), Biotoxic effect of chromium (VI) on plant growth-promoting traits of novel *Cellulosimicrobium funkei* strain AR8 isolated from *Phaseolus vulgaris* rhizosphere, *Geomicrobiology Journal*, 34(5), 434 - 442.
 11. Kaushal, M (2017), Rhizobacterial Efficacy for Sustainable Crop Productivity in Agroecosystems. In: *Microbes and Sustainable Agriculture*. IK International Publishing House, New Delhi, pp. 50 - 61. ISBN 9789385909481.
 12. Khan, Z., Kim, S. G., Jeon, Y. H., Khan, H. U., Son, S. H., & Kim, Y. H. (2008), A plant growth promoting rhizobacterium, *Paenibacillus polymyxa* strain GBR-1, suppresses root-knot nematode. *Bioresource Technology*, 99(8), 3016 - 3023.
 13. Rabbee, M. F., Ali, M. D., Choi, J., Hwang, B. S., Jeong, S. C., & Baek, K. H. (2019), *Bacillus velezensis*: a valuable member of bioactive molecules within plant microbiomes. *Molecules*, 24(6), 1046.
 14. Rashad, F. M., Fathy, H. M., El-Zayat, A. S., & Elghonaimy, A. M. (2015), Isolation and characterization of multifunctional *Streptomyces* species with antimicrobial, nematocidal and phytohormone activities from marine environments in Egypt. *Microbiological research*, 175, 34 - 47.

ĐẶC ĐIỂM VI KHUẨN *Ralstonia solanacearum* Smith GÂY BỆNH HÉO XANH TRÊN CÂY ỚT

Đỗ Phạm Thanh Trang¹, Nguyễn Thanh Phong¹,
Cao Thị Thanh Thảo¹, Võ Thị Thu Oanh¹, Nguyễn Vũ Phong^{2*}

¹ Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

² Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

*Tác giả liên hệ: nvphong@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Bệnh héo xanh trên ớt do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* gây ra nhiều thiệt hại cho người nông dân. Từ các mẫu bệnh thu thập tại Tiền Giang, Đồng Tháp, TP. Hồ Chí Minh trên các giống ớt đang trồng phổ biến đã xác định được tác nhân gây bệnh héo xanh là vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* thuộc biovar 3 thông qua phân tích hình thái, sinh hóa và sinh học phân tử. Trong điều kiện nhà lưới, sau 21 ngày chủng bệnh, ba chủng vi khuẩn phân lập gồm Rs07, Rs08 và Rs13 có khả năng gây bệnh trên 5 giống ớt gồm SVTN, SV01, HP207, CP0131 và CP04. Trong số đó chủng vi khuẩn Rs13 phân lập từ giống ớt SVTN tại Tiền Giang có khả năng gây bệnh cao nhất, tiếp đến là chủng Rs07 và Rs08 có tính gây bệnh thấp nhất. Trong các giống ớt thí nghiệm, giống SVTN là giống bị nhiễm bệnh cao nhất, các giống CP131, CP04, SV01, HP207 là những giống ớt nhiễm bệnh ở mức trung bình.

Từ khóa: 16S-rRNA, héo xanh vi khuẩn, ớt, *Ralstonia solanacearum*.

ABSTRACT

Characterisation of *Ralstonia solanacearum* Smith bacterium causing wilt disease on chili

Bacterial wilt disease incited by *Ralstonia solanacearum* causes economic damages to farmers. From the samples collected in Tien Giang, Dong Thap provinces, and Ho Chi Minh City, the pathogenic agent, *Ralstonia solanacearum* biovar 3 was identified through morphological, biochemical and molecular biology analysis. In the greenhouse conditions, 21 days after inoculation, three isolated bacterial strains infected severely on five chili cultivars including SVTN, SV01, HP207, CP0131, and CP04. Among them, the bacterial strain Rs13 isolated from the SVTN chili cultivars in Tien Giang expresses the highest pathogenicity, followed by Rs07 and Rs08. Among five chili cultivars, SVTN was the most susceptible, while CP131, CP04, SV01, HP207 are moderately susceptible.

Keywords: 16S-rRNA, bacterial wilt disease, chili, *Ralstonia solanacearum*.

Người phân biên: PGS.TS. Nguyễn Bảo Quốc.

1. MỞ ĐẦU

Ớt (*Capsicum* sp.) thuộc họ Cà gồm cà chua, cà xanh, cà tím, cà pháo (Solanaceae), là một trong những cây trồng quan trọng nhất ở vùng nhiệt đới, đứng thứ hai sau cà chua. Diện tích trồng ớt trên toàn thế giới khoảng 1.914.685 ha và sản lượng quả tươi khoảng 31.171.567 tấn (FAO, 2012). Ớt được xếp vào cây trồng quan trọng đứng thứ tư trên thế giới.

Tại đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) khu vực trồng ớt lớn tập trung chủ yếu ở các tỉnh như Đồng Tháp, An Giang, Tiền Giang, Sóc Trăng, Vĩnh Long và Trà Vinh với diện tích khoảng 7.079 ha, sản lượng đạt 97.951 tấn (Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn các tỉnh, 2015), trong đó hai tỉnh Tiền Giang và Đồng Tháp có diện tích trồng ớt lớn nhất và chiếm 53% diện tích và 50% năng suất cả vùng. Những giống ớt được trồng chủ yếu của vùng là ớt chỉ thiên, sừng trâu, ớt búng, ớt hiểm, trong đó ớt chỉ thiên được trồng rất phổ biến phục vụ xuất khẩu. Tuy nhiên, trong những năm gần đây, năng suất ớt liên tục giảm do biến đổi thời tiết, người dân thiếu áp dụng khoa học kỹ thuật, thâm canh trên cùng một nền đất trong thời gian dài dẫn đến dịch bệnh nghiêm trọng, trong đó bệnh héo xanh gây hại nặng nề và khó phòng trị nhất (Lê Thị Thanh Thủy, 2014).

Bệnh có thể xuất hiện và phát sinh từ khi cây còn nhỏ đến khi cây thu hoạch, tuy nhiên bệnh phát triển mạnh vào giai đoạn cây ra hoa. Bệnh thường gây héo trên cây, đôi khi chỉ 1 - 2 nhánh, nhất là khi trời nắng nhưng lá vẫn còn xanh, khi trời mát hay đêm cây lại phục hồi. Hiện

tượng này chỉ kéo dài vài ngày rồi cây chết hẳn. Ở cây già triệu chứng thể hiện chậm hơn, thường thấy có nhiều rễ phụ khí sinh mọc ra dọc trên thân. Vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* có nguồn gốc trong đất phân bố rộng, khả năng gây bệnh lớn và phổ ký chủ rộng (Hayward, 1991) và (Pernezny và cs., 2003). Mầm bệnh lưu tồn lâu trong xác bã thực vật, phân tán trong nước, có thể lan truyền qua hạt giống, đất, động vật và con người. Ngoài ra vi khuẩn còn lưu tồn lâu trong đất nên có thể gây hại qua nhiều vụ (Phạm Văn Kim, 2000). Vi khuẩn xâm nhiễm và gây hại chủ yếu ở mạch dẫn của cây nên rất khó phòng trị (Burgess và cs., 2008). Các biện pháp phòng bệnh héo xanh vi khuẩn gồm biện pháp canh tác, hóa học, sinh học và giống kháng. Hiện nay các giống ớt có khả năng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn cao để làm gốc ghép tạo ra các giống ớt có khả năng kháng bệnh cao (Võ Thị Bích Thủy, 2016).

Nghiên cứu này trình bày đặc điểm loài vi khuẩn gây bệnh héo xanh và tính miễn cảm của một số giống ớt trồng phổ biến ở đồng bằng sông Cửu Long.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Phân lập vi khuẩn gây bệnh héo xanh trên một số giống ớt

Mẫu bệnh héo xanh do vi khuẩn được thu tại Thanh Bình - Đồng Tháp, Gò Công - Tiền Giang, Cù Chi - TP. Hồ Chí Minh. Chọn cây ớt có triệu chứng điển hình của bệnh héo xanh ngoài đồng, thu bộ rễ và đoạn thân gần gốc cho vào túi nylon, giữ trong thùng đá lạnh cho tới khi thực hiện phân lập ở phòng thí nghiệm.

Vi khuẩn được phân lập theo Mehan (1995). Mẫu rễ hoặc đoạn thân gần gốc nhiễm bệnh được rửa sạch, khử trùng bề mặt bằng cồn 70, hong khô trong điều kiện vô trùng. Cắt một miếng nhỏ của vết bệnh khoảng 0,5 cm, nhỏ 3 giọt nước cất vô trùng, để khoảng 1 - 2 phút cho vi khuẩn có đủ thời gian phóng thích vào giọt nước. Rút 50 μ l dung dịch cho vào môi trường TZC, trang đều, đặt ở 28°C. Quan sát và nhận dạng vi khuẩn *R. solanacearum* thông qua hình thái, màu sắc của khuẩn lạc. Từ đó tiếp tục chọn khuẩn lạc đơn tiếp tục cấy chuyển TZC đến khi đồng nhất và đem lưu trữ trong ống nghiệm chứa môi trường King'B ở nhiệt độ 4 - 8°C.

2.2. Định danh vi khuẩn

Vi khuẩn được xác định dựa vào hình thái, đặc điểm trên môi trường đặc trưng TZC. Chọn khuẩn lạc tròn, có rìa nhẵn, màu trắng, ở giữa khuẩn lạc có màu hồng, nhuộm gram (-). Tiếp tục thực hiện các phản ứng sinh hóa gồm thử nghiệm catalase, oxidase, Urease, thử nghiệm Citrate, indol, Gelatin, tinh bột, khả năng di động.

Xác định biovar chủng vi khuẩn phân lập theo phương pháp của Hayward (1964); He và cs. (1983); Buddenhagen và Kelman (1964) dựa trên khả năng oxy hóa nguồn carbon của 3 loại đường gồm maltose, lactose, cellobiose và 3 loại rượu mạch vòng gồm mannitol, sorbitol, dulcitol.

Định danh vi khuẩn *R. solanacearum* dựa vào trình tự 16S-rRNA. DNA tổng số của vi khuẩn được tách chiết bằng DNA Genome Extraction Kit (Thero Scientific),

thực hiện phản ứng PCR với primer 27F/1492R. Sản phẩm PCR được gửi giải trình tự tại FIRST BASE (Malaysia) và so sánh với trình tự sẵn có từ Genbank.

2.3. Đánh giá khả năng gây bệnh của các dòng phân lập trên một số giống ớt

Năm giống ớt gồm Sừng vàng Châu Phi lai F1 (SVTN), Hiếm lai F1 số 131 (CP131), Hiếm lai F1 số 04 (CP04), Hiếm lai 207 (HP207), Siêu cay F1 sv no 1 (SV01) được chủng bệnh với ba dòng vi khuẩn phân lập phương pháp của Hayward (1991). Cây con có 8 - 10 lá thật (25 ngày sau khi gieo) được trồng trong các chậu đất thanh trùng (18 \times 20 \times 14,5 cm). Khi cây đã bén rễ hồi xanh (khoảng 1 tuần sau trồng) tiến hành lây bệnh nhân tạo bằng cách tưới huyền phù vi khuẩn (mật số 10⁸ cfu/ml) xung quanh gốc cây ớt (5 ml/cây) đã gây vết thương nhân tạo bằng kim số 1 xung quanh gốc ớt. Mỗi chậu trồng 3 cây, mỗi nghiệm thức gồm 10 chậu. Theo dõi triệu chứng bệnh xuất hiện, so sánh với triệu chứng ban đầu, thu mẫu và tái phân lập. Theo dõi và ghi nhận thời gian cây bắt đầu có biểu hiện bệnh sau khi lây nhiễm, tỷ lệ bệnh, chỉ số bệnh được ghi nhận và đánh giá theo Ateka và cs. (2001) gồm năm cấp bệnh. Cấp 0: Không bệnh; cấp 1: Có 1 - 10% lá héo; cấp 2: Có 11 - 30% lá héo; cấp 3: 31 - 60%; cấp 4: > 60%; cấp 5: Tất cả các lá đều héo.

2.4. Xử lý số liệu

Các số liệu được tổng hợp bằng phần mềm Excel, xử lý thống kê sinh học theo phân tích phương sai (ANOVA) và trắc nghiệm phân hạng nếu có theo LSD.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* gây bệnh héo xanh trên ớt

Bảng 1. Danh sách dòng vi khuẩn phân lập được từ các mẫu bệnh thu thập

STT	Chủng	Giống ớt	Vị trí thu mẫu
1	Rs01	Chánh Phong 131	Tân Quới - Thanh Bình - Đồng Tháp
2	Rs02	Chánh Phong 131	Tân Bình - Thanh Bình - Đồng Tháp
3	Rs03	Chánh Phong 04	Tân Bình - Thanh Bình - Đồng Tháp
4	Rs04	Hot chili	Tân Bình - Thanh Bình - Đồng Tháp
5	Rs05	Chánh phong 04	Tân Bình - Thanh Bình - Đồng Tháp
6	Rs06	Chánh Phong 04	Tân Thạnh - Thanh Bình - Đồng Tháp
7	Rs07	Chánh phong 131	Tân Thạnh - Thanh Bình - Đồng Tháp
8	Rs08	Chánh Phong 04	An Nhơn Tây - Củ Chi - TP.HCM
9	Rs09	Chánh Phong 131	An Nhơn Tây - Củ Chi - TP.HCM
10	Rs10	Chánh phong 04	An Nhơn Tây - Củ Chi - TP.HCM
11	Rs11	Chánh phong 04	An Nhơn Tây - Củ Chi - TP.HCM
12	Rs12	Chánh phong 04	An Nhơn Tây - Củ Chi - TP.HCM
13	Rs13	Sừng vàng Trung Nông	Thạnh Nhựt - Gò Công - Tiền Giang
14	Rs14	Chánh phong 04	Thạnh Nhựt - Gò Công - Tiền Giang

Mười bốn (14) dòng vi khuẩn được phân lập từ mẫu bệnh thu thập tại các ruộng trồng ớt ở huyện Thanh Bình, Đồng Tháp; thị xã Gò Công - Tiền Giang và huyện Củ Chi - TP. Hồ Chí Minh. Các mẫu bệnh thu thập chủ yếu từ các giống ớt trồng phổ biến như ớt chỉ thiên gồm giống hiểm lai F1 số 131 hay số 04 (Chánh Phong); trên ớt chỉ địa đã thu thập được hai mẫu trên giống Hot chilli và sừng vàng châu Phi (Trung Nông) (bảng 1).

Các chủng vi khuẩn phân lập được trên môi trường TZC khuẩn lạc có hình

dạng bất định, lồi, nhày, xung quanh viền trắng, nhẵn, ở giữa có phớt hồng nhạt hoặc đỏ huyết. Trên môi trường King'B, khuẩn lạc tròn không đều, màu trắng đục, lồi, bóng, rìa nhẵn, nhày, không có sắc tố huỳnh quang. Đa số các chủng phân lập có tế bào dạng que ngắn hoặc que dài và nhuộm gram âm tương tự với các kết quả nghiên cứu của một số tác giả đã công bố (Kelman, 1954; Bradbury, 1986; Hayward, 1994; Vũ Triệu Mân, 1998). Ba chủng Rs03, Rs04, Rs06 có dạng hình cầu và nhuộm gram âm bị loại bỏ (bảng 2).

Bảng 2. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc các dòng vi khuẩn phân lập

Chủng	Đặc điểm khuẩn lạc		Hình dạng	Gram
	Môi trường TZC	Môi trường King'B		
Rs01, Rs02, Rs05	Bất định, lồi nhày, màu đỏ huyết ở giữa, xung quanh viền trắng kem	Trắng đục, hình tròn, không lồi, không bóng, răng cưa.	Que dài	-
Rs03, Rs04, Rs06	Bất định, lồi nhày, màu đỏ huyết ở giữa, viền trắng trong xung quanh	Trắng đục, tròn, lồi, không bóng, nhẵn	Cầu	-
Rs07, Rs08	Bất định, ít lồi nhày, ở giữa có màu phớt hồng, xung quanh viền trắng kem	Trắng đục, tròn, lồi, bóng, nhẵn	Que ngắn	-
Rs09, Rs13	Bất định, ít lồi nhày, ở giữa có màu phớt hồng, xung quanh viền trắng kem	Trắng đục, tròn, lồi, bóng, nhẵn	Que dài	-
Rs10	Bất định, lồi nhày, màu đỏ huyết ở giữa, xung quanh viền trắng kem	Trắng đục, tròn, lồi ít, không bóng, răng cưa	Que ngắn	-
Rs11	Bất định, lồi nhày, màu đỏ huyết ở giữa, xung quanh viền trắng kem	Trắng đục, tròn, không lồi, không bóng, răng cưa.	Que ngắn	-
Rs12	Bất định, lồi nhày, màu đỏ huyết ở giữa, xung quanh viền trắng kem	Trắng đục, tròn, lồi, không bóng, nhẵn	Que ngắn	-
Rs14	Bất định, lồi nhày, màu đỏ huyết ở giữa, xung quanh viền trắng kem	Trắng đục, tròn, lồi, bóng, nhẵn	Que dài	-

Các chủng vi khuẩn phân lập đều có khả năng di động, phản ứng dương tính đối với các quá trình như khử nitrat, khử citrate, catalase và oxidase, urê, thủy phân Tween 80, tuy nhiên không có khả năng tạo ra indol, không thủy phân tinh bột, không hóa lỏng

gelatin. Các dòng vi khuẩn Rs7, Rs8, Rs9, Rs10, Rs13 biến dưỡng đường glucose, lactose theo phương thức oxi hóa (bảng 3). Kết quả này tương tự với công bố về đặc tính sinh hóa của *R. solanacearum* của Hayward (1964) (Nguyễn Văn Việt, 2014).

Bảng 3. Đặc điểm sinh hóa của các mẫu vi khuẩn phân lập

Chủng	Catalase	KOH	Oxidase	MOB	GLU	ONPG	NIT	CIT	URE	IND	TB	Gelatin	Tween 80
Rs01	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+
Rs02	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
Rs05	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
Rs07	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+
Rs08	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+
Rs09	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+
Rs10	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+
Rs11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
Rs13	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+

Ghi chú: (+): Có phản ứng xảy ra; (-): Không có phản ứng xảy ra.

3.2. Kiểm tra khả năng gây bệnh các dòng vi khuẩn phân lập theo quy tắc Koch

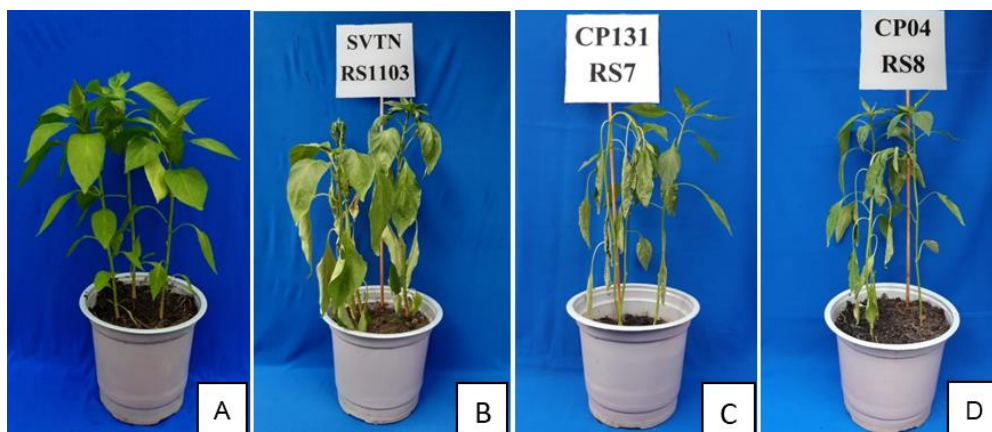
Bảng 4. Kết quả chủng Koch các chủng vi khuẩn phân lập

Dòng vi khuẩn	Thời gian xuất hiện bệnh					
	1 NSC	2 NSC	3 NSC	4 NSC	5 NSC	6 NSC
Rs01, Rs02, Rs05, Rs09 Rs10, Rs11, Rs12, Rs14	-	-	-	-	-	-
Rs07	-	-	+	+	++	++
Rs08	-	-	+	+	++	++
Rs13	-	+	++	++	++	+++

Ghi chú: (-): Không xuất hiện cây bệnh; (+): Tỷ lệ bệnh thấp; (++): Tỷ lệ bệnh trung bình; (+++): Tỷ lệ bệnh cao.

Sau 2 ngày chủng, chủng Rs13 đã gây bệnh, hai chủng Rs07 và Rs08 gây bệnh ở ngày thứ 3, các chủng còn lại không gây bệnh đến 6 ngày sau chủng. Triệu chứng bệnh sau khi lây nhiễm giống với triệu

chứng bệnh héo xanh vi khuẩn (HXVK) ngoài đồng ruộng. Kết quả tái phân lập từ các mẫu cây có biểu hiện bệnh thu được vi khuẩn có đặc điểm hình thái và nhuộm gram âm, giống như kết quả phân lập ban đầu.



Hình 1. Kết quả chủng vi khuẩn trên ớt sau 14 ngày
(a: Đối chứng không chủng; b: Giống SVTN; c: Giống CP131; d: Giống CP04)

3.3. Xác định biovar của chủng vi khuẩn gây bệnh héo xanh vi khuẩn trên ớt

Kết quả thử phản ứng sinh hóa cho thấy cả 3 chủng vi khuẩn Rs07, Rs08 và Rs13 có khả năng chuyển hóa cả 6 nguồn carbon là lactose, maltose, cellobiose, sorbitol, mannitol, dulcitol. Dựa theo

cách thức phân loại biovar của Hayward (1964), He và cs. (1983), ba chủng vi khuẩn trên thuộc biovar 3 và kết quả này tương tự với những kết quả mà Aslam và cs. (2018) đã công bố khi khảo sát sự phân bố của các chủng *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh vi khuẩn trên ớt ở 8 vùng địa lý khác nhau tại Ấn Độ.

3.4. Định danh vi khuẩn dựa vào trình tự 16S-rRNA

Kết quả so sánh vùng 16S-rRNA của 3 chủng Rs07, Rs08 và Rs13 tương đồng 99% với vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* (NR_044040.1).

3.5. Đánh giá mức độ gây bệnh của các chủng vi khuẩn phân lập trên một số giống ớt

Kết quả thí nghiệm cho thấy cả 3 chủng vi khuẩn đều có khả năng gây bệnh trên các giống ớt thí nghiệm tuy độc tính và khả năng gây bệnh khác nhau. Trong đó chủng Rs13 có khả năng gây bệnh cao nhất (56,7 - 80%), tiếp theo là chủng Rs07 (50 - 66,7%) và Rs08 (36,7 - 53,3%) (bảng 5).

Bảng 5. Tỷ lệ cây bị bệnh (%) của các giống ớt sau khi chủng vi khuẩn

Chủng vi khuẩn	Giống ớt														
	SVTN			HP207			CP131			CP04			SV01		
	7	14	21	7	14	21	7	14	21	7	14	21	7	14	21
Rs07	35,6	50,0	66,7	26,7	40,0	50,0	30,0	50,0	66,7	18,9	47,8	53,3	28,9	46,7	50,0
Rs08	30,0	43,3	53,3	16,7	30,0	36,7	23,3	36,7	45,6	35,6	53,3	60,0	30,0	40,0	56,0
Rs13	40,0	56,7	80,0	36,7	50,0	60,0	33,3	53,3	73,3	33,3	56,7	63,3	33,3	50,0	56,7

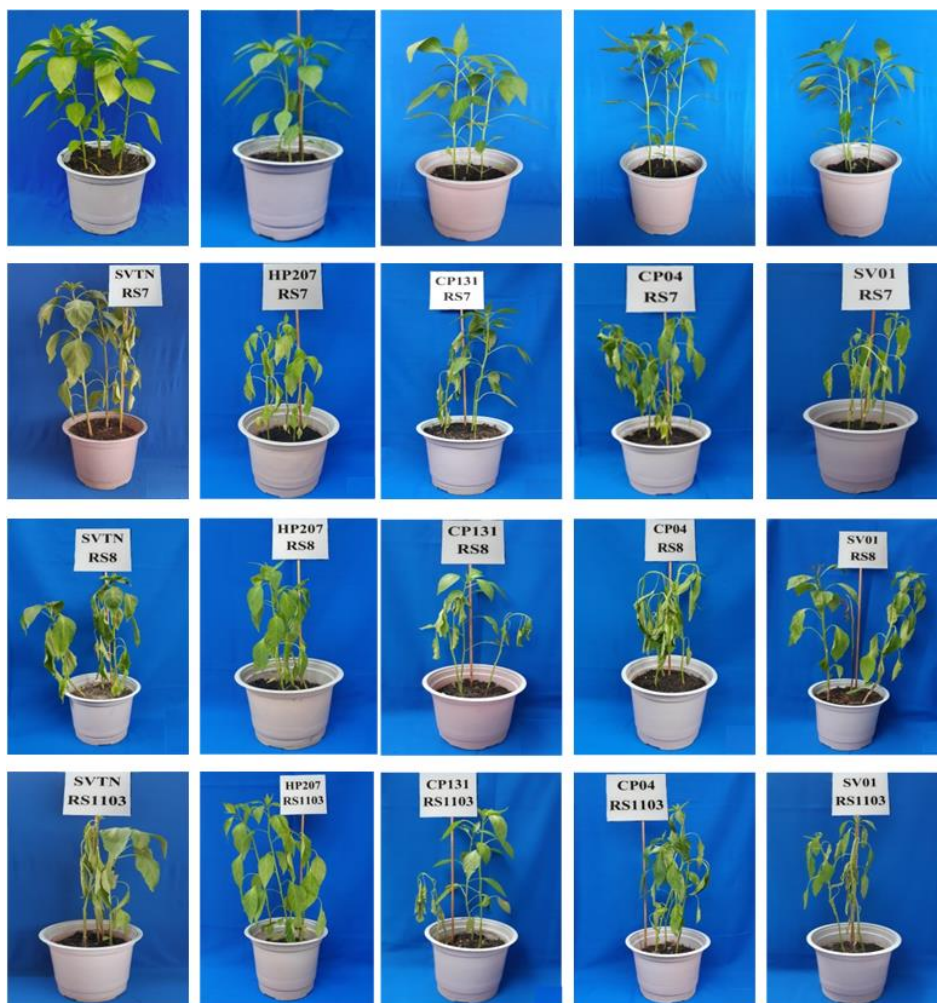
Ghi chú: NSC: Ngày sau chủng; SVTV: Sừng vàng châu Phi lai F1 (Trung Nông); HP207: Hiểm lai F1 207 (Hai Mũi Tên Đỏ); CP131, CP04: Hiểm lai F1 số 131; số 04 (Chánh Phong); SV01: Chi thiên siêu cay F1 SV.No 1 (Sen Vàng).

Bảng 6. Chỉ số bệnh (%) trên các giống ớt sau khi chủng vi khuẩn *Ralstonia solanacearum*

Chủng vi khuẩn	Giống ớt														
	SVTN			HP207			CP131			CP04			SV01		
	7	14	21	7	14	21	7	14	21	7	14	21	7	14	21
Rs07	6,44	21,8	26,8	6,33	14,7	20,6	7,33	17,3	26,5	6,22	17,1	21,4	6,22	16,7	19,6
Rs08	10,7	18,3	23,0	3,78	9,00	14,6	5,11	14,2	17,9	7,56	17,7	21,0	6,56	16,1	24,2
Rs13	15,7	24,0	32,6	8,67	18,9	25,3	10,2	19,7	29,4	9,55	20,3	27,8	11,0	20,9	24,2

Sau khi chủng 7 ngày, chỉ số bệnh ở các giống ớt dao động từ 3,78 - 15,7% trong đó ở giống SVTN cao nhất từ 6,44 - 15,7% và giống HP207 thấp nhất 3,78 - 8,67%. Giữa 3 chủng vi khuẩn gây bệnh, chủng Rs13 có khả năng gây bệnh trên các giống ớt cao nhất (CSB từ 8,67 -

15,7%) và chủng Rs08 có khả năng gây bệnh trên các giống ớt thấp nhất (CSB từ 3,78 - 10,7%). Đến 21 ngày sau chủng, mức độ nhiễm bệnh tăng dần và cao nhất cũng ở giống SVTN (CSB từ 23 - 32,6%) và thấp nhất ở giống HP207 (CSB từ 14,6 - 24,3%) (bảng 6 và hình 2).



Hình 2. Đánh giá khả năng gây bệnh của ba chủng vi khuẩn trên năm giống ớt sau 14 ngày chùng

Như vậy, trong các chủng vi khuẩn gây bệnh trên ớt phân lập, chủng Rs13 (phân lập trên giống ớt SVTN tại Tiền Giang) có độc tính cao nhất. Từ đó, chủng vi khuẩn Rs13 có thể sử dụng trong các nghiên cứu liên quan.

4. KẾT LUẬN

Tác nhân gây bệnh héo xanh vi khuẩn trên các giống SVTN, CP04 và CP131 tại Tiền Giang, Đồng Tháp, TP.HCM là vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* thuộc *biovar 3*.

Tính gây bệnh của 3 chủng vi khuẩn phân lập trên 5 giống ớt gồm SVTN, SV01, HP207, CP0131 và CP04 khác nhau, trong đó chủng Rs13 phân lập từ giống ớt sừng vàng châu phi F1 của Công ty Trung Nông tại Tiền Giang có khả năng gây bệnh cao nhất. Trong năm giống ớt thí nghiệm, giống sừng vàng châu phi F1 là giống bị nhiễm bệnh ở mức cao, các giống CP131, CP04, SV01 và HP207 bị nhiễm bệnh mức trung bình.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aslam, M. N., & Mukhtar, T. (2018), Distributional variability of bacterial wilt of chili incited by *Ralstonia solanacearum* in eight agro-ecological zones of Pakistan (No. e26668v1). PeerJ Preprints.
2. Ateka, E. M., Mwang'Ombe, A. W., & Kimenju, J. W. (2001), Reaction of potato cultivars to *Ralstonia solanacearum* in Kenya. *African Crop Science Journal*, 9(1), 251 - 256.
3. Bradbury, J. F. (1986), Guide to plant pathogenic bacteria. CAB international.
4. Buddenhagen, I., & Kelman, A. (1964), Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annual review of phytopathology*, 2(1), 203 - 230
5. Burgess, L.W, T.E.Knight, L. Tesoriero and Phan Thuy Hien (2008), Diagnostic manual for plant diseases in Viet Nam. CABI, pp: 210.
6. Hayward, A. C. (1964), Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. *Journal of Applied Bacteriology*, 27(2), 265 - 277
7. Hayward, A. C. (1991), Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annual review of phytopathology*, 29, 65 - 87.
8. Kelman, A. (1954), The relationship of pathogenicity of *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance in a tetrazolium medium. *Phytopathology*, 44(12).
9. Lê Thị Thanh Thủy (2014), Nghiên cứu và tuyển chọn vi sinh vật đối kháng *Ralstonia solanacearum* gây bệnh héo xanh trên cây trồng. Luận văn tốt nghiệp, Đại học Khoa học tự nhiên.
10. Mehan V. K., Liao B. S., Tan Y. J and Hayward A. C. (1994), Bacterial wilt of groundnut. ICRISAT, India.
11. Nguyễn Văn Viêt, Nguyễn Thị Vân, Lê Thị Bích Thủy, Nguyễn Mạnh Hùng, Ngô Văn Ngôn, Ngô Thị Thùy Linh (2014), Kết quả nghiên cứu xác định biovar và đa dạng di truyền một số isolate vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* Smith gây bệnh héo xanh hại lạc ở một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam* 7: 9 - 12.
12. Phạm Văn Kim và cs. (2009), Tổng kết công tác nghiên cứu và triển khai ứng dụng Cropsar-3-ĐHCT để quản lý bệnh đạo ôn lá lúa tại ĐBSCL. Hội thảo giới thiệu nguyên nhân gây bệnh virus mới trên lúa, một số kỹ thuật mới và chế phẩm mới trong phòng trừ bệnh cây ở Việt Nam.
13. Võ Thị Bích Thủy (2016), Đánh giá khả năng gây bệnh của các chủng vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* và bước đầu khảo sát ảnh hưởng của các gốc ghép ớt đến khả năng chống chịu bệnh héo vi khuẩn trên ớt sùng trong điều kiện nhà lưới, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ Số chuyên đề: Nông nghiệp* (2016)(3): 241 - 248).
14. Vũ Triệu Mân (1998), Giáo trình Bệnh cây, NXB Nông nghiệp, Hà Nội.

KHẢO SÁT KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG CỦA XẠ KHUẨN ĐỐI VỚI NẤM *Curvularia* sp. GÂY BỆNH LEM LÉP HẠT LÚA

Lê Minh Tường^{1*}, Lý Hùng²

¹Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

²Chi cục Trồng trọt và BVTV tỉnh Tiền Giang

*Tác giả liên hệ: lmtuong@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm tìm ra chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng với nấm *Curvularia* sp. gây bệnh lem lép hạt lúa. Khả năng đối kháng của 07 chủng xạ khuẩn đối với nấm *Curvularia* sp. gây bệnh lem lép hạt lúa trong điều kiện phòng thí nghiệm với 5 lần lặp lại. Kết quả cho thấy 3 chủng xạ khuẩn CT4.8, TG2.1 và ĐT3.4 có khả năng đối kháng mạnh và ổn định với bán kính vòng vô khuẩn lần lượt là 15,5 mm, 9,0 mm, 3,0 mm và hiệu suất đối kháng lần lượt là 47,67%; 40,67% và 34,33% ở thời điểm 11 ngày sau khi bố trí. Khả năng ức chế sự mọc mầm bào tử nấm *Curvularia* sp. gây bệnh lem lép hạt lúa của 3 chủng xạ khuẩn CT4.8, TG2.1 và ĐT3.4 được thực hiện trong điều kiện phòng thí nghiệm với 4 lần lặp lại. Kết quả ghi nhận được chủng xạ khuẩn CT4.8 có khả năng ức chế sự mọc mầm của bào tử nấm *Curvularia* sp. với tỷ lệ bào tử nấm mọc mầm là 8,04% thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại ở thời điểm 12 giờ sau khi bố trí thí nghiệm. Bên cạnh đó, khả năng ức chế sự hình thành bào tử nấm *Curvularia* sp. của 4 chủng xạ khuẩn (CT4.8, TG2.1 và ĐT3.4) cũng được thực hiện trong điều kiện phòng thí nghiệm với 4 lần lặp lại. Kết quả cho thấy, chủng CT4.8 thể hiện khả năng ức chế sự hình thành bào tử nấm *Curvularia* sp. cao với log mật số bào tử nấm thấp là 3,86 (bào tử/ml) ở thời điểm 9 ngày sau xử lý.

Từ khóa: bệnh lem lép hạt lúa, *Curvularia* sp., xạ khuẩn, ức chế sự mọc mầm bào tử, ức chế hình thành bào tử.

ABSTRACT

Assessment of antagonistic activity of actinomycetes isolates on *Curvularia* sp. causing grain discoloration disease on rice

The objective of the research was to find out the actinomycetes able to antagonize with *Curvularia* sp. fungus causing grain discoloration disease on rice. The antagonistic ability of 07 actinomyces isolates for *Curvularia* sp. was tested with 5 replications. The results showed that 3 actinomyces isolates, CT4.8; ĐT3.4 and TG2.1,

Người phân biên: TS. Nguyễn Phú Dũng.

have high antagonistic ability with radius of inhibition zones reaches 15.5 mm; 9.0 mm; 3.0 mm, respectively and antagonistic efficacy reaches 47.67%, 40.67%, 34.33% respectively at 11 days after co-culture. On the other hand, the ability of inhibiting conidia germination of *Curvularia* sp. by 3 actinomycetes isolates (CT4.8; ĐT3.4 and TG2.1) was examined in Laboratory condition with 4 replications. The result indicated that CT4.8 isolate has the highest inhibition efficacy with the lowest rate's conidia germination reaches 8.04% at 12 hours after inoculation. Beside, the ability of inhibiting sporulation of *Curvularia* sp. by these actinomycetes isolates was checked in Laboratory condition with 4 replications. The result showed that CT4.8 isolate has the highest inhibition efficacy with the lowest log conidia concentration reaches 3.86 (spores/ml) at 9 days after testing.

Keywords: actinomycetes, *Curvularia* sp., grain discoloration disease, inhibiting sporulation, inhibiting conidia germination.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, tình hình dịch bệnh trên cây lúa ngày càng có nhiều chuyển biến phức tạp đã gây ảnh hưởng không nhỏ đến năng suất, chất lượng lúa gạo. Trong đó, bệnh lem lép hạt lúa là một trong những bệnh gây hại quan trọng trên lúa ở các nước trồng lúa trên thế giới (Ou, 1985). Ở đồng bằng sông Cửu Long, bệnh lem lép hạt là một trong những nguyên nhân làm cho hạt lúa sau thu hoạch không sáng đẹp, đồng thời ảnh hưởng đến năng suất và chất lượng hạt lúa. Theo Trần Thị Thu Thủy (2011) xác định có 11 loài nấm hiện diện gây bệnh lem lép hạt lúa tại ĐBSCL gồm *Fusarium* sp., *Helminthosporium oryzae*, *Curvularia lunata*, *Diplodina* sp., *Trichoconis padwickii*, *Trichothecium* sp., *Nigrospora oryzae*, *Cercospora oryzae*, *Tilletia barclayana*, *Pyricularia oryzae* và *Alternaria* sp. và bệnh gây hại chủ yếu ở giai đoạn lúa trổ bông đến chín sữa. Hiện nay, biện pháp phòng trị bệnh chủ

yếu là dựa vào thuốc hóa học, nhưng việc lạm dụng thuốc hóa học ảnh hưởng đến chất lượng gạo, gây ô nhiễm môi trường và ảnh hưởng sức khỏe của con người. Chính vì thế, việc nghiên cứu các biện pháp sinh học ngày càng được đẩy mạnh và xạ khuẩn là nhóm vi sinh vật được nghiên cứu nhiều vì có tiềm năng lớn trong phòng trừ sinh học bệnh cây (Hasegawa *et al.*, 2006). Theo nghiên cứu của Tian *et al.* (2004), cho thấy 50% tổng số các dòng xạ khuẩn được phân lập đều có khả năng quản lý các tác nhân gây bệnh quan trọng trên lúa như: *Magnaporthe grisea*, *Rhizoctonia solani*, *Xanthomonas oryzae* và *Fusarium moniliforme*... Như vậy, có thể thấy việc phòng trừ bệnh lem lép hạt bằng xạ khuẩn là một biện pháp tiềm năng góp phần phòng trừ hiệu quả bệnh lem lép hạt lúa bằng các chủng xạ khuẩn và làm tiền đề cho những nghiên cứu sâu hơn, vừa giúp cho người nông dân sản xuất lúa đạt hiệu quả cao, vừa chung tay bảo vệ môi trường.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Nguồn xạ khuẩn: Các chủng xạ khuẩn có ký hiệu CT4.8, HG1.1, HG4.2, TG2.1, VL5.4, ĐT3.4, AG2.1 phân lập từ đất ruộng lúa lần lượt có nguồn gốc từ các tỉnh Cần Thơ, Hậu Giang, Tiền Giang, Vĩnh Long, Đồng Tháp và An Giang. Các chủng xạ khuẩn này có khả năng đối kháng, ức chế sự mọc mầm bào tử của nấm *Pyricularia oryzae*, tiết enzyme ngoại bào (chitinase, β -glucanase, cellulase...) và được đánh giá có triển vọng trong việc phòng trừ bệnh đạo ôn *Pyricularia oryzae* qua các thí nghiệm được thực hiện ở Bộ môn Bảo vệ thực vật, Khoa Nông nghiệp, Đại học Cần Thơ.

- Nguồn nấm: Chủng nấm *Curvularia* sp. do phòng thí nghiệm Bệnh cây, Bộ môn Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ cung cấp. Đây là chủng nấm được thu thập từ mẫu bệnh bệnh lem lép hạt trên giống lúa IR50404 thuộc huyện Thoại Sơn, tỉnh An Giang và có khả năng gây bệnh nặng nhất trong số 10 chủng nấm đã phân lập được.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thí nghiệm 1: Khảo sát khả năng đối kháng của xạ khuẩn đối với nấm *Curvularia* sp. gây bệnh lem lép hạt lúa trong điều kiện phòng thí nghiệm

* *Tiến hành thí nghiệm:* Những chủng xạ khuẩn được nuôi cấy trong môi trường MS trong 6 ngày, xác định mật số và chuyển về huyền phù xạ khuẩn cần

dùng là 10^8 cfu/ml. Chủng nấm *Curvularia* sp. được nuôi cấy trong môi trường PDA trong 7 ngày.

* *Cách thực hiện:* Khoanh khuẩn ty nấm *Curvularia* sp. có đường kính 5 mm được đặt vào giữa đĩa petri có chứa 10 ml môi trường PDA. Khoanh giấy thấm có đường kính 5 mm được tẩm huyền phù các chủng xạ khuẩn thí nghiệm được đặt đối xứng với khoanh khuẩn ty nấm và cách thành đĩa 1 cm. Ở nghiệm thức đối chứng thì thay khoanh giấy thấm tẩm xạ khuẩn bằng khoanh giấy thấm tẩm nước cất thanh trùng.

* *Chỉ tiêu theo dõi:* Đo bán kính vòng vô khuẩn ở các thời điểm 3, 5 và 7 ngày sau khi bố trí thí nghiệm.

Tính hiệu suất đối kháng (Moayed *et al.*, 2009) ở các thời điểm 3, 5 và 7 ngày sau khi bố trí thí nghiệm.

$$\text{HSDK (\%)} = \frac{\text{BKTNđc} - \text{BKTN} \times k}{\text{BKTNđc}} \times 100$$

Trong đó: BKTNđc: Bán kính tán nấm ở nghiệm thức đối chứng.

BKTN_{xk}: Bán kính tán nấm ở nghiệm thức chủng xạ khuẩn.

2.2.2. Thí nghiệm 2: Khả năng ức chế sự mọc mầm bào tử nấm *Curvularia* sp. của các chủng xạ khuẩn trong điều kiện phòng thí nghiệm

* *Bố trí thí nghiệm:* Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 1 nhân tố với 4 lần lặp lại. Các chủng xạ khuẩn được nuôi cấy 6 ngày trong môi trường MS, xác định mật số và chuyển về huyền

phù xạ khuẩn cần dùng là 10^8 cfu/ml. Dòng nấm *Curvularia* sp. được nuôi cấy trên môi trường PDA là 7 ngày và xác định mật số và chuyển về huyền phù bào tử nấm cần dùng trong thí nghiệm là 10^5 bào tử/ml.

* *Tiến hành thí nghiệm:* Cho 500 μ l dung dịch huyền phù xạ khuẩn (mật số 10^8 cfu/ml) + 500 μ l dung dịch huyền phù nấm (mật số 10^5 bào tử/ml) vào ống eppendorf và để ở nhiệt độ 25°C để quan sát ở từng thời điểm lấy chỉ tiêu thí nghiệm. Nghiệm thức đối chứng được thay 500 μ l dung dịch huyền phù xạ khuẩn bằng 500 μ l nước cất vô trùng.

* *Chỉ tiêu theo dõi:* Xác định tỷ lệ bào tử nấm *Curvularia* sp. nảy mầm ở các thời điểm 6, 12 và 24 giờ sau xử lý. Tính tỉ lệ bào tử nấm mọc mầm theo công thức sau:

Tỷ lệ bào tử mọc mầm (%) =

$$\left(\frac{\text{Tổng số bào tử mọc mầm}}{\text{Tổng số bào tử quan sát}} \right) \times 100\%$$

2.2.3. Thí nghiệm 3: Khả năng ức chế sự hình thành bào tử nấm *Curvularia* sp. gây bệnh lem lép hạt lúa của các chủng xạ khuẩn trong điều kiện phòng thí nghiệm

* *Bố trí thí nghiệm:* Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 1 nhân tố với 4 lần lặp lại. Các chủng xạ khuẩn được nuôi cấy 6 ngày trong môi trường MS, xác định mật số và chuyển về huyền phù xạ khuẩn cần dùng là 10^8 cfu/ml. Dòng nấm *Curvularia* sp. được nuôi cấy trên môi trường PDA là 7 ngày.

* *Tiến hành thí nghiệm:* Cho ba khoanh khuẩn ty nấm *Curvularia* sp. (đường kính 5 mm) vào bình tam giác chứa 98ml PDA lỏng + 2 ml huyền phù xạ khuẩn 10^8 cfu/ml. Sau đó nuôi lác ở điều kiện nhiệt độ phòng với tốc độ 100 (vòng/phút). Ở nghiệm thức đối chứng thì thay huyền phù xạ khuẩn bằng nước cất thanh trùng.

* *Chỉ tiêu ghi nhận:* Xác định mật số bào tử nấm *Curvularia* sp. hình thành ở các nghiệm thức tại các thời điểm 5, 7, 9 và 11 ngày sau nuôi lác.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khả năng đối kháng của xạ khuẩn đối với nấm *Curvularia* sp. gây bệnh lem lép hạt lúa trong điều kiện phòng thí nghiệm

Khả năng đối kháng của 7 chủng xạ khuẩn này với nấm *Curvularia* sp. gây bệnh lem lép hạt lúa với 4 lần lặp lại. Kết quả về bán kính vòng vô khuẩn (BKVVK) và hiệu suất đối kháng (HSDK) của các chủng xạ khuẩn thí nghiệm được trình bày lần lượt ở bảng 1 và bảng 2.

+ Bán kính vòng vô khuẩn (BKVVK):

Ở thời điểm 3 ngày sau khi bố trí thí nghiệm (NSBT), các chủng xạ khuẩn thí nghiệm thể hiện khả năng đối kháng với nấm với BKVVK dao động trong khoảng 12,5mm đến 19,2 mm và chủng TG2.1 có BKVVK là 19,2 mm cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức chủng xạ khuẩn còn lại. Đến thời điểm 5 NSBT, 2 chủng CT4.8 và TG2.1

có BKVVK lần lượt là 15,7 mm và 14,7 mm cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức chủng xạ khuẩn còn lại. Đến thời điểm 7 NSBT, chủng CT4.8 có BKVVK là 15,5 mm cao hơn và khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức chủng xạ khuẩn còn lại. Đến

thời điểm 9 NSBT, chủng CT4.8 vẫn cho BKVVK cao nhất là 15,5 mm, kể đến là chủng TG2.1 có BKVVK là 9,0 mm, tiếp theo là chủng ĐT3.4 có BKVVK là 3,0 mm cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức chủng xạ khuẩn còn lại (bảng 1 và hình 1).

Bảng 1. Bán kính vòng vô khuẩn (BKVVK) của các chủng xạ khuẩn đối với nấm *Curvularia* sp. ở các thời điểm khảo sát

STT	Xạ khuẩn	Bán kính vòng vô khuẩn (mm) qua các thời điểm khảo sát			
		3 NSBT	5 NSBT	7 NSBT	9 NSBT
1	CT 4.8	17,5 ^b	15,7 ^a	15,5 ^a	15,5 ^a
2	TG 2.1	19,2 ^a	14,7 ^a	11,5 ^b	9,0 ^b
3	ĐT 3.4	17,2 ^b	6,5 ^{bc}	3,1 ^{cd}	3,0 ^c
4	HG 4.2	15,0 ^c	8,0 ^b	4,2 ^c	1,2 ^d
5	VL 5.4	12,5 ^d	1,0 ^d	1,0 ^d	0,3 ^{de}
6	HG 1.1	15,5 ^c	7,2 ^{bc}	2,7 ^{cd}	1,0 ^d
7	AG 2.1	15,7 ^c	5,7 ^c	1,1 ^d	0,0 ^e
<i>Mức ý nghĩa</i>		*	*	*	*
CV (%)		13,7	4,54	27,21	34,73

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt qua phép kiểm định Duncan; *: Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; NSBT: Ngày sau khi bố trí thí nghiệm.

+ Hiệu suất đối kháng (HSDK):

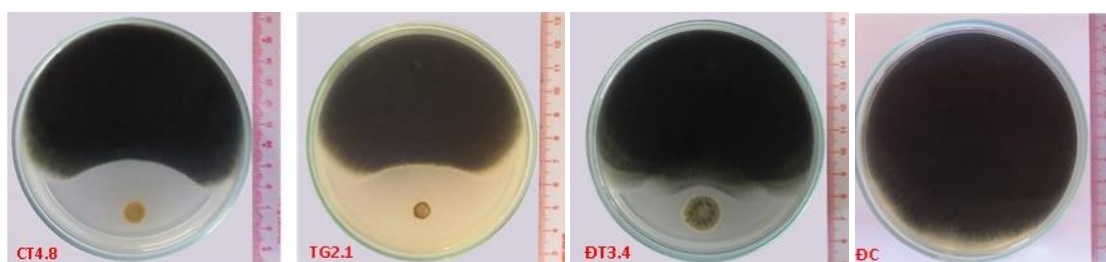
Kết quả về hiệu suất đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với nấm *Curvularia* sp. được trình bày ở bảng 2. Ở thời điểm 3 NSBT, 3 chủng xạ khuẩn CT4.8, TG2.1 và ĐT4.3 có hiệu suất đối kháng lần lượt là 14,29%; 13,09% và 13,69% cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại. Ở thời điểm 5 NSBT, 2 chủng CT4.8 và TG2.1 có HSDK lần lượt là 33,19% và 31,21% cao hơn và khác

biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại. Ở thời điểm 7 NSBT, chủng CT4.8 cho HSDK là 50,10% cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại. Đến thời điểm 9 NSBT, chủng CT4.8 vẫn cho HSDK cao nhất là 47,67%, kể đến là chủng TG2.1 với BKVVK là 40,67% và tiếp theo là chủng DDT3.4 với HSDK là 34,33% cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại.

Bảng 2. Hiệu suất đối kháng (HSDK) của các chủng xạ khuẩn đối với nấm *Curvularia* sp. ở các thời điểm khảo sát

STT	Kí hiệu xạ khuẩn	Hiệu suất đối kháng (%) qua các thời điểm khảo sát			
		3 NSBT	5 NSBT	7 NSBT	9 NSBT
1	CT 4.8	14,29 ^a	33,19 ^a	50,10 ^a	47,67 ^a
2	TG 2.1	13,09 ^a	31,21 ^a	41,67 ^b	40,67 ^b
3	ĐT 3.4	13,69 ^a	19,83 ^b	34,67 ^c	34,33 ^c
4	HG 4.2	6,55 ^b	18,97 ^b	33,00 ^{cd}	30,00 ^{de}
5	VL 5.4	4,76 ^b	13,79 ^c	31,33 ^{de}	31,33 ^d
6	HG 1.1	6,55 ^b	18,53 ^b	31,33 ^{de}	29,33 ^{de}
7	AG 2.1	4,17 ^b	17,24 ^b	28,67 ^e	28,00 ^e
<i>Mức ý nghĩa</i>		*	*	*	*
CV (%)		12,23	5,62	3,31	2,68

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt qua phép kiểm định Duncan; *: Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; NSBT: Ngày sau bố trí.



Hình 1. Khả năng đối kháng của một số chủng xạ khuẩn đối với nấm *Curvularia* sp. ở thời điểm 9 ngày sau khi bố trí thí nghiệm

Tóm lại, qua kết quả ở bảng 1 và bảng 2 cho thấy 3 chủng CT4.8, ĐT3.4 và TG2.1 cho khả năng đối kháng cao và kéo dài đến thời điểm 9 ngày sau khi bố trí thí nghiệm. Từ đó cho thấy, 3 chủng xạ khuẩn trên có thể là tác nhân sinh học có triển vọng để ức chế sự phát triển của nấm *Curvularia* sp. gây bệnh lem lép hạt lúa. Một số kết quả nghiên cứu trước cũng cho rằng xạ khuẩn có khả năng ức chế sự phát triển của nấm *Alternaria* sp. gây bệnh lem lép hạt lúa (Lý Hùng và Lê Minh Tường, 2020), xạ khuẩn có khả

năng đối kháng với nấm *Fusarium morniforme* gây bệnh lúa von hại lúa (Võ Duy Hoàng và ctv., 2019). Như vậy, 3 chủng CT4.8, ĐT3.4 và TG2.1 được chọn để sử dụng cho các thí nghiệm sau.

3.2. Khả năng ức chế bào tử nấm *Curvularia* sp. mọc mầm của các chủng xạ khuẩn trong điều kiện phòng thí nghiệm

Khả năng ức chế sự mọc mầm bào tử nấm *Curvularia* sp. gây bệnh lem lép hạt lúa của 3 chủng xạ khuẩn CT4.8, ĐT3.4

và TG2.1 được trình bày ở bảng 3. Ở thời điểm 6 giờ sau khi xử lý (GSXL), cả 3 chủng xạ khuẩn thí nghiệm đều cho khả năng ức chế sự mọc mầm bào tử nấm *Curvularia* sp. với tỷ lệ bào tử nấm mọc mầm thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng. Ở thời điểm 12 GSXL, chủng CT4.8 cho

tỷ lệ bào tử nấm mọc mầm thấp là 8,04% thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức chủng xạ khuẩn còn lại. Ở thời điểm 24 GSXL, cả 3 chủng vẫn cho tỷ lệ bào tử nấm mọc mầm thấp dao động từ 14,60 - 17,27% thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng.

Bảng 4. Khả năng ức chế sự mọc mầm bào tử nấm *Curvularia* sp. của các chủng xạ khuẩn qua các thời điểm khảo sát.

STT	Xạ khuẩn	Tỷ lệ (%) bào tử nấm mọc mầm qua các thời điểm khảo sát		
		6 GSXL	12 GSXL	24 GSXL
1	CT4.8	1,16 ^b	8,04 ^c	14,60 ^b
2	ĐT3.4	1,85 ^b	13,78 ^b	15,53 ^b
3	TG2.1	4,50 ^b	14,51 ^b	17,27 ^b
4	Đ/C	27,90 ^a	48,29 ^a	57,77 ^a
<i>Mức ý nghĩa</i>		*	*	*
CV (%)		11,40	8,10	5,75

Ghi chú: Các giá trị ở cùng một cột theo sau bởi một hay nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 1% qua phép thử Duncan; *: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; GSXL: Giờ sau khi xử lý.

3.3. Khả năng ức chế sự hình thành bào tử nấm *Curvularia* sp. của các chủng xạ khuẩn trong điều kiện phòng thí nghiệm

Khả năng ức chế sự hình thành bào tử nấm *Curvularia* sp. gây bệnh lem lép hạt lúa của 3 chủng xạ khuẩn CT4.8, ĐT3.4 và TG2.1 được trình bày ở bảng 4. Ở thời điểm 4 ngày sau khi nuôi lác (NSNL), cả 3 chủng xạ khuẩn đều có khả năng ức chế sự hình thành bào tử nấm *Curvularia* sp. thông qua log mật số bào tử nấm hình thành thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng.

Đến thời điểm 5 NSNL, chủng CT4.8 có log mật số bào tử hình thành là 3,67 tuy không khác biệt so với chủng ĐT3.4 (3,86) nhưng thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Đến thời điểm 7 NSNL, chủng CT4.8 vẫn cho khả năng ức chế sự hình thành bào tử thông qua log mật số bào tử là 3,67 thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Kết quả tương tự ở thời điểm 9 NSNL, chủng CT4.8 vẫn có log mật số bào tử thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại.

Bảng 5. Log mật số bào tử nấm *Curvularia* sp. hình thành qua các thời điểm khảo sát

STT	Chủng xạ khuẩn	Log mật số bào tử nấm hình thành qua các thời điểm khảo sát			
		3 NSNL	5 NSNL	7 NSNL	9 NSNL
1	CT4.8	3,26 ^c	3,36 ^c	3,67 ^c	3,86 ^c
2	ĐT3.4	3,40 ^c	3,86 ^{bc}	4,03 ^b	4,25 ^b
3	TG2.1	3,57 ^b	3,95 ^b	4,07 ^b	4,24 ^b
4	Đ/C	4,30 ^a	4,47 ^a	4,55 ^a	4,76 ^a
Mức ý nghĩa F		**	**	**	**
CV (%)		2,72	2,54	1,35	1,37

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt qua phép kiểm định Duncan; **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; NSNL: Ngày sau nuôi cấy.

Tóm lại, từ kết quả ở bảng 4 và bảng 5 cho thấy chủng xạ khuẩn CT4.8 vừa có khả năng ức chế sự mọc mầm bào tử nấm cao thông qua tỷ lệ bào tử nấm mọc mầm thấp, vừa cho khả năng ức chế sự hình thành bào tử nấm *Curvularia* sp. cao thông qua log mật số bào tử nấm hình thành thấp qua các thời điểm xử lý. Khả năng đối kháng trên có thể được giải thích là do xạ khuẩn có khả năng tiết ra một số enzyme như chitinase, glucanase,... giúp phân hủy vách tế bào nấm gây bệnh (Valois *et al.*, 1996). Lee *et al.* (2012) đã báo cáo rằng chủng xạ khuẩn *Streptomyces cavourensis* subsp. *cavourensis* có khả năng tiết các loại enzyme như chitinase, β -1,3 - glucanase,... gây ức chế sự mọc mầm bào tử nấm *Colletotrichum gloeosporioides*. Ngoài ra, chất kháng sinh do xạ khuẩn tiết ra cũng có khả năng giúp xạ khuẩn đối kháng cao với nấm gây bệnh cây trồng (Qin *et al.*, 1994). Theo Silvia *et al.* (2008) cho rằng có hơn 80% chất kháng sinh có nguồn gốc từ xạ khuẩn và trong số đó có nhiều chất kháng sinh do xạ khuẩn sinh ra có khả năng ức chế sự phát triển các loại nấm gây hại thực vật. Theo nghiên cứu của Joo (2005), chỉ

ra rằng bào tử của nấm *Phytophthora capsici* bị ức chế bởi chủng xạ khuẩn *Streptomyces halstedii* AJ-7, mật số bào tử của nấm còn ít hơn 1% khi tiếp xúc với dịch trích của xạ khuẩn sau 12 giờ. Ezziyyani *et al.* (2007) trong nghiên cứu của mình thấy rằng dịch trích của *Streptomyces rochei* có thể làm giảm đến 75% mật số của nấm *Phytophthora capsici* gây bệnh thối rễ ở cây tiêu.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

- Ba (03) chủng xạ khuẩn CT4.8, ĐT3.4 và TG2.1 có khả năng đối kháng cao với nấm *Curvularia* sp. gây bệnh lem lép hạt lúa trong điều kiện phòng thí nghiệm thông qua hiệu suất đối kháng cao và kéo dài đến thời điểm 9 ngày sau khi thí nghiệm.

- Chủng xạ khuẩn CT4.8 vừa có khả năng ức chế sự mọc mầm bào tử nấm cao và vừa có khả năng ức chế hình thành bào tử nấm *Curvularia* sp. cao qua các thời điểm xử lý.

- Đề xuất khảo sát khả năng phòng trị bệnh lem lép hạt lúa của chủng xạ khuẩn CT4.8 trong điều kiện nhà lưới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ezziyyani M., M. E. Requena, C. Egea-Gilabert and M. E. Candela (2007), Biological Control of Phytophthora Root Rot of Pepper Using *Trichoderma harzianum* and *Streptomyces rochei* in Combination. *Journal Phythpathology*, 155: 342 - 349.
2. Hasegawa S., A. Meguro, M. Shimizu, T. Nishimura and H. Kunoh (2006), Endophytic Actinomycetes and Their Interaction with Host Plant. *Actinomycetologica*, 72 - 81.
3. Joo G.J. (2005), Production of an anti-fungal substance for biological control of *Phytophthora capsici* causing phytophthora blight in red-peppers by *Streptomyces halstedii*. *Biotechnology Letters*, 27: 201 - 205.
4. Lee S. Y., H. Tindwa, Y. S. Lee, K. W. Naing, S. H. Hong, Y. Nam and K. Y. Kim (2012), Biocontrol of anthracnose in pepper using chitinase, β -1,3 - glucanase, and 2 - furancarboxaldehyde produced by *Streptomyces cavourensis* SY224. *Journal of Microbiology Biotechnology*, 22(10): 1359 - 1366.
5. Lý Hùng và Lê Minh Tường (2020), Đánh giá khả năng phòng trị của xạ khuẩn đối với nấm *Alternaria* sp. gây bệnh lem lép hạt trên lúa. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 14, 84 - 93.
6. Moayedi G. and R. Mostowfzadeh-ghalamfarsa (2009), Antagonistic Activities of *Trichoderma* spp. on *Phytophthora* Root Rot of Sugar Beet. *Iran Agricultural Research*, 28(2): 21 - 28.
7. Ou, S.H. (1985), *Rice Diseases*. 2nd ed. Commonwealth Mycological Institute, Kew, UK.
8. Qin Z., V. Peng, X. Zhou, R. Liang, Q. Zhou, H. Chen, DA. Hopwood, T. Keiser and Z. Dend (1994), Development of a gene cloning system for *Streptomyces hygrosopicus* subsp. *yingchengensis*, a producer of three useful antifungal compounds, by elimination of three barriers to DNA transfer. *Journal of Bacteriology*, 176: 2090 - 2095.
9. Silvia D. S. and T. T. Mika (2008), Friends and foes: streptomycetes as modulators of plant disease and symbiosis. *Antonie van Leeuwenhoek*, 94: 11 - 19.
10. Tian, X. L., L. X. Cao, H. M. Tan, Q. G. Zeng, Y. Y. Jia, W. Q. Han, và S. NN. Zhou. (2004), Study on the communities of endophytic fungi and endophytic *Actinomycetes* from rice and their antipathogenic activities *in vitro*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20, 6.
11. Trần Thị Thu Thủy (2011), Xác định nấm gây bệnh lem lép hạt ở đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 17: 155 - 163..
12. Valois D., K. Fayad, T. Barasubiye and M. Garon (1996), Glucanolytic *Actinomyces* antagonistic to *Phytophthora fragariae* var. *rubi*, the Causal Agent of Raspberry Root rot. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(5): 1630 - 1635.
13. Võ Duy Hoàng, Trần Văn Dũng và Lê Minh Tường (2019), Đánh giá khả năng đối kháng của một số chủng xạ khuẩn đối với nấm *Fusarium moniliforme* gây bệnh lúa von trong điều kiện phòng thí nghiệm. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 18: 30 - 36.

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG PHÒNG TRỪ BỆNH THỐI GỐC THÂN KHOAI LANG DO *Rhizoctonia solani* CỦA CÁC CHỦNG XẠ KHUẨN TRONG ĐIỀU KIỆN NHÀ LƯỚI

Lê Minh Tường^{1*}, Đinh Hoàng Kha²

¹Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

²Sinh viên ngành Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ

*Tác giả liên hệ: lmtuong@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Đề tài được thực hiện trong điều kiện phòng thí nghiệm và nhà lưới thuộc Bộ môn Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ nhằm tìm ra chủng xạ khuẩn có khả năng quản lý bệnh thối gốc thân khoai lang do nấm *Rhizoctonia solani* gây ra. Khả năng phân giải β -glucan của 3 chủng xạ khuẩn TTr7, KS-ST6b và KS-ST8b được thực hiện trong môi trường β -glucan agar với 5 lần lặp lại. Kết quả cho thấy cả 3 chủng xạ khuẩn thí nghiệm đều thể hiện khả năng phân giải β -glucan trong đó chủng xạ khuẩn TTr7 thể hiện khả năng phân giải cao nhất với bán kính vòng phân giải là 8,20 mm ở thời điểm 14 ngày sau khi bố trí thí nghiệm. Khả năng phòng trừ bệnh thối gốc thân khoai lang của 3 chủng xạ khuẩn (TTr7, KS-ST6b và KS-ST8b) cũng được thực hiện trong điều kiện nhà lưới với 5 lần lặp lại. Kết quả cho thấy nghiệm thức chủng xạ khuẩn TTr7 bằng cách tưới trực tiếp vào gốc 1 ngày trước và sau khi lây bệnh nhân tạo cho hiệu quả phòng trị bệnh cao nhất thông qua tỉ lệ bệnh thấp (22,58%), tỉ lệ chiều dài vết bệnh thấp (1,37%) và hiệu quả giảm bệnh cao (71,36%) và tương đương với nghiệm thức sử dụng thuốc hóa học ở thời điểm 14 ngày sau khi lây bệnh nhân tạo.

Từ khóa: bệnh thối gốc thân khoai lang, *Rhizoctonia solani*, xạ khuẩn, β -glucanase.

ABSTRACT

Evaluation of antagonistic ability against *Rhizoctonia solani* causing stem canker disease on sweet potato of actinomycetal isolates under the nethouse condition

This study was conducted under the laboratory and nethouse conditions of The Department of Plant Protection, Can Tho University to screen the ability of actinomycetes in bio-controlling *Rhizoctonia* stem canker disease on sweet potato caused by *Rhizoctonia solani*. A β -glucanase activity of three actinomycetal isolates, TTr7, KS-ST6b, and KS-ST8b was determined on β -glucan medium with five replicates

Người phân biên: PGS.TS. Nguyễn Khởi Nghĩa.

for each treatment. The results showed that all three actinomycetal isolates had a great capacity in β -glucan activity and only TTr7 isolate revealed its highest β -glucanase activity with the β -glucan lyses halo radius determined as 8,20 mm at 14 days of incubation. The biocontrol ability of these three actinomycetal isolates, TTr7, KS-ST6b, and KS-ST8b were also tested under the net-house condition with 5 replications for each treatment. The results indicated that the treatment received two times of TTr7 isolate application (1 day before and after pathogenic incubation) showed a high ability in controlling the *Rhizoctonia* stem canker disease on sweet potato as following indicators low percent of disease (22.58%), low percent of leaf disease (0.644%), low LRH (1.37%) and high efficiency reduces disease (71.36%). These results were as similar as the positive control treatment (chemical) at day 14 after pathogenic inoculation.

Keywords: actinomyces, *Rhizoctonia* stem canker disease on sweet potato, *Rhizoctonia solani*, β -glucanase.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở đồng bằng sông Cửu Long việc canh tác khoai lang mang lại hiệu quả về mặt kinh tế và thu nhập cao nên nông dân dần mở rộng diện tích canh tác và sản xuất thâm canh. Tuy nhiên, trong một vài năm trở lại đây việc canh tác khoai lang cũng gặp không ít khó khăn do nhiều nấm bệnh xuất hiện và tấn công, trong đó bệnh thối gốc thân khoai lang do nấm *Rhizoctonia solani* là một trong số các bệnh hại quan trọng, gây thiệt hại lớn đến năng suất khoai lang đang rất được quan tâm trong canh tác khoai lang. Để đối phó với bệnh này nông dân thường sử dụng thuốc hóa học đặc trị nấm. Biện pháp này thường gây ô nhiễm môi trường và mất cân bằng sinh thái. Việc áp dụng biện pháp xử lý thuốc hóa học với nồng độ cao, trong thời gian dài làm gia tăng tính kháng thuốc với nấm bệnh và trong mùa mưa biện pháp này dễ mất đi tính hiệu quả, làm cho dịch hại ngày càng phát triển phức tạp hơn. Hiện nay, việc sử dụng tác nhân sinh học trong quản lý bệnh hại được

xem như là biện pháp có tiềm năng ứng dụng rất cao vì vừa quản lý được bệnh hại cây trồng và vừa thân thiện với môi trường. Trong đó, xạ khuẩn là nhóm vi sinh vật được xem là một trong những nhóm vi sinh vật có tiềm năng lớn ứng dụng trong phòng trừ bệnh cây vì xạ khuẩn có thể ức chế mầm bệnh với nhiều cơ chế như: tiết kháng sinh, sự tiêu sinh, cộng sinh và ký sinh... Ngoài ra, xạ khuẩn còn có thể tiết ra các enzyme như chitinase (Quecine *et al.*, 2008), β -glucanase (Park *et al.*, 2012),... nhằm ức chế được nhiều nấm bệnh hại cây trồng. Ba chủng xạ khuẩn TTr7, KS-ST6b và KS-ST8b trong nghiên cứu này được phân lập từ đất ruộng của nông dân canh tác khoai lang và thể hiện chức năng đối kháng sinh học với nấm *Rhizoctonia solani* gây bệnh thối thân khoai lang ở điều kiện phòng thí nghiệm, tuy nhiên, nghiên cứu về khả năng đối kháng sinh học của 3 dòng xạ khuẩn phân lập này ở điều kiện nhà lưới vẫn chưa được thực hiện. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát khả năng đối kháng với nấm bệnh

Rhizoctonia solani gây bệnh thối thân khoai lang của 3 dòng xạ khuẩn phân lập và tuyển chọn ở điều kiện nhà lưới nhằm làm tiền đề cho sản xuất chế phẩm vi sinh có nguồn gốc từ xạ khuẩn quản lý bệnh thối gốc thân khoai lang nói riêng và bệnh hại khoai lang nói chung.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- **Nguồn nấm *Rhizoctonia solani*:** Chủng nấm *R. solani* do phòng thí nghiệm Bệnh cây, Bộ môn Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ cung cấp. Theo Nguyễn Thị Như Hào (2019), đây là chủng nấm được thu thập từ mẫu bệnh thối gốc thân khoai lang thuộc huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long và có khả năng gây bệnh nặng nhất (90%) trong 10 chủng phân lập được.

- **Nguồn xạ khuẩn:** Ba chủng xạ khuẩn được cung cấp từ Bộ môn Bảo vệ thực vật. Hai chủng xạ khuẩn KS-ST6b và KS-ST8b có khả năng đối kháng với nấm *R. solani* gây bệnh đốm vằn trên lúa (Lê Minh Tường và Ngô Thị Kim Ngân, 2014). Trong khi đó, chủng TTr7 có khả năng đối kháng với nấm *Sclerotium rolfsii* gây bệnh thối gốc thân khoai lang (Nguyễn Phương Thanh và Lê Minh Tường, 2017). Theo Nguyễn Thị Như Hào (2019) 3 chủng xạ khuẩn KS-ST6b, KS-ST8b và TTr7 có khả năng đối kháng cao với nấm *R. solani* gây bệnh thối gốc thân cây khoai lang với bán kính vòng vô khuẩn và hiệu suất đối kháng cao nhất trong tổng số 20 chủng xạ khuẩn thí nghiệm và lần lượt đạt giá trị từ 7,2 mm đến 12,6 mm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát khả năng phân giải β -glucan của ba chủng xạ khuẩn tuyển chọn

* **Bố trí thí nghiệm:** Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 lần lặp lại, trên đĩa petri chứa môi trường nuôi cấy và mỗi lặp lại tương ứng với 15 đĩa petri, mỗi nghiệm thức là một chủng xạ khuẩn thử nghiệm.

* **Cách thực hiện:** Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của Renwich *et al.*, (1991). 3 chủng xạ khuẩn (KS-ST6b, KS-ST8b và TTr7) được nuôi cấy trong môi trường MS trong 6 ngày, xác định mật số và chuyển về huyền phù bào tử xạ khuẩn là 10^8 cfu/ml.

* **Tiến hành thí nghiệm:** Dùng kẹp chuyên dụng cho các khoan giấy thấm có đường kính 5 mm vào dung dịch huyền phù xạ khuẩn mật số 10^8 cfu/ml. Sau đó, đặt các khoan giấy thấm lên đĩa petri có chứa 10 ml môi trường glucan agar thành 2 điểm cách đều nhau. Mỗi điểm tương ứng 1 khoan giấy thấm chứa 1 chủng xạ khuẩn. Sau đó, các đĩa petri thí nghiệm được đặt ở điều kiện nhiệt độ khoảng 28°C . Xác định khả năng phân giải glucan ở từng thời điểm ghi nhận chỉ tiêu bằng cách tráng dung dịch Congo-red 0,6% lên đĩa thạch, đổ bỏ phần dung dịch Congo-red thừa và tráng bề mặt agar lại với nước.

* **Chỉ tiêu theo dõi:** Đo bán kính vòng phân giải β -glucan (mm) là vùng không bắt màu với thuốc nhuộm Congo-red 0,6% ở các thời điểm 10, 12 và 14 ngày sau khi nuôi cấy.

2.2.2. Đánh giá hiệu quả phòng trừ của các chủng xạ khuẩn đối với bệnh thối gốc thân khoai lang do nấm *Rhizoctonia solani* gây ra ở điều kiện nhà lưới

* *Bố trí thí nghiệm*: Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên 1 nhân tố với 5 lần lặp lại và mỗi lặp lại tương ứng với 1 chậu thí nghiệm. Tổng cộng có 11 nghiệm thức thí nghiệm và được liệt kê như sau:

1/ Nghiệm thức 1 (TTR7 (T)): Tưới 50 mL dịch huyền phù xạ khuẩn TTR7 (mật số 10^8 cfu/mL) vào gốc khoai lang ở thời điểm 1 ngày trước khi lây bệnh nhân tạo (LBNT).

2/ Nghiệm thức 2 (TTR7 (TS)): Tưới 50 mL dịch huyền phù xạ khuẩn TTR7 (mật số 10^8 cfu/mL) vào gốc khoai lang ở hai thời điểm 1 ngày trước và sau khi LBNT.

3/ Nghiệm thức 3 (TTR7 (S)): Tưới 50 mL dịch huyền phù xạ khuẩn TTR7 (mật số 10^8 cfu/mL) vào gốc khoai lang ở thời điểm 1 ngày sau khi LBNT.

4/ Nghiệm thức 4 (KS-ST6b (T)): Tưới 50 mL dịch huyền phù xạ khuẩn KS-ST6b (mật số 10^8 cfu/mL) vào gốc khoai lang ở thời điểm 1 ngày trước khi LBNT.

5/ Nghiệm thức 5 (KS-ST6b (TS)): Tưới 50 mL dịch huyền phù xạ khuẩn KS-ST6b (mật số 10^8 cfu/mL) vào gốc khoai lang ở thời điểm 1 ngày trước và sau khi LBNT.

6/ Nghiệm thức 6 (KS-ST6b (S)): Tưới 50 mL dịch huyền phù xạ khuẩn KS-ST6b (mật số 10^8 cfu/mL) vào gốc khoai lang ở thời điểm 1 ngày sau khi LBNT.

7/ Nghiệm thức 7 (KS-ST8b (T)): Tưới 50 mL dịch huyền phù xạ khuẩn KS-ST8b (mật số 10^8 cfu/mL) vào gốc khoai lang ở thời điểm 1 ngày trước khi LBNT.

8/ Nghiệm thức 8 (KS-ST8b (TS)): Tưới 50 mL dịch huyền phù xạ khuẩn KS-ST8b (mật số 10^8 cfu/mL) vào gốc khoai lang ở thời điểm 1 ngày trước và sau khi LBNT.

9/ Nghiệm thức 9 (KS-ST8b (S)): Tưới 50 mL dịch huyền phù xạ khuẩn KS-ST8b (mật số 10^8 cfu/mL) vào gốc khoai lang ở thời điểm 2 ngày sau khi LBNT.

10/ Nghiệm thức 10 (Validacine 3SL): sử dụng thuốc hóa học Validacine 3SL theo nồng độ khuyến cáo vào thời điểm 1 ngày sau khi LBNT.

11/ Nghiệm thức 11 (Đôi chứng): Tưới 50mL nước cất thanh trùng vào gốc cây khoai lang ở thời điểm 1 ngày trước và sau khi LBNT

* *Chuẩn bị nguồn nấm*: Nấm *R. solani* được nuôi trên 10 mL môi trường PDA chứa trong đĩa petri trong 6 ngày. Sau đó, cho 5 mL nước cất thanh trùng vào đĩa petri chứa nấm để thu huyền phù sợi nấm. Tiếp theo, chuyển 5 mL dịch huyền phù sợi nấm được trộn đều trong 300 g môi trường trấu gạo (30% gạo + 70% trấu) đã được thanh trùng 2 lần ở 121°C áp suất 1 atm trong 20 phút. Tiến hành ủ trong 7 ngày trước khi tiến hành lây bệnh nhân tạo cho cây khoai lang.

* *Chuẩn bị nguồn xạ khuẩn*: Nguồn xạ khuẩn được nuôi trong môi trường MS đặt ở điều kiện nhiệt độ phòng thí nghiệm trong 6 ngày. Xác định mật số và pha loãng huyền phù xạ khuẩn về mật số 10^8 cfu/mL.

* *Chuẩn bị cây khoai lang*: Giống khoai lang tím Nhật. Chọn hom có ngọn to, khỏe, không nhiễm bệnh và được cắt thành từng đoạn có 6 - 7 mắt lá. Khoai lang được trồng với một số 5 hom/chậu.

* *Chuẩn bị chậu và đất*: Chậu nhựa dùng trong thí nghiệm có đường kính 25 cm

(diện tích bề mặt đất/chậu = 0,049 m²). Đất sử dụng trong thí nghiệm là hỗn hợp giữa đất và phân hữu cơ (mua từ cửa hàng bán cây kiếng) theo tỉ lệ 2:1 (v/v) và được thanh trùng nhiệt ướt 2 lần ở 121°C, 1 atm trong 30 phút và đất sau khi được thanh trùng cho vào chậu nhựa với trong lượng 6kg đất ẩm/chậu.

* *Lây bệnh nhân tạo*: Cây khoai lang trồng được 20 ngày thì tiến hành lây bệnh nhân tạo. Đầu tiên, di chuyển tất cả các chậu cây vào phòng ủ bệnh được che tối hoàn toàn bằng tấm nylon đen, ở nhiệt độ 25°C. Tiến hành làm bằng mặt đất trong chậu. Sau đó, lây bệnh nhân tạo bằng cách rải đều 300 g trấu gạo có chủng nấm/chậu lên bề mặt đất vào xung quanh

gốc khoai lang. Sau 24 giờ chủng bệnh, tiến hành đem các chậu ra ngoài ở điều kiện nhà lưới, thực hiện tưới phun sương và che mát 50% cường độ ánh sáng nhằm giúp mầm bệnh phát triển tốt.

* *Xử lý tác nhân phòng trừ bệnh sinh học*: Tưới huyền phù xạ khuẩn với mật số bào tử 10⁸ cfu/mL (50 mL/chậu) vào gốc cây khoai lang đã được lây bệnh nhân tạo tương ứng với từng nghiệm thức xử lý xạ khuẩn.

* *Ghi nhận chỉ tiêu*: Tiến hành quan sát triệu chứng và ghi nhận chỉ tiêu tỷ lệ bệnh, tỷ lệ lá bệnh, tỷ lệ chiều dài vết bệnh và tính hiệu quả giảm bệnh ở các thời điểm 2, 6, 10 và 14 ngày sau khi lây bệnh nhân tạo theo công thức:

$$\text{- Tỷ lệ bệnh (\%)} = (\text{Số dây bị bệnh} / \text{tổng số dây quan sát}) \times 100$$

$$\text{- Tỷ lệ lá bệnh (\%)} = (\text{Số lá bệnh} / \text{Tổng số lá quan sát}) \times 100$$

$$\text{- Tỷ lệ chiều dài vết bệnh (\%)} = \frac{\text{Chiều dài vết bệnh (cm)}}{\text{Chiều dài dây (cm)}} \times 100$$

$$\text{- HQGB} = \frac{\Sigma \text{ tỷ lệ bệnh ở NT đối chứng} - \Sigma \text{ tỷ lệ bệnh ở NT xử lý xạ khuẩn}}{\Sigma \text{ tỷ lệ bệnh ở NT đối chứng}} \times 100$$

2.3. Xử lý số liệu

Tất cả số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Office Excel. Phân tích bằng phần mềm thống kê MSTATC qua phép thử Duncan.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khả năng tổng hợp enzyme β -glucanase phân giải β -glucan của 3 chủng xạ khuẩn TTr7, KS-ST6b và KS-ST8b trên môi trường thạch

Khả năng phân giải β -glucan của các chủng xạ khuẩn được trình bày ở bảng 1.

Kết quả cho thấy cả 3 chủng xạ khuẩn thử nghiệm đều có khả năng phân giải β -glucan. Vào thời điểm 10 ngày sau khi cấy (NSKC) chủng xạ khuẩn TTr7 có bán kính vòng phân giải lớn nhất và đạt 5,10 mm, kế đến là chủng xạ khuẩn KS-ST8b cho bán kính vòng phân giải là 3,45mm, cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) khi so với chủng KS-ST6b (2,30 mm). Đến 12 NSKC, bán kính vòng phân giải của 3 chủng xạ khuẩn đều tăng lên, trong đó chủng TTr7 có bán kính vòng phân giải lớn nhất, đạt

7,07 mm và khác biệt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) khi so với 2 chủng còn lại. Ở thời điểm 14 NSKC, chủng xạ khuẩn TTr7 tiếp tục cho bán kính vòng phân giải lớn nhất (8,20 mm), kể đến chủng xạ khuẩn KS-ST8b, cho bán kính vòng phân giải 5,87mm, cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) khi so với chủng còn lại.

Bảng 1. Bán kính phân giải β -glucan ở các thời điểm 10, 12 và 14 ngày sau thí nghiệm của ba chủng xạ khuẩn thử nghiệm

Chủng xạ khuẩn	Bán kính (mm) vòng phân giải β -glucan		
	10 NSKC	12 NSKC	14 NSKC
TTr7	5,10 ^a	7,07 ^a	8,20 ^a
KS-ST6b	2,30 ^c	3,84 ^c	4,55 ^c
KS-ST8b	3,45 ^b	3,60 ^b	5,87 ^b
Mức ý nghĩa	**	**	**
CV (%)	5,61	1,94	1,29

Ghi chú: Các số trong cùng một cột theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt qua phép kiểm định Duncan; **: Khác biệt ý nghĩa ở mức 1%; NSKC: Ngày sau khi cấy.

Khả năng ức chế mầm bệnh của các chủng xạ khuẩn có liên quan đến khả năng tiết enzyme β -glucanase phân giải β -glucan của chúng. Từ kết quả thí nghiệm cho thấy cả 3 chủng xạ khuẩn thử nghiệm đều thể hiện khả năng phân giải β -glucan, trong đó, chủng TTr7 thể hiện khả năng phân giải β -glucan cao và ổn định lên đến 14 ngày sau thí nghiệm. Theo Lê Minh Tường và ctv. (2018) khi nghiên cứu 3 chủng xạ khuẩn ký hiệu LM6, LM25 và LV74 có chức năng đối kháng cao với

nấm *Fusarium solani* gây bệnh vàng lá thối rễ cây có mùi đều có khả năng tổng hợp enzyme β -glucanase cao.

3.2. Hiệu quả phòng trừ của 3 chủng xạ khuẩn đối với nấm *Rhizoctonia solani* gây bệnh thối gốc thân khoai lang trong điều kiện nhà lưới

3.2.1. Tỷ lệ bệnh

Kết quả khảo sát về tỷ lệ bệnh qua các thời điểm khảo sát được trình bày ở bảng 2. Tại thời điểm 2 ngày sau khi lây bệnh (NSLB), các nghiệm thức có xử lý xạ khuẩn có tỷ lệ bệnh dao động từ 29,55% đến 32,59%, nghiệm thức đối chứng dương xử lý với thuốc hóa học có tỷ lệ bệnh thấp nhất và đạt 23,43%. Tại thời điểm 6 NSLB, các nghiệm thức xử lý với 3 chủng xạ khuẩn gồm TTr7, KS-ST6b và KS-ST8b đều có tỷ lệ bệnh thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) khi so với nghiệm thức đối chứng âm tưới nước cát thanh trùng. Tuy nhiên, tỷ lệ bệnh của các nghiệm thức xử lý xạ khuẩn vẫn cao hơn nghiệm thức đối chứng dương xử lý với thuốc hóa học. Kết quả tương tự tại thời điểm 10 NSLB, nghiệm thức chủng TTr7 ở hai thời điểm 1 ngày trước và sau khi LBNT (TTr7 (TS)) cho tỷ lệ bệnh là 26,55%, tương đương với nghiệm thức xử lý thuốc hóa học (23,79%), thấp hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) khi so sánh với nghiệm thức đối chứng âm là phun nước cát thanh trùng. Tại thời điểm 14 NSLB, nghiệm thức TTr7 (TS) vẫn cho tỷ lệ bệnh thấp (22,58%) và không khác biệt thống kê ($p > 0,05$) khi so với nghiệm thức xử lý thuốc hóa học.

Bảng 2. Tỷ lệ (%) bệnh do nấm *Rhizoctonia solani* gây ra trên khoai lang qua các thời điểm khảo sát

STT	Nghiệm thức	Tỷ lệ bệnh (%) qua các thời điểm khảo sát			
		2 NSLB	6 NSLB	10 NSLB	14 NSLB
1	TTr7 (T)	31,45 ^a	34,53 ^{cd}	31,13 ^{cd}	29,22 ^{cd}
2	TTr7 (TS)	29,73 ^a	31,57 ^d	26,55 ^{de}	22,58 ^e
3	TTr7 (S)	31,82 ^a	44,47 ^b	56,37 ^b	64,96 ^b
4	KS-ST6b (T)	31,31 ^a	35,48 ^{cd}	35,43 ^c	33,38 ^{cd}
5	KS-ST6b (TS)	29,55 ^a	32,29 ^{cd}	29,08 ^d	28,56 ^d
6	KS-ST6b (S)	31,79 ^a	46,57 ^b	59,66 ^b	67,24 ^b
7	KS-ST8b (T)	31,44 ^a	36,09 ^c	35,27 ^c	34,01 ^c
8	KS-ST8b (TS)	30,25 ^a	32,59 ^{cd}	30,51 ^{cd}	28,54 ^d
9	KS-ST8b (S)	32,29 ^a	45,46 ^b	60,59 ^b	67,47 ^b
10	Đối chứng	32,62 ^a	52,78 ^a	67,89 ^a	78,42 ^a
11	Validacine 3SL	23,43 ^b	20,49 ^e	23,79 ^e	22,40 ^e
	Mức ý nghĩa	**	**	**	**
	CV (%)	11,42	8,11	8,62	8,84

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt qua phép kiểm định Duncan; **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; NSLB: Ngày sau lây bệnh.

3.2.2. Tỷ lệ chiều dài vết bệnh

Kết quả về tỷ lệ chiều dài vết bệnh qua các thời điểm khảo sát được trình bày ở bảng 3. Tại thời điểm 2 ngày sau lây bệnh (NSLB), nghiệm thức TTr7 (TS) có tỷ lệ chiều dài vết bệnh là 3,880%, thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại trừ nghiệm thức đối chứng dương là sử dụng thuốc hóa học (1,284%). Kết quả tương tự ở thời điểm 6 NSLB, nghiệm thức TTr7 (TS) vẫn tiếp tục có tỷ lệ chiều dài vết bệnh là 2,646%, thấp hơn và khác biệt thống kê so với các nghiệm thức còn lại trừ nghiệm thức xử lý thuốc với tỷ lệ chiều dài vết bệnh thấp nhất là 1,282%. Ở thời điểm 10 NSLB, nghiệm

thức TTr7 (TS) (chủng TTr7 được xử lý kết hợp ở thời điểm 1 ngày trước và 1 ngày sau khi lây bệnh nhân tạo) cho tỷ lệ chiều dài vết bệnh là 1,874% tương đương với nghiệm thức đối chứng dương là sử dụng thuốc hóa học với tỷ lệ chiều dài vết bệnh là 1,278%, thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại ở các thời điểm tương ứng. Ở thời điểm 14 NSLB, 2 nghiệm thức TTr7 (TS) và KS-ST6b (TS) có tỷ lệ chiều dài vết bệnh lần lượt là 1,370% và 2,726%, tương đương với nghiệm thức xử lý thuốc hóa học (1,282%), thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại.

Bảng 3. Tỷ lệ (%) chiều dài vết bệnh do nấm *Rhizoctonia solani* gây ra trên khoai lang qua các thời điểm khảo sát

STT	Nghiệm thức	Tỷ lệ (%) chiều dài vết bệnh qua các thời điểm khảo sát			
		2 NSLB	6 NSLB	10 NSLB	14 NSLB
1	TTr7 (T)	6,018 ^{bc}	5,886 ^{cd}	4,806 ^{de}	3,718 ^{def}
2	TTr7 (TS)	3,880 ^d	2,646 ^e	1,874 ^f	1,370 ^g
3	TTr7 (S)	7,232 ^{ab}	13,560 ^b	16,290 ^c	19,890 ^c
4	KS-ST6b (T)	7,660 ^a	5,940 ^{cd}	5,248 ^d	4,664 ^{de}
5	KS-ST6b (TS)	5,636 ^c	4,926 ^d	3,440 ^e	2,726 ^{fg}
6	KS-ST6b (S)	8,336 ^a	13,590 ^b	18,500 ^b	21,360 ^b
7	KS-ST8b (T)	7,648 ^a	6,176 ^c	5,348 ^d	4,830 ^d
8	KS-ST8b (TS)	5,796 ^c	5,152 ^{cd}	3,542 ^e	3,238 ^{ef}
9	KS-ST8b (S)	8,032 ^a	14,350 ^b	18,670 ^b	21,560 ^b
10	Đối chứng	8,556 ^a	15,79 ^a	20,540 ^a	23,750 ^a
11	Validacine 3SL	1,284 ^e	1,282 ^f	1,278 ^f	1,282 ^g
	Mức ý nghĩa	**	**	**	**
	CV (%)	16,48	9,40	11,35	11,02

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt qua phép kiểm định Duncan; **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; NSLB: Ngày sau lây bệnh.

3.2.3. Hiệu quả giảm bệnh

Kết quả khảo sát về hiệu quả giảm bệnh thối gốc thân cây khoai lang qua các thời điểm khảo sát được trình bày ở bảng 4. Tại thời điểm 2 ngày sau lây bệnh (NSLB), cả 9 nghiệm thức xử lý xạ khuẩn đều thể hiện hiệu quả giảm bệnh với nhiều mức độ khác nhau và dao động trong khoảng từ 1,140% đến 8,292%. Tại thời điểm 6 NSLB, hiệu quả giảm bệnh của nghiệm thức TTr7 (TS) là 40,19%, cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) khi so với các nghiệm thức còn lại, trừ nghiệm thức xử lý với thuốc hóa học. Nghiệm thức này cho hiệu quả giảm bệnh là 62,11%. Ở

thời điểm 10 NSLB, nghiệm thức TTr7 (TS) vẫn là nghiệm thức cho hiệu quả giảm bệnh 60,33%, tương đương với nghiệm thức xử lý thuốc hóa học (64,76%) và khác biệt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) khi so với các nghiệm thức còn lại. Kết quả tương tự tại thời điểm 14 NSLB, nghiệm thức TTr7 (TS) (chúng chúng xạ khuẩn TTr7 ở hai thời điểm 1 ngày trước và sau khi LBNT vẫn tiếp tục cho hiệu quả giảm bệnh cao nhất, đạt 71,36% và khác biệt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) khi so sánh với các nghiệm thức còn lại, trừ nghiệm thức xử lý với thuốc hóa học. Nghiệm thức này cho hiệu quả giảm bệnh là 73,18%.

Bảng 4. Hiệu quả giảm bệnh (%) thối gốc thân khoai lang do nấm *Rhizoctonia solani* gây ra qua các thời điểm khảo sát

STT	Nghiệm thức	Hiệu quả giảm bệnh qua các thời điểm khảo sát (%)			
		2 NSLB	6 NSLB	10 NSLB	14 NSLB
1	TTr7 (T)	3,430 ^d	34,99 ^{cd}	54,19 ^c	62,37 ^b
2	TTr7 (TS)	8,292 ^{bc}	40,19 ^b	60,33 ^{ab}	71,36 ^a
3	TTr7 (S)	2,330 ^{de}	15,27 ^e	16,40 ^e	17,13 ^d
4	KS-ST6b (T)	4,020 ^d	32,47 ^d	47,46 ^d	57,40 ^c
5	KS-ST6b (TS)	9,430 ^b	38,67 ^{bc}	57,69 ^{bc}	63,66 ^b
6	KS-ST6b (S)	2,524 ^{de}	11,60 ^e	12,48 ^{ed}	14,32 ^d
7	KS-ST8b (T)	3,428 ^d	31,57 ^d	48,14 ^d	56,62 ^c
8	KS-ST8b (TS)	7,226 ^c	38,54 ^{bc}	55,28 ^c	63,31 ^b
9	KS-ST8b (S)	1,140 ^e	13,36 ^e	10,33 ^f	13,77 ^d
10	Đối chứng	28,23 ^a	62,11 ^a	64,76 ^a	73,18 ^a
11	Validacine 3SL	**	**	**	**
	Mức ý nghĩa	18,33	11,11	8,64	6,98
	CV (%)	16,48	9,40	11,35	11,02

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt qua phép kiểm định Duncan; **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; NSLB: Ngày sau lây bệnh.

Tóm lại, kết quả thí nghiệm cho thấy rằng cả 3 chủng xạ khuẩn thử nghiệm đều thể hiện được khả năng phòng trị bệnh thối gốc thân cây khoai lang do nấm *Rhizoctonia solani* với nhiều mức độ khác nhau. Nghiệm thức xử lý khoai lang với chủng xạ khuẩn TTr7 ở hai thời điểm 1 ngày trước và sau khi LBNT cho hiệu quả phòng trị bệnh cao hơn và thể hiện thông qua 3 chỉ tiêu về tỷ lệ bệnh thấp, tỷ lệ chiều dài vết bệnh thấp và hiệu quả giảm bệnh cao tương đương với nghiệm thức xử lý với thuốc hóa học đến thời điểm 14 ngày sau khi LBNT. Điều này có thể được giải thích là do khi xử lý xạ khuẩn lên cây khoai lang 1 ngày trước khi LBNT, xạ khuẩn có thể định vị ở gốc khoai lang, tiết ra một số hợp chất có hoạt tính sinh học như chất kháng sinh, enzyme ngoại bào,... liên tục trong môi trường đất, do vậy, khi nấm bệnh xuất hiện lúc này trong đất sẽ bị ức chế và làm

cản trở sự phát triển của hệ sợi nấm (sợi nấm, hạch nấm,...) và khi đất được xử lý với xạ khuẩn thêm một lần nữa ở thời điểm 1 ngày sau khi LBNT điều này có nghĩa là trong đất đã được bổ sung thêm nguồn xạ khuẩn có lợi và từ đó khả năng ức chế nấm gây bệnh của xạ khuẩn trong đất lại được tăng cường hơn và điều này có thể dẫn đến việc gây chết nguồn nấm bệnh trong đất.

Theo nghiên cứu của Nguyễn Phương Thanh và ctv., (2017) cho thấy 6 chủng xạ khuẩn TTr7, TL13, TT3, TTr11, TĐ8 và TĐ2 có khả năng đối kháng cao nhất với nấm *Sclerotium* sp. gây bệnh thối gốc thân khoai lang trong đó chủng khuẩn TTr7 cho hiệu quả phòng trị bệnh cao trong điều kiện nhà lưới. Theo nghiên cứu của Lê Minh Tường và Đỗ Thanh Tuyền (2016) cho rằng 2 chủng xạ khuẩn KS-ST6b và TO-VL11d vừa thể hiện khả năng đối kháng cao với nấm *R. solani* gây

bệnh đốm vằn hại bắp trong điều kiện phòng thí nghiệm vừa cho khả năng phòng trị bệnh cao trong điều kiện nhà lưới. Theo nghiên cứu của Lê Minh Tường và Ngô Thị Kim Ngân (2014) ở điều kiện phòng thí nghiệm cho thấy các xạ khuẩn CT-ST1b, KS-ST6b, KS-ST8b, TO-VL4b, TO-VL11b, TO-VL6c, TB-VL2, TO-VL11d, CL-TG1, CB-TG1, CB-TG8 và BM-VL9 có khả năng đối kháng cao và ức chế sự phát triển khuẩn ty của chủng nấm gây bệnh hại cây trồng *Rhizoctonia solani*.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

- Cả 3 chủng xạ khuẩn TTr7, KS-ST6b và KS-ST8b đều có khả năng tiết enzyme β -glucan trong đó chủng TTr7 có khả năng tiết ra enzyme β -glucan cao nhất và kéo dài đến thời điểm 14 ngày sau khi bố trí thí nghiệm.

- Cả 3 chủng xạ khuẩn TTr7, KS-ST6b và KS-ST8b đều có khả năng phòng trị bệnh thối gốc thân khoai lang và chủng xạ khuẩn TTr7 khi phun kết hợp 1 ngày trước và 1 ngày sau khi lây bệnh nhân tạo cho hiệu quả phòng trị bệnh tốt nhất với tỉ lệ bệnh thấp, tỉ lệ chiều dài vết bệnh thấp và hiệu quả giảm bệnh cao tương đương nghiệm thức đối chứng sử dụng thuốc hóa học đến thời điểm 14 ngày sau khi lây bệnh nhân tạo.

4.2. Đề nghị

- Định danh đến loài 3 chủng xạ khuẩn TTr7, KS-ST6b và KS-ST8b.

- Nghiên cứu hiệu quả phòng trị bệnh thối gốc thân khoai lang của 3 chủng xạ khuẩn TTr7, KS-ST6b và KS-ST8b ở điều kiện ngoài đồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Minh Tường và Ngô Thị Kim Ngân (2014), Phân lập và đánh giá khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với nấm *Rhizoctonia solani* Kunh gây bệnh đốm vằn trên lúa. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Số chuyên đề Nông nghiệp: 113 - 119.
2. Lê Minh Tường, Đỗ Thanh Tuyền (2016), Hiệu quả phòng trị của xạ khuẩn đối với bệnh đốm vằn trên bắp. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Số chuyên đề Nông nghiệp: 62 - 69.
3. Lê Minh Tường, Nguyễn Ngọc Sơn, Lê Thị Ngọc Xuân và Nguyễn Trường Sơn (2018), Khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với nấm *Fusarium solani* gây bệnh vàng lá thối rễ trên cây có múi. Tạp chí Bảo vệ thực vật. Số 3: 26 - 32
4. Nguyễn Phương Thanh, Lê Minh Tường và Nguyễn Văn Tập (2017), Đánh giá khả năng phòng trị của xạ khuẩn đối với bệnh thối gốc thân do nấm *Sclerotium rolfsii* hại khoai lang. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. Số 14: 75 - 83.
5. Nguyễn Thị Như Hào (2019), Khảo sát khả năng gây hại của các dòng nấm *Rhizoctonia solani* gây bệnh thối gốc thân khoai lang và bước đầu nghiên cứu biện pháp phòng trị bằng xạ khuẩn. Luận văn tốt nghiệp đại học, Trường Đại học Cần Thơ. 55 trang.
6. Park, Jae KweonKim, Jeong-DongPark, Yong IILKim, Se-Kwon (2012), Purification and characterization of a 1,3 - β -d-glucanase from *Streptomyces torulosus* PCPOK-0324. Carbohydrate Polymers, 87(2): 1641 - 1648.
7. Quecine, M. C., W.L Araujo, J. Marcon, C.S. Gai, J.L. Azevedo and A.A.P. Kleiner (2008), Chitinolytic activity of endophytic Streptomycetes and potential for biocontrol. The Society for Applied Microbiology, 47: 486 - 491.
8. Renwick A., R. Campbel and S. Coe. (1991), Assessment of invitro screening systems for potential biocontrol agents of *Gaeumannomyces graminis*. Plant Pathology, 40: 524 - 532.

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG CỦA CÁC CHỦNG XẠ KHUẨN ĐỐI VỚI VI KHUẨN *Xanthomonas* sp. GÂY BỆNH ĐỐM ĐEN TRÊN XOÀI

Lê Minh Tường^{1*}, Lê Thị Ngọc Xuân¹,
Nguyễn Trường Sơn²

¹ Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

² Chi cục Trồng trọt và BVTV tỉnh Kiên Giang

*Tác giả liên hệ: lmtuong@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu là nhằm tìm ra chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas* sp. gây bệnh đốm đen trên xoài. Khả năng đối kháng của 19 chủng xạ khuẩn đối với vi khuẩn *Xanthomonas* sp. được thực hiện trong điều kiện phòng thí nghiệm nhà lưới với 5 lần lặp lại. Kết quả xác định được 4 chủng xạ khuẩn HG 1, HG 2, HG 3 và HG 4 thể hiện khả năng đối kháng cao với vi khuẩn *Xanthomonas* sp. đến thời điểm 8 ngày sau bố trí thí nghiệm (NSBT) với bán kính vòng vô khuẩn lần lượt là 4,75 mm; 5,00 mm; 4,50 mm và 3,88 mm. Bên cạnh đó, khả năng phân giải protein của 4 chủng xạ khuẩn (HG 1, HG 2, HG 3 và HG 4) được thực hiện trong điều kiện phòng thí nghiệm với 5 lần lặp lại. Kết quả cho thấy tất cả 4 chủng xạ khuẩn thí nghiệm đều có khả năng tiết phân giải protein và 3 chủng HG 1, HG 2 và HG 3 thể hiện khả năng phân giải protein cao nhất với bán kính vòng phân giải là 10,5 mm; 11,7 mm và 10,8 mm ở thời điểm 7 ngày sau thí nghiệm. Mặt khác, khả năng phân giải lipid của 4 chủng xạ khuẩn trên cũng được thực hiện trong điều kiện phòng thí nghiệm với 5 lần lặp lại. Kết quả cho thấy cả 4 chủng xạ khuẩn thí nghiệm đều có khả năng tiết enzyme lipase, trong đó chủng HG 2 thể hiện khả năng tiết enzyme lipase cao với bán kính vòng phân giải lipid lần lượt là 16,5 mm ở thời điểm 7 ngày sau thí nghiệm.

Từ khóa: bệnh đốm đen hại xoài, lipid, protein, *Xanthomonas* sp., xạ khuẩn.

ABSTRACT

Evaluation of antibacterial activity of actinomycetes isolates against *Xanthomonas* sp. causing black spot disease on mango

The objective of this research was to select the actinomycetes isolates capable of antibacterial effect toward *Xanthomonas* sp. causing black spot disease on Mango.

Người phân biên: TS. Nguyễn Đức Cường.

Antagonistic ability of 19 actinomyces isolates against Xanthomonas sp. was conducted in laboratory condition with 5 replications. The results found that 4 isolates of HG 1, HG 2, HG 3 and HG 6 had highest antagonistic ability with radius of inhibition zones reaches 4.75 mm; 5.00 mm; 4.50 mm and 3.88 mm, respectively at 8 days after co-inoculation. Besides, the protease activity of 4 isolates (HG 1, HG 2, HG 3 and HG 6) was tested in laboratory condition with 5 replications. The results showed that 4 testing isolates could produce protease enzyme. Among these, 3 isolates of HG 1, HG 2 and HG 3 have expressed the highest proteinolytic activity with the protein lyses halo radius of 10.5 mm; 11.7 mm and 10.8 mm, respectively at 7 days after testing. Beside, the lipase activity assay was also checked in laboratory condition with 5 replications. The results indicated that 4 testing isolates could produce lipase and HG 2 isolate has expressed the highest lipidolytic activity with the lipid lyses halo radius of 16.5 mm at 7 days after testing.

Keywords: *actinomyces, black spot disease on Mango, lipid, protein, Xanthomonas sp..*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở đồng bằng sông Cửu Long, xoài chiếm một vị trí quan trọng do mang lại giá trị kinh tế cao trong chiến dịch chuyển đổi cơ cấu cây trồng. Lợi nhuận thu được từ 1 ha xoài cao gấp 3 - 6 lần so với trồng lúa. Chính vì thế, mô hình trồng xoài ngày càng phát triển và diện tích ngày càng tăng. Việc canh tác xoài gặp không ít những trở ngại và khó khăn đặc biệt là sự gây hại của bệnh đốm đen trên xoài do vi khuẩn *Xanthomonas* sp. gây ra. Bệnh đốm đen gây hại trên thân, cành, nhánh, lá và cả trái; làm giảm khả năng phát triển của cây, sự quang hợp của lá, đồng thời làm giảm phẩm chất của trái ở giai đoạn trước và sau thu hoạch. Hiện nay, nông dân thường sử dụng biện pháp hóa học là chủ yếu để phòng và trị bệnh. Tuy nhiên, việc sử dụng thuốc hóa học ngày càng tăng tạo áp lực cho mầm bệnh dễ hình thành tính kháng và phát sinh loài mới (Backman *et al.*, 1997), đồng thời gây ô nhiễm môi trường do dư lượng thuốc hóa

học dễ phá vỡ cân bằng hệ sinh thái trong quá trình sử dụng. Vì vậy, biện pháp sử dụng vi sinh vật đối kháng trong phòng trừ sinh học trong phòng trừ bệnh hại cây trồng đã và đang được chú trọng, nhất là ứng dụng vào việc phòng trừ vi khuẩn gây bệnh trên cây trồng, từ đó giảm áp lực nguồn bệnh trong quá trình canh tác, tăng tính bền vững trong sản xuất nông nghiệp và giảm ô nhiễm môi trường. Trong những năm gần đây, xạ khuẩn đã được sử dụng như tác nhân sinh học trong phòng trị nhiều bệnh hại cây trồng do vi khuẩn gây ra ở ĐBSCL như: bệnh cháy bìa lá trên lúa do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Lê Minh Tường và Nguyễn Thị Mỹ Ngân, 2015); bệnh loét trên cây có múi do vi khuẩn *Xanthomonas* sp. gây ra (Nguyễn Hoàng Sang, 2017); bệnh héo xanh khoai lang do vi khuẩn *Rasltonia solanacearum* gây ra (Huỳnh Trường Giang và Lê Minh Tường, 2017) và bệnh thối nhũn trên khoai môn do vi khuẩn *Erwinia* sp. gây ra (Lê Minh Phương và *ctv.*, 2019). Do đó,

việc nghiên cứu và ứng dụng xạ khuẩn trong quản lý bệnh đốm đen hại xoài là rất cần thiết và cấp bách.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- **Nguồn vi khuẩn:** Chủng vi khuẩn *Xanthomonas* sp. nhận được từ phòng thí nghiệm Bệnh cây, Bộ môn Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ. Đây là chủng vi khuẩn phân lập từ mẫu bệnh có triệu chứng đặc trưng của bệnh đốm đen hại xoài thu thập từ vườn trồng xoài của nông dân tại huyện Châu Thành A, tỉnh Hậu Giang và có khả năng gây hại nặng nhất trong số 10 chủng vi khuẩn phân lập.

- **Nguồn xạ khuẩn:** 19 chủng xạ khuẩn được cung cấp từ phòng thí nghiệm Bệnh cây, Bộ môn Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ. Các chủng xạ khuẩn này thuộc chi *Streptomyces* và có khả năng đối kháng cao với một số tác nhân gây bệnh hại cây trồng như: 8 chủng xạ khuẩn (HG 1, HG 2, HG 4, HG 5, HG 7, ĐT 1, ĐT 3 và ĐT 5) có khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas* sp. gây bệnh loét trên cam quýt; 3 chủng (ĐT 2, ĐT 4, ĐT 6) có khả năng đối kháng với vi khuẩn *Erwinia* spp. gây bệnh thối củ khoai môn; 4 chủng (HG 3, HG 6, HG 8 và HG 9) có khả năng đối kháng cao với nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên xoài; 4 chủng (VL 1, VL 2, VL 3 và VL 44) có khả năng đối kháng với vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* gây bệnh héo xanh trên khoai lang.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đánh giá khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với *Xanthomonas* sp. trong điều kiện phòng thí nghiệm

* **Chuẩn bị thí nghiệm:** Những chủng xạ khuẩn được nuôi cấy trong môi trường MS trong 6 ngày, xác định mật số và chuyển về huyền phù bào tử xạ khuẩn cần dùng là 10^8 cfu/ml. Vi khuẩn *Xanthomonas* sp. được nuôi cấy trên đĩa petri chứa môi trường King's B trong 48 giờ, cho 5 ml nước cất thanh trùng vào đĩa, thu được huyền phù, sau đó tiến hành điều chỉnh để đưa về huyền phù có $OD_{600\text{ nm}} = 0,3$.

* **Thực hiện thí nghiệm:** Hòa 50 μ l huyền phù vi khuẩn *Xanthomonas* sp. ($OD_{600\text{ nm}} = 0,3$) cùng 10 ml môi trường King's B lỏng vào đĩa petri, lắc đều, để nguội. Sau đó tạo giếng trên đĩa petri bằng dụng cụ đục lỗ có đường kính 5 mm, dùng pipet hút 10 μ l huyền phù xạ khuẩn (mật số 10^8 cfu/ml) cho vào giếng vừa đục, mỗi giếng là 1 chủng xạ khuẩn khác nhau. Đĩa petri được đặt trong điều kiện nhiệt độ phòng.

* **Chỉ tiêu theo dõi:** Tiến hành đo bán kính vòng vô khuẩn ở các thời điểm 2, 4, 6 và 8 sau ngày bố trí thí nghiệm.

2.2.2. Khảo sát khả năng tiết enzyme protease phân giải protein của các chủng xạ khuẩn trên môi trường thạch

* **Bố trí thí nghiệm:** Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 5 lặp lại, mỗi nghiệm thức là 1 chủng xạ khuẩn thí nghiệm. Thí nghiệm được thực

hiện theo phương pháp của Mitra và Chakrabartty (2005): Xạ khuẩn sau khi được nuôi cấy trong đĩa petri 6 ngày trên môi trường MS, thu huyền phù xạ khuẩn. Thực hiện phương pháp pha loãng, nuôi cấy xạ khuẩn trên môi trường MS, xác định mật số xạ khuẩn bằng cách đếm các khuẩn lạc mọc trên môi trường nuôi cấy và chuyển về mật số xạ khuẩn cần dùng là 10^8 cfu/ml. Xạ khuẩn được cấy thành 3 điểm trên đĩa petri chứa môi trường Casein, mỗi điểm là một khoanh giấy thấm (có đường kính 5 mm) có tâm huyền phù xạ khuẩn.

* *Chỉ tiêu theo dõi*: Tiến hành đo bán kính vòng phân giải protein ở thời điểm 3, 5 và 7 ngày sau khi bố trí thí nghiệm. Tại mỗi thời điểm lấy chỉ tiêu thí nghiệm, tiến hành trải đều dung dịch TCA (Tricloro acid) lên bề mặt đĩa petri thí nghiệm, sau đó để yên khoảng 30 giây ở nhiệt độ phòng và xác định hoạt tính protease do xạ khuẩn tiết ra trên môi trường thạch bằng cách đo bán kính vùng không bắt màu với dung dịch TCA.

2.2.3. Khảo sát khả năng tiết enzyme lipase phân giải lipid của các chủng xạ khuẩn trên môi trường thạch

* *Bố trí thí nghiệm*: Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 5 lặp lại, mỗi nghiệm thức là 1 chủng xạ khuẩn thí nghiệm. Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của (Ertugrul *et al.*, 2007): Xạ khuẩn sau khi được nuôi cấy trong đĩa petri 6 ngày trên môi trường MS, thu huyền phù xạ khuẩn (mật số 10^8 cfu/ml). Xạ khuẩn được cấy thành 3 điểm trên đĩa petri có chứa môi trường

Tween 80 agar, mỗi điểm là một khoanh giấy thấm (có đường kính 5mm) có tâm huyền phù xạ khuẩn.

* *Chỉ tiêu theo dõi*: Tiến hành đo bán kính vòng phân giải lipid ở thời điểm 3, 5 và 7 ngày sau khi bố trí thí nghiệm.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Office Excel. Phân tích bằng phần mềm thống kê SPSS version 16.0 qua phép thử Duncan.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khả năng đối kháng của xạ khuẩn đối với vi khuẩn *Xanthomonas* sp. gây bệnh đốm đen hại xoài trong điều kiện phòng thí nghiệm

Khả năng đối kháng của 19 chủng xạ khuẩn đối với vi khuẩn *Xanthomonas* sp. gây bệnh đốm đen hại xoài trong điều kiện phòng thí nghiệm được ghi nhận thông qua bán kính vòng vô khuẩn (BKVVK) ở các thời điểm 2, 4, 6 và 8 ngày sau khi bố trí thí nghiệm (NSBT) và được trình bày ở bảng 1. Ở thời điểm 2 NSBT, tất cả các chủng xạ khuẩn thí nghiệm đều thể hiện khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas* sp. ở nhiều mức độ khác nhau và dao động từ 0,50 - 5,88 mm, trong đó chủng HG 2 có BKVVK cao nhất tương ứng với 5,88 mm cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại. Đến thời điểm 4 NSBT, 3 chủng HG 1, HG 2 và HG 3 có BKVVK lần lượt là 4,88 mm; 5,25 mm và 5,25 mm cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại.

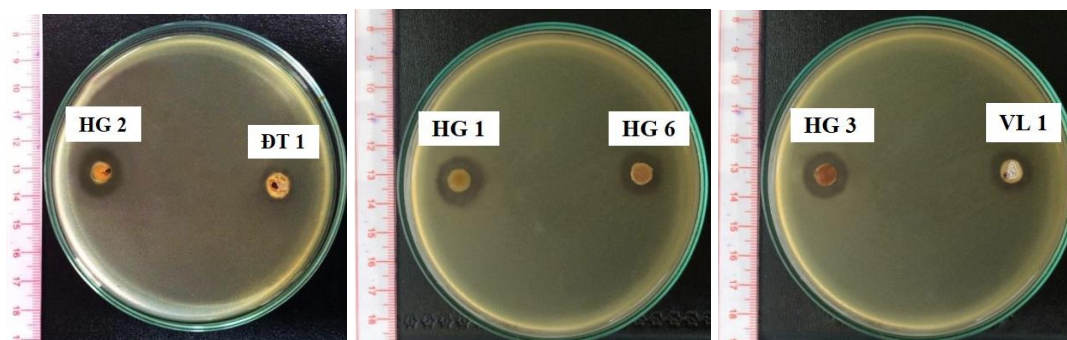
Tương tự ở thời điểm 6 NSBT, 3 chủng xạ khuẩn HG 1, HG 2 và HG 3 vẫn thể hiện khả năng đối kháng cao nhất thông qua BKVVK cao nhất. Đến thời điểm 8 NSBT, chủng HG 2 có BKVVK là 5,00 mm tuy không khác biệt so với chủng HG 1 (4,75 mm) nhưng cao hơn và khác biệt

có ý nghĩa thống kê so với các chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại, kể đến là chủng HG 3 có BKVVK tương ứng với 4,50 mm và tiếp theo là chủng HG 6 có BKVVK là 3,88 mm cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại.

Bảng 1. Bán kính (mm) vòng vô khuẩn của các chủng xạ khuẩn đối với vi khuẩn *Xanthomonas* sp. qua các thời điểm khảo sát

STT	Xạ khuẩn	Bán kính vòng vô khuẩn (mm) qua các thời điểm khảo sát			
		2 NSBT	4 NSBT	6 NSBT	8 NSBT
1	HG 1	4,13 ^c	4,88 ^a	5,00 ^a	4,75 ^{ab}
2	HG 2	5,88 ^a	5,25 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a
3	HG 3	5,00 ^b	5,25 ^a	4,75 ^a	4,50 ^b
4	HG 4	1,00 ^g	1,38 ^d	1,63 ^{de}	1,63 ^e
5	HG 5	3,88 ^c	3,63 ^b	3,00 ^c	2,50 ^d
6	HG 6	4,63 ^b	4,13 ^b	3,88 ^b	3,88 ^c
7	HG 7	2,00 ^{ef}	2,13 ^c	1,75 ^d	1,50 ^{ef}
8	HG 8	1,63 ^{ef}	1,75 ^{cd}	1,25 ^{de}	1,13 ^{fgh}
9	HG 9	1,63 ^{ef}	1,88 ^{cd}	1,38 ^{de}	1,25 ^{efg}
10	ĐT 1	2,63 ^d	2,13 ^c	1,75 ^d	1,50 ^{ef}
11	ĐT 2	0,50 ^g	0,63 ^e	0,13 ^f	0,13 ⁱ
12	ĐT 3	1,75 ^{ef}	2,00 ^{cd}	1,75 ^d	1,00 ^{gh}
13	ĐT 4	1,50 ^f	1,38 ^d	1,13 ^e	0,75 ^h
14	ĐT 5	0,63 ^g	0,25 ^{ef}	0,00 ^f	0,00 ⁱ
15	ĐT 6	1,88 ^{ef}	1,88 ^{cd}	1,25 ^{de}	0,75 ^h
16	VL 1	2,13 ^e	1,63 ^{cd}	1,50 ^{de}	1,13 ^{fgh}
17	VL 2	1,75 ^{ef}	1,63 ^{cd}	1,13 ^e	0,75 ^{gh}
18	VL 3	1,63 ^{ef}	1,38 ^d	1,13 ^e	0,75 ^{gh}
19	VL 4	1,75 ^{ef}	1,38 ^d	1,13 ^e	0,75 ^h
<i>Mức ý nghĩa</i>		*	*	*	*
CV (%)		15,22	17,53	17,10	18,31

Ghi chú: Các giá trị ở cùng một cột dọc được theo sau bởi một hay nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa qua phép thử Duncan; *: Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; NSBT: Ngày sau khi bố trí thí nghiệm.



Hình 1. Khả năng đối kháng của một số chủng xạ khuẩn với vi khuẩn *Xanthomonas* sp. gây bệnh đốm đen trên xoài ở thời điểm 5 ngày sau khi bố trí thí nghiệm

Nhìn chung, 19 chủng xạ khuẩn đều có khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas* sp. gây bệnh đốm đen hại xoài ở những mức độ khác nhau qua các thời điểm khảo sát. Nổi bật nhất là 4 chủng xạ khuẩn HG1, HG 2, HG 3 và HG 6 thể hiện khả năng đối kháng tốt nhất với BKVVK cao và duy trì khả năng đối kháng bền vững đến thời điểm 8 ngày sau thí nghiệm. Khả năng đối kháng của xạ khuẩn đối với vi khuẩn gây bệnh cây trồng đã được nhiều nghiên cứu trước đây chứng minh. Theo Nguyễn Hoàng Sang (2017) đã phân lập và tuyển chọn 2 chủng xạ khuẩn HG 1 và HG 2 có khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas* sp. gây bệnh loét trên cây cam quýt canh tác ở ĐBSCL. Ngoài ra, Lê Minh Phương và

ctv., (2019) cũng đã phân lập và tuyển chọn 3 chủng xạ khuẩn ĐT 2, ĐT 4 và ĐT 6 có khả năng đối kháng cao với vi khuẩn *Erwinia* sp. gây bệnh thối nhũn củ khoai môn.

3.2. Khả năng tiết enzyme protease phân giải protein của các chủng xạ khuẩn trên môi trường thạch

Khả năng tiết enzyme protease của 4 chủng xạ khuẩn thí nghiệm (HG 1, HG 2, HG 3 và HG 6) trên môi trường thạch và được trình bày ở bảng 2. Ở thời điểm 3 ngày sau khi thí nghiệm (NSTN), tất cả các chủng xạ khuẩn đều bắt đầu thể hiện khả năng phân giải protein thông qua bán kính vòng phân giải dao động từ 1,8 - 4,3 mm.

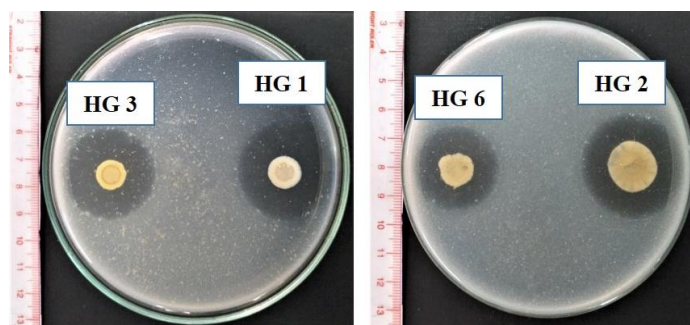
Bảng 2. Khả năng phân giải protein của các chủng xạ khuẩn qua các thời điểm khảo sát

Thí nghiệm	Bán kính (mm) vòng phân giải protein qua các thời điểm khảo sát		
	3 NSBT	5 NSBT	7 NSBT
HG 1	3,84 ^a	6,7 ^b	10,5 ^a
HG 2	4,30 ^a	8,7 ^a	11,7 ^a
HG 3	4,10 ^a	6,9 ^b	10,8 ^a
HG 6	1,80 ^b	6,2 ^b	8,10 ^b
Mức ý nghĩa	**	*	**
CV (%)	18,89	16,10	9,20

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt qua phép kiểm định Duncan; *: Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; NSBT: Ngày sau khi bố trí thí nghiệm.

Trong đó, 3 chủng HG 1, HG 2 và HG 3 có bán kính vòng phân giải lớn hơn chủng HG 6. Đến thời điểm 5 NSTN, tất cả các chủng xạ khuẩn gia tăng đáng kể mức độ phân giải protein với bán kính vòng phân giải lớn hơn 6 mm; trong đó, chủng xạ khuẩn Hg 2 có bán kính vòng phân giải

cao nhất với 8,7 mm cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với 3 chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại (hình 2). Ở thời điểm 7 NSTN, 3 chủng HG 1, HG 2 và HG 3 có bán kính vòng phân giải protein cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với chủng HG 6.



Hình 2. Vòng phân giải protein của các chủng xạ khuẩn ở thời điểm 5 ngày sau khi bố trí thí nghiệm

3.2. Khả năng tiết enzyme lipase phân giải lipid của các chủng xạ khuẩn trên môi trường thạch

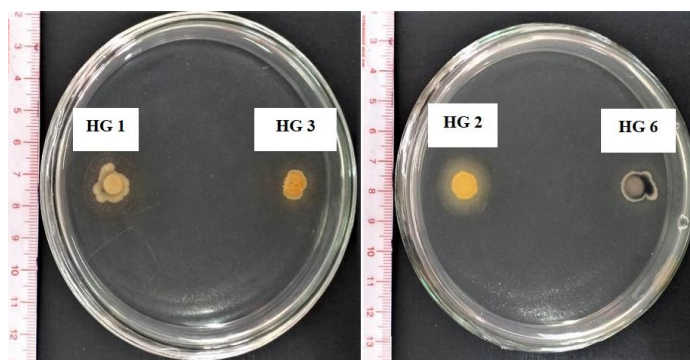
Khả năng tiết enzyme lipase của 4 chủng xạ khuẩn thí nghiệm (HG 1, HG 2, HG 3 và HG 6) trên môi trường thạch được trình bày ở bảng 3. Thời điểm 3 ngày sau khi thí nghiệm (NSTN), cả 4 chủng xạ khuẩn thí nghiệm đều cho khả năng phân giải lipid với bán kính vòng phân giải dao

động từ 5,2 - 8,0 mm và 3 chủng HG 1, HG 2 và HG 3 có bán kính vòng phân giải cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với chủng HG 6 còn lại. Đến thời điểm 5 NSTN, các chủng xạ khuẩn thí nghiệm có bán kính vòng phân giải lipid tiếp tục tăng cao và dao động từ 8,6 - 12,6 (hình 3). Ở thời điểm 7 NSTN, chủng HG 2 có bán kính vòng phân giải là 16,5 mm cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với 3 chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại.

Bảng 3. Khả năng phân giải lipid của các chủng xạ khuẩn qua các thời điểm khảo sát

Thí nghiệm	Bán kính (mm) vòng phân giải lipid qua các thời điểm khảo sát		
	3 NSTN	5 NSTN	7 NSTN
HG 1	7,6 ^a	10,3 ^a	14,2 ^b
HG 2	8,0 ^a	12,6 ^a	16,5 ^a
HG 3	7,4 ^a	10,9 ^a	14,1 ^b
HG 6	5,2 ^b	8,6 ^b	13,2 ^b
Mức ý nghĩa	**	*	*
CV (%)	10,76	18,85	10,53

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt qua phép kiểm định Duncan; **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; *: Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; NSTN: Ngày sau khi bố trí thí nghiệm.



Hình 3. Vòng phân giải protein của các chủng xạ khuẩn ở thời điểm 5 ngày sau khi bố trí thí nghiệm

Nhìn chung, các chủng xạ khuẩn thí nghiệm đều có khả năng tiết enzyme protease phân giải protein và tiết enzyme lipase phân giải lipid cao với nhiều mức độ khác nhau và tăng dần qua các thời điểm khảo sát.

Theo Nguyễn Lân Dũng và *ctv.*, (2002), lipid là thành phần quan trọng của màng sinh chất hay màng tế bào chất ở vi khuẩn và protein là một trong những thành phần cấu tạo của vách tế bào vi khuẩn vì vậy, khả năng phân giải protein và lipid là chỉ tiêu quan trọng để quản lý mầm bệnh trên cây trồng do vi khuẩn gây ra. Do đó, khả năng tiết enzyme protease và lipase của xạ khuẩn cũng là một hướng triển vọng trong phòng trị bệnh cây trồng do vi khuẩn gây ra. Qua kết quả thí nghiệm cho thấy 4 chủng xạ khuẩn thí nghiệm gia tăng đáng kể mức độ phân giải protein và lipid theo thời gian. Trong đó, 3 chủng HG 1, HG 2 và HG 3 cho khả năng phân giải protein cao nhất so với chủng HG 6 qua các thời điểm khảo sát và chủng HG 2 có khả năng tiết enzyme lipase phân giải lipid cao nhất so với 3 chủng xạ khuẩn còn lại. Theo nghiên cứu của Lê Minh Tường (2014), các chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng với vi

khuẩn *Xanthomonasoryzae pv. oryzae* gây bệnh cháy bìa lá lúa trong điều kiện phòng thí nghiệm đều tiết enzyme protease và lipase cao. Theo Lê Minh Phương và *ctv.*, (2019), các chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng cao với vi khuẩn *Erwinia sp.* gây bệnh thối củ khoai môn đều có khả năng tiết enzyme protease và lipase cao.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

- Bốn (04) chủng xạ khuẩn HG 1, HG 2, HG 3 và HG 4 có khả năng đối kháng cao với vi khuẩn *Xanthomonas sp.* gây bệnh đốm đen hại xoài trong số 19 chủng xạ khuẩn thí nghiệm.

- Ba (03) chủng xạ khuẩn HG 1, HG 2 và HG 3 có khả năng tiết ra enzyme protease phân giải protein cao hơn chủng HG 6.

- Chủng HG 2 có khả năng tiết ra enzyme lipase cao nhất trong số 4 chủng xạ khuẩn thí nghiệm.

- Đề xuất đánh giá khả năng phòng trị bệnh đốm đen hại xoài của 3 chủng xạ khuẩn HG 1, HG 2 và HG 3 trong điều kiện nhà lưới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Backman, P. A., M. Wilson and J. F. Murphy (1997), Bacteria for biological control of plant diseases. In: Rechcigl N. A. and J. E. Rechcigl, Environmentally Safe Approaches to Crop Diseases Control. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida. 95 - 109.
2. Ertuğrul, S., Dönmez, G., and Takaç, S. (2007), Isolation of lipase producing *Bacillus* sp. from olive mill wastewater and improving its enzyme activity. Journal of Hazardous Materials. 149(3): 720 - 724.
3. Huỳnh Trường Giang và Lê Minh Tường (2017), Khảo sát khả năng đối kháng của xạ khuẩn đối với vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* gây bệnh héo xanh khoai lang (*Ipomoea batatas*). Tạp chí Bảo vệ thực vật. 3:34 - 39.
4. Lê Minh Phương, Nguyễn Trường Sơn và Lê Minh Tường (2019), Khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với vi khuẩn *Erwinia* sp. gây bệnh thối nhũn củ khoai môn (*Colocasia esculenta*). Tạp chí Bảo vệ thực vật, 5: 27 - 34.
5. Lê Minh Tường và Nguyễn Thị Mỹ Ngân (2015), Khảo sát khả năng phòng trừ của xạ khuẩn đối với bệnh bạc lá hại lúa. Tạp chí Bảo vệ thực vật. 6: 39 - 46.
6. Lê Minh Tường (2014), Tuyển chọn xạ khuẩn *Actinomyces* sp có khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây bệnh bạc lá (cháy bìa lá) lúa ở đồng bằng sông Cửu Long. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn. 14: 50 - 54.
7. Mitra, P., and P. Chakrabartty (2005), An extracellular protease with depilation activity from *Streptomyces nogalator*. Journal of Scientific and Industrial Research, 64(12): 978.
8. Nguyễn Hoàng Sang (2017), Khảo sát khả năng gây hại của các chủng vi khuẩn *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* gây bệnh loét trên cây có múi và bước đầu nghiên cứu biện pháp phòng trị. Luận văn tốt nghiệp kỹ sư chuyên ngành Bảo vệ thực vật. Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ.
9. Nguyễn Lâm Dũng, Nguyễn Đình Quyên và Phạm Văn Ty (2002), *Vi sinh vật học*. Nhà xuất bản Giáo dục. 523 trang.

BỆNH CHẾT HÉO DO NẤM *Ceratocystis manginecans* GÂY HẠI TRÊN MỘT SỐ LOÀI CÂY TRỒNG LÂM NGHIỆP Ở VIỆT NAM

Nguyễn Minh Chí^{1*}, Đào Ngọc Quang¹

Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng,
Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: chibvr@gmail.com

ABSTRACT

Ceratocystis manginecans wilt disease in some forest tree species in Vietnam

The fungal species of the genus *Ceratocystis* is one of the most serious pathogens and damaging to the world's forestry industry. *Ceratocystis manginecans* has been recorded as one of the most dangerous pathogens, causing a serious infection on some forest tree species in Vietnam, including: *Acacia hybrid*, *A. auriculiformis*, *A. mangium*, *Eucalyptus camaldulensis*, *E. urophylla*, *Dalbergia tonkinensis* and *Chukrasia tabularis*. In recent years, productivity and quality of plantation have suffered great damage due to the disease incidence and disease severity of *C. manginecans* wilt disease is getting more serious. Some studies have shown that this disease can be effectively managed, such as: pruning techniques, using biological and chemical agents, or tree breeding. Some varieties of *Acacia*, *Eucalyptus* and *Chukrasia tabularis* have also been identified as having good resistance to the disease. However, it is necessary to complete the prevention process and strengthen the coordination of the owners with scientists and plant protection officers to effectively manage *C. manginecans* wilt disease soon.

Keywords: *Acacia*, *Ceratocystis manginecans*, *Chukrasia tabularis*, *Dalbergia tonkinensis*, *Eucalyptus*, wilt disease.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam, những năm gần đây, nhiều loại bệnh hại cây trồng lâm nghiệp thường xuyên xuất hiện, mức độ gây hại có xu hướng gia tăng, gây tổn thất không nhỏ cho sản xuất như bệnh hại trên các loài keo (Nguyễn Bá Thụ và Đào Xuân Trường, 2004; Phạm Quang Thu *et al.*,

2012; Phạm Quang Thu, 2016a), các loài thông (Kaneko *et al.*, 2007; Phạm Quang Thu, 2016a), các loài bạch đàn (Old *et al.*, 2003; Phạm Quang Thu, 2016a) và các loài cây trồng lâm nghiệp khác (Nguyễn Bá Thụ và Đào Xuân Trường, 2004; Phạm Quang Thu, 2016a).

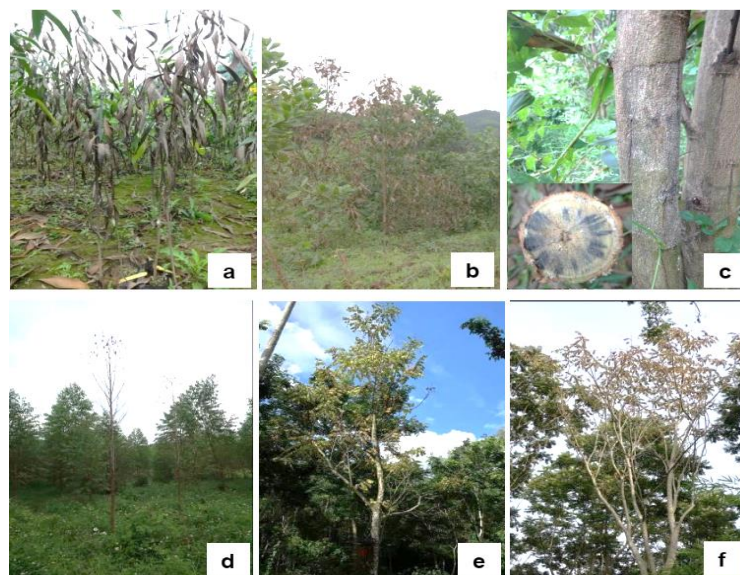
Do ảnh hưởng của biến đổi khí hậu và việc chuyển đổi cơ cấu cây trồng đã làm thay đổi thành phần và mức độ gây

Người phân biên: TS. Trịnh Xuân Hoạt.

hại của các sinh vật gây bệnh trên các loài cây trồng lâm nghiệp. Một số loài sinh vật gây bệnh đã bùng phát ở nhiều địa phương (Nguyễn Bá Thụ và Đào Xuân Trường, 2004; Phạm Quang Thu *et al.*, 2012; Phạm Quang Thu, 2016a), đặc biệt là bệnh chết héo gây hại rừng trồng các loài keo và bạch đàn trên diện rộng (Phạm Quang Thu, 2016a; Phạm Quang Thu *et al.*, 2016).

Các loài nấm thuộc chi *Ceratocystis* thường gây bệnh trên nhiều loài cây trồng, điển hình như nấm *C. fimbriata* gây chết héo hàng loạt rừng bạch đàn ở Công gô và Brazil (Roux *et al.*, 2000; Harrington *et al.*, 2011), gây hại nghiêm trọng đối với cây cà phê ở Colombia và Venezuela (Marin *et al.*, 2003). *C. albofundus* gây chết hàng loạt rừng keo đen tại Nam Phi (Barnes *et al.*, 2005), *C. larium* gây bệnh trên cây bồ đề (Van Wyk *et al.*, 2009). *C. coerulescens* gây bệnh trên các loài thông (Harrington and

Wingfield, 1998) và sồi ở Mỹ (Harrington *et al.*, 1998). *C. fagacearum* gây bệnh chết héo sồi, đặc biệt là tại Texas, Mỹ với khoảng 2.500ha rừng bị bệnh (Juzwik *et al.*, 2011). Tại Indonesia, năm loài nấm gồm: *C. inquinans*, *C. sumatrana*, *C. microbasis*, *C. manginecans* và *C. acaciivora* được xác định là nguyên nhân gây bệnh chết héo rừng trồng các loài keo (Tarigan *et al.*, 2010; Tarigan *et al.*, 2011). Tại Malaysia, nấm *C. acaciivora* (được xác định lại là *C. manginecans*) đã gây bệnh chết héo hàng chục nghìn hecta rừng trồng keo tai tượng (Brawner *et al.*, 2015; Fourie *et al.*, 2016). Những năm vừa qua, bệnh chết héo do nấm *C. manginecans* gây ra đã được ghi nhận là một trong những mối nguy hại lớn đối với ngành lâm nghiệp. Bài báo này trình bày tổng quan các kết quả nghiên cứu về bệnh chết héo do nấm *C. manginecans* trên một số loài cây trồng lâm nghiệp tại Việt Nam.



Hình 1. Triệu chứng của bệnh chết héo trên một số loại cây rừng

(a: Cây keo lai bị chết héo; b: Cây keo tai tượng bị bệnh chết héo; c: Thân cây keo lai bị bệnh và lát cắt ngang ở vết bệnh; d: Cây bạch đàn bị bệnh chết héo; e: Cây sưa bị bệnh chết héo; f: Cây lát hoa bị bệnh chết héo)

2. BỆNH CHẾT HÉO TRÊN CÁC LOÀI KEO

Diện tích rừng trồng keo lai, keo tai tượng và keo lá tràm ở Việt Nam tăng nhanh, từ 1,1 triệu ha vào năm 2013 lên khoảng 1,3 triệu ha vào năm 2015 (Phạm Quang Thu, 2016a) và hiện đạt khoảng 1,6 triệu ha, chiếm hơn 44% tổng diện tích rừng trồng (3,6 triệu ha) của cả nước. Tuy nhiên, diện tích rừng trồng keo tập trung lớn, trên diện rộng kết hợp với điều kiện khí hậu nóng ẩm ở Việt Nam là môi trường thuận lợi cho nhiều loài nấm phát triển, đặc biệt nấm *Ceratocystis manginecans* đã xuất hiện, gây hại rừng trồng các loài keo trên toàn quốc và có xu hướng lan nhanh (Phạm Quang Thu *et al.*, 2012; Phạm Quang Thu *et al.*, 2016). Triệu chứng điển hình của bệnh chết héo là trên thân hoặc cành cây bị bệnh có những vết loét, thâm hoặc vết lõm ở phần vỏ cây. Vỏ và gỗ xung quanh vị trí vết bệnh bị đổi màu, có thể chảy nhựa hoặc sùi bọt. Một dấu hiệu rất đặc trưng là gỗ bị biến màu, gỗ thường bị chuyển sang màu nâu đen hoặc màu xanh đen (hình 1). Khi vỏ cây và gỗ bị chuyển màu, tán lá bắt đầu héo nhưng lá vẫn treo trên cây (Phạm Quang Thu, 2016a; Phạm Quang Thu *et al.*, 2016; Nguyễn Minh Chí *et al.*, 2020). Các triệu chứng này tương tự như những mô tả trước đây đối với các loài keo và các cây khác ở trên thế giới (Roux *et al.*, 2000; Harrington *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2013; Van Wyk *et al.*, 2007; Al Adawi *et al.*, 2013; Brawner *et al.*, 2015). Hầu hết những cây bị nhiễm bệnh chỉ sau 2 - 4 tháng sẽ chết làm ảnh hưởng đến năng suất rừng trồng (Phạm Quang Thu, 2016a; Nguyễn Minh Chí *et al.*, 2020).

Năm 2009, lần đầu tiên ghi nhận nấm *Ceratocystis* sp. gây bệnh chết héo trên keo lai và keo tai tượng xuất hiện ở một số địa phương của Việt Nam (Phạm Quang Thu *et al.*, 2012). Các mẫu nấm gây bệnh chết héo keo lai, keo tai tượng và keo lá tràm ở Việt Nam sau đó đã được xác định thuộc loài *C. manginecans* (Phạm Quang Thu *et al.*, 2016; Fourie *et al.*, 2016; Nguyễn Minh Chí *et al.*, 2020). Trong giai đoạn đầu, bệnh chết héo xuất hiện rải rác (Phạm Quang Thu *et al.*, 2012), đến năm 2015 đã có 17 tỉnh ghi nhận bệnh chết héo gây hại rừng keo với tổng diện tích nhiễm bệnh khoảng 2.000ha, trong đó có hơn 90ha bị chết (Cục Bảo vệ thực vật, 2015). Tỷ lệ bị bệnh trên Keo lá tràm từ 7,1 - 12,5%, trên keo lai từ 10,2 - 18,2% và trên Keo tai tượng từ 9,2 - 18,4% (Phạm Quang Thu *et al.*, 2016). Tình trạng bệnh chết héo diễn biến ngày càng tăng nặng ở nhiều địa phương trên toàn quốc, đến năm 2020, tỷ lệ bị bệnh trung bình ở nhiều nơi đã tăng thêm từ 10 - 20% so với năm 2016 (Nguyễn Minh Chí *et al.*, 2020).

Trong thời gian qua, các nghiên cứu về bệnh chết héo do nấm *C. manginecans* gây hại rừng trồng các loài keo đã liên tục được thực hiện, trong đó bào tử nấm *C. manginecans* đã được ghi nhận có phát tán trong không khí dưới tán rừng keo bị bệnh (Nguyễn Minh Chí và Phạm Quang Thu, 2016b), chúng có thể là nguồn lây nhiễm bệnh vào cây thông qua các vết thương trên thân (Chi *et al.*, 2019b). Bào tử nấm cũng tồn tại cả trong đất và cũng có thể trở thành nguồn lây nhiễm bệnh thông qua các vết thương ở rễ (Phạm

Quang Thu, 2016b; Nguyễn Minh Chí *et al.*, 2020). Một số loại thuốc hóa học, sinh học có khả năng ức chế mạnh đối với nấm *C. manginecans* (Phạm Quang Thu, 2016b; Tran *et al.*, 2018), các biện pháp tia cành đúng kỹ thuật, hạn chế gây tổn thương và tia cành vào mùa khô là những giải pháp hữu hiệu đã được khuyến cáo nhằm hạn chế bệnh chết héo (Chi *et al.*, 2019b). Các nghiên cứu sàng lọc giống cũng đã được thực hiện qua đó đã xác định được một số giống keo có khả năng chống chịu bệnh chết héo do nấm *C. manginecans* (Chi *et al.*, 2019a; Brawner *et al.*, 2020).

3. BỆNH CHẾT HÉO TRÊN CÁC LOÀI BẠCH ĐÀN

Bạch đàn là nhóm cây trồng lâm nghiệp phổ biến thứ hai sau các loài keo, tổng diện tích rừng trồng các loài bạch đàn ở Việt Nam đạt khoảng 350.000ha (Phạm Quang Thu, 2016a). Các nghiên cứu đã ghi nhận rừng trồng các loài bạch đàn ở Việt Nam thường bị bệnh cháy lá, khô cành ngọn, ong gây u bướu (Phạm Quang Thu, 2016a; Nông Phương Nhung *et al.*, 2018). Ngoài ra, nấm *Ceratocystis* sp. đã được xác định là nguyên nhân gây bệnh chết héo đối với rừng trồng bạch đàn camal và bạch đàn uro ở Việt Nam (Nguyễn Minh Chí và Phạm Quang Thu, 2016a). Triệu chứng bệnh trên cây bạch đàn (hình 1d) tương tự như triệu chứng của bệnh chết héo trên các loài keo đã được Phạm Quang Thu (2016a), Nguyễn Minh Chí và đồng tác giả (2020) mô tả. Kết quả giải trình tự gen đã xác định các mẫu nấm gây bệnh chết héo

bạch đàn nêu trên cũng đều thuộc loài *C. manginecans* (kết quả chưa công bố).

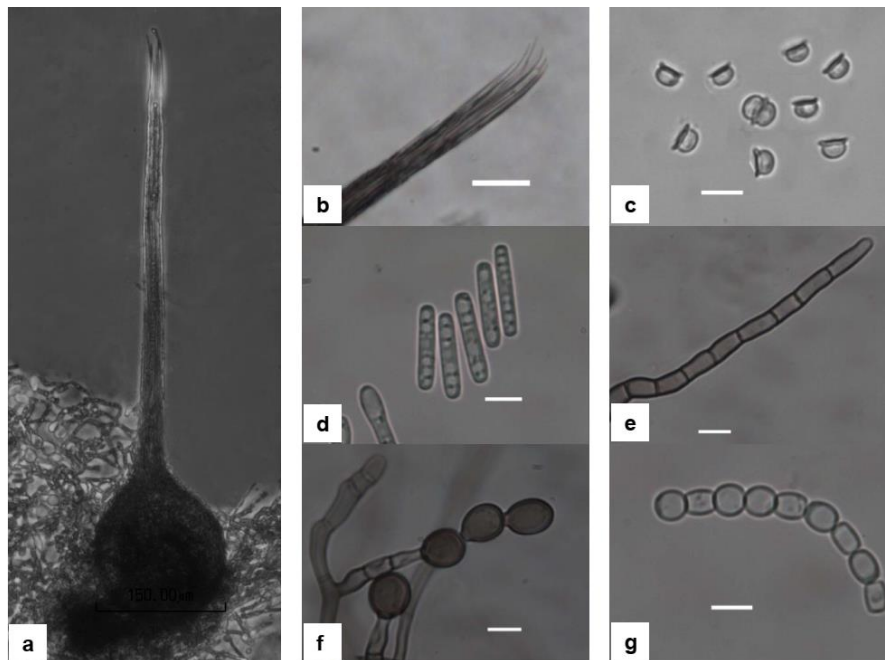
Rừng trồng bạch đàn ở Công-gô và Brazil (Roux *et al.*, 2000; Harrington *et al.*, 2011) và Trung Quốc đã bị bệnh chết héo rất phổ biến (Chen *et al.*, 2013). Các định hướng nghiên cứu tập trung chủ yếu vào hoạt động chọn giống kháng bệnh chết héo do nấm *Ceratocystis* spp. và đã xác định được một số giống rất triển vọng như bốn giống bạch đàn lai (*E. grandis* × *E. urophylla*) (Zauza *et al.*, 2004), hai giống bạch đàn uro, một giống bạch đàn *grandis* và hai giống bạch đàn *saligna* tại Brazil (Firmino *et al.*, 2013). Kết quả sàng lọc tính chống chịu bệnh chết héo do nấm *C. manginecans* ở giai đoạn vườn ươm của Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam thực hiện năm 2020 đã xác định được ba giống bạch đàn lai và bảy giống bạch đàn uro có khả năng chống chịu bệnh rất tốt (kết quả chưa công bố). Đây là những kết quả khả quan nhưng cần được tiếp tục khảo nghiệm và đánh giá trên rừng trồng.

4. BỆNH CHẾT HÉO TRÊN CÂY SƯA VÀ LÁT HOA

Sưa và lát hoa là những loài cây bản địa của Việt Nam, chúng là những loài cây trồng có giá trị kinh tế cao và đã được gây trồng khá phổ biến ở nhiều địa phương. Trong những năm qua, các nghiên cứu của Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng đã liên tiếp ghi nhận bệnh chết héo do nấm *C. manginecans* trên rừng trồng sưa (Chi *et al.*, 2019c) và lát hoa (Chi *et al.*, 2021). Triệu chứng của

bệnh chết héo do nấm *C. manginecans* trên cây sưa (hình 1e) và lát hoa (hình 1f) đã được Chi và đồng tác giả (2019c; 2021) mô tả với những đặc điểm đặc trưng tương tự như triệu chứng của bệnh trên cây keo (Phạm Quang Thu, 2016a; Nguyễn Minh Chí *et al.*, 2020). Nguy cơ nhiễm bệnh cho cây sưa và lát hoa thường xuất phát từ những vết thương do tia cành, do côn trùng hoặc động vật gây ra (Chi *et al.*, 2019c; Chi *et al.*, 2021), ngoài ra, việc khoan tăng trưởng để kiểm tra gỗ lõi của cây sưa cũng là một trong những nguyên nhân làm lây lan bệnh chết héo (Chi *et al.*, 2019c). Kết quả sàng lọc đã xác định được 33 gia đình lát hoa có khả năng chống chịu tốt với nấm *C. manginecans* gây bệnh chết héo (Chi *et al.*, 2021).

Nấm *C. manginecans* được ghi nhận đầu tiên gây bệnh chết héo trên cây xoài ở Oman và Pakistan (Van Wyk *et al.*, 2007), keo cineraria (*Prosopis cineraria*) và sưa sissoo (*Dalbergia sissoo*) (Al Adawi *et al.*, 2013), sau đó chúng tiếp tục được ghi nhận là sinh vật gây bệnh chết héo rừng trồng các loài keo ở Malaysia và Indonesia (Brawner *et al.*, 2015; Fourie *et al.*, 2016), trên cây sắn xanh (*Mimusops elengi*) ở Thái Lan (Pornsuriya and Sunpapao, 2015) và bảy loài cây trồng lâm nghiệp ở Việt Nam (Nguyễn Minh Chí và Phạm Quang Thu, 2016a; Phạm Quang Thu *et al.*, 2016; Fourie *et al.*, 2016; Chi *et al.*, 2019c; Chi *et al.*, 2021). Từ những kết quả nghiên cứu nêu trên cho thấy nấm *C. manginecans* ngày càng trở nên nguy hiểm, chúng đã lây lan và gây bệnh trên nhiều loài cây chủ ở nhiều quốc gia.



Hình 2. Đặc điểm hình thái của nấm *C. manginecans*

(a: Thể hình cầu với chiếc cổ dài; b: Đầu sợi cổ nấm; c: Bào tử hình mũ; d: Bào tử vô tính hình trụ; e: Sợi sơ sinh; f: Bào tử áo (Chlamydospores); g: Bào tử vô tính hình trụ.

Thước: b = 20 µm; c, d, e, f, g = 10 µm) (Ảnh: Nguyễn Minh Chí)

5. ĐỊNH HƯỚNG GIẢI PHÁP QUẢN LÝ BỆNH CHẾT HÉO DO NẤM *C. manginecans*

Ở Việt Nam, nấm *C. manginecans* đã được ghi nhận gây bệnh chết héo trên keo lai, keo lá trầm, keo tai tượng, bạch đàn camal, bạch đàn uro, sưa và lát hoa. Tỷ lệ và mức độ bị bệnh chết héo trên rừng trồng ngày càng nghiêm trọng nên rất cần có các giải pháp quản lý hiệu quả và kịp thời. Trong thời gian qua, một số nghiên cứu đã được thực hiện và xác định được một số loại thuốc hóa học, thuốc sinh học, kỹ thuật tía cành phù hợp, bước đầu góp phần hạn chế hiệu quả bệnh chết héo. Các nghiên cứu chọn giống cũng đã xác định được một số giống keo, bạch đàn và lát hoa có khả năng chống chịu tốt đối với nấm gây bệnh chết héo. Ngoài ra, một nhiệm vụ nghiên cứu khoa học cấp Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn về phòng chống nấm *Ceratocystis* sp. gây bệnh chết héo rừng trồng các loài keo đang được thực hiện. Tuy nhiên, để quản lý hiệu quả bệnh chết héo do nấm *C. Manginecans* gây ra, rất cần sự vào cuộc mạnh mẽ của các chủ rừng cùng sự hỗ trợ của các nhà khoa học, cán bộ bảo vệ thực vật và cán bộ quản lý các cấp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Minh Chí và Phạm Quang Thu (2016a), Bệnh chết héo bạch đàn tại Việt Nam. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 6, 119 - 123.
2. Nguyễn Minh Chí và Phạm Quang Thu (2016b), Nghiên cứu mật độ bào tử nấm *Ceratocystis manginecans* phát tán trong rừng Keo lá trầm, keo lai và Keo tai tượng tại Việt Nam. Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp, 1, 4225 - 4230.
3. Nguyễn Minh Chí, Phạm Quang Thu, Phạm Đức Huy, Nguyễn Tuấn Anh (2020), Hiện trạng bệnh chết héo rừng trồng keo tại Tổng Công ty Giấy Việt Nam. Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp, 2, 91 - 100.
4. Chi, N.M., Trang, T.T., Nhung, N.P., Quang, D.N., Son, V.M., Tuan, T.A.,... & Dell, B. (2021), *Ceratocystis wilt in Chukrasia tabularis* in Vietnam: identification, pathogenicity and host tolerance Australasian Plant Pathology, 50(1), 17 - 27.
5. Cục Bảo vệ thực vật (2015), Công văn số 1731/BVTV-QLSVGHR ngày 27/8/2015 của Cục Bảo vệ Thực vật về việc báo cáo tình hình bệnh chết héo cây keo ở một số địa phương.
6. Nông Phương Nhung, Đặng Thị Kim Anh, Trần Xuân Hinh và Nguyễn Minh Chí (2018), Bệnh đốm lá, loét thân bạch đàn ở giai đoạn vườn ươm. Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp, 1, 75 - 82.
7. Phạm Quang Thu (2016a), Kết quả nghiên cứu thành phần sâu, bệnh hại một số loài cây trồng rừng chính tại Việt Nam”, Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp, 1, 4257 - 4264.
8. Phạm Quang Thu (2016b), Điều tra nguyên nhân gây bệnh và đề xuất biện pháp xử lý bệnh hại rừng trồng keo lai và keo tai tượng, Báo cáo tổng kết, Tổng Công ty Giấy Việt Nam, 59 trang.
9. Phạm Quang Thu, Đặng Như Quỳnh và Bernard Dell (2012), Nấm *Ceratocystis* sp. gây bệnh chết héo các loài keo (*Acacia* spp.) gây trồng ở nhiều vùng sinh thái trong cả nước. Tạp chí Bảo vệ thực vật, 5, 24 - 29.
10. Phạm Quang Thu, Nguyễn Minh Chí và Trần Thị Thanh Tâm (2016), Bệnh chết héo Keo lá trầm, keo lai và Keo tai tượng tại Việt Nam. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 8, 134 - 140.
11. Nguyễn Bá Thụ và Đào Xuân Trường (2004), Sâu bệnh hại rừng trồng và các biện pháp phòng trừ, Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội, 168 trang.

12. Al Adawi, A.O., Barnes, I., Khan, I.A., Al Subhi, A.M., Al Jahwari, A.A., Deadman, M.L.,... & Wingfield, M.J. (2013), *Ceratocystis manginecans* associated with a serious wilt disease of two native legume trees in Oman and Pakistan. *Australasian Plant Pathology*, 42(2), 179 - 193.
13. Barnes, I., Nakabonge, G., Roux, J., Wingfield, B.D., & Wingfield, M.J. (2005), Comparison of populations of the wilt pathogen *Ceratocystis albofundus* in South Africa and Uganda. *Plant Pathology*, 54, 189 - 195.
14. Brawner, J., Chi, N.M., Chi, N., Glen, M., Mohammed, C., Thu, P.Q., & Kien, N.D. (2020), Tolerance of *Acacia* populations following inoculation with the *Ceratocystis* canker and wilt pathogen in Vietnam. *Tree Genetics & Genomes*, 16(5), 1 - 9.
15. Brawner, J., Japarudin, Y., Lapammu, M., Rauf, R., Boden, D., & Wingfield, M.J. (2015), Evaluating the inheritance of *Ceratocystis acaciivora* symptom expression in a diverse *Acacia mangium* breeding population. *Southern Forest*, 77(1), 83 - 90.
16. Chen, S., Van Wyk, M., Roux, J., Wingfield, M.J., Xie, Y., & Zhou, X. (2013), Taxonomy and pathogenicity of *Ceratocystis* species on *Eucalyptus* trees in South China, including *C. chinaeucensis* sp. nov. *Fungal Diversity*, 58(1), 267 - 279.
17. Chi, N.M., Nhung, N.P., Trang, T.T., Thu, P.Q., Hinh, T.X., Nam, N.V.,... & Dell, B. (2019), First report of wilt disease in *Dalbergia tonkinensis* caused by *Ceratocystis manginecans*. *Australasian Plant Pathology*, 48(5), 439 - 445.
18. Chi, N.M., Thu, P.Q., & Mohammed, C. (2019a), Screening disease resistance of *Acacia auriculiformis* clones against *Ceratocystis manginecans* by artificial and natural inoculation methods. *Australasian Plant Pathology*, 48(6), 617 - 624.
19. Chi, N.M., Thu, P.Q., Hinh, T.X., & Dell, B. (2019b), Management of *Ceratocystis manginecans* in plantations of *Acacia* through optimal pruning and site selection. *Australasian Plant Pathology*, 48(4), 343 - 350.
20. Chi, N.M., Trang, T.T., Nhung, N.P., Quang, D.N., Son, V.M., Tuan, T.A.,... & Dell, B. (2021), *Ceratocystis* wilt in *Chukrasia tabularis* in Vietnam: identification, pathogenicity and host tolerance. *Australasian Plant Pathology*, 50(1), 17 - 27.
21. Firmino, A.C., Tozze Junior, H.J., de Souza, I.C.G., & Furtado, E.L. (2013), Resistance of *Eucalyptus* genotypes to *Ceratocystis* sp. *Scientia Forestalis*, 41(98), 165 - 173.
22. Fourie, A., Wingfield, M.J., Wingfield, B.D., Thu, P.Q., & Barnes, I. (2016), A possible centre of diversity in South East Asia for the tree pathogen, *Ceratocystis manginecans*. *Infection, Genetics and Evolution*, 41, 73 - 83.
23. Harrington, T.C., Steimel, J., & Kile, G.A. (1998), Genetic variation in three *Ceratocystis* species without crossing, selfing and asexual reproductive strategies. *European Journal of Forest Pathology*, (28), 217 - 226.
24. Harrington, T.C., Thorpe, D.J., & Alfenas, A.C. (2011), Genetic variation and variation in aggressiveness to native and exotic hosts among Brazilian populations of *Ceratocystis fimbriata*. *Phytopathology*, 101, 555 - 566.
25. Juzwik, J., Appel, D.N., MacDonald, W.L., & Burks, S., 2011. Challenges and successes in managing oak wilt in the United States. *Plant Disease*, (95), 888 - 900.
26. Kaneko, S., Pham, T.Q., & Hiratsuka, Y. (2007), Notes on some rust fungi in Vietnam. *Mycoscience*, 48(4), 263 - 265.
27. Marin, M., Castro, B., Gaitan, A., Preisig, O., Wingfield, B.D., & Wingfield, M.J. (2003), Relationship of *Ceratocystis fimbriata* isolates from Colombian coffee-growing regions based on molecular data and pathogenicity. *Phytopathology*, (151), 395 - 405.
28. Old, K.M., Wingfield, M.J., & Yuan, Z.Q. (2003), A manual of diseases of *Eucalyptus* in South-East, CFOR, Indonesia.
29. Pornsuriya, C., & Sunpapao, A. (2015), A new sudden decline disease of bullet wood in Thailand is associated with *Ceratocystis manginecans*. *Australasian Plant Disease Notes*, 10(1), 1 - 6.

30. Roux, J., Wingfield, M.J., Bouillett, J.P., Wingfield, B.D., & Alfenas, A.C. (2000), A serious new disease of *Eucalyptus* caused by *Ceratocystis fimbriata* in Central Africa. *Forest Pathology*, (30), 175 - 184.
31. Tarigan, M., Roux, J., Van Wyk, M., Tjahjono, B., & Wingfield, M.J. (2011), A new wilt and die-back disease of *Acacia mangium* associated with *Ceratocystis manginecans* and *C. acaciivora* sp. nov. in Indonesia. *South African Journal of Botany*, 77(2), 292 - 304.
32. Tarigan, M., Van Wyk, M., Roux, J., Tjahjono, B., & Wingfield, M.J. (2010), Three new *Ceratocystis* spp. in the *Ceratocystis moniliformis* complex from wounds on *Acacia mangium* and *A. crassicarpa*. *Mycoscience*, (51), 53 - 67.
33. Tran, T.T.T., Pham, T.Q., Barber, P.A., & Nguyen, C.M. (2018), Control of *Ceratocystis manginecans* causing wilt disease on *Acacia mangium* seedlings. *Australasian Plant Pathology*, 47(6), 579 - 586.
34. Van Wyk, M., Al Adawi, A.O., Khan, I.A., Deadman, M.L., Al Jahwari, A.A., Wingfield, B.D.,... & Wingfield, M.J. (2007), *Ceratocystis manginecans* sp. nov., causal agent of a destructive mango wilt disease in Oman and Pakistan. *Fungal Divers*, 27, 213 - 230.
35. Van Wyk, W.M., Wingfield, B.D., Clegg, P.A., & Wingfield, M.J. (2009), *Ceratocystis larium* sp. nov., a new species from *Styrax benzoin* wounds associated with incense harvesting in Indonesia", *Personia*, 22, 75 - 82.
36. Wingfield, M.J., Carolien, D.B., Christa, V., & Brenda, D.W. (1996), A New *Ceratocystis* species defined using morphological and ribosomal DNA sequence comparisons. *Systematic and Applied Microbiology*, 19(2), 191 - 202.
37. Zauza, E.A.V., Alfenas, A.C., Harrington, T.C., Mizubuti, E.S., & Silvai, J.F. (2004), Resistance of *Eucalyptus* clones to *Ceratocystis fimbriata*. *Plant Disease*, 88(7), 758 - 760.

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG CỦA NẤM *Trichoderma* VÀ XẠ KHUẨN ĐỐI VỚI NẤM *Rhizoctonia solani* GÂY BỆNH THỐI LÁ TRÊN RAU XÀ LÁCH (*Lactuca sativa*)

Võ Tấn Đạt¹, Nguyễn Thanh Phong²,
Lê Thanh Đạm³, Võ Thị Thu Oanh^{4*}

¹Học viên cao học BVTV K2018 Trường ĐH Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

³Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

^{2,4}Hội Nghiên cứu Bệnh hại Thực vật Việt Nam

*Tác giả liên hệ: vtthuoanh@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Khả năng đối kháng của 8 chủng nấm *Trichoderma* sp. và 8 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. đối với nấm *Rhizoctonia solani* gây bệnh thối lá rau xà lách được thực hiện trong điều kiện phòng thí nghiệm. Kết quả cho thấy, 2 chủng Tri 3 (*Trichoderma* sp.3.12) và Tri 4 (*Trichoderma* sp.4.16) có khả năng ức chế rất cao sự phát triển của sợi nấm *Rhizoctonia solani* với bán kính tản nấm thấp nhất 8,0 mm và 14,7 mm, với hiệu suất đối kháng rất cao 87,7% và 77,4%. Đối với xạ khuẩn, 2 chủng BT.9 (*Streptomyces* sp.9.11) và NCT.1 (*Streptomyces* sp.1.1) ức chế và đối kháng rất cao với nấm *Rhizoctonia solani* với đường kính tản nấm thấp 15,3 mm và 15,0 mm, hiệu suất đối kháng cao 80,8% và 81,3% ở 72 giờ sau thí nghiệm.

Từ khóa: actinomycetes, bệnh thối lá, xà lách, *Rhizoctonia solani*, *Trichoderma* sp.

ABSTRACT

Antagonistic activity of *Trichoderma* sp. and actinomycetes isolates against *Rhizoctonia solani* causing leaf rot disease on lettuce (*Lactuca sativa*)

The aim of this study was to evaluate the *in vitro* antagonistic activity of the eight isolates of *Trichoderma* sp. and eight isolates of *Streptomyces* sp. against *Rhizoctonia solani* fungus in laboratory condition. The results showed the antagonistic abilities of both Tri 3 (*Trichoderma* sp.3.12) and Tri 4 (*Trichoderma* sp.4.16) against *Rhizoctonia solani*. Both *Trichoderma* species showed strong antagonistic properties and inhibited the mycelial growth of *Rhizoctonia solani*, reducing mycelia growth to 8.0 mm and 14.7 mm

diameter, and antagonistic efficacy of 87.7% and 77.4%, respectively. With *Streptomyces* sp., BT.9 (*Streptomyces* sp.9.11), and NCT.1 (*Streptomyces* sp.1.1) isolates displayed antagonism against *Rhizoctonia solani* with different levels of inhibition, reducing mycelia growth of *Rhizoctonia solani* to 15.3 mm and 15.0 mm in diameter, and antagonistic efficacy of 80.8% and 81.3%, respectively at 72 hours after testing.

Keywords: actinomycetes, leaf rot disease, lettuce, *Rhizoctonia solani*, *Trichoderma* sp.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rhizoctonia solani (*R. solani*) là một trong những loại mầm bệnh có nguồn gốc từ đất gây hại nghiêm trọng cho nhiều loại cây trồng như rau, màu, cây lương thực, cây công nghiệp, cây ăn quả. Tùy theo loại cây trồng, nấm *R. solani* gây ra các triệu chứng khác nhau như đốm khô vằn vện trên lá, trên thân, trên trái, gây lở cổ rễ cây con, héo, chết cây con giai đoạn vườn ươm, thối rễ mầm, lá mầm, thối gốc thân và lá (Lester *et al.*, 2009). Hiện nay, rau xà lách đang bị bệnh thối rễ, cổ rễ, thối lá tán công và gây hại đáng kể làm ảnh hưởng đến sinh trưởng, năng suất. Để phòng trừ bệnh này, rất nhiều loại thuốc hóa học đã được sử dụng, mặc dù mang lại hiệu quả nhanh chóng nhưng cũng gây ra nhiều vấn đề liên quan đến môi trường và dư lượng trong sản phẩm thu hoạch. Hiện nay, việc ứng dụng giải pháp sinh học trong quản lý bệnh hại cây trồng ngày càng được chú ý và khuyến cáo sử dụng, một trong những giải pháp đó là sử dụng các loại vi sinh vật có khả năng ức chế, đối kháng, tiêu diệt mầm bệnh. Trong số các vi sinh vật có triển vọng thì xạ khuẩn *Streptomyces* và nấm *Trichoderma* là hai nhóm vi sinh vật được nghiên cứu và ứng dụng phổ biến nhất. Xạ khuẩn và nấm *Trichoderma* có khả năng đối kháng với nhiều mầm bệnh thông qua cơ chế nội, ngoại ký sinh, tiết kháng sinh, các chất

chuyên hóa thứ cấp có hoạt tính kháng nấm, kháng vi khuẩn, tiết enzyme ngoại bào như cellulose, chitinase, β -glucanase để tiêu diệt mầm bệnh (Palanayandi *et al.*, 2013; Shimizu *et al.*, 2011; Lê Minh Tường và ctv., 2016).

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm tìm ra chủng xạ khuẩn *Streptomyces*, chủng nấm *Trichoderma* có khả năng đối kháng với nấm *Rhizoctonia solani* gây hại trên cây trồng nói chung và trên cây rau nói riêng làm tiền đề cho những nghiên cứu tiếp theo về chế phẩm sinh học có nguồn gốc từ xạ khuẩn và nấm đối kháng để ứng dụng trong phòng trừ bệnh hại cây trồng ngoài đồng theo tiêu chí an toàn môi trường và sức khỏe cộng đồng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Thí nghiệm được thực hiện tại phòng thí nghiệm Bệnh cây, Bộ môn Bảo vệ thực vật, Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh.

Nguồn nấm *Rhizoctonia solani* được phân lập từ mẫu rau xà lách bị thối rễ, thối thân và lá tại Đà Lạt, Lâm Đồng. Môi trường WA (Nước, Agar), PDA (Khoai tây, Dextrose và Agar) được sử dụng để phân lập, nuôi cấy nấm và thực hiện thí nghiệm.

Nguồn nấm đối kháng *Trichoderma* và xạ khuẩn *Streptomyces* phân lập từ đất và được cung cấp bởi Bộ môn Bảo vệ

Thực vật, Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh (bảng 1 và bảng 2).

Bảng 1. Qui ước mã hóa các chủng nấm *Trichoderma* sp.

STT	Chủng nấm	Mã hóa nghiệm thức	Nguồn gốc	Địa điểm
1	<i>Trichoderma</i> sp.1.9	Tri 1	Đất trồng thanh long	Long An
2	<i>Trichoderma</i> sp.2.2	Tri 2	Đất trồng tiêu	Bình Phước
3	<i>Trichoderma</i> sp.3.12	Tri 3	Đất trồng thanh long	Bình Thuận
4	<i>Trichoderma</i> sp.4.16	Tri 4	Đất rừng	Cà Mau
5	<i>Trichoderma</i> sp.5.3	Tri 5	Đất rừng Nam Cát Tiên	Đồng Nai
6	<i>Trichoderma</i> sp.6.24	Tri 6	Đất rừng Nam Cát Tiên	Đồng Nai
7	<i>Trichoderma</i> sp.7.5	Tri 7	Đất rừng	Đắk Nông
8	<i>Trichoderma</i> sp.8.26	Tri 8	Đất rừng	Cà Mau

Bảng 2. Qui ước mã hóa các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp.

STT	Chủng xạ khuẩn	Mã hóa nghiệm thức	Nguồn gốc	Địa điểm
1	<i>Streptomyces</i> sp.2.1	BT.2	Đất trồng bưởi	Bến Tre
2	<i>Streptomyces</i> sp.3.3	BT.3	Đất trồng bưởi	Bến Tre
3	<i>Streptomyces</i> sp.8.2	BT.8	Đất trồng bưởi	Bến Tre
4	<i>Streptomyces</i> sp.9.11	BT.9	Đất trồng bưởi	Bến Tre
5	<i>Streptomyces</i> sp.16.1	BT.16	Đất trồng bưởi	Bến Tre
6	<i>Streptomyces</i> sp.1.1	NCT.1	Đất rừng Nam Cát Tiên	Đồng Nai
7	<i>Streptomyces</i> sp.11.12	BT.11	Đất trồng bưởi	Bến Tre
8	<i>Streptomyces</i> sp.2.9	NCT.2	Đất rừng Nam Cát Tiên	Đồng Nai

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đánh giá khả năng đối kháng của nấm *Trichoderma* sp. đối với nấm *Rhizoctonia solani* trong điều kiện phòng thí nghiệm

Nguồn nấm đối kháng *Trichoderma* sp. và *R. solani* được nuôi cấy trên môi trường PDA, khi nấm phát triển 5 ngày dùng dụng cụ đục lỗ đường kính 4 mm

lấy 1 khoan nấm chuyển cấy đối xứng trên cùng 1 đĩa petri chứa 10 ml môi trường PDA và cách thành đĩa 1 cm. Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 9 nghiệm thức gồm 8 chủng nấm *Trichoderma* và 1 nghiệm thức đối chứng, mỗi nghiệm thức là 4 đĩa petri tương ứng với 4 lần lặp lại. Đĩa petri được đặt trong điều kiện nhiệt độ phòng thí nghiệm, đánh giá khả năng đối kháng

với nấm bằng cách đo bán kính tản nấm *R. solani* và tính hiệu suất đối kháng ở thời điểm 24, 48 và 72 giờ sau cấy (GSC). Công thức tính hiệu suất đối kháng thực hiện theo Moayedí và Mostowfizadeh-ghalamfarsa (2009).

$$AE (\%) = \frac{(R_1 - R_2)}{R_1} \times 100$$

Trong đó:

AE (Antagonistic Efficacy): Hiệu suất đối kháng.

R1: Bán kính vùng tản nấm ở nghiệm thức đối chứng.

R2: Bán kính vùng tản nấm ở nghiệm thức có nấm đối kháng.

Mức độ đối kháng của nấm *Trichoderma* sp. với nấm *R. solani* được phân thành 4 cấp:

Hiệu suất đối kháng > 75%: Nấm *Trichoderma* đối kháng rất cao.

Hiệu suất đối kháng từ 61 - 75%: Nấm *Trichoderma* đối kháng cao.

Hiệu suất đối kháng từ 51 - 60%: Nấm *Trichoderma* đối kháng trung bình.

Hiệu suất đối kháng dưới 51%: Nấm *Trichoderma* đối kháng thấp.

2.2.2. Đánh giá khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. đối với nấm *R. solani* trong điều kiện phòng thí nghiệm

Chuẩn bị nguồn xạ khuẩn và nấm: Xạ khuẩn *Streptomyces* sp. và nấm *R. solani* được nuôi cấy trên môi trường PDA 7 ngày sau đó tiến hành thí nghiệm theo phương pháp cấy kép. Sử dụng dụng cụ đục lỗ đường kính 4mm lấy

khoanh nấm *R. solani* chuyển vào giữa đĩa petri chứa 10 ml môi trường PDA. Sau đó, hai khoanh xạ khuẩn *Streptomyces* sp. được đặt đối diện với khoanh nấm *R. solani* và cách thành đĩa 1 cm. Đĩa petri được đặt trong điều kiện nhiệt độ phòng và đánh giá khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn với nấm *R. solani* bằng cách đo đường kính tản nấm và tính hiệu suất đối kháng ở thời điểm 24, 48 và 72 giờ sau thí nghiệm. Hiệu suất đối kháng (HSDK) được tính toán theo Palanayandi *et al.* (2011).

$$HSDK (\%) = \frac{G1 - G2}{G1} \times 100$$

Trong đó:

G1: Đường kính vùng tản nấm ở nghiệm thức đối chứng.

G2: Đường kính vùng tản nấm ở nghiệm thức có xạ khuẩn.

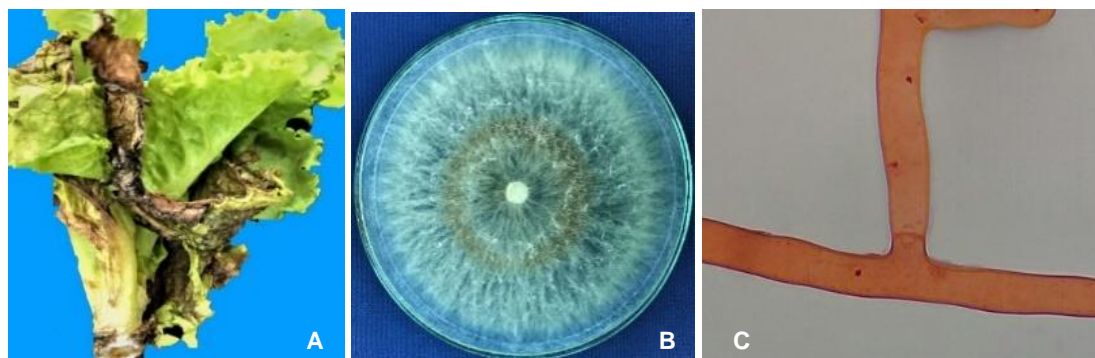
2.2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2010 và trắc nghiệm phân hạng qua phép thử Duncan 5% bằng phần mềm SPSS 16.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập nấm *Rhizoctonia solani*

Từ các triệu chứng bệnh ngoài đồng như thối rễ, thân và lá trên rau xà lách đã phân lập được loài nấm có đặc điểm hình thái của loài *Rhizoctonia solani* (hình 1). Mẫu phân lập này được sử dụng để thực hiện nghiên cứu về khả năng đối kháng của nấm *Trichoderma* sp. và xạ khuẩn *Streptomyces* sp.



Hình 1. Triệu chứng bệnh thối lá rau xà lách
 (A: Triệu chứng bệnh ngoài đồng; B: Tảo nấm trên môi trường PDA;
 C: Sợi nấm *Rhizoctonia solani*)

3.2. Hiệu quả đối kháng của nấm *Trichoderma* sp. đối với nấm *Rhizoctonia solani* trong điều kiện phòng thí nghiệm

Khả năng đối kháng của 8 chủng nấm *Trichoderma* sp. với nấm *R. solani* gây bệnh thối lá rau xà lách được đánh giá thông qua bán kính tản nấm và hiệu suất đối kháng ở các thời điểm theo dõi. Kết quả bảng 3 cho thấy, ở 24 giờ sau thí nghiệm, các chủng nấm *Trichoderma* sp. thể hiện khả năng ức chế sự phát triển của nấm *R. solani* ở nhiều mức độ khác nhau, trong đó chủng Tri 7 có bán kính tản nấm thấp nhất 18,7 mm. Các chủng *Trichoderma* sp. còn lại dao động từ 19,0 - 19,3 mm và không có sự khác biệt có nghĩa so với nghiệm thức đối chứng.

Ở thời điểm 48 GSC, chủng Tri 7 tiếp tục có bán kính tản nấm thấp nhất (17,7 mm), khác biệt có nghĩa so với các chủng nấm còn lại và so với đối chứng. Đến thời điểm 72 GSC, chủng nấm Tri 3 thể hiện khả năng ức chế tản nấm *R. solani* tốt nhất với bán kính tản nấm thấp nhất (8,0 mm) và khác biệt có ý nghĩa so với với các nghiệm thức còn lại và so với

đối chứng. Các chủng Tri 4, Tri 8 có bán kính tản nấm dao động từ 14,7 - 15,7 mm, chủng Tri 1, Tri 2 và Tri 5 có bán kính tản nấm dao động từ 16,3 - 19,7 mm thấp hơn và khác biệt rất có nghĩa so với đối chứng (65,0 mm).

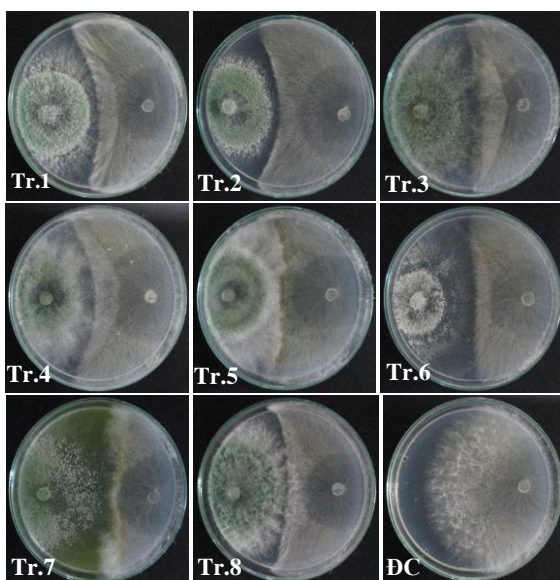
Bảng 3. Bán kính tản nấm *Rhizoctonia solani* ở các thời điểm theo dõi

Chủng nấm	Bán kính tản nấm (mm)		
	24 GSC	48 GSC	72 GSC
Tri 1	19,0	20,3 ^{de}	16,3 ^{cd}
Tri 2	19,7	28,0 ^b	17,3 ^{cd}
Tri 3	19,7	24,3 ^c	8,0 ^e
Tri 4	19,3	25,0 ^{bc}	14,7 ^d
Tri 5	19,7	25,3 ^{bc}	19,3 ^{bc}
Tri 6	19,3	22,7 ^{cd}	22,3 ^b
Tri 7	18,7	17,7 ^e	19,7 ^{bc}
Tri 8	19,0	23,3 ^{cd}	15,7 ^d
Đ/C	22,3	49,7 ^a	65,0 ^a
CV (%)	8,6	6,5	8,7
Mức ý nghĩa	ns	*	*

Ghi chú: Các giá trị ở cùng một cột được theo sau bởi cùng một hay nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử Duncan; *: Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; Đ/C: Đối chứng; GSC: Giờ sau cấy.

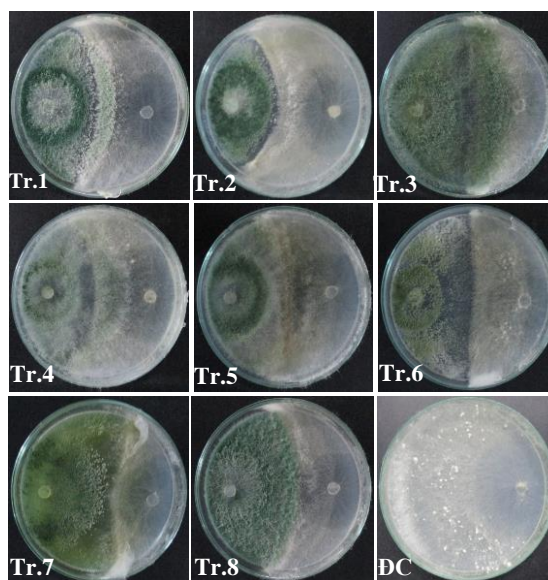
Kết quả cũng ghi nhận ở thời điểm 48 GSC, các chủng Tri 1, Tri 2, Tri 5, Tri 6 và nấm *R. solani* đã tiếp giáp với nhau, tạo thành lớp ngăn chặn không cho nấm *R. solani* phát triển (hình 2). Ở 72 giờ sau

cấy, chủng nấm Tri 3, Tri 4, Tri 8 tiếp tục lấn át và che phủ lên trên bề mặt tản nấm *R. solani* làm cho sợi nấm xẹp xuống và tàn lụi (hình 3).



Hình 2. Khả năng đối kháng của 8 chủng nấm *Trichoderma* sp. đối với nấm *R. solani* ở 48 giờ sau cấy

Hiệu suất đối kháng của các chủng nấm *Trichoderma* sp. đối với nấm *R. solani* được trình bày ở bảng 4. Kết quả cho thấy, tất cả 8 chủng *Trichoderma* sp. trong thí nghiệm đều có khả năng đối kháng từ cao đến rất cao với nấm *R. solani*. Trong đó, chủng Tri 3 (phân lập trong đất trồng thanh long ở Bình Thuận) có hiệu suất đối kháng cao nhất 87,7%, kế đến là chủng Tri 4 (phân lập từ đất rừng tỉnh Cà Mau) 77,4% và chủng Tri 8 (phân lập từ đất rừng ở Cà Mau) có hiệu suất đối kháng 75,9%. Các chủng Tri 1, Tri 2, Tri 5 hiệu suất đối kháng từ 70,3 - 74,87% và 2 chủng



Hình 3. Khả năng đối kháng của 8 chủng nấm *Trichoderma* sp. đối với nấm *R. solani* ở 72 giờ sau cấy

Tri 6, Tri 7 đối kháng từ 65,6 - 69,7% ở 72 giờ sau thí nghiệm.

Theo Dương Minh (2010); Rey *et al.* (2000); Gary *et al.* (2005), nấm *Trichoderma* có thể quán quanh sợi nấm gây bệnh, thắt chặt sợi nấm và đâm xuyên vào bên trong để hút chất dinh dưỡng dẫn đến sợi nấm bị ngộ độc, bị thiếu dinh dưỡng và chết. Điều này cho thấy, nấm *Trichoderma* có khả năng tạo ra chất có hoạt tính tương tự như chất kháng sinh, có tác dụng kìm hãm sự tăng trưởng của sợi nấm đồng thời ký sinh giết chết tế bào sợi nấm gây bệnh hoặc tiết ra các enzyme để phân hủy chúng.

Bảng 4. Hiệu suất đối kháng của các chủng *Trichoderma* sp. đối với nấm *Rhizoctonia solani* ở các thời điểm theo dõi

Chủng nấm	Hiệu suất đối kháng (%)		
	24 GSC	48 GSC	72 GSC
Tri 1	14,8	59,1 ^{ab}	74, ^{bc}
Tri 2	12,0	43,6 ^d	73,3 ^{bc}
Tri 3	12,0	50,8 ^c	87,7 ^a
Tri 4	13,2	49,7 ^{cd}	77,4 ^b
Tri 5	11,9	48,9 ^{cd}	70,26 ^{cd}
Tri 6	13,3	54,3 ^{bc}	65,6 ^d
Tri 7	16,3	64,3 ^a	69,7 ^{cd}
Tri 8	15,0	52,8 ^{bc}	75,9 ^{bc}
CV (%)	33,1	7,1	3,8
Mức ý nghĩa	ns	*	*

Ghi chú: Các giá trị ở cùng một cột được theo sau bởi cùng một hay nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử Duncan; *: Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%.

3.3. Hiệu quả đối kháng của các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. đối với nấm *Rhizoctonia solani* trong điều kiện phòng thí nghiệm

Khả năng ức chế, đối kháng của xạ khuẩn với nấm *R. solani* gây bệnh thối lá rau xà lách trong phòng thí nghiệm được đánh giá thông qua đường kính tản nấm và hiệu suất đối kháng ở các thời điểm theo dõi (bảng 5, bảng 6 và hình 5, hình 6).

Kết quả bảng 5 cho thấy, ở thời điểm 24 giờ sau thí nghiệm, có 7 chủng xạ khuẩn (BT.2, BT.3, BT.8, BT.9, BT.16, NCT.1, BT.11) ức chế sự phát triển của sợi nấm trong khoảng từ 27,3 - 34,3 mm, thấp hơn và khác biệt rất có nghĩa so với chủng NCT.2 (43,3 mm) và đối chứng

(47,3 mm). Ở thời điểm 48 giờ sau thí nghiệm, 6 chủng xạ khuẩn tiếp tục ức chế tốt sự phát triển của sợi nấm *R. solani* với đường kính tản nấm giảm dần và dao động trong khoảng từ 16,3 - 23,7 mm, thấp hơn và khác biệt rất có nghĩa so với 2 chủng còn lại (BT.11, NCT.2) và so với đối chứng (80,0 mm). Đến thời điểm 72 giờ sau thí nghiệm, 2 chủng BT.9 và NCT.1 có đường kính tản nấm thấp nhất 15,3 mm và 15,0 mm, các chủng xạ khuẩn còn lại đều có khả năng ức chế sự phát triển của nấm *R. solani* trong khoảng từ 17,0 - 19,7 mm, ngoại trừ 2 chủng BT.11 và NCT.2 đường kính tản nấm khá cao 37,0 mm và 38,0 mm nhưng vẫn thấp hơn và khác biệt rất có nghĩa so với đối chứng (80,0 mm).

Bảng 5. Đường kính tàn nấm *Rhizoctonia solani* ở các thời điểm theo dõi

Nghiệm thức	Đường kính tàn nấm (mm)		
	24 GSC	48 GSC	72 GSC
BT.2	27,3 ^c	20,0 ^{cd}	17,7 ^{cde}
BT.3	28,3 ^{bc}	20,0 ^{cd}	17,0 ^{cde}
BT.8	28,7 ^{bc}	23,7 ^c	21,3 ^c
BT.9	27,3 ^c	16,3 ^d	15,3 ^{de}
BT.16	28,3 ^{bc}	23,7 ^c	19,7 ^{cd}
NCT.1	28,7 ^{bc}	21,3 ^{cd}	15,0 ^e
BT.11	34,3 ^b	37,7 ^b	37,0 ^b
NCT.2	43,3 ^a	37,3 ^b	38,0 ^b
Đ/C	47,3 ^a	80,0 ^a	80,0 ^a
CV (%)	7,2	9,8	8,3
Mức ý nghĩa	*	*	*

Ghi chú: Các giá trị ở cùng một cột được theo sau bởi cùng một hay nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử Duncan; *: Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; Đ/C: Đối chứng; GSC: Giờ sau cấy.

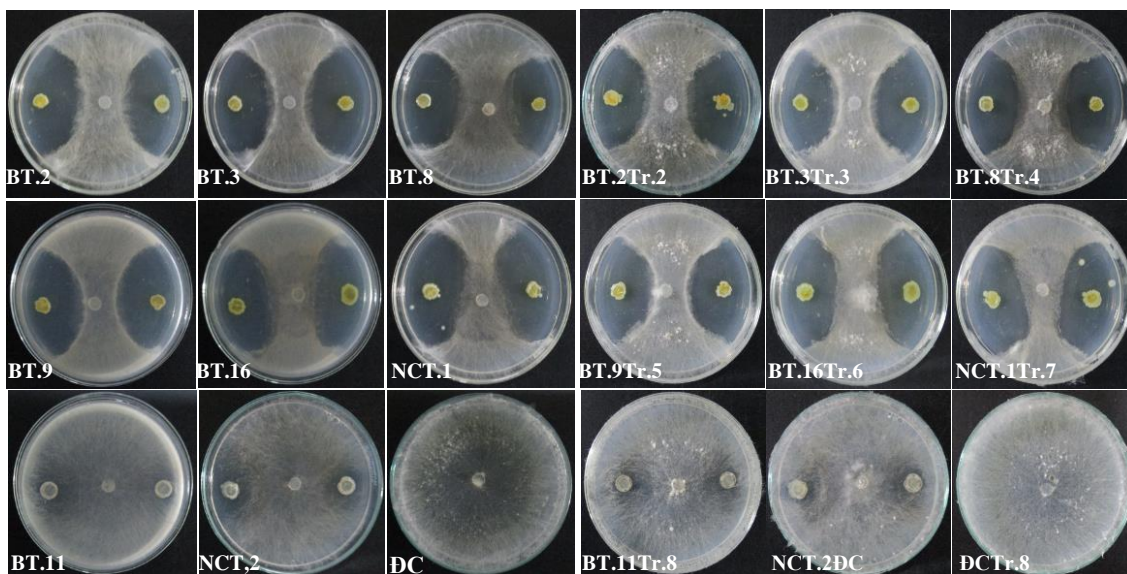
Hiệu suất đối kháng (HSDK) của các chủng xạ khuẩn được trình bày ở bảng 6, kết quả cho thấy ở thời điểm 24 giờ sau thí nghiệm, chủng NCT.2 có HSDK thấp nhất (8,5%), 7 chủng còn lại dao động từ 22,2 - 40,0%. Ở thời điểm 48 giờ sau thí nghiệm, 2 chủng NCT.2 và BT.11 HSDK chỉ đạt ở mức trung bình 52,9 - 53,3%, 6 chủng còn lại thể hiện khả năng đối kháng cao với HSDK dao động từ 70,4 -

79,6%. Trong đó, chủng BT.9 có HSDK cao nhất 79,6%. Đến thời điểm 72 giờ sau thí nghiệm, chủng BT.9 và NCT.1 thể hiện khả năng đối kháng rất cao, với HSDK tương ứng 80,8% và 81,3%, kể đến là các chủng BT.2, BT.3, BT.8, BT.16 với HSDK lần lượt là 77,9%, 78,8%, 73,3% và 75,4%, khác biệt rất có nghĩa so với 2 chủng BT.11 và NCT.2.

Bảng 6. Hiệu suất đối kháng các chủng xạ khuẩn đối với nấm *Rhizoctonia solani* ở các thời điểm theo dõi

Chủng xạ khuẩn	Hiệu suất đối kháng (%)		
	24 GSC	48 GSC	72 GSC
BT.2	40,0 ^a	75,0 ^{ab}	77,9 ^{ab}
BT.3	37,8 ^a	75,0 ^{ab}	78,8 ^{ab}
BT.8	33,3 ^a	70,4 ^b	73,3 ^b
BT.9	35,6 ^a	79,6 ^a	80,8 ^a
BT.16	35,6 ^a	70,4 ^b	75,4 ^{ab}
NCT.1	33,3 ^a	73,3 ^{ab}	81,3 ^a
BT.11	22,2 ^a	52,9 ^c	53,8 ^c
NCT.2	8,5 ^b	53,3 ^c	52,5 ^c
CV (%)	14,1	4,6	3,7
Mức ý nghĩa	*	*	*

Ghi chú: Các giá trị ở cùng một cột được theo sau bởi cùng một hay nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử Duncan; *: Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; Đ/C: Đối chứng; GSC: Giờ sau cấy.



Hình 5. Khả năng đối kháng của 8 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. đối với nấm *R. solani* ở thời điểm 48 sau cấy

Hình 6. Khả năng đối kháng của 8 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. đối với nấm *R. solani* ở thời điểm 72 sau cấy

Nhìn chung, 8 chủng xạ khuẩn khảo sát đều có khả năng ức chế tốt sự phát triển của sợi nấm và đối kháng cao với nấm *R. solani* gây bệnh thối lá rau xà lách trong điều kiện phòng thí nghiệm. Điều này có thể là do xạ khuẩn có khả năng tiết ra các chất kháng sinh như streptomycin, tetracyclin, gentamicin, erythromycine, các enzyme ngoại bào chitinase, β -glucanase, chất chuyển hóa thứ cấp... có khả năng kháng nấm, phá hủy và làm biến dạng vách tế bào làm cho sợi nấm bị tiêu hủy không phát triển và sẽ không hoàn thành chu kỳ gây bệnh (Prapagdee *et al.*, 2008).

Một số kết quả nghiên cứu trong và ngoài nước cũng đã chứng minh hiệu quả phòng trừ sinh học của xạ khuẩn *Streptomyces* đối với bệnh hại cây trồng. Lê Minh Tường và Ngô Thị Kim Ngân (2014) đã xác định được 2 chủng xạ khuẩn CT105 và CT68 rất có hiệu quả đối

với nấm *Rhizoctonia solani*. Cao *et al.* (2005) đã chứng minh chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. S30 dùng để xử lý bề mặt rễ cây chuối đã giúp tăng cường khả năng hạn chế nấm *Fusarium* gây bệnh héo rũ trên cây chuối. Lê Ngọc Trúc Linh (2013) đã tìm ra 2 chủng xạ khuẩn 11RM và 58RM có khả năng đối kháng rất cao đối với nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên hành lá và có 5 chủng xạ khuẩn 4RM, 21RM, 54RM, 55RM và 58RM đã được Tô Huỳnh Như (2012) kết luận có khả năng ức chế rất mạnh sợi nấm *Colletotrichum* ST12 gây bệnh thán thư trên ớt. Theo Sadeghi *et al.* (2010); Hastuti *et al.* (2012); Hasegawa *et al.* (2006), xạ khuẩn *Streptomyces* ngoài khả năng ức chế một số mầm bệnh gây hại cho cây trồng như *Rhizoctonia solani*, *Xanthomonas oryzae*, *Fusarium oxysporum* còn có thể kích thích giúp cây trồng có khả năng chống chịu với điều kiện bất lợi của môi trường sống.

Trong nghiên cứu này, đã xác định được 2 chủng nấm *Trichoderma* (Tri 3, Tri 4) có hiệu suất đối kháng rất cao 77,4 - 87,7% và 2 chủng xạ khuẩn (BT.9, NCT.1) với hiệu suất đối kháng 80,8% và 81,30%. Hai chủng nấm *Trichoderma* sp. và 2 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. là những nhân tố sinh học rất có triển vọng trong quản lý bệnh thối lá trên rau xà lách và một số bệnh hại cây trồng khác có nguồn gốc từ đất.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Trong điều kiện phòng thí nghiệm, hai chủng nấm *Trichoderma* sp. (Tri 3, Tri 4) và 2 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (BT.9, NCT.1) có khả năng ức chế và đối kháng rất cao đối với sự phát triển của nấm *Rhizoctonia solani*.

Đề nghị định danh đến loài hai chủng nấm Tri 3, Tri 4 và hai chủng xạ khuẩn BT.9, NCT.1 để bổ sung vào cơ sở dữ liệu sinh học các chủng vi sinh vật có hiệu quả trong phòng trừ sinh học, đồng thời đánh giá khả năng kiểm soát bệnh thối lá trên rau xà lách trong nhà lưới và ngoài đồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cao L., Qiu Z., You J., Tan H., and Zhou S. (2005), Isolation and characterization of endophytic Streptomycete antagonists of Fusarium wilt pathogen from surface-sterilized banana roots. *Microbiology Letters*, 247:147 - 152.
2. Dương Minh (2010), Vai trò của nấm *Trichoderma* trong việc phòng trị bệnh cây - Một số kết quả nghiên cứu khả năng ứng dụng từ nấm *Trichoderma*. *Hội nghị Khoa học Công nghệ toàn quốc về Bảo vệ thực vật lần thứ 3, năm 2010 tại Tp. Hồ Chí Minh*. Trang 438 - 448.
3. Gary E. Harman, C. P. Kubicek (2005), *Trichoderma and Gliocladium: Enzymes, Biological control and commercial applications*, (2):14 - 26.
4. Hasegawa S., A. Meguro, M. Shimizu, T. Nishimura and H. Kunoh (2006), Endophytic actinomycetes and their interactions with host plant. *Actinomycetological* 20: 72 - 81.
5. Hastuti R., Y. Lestari, A. Suwanto and R. Saraswati (2012), Endophytic *Streptomyces* spp. as Biocontrol agents of Rice Bacterial Leaf Blight pathogen (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*). *HAYATI Journal of Biosciences*, 19(4):155 - 162.
6. Lester W., Burgess, Timothy E. Knight and Phan Thuy Hien (2009), Cẩm nang chẩn đoán bệnh cây ở Việt Nam. Chuyên khảo ACIAR số 129a: 105 - 115.
7. Lê Minh Tường và Ngô Thị Kim Ngân (2014), Phân lập và đánh giá khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với nấm *Rhizoctonia solani* Kuhn gây bệnh đốm vằn trên lúa. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ* (4): 113 - 119.
8. Lê Minh Tường, Đinh Hồng Thái, Lý Văn Giang và Phạm Tuấn Vũ (2016). Xạ khuẩn và vai trò của xạ khuẩn trong quản lý bệnh hại cây trồng (Trong: Quản lý dịch hại cây trồng thân thiện với môi trường). Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ.
9. Lê Ngọc Trúc Linh (2013), Đánh giá khả năng gây hại của các dòng nấm *Colletotrichum* spp. trên cây hành lá và bước đầu nghiên cứu phòng trừ bằng biện pháp hóa học, sinh học. Luận văn thạc sĩ ngành Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ.

10. Moayedi G., and Mostowfizadeh-ghalamfarsa (2009), Antagonistic Activities of *Trichoderma* spp. on Phytophthora Root Rot of Sugar Beet. Iran Agricultural Research 28 (2) 21 - 38.
11. Palanayandi, S. A., S.H. Yang, L. Zhang and J.W. Suh (2013), Effects of actinobacteria on plant disease suppression and growth promotion. Applied Microbiology and Biotechnology, 97: 9621 - 9636.
12. Prapadee, B., C. Kuekulvong and S. Mongkolsuk (2008), Antifungal potential of extracellular metabolites produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi. International Journal of Biological Sciences, 4 (5):330 - 337.
13. Rey M., Delgado-Jarana J., Benitez T., (2000), Improved antifungal activity of a mutant of *Trichoderma harzianum* CECT 2413 which produces more extracellular proteins. Applied Microbiology and Biotechnology, 55 (5): 604 - 608.
14. Sadeghi A., A.R. Hensan, H. Askari, D.N. Qomi, M. Farsi and E.M. Hervan (2009), Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off of sugar beet with native Streptomyces strain under field conditions. Biocontrol Science and Technology 19(9):985 - 991.
15. Shimizu, M., N. Fujita, Y. Nakagawa, T. Nishimura, T. Furumai, Y. Igarashi, H. Onaka, R. Yoshida and H. Kunoh (2011), Disease resistance of tissuecultured seedling of rhododendron after treatment with *Streptomyces* sp. R-5. Journal of General Plant Pathology, 67:325 - 332.
16. Tô Huỳnh Như (2012), Đánh giá khả năng đối kháng và hiệu quả phòng trị của xạ khuẩn đối với chủng nấm *Colletotrichum* ST12 gây bệnh thán thư trên giống ớt sừng. Luận văn thạc sĩ ngành Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ.

KHẢO SÁT TÍNH GÂY BỆNH CỦA NẤM *Rhizoctonia solani* Kühn TRÊN MỘT SỐ LOẠI RAU

Võ Tấn Đạt¹, Nguyễn Thanh Phong²,
Lê Thanh Đạm³, Võ Thị Thu Oanh^{4*}

¹Học viên cao học BVTV K2018, Trường ĐH Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

³Khoa Nông học, Trường ĐH Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

^{2,4}Hội nghiên cứu Bệnh hại Thực vật Việt Nam

*Tác giả liên hệ: vtthuoanh@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Trong số 11 mẫu phân lập nấm *R. solani*, có 9 mẫu hình thành hạch trên môi trường MEA. Kết quả đánh giá khả năng gây bệnh của hai nhóm nấm này trên 8 loại rau ăn quả, ớt và rau ăn lá trong điều kiện phòng thí nghiệm và nhà lưới cho thấy, cả hai mẫu nấm có hạch (L-LA2) và không có hạch (XL-LĐ) đều có khả năng xâm nhiễm, gây hại nhanh và nặng trên nhóm rau ăn lá cải xanh, cải ngọt và cải thìa với tỷ lệ bệnh 100% ở 5 và 14 ngày sau chủng. Kết quả cũng đã xác định được nhóm rau ăn quả và ớt có khả năng chống chịu được với cả hai nguồn nấm *R. solani* với tỷ lệ nhiễm bệnh thấp 56,7 - 83,3% (L-LA2) và 80,0 - 90,0% (XL-LĐ). Có thể sử dụng các loại cây rau này để luân canh với rau ăn lá trong quy trình canh tác ngoài đồng ruộng.

Từ khóa: rau ăn lá, rau ăn quả, tính gây bệnh, *Rhizoctonia solani*.

ABSTRACT

Examination of pathogenicity of *Rhizoctonia solani* Kühn on some vegetables

Of the 11 isolates of *Rhizoctonia solani*, nine of them formed sclerotia on the MEA medium. Under laboratory and greenhouse conditions, a pathogenicity test was carried out on eight vegetable species. The results showed that both sclerotic type (L-LA2) and non-sclerotic type (XL-LĐ) cause severe damage to the leaf vegetable group, with a disease rate of 100% at 5 and 14 days after inoculation. The results also determined that the fruit vegetable group and chili pepper were tolerant to both types of *R. solani* with low infection rates of 56.7 - 83.3% (L-LA2) and 80.0 - 90.0% (XL-LĐ). These vegetable species can be used for the rotation cultivation with leaf vegetables in the field.

Keywords: fruit vegetables, leaf vegetables, pathogenicity, *Rhizoctonia solani*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rau là loại thực phẩm thiết yếu không thể thiếu trong cuộc sống hàng ngày, nhu cầu về rau không ngừng gia tăng cùng với sự phát triển kinh tế xã hội. Cây rau thường có thời gian sinh trưởng ngắn, vòng quay nhanh... nhưng cũng rất mẫn cảm với thời tiết và dịch hại. Một trong những dịch hại nghiêm trọng cho rau là các loại bệnh hại làm ảnh hưởng đến sinh trưởng, năng suất và thẩm mỹ hàng hóa tiêu thụ. Trong các tác nhân gây bệnh trên rau, nấm *Rhizoctonia solani* (*R. solani*) là loại mầm bệnh có phạm vi ký chủ rộng, ngoài gây hại trên rau, nấm *R. solani* còn gây bệnh trên nhiều loại cây trồng khác có giá trị kinh tế như lúa, bắp, thuốc lá, bông vải, cây ăn quả, cây công nghiệp ngắn ngày, dài ngày... Khả năng gây bệnh trên nhiều ký chủ dưới nhiều dạng triệu chứng khác nhau như đốm vằn, thối rễ, thối thân, cháy lá, lở cổ rễ giai đoạn cây con được xem là đặc tính của nấm *R. solani*. Nấm *R. solani* có thể có độc lực với cây ký chủ này, nhưng lại không có độc lực với cây ký chủ khác hoặc độc lực kém (Agrios, 2005; Burgess *et al.*, 2009).

Nguồn bệnh của nấm *R. solani* tồn tại chủ yếu trong đất, trong tàn dư thực vật, cỏ dại và trong các vật liệu giống nhiễm bệnh dưới dạng sợi nấm và hạch nấm. Hạch nấm *R. solani* có thể tồn tại qua nhiều năm ở tầng đất mặt và là nguồn gây bệnh phổ biến cho cây trồng vụ sau và nhiều năm sau. Khi tồn tại ở dạng sợi,

nấm *R. solani* lan truyền theo chiều đứng, vết bệnh sẽ phát triển từ rễ, cổ rễ lên thân, lá, gây chết cây con, thối thân, thối lá và quả. Việc canh tác độc canh nhiều vụ, nhiều năm trên cùng diện tích đã làm cho nguồn bệnh tích lũy trong đất ngày càng nhiều và rất khó phòng trừ. Cho đến nay, chưa có bất kỳ loài cây trồng nào được công bố là miễn nhiễm đối với nấm *R. solani* mặc dù vẫn có những cây trồng không bị tấn công hoặc bị nhiễm ở mức độ nhẹ (Agrios, 2015; Burgess *et al.*, 2009). Trong nghiên cứu này, việc đánh giá khả năng gây bệnh và mức độ gây bệnh của nấm *R. solani* trên một số loại rau ăn quả, ớt và rau ăn lá để xác định được chủng loại rau ít mẫn cảm hoặc có khả năng chống chịu với nấm *R. solani* góp cơ sở khoa học trong việc chọn cây trồng luân canh, xen canh hợp lý, hiệu quả để phòng trừ nấm *R. solani* hại rau và giảm sự tích lũy nguồn bệnh trong đất.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thu thập mẫu bệnh, phân lập nấm *Rhizoctonia solani*

Các loại cây trồng như lúa, bắp, xà lách, lạc (đậu phộng) có triệu chứng điển hình do nấm *R. solani* gây ra được thu thập đem về phòng thí nghiệm để phân lập tác nhân (Burgess *et al.*, 2009). Mẫu bệnh được mã hóa theo cây ký chủ và địa điểm thu mẫu (bảng 1). Mẫu được bảo quản theo phương pháp quản lý bệnh thực vật của Shivas và Beasley (2005).

Bảng 1. Quy ước mã hóa mẫu bệnh thu thập trên một số loại cây trồng

STT	Cây trồng	Vị trí bị bệnh	Địa điểm thu mẫu	Mã hóa mẫu bệnh
1	Lúa	Thân, cổ bông, lá	Tiền Giang, Long An, An Giang, Ninh Thuận	L-TG; L-TG1; L-TG2; L-TG3; L-LA1; L-LA2; L-AG; L-NT 1, 2, 3: Số thứ tự mẫu
2	Bắp	Thân, quả	Tiền Giang	B-TG
3	Xà lách	Rễ, thân, lá	Lâm Đồng	XL-LĐ
4	Đậu phộng	Gốc thân, lá	Long An	ĐP-LA

*** Phương pháp phân lập mẫu bệnh**

Mẫu bệnh được rửa sạch đất và khử trùng bằng dung dịch sodium hydrochlorite 1% trong 60 giây, rửa lại bằng nước cất vô trùng và thấm khô mẫu bằng giấy thấm vô trùng. Dùng kẹp đã khử trùng đặt các mảnh mẫu bệnh vào các đĩa petri chứa 15 ml môi trường WA (nước, Agar). Các đĩa được đặt ở nhiệt độ phòng thí nghiệm và quan sát hàng ngày. Sau 2 - 3 ngày nuôi cấy tiến hành chọn lọc, tách và làm thuần trên môi trường MEA (Malt Extract Agar).

Dựa vào các đặc điểm về hình thái như: sự phát triển, màu sắc tản nấm; hình dạng sợi nấm; vị trí phân bố và màu sắc hạch nấm để xác định nấm *R. solani*. Phân nhóm nấm *R. solani* dựa vào đặc điểm hình thành hạch hoặc không hình thành hạch trên môi trường MEA của các mẫu phân lập (Ogoshi, 1995; Sneh *et al.*, 1991; Zheng and Wang, 2011).

2.2. Khảo sát tính gây bệnh của nấm *Rhizoctonia solani* trên một số loại rau trong điều kiện phòng thí nghiệm

Thí nghiệm được thực hiện trong đĩa petri (90 × 15 mm) theo phương pháp của Keijer *et al.* (1997). Hai mẫu phân lập

(MPL) *R. solani* đại diện cho 2 nhóm nấm, nhóm có hạch (L-LA2) và nhóm không hạch (XL-LĐ) được sử dụng để đánh giá. Tám loại rau thực hiện nghiên cứu gồm: bầu, dưa leo, cà chua, ớt, đậu cove, cải xanh, cải ngọt và cải thìa. Môi trường nuôi trồng là WA, 4 hạt giống của mỗi loại rau với 3 lần lặp lại được ủ cho nứt mầm và đặt trên một đường thẳng với khoảng cách bằng nhau trên bề mặt thạch. Hai khoanh tán nấm *R. solani* (đường kính 4 mm) được đặt giữa các hạt giống, khoanh môi trường WA không có nấm được sử dụng đối chứng. Dùng giấy bạc bọc một nửa đĩa petri để ngăn ánh sáng chiếu vào rễ và đặt nghiêng một góc 60°. Các đĩa petri được để trong phòng thí nghiệm, nhiệt độ 28 ± 2°C, 12 giờ sáng, 12 giờ tối. Theo dõi hàng ngày để ghi nhận thời gian xuất hiện vết bệnh (ngày), tỷ lệ bệnh (%) được đánh giá 1 lần tại thời điểm 5 ngày sau khi chủng bệnh theo công thức:

$$TLB\% = A/B \times 100$$

Trong đó: A: Số cây bị bệnh.

B: Tổng số cây thí nghiệm.

Mức độ bệnh của cây trồng được đánh giá theo thang 5 cấp (Carling *et al.*, 1999).

Cấp 0: Không có triệu chứng bệnh - không gây bệnh.

Cấp 1: Trụ hạ diệp hơi mất màu - gây bệnh nhẹ.

Cấp 2: Trụ hạ diệp mất màu và các vết bệnh nhỏ (đường kính < 1 mm) trên thân, trụ hạ diệp, lá hoặc rễ - gây bệnh nhẹ.

Cấp 3: Trụ hạ diệp mất màu và các vết bệnh lớn (đường kính ≥ 1 mm) trên thân, trụ hạ diệp, lá hoặc rễ - gây bệnh nặng.

Cấp 4: Cây con chết - gây bệnh nặng.

2.3. Khảo sát tính gây bệnh của nấm *Rhizoctonia solani* trên một số loại rau trong điều kiện nhà lưới

Thí nghiệm được thực hiện trong nhà lưới của Bộ môn BVTV Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh. Sử dụng khay hình chữ nhật (68 × 42 × 15 cm) với hỗn hợp giá thể là đất, tro trấu, xơ dừa theo tỷ lệ 1:1:1. Giá thể được khử trùng ở 121°C trong 20 phút trước khi sử dụng. Hai mẫu nấm *R. solani* đại diện cho 2 nhóm nấm có hạch (L-LA2) và không hạch (XL-LĐ) được sử dụng để chủng trên các loại rau: bầu, dưa leo, cà chua, ớt, đậu cove, cải xanh, cải ngọt và cải thìa. Mỗi khay gieo 10 hạt giống mỗi loại thành 2 hàng cách đều nhau. Nguồn nấm *R. solani* được nuôi cấy trên môi trường hạt bắp trong 7 ngày sau đó tiến hành chủng khi cây con được 2 - 3 lá thật. Mỗi cây đặt 2 hạt bắp có nấm bao quanh, đặt cách cây và sâu 2 cm. Nghiệm thức chủng hạt bắp không có nấm được dùng làm đối chứng (Burgess, 2009; Từ Thị Mỹ Thuận, 2008).

Chỉ tiêu theo dõi:

Thời gian xuất hiện bệnh (ngày): Thời gian từ sau khi chủng nấm cho đến khi xuất hiện vết bệnh.

Tỷ lệ bệnh (%) và mức độ gây bệnh (cấp bệnh) trên cây con được ghi nhận và đánh giá 1 lần ở thời điểm 14 ngày sau khi chủng và tính theo công thức:

$$TLB (\%) = A/B \times 100$$

Trong đó: A: Số cây bị bệnh.

B: Tổng số cây thí nghiệm.

Mức độ bị hại của mỗi loại cây được tính theo thang 5 cấp của Carling *et al.* (1999):

Cấp 0: Không có vết bệnh.

Cấp 1: Vết bệnh màu nâu nhạt, có chiều dài < 2mm.

Cấp 2: Vết bệnh từ nâu nhạt đến nâu, có chiều dài < 5mm hoặc vùng bệnh ẩm ướt < 10% chiều dài trụ hạ diệp.

Cấp 3: Vết bệnh từ nâu chuyển sang nâu đậm, có chiều dài > 10 mm hoặc vùng bệnh thấm ướt > 10% chiều dài trụ hạ diệp.

Cấp 4: Lá héo, cây ngã gục hoặc chết.

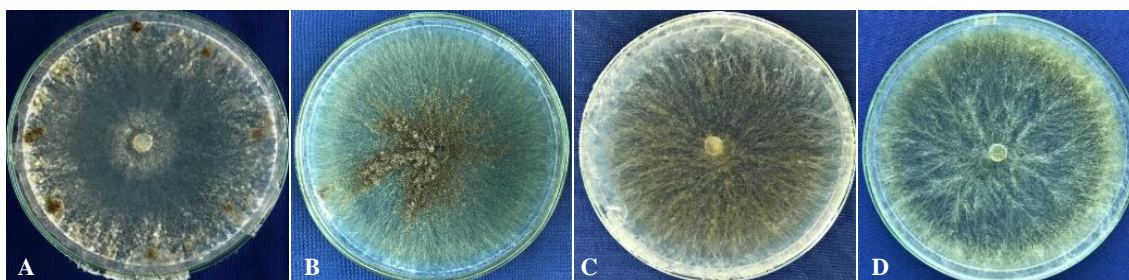
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập nấm *Rhizoctonia solani*

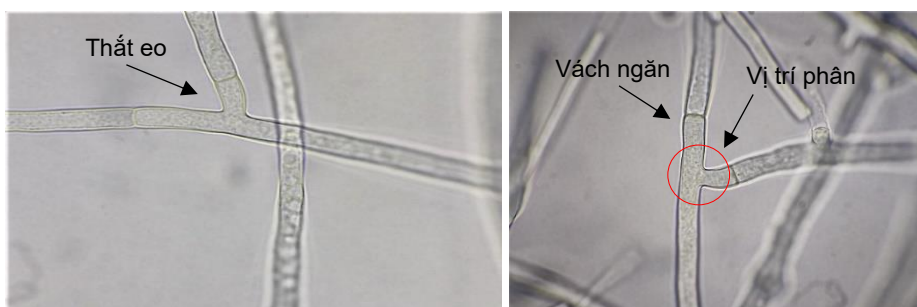
Từ các triệu chứng bệnh ngoài đồng như thối gốc, lở cổ rễ, thối rễ, thân, lá, đóm vằn được đưa về phòng thí nghiệm sàng lọc, phân lập. Kết quả 11 MPL có đặc điểm nuôi cấy, đặc điểm hình thái của nấm *R. solani* khi nuôi cấy trên môi trường MEA và tương đồng với mô tả của Ogoshi, (1995); Sneh *et al.* (1991); Zheng and Wang (2011). Có 9 MPL hình thành hạch nấm trên môi trường MEA và 2 MPL không hình thành hạch nấm (XL-LĐ và ĐP-LA) (hình 1, hình 2, hình 3). Các mẫu phân lập này được chọn để thực hiện cho nghiên cứu tiếp theo.



Hình 1. Triệu chứng bệnh trên một số loại cây trồng ngoài đồng
(A: Xà lách; B: Cải xanh; C: Cải ngọt; D: Ngô; E: Lúa)



Hình 2. Hình thái tản nấm *Rhizoctonia solani* ở 14 ngày sau cấy trên môi trường MEA
(A: L-LA2; B: B-TG; C: XL-LĐ; D: ĐP-LA)



Hình 3. Hình dạng và kiểu phân nhánh của sợi nấm *Rhizoctonia solani*
(Độ phóng đại 400 lần)

3.2. Khả năng gây bệnh của nấm *Rhizoctonia solani* trên một số loại rau trong điều kiện phòng thí nghiệm

Kết quả khảo sát khả năng gây bệnh của nấm *R. solani* (chọn đại diện 1 mẫu có hạch, 1 mẫu không hạch) từ bảng 3 cho thấy, cả 2 mẫu nấm đều gây bệnh cho 8 loại rau nghiên cứu với các mức độ nhiễm bệnh và thời gian xuất hiện triệu chứng khác nhau. Đối với mẫu nấm có hạch (L-LA2) khi chủng trên rau, tỷ lệ bệnh biến động từ 66,7 - 100%, thời gian

xuất hiện triệu chứng bệnh từ 1 - 4 ngày tùy theo loại rau. Kết quả cũng cho thấy, bầu, dưa leo và ớt xuất hiện triệu chứng bệnh chậm khoảng 3 - 4 ngày sau chủng nấm (NSC) và có tỷ lệ nhiễm bệnh thấp từ 66,7 - 83,3%, trong đó bầu và dưa leo nhiễm bệnh chậm nhất 4 NSC với tỷ lệ bệnh thấp 66,7%.

Đối với mẫu nấm không hạch (XL-LĐ), khi chủng trên cây cà chua, ớt, cải xanh, cải ngọt và cải thìa bệnh xuất hiện rất sớm chỉ 1 NSC với mức độ bệnh 100%.

Các loại rau còn lại như bầu, dưa leo và đậu cô ve sau 2 ngày chủng nấm bệnh mới xuất hiện với tỷ lệ bệnh 100%.

Điều này cho thấy, nguồn bệnh tồn tại ở dạng sợi nấm gây bệnh rất nhanh và nặng cho rau.

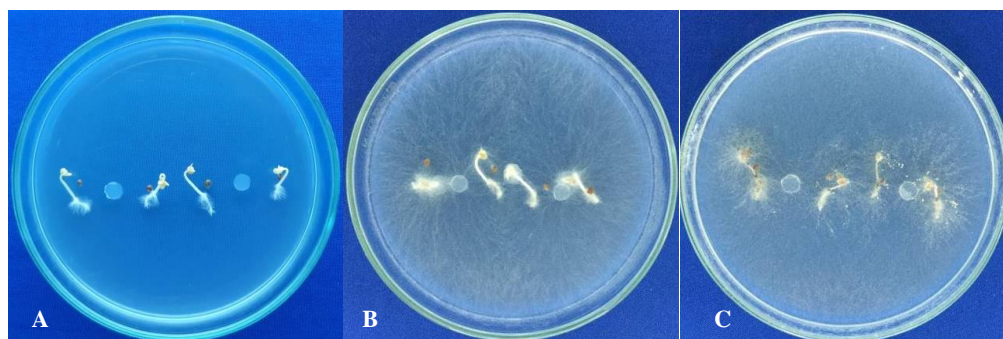
Bảng 3. Mức độ gây bệnh của nấm *Rhizoctonia solani* trên một số loại rau trong điều kiện phòng thí nghiệm.

Mẫu nấm	Cây ký chủ	Số cây nhiễm bệnh	Tỷ lệ bệnh (%) (*)	Thời gian xuất hiện vết bệnh (ngày)
L-LA2 (Có hạch)	Bầu	8	66,7	4
	Dưa leo	8	66,7	4
	Cà chua	9	75,0	2
	Ớt	10	83,3	3
	Đậu cô ve	12	100	3
	Cải xanh	12	100	2
	Cải ngọt	12	100	1
	Cải thìa	12	100	2
XL-LĐ (Không hạch)	Bầu	12	100	2
	Dưa leo	12	100	2
	Cà chua	12	100	1
	Ớt	12	100	1
	Đậu cô ve	12	100	2
	Cải xanh	12	100	1
	Cải ngọt	12	100	1
	Cải thìa	12	100	1

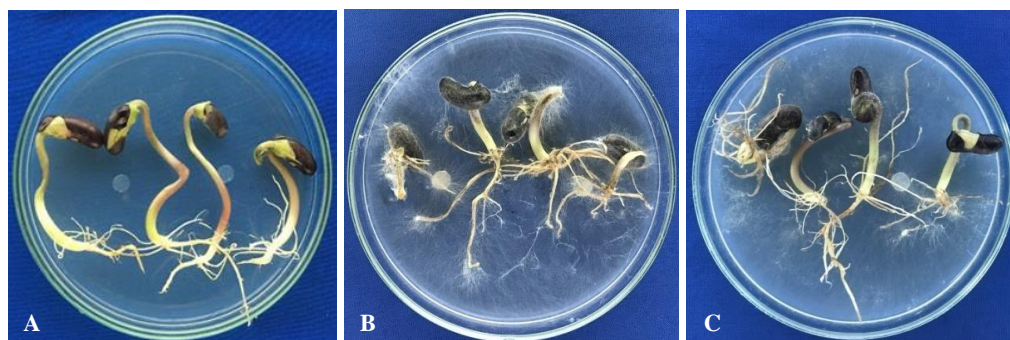
Ghi chú: Số mẫu thí nghiệm n = 12; *: Đánh giá 1 lần vào thời điểm 5 NSC.

Nhìn chung ở 3 NSC, nấm *R. solani* đã phát triển phủ dày trên trụ hạ diệp ức chế sự phát triển của lá mầm và rễ mầm. Ở 5 NSC, nấm hình thành hạch tại vị trí mô bệnh hoặc xung quanh vùng rễ mầm

(hình 4), hoặc lớp sợi nấm kết dày đặc ngay tại mô bệnh gây thối trụ hạ diệp, lá mầm, rễ mầm và toàn bộ cây con thối và chết (hình 5).



Hình 4. Triệu chứng bệnh trên cải xanh trong điều kiện phòng thí nghiệm (L-LA2)
(A: Đối chứng; B: 3 NSC; C: 5 NSC)



Hình 5. Triệu chứng bệnh trên đậu cô ve trong điều kiện phòng thí nghiệm (XL-LĐ)
(A: Đối chứng; B: 3 NSC; C: 5 NSC)

Như vậy, cả hai mẫu nấm *R. solani* (có hạch và không hạch) đều gây bệnh cho 8 loại rau khảo sát nhưng với mức độ khác nhau. Trong đó mẫu nấm không hạch gây bệnh rất sớm chỉ 1 - 2 NSC và mức độ nhiễm bệnh lên đến 100% trên nhóm rau ăn lá.

3.3. Khả năng gây bệnh của nấm *Rhizoctonia solani* trên một số loại rau trong điều kiện nhà lưới

Kết quả đánh giá trong nhà lưới ở bảng 4 cho thấy có sự khác nhau về thời điểm xuất hiện triệu chứng và mức độ bệnh giữa 2 nhóm nấm *R. solani*.

Bảng 4. Mức độ gây bệnh của nấm *Rhizoctonia solani* trên một số loại rau trong điều kiện nhà lưới

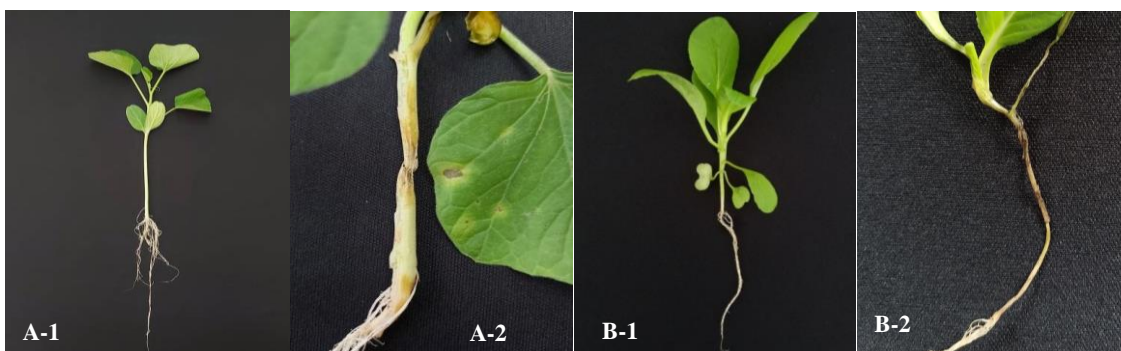
Mẫu nấm	Cây ký chủ	Cấp bệnh	Tỷ lệ bệnh (%) (*)	Thời gian xuất hiện bệnh (ngày)
L-LA2 (Có hạch)	Bầu	3	73,3	5
	Dưa leo	3	73,3	4
	Cà chua	2	83,3	4
	Ớt	2	80,0	3
	Đậu cô ve	2	56,7	5
	Cải xanh	3	100	3
	Cải ngọt	4	100	3
	Cải thìa	4	100	3
XL-LĐ (Không hạch)	Bầu	3	83,3	3
	Dưa leo	3	83,3	3
	Cà chua	2	90,0	4
	Ớt	3	83,3	2
	Đậu cô ve	2	80,0	3
	Cải xanh	4	100	2
	Cải ngọt	4	100	2
	Cải thìa	4	100	2

Ghi chú: Đánh giá 1 lần vào thời điểm 14 ngày sau chủng nấm.

Đối với mẫu nấm có hạch (L-LA2) khi chủng trên rau, tỷ lệ bệnh biến động từ 56,7 - 100%, thời gian xuất hiện triệu chứng bệnh từ 3 - 5 ngày tùy theo loại rau. Kết quả cũng cho thấy, bầu, dưa leo, cà chua, ớt và đậu cove xuất hiện triệu chứng bệnh chậm khoảng 3 - 5 NSC và có tỷ lệ nhiễm bệnh thấp từ 56,7 - 83,3%, trong đó đậu cove và bầu nhiễm bệnh

chậm nhất 5 NSC với tỷ lệ bệnh thấp 56,7% và 73,3%.

Đối với mẫu nấm không hạch (XL-LĐ) khi chủng trên rau, thời gian xuất hiện triệu chứng bệnh từ 2 - 4 NSC với tỷ lệ bệnh từ 80,0 - 100% tùy loại rau. Nhóm rau bầu, dưa leo, cà chua, ớt và đậu cove có tỷ lệ bệnh thấp từ 80,0 - 90,0%, thấp nhất là đậu cove 80,0%.



Hình 6. Triệu chứng bệnh trên cây bầu (A) và cải ngọt (B) ở thời điểm 14 ngày sau chủng nấm *Rhizoctonia solani* (L-LA2) trong điều kiện nhà lưới (1: Đối chứng; 2: Cây bệnh)



Hình 7. Triệu chứng bệnh trên cây đậu cove (A) và cải xanh (B) ở thời điểm 14 ngày sau chủng nấm *Rhizoctonia solani* (X-LĐ) trong điều kiện nhà lưới (1: Đối chứng; 2: Cây bệnh)

Từ kết quả nghiên cứu này cho thấy, nguồn bệnh ở dạng sợi nấm sẽ xâm nhập và gây hại cho rau nhanh và nặng hơn nhất là nhóm rau ăn lá có chu kỳ sinh trưởng ngắn ngày và rất mẫn cảm với nấm *R. solani* với mức độ gây hại lên đến 100% nếu canh tác liên tục. Có thể chọn

bầu, dưa leo, cà chua, ớt, đậu cove làm cây trồng luân canh, xen canh với rau ăn lá nhằm giảm mức độ gây hại và tích lũy nguồn bệnh trong đất của nấm *R. solani*.

Theo Burgess *et al.* (2009), nấm *R. solani* tồn tại trong đất dưới dạng hạch

nấm, sợi nấm và tàn dư cây trồng vụ trước. Dạng sợi nấm trong tàn dư cây trồng xâm nhập trực tiếp vào mô cây, tạo cấu trúc xâm nhiễm đặc biệt nên quá trình gây bệnh xảy ra rất nhanh. Dạng hạch nấm cần có thời gian và điều kiện thích hợp mới nảy mầm và xâm nhập vào cây trồng. Do vậy, trong điều kiện canh tác liên tục, nhất là cây ngắn ngày sẽ tạo điều kiện tốt cho nấm *R. solani* tái xâm nhiễm và cây trồng sẽ bị bệnh nặng hơn.

Kết quả nghiên cứu này nhằm cung cấp dữ liệu về nhóm cây rau ăn quả có khả năng chống chịu được với nấm *R. solani* giúp cho việc chọn lựa chủng loại rau để bố trí luân canh, xen canh hiệu quả, ngăn chặn sự tấn công gây hại của nấm *R. solani* ngoài đồng ruộng.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Trong điều kiện phòng thí nghiệm và nhà lưới, nguồn nấm *R. solani* không hình thành hạch nấm (tồn tại ở dạng sợi) có khả năng xâm nhập, gây hại nhanh và nặng trên nhóm rau ăn lá cải xanh, cải ngọt và cải thìa. Đã xác định được nhóm rau ăn quả bầu, dưa leo, cà chua, đậu cô ve và ớt có khả năng chống chịu được với cả hai nguồn nấm *R. solani*. Có thể sử dụng các loại rau này để luân canh, xen canh với rau ăn lá ngoài sản xuất.

Đề nghị khảo sát thêm khả năng gây bệnh của nấm *R. solani* trên một số loại cây trồng công nghiệp ngắn ngày khác làm cơ sở chọn loại cây trồng có khả năng chống chịu với nấm *R. solani* để đưa vào cơ cấu cây trồng luân canh hiệu quả trong giải pháp canh tác và hạn chế sự tích lũy nguồn bệnh trong đất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Agrios G. (2005), Plant Pathology. Elsevier Academic Press. Fifth Edition, 593 - 601.
2. Burgess L.W., Knight T.E., Tesoriero L. and Phan H.T. (2009), Cẩm nang chẩn đoán bệnh cây ở Việt Nam. Chuyên khảo ACIAR số 129a: 105 - 115.
3. Burgess L.W., Knight T.E., Tesoriero L. and Phan H.T. (2009), Cẩm nang chẩn đoán bệnh cây ở Việt Nam. Chuyên khảo ACIAR số 129a: 88 - 94.
4. Carling D. E, and Summer D.R. (1999), *Rhizoctonia* spp. Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. APS. Press, St. Paul, Minnesota, USA, 157 - 165.
5. Keijer J., Korsman M. G, Dullemans A. M., Houterman P. M., De Bree P. M., and Van Silfhout C. H. (1997), In vitro analysis of host plant specificity in *Rhizoctonia solani*. Plant Pathology. 46, 659 - 669.
6. Ogoshi, A. (1995), Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kuhn. Ann. Rev. Phytopathol. 25, 125 - 143.
7. Shivas R., and Beasley D. (2005), Management of plant pathogen collections. Australian Government Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, 81pp
8. Sneh, B., Burpee, L. and Ogoshi, (1994), Identification of *Rhizoctonia* species. APS Press St. Paul, Minnesota, 133 pp
9. Từ Thị Mỹ Thuận (2008), Nghiên cứu sự đa dạng di truyền của nấm *Rhizoctonia solani* Kühn gây bệnh trên một số loài thực vật tại Việt Nam. Luận án tiến sĩ nông học, Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam.
10. Whitney, H. S. and Parmeter Jr, J. R. (2011), Synthesis of heterokaryons in *Rhizoctonia solani* Kuhn. Canadian Journal of Botany 41(6): 879 - 886.
11. Zheng A., and Y. Wang (2011), The research of infection process and biological characteristics of *Rhizoctonia solani* AG-1 IB on soybean. Journal of Yeast and Fungal Research, Vol. 2 (6), 93 - 98.

ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI NẤM *Pyricularia oryzae* GÂY BỆNH ĐẠO ÔN LÚA TẠI AN GIANG VÀ HIỆU LỰC PHÒNG TRỪ CỦA CÁC VẬT LIỆU NANO DẠNG Ag/SiO₂

Võ Thị Ngọc Hà^{1*}, Trần Ngọc Phương Lan¹,
Phạm Kim Huyền¹, Trần Công Khánh^{2*}

¹Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

²Khoa Khoa học và Công nghệ Vật liệu, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên,
Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh

*Tác giả liên hệ: ha.vothingoc@hcmuaf.edu.vn; tckhanh@hcmus.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu này đã mô tả đặc điểm hình thái của 15 mẫu phân lập nấm *Pyricularia oryzae* gây bệnh đạo ôn trên các giống lúa khác nhau được canh tác trên địa bàn tỉnh An Giang. Trên môi trường PDA, đa phần các mẫu nấm phân lập có sợi nấm mảnh màu xám trắng, bề mặt hệ sợi thô, rìa của tán nấm rõ, hầu hết có xuất hiện các sắc tố melanin (sắc tố đen) ở tâm và nhạt dần về phía ngoài. Bào tử của tất cả các mẫu phân lập đều có dạng hình quả lê hoặc hình nụ sen, tất cả bào tử đều có 2 vách ngăn. Ngoài ra nghiên cứu này cũng đánh giá được hiệu lực phòng trừ của hai loại vật liệu nanocompozit Ag/SiO₂-L (dạng lỏng) và Ag/SiO₂-S (dạng bột) đối với nấm *Pyricularia oryzae* trong điều kiện phòng thí nghiệm. Ag/SiO₂-L cho hiệu lực kháng nấm 100% ở mức nồng độ 32 ppm, và Ag/SiO₂-S cho hiệu lực kháng nấm 76,75% ở mức nồng độ 125 ppm.

Từ khóa: bào tử, đặc điểm hình thái, Ag/SiO₂, hiệu lực kháng nấm, *Pyricularia oryzae*.

ABSTRACT

Morphological characteristics of *Pyricularia oryzae* causing rice blast disease in An Giang province and antifungal effect of nanocomposites Ag/SiO₂

This study described the morphological characteristics of 15 isolates of *Pyricularia oryzae* causing blast disease in different rice varieties cultivated in An Giang province. On PDA medium, most of the isolates had thin gray-white mycelium, the mycelium formed the coarse surface and clear margin, contained melanin which appeared as a dark pigment in the central and fades outward. Most of conidia were pear-shaped or lotus-bud-shaped, with two septa. In addition, this study also evaluated the antifungal effect of two types of nanocomposite Ag/SiO₂-L (liquid) and Ag/SiO₂-S (powder) against the *Pyricularia oryzae* in vitro. Ag/SiO₂-L showed a significant antifungal effect, inhibit 100% mycelium growth at 32 ppm, while Ag/SiO₂-S had an effect of only 76,75% at 125 ppm.

Keywords: conidia, morphological characteristic, antifungal effect, *Pyricularia oryzae*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

An Giang là vựa lúa lớn của cả nước, theo số liệu thống kê năm 2019 tổng diện tích gieo trồng cả năm hơn 620.000 ha, với năng suất bình quân cả năm đạt 6,3 tấn/ha. Ngoài canh tác lúa thương phẩm, An Giang cũng cung cấp một lượng lớn lúa giống từ 150.000 tấn lúa giống mỗi năm, khả năng cung cấp khoảng 90% nhu cầu giống cho sản xuất tại An Giang với các giống được nhân chủ yếu: OM6976, OM4900, Jasmine, OM5451, OM9577, OM9582, IR50404, RVT, Nếp. Có những nơi sản xuất thâm canh liên tục 3 vụ/năm làm cho tình hình dịch hại trên lúa xuất hiện nhiều và diễn biến phức tạp, trong đó dịch hại xuất hiện thường xuyên nhất là bệnh đạo ôn lúa. Bệnh có thể gây thất thoát trên 80% nếu bà con không phát hiện sớm và điều trị kịp thời (Nguyễn Ngọc Đệ, 2008).

Biện pháp kiểm soát bệnh đạo ôn quan trọng và hiệu quả hiện nay là sử dụng các giống có tính kháng cao với tác nhân gây bệnh, tuy nhiên sự thích nghi nhanh và tạo ra các biến thể mới của quần thể nấm *Pyricularia oryzae* trong tự nhiên làm cho các giống kháng trở thành giống mất cảm trong thời gian ngắn từ 1 - 3 năm sau khi đưa vào sản xuất đại trà (Jones và Dang, 2006; Longya và cs., 2020). Việc đánh giá đa dạng sinh học cho phép đề xuất các hướng kiểm soát quần thể gây bệnh phù hợp và đạt hiệu quả tốt nhất. Hiện có nhiều phương pháp để đánh giá sự đa dạng sinh học của quần thể nấm *Pyricularia oryzae* như sử dụng các chỉ thị sinh học ISSR, RAPD, ERIC-BOX, SSR nhưng việc nghiên cứu đặc

điểm hình thái luôn cần được thực hiện trước khi có các nghiên cứu chuyên sâu ở mức độ phân tử (Longya và cs., 2020).

Ngoài ra việc kiểm soát bệnh đạo ôn vẫn phụ thuộc nhiều vào các loại thuốc bảo vệ thực vật. Các chủng được phân lập và nghiên cứu gần đây thể hiện tính kháng cao với nhiều loại hoạt chất được sử dụng rộng rãi; đồng thời các loại thuốc BVTV hóa học cũng ảnh hưởng tiêu cực đối với môi trường, đe dọa sức khỏe con người. Việc áp dụng các hướng tiếp cận mới trong sản xuất thuốc bảo vệ thực vật an toàn và hiệu quả đang được đẩy mạnh nghiên cứu. Một số quốc gia phát triển và đang phát triển như Brazil, Mỹ, Trung Quốc, Ấn Độ và Nam Mỹ có những chính sách hỗ trợ chiến lược cho các ứng dụng công nghệ nano vào thực tiễn (Chen và cs., 2011) và đã đạt được nhiều thành tựu trong nông nghiệp nói chung và ngành bảo vệ thực vật nói riêng (Khot và cs., 2012). Nano bạc từng được biết đến với khả năng tiêu diệt nấm và vi khuẩn gây hại cây trồng rất hiệu quả, nó có thể phòng trừ được bệnh đạo ôn trên cây lúa do *Pyricularia oryzae* gây ra (Gerasimenko và cs., 2004). Tuy nhiên, kết quả của các nghiên cứu trước đây đối với nấm *Pyricularia oryzae* còn rất hạn chế hoặc các vật liệu nano được tạo ra có hiệu lực phòng trừ đạt được 100% trong điều kiện *in vitro* ở mức nồng độ còn khá cao 100, 200, 250ppm (Elamawi M.A. và El-Shafey R.A.S., 2013; Nguyễn Thị Thu Thủy và Nguyễn Thị Thanh Hải, 2017; Nguyễn Thị Thanh Hải và cs., 2019) gây khó khăn trong việc phát triển sản phẩm ứng dụng đồng ruộng sau này.

Do đó mục tiêu của nghiên cứu này là mô tả được đặc điểm hình thái của các mẫu phân lập nấm *Pyricularia oryzae* gây bệnh đạo ôn trên các giống lúa khác nhau canh tác tại tỉnh An Giang và đánh giá được hiệu lực phòng trừ của các vật liệu nano dạng Ag/SiO₂ đối với nấm *Pyricularia oryzae* trong điều kiện phòng thí nghiệm.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Hóa chất: D-glucôzơ (C₆H₁₂O₆, 99,5%, Xilong, Trung Quốc), bột Agar (100%, Hải Long, Việt Nam), đường đôi surcrôzơ (99,5 %, Sigma-Aldrich), pepton (Sigma-Aldrich). Ag/SiO₂-L (dạng lỏng), Ag/SiO₂-S (dạng bột) được cung cấp bởi Khoa Khoc học và Công nghệ Vật liệu, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh. Mẫu Ag/SiO₂-L được tổng hợp bằng phương pháp khử hoá học có các hạt nano bạc hình cầu trên bề mặt silica với kích thước trung bình là 6,5 nm. Còn mẫu Ag/SiO₂-S được tổng hợp bằng phương pháp thủy nhiệt có các hạt nano bạc hình dạng khác nhau trên bề mặt silica với kích thước trung bình 39,2 nm (Bui Thi Thu Thao và cs., 2020).

Dụng cụ và thiết bị: đĩa petri, micropipette, lam kính, lamén, ống đong, dao cắt, cốc đong, đèn cồn, cồn, thước đo. Tủ cấy vô trùng, tủ sấy khử trùng (180°C), nồi hấp khử trùng, cân điện tử, bếp điện tử, lò viba, kính hiển vi quang

học Olympus CX3, bể rửa siêu âm Ultrasonic Cleaner.

2.2. Phương pháp thu và bảo quản mẫu bệnh

Các mẫu lá lúa có triệu chứng bệnh đạo ôn được thu thập từ các cánh đồng tại tỉnh An Giang với các giống lúa IR504504, RVT, OM4900, IR4625 và Jasmine 85 trong điều kiện thời tiết tốt và ruộng lúa thu mẫu chưa qua xử lý thuốc hóa học. Số lượng bao gồm 50 mẫu, mỗi cánh đồng lấy mẫu tại 3 vị trí khác nhau. Mẫu bệnh được bảo quản theo phương pháp quản lý mẫu bệnh thực vật của Roger và Dean (2005).

2.3. Phương pháp phân lập

Sử dụng các loại môi trường WA (20 g agar và 1 lít nước cất), PDA (200g khoai tây, 20 g agar, 20 g D-glucôzơ và 1 lít nước cất) để phân lập nấm và môi trường OMA (50 g bột mạch, 20 g agar, 20 g glucozo và 1 lít nước cất) để kích thích sự hình thành bào tử. Các môi trường được hấp khử trùng ở điều kiện nhiệt độ 121°C, áp suất 1at và thời gian 20 phút.

Các mẫu nấm gây bệnh đạo ôn được phân lập dựa trên kỹ thuật đơn bào tử của IRRI (1997).

2.4. Mô tả đặc điểm hình thái và bào tử của nấm *Pyricularia oryzae*

Đặc điểm hình thái của nấm *Pyricularia oryzae* được khảo sát trên môi trường PDA. Khảo sát màu sắc tản nấm, cách mọc, hình thái sợi nấm và tốc

độ phát triển của từng chủng nấm phân lập trên điều kiện môi trường PDA.

Sau 5 - 7 ngày khi nấm mọc gần đầy đĩa trên môi trường PDA được cấy chuyển sang môi trường bột yến mạch (OMA) và để ở nhiệt độ 25°C để kích hoạt sự hình thành bào tử nấm theo Nguyen và cs. (2008). Sau khi bào tử hình thành tiến hành quan sát và ghi nhận hình thái bào tử dưới kính hiển vi.

2.5. Đánh giá hoạt tính kháng nấm của các loại vật liệu nano

Hai loại vật liệu được khảo sát là Ag/SiO₂-L và Ag/SiO₂-S. Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp đầu độc môi trường (Grover và Moore, 1962) trên môi trường PDA. Chuẩn bị môi trường PDA hấp khử trùng và để nguội, nhiệt độ giảm xuống khoảng 45 - 50°C, pha với thuốc theo nồng độ quy định sẵn, lắc đều và đổ môi trường ra đĩa petri. Cấy khoanh nấm (đường kính 0,5cm) vào trung tâm đĩa petri, mặt nấm úp xuống mặt môi trường PDA, dán kín xung quanh đĩa môi trường bằng parafin. Mỗi nồng độ khảo sát được lặp lại 3 lần với 1 lần lặp lại là 3 đĩa petri. Các đĩa petri được đặt trong tủ định ôn ở nhiệt độ 28°C và theo dõi đường kính tản nấm sau 3, 6, 9, 12 ngày cho đến khi tản nấm phát triển chạm thành đĩa ở đĩa đối chứng thì ngừng quan sát, đường kính tản nấm được tính bằng cách đo hai đường chéo vuông góc và lấy giá trị trung bình theo công thức: $d = (d1 + d2)/2$, với d là kích thước tản nấm, $d1$ và $d2$ là hai đường kính vuông góc của tản nấm.

Khả năng ức chế nấm của các loại vật liệu được xác định theo công thức Abbott:

$$HLUC(\%) = \frac{D-d}{D} \times 100\%$$

Trong đó: d : Đường kính tản nấm môi trường có chứa vật liệu (cm).

D : Đường kính tản nấm ở mẫu đối chứng (cm).

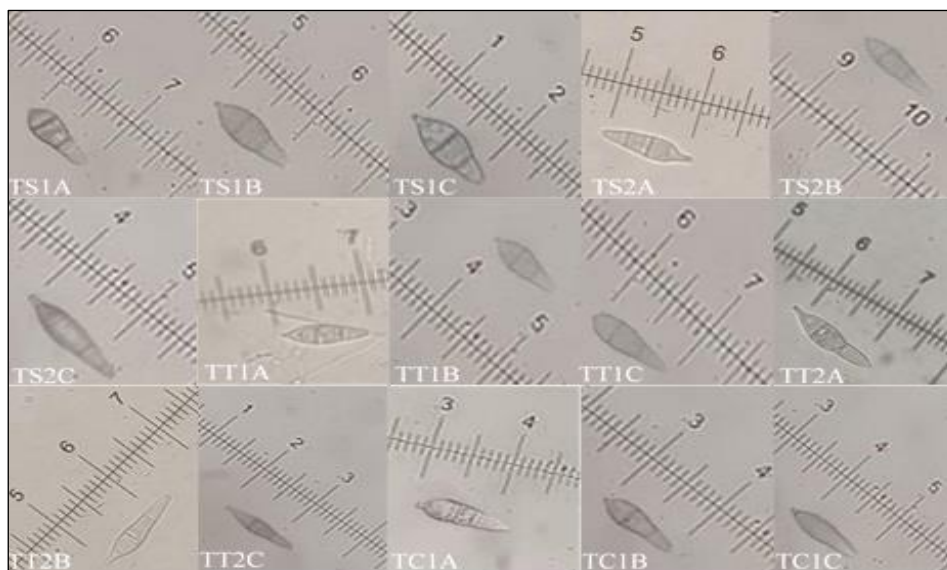
Số liệu được tổng hợp, xử lý bằng Microsoft Excel 2010 và phần mềm SAS 9.1.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm hình thái và bào tử của các mẫu nấm gây bệnh đạo ôn lúa trên địa bàn tỉnh An Giang

Trong nghiên cứu này, 15 mẫu nấm *Pyricularia oryzae* (*P. oryzae*) được phân lập. Kết quả quan sát hình thái bào tử của tất cả các mẫu được ghi nhận ở hình 1.

Các mẫu nấm TS1A, TS1B, TS1C được phân lập từ giống lúa IR504504 nhiễm đạo ôn lá thu tại xã Vĩnh Khánh, huyện Thoại Sơn, tỉnh An Giang có sợi nấm mọc sát bề mặt thạch, vòng trong tản nấm màu xám tối, tạo các vòng đồng tâm, bên ngoài rìa sợi nấm màu trắng. Sắc tố đen sinh ra nhiều ở vòng trong, vòng ngoài tản nấm tách biệt, màu trắng và không chứa sắc tố đen. Bào tử mẫu TS1A có 2 vách ngăn rõ, hình quả lê, đối xứng qua trục theo tâm bào tử. Bào tử mẫu TS1B có 2 vách ngăn, hình nụ sen, 2 đỉnh tròn. Bào tử mẫu TS1C có 2 vách ngăn rõ và dày, hình nụ sen. Bào tử của 3 mẫu nấm này đều có cuống bào tử ngắn, riêng mẫu TS1A không thấy rõ.



Hình 1. Hình thái bào tử của các mẫu nấm *Pyricularia oryzae* trên môi trường OMA

Các mẫu nấm TS2A, TS2B và TS2C được phân lập từ giống RVT giai đoạn đạo ôn lá trồng tại xã An Bình, huyện Thoại Sơn, tỉnh An Giang khi quan sát cho thấy sợi nấm mọc nổi trên bề mặt thạch bung xù lên, rìa tản nấm có sợi nấm mọc nổi trên mặt thạch nhưng không nhiều, tản nấm màu xám trắng, chia làm nhiều vòng tròn đồng tâm. Sắc tố đen sản sinh đặc biệt tại tâm tản nấm và giảm dần ra hết vòng tròn. Các mẫu nấm TS2A, TS2B và TS2C đều có bào tử hình quả lê, thon dài, nhọn hai đầu, có 2 vách ngăn rõ, đối xứng qua tâm theo trục dọc và nhìn thấy rõ cuống bào tử, riêng mẫu TS2A hơi nhọn một đầu còn mẫu TS2B cuống bào tử ngắn và không thấy rõ.

Các mẫu nấm TT1A, TT1B và TT1C được phân lập từ giống OM4900 trồng tại xã Núi Tô, huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang giai đoạn đạo ôn lá có sợi nấm mọc sát trên bề mặt thạch, vòng trong tản nấm có màu xám nâu, tạo các vòng

tròn đồng tâm. Mép ngoài tản nấm có màu xám trắng. Vị trí sợi nấm mọc sát mặt thạch sản sinh nhiều sắc tố melanin, nhạt dần ra ngoài. Bào tử mẫu nấm TT1A hình quả lê, thon dài, hơi nhọn hai đầu, cuống bào tử ngắn không thấy rõ, bào tử có 2 vách ngăn, 1 vách hơi mờ. Bào tử mẫu nấm TT1B và TT1C hình nụ sen, hai đỉnh hơi tròn, cuống bào tử ngắn hoặc rất ngắn không thấy rõ, có 2 vách ngăn nhìn thấy rõ.

Các mẫu nấm TT2A, TT2B và TT2C được phân lập từ giống IR4625 trồng tại xã Châu Lăng, huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang giai đoạn đạo ôn lá qua quan sát cho thấy sợi nấm mọc sát bề mặt thạch, vòng trong tản nấm có màu trắng xám, mép tản nấm màu xám nâu. Sắc tố đen được tạo ra nhiều từ tâm ra và giảm dần ở phía ngoài rìa tản nấm. Bào tử của ba mẫu nấm này hình quả lê, thon dài, hơi nhọn hai đầu, có hai vách ngăn rõ hoặc mờ, có cuống bào tử.

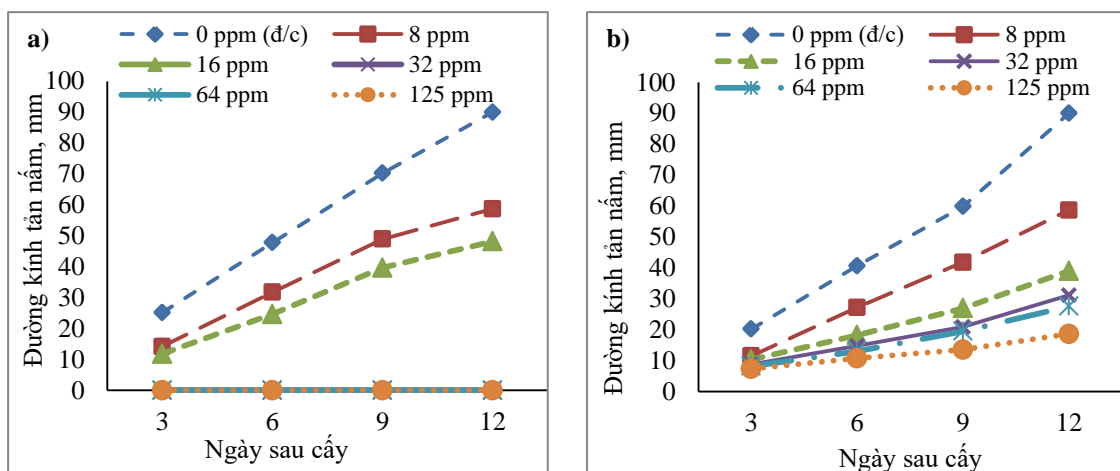
Các mẫu nấm TC1A, TC1B và TC1C được phân lập từ giống lúa Jasmine 85 trồng tại xã Phú Thịnh, thị xã Tân Châu, tỉnh An Giang giai đoạn đạo ôn lá có sợi nấm mọc sát bề mặt thạch, tản nấm có màu xám nâu từ tâm và nhạt dần ra phía ngoài, cùng với các đường đồng tâm tạo ra từ sợi nấm. Sắc tố melanin nhiều tạo thành vùng hình tròn từ tâm, vòng ngoài tản nấm tách biệt, màu trắng, không chứa sắc tố đen. Bào tử các mẫu nấm này hình quả lê, hơi thon và nhọn hai đầu, có cuống bào tử ngắn và có 2 vách ngăn, mẫu TC1A có 2 vách ngăn nhưng không thấy rõ.

Điều đó cho thấy rằng bào tử của các mẫu phân lập đều có dạng hình quả lê hoặc hình nụ sen, các mẫu nấm phân lập từ các giống lúa khác nhau và các khu vực địa lý đặc trưng có hình thái bào tử khác biệt về hình dáng, kích cỡ, cuống bào tử, độ nhọn đầu, độ rõ nét của vách ngăn và cách phân bố đối xứng qua trục dọc theo tâm bào tử (hình 1). Các mẫu nấm phân lập có sợi nấm mảnh màu xám trắng, bề mặt hệ sợi khá thô, rìa của tản nấm rõ, hầu hết có xuất hiện các sắc tố melanin (sắc tố đen) ở tâm và nhạt dần về phía ngoài. Dựa theo các nghiên cứu của Võ Thanh Hoàng, (2005), Emmanuel và cs. (2013) và Nobuaki và cs. (2014) các đặc điểm hình thái bên ngoài của tản nấm từ màu sắc tản nấm, cấu trúc hệ sợi đến sự hiện diện của sắc tố melanin và đặc điểm hình thái bào tử của các mẫu phân lập được trong nghiên cứu này hoàn toàn phù hợp với mô tả về đặc điểm hình thái đặc trưng của nấm *Pyricularia oryzae* gây bệnh đạo ôn trên lúa.

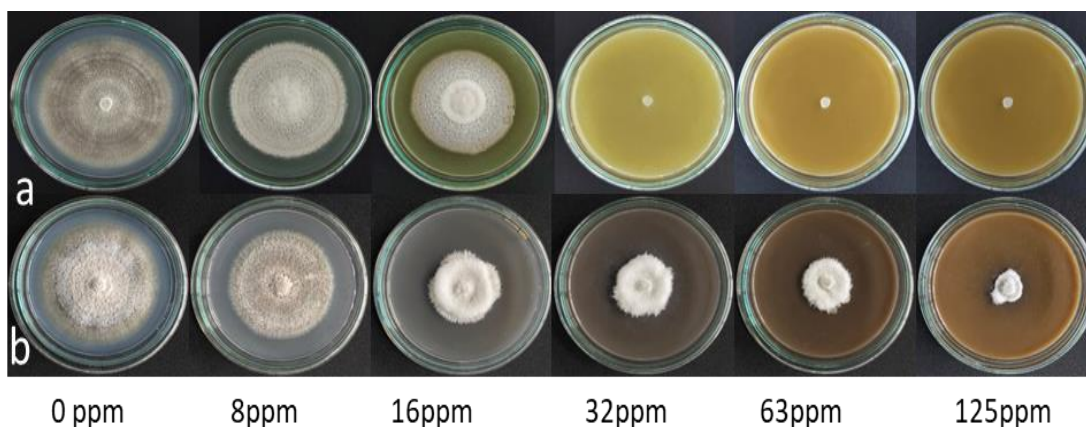
Một số mẫu đại diện TS1A, TS2B, TT1C, TT2A và TC1B được đánh giá thêm về khả năng phát triển trên môi trường PDA. Kết quả quan sát và ghi nhận, các nấm phát triển chậm, các mẫu TS1A và TT2A có tốc độ phát triển trung bình là 6,7mm/ngày, ở thời điểm 12 ngày sau cấy (NSC) nấm mọc đầy đĩa, còn các mẫu nấm TS2B, TT1C và TC1B tốc độ phát triển trung bình lần lượt là 6,6; 6,5 và 6,2 mm/ngày. Ở thời điểm 12 NSC đường kính tản nấm thấp nhất ở mẫu TC1B $74,43 \pm 3,13$ mm. Từ kết quả đó mẫu TS1A được lựa chọn để thực hiện đánh giá hiệu lực kháng nấm của các vật liệu nano trong điều kiện phòng thí nghiệm.

3.2. Kết quả đánh giá khả năng phòng trừ nấm *Pyricularia oryzae* của một số vật liệu dạng nano trong điều kiện phòng thí nghiệm

Đường kính tản nấm giảm dần khi tăng các mức nồng độ của các vật liệu nano bổ sung vào môi trường, nấm ở đĩa đối chứng mọc đầy đĩa ở 12 ngày sau cấy. Đối với Ag/SiO₂ - L đường kính tản nấm giao động từ 0 đến 58,74 mm và từ 18,60 đến 58,67 mm đối với Ag/SiO₂-S, phụ thuộc vào mức nồng độ của vật liệu (hình 2). Hiệu lực ức chế của Ag/SiO₂-L đối với nấm *P. oryzae* ở các mức nồng độ 8, 16, 32, 64, 125 ppm sau 12 ngày sau cấy lần lượt là 26,58%; 39,73%; 100%; 100%; 100%. Còn đối với Ag/SiO₂-S hiệu lực ức chế nấm ở các nồng độ 8, 16, 32, 64 và 125 ppm lần lượt là 26,66%; 51,25%; 61,13%; 65,54% và 76,75% (hình 3).



Hình 2. Sự phát triển của nấm *Pyricularia oryzae* có bổ sung các vật liệu nano (a: Ag/SiO₂-L, b: Ag/SiO₂-S)



Hình 3. Hiệu lực kháng nấm của các vật liệu nano ở 12 ngày sau cấy (a: Ag/SiO₂-L, b: Ag/SiO₂-S)

Kết quả cho thấy mẫu Ag/SiO₂-L cho hiệu lực kháng nấm trong điều kiện in vitro đạt 100% từ mức nồng độ 32 ppm, còn hiệu lực ức chế nấm của mẫu Ag/SiO₂-S thấp hơn đáng kể so với mẫu Ag/SiO₂-L, chỉ đạt 76,75% ở mức nồng độ 125ppm (hình 2).

Hiệu lực ức chế nấm khi sử dụng Ag/SiO₂-S bị giảm đi so với mẫu Ag/SiO₂-L có thể được giải thích do một phần ảnh hưởng của kích thước hạt nano bạc và hình dạng của hạt nano

nano bạc hình cầu ổn định hơn và có hoạt tính kháng khuẩn cao hơn so với các hình dạng khác. Hình dạng hình cầu của các nano bạc làm tăng tỷ lệ diện tích bề mặt trên thể tích cao, cho phép chúng đi qua màng tế bào vi khuẩn hoặc thực vật, giết chết tế bào (Xiu và cs., 2006). Hoạt tính sinh học của nano bạc chịu ảnh hưởng rất lớn của hiệu ứng kích thước hiệu lực kháng nấm trở nên mạnh hơn khi kích thước nano bạc giảm nhờ sự tăng diện tích bề mặt tiếp xúc của nano bạc với tế

bào vi khuẩn, nấm, tạo điều kiện cho chúng liên kết với các thành phần của màng tế bào, xâm nhập và tấn công chúng (Morones và cs., 2005; Lê Quang Luân và cs., 2014). Trong nghiên cứu này, các hạt nano bạc của mẫu Ag/SiO₂-L được sử dụng vừa có dạng hình cầu, vừa đạt kích thước trung bình 6,5 nm cho hiệu lực kháng nấm *P. oryzae* ở 32 ppm là 100%. Kết quả này cũng chứng tỏ hiệu lực kháng nấm của Ag/SiO₂-L cao, bởi theo kết quả của các nghiên cứu trước đó của Nguyễn Thị Thu Thủy và cs. (2017) các hạt nano bạc có kích thước hạt 15 - 20nm cho hiệu lực kháng nấm *P. oryzae* đạt 100% ở mức nồng độ 250ppm, còn theo Elamwi và El-shafey (2013) hiệu lực kháng nấm *P. oryzae* của nano bạc có kích thước khoảng 20 - 30nm đạt 100% trong điều kiện in vitro ở mức nồng độ 200 ppm. Và kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Thanh Hải và cs. (2019) cho thấy các hạt nano bạc có kích từ 20 - 40nm hiệu lực ức chế sự phát triển của tảo nấm *P. oryzae* đạt 100% ở mức nồng độ 100 ppm.

Điều đó cho thấy rằng tổng hợp nanocomposites Ag/SiO₂ bằng phương pháp khử hóa học bạc trên nền silica cho hiệu lực kháng nấm cao. Bên cạnh đó, đối với cây trồng, silica là nguồn bổ sung dinh dưỡng thiết yếu silica giúp cứng cây, quang hợp tốt, tăng sức đề kháng cho cây và thúc đẩy sự phát triển của các vi sinh vật có lợi, làm giàu chất dinh dưỡng cho đất (Karunakaran và cs., 2013), bởi vậy sản phẩm có thể ứng dụng để phát triển thành thuốc bảo vệ thực vật dùng trong nông nghiệp.

4. KẾT LUẬN

Các mẫu nấm phân lập có sợi nấm mảnh màu xám trắng, bề mặt hệ sợi khá thô, rìa của tản nấm rõ, hầu hết có xuất hiện các sắc tố melanin (sắc tố đen) ở tâm và nhạt dần về phía ngoài. Bào tử của các mẫu phân lập đều có dạng hình quả lê hoặc hình nụ sen, tất cả bào tử đều có 2 vách ngăn, phân biệt với nhau về hình dạng và kích thước của cuống bào tử, độ nhọn đầu, độ dày của vách ngăn và cách phân bố đối xứng qua trục dọc theo tâm bào tử. Đây là cơ sở cho những nghiên cứu tiếp theo về đa dạng sinh học của quần thể nấm *Pyricularia oryzae*. Đồng thời, đánh giá được hiệu lực ức chế của hai loại vật liệu nanocomposit Ag/SiO₂ được tổng hợp theo hai phương pháp khác nhau lên sự phát triển của tản nấm *Pyricularia oryzae*. Trong đó mẫu vật liệu Ag/SiO₂-L có tiềm năng để phát triển thành loại thuốc bảo vệ thực vật ứng dụng trong thực tế phòng trừ bệnh đạo ôn trên đồng ruộng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bui Thi Thu Thao, Tran Quoc Vinh, Tran Cong Khanh, Pham Kim Huyen và Vo Thi Ngoc Ha (2020), Synthesis and antibacterial, antifungal activity of Ag/SiO₂ colloidal nanocomposites. The Third International Conference on Sustainable Agriculture and Environment Ho Chi Minh city, Vietnam. p. 198 - p. 208.
2. Chen H. và Yada R. (2011), Nanotechnologies in agriculture: New tools for sustainable development. Trends in Food Science & Technology, 22(11): p. 585 - 594.
3. Dai Y., Jia Y., Correll Y., Wang X. và Wang Y. (2010), Diversification and evolution of the avirulence gene AVR-Pita1 in field isolates of Magnaporthe oryzae. Fungal Genet Biol., 47(12), 973 - 980.

4. Elamawi M.A. và El-Shafey R.A.S. (2013), Inhibition effects of silver nanoparticles against rice blast disease caused by magnaporthe grisea, Egypt. J. Agric. Res., 91 (4).
5. Emmanuel E. G., Cynthia C. D. và Joselito D. D. (2013), Inhibitory activity of Chaetomium globosum Kunze extract against Philippine strain of Pyricularia oryzae Cavara. Journal of Agricultural Technology, 9(2): 333 - 348.
6. Gerasimenko D. V., Avdienko I. D. và Bannikova G. E. (2004), Antibacterial effects of water-soluble low molecular-weight chitosans on different microorganisms. Applied Biochemistry and Microbiology, 40, p.253 - 257.
7. Grover R.K. và Moore J.D. (1962), Toximetric Studies of Fungicides against the Brown Rot Organisms, Sclerotinia fructicola and S. laxa. Phytopathology, 52, 876 - 879.
8. IRRI (1997), Laboratory manual. In: A workshop on gene cloning transformation and molecular analysis of transgenic rice. *Plant Breeding, Genetics, and Biochemistry division*, IRRI.
9. Jones J. D. G. và Dangl J. L. (2006), *The plant immune system*. 444(7117), 323 - 329.
10. Karunakaran G., Suriyaprabha R., Manivasakan P., Yuvakkumar R., Rajendran V., Prabu P. và Kannan N. (2013), Effect of nanosilica and silicon sources on plant growth promoting rhizobacteria, soil nutrients and maize seed germination. IET Nanobiotechnology, 2013. 7:p. 70 - 77.
11. Khot L.R., Sankaran S., Maja J. M. và Schuster E. W (2012), Applications of Nanomaterials in Agricultural Production and Crop Protection: A Review. Crop Protection 35(C):64 - 70.
12. Lê Quang Luân, Nguyễn Huỳnh Phương Uyên và Phan Hồ Giang (2014), Nghiên cứu hiệu ứng kháng nấm *Phytophthora capsici* gây bệnh chết nhanh ở cây hồ tiêu của chế phẩm nano bạc-chitosan chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ. Tạp chí Sinh học, (2014). 36 (1Se): p. 152 - 157.
13. Longya A., Talumphai S. và Jantasuriyarat C. (2020), Morphological Characterization and Genetic Diversity of Rice Blast Fungus *Pyricularia oryzae*, from Thailand Using ISSR and SRAP Markers. Journal of fungi, 2020, 6, 8.
14. Morones J. R. (2005), The bactericidal effect of silver nanoparticles. Nanotechnology, 16(10): p. 2346 - 53.
15. Morones, J.R., Jose L.E., Alejandra C., Katherine H., Juan B K., Jose T.R. and Miguel J.Y. (2005), The bactericidal effect of silver nanoparticles. Nanotechnology, (2005). 16(10): p. 2346 - 53
16. Nguyễn Ngọc Đệ (2008), Giáo trình Cây lúa Viện Nghiên cứu và Phát triển ĐBSCL, Đại học Cần Thơ.
17. Nguyen Q.B., Kadotani N., Kasahara S., Tosa Y., Mayama S. và Nakayashiki H. (2008), Systemic functional analysis of calcium signaling proteins in the genome of the rice blast fungus, Magnaporthe oryzae, using a highthroughput RNA silencing system. Mol Microbiol, 68, 1348 - 1365.
18. Nguyễn Thị Thanh Hải, Tôn Nữ Mỹ Phương, Nguyễn Thị Thu Thủy và Trần Thái Hòa (2019), Tổng hợp vật liệu nano bạc và đánh giá khả năng kháng nấm *Pyricularia oryzae* gây bệnh đạo ôn trên cây lúa. Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học Tự nhiên Tập 128, Số 1C, 69 - 76.
19. Nguyễn Thị Thu Thủy và Nguyễn Thanh Hải (2017), Nghiên cứu khả năng kháng nấm *Pyricularia oryzae* gây bệnh đạo ôn trên cây lúa của oligochitosan-nano bạc (AgNPs) trong điều kiện in vitro và in vivo. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 6, 2017.
20. Nobuaki M., Takayuki A., Motoaki K., Yukio T., Izumi C. (2014), Various species of Pyricularia constitute a robust clade distinct from Magnaporthe salvinii and its relatives in Magnaporthaceae.
21. Võ Thanh Hoàng (2005), Giáo trình Bệnh cây chuyên khoa. Đại học Cần Thơ.
22. XIU Z.M. (2012), Negligible Particle-Specific Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles. Nano Letters, 12(8): p. 4271 - 4275.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH TÁC NHÂN GÂY BỆNH VÀ THUỐC TRỪ BỆNH CHÁY THÂN CÂY MĂNG TÂY TẠI NINH THUẬN

Mai Văn Hào^{1*}, Phan Công Kiên¹,
Nguyễn Văn Chính¹, Nguyễn Thị Tuyết Nhi¹

¹Viện Nghiên cứu Bông và Phát triển Nông nghiệp Nha Hồ

* Tác giả liên hệ: haomaivan@gmail.com

ABSTRACT

The stem blight is the most important disease on asparagus in Ninh Thuan province. Asparagus growers have sprayed to control the disease weekly but stem blight still caused serious damage on plant. It appears in many regions, causing the serious asparagus yield and quality loss.

All experiments were carried out at laboratories of Nhaho RICOTAD and the asparagus fields in 2021. Isolation and identification of fungi in the RICOTAD's laboratories. Twelve pesticides were tested for controlling of the stem blight disease on asparagus. The effect of 12 pesticides on fungus were investigated in laboratory experiments using petri discs. Seven pesticides were examined at the concentrations recommended in the asparagus fields.

*Research results have determined that, the causal organisms of stem blight disease on asparagus in Ninh Thuan, Vietnam is *Phomopsis asparagi* (Sacc.) Grove. There are 7 pesticides (Score 250EC, Antracol 70WP, Nativo 750WG, Starone 20WP, Biobac 50WP, Abi - Kentomium and Abi - PS) can completely inhibit the growth of *P. asparagi*. In which, the 5 pesticides with the highest effectiveness against *P. asparagi* were 86.4 - 93.3%, 82.2 - 100%, 86.3 - 95.2, 79.5 - 93.3% and 75.5 - 95.2% respectively with Antracol 70WP (Propined), Starone 20WP (Chitosan 19gr/kg + Polyoxin 1g/kg), Score 250EC (Difenoconazole), Biobac 50WP (*Bacillus subtilis* 50%) and Abi - Kentomium (*Chaetomium* sp. 10^6 cfu/g). In addition, biological pesticide Abi - PS (*Pseudomonas fluorescens* 10^6 cfu/g) was quite effective against *P. asparagi* that damage asparagus plants in the field.*

Keywords: *asparagus, stem blight, *Phomopsis asparagi*, *Asparagus officinalis*, pesticides.*

1. MỞ ĐẦU

Măng tây (*Asparagus officinalis* L.) là cây trồng có giá trị dinh dưỡng cao và thường được cho rằng là vua các loài rau. Cây măng tây được trồng phổ biến tại nhiều nước trên thế giới, diện tích năm 2019 là 1.623.741ha và sản lượng 9.432.062 tấn (FAO, 2021). Trong khoảng 10 năm gần đây, cây măng tây được trồng tại nhiều nơi ở nước ta. Đây là cây trồng có giá trị kinh tế cao, doanh thu bình quân có thể đạt từ 1,0 - 2,0 tỷ đồng/ha/năm. Gần đây, diện tích măng tây không ngừng tăng lên ở nhiều địa phương, trong đó có Ninh Thuận. Cây măng tây là cây trồng lâu năm, thân mềm, giàu dinh dưỡng cũng là điều kiện thuận lợi để nhiều đối tượng sâu bệnh gây hại. Năm 2012, ở nước ta đã ghi nhận có 5 loài côn trùng và 8 loại vi sinh vật gây hại măng tây (Lê Trọng Tình và cộng sự, 2013). Hiện nay, cùng với sự gia tăng về quy mô sản xuất, sâu bệnh gây hại trên cây măng tây ngày càng nghiêm trọng, nhất là trên các ruộng măng tây đã trồng lâu năm. Cây măng tây bị khá nhiều đối tượng sâu bệnh gây hại, một số vườn bị bệnh hại nặng không cho thu hoạch. Tại Ninh Thuận, trong các loại sâu bệnh gây hại trên cây măng tây thì bệnh cháy thân gây thiệt hại lớn nhất. Nhiều cánh đồng măng sau trồng 3 - 4 năm đã bị bệnh gây hại nặng gây thất thu hoàn toàn. Mặc dù vậy, cho đến nay, tại vẫn chưa có các nghiên cứu xác định tác nhân gây bệnh và biện pháp quản lý bệnh cháy thân. Để phát triển măng tây bền vững, nâng cao năng suất và chất lượng măng tây thì việc nghiên cứu tác nhân gây bệnh và biện pháp quản lý bệnh đạt hiệu quả cao là rất cần thiết,

trong đó có nghiên cứu sử dụng hợp lý thuốc bảo vệ thực vật. Xuất phát từ những yêu cầu trên chúng tôi “*Nghiên cứu xác định tác nhân gây bệnh và thuốc trừ bệnh cháy thân cây măng tây tại Ninh Thuận*”.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

Bệnh cháy thân cây măng tây.

2.2. Thời gian và địa điểm

Nghiên cứu được thực hiện năm 2021 tại Ninh Thuận.

2.3. Vật liệu

Các trang thiết bị, dụng cụ nghiên cứu bệnh cây (buồng cấy vô trùng, kính lúp soi nổi, kính hiển vi, máy ảnh, cân điện tử, đĩa petri, bình tam giác...), nhà kính, môi trường WA và PDA, thuốc trừ bệnh và bình phun thuốc.

2.4. Nội dung nghiên cứu

- Nghiên cứu tác nhân gây bệnh cháy thân cây măng tây tại Ninh Thuận.
- Đánh giá hiệu lực trừ bệnh cháy thân cây măng của một số loại thuốc bảo vệ thực vật.

2.5. Phương pháp nghiên cứu

2.5.1. Nghiên cứu tác nhân gây bệnh cháy thân cây măng tây tại Ninh Thuận

Thực hiện các theo quy tắc Koch:
i) Mô tả các triệu chứng biểu hiện ở cây măng tây bị bệnh; ii) Phân lập vi sinh gây bệnh: Lựa chọn, thu những mẫu có vết bệnh biểu hiện đặc trưng cho vào túi nylon ghi nhãn và vận chuyển về phòng

thí nghiệm để phân lập. Nguồn nấm thuần được cấy trên môi trường PDA và giữ ở nhiệt độ 20 - 25°C để quan sát các đặc điểm như sự phát triển của nấm, màu sắc tản nấm, hình thái của quả cành và bào tử trên kính hiển vi; iii) Lấy bệnh nhân tạo: Chuẩn bị cây măng tây 60 ngày sạch bệnh trong điều kiện nhà kính. Lấy dung dịch có mật độ 10^6 bào tử/ml phun ướt đều trên cây măng tây sạch bệnh. Sau khi phun lây nhiễm lên cây, duy trì độ ẩm trên 90% trong 72 giờ. Chăm sóc phun ẩm và theo dõi hàng ngày đến khi cây măng tây xuất hiện vết bệnh. So sánh triệu chứng bệnh với triệu chứng bệnh ban đầu; iv) Phân lập lại tác nhân gây bệnh từ cây có triệu chứng bệnh và so sánh với sinh vật đã sử dụng lây nhiễm nhân tạo.

Theo dõi: i) Đặc điểm hình thái, màu sắc của tản nấm, sợi nấm, bào tử, quả cành; ii) Xác định tác nhân gây bệnh cháy thân trên măng tây dựa theo mô tả của

Agrios (2005); iii) Đo bán kính tản nấm sau 1, 2, 3, 4, 5, 6 ngày tại 4 vị trí ở 4 phía và lấy số trung bình.

2.5.2. Đánh giá hiệu lực trừ bệnh cháy thân măng tây của một số thuốc

- Phương pháp khảo nghiệm thuốc trong phòng thí nghiệm: Thí nghiệm 13 công thức. Bố trí 3 đĩa petri/lần nhắc, lặp lại 4 lần. Pha thuốc vào môi trường PDA khi nhiệt độ môi trường 45 - 50°C, sau đó đổ môi trường vào đĩa petri. Nồng độ thuốc khảo nghiệm bằng 1/3 nồng độ khuyến cáo.

Nuôi cấy nấm trên môi trường PDA, dùng nấm 6 ngày tuổi để thí nghiệm. Cắt một miếng thạch nhỏ (2 × 2 mm) từ rìa mỗi tản nấm và cấy vào điểm giữa mặt môi trường của đĩa petri. Hằng ngày đo bán kính của tản nấm sau khi cấy nấm 1, 2, 3, 4, 5, 6 ngày tại 4 vị trí ở 4 phía và lấy số trung bình.

Bảng 1. Các loại thuốc thuốc khảo nghiệm trong phòng thí nghiệm (Nha Hố, năm 2021)

Công thức	Hoạt chất, tác nhân sinh học	Nồng độ khuyến cáo (l, kg/ha)	Nồng độ khảo nghiệm (%)
1. Champion 37.5SC	Copper hydroxide	1,20	0,50
2. Validacin 5SL	Validamycin	1,25	0,52
3. Amistar Top 325SC	Azoxystrobin + Difenconazole	0,80	0,33
4. Ditacin 8SL	Ningnamycin 8%	0,60	0,25
5. Score 250EC	Difenconazole 250gr/l	0,50	0,21
6. Antracol 70WP	Propined	2,00	0,83
7. Nativo 750WG	Tebuconazole + Trifloxystrobin	0,30	0,13
8. PolyRam 80WG	Metiram complex	3,00	1,25
9. Starone 20WP	Chitosan 19gr/kg + Polyoxin 1g/kg	0,60	0,25
10. Biobac 50WP	<i>Bacillus subtilis</i> 50%	2,00	0,83
11. Abi-Kentomium	<i>Chaetomium</i> sp $\geq 10^6$ CFU/g	0,60	0,25
12. Abi-PS	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 10^6 CFU/g	0,60	0,25
13. Đối chứng	Nước lã	-	-

Đánh giá ảnh hưởng của thuốc đến sự phát triển của nấm:

+ Bán kính tản nấm trung bình:

$$d = \frac{d_1 + d_2 + d_3 + d_4}{4}$$

Trong đó: d_1, d_2, d_3, d_4 là kích thước 4 phía của tản nấm.

+ Hiệu lực ức chế của thuốc đối với nấm *P. asparagi* tính theo của công thức Abbott:

$$H (\%) = ((C-T)/C) \times 100$$

Trong đó: H: Hiệu lực (%);

C: Đường kính tản nấm ở công thức đối chứng.

T: Đường kính tản nấm ở công thức xử lí thuốc.

- Phương pháp khảo nghiệm hiệu lực của thuốc trừ nấm ngoài đồng:

Từ kết quả khảo nghiệm thuốc trong phòng thí nghiệm, chọn 7 loại thuốc (Starone 20WP, Biobac 50WP, Abi-Kentomium, Abi-PS, Score 250EC, Nativo 750WG, Antracol 70WP) có hiệu quả nhất để khảo nghiệm ngoài đồng. Thí nghiệm gồm 8 công thức bố trí theo khối đầy đủ ngẫu nhiên (RCBD), lặp lại 3 lần, diện tích ô là 30m².

Phun thuốc 2 lần cách nhau 5 ngày. Điều tra tỷ lệ và chỉ số bệnh trước và 3, 5, 7, 10 ngày sau phun thuốc lần thứ nhất. Mỗi công thức theo dõi 5 điểm, mỗi điểm theo dõi 5 cây cố định (cả thân và cành). Đếm tổng số cây bị bệnh và

phân cấp bệnh, từ đó tính tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh.

Bảng cấp bệnh như sau: Cấp 1: Vết bệnh đến 10% diện tích thân cây bị bệnh; Cấp 3: > 10 - 20% diện tích thân cây bị bệnh; Cấp 5: > 20 - 30% diện tích thân cây bị bệnh; Cấp 7: > 30 - 40% diện tích thân cây bị bệnh; Cấp 9: > 40% diện tích thân cây bị bệnh.

Tính hiệu lực của thuốc tính theo công thức Abbott:

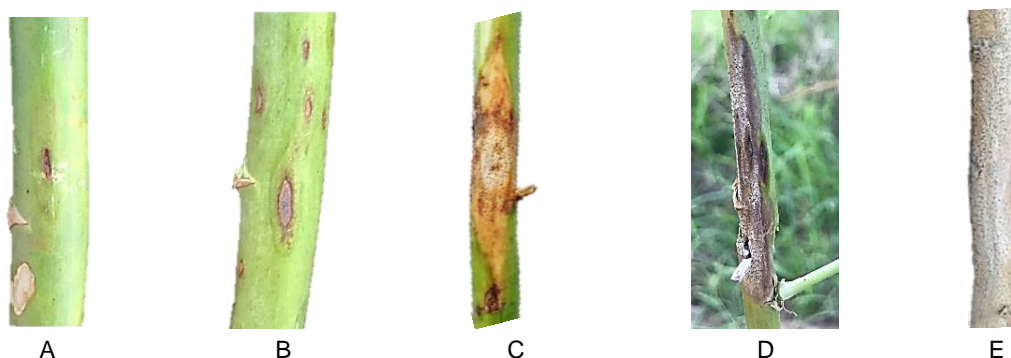
$$\text{Hiệu lực (\%)} = 100 \times \left(1 - \frac{T_a - T_b}{C_a - C_b} \right)$$

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập và xác định tác nhân gây bệnh cháy thân măng tây

3.1.1. Triệu chứng vết bệnh trên cây măng tây

Triệu chứng bệnh ban đầu là các vết bệnh nhỏ, hình elip, trung tâm vết bệnh có màu xám, rìa vết bệnh có màu nâu đỏ, giữa vết bệnh lõm xuống. Về sau, các vết bệnh có màu xám trắng. Các vết bệnh liên kết lại với nhau có hình dạng bất định, bên trên bề mặt vết bệnh xuất hiện các chấm nhỏ màu đen. Từ vị trí của vết bệnh trên thân đến chóp lá, thân cành cây măng tây khô dần và cuối cùng cây khô hoàn toàn có màu nâu vàng. Khi vết bệnh lan khắp thân, cành, lá, các bộ phận này sẽ bị khô đi, cuối cùng cả cây măng tây sẽ khô và chết đi.



Hình 1. Triệu chứng bệnh cháy thân cây măng tây từ lúc mới xuất hiện (A) đến khi bệnh gây hại nặng (E) (Ninh Thuận, 2021)

3.1.2. Kết quả quan sát hình thái tác nhân gây bệnh

* Hình thái của nấm quan sát trực tiếp từ mẫu bệnh: Kiểm tra quả cành và bào tử nấm trực tiếp từ mẫu bệnh dưới kính hiển vi cho thấy, các bào tử phân sinh có dạng hình oval, hai đầu bào tử hơi tròn, có vách ngăn ngang, không màu. Tán nấm có màu trắng mọc sát bề mặt môi trường, sau đó trên bề mặt tán nấm có hình thành các chấm nhỏ màu đen.

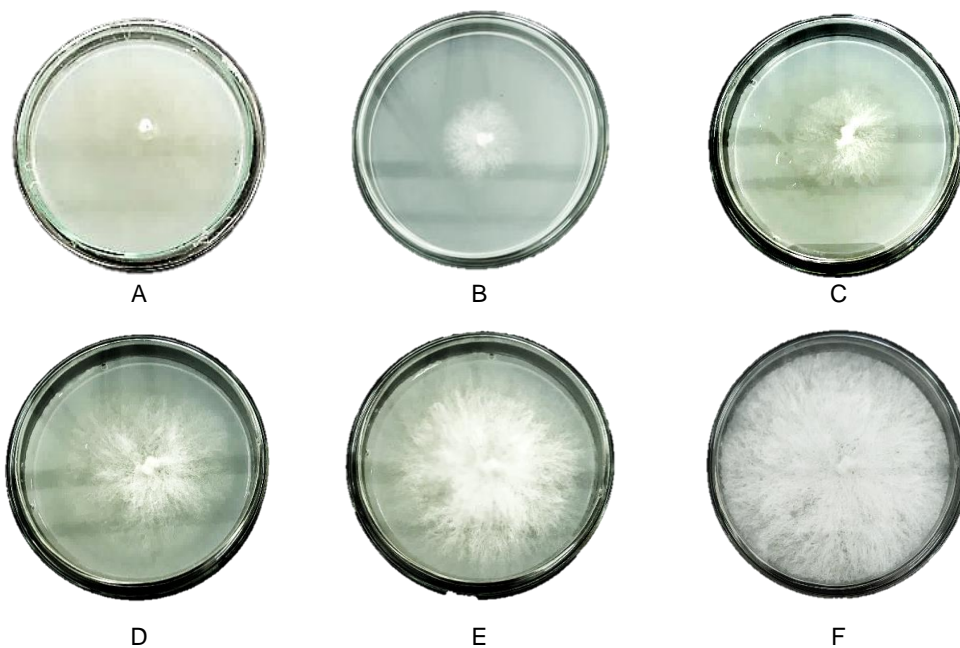
* Hình thái của nấm trên môi trường PDA: Nuôi cấy nấm trên môi trường PDA cho thấy, tán nấm có màu trắng và nằm

sát bề mặt môi trường. Đặc điểm của sợi nấm và bào tử giống như khi quan sát trực tiếp từ mẫu bệnh thu thập ngoài đồng (hình 2 và 3, bảng 1).

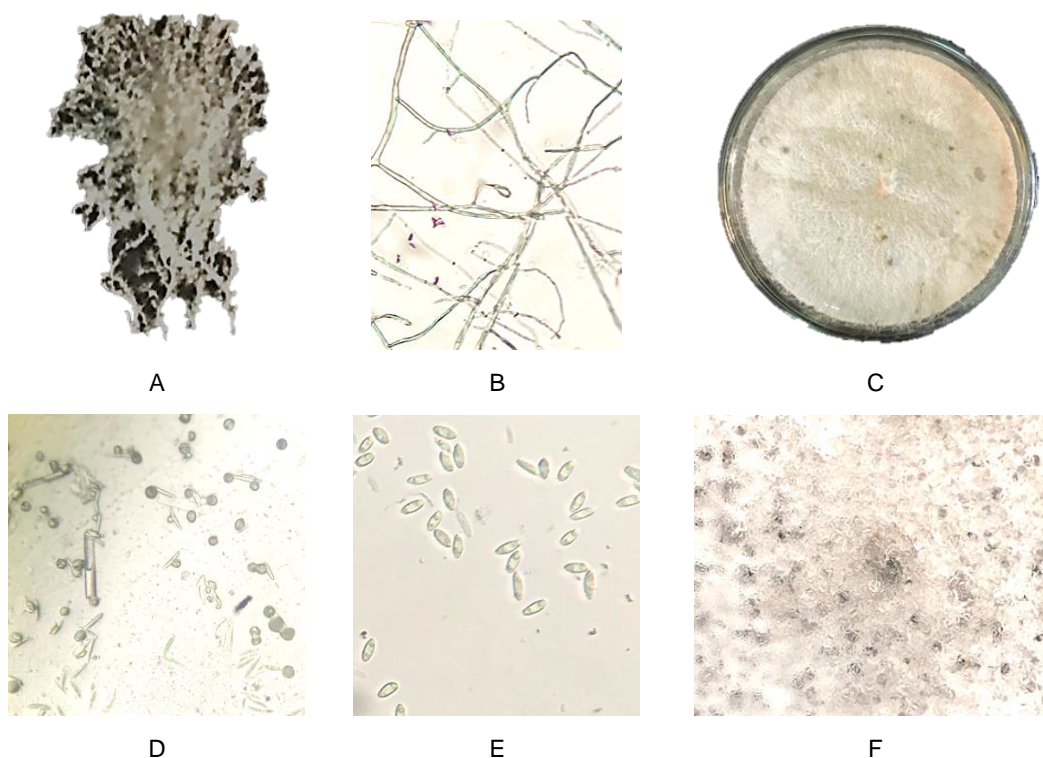
Dựa theo các mô tả Agrios (2005), cho thấy tác nhân gây bệnh cháy thân trên cây măng tây tại Ninh Thuận là nấm *Phomopsis asparagi* (Sacc.) Grove. Chi *Phomopsis*, họ Valsaceae, bộ Diaporthales. Kết quả này cũng tương tự như kết quả nghiên cứu của các tác giả trước trên cây măng tây tại miền Bắc Việt Nam (Thao and Dung, 2019; Bùi Phương Anh, 2019).

Bảng 1. Đặc điểm của nấm *Phomopsis asparagi* (Sacc.) Grove trên môi trường PDA (Ninh Thuận, năm 2021)

Thời gian (ngày sau cấy)	Đặc điểm tán nấm	Đường kính tán nấm (mm)
1	Tán nấm màu trắng	6,6 ± 1,8
2	Tán nấm màu trắng, mọc sát bề mặt môi trường	20,4 ± 4,2
3	Tán nấm màu trắng, mọc sát bề mặt môi trường	46,2 ± 6,6
4	Tán nấm màu trắng, mọc sát bề mặt môi trường	61,2 ± 9,5
5	Tán nấm màu trắng, các sợi nấm xếp chồng lên nhau, mọc sát bề mặt môi trường	73,0 ± 5,2
6	Tán nấm màu trắng, xếp chồng lên nhau, mọc sát bề mặt môi trường	90,0 ± 1,4
12	Tán nấm màu trắng, sợi nấm phát triển thành lớp. Các quả cành thối màu xuất hiện	-



Hình 2. Đặc điểm hình thái và tốc độ phát triển của tàn nấm gây bệnh cháy thân măng tây trên môi trường PDA ở 1 (A), 2 (B), 3 (C), 4 (D), 5 (E) và 6 (F) ngày sau cấy (Nha Hổ, 2021)



Hình 3. Hình thái nấm gây bệnh cháy thân cây măng tây tại Ninh Thuận (2021)
 (A: Sợi nấm quan sát bằng mắt thường; B: Sợi nấm quan sát dưới kính hiển vi (40x);
 C: Tàn nấm; D: Bào tử (100x); E, F: Quả cành (40x))

3.1.3. Kết quả lây bệnh nhân tạo nấm *P. asparagi* (Sacc.) Grove trên cây măng tây



A



B

Hình 4. Cây măng tây sạch bệnh (A) và triệu chứng bệnh trên thân (B) do nấm *P. asparagi* (Sacc.) Grove gây ra sau lây bệnh nhân tạo 9 ngày (Ninh Thuận, 2021)

Sau 7 ngày lây nhiễm, thân cây măng tây bắt đầu xuất hiện vết bệnh màu nâu hình elip. Đến ngày thứ 9, vết bệnh lan rộng ra, có màu nâu, hình elip, đồng thời sau đó có các chấm rất nhỏ màu đen, quả cành xuất hiện. Đến ngày thứ 12, vết bệnh đã biểu hiện rõ giống như mô tả tại trên mục 3.1.1. Thu mẫu có tác nhân gây bệnh và quan sát dưới kính hiển vi thì cho kết quả bào tử và quả cành giống như *P. asparagi* (Sacc.) Grove mô tả ở mục 3.1.2.

Kết quả thu mẫu bệnh trên cây măng tây lây bệnh nhân tạo để phân lại trên môi trường PDA cho thấy, đặc điểm tản nấm, sợi nấm, bào tử và quả cành đặc trưng của nấm *P. asparagi* (Sacc.) Grove.

Điều đó khẳng định nấm *P. asparagi* (Sacc.) Grove là tác nhân gây bệnh cháy thân cây măng tây tại Ninh Thuận.

3.2. Kết quả khảo nghiệm hiệu lực thuốc trừ bệnh cháy thân cây măng tây

3.2.1. Kết quả khảo nghiệm thuốc trong phòng thí nghiệm

Kết quả nghiên cứu cho thấy, trong 12 loại thuốc khảo nghiệm có 7 loại thuốc ức chế hoàn toàn khả năng phát triển của nấm *P. asparagi* (Sacc.) Grove gồm Score 250EC, Antracol 70WP, Nativo 750WG, Starone 20WP, Biobac 50WP, Abi-Kentomium và Abi-PS (bảng 2 và hình 5). Các loại thuốc Amistar Top 325SC và PolyRam 80WG có hiệu lực ức chế nấm *P. asparagi* (Sacc.) Grove trên 90%. Các loại thuốc khảo nghiệm còn lại có hiệu lực ức chế nấm *P. asparagi* (Sacc.) Grove thấp dưới 65%.

Bảng 2. Hiệu lực ức chế nấm *P. asparagi* (Sacc.) Grove phát triển của các loại thuốc trong phòng thí nghiệm (Ninh Thuận, năm 2021)

Công thức	Sau 2 ngày		Sau 4 ngày		Sau 6 ngày	
	d (mm)	H (%)	d (mm)	H (%)	d (mm)	H (%)
1. Champion 37.5SC	9,0	55,7	23,9	60,6	33,8	62,1
2. Validacin 5SL	7,3	64,0	14,0	77,1	17,8	80,1
3. Amistar Top 325SC	2,0	90,4	2,7	95,6	7,50	91,6
4. Ditanin 8SL	15,5	23,8	37,4	38,6	43,1	51,5
5. Score 250EC	0,0	100	0,0	100	0,0	100
6. Antracol 70WP	0,0	100	0,0	100	0,0	100
7. Nativo 750WG	0,0	100	0,0	100	0,0	100
8. PolyRam 80WG	0,0	100	1,0	98,4	5,9	93,4
9. Starone 20WP	0,0	100	0,0	100	0,0	100
10. Biobac 50WP	0,0	100	0,0	100	0,0	100
11. Abi-Kentomium	0,0	100	0,0	100	0,0	100
12. Abi-PS	0,0	100	0,0	100	0,0	100
13. Đối chứng	23,5	-	61,2	-	89,2	-
<i>LSD</i> _{0,05}	0,9	4,9	3,0	5,2	3,3	3,9

Ghi chú: H: Hiệu lực; d: Đường kính tán nấm.



Hình 5. Tán nấm *P. asparagi* ở các công thức khảo nghiệm sau khi cấy 6 ngày (Ninh Thuận, 2021)

3.2.2. Kết quả khảo nghiệm thuốc ngoài đồng

Từ kết quả khảo nghiệm thuốc trong phòng, chọn được 7 loại thuốc có khả năng ức chế hoàn toàn sự phát triển của nấm *P. asparagi* (Sacc.) Grove gồm Score 250EC, Antracol 70WP, Nativo 750WG, Starone 20WP, Biobac 50WP, Abi-Kentomium, Abi-PS (bảng 2) để khảo nghiệm ngoài đồng.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, tỷ lệ bệnh cháy thân trên cây măng tây ở thời điểm trước phun thuốc tương đối đồng đều giữa các công thức, 6,7 - 8,0% (bảng 3). Sau khi phun thuốc 3 ngày, tỷ lệ bệnh ở các công thức xử lý thuốc có xu hướng tăng nhưng thấp hơn rất nhiều và sai khác có ý nghĩa thống kê so với đối chứng. Trong đó, công thức Nativo 750WG có tỷ lệ bệnh cao hơn so với các công thức xử lý thuốc còn lại.

**Bảng 3. Tỷ lệ bệnh cháy thân cây trên các công thức khảo nghiệm
(Ninh Thuận, 2021)**

Công thức	Tỷ lệ bệnh cháy thân măng tây (%)				
	TP	3 NSP	5 NSP	7 NSP	10 NSP
1. Starone 20WP	7,3	7,3 ^c	9,3 ^d	11,3 ^d	13,3 ^d
2. Biobac 50WP	6,7	7,3 ^c	9,3 ^d	12,0 ^d	16,7 ^{bcd}
3. Abi-Kentomium	8,0	8,7 ^c	12,7 ^{bc}	16,7 ^b	20,0 ^b
4. Abi-PS	8,0	9,3 ^c	11,3 ^{bcd}	15,3 ^{bc}	18,7 ^{bc}
5. Score 250EC	7,3	8,0 ^c	10,0 ^{cd}	11,3 ^d	14,0 ^{cd}
6. Nativo 750WG	6,7	12,0 ^b	13,3 ^b	13,3 ^{cd}	15,3 ^{bcd}
7. Antracol 70WP	8,0	8,7 ^c	10,6 ^{bcd}	12,7 ^{cd}	14,7 ^{cd}
8. Đối chứng	7,3	18,7 ^a	30,0 ^a	42,0 ^a	56,7 ^a
<i>LSD_{0,05}</i>	-	2,5	2,9	1,9	2,6

Ghi chú: TP: Trước phun; NSP: Ngày sau phun.

**Bảng 4. Chỉ số bệnh cháy thân trên các công thức khảo nghiệm
(Ninh Thuận, 2021)**

Công thức	Chỉ số bệnh cháy thân măng tây (%)				
	TP	3 NSP	5 NSP	7 NSP	10 NSP
1. Starone 20WP	1,0	1,1 ^c	1,7 ^{bc}	2,0 ^c	2,4 ^{cd}
2. Biobac 50WP	1,0	1,7 ^{bc}	3,2 ^b	4,1 ^b	4,6 ^{bcd}
3. Abi - Kentomium	1,2	2,1 ^{bc}	2,9 ^{bc}	4,5 ^b	5,0 ^{bc}
4. Abi - PS	0,7	1,9 ^{bc}	2,5 ^{bc}	3,1 ^{bc}	3,8 ^{bcd}
5. Score 250EC	1,2	1,3 ^{bc}	2,8 ^{bc}	3,4 ^{bc}	4,2 ^{bcd}
6. Nativo 750WG	1,0	2,5 ^b	3,3 ^b	4,1 ^b	5,2 ^b
7. Antracol 70WP	1,0	1,3 ^c	1,5 ^c	1,7 ^c	2,3 ^d
8. Đối chứng	1,0	4,2 ^a	8,8 ^a	17,7 ^a	24,5 ^a
<i>LSD_{0,05}</i>	-	1,2	1,6	1,9	2,6

Ghi chú: TP: Trước phun; NSP: Ngày sau phun.

Giai đoạn 5 ngày sau phun thuốc, có 5 loại thuốc hạn chế được sự gia tăng tỷ lệ bệnh tốt nhất là Starone 20WP, Biobac 50WP, Score 250EC, Antracol 70WP và Abi-PS. Cũng từ thời điểm này, xử lý thuốc lần thứ 2 nên tỷ lệ bệnh có sự khác biệt giữa các công thức ở thời điểm 7 và 10 ngày sau phun thuốc. Tỷ lệ bệnh ở các công thức có xử lý thuốc tăng chậm hơn so với công thức đối chứng. Trong đó, 5

công thức có tỷ lệ bệnh thấp nhất lần lượt là Starone 20WP (13,3%), Score 250EC (14%), Antracol 70WP (14,7%), Nativo 750WG (15,3%) và Biobac 50WP (16,7%) so với đối chứng là 56,7%.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, chỉ số bệnh cháy thân cây măng tây ở thời điểm trước phun thuốc dao động trong khoảng 0,9 - 1,2% và tương đối đồng đều giữa các công thức thí nghiệm (bảng 4). Sau

khi phun thuốc 3 ngày, chỉ số bệnh ở các công thức xử lý thuốc có xu hướng tăng nhưng thấp hơn rất nhiều so với đối chứng. Trong đó, chỉ số bệnh ở thuốc Starone 20WP và Antracol 70WP thấp nhất.

Giai đoạn 5, 7 và 10 ngày sau phun thuốc các công thức có xử lý thuốc chỉ số bệnh tăng chậm hơn so với công thức đối

chứng. Các công thức phun thuốc Starone 20WP và công thức Antracol 70WP có khả năng hạn chế tốt sự gia tăng chỉ số bệnh cháy thân cây măng tây (chỉ số bệnh chỉ từ 2,3 đến 2,4%) và sai khác có ý nghĩa so với thuốc Nativo 750WG. Thuốc Antracol 70WP có khả năng kiểm soát bệnh cao nhất trong tất cả các công thức có xử lý thuốc, kể đến là Starone 20WP.

Bảng 5. Hiệu lực trừ bệnh cháy thân măng tây của các thuốc khảo nghiệm (Ninh Thuận, năm 2021)

Công thức	Hiệu lực trừ bệnh cháy thân tại các kỳ điều tra (%)			
	3 NSP	5 NSP	7 NSP	10 NSP
1. Starone 20WP	100,0 ^a	82,2 ^{ab}	83,0 ^{ab}	85,6 ^a
2. Biobac 50WP	93,3 ^a	87,7 ^a	84,5 ^{ab}	79,5 ^{bc}
3. Abi-Kentomium	95,2 ^a	79,6 ^{ab}	75,0 ^c	75,2 ^c
4. Abi-PS	57,1 ^b	55,6 ^c	55,9 ^d	54,6 ^d
5. Score 250EC	95,2 ^a	88,5 ^a	88,4 ^a	86,3 ^a
6. Nativo 750WG	54,3 ^b	70,3 ^{bc}	80,6 ^{bc}	81,9 ^{ab}
7. Antracol 70WP	93,3 ^a	88,0 ^a	86,6 ^{ab}	86,4 ^a
CV (%)	20,8	11,5	5,5	4,1
LSD _{0,05}	31,1	16,1	7,7	5,8

Ghi chú: NSP: Ngày sau phun.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, 3 ngày sau phun thuốc hiệu lực phòng trừ bệnh cháy thân cây măng tây của thuốc Starone 20WP đạt 100%, tiếp đến là các thuốc Score 250EC và Abi-Kentomium đạt 95,2%, Antracol 70WP và Biobac 50WP đạt 93,3%, các thuốc còn lại đạt dưới 60%. 5 ngày sau phun, hiệu lực phòng trừ bệnh cháy thân cây măng tây ở các công thức giảm, trong đó, hiệu lực của các thuốc Starone 20WP, Biobac 50WP, Score 250EC, Antracol 70WP đạt trên 80% và các thuốc còn lại đạt dưới 80%. Ở 7 và 10 ngày sau phun, hiệu lực trừ bệnh cháy thân cây măng tây của công thức hầu hết đều đạt trên 80% ngoại trừ các

thuốc Abi-Kentomium (75,0% và 75,2%) và Abi-PS (55,9% và 54,6) (bảng 5).

Nhìn chung, bên cạnh các thuốc hoá học có hiệu lực cao trừ bệnh cháy thân cây măng tây như Antracol 70WP (Propined), Score 250EC (Difenoconazole) thì các thuốc an toàn hơn với môi trường như Starone 20WP (Chitosan 19 gr/kg + Polyoxin 1 g/kg), Biobac 50WP (*Bacillus subtilis* 50%) và Abi-Kentomium (*Chaetomium* sp. $\geq 10^6$ cfu/g) cũng có hiệu lực trừ bệnh tương đương với thuốc hoá học. Ngoài ra, Abi-PS (*Pseudomonas fluorescens* 10^6 cfu/g) cũng là thuốc sinh học có hiệu lực khá với nấm bệnh gây hại cây măng tây trên đồng.

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Tác nhân gây bệnh cháy thân cây măng tây tại Ninh Thuận là nấm *Phomopsis asparagi* (Sacc.) Grove. Chi *Phomopsis*, họ Valsaceae, bộ Diaporthales.

Qua khảo nghiệm 12 loại thuốc trong phòng, xác định được 7 loại thuốc có khả năng ức chế hoàn toàn sự phát triển của nấm *P. asparagi* (Sacc.) Grove gồm Score 250EC, Antracol 70WP, Nativo 750WG, Starone 20WP, Biobac 50WP, Abi-Kentomium và Abi-PS. Trong đó, 5 loại thuốc có hiệu lực cao trừ bệnh cháy thân măng tây ngoài đồng là Antracol 70WP (Propined), Starone 20WP (Chitosan 19 gr/kg + Polyoxin 1 g/kg), Score 250EC (Difenoconazole), Biobac 50WP (*Bacillus subtilis* 50%) và Abi - Kentomium (*Chaetomium* sp $\geq 10^6$ cfu/g). Thuốc sinh học Abi-PS (*Pseudomonas fluorescens* 10^6 cfu/g) có hiệu lực khá với nấm bệnh gây hại cây măng tây trên đồng.

4.2. Đề nghị

Sử dụng các loại thuốc Starone 20WP (0,6 kg/ha/lần phun), Biobac 50WP (2,0 kg/ha), Abi-Kentomium (0,6 kg/ha/lần phun), Antracol 70WP (1,8 kg/ha) và Score 250EC (0,500 lít/ha) để trừ nấm *P. asparagi* (Sacc.) Grove gây bệnh cháy thân cây măng tây.

Nghiên cứu liều lượng xử lý nấm *P. asparagi* (Sacc.) Grove gây bệnh

măng tây trên đồng phù hợp cho thuốc sinh học Abi-PS (*Pseudomonas fluorescens* 10^6 CFU/g).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Trọng Tình và cộng sự (2013), Chuyên giao mô hình thâm canh rau măng tây xanh đạt năng suất cao theo tiêu chuẩn VietGAP. Báo cáo Dự án Cạnh tranh nông nghiệp tỉnh Ninh Thuận. Viện Nghiên cứu Bông và Phát triển nông nghiệp Nha Hồ.
2. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (2010), QCVN 01-38:2010/BNNPTNT Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây trồng.
3. Bùi Phương Anh (2019), Nghiên cứu nấm *Phomopsis asparagi* gây bệnh tàn lụi trên cây măng tây tại Hà Nội và vùng lân cận. Luận văn thạc sĩ Học viện Nông nghiệp Việt Nam.
4. L.D. Thao and N.T. Dung (2019), First report of *Phomopsis asparagi* causing stem blight on asparagus in Vietnam. <http://dx.doi.org/10.5197/j.2044 - 0588.2019.039.007>.
5. K. Elena (2006), First report of *Phomopsis asparagi* causing stem blight of asparagus in Greece. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365 - 3059.2005.01265.x/pdf>.
6. Kew Science (2017), *Asparagus officinalis* L. [Http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:531229 - 1#other-data](http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:531229 - 1#other-data).
7. USDA (2018), *Asparagus officinalis* L. garden asparagus. [Https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=ASOF](https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=ASOF).
8. Elmer W. H., D. A. Johnson và T. A. Evans (2000), Diseases of Asparagus (*Asparagus officinalis*). [Https://www.apsnet.org/publications/commonnames/Pages/Asparagus.aspx](https://www.apsnet.org/publications/commonnames/Pages/Asparagus.aspx)
9. Brunning, P. (2010), Asparagus Liliaceae Asparagaceae. The International Wine and Food Society Europe and Africa Committee 103.
10. George N. Agrios (2005), Plant pathology. Department of Plant Pathology. University of Florida.

KHẢO SÁT MỘT SỐ CHI NẤM GÂY BỆNH TRÊN LỤC BÌNH (*Eichornia crassipes*) TẠI KHU VỰC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

Phạm Kim Huyền^{1*}, Phạm Thị Hồng Nhung¹,
Huỳnh Hữu Vinh¹, Phạm Thị Anh¹,
Nguyễn Bảo Quốc¹, Võ Thị Ngọc Hà¹

¹Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

*Tác giả liên hệ: kimhuyen.codai@gmail.com

TÓM TẮT

Các mẫu lục bình có các triệu chứng bệnh như đốm lá, cháy lá hoặc hoại tử được thu thập từ các địa điểm khác nhau thuộc khu vực thành phố Hồ Chí Minh (TP. HCM). Tần suất xuất hiện của các chi nấm khác nhau và khả năng gây bệnh trong điều kiện phòng thí nghiệm đã được đánh giá. Kết quả phân lập và định danh bằng đặc điểm hình thái cho thấy có tất cả 106 mẫu phân lập nấm thuộc 7 chi nấm khác nhau bao gồm chi *Curvularia* spp., *Colletotrichum* spp., *Rhizoctonia* spp., *Alternaria* spp., *Fusarium* spp., *Helminthosporium* spp., *Trichoderma* spp. Tuy nhiên tần suất xuất hiện các chi nấm là khác nhau và xuất hiện thường xuyên nhất là chi *Curvularia* spp. và chi *Colletotrichum* spp. với tỷ lệ tương ứng đạt 36,8% và 29,2%. Trong đó, chi *Colletotrichum* spp. có khả năng gây bệnh cao nhất với tỉ lệ gây bệnh trong điều kiện phòng thí nghiệm là 17,2% và thấp nhất là *Alternaria* spp. với 0,7%.

Từ khóa: lục bình, nấm gây bệnh lục bình, tần suất xuất hiện.

ABSTRACT

The survey for fungal pathogens of water hyacinth (*Eichornia crassipes*) in Ho Chi Minh City

Water hyacinth samples with disease symptoms such as foliar spots, leaf burn or necrosis were collected from different locations in Ho Chi Minh City (HCMC). The frequency of occurrence of different fungal genera were recorded and their pathogenicity was tested. The results of isolation and identification by morphological characterization showed the presence of 106 fungi associated with water hyacinth leaves belonging to 7 different genera including *Curvularia* spp., *Colletotrichum* spp., *Rhizoctonia* spp.,

Người phân biện: PGS.TS. Nguyễn Thị Phương Thảo.

Alternaria spp., *Fusarium spp.*, *Helminthosporium spp.*, *Trichoderma spp.* However, the percentages of presence were deferent and the most frequently were *Curvularia spp.* and *Colletotrichum spp.* reached 36.8% and 29.2%. respectively. In which, the highest pathogenicity on water hyacinth was *Colletotrichum spp.* with PDI of 17.2%, meanwhile the lowest pathogenicity was observed in *Alternaria spp.* with PDI of 0.7%.

Keywords: *Eichhornia crassipes*, fungal diseases on water hyacinth, frequency of occurrence.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lục bình (*Eichhornia crassipes*), bèo tây hay bèo Nhật Bản là một loài thực vật thủy sinh nổi trên mặt nước thuộc họ Pontederiaceae, là loài xâm lấn thành công nhất trong giới thực vật (Njoka, 2004). Lục bình có tiềm năng lớn trong việc loại bỏ nhiều chất ô nhiễm trong nước thải (Mangabeira và ctv., 2004). Tuy nhiên, lục bình lại là loài cỏ dại độc hại nhất thế giới tại ít nhất 59 quốc gia (Harley và ctv., 1996). Trên thực tế, lục bình có thể tăng gấp đôi số lượng cây trong vòng 6 - 15 ngày (Kumar và ctv., 1985). Ba cây có thể sản xuất 3.000 cây mới trong 50 ngày (Aston, 1973) hoặc 140 triệu cây mỗi năm. Lục bình hình thành các thảm dày đặc làm cản trở giao thông đường thủy; suy giảm chất lượng và ảnh hưởng đến đa dạng sinh học (Gopal, 1987). Lục bình là điều kiện lý tưởng cho muỗi phát triển, gây ảnh hưởng đến sức khỏe con người (Viswam và ctv., 1989). Để chống lại các vấn đề gây ra bởi lục bình, một số biện pháp kiểm soát lục bình đã được áp dụng như cơ giới, vật lý và hóa học, tuy nhiên các biện pháp này được ứng dụng rất hạn chế ở hầu hết các quốc gia vì khó áp dụng trên diện rộng và tính bền vững thấp. Kiểm soát lục bình bằng biện pháp sinh

học được xem là biện pháp thay thế đang được quan tâm vì không tốn chi phí cho lao động, không cần đầu tư thiết bị chuyên dụng, có tính hiệu quả lâu dài và không gây tác động đến hệ sinh thái (Viswam và ctv., 1989). Theo Perkins (1973), dùng thiên địch để kiểm soát sự gây hại của lục bình lần đầu tiên được đưa vào Mỹ đầu thập niên 70 và cho đến nay đã có 7 loài thiên địch được đưa vào 33 nước trên thế giới để kiểm soát lục bình (Julien và Griffith, 1998). Ngoài ra, kiểm soát sinh học bằng cách sử dụng nấm gây bệnh cũng đã được nghiên cứu và sử dụng thành công trong công tác kiểm soát lục bình. *Cercospor apiaropi* là nguyên nhân gây ra sự suy giảm nghiêm trọng của lục bình tại Nam Phi năm 1990 (Morris, 1990). *Alternaria eichhorniae* từng được xem là tác nhân kiểm soát sinh học tiềm năng đối với lục bình vào năm 1970 ở Ấn Độ (Nag Raj và Ponnappa, 1970). Song các nghiên cứu về nấm gây bệnh trên lục bình tại Việt Nam còn hạn chế, do đó chúng tôi thực hiện nghiên cứu này với mục đích khảo sát tần suất xuất hiện của các chi nấm gây bệnh trên lục bình tại khu vực TP. Hồ Chí Minh nhằm tạo tiền đề cho các nghiên cứu dụng nấm để kiểm soát lục bình tại Việt Nam.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Các mẫu lá lục bình có triệu chứng bệnh thu tại 5 địa điểm ở khu vực TP. Hồ Chí Minh.

Hóa chất: D-glucôzo ($C_6H_{12}O_6$, 99,5%, Xilong, Trung Quốc), bột Agar (100%, Hải Long, Việt Nam), đường đôi sucrozo (99,5%, Sigma-Aldrich).

Dụng cụ và thiết bị: đĩa petri, lam kính, lamên, ống đong, dao cắt, cốc đong, đèn cồn, cồn, thước đo. Tủ cấy vô trùng, tủ sấy khử trùng ($180^{\circ}C$), nồi hấp khử trùng, cân điện tử, bếp điện từ, lò vi ba, kính hiển vi quang học Olympus CX3.

2.2. Phương pháp thu và bảo quản mẫu bệnh

Thu các mẫu lá lục bình có các triệu chứng bị nhiễm bệnh tại 5 địa điểm ở khu vực TP. HCM: sông Đồng Nai, kênh Tân Hóa - Lò Gốm, kênh Rạch Dừa, sông Rạch Chiếc, Hồ Đất - Thủ Đức (bao gồm các hệ sinh thái khác nhau ở TP. HCM như hệ sinh thái sông, kênh rạch và hồ), mỗi địa điểm thu 40 mẫu bệnh trên lá và bảo quản theo phương pháp

quản lý mẫu bệnh thực vật của Shivas và Beasley (2005).

2.3. Phương pháp phân lập

Sử dụng các loại môi trường WA (20g agar và 1 lít nước cất) và PGA (200 g khoai tây, 20 g agar, 20 g D-glucôzơ và 1 lít nước cất) để phân lập nấm. Các môi trường được hấp khử trùng ở điều kiện nhiệt độ $121^{\circ}C$ và thời gian 20 phút. Các mẫu nấm gây bệnh được phân lập từ mẫu bệnh dựa trên phương pháp của Hurria và *ctv.* (2018). Các mẫu nấm sau khi phân lập được kiểm chứng theo quy tắc Koch trên lá lục bình trong điều kiện phòng thí nghiệm theo phương pháp của Barnett và *ctv.* (1972) và đánh giá cấp độ gây bệnh của nấm sau 7 ngày theo Naseema và *ctv.* (2001).

2.4. Định danh nấm gây bệnh trên lục bình dựa vào đặc điểm hình thái

Việc xác định các nấm khác nhau dựa trên đặc điểm hình thái được mô tả bởi Gilman và *ctv.* (1959), Barnett (1960), Ellis (1976), Holliday và *ctv.* (1993), Aneja (2003) và Domsch và *ctv.* (2007). Tính tần suất xuất hiện chi nấm (Ray và Hill, 2012) theo công thức:

$$\text{Tần suất xuất hiện chi nấm} = \frac{\text{Số lượng phân lập trong 1 chi}}{\text{Tổng số mẫu nấm được phân lập}} \times 100$$

Dựa trên tần suất xuất hiện của chúng, theo El-Morsy (2004) các giống nấm phân lập được phân loại là rất thường xuyên ($> 20\%$), thường xuyên

(10 - 20%) hoặc không thường xuyên ($< 10\%$). Tính khả năng gây bệnh của các chi nấm theo công thức (Praveena and Naseema, 2004):

$$\text{Khả năng gây bệnh} = \frac{\text{Số lá cấp 1} \times 1 + \dots + \text{Số lá cấp 4} \times 4}{\text{Tổng số lá điều tra} \times 4} \times 100$$

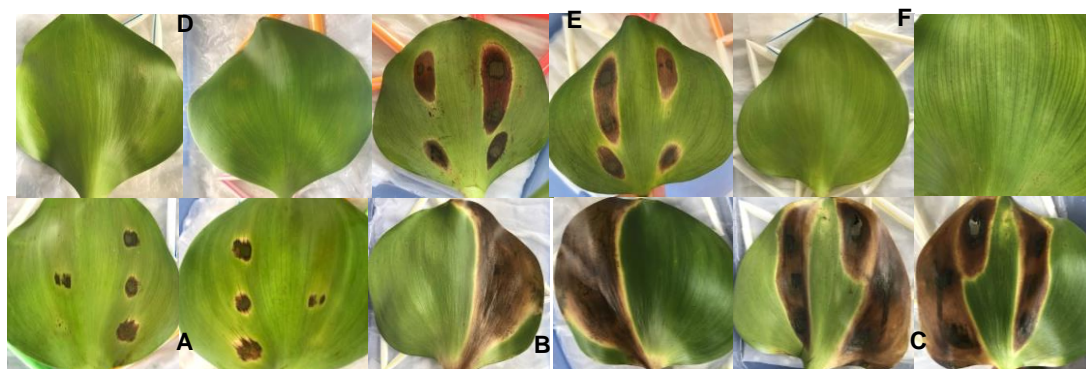
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xác định một số loài nấm gây bệnh trên lục bình dựa vào đặc điểm hình thái học

3.1.1. Kết quả phân lập mẫu bệnh

Thu thập được tất cả 200 mẫu lục bình bị bệnh có các triệu chứng khác

nhau như vàng úa, hoại tử, đốm lá, cháy lá và thối rữa từ 5 địa điểm khác nhau tại khu vực TP. HCM. Từ các mẫu bệnh thu được phân lập được tất cả 200 mẫu phân lập (MPL) nấm. Kết quả chủng Koch cho thấy có 106 MPL gây ra triệu chứng bệnh trên lá lục bình.



Hình 1. Lá lục bình 7 ngày sau chủng

(Lá không xuất hiện triệu chứng bệnh (A) và lá xuất hiện triệu chứng bệnh (B), lá đối chứng (C), lá có triệu chứng đốm lá (D), cháy lá (E) và hoại tử (F))

Từ các lá có triệu chứng khác nhau như đốm lá (hình 1D), cháy lá (hình 1E) và hoại tử (hình 1F), tiến hành tái phân lập nấm từ những vết bệnh do chủng nhân tạo và quan sát đặc điểm hình thái.

Kết quả cho thấy hình thái tản nấm và hình thái bào tử sau khi tái phân lập từ vết bệnh chủng nhân tạo đều giống với đặc điểm hình thái ban đầu (hình 2).



Hình 2. Hình thái tản nấm và bào tử của một MPL thuộc chi *Rhizoctonia* spp. sau khi tái phân lập từ vết bệnh nhân tạo (B) và MPL ban đầu (A)

3.1.2. Định danh nấm gây bệnh trên lục bình dựa vào đặc điểm hình thái

Dựa trên đặc điểm hình thái tản nấm và bào tử đã ghi nhận sự hiện diện của 7 chi nấm khác nhau.

Chi *Rhizoctonia* spp. có hai dạng hình thái đặc trưng (hình 3). Dạng 1 (hình 3A): Sợi nấm còn non không màu, khi trưởng thành có màu nâu nhạt. Sợi nấm phân nhánh vuông góc, hơi thắt lại và có

vách ngăn gần điểm phân nhánh. Dạng 2 (hình 3B): Tán nấm có màu xám đen, có các sợi bông màu trắng nổi trên bề mặt.

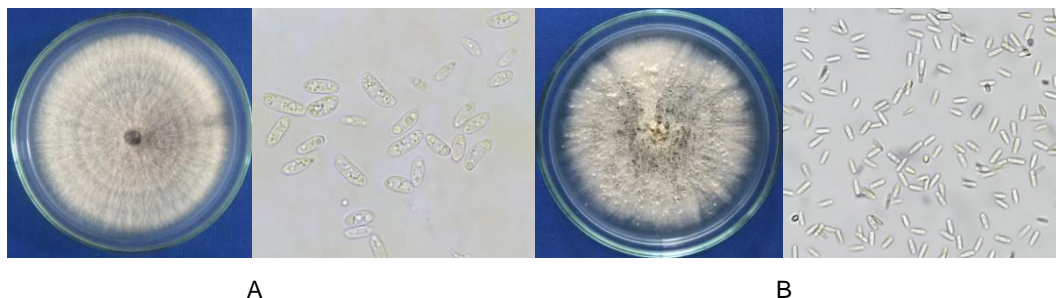
Hình thành hạch nấm do các tế bào tràng hạt nén ép chặt, xốp, không có sự phân hóa về cấu trúc giữa ruột và vỏ hạch.



Hình 3. Hình thái tán nấm và hình thái bào tử của *Rhizoctonia* spp.
(A, B là hai dạng hình thái khác nhau của chi *Rhizoctonia* spp.)

Chi *Colletotrichum* spp. có hai dạng đặc điểm hình thái khác nhau (hình 4): Dạng 1 (hình 4A): Tán nấm màu trắng đến trắng xám, mọc bung trên môi trường và tạo các vòng tròn đồng tâm. Bào tử hình

bầu dục hơi cong, đơn bào, không màu, bên trong có giọt dầu hình tròn màu xanh vàng. Dạng 2 (hình 4B): Tán nấm có màu trắng đục, có tạo hạt trên bề mặt. Bào tử nhỏ, trong suốt, hình trụ hai đầu cùn.

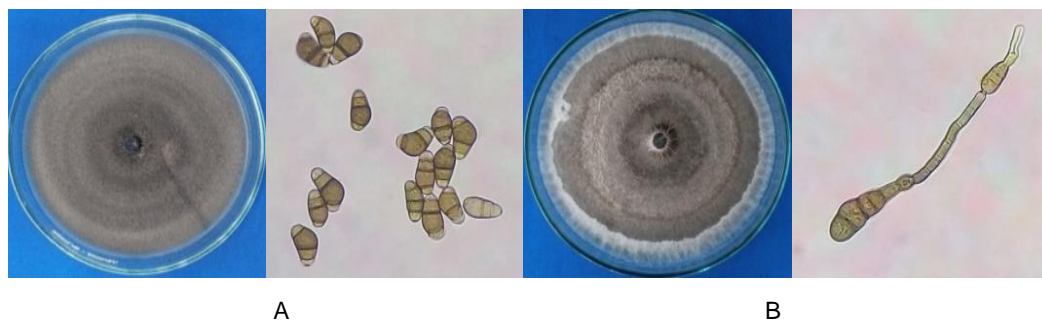


Hình 4. Hình thái tán nấm và hình thái bào tử của *Colletotrichum* spp.
(A, B là hai dạng hình thái khác nhau của chi *Colletotrichum* spp.)

Chi *Curvularia* spp. có tán nấm màu xám đen, mọc bung xù trên mặt thạch. Bào tử hơi cong và phình to ở tế bào thứ ba tính từ cuống bào tử, thường có ba vách ngăn, màu nâu đậm (hình 5A).

có màu nâu đến nâu đậm. Bào tử phân sinh non và trưởng thành thường có hình elip. Bào tử trưởng thành nhẵn, màu đậm, có 6 - 10 vách ngăn ngang, 0 - 3 vách ngăn dọc, vách ngăn dọc đầu tiên xuất hiện ở vị trí ngăn thứ 2 - 3 của bào tử và các vách ngăn dọc khác ở vị trí có đường kính bào tử lớn hơn so với các vị trí khác (hình 5B).

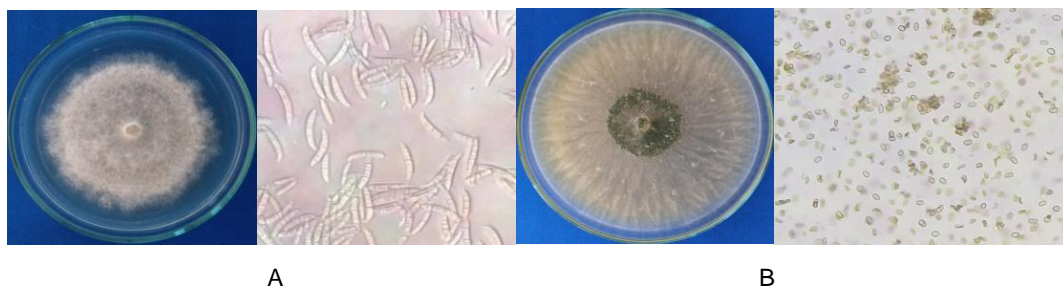
Chi *Alternaria* spp. thì tán nấm tạo các vòng tròn đồng tâm, đều, hơi dày, có màu nâu đậm. Cành bào tử phân đa bào,



Hình 5. Hình thái tản nấm và hình thái bào tử của *Curvularia* spp. (A) và *Alternaria* spp. (B)

Chi *Fusarium* spp. có tản nấm mọc bung cao trên mặt thạch, có màu trắng đục đến trắng hồng. Bào tử phân sinh gồm 2 loại: bào tử nhỏ và bào tử lớn. Bào tử nhỏ đơn bào, hình trứng và hình hạt dưa gang, mọc thành chuỗi hoặc tụ lại thành bọc giả. Bào tử lớn hình trăng khuyết, thường từ 3 - 5 ngăn ngang (hình 6A).

Chi *Trichoderma* spp. trên môi trường PGA, khi còn non khuẩn lạc có dạng sợi bông màu trắng, sau khoảng 4 ngày bề mặt khuẩn lạc xuất hiện các đám bào tử màu xanh lục, dạng bột trên bề mặt. Bào tử hình trứng ngắn, vách nhăn (hình 6B).



Hình 6. Hình thái tản nấm và hình thái bào tử của *Fusarium* spp. (A) và *Trichoderma* spp. (B)

Chi *Helminthosporium* spp. với đặc điểm hình thái tản nấm có màu nâu đến nâu đậm, mọc bung cao trên môi trường. Bào tử phân sinh hình thoi tương đối

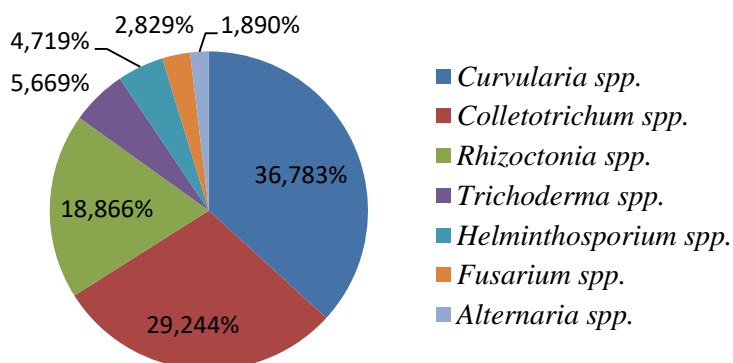
thẳng, ít khi cong. Bào tử có 2 - 9 vách ngăn ngang, phần lớn 4 - 5 ngăn màu nâu nhạt (hình 7).



Hình 7. Hình thái tản nấm và hình thái bào tử của *Helminthosporium* spp.

3.2. Tần suất xuất hiện và khả năng gây bệnh của một số chi nấm

Dựa vào hình 8 về biểu đồ thể hiện tần suất xuất hiện của các chi nấm đã phân lập, *Curvularia* spp. và *Colletotrichum* spp.



Hình 8. Biểu đồ thể hiện tần suất xuất hiện của các chi nấm

Khả năng gây bệnh trên lục bình theo từng chi lần lượt là chi *Colletotrichum* spp. (17,2%), *Curvularia* spp. (12,7%), *Rhizoctonia* spp. (7,1%), *Trichoderma* spp. (2,8%), *Helminthospora* spp. (1,9%), *Fusarium* spp. (0,9%) và *Alternaria* spp. (0,7%).

3.3. Thảo luận chung

Các dạng triệu chứng bệnh trên lục bình thường gặp trong quá trình thu thập mẫu bệnh lục bình từ các địa điểm khác nhau trên địa bàn TP. Hồ Chí Minh là đốm lá, cháy lá và hoại tử. Các triệu chứng tương tự cũng ghi nhận xuất hiện với mức độ thường xuyên, chủ yếu gây ra bởi các chi nấm khác nhau như *Alternaria* sp. (Shabana và ctv., 2001), *Curvularia* spp., *Fusarium* sp., *Cercospora* sp. hoặc *Rhizoctonia solani* (Samuel và ctv., 2012; Charudattan, 2001). *Rhizoctonia solani* là một trong những loại nấm phân bố rộng rãi nhất

là 2 chi phổ biến nhất với tần suất xuất hiện của 2 chi lần lượt là 36,8% và 29,2%. Tiếp theo là *Rhizoctonia* spp. với tần suất xuất hiện 18,9%. Các chi nấm còn lại xuất hiện với mức độ không thường xuyên.

trên khắp thế giới có phổ ký chủ rộng (Walker, 1956). Trên lục bình *Rhizoctonia solani* ghi nhận xuất hiện trên nhiều ở các quốc gia thuộc khu vực Nam Mỹ, Brazil, Mexico, Panama, Puerto Rico và một số nước châu Á như Ấn Độ, Malaysia và Indonesia và được xem là loài nấm ký sinh có độc lực cao, gây ra sự phân hủy lục bình nhanh nhất (Charudattan, 1990, 2001; George và ctv., 2017). *Curvularia* spp. và *Alternaria* sp. là hai chi nấm thường xuất hiện với tần suất cao, gây hại trên lục bình và có tiềm năng trong kiểm soát sự phát triển của lục bình (Karim và ctv., 2012), trong đó chi *Alternaria* sp. ghi nhận gây hại trên lục bình mạnh tại quốc gia như Ethiopia (Firehun và ctv., 2017; Samuel, 2012), Iraq (Hurria và ctv., 2018), Ấn Độ (Govindan và ctv., 2020) và được đánh giá cho hiệu quả kiểm soát lục bình lên tới 97% nếu kết hợp cùng hai loại bọ *Neochetina eichhorniae* và *Neochetina*

bruchichi (Firehun và ctv., 2017). Kết quả của nghiên cứu này ghi nhận sự xuất hiện của các chi nấm phổ biến như *Curvularia* spp., *Rhizoctonia* spp., *Alternaria* spp. và một số chi khác ít phổ biến hơn *Colletotrichum* spp., *Fusarium* spp., *Helminthosporium* spp., *Trichoderma* spp. Đồng thời ghi nhận được khả năng gây bệnh trên lá lục bình trong điều kiện phòng thí nghiệm. Là các kết quả bước đầu tạo tiền đề cho việc nghiên cứu, phát triển ứng dụng các chi nấm này vào kiểm soát lục bình trong thực tế.

4. KẾT LUẬN

Đã thu thập và phân lập được 106 MPL gây bệnh trên lục bình tại khu vực TP. HCM thuộc 7 chi khác nhau: *Rhizoctonia* spp., *Colletotrichum* spp., *Curvularia* spp., *Alternaria* spp., *Fusarium* spp., *Helminthosporium* spp., *Trichoderma* spp., trong đó chi *Curvularia* spp. có tần suất hiện cao nhất (36,8%). Tuy nhiên khả năng gây bệnh trên lục bình của các loài nấm theo từng chi cho thấy *Colletotrichum* spp. là chi có tỉ lệ gây bệnh cao nhất 17,2%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aneja K.R. (2003), Experiments in Microbiology, Plant Pathology and Biotechnology. 4th Ed. New Delhi: New Age International. Publishers, p. 189 - 217.
2. Aston H.I. (1973), *Aquatic Plants of Australia*, Melbourne University press: 366 pp.
3. Barnett H.L. and Hunter B.B. (1972), Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Pub. Co., Minneapolis, Minnesota, USA, 241 pp.
4. Barnett H.L. (1960), *Illustrated genera of imperfect fungi*. Minneapolis, Minnesota: Burgess.
5. Charudattan R. (1990), Biological control of aquatic weeds by means of fungi. In: Aquatic Weeds: the ecology and management of nuisance aquatic vegetation (eds. A.H. Pietrse and K.J. Murphy). Oxford University Press, UK: p. 186 - 201.
6. Charudattan R. (2001), Biological control of water hyacinth by using pathogens: opportunities, challenges, and recent developments. In: Julien MH, Hill MP, Center TD, Jianqing D (eds), *Biological and integrated control of water hyacinth, Eichhornia crassipes*. *Proceedings of the Second Meeting of the Global Working Group for the Biological and Integrated Control of Water Hyacinth, Eichhornia crassipes, Beijing, China, 9 - 12 October, 2000*. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR) *Proceedings*. 102: p. 21 - 28.
7. Domsch H., Gams W. and Anderson T.H. (2007), *Compendium of soil fungi* (2nd edn). Taxonomically revised by W. Gams, Eching: IHW-Verlag, 672 pp.
8. Ellis M.B. (1976), *More dermatiaceae hypomyces*. Kew, Surrey: Commonwealth Mycological Institute, 507 pp.
9. EL-Morsy E.M. (2004), Evaluation of microfungi for the biological control of water hyacinth in Egypt. *Fungal Diversity* 16:p. 35 - 51.
10. Firehun Yirefu, P.C. Struik, E.A. Lantinga & Taye Tessema (2017), Occurrence and diversity of fungal pathogens associated with water hyacinth and their potential as biocontrol agents in the Rift Valley of Ethiopia, *International Journal of Pest Management*, 63:4,p. 355 - 363.
11. George T.O., David M.M. and Hillary T.N. (2017), Isolation and Identification *Rhizoctonia Solani* On The Water Hyacinth (*Eichhornia Crassipes* [Mart] Solms. Laubach) in the Winam Gulf (Lake Victoria, Kenya). *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)* e-ISSN: 2319 - 2380, p-ISSN: 2319 - 2372, 10:8, P. 39 - 43.
12. Gilman J.C. (1959), *A manual of soil fungi* (revised 2nd edn). Calcutta: Oxford and IBH Publishing, 382 pp.

13. Gopal B. (1987), *Water hyacinth*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 471 pp.
14. Govindan V. and Gunasekaran A. (2020), Endophytes Fungi Associated With a Water Hyacinth of *Eichhornia Crassipes* (Mart.) Solms. International Journal of Scientific Research in Biological Sciences 7(3), p. 62 - 66.
15. Harley K.L.S., Julien M.H. and Wright A.D. (1996), Water Hyacinth - a tropical worldwide problem and methods for its control. Second International weed control congress, Copenhagen, p. 639 - 644.
16. Holliday P. (1993), *A dictionary of plant pathogens*. New Delhi: Cambridge University Press.
17. Hurria H.A. and Hussein S.M. (2018), Detection of fungi associated with water hyacinth *Eichhornia crassipes* in Iraq and their pathogenicity under controlled condition. Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES) ISSN: 2220 - 6663 (Print) 2222 - 3045 (Online) 12 (2), p. 24 - 31.
18. Julien M.H. and Griffiths M.W. (1998), Biological Control of Weeds. A World Catalogue of Agents and their target weeds, 4th edition, Wallingford, UK. CABI Publishing, 223 pp.
19. Karim D., Rachid L., Mamourou D. and Haïssam J. (2012), Fungi occurring on waterhyacinth (*Eichhornia crassipes* [Martius] Solms-Laubach) in Niger River in Mali and their evaluation as mycoherbicides. J. Aquat. Plant Manage. 50: p. 25 - 32.
20. Kumar L. (1985), Studies on vegetative reproduction rate of water hyacinth and water chestnut. Indian J. Agric. Res., 19: p. 54 - 58.
21. Mangabeira P.A.O., Labejof L., Lamperti A., Almeida A.A.F., Oliveira A. H., Escaig F., Severo M.I.G., Silva D.C., Saloes M., Mielke M.S., Lucena E.R., Martinis M.C., Santana K. B., Gavrilo K. L., Galle P. and Levi-Setti R. (2004), Accumulation of chromium in root tissues of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. in Cachoeira river-Brazil. *Applied Surface Science*, p. 497 - 501.
22. Morris M.J. (1990), *Cercospora piaropi* recorded on the aquatic weed, *Eichhornia crassipes*, in South Africa. *Phytophylactica* 22: p. 255 - 256.
23. Nag Raj T.R. and Ponnappa K.M. (1970), Blight of waterhyacinth caused by *Alternaria eichhorniae* sp. nov Trans Brit Mycol Soc 55: p. 123 - 130.
24. Naseema A. and Balakrishnan S. (2001), Bioherbicidal potential of fungal pathogens of water hyacinth. In: Sankaran KV, Murphy ST, Evans HC (eds), *Alien weeds in moist tropical zones: banes and benefits*. ProceedinGS. of the Workshop, Kerala Forest Research Institute, Peechi, India, 2 - 4 November 1999. KFRI and CABI Bioscience, UK, p. 115 - 121.
25. Njoka S.W. (2004), *The biology and impact of Neochetina weevil on water hyacinth, Bruchi crassipes in lake Victoria Basin, Kenya*. Ph.D thesis. School of Graduate Studies at Moi University, Kenya.
26. Perkins B.D. (1973), Potential for waterhyacinth management with biological agents. ProceedinGS. of the 4th Conference on Ecological Animal Contributions by Habitat Management, Tallahassee, Florida, p. 53 - 64.
27. Praveena R. and Naseema A. (2004), Fungi occurring on water hyacinth [*Eichhornia Crassipes*(Mart.) Solms] in Kerala.Jornal of Tropical Agriculture 42(1 - 2): p. 21 - 23.
28. Ray P. and Hill M.P. (2012), Fungi associated with *Eichhornia crassipes* in South Africa and their pathogenicity under controlled conditions, Article in African Journal of Aquatic Science 37(3), p. 323 - 331.
29. Samuel T., Temam H., Taye T., Firehun Y., Butner C. and Monika G., 2012. Exploration of fungal pathogens associated with water hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms-Laubach) in Ethiopia, African Journal of Agricultural Research Vol. 7(1), p. 11 - 18.
30. Shabana Y.M., Charudattan R., DeValerio J.T. and Elwakil M.A. (1997), An evaluation of hydrophilic polymers for formulating the bioherbicide agents *Alternaria cassiae* and *A. eichhorniae*. *Weed Technology*, 11, p. 212 - 220.
31. Viswam K., Srinivasan R. and Panicker K.N. (1989), Laboratory studies on the host plant preference of *Mansoniaannulifera*, the vector of brugian filariasis. *Entomol*, 14: p. 183 - 186.
32. Walker J.C. (1956), *Plant Pathology*, TMH publishing company limited.N.Y.

XÁC ĐỊNH TÁC NHÂN GÂY BỆNH CHẢY NHỰA THÂN CÂY BƯỞI DA XANH TẠI TỈNH BẾN TRE

Nguyễn Thị Thúy Huỳnh¹, Nguyễn Thanh Phong¹,
Lê Thanh Đạm¹, Phạm Hải Đăng¹, Trần Thanh Lâm¹,
Nguyễn Thị Ngọc Loan², Võ Thị Thu Oanh¹, Nguyễn Vũ Phong^{2*}

¹Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

²Khoa Khoa học Sinh học, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

*Tác giả liên hệ: nvphong@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Các mẫu bệnh trên thân bưởi và đất xung quanh gốc cây có triệu chứng bệnh chảy nhựa được thu thập ở các vườn trồng bưởi chuyên hoặc có trồng xen với sầu riêng tại Bến Tre. Dựa vào đặc điểm hình thái, trình tự vùng gen ITS-rDNA; *coxII* và kết quả kiểm chứng tác nhân gây bệnh theo quy tắc Koch đã xác định được *Phytophthora cinnamomi* và *Pythium vexans* là tác nhân gây bệnh nứt thân chảy nhựa trên cây bưởi trồng tại 3 huyện Châu Thành, Mỹ Xuyên, Giồng Trôm tỉnh Bến Tre. *Pythium vexans* và *Phytophthora cinnamomi* đều phát triển tốt trên môi trường thạch khoai tây (PGA), ở nhiệt độ từ 25 - 30°C, điều kiện ánh sáng thích hợp là 12 giờ sáng và 12 giờ tối, pH môi trường thích hợp từ 7 - 8. Cả hai loài *Pythium vexans* và *Phytophthora cinnamomi* đều có khả năng gây bệnh trên lá sầu riêng, lá ca cao và lá đu đủ.

Từ khóa: bệnh chảy nhựa, bưởi Da xanh, *Phytophthora cinnamomi*, *Pythium vexans*, tỉnh Bến Tre.

ABSTRACT

Identification the pathogens causing gummosis disease on pomelo cv. Da xanh in Ben Tre province

The disease samples were collected on stems and rhizospheric soils of gummosis diseased pomelo trees cultivated in mono or intercropping fields. Based on morphological characteristics, nucleotidic sequences of ITS-rDNA and *coxII* regions, and the result of Koch's postulates, *Phytophthora cinnamomi* and *Pythium vexans* were confirmed as pathogen causing gummosis on pomelo trees cultivated in Chau Thanh, My Xuyen and Giong Trom districts, Ben Tre province. Both of oomycetes strains are well developed on potato glucose agar (PGA) medium, at temperature from 25 - 30°C, 12:12 light:dark schedule, and at pH from 7 - 8. Both of *Pythium vexans* and *Phytophthora cinnamomi* can infect cocoa, durian and papaya leaves.

Keywords: Ben Tre province, Da xanh pomelo, gummosis disease, *Phytophthora cinnamomi*, *Pythium vexans*.

1. MỞ ĐẦU

Cây bưởi (*Citrus maxima* (Burm) Merr.) là cây ăn quả thuộc nhóm cây có múi được trồng trên 80 nước trên thế giới. Tỉnh Bến Tre rất nổi tiếng với nhiều chủng loại cây ăn trái trên cả nước, trong đó cây bưởi được đưa vào nhóm cây ăn quả chất lượng cao, có tiềm năng và lợi thế thị trường trong và ngoài nước.

Theo thống kê của tỉnh Bến Tre năm 2018, diện tích vườn bưởi tăng dần qua các năm và đạt diện tích là 7.212 ha, chiếm 20% diện tích cây ăn trái toàn tỉnh, trong đó diện tích thu hoạch 4.836 ha, trồng mới 128 ha, sản lượng 58.873 tấn. Đối với tỉnh Bến Tre, bưởi da xanh được xem là một trong năm loại cây ăn quả đặc sản của địa phương. Tuy nhiên, hiện nay tình hình sản xuất bưởi nói riêng, các loài cây có múi nói chung ở Nam Bộ đang bị ảnh hưởng nghiêm trọng do một số bệnh nguy hiểm như bệnh vàng lá Greening, Tristeza, nứt thân chảy nhựa, loét, bệnh vàng lá thối rễ. Trong đó, bệnh nứt thân chảy nhựa là một trong những bệnh nguy hiểm nhất. Theo kết quả điều tra của Đặng Vũ Thị Thanh và Hà Minh Trung (1999) xác định có 13 loài *Phytophthora* với phổ ký chủ rất phong phú bao gồm cây ăn quả, cây rau, cây công nghiệp và cây trồng nông nghiệp khác với các triệu chứng cháy lá, sùi thân, thối nõn, thối quả và thối rễ. *Phytophthora* tấn công vào thân, quả gây hiện tượng thối thân và quả, bệnh phát triển mạnh vào mùa mưa và nghiêm trọng nhất vào tháng bảy và tháng tám (Đặng Vũ Thị Thanh và cs., 2004). Ở các vườn bưởi lớn hơn 10 năm tuổi, thiếu

chăm sóc có tỉ lệ bệnh dao động từ 15% đến 30%. Hiện nay, tình hình bệnh nứt thân xì mù đang diễn biến phức tạp và chưa xác định được chính xác loại hoạt chất có thể kiểm soát bệnh hiệu quả.

Nghiên cứu này trình bày kết quả xác định tác nhân gây bệnh chảy nhựa trên thân bưởi Da xanh nhằm phục vụ tốt cho công tác nghiên cứu cơ bản, dịch tễ học, quản lý và phòng trừ hiệu quả bệnh chảy nhựa trong canh tác bưởi Da xanh tại Bến Tre.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Phân lập và định danh tác nhân gây bệnh dựa vào hình thái

Các mẫu bệnh được thu thập từ các vườn trồng bưởi Da xanh từ 4 - 8 năm tuổi tại 3 huyện Châu Thành, Giồng Trôm và Mỏ Cày Bắc, tỉnh Bến Tre. Thu các mẫu bệnh trên thân/cành có triệu chứng điển hình, lấy phần mô màu nâu vàng tiếp giáp giữa mô khỏe và vết bệnh. Đối với mẫu đất thu cách gốc cây khoảng 50 - 100 cm, sâu 4 - 10 cm. Mỗi gốc cây bị bệnh thu 5 điểm ngẫu nhiên, mỗi điểm 500g, trộn đều 5 mẫu đất rồi lấy lại 500g.

Mẫu bệnh được cắt thành những mảnh nhỏ, xử lý bằng HgCl₂ 0,1% trong 30 giây và được rửa lại bằng nước cất vô trùng 3 lần và cấy trên môi trường thạch nước (Water Agar). Sau 2 - 3 ngày, cắt một mảnh thạch có chứa hệ sợi nấm cấy chuyển sang môi trường PGA (Potato Glucose Agar). Đối với mẫu đất, cân 100 g đất hòa với nước cất theo tỷ lệ 1:2 (v/v).

Dùng cánh hoa hồng trắng đã khử trùng bằng cồn 70° làm bẫy đặt ở điều kiện phòng. Sau 1 - 2 ngày, cắt mẫu cánh hoa có vết bệnh cấy sang môi trường WA và làm thuần trên môi trường PGA (Burgess và cs., 2009).

Mẫu bệnh được nuôi cấy trên môi trường gốc CRA ở điều kiện nhiệt độ phòng. Sau 72 giờ nuôi cấy khi đường kính tản sợi được 4 - 5 cm, cấy một khoanh tản sợi ở rìa mép lên đĩa petri chứa 15 ml dung dịch CR 20%. Ủ tối ở 28°C trong 48 giờ và ủ sáng trong 24 giờ, sau đó làm tiêu bản quan sát hình thái bằng kính hiển vi (Ho và cs., 1995).

2.2. Kiểm chứng tác nhân gây bệnh theo nguyên tắc Koch

Chủng bệnh bằng tản sợi theo phương pháp có gây vết thương, tiến hành chủng trên 5 cây bưởi 8 tháng tuổi. Dùng kim số 0 để tạo vết thương trên thân, dùng dao cấy cắt lấy phần thạch có kích thước 1cm² ở rìa mép tản sợi 3 ngày sau cấy trên môi trường PGA và đặt lên vết thương, cố định bằng băng keo trong. Tất cả những cây được chủng bệnh được bao bởi một lớp plastic trong suốt để duy trì độ ẩm không khí. Ghi nhận thời gian xuất hiện triệu chứng bệnh, sau khi bệnh xuất hiện tiến hành tái phân lập để so sánh với các mẫu phân lập trước khi chủng bệnh.

2.3. Định danh tác nhân gây bệnh dựa vào trình tự ITS-rDNA và cytochrome oxidase (*coxII*)

Mẫu MCB-T.2; CT-T.1; GT-1; MCB-T.3; GT-T.2; GT-T.4; MCB-T.1;

CT-T.2; GT-T.3 được nuôi trên môi trường PDA. Khi hệ sợi lan đạt 4 - 5 cm, cắt mép rìa tản sợi cho vào bình tam giác chứa 150 ml môi trường PD, và lắc tăng sinh ở 28°C. Sau 4 - 7 ngày, thu sinh khối nấm cho vào eppendorf 1,5ml. Tiến hành tách chiết DNA tổng số được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1% ở hiệu điện thế 100V, trong 20 phút. Thực hiện phản ứng khuếch đại đoạn ITS-rDNA bằng cặp primer ITS4/ITS6 và khuếch đại trình tự đoạn gene *coxII* bằng cặp primer FMPhy8b/FMPhy10b (Grünwald và cs., 2011). Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5%, hiệu điện thế 80V trong 35 phút. Kết quả được quan sát dưới tia UV. Sản phẩm PCR được giải trình tự hai chiều bởi công ty 1st BASE (Malaysia). Trình tự được sử dụng định danh loài *Phytophthora* và *Pythium* bằng công cụ <http://phytophthora-id.org/>

2.4. Khảo sát một số đặc điểm sinh học các mẫu phân lập

Khảo sát sự phát triển của các mẫu phân lập với (i) 04 môi trường dinh dưỡng gồm CRA, PGA, PCA và CMA; (ii) mức nhiệt độ gồm 20°C, 25°C, 30°C, 35°C; (iii) chế độ chiếu sáng gồm chiếu sáng liên tục, 12 giờ sáng/12 giờ tối, tối liên tục; (iv) mức pH (4,5, 6, 7, 8). Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức, 1 đĩa/lần lặp lại. Cấy một khoanh tản sợi có đường kính 4 - 5mm, có cùng độ tuổi (2 ngày sau cấy) đặt vào tâm của đĩa petri ở vị trí úp ngược cho nấm tiếp xúc với môi trường, ủ ở 27°C. Đo đường kính tản sợi và mô tả kiểu phát triển, màu

sắc và hình dạng tản sợi trên môi trường nuôi cấy 12 giờ hoặc 24 giờ một lần.

2.5. Đánh giá khả năng gây bệnh của các mẫu phân lập trên ba loại cây trồng

Các mẫu phân lập tác nhân gây bệnh chảy nhựa được nuôi cấy sau 3 ngày trên môi trường PGA, cắt 1 khoanh có kích thước 1cm² ở rìa mép tản sợi để chủng bệnh. Lá sạch bệnh và khử trùng bề mặt trái bằng cồn 70⁰, rửa lại bằng nước cất vô trùng; dùng kim số 0 để tạo vết thương trên lá. Đặt lá đã xử lý bề mặt vào trong hộp khử trùng, dùng que cấy đặt tản sợi vào vị trí vết thương, mỗi lá gây vết thương ở 2 điểm, đối chứng nhỏ nước cất vô trùng, phủ kín hộp và đặt hộp ở nhiệt độ 25°C (Đinh Thị Hường, 2010). Mỗi mẫu chủng lên 12 lá, nghiệm thức đối chứng đặt tản trên môi trường WA. Quan sát các biểu hiện triệu chứng nhiễm hay không nhiễm bệnh trên lá, tiến hành đo

độ dài hai đường chéo của vết bệnh sau 3 ngày và 5 NSC. Thời gian xuất hiện bệnh được tính từ khi chủng đến khi có triệu chứng vết bệnh đầu tiên xuất hiện trên lá.

2.5. Xử lý thống kê

Các số liệu được tổng hợp bằng phần mềm Excel 2010, phân tích ANOVA một chiều và trắc nghiệm phân hạng LSD bằng phần mềm SAS 9.1.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Định danh tác nhân gây bệnh chảy nhựa thân cây bưởi

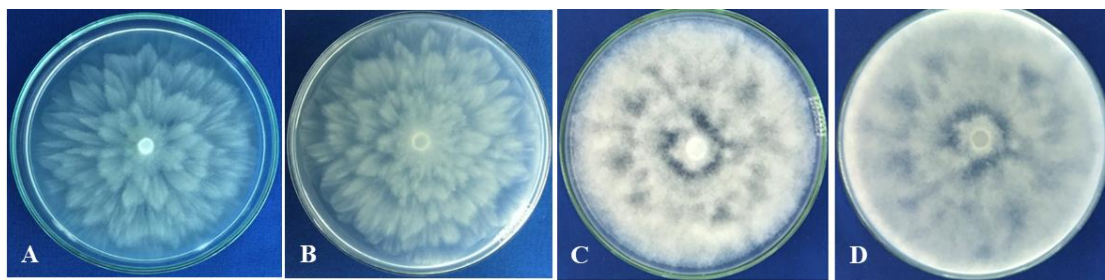
Triệu chứng bệnh là vết nứt nhỏ kéo dài trên thân, bề mặt vết bệnh sưng nước có màu đen mờ hoặc đen nâu đến đen sậm, tiết ra dịch màu nâu đỏ hoặc đen (hình 1). Ở mỗi huyện thu thập 10 mẫu trên thân, 10 mẫu đất quanh gốc bưởi bị nứt thân chảy nhựa. Kết quả phân lập được trình bày ở bảng 1.



Hình 1. Triệu chứng bệnh nứt thân chảy nhựa trên cây bưởi
(A: Vết nứt trên thân; B: Nhựa đặc tiết từ vết nứt)

Từ 60 mẫu thu thập sau khi phân lập thu được 27 mẫu xuất hiện tản sợi. Đặc điểm phát triển của tản sợi có thể chia thành 2 dạng. Dạng I gồm 15 mẫu có tản sợi màu trắng hơi ngà vàng, mọc sát mặt thạch, có dạng hình hoa cúc. Tản sợi đơn bào, phân nhánh vuông góc, tản sợi phát

triển chạm thành đĩa trong 60 GSC (hình 2 A, B). Dạng II gồm 12 mẫu có tản sợi có màu trắng đục, mọc bung trên mặt thạch, có dạng hình hoa hồng xoè. Tản sợi đơn bào, phân nhánh vuông góc, tản sợi phát triển chạm thành đĩa trong 120 GSC (hình 2 C, D).

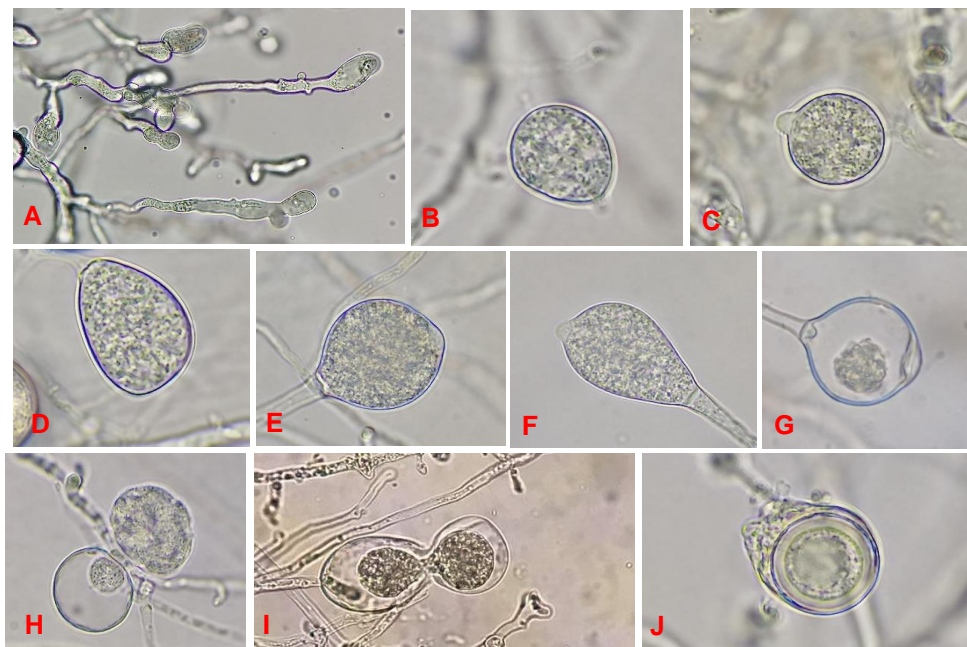


Hình 2. Hình thái tản sợi trên môi trường PDA
(A, B: Dạng I ở 60 GSC; C, D: Dạng II ở 120 GSC)

3.2. Đặc điểm hình thái các mẫu phân lập

Kích thước hệ sợi của các mẫu Dạng I biến thiên từ 2,4 - 6,25 μm , trung bình từ 3,56 - 3,63 μm . Hệ sợi phân nhánh vuông góc và có sợi nấm tương phòng trên môi trường CRA. Kích thước trung bình túi bào tử của các mẫu phân lập biến thiên từ 22,2 - 17,4 μm , tỷ lệ D/R trung bình từ 1,13 - 1,28 (bảng 1). Túi bào tử hình thành nhiều trong nước, có

dạng hình trứng, elip, quả lê nhưng chủ yếu là dạng hình trứng (hình 3 B, C, D, E, F, G). Ngoài ra túi bào tử có thể có dạng sợi, không phân biệt với các phần còn lại của hệ sợi hoặc hơi tương phòng lên để tạo thành cấu trúc hình cây hoặc phòng lên rất nhiều để tạo thành hình chùy. Túi bào tử không có nóm (hình 3 D) hoặc có nóm nhưng không rõ (hình 3 C, E, F, G).



Hình 3. Đặc điểm hình thái các mẫu dạng I phân lập từ cây bưởi

(A: Sợi nấm tương phòng; B-G: Các dạng túi bào tử; G: Túi bào tử đã phóng thích bào tử động; H-I: Túi bào tử đang phóng thích bào tử động nhờ bọc giả; J: Cấu trúc lưỡng tính)

Kích thước hệ sợi các mẫu dạng II biến thiên 5,0 - 10,0 μm , trung bình từ 6,6 - 7,6 μm . Kích thước trung bình túi bào tử của các mẫu biến thiên từ 63,6 - 39,4 μm , tỷ lệ D/R biến thiên từ 1,4 - 1,6 (bảng 1). Hệ sợi phân nhánh vuông góc và không ghi nhận được sự hình thành túi trương phòng trên môi trường nuôi cấy (hình 4A). Túi bào tử có dạng hình cầu, elip hoặc quả lê nhưng chủ yếu là

dạng hình cầu. Túi bào tử hình thành nhiều trên môi trường, cành bào tử dạng đơn, phân nhánh. Túi bào tử mọc riêng lẻ ở đầu cuống. Kích thước trung bình của nùm bào tử biến thiên từ 2,0 - 2,4 μm . Kích thước lỗ phóng thích động bào tử biến thiên từ 7,8 - 8,3 μm . Bào tử hậu mọc xen giữa hoặc mọc trên đầu sợi khí sinh, có kích thước trung bình biến thiên từ 31,6 - 48,0 μm (bảng 2).

Bảng 1. Kích thước túi bào tử của các mẫu phân lập

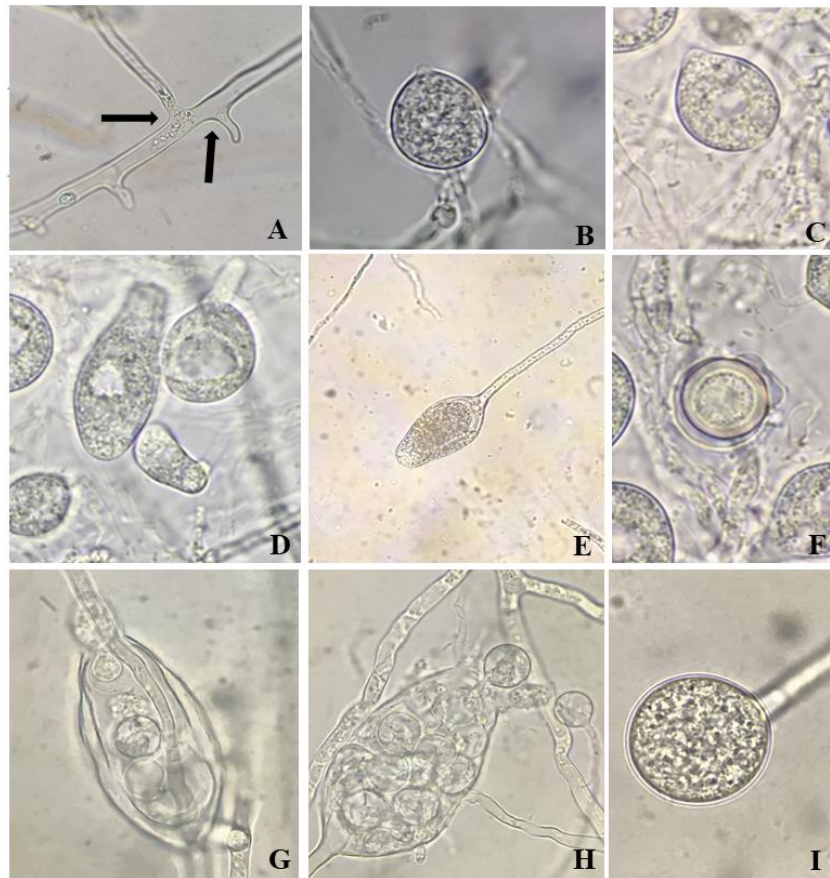
Dạng	Mẫu phân lập	Kích thước túi bào tử (μm)		Tỷ lệ D/R túi bào tử	
		Biến thiên	Trung bình	Biến thiên	Trung bình
Dạng I	GT-T.1	22,5 - 19,0 \times 19,5 - 15,5	22,2 \times 17,4	1,59 \times 1,11	1,28 \pm 0,11
	CT-T.2	23,5 - 19,5 \times 19,5 - 17,0	21,1 \times 17,9	1,34 \times 1,05	1,18 \pm 0,07
	MCB-Đ.2	22,5 - 18,5 \times 20,0 - 17,0	20,6 \times 18,2	1,25 \times 1,02	1,13 \pm 0,06
Dạng II	GT-T.3	67,5 - 60,0 \times 45,0 - 35,0	62,5 \times 39,6	1,8 \times 1,4	1,6 \pm 0,10
	CT-T.2	67,5 - 61,0 \times 48,8 - 38,5	63,6 \times 41,9	1,7 \times 1,3	1,5 \pm 0,13
	MCB-T.1	63,8 - 55,0 \times 46,3 - 36,3	59,4 \times 39,4	1,7 \times 1,2	1,5 \pm 0,15

Bảng 2. Kích thước nùm bào tử, lỗ phóng thích và bào tử hậu của mẫu phân lập Dạng II

Mẫu phân lập	Kích thước nùm bào tử (μm)		Kích thước lỗ phóng thích (μm)		Kích thước bào tử hậu (μm)	
	Biến thiên	Trung bình	Biến thiên	Trung bình	Biến thiên	Trung bình
GT-T.3	3,8 \times 1,25	2,1 \pm 0,84	10,0 \times 6,25	8,2 \pm 0,86	60,0 \times 35,0	44,3 \pm 5,88
CT-T.2	6,3 \times 1,25	2,4 \pm 1,28	11,3 \times 6,25	8,3 \pm 1,42	56,3 \times 36,3	48,0 \pm 5,04
MCB-T.1	3,8 \times 1,25	2,0 \pm 0,85	8,8 \times 6,25	7,8 \pm 0,80	38,8 \times 25,0	31,6 \pm 4,47

Theo Ho và cs. (2018), nếu hệ sợi có kích thước từ 1,5 - 6,6 μm và các đầu bị cong, túi bào tử được hình thành với số lượng lớn trong nước, có dạng hình cầu, ovan hoặc hình quả lê ngược, kích thước trung bình túi bào tử là 18,6 \times 15,9 μm , với

tỷ lệ chiều dài/chiều rộng từ 0,9 - 2,0. Túi bào tử không có nùm hoặc có nùm không rõ. Cấu trúc lưỡng tính có hình chuông với phần lớn là noãn bào tử và có sự hình thành sợi trương phòng trên môi trường nuôi cấy được xếp chúng thuộc loài *P. vexans*.



Hình 4. Hình thái mẫu Dạng II phân lập từ cây bùi

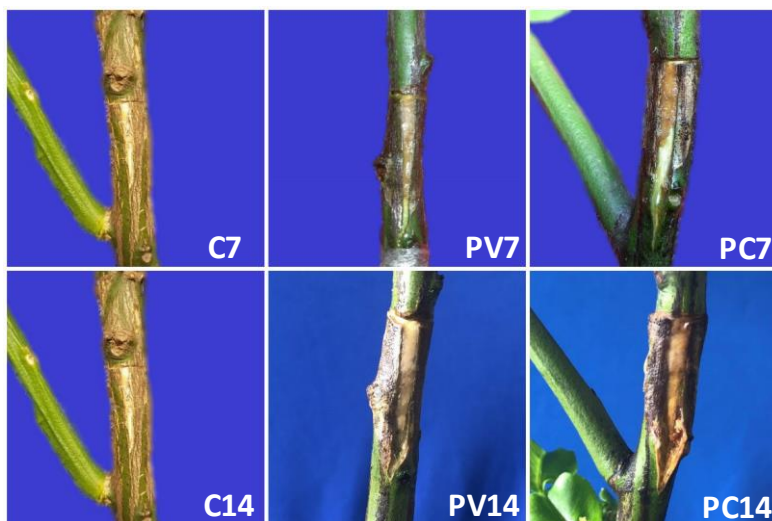
(A: Sợi nấm phân nhánh vuông góc; (B-E): Các dạng túi bào tử; F: Cấu trúc lưỡng tính; (G-H): Túi bào tử đang phóng thích bào tử động; I: Bào tử hậu)

Theo khoá phân loại của Ho và cs. (1995) nếu kích thước hệ sợi từ 4 - 8 μm , túi bào tử chiều \times rộng là 58 - 76 \times 32 - 48 μm , tỉ lệ D/R là 1,2 - 1,8, cuống bào tử rụng sớm, có nóm phát triển nội sinh chất bên trong. Bào tử hậu có hình cầu có kích thước từ 34 - 58 μm , vách mỏng dưới 1 μm , trong suốt đến vàng. Hiện tượng khác tảo, túi bào tử hình cầu, trong suốt đến nâu, kích thước đường kính từ 24 - 45 μm . Noãn bào tử có kích thước từ 20 - 39 μm . Nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển từ 8 - 36°C, tối ưu là 25°C, không có sự hình thành túi trương phồng trên môi trường nuôi cấy đều xếp chúng thuộc loài *P. cinnamomi*.

Từ kết quả quan sát các đặc điểm hình thái và so sánh với mô tả của Ho và cs., (1995; 2018) bước đầu có thể xác định 15 mẫu phân lập thuộc Dạng I là *P. vexans* và 12 mẫu phân lập thuộc Dạng II là *P. cinnamomi*. Nhìn chung, kích thước túi bào tử của các mẫu nhóm *P. vexans* nhỏ hơn so với nhóm *P. cinnamomi*.

3.3. Kết quả kiểm chứng tác nhân gây bệnh theo quy tắc Koch

Sau khi định danh, các mẫu được chủng kiểm chứng theo quy tắc Koch. Kết quả triệu chứng thu được tương tự với triệu chứng ngoài thực địa (hình 5).



Hình 5. Triệu chứng trên cây bưởi sau khi chủng bệnh nhân tạo.
 (C: Đối chứng không chủng bệnh; PV: Chủng *Pythium vexans*;
 PC: Chủng *Phytophthora cinnamomi*; 7 và 14: 7 và 14 ngày sau chủng)

Trong điều kiện gây vết thương, cả hai loài *P. vexans* và *P. cinnamomi* đều có khả năng gây bệnh trên cây bưởi. Loài *P. cinnamomi* tạo triệu chứng bệnh ở thời điểm 5 NSC, còn loài *P. vexans* xuất hiện triệu chứng ở thời điểm 7 NSC. Ở giai đoạn 14 NSC tại vị trí lây nhiễm xuất hiện nhựa màu vàng, vỏ cây hóa đen, biến dạng ở các ngày tiếp theo. Qua kiểm chứng theo quy tắc Koch, có thể kết luận *P. vexans* và *P. cinnamomi* là tác nhân gây bệnh nứt thân chảy nhựa trên bưởi.

3.4. Trình tự vùng ITS-rDNA và cytochrome oxidase (*coxII*) của các mẫu phân lập

Kết quả khuếch đại vùng ITS-rDNA và *coxII* của các mẫu phân lập cho ra sản phẩm kích thước khoảng 900bp và 450bp. Kết quả so sánh trình tự ITS-rDNA của 9 mẫu phân lập cho thấy có sự tương đồng 99,8% với các mẫu *Phytophthora* sp. và *Pythium* sp. Vì thế trình tự vùng *coxII* của

các mẫu phân lập được sử dụng để xác định loài. Kết quả so sánh trình tự vùng *coxII* mẫu MCB-T.2; CT-T.1; GT-1; MCB-T.3; GT-T.2; GT-T.4 cho thấy đều tương đồng từ 98% với mẫu *P. vexans* (ID: GU222165.1). Tương tự, trình tự của 3 mẫu MCB-T.1; CT-T.2; GT-T.3 tương đồng từ 97 - 99% với trình tự vùng *coxII* của các mẫu *P. cinnamomi* (ID: GU221964.1 và GU221971.1).

3.5. Đặc điểm sinh học của các mẫu phân lập từ thân bưởi bị bệnh chảy nhựa

Đường kính tản sợi *P. vexans* có sự phát triển tốt nhất trên môi trường PGA so với các môi trường CMA, CRA, PCA. Tương tự, đường kính tản sợi *P. cinnamomi* cũng phát triển tốt nhất ở môi trường PGA (bảng 3). Kết quả khảo sát ở 4 mức nhiệt độ 20°C; 25°C; 30°C và 35°C cho thấy, giữa hai nguồn mẫu có sự phát triển về đường kính tản sợi của *P. vexans* và *P. cinnamomi* khác nhau (bảng 4).

Bảng 3. Đường kính tản sợi *P. vexans* và *P. cinnamomi* trên các môi trường (cm)

Môi trường	<i>Pythium vexans</i> (CT-T.1)				
	12 GSC	24 GSC	36 GSC	48 GSC	60 GSC
CRA	1,53 ^c ± 0,07	3,09 ^c ± 0,10	4,73 ^c ± 0,08	6,17 ^b ± 0,06	7,40 ± 0,08
PCA	1,71 ^b ± 0,02	3,40 ^b ± 0,13	4,92 ^b ± 0,10	6,39 ^b ± 0,16	7,54 ± 0,13
PGA	1,86 ^a ± 0,05	3,65 ^a ± 0,12	5,50 ^a ± 0,13	7,13 ^a ± 0,14	-
CMA	1,22 ^d ± 0,03	2,66 ^d ± 0,05	4,04 ^d ± 0,07	6,20 ^b ± 0,18	7,76 ± 0,09

Môi trường	<i>Phytophthora cinnamomi</i> (CT-T.2)				
	24 GSC	48 GSC	72 GSC	96 GSC	120 GSC
CRA	1,04 ^c ± 0,04	3,15 ^b ± 0,07	4,41 ^b ± 0,07	5,96 ^b ± 0,17	7,24 ± 0,13
PCA	1,76 ^b ± 0,08	2,86 ^c ± 0,09	3,94 ^c ± 0,17	5,17 ^c ± 0,18	6,17 ± 0,11
PGA	2,09 ^a ± 0,08	3,38 ^a ± 0,10	5,14 ^a ± 0,11	6,57 ^a ± 0,12	-
CMA	1,72 ^b ± 0,06	3,18 ^b ± 0,08	4,37 ^b ± 0,12	5,83 ^b ± 0,14	7,1 ± 0,09

Ghi chú: Mẫu *P. vexans* và *P. cinnamomi* được tái phân lập từ cây bưởi sau khi chủng Koch; Các giá trị là trung bình ± SD; GSC: Giờ sau cấy; n = 5; α = 0,01.

Bảng 4. Đường kính tản sợi *Pythium vexans* và *Phytophthora cinnamomi* ở các mức nhiệt độ (cm)

Nhiệt độ	<i>Pythium vexans</i> (CT-T.1)				
	12 GSC	24 GSC	36 GSC	48 GSC	60 GSC
20	0,97 ^c ± 0,14	2,30 ^c ± 0,13	3,25 ^c ± 0,18	4,87 ^c ± 0,09	6,0 ± 0,13
25	1,45 ^b ± 0,15	3,16 ^b ± 0,12	4,78 ^b ± 0,17	6,18 ^b ± 0,18	7,55 ± 0,19
30	1,81 ^a ± 0,05	3,62 ^a ± 0,07	5,43 ^a ± 0,16	7,08 ^a ± 0,14	-
35	0,89 ^c ± 0,08	2,13 ^c ± 0,15	2,99 ^c ± 0,15	3,47 ^d ± 0,16	3,81 ± 0,08

Nhiệt độ	<i>Phytophthora cinnamomi</i> (CT-T.2)				
	24 GSC	48 GSC	72 GSC	96 GSC	120 GSC
20	1,43 ^b ± 0,08	2,47 ^d ± 0,09	3,69 ^b ± 0,12	4,74 ^c ± 0,09	6,02 ± 0,12
25	2,17 ^a ± 0,09	3,43 ^b ± 0,09	4,72 ^c ± 0,08	6,08 ^b ± 0,14	7,40 ± 0,08
30	2,16 ^a ± 0,04	3,85 ^a ± 0,08	5,61 ^a ± 0,04	7,03 ^a ± 0,08	-
35	1,54 ^b ± 0,09	2,71 ^c ± 0,07	4,09 ^b ± 0,18	5,56 ^d ± 0,19	7,05 ± 0,19

Ghi chú: Mẫu *P. vexans* và *P. cinnamomi* được tái phân lập từ cây bưởi sau khi chủng Koch; Các giá trị là trung bình ± SD; GSC: Giờ sau cấy; n = 5; α = 0,01.

Pythium vexans phát triển ở cả 4 mức nhiệt độ, trong đó phát triển tốt nhất ở 30°C khác biệt rất có ý nghĩa so với các mức nhiệt độ còn lại. Ở 35°C *P. vexans* phát triển thấp nhất. Tương tự, *P.*

cinnamomi ở 30°C có sự phát triển tốt nhất và khác biệt có ý nghĩa so với các mức nhiệt độ còn lại. Như vậy, nhiệt độ từ 25°C - 30°C thích hợp cho sự phát triển của hệ sợi và tốt nhất là 30°C.

Ánh sáng có thể tác động trực tiếp hoặc gián tiếp đến sự sinh trưởng và phát triển của nấm bệnh. *Pythium vexans* và

P. cinnamomi có sự phát triển tốt nhất ở chế độ chiếu sáng là 12 giờ sáng/12 giờ tối so với tối hoặc sáng liên tục (bảng 5).

Bảng 5. Đường kính tản sợi *P. vexans* và *P. cinnamomi* ở các chế độ chiếu sáng (cm)

Ánh sáng	<i>Pythium vexans</i> (CT-T.1)				
	12 GSC	24 GSC	36 GSC	48 GSC	60 GSC
Sáng liên tục	1,81 ^{ab} ± 0,04	3,61 ^b ± 0,08	5,30 ^b ± 0,05	6,92 ^b ± 0,06	7,97 ± 0,04
12:12 (sáng:tối)	1,95 ^a ± 0,09	3,85 ^a ± 0,13	5,52 ^a ± 0,10	7,38 ^a ± 0,06	-
Tối liên tục	1,86 ^{ab} ± 0,04	3,88 ^a ± 0,06	5,59 ^a ± 0,09	7,35 ^a ± 0,13	-

Ánh sáng	<i>Phytophthora cinnamomi</i> (CT-T.2)				
	24 GSC	48 GSC	72 GSC	96 GSC	120 GSC
Sáng liên tục	2,15 ^a ± 0,04	3,88 ^{ab} ± 0,09	5,31 ^c ± 0,07	7,03 ^b ± 0,1	-
12:12 (sáng:tối)	2,20 ^a ± 0,07	3,93 ^a ± 0,06	5,72 ^a ± 0,06	7,13 ^a ± 0,09	-
Tối liên tục	2,09 ^a ± 0,05	3,78 ^b ± 0,03	5,42 ^b ± 0,04	6,90 ^c ± 0,13	-

Ghi chú: Mẫu *P. vexans* và *P. cinnamomi* được tái phân lập từ cây bưởi sau khi chủng Koch; Các giá trị là trung bình ± SD; GSC: Giờ sau cấy; n = 5; α = 0,01.

Ngoài môi trường dinh dưỡng, nhiệt độ và ánh sáng thì pH cũng là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của tác nhân gây bệnh. *Pythium vexans* và *P. cinnamomi*

phát triển tốt nhất ở mức pH = 7 so với các mức pH còn lại trong thí nghiệm. Như vậy, ở các mức pH môi trường thí nghiệm, pH từ 7 - 8 thích hợp cho sự phát triển của hệ sợi.

Bảng 6. Đường kính tản sợi *Pythium vexans* và *Phytophthora cinnamomi* ở các mức pH khác nhau

pH	<i>Pythium vexans</i> (CT-T.1)				
	12 GSC	24 GSC	36 GSC	48 GSC	60 GSC
4	1,11 ^c ± 0,09	2,70 ^d ± 0,04	4,23 ^d ± 0,08	5,91 ^d ± 0,13	6,93 ± 0,06
5	1,28 ^b ± 0,03	3,15 ^c ± 0,05	4,94 ^c ± 0,07	6,79 ^c ± 0,08	-
6	1,36 ^{ab} ± 0,04	3,25 ^b ± 0,06	5,23 ^b ± 0,04	7,04 ^b ± 0,13	-
7	1,42 ^a ± 0,06	3,47 ^a ± 0,06	5,41 ^a ± 0,07	7,29 ^a ± 0,06	-
8	1,38 ^{ab} ± 0,08	3,45 ^a ± 0,04	5,03 ^{ab} ± 0,08	7,17 ^{ab} ± 0,07	-

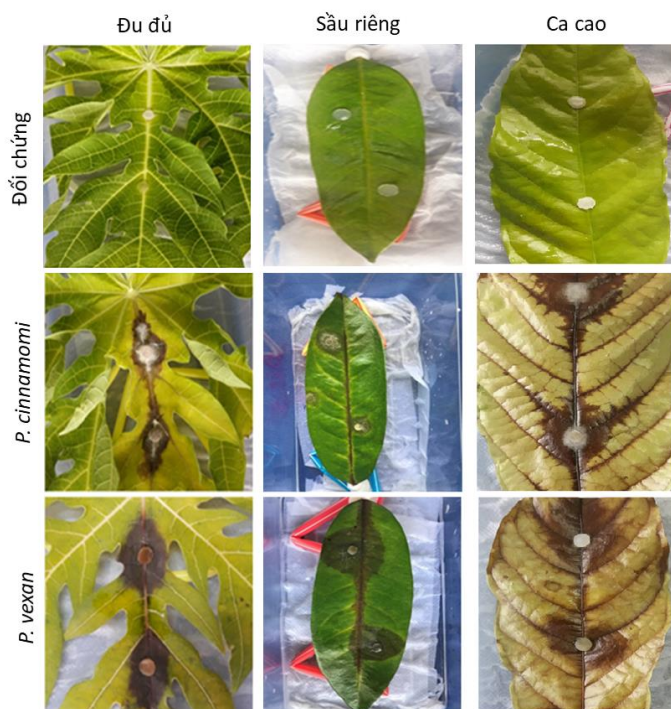
pH	<i>Phytophthora cinnamomi</i> (CT-T.2)				
	24 GSC	48 GSC	72 GSC	96 GSC	120 GSC
4	1,81 ^c ± 0,08	2,95 ^d ± 0,04	3,86 ^e ± 0,09	4,79 ^d ± 0,07	5,78 ± 0,09
5	1,92 ^{bc} ± 0,09	3,04 ^d ± 0,07	4,22 ^d ± 0,12	5,35 ^c ± 0,13	6,27 ± 0,13
6	2,01 ^b ± 0,07	3,54 ^c ± 0,11	5,20 ^c ± 0,08	6,64 ^b ± 0,13	7,94 ± 0,07
7	2,49 ^a ± 0,08	4,48 ^a ± 0,10	6,27 ^a ± 0,08	7,36 ^a ± 0,12	-
8	2,38 ^a ± 0,08	4,06 ^b ± 0,11	5,62 ^b ± 0,12	7,16 ^a ± 0,09	-

Ghi chú: Mẫu *P. vexans* và *P. cinnamomi* được tái phân lập từ cây bưởi sau khi chủng Koch; Các giá trị là trung bình ± SD; GSC: Giờ sau cấy; n = 5; α = 0,01.

3.6. Khả năng gây bệnh của mẫu *Pythium vexans* và *Phytophthora cinnamomi*

Qua kết quả chủng bệnh cho thấy *P. vexans* và *P. cinnamomi* đều có khả năng

gây hại trên lá đu đủ, sầu riêng, ca cao (hình 6). *Pythium vexans* có khả năng gây bệnh cao hơn so với *P. cinnamomi* ở trên ba loại lá thí nghiệm này (bảng 7).



Hình 6. Vết bệnh xuất hiện trên lá đu đủ, sầu riêng, ca cao 5 ngày sau chủng

Bảng 7. Kết quả chủng bệnh trên lá đu đủ, sầu riêng, ca cao

Loài	Mẫu phân lập	Đu đủ		Sầu riêng		Ca cao	
		Vết bệnh (cm)	Tỉ lệ bệnh (%)	Vết bệnh (cm)	Tỉ lệ bệnh (%)	Vết bệnh (cm)	Tỉ lệ bệnh (%)
<i>P. vexans</i>	CT-T.1	3,89	83,3	3,78	83,3	4,89	83,3
	CT-Đ.5	3,90	91,6	3,85	83,3	4,68	100
	MCB-T.2	4,10	91,6	4,10	83,3	5,02	91,6
	GT-T.1	4,15	100	4,29	100	5,18	100
	GT-Đ.4	4,37	100	4,09	100	4,76	91,6
<i>P. cinnamomi</i>	CT-T.2	3,43	100	3,06	83,3	3,43	91,6
	CT-Đ.3	3,19	91,6	3,19	91,6	3,56	91,6
	MCB-T.1	2,98	91,6	2,86	75,0	3,98	100
	MCB-Đ.2	2,87	83,3	3,53	100	3,87	83,3
	GT-T.3	2,65	75,0	2,87	83,3	4,09	91,6

Đã có nhiều nghiên cứu về tác nhân gây bệnh chảy nhựa thân trên cây bưởi ở các nước trong khu vực cũng như trên thế giới kết quả cho thấy có nhiều đối tượng nấm gây bệnh chảy nhựa thân khác nhau. Theo Timmer (1988), tác nhân gây hiện tượng chảy nhựa thân, thối rễ, thối nâu trên cây có múi do *P. parasitica* và *P. citrophthora*. *Phytophthora parasitica* gây thối rễ, chảy nhựa thân, thối thân ở vị trí sát mặt đất, ít khi gây hại thân ở vị trí cao, trong khi đó *P. citrophthora* thường gây hại ở những bộ phận trên không của cây. Ngoài ra trên cây có múi còn ghi nhận có *P. hibernalis* và *P. syringae* gây bệnh ở những vùng có khí hậu lạnh và ẩm ướt; *P. palmivora* và *P. citricola* tấn công cây có múi ở vùng nhiệt đới. Theo Wichiencharoen (1990), ở Thái Lan tác nhân gây bệnh thối rễ và thối trái trên cây có múi là *P. nicotianae*. Timmer và cs. (2003) báo cáo rằng nấm *P. nicotianae*, *P. citrophthora* và *P. palmivora* gây hiện tượng thối rễ và chảy nhựa trên thân cây có múi ở California và Florida, Mỹ; Queensland, Úc. Bệnh *Phytophthora* cũng đã được ghi nhận xuất hiện trên tất cả các vùng trồng bưởi trên thế giới. Bưởi được trồng nhiều ở các nước trong khu vực Đông Nam Á với diện tích rất lớn như Thái Lan, Indonesia, Philippines và Việt Nam. Hàng năm bệnh chảy nhựa thân gây ra bởi *Phytophthora* làm giảm một phần đáng kể năng suất, phẩm chất trái bưởi ở những nước này. Theo kết quả nghiên cứu của FFTC (Food & Fertilizer Technology Center, 2004) bệnh gây thối rễ chảy nhựa thân trên cây có múi gây ra bởi *P. citrophthora*, chúng gây thối thân và lan vào thân gỗ gây hiện tượng chảy gôm, ban đầu nấm làm cho cây phát triển

chậm lại, lá chuyển dần sang vàng và sau đó gây chết cành, thậm chí khi vết bệnh lan xung quanh thân làm chết cây. Tại Indonesia, Anon (1987) ghi nhận trên cây có múi có tới 3 loài *Phytophthora* tấn công là *P. citrophthora*, *P. nicotianae* và *P. palmivora* cùng gây hiện tượng thối rễ và chảy gôm. Henuk và cs. (2017), cho rằng chảy nhựa là một trong những bệnh quan trọng nhất của cây có múi. Bệnh này là do một số loài *P. nicotianae*, *P. palmivora*, *P. citrophthora* gây ra.

Theo ghi nhận của Roger (1951), *P. citrophthora* lần đầu tiên được ghi nhận trên cam ở đồng bằng sông Cửu Long vào những năm 1950. Cho đến những năm 1970 đã tìm thấy *P. citrophthora* trên cam ở miền Bắc và miền Trung Việt Nam. Bệnh *Phytophthora* trên cây có múi ít được quan tâm nghiên cứu và thường giới hạn trong các cuộc điều tra về tỷ lệ bệnh và mức độ nghiêm trọng (Đặng Vũ Thị Thanh và cs., 2004). Kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Kim Sơn và Nguyễn Duy Hưng (2005) về bệnh chảy nhựa trên cây có múi ở một số tỉnh miền Bắc cho rằng tác nhân gây bệnh là do *P. citrophthora* và *P. parasitica*, phổ biến nhất là *P. parasitica*. Nguyễn Ngọc Anh Thư và Nguyễn Văn Hòa (2006) đã chứng minh *P. nicotianae* gây hại nặng hơn và phát triển nhanh hơn nấm *Fusarium solani*. Kết quả điều tra và phân lập ở các vườn ở Tiền Giang, Vĩnh Long, Cần Thơ và Đồng Tháp cho kết quả là tập đoàn nấm đất gồm *Fusarium* sp., *Pythium* sp., *Phytophthora* sp. (Nguyễn Văn Hoà và cs., 2011).

Theo Mammella và cs. (2013) và Jung và cs. (2016), hai loài *P. nicotianae*

và *P. citrophthora* gây bệnh chảy nhựa trên họ cam quýt trên thế giới. Ngoài ra, còn có loài *Phytophthora palmivora* được ghi nhận gây hại trên cây có múi tại Việt Nam (Drenth và cs., 2004). Tại Việt Nam, cũng đã ghi nhận một loài *Phytophthora* thuộc phân nhánh của *P. citricola* và *P. citrophthora* gây bệnh chảy nhựa trên cây bưởi tại các tỉnh Vĩnh Long, Đồng Tháp, Bến Tre (Puglisi và cs., 2017).

Dựa vào đặc điểm hình thái và kết quả kiểm chứng tác nhân theo quy tắc Koch đây là kết quả đầu tiên phát hiện hai loài *P. vexans* và *P. cinnamomi* phân lập từ đất, thân gây bệnh chảy nhựa trên cây bưởi tại tỉnh Bến Tre, Việt Nam. *Pythium vexans* và *P. cinnamomi* có khả năng gây bệnh cho cây trồng sau khi chủng Koch. Trong đó, mẫu *P. vexans* có khả năng gây bệnh cao hơn mẫu *P. cinnamomi*. Kết quả này tương tự với nhận định của Ho và cs., 1995; Burgess và cs., 2009 là cùng điều kiện *Pythium* phát triển và gây bệnh nhanh hơn *Phytophthora*. Từ kết quả thí nghiệm khả năng gây bệnh của *P. vexans* và *P. cinnamomi* có thể khuyến cáo không nên trồng xen cây bưởi với các loại cây trồng đu đủ, ca cao và sầu riêng.

4. KẾT LUẬN

Dựa vào đặc điểm hình thái, trình tự hai vùng gen ITS-rDNA, *coxII* và kết quả kiểm chứng theo quy tắc Koch đã phát hiện mẫu *P. cinnamomi* và *P. vexans* từ mẫu bệnh trên thân và đất rễ cây bưởi bị bệnh nứt thân chảy nhựa. Môi trường dinh dưỡng thích hợp cho sự phát triển của *P. vexans* và *Phytophthora cinnamomi* là PGA. Nhiệt độ thích hợp cho cả 2 loài là

trong khoảng từ 25 - 30°C và tốt nhất là 30°C. Cả *P. vexans* và *Phytophthora cinnamomi* đều phát triển tốt ở điều kiện 12 giờ sáng và 12 giờ tối và pH môi trường trong khoảng 7 - 8 là tốt. Các mẫu phân lập *P. vexans* và *P. cinnamomi* có khả năng tạo triệu chứng bệnh cho cây trồng khác như đu đủ, ca cao, sầu riêng. Sự hiện diện và phân bố của *P. cinnamomi* và *P. vexans* gây bệnh trên cây bưởi ở Bến Tre cần tiếp tục được nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Burgess, L.W., Knight, T.E., Tesoriero, L. và Phan Thúy Hiền (2009), *Cẩm nang chẩn đoán bệnh cây ở Việt Nam*. NXB Trung tâm Nghiên cứu Nông nghiệp Quốc tế Australia (ACIAR). Trang 116 - 134.
2. Drenth A. and Guest D. I. (2004), *Phytophthora in the Tropics Diversity and Management of Phytophthora in Southeast Asia*. Editors by Drenth André and Guest David I. Guest. ACIAR, pp. 30 - 41.
3. Đặng Vũ Thị Thanh và Hà Minh Trung (1999), *Kết quả nghiên cứu sâu bệnh hại cây ăn quả, 1997 - 1998*. NXB Nông nghiệp, 158 trang.
4. Đặng Vũ Thị Thanh, Ngô Vĩnh Viễn và Drenth A. (2004), *Phytophthora Diseases in Vietnam*. Diversity and Management of *Phytophthora* in Southeast Asia. Trang 83 - 89.
5. Henuk J.B.D., Sinaga M.S., Hidayat S.H. (2017), *Morphological and molecular identification of fungal pathogens causing gummosis disease of Citrus spp. in Indonesia*. *Biodiversitas* 18 (3): 1100 - 1108.
6. Ho H.H., Ann T. J. and Chang H.S. (1995), *The genus Phytophthora in Taiwan*. Institute of Botany, Acadpemic Silicas, Monograph series 15, 86 pages.
7. Ho H.H. (2009), *The genus Pythium in Taiwan*. China (1)-a synoptic review. *Front Biol* 4: 14 - 28.

8. Ho H.H. (2018), The taxonomy and biology of *Phytophthora* and *Pythium*. Journal of Bacteriology & Mycology: Open Access.
9. Puglisi I., Alessandro D. P., Leonardo S., Jung T., Maria E., Antonella P., Nguyen Van Hoa, Mai Van Tri, Sandra W., Mauritz R., Christer O., Roberto F., Gaetano M., and Santa O. C. (2017), *Two previously unknown Phytophthora species associated with brown rot of Pomelo (Citrus grandis) fruits in Vietnam*. PLoS One, 12(2): e0172085.
10. Jung T., Bakonyi J., Chang T.T and Seress D. (2016), *Diversity of Phytophthora species in natural ecosystems of Taiwan and association with disease symptoms*. Plant Pathology. 66 (2).
11. Mammella M.A., Martin F.N., Cacciola S.O., Coffey M.D., Roberto F. and Leonardo S. (2013), *Analyses of the Population Structure in a Global Collection of Phytophthora nicotianae Isolates Inferred from Mitochondrial and Nuclear DNA Sequences*. Department of Plant Pathology and Microbiology, 1129 Batchelor Hall, University of California, Riverside 92521.
12. Nguyễn Ngọc Anh Thư và Nguyễn Văn Hòa (2006), *Kết quả khảo sát xác định tác nhân gây bệnh vàng lá thối rễ và một số kết quả thử thuốc sinh học và gốc ghép trên cây có múi phòng trừ bệnh vàng lá thối rễ*. Viện Nghiên cứu Cây ăn quả miền Nam. NXB Nông nghiệp.
13. Nguyễn Thị Kim Sơn và Nguyễn Duy Hưng (2005), *Nghiên cứu bệnh chầy gôm do nấm Phytophthora spp. hại trên cây ăn quả có múi ở một số tỉnh miền Bắc và biện pháp phòng chống*. Tạp chí Bảo vệ thực vật 2: 10 - 13.
14. Nguyễn Văn Hòa, Nguyễn Thành Hiếu, Đặng Thị Kim Uyên, Nguyễn Ngọc Anh Thư, Nguyễn Huy Cường, Đặng Thùy Linh (2011), *Nghiên cứu giải pháp phòng trừ bệnh thối rễ trên một số cây ăn quả đặc sản (cây có múi, vú sữa, sầu riêng và ổi) ở đồng bằng sông Cửu Long*. Hội thảo Quốc gia về Khoa học Cây trồng lần thứ nhất.
15. Roger L. (1951), *Genre Phytophthora. Phytopathologie des pays chauds*. Paris, Paul Lechevalier, 627 - 698.
16. Timmer L.W., and Menge J.A. (1988), *Phytophthora-Induced diseases-Compendium of citrus diseases*.
17. Timmer L. M., Garnsey, Broadbent (2003), *Diseases of citrus*. Diseases of Tropical Fruit Crops. CABI Publishing. 163 - 196.
18. Wichiencharoen A. (1990), *Epidemiology and chemical preventive control of Phytophthora root and foot rot of tangerine at Rangsit irrigated area*. Kasetsart University.

ĐỊNH DANH LOÀI NẤM *Fusarium* spp. GÂY BỆNH HÉO RŨ TRÊN CÂY HOA CÁT TƯỜNG TẠI ĐÀ LẠT, LÂM ĐỒNG

Phan Đăng Khoa¹, Nguyễn Thanh Phong¹, Võ Thị Thu Oanh^{1*}

¹Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

*Tác giả liên hệ: vtthuoanh@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

Identification *Fusarium* spp. causing wilt disease on lisianthus in Dalat, Lamdong province

The wilt disease on lisianthus (Eustoma grandiflorum) causes the mass death of plants, but there is no method to control this disease. Fusarium fungi causing wilt disease on lisianthus was identified based on morphological characteristics, pathogenicity, and sequence of the rDNA-ITS and TEF-1 α regions. The results proved that all 34 isolates from diseased plants collected in Da Lat were Fusarium oxysporum species.

Keywords: Dalat, *Eustoma grandiflorum*, *Fusarium oxysporum*, wilting disease.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoa Cát tường (*Eustoma grandiflorum*) là một loài hoa cắt cành có giá trị kinh tế cao ở nhiều nước trên thế giới. Ở Việt Nam, hoa Cát tường mới được nhập nội từ năm 1998 và được trồng chủ yếu tại một số vùng của tỉnh Lâm Đồng với diện tích khoảng 156ha (Đà Lạt 90ha, Đơn Dương 35ha, Đức Trọng 5ha và Lâm Hà 26ha). Loài hoa này đã nhanh chóng được người tiêu dùng ở nước ta ưa chuộng không chỉ vào các dịp lễ, tết mà cả ngày thường. Trong những năm gần đây, cùng với việc mở rộng diện tích trồng nhằm

đáp ứng nhu cầu của người tiêu dùng nhiều đối tượng sâu bệnh đã phát sinh gây hại nghiêm trọng, trong đó có bệnh héo rũ do nấm *Fusarium* spp. Cây bị nhiễm bệnh ở giai đoạn ra nụ có các lá gần gốc tái xanh, hơi rũ xuống, sau đó hầu hết các lá biến vàng, gốc thân và rễ bị thối dẫn đến toàn cây bị chết. Bệnh héo rũ làm cho cây Cát tường bị chết hàng loạt, gây thiệt hại nghiêm trọng cho người trồng nhưng cho đến nay vẫn chưa có biện pháp nào có thể phòng trừ bệnh này một cách có hiệu quả có thể áp dụng rộng rãi trong sản xuất.

Theo McGovern (2016), có ít nhất 3 loài *Fusarium* khác nhau có thể gây ra

Người phân biệt: TS. Nguyễn Vũ Phong.

bệnh trên cây hoa Cát tường như: *F. avenaceum*, *F. oxysporum* và *F. solani*. Ở nước ta, có rất ít thông tin về bệnh héo rũ cây hoa Cát tường cũng như loài nấm *Fusarium* sp. liên quan đến bệnh này. Vì vậy, việc xác định chính xác loài của tác nhân gây bệnh héo rũ hoa Cát tường mang ý nghĩa quan trọng trong nghiên cứu phòng trừ và quản lý loài nấm gây hại này, góp phần thúc đẩy nghề trồng hoa cát tường ở Đà Lạt (Lâm Đồng) được phát triển bền vững hơn.

Phương pháp truyền thống để xác định loài của *Fusarium* là dựa vào các đặc điểm hình thái như hình dạng và kích thước của bào tử đỉnh lớn, bào tử đỉnh nhỏ, sự có mặt hay vắng mặt của vách dày (Leslie và Summerell, 2006). Tuy nhiên, các đặc điểm hình thái không luôn ổn định và có những hạn chế nhất định trong việc xác định loài và các nhóm dưới loài của *Fusarium*. Hiện nay, các kỹ thuật sinh học phân tử dựa trên trình tự của một số vùng DNA mang thông tin nhất định đã và đang được áp dụng như một công cụ để nhận biết các loài *Fusarium* nhanh hơn, hiệu quả hơn so với phương pháp truyền thống (O'Donnell và cs., 1998; Singha và cs., 2016). Mục đích của nghiên cứu này là định danh chính xác loài của nấm *Fusarium* sp. gây bệnh héo rũ trên hoa Cát tường ở Đà Lạt, sử dụng các đặc điểm hình thái kết hợp với phân tích đối chiếu các trình tự vùng rDNA-ITS (internal transcribed spacer) và TEF-1 α (the translocation elongation factor 1 α) với các trình tự gen đã đăng ký trên Ngân hàng Gen.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thu thập mẫu cây bệnh, phân lập nấm và xác định loài theo đặc điểm hình thái

Các cây hoa Cát tường bị bệnh héo rũ được thu thập ở làng hoa Vạn Thành (phường 5), làng hoa Xuân Thành (xã Xuân Thọ) thuộc thành phố Đà Lạt (Lâm Đồng). Mẫu được mã hóa theo địa điểm thu mẫu và số thứ tự mẫu.

Mẫu cây bệnh thu về, cắt lấy đoạn thân dài khoảng 10 cm, cách gốc 5 - 7 cm. Đoạn thân này được rửa sạch dưới vòi nước đang chảy để loại bỏ đất và bụi bẩn. Từ đoạn thân đã rửa, cắt ngang thân thành các mẫu có kích thước khoảng 5 \times 5 mm, khử trùng bề mặt mẫu bằng dung dịch cồn 70% trong 60 giây, rửa lại bằng nước cất vô trùng 3 lần và để khô trên giấy thấm đã khử trùng. Dùng dụng cụ đã khử trùng cắt mẫu bệnh thành các miếng nhỏ 2 \times 2 mm, sau đó cấy những miếng này vào đĩa petri chứa 20 ml môi trường WA (nước và agar). Các đĩa petri sau khi cấy mẫu được đặt ở điều kiện phòng thí nghiệm và quan sát mỗi ngày cho đến khi tản nấm phát triển. Tản nấm tạo ra từ các mẫu cây được cấy chuyển sang đĩa PGA (Potato Glucose Agar). Các mẫu phân lập (MPL) thuần nhận được bằng kỹ thuật cấy đơn bào tử (Burgess và cs., 1994).

2.2. Kiểm chứng tác nhân gây bệnh sau phân lập theo quy tắc Koch

Chủng bệnh bằng dịch bào tử theo phương pháp có gây vết thương được thực hiện trong nhà lưới. Tiến hành lây bệnh bằng cách đưa dịch bào tử nấm vào

đất trồng. Cây con hoa Cát tường giống màu trắng viền tím (do Công ty Ameriseed Đà Lạt cung cấp) được trồng trong các chậu nhựa (3 cây/chậu) có đường kính 18 cm, chứa 2,5 - 3,0 kg hỗn hợp đất trồng đã được khử trùng ở 121°C trong 30 phút trước khi sử dụng. Cây ở giai đoạn ra nụ được gây thương bằng cách dùng kim số 0 tạo vết thương vào gốc thân cây ở vị trí ngang mặt đất. Sau đó, tưới 25 ml dịch bào tử nồng độ 10^6 bào tử/ml cho mỗi chậu. Mỗi MPL lây nhiễm cho 3 chậu, các chậu cây được gây thương tương tự và tưới nước khử trùng được sử dụng như đối chứng.

2.3. Khảo sát đặc điểm hình thái của các mẫu phân lập *Fusarium* spp.

Khảo sát đặc điểm hình thái chỉ được thực hiện với các MPL đã được xác định là gây bệnh cho cây hoa Cát tường. Các MPL được nuôi cấy trên môi trường PGA để ghi nhận hình thái và màu sắc của tản nấm. Tản nấm nuôi cấy trên môi trường CLA (Carnation Leaf Agar) được sử dụng để xem xét sự hình thành, hình dạng, kích thước của bào tử đỉnh lớn, bào tử đỉnh nhỏ và bào tử vách dày. Các đĩa PGA và CLA được ủ ở nhiệt độ 30°C và 12 giờ sáng - 12 giờ tối. Sau 7 ngày ủ, ít nhất 30 bào tử của mỗi MPL được chọn ngẫu nhiên để đo kích thước. Các loài nấm *Fusarium* được nhận biết dựa theo các đặc điểm hình thái được Leslie và Summerell (2006) mô tả.

2.4. Xác định loài nấm *Fusarium* spp. dựa vào trình tự vùng rDNA-ITS và TEF-1 α

DNA tổng số từ hệ sợi nấm được tách chiết theo phương pháp SDS của

Lee và Taylor (1990) có cải tiến. Dung dịch đồng nhất mẫu chứa Tris-HCl 0,01M, NaCl 1,2M, EDTA 0,05M, SDS 3% và chuẩn pH = 8. Khoảng 40 mg tản sợi nấm nuôi trong môi trường PGB (potato glucose broth) được nghiền bằng nitơ lỏng. DNA được chiết xuất với với Phenol/Chloroform/Isoamyl alcohol (25:24:1) và với Chloroform/Isoamyl alcohol (24:1), sau đó được rửa bằng Sodium acetate 3M và Isopropanol lạnh. DNA tổng số được giữ trong dung dịch TE 1X và được bảo quản ở -20°C cho đến khi sử dụng. DNA tổng số được kiểm tra bằng cách điện di trên gel agarose 1% ở hiệu điện thế 100V, trong 20 phút.

Thành phần cho phản ứng PCR bao gồm 25 μ l MyTaqTM Mix 2X (Bioline USA Inc. USA), 1 μ l mỗi primer có nồng độ 10 μ M và 1 μ l DNA mẫu. DNA mẫu 200 ng/ μ l. Vùng ITS-rRNA được khuếch đại với cặp primer ITS5 và ITS4 (White và cs., 1990) và vùng gen TEF-1 α được khuếch đại với cặp primer EF1 và EF2 (O'Donnell và cs., 1998). Chu trình nhiệt phản ứng PCR với cặp primer ITS4/ITS5 là 1 chu kỳ 94°C trong 5 phút; 35 chu kỳ ở 94°C trong 1 phút, 60°C trong 30 giây, 72°C trong 1 phút; 1 chu kỳ ở 72°C trong 5 phút; với cặp primer EF1/EF2 là 1 chu kỳ 94°C trong 5 phút; 35 chu kỳ ở 94°C trong 1 phút, 65°C trong 1 phút, 72°C trong 1 phút; 1 chu kỳ ở 72°C trong 5 phút. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng cách điện di trên gel agarose 1,5%, hiệu điện thế 80V, 250 mA, trong 30 phút với DNA Ladder 1kb. Quan sát kết quả dưới tia UV.

Bảng 1. Các cặp primer sử dụng trong nghiên cứu

Tên primer	Trình tự primer (5' - 3')	Vùng gen	Kích thước dự kiến (bp)	Tham khảo
ITS5	GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G	ITS	550 - 570	White và cs., 1990
ITS4	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC			
EF1	ATG GGT AAG GAR GAC AAG AC	TEF-1 α	700	O'Donnell và cs., 1998
EF2	GGA RGT ACC AGT SAT CAT GTT			

2.5. Giải và hiệu chỉnh trình tự DNA

Sản phẩm PCR đạt chất lượng được gửi giải trình tự 2 chiều tại Công ty TNHH Dịch vụ và Thương mại Nam Khoa. Trình tự nhận được được hiệu chỉnh bằng phần mềm BioEdit phiên bản 7.2.5 nhằm loại bỏ những tín hiệu không chính xác ở hai đầu trình tự khảo sát, kiểm tra các sai lệch giữa hai kết quả giải trình tự từ mỗi xuôi và mỗi ngược. Sau đó, trình tự được so sánh độ tương đồng với các trình tự có sẵn trên GenBank của NCBI, sử dụng công cụ BLAST (Basic Local Alignment Search Tool).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Triệu chứng bệnh ngoài đồng

Theo triệu chứng ngoài đồng, từ các cây hoa Cát tường có triệu chứng lá tái xanh mất màu, héo rũ đến lá vàng, gốc thân có vết vàng xám, cây héo rũ (hình 1), tổng cộng có 40 mẫu nấm *Fusarium* đã được phân lập có đặc điểm nuôi cấy tương đồng, 6 mẫu phân lập bị tạp nhiễm do đó 6 mẫu này bị loại bỏ trong những nghiên cứu tiếp theo.

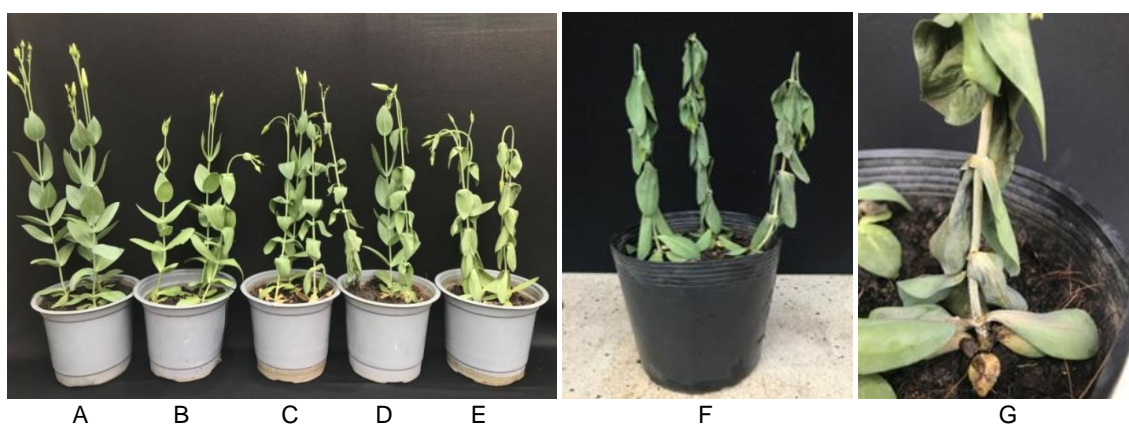


Hình 1. Các giai đoạn triệu chứng bệnh héo rũ trên hoa Cát tường ngoài đồng (A: Triệu chứng cây bị héo; B: Gốc có vết nâu nhạt; C: Thân màu xám trắng)

3.2. Kết quả kiểm chứng tác nhân sau phân lập

Sau khi chủng bệnh 7 ngày, trong số 34 mẫu phân lập (MPL) khảo sát, có 28 MPL xuất hiện triệu chứng các lá thấp phía dưới mất màu, hơi rũ xuống, trên gốc thân xuất hiện vết màu vàng nhạt đến vàng xám giống như triệu chứng ban đầu

ở ngoài đồng. Lúc kết thúc thí nghiệm (15 ngày sau chủng bệnh), các cây hoàn toàn héo và chết. Có 6 MPL không gây ra bất cứ triệu chứng gì trên các cây Cát tường được chủng và vì vậy, 6 MPL này được xem như không gây bệnh và không được nghiên cứu tiếp. Không xuất hiện triệu chứng bệnh trên cây hoa Cát tường đối chứng (hình 2).








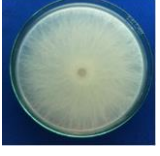

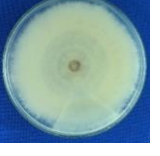
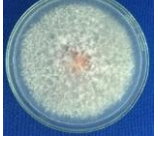

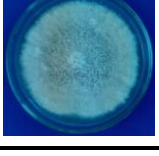

Hình 2. Triệu chứng bệnh trên cây Cát tường sau chủng nấm *Fusarium oxysporum*
(A: Cây đối chứng; B, C, D, E: Cây được chủng lần lượt với MPL VT2, VT18, XT6 và XT15;
F: 7 ngày sau chủng; G: 15 ngày sau chủng nấm)

3.3. Nhận biết loài *Fusarium* dựa vào đặc điểm hình thái

Các mẫu phân lập (28 mẫu) *Fusarium* đã xác định là tác nhân gây ra bệnh héo rũ cho hoa Cát tường sau khi chủng nhân tạo được khảo sát đặc điểm nuôi cấy và hình thái. Kết quả cho thấy, dựa vào đặc điểm tản nấm và sắc tố sinh ra trong môi trường PGA, 28 MPL có thể được chia thành 6 nhóm (bảng 2). Tuy vậy, các mẫu phân lập này có đặc điểm của bào tử không sai khác nhau nhiều và tương tự với mô tả loài nấm *Fusarium oxysporum*

của Leslie và Summerell (2006). Đặc điểm của bào tử như sau: bào tử đỉnh lớn không màu, có 3 - 4 vách ngăn (phần lớn 3 vách ngăn), hình lưỡi liềm, kích thước $3,78 - 4,44 \times 29,93 \times 31,25 \mu\text{m}$, bào tử đỉnh nhỏ không màu, không có vách ngăn hoặc 1 vách ngăn, hình trứng hoặc hình quả thận, kích thước $4,49 - 5,63 \times 11,10 - 12,38 \mu\text{m}$. Bào tử đỉnh nhỏ được hình thành trong một đầu giả, trên thể bình ngắn. Bào tử vách dày hình thành ở cuối sợi nấm, hơi tròn, vách nhẵn hoặc xù xì, đường kính $6,78 - 7,13 \mu\text{m}$ (hình 3).

Bảng 2. Đặc điểm nuôi cấy của nấm *Fusarium oxysporum* gây bệnh héo rũ hoa Cát tường

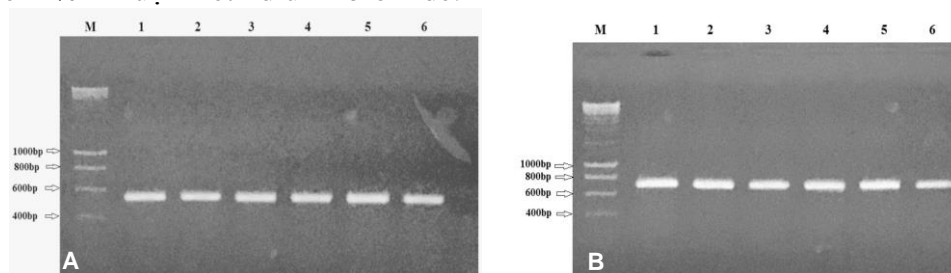
Nhóm	MPL nấm	Đặc điểm tản nấm	Sắc tố
F1	VT15, VT17, VT20, XT1, XT2, XT3	Tản nấm màu trắng ngà, sợi nấm phát triển bung xù và không đồng tâm trên bề mặt môi trường PDA. Sợi nấm phát triển mỏng ở tâm. Mép rìa tản nấm, sợi nấm phát triển thành tia.	 
F2	VT5, VT7, XT6, XT16, XT19	Tản nấm có màu trắng, sợi nấm phát triển bung xù trên bề mặt môi trường. Sợi nấm phát triển dày ở tâm tản nấm. Mép rìa tản nấm, sợi nấm phát triển thành tia.	 
F3	VT3, VT12, XT15, XT17, XT18	Tản nấm có màu trắng kem, sợi nấm phát triển đồng đều và bung xù trên bề mặt môi trường PDA.	 
F4	VT10, VT18	Tản nấm có màu trắng, sợi nấm phát triển đồng đều và bung xù trên bề mặt môi trường PDA.	 
F5	VT8, VT9, XT7, XT12	Tản nấm có màu trắng, sợi nấm phát triển rời rạc và bung xù trên bề mặt môi trường PDA. Tâm tản nấm có màu đỏ nhạt.	 
F6	VT1, VT2, VT11, VT19, XT11, XT20	Tản nấm có màu trắng ngà ở tâm, mép ngoài có màu vàng nhạt. Sợi nấm phát triển mỏng ở tâm và dày ở mép rìa. Phát triển bung xù trên bề mặt môi trường PDA.	 



Hình 3. Hình dạng bào tử *Fusarium oxysporum* (VT18)
(A: Bào tử đỉnh lớn; B: Bào tử đỉnh nhỏ (trong đầu giả); C: Bào tử vách dày)

3.4. Nhận biết loài *Fusarium oxysporum* dựa vào trình tự vùng rDNA-ITS và TEF-1 α

Sáu mẫu phân lập (MPL) *Fusarium oxysporum* đã được định danh về hình thái, đại diện cho 6 nhóm nấm được chọn để xác định loài dựa trên dữ liệu phân tử. Kết quả kiểm tra tách chiết DNA tổng số cho thấy ở tất cả 6 MPL đều có DNA tổng số hiển thị vệt sáng trên thạch agarose 1% nhuộm ethidium bromide.



Hình 4. Hình điện di sản phẩm PCR vùng rDNA-ITS (A) và TEF-1 α (B)
(M: DNA Ladder 1kb; 1: XT1; 2: XT6; 3: XT15; 4: VT18; 5: VT9; 6: VT2)

3.5. Nhận biết loài *Fusarium oxysporum* dựa vào trình tự vùng rDNA-ITS

Trình tự nucleotide thu được từ mỗi sản phẩm PCR vùng rDNA-ITS của 6 MPL khảo sát sau khi hiệu chỉnh có độ dài 543 bp, được so sánh độ tương đồng với nhau. Kết quả cho thấy trình tự vùng rDNA-ITS của tất cả 6 MPL khảo sát đều hoàn toàn giống nhau (độ tương đồng và độ bao phủ 100%). Các trình tự nucleotide này sau đó được sử dụng để truy cập Ngân hàng Gen (BLAST: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Trên cơ sở kết quả tương đồng với các trình tự có sẵn trong Ngân hàng Gen, loài của các mẫu khảo sát được xác định. Kết quả cho thấy 6 MPL khảo sát đều có độ tương đồng và độ bao phủ 100% với *F. oxysporum* có mã genBank là EU839377.1 được thực hiện bởi Lopez và cs. (2010) ở Colombia. Ngoài ra, các mẫu còn có độ tương đồng 100% và độ bao phủ 99% với nhiều trình tự thuộc loài *Fusarium oxysporum* có mã genBank KY910858.1,

Khuếch đại vùng rDNA-ITS của 6 MPL *Fusarium* với cặp primer ITS5 và ITS4 đều thu được một đoạn DNA có chiều dài khoảng 570 bp (hình 4A). Sản phẩm PCR vùng gen TEF1 sau khi được khuếch đại với cặp primer EF1/EF2 được điện di trên gel agarose 1,5% cho kết quả trong hình 4B. Tất cả 6 mẫu đều cho băng đều và rõ ràng, sản phẩm có kích thước khoảng 700 bp phù hợp với nghiên cứu của O'Donnell và cs. (1998).

MN650248.1, MH777057.1. Với độ tương đồng cao như vậy, có thể kết luận rằng 6 MPL khảo sát trong nghiên cứu này đều là loài *Fusarium oxysporum*.

3.6. Nhận biết loài *Fusarium oxysporum* dựa vào trình tự vùng TEF-1 α

Trình tự của vùng gen TEF-1 α của tất cả 6 MPL khảo sát sau khi hiệu chỉnh có độ dài là 681 bp và đều hoàn toàn giống nhau (độ tương đồng và độ bao phủ 100%). Kết quả Blast trên NCBI cho thấy 6 MPL khảo sát đều có độ tương đồng và độ bao phủ 100% với *Fusarium oxysporum* có mã genBank là KP964857.1, KP400735.1 và EU313532.1 được thực hiện lần lượt bởi Taylor và cs. (2015) ở Anh, Stefanczyk và cs. (2016) ở Ba Lan và Wunsch và cs. (2007) ở Mỹ. Ngoài ra, các mẫu còn có độ tương đồng 100% và độ bao phủ 99% với loài *Fusarium oxysporum* có mã gen Bank KT239475.1 hoặc có độ tương đồng chỉ 99,71% nhưng độ bao phủ 100% với nhiều trình tự loài

Fusarium oxysporum có mã genBank KP964865.1, KP400748.1 và KP400734.1. Như vậy, với độ tương cao với loài *Fusarium oxysporum*, có thể kết luận rằng 6 MPL khảo sát trong nghiên cứu này đều là *Fusarium oxysporum*.

Nhận biết chính xác và nhanh chóng một tác nhân gây bệnh cây là cần thiết cho việc quản lý thích hợp bệnh cây do chúng gây ra. Các đặc điểm hình thái là chìa khóa để nhận biết và phân loại nấm *Fusarium* spp. Phương pháp này, mặc dù tốn thời gian công sức và có sự thiếu chính xác nhất định, vẫn còn được áp dụng trong sơ bộ sàng lọc các mẫu phân lập nấm thu được (Leslie và Summerell, 2006). Tuy nhiên do nhu cầu nhận biết nhanh và chính xác, phương pháp sinh học phân tử được chọn làm công cụ hỗ trợ nhận biết, phân tích phả hệ, quan hệ phát sinh loài và xác định loài gây bệnh, hiện đang được ứng dụng rộng rãi (O'Donnell và cs., 1998; Singha và cs., 2016). Trong nghiên cứu này, dựa vào hình dạng, kích thước và sự hình thành của bào tử đỉnh lớn, bào tử đỉnh nhỏ, bào tử vách dày, bước đầu 34 MPL thu từ cây Cát tường bị bệnh héo rũ đã được chúng tôi nhận biết như là *Fusarium oxysporum*. Kiểm tra cho kết quả này, trình tự vùng rDNA-ITS đã thể hiện mức độ nhận biết cao đối với loài *Fusarium oxysporum* của 6 MPL đại diện. Dữ liệu vùng gen TEF-1 α của 6 MPL này cũng đã được tham chiếu với các trình tự có sẵn trong Ngân hàng gen cho phép xác định chính xác loài *Fusarium oxysporum* của 6 MPL được khảo sát. Kết quả định danh loài của 6 MPL nấm *Fusarium* dựa trên dữ liệu phân tử cho thấy đều cùng là một loài *Fusarium oxysporum*. Như vậy, dựa trên đặc điểm hình thái kết hợp phân tích trình tự vùng rDNA-ITS và TEF-1 α , nghiên cứu này đã định danh thành công loài nấm *Fusarium oxysporum* phân lập từ cây hoa cát tường bị héo rũ ở Đà Lạt. Mặc dù

số mẫu nấm nghiên cứu còn ít và chỉ được thu ở một địa bàn hẹp như thành phố Đà Lạt, việc xác định đến loài của nấm *Fusarium oxysporum* ở nghiên cứu này đã cung cấp được thông tin đầu tiên và chính xác về tác nhân gây bệnh héo rũ cây hoa Cát tường ở Đà Lạt.

4. KẾT LUẬN

Dựa vào đặc điểm hình thái, khả năng gây bệnh kết hợp với phân tích trình tự nucleotide của vùng rDNA-ITS và vùng TEF-1 α , tác nhân gây bệnh héo rũ trên cây hoa Cát tường ở thành phố Đà Lạt (Lâm Đồng) là loài nấm *Fusarium oxysporum*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lee S. B., and Taylor J. W. (1990), Isolation of DNA from fungal mycelia and single spores. In: Weising K., Nybom H., Wolff K., and Meyer W. (1995), *DNA fingerprinting in plants and fungi*. CRC Press, Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo. pp. 70 - 71.
2. Leslie J. F., and Summerell B. A. (2006), *Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing, Ames, IA.
3. McGovern R. J. (2016), Diseases of Lisianthus. In: McGovern, R., Elmer W. (eds) *Handbook of Florists' Crops Diseases. Handbook of Plant Disease Management*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-32374-9_20-1
4. O'Donnell K., Cigelnik E. and Nirenberg H.I. (1998), Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia* 90: 465 - 493.
5. Singha I.M., Kakoty Y., Unni B.G, Das J., and Kalita M.C. (2016), Identification and characterization of *Fusarium* sp. using ITS and RAPD causing fusarium wilt of tomato isolated from Assam, North East India. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 14, 99 - 105. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgeb.2016.07.001>
6. White T. J., Bruns T., Lee S., and Taylor J. (1990), Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J., White, T. J., (Eds) *PCR protocols, a guide to methods and applications*. Academic Press: San Diego, pp 315 - 322.

PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH NẤM GÂY BỆNH THÁN THƯ TRÊN CÂY NHO (*Vitis vinifera* L.) TẠI TỈNH NINH THUẬN

Đặng Thị Hồng Nhiên¹, Nguyễn Mai Nghiệp²,
Nguyễn Ngọc Bảo Châu⁴, Nguyễn Bảo Quốc^{2,3*}

¹Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

²Khoa Khoa học Sinh học, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

³Viện Nghiên cứu Công nghệ Sinh học và Môi trường,
Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

⁴Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Mở Hồ Chí Minh

*Tác giả liên hệ: baoquoc@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Bệnh thán thư được xem là một trong những bệnh gây hại nặng cho các khu vực trồng nho ở tỉnh Ninh Thuận. Kết quả nghiên cứu sáu mẫu nấm được phân lập từ các mẫu lá và quả nhiễm bệnh của giống nho Cardinal trồng tại hai huyện Ninh Phước và Ninh Sơn, tỉnh Ninh Thuận cho thấy các mẫu nấm phát triển tốt trên môi trường PDA trong điều kiện nhiệt độ và ánh sáng phòng thí nghiệm. Bào tử của các mẫu nấm phân lập này có dạng đơn bào, hình trụ dài với hai đầu tròn chiếm đa số đặc trưng cho nấm *Colletotrichum* sp. Bào tử nấm *Colletotrichum* sp. nảy mầm sau 4 giờ và đến 12 giờ tất cả các mẫu nấm bắt đầu hình thành giác bám. Phân tích trình tự vùng ITS chỉ ra rằng sáu mẫu nấm phân lập trên chính là nấm *Colletotrichum gloeosporioides*. Khả năng gây bệnh của các chủng này được đánh giá qua chủng bệnh nhân tạo trên quả của hai giống nho Cardinal và NH01-48 trồng phổ biến tại Ninh Thuận. Kết quả chủng bệnh cho thấy nấm *Colletotrichum gloeosporioides* chính là tác nhân gây bệnh thán thư trên hai giống nho tại Ninh Thuận.

ABSTRACT

Isolation and identification of anthracnose disease in grape (*Vitis vinifera* L.) in Ninh Thuan province

Anthracnose disease has been considered as one of serious diseases in grape growing areas in Ninh Thuan province. The result indicated that six fungal isolates were collected from infected leaves and fruits of Cardinnal species growing at Ninh Phuong, Ninh Son in Ninh Thuan province grewed well on PDA media under laboratory temperature and light conditions. The spores of these fungal isolates are

Người phân biện: TS. Nguyễn Vũ Phong.

unicellular, long cylindrical with two round ends, predominantly characteristic of Colletotrichum sp. They germinated after 4 hours and most of them formed appressoria after 12 hours. Sequence analysis of the ITS region indicated that most of fungal isolates was Colletotrichum gloeosporioides. The pathogenicity of above fungal isolates was conducted through the inoculation of fungal conidia on fruits of two grape varieties Cardinal and NH01-48. The results showed that Colletotrichum gloeosporioides is the causal agent of anthracnose disease in two grape varieties in Ninh Thuan.

Keywords: Ninh Thuan province, anthracnose, grape, *Colletotrichum gloeosporioides*, pathogenicity.

1. MỞ ĐẦU

Bệnh thán thư trên cây nho là một bệnh rất phổ biến ở các khu vực trồng nho tại tỉnh Ninh Thuận và làm ảnh hưởng đến năng suất nghiêm trọng. Bệnh thường gây hại mạnh vào giai đoạn quả chín gây thối toàn bộ quả non theo như mô tả của Hào và cộng sự (2005). Theo nghiên cứu của Jamadar (2007), có ba loài nấm bao gồm *Sphaceloma ampelinum* (De Bery) Shear (*E. ampelina*), *Gloeosporium ampelophagum* và *Colletotrichum gloeosporioides* (*C. gloeosporioides*) là các tác nhân gây bệnh thán thư trên nho tại Ấn Độ.

Ở miền Đông Canada, tác nhân gây bệnh thán thư do loài nấm *E. ampelina* gây hại nghiêm trọng cho nghề trồng nho (Carisse và cộng sự, 2008). Tuy nhiên ở các khu vực trồng nho ở Đông Nam Hoa Kỳ thì nấm *Colletotrichum* sp. được xem là tác nhân gây hại nghiêm trọng vào giai đoạn thu hoạch trên cây nho trưởng thành (Pearson và Goheen, 1988). Mức độ gây hại của các loài *Colletotrichum* sp. trên cây nho cũng được mô tả tại Nhật Bản (Yamamoto, 2009), Úc và New Zealand (Brook, 1973; Greer và cộng sự, 2011), Hàn Quốc (Hong và cộng sự, 2008) và

nhiều quốc gia khác. Tại Việt Nam, bệnh thán thư trên nho được phát hiện tại Nha Hồ năm 1999. Bệnh nhanh chóng phát sinh và gây hại nặng ở các khu vực trồng nho của tỉnh và trên hầu hết các giống nho, đặc biệt là giống nho ăn tươi và nho không hạt. Bệnh xuất hiện trong điều kiện ẩm độ cao kéo dài nhiều ngày và đặc biệt gây hại nặng trong mùa mưa. Mức độ gây hại và khả năng lây lan là rất nhanh đang là mối quan tâm và lo ngại của nhiều hộ nông dân trồng nho.

Trong nghiên cứu này, việc phân lập và xác định tác nhân gây bệnh thán thư trên nho tại Ninh Thuận nhằm hiểu được đặc tính sinh học của các tác nhân này và giúp tìm ra nguyên nhân và phương pháp để phòng trừ hiệu quả bệnh thán thư trên cây nho tại Ninh Thuận.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Phân lập mẫu bệnh và khảo sát khả năng sinh trưởng, phát triển các mẫu nấm phân lập

Các mẫu lá, quả có triệu chứng bệnh thán thư được thu thập ngẫu nhiên và được bảo quản trong túi ziplock và ghi rõ địa điểm lấy mẫu, ngày lấy mẫu. Mẫu

bệnh được rửa sạch dưới vòi nước chảy, rửa mẫu bằng cồn 70⁰ trong 1 phút, sau đó rửa lại bằng nước cất vô trùng 3 - 4 lần. Mẫu được làm khô bằng giấy thấm vô trùng. Sau đó, cắt mẫu bệnh ở phần tiếp giáp giữa mô bệnh và mô khỏe thành những mẫu nhỏ và cấy vào đĩa petri chứa môi trường WA. Khi tơ nấm mọc ra từ mẫu cấy thì cấy chuyển sang môi trường PDA.

Từ các mẫu nấm 7 ngày tuổi, cắt mẫu nấm với kích thước đồng đều, đặt trên môi trường PDA ở điều kiện nhiệt độ, ánh sáng của phòng thí nghiệm. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi mẫu phân lập (MPL) được lặp lại 3 lần, mỗi lần lặp lại tương ứng với một đĩa petri có đường kính 85 mm. Ghi nhận màu sắc và đo đường kính tản nấm ở 2, 4, 6 ngày sau cấy.

2.2. Khảo sát sự hình thành cấu trúc xâm nhiễm của các mẫu nấm phân lập

Các mẫu nấm phân lập được nuôi cấy trên môi trường PDA trong 6 - 8 ngày ở điều kiện nhiệt độ và ánh sáng của phòng thí nghiệm. Dịch bào tử được chuẩn bị trong nước cất vô trùng. Hình dạng bào tử của mỗi MPL được xác định dưới kính hiển vi quang học bằng cách quan sát ít nhất 100 bào tử được chọn ngẫu nhiên. Kích thước bào tử được xác định bằng cách đo chiều dài và chiều rộng của 25 bào tử được chọn ngẫu nhiên. Khảo sát sự nảy mầm và hình thành giác bám của bào tử được thực hiện với ít nhất 100 bào tử và 3 lần lặp lại. Thí nghiệm được thực hiện bằng cách cho 10 ml nước cất vô trùng lên trên bề mặt tản nấm 6 - 8 ngày tuổi trên môi trường nuôi cấy và cào nhẹ

bằng tăm bông vô trùng. Lọc lấy dịch bào tử và nhỏ lên lam kính với 3 lần lặp lại và đặt trong đĩa petri, dưới đĩa có lót giấy thấm ẩm. Quan sát sự nảy mầm và hình thành giác bám của bào tử trong 4, 8, 12, 24 giờ.

* *Chỉ tiêu theo dõi:*

Tỷ lệ bào tử nảy mầm (%) = (Số bào tử nảy mầm/Số bào tử quan sát) × 100.

Tỷ lệ bào tử có hình thành giác bám (%) = (Số bào tử hình thành giác bám/Số bào tử quan sát) × 100.

Định danh loài các mẫu nấm phân lập dựa trên vùng trình tự ITS.

Các mẫu nấm phân lập được nuôi trong môi trường CM lỏng. Mẫu nấm sau khi cấy được 5 ngày, dùng que cấy thu sợi nấm và bỏ vào bình có chứa 100 ml môi trường CM lỏng. Sau đó đặt bình vào máy lắc (120 vòng/phút) trong vòng 4 ngày thì thu được sinh khối. Làm khô bằng cách cho khối sợi nấm qua giấy lọc (đã được hấp khử trùng), vắt khô khối sợi nấm và bảo quản ở -20°C để chuẩn bị cho quá trình ly trích DNA. Phương pháp ly trích DNA được thực hiện theo quy trình của Lee và Taylor (1990). Sinh khối sợi nấm thu được từ môi trường CM lỏng được nghiền bằng nitor lỏng đến khi thành bột mịn. Chuyển 0,1 g bột nấm vào eppendorf 1,5 ml. Thêm 600 µl lysis buffer, vortex để tạo dịch đồng nhất. Ủ mẫu ở 65°C trong 1 giờ, cứ 15 phút đảo nhẹ để dịch bên trong được trộn đều. Thêm 600 µl dung dịch Phenol:Chloroform:Isoamyl alcohol tỷ lệ thể tích 25:4:1, vortex để

trộn đều dung dịch và được tiến hành ly tâm 9000 vòng/phút trong 15 phút ở nhiệt độ phòng. Chuyển dịch nổi (khoảng 400 μ l) vào ống eppendorf mới. Sau đó thêm 400 μ l hỗn hợp Chloroform:Isoamyl alcohol (24:1), lắc nhẹ và ly tâm 20 phút với tốc độ 9000 vòng/phút ở nhiệt độ phòng. Hút lấy dịch nổi (khoảng 300 μ l) vào ống eppendorf mới và kết tủa DNA bằng cách thêm 0,03 thể tích natri acetate 3M và 0,6 thể tích isopropanol. Sau đó lắc nhẹ và ly tâm 14.000 vòng/phút trong 5 phút ở nhiệt độ phòng. Loại bỏ dịch nổi, rửa phần kết tủa 3 lần bằng ethanol 70% lạnh. Làm khô DNA kết tủa, hòa tan DNA với một thể tích TE (40 - 60 μ l) trữ ở 4°C hoặc - 20°C cho đến khi sử dụng. Chất lượng và nồng độ DNA tổng số được đánh giá bằng phương pháp điện di và máy NanoDrop 2000 spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, USA).

Định danh loài *Colletotrichum* sp. được thực bằng cách khuếch đại vùng trình tự ITS với cặp môi ITS1: 5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG3' và ITS4: 5'TCCTCCGCTTA TTGATATGC3' (White và cộng sự, 1990). Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1% trong dung dịch TBE 0,5X. Chạy điện di ở hiệu điện thế 100V trong 25 phút. Kết quả điện di được quan sát dưới ánh sáng UV và được chụp hình bởi thiết bị UVPTM, Hoa Kỳ. Sản phẩm PCR được giải trình tự hai chiều bởi công ty 1st BASE (Malaysia) và được định danh bằng công cụ BLAST và cây thư mục di truyền với các trình tự tham khảo trên cơ sở dữ liệu NCBI.

2.3. Đánh giá khả năng gây bệnh của các mẫu phân lập

Khả năng gây bệnh của các mẫu nấm phân lập được thực hiện trên quả nho có và không có gây vết thương. Quả nho được xử lý bằng cồn 70% và được rửa 3 lần bằng nước cất tiệt trùng. Các hộp nhựa sử dụng trong thí nghiệm cũng được xử lý bằng cồn 70%, độ ẩm trong hộp được duy trì bằng cách lót giấy thấm ẩm ở đáy hộp. Bào tử của các mẫu nấm phân lập được thu từ tản nấm 6 - 8 ngày tuổi trên môi trường PDA bằng cách cho 10 ml nước cất vô trùng lên bề mặt tản nấm và cạo nhẹ bằng tăm bông vô trùng. Dịch bào tử được đếm bằng buồng đếm hồng cầu và điều chỉnh đến nồng độ thí nghiệm là 10⁶ bào tử/ml. Chủng bệnh được tiến hành trên 10 quả nho được xếp thành 2 hàng bao gồm hàng trên 5 quả có gây vết thương và hàng dưới 5 quả không gây vết thương. Sau đó 10 μ l dung dịch bào tử được nhỏ trên bề mặt mỗi quả. Nghiệm thức đối chứng được nhỏ bằng nước cất vô trùng. Các quả nho được đặt trong hộp nhựa sao cho không tiếp xúc trực tiếp với giấy thấm ẩm và đặt ở nhiệt độ phòng, đặt ở tối trong 24 giờ. Tỷ lệ bệnh được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ bệnh (\%)} = (\text{Số vết bị bệnh}/\text{Số vết được chủng}) \times 100.$$

2.4. Xử lý thống kê

Các số liệu được tổng hợp bằng phần mềm Excel 2010, phân tích ANOVA một chiều và trắc nghiệm phân hạng LSD bằng phần mềm SAS 9.1.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và định danh tác nhân gây bệnh thán thư trên nho dựa trên hình thái bào tử

Mẫu lá và quả nhiễm bệnh với các triệu chứng điển hình là những đốm màu nâu, xung quanh viền nâu sẫm vết bệnh như bị bỏng hoặc như bị cháy lá (hình 1 A)

hay là những chấm li ti màu nâu nhạt sau chuyển sang màu nâu sẫm ăn sâu vào quả, bề mặt trông giống như vết bỏng, quả bị nứt và gây thối toàn bộ quả, quan sát kỹ sẽ thấy khối bào tử màu hồng hoặc màu da cam (hình 1 B, C, D). Các triệu chứng này giống với các mô tả của các nghiên cứu trước đây (Schilder, 2010; Hào và cộng sự, 2005).



Hình 1. Các mẫu bệnh trên lá, quả của cây nho được thu thập tại huyện Ninh Sơn và Ninh Phước
(A: Triệu chứng thán thư trên lá; B, C, D: Triệu chứng thán thư trên quả)

Kết quả quá trình thu thập mẫu gây bệnh thán thư trên nho đã phân lập được 6 mẫu nấm từ hai huyện của tỉnh Ninh Thuận là Ninh Sơn và Ninh Phước (bảng 1). Đặc

điểm hình thái của 6 mẫu nấm này trên môi trường PDA đa dạng về màu sắc từ trắng, xám nhạt cho đến xám, mép tản nấm thường đều, sợi nấm bung ra trên bề mặt thạch.

Bảng 1. Các mẫu nấm được phân lập từ mẫu bệnh thán thư được trên cây nho ở tỉnh Ninh Thuận

Mẫu nấm	Địa điểm	Giống nho	Vị trí phân lập
LCNP-1	Thôn La Chử, xã Phước Hữu, Ninh Phước	Cardinal	Lá
LCNP-2	Thôn La Chử, xã Phước Hữu, Ninh Phước	Cardinal	Lá
LCNP-3	Thôn Phước Đồng, xã Phước Hậu, Ninh Phước	Cardinal	Lá
LCNP-4	Thôn Hiệp Hòa, xã Phước Hậu, Ninh Phước	Cardinal	Lá
QCNS-1	Thôn Nha Hồ, xã Nhơn Sơn, Ninh Sơn	Cardinal	Quả
QCNS-2	Thôn Nha Hồ, xã Nhơn Sơn, Ninh Sơn	Cardinal	Quả

Quan sát sự phát triển của 6 mẫu nấm phân lập này cho thấy tốc độ phát triển của các mẫu nấm tăng dần theo thời gian và có sự khác biệt rất có ý nghĩa về đường kính tăng nấm giữa các mẫu phân lập ($P < 0,001$), mẫu nấm phát triển tốt trên môi trường PDA. Mẫu QCNS-1 có đường kính tản nấm lớn nhất trên tất cả những giai đoạn theo dõi 2, 4 và 6 NSC, với đường kính tản nấm lần lượt là 26,33 mm, 52,11 mm và 78,67 mm. Mẫu LCNP-1 có đường kính nhỏ nhất ở 2, 4 và

6 NSC với đường kính tản nấm lần lượt là 19,66 mm, 41,11 mm và 62,78 mm (bảng 2). Tốc độ phát triển 2 - 4 ngày nhanh nhất là mẫu QCNS-1 đạt 12,89 mm/ngày và chậm nhất là LCNP-4 đạt 10,45 mm/ngày. Trong khi đó, tốc độ phát triển 4 - 6 ngày của các mẫu nấm tăng hơn so với 2 - 4 ngày đầu, mẫu QCNS-1 phát triển nhanh nhất đạt 13,28 mm/ngày, tiếp đến là mẫu LCNP-3 đạt 12,89 mm/ngày và chậm nhất là LCNP-2 đạt 10,78 mm/ngày (bảng 2).

Bảng 2. Sự phát triển các mẫu nấm phân lập trên môi trường PDA

Mẫu nấm	Đường kính tản nấm trên môi trường PDA (mm)			Tốc độ phát triển (mm/ngày)	
	2 NSC	4 NSC	6 NSC	2 - 4 ngày	4 - 6 ngày
LCNP-1	19,66 ± 0,57 ^d	41,11 ± 0,51 ^d	62,78 ± 0,39 ^e	10,73	10,84
LCNP-2	22,22 ± 0,39 ^b	43,66 ± 0,58 ^{bc}	65,22 ± 0,19 ^d	10,72	10,78
LCNP-3	21,11 ± 0,51 ^c	45,11 ± 0,51 ^b	70,89 ± 0,84 ^b	12	12,89
LCNP-4	21,44 ± 0,20 ^{bc}	42,33 ± 0,67 ^{cd}	65,56 ± 0,84 ^d	10,45	11,62
QCNS-1	26,33 ± 0,34 ^a	52,11 ± 0,70 ^a	78,67 ± 0,58 ^a	12,89	13,28
QCNS-2	20,00 ± 0,00 ^d	43,55 ± 0,69 ^{bc}	67,89 ± 0,7 ^c	11,78	12,17

Ghi chú: Các giá trị là trung bình của 3 lần lặp lại ± SD (Standard deviation). Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức 5%. NSC: Ngày sau cấy.

3.2. Khảo sát đặc điểm hình thái bào tử và cấu trúc xâm nhiễm của các mẫu nấm phân lập

Bào tử của các mẫu phân lập được quan sát dưới kính hiển vi ở vật kính 40X có những đặc điểm chung là các bào tử dạng đơn bào, trong suốt, không có vách ngăn, trong bào tử có giọt dầu. Sinh sản vô tính bằng bào tử đính, bào tử đính phát triển trên cuống bào tử trong dạng thể quả gọi là cụm cuống bào tử. Trong nước bào

tử này mầm và hình thành giác bám. Những đặc điểm trên phù hợp với đặc trưng mô tả của nấm *Colletotrichum* sp. Nhìn chung các mẫu phân lập có hình dạng và kích thước bào tử gần giống nhau và không có sự khác biệt có ý nghĩa về chiều dài của bào tử ($P > 0,05$) nhưng lại có sự khác biệt rất có ý nghĩa về chiều rộng của bào tử ($P < 0,001$), trong đó hình dạng bào tử hai đầu tròn chiếm trên 90% trong các mẫu phân lập (bảng 3).

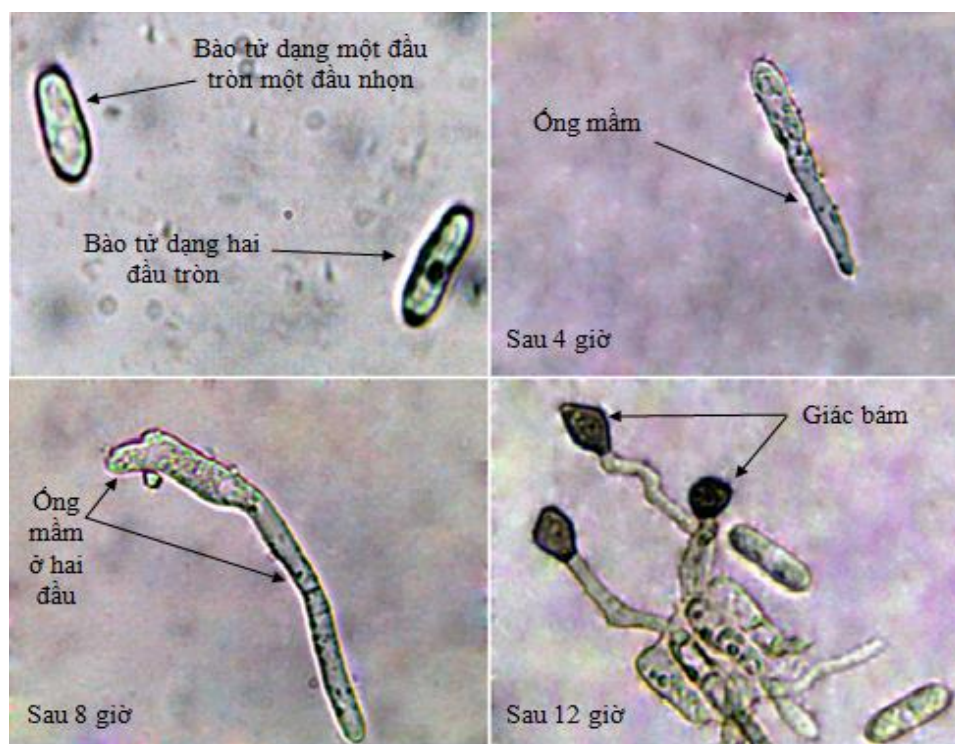
Bảng 3. Kích thước và hình dạng bào tử của các mẫu nấm phân lập

Mẫu nấm	Kích thước bào tử (μm)		Tỷ lệ bào tử theo hình dạng (%) (n = 100)			
	Chiều dài	Chiều rộng	Hai đầu tròn	Đầu tròn, đầu nhọn	Hai đầu nhọn	Thất eo giữa
LCNP-1	14,81 ± 0,88	5,12 ± 0,51 ^{ab}	95	3	0	2
LCNP-2	15,30 ± 0,97	4,90 ± 0,35 ^b	93	5	0	2
LCNP-3	15,25 ± 0,88	5,60 ± 0,89 ^a	97	2	0	1
LCNP-4	14,85 ± 1,04	5,30 ± 0,65 ^{ab}	90	6	0	4
QCNS-1	15,00 ± 0,88	4,90 ± 0,35 ^b	89	6	0	5
QCNS-2	15,00 ± 1,02	5,10 ± 0,62 ^b	94	4	0	2

Ghi chú: Kích thước bào tử là giá trị trung bình của 25 bào tử được đo ngẫu nhiên ± SD (Standard deviation). Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức 5%.

Sự nảy mầm và hình thành giác bám của bào tử là một trong những đặc điểm sinh học của loài *Colletotrichum* sp. và là

những yếu tố quan trọng đánh giá khả năng gây bệnh của nấm trên cây trồng (hình 2).



Hình 2. Hình dạng bào tử, ống mầm và giác bám được quan sát dưới kính hiển vi ở vật kính 40X

Từ kết quả bảng 4 cho thấy, trong cùng điều kiện nhiệt độ và ẩm độ, tỷ lệ nảy mầm và hình thành giác bám của các mẫu nấm phân lập tăng dần theo thời gian và có sự khác biệt rất có ý nghĩa ($P < 0,001$). Trong thời gian 4 giờ khi gặp điều

kiện nhiệt độ và ẩm độ thích hợp, tỷ lệ nảy mầm ở các mẫu nấm tương đối cao, cao nhất là 2 mẫu LCNP-3 và QCNS-1 với tỷ lệ là 24,33%, thấp nhất là mẫu LCNP-4 với 14,67%.

Bảng 4. Tỷ lệ bào tử nảy mầm của các mẫu nấm phân lập

Nguồn nấm	Tỷ lệ nảy mầm (%)			
	4 giờ	8 giờ	12 giờ	24 giờ
LCNP-1	15,00 ± 2,00 ^b	28,00 ± 1,73 ^d	36,33 ± 2,52 ^d	44,33 ± 2,52 ^c
LCNP-2	21,00 ± 2,65 ^a	42,33 ± 2,08 ^{bc}	46,33 ± 2,52 ^c	54,00 ± 2,65 ^b
LCNP-3	24,33 ± 2,08 ^a	36,67 ± 1,15 ^c	38,33 ± 0,58 ^d	41,33 ± 1,53 ^c
LCNP-4	14,67 ± 1,15 ^b	45,33 ± 2,52 ^b	54,67 ± 1,53 ^b	55,67 ± 1,15 ^b
QCNS-1	22,33 ± 1,15 ^a	59,00 ± 2,65 ^a	62,33 ± 2,08 ^a	67,00 ± 1,73 ^a
QCNS-2	24,33 ± 2,52 ^a	37,33 ± 2,08 ^c	56,33 ± 2,08 ^b	56,33 ± 1,53 ^b

Ghi chú: Kích thước bào tử là giá trị trung bình của 25 bào tử được đo ngẫu nhiên ± SD (Standard deviation). Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức 5%.

Khác biệt với tỷ lệ nảy mầm, sau 4 giờ thí nghiệm không có mẫu nấm phân lập nào hình thành giác bám. Đến giai đoạn 8 giờ hầu hết các mẫu nấm đều hình thành giác bám chỉ có 2 mẫu là LCNP-1 và QCNS-2 là chưa hình thành giác bám, tỷ lệ hình thành giác bám mẫu LCNP-3 cao nhất với 38,00%, mẫu QCNS-2 tỷ lệ giác bám hình thành rất ít chỉ 1,33%. Sau 12

giờ, tất cả các mẫu nấm đều đã hình thành giác bám, mẫu QCNS-1 chỉ mới bắt đầu hình thành giác bám (0,67%) tuy nhiên tốc độ nảy mầm lại cao nhất 62,33%. Sau 24 giờ, tỷ lệ bào tử nảy mầm và hình thành giác bám ở các mẫu nấm tăng cao, mẫu LCNP-3 tỷ lệ hình thành giác bám vẫn cao nhất 54,67% trong khi đó mẫu QCNS-1 tỷ lệ nảy mầm cao nhất tới 67,00% (bảng 5).

Bảng 5. Tỷ lệ bào tử hình thành giác bám của các mẫu nấm phân lập

Nguồn nấm	Tỷ lệ hình thành giác bám (%)			
	4 giờ	8 giờ	12 giờ	24 giờ
LCNP-1	0	0,00 ± 0,00 ^c	3,33 ± 1,53 ^d	20,67 ± 2,89 ^{de}
LCNP-2	0	7,33 ± 0,58 ^b	22,00 ± 2,00 ^b	31,33 ± 1,53 ^c
LCNP-3	0	38,00 ± 1,00 ^a	47,00 ± 1,00 ^a	54,67 ± 2,08 ^a
LCNP-4	0	9,33 ± 2,08 ^b	20,67 ± 1,53 ^b	42,33 ± 3,05 ^b
QCNS-1	0	0,00 ± 0,00 ^c	0,67 ± 1,15 ^d	19,33 ± 1,15 ^e
QCNS-2	0	1,33 ± 1,15 ^c	12,00 ± 2,00 ^c	25,33 ± 1,53 ^d

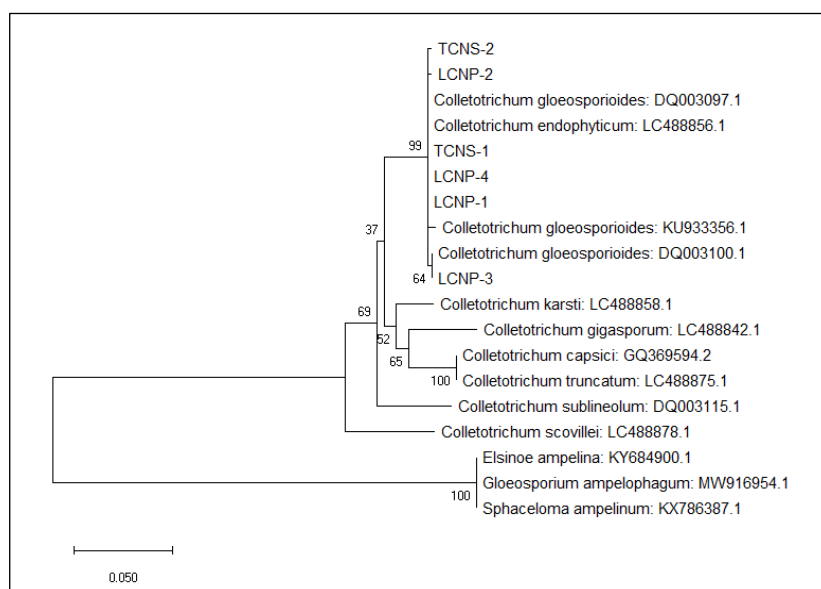
Ghi chú: Kích thước bào tử là giá trị trung bình của 25 bào tử được đo ngẫu nhiên ± SD (Standard deviation). Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức 5%.

Dựa vào kết quả này cho thấy có sự khác biệt rất có ý nghĩa ở tỷ lệ hình thành giác bám từ 8 giờ ($P < 0,001$), mẫu LCNP-1 và QCNS-1 có tỷ lệ hình thành giác bám ít hơn so với các mẫu nấm còn lại, cần ẩm độ kéo dài khoảng 12 giờ mới cho tỷ lệ nảy mầm cao và hình thành giác bám, trong khi các mẫu nấm còn lại chỉ cần ẩm độ kéo dài 8 giờ là có thể hình thành giác bám. Qua kết quả trên có thể nhận định trong cùng điều kiện nhiệt độ và ẩm độ thích hợp thì bào tử mẫu LCNP-3 cho tỷ lệ nảy mầm và hình thành giác bám nhanh hơn các mẫu còn lại để có thể xâm nhiễm gây bệnh các bộ phận trên cây nho.

3.3. Định danh loài *Colletotrichum* sp. từ các mẫu nấm phân lập dựa trên vùng trình tự ITS-rDNA

Các phản ứng PCR để xác định loài *Colletotrichum* sp. được tiến hành trên 6 mẫu DNA với cặp mồi ITS1/ITS4. Kết quả điện di kiểm tra sản phẩm PCR trên gel agarose 1% đều cho ra sản phẩm duy nhất, các băng trên gel khá rõ, kích

thước sản phẩm xấp xỉ 540 bp (không thể hiện kết quả). Sản phẩm PCR của 6 mẫu trên được giải trình tự và so sánh tính tương đồng với cơ sở dữ liệu vùng trình tự ITS-rDNA trên Genbank bằng công cụ BLAST. Kết quả cho thấy trình tự ITS-rDNA của 6 mẫu nấm phân lập đều có độ tương đồng cao với trình tự của nhiều loài nấm *Colletotrichum* và *Glomerella*. Theo Von Schrenk và Spaulding (1903), nấm *Glomerella* là giai đoạn hữu tính của nấm *Colletotrichum*, vì vậy có thể nhận định 6 mẫu nấm phân lập được là *Colletotrichum*. Với tỷ lệ tương đồng cao (từ 99% đến 100%) của trình tự ITS-rDNA của loài nấm *Colletotrichum gloeosporioides* có thể chỉ ra rằng trình tự DNA của sản phẩm PCR của 6 mẫu đều là nấm *Colletotrichum gloeosporioides* (không thể hiện kết quả). Phân tích cây phân nhóm di truyền đã khẳng định tính tương đồng với kết quả BLAST rằng 6 mẫu nấm phân lập gây bệnh thán thư trên nho là *Colletotrichum gloeosporioides* (hình 3).



Hình 3. Phả hệ phân tử được xây dựng bằng phương pháp Neighbor-Joining (Các con số hiển thị trên cây là giá trị bootstrap của 1000 lần lặp lại)

3.4. Khả năng gây bệnh của các mẫu nấm *Colletotrichum gloeosporioides* trên các giống nho

Chủng bệnh được tiến hành trên quả nho với hai giống trồng phổ biến tại tỉnh Ninh Thuận là Cardinal và NH01-48 với nồng độ bào tử của các mẫu nấm *Colletotrichum gloeosporioides* là 10⁶ bào tử/ml. Triệu chứng ban đầu sau khi chủng của cả hai giống là xuất hiện những chấm nhỏ sau đó phát triển ăn sâu vào quả. Đối

với giống NH01-48, ở giữa quả có màu nâu đỏ xung quanh vết bệnh có màu nâu đen (hình 4 C). Đối với giống Cardinal, triệu chứng bệnh nặng hơn, vết bệnh có màu nâu sáng nứt chảy nước đồng thời xuất hiện những giọt dịch màu hồng gây thối quả, ở giữa vết bệnh có sợi nấm màu trắng mọc lên (hình 4 A). Không có triệu chứng bệnh quan sát trên cả 2 giống nho khi chủng bằng nước cất (hình 4 B, D).



Hình 4. Khả năng gây bệnh của các mẫu nấm *Colletotrichum gloeosporioides* trên hai giống nho ở 6 ngày sau chủng

(A: Chủng mẫu nấm LCNP-3 lên giống Cardinal, B: Đối chứng không chủng nấm của giống Cardinal, C: Chủng mẫu nấm LCNP-4 lên giống NH01-48, D: Đối chứng không chủng nấm của giống NH01-48)

Kết quả chủng bệnh cho thấy cả 6 mẫu đều có khả năng gây bệnh trên hai giống Cardinal và NH01-48. Sau 24 giờ chủng bệnh, giọt bào tử từ từ khô và tụ lại thành đốm đen. Đến 2 ngày sau chủng, trên hai giống nho đã xuất hiện vết bệnh nhưng tỷ lệ nhiễm bệnh thấp (20%). Ở 4

ngày sau chủng, tỷ lệ bệnh dưới 50% tuy nhiên kích thước vết bệnh lớn dần. Sau 6 ngày chủng, tỷ lệ nhiễm bệnh cao trên 50% đối với hai giống nho (bảng 6). Tỷ lệ bệnh cao chứng tỏ khả năng gây bệnh nặng của các mẫu *Colletotrichum gloeosporioides* ở cả hai giống.

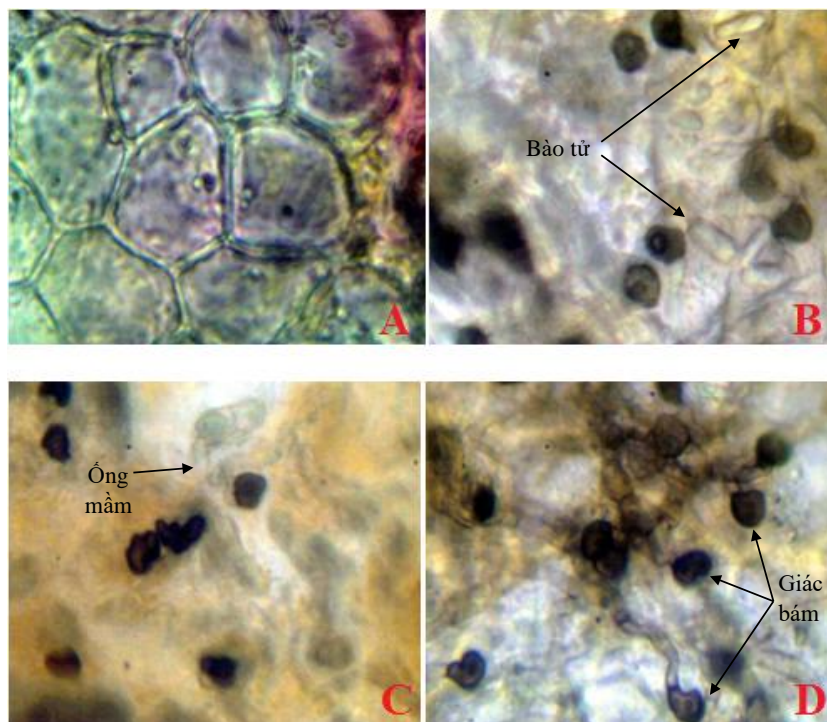
Bảng 6. Tỷ lệ bệnh của giống Cardinal và NH01-48 sau 2, 4 và 6 ngày chủng (%)

Mẫu nấm	Tỷ lệ bệnh (%)											
	Giống Cardinal						Giống NH01-48					
	2 ngày sau chủng		4 ngày sau chủng		6 ngày sau chủng		2 ngày sau chủng		4 ngày sau chủng		6 ngày sau chủng	
	Gây vết thương	Không gây vết thương	Gây vết thương	Không gây vết thương	Gây vết thương	Không gây vết thương	Gây vết thương	Không gây vết thương	Gây vết thương	Không gây vết thương	Gây vết thương	Không gây vết thương
LCNP-1	0	0	20	0	80	0	0	0	20	0	40	0
LCNP-2	0	0	40	0	80	0	0	0	20	0	60	0
LCNP-3	20	0	40	0	100	0	20	0	40	0	80	0
LCNP-4	20	0	40	0	80	0	20	0	20	0	80	0
QCSN-1	0	0	40	0	100	0	0	0	20	0	60	0
QCSN-2	0	0	40	0	100	0	0	0	40	0	60	0

Qua bảng 6, tỷ lệ nhiễm bệnh của giống Cardinal cao hơn giống NH01-48. Từ đó, có thể nhận định khả năng nhiễm bệnh của giống Cardinal cao hơn giống NH01-48. Khả năng gây bệnh của mẫu LCNP-3 cao hơn so với các mẫu còn lại kết quả này cũng phù hợp với thí nghiệm khảo sát sự hình thành cấu trúc xâm nhiễm trước đó. Tỷ lệ bệnh ở 6 ngày sau chủng trên cả hai giống thường từ 60 - 100%, trong khi đó quả chủng không gây vết thương tỷ lệ là 0%. Điều này cho thấy, phản ứng của quả nho còn phụ thuộc vào phương pháp chủng và hầu hết các mẫu nấm *Colleotrichum gloeosporioides* gây hại nặng ở quả có gây vết thương hơn trên quả không gây vết thương. Do đó, trong điều kiện ngoài đồng sự gây hại của bệnh thán thư rất lớn ở quả bị thương so với quả không bị thương. Vết thương là nơi dễ xâm nhập và gây hại mạnh nhất, nên quả có gây vết thương tỷ

lệ bệnh cao hơn so với quả không gây vết thương.

Sau khi chủng loài nấm *Colleotrichum gloeosporioides* lên quả nho 6 ngày, cắt mẫu vỏ quả nho và quan sát dưới kính hiển vi cho thấy trong mô vỏ có hình dạng bào tử, giác bám *Colleotrichum gloeosporioides* (hình 5). Điều này có thể giải thích rằng, khi chủng bệnh bào tử tiếp xúc trên bề mặt quả, nảy mầm và hình thành giác bám xâm nhập qua bề mặt quả vào mô quả. Sau đó tiến hành phân hủy cấu trúc tế bào và hợp chất hữu cơ khó tan thành tan dễ hấp thụ dinh dưỡng cần thiết, khi nấm hấp thụ dinh dưỡng và tiết ra độc tố để đầu độc tế bào, làm vật chất dinh dưỡng trong tế bào giảm, mô bị suy yếu và chết thể hiện qua triệu chứng bệnh trên quả. Từ đó, có thể xác định nấm *Colleotrichum gloeosporioides* là tác nhân gây bệnh thán thư trên quả nho trong tự nhiên.



Hình 5. Sự tương tác giữa nấm *Colletotrichum gloeosporioides* và mô vỏ nho
 (A: Tế bào mô khỏe, B: Bào tử trong mô vỏ, C: Bào tử nảy mầm trong mô vỏ,
 D: Bào tử hình thành giác bám trong mô vỏ)

4. KẾT LUẬN

Dựa vào đặc điểm hình thái, trình tự vùng gen ITS-rDNA chỉ ra rằng *Colletotrichum gloeosporioides* là tác nhân chính gây bệnh thán thư trên cây nho tại tỉnh Ninh Thuận. Các mẫu phân lập *Colletotrichum gloeosporioides* có khả năng hình thành các cấu trúc xâm nhiễm và tấn công vào trong các tế bào của cây trồng hình thành các triệu chứng điển hình của bệnh thán thư trên cây nho. Nấm bệnh *Colletotrichum gloeosporioides* gây nhiễm thông qua vết thương trên cả hai giống nho Cardinal và NH01-48 vốn được trồng phổ biến tại tỉnh Ninh Thuận. Các dạng gây bệnh dựa trên cây ký chủ của nấm *Colletotrichum gloeosporioides* cũng như cơ chế gây

bệnh của nấm này cần tiếp tục được nghiên cứu thêm nhằm tìm ra các biện pháp kiểm soát và phát hiện nhanh tác nhân gây bệnh này trên đồng ruộng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Brook P.J. (1973), Epidemiology of grapevine anthracnose, caused by *Elsinoe ampelina*. Plant Diseases Division, DSIR., Auckland, New Zealand, pp. 333 - 342.
2. Carisse O., Bacon R., Lasnier J., et al. (2008), Identification Guide to the Major Diseases of Grape. Agriculture and Agri - Food Canada, 8 May 2008.
3. Greer L.A, Harper J.D.I., Savocchia.S, Samulian S.K., Steel C.C. (2011), Ripe rot of south - eastern Australian wine grapes is caused by two species of *Colletotrichum*: *C.acutatum* and *C.gloeosporioides* with differences in infection and fungicide

- sensitivity. Australian Journal of grape and wine research 17: 123 - 128.
4. Hào M.V., Kiên P.C., Lê H.T.M., Chính N.V. (2005), Kết quả nghiên cứu giám định và định danh tác nhân gây bệnh thán thư hại nho tại Ninh Thuận. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn số 22: 25 - 27.
 5. Hong S.K., Kim W.G., Yun H.K., Choi K.J. (2008), Genetic diversity and pathogenicity of *Colletotrichum* species causing grape ripe rot in Korea. Plant Pathol.J. 24(3): 269 - 278.
 6. Jamadar M.M (2007), Etiology, epidemiology and management of anthracnose of grapevine. Doctor of philosophy in Plant Pathology, 140 pages.
 7. Lee, S.B., Taylor, J.W. (1990), Isolation of DNA from Fungal Mycelia and Single Spores. In: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J. and White, T.J., Eds., PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Academic Press, San Diego, 282 - 287.
 8. Pearson R.C., Goheen A.C. (1988), Compendium of Grape Diseases. St.Paul, MN, USA: APS Press.
 9. Shilder A. (2010), Anthracnose - *Elisinoe ampelina*. *MSU Plant Pathology*. Access at https://www.canr.msu.edu/uploads/files/Diseases_PDFs/Anthracnose.pdf.
 10. White T.J, Bruns T., Lee S., Taylor J.W. (1990), Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White YJ, eds. PCR Protocols: A Guide to Methods and Application. San Diego, CA, USA: Academic Press.
 11. Yamamoto J., Sato T., Tomioka K. (1999), Occurrence of ripe rot of grape (*Vitis vinifera* L.) caused by *Colletotrichum acutatum* Simmonds ex Simmonds. Annals of Phytopathological Society of Japan 65: 83 - 86.

NẤM *Fusarium oxysporum* TÁC NHÂN GÂY BỆNH THỐI GỐC, RỄ TRÊN CÂY SACHI (*Plukentia volubilis* L.) TẠI QUỲNH LƯU, NGHỆ AN

Hồ Thị Nhung¹, Nguyễn Tài Toàn¹,
Võ Thị Dung², Nguyễn Thị Kim Hiền¹

¹Viện Nông nghiệp và Tài nguyên, Trường Đại học Vinh

²Khoa Nông Lâm Ngư, Trường Đại học Kinh tế Nghệ An

ABSTRACT

Fusarium oxysporum fungi causing stem and root rot disease on sachi (*Plukentia volubilis* L.) at Quynh Luu, Nghe An

Fifteen strains of *F. oxysporum* were isolated from root samples from infected plants on Sachi plantation in Quynh Chau, Quynh Luu, Nghe An. In which, the fungus strain *F. oxysporum* (Fu3.QC) has the strongest potential to cause harm. PDA medium, pH 4, lighting conditions of 12 hours with light and 12 without light, and temperature levels of 25°C and 30°C are the best conditions for the growth and development of *F. oxysporum* (Fu3.QC).

Keywords: sachi, *Fusarium oxysporum*, stem and root rot.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây đậu núi Sacha Inchi (*Plukentia volubilis* L.) thuộc họ Thầu dầu (*Euphorbiaceae*), được gọi là cây Sachi. Cây Sachi phân bố ở vùng rừng nhiệt đới Amazon và đã được thổ dân vùng Amazon sử dụng từ 3.000 năm trước (Gutiérrez *et al.*, 2011).

Trong hạt Sachi hàm lượng Omega 3 chiếm 48 - 54%; Omega 6 chiếm 35 - 37%; Omega 9 chiếm 6 - 10%. Omega 3 giúp phát triển và nâng cao trí tuệ, giảm cholesterol, Omega 6 có tác dụng chống

rối loạn tim mạch và chống cao huyết áp, giảm thoái hóa não, tăng cường thị lực. So với các loại cây lấy dầu khác thì Sachi là loại cây có hàm lượng Omega cao nhất, riêng Omega 3 cao gấp 17 lần dầu cá, gần 50 lần dầu oliu. Hiện nay dầu Sachi được đánh giá là loại “dầu ăn tốt nhất trên thế giới”. Sachi được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực như: các sản phẩm từ hạt, bột protein Sachi, mỹ phẩm (sản xuất viên serum dưỡng tóc, dầu dưỡng tóc, dưỡng da) và lá cây Sachi còn được dùng để sản xuất thành các loại trà (Hamaker *et al.*, 1992).

Ở Việt Nam, Sachi được đưa về trồng khảo nghiệm từ năm 2013 tại: Hà Nội, Thái Bình, Hòa Bình, Sơn La, Ninh Bình, Đắk Lắk... Sau khi trồng 6 - 8 tháng cây cho thu quả, cây ra hoa kết quả và được thu hái quanh năm. Ngày 14/01/2019 Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đã đưa cây Sachi vào hệ thống cây được liệu được trồng ở Việt Nam theo Quyết định số 204/QĐ-BNN-TT.

Tại hai huyện Quỳnh Châu và Quỳnh Lưu của Nghệ An từ năm 2018, người dân đã bắt đầu trồng thử nghiệm cây Sachi thay thế cho một số cây trồng địa phương. Tại xã Quỳnh Châu, huyện Quỳnh Lưu diện tích trồng Sachi đã đạt trên 5 ha. Sau 3 năm, trên các vườn trồng Sachi đã xuất hiện bệnh thối gốc, rễ làm chết cây, gây thiệt hại lớn đến năng suất.

Cho đến nay, các công trình nghiên cứu về dịch hại trên cây Sachi còn rất hạn chế. Do đó, việc xác định tác nhân gây bệnh thối gốc, rễ trên cây Sachi là cơ sở quan trọng để đưa ra các biện pháp phòng trừ phù hợp.

Trên cơ sở đó chúng tôi tiến hành nghiên cứu xác định nguyên nhân gây thối gốc, rễ trên cây Sachi (*Plukentia volubilis* L.) tại Quỳnh Lưu, Nghệ An.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Nấm *F. oxysporum* gây bệnh thối rễ trên cây Sachi.

- Các loại môi trường nuôi cấy: WA, PDA, PCA, CA.

2.2. Nội dung nghiên cứu

- Xác định nguyên nhân gây bệnh thối gốc rễ cây Sachi tại Quỳnh Châu, Quỳnh Lưu, Nghệ An.

- Nghiên cứu đặc điểm sinh học của loài nấm gây bệnh thối gốc rễ cây Sachi.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Xác định nguyên nhân gây bệnh thối gốc rễ cây sachi

* *Phân lập nấm gây bệnh:*

Mẫu gốc rễ cây sachi bị bệnh thu về được rửa sạch đất cát dưới vòi nước. Khử trùng bằng cồn 70 độ và sau đó rửa lại bằng nước cất vô trùng. Cắt mô bệnh thành các mẫu nhỏ kích thước 1 x 1 mm, đặt vào môi trường WA (water agar), để trong điều kiện 30°C. Theo dõi tán nấm mọc ra từ mô bệnh sau 1 tuần, cấy chuyển đỉnh sinh trưởng sang môi trường PDA (potato dextro agar) để làm thuần mẫu nấm.

Giám định nấm được thực hiện theo khóa phân loại của Barnett và Hunter (1998). Các đặc điểm cần quan sát: màu sắc, hình dạng tán nấm, bào tử nấm.

* *Kiểm chứng nguyên nhân gây bệnh theo chu trình Koch:*

Cây giống Sachi 30 ngày tuổi được trồng trong chậu đất đã được khử trùng. Dùng các mẫu nấm *Fusarium* đã được phân lập để lây bệnh cho cây Sachi. Mỗi một mẫu nấm được lây bệnh cho 15 cây. Nguồn nấm bệnh trong đĩa petri hòa cùng 30 ml nước cất vô trùng, nồng độ bào tử 10^7 bào tử/ml, trộn với đất trong chậu cây sachi. Đối chứng không lây bệnh. Theo dõi: Ngày xuất hiện triệu chứng vết bệnh,

tỷ lệ cây bị bệnh sau 45 ngày. So sánh triệu chứng bệnh của các cây trong thí nghiệm lây bệnh với triệu chứng của các cây bị bệnh trên đồng ruộng. Phân lập lại nấm từ các cây thí nghiệm lây bệnh so sánh với các mẫu nấm phân lập được từ các cây bị bệnh ngoài tự nhiên.

2.3.2. Phương pháp nghiên cứu đặc điểm sinh học của loài nấm (*F. oxysporum*) gây bệnh thối gốc rễ cây sachi

2.3.2.1. Khả năng sinh trưởng của nấm *F. oxysporum* ở các môi trường dinh dưỡng

Mẫu nấm FU 3.QC được nuôi cấy trên đĩa Petri có chứa môi trường PDA, PCA (potato carrot agar), CA (carrot agar). Mỗi một loại môi trường được nhắc lại 3 lần. Theo dõi đường kính của tản nấm trên các loại môi trường sau 7 ngày.

2.3.2.2. Khả năng sinh trưởng của nấm *F. oxysporum* ở các điều kiện nhiệt độ, pH và thời gian chiếu sáng khác nhau

Các thí nghiệm này được tiến hành với mẫu nấm FU 3.QC được nuôi cấy trên đĩa Petri có chứa môi trường PDA để ở:

Các mức nhiệt độ 15°C, 20°C, 25°C, 30°C.

Các mức pH 4, pH 6 và pH 8.

Các điều kiện chiếu sáng khác nhau: 24 giờ sáng; 24 giờ tối; 12 giờ sáng + 12 giờ tối.

Mỗi công thức nhắc lại 3 lần theo dõi đường kính của tản nấm *F. oxysporum* ở các công thức thí nghiệm khác nhau sau 7 ngày.

2.4. Xử lý số liệu

Các số liệu được phân tích bằng Excel 2010.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nguyên nhân gây bệnh thối gốc rễ cây Sachi tại Quỳnh Châu, Quỳnh Lưu, Nghệ An

3.1.1. Kết quả phân lập tác nhân gây bệnh thối gốc rễ cây Sachi tại Quỳnh Châu, Quỳnh Lưu, Nghệ An

Bệnh thối gốc rễ cây Sachi xuất hiện và gây hại ở tất cả các giai đoạn sinh trưởng của cây Sachi, từ cây con đến cây trưởng thành. Vết bệnh xuất hiện tại phần gốc thân và rễ của cây Sachi. Vết bệnh màu nâu đen, trên rễ vết bệnh là những đốm nhỏ dài từ 1 - 1,5 cm trên rễ, trên gốc thân vết bệnh lớn dài từ 2 - 15 cm, vết bệnh hơi bị lõm vào so với bề mặt của rễ và gốc thân. Mạch dẫn chuyển màu thâm nâu. Khi cây bị thối gốc rễ nặng, bộ lá của cây sachi biến vàng và héo rũ.

Từ 15 mẫu thân, rễ thu thập từ các cây bị nhiễm bệnh tại vườn trồng Sachi Quỳnh Châu, Quỳnh Lưu, Nghệ An, đã phân lập được 15 mẫu nấm *Fusarium* sp., các mẫu nấm này có ký hiệu là: Fu1.QC; Fu2.QC; Fu3.QC; Fu4.QC; Fu5.QC; Fu6.QC; Fu7.QC; Fu8.QC; Fu9.QC; Fu10.QC; Fu11.QC; Fu12.QC; Fu13.QC; Fu14.QC và Fu15.QC.

Mười lăm mẫu nấm *Fusarium* sp. phân lập được đều có tản nấm xốp bông màu trắng, trung tâm tản nấm ban đầu có màu trắng và sau đó chuyển màu tím hồng trên môi trường PDA. Sợi nấm phân nhánh, có vách ngăn. Bào tử lớn hình lưỡi liềm có 3 đến 5 vách ngăn. Bào tử nhỏ hình bầu dục đến hình thận, không có hoặc có 1 vách ngăn ngang, không màu. Bào tử hậu vách dày hình tròn. Dựa vào các đặc điểm hình thái và

khóa phân loại của Barnett và Hunter (1998) đã công bố có thể kết luận các mẫu nấm bệnh được phân lập từ cây Sachi bị bệnh có những đặc điểm đặc trưng của loài *Fusarium oxysporum*.

3.1.2. Kết quả thực hiện quy trình Koch kiểm chứng tác nhân gây bệnh

Các mẫu nấm *F. oxysporum* phân lập được từ cây Sachi bị bệnh đã được sử dụng để lây bệnh trở lại cho cây Sachi con tại Trường Đại học Vinh vào tháng 3/2020.

Tất cả 15 mẫu nấm *F. oxysporum* đều gây bệnh thối gốc rễ cho cây Sachi khi lây bệnh trở lại trên cây Sachi con. Sau 40 ngày mẫu nấm Fu3.QC đã gây bệnh cho tất cả các cây thí nghiệm, mẫu nấm Fu14.QC sau 45 ngày tỷ lệ cây bị bệnh chỉ đạt 46,67%. Sau 45 ngày tỷ lệ bệnh trung bình của các công thức lây bệnh là 66,7%. Vết bệnh đã xuất hiện tại phần rễ và gốc thân giống như triệu chứng của cây Sachi bị bệnh thu từ ngoài đồng. Các cây đối chứng đều không bị bệnh (bảng 1).

Bảng 1. Kết quả lây bệnh cho cây Sachi bằng các mẫu nấm *F. oxysporum*

Mẫu nấm	Ngày xuất hiện vết bệnh	Tỷ lệ bệnh (%)
<i>F. oxysporum</i> (Fu1.QC)	42	86,67
<i>F. oxysporum</i> (Fu2.QC)	42	60,00
<i>F. oxysporum</i> (Fu3.QC)	40	100,00
<i>F. oxysporum</i> (Fu4.QC)	41	86,67
<i>F. oxysporum</i> (Fu5.QC)	41	73,33
<i>F. oxysporum</i> (Fu6.QC)	42	73,33
<i>F. oxysporum</i> (Fu7.QC)	43	73,33
<i>F. oxysporum</i> (Fu8.QC)	45	53,33
<i>F. oxysporum</i> (Fu9.QC)	41	80,00
<i>F. oxysporum</i> (Fu10.QC)	43	60,00
<i>F. oxysporum</i> (Fu11.QC)	43	46,67
<i>F. oxysporum</i> (Fu12.QC)	44	53,33
<i>F. oxysporum</i> (Fu13.QC)	44	53,33
<i>F. oxysporum</i> (Fu14.QC)	45	46,67
<i>F. oxysporum</i> (Fu15.QC)	45	53,33
Đối chứng	0	0,00
Trung bình	42,733	66,67

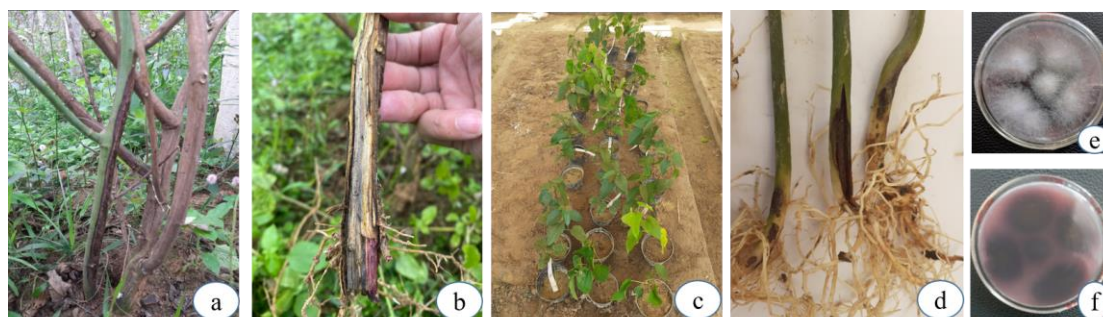
Các cây bị bệnh trong thí nghiệm có triệu chứng bệnh giống như triệu chứng bệnh điển hình trên cây Sachi con ngoài đồng ruộng: Vết bệnh thâm đen xuất

hiện phần gốc thân là các vết dài, kích thước 1 - 5 cm, vết bệnh hơi bị lõm vào so với bề mặt.

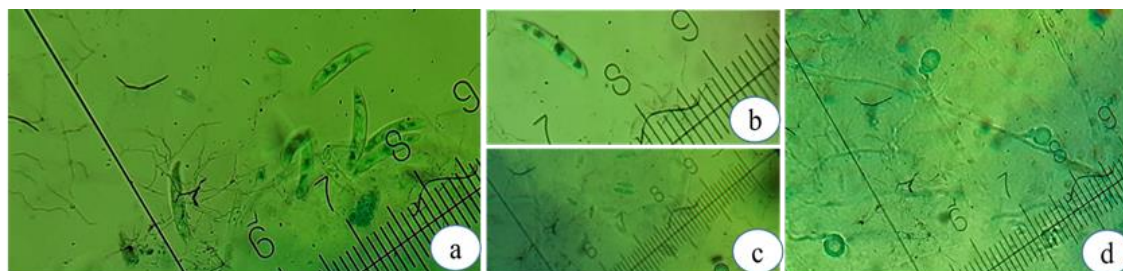
Phân lập nấm gây bệnh từ cây Sachi con bị nhiễm bệnh trong thí nghiệm trên môi trường PDA, đã thu được các mẫu nấm có tản nấm bông, màu trắng, môi trường PDA đổi màu tím hồng và có 3 loại bào tử xuất hiện, bào tử lớn hình lưỡi liềm có 3 - 5 vách ngăn, kích thước 2,5 - 4,5 × 28 - 47 μm, bào tử nhỏ hình bầu dục không có hoặc có 1 vách ngăn có kích thước 4,1 - 6,2 × 2,5 - 3,2 μm và bào tử hậu tròn, thành dày, có đường kính 7,2 - 7,9 μm.

Các kết quả lây bệnh, triệu chứng bệnh và kết quả phân lập nấm từ cây Sachi con bị bệnh trong thí nghiệm đã cho phép kết luận nguyên nhân gây ra bệnh thối gốc, rễ cây Sachi là do nấm *F. oxysporum*.

Khả năng gây bệnh cao của mẫu nấm *F. oxysporum* (Fu3.Q) là cơ sở lựa chọn mẫu nấm này cho những nghiên cứu về đặc điểm sinh học về loài nấm gây bệnh thối gốc rễ trên cây Sachi.



Hình 1. Cây Sachi bị nhiễm bệnh thối gốc rễ (a); Mạch dẫn cây Sachi nhiễm bệnh bị thâm đen (b); Cây Sachi con lây bệnh (c); Triệu chứng thối gốc rễ trên cây Sachi con lây bệnh (d); Tản nấm *F. oxysporum* phân lập được mặt trước (e) và mặt sau (f)



Hình 2. Các dạng bào tử của nấm *F. oxysporum*: Bào tử lớn và bào tử nhỏ (a); Bào tử lớn (b); Bào tử nhỏ (c); Bào tử hậu (d)

3.2. Nghiên cứu đặc điểm sinh học của chủng nấm *F. oxysporum* (Fu3.QC) gây bệnh thối gốc rễ cây Sachi

Đặc điểm sinh học của các loài nấm bệnh là một trong các cơ sở quan trọng để xây dựng các biện pháp phòng trừ hiệu quả. Nghiên cứu đặc điểm sinh học của

chủng nấm bệnh *F. oxysporum* (Fu3.QC) dựa trên các thí nghiệm về môi trường nuôi cấy khác nhau, ngưỡng pH, điều kiện chiếu sáng và các mức nhiệt độ khác nhau ảnh hưởng đến khả năng sinh trưởng của nấm.

Cả 3 loại môi trường dinh dưỡng: PDA, CA và PCA đều thích hợp để nuôi cấy nấm *F. oxysporum* sau 7 ngày đường kính tản nấm đạt từ 7,59 - 8,21 cm, trong đó môi trường PDA là môi trường thích hợp nhất cho sự phát triển của nấm *F. oxysporum* (Fu3.QC), sau 7 ngày đường kính tản nấm đạt 8,21 cm.

Khoảng pH từ 4 - 8 thích hợp cho nấm phát triển nhưng khả năng sinh trưởng của nấm ở pH 4 là tốt nhất. Sau 7 ngày kích thước tản nấm ở mức pH 4 đạt 8,55 cm.

Với 3 điều kiện chiếu sáng khác nhau: 24 giờ sáng; 12 giờ sáng xen kẽ 12 giờ tối và 24 giờ tối thì ở điều kiện chiếu sáng là 12 giờ sáng xen kẽ 12 giờ tối mẫu nấm *F. oxysporum* (Fu3.QC) phát triển tốt nhất với đường kính tản nấm đạt cao nhất là 8,91 cm.

Trong khoảng nhiệt độ từ 15°C đến 30°C, sự phát triển của nấm tỷ lệ thuận với nhiệt độ. Ở mức nhiệt độ 15°C nấm phát triển rất chậm, đường kính của tản nấm chỉ đạt 3,43 cm sau 7 ngày, trong khi đó ở các mức nhiệt độ từ 25°C và 30°C nấm *F. oxysporum* (Fu3.QC) phát triển tốt, đường kính tản nấm đạt tương ứng 7,60 và 8,07 cm.

4. KẾT LUẬN

Bệnh thối gốc, rễ trên cây Sachi ở Quỳnh Châu, Quỳnh Lưu, Nghệ An do nấm *F.oxysporum* gây ra. Trong 15 mẫu nấm *F. oxysporum* phân lập được từ mẫu cây bị nhiễm bệnh tại Quỳnh Châu, Quỳnh Lưu, Nghệ An, mẫu nấm *F. oxysporum* (Fu3.QC) có khả năng gây bệnh mạnh nhất.

Môi trường PDA, pH 4, điều kiện chiếu sáng 12 giờ sáng xen kẽ 12 giờ tối và khoảng nhiệt độ từ 25°C - 30°C là thích hợp nhất cho sự sinh trưởng và phát triển của nấm *F. oxysporum* (Fu3.QC).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Agrios.G.N (2005), Plant pathology, Department of plant pathology, University of edition, 5th edition, San Diego, California. Elsevier Academic Press, 922 p.
2. Barnett H. L & Barry B. Hunter (1998), *Illustrated genera of imperfect fungi*. Fourth Edition.
3. Gutiérrez L.F., L.M. Rosada and A Jiménez (2011), Chemical composition of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds and characteristics of their lipid fraction. *Grasas y Aceites* 62(1) Enero-marzo, pp 76 - 83.
4. Hamaker BR, C. Valles, R. Gilman, R.M. Hardmeier, D. Clark, H.H. Garcia, A.E. Gonzales, I. Kohlstad, M. Castro, R. Valdivia, T. Rodriguez and M. Lescano (1992), Amino acid and fatty acid profiles of the Inca Peanut (*Plukenetia volubilis*). *Cereal Chem.* 69, 461 - 463.

NGHIÊN CỨU BỆNH VÀNG LÁ THỐI RỄ HẠI CÂY CAM TẠI NGHỆ AN

Hồ Thị Nhung¹, Nguyễn Sỹ Hùng², Nguyễn Hữu Hiền¹,
Nguyễn Thị Thúy¹, Thái Thị Ngọc Lam¹

¹Viện Nông nghiệp và Tài nguyên, Trường Đại học Vinh
²Trung tâm Khuyến nông Nghệ An

TÓM TẮT

Trên cây cam tại 4 huyện trồng cam trọng điểm của Nghệ An có 11 bệnh, trong đó bệnh vàng lá thối rễ, bệnh vàng lá Greening và bệnh thối nâu quả cam là ba loại bệnh gây hại phổ biến nhất. Bệnh vàng lá thối rễ có xu hướng tăng dần từ giai đoạn sau thu hoạch đến giai đoạn ra các đợt lộc xuân và lộc hè, đỉnh điểm của bệnh thường rơi vào giai đoạn đầu mùa nóng khi cây đang vào giai đoạn ra lộc hè, sau đó có xu hướng giảm xuống khi cây vào giai đoạn phát triển quả và tăng lên sau mùa mưa vào cuối năm. Xác định được nấm *F. solani* và *P. palmivora* là nguyên nhân gây ra bệnh vàng lá thối rễ cây cam tại Nghệ An. Tại Quy Hợp, Tân Kỳ, Yên Thành tìm thấy cả hai loài nấm *F. solani* và *P. palmivora* trên cây cam bị vàng lá thối rễ. Tại Thanh Chương chỉ tìm thấy nấm *F. solani* trên cây cam bị bệnh vàng lá thối rễ.

Từ khóa: cây cam, *Fusarium solani*, Nghệ An, *Phytophthora palmivora*, vàng lá thối rễ.

ABSTRACT

Research on yellow leaf rot disease citrus in Nghe An province

There are 11 major diseases on citrus in 4 districts on Nghe An, but 3 diseases including yellow leaf rot disease, citrus greening disease and brown rot are the most popular diseases. Yellow leaf rot disease increases gradually from the post-harvest stage to the spring and summer buds, the peak of the disease usually falls in the early hot season when the plants are in the summer buds. Then tends to decrease when the tree enters the fruit development stage and increase after the rainy season at the end of the year. Two fungi causing yellow leaf rot disease of citrus were identified in Nghe An, namely *F. solani* and *P. palmivora*. In Quy Hop, Tan Ky, Yen Thanh, both *F. solani* and *P. palmivora* species were found on citrus with yellow leaves and root rot. In Thanh Chuong, only *F. solani* was found on citrus with yellow leaf rot disease

Keywords: Citrus, *Fusarium solani*, Nghe An, *Phytophthora palmivora*, Yellow leaf rot disease.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các giống cam Xã Đoài, Vân Du, Valencia trồng tại Nghệ An có năng suất và chất lượng cao được người tiêu dùng rất ưa chuộng. Năm 2007 các giống cam này đã được Cục Sở hữu trí tuệ (Bộ Khoa học và Công nghệ) bảo hộ chỉ dẫn địa lý với thương hiệu “Cam Vinh”. Hiện nay, diện tích trồng cam tại Nghệ An lên tới 5995 ha năng suất bình quân đạt 15,52 tấn/ha, sản lượng đạt 32,310 tấn. Là cây có giá trị kinh tế cao cây cam đã được tỉnh Nghệ An quy hoạch vùng sản xuất tập trung theo Quyết định số 3773/QĐ-UBND tại các huyện Quỳnh Hợp (2250 ha); Yên Thành (633 ha); Thanh Chương (723 ha), Tân Kỳ (376 ha) và một số huyện thành khác trong tỉnh.

Tại Nghệ An sâu vẽ bùa, nhện, rệp muội, rệp sáp, ngài chính hút quả, bệnh Greening, vàng lá thối rữa, bệnh loét, bệnh sọc là những dịch hại chủ yếu của cam và cần phải phòng trừ (Chi cục BVTV Nghệ An, 2019)... Bệnh vàng lá thối rữa là một bệnh phổ biến và là nguyên nhân làm giảm năng suất và thoái hóa cho cây có múi ở Nghệ An. Bệnh xuất hiện phổ biến trên các vườn cam, đặc biệt là vườn thấp, thoát nước kém sau mưa, tỷ lệ hại phổ biến 3 - 5%, nơi cao 15 - 20%, cá biệt 40 - 60% cây bị hại (Quỳnh Hợp, Con Công, Nghĩa Đàn, Tân Kỳ).

Bệnh vàng lá thối rữa hại cam gây hại ở rễ và cổ rễ giáp mặt đất. Cây bị bệnh có biểu hiện sinh trưởng kém, lá bị vàng và rụng dần, cây còn nhỏ có thể bị chết khô hoàn toàn. (Nguyễn Thị Thu Cúc, 2002).

Tại Nghệ An hiện nay chưa có các công trình nghiên cứu có hệ thống về

bệnh vàng lá thối rữa cũng như chưa có quy trình phòng trừ dịch hại tổng hợp (IPM) áp dụng thích hợp cho vùng trồng cam Nghệ An.

Để xác định chính xác nguyên nhân do nấm gây ra bệnh vàng lá thối rữa trên cây cam ở Nghệ An năm 2020 chúng tôi tiến hành: “*Nghiên cứu bệnh vàng lá thối rữa hại cây cam tại Nghệ An*”.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu, địa điểm và thời gian nghiên cứu

2.1.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu đất, mẫu gốc rễ cây cam bị nhiễm bệnh.

2.1.2. Địa điểm nghiên cứu

Một số vườn trồng cây cam tại các xã trồng cam trọng điểm của 4 huyện của Nghệ An: Minh Hợp - Quỳnh Hợp, Nghĩa Xuân - Quỳnh Hợp, Tân Long - Tân Kỳ, Tân Phú - Tân Kỳ, Thanh Đức - Thanh Chương và Đồng Thành - Yên Thành.

Thời gian nghiên cứu:

Từ tháng 12/2019 đến 12/2020.

2.2. Nội dung nghiên cứu

- Điều tra phát hiện thành phần bệnh hại và diễn biến của bệnh vàng lá thối rữa trên cây cam Nghệ An.

- Xác định nguyên nhân gây bệnh do nấm của bệnh vàng lá thối rữa trên cây cam Nghệ An.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp điều tra thành phần và diễn biến bệnh hại trên cây cam Nghệ An

Theo Tiêu chuẩn QCVN 01-119: 2012/BNNPTNT về phương pháp điều tra phát hiện sinh vật hại trên cây ăn quả có múi của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.

2.3.2. Phương pháp xác định nguyên nhân gây bệnh do nấm và nghiên cứu đặc điểm phát sinh phát triển của bệnh vàng lá thối rễ trên cây cam

2.3.2.1. Phương pháp thu thập mẫu

Tại mỗi điểm xã, huyện điều tra thu mẫu tại 3 vườn, mỗi vườn thu 10 mẫu đất và 10 mẫu rễ của cây có triệu chứng bệnh vàng lá thối rễ theo phương pháp của Viện Bảo vệ thực vật (1997).

2.3.2.2. Phương pháp xác định nguyên nhân do nấm gây bệnh vàng lá thối rễ

Phương pháp phân lập nấm gây bệnh từ mẫu rễ: Các mẫu rễ bệnh được lấy về từ vườn cam. Tiến hành khử trùng mẫu: mẫu bệnh sau khi lấy về rửa sạch phần đất bám trên mẫu, cắt rễ và thân thành từng đoạn nhỏ khoảng 1 - 2 cm. Cắt dọc thân cây thành 2 phần để lộ phần rễ hoặc thân cây bị bệnh rồi tiến hành khử trùng sơ bộ bằng cách đem ngâm trong cồn 70⁰ trong 1 phút, rửa lại bằng nước cất, thấm khô mẫu. Cho mẫu ngâm trong dung dịch NaClO 1% trong 1 phút, rửa lại với nước cất vô trùng, thấm khô nước, cấy trực tiếp mẫu vào môi trường WA, sau đó cấy chuyển sang PDA.

Phương pháp phân lập nấm gây bệnh từ mẫu đất và rễ: Cho khoảng 100 g đất và rễ vào một cốc nhựa. Đổ nước vô trùng hoặc nước cất vào cốc sao cho ngập đất khoảng 5 - 10 cm. Thả lá ớt non vào sau 2 - 3 ngày quan sát phát hiện nấm *Phytophthora* từ các lá ớt đã chuyển màu dưới kính hiển vi, phân lập nấm từ các lá ớt này trên môi trường chọn lọc PSM.

Kiểm chứng nguyên nhân gây bệnh theo nguyên tắc Koch: Cây giống cam khỏe 5 tháng tuổi được trồng trong chậu đất đã được khử trùng. Dùng các mẫu nấm *Fusarium*, *Phytophthora* đã được phân lập để lây bệnh cho cây cam. Mỗi một mẫu nấm được lây bệnh cho 15 cây. Nguồn nấm bệnh trong đĩa petri hòa cùng 30 ml nước cất vô trùng, nồng độ bào tử 2,6 x 10⁷ bào tử/ml, trộn với đất trong chậu cây cam. Đối chứng không lây bệnh. Theo dõi tỷ lệ bệnh thông qua đánh giá bộ rễ cây cam bị nấm bệnh gây hại. So sánh triệu chứng bệnh của các cây trong thí nghiệm lây bệnh với triệu chứng của các cây bị bệnh trên đồng ruộng. Phân lập lại nấm từ các cây thí nghiệm lây bệnh so sánh với các mẫu nấm phân lập được từ các cây bị bệnh ngoài tự nhiên.

Định danh nấm dựa vào hình thái bào tử, cơ quan sinh sản theo tài liệu của khóa phân loại của Burgess và ctv. (1994) và Drenth và Sendall (2001).

2.4. Xử lý số liệu

Các số liệu được phân tích bằng Excel 2010.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Điều tra thành phần bệnh hại cam, diễn biến của bệnh vàng lá thối rễ tại Nghệ An

3.1.1. Thành phần bệnh hại cam tại Nghệ An

Trong thời gian từ tháng 12/2019 - 12/2020 tiến hành điều tra, xác định thành phần bệnh hại cam tại các xã trồng cam trọng điểm của Nghệ An: Minh Hợp - Quỳnh Hợp, Nghĩa Xuân - Quỳnh Hợp, Đồng Thành - Yên Thành, Thanh Đức - Thanh Chương, Tân Long và Tân Phú - Tân Kỳ thu được kết quả ghi lại ở bảng 1.

Kết quả cho thấy thành phần bệnh hại trên cây cam tại 4 huyện trồng cam trọng điểm của Nghệ An gồm có 11 bệnh: 1 bệnh do virus, 2 bệnh do vi khuẩn, 8 bệnh do nấm. Trong đó bệnh vàng lá thối rễ, bệnh vàng lá Greening và bệnh thối nâu hại quả cam là ba loại bệnh gây hại phổ biến nhất, trung bình từ 26 - 50% cây bị nhiễm. Tiếp đến là bệnh mốc xanh mốc lục do nấm, bệnh loét do vi khuẩn, bệnh muội đen do nấm và bệnh chảy gôm với tỷ lệ bệnh trung bình là 11 - 25%. Các loại bệnh khác như bệnh Tristeza, bệnh đốm dầu, bệnh thán thư và bệnh sẹo xuất hiện với tỷ lệ thấp hơn dưới 10%.

Bảng 1. Thành phần bệnh hại chính trên cam tại 4 huyện Quỳnh Hợp, Thanh Chương, Tân Kỳ, Yên Thành

TT	Tên bệnh hại	Tên khoa học	Bộ phận bị hại	MĐPB
1	Bệnh vàng lá Greening	<i>Candidatus Liberibacter asiaticus</i>	Toàn cây	+ ++
2	Bệnh Tristeza	<i>Citrus tristeza virus</i>	Toàn cây	+
3	Bệnh loét	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>citri</i> Dowson	Canh, lá, quả	++
4	Chảy gôm	<i>Phytophthora</i> sp.	Thân, cành, lá rễ	++
5	Bệnh đốm dầu	<i>Mycosphaerella citri</i> Whit	Lá	+
6	Bệnh thán thư	<i>Colletotrichum</i> sp.	Cành, quả	+
7	Bệnh sẹo	<i>Elsinoe fawcetti</i> Bil et Jenk	Lá, quả, thân	+
8	Bệnh mốc xanh, mốc lục	<i>Penicillium italicum</i> Wehmer và <i>Penicillium digitatum</i> Sacc.	Quả	++
9	Muội đen	<i>Capnodium citri</i>	Lá, cành, quả	++
10	Bệnh vàng lá thối rễ	<i>Phytophthora</i> spp., <i>Fusarium</i> spp.	Rễ thối, lá biến vàng và rụng	+++
11	Bệnh thối nâu hại quả	<i>Phytophthora</i> spp.	Thối, rụng quả	+++

Ghi chú: MĐPB: Mức độ phổ biến; +: Tỷ lệ bệnh < 10%; ++: Tỷ lệ bệnh 11% - 25%; +++: Tỷ lệ bệnh 25 - 50%; ++++: Tỷ lệ bệnh > 50%.

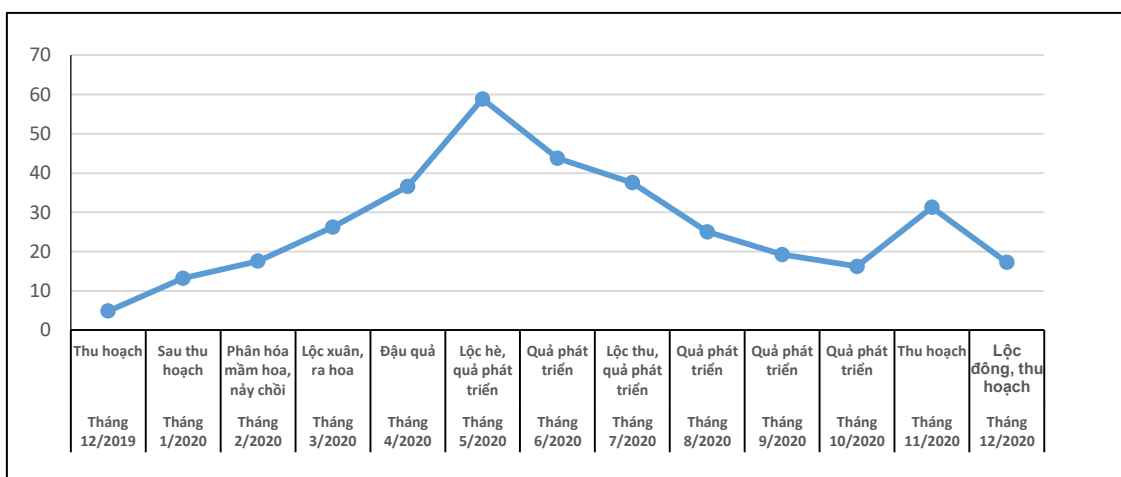
3.1.2. Diễn biến của bệnh vàng lá thối rễ hại cam tại Nghệ An

Bệnh vàng lá thối rễ khi mới xuất hiện lá của cây vẫn bình thường nhưng gân có màu vàng nhạt, phiến ngả màu vàng và dễ rụng, sau đó đến lá trên, chất lượng quả kém và rụng sớm, nhánh cây bị bệnh hướng nào, thì rễ cũng thường bị hư thối ở hướng đó. Bộ rễ bị thối từ rễ nhỏ lan dần vào rễ lớn. Rễ thối có màu nâu, vỏ rễ dễ bị tuột ra khỏi phần gỗ, bên trong có sọc nâu lan dần vào rễ cái. Rễ mất khả năng hấp thu nước và chất dinh dưỡng nuôi cây. Khi cây bị nặng tất cả rễ đều chết, cuối cùng là chết toàn cây.

Diễn biến bệnh vàng lá thối rễ đã được điều tra tại vùng trồng cam: Minh Hợp - Quỳnh Hợp, Nghĩa Xuân - Quỳnh Hợp, Tân Long - Tân Kỳ, Tân Phú - Tân Kỳ, Đông Thành - Yên Thành và Thanh Đức - Thanh Chương, Nghệ An từ tháng 12/2019 đến tháng 12/2020 được thể hiện tại hình 1.

Bệnh vàng lá thối rễ trên cam xuất hiện và gây hại khác nhau trong các thời

điểm trong năm. Từ 12/2019 đến 5/2020, tỷ lệ cây thể hiện triệu chứng bệnh trên vườn tăng từ 4,48 đến 36,62%. Tỷ lệ cây bị bệnh đạt cao nhất là 58,84% vào tháng 5/2020 ứng với giai đoạn cây cam đang ra lộc hè và phát triển quả. Thời gian này đã bước vào mùa nắng nóng, những cây bị bệnh hút nước kém dần đi, không đáp ứng được nhu cầu nước cho phát triển của cây vào giai đoạn nuôi quả, bộ lá biến vàng và triệu chứng bệnh thể hiện rõ nhất. Sau đợt lộc hè một số cây bị bệnh có khả năng tự phục hồi nên tỷ lệ cây thể hiện triệu chứng vàng lá trên vườn có xu hướng giảm nhẹ xuống, qua các đợt lộc thu cây phát triển ổn định và tỷ lệ cây có triệu chứng vàng lá giảm dần xuống 16,22%. Sau đợt mưa lớn và kéo dài vào cuối tháng 10, cây cam xuất hiện trở lại các triệu chứng vàng lá thối rễ, tỷ lệ cây thể hiện vàng lá tăng lên 31,26%. Sau thời gian trên cây cam bước vào giai đoạn cuối của các đợt thu hoạch trong tháng 12 và ra đợt lộc đông, cây có dấu hiệu phục hồi dần và tỷ lệ bệnh giảm còn 17,24%.



Hình 1. Diễn biến của bệnh vàng lá thối rễ tại Nghệ An từ 12/2019 đến tháng 12/2020

Diễn biến bệnh vàng lá thối rữa trong năm của 4 huyện điều tra theo chiều hướng trên, trong đó ở Quỳnh Hợp, Tân Kỳ, Yên Thành, Thanh Chương lần lượt giảm dần về mức độ gây hại của bệnh này trong các đợt điều tra.

Kết quả điều tra cho thấy trong chu kỳ sinh trưởng hàng năm của cây cam (i) Bệnh vàng lá thối rữa tăng dần từ sau thu hoạch cho đến khi ra lộc xuân và lộc hè, đỉnh điểm của bệnh thường rơi vào giai đoạn đầu mùa hè khi cây vào giai đoạn ra lộc hè, bệnh có xu hướng giảm xuống khi cây vào giai đoạn phát triển quả. (ii) Bệnh

tăng trở lại sau đợt mưa lớn vào cuối tháng 10.

3.2. Xác định nguyên nhân gây bệnh do nấm của bệnh vàng lá thối rữa trên cây cam tại Nghệ An

3.2.1. Phân lập nguyên nhân gây bệnh vàng lá thối rữa trên cây cam Nghệ An

Tại mỗi điểm xã, huyện điều tra thu mẫu tại 3 vườn, mỗi vườn thu 10 mẫu đất và 10 mẫu rữa của cây có triệu chứng bệnh vàng lá thối rữa để phân lập sơ cấp mẫu đất và mẫu rữa, kết quả phân lập theo như bảng 2 dưới đây:

Bảng 2. Kết quả phân lập mẫu đất và mẫu rữa của cây cam bị bệnh vàng lá thối rữa

Địa điểm thu mẫu	Tổng số mẫu rữa	Tổng số mẫu đất	Số mẫu phân lập được nấm			
			<i>Fusarium solani</i>		<i>Phytophthora palmivora</i>	
			Số lượng	Tỉ lệ (%)	Số lượng	Tỉ lệ (%)
Đồng Thành - Yên Thành	30	30	4	13,33	1	3,33
Thanh Đức - Thanh Chương	30	30	1	3,33	0	0,00
Minh Hợp - Quỳnh Hợp	30	30	16	53,33	20	66,67
Nghĩa Xuân - Quỳnh Hợp	30	30	18	60,00	20	66,67
Tân Long - Tân Kỳ	30	30	23	76,67	17	56,67
Tân Phú - Tân Kỳ	30	30	21	70,00	11	36,67

Theo bảng 2 cho thấy, phân lập được hai nguyên nhân do nấm gây bệnh vàng lá thối rữa tại các điểm điều tra tại các huyện trồng cam của Nghệ An bao gồm nấm *Fusarium* sp. và *Phytophthora* sp.. Với tổng số 180 mẫu đất và 180 mẫu rữa thu từ cây bị bệnh vàng lá thối rữa, phân lập được 83 mẫu nấm *Fusarium* sp. và 69 mẫu nấm *Phytophthora* sp.

Các điểm điều tra khác nhau thì tỷ lệ mẫu phân lập được các nguyên nhân gây bệnh này là khác nhau. Với các điểm điều

tra thu mẫu tại Quỳnh Hợp cho thấy, tỷ lệ mẫu đất phân lập được nấm *Phytophthora* sp. cao nhất trong 4 điểm huyện điều tra là 66,67%, tỷ lệ mẫu phân lập được nấm *Fusarium* sp. cao thứ 2 sau Tân Kỳ từ 53,33 - 60%. Tại điểm điều tra tại Tân Kỳ, tỷ lệ mẫu phân lập được *Fusarium* sp. cao nhất là 70,00 - 76,67% số mẫu, tỷ lệ mẫu phân lập được nấm *Phytophthora* sp. cao thứ 2 là 36,67 - 56,67%. Tại điểm điều tra thu mẫu Thanh Chương, chỉ xuất hiện một nguyên nhân gây bệnh vàng lá thối rữa là do nấm *Fusarium* sp. chiếm 3,33% số mẫu phân lập. Tại Yên Thành, xuất hiện cả 2

nguyên nhân gây bệnh vàng lá thối rễ do nấm là *Fusarium* sp., *Phytophthora* sp. nhưng với tỷ lệ mẫu phân lập được các nguyên nhân này thấp hơn nhiều so với hai huyện Quỳnh Hợp và Tân Kỳ với tỷ lệ lần lượt là 13,33% và 3,33%.

Các mẫu nấm *Fusarium* sp. có tản nấm xộp bông màu trắng tới màu kem trên môi trường PDA. Sợi nấm phân nhánh, có vách ngăn. Bào tử lớn hình lưỡi liềm có 3 đến 5 vách ngăn. Bào tử nhỏ hình bầu dục, có hoặc không có 1 vách ngăn, bào tử hậu vách dày hình tròn. Dựa vào các đặc điểm hình thái và khóa phân loại của Burgess và ctv. (1994) đã công bố có thể kết luận các mẫu nấm được phân lập từ rễ cây cam bị bệnh có những đặc điểm đặc trưng của loài *Fusarium solani*.

Các mẫu nấm *Phytophthora* sp. trên môi trường PDA có sợi nấm màu trắng mọc dày, đan vào nhau, sợi nấm nổi rõ lên phía trên bề mặt môi trường. Bọc bào tử hình quả chanh, núm đỉnh rõ ràng. Bào tử hậu hình cầu được quan sát thấy ở giữa sợi. Dựa vào khóa phân loại của Dreth và Sendall (2001) có thể kết luận loài nấm phân lập được từ phương pháp bẫy mẫu đất và rễ từ cây bị bệnh vàng lá thối rễ là *Phytophthora palmivora*.

3.2.2. Kiểm chứng nguyên nhân gây bệnh vàng lá thối rễ theo nguyên tác Koch

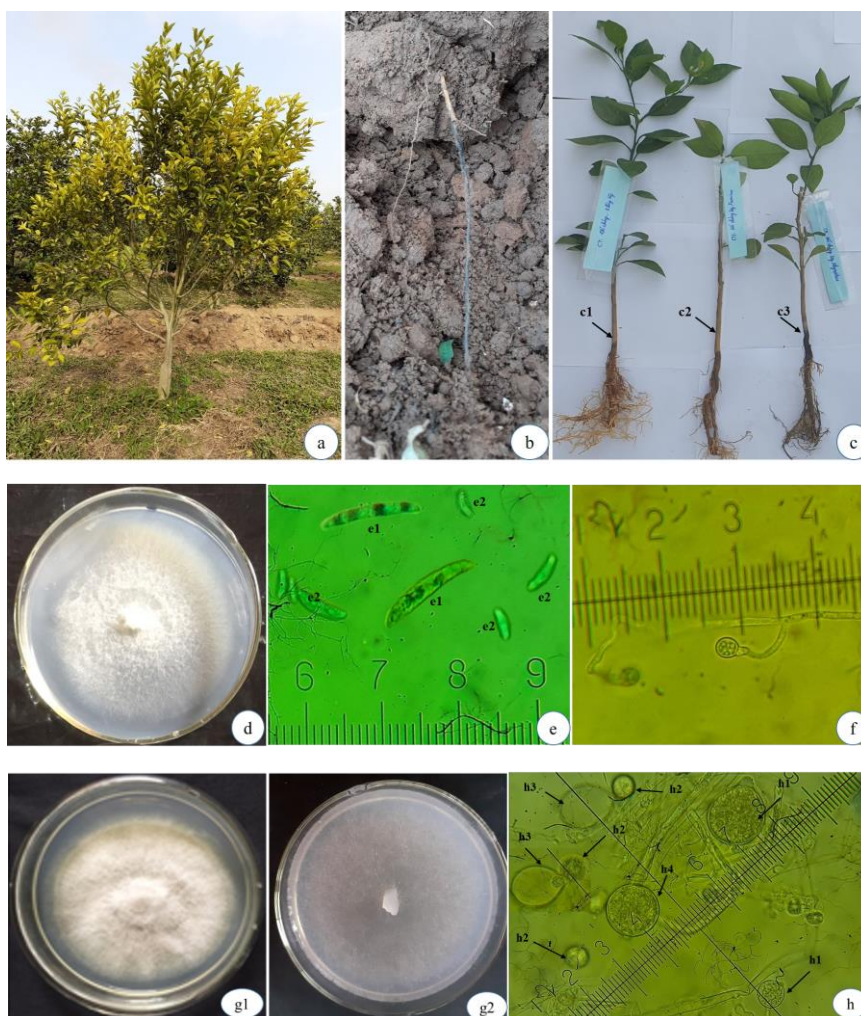
Có 83 mẫu nấm *F. solani* và 69 mẫu nấm *P. palmivora* phân lập được từ mẫu đất và mẫu rễ của cây bị bệnh vàng lá thối rễ đã được sử dụng để lây bệnh trở lại cho cây cam con 5 tháng tuổi vào tháng 2/2020. Với 83 mẫu nấm *F. solani* và 69 mẫu nấm *P. palmivora* của 6 xã thuộc 4 huyện, được chia thành các nhóm mẫu nấm có đặc điểm hình thái giống nhau, đại diện cho mỗi xã huyện. Tất cả mẫu nấm *F. solani* và *P. palmivora* đều gây hại cho bộ rễ cho cây cam khi lây bệnh trở lại trên cây cam ở các mức khác nhau. Mẫu nấm *F. solani* gồm: 2 mẫu tại Yên Thành, 1 mẫu tại Thanh Chương, 7 mẫu tại Quỳnh Hợp và 6 mẫu của Tân Kỳ đều làm cho bộ rễ của cây cam kém phát triển, bị thối với tỷ lệ bệnh lần lượt là 56,67%; 100%; 86,11% và 92,22%. Mẫu nấm *P. palmivora* gồm: 1 mẫu tại Yên Thành, 7 mẫu tại Quỳnh Hợp và 6 mẫu của Tân Kỳ đều gây hại cho bộ rễ của cây bị thối và kém phát triển với tỷ lệ bệnh lần lượt là 66,67%; 95,83% và 73,33%. Các cây đối chứng đều không bị bệnh (bảng 3).

Bảng 3. Kết quả lây bệnh cho cây cam bằng các mẫu nấm *F. solani* và *P. palmivora*

Địa điểm thu nấm	Nấm <i>F. solani</i>			Nấm <i>P. palmivora</i>		
	Số cây lây bệnh	Số cây bị bệnh	TLB%	Số cây lây bệnh	Số cây bị bệnh	TLB (%)
Đông Thành - Yên Thành	30	17	56,67	15	10	66,67
Thanh Đức - Thanh Chương	15	15	100,00	-	-	-
Minh Hợp - Quỳnh Hợp	60	50	83,33	45	45	100,00
Nghĩa Xuân - Quỳnh Hợp	45	40	88,89	60	55	91,67
Tân Long - Tân Kỳ	45	42	93,33	45	32	71,11
Tân Phú - Tân Kỳ	45	41	91,11	45	34	75,56

Phân lập nấm gây bệnh từ rễ cây cam con và đất bị nhiễm bệnh trong thí nghiệm đã thu được các mẫu nấm có tản nấm *F. solani* bông, màu trắng trên môi trường PDA, bào tử lớn hình lưỡi liềm có 3 - 5 vách ngăn, kích thước 2,8 - 4,7 × 38 - 51 μm, bào tử nhỏ không màu, hình bầu dục, không bào. Bào tử hậu tròn, thành dày, có đường kính 7,5 - 8,2 μm. Mẫu nấm *P. palmivora* có tản nấm màu trắng

sáng, sợi nấm mọc thưa trên môi trường PSM. Còn trên môi trường PDA, sợi nấm mọc rất dày, đan chặt vào nhau, tản nấm nổi rõ lên bên trên bề mặt môi trường. Bọc bào tử hình quả chanh hoặc hình elip, núm đỉnh rõ ràng, kích thước 25,4 - 36,8 × 49,8 - 60,4 μm. Bọc bào tử giải phóng ra nhiều bào tử động. Bào tử hậu hình thành ở giữa sợi nấm, hình cầu.



Hình 1. Nguyên nhân do nấm gây bệnh vàng lá thối rễ hại cam tại Nghệ An

(Cây cam bị bệnh vàng lá thối rễ (a); Rễ cam thối đen, tuột vỏ (b); Bộ rễ cây cam con bị thối đen, cây kém phát triển do nấm *F. solani* (c2) *P. palmivora* (c3) so với cây đối chứng (c1); Tản nấm *F. solani* trên môi trường PDA (d); Bào tử lớn (e1) và bào tử nhỏ (e2) của nấm *F. solani*; Bào tử hậu nấm *F. solani* (f); Tản nấm *P. palmivora* trên PDA (g1) và PSM (g2); Bào tử bọc của nấm *P. palmivora* (h1), bào tử động của nấm *P. palmivora* (h2), quá trình giải phóng bào tử động từ bọc bào tử của nấm *P. palmivora* (h3), bào tử hậu của nấm *P. palmivora* (h4))

Các kết quả lây bệnh, triệu chứng bệnh và kết quả phân lập nấm từ cây cam con bị bệnh trong thí nghiệm theo nguyên tắc Koch cho thấy nấm *F. solani* và *P. palmivora* là nguyên nhân gây ra bệnh vàng lá thối rễ cây cam tại Nghệ An.

Kết quả nghiên cứu xác định nguyên nhân gây bệnh vàng lá thối rễ trên cam ở Nghệ An cũng đồng nhất với các kết quả nghiên cứu của các tác giả Dương Minh và ctv. (2003) Nguyễn Ngọc Anh Thư và ctv. (2005) về bệnh vàng lá thối rễ ở vùng trồng cam đồng bằng sông Cửu Long, đều tìm thấy nấm *Fusarium* spp. và nấm *Phytophthora* spp. gây ra bệnh vàng lá thối rễ trên cam ở các vùng này.

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

(1) Trên cây cam tại 4 huyện Quỳnh Hợp, Tân Kỳ, Yên Thành, Thanh Chương trồng cam trọng điểm của Nghệ An gồm có 11 bệnh, trong đó bệnh vàng lá thối rễ, bệnh vàng lá Greening và bệnh thối nâu quả cam là ba loại bệnh gây hại phổ biến nhất.

Bệnh vàng lá thối rễ có xu hướng tăng dần từ giai đoạn sau thu hoạch đến giai đoạn ra các đợt lộc xuân và lộc hè, đỉnh điểm của bệnh thường rơi vào giai đoạn đầu mùa nóng khi cây đang vào giai đoạn ra lộc hè, sau đó có xu hướng giảm xuống khi cây vào giai đoạn phát triển quả và tăng lên sau mùa mưa vào cuối năm.

(2) Xác định được nấm *F. solani* và *P. palmivora* là nguyên nhân gây ra bệnh vàng lá thối rễ cây cam tại Nghệ An. Tại Quỳnh Hợp, Tân Kỳ, Yên Thành tìm thấy cả hai loài nấm *F. solani* và *P. palmivora* trên cây cam bị vàng lá thối rễ. Tại Thanh Chương chỉ tìm thấy nấm *F. solani* trên cây cam bị bệnh vàng lá thối rễ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. UBND tỉnh Nghệ An, Quyết định số 3773/QĐ-UBND ngày 05 tháng 8 năm 2016 về việc Phê duyệt Quy hoạch phát triển cây ăn quả có múi tỉnh Nghệ An đến năm 2020, tầm nhìn đến năm 2030.
2. Chi cục Bảo vệ thực vật Nghệ An (11/2019), Báo cáo Thực trạng sản xuất cam trên địa bàn Nghệ An, đề xuất giải pháp nâng cao chất lượng hiệu quả trong thời gian tới.
3. Viện Bảo vệ thực vật (1997), *Phương pháp nghiên cứu bảo vệ thực vật*, tập 1. Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội 1997.
4. Nguyễn Thị Thu Cúc và Phạm Hoàng Oanh (2002), Dịch hại trên cam, quýt, chanh, bưởi (Rutaceae) & IPM. NXB Nông nghiệp.
5. Dương Minh, Lê Lâm Cường, Ester Vandersmissen, Jozef Coosemans và Phạm Văn Kim (2003), Khả năng đối kháng của các chủng nấm *Trichoderma* sp. nội địa đối với bệnh thối rễ cam quýt do nấm *Fusarium solani* tại đồng bằng sông Cửu Long. Tạp chí khoa học Đại học Cần Thơ (chuyên ngành Bảo vệ thực vật). Trang 1 - 9.
6. Nguyễn Ngọc Anh Thư, Phan Thanh Trí, Bùi Thị Thanh Thúy và Nguyễn Văn Hòa (2005), Kết quả nghiên cứu bệnh vàng lá thối rễ trên cây có múi và biện pháp phòng trừ. Báo cáo khoa học, Viện Cây ăn quả miền Nam năm 2005.
7. Agrios.G.N (2005), Plant pathology, Department of plant pathology, University of California, 5th edition, San Diego, California. Elsevier Academic Press, 922 p.
8. Burgess L. W., Summerell B. A., Bullock S., Gott K. P., Backhouse D. (1994), *Laboratory Manual for Fusarium Research*, Univ. of Sydney. Australia.
9. Drenth, A. and Sendall, B. (2004), Isolation of *Phytophthora* from infected Plant tissue and soil, and Principles of Species Identification, *Diversity and Management of Phytophthora in Southeast Asia*, Australian Centre for International Agricultural Research Canberra, pp. 94 - 102.

Phytophthora spp. MỐI ĐE DỌA TIỀM TÀNG ĐỐI VỚI LÂM NGHIỆP VIỆT NAM

**Đặng Như Quỳnh^{1*}, Nguyễn Hoài Thu¹,
Đào Ngọc Quang¹, Lê Văn Bình¹**

¹Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng,
Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: dangnhuquynh@vafs.gov.vn

TÓM TẮT

Những năm gần đây đã bắt đầu xuất hiện loại bệnh hại do loài *Phytophthora spp.* gây ra trên một số cây trồng lâm nghiệp như keo, quế, cao su, phi lao,... gây chết cây và ảnh hưởng đến năng suất, chất lượng rừng trồng. Đặc biệt bệnh rất khó phát hiện do nấm gây bệnh chủ yếu ở trong đất. Đây cũng là một trong những loài nấm gây hại nguy hiểm cho nhiều loài cây trồng nông, công nghiệp ở nước ta. Kết quả thu mẫu keo lai và Keo tai tượng chết ở Quảng Nam của Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng đã xác định được nguyên nhân gây bệnh là do nấm *Phytophthora parvispora* gây ra. Vì vậy cần có những nghiên cứu đánh giá về khả năng gây bệnh của loài này trên các cây lâm nghiệp là hết sức quan trọng và cần thiết.

Từ khóa: *Phytophthora spp.*, keo lai, Keo tai tượng.

ABSTRACT

***Phytophthora spp.* an implicit threat in forestry of Vietnam**

Recently Vietnam's forestry industry has been affected by *Phytophthora spp.* which caused dieback disease on *Acacia*, *Cinnamon*, *rubber*, *Casuarina*, and other tree species. Many crops planting in the country's horticultural and agricultural industries are also affected by these pathogens. The disease reduces crop yield and may result in plant death. It is difficult to detect in the early stages because the pathogen is below ground in the soil and roots. A study of the pathogen causing wilt and dieback disease of *Acacia hybrid* and *Acacia mangium* nurseries and plantations in the *Quang Nam*, was conducted. Morphological and molecular techniques were used to identify the causal agent as *Phytophthora parvispora*. Further research is vital to determine the distribution and impact of this pathogen in Vietnam forestry.

Keywords: *Phytophthora spp.*, *Acacia hybrid*, *Acacia mangium*.

Người phân biên: TS. Hà Minh Thanh.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi *Phytophthora* là một trong những chi gây bệnh thực vật có khả năng phá hoại mạnh nhất ở các vùng ôn đới và nhiệt đới, phần lớn chúng tấn công nhiều loại cây chủ và thường gây ra nhiều loại bệnh trên các bộ phận khác nhau của cùng một cây chủ (Abraham *et al.*, 2015). *Phytophthora* tồn tại chủ yếu trong đất dưới dạng bào tử vách dày (chlamydospores) và lây lan nói chung bằng các bào tử vô tính gọi là “zoospores - bào tử động”. Cả hai loại bào tử đều có khả năng lây nhiễm bằng cách phát triển hình thành sợi nấm và ký sinh trên vật chủ (Bawage *et al.*, 2013). Nấm đã gây thiệt hại kinh tế trong nông lâm nghiệp trong những thập kỷ qua. Điển hình như bệnh mốc sương trên cà chua và khoai tây do nấm *Phytophthora infestans* (Yang *et al.*, 2017), gây thiệt hại hàng tỷ đô la hàng năm (Nowicki *et al.*, 2012). Tương tự, loài *Phytophthora palmivora* có phạm vi ký chủ rộng (Cooke *et al.*, 2000; Yang *et al.*, 2017) gây bệnh trên các loài cây trồng có giá trị kinh tế bao gồm ca cao, xoài, đu đủ, cao su, cọ dầu và nhiều loài cam quýt (Savita & Nagpal, 2012; Torres *et al.*, 2016). Ngoài ra, một số loài *Phytophthora* gây bất lợi cho hệ sinh thái tự nhiên, như loài *Phytophthora ramorum* đang đe dọa các loài sồi ở California và Oregon (Grünwald *et al.*, 2012), loài *Phytophthora cinnamomi* gây bệnh trên nhiều cây trồng trên khắp thế giới, như hạt dẻ, sồi, bạch đàn và *Banksia* (Sena *et al.*, 2018). Hầu hết các loài nấm này đang ngày càng lan rộng ra ngoài khu vực địa lý ban đầu của chúng, phần lớn do thương mại

quốc tế và biến đổi khí hậu (Derevnina *et al.*, 2016; Fisher *et al.*, 2012).

Ở Việt Nam, nấm *Phytophthora* cũng đã và đang là mối đe dọa với các loài cây nông, công nghiệp như: hồ tiêu, sầu riêng, ca cao, cao su, dứa, thuốc lá, cây ăn quả có múi, táo, mận, nhãn, khoai, dứa, cà tím, cà chua và khoai tây... (Nguyen *et al.*, 2015; Thanh *et al.*, 2004; Truong *et al.*, 2008; Đặng Vũ Thị Thanh và Hà Minh Trung, 1999; Tri *et al.*, 2015). Bệnh hại nặng làm giảm năng suất, gây thiệt hại kinh tế ảnh hưởng đến thu nhập của người nông dân. Tính tới thời điểm hiện tại, các loài *Phytophthora* hại cây nông công nghiệp ở Việt Nam đã được công bố như: *Phytophthora botryose*, *P. cactorum*, *P. capsici*, *P. cinnamomi*, *P. citrophthora*, *P. colocasiae*, *P. nicotianae*, *P. infestans*, *P. palmivora*, *P. tropicalis*... Ngoài ra còn có một số loài *Phytophthora* spp. khác gây hại nhưng chưa xác định được loài (Thanh *et al.*, 2004).

Gần đây, hai loài mới là *Phytophthora* sp. *mekongensis* và *Phytophthora* sp. *prodigiosa* đã được tìm thấy trên chi *Citrus*, đặc biệt đây là những loài có khả năng gây bệnh trên quả qua kết quả thử nghiệm gây bệnh nhân tạo lại trên quả (Puglisi *et al.*, 2017).

Bài báo này là tóm tắt những nghiên cứu về loài *Phytophthora* đã và đang gây hại trên rừng trồng và rừng tự nhiên, và mô tả đặc điểm của nấm *Phytophthora parvispora* gây bệnh trên Keo tai tượng và keo lai ở Quảng Nam trong thời gian gần đây.

*** *Phytophthora* ở rừng trồng:**

Những nghiên cứu về *Phytophthora* ở rừng trồng mới được nghiên cứu trong một thập kỷ qua ở Việt Nam. Tuy nhiên, bước đầu đã thu được những kết quả đáng ghi nhận. Cụ thể như nghiên cứu của Phạm Quang Thu và cộng sự (2010) về loài *Phytophthora* sp. gây chết héo Lim xanh ở giai đoạn vườn ươm ở Quảng Bình với tỷ lệ bị bệnh từ 15 - 20%. Cây bị bệnh lá ban đầu vẫn có màu xanh nhưng dần dần héo và rũ xuống, sau cùng chuyển sang màu vàng và rụng, phần cổ rễ ban đầu tươi tròn nhẵn sau chuyển sang héo khô lại, đặc biệt với bộ rễ phía bên ngoài vỏ rễ một số phần đã bị thối nhũn. Rễ dễ bị đứt và khi gỡ bỏ cây ra khỏi bầu bộ rễ còn lại không nhiều, bị thối, vỏ rễ có màu nâu đen. Nghiên cứu đã đề xuất sử dụng Agrifos 400 trong việc phòng chống và phun xử lý đất.

Năm 2013, *P. cinnamomi* lần đầu tiên được mô tả và tìm thấy gây hại trên keo tai tượng ở Tuyên Quang với tỷ lệ chết cao (Phạm Quang Thu và cộng sự, 2013). Cây bị bệnh thường có hiện tượng khô héo và rũ xuống, ngay sau giai đoạn tán lá bị héo, lá bắt đầu rụng, cây bị bệnh nặng bị rụng trơ trụ lá. Rễ lớn có vỏ bị thối đen, các rễ cám dễ bị đứt, rễ có màu nâu sậm, phần vỏ rễ dễ bị bong tróc. Thông thường, nấm *Phytophthora cinnamomi* ở nước ta được biết đến là bệnh nguy hiểm trên cây bơ, hồ tiêu, chanh dây, dứa... Đây cũng là loài có phạm vi ký chủ lớn với gần 1000 loại cây khác nhau, chúng đã và đang gây hại rất nhiều cánh rừng trên thế giới. Do vậy việc phát hiện loài

này ở trong cây lâm nghiệp như một tiếng chuông cảnh báo về mối đe dọa tiềm tàng mà chúng mang đến với các cây trồng lâm nghiệp khác (Thu *et al.*, 2014).

Tiếp đến năm 2014, *P. cinnamomi* cũng được phát hiện khi phân lập từ cây con quế bị chết héo và đất rễ ở rừng trồng quế tại Văn Yên, Yên Bái (Quỳnh *et al.*, 2017). Phạm Quang Thu (2016) cũng tìm được 3 loài nấm *Phytophthora parvispora*, *Phytophthora katsurae* và *Phytophthora* sp. trên keo, sau này loài *Phytophthora* sp. này đã được nhận dạng và xác định là loài mới *Phytophthora acaciivora* sp. nov. (Burgess *et al.*, 2020).

Vũ Văn Định và cộng sự (2017) cũng xác nhận sự xuất hiện và gây hại của *P. cinnamomi* gây bệnh chết héo quế ở giai đoạn vườn ươm của huyện Bảo Thắng, Lào Cai và đề xuất việc sử dụng chế phẩm *Trichoderma* để xử lý đất, kết hợp với Ridomil 72WP và Agrifos 400 trong phòng trừ bệnh. Năm 2017, chủng PLR7 - *Phytophthora* sp. được tìm thấy gây bệnh hại rễ cây phi lao ở Duyên Hải, Trà Vinh (Hoàng Văn Thơi và cộng sự, 2017).

Sự xuất hiện của *P. heavea* và *P. nicotianae* được tìm thấy trên cây cao su ở Bình Phước là một trong những nguyên nhân gây rụng lá và thối rễ cây cao su (Toan *et al.*, 2017). Gần đây nhất hai loài nấm mới được tìm thấy trên cây quế ở Văn Yên, Yên Bái là *P. multibulata* nov và *P.x vanyenesis* nov. Trong đó, loài lai *P.x vanyenesis* nov có một trong hai bố mẹ là loài *Phytophthora* sp. *mekongensis*

gây bệnh trên cây có múi và 1 loài chưa được xác định (Quynh *et al.*, 2021).

*** *Phytophthora* ở rừng tự nhiên:**

Sự đa dạng về các loài *Phytophthora* ở Việt Nam càng được thế giới biết đến qua kết quả điều tra của Thomas Jung và cộng sự năm 2016 và 2017 trên 25 lâm phần rừng tự nhiên và bán tự nhiên, cùng với 16 dòng sông thuộc khu vực ôn đới và cận nhiệt đới vùng núi và vùng trũng Việt Nam. Nhóm nghiên cứu đã mô tả được 13 loài, 5 đơn vị phân loại loài không chính thức và 21 đơn vị phân loại chưa biết trước đây của nấm *Phytophthora*. Cụ thể các loài là: *P. capensis*, *P. citricola* VII, VIII, IX, X và XI, *P. sp. botryosa*-like 2, *P. sp. meadii*-like 1 và 2, *P. sp. tropicalis*-like 2 và *P. sp. multivesiculata*-like 1; *P. castaneae* và *P. heveae*; *P. chlamydospora*, *P. gregata*, *P. sp. bitahaiensis*-like và *P. sp. sylvatica*-like 1, 2 và 3; *P. cinnamomi* (Pc), *P. parvispora*, *P. attenuata*, *P. sp.*

attenuata-like 1, 2 và 3 và *P. xheterohybrida*; *P. drechsleri*, *P. pseudocryptogea*, *P. ramorum* (Pr) và *P. sp. kelmania*, *P. macrochlamydospora*, *P. sp. xinsolita*-like, *P. sp. xkunnunara*-like, *P. sp. xvirginiana*-like s.l. và 3 đơn vị phân loại mới *P. sp. quininea*-like, *P. sp. xgrenada* 3 - like và *P. sp. xperu* 4 - like; và *P. sp. gallica*-like 1 và 2. (Jung *et al.*, 2020). Đồng thời nhóm tác giả cũng cho rằng Việt Nam nằm trong trung tâm nguồn gốc của hầu hết các đơn vị phân loại *Phytophthora* được tìm thấy bao gồm *Phytophthora cinnamomi* và *Phytophthora ramorum*, các chi *Phytophthora* thuộc nhóm 2, 5, 6, 7, 8, 9 và 10 có nguồn gốc từ Đông Dương. Đặc biệt nghiên cứu này cũng phát hiện chi mới gần với *Phytophthora* là *Nothophytophthora vietnamensis* trên loài sồi (*Castanopsis* sp.) và cây phong (*Acer campbellii*) (Jung *et al.*, 2017).

2. PHƯƠNG PHÁP PHÂN LẬP, GÂY BỆNH NHÂN TẠO VÀ GIÁM ĐỊNH NẤM *Phytophthora parvispora* GÂY BỆNH TRÊN KEO TAI TƯỢNG VÀ KEO LAI Ở QUẢNG NAM



Hình 1. A: Rừng Keo tai tượng bị bệnh với những cây chết khô từ trên xuống; B: Keo lai bị chết héo; C: Cây keo tai tượng vườn ươm bị chết

Các mẫu keo bị bệnh được thu đất và rễ xung quanh khu vực rễ cây chết (hình 1), sử dụng phương pháp bẫy nấm và môi trường CMA có chứa kháng sinh NARPH để phân lập (Hüberli *et al.*, 2000). Các đĩa petri phân lập được để trong tủ định ôn 20°C và thường xuyên kiểm tra sự xuất hiện của hệ sợi. Tách chuyển sang môi trường V8A, hoặc CA (cà rốt agar) để xác nhận và mô tả những đặc trưng của nấm, ngâm nước chiết đất trong vòng 24 giờ kiểm tra và chụp ảnh mô tả hình ảnh hệ sợi và các dạng bào tử thu được. Các chủng được tiến hành lây bệnh nhân tạo trên lá Keo tai tượng, sau 7 ngày gây bệnh tiến hành phân lập lại. Để đánh giá khả năng gây bệnh của các chủng phân lập được dựa trên % diện tích vết bệnh so với mẫu đối chứng. Hệ sợi sau nuôi cấy 7 ngày được thu để tách DNA bằng phương

pháp Glass milk (Glen *et al.*, 2002), sử dụng cặp mồi DC6/ITS4 (Blair *et al.*, 2008) và Cox1(F77/F84) (Martin & Tooley, 2003) để giám định loài.

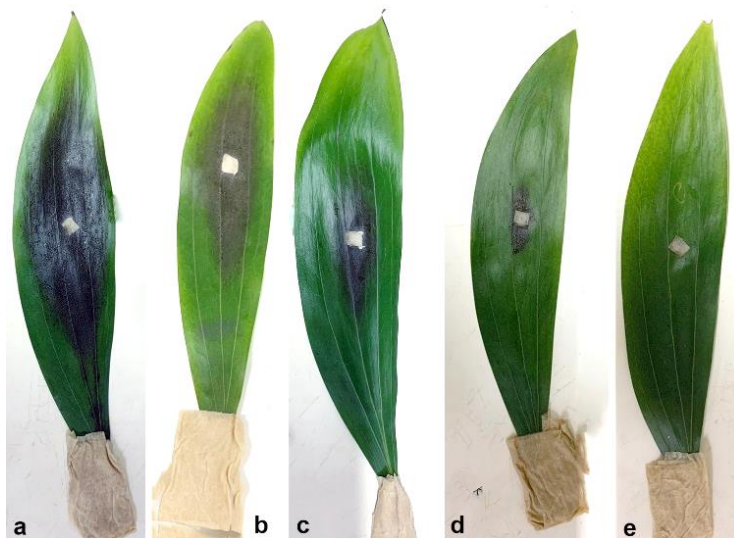
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Từ 22 mẫu đất và rễ phân lập được 13 chủng *Phytophthora parvispora*, bao gồm 11 chủng phân lập được từ Keo tai tượng và 2 chủng phân lập từ trên keo lai. Trong đó, có 2 chủng gây hại rất mạnh, 6 chủng gây hại mạnh, 3 chủng gây hại trung bình và 2 chủng gây hại nhẹ (bảng 1). Trình tự tham chiếu hoàn toàn trùng khớp với *P. parvispora* chủng VN458 được Thomas và cộng sự phân lập trên rễ và đất của loài dẻ gai (*Castanopsis chinensis*) và chắp lá tròn (*Beilschmiedia fordii*) tại Vườn Quốc gia Ba Vì năm 2016 (Jung *et al.*, 2020).

Bảng 1. Kết quả phân lập mẫu nấm *Phytophthora parvispora* trên keo lai và keo Tai tượng

Ký hiệu chủng	Cây chủ	Tính gây bệnh	Trình tự tham chiếu	
			ITS	COX1
FP273	Keo tai tượng	++++	MN872758	MN866092
FP276	Keo tai tượng	+++	MN872758	MN866092
FP277	Keo tai tượng	+++	MN872758	MN866092
FP278	Keo tai tượng	+++	MN872758	MN866092
FP279	Keo tai tượng	++++	MN872758	MN866092
FP280	Keo tai tượng	++	MN872758	MN866092
FP281	Keo tai tượng	+++	MN872758	MN866092
FP283	Keo tai tượng	+	MN872758	MN866092
FP285	Keo tai tượng	+	MN872758	MN866092
FP287	Keo tai tượng	++	MN872758	MN866092
FP288	Keo tai tượng	++	MN872758	MN866092
FP289	Keo lai	+++	MN872758	MN866092
FP290	Keo lai	+++	MN872758	MN866092

Ghi chú: +: Mức hại nhẹ ($R < 20\%$); ++: Mức hại trung bình ($21\% \leq R < 50\%$); +++: Mức hại nặng ($51\% \leq R < 75\%$); ++++: Mức hại rất nặng ($75\% \leq R$).



Hình 2. Lây bệnh nhân tạo nấm *P. parvispora* trên lá Keo tai tượng
 (a: Mức hại rất nặng; b: Mức hại nặng; c: Mức hại trung bình;
 d: Mức hại nhẹ. E: Đối chứng)

*** Đặc điểm của nấm bệnh:**



Hình 3. a - k: Các hình dạng phổ biến của túi bào tử; l, m: Chùm túi bào tử; n: Sợi nấm dạng hyphaswelling, o: Hệ sợi trên môi trường CA, kích thước thanh bar = 20 µm

Hệ sợi nấm sinh trưởng và phát triển mạnh trên môi trường CA và V8A, chậm hơn trên môi trường PDA, tốc độ sinh trưởng trung bình 4,5mm/ngày PDA. Túi bào tử động (sporangia) xuất hiện rất nhiều trên môi trường CA và V8A sau 5 ngày nuôi cấy. Túi bào tử có nhiều hình dạng khác nhau từ hình elip, hình oval, hình trứng, hình elip kéo dài, quả lê ngược... không có núp (non-papillate) hoặc hơi có núp (semi-papillate), kích thước trung bình (chiều dài từ 30 - 80µm x chiều rộng từ 20 - 35µm (hình 3). Nấm thuộc nhóm dị tản (Heterothallic) không xuất hiện bào tử noãn (oogonia) trên môi trường.

4. THẢO LUẬN

Nấm *Phytophthora* spp. vẫn luôn được biết đến là loài gây bệnh nguy hiểm trên các loài cây trồng có ý nghĩa kinh tế như sầu riêng, cây ăn quả có múi, chanh leo, dứa, cao su, hồ tiêu, bơ... Khi bệnh đã phát sinh và gây hại thì việc phòng trừ sẽ vô cùng khó khăn do nấm bệnh phần lớn sống trong đất, và có thể tồn tại rất lâu nhờ bào tử vách dày (chlamydospore). Hiện nay, loài *P. cinnamomi* được xác định gây hại cả trên cây nông, công nghiệp và cây lâm nghiệp (trong đó có keo và quế) ở Việt Nam. Bên cạnh đó, một trong hai loài mới được xác định trong thời gian gần đây trên quế là *P.x vanyenesis nov* là loài lai giữa loài *Phytophthora* sp. *mekongensis* gây bệnh trên cây có múi và một loài chưa được xác định. Thêm vào đó, loài trên keo lai và keo Tai tượng ở Quảng Nam xác định được nguyên nhân gây chết do nấm *Phytophthora parvispora*, đây cũng là loài được Thomas và cộng sự thu thập trên dẻ gai và chắp lá tròn thuộc rừng tự nhiên

Vườn Quốc gia Ba Vì. Do đó, nghiên cứu về đặc điểm sinh học, sinh thái, đa dạng di truyền và tính gây bệnh của loài *Phytophthora* spp. là rất quan trọng và cần thiết để từ đó đưa ra các biện pháp quản lý bệnh hiệu quả, an toàn và bền vững đối với sản xuất cây trồng lâm nghiệp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abraham, A., Philip, S., Jacob, M. K., Narayanan, S. P., Jacob, C. K., & Kochupurackal, J. (2015), Phenazine-1 - carboxylic acid mediated anti-oomycete activity of the endophytic *Alcaligenes* sp. EIL-2 against *Phytophthora meadii*. *Microbiological research*, 170, 229 - 234.
2. Bawage, S., Nerkar, S., Kumar, A., & Das, A. (2013), Morphological and molecular description of *Phytophthora insolita* isolated from citrus orchard in India. *Journal of Mycology*, 2013.
3. Blair, J. E., Coffey, M. D., Park, S. Y., Geiser, D. M., & Kang, S. (2008), A multi-locus phylogeny for *Phytophthora* utilizing markers derived from complete genome sequences. *Fungal Genetics and Biology*, 45(3), 266 - 277.
4. Burgess, T. I., Dang, Q. N., Le, B. V., Pham, N. Q., White, D., & Pham, T. Q. (2020), *Phytophthora acaciivora* sp. nov. associated with dying *Acacia mangium* in Vietnam. *Fungal systematics and evolution*, 6, 243.
5. Cooke, D. E., Drenth, A., Duncan, J. M., Wagels, G., & Brasier, C. M. (2000), A molecular phylogeny of *Phytophthora* and related oomycetes. *Fungal Genetics and Biology*, 30, 17 - 32.
6. Dang Nhu Quỳnh, Pham Quang Nam, Nguyen Manh Ha, Pham Quang Thu (2017), First report of *Phytophthora cinnamomi* on *Cinnamomum cassia* in Vietnam. *8th meeting IUFRO Working party 7.02.09 Phytophthora in Forests and Natural Ecosystems in Vietnam (Sapa, Vietnam)*, Section 8: Pathogenicity, p40.

7. Dang, Q. N., Pham, T. Q., Arentz, F., Hardy, G. E. S., & Burgess, T. I. (2021), New *Phytophthora* species in clade 2a from the Asia-Pacific region including a re-examination of *P. colocasiae* and *P. meadii*. *Mycological Progress*, 20(2), 111 - 129.
8. Derevnina, L., Petre, B., Kellner, R., Dagdas, Y. F., Sarowar, M. N., Giannakopoulou, A.,... & Kamoun, S. (2016), Emerging oomycete threats to plants and animals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371(1709), 20150459.
9. Fisher, M. C., Henk, D. A., Briggs, C. J., Brownstein, J. S., Madoff, L. C., McCraw, S. L., & Gurr, S. J. (2012), Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature*, 484(7393), 186 - 194
10. Glen, M., Tommerup, I., Bougher, N., & O'Brien, P. (2002), Are Sebacinaceae common and widespread ectomycorrhizal associates of Eucalyptus species in Australian forests? *Mycorrhiza*, 12(5), 243 - 247.
11. Grünwald, N. J., Garbelotto, M., Goss, E. M., Heungens, K., & Prospero, S. (2012), Emergence of the sudden oak death pathogen *Phytophthora ramorum*. *Trends in microbiology*, 20(3), 131 - 138.
12. Hüberli, D., Tommerup, I. C., & Hardy, G. S. J. (2000), False-negative isolations or absence of lesions may cause mis-diagnosis of diseased plants infected with *Phytophthora cinnamomi*. *Australasian Plant Pathology*, 29(3), 164 - 169.
13. Jung, T., Scanu, B., Bakonyi, J., Seress, D., Kovács, G. M., Durán, A.,... & Jung, M. H. (2017), *Nothophytophthora* gen. nov., a new sister genus of *Phytophthora* from natural and semi-natural ecosystems. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 39, 143.
14. Jung, T., Scanu, B., Brasier, C. M., Webber, J., Milenković, I., Corcobado, T.,... & Horta Jung, M. (2020), A survey in natural forest ecosystems of Vietnam reveals high diversity of both new and described *Phytophthora* taxa including *P. ramorum*. *Forests*, 11(1), 93.
15. Martin, F. N., & Tooley, P. W. (2003), Phylogenetic relationships among *Phytophthora* species inferred from sequence analysis of mitochondrially encoded cytochrome oxidase I and II genes. *Mycologia*, 95(2), 269 - 284.
16. Nguyen, T. D., Burgess, T., Dau, V. T., Le, V. Q., Trinh, T. L., Pham, T. L., & Burgess, L. W. (2015), *Phytophthora* stem rot of purple passionfruit in Vietnam. *Australasian Plant Disease Notes*, 10(1), 1 - 4.
17. Nowicki, M., Foolad, M. R., Nowakowska, M., & Kozik, E. U. (2012), Potato and tomato late blight caused by *Phytophthora infestans*: an overview of pathology and resistance breeding. *Plant disease*, 96(1), 4 - 17.
18. Puglisi, I., De Patrizio, A., Schena, L., Jung, T., Evoli, M., Pane, A.,... & Cacciola, S. O. (2017), Two previously unknown *Phytophthora* species associated with brown rot of Pomelo (*Citrus grandis*) fruits in Vietnam. *PLoS One*, 12(2), e0172085.
19. Savita, G. S. V., & Nagpal, A. (2012), Citrus diseases caused by *Phytophthora* species. *GERF bull biosci*, 3(1), 18 - 27.
20. Sena, K., Crocker, E., Vincelli, P., & Barton, C. (2018), *Phytophthora cinnamomi* as a driver of forest change: Implications for conservation and management. *Forest Ecology and Management*, 409, 799 - 807.
21. Thanh, D., Vien, N., & Drenth, A. (2004), *Phytophthora* diseases in Vietnam. *Diversity and Management of Phytophthora in Southeast Asia*. Australian Centre for international Agricultural Research, Canberra, Australia, 83.
22. Thu, P. Q., Quynh, D. N., Burgess, T., & Dell, B. (2014), *Phytophthora*-an emerging threat to plantation forestry in Vietnam. In: 7th International Union of Research Organisations. IUFRO Working Party 7 - 02 - 09, *Phytophthora in Forests and Natural Ecosystems*, 9 - 14th November, Esquel, Argentina.
23. Toan, D. V., Quynh, D. N., Chi, N. M., Jung, T., M.H.Jung, A.P.Sierra,... Thu, P. Q.

- (2017), *Biological characteristics of Pythiaceae species isolated from soil of Hevea brasiliensis plantations in the South of Vietnam*. In: 8th meeting IUFRO Working party 7.02.09 *Phytophthora* in Forests and Natural Ecosystems in Vietnam (Sapa, Vietnam).
24. Torres, G. A., Sarria, G. A., Martinez, G., Varon, F., Drenth, A., & Guest, D. I. (2016), Bud rot caused by *Phytophthora palmivora*: a destructive emerging disease of oil palm. *Phytopathology*, 106(4), 320 - 329.
25. Tri, M. V., Nguyen Van, H., Chau, N., Pane, A., Faedda, R., Patrizio, A.,... Cacciola, S. O. (2015), Decline of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) incited by *Phytophthora palmivora* in Vietnam. *Phytopathologia Mediterranea*, 54, 275 - 280.
26. Truong, N.V., Burgess, L.W., Liew, C.Y. (2008), Prevalence and aetiology of *Phytophthora* foot rot of black pepper in Vietnam. *Australas Plant Pathol* 37:431 - 442.
27. Yang, X., Tyler, B. M., & Hong, C. (2017), An expanded phylogeny for the genus *Phytophthora*. *IMA fungus*, 8(2), 355 - 384.
28. Đặng Vũ Thị Thanh, Hà Minh Trung (1999), Danh sách các loại bệnh hại cây ăn quả. Trong: Kết quả điều tra sâu bệnh hại cây ăn quả, 1997 - 1998. Nhà xuất bản Nông nghiệp 158p.
29. Hoàng Văn Thơi, Lê Thanh Quang, Nguyễn Khắc Điệu, Vũ Văn Định, Đặng Như Quỳnh, Ngô Văn Bình (2017), Xác định nguyên nhân gây chết rừng phi lao (*Casuarina equisetifolia* j.r et g. fors) ven biển tại xã Đông Hải, huyện Duyên Hải, tỉnh Trà Vinh. *Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp*, số 41/2017.
30. Phạm Quang Thu, Đặng Như Quỳnh, Bernard Dell (2013), Phát hiện loài *Phytophthora cinnamomi* gây bệnh cho cây keo Tai tượng ở Yên Sơn, Tuyên Quang. *Tạp chí Bảo vệ thực vật*, số 3, 3 - 5p.
31. Phạm Quang Thu, Đặng Như Quỳnh, Lê Thị Xuân, Nguyễn Hoài Thu (2010), Nghiên cứu bệnh héo rũ cây lim xanh ở giai đoạn vườn ươm và biện pháp quản lý dịch bệnh. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, số 18, 75 - 79p.
32. Vũ Văn Định, Đặng Như Quỳnh, Lê Thị Xuân, Nguyễn Thị Loan, Phạm Văn Nhật và Trần Nhật Tân (2017), Bệnh thối rễ quế ở giai đoạn vườn ươm và đề xuất biện pháp quản lý dịch bệnh ở tỉnh Lào Cai. *Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp*. Số 4/2017.

SÀNG LỌC MỘT SỐ CHỦNG *Trichoderma* sp. ĐỐI KHÁNG VỚI NẤM *Fusarium* sp. GÂY BỆNH THỐI THÂN, LÁ DỨA (KHÓM)

Nguyễn Thị Thanh Xuân^{1*}, Văng Thị Tuyết Loan¹,
Phạm Văn Quang¹, Lý Ngọc Thanh Xuân¹, Trần Trí Tâm¹,
Trần Chí Nhân¹, Trần Ngọc Hữu², Nguyễn Quốc Khương²

¹Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh

²Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

*Tác giả liên hệ: nttxuan@agu.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu thực hiện nhằm tuyển chọn dòng nấm *Trichoderma* có khả năng đối kháng tốt với nấm bệnh *Fusarium* gây thối trên cây dứa (khóm) tại xã Vĩnh Viễn A và Vĩnh Viễn, huyện Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang. Kết quả phân lập được 20 dòng nấm *Fusarium* sp., trong đó 10 dòng F2, F14, F13, F7, F9, F16, F18, F10, F4 và F19 gây tỷ lệ bệnh cao trên khóm 33,3 - 41,1%. Và ba dòng nấm *Trichoderma* - WA13C1, S5.1 và WA22A có khả năng tiết enzyme chitinase cao thử nghiệm đối kháng với nấm bệnh *Fusarium* sp. gây thối trên dứa. Khảo sát hiệu quả đối kháng của 3 dòng nấm *Trichoderma* này đều có hiệu quả đối kháng cao với ba dòng nấm *Fusarium* - F14, F14 và F16 từ 50,8 - 58,9%. Từ đó cho thấy các dòng nấm *Trichoderma* WA13C1, WA22A và S5.1 có tiềm năng kiểm soát bệnh thối thân trên dứa do các dòng nấm *Fusarium* - F14, F14 và F16 gây ra nên cần thử nghiệm thêm hiệu quả giảm bệnh của chúng trong điều kiện canh tác.

Từ khóa: cây dứa, đối kháng, nấm *Fusarium*, nấm *Trichoderma*.

ABSTRACT

Screening some strains of *Trichoderma* sp. antagonistic to *Fusarium* sp. causing stem, leaf rot in pipeapple

The study was carried out to select a strain of *Trichoderma* having antagonistic effect on *Fusarium* fungus causing rot on pineapple in Vinh Vien A and Vinh Vien communes, Long My district, Hau Giang province. The result showed that 20 strains of *Fusarium* sp. were isolated, of which 10 lines F2, F14, F13, F7, F9, F16, F18, F10, F4 and F19 caused high disease rate from 33.3% to 41.1%. And three strains of

Trichoderma - WA13C1, S5.1 and WA22A with high chitinase secretion ability tested against *Fusarium* sp. causing rot on the pineapple. The results of the antagonistic effect have selected 3 *Trichoderma* WA13C1, WA22A and S5.1 fungal strains, which had high antagonism against with three *Fusarium* - F14, F14 and F16 strains between 50.8% and 58.9%. Since then, it has been shown that *Trichoderma* WA13C1, WA22A and S5.1 strains have the potential to control stem rot disease caused by *Fusarium* - F14, F14 and F16 strains, so it is necessary to further test their disease reduction effect in farming conditions.

Keywords: pineapple, antagonistic, *Fusarium*, *Trichoderma*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh hại thực vật là một nhóm dịch hại rất quan trọng và có trên 80% số bệnh hại cây trồng do nấm gây ra (Vũ Triệu Mân, 2007). Trong số đó, loài nấm đang được quan tâm hàng đầu không thể không kể đến là *Fusarium* sp. Các loài hoại sinh thường có mặt trên rễ và thân cây bệnh, các loài *Fusarium* sp. nội sinh gây các bệnh héo do tắc bó mạch và một số bệnh thối rễ, dạng hoại sinh có mặt phổ biến trên rễ cây bệnh sau khi tác nhân gây bệnh đã làm thối mô rễ (Burgess, 2009). Trên cây dứa, bệnh do *Fusarium* xảy ra ở tất cả các bộ phận của cây nhưng dễ nhiễm nhất ở quả và chồi non (Nurul và ctv., 2015). Cây dứa bị nhiễm bệnh trên lá thể hiện những đốm hoại tử tại phần cổ lá, thối khô rễ và héo cây (Aquiye và ctv., 2010).

Các công trình nghiên cứu trong và ngoài nước gần đây đều cho thấy nấm *Trichoderma* sp. có thể phòng trị bệnh do nhiều loại nấm gây hại cây trồng (Dương Minh và ctv., 2010). Các chủng *Trichoderma* được sử dụng như tác nhân đối kháng hiệu quả với nấm *Fusarium* gây hại (Nguyễn Đức Huy và ctv., 2018).

Tuy nhiên, hiệu quả ức chế của các chủng nấm *Trichoderma* sp. phân lập tại huyện Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang lên nấm *Fusarium* gây thối trên dứa vẫn chưa được làm rõ. Chính vì thế khảo sát khả năng đối kháng của nấm *Trichoderma* đối với nấm *Fusarium* gây bệnh thối trên dứa ở xã Vĩnh Viễn A và Vĩnh Viễn, huyện Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang thực hiện nhằm tìm ra được chủng *Trichoderma* có khả năng không chế tốt với nấm *Fusarium* gây thối trên cây dứa.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Phương tiện nghiên cứu

2.1.1. Vật liệu

Nấm *Trichoderma*: 44 dòng nấm *Trichoderma* được phân lập từ đất phèn trồng khóm ở huyện Long Mỹ - Hậu Giang. 44 dòng *Trichoderma* phân lập có khả năng sống trong điều kiện pH 4,0 đồng thời tiết enzyme chitinase (Kết quả từ đề tài, chưa công bố).

Mẫu bệnh thối quả, thối rễ, thối nõn cây dứa được thu thập từ các ruộng dứa trên địa bàn huyện Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang.

2.1.2. Hóa chất, môi trường nuôi cấy

Môi trường PDA, TSM, huyền phù chitin 1%, dung dịch DNS.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập nấm *Fusarium*

Thu cây dứa bệnh có triệu chứng bệnh do nấm *Fusarium* như thối quả, thối nõn và thối rễ tại vùng trồng dứa xã Vĩnh Viễn A và Vĩnh Viễn, huyện Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang. Mẫu cây bệnh được rửa sạch, để ráo, cắt mẫu có kích thước 1cm. Sau đó, mẫu được khử trùng bề mặt với NaOCl 1% trong 1 phút, còn 70° trong 30 giây, rửa lại với nước cất vô trùng 3 lần và cấy mẫu bệnh lên môi trường PDA. Nấm được tách ròng sau khi ủ ở điều kiện phòng thí nghiệm trong 24 - 48 giờ. Các dòng nấm thuần được ghi nhận màu sắc và đặc điểm hình thái tản nấm, bào tử sau 48 giờ phát triển và so sánh theo mô tả của Barnett và Barry (1998) để xác định chi *Fusarium*.

Các dòng nấm *Fusarium* sp. được tuyển chọn qua khả năng sinh trưởng và tỷ lệ gây bệnh. Nhằm mục đích, chọn được dòng nấm *fusarium* sp. vừa có khả năng sinh trưởng nhanh, vừa gây độc mạnh:

Tuyển chọn nấm *Fusarium* sp. có khả năng sinh trưởng nhanh trên môi trường thạch: bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với ba lặp lại, mỗi lặp lại là một đĩa petri. Cấy khoanh nấm nấm *Fusarium* sp. được đục từ tản nấm nuôi cấy 4 ngày lên môi trường PDA. Đo đường kính tản nấm ở 96 giờ sau khi cấy. Chọn các dòng nấm *Fusarium* có đường kính lớn nhất để áp dụng định đề Koch xác định tác nhân gây bệnh.

Tuyển chọn nấm Fusarium sp. có khả năng gây bệnh mạnh: Bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, 10 nghiệm thức là 10 dòng *Fusarium* đã được phân chọn từ các dòng sinh trưởng mạnh, với 4 lần lặp lại, mỗi lặp lại là 1 chậu (mỗi chậu chứa 1000 g đất), trồng 1 cây dứa. Đất được phơi khô, băm nhỏ và thanh trùng ở nhiệt độ 121°C trong 45 phút. Sau đó, nấm *Fusarium* sp. với mật số 10⁸ bào tử/mL (50 mL/1 kg đất) được tưới vào trước và sau 7 ngày trồng dứa (cây dứa sạch bệnh).

Đánh giá tỉ lệ bệnh sau 10, 30 và 45 ngày trồng dứa.

Tỷ lệ lá bệnh (TLLB):

$$\text{TLLB (\%)} = \frac{\text{Tổng số lá bệnh}}{\text{Tổng số lá quan sát}} \times 100$$

2.2.2. Tuyển chọn các dòng nấm *Trichoderma* có khả năng tiết enzyme chitinase trong điều kiện pH thấp

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lặp lại, mỗi lặp lại tương ứng với một ống nghiệm. Các chủng nấm *Trichoderma* được nuôi trên môi trường PDB trên máy lắc ngang với tốc độ 120 vòng/phút ở 30°C trong 7 ngày. Sau đó, dùng lam đếm Neubauer và điều chỉnh về mật số 10⁸ bào tử/mL trước khi chuyển sang nuôi trong môi trường TSM pH 4,0 có chứa 0,5% chitin trong vòng 7 ngày ở cùng điều kiện. Tiếp theo, hút 1mL dung dịch nuôi cấy chuyển sang eppendorf 2 mL ly tâm với tốc độ 8000 vòng/phút, sử dụng dung dịch để định lượng enzyme. Hoạt độ enzyme chitinase được xác định dựa trên phương pháp định lượng glucosamine trong quá trình phân giải chitin. Lượng glucosamine tạo ra được xác định theo phương pháp Elson - Morgan (1993).

2.2.3. Hiệu quả ức chế của nấm *Trichoderma* sp. với nấm *Fusarium* sp. trên môi trường thạch

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 4 lặp lại, mỗi lặp lại tương ứng với một đĩa petri. Tiến hành cấy đối kháng bằng phương pháp cấy điểm trên môi trường PDA. Chủng *Trichoderma* sp. và chủng *Fusarium* sp. được cấy trên cùng đĩa, nấm *Fusarium* được cấy trước 24 giờ so với nấm *Trichoderma* sp., đo bán kính nấm 120 giờ sau khi cấy.

Hiệu quả ức chế: $HQ = (R1 - R2)/R1 \times 100$ (Dhanasekaran *et al.*, 2012).

R1 là đường kính tán nấm của nấm bệnh ở nghiệm thức đối chứng.

R2 là đường kính tán nấm của nấm bệnh ở nghiệm thức thí nghiệm, để đánh giá khả năng đối kháng của nấm.

2.2.4. Phân tích và xử lý số liệu

Số liệu thu thập được xử lý bằng chương trình Microsoft Excel và được

thống kê bằng phần mềm SPSS 16.0, phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định Duncan.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tuyển chọn nấm *Fusarium* sp.

Kết quả thí nghiệm đã phân lập được 20 dòng nấm từ mẫu dừa bệnh có triệu chứng thối nhũng ở phần cuống lá, rễ. Nấm phân lập có khuẩn lạc màu trắng, tơ nấm có dạng xốp như bông, tản nấm phát triển có hình vành khăn. Tản nấm có màu trắng kem, mặt dưới có màu vàng cam, phát triển nhanh trên môi trường thạch PDA, pH 6,5 ở điều kiện nhiệt độ 30°C (hình 1). Khi quan sát bào tử ở vật kính 40X, ghi nhận được bào tử nấm có hình lưỡi liềm, thon nhọn hai đầu, có 3 - 5 vách ngăn. Các dòng nấm được xác định thuộc chi *Fusarium* vì đặc điểm hình thái và bào tử ghi nhận tương đồng với mô tả của Barnett và Barry (1998) về đặc điểm của nấm *Fusarium*.



Hình 1. Nấm *Fusarium* F14 và F10 thời điểm 96 giờ sau cấy
(A, C: Tản nấm *Fusarium* trên môi trường PDA; B,D: Bào tử nấm *Fusarium* (vật kính x40))

3.1.1. Đường kính trung bình của tản nấm *Fusarium* sp. trên môi trường PDA

Đường kính tán nấm của 20 dòng nấm *Fusarium* sp. được ghi nhận ở bảng 1 cho thấy có 10 dòng nấm sinh trưởng và

phát triển mạnh trên môi trường thạch PDA. Các dòng nấm có tốc độ phát triển nhanh và đường kính tán nấm ở thời điểm 96 giờ lớn hơn 50mm. Điều này cho thấy sự tương đồng với thí nghiệm của

Nguyễn Đức Huy và ctv. (2018), về sự phát triển của nấm *Fusarium*, trong thí nghiệm này kết quả đã cho thấy nấm

Fusarium có đường kính là 48,83mm ở thời điểm 96 giờ sau cấy trong điều kiện nhiệt độ 30°C.

Bảng 2. Đường kính tản nấm (mm) của các dòng nấm *Fusarium* sp.

STT	Dòng nấm	96 GSKC	STT	Dòng nấm	96 GSKC
1	F1	40,0 ^f	11	F11	40,3 ^f
2	F2	50,3 ^{cd}	12	F12	31,5 ^{gh}
3	F3	28,3 ^h	13	F13	52,0 ^c
4	F4	56,5 ^{ab}	14	F14	51,5 ^{cd}
5	F5	41,0 ^f	15	F15	43,5 ^{ef}
6	F6	45,5 ^e	16	F16	54,0 ^{bc}
7	F7	52,5 ^{bc}	17	F17	47,5 ^{de}
8	F8	34,0 ^g	18	F18	54,5 ^{abc}
9	F9	52,5 ^{bc}	19	F19	58,5 ^a
10	F10	56,5 ^{ab}	20	F20	33,0 ^g
Mức ý nghĩa		**	Mức ý nghĩa		**
CV (%)		5,07	CV (%)		5,07

Ghi chú: Các số trong cùng một cột theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt qua phép kiểm định Duncan; **: Khác biệt ý nghĩa ở mức 1%.

3.1.2. Tỷ lệ bệnh trên cây dứa

* *Tuyển chọn nấm Fusarium có khả năng sinh trưởng nhanh và gây độc mạnh trên cây dứa*

10 dòng nấm *Fusarium* phát triển mạnh nhất được sử dụng để khảo sát khả năng gây bệnh trên cây dứa. Kết quả về thời gian xuất hiện triệu chứng của 10 dòng nấm *Fusarium* sp. khảo sát dao động từ 8 ngày đến 10 ngày sau chủng. Trong đó, 4 dòng nấm F9, F10, F18 và F19 có thời gian xuất hiện triệu chứng bệnh sớm nhất ở thời điểm 8 NSKC.

Từ kết quả khảo sát cho đã cho thấy cả 10 dòng nấm *Fusarium* đều có khả năng gây bệnh trên cây dứa. Tỷ lệ lá bệnh

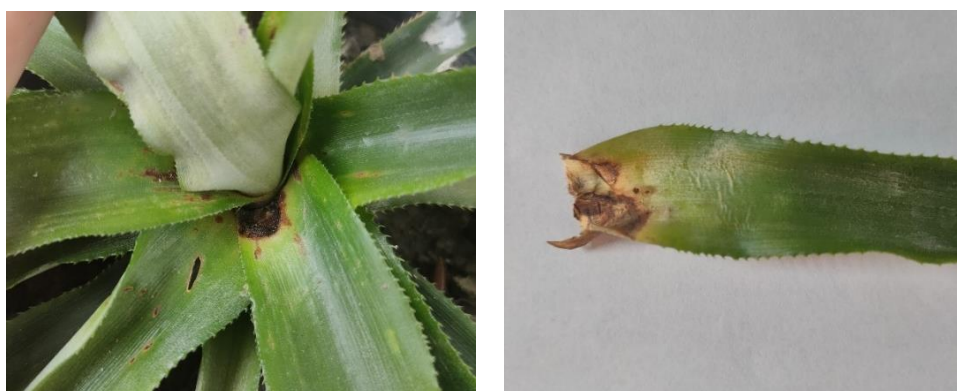
thấp nhất ở thời điểm 10 ngày sau khi chủng nấm vào đất là 15,2%. Đến thời điểm 45 ngày sau khi chủng nấm tất cả các nghiệm thức đều cho thấy tỷ lệ bệnh trên 20%, tỷ lệ lá bệnh trung bình của tất cả các nghiệm thức là 33,7%. Có 7 dòng nấm có tỷ lệ gây bệnh cao nhất là F2, F4, F7, F9, F13, F18 và F19 với tỷ lệ gây bệnh dao động từ 33,3% đến 41,1%, có thể thấy rằng các dòng nấm này có tính độc cao đối với cây dứa (bảng 2, hình 2). Triệu chứng qua sát được lá bị thối ở gốc lá (phần nối thân dứa), đốm nâu, vàng. Triệu chứng trong nghiên cứu này có phần tương đồng với kết quả báo cáo của Nurul Fazihah (2015) mô tả nấm *Fusarium semitectum* và *Fusarium chlamydosporum* gây thối ở gốc lá và có những đốm nâu

trên lá. Vásquez and Mata (2014) cũng mô tả *Fusarium oxysporum* gây bệnh trên dứa làm cây chậm phát triển, lá hơi vàng, lá mềm, mất độ trương cứng.

Bảng 2. Tỷ lệ lá bệnh (%) của 10 dòng nấm *Fusarium* sp.

STT	Dòng nấm	10 NSKC	30 NSKC	45 NSKC
1	F2	25,0 ^{cd}	29,2 ^b	34,9 ^{ab}
2	F4	21,1 ^{de}	32,0 ^b	33,3 ^{abc}
3	F7	25,1 ^{cd}	29,4 ^b	34,5 ^{ab}
4	F9	38,2 ^a	41,9 ^a	37,9 ^a
5	F10	29,1 ^{bc}	28,4 ^b	27,6 ^{bc}
6	F13	27,8 ^{bc}	35,1 ^{ab}	41,1 ^a
7	F14	17,6 ^e	20,9 ^c	24,4 ^c
8	F16	15,2 ^e	20,9 ^c	27,0 ^{bc}
9	F18	32,1 ^b	30,9 ^b	36,0 ^{ab}
10	F19	25,4 ^{cd}	36,0 ^{ab}	40,9 ^a
<i>Mức ý nghĩa</i>		**	**	**
<i>CV (%)</i>		17,8	17,4	19,2

Ghi chú: Các số trong cùng một cột theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt qua phép thử Duncan. **: Khác biệt ý nghĩa ở mức 1%.



Hình 2. Vết bệnh xuất hiện trên thí nghiệm lây bệnh nhân tạo dòng *Fusarium* F9 ở giai đoạn 45 ngày sau khi chủng nấm

3.2. Khả năng tiết chitinase của các chủng nấm *Trichoderma* sp.

Hàm lượng enzyme chitinase tiết ra của các dòng nấm *Trichoderma* trong pH 4,0 có sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1%. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.

Dòng nấm *Trichoderma* tiết ra hàm lượng enzyme chitinase cao trên 145

U/L là WA13C1: 247,3 U/L; S5.1: 209,6 U/L và WA22A: 149,2 U/L. Với khả năng tiết ra lượng enzyme chitinase cao trong pH thấp 4,0, 3 dòng nấm WA13C1, S5.1 và WA22A có tiềm năng đối kháng với nấm bệnh *Fusarium* gây thối trên dứa trong điều kiện đất phèn.

Bảng 3. Khả năng tiết enzyme chitinase của các dòng nấm *Trichoderma* sp. trong pH 4,0

Dòng nấm	Chitinase (U/L)	Dòng nấm	Chitinase (U/L)	Dòng nấm	Chitinase (U/L)
S1.2	55,3 ^{uvw}	SR29B	56,5 ^{uv}	SR46B	59,5 ^{stu}
S1.3	140,3 ^d	SR30.1A	78,4 ^h	SR46C	13,0 ^y
S16.1	74,1 ^{j-o}	SR32.1	63,2 ^{rst}	SR471	91,7 ^g
S16.2	76,5 ^{j-m}	SR34A	58,9 ^{stu}	SR48.1	68,0 ^{o-r}
S17.2	45,0 ^x	SR34B	57,7 ^{tuv}	WA06A	72,0 ^{m-o}
S18.1A	65,0 ^{p-s}	SR36.1	74,6 ^{j-n}	WA07C	121,5 ^e
S18.2	83,5 ^{hi}	SR37.1	68,0 ^{o-r}	WA11A	72,3 ^{j-o}
S4.2	76,5 ^{j-m}	SR37A	112,4 ^f	WA13B1	58,9 ^{stu}
S5.1	209,6 ^b	SR38.1	52,2 ^{vw}	WA13C1	247,3 ^a
S5.2	85,0 ^h	SR38.2	74,1 ^{j-o}	WA17A1	71,4 ^{m-o}
S8.1	78,7 ^{ijk}	SR39	74,1 ^{j-o}	WA19B	70,9 ^{m-p}
S8.2	97,0 ^g	SR39.2.1	68,5 ^{n-r}	WA20A1	65,0 ^{p-s}
S9.1	122,4 ^e	SR40.1	69,6 ^{n-q}	WA22A	149,2 ^c
SR16.2	69,9 ^{n-q}	SR43B1	79,1 ^{ij}	WA30B	64,1 ^{qrs}
SR28A	72,6 ^{k-o}	SR45A	50,4 ^w		
<i>F</i>	**				
CV %	4,0				

3.3. Hiệu quả đối kháng của các dòng nấm *Trichoderma* sp. đối với nấm *Fusarium* sp.

Dòng *Trichoderma* WA13C1 có hiệu quả ức chế cao nhất với dòng *Fusarium* - F13, F14 và F7 với hiệu quả ức chế lần lượt 58,9; 56,1 và 54,5% (hình 3).

Dòng nấm *Trichoderma* WA22A hiệu quả đối kháng cao nhất với dòng *Fusarium* - F2, F4, F13, F14 và F16 từ 45,6 - 48,1%.

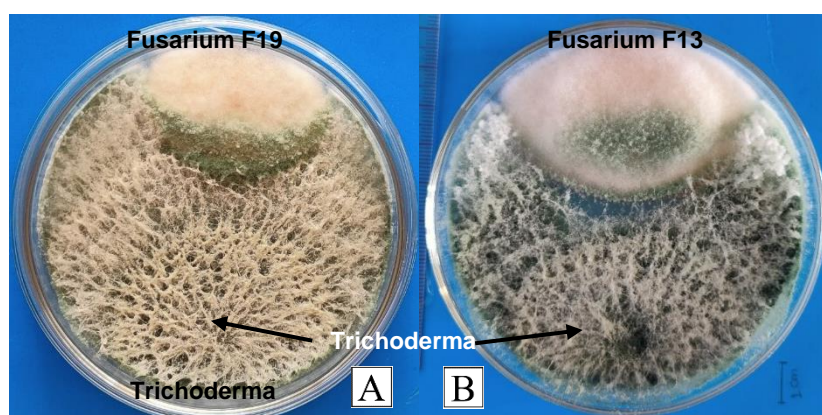
Hiệu quả đối kháng của dòng nấm *Trichoderma* S5.1 với nấm bệnh *Fusarium*-13, cao nhất là 57,6%.

Theo kết quả của Çiğdem Küçük (2017) về khả năng đối kháng của các dòng *Trichoderma* bản địa với các dòng *Fusarium* rất khác nhau, biến động từ 25 - 92% tùy vào loài *Fusarium* (*F.culmorum*: 25 - 60%, *F.solani*: 60 - 82%).

Theo Mokhtari (2017) các isolate của *Trichoderma longibrachiatum* (reesei) đối kháng với *Fusarium oxysporum* cao hơn (67 - 93%).

Bảng 4. Hiệu quả đối kháng (%) của các dòng nấm *Trichoderma* với nấm *Fusarium* ở 120 giờ sau khi cấy

STT	Dòng nấm	WA13C1	WA22A	S5.1
1	F2	37,9 ^d	45,8 ^a	43,3 ^{de}
2	F4	48,2 ^{bc}	45,6 ^a	44,1 ^{de}
3	F7	54,5 ^{abc}	34,4 ^{bc}	45,5 ^{cd}
4	F9	48,0 ^{bc}	37,5 ^b	42,5 ^{de}
5	F10	35,3 ^d	38,4 ^b	38,7 ^e
6	F13	58,9 ^a	46,4 ^a	57,6 ^a
7	F14	56,1 ^{ab}	48,1 ^a	50,8 ^{bc}
8	F16	49,5 ^{bc}	46,6 ^a	51,5 ^b
9	F18	47,0 ^c	30,5 ^c	41,0 ^{de}
10	F19	32,8 ^d	36,9 ^b	39,8 ^{de}
Mức ý nghĩa		**	**	**
CV (%)		11,5	9,8	8,4



Hình 3. Nấm *Trichoderma* WA13C1 đối kháng với nấm *Fusarium* 5 NSKC (A: Dòng *Fusarium* F19; B: Dòng *Fusarium* F13)

4. KẾT LUẬN

Kết quả phân lập được 20 dòng nấm *Fusarium* sp., trong đó 10 dòng F2, F14, F13, F7, F9, F16, F18, F10, F4 và F19 gây tỷ lệ bệnh cao trên dứa 33,3 - 41,1%.

Khả năng tiết enzyme chitinase cao 3 dòng nấm *Trichoderma* - WA13C1,

S5.1 và WA22A có tiềm năng đối kháng với nấm bệnh *Fusarium* sp. gây thối trên dứa.

Ba dòng nấm *Trichoderma* WA13C1, WA22A và S5.1 đều có hiệu quả đối kháng với ba dòng nấm *Fusarium* - F14, F14 và F16 từ 50,8 - 58,9%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aquije G. M. de Farias Viegas, P. B. Zorzal, D. S. Buss P. M. B. Fernandes A. A. R. Fernandes (2010), Cell wall alterations in the leaves of fusariosis-resistant and susceptible pineapple cultivars. *Plant Cell Rep* (2010) 29:1109 - 1117. DOI 10.1007/s00299 - 010 - 0894 - 9.
2. Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1998), *Illustrated genera of imperfect fungi* (No. Ed. 4). American Phytopathological Society (APS Press).
3. Burgess, L. W., Knight, T. E., Tesoriero, L., & Phan, T. H. (2009), *Cẩm nang chẩn đoán bệnh cây ở Việt Nam*.
4. Çiğdem Küçük (2017), In vitro Antagonistic Activity against Fusarium Species of Local *Trichoderma* spp. isolate. *j. biol. environ. sci.*, 2017, 11(32), 67 - 74
5. Dhanasekaran D., Thajuddin N., Panneerselvam A. (2012), Applications of Actinobacterial Fungicides in Agriculture and Medicine. *Fungicides for Plant and Animal Diseases*, pp. 1 - 27.
6. Dương Minh, Lê Phước Thạnh, Đào Thị Hồng Xuyên. (2010), *Một số sản phẩm nghiên cứu từ nấm Trichoderma có triển vọng của Đại học Cần Thơ*. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ.
7. Elson, L. A., & Morgan, W. T. J. (1993), A colorimetric method for the determination of glucosamine and chondrosamine. *Biochemical Journal*, 27(6), 1824.
8. Mokhtari W., N. Chtaina¹, E. Halmschlager², H. Volgmayr³, C. Stauffer², W. Jaklitsch (2017), Potential antagonism of some *Trichoderma* strains isolated from Moroccan soil against three phytopathogenic fungi of great economic importance. *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét.* (2017) 5 (3):248 - 254
9. Nasibe T., Recep K., Elif T., Fatih D. (2019), Determination of some biological control agents against alternaria fruit rot in quince. *The Alinteri Journal of Agriculture Sciences*, 34 (1): 25 - 31.
10. Nurul Faziha Ibrahim, Masratul Hawa Mohd, Nik Mohd Izham Mohamed Nor and Latiffah Zakaria (2015), Pathogenicity of *Fusarium semitectum* and *Fusarium chlamydosporum* associated with pineapple fusariosis. *Malaysian Journal of Microbiology*, Vol 12(2) 2016, pp. 164 - 170.
11. Nguyễn Đức Huy, Phạm Quang Nguyên, Nguyễn Thị Thanh Hồng, Hà Giang, Nguyễn Văn Viên, Nguyễn Tất Cảnh (2018), Phân lập và đánh giá khả năng đối kháng của *Trichoderma asperellum* đối với tác nhân gây bệnh cây có nguồn gốc trong đất. Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam.
12. Vũ Triệu Mân (2007), *Giáo trình Bệnh cây đại cương*. Hà Nội: Trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội.

THÀNH PHẦN VÀ MỨC ĐỘ PHỔ BIẾN CỦA TUYẾN TRÙNG TRÊN CÀ RỐT TẠI LÂM ĐỒNG

Nguyễn Lương Khôi¹, Trần Quốc Toàn¹,
Nguyễn Thanh Phong¹, Lê Thanh Đạm¹, Nguyễn Vũ Phong^{1*}

¹Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

*Tác giả liên hệ: nvphong@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu xác định thành phần và mức độ phổ biến của tuyến trùng gây hại cà rốt ở Lâm Đồng. Kết quả điều tra đã ghi nhận sự xuất hiện tuyến trùng thuộc 11 giống, 10 họ, 4 bộ là Tylenchida, Dorylaimida, Rhabditida và Mononchida. Trong 7 giống tuyến trùng ký sinh *Meloidogyne spp.* và *Pratylenchus spp.* là hai giống phổ biến và gây hại nặng trên ruộng cà rốt. Ở Đức Trọng hai giống tuyến trùng ký sinh *Ditylenchus spp.*, *Filenchus spp.* và một giống tuyến trùng hoại sinh *Mononchus spp.* không tìm thấy trong các mẫu điều tra. Mật số tuyến trùng ký sinh và hoại sinh ở ruộng cà rốt thành phố Đà Lạt cao hơn Đức Trọng. Tuyến trùng ký sinh đạt mật số cao nhất giai đoạn sau thu hoạch cà rốt.

Từ khóa: cà rốt, Lâm Đồng, *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, tuyến trùng.

ABSTRACT

Composition and popularity of nematodes on carrot in Lam Dong

The study aims to determine the composition and popularity of plant parasitic nematodes on carrot in Lam Dong province. Based on morphological characteristics, 11 genera, 10 families, and 4 orders were recorded, namely Tylenchida, Dorylaimida, Rhabditida and Mononchida. On the seven genera of plant parasitic nematodes, *Meloidogyne* and *Pratylenchus* are twopopular genera that cause serious harm in the field of carrots. *Ditylenchus spp.*, *Filenchus spp.* and a saprophytic nematode *Mononchus spp.* were not found in the samples collected from Duc Trong. The density of both parasitic and saprophytic nematodes in carrot fields in Da Lat city was higher than those in Duc Trong. The number of parasitic nematodes reached the highest density in the post-harvest period of carrots.

Keywords: carrot, Lâm Đồng, *Meloidogyne*, plant parasitic nematode, *Pratylenchus*.

1. MỞ ĐẦU

Tuyến trùng ký sinh thực vật là đối tượng gây hại cây trồng phổ biến, đặc biệt đối với các cây lâu năm như cà phê, hồ tiêu, chanh dây, cây ăn quả và các loại cây rau màu thâm canh như cà rốt, cà chua và các loại rau ăn quả. Tuyến trùng có kích thước nhỏ, mắt thường không phát hiện, sống trong đất, nước và gây hại chủ yếu ở rễ cây. Khi triệu chứng gây hại được biểu hiện trên cây trồng, việc phòng trừ tốn kém, ảnh hưởng trực tiếp năng suất cây trồng và khả năng cây phục hồi là rất thấp.

Cà rốt (*Daucus carota*) là cây rau lấy củ, giàu dinh dưỡng, có giá trị kinh tế và thương mại cao. Sản phẩm có thể được sử dụng dưới dạng tươi sống hoặc chế biến thức ăn, thức uống. Ở nước ta, hai vùng canh tác cà rốt chính là Lâm Đồng và Hải Dương. Một trong những vấn đề khó khăn hiện nay của nông dân trồng cà rốt đó là tuyến trùng gây hại trên củ. Cà rốt khi bị tuyến trùng gây hại sẽ làm cho củ bị biến dạng, làm giảm năng suất thương phẩm và chất lượng củ. Việc nghiên cứu thành phần và tần suất xuất hiện của các loài tuyến trùng trên ruộng trồng cà rốt sẽ làm cơ sở để ra giải pháp phòng trừ tuyến trùng gây hại trên cà rốt.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Điều tra thành phần tuyến trùng chính trên cà rốt

Mẫu đất và rễ cà rốt được thu tại ruộng canh tác cà rốt thuộc phường Xuân Thọ, phường 11 thành phố Đà Lạt và xã Liên Nghĩa thuộc huyện Đức Trọng. Ở Đà Lạt là khu vực trồng cà rốt chuyên canh và ở Đức Trọng là khu vực trồng cà

rốt luân canh với các cây trồng khác. Số mẫu thu thập là 15 mẫu cho từng giai đoạn: 30, 60, 90 ngày sau gieo và sau khi thu hoạch. Mẫu được thu một cách ngẫu nhiên theo phương pháp 5 điểm trên hai đường chéo góc (Perry và Moens, 2013). Thu mẫu rễ và mẫu đất ở những cây có biểu hiện bệnh và cây khỏe mạnh.

Tách chiết tuyến trùng trong đất bằng cách trộn đều và cân 250 g đất cho vào 2 lít nước, bóp vụn và khuấy đều. Sau đó, dung dịch đất được chuyển qua rây lọc thô để loại bỏ cặn đất và rác bản. Phần dung dịch đất có chứa tuyến trùng trong xô được gạn lọc nhiều lần để loại bỏ hết cặn đất và cát nặng, chỉ còn lại dịch tuyến trùng ở dạng huyền phù. Dịch tuyến trùng được chuyển qua rây lọc đường kính lỗ rây 40 μm , rửa bằng nước sạch, tuyến trùng phía trên rây lọc được thu vào một rây lọc tinh có đường kính 85 \times 25 mm. Đặt rây lọc tinh vào đĩa petri đường kính 90 \times 30 mm, điều chỉnh lượng nước cho phù hợp. Sau 48 giờ thu dung dịch nước chứa tuyến trùng trong đĩa petri.

Các mẫu rễ và củ cà rốt được rửa sạch, cắt thành các đoạn nhỏ 0,5 cm rồi chuyển sang rây có đường kính lỗ rây lọc 40 μm , kích thước 85 \times 25 mm. Đặt rây lọc vào đĩa petri đường kính 90 mm, điều chỉnh lượng nước cho phù hợp. Sau 48 giờ, thu dịch nước có chứa tuyến trùng trong đĩa petri. Riêng đối với những mẫu sần sùi, có nốt sần sẽ được tách trực tiếp dưới kính hiển vi soi nổi để thu con cái trưởng thành và túi trứng.

Thành phần giống tuyến trùng được xác định theo phương pháp của Luc và *ctv.* (2005). Đối với tuyến trùng sừng rễ,

vân sinh môn con cái được cắt theo Hartman và Sasser (1995). Cắt vùng vân sinh môn thành tám hình vuông và gạt bỏ phần cơ chất, rửa qua acid lactic 45% trong 5 phút sau đó rửa qua nước cất 1 lần và gắp lên lam kính làm tiêu bản.

2.2. Phân tích số liệu

Các chỉ số hình thái lượng và số liệu về tần suất, mật số quần thể tuyến trùng được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel, phân tích thống kê và phân hạng theo Duncan.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần tuyến trùng chính trên cà rốt ở Lâm Đồng

Kết quả phân loại hình thái tuyến trùng ký sinh hoại sinh ở các điểm điều tra thuộc tỉnh Lâm Đồng đã xác định được 11 giống, 10 họ thuộc 4 bộ gồm Tylenchida, Dorylaimida, Rhabditida và Mononchida. Danh sách các loài tuyến trùng ký sinh và hoại sinh được trình bày theo hệ thống phân loại của Hunt (1993) và Siddiqi (2000) ở bảng 1.

Bảng 1. Thành phần tuyến trùng trên ruộng cà rốt ở các vùng điều tra

STT	Tên giống	Đức Trọng	Đà Lạt
Bộ Tylenchida Thorne, 1949			
Họ Aphelenchoididae			
1	Giống <i>Aphelenchoides</i> , Fischer, 1894	+	+
2	Giống <i>Aphelenchus</i> Bastian, 1865	+	+
Họ Anguinidae Nicol, 1935 (1926)			
3	Giống <i>Ditylenchus</i> ; Filipjev, 1936		+
Họ Tylenchidae			
4	Giống <i>Filenchus</i> Andrassy, 1954		+
Họ Hoplolaimidae			
5	Giống <i>Helicotylenchus</i> Steiner, 1945	+	+
Họ Meloidogynidae Filipjev, 1934			
6	Giống <i>Meloidogyne</i> Goeldi, 1892 <i>M. incognita</i> (Kofoid và White, 1919) Chitwood, 1949	+	+
Họ Pratylenchidae Thorne, 1949			
7	Giống <i>Pratylenchus</i> Filipjev, 1936	+	+
Bộ Dorylaimida Pearse, 1942			
Họ Thornenematidae Siddiqi, 1969			
8	Giống <i>Mesodorylaimus</i> Andrassy, 1959	+	+
Bộ Rhabditida Chitwood, 1933			
Họ Cephalobidae Filipjev, 1934			
9	Giống <i>Acrobeloides</i> Cobb, 1924	+	+
Họ Rhabditidae Örley, 1880			
10	Giống <i>Rhabditis</i> Dujardin, 1845	+	+
Bộ Mononchida Jairajpuri, 1969			
Họ Mononchidae Chitwood, 1937			
11	Giống <i>Mononchus</i> Bastian, 1865		+

Ghi chú: (+): Sự hiện diện của tuyến trùng.

Trong 4 bộ tuyến trùng, bộ Tylenchida có số lượng họ nhiều nhất với 6 họ, 7 giống và 1 loài thuộc giống *Meloidogyne* Goeldi, 1892. Bộ Rhabditida ghi nhận được 2 họ, 2 giống. Bộ Mononchida ghi nhận được 1 họ, 1 giống, bộ Dorylaimida ghi nhận được 1 họ, 1 giống. Họ Aphelenchoididae với 2 giống là giống *Aphelenchoides* spp. và *Aphelenchus* spp., trong 4 bộ ghi nhận được trong quá trình điều tra thì bộ Tylenchida là bộ có các giống tuyến trùng ký sinh và gây hại thực vật gồm *Ditylenchus*, *Aphelenchoides*, *Filenchus*, *Helicotylenchus*, *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Aphelenchus*. Các giống còn lại thuộc các bộ Dorylaimida, Rhabditida, Mononchida là các giống hoại sinh.

Nguyễn Thị Duyên (2018) đã ghi nhận 25 loài tuyến trùng ký sinh, thuộc 15 giống, 9 họ, 4 bộ (Tylenchida, Dorylaimida, Triplonchida và Aphelenchida) gây hại trên cây cà rốt ở Hà Nội, Hưng Yên, Hải Dương và Lâm Đồng, riêng tại Lâm Đồng đã ghi nhận được 12 loài, 10 giống. Trong kết quả điều tra của đề tài này, đã ghi nhận thêm 2 giống ký sinh là *Aphelenchus*, *Filenchus* và 4 giống hoại sinh gồm *Mesodorylaimus*, *Acrobeloides*, *Rhabditis*, *Mononchus*.

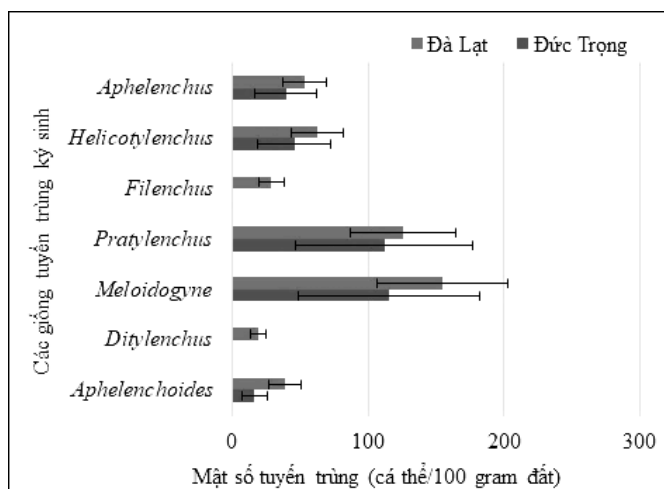
3.2. Mật số và mức độ phổ biến các giống tuyến trùng tại các vùng điều tra

Kết quả điều tra cho thấy sự xuất hiện của các giống tuyến trùng khác nhau ở các điểm điều tra. Ở Đà Lạt, ghi nhận có

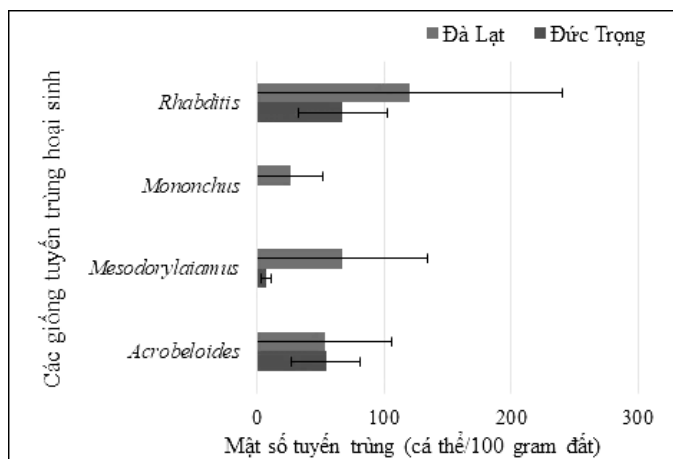
sự xuất hiện của 11 giống tuyến trùng trong khi ở Đức Trọng ghi nhận chỉ xuất hiện 8 giống tuyến trùng. Ở Đức Trọng hai giống tuyến trùng ký sinh *Ditylenchus* spp., *Filenchus* spp. và một giống tuyến trùng hoại sinh *Mononchus* spp. không tìm thấy trong các mẫu điều tra (hình 1 và hình 2).

Mật số tuyến trùng tại các ruộng trồng cà rốt ở TP. Đà Lạt cao hơn so với mật số tuyến trùng tại các vườn cà rốt ở huyện Đức Trọng cả hai loại tuyến trùng ký sinh và tuyến trùng hoại sinh. Điều này có thể lý giải do các nhà vườn trồng cà rốt ở Đà Lạt có thói quen chuyên canh cà rốt, trong khi các nhà vườn cà rốt ở Đức Trọng thường luân canh với các cây trồng khác như cà chua hoặc cải bắp. Sự thay đổi ký chủ cũng là một trong những yếu tố làm giảm mật số của một số loài tuyến trùng ký sinh chuyên tính. Ngoài ra, mật số tuyến trùng hoại sinh ở Đà Lạt cao hơn mật số tuyến trùng hoại sinh ở Đức Trọng, qua phỏng vấn khi điều tra ghi nhận tập quán canh tác của nông dân ở Đà Lạt thường xuyên sử dụng phân hữu cơ hơn so với nông dân ở Đức Trọng, điều đó lý giải vì sao mật số tuyến trùng hoại sinh ở Đà Lạt cao hơn Đức Trọng.

Hai giống tuyến trùng có mật số cao nhất ở các mẫu điều tra là tuyến trùng ký sinh *Meloidogyne* spp. và *Pratylenchus* spp. lần lượt lên đến 203 cá thể/100g đất 165 cá thể/100g đất. Đối với tuyến trùng hoại sinh, mật số của giống tuyến trùng *Rhabditis* spp. cao nhất xuất hiện ở Đà Lạt với 148 cá thể/100 g đất.



Hình 1. Mật số và mức độ phổ biến của các giống tuyến trùng ký sinh ở các vùng điều tra



Hình 2. Mật số và mức độ phổ biến của các giống tuyến trùng hoại sinh ở các vùng điều tra

3.3. Mật số tuyến trùng ký sinh ở vùng điều tra qua các thời điểm canh tác

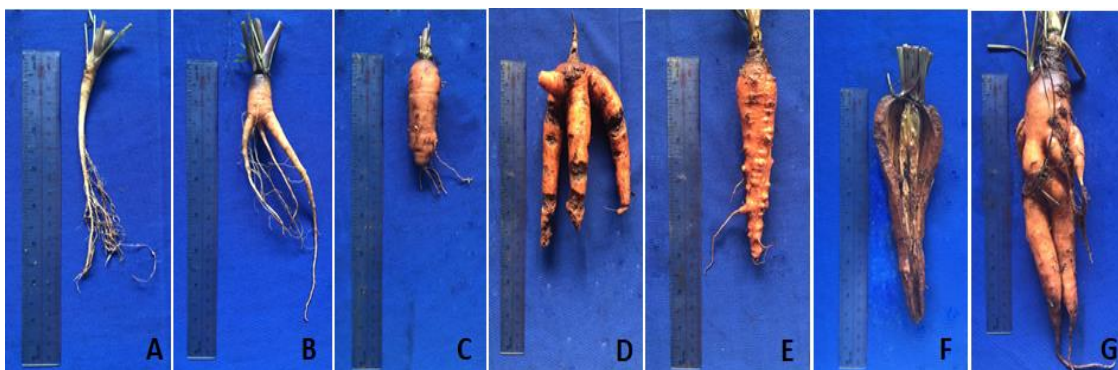
Bảng 2. Mật số tuyến trùng ký sinh gây hại tại các vùng điều tra

Thời điểm thu mẫu cà rốt	Mật số tuyến trùng gây hại cà rốt (cá thể/100g đất)	
	Đức Trọng	Đà Lạt
30 NSG	201 ^c	197 ^{a ns}
60 NSG	474 ^b	277 ^{bc*}
90 NSG	246 ^c	264 ^{ac ns}
Sau thu hoạch	589 ^a	303 ^{c*}

Ghi chú: (*): Khác biệt có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%; ns: Không khác biệt có ý nghĩa thống kê khi thực nghiệm T-Test so sánh mật số tuyến trùng ở hai khu vực điều tra; n = 15.

Ở huyện Đức Trọng, mật số tuyến trùng ở các ruộng canh tác cà rốt khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các giai đoạn sinh trưởng. Mật số tuyến trùng đạt cao nhất thời điểm sau thu hoạch và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với mật số tuyến trùng thấp nhất ở hai ở thời điểm 30 NSG và 90 NSG. Trong quá trình canh tác, ở 60 NSG là thời điểm cà rốt có nhiều tuyến trùng gây hại nhất. Tương tự như ở Đức Trọng, sự biến động mật số tuyến trùng ở Đà Lạt cũng có chiều hướng tương tự. Mật số tuyến trùng cao nhất ở thời điểm sau thu hoạch và thấp nhất ở 30 NSG. Ở vùng Đà Lạt, mật số tuyến trùng từ thời điểm 60 NSG đến sau thu hoạch, mật số tuyến trùng có biến

động nhưng không khác biệt thống kê (bảng 2). Mật số tuyến trùng gây hại ở vườn cà rốt điều tra ở Đà Lạt cao hơn so với Đức Trọng vào thời điểm 30 NSG và thấp hơn ở thời điểm 90 NSG nhưng không có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, ở thời điểm 60 NSG và sau thu hoạch thì mật số tuyến trùng gây hại ở Đức Trọng cao hơn Đà Lạt một cách rõ rệt và khác biệt có ý nghĩa thống kê. Từ 30 NSG đến 60 NSG là giai đoạn sinh trưởng sinh thực, cây trồng tập trung năng lượng để phát triển chiều cao cây, kích thước lá. Theo ghi nhận trong quá trình lấy mẫu, nông dân có tập quán tập trung xử lý tuyến trùng trước khi trồng và xử lý ở thời điểm 60 NSG.



Hình 3. Các triệu chứng cà rốt bị tuyến trùng gây hại

(A: Củ còi cọc, nhiều rễ phụ và có nốt sần; B: Củ bị chia nhánh và ngắn;
C: Củ ngắn; D: Củ bị chia nhánh và thối; E: Củ bị sần sùi, trên củ có các nốt sần;
F: Củ bị thối và chẻ củ; G: Củ chia nhánh và biến dạng)

Trong quá trình điều tra và thu thập mẫu đã ghi nhận được các triệu chứng cà rốt bị tuyến trùng ký sinh gồm 7 triệu chứng bệnh trên củ cà rốt: củ bị chia nhánh (biến dạng); củ bị sần sùi; trên củ hoặc trên rễ phụ có các nốt sần; củ ngắn;

thối củ; nứt củ; trên củ có nhiều rễ phụ và củ còi cọc. Có những mẫu nghiên cứu có nhiều hơn 1 triệu chứng trên cùng 1 củ như củ vừa bị thối lại vừa bị nứt hay củ vừa chia nhánh lại vừa có chùm hạt (hình 3).

4. KẾT LUẬN

Kết quả điều tra đã ghi nhận xuất hiện tuyến trùng thuộc 11 giống, 10 họ, 4 bộ là Tylenchida, Dorylaimida, Rhabditida và Mononchida. Trong 7 giống tuyến trùng ký sinh thực vật, giống *Meloidogyne* spp. và *Pratylenchus* spp. là 2 giống gây hại nặng trên ruộng cà rốt. Các giống tuyến trùng hoại sinh ghi nhận được 2 giống ăn vi khuẩn, 1 giống ăn tạp và 1 giống ăn tuyến trùng. Mật số tuyến trùng ký sinh cao hơn so với mật số tuyến trùng hoại sinh ở vùng điều tra.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hartman K, Sasser JN (1985), Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential hosts test and perineal pattern morphology. In: Barker KR, Carter CC, Sasser JN, editors. An advanced treatise on *Meloidogyne*. Volume II. North Carolina State University Graphics, Raleigh, North Carolina: Methodology. A cooperative publication of the Department of Plant Pathology and the United States Agency for International Development: pp. 69 - 77.
2. Hunt (1993), *Aphelenchida, Longidoridae and Trichodoridae: Their Systematics and Bionomics*, CAB International, UK, 352pp.
3. Luc, R. Sikora, và J. Bridge (2005), *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*, C.A.B International, Institute of Parasitology, 629 pp.
4. Nguyễn Ngọc Châu, Nguyễn Vũ Thanh (1993), *Phương pháp mới tách tuyến trùng từ đất và mô thực vật*, Những thành tựu KHKT áp dụng vào sản xuất, 1 - 45.
5. Nguyễn Thị Duyên (2018), “*Tuyến trùng ký sinh gây hại trên cà rốt ở Việt Nam và thử nghiệm biện pháp sinh học trong phòng trừ chúng*”. Luận án tiến sĩ sinh học, chuyên ngành Tuyến trùng học, Học viện Khoa học và Công nghệ.
6. Perry và M. Moens (2013), *Plant nematology*, CABI, 542pp.
7. Siddiqi (2000), *Tylenchida: parasites of plants and insects*, CABI.

SỰ TƯƠNG TÁC GIỮA TUYẾN TRÙNG *Pratylenchus* sp. VÀ NẤM *Fusarium solani* GÂY BỆNH VÀNG LÁ THỐI RỄ CÂY QUÝT HỒNG (*Citrus reticulata* Blanco cv. Hong)

Lê Minh Ngân¹, Trần Vũ Phấn²

¹Học viên cao học Khóa 26, Trường Đại học Cần Thơ

²Bộ môn Bảo vệ thực vật, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

TÓM TẮT

Khảo sát sự tương tác giữa tuyến trùng *Pratylenchus* sp. và nấm *Fusarium solani* gây bệnh vàng lá thối rễ trên quýt Hồng được thực hiện trong điều kiện nhà lưới tại Bộ môn Bảo vệ thực vật, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên gồm hai nhân tố: (P) gồm các mật số tuyến trùng *Pratylenchus* sp. (0, 1, 2, 5 con/g đất), nhân tố thứ hai (F) gồm các mật số nấm *F. solani* (0, 10^3 , 10^6 bào tử/g đất). Lây nhiễm nấm và tuyến trùng được thực hiện vào ngày thứ 30 sau khi trồng, bằng cách tưới đều huyền phù quanh vùng rễ. Kết quả thí nghiệm đánh giá vào các thời điểm 20, 30 và 40 NSKCB ghi nhận sự gia tăng chiều cao chồi trung bình trong 10 ngày ở nghiệm thức chủng 10^3 bào tử nấm/g đất kết hợp với tuyến trùng ở mật số 2 con/g đất (F3P2) thấp hơn đáng kể so với các nghiệm thức chỉ chủng 10^3 bào tử nấm/g đất (F3) hay 2 con/g đất (P2) và tổng chiều cao gia tăng sau 60 ngày lần lượt 50,58% (F3P2), 0,58% (F3), 4,98% (P2), thấp hơn so với đối chứng không chủng bệnh (8,64 cm). Kết quả này cho thấy có sự tương tác giữa tuyến trùng *Pratylenchus* sp. và nấm *F. solani*, khi có tuyến trùng ký sinh hiện diện thì triệu chứng và mức độ bệnh vàng lá thối rễ trên cây quýt Hồng trầm trọng hơn.

Từ khóa: bệnh trong đất, cây cam quýt, *Fusarium solani*, *Pratylenchus* sp., quýt Hồng.

ABSTRACT

Interaction between *Pratylenchus* sp. and *Fusarium solani*, causes of yellow leaf and root rot disease of citrus (*Citrus reticulata* Blanco cv. Hong)

Interaction between the plant parasitic nematode *Pratylenchus* sp. and the fungus *Fusarium solani*, causing yellow leaf and root rot disease on Hong mandarin was investigated under net house conditions, from July to September 2020 at the Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Can Tho University. The

Người phân biên: PGS.TS. Nguyễn Thị Thu Nga.

experiment was arranged in a completely randomized design with two factors: (P) densities of *Pratylenchus* sp. (0, 1, 2, 5 individuals/g soil); (F) densities of *F. solani* (0, 10^3 , 10^6 spores/g soil). Fungal and nematode inoculation were performed at thirty days after planting, by applying inoculum suspensions to the potting medium, around the root zone. Experimental results evaluated at the time of 20, 30 and 40 days after inoculation by recording an average increase in plant height in 10 days in the treatment of 10^3 fungal spores/g soil combined with nematode density of 2 individuals/g of soil (F3P2) was significantly lower than treatments only applied with 10^3 fungal spores/g of soil (F3) or 2 nematodes/g of soil (P2) and the total height increase after 60 days were 50.58% (F3P2), 0.58% (F3), 4.98% (P2), respectively, lower compared with the uninoculated control (8.64 cm). This result shows that there is an interaction between *Pratylenchus* sp. and *F. solani*, when the nematodes present in rhizosphere leading disease severity of yellow leaf and root rot on Hong mandarin were more severe.

Keywords: citrus, Hong mandarin, *Fusarium solani*, *Pratylenchus* sp., soilborne disease.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tuyến trùng thuộc giống *Pratylenchus* được biết là một trong những hạn chế chính trong canh tác các loại cây trồng có tầm quan trọng kinh tế, bao gồm cây có múi (Castillo và Vovlas, 2007). *Pratylenchus* spp. được ghi nhận hiện diện phổ biến trên các vườn cây cam quýt trên thế giới (Bridge và Starr, 2007; CABI, 2019). Theo Castillo và Vovlas (2007) ngưỡng gây hại do *Pratylenchus* khá khác nhau giữa các tổ hợp cây ký chủ và *Pratylenchus*, dao động từ 5 - 3.000 tuyến trùng/100 cm³ đất. O'Bannon và Tomerlin (1973) ghi nhận mức giảm sinh trưởng của cây cam, quýt bị nhiễm *P. coffeae* sau 4 năm lần lượt là 49 - 80% so với cây đối chứng, tùy theo góc ghép. Cây bị nhiễm nặng có biểu hiện chết héo, sinh trưởng kém. Mặt khác, ngưỡng gây hại cũng phụ thuộc theo tình trạng dinh dưỡng đất và nhiều yếu tố của sinh học khác ở vùng rễ của cây ký chủ. Kết quả

nghiên cứu Phạm Văn Kim và ctv. (1997) đã chứng minh rằng nấm *Fusarium solani* là một trong những tác nhân gây ra bệnh vàng lá thối rễ trên cây cam Mật và quýt Hồng và thiệt hại do bệnh sẽ nặng hơn trong điều kiện cây bị các vết thương cơ học và đặc biệt do tuyến trùng ký sinh tấn công, tạo cửa ngõ cho nấm tấn công gây hại (Castillo và Vovlas, 2007).

Đồng Tháp là tỉnh có diện tích canh tác cây có múi lớn tại đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL). Từ năm 2018, tình trạng cây có múi bị chết do bệnh vàng lá thối rễ được ghi nhận và diện tích bị thiệt hại ngày càng gia tăng, trong đó huyện Lai Vung có trên 337 ha quýt Hồng bị bệnh, trong đó có nhiều diện tích thiệt hại trên 80% (Nguyệt Ánh, 2018). Kết quả điều tra của Nguyễn Ngọc Anh Thư và Nguyễn Văn Hòa (2007), ghi nhận 100% mẫu khảo sát tại các vườn bị nhiễm bệnh đều có sự hiện diện của tuyến trùng ký sinh, trong đó chủ yếu là *Pratylenchus* sp.

và *Tylenchulus* sp. Mối quan hệ giữa tuyến trùng nội ký sinh di động như *Pratylenchus* và sự phát triển của cây có múi là phức tạp và có thể bị thay đổi bởi các yếu tố môi trường khác nhau trên đồng ruộng, có thể ảnh hưởng đến vật cây chủ, vật ký sinh và liên quan đến thời gian. Từ đó, để có thể khẳng định tiềm năng gây hại quan trọng của tuyến trùng ký sinh trên cây có múi ở ĐBSCL, đề tài này nhằm khảo sát sự tương tác giữa tuyến trùng *Pratylenchus* sp. và nấm *Fusarium* sp. gây bệnh vàng lá thối rễ cây quýt Hồng, làm cơ sở cho việc xây dựng biện pháp quản lý hiệu quả và bền vững tình trạng bệnh vàng lá thối rễ trên loại cây trồng này.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thí nghiệm được thực hiện từ tháng 7 đến tháng 9 năm 2020 tại nhà lưới Bộ môn Bảo vệ thực vật, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ.

2.1. Chuẩn bị nguồn nấm *Fusarium solani* và tuyến trùng *Pratylenchus* sp.

Nấm được phân lập dựa trên phương pháp của Henao *et al.* (2019), từ rễ cây quýt Hồng bị nhiễm bệnh thu thập tại huyện Lai Vung (Đồng Tháp), trên môi trường Potato Dextrose Agar (PDA) + 150 ppm Cloramphenicol. Nấm *Fusarium solani* được xác định dựa trên hình thái nấm theo phương pháp của Riddell (1950).

Huyền phù bào tử nấm *Fusarium solani* được chuẩn bị cho lây nhiễm thu vào 7 ngày sau khi nuôi nhân trên môi trường PDA trong đĩa petri.

Nguồn tuyến trùng *Pratylenchus* sp. được ly trích từ mẫu rễ và đất nhiễm trên vườn cây quýt Hồng ở huyện Lai Vung, tỉnh Đồng Tháp dựa trên phương pháp của Barker (1985). Nhằm đảm bảo độ thuần của giống *Pratylenchus*, tuyến trùng được sử dụng chủ yếu qua ly trích số lượng lớn rễ. Bên cạnh đó, các vườn được chọn để thu mẫu đã được khảo sát về thành phần và mật số tuyến trùng trước đó, cho thấy với mật số giống *Pratylenchus* hiện diện chủ yếu và xâm nhiễm cao trong rễ.

2.2. Khảo sát tương tác giữa tuyến trùng ký sinh, nấm *Fusarium* sp. gây bệnh vàng lá thối rễ cây quýt Hồng

Thí nghiệm được thực hiện trong chậu dưới điều kiện nhà lưới, bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 4 lặp lại, gồm 2 nhân tố, nhân tố P (4 mật số tuyến trùng *Pratylenchus*: 0, 1, 2, 5 con/g đất), nhân tố F (3 mật số bào tử nấm *Fusarium*: 0, 10^3 , 10^6 bào tử/g đất), tổng cộng 96 chậu (12 nghiệm thức \times 4 lặp lại \times 2 lần phân tích). Mỗi chậu được trồng 1 cây quýt Hồng ghép gốc cam Mật khoảng 1 năm tuổi. Bào tử nấm *F. solani* và tuyến trùng *Pratylenchus* sp. được chủng bằng cách tưới đều quanh vùng rễ của cây.

Theo dõi, ghi nhận biểu hiện bệnh của cây, chiều cao chồi, tỷ lệ lá vàng héo/cây (Safdar *et al.*, 2013 và Aatif *et al.*, 2018), tại các thời điểm 10, 20, 30, 40, 50, 60 ngày sau khi chủng bệnh (NSKCB). Chỉ tiêu về mật số tuyến trùng ký sinh trên 250g đất và trên 2g rễ (khối lượng tươi rễ) được ghi nhận vào 30 và

60 NSKCB, dựa trên phương pháp của Barker (1985). Chỉ tiêu mật số nấm *Fusarium solani* được ghi nhận vào 60 NSKCB bằng cách lấy 5 g đất/mẫu cho đất vào bình tam giác có chứa nước cất thanh trùng (50 ml/bình) và đặt trên máy lắc ngang (150 vòng/phút) khoảng 1 giờ. Lắc đều dung dịch, sau đó rút lấy 10 µl dung dịch đất để chà xác định mật số trên đĩa chứa môi trường Malachite Green Agar (MGA) có chứa 100ppm Chloramphenicol và 50 ppm Streptomycin. Các đĩa petri sau đó được để trong tối ở nhiệt độ phòng và ghi nhận số khuẩn lạc *F. solani* phát triển trên môi trường MGA ở thời điểm 3 - 4 ngày sau khi chà. Các dạng khuẩn lạc *F. solani* được đếm là khuẩn lạc có hình thái sợi nấm, cạnh bào đài giống với *F. solani* đã được định danh từ trước theo phương pháp của Riddell (1950).

Công thức tính mật số (CFU/g đất):
Mật số nấm *F. solani* = Số khuẩn lạc $\times 10^3$

Số liệu sau khi ghi nhận được xử lý bằng phần mềm Microsoft Office Excel, phân tích Anova và kiểm định khác biệt bằng phương pháp Duncan với phần mềm SPSS.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sự gia tăng chiều cao chồi

Kết quả bảng 1 ghi nhận sự gia tăng chiều cao không khác biệt ở tất cả các nghiệm thức tại thời điểm 10 NSKCB, ở mức ý nghĩa 5%. Điều này có thể do việc bón phân đầu thí nghiệm khiến cho sự tăng trưởng của cây gia tăng và làm giảm

ảnh hưởng của mầm bệnh. Trong khoảng 10 NSKCB, có thể sự xâm nhiễm do nấm *F. solani* chưa đủ gây hại rễ, còn tuyến trùng *Pratylenchus* sp. cũng cần khoảng 2 - 4 tuần (Agrios, 2005), 3 - 4 tuần (CABI, 2019) để hoàn thành một vòng đời, dẫn đến tỷ lệ nhiễm và mức độ gây hại chưa cao để cho thấy sự khác biệt ở các nghiệm thức.

Ở thời điểm 20, 30, 40 NSKCB (bảng 1 và 2) có sự tương tác giữa mật số nấm và mật số tuyến trùng, ở mức ý nghĩa 5%. Theo đó, các nghiệm thức lây nhiễm với *Pratylenchus* sp. với mật số lần lượt 2 và 5 con/g đất kết hợp nấm *F. solani* ở mật số 10^3 bào tử/g đất có chiều cao chồi gia tăng trong 10 ngày tương ứng 0,25 và 0,36 cm, 0,45 và 0,44 cm, 1,05 và 0,40 cm là thấp hơn đáng kể so với nghiệm thức chỉ chủng nấm *F. solani* ở mật số 10^3 bào tử/g đất 0,99 cm, 1,11 cm và 2,65cm hoặc chỉ chủng tuyến trùng ở mật số 2 và 5 con/g đất 0,86 cm và 0,68 cm, 0,78 cm và 0,84 cm, 2,05 cm và 1,93 cm tương ứng các thời điểm 20, 30 và 40 NSKCB, ở mức ý nghĩa 5%. Kết quả nhiều nghiên cứu cũng nhận định cây bị nhiễm đồng thời *Fusarium* sp. và tuyến trùng sẽ làm cho bệnh trở nên nghiêm trọng hơn và có thể gây hại ngay khi chưa đạt ngưỡng gây hại, các rễ tơ bị hư hỏng và hạn chế sự hấp thu nước, dinh dưỡng, giảm hàm lượng chlorophyll trong lá (Agrios, 2005; El-Mohamedy *et al.*, 2016; Ibrahim *et al.*, 2019). Như vậy, trong nghiên cứu này có thể sự có mặt đồng thời của nấm *F. solani* và tuyến trùng *Pratylenchus* sp. làm cây bị nhiễm bệnh

nặng hơn, dẫn đến sự gia tăng chiều cao bị chậm hơn so với nghiệm thức không chủng bệnh. Tuy nhiên, không có sự khác biệt so với chiều cao gia tăng khi chỉ chủng nấm *F. solani* ở mật số 10^6 bào tử/g đất. Điều này có thể do nấm *F. solani* được chủng ở mật số ban đầu là 10^6 bào tử/g đất là khá cao có thể đã ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của cây. Theo Nguyễn Ngọc Thanh và ctv. (2018), mật số nấm *Fusarium* spp. cao trong đất tiết ra hợp chất Naphthazarins và tấn công vào mạch gỗ của rễ, gây ra sự thối rễ và mật số nấm tại các vườn có cấp độ bệnh từ trung bình đến nặng (51%) có mật số *Fusarium* spp. cao hơn đáng kể so với cấp độ bệnh thấp (0 - 5%).

Kết quả bảng 2 tại thời điểm 50 và 60 NSKCB cho thấy chiều cao gia tăng chịu ảnh hưởng riêng lẻ bởi mật số lây nhiễm ban đầu. Khi lây nhiễm tuyến trùng ở mật số 2 và 5 con/g đất, chiều cao chồi gia

tăng tương ứng 0,86 và 1,00 cm có xu hướng thấp hơn so với ở mật số 0 và 1 con/g đất (1,23 và 1,28 cm). Đối với các nghiệm thức lây nhiễm nấm *F. solani* ở mật số 10^3 và 10^6 bào tử/g đất cho kết quả chiều cao gia tăng tương ứng 0,73 và 0,96 cm thấp hơn đáng kể so với nghiệm thức không chủng nấm (1,59 cm). Safdar *et al.* (2013), cũng ghi nhận sự giảm chiều cao của *Citrus jambhiri* gây ra bởi tác động riêng lẻ của nấm *F. semitectum* (giảm 7,93% so với cây khỏe), tuyến trùng *Tylenchulus semipenetrans* (giảm 22,22% so với cây khỏe) ở điều kiện nhà lưới. Các giá trị chiều cao chồi gia tăng ở các thời điểm lấy chỉ tiêu hầu hết đều cho thấy có xu hướng thấp hơn khi chủng tuyến trùng với mật số cao. Theo kết quả nghiên cứu của Irshad *et al.* (2012) cũng cho thấy sự giảm chiều cao cây có mối tương quan thuận đối với mật số tuyến trùng được chủng vào ở mật số từ 1.000 - 8.000 con/chậu.

Bảng 1. Chiều cao chồi (cm) tại các thời điểm 10, 20, 30 NSKCB

Mật số nấm (log) (bào tử/g đất) (F)	10 NSKCB					20 NSKCB				30 NSKCB					
	Mật số <i>Pratylenchus</i> sp. (con/g đất) (P)				TB (F)	Mật số <i>Pratylenchus</i> sp. (con/g đất) (P)				TB (F)	Mật số <i>Pratylenchus</i> sp. (con/g đất) (P)				TB (F)
	0	1	2	5		0	1	2	5		0	1	2	5	
0	1,19	1,41	1,19	1,11	1,23	0,93 ^{bc}	1,26 ^a	0,86 ^{bc}	0,68 ^{ode}	0,93 ^A	1,04 ^{ab}	1,25 ^a	0,78 ^{b-e}	0,84 ^{bcd}	0,98 ^A
3	1,23	1,10	1,01	0,98	1,08	0,99 ^b	0,73 ^{bcd}	0,25 ^f	0,36 ^f	0,58 ^B	1,11 ^{ab}	0,95 ^{abc}	0,45 ^{ef}	0,44 ^{ef}	0,74 ^B
6	0,91	1,21	1,35	0,86	1,08	0,48 ^{def}	0,44 ^{ef}	0,40 ^f	0,29 ^f	0,4 ^{cC}	0,65 ^{c-f}	0,43 ^f	0,54 ^{def}	0,61 ^{c-f}	0,56 ^C
TB (P)	1,11	1,24	1,18	0,98		0,80 ^A	0,81 ^A	0,50 ^B	0,44 ^B		0,93 ^A	0,88 ^A	0,59 ^B	0,63 ^B	
<i>F</i> (F)	ns					*					*				
<i>F</i> (P)	ns					*					*				
<i>F</i> (F × P)	ns					*					*				
CV (%)	30,30					39,34					40,34				

Ghi chú: Các số trung bình mang cùng mẫu tự theo sau thì không khác biệt nhau ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử Duncan, *: Khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5%, ns: Không khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Bảng 2. Chiều cao chồi (cm) tại các thời điểm 40, 50, 60 NSKCB

Mật số nấm (log) (bào tử/g đất) (F)	40 NSKCB					50 NSKCB					60 NSKCB				
	Mật số <i>Pratylenchus</i> sp. (con/g đất) (P)				TB (F)	Mật số <i>Pratylenchus</i> sp. (con/g đất) (P)				TB (F)	Mật số <i>Pratylenchus</i> sp. (con/g đất) (P)				TB (F)
	0	1	2	5		0	1	2	5		0	1	2	5	
0	2,00 ^{ab}	1,93 ^{ab}	2,05 ^{ab}	1,93 ^{ab}	1,98 ^A	1,60	1,68	1,23	1,85	1,59 ^A	1,88	1,73	2,10	1,33	1,76 ^A
3	2,65 ^a	2,03 ^{ab}	1,05 ^{cd}	0,40 ^d	1,53 ^B	0,78	1,03	0,58	0,53	0,73 ^B	1,83	1,33	0,93	0,93	1,25 ^B
6	1,33 ^{bc}	1,95 ^{ab}	0,73 ^{cd}	0,70 ^{cd}	1,18 ^B	1,30	1,13	0,98	0,63	0,96 ^B	0,93	1,18	0,80	0,60	0,88 ^B
TB (P)	1,99 ^A	1,97 ^A	1,28 ^B	1,01 ^B		1,23 ^A	1,28 ^A	0,86 ^B	1,00 ^{AB}		1,54	1,41	1,28	0,95	
F (F)			*					*					*		
F (P)			*					*					ns		
F (F × P)			*					ns					ns		
CV (%)			36,72					35,41					42,89		

Ghi chú: Các số trung bình mang cùng mẫu tự theo sau thì không khác biệt nhau ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử Duncan, *: Khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5%, ns: Không khác biệt có ý nghĩa thống kê.

3.2. Tỷ lệ rễ nhiễm bệnh

Kết quả bảng 3 cho thấy tỷ lệ rễ nhiễm bệnh tại thời điểm 30 NSKCB có sự tương tác có ý nghĩa giữa tuyến trùng *Pratylenchus* sp. và nấm *Fusarium solani*. Ở nghiệm thức lây nhiễm nấm *F. solani* với mật số 10^3 bào tử/g đất kết hợp tuyến trùng ở mật số 2 con/g đất, ghi nhận tỷ lệ nhiễm (18,8%) thấp hơn đáng kể so với chỉ chủng *F. solani* (35,1%) và không khác biệt ý nghĩa so với chỉ chủng tuyến trùng (18,1%) ở cùng mật số. Tuy nhiên, nghiệm thức kết hợp mật số tuyến trùng 5 con/g đất, ghi nhận tỷ lệ rễ nhiễm (41%) không khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức chỉ chủng *F. solani* nhưng cao hơn đáng kể so với chỉ chủng tuyến trùng ở cùng mật số.

Nghiệm thức kết hợp tuyến trùng ở mật số 2 con/g đất và *F. solani* 10^3 bào tử/g đất dù có tỷ lệ nhiễm thấp hơn đáng kể so với nghiệm thức chỉ chủng nấm ở cùng mật số, nhưng mức độ rễ bị nhiễm ở

nghiệm thức này cao hơn so với nghiệm thức chỉ chủng nấm. Có thể, sự hiện diện của tuyến trùng với mật số cao hay sự xâm nhiễm của tuyến trùng gây ra các vết thương trên rễ cũng khiến cho sự hấp thu nước, dinh dưỡng bị hạn chế. Theo Nemeč *et al.* (1989), nấm *F. solani* là loài có khả năng gây độc cao hơn so với các loài *Fusarium* khác trên cây có múi, mức độ gây hại trở nên nghiêm trọng hơn khi có tuyến trùng (Ibrahim *et al.*, 2019). Kết quả ly trích tuyến trùng từ rễ ở nghiệm thức chủng 2 con tuyến trùng/g đất được ghi nhận vào khoảng 225,4 con/250 g đất và 279,6 con/2 g rễ, trong khi đó ở nghiệm thức không chủng tuyến trùng chỉ ghi nhận khoảng 31,7 con/250 g đất và 25,7 con/2 g rễ (bảng 3). Do đó, dù có tỷ lệ rễ nhiễm bệnh thấp hơn so với chỉ chủng *F. solani* ở mật số 10^3 bào tử/g đất nhưng nghiệm thức chủng kết hợp tuyến trùng 2 con/g đất và nấm 10^3 bào tử/g đất, sự gia tăng chiều cao trong 10

ngày thấp hơn đáng kể so với nghiệm thức chỉ chủng *F. solani* ở cùng mật số.

Kết quả bảng 4 cho thấy tỷ lệ rễ nhiễm bệnh tại thời điểm 60 NSKCB chịu ảnh hưởng chính bởi tuyến trùng. Hầu hết các nghiệm thức có chủng tuyến trùng có tỷ lệ rễ nhiễm > 30% và cao hơn đáng kể so với nghiệm thức không chủng tuyến trùng *Pratylenchus* sp.. Cụ thể, ở các nghiệm thức chủng 1, 2 và 5 con/g đất có tỷ lệ rễ nhiễm bệnh lần lượt 33,2%, 37,5% và 30,2% so với nghiệm thức không chủng có tỷ lệ rễ nhiễm là 10,4%.

Theo Divsalar *et al.* (2012), nhóm tuyến trùng tạo vết thương *Pratylenchus* spp. được phát hiện phổ biến trên hầu hết các mẫu đất, rễ cây có mùi và được xác định liên quan đến sự chậm sinh trưởng, hiện tượng vàng lá trên cây có mùi và sự phá hủy mô rễ. Theo Castillo và Vovlas (2007), tuyến trùng nội ký sinh di động phá hủy các mô của hệ thống rễ, gây ra các vết thương trên bề mặt và hoại tử mô rễ, đồng thời các mô bị ký sinh này sẽ dễ bị nhiễm các tác nhân thứ cấp như nấm, vi khuẩn.

3.3. Mật số tuyến trùng *Pratylenchus* sp.

Bảng 3. Tỷ lệ rễ nhiễm bệnh (%), mật số tuyến trùng trong 250 g đất, 2 g rễ tại thời điểm 30 NSKCB

Mật số nấm (log) (bào tử/g đất) (F)	Tỷ lệ rễ nhiễm bệnh (%)					Mật số tuyến trùng/250 g đất					Mật số tuyến trùng/2 g rễ							
	Mật số <i>Pratylenchus</i> sp. (con/g đất) (P)					TB (F)	Mật số <i>Pratylenchus</i> sp. (con/g đất) (P)					TB (F)	Mật số <i>Pratylenchus</i> sp. (con/g đất) (P)					TB (F)
	0	1	2	5	0		1	2	5	0	1		2	5				
0	18,1 ^{ab}	28,8 ^{bcd}	19,6 ^{abc}	21,1 ^{abc}	22,0 ^B	32,5	225,0	297,5	600,0	288,8	26,3	104,7	245,6	326,5	175,7			
3	35,1 ^{cd}	13,0 ^a	18,8 ^{ab}	41,0 ^d	27,0 ^B	32,5	117,5	165,0	710,0	256,3	23,4	147,1	298,1	365,6	208,6			
6	32,4 ^{bcd}	38,0 ^d	27,7 ^{bcd}	34,6 ^{cd}	33,0 ^A	30,0	195,0	213,8	672,5	277,8	27,5	96,6	295,0	331,9	187,7			
TB (P)	28,6	26,6	22,0	32,2		31,7 ^A	179,2 ^B	225,4 ^C	660,8 ^D		25,7 ^A	116,1 ^B	279,6 ^C	341,3 ^C				
F (F)			*						ns						ns			
F (P)				ns					*						*			
F (F x P)				*					ns						ns			
CV (%)				20,3					5,9						9,0			

Ghi chú: Các số trung bình mang cùng mẫu tự theo sau thì không khác biệt nhau ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử Duncan. *: Khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5%, ns: Không khác biệt có ý nghĩa thống kê. Số liệu % được xử lý arcsin \sqrt{x} , số liệu đếm được xử lý log (x+1).

Mật số tuyến trùng *Pratylenchus* sp. trong đất tại thời điểm 30 NSKCB (bảng 3), khác biệt nhau theo các mức độ chủng ban đầu, ở mức ý nghĩa 5%. Cụ thể, mật số tuyến trùng *Pratylenchus* sp. ở nghiệm thức chủng 5 con/g đất cao nhất

(660,8 con/250 g đất), tiếp theo là nghiệm thức 2 con/g đất (225,4 con/250 g đất), nghiệm thức 1 con/g đất (179,2 con/250 g đất) và nghiệm thức 0 con/g đất (31,7 con/250 g đất). Tuy nhiên, khi ly trích tuyến trùng trong rễ tại thời

điểm 30 NSKCB, kết quả mật số tuyến trùng ở nghiệm thức chủng 2 và 5 con/g đất ghi nhận lần lượt 279,6 và 341,3 con/2g rễ không khác biệt ý nghĩa thống kê nhau nhưng khác biệt đáng kể so với nghiệm thức 0 và 1 con/g đất. Có thể ở thời điểm 30 NSKCB mật số tuyến trùng *Pratylenchus* sp. trong đất phụ thuộc vào mật số chủng ban đầu. Do đó, nghiệm thức chủng với mật số ban đầu càng cao mật số tuyến trùng hiện diện trong đất

càng cao. Đối với mật số tuyến trùng trong rễ có thể bị giới hạn bởi khả năng đáp ứng dinh dưỡng của rễ đối với tuyến trùng nên dù chủng với mật số ban đầu cao hơn là 5 con/g đất nhưng kết quả lại không khác biệt ý nghĩa thống kê so với chỉ chủng 2 con/g đất, nhưng cả 2 mật độ tuyến trùng này tại thời điểm 30 NSKCB vẫn cao hơn đáng kể so với khi chủng ở mật độ 1 con/g đất, ở mức ý nghĩa 5%.

Bảng 4. Tỷ lệ rễ nhiễm bệnh (%), mật số tuyến trùng trong 250g đất, 2g rễ tại thời điểm 60 NSKCB

Mật số nấm (log) (bào tử/g đất) (F)	Tỷ lệ rễ nhiễm bệnh (%)					Mật số tuyến trùng/250 g đất					Mật số tuyến trùng/2 g rễ				
	Mật số <i>Pratylenchus</i> sp. (con/g đất) (P)				TB (F)	Mật số <i>Pratylenchus</i> sp. (con/g đất) (P)				TB (F)	Mật số <i>Pratylenchus</i> sp. (con/g đất) (P)				TB (F)
	0	1	2	5		0	1	2	5		0	1	2	5	
0	12,5	22,7	48,1	22,8	26,5	0,0	82,5	180,0	237,5	125,0	0,0	63,8	277,5	165,0	126,6 ^A
3	14,2	39,8	46,4	36,0	34,1	0,0	200,0	267,5	192,5	165,0	0,0	262,5	305,6	191,3	189,8 ^B
6	4,5	37,0	17,9	31,8	22,8	0,0	295,0	205,0	197,5	174,4	0,0	354,4	328,1	298,1	245,2 ^B
TB (P)	10,4 ^A	33,2 ^B	37,5 ^B	30,2 ^B		0,0 ^A	192,5 ^B	217,5 ^B	209,2 ^B		0,0 ^A	226,9 ^B	303,8 ^B	218,1 ^B	
F (F)	ns					ns					*				
F (P)	*					*					*				
F (F x P)	ns					ns					ns				
CV (%)	37,8					12,0					25,8				

Ghi chú: Các số trung bình mang cùng mẫu tự theo sau thì không khác biệt nhau ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử Duncan. *: Khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5%, ns: Không khác biệt có ý nghĩa thống kê. Số liệu % được xử lí arcsin \sqrt{x} , số liệu đếm được xử lí log (x+1).

Một kết quả tương tự trong nghiên cứu của Fourie *et al.* (2010), mật số của tuyến trùng *Meloidogyne incognita* gây boursin trên đậu nành tại thời điểm 110 NSKCB được ghi nhận tăng dần theo mật số chủng ban đầu, tuy nhiên sự gia tăng này có xu hướng giảm khi mật số chủng vào quá cao. Các giá trị mật số tuyến trùng *Pratylenchus* sp. ghi nhận có xu

hướng thấp hơn với mật số chủng vào. Điều này có thể do tỷ lệ đực cái, các con đực được chủng vào sẽ không tham gia trực tiếp vào quá trình nhân lên của tuyến trùng, phương pháp chủng có thể ảnh hưởng đến khả năng tiếp cận vùng rễ cây. Theo kết quả nghiên cứu của Forge *et al.* (2000), khi lây nhiễm tuyến trùng *Pratylenchus penetrans* lên yếm mạch

được trồng trong chậu đất đã thanh trùng, tỷ số của mật số sau cùng/mật số ban đầu sau 16 tuần chủng bệnh là 0,09, nhưng tỷ số này được ghi nhận là 0,95 và 2,3 khi sử dụng đất nhiễm tuyến trùng tự nhiên, tức đất đã có sẵn tuyến trùng. Trong một kết quả nghiên cứu của Irshad *et al.* (2012), cho thấy sự nhân lên của tuyến trùng có mối tương quan nghịch mạnh với mật số chủng ban đầu từ 1000 - 8000 con/chậu. Như vậy, có thể chính sự nhân lên mạnh mẽ hơn ở nghiệm thức có mật số chủng ban đầu thấp và sự nhân lên kém hơn ở nghiệm thức có mật số chủng ban đầu cao đã góp phần khiến cho mật số tuyến trùng trong đất và rễ không có sự khác biệt ý nghĩa ở thời điểm 60 NSKCB. Theo kết quả nghiên cứu của Chandra *et al.* (2010), Fourie *et al.* (2010), sự gia tăng mật số tuyến trùng cũng được ghi nhận giảm ở nghiệm thức chủng mật số ban đầu cao so với nghiệm thức chủng mật số thấp và có thể được giải thích do hệ thống rễ cây bị phá hủy, sự cạnh tranh dinh dưỡng và vị trí xâm nhiễm trên rễ giữa các cá thể.

3.4. Mật số nấm *Fusarium solani*

Kết quả bảng 5 về kiểm tra mật số nấm *F. solani* tại thời điểm 60 NSKCB cho thấy mật số nấm ở các nghiệm thức có chủng tuyến trùng đều ghi nhận cao hơn và có khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức không chủng tuyến trùng, ở mức ý nghĩa 5%. Cụ thể, ở các nghiệm thức chủng tuyến trùng *Pratylenchus sp.* với mật số 1, 2 và 5 con/g đất ghi nhận kết quả mật số nấm *F. solani* tương ứng $2,7 \times 10^3$, $4,8 \times 10^3$ và $9,5 \times 10^3$ cfu/g đất so với nghiệm thức không chủng tuyến trùng là $0,9 \times 10^3$ cfu/g đất. Điều này cho thấy mật số chủng ban đầu của tuyến trùng càng cao thì càng làm tăng mật số nấm *F. solani* và cũng là nguyên nhân khiến bệnh vàng lá thối rễ trở nên nghiêm trọng hơn. Theo Khan và Sharma (2020), tuyến trùng đóng vai trò là tác nhân sinh học thúc đẩy sự xâm nhiễm của *Fusarium spp.* lên cây trồng. Sự xâm nhiễm của tuyến trùng dẫn đường cho các mầm bệnh từ đất xâm nhiễm, đặc biệt là bệnh héo *Fusarium* trên nhiều loài cây trồng (Zhang *et al.*, 2020).

Bảng 5. Mật số ($\times 10^3$) nấm *Fusarium solani* (cfu/g đất) tại thời điểm 60 NSKCB

Mật số nấm (log) (bào tử/g đất) (F)	Mật số tuyến trùng (con/g đất) (P)				
	0	1	2	5	TB (F)
0	0,75	1,00	1,88	1,75	1,34
3	1,00	3,88	5,25	14,13	6,07
6	1,00	3,13	7,25	12,50	5,97
TB (P)	0,92 ^A	2,67 ^B	4,79 ^B	9,46 ^B	
Mức ý nghĩa F_F ns; F_P *; $F_{(F \times P)}$ ns					
CV (%)	29,80				

Ghi chú: Các số trung bình mang cùng mẫu tự theo sau thì không khác biệt nhau ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử Duncan. *: Khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5%, ns: Không khác biệt có ý nghĩa thống kê, số liệu đếm được xử lí log (x+1).

Kết quả này phù hợp với kết quả tỷ lệ rễ nhiễm được ghi nhận tại cùng thời điểm, khi cả mật số nấm *F. solani* và tuyến trùng *Pratylenchus* sp. đều hiện diện ở các nghiệm thức chủng 1, 2 và 5 con/g đất cao hơn và có khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức không chủng tuyến trùng, dẫn đến tỷ lệ rễ nhiễm bệnh ở các nghiệm thức trên đều cao hơn đáng kể so với nghiệm thức không chủng tuyến trùng. Trong nghiên cứu này sự biểu hiện triệu chứng đặc trưng của bệnh chưa thể hiện rõ trên lá, điều này cũng có thể do mật số nấm hiện diện ở thời điểm 60 NSKCB là chưa đủ độc lực để có thể khiến cây biểu hiện nên triệu chứng vàng lá đặc trưng. Kết quả nghiên cứu của Nemec *et al.* (1989), mật số nấm *Fusarium* spp. trên tầng đất mặt tại vùng rễ vườn cây có múi bị bệnh vàng lá thối rễ nặng là khoảng $11,6 \times 10^4$ cfu/g đất khô. Đồng thời, kết quả khảo sát của Nguyễn Ngọc Thanh và ctv. (2018) cũng cho thấy mật số nấm *Fusarium* spp. đạt từ $1,39 - 2,98 \times 10^4$ cfu/g đất khô trên các vườn cam bị nhiễm bệnh vàng lá thối rễ và mật số nấm trung bình đạt từ $3,17 - 4,02 \times 10^4$ cfu/g đất khô trên nhóm tuổi liếp nhỏ hơn 10 và từ 10 - 20 năm tuổi.

4. KẾT LUẬN

Có sự tương tác giữa nấm *F. solani* và tuyến trùng ký sinh *Pratylenchus* sp. biểu hiện ở sự gia tăng chiều cao chậm, tỷ lệ rễ nhiễm bệnh cao khi lây nhiễm kết hợp cả nấm và tuyến trùng so với lây nhiễm đơn lẻ. Mật số tuyến trùng *Pratylenchus* sp. lây nhiễm ban đầu càng cao thì mật số nấm *F. solani* càng tăng dẫn đến sự gia tăng mức độ nghiêm trọng của bệnh vàng lá thối rễ trên quýt Hồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aatif H. M., Yasir T. A., Hanif C. M. S., Wasaya A., Ullah M. I., Azhar F., Ali K. and Baloch A. W. (2018), Response of different citrus cultivars to citrus root nematode (*Tylenchulus semipenetrans* Cobb.). *Pure Appl. Biol.*, 7(1): 349 - 355.
2. Agrios G. H. (2005), Plant Diseases Caused By Fungi. In: Plant Pathology. Fifth edition. Elsevier Inc.,
3. Barker K. R. (1985), *Nematode extraction and bioassays*. In: Baker K. R., Carter C. C. and Sasser J. N. (eds), An Advanced Treatise on Meloidogyne. Vol II, Methodology North Carolina State University, Graphics, USA. Pages: 19 - 35.
4. Bridge J. and Starr J. L. (2007), Tree, Plantation and Cash Crops. In: Jill Northcott (ed), Plant Nematodes of Agricultural Importance_A Colour Handbook. Manson Publishing Ltd. Pages: 108 - 110.
5. CABI (2019), <https://www.cabi.org/isc/datasheet/43895>.
6. Castillo P. and Vovlas N. (2007), *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): Diagenesis, Biology, Pathogenicity, and Management. Nematology Monographs and Perspectives Vol. 6, Koninklijke Brill NV. Pp. 529.
7. Chandra P., Sao R., Gautam S. K. and Poddar A.N. (2010), Initial Population Density and its Effect on the Pathogenic Potential and Population Growth of the Root Knot Nematode *Meloidogyne incognita* in Four Species of Cucurbits. *Asian Journal of Plant Pathology*, 4: 1 - 15.
8. Divsalar N., Jamali S., Pedramfar H. and Taheri H. (2012), Root lesion nematodes (*Pratylenchus* spp.) on citrus in southwest of Caspian Sea. *Journal of Agricultural Technology*. Vol. 8(7): 2227 - 2238.
9. El-Mohamedy R. S. R., Mostafa M. A. H., Abd-ElKareem F. and Abd-Elgawad M. M. (2016), Biological soil treatment to control *Fusarium solani* and *Tylenchulus semipenetrans* on sour orange seedlings.

- under greenhouse conditions. *Inter. Journal of ChemTech Research*, 9: 73 - 85.
10. Forge T. A., Ingham R. E., Kaufman D. and Pinkerton J. N. (2000), Population Growth of *Pratylenchus penetrans* on Winter Cover Crops Grown in the Pacific Northwest. *J. Nematol.*, 32(1):42 - 5.
 11. Fourie H., Mc Donald A. H. and Waele D. D. (2010), Relationships between initial population densities of *Meloidogyne incognita* race 2 and nematode population development in terms of variable soybean resistance. *Journal of Nematology*. Vol. 42(1):54 - 61.
 12. Henao S. Z., Vásquez M. C. H., Hoyos L. F. P., Torres J. D. S. and Hoyos-Carvajal L. M. (2019), Fungal endophytes in bananas cv Manzano affected by *Fusarium*. Vol 14(7), Pages 430 - 438.
 13. Ibrahim D. S. S., Ali A. M. and Metwaly H. A. (2019), Bio-management of Citrus Nematode, *Tylenchulus semipenetrans* and Dry Root Rot Fungi, *Fusarium solani* under Laboratory and Field Conditions. *Egypt. J. Agronomatol.*, Vol. 18, No.2, pp. 118 - 128.
 14. Irshad U., Mukhtar T., Ashfaq M., Kayani M. Z., Kayani S. B., Hanif M. and Aslam S. (2012), Pathogenicity of citrus nematode (*Tylenchulus semipenetrans*) on *Citrus jambhiri*. *J. Anim. Plant Sci.*, 22(4):2012, page: 1014 - 1018.
 15. Khan M. R. and Sharma R. K. (2020), *Fusarium*-nematode wilt disease complexes, etiology and mechanism of development. *Indian Phytopathology*. Volume 73, pages 614 - 628.
 16. Nemeč S., Zablotovice R. M. and Chandler J. L. (1989), Distribution of *Fusarium* spp. and selected microflora in citrus soil and rhizospheres associated with healthy and blight diseased citrus in Florida. *Phytophylactica* 21 (2): 141 - 146.
 17. Nguyễn Ngọc Anh Thư và Nguyễn Văn Hòa (2007), Kết quả điều tra, xác định tác nhân gây bệnh vàng lá thối rễ và một số kết quả thử thuốc sinh học và gốc ghép trên cây có múi trong phòng trừ bệnh vàng lá thối rễ. Kết quả nghiên cứu Khoa học Công nghệ rau quả 2005 - 2006, NXB. Nông nghiệp, TP. Hồ Chí Minh. Trang 58 - 70.
 18. Nguyễn Ngọc Thanh, Tất Anh Thư, Mai Thị Cẩm Trinh, Dương Minh Viễn và Võ Thị Gương (2018), Đánh giá một số đặc tính lý hóa học và sinh học đất trên vườn cam sành (*Citrus nobilis*) bị bệnh vàng lá thối rễ tại huyện Tam Bình, tỉnh Vĩnh Long. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*. 54(6B): 72 - 81.
 19. Nguyệt Ánh (2018), Cam, quýt Lai Vung nhiễm bệnh - nguyên nhân chính từ biện pháp canh tác. *Công thông tin điện tử Đồng Tháp*. Thứ Tư, 04/12/2018.
 20. O'Bannon J.H., Tomerlin A.T. (1973), Citrus tree decline caused by *Pratylenchus coffeae*. *J Nematol* 5:311 - 316
 21. Phạm Văn Kim, Trần Thị Cẩm Lai, Nguyễn Kế Điện và Lăng Cảnh Phú (1997), Xác định nguyên nhân gây bệnh vàng lá rụng lá trên cây có múi tại đồng bằng sông Cửu Long. *Tuyển tập Công trình Khoa học Công nghệ Đại học Cần Thơ, 1933 - 1997*: 85 - 91.
 22. Riddell R. W. (1950), Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. *Mycologia*. 42: 264 - 270.
 23. Yaseen T. and D'Onghia A. M. (2010), *Fusarium* spp. Associated to Citrus Dry Root Rot: an Emerging Issue for Mediterranean Citriculture. *XXVIIIth IHC - IS on the Challenge for a Sustainable Production, August in 2010, Acta horticulturae, MAIB*. Pages: 647 - 655.
 24. Zhang Y., Li S., Li H., Wang R., Zhang K. and Xu J. (2020), Fungi-Nematode Interactions: Diversity, Ecology, and Biocontrol Prospects in Agriculture. *J. Fungi*. 6, 206.

PHẢN ỨNG CỦA NĂM GIỐNG HỒ TIÊU ĐỐI VỚI TUYẾN TRÙNG SUNG RỄ *Meloidogyne incognita*

Nguyễn Thị Nguyễn Vân¹, Nguyễn Thanh Phong¹,
Lê Thanh Đạm¹, Võ Thị Thu Oanh¹, Nguyễn Vũ Phong^{2*}

¹ Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

² Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

*Tác giả liên hệ: nvphong@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Mục tiêu của đề tài là tìm hiểu đặc điểm sinh học, khả năng ký sinh của tuyến trùng *Meloidogyne sp.* trên cây hồ tiêu trong điều kiện nhà lưới. Dựa vào đặc điểm hình dạng vân sinh môn con cái đã xác định được loài tuyến trùng sung rễ ký sinh và gây hại trên cây hồ tiêu tại thị xã Phú Mỹ, huyện Châu Đức và huyện Xuyên Mộc tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu là loài *Meloidogyne incognita*. Trong năm giống hồ tiêu khảo sát, chỉ số sinh sản của tuyến trùng thấp nhất ở giống tiêu Trâu. Ở giống hồ tiêu này tuyến trùng hoàn thành vòng đời trong 40 ngày so với 35 ngày trên giống hồ tiêu Vĩnh Linh.

Từ khóa: hệ số sinh sản, hồ tiêu, *Meloidogyne incognita*, tiêu Trâu, vòng đời.

ABSTRACT

The response of five black pepper cultivars to root-knot nematode *Meloidogyne incognita*

The study aims to investigate biological characteristics of root-knot nematode parasitic on black pepper (*Piper nigrum*) in greenhouse conditions. Based on the perinial pattern of females, *Meloidogyne incognita* was identified on black pepper cultivated in Chau Duc and Xuyen Moc districts, Ba Ria Vung Tau province. Among five black pepper cultivars experimented, Trau cultivar has the lowest root-knot nematode reproductive factor. In this cultivar, the nematode completes its life cycle in 40 days compared to 35 days on Vinh Linh sensible cultivar.

Keywords: black pepper, *Meloidogyne incognita*, life cycle, reproductive factor, Trau cultivar.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hồ tiêu (*Piper nigrum* L.) là cây gia vị quan trọng của thế giới và là một trong những cây trồng xuất khẩu chủ lực của Việt Nam. Theo Cục Trồng trọt, năm 2018 diện tích trồng hồ tiêu cả nước khoảng 150 nghìn ha, đạt sản lượng 255,4 nghìn tấn. Vùng trồng tiêu lớn nhất hiện nay tập trung ở các tỉnh Đông Nam Bộ (Bình Phước, Bà Rịa Vũng Tàu và Đồng Nai) và Tây Nguyên (Đắk Nông, Đắk Lắk và Gia Lai). Đây là những vùng có nguồn tài nguyên đất đai, khí hậu thích hợp với sự sinh trưởng và phát triển cây hồ tiêu. Bà Rịa Vũng Tàu là tỉnh có diện tích và sản lượng hồ tiêu đứng thứ 3 ở miền Đông Nam Bộ, sau Đồng Nai và Bình Phước. Diện tích hồ tiêu toàn tỉnh năm 2018 là 13,1 nghìn ha, sản lượng 17,9 nghìn tấn. Trong đó Châu Đức, Xuyên Mộc và Phú Mỹ là 3 huyện có diện tích trồng hồ tiêu lớn và có lịch sử lâu đời ở Bà Rịa Vũng Tàu. Từ năm 2006 đến 2015 sản xuất hồ tiêu ở Bà Rịa Vũng Tàu phát triển nhanh đóng góp quan trọng vào tăng trưởng kinh tế và tăng thu nhập cho nông dân trong tỉnh. Tuy nhiên, từ năm 2017, mặt hàng hạt tiêu bắt đầu bước vào thời kỳ giảm, trong khi giá thành sản xuất của nông dân xu hướng tăng do các yếu tố công lao động, đất đai, vật tư tăng cao. Mặt khác, việc xuất khẩu hồ tiêu của Việt Nam ngày một khó do quy định về an toàn thực phẩm ngày càng cao của các thị trường nhập khẩu.

Tuyến trùng ký sinh thực vật là động vật không xương sống, có kích thước nhỏ bé (0,25 - 4,0 mm), được phát hiện lần

đầu tiên vào năm 1745 khi Needham quan sát hạt lúa mì bị biến dạng (Luc và cs., 2005). Tuyến trùng có thể thích nghi ở nhiều môi trường sống khác nhau. Một số loài tuyến trùng ký sinh các bộ phận trên cây như lá, thân, hoa và hạt, tuy nhiên phần lớn chúng sống ở rễ và vùng đất quanh rễ cây trồng. Có ít nhất 2.500 loài tuyến trùng ký sinh thực vật đã được mô tả, đặc trưng bởi sự hiện diện của một cây kim chích (stylet), được sử dụng để xâm nhập mô cây ký chủ (Ravichandra, 2014). Thông thường, thiệt hại thực vật gây ra bởi tuyến trùng thường bị bỏ qua vì các triệu chứng không đặc trưng, chẳng hạn như tăng trưởng chậm, còi cọc hay vàng lá và những triệu chứng đó cũng có thể là do rối loạn dinh dưỡng và nước (Stirling và cs., 1998).

Tuyến trùng *Meloidogyne* là một trong những loài gây hại quan trọng ký sinh trên rễ hồ tiêu (Nguyễn Đăng Long, 1989; Phạm Thanh Sơn và cs., 2004; Trịnh Thị Thu Thủy và cs., 2010; Bùi Thị Thu Nga và cs., 2013, 2015a, 2015b; Trần Thị Thu Hà và cs., 2014). Phức hợp bệnh tạo nên bởi tương tác giữa các loài tuyến trùng và nấm trong đất ký sinh cây trồng gây ra thiệt hại cao hơn so với sự gây hại của riêng tuyến trùng (Koshy và cs., 2005; Rashid và Eapen, 2014). Triệu chứng biểu hiện là cây còi cọc, vàng lá, lá vàng cục bộ hoặc vàng toàn bộ cây, có thể héo tạm thời vào mùa khô khi thiếu nước, năng suất và chất lượng hồ tiêu giảm. Tuyến trùng nốt sưng thường có tương tác với các vi sinh vật gây hại trong đất, làm cho tác hại càng nghiêm trọng hơn, làm giảm khả năng chống chịu của

cây, gây chết cây, nhất là cây thời kỳ còn nhỏ (Bùi Cách Tuyên và cs., 2013).

Nghiên cứu này trình bày đặc điểm sinh học, khả năng ký sinh của tuyến trùng *Meloidogyne incognita* một số giống hồ tiêu trồng phổ biến ở tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu trong điều kiện nhà lưới nhằm góp phần phục vụ cho việc quản lý tuyến trùng an toàn hiệu quả trong sản xuất hồ tiêu.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Phân lập và định danh tuyến trùng *Meloidogyne* ký sinh trên cây hồ tiêu

Tuyến trùng được thu thập tại các vườn trồng hồ tiêu huyện Châu Đức, Xuyên Mộc và thị xã Phú Mỹ tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu. Mẫu đất vùng rễ của cây tiêu bị bệnh cách gốc 20 - 30 cm và ở độ sâu 15 - 20 cm được thu và đưa về phòng thí nghiệm. Trồng cà chua 15 - 20 ngày tuổi lên mẫu đất. Sau 4 tuần, chọn những mẫu rễ bị u sưng, tách túi trứng đặt vào đĩa petri chứa 3 ml nước cất. Dùng mũi kim tiêm phá vỡ túi trứng, đặt đĩa petri trong tối ở nhiệt độ phòng. Sau 5 ngày, hút dung dịch chứa tuyến trùng và lây nhiễm trên cây cà chua 15 ngày tuổi. Sau 10 ngày, chuyển các cây cà chua sang chậu nhựa (20 × 15 × 30 cm).

Thu rễ cà chua sau 60 ngày lây nhiễm, rửa với nước sạch, cắt rễ thành đoạn từ 1 - 2 cm, cho vào dung dịch Javel 0,7%, lắc đều, ngâm trong 3 phút. Lọc nước qua các rây lọc lần lượt 150 μ m, 80 μ m, 45 μ m, 40 μ m, 25 μ m và rửa nhiều lần bằng nước cất. Thu trứng và tuyến trùng J₂ vào cốc thủy tinh, tiếp tục cho thêm 40 ml

dung dịch Javen 0,7% ngâm trong 10 phút. Sau đó, thu trứng và tuyến trùng bằng rây lọc và rửa lại với nước cất nhiều lần. Đặt rây chứa trứng lên đĩa petri, thêm nước cất có chứa kháng sinh cho tiếp xúc với mặt dưới rây lọc. Ủ trứng 4 ngày ở nhiệt độ phòng để thu ấu trùng J₂.

Tách lấy 20 con cái trưởng thành của mỗi dòng phân lập để quan sát vân sinh môn. Cắt đôi con cái bằng dao lam, nhẹ nhàng đẩy dịch bên trong ra, ngâm phần thân chứa vân sinh môn trong dung dịch acid lactic 45% trong 1 giờ, nhuộm bằng dung dịch methylene blue trong 1 phút. Đặt nếp nhăn vùng vân sinh môn lên lame, đập lamelle và quan sát dưới kính hiển vi.

2.2. Đánh giá mức độ ký sinh của tuyến trùng trên năm giống hồ tiêu điều kiện nhà lưới

Thí nghiệm được bố trí với 5 giống hồ tiêu gồm Vĩnh Linh, Sẻ Đất Đỏ, Trâu, Lada belangtoeng, Panniyur và giống tiêu đại (*Piper colubrinum*) làm đối chứng. Hom tiêu được giâm trong chậu kích thước 23 × 18 × 16,5 cm chứa 2 kg hỗn hợp gồm đất và cát tỷ lệ 2:1. Hom tiêu 3 tháng tuổi được lây nhiễm 5.000 J₂/chậu (lây nhiễm ở 5 điểm xung quanh gốc hom tiêu, mỗi điểm 1000 J₂). Mỗi nghiệm thức gồm 20 chậu lây nhiễm và 20 chậu không lây nhiễm.

Sinh trưởng của hom tiêu được theo dõi bằng cách ghi nhận chiều dài cành và số lá ở trước khi lây nhiễm, sau khi lây nhiễm tuyến trùng định kỳ 15 ngày ghi nhận 1 lần cho đến 60 ngày. Các chỉ tiêu gồm số nốt sưng/1g rễ, số túi trứng, số

con cái/1g rễ được ghi nhận ở 60 ngày SLN bằng cách nhuộm rễ với acid fuschin theo phương pháp của Bybd và cs. (1983) có cải tiến. Số trứng và J2 trong đất, trong rễ được ghi nhận theo phương pháp ly tâm có cải tiến (Nguyễn Ngọc Châu và cs., 1993).

Hệ số sinh sản ($R_f = P_f/P_i$): Ghi nhận tại thời điểm 60 ngày sau lây nhiễm tuyến trùng được tính theo công thức Zhang và Schmitt (1994). Trong đó P_f (Final population) là số tuyến trùng trong đất và rễ ở thời điểm 60 ngày sau lây nhiễm; P_i (Initial population) là số tuyến trùng lây nhiễm ban đầu. Hệ số sinh sản được dùng để xác định độ mẫn cảm của các giống hồ tiêu đối với loài *Meloidogyne incognita* được phân cấp theo Zhang và Schmitt (1994) gồm $R_f > 5,0$: Mẫn cảm với tuyến trùng; $1,0 < R_f \leq 5,0$: Mẫn cảm trung bình với tuyến trùng; $0 < R_f (+) < 1,0$: Ít mẫn cảm với tuyến trùng; $R_f = 0$: Kháng với tuyến trùng (không phải là ký chủ).

2.3. Khảo sát vòng đời của tuyến trùng *Meloidogyne incognita* trên hai giống hồ tiêu

Hom tiêu được ươm trong 50 chậu nhựa kích thước $10 \times 6 \times 16$ cm chứa giá thể gồm đất và cát với tỷ lệ 2:1, mỗi chậu 1 hom tiêu. Khi hom tiêu được 3 tháng tuổi lây nhiễm 10.000 J₂/chậu. Sau 1, 2, 4, 7, 9, 11, 14, 21, 28, 35 ngày thu hom từ 3 chậu, nhuộm rễ, quan sát và ghi nhận sự biến đổi hình thái của tuyến trùng trong rễ hồ tiêu. Rễ được nhuộm với acid fuschin 0,5% theo phương pháp của Bybd và cs.,

(1983) có cải tiến. Quan sát hình thái tuyến trùng trong mô rễ tiêu dưới kính hiển vi.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

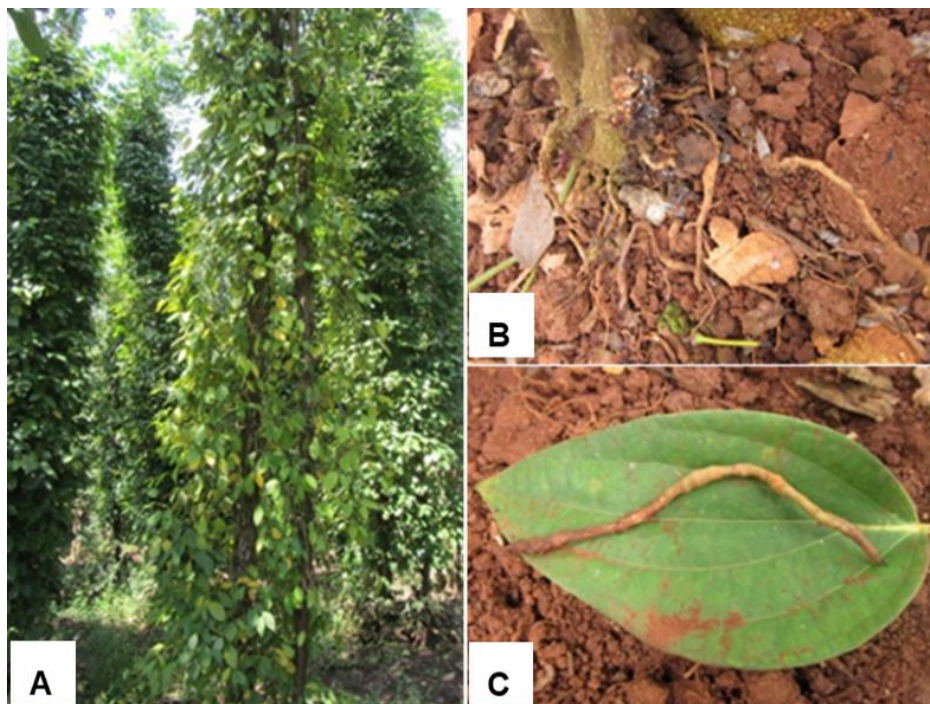
Số liệu được tính toán bằng phần mềm Excel, phân tích thống kê theo phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) và trắc nghiệm phân hạng theo phương pháp LSD.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

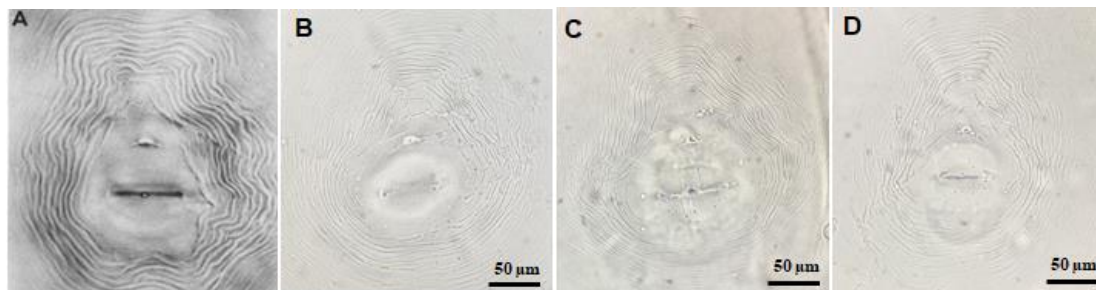
3.1. Định danh loài tuyến trùng *Meloidogyne* ký sinh cây hồ tiêu

Thu thập mẫu đất và rễ tại những vườn cây hồ tiêu có biểu hiện vàng lá, rễ có u sưng tại thị xã Phú Mỹ, huyện Châu Đức và huyện Xuyên Mộc tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu (hình 1). Sau 60 ngày lây nhiễm, thu được 37 dòng tuyến trùng gồm 11 dòng từ nguồn mẫu thu thập tại thị xã Phú Mỹ (PM.1 - PM.11), 16 dòng từ nguồn mẫu thu thập tại huyện Châu Đức (CĐ.1 - CĐ.16) và 10 dòng từ nguồn mẫu thuộc huyện Xuyên Mộc (XM.1 - XM.10) tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu.

Hình dạng vằn sinh môn tuyến trùng cái trưởng thành loài *Meloidogyne* ký sinh cây hồ tiêu của các dòng phân lập đều có phần vằn lưng hơi nhô cao hình vuông, đường vằn mịn, gợn sóng nhưng không liên tục, không có đường vằn ngang phân cách giữa phần lưng và bụng rõ rệt (hình 2). So sánh với mô tả của Eisenback (1985) đã xác định được tất cả các dòng được phân lập từ thị xã Phú Mỹ, huyện Châu Đức và huyện Xuyên Mộc tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu đều thuộc loài *Meloidogyne incognita*.



Hình 1. Cây hồ tiêu bị nhiễm tuyến trùng *Meloidogyne* spp.
(A: Cây hồ tiêu bị vàng lá; B, C: Rễ hồ tiêu bị sưng)



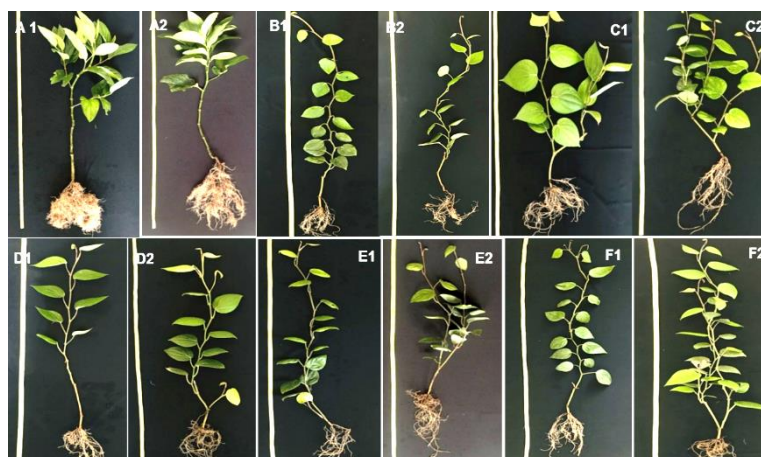
Hình 2. Vòng đời của tuyến trùng *Meloidogyne incognita*
(A: Theo Eisenback, 1985; B: Đòng PM.1; C: Đòng CD.1; D: Đòng XM.1.)

3.2. Mức độ miễn cảm với *Meloidogyne incognita* của năm giống hồ tiêu trong điều kiện nhà lưới

*Ảnh hưởng của tuyến trùng đến sự sinh trưởng của hom giâm các giống hồ tiêu

Hầu hết các chỉ tiêu sinh trưởng như số lá, chiều dài dây, chiều dài rễ, khối

lượng thân lá tươi, khối lượng rễ tươi của các giống đều thấp hơn so với đối chứng không lây nhiễm, tuy không có ý nghĩa thống kê. Như vậy, ở thời điểm 60 ngày sau lây nhiễm ghi nhận chưa có ảnh hưởng của tuyến trùng *M. incognita* đến sự sinh trưởng và phát triển đối với các hom tiêu ươm trong điều kiện nhà lưới (hình 3).



Hình 3. Hom hồ tiêu sau 60 ngày lây nhiễm tuyến trùng

(A1: *P. colubrinum* đối chứng, A2: Lây nhiễm; B1: Panniyur đối chứng, B2: Lây nhiễm; C1: Lada belangtoeng đối chứng, C2: Lây nhiễm; D1: Sê Đất Đỏ đối chứng, D2: Lây nhiễm; E1: Trâu đối chứng, E2: Lây nhiễm; F1: Vĩnh Linh đối chứng, F2: Lây nhiễm)

3.3. Mức độ ký sinh của tuyến trùng *Meloidogyne incognita* trên các giống hồ tiêu

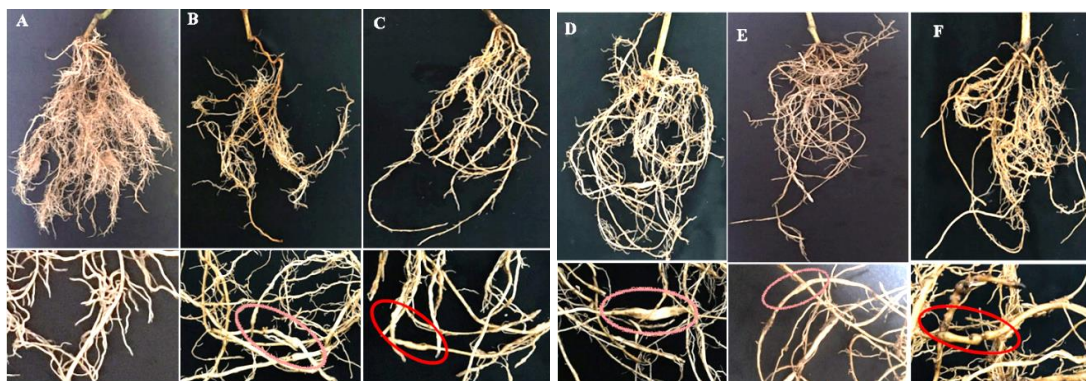
Sau 60 ngày lây nhiễm, không phát hiện nốt sưng, con cái, túi trứng, J2 trên rễ và giá thể trồng cây tiêu *Piper colubrinum*. Điều này chứng tỏ tiêu *Piper colubrinum* có khả năng kháng với tuyến trùng *M. incognita*, tương tự với nghiên cứu của Ramana và Mohandas (1987), Devasahayam (2000) và Chinnapappa và cs. (2018). Trong khi đó, cả 5 giống

hồ tiêu thí nghiệm đều mắc cảm với tuyến trùng *M. incognita* tuy mức độ mắc cảm của mỗi giống là khác nhau. Ở giống Vĩnh Linh, chỉ số sinh sản cao nhất ($R_f = 6,3$) và thấp nhất ở giống tiêu Trâu ($R_f = 2,0$) (bảng 1, hình 4). Kết quả này chứng tỏ tiêu Trâu có khả năng chống chịu với tuyến trùng tốt hơn với các giống hồ tiêu còn lại. Từ kết quả này, giống Vĩnh Linh và tiêu Trâu được chọn làm vật liệu nghiên cứu đặc điểm ký sinh của *M. incognita*.

Bảng 1. Mức độ ký sinh của *M. incognita* trên 5 giống hồ tiêu ở 60 ngày sau lây nhiễm

Giống hồ tiêu	Số nốt sưng/g rễ	Số con cái/g rễ	Số bọc trứng/g rễ	Số tuyến trùng/g rễ	Số tuyến trùng/50 g đất	R _f	Đánh giá
Vĩnh Linh	21,3 ^b	48,1 ^b	33,4 ^a	267,1 ^a	720,9 ^a	6,3	+++
Trâu	13,7 ^c	19,7 ^d	13,9 ^d	61,1 ^c	230,0 ^d	2,0	++
Sê Đất Đỏ	26,7 ^a	52,5 ^a	27,4 ^b	206,3 ^b	571,2 ^b	5,2	+++
Lada belangtoeng	20,5 ^b	27,4 ^c	14,2 ^d	77,0 ^c	341,0 ^c	3,0	++
Panniyur	20,7 ^b	44,9 ^b	18,9 ^c	191,6 ^b	507,6 ^b	4,6	++
<i>Piper colubrinum</i>	-	-	-	-	-	-	

Ghi chú: Sự khác biệt ($p \leq 0,01$); (+++): Mẫn cảm; (++) : Mẫn cảm trung bình.

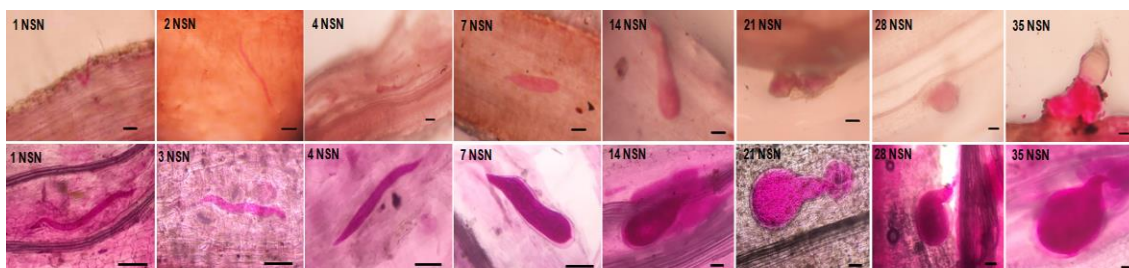


Hình 4. U sưng trên rễ các giống hồ tiêu sau 60 ngày lây nhiễm tuyến trùng
(A: *Piper colubrinum*; B: Panniyur; C: Lada belangtoeng; D: Sẻ Đất Đỏ; E: Trâu; F: Vĩnh Linh)

3.4. Vòng đời *Meloidogyne incognita* ở giống tiêu Vĩnh Linh và tiêu Trâu

Ở giống Vĩnh Linh, J2 xâm nhiễm vào rễ sau 1 NSN. Sau 4 NSN, J2 lột xác phát triển thành J3. Sau 7 NSN trở thành J4, hình thái J4 rõ rệt sau 14 NSN và phát triển thành con cái sau 21 ngày. Con cái được quan sát rõ vào ngày 28 NSN và đẻ trứng ở 35 NSN. Ở giống tiêu Trâu, J2 xâm nhập vào rễ ở 1 NSN. Ba ngày sau khi xâm nhiễm J2 tăng kích

thước và rễ hình thành tế bào khổng lồ. Vào ngày thứ 4 J2 lột xác thành J3, hình thái rõ rệt vào ngày thứ 5. Giai đoạn J4 được phát hiện vào ngày thứ 7 và trưởng thành ở ngày thứ 11. Sau đó ở ngày thứ 21 sau khi lây nhiễm thì con cái hình thành. Con cái trưởng thành được quan sát vào ngày thứ 35. Sau 40 ngày con cái đẻ trứng. Như vậy, sau 40 ngày tuyến trùng hoàn thành vòng đời ở rễ tiêu Trâu (hình 5).



Hình 5. Chu kỳ sống của *Meloidogyne incognita* ở rễ cây hồ tiêu Vĩnh Linh (trên) và cây tiêu Trâu (dưới). NSN: Ngày sau nhiễm. Vạch 100 μ m

Thời gian để hoàn thành một vòng đời của *M. incognita* với 6 giai đoạn phát triển (trứng, bốn giai đoạn ấu trùng (J1 - J4) và giai đoạn trưởng thành) trong nghiên cứu này trên tiêu Vĩnh Linh là 35 ngày và tiêu Trâu là 40 ngày.

Ở cả hai giống hồ tiêu đều quan sát được J2 xâm nhiễm vào rễ chỉ sau 1 ngày lây nhiễm, lột xác thành J3 vào ngày thứ 4, J4 vào ngày thứ 7 và con cái được ghi nhận sau 21 ngày lây nhiễm. Tuy nhiên, trên tiêu Vĩnh Linh chỉ cần

14 ngày để con cái trưởng thành và đẻ trứng thì ở tiêu Trâu phải cần đến 19 ngày. Vòng đời ngắn giúp tuyến trùng *M. incognita* hình thành quần thể nhanh chóng gây hại trên rễ cây tiêu Vĩnh Linh nặng hơn tiêu Trâu. Vì thế, cùng số lượng J2 lây nhiễm ban đầu, quần thể tuyến trùng vùng đất và rễ trên giống tiêu Trâu ít hơn và giảm bớt sự gây hại của tuyến trùng so với tiêu Vĩnh Linh.

4. KẾT LUẬN

Loài tuyến trùng sung rễ ký sinh và gây hại cây hồ tiêu tại thị xã Phú Mỹ, huyện Châu Đức và huyện Xuyên Mộc tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu là loài *Meloidogyne incognita*. Tất cả năm giống hồ tiêu đều miễn cảm với tuyến trùng *Meloidogyne incognita*, giống tiêu Trâu có chỉ số sinh sản thấp hơn các giống còn lại. Loài *Meloidogyne incognita* hoàn thành vòng đời trong 35 ngày trên giống hồ tiêu Vĩnh Linh và 40 ngày trên giống tiêu Trâu. Nghiên cứu sự biến đổi ở mức độ mô tế bào và phân tử rễ các giống hồ tiêu trong quá trình bị ký sinh bởi tuyến trùng cần được tiếp tục nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bùi Cách Tuyến, Võ Thị Thu Oanh, Lê Đình Đôn (2013), *Giáo trình tuyến trùng hại cây trồng*. NXB Nông nghiệp TP. Hồ Chí Minh. 13 - 44, 84 - 88.
2. Bùi Thị Thu Nga, Trần Thị Mỹ Dung, Nguyễn Thị Kim Xuân, Đỗ Văn Giáp, Phùng Huy Tuấn, Ngô Xuân Quảng, Nguyễn Đình Tứ, Dương Đức Hiếu (2013), Khảo sát thành phần tuyến trùng ký sinh gây hại rễ cây hồ tiêu ở Châu Đức, tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu. Tạp chí Bảo vệ thực vật 5: 3 - 8.
3. Bùi Thị Thu Nga, Hoàng Thị Loan, Ngô Xuân Quảng, Dương Đức Hiếu (2015), Đa dạng quần xã tuyến trùng đất trong hệ sinh thái nông nghiệp hồ tiêu tỉnh Đồng Nai, Tạp chí Công nghệ Sinh học 13: 1359 - 1367.
4. Bùi Thị Thu Nga, Lưu Đức Trung, Trần Thị Diễm Thúy, Đỗ Đăng Giáp, Nguyễn Hữu Hùng và Dương Đức Hiếu (2015), Nghiên cứu quần xã tuyến trùng trên hiện trạng canh tác hồ tiêu tại huyện Dầu Tiếng, tỉnh Bình Dương. Tạp chí Bảo vệ thực vật 6: 3 - 10.
5. Bybd D. W., Kirkpatrick Jr. T., and Barker K. R. (1983), An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. *Journal of Nematology* 15: 142 - 143.
6. Chinnappa M., Ramar A., Pugalandhi L., Muthulakshmi P., and Vetrivelkai P. (2018), Screening and identification of *Piper* species as rootstocks resistance against the root knot nematode under glasshouse condition. *Journal of Agriculture and Ecology* 6: 77 - 84
7. Devasahayam, S. (2000), Insect pests of black pepper. In: *Black Pepper (Piper nigrum L.)*. (Eds. P.N., Ravindran). Harwood Academic Publishers, Amsterdam, The Netherlands, pp. 309 - 334.
8. Eisenback J. D. (1985), Detailed morphology and anatomy of second-stage juveniles, males, and females of the genus *Meloidogyne* (root-knot nematodes). In *An advanced treatise on Meloidogyne*; (Eds: J. N. Sasser and C. C. Carter) Vol. I, Biology and control, North Carolina State Univ. Graphics, Raleigh.
9. Koshy P.K., Santhosh J., Eapen, S.J. and Pandey R. (2005), Nematode parasites of spices, condiments and medicinal plant. In: *Plant Parasitic Nematode in Subtropical and Tropical Agriculture* (Eds. M. Luc, R.A. Sikora and J. Bridge). CAB International, Wallingford, UK, pp. 751 - 792.

10. Luc M., Sikora R., Bridge J. (2005), *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. C.A.B International Institute of Parasitology, 629 pages.
11. Nguyễn Đăng Long (1989), Kết quả nghiên cứu khoa học kỹ thuật trên cây tiêu, cà phê, 1987 - 1989. *Công ty Dịch vụ Kỹ thuật Nông nghiệp huyện Châu Thành, tỉnh Đồng Nai*.
12. Nguyễn Ngọc Châu (2003), Tuyển trùng thực vật và cơ sở phòng trừ. NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, 301 trang.
13. Phạm Thanh Sơn (2004), Xác định loài tuyến trùng *Meloidogyne* trên rễ cây hồ tiêu ở tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu và phòng trị *Meloidogyne* bằng phân hữu cơ. Luận án thạc sĩ khoa học nông nghiệp, Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam.
14. Ramana, K.V., Mohandas, C. (1987), Plant parasitic nematodes associated with black pepper in Kerala. *Indian Journal of Nematology* 17: 62 - 66.
15. Rashid P. and Eaphen, S.J. (2014), Nematodes: the hidden enemies of black pepper. *Indian Journal of Arecanut Spices and Medicinal Plants* 16:38 - 40.
16. Ravichandra N.G. (2014), *Horticultural Nematology*. Springer India, 412 pages.
17. Stirling G. R., Nicol J. M., & Reay F., (1998), *Advisory services for nematodes pests*.
18. T.T.T. Thuy, Incidence and Effect of *Meloidogyne incognita* (Nematoda: Meloidogyninae) on Black Pepper Plants in Vietnam (2010), Doctoral dissertation, Thesis, Katholieke Universiteit Leuven, België.
19. Zhang F. and Schmitt D P. (1994), Host Status of 32 plant species to *Meloidogyne konaensis*. *The Journal of Nematology* 26: 744 - 48.

SỬ DỤNG DỊCH CHIẾT BẠCH ĐÀN QUẢN LÝ BỆNH ĐỐM NÂU (*Alternaria sesami*) TRÊN CHANH LEO TẠI NGHỆ AN

Võ Thị Dung¹, Vũ Triệu Mân², Hồ Thị Nhung³,
Nguyễn Hoàng Tiến¹, Trần Thị Cúc¹

¹Trường Đại học Kinh tế Nghệ An

²Hội Nghiên cứu Bệnh hại thực vật Việt Nam

³Trường Đại học Vinh

ABSTRACT

Using eucalyptus extraction to prevent of Brown spot disease (*Alternaria sesami*) on the passion fruit in Nghe An

When using eucalyptus extraction in vitro condition with extraction concentrations of 5%, 10% and 15%, the influence on germination inhibition of spores is 100% after 12 hours treatment. The effect of three concentrations after 48h are 62.49; 84.02 and 85.61 respectively. Eucalyptus extraction has the effect of controlling the growth and development of Alternaria sesami. In passion fruit garden from 6 months to 1 year old in Nghe An, besides production efficiency, the effective prevention ranged from 51.80 to 63.93% when using eucalyptus extraction solution 15% concentration.

Keywords: *Alternaria sesami, eucalyptus, Nghe An, passion fruit.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam việc nghiên cứu và ứng dụng dịch chiết từ thực vật đã được tiến hành từ lâu nhưng mới chỉ nghiên cứu và ứng dụng trong ngành y học, nuôi trồng thủy sản và chăn nuôi, trong bảo vệ thực vật sử dụng dịch chiết từ thực vật để phòng trừ bệnh hại cây trồng chưa được nghiên cứu nhiều. Mặt khác trong giai đoạn hiện nay, hầu hết các sản phẩm nông nghiệp đều được quan tâm đến vấn

đề an toàn cho người sử dụng thì việc sử dụng các dịch chiết có nguồn gốc từ thực vật để phòng trừ bệnh hại cây trồng là vấn đề cần thiết và cần triển khai nhanh trong sản xuất nông nghiệp.

Chanh leo hiện đang giữ vị trí thứ 17 trong số các loài cây ăn quả có quy mô diện tích sản xuất lớn trên 10 nghìn ha ở Việt Nam, là mặt hàng nông sản có giá trị xuất khẩu cao về quả tươi cũng như các sản phẩm chế biến từ chanh leo. Trong sản xuất hiện nay, ngoài chỉ tiêu về năng suất cần phải đảm bảo đến mẫu mã, chất

lượng và độ an toàn của sản phẩm. Vì vậy trong quản lý bệnh hại cần lựa chọn hướng phòng chống bệnh hiệu quả, an toàn cho người tiêu dùng, thân thiện với môi trường là vấn đề cần thiết.

Kết quả nghiên cứu về dịch chiết bạch đàn đối với *Alternaria* của M. Zaker and H. Mosallanejad (2010) cho rằng sử dụng nồng độ 5%, 10%, 15% có khả năng ức chế sự nảy mầm của bào tử nấm *Alternaria* từ 78% đến 81%. Masoud Zaker (2013) cho rằng nồng độ bạch đàn 10%, 15% có khả năng ức chế sự nảy mầm của bào tử *Alternaria sesami* là 82,33%. Ở Nghệ An bệnh đốm nâu *Alternaria sesami* là một trong những bệnh gây hại nguy hiểm trên cây chanh leo, bệnh gây hại trên cây ở tất cả các giai đoạn sinh trưởng của cây, từ trong vườn ươm, vườn kiến thiết cơ bản và vườn kinh doanh. Tác hại của bệnh rất nghiêm trọng, làm giảm năng suất và chất lượng quả thương phẩm, giảm tuổi thọ nhiều vườn chanh leo. Bài báo này cung cấp dẫn liệu khoa học về sử dụng dịch chiết bạch đàn ức chế nấm *Alternaria sesami* gây bệnh đốm nâu chanh leo phục vụ sản xuất chế chanh leo an toàn và hiệu quả.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Giống chanh leo tím (Đài Nông 1) (*Passiflora edulis*), sử dụng hạt của giống Đài Nông 1 gieo cây thí nghiệm trong nhà lưới, sử dụng giống Đài Nông 1 của Công ty cổ phần Chanh leo Nafoods thí nghiệm ngoài sản xuất.

- Cây bạch đàn (*Eucalyptus globulus* Labil).

- Nguồn nấm *Alternaria sesami* phân lập từ triệu chứng bệnh đốm nâu chanh leo tại Nghệ An.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tạo dịch chiết từ lá, chồi non của cây bạch đàn

Lá trưởng thành và các chồi non của Bạch đàn sau khi thu được rửa sạch, làm khô tự nhiên trong phòng thí nghiệm được giã nhỏ ép lọc lấy dịch. Cho dịch bạch đàn vào các ống nghiệm và tiến hành ly tâm (6.000 vòng/phút trong thời gian 5 phút), loại bỏ bã phía dưới để thu lấy dịch chiết từ bạch đàn. Dịch bạch đàn sau khi đã ly tâm được sử dụng ở các nồng độ khác nhau trong thí nghiệm.

2.2.2. Ảnh hưởng của dịch chiết bạch đàn đến khả năng nảy mầm của bào tử nấm *Alternaria sesami*

- Môi trường WA sau khi được hấp khử trùng trong thời gian từ 30 phút ở nhiệt độ 121°C (1,5 atm), để nguội (45 - 50°C) và đặt trong buồng nuôi cấy vi sinh vật.

- Đông lượng dịch chiết của bạch đàn tương ứng với 5 ml, 10 ml, 15 ml cho vào các bình tam giác có chứa 100 ml môi trường WA để được nồng độ 5%, 10%, 15%.

Lắc đều mỗi bình để dịch chiết phân tán đều trong môi trường WA, sau đó đổ môi trường có chứa dịch chiết ra đĩa petri.

Sử dụng phương pháp cấy đơn bào tử lên bề mặt đĩa petri có chứa môi trường WA và dịch chiết ở các nồng độ khác nhau, cấy 30 bào tử nấm *A. sesami* vào mỗi đĩa petri. Các đĩa petri sau khi cấy

được để trong tủ định ôn ở nhiệt độ 30°C. Công thức đối chứng là môi trường WA.

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, 4 công thức, mỗi công thức nhắc lại 3 lần, 3 đĩa petri/lần nhắc, quan sát 30 bào tử/đĩa

Công thức 1 - 3: Dịch chiết bạch đàn có nồng độ tương ứng 5%; 10%; 15%.

Công thức 4 (Đối chứng): Môi trường WA.

Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ bào tử nảy mầm (%), hiệu lực ức chế (%) sau 12; 24 và 48 giờ nuôi cấy.

2.2.3. Đánh giá hiệu lực của dịch chiết bạch đàn đối với *Alternaria sesami* gây bệnh trên chanh leo trong điều kiện nhà lưới

Phun dịch chiết bạch đàn nồng độ 5%; 10% và 15%, sau 24 giờ tiến hành lây bệnh trên cây chanh leo (6 tháng tuổi) được trồng trong nhà lưới. Thí nghiệm bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 4 công thức, mỗi công thức 3 lần nhắc lại, 1 cây/lần nhắc

Công thức 1 - 3: Phun dung dịch Bạch đàn với nồng độ 15%; 10% và 5%.

Công thức 4: Phun nước cất vô trùng.

Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ bệnh trên lá, quả (%), chỉ số bệnh trên lá, quả (%).

2.2.4. Đánh giá hiệu lực của dịch chiết Bạch đàn đối với *Alternaria sesami* gây bệnh trên cây chanh leo ngoài sản xuất tại Nghệ An

Từ các kết quả trong phòng thí nghiệm, nhà lưới dịch chiết Bạch đàn

nồng độ 15% được sử dụng để đánh giá hiệu lực với nấm *A. sesami* gây bệnh đốm nâu trên cây chanh leo trên đồng ruộng.

Thí nghiệm được bố trí trên các vườn chanh leo 6 tháng tuổi, 1 năm tuổi và vườn 2 năm tuổi. Thí nghiệm bố trí theo kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn, gồm 4 công thức, mỗi công thức nhắc lại 3 lần, 10 cây/lần nhắc.

Công thức 1: Phun dung dịch bạch đàn trên vườn trồng 6 tháng tuổi.

Công thức 2: Phun dung dịch bạch đàn trên vườn trồng 1 năm tuổi.

Công thức 3: Phun dung dịch bạch đàn trên vườn sau trồng 2 năm tuổi.

Công thức 4: Phun nước lã.

Đối với vườn chanh leo thời kỳ kiến thiết cơ bản tiến hành phun dịch chiết vào giai đoạn cây leo giàn.

Đối với vườn chanh leo thời kỳ kinh doanh phun vào thời điểm sau khi thu hái quả lần 1.

Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ bệnh trên lá, quả (%), chỉ số bệnh trên lá, quả (%).

2.3. Phương pháp tính toán số liệu

Hiệu lực của dịch chiết bạch đàn trong nhà lưới sử dụng công thức Abbott:

$$HLPT (\%) = \frac{C-T}{C} \times 100$$

Trong đó: HLPT (%): Hiệu lực phòng trừ.

C: CSB (%) ở các công thức đối chứng.

T: CSB (%) ở các công thức thí nghiệm.

Hiệu lực phòng trừ (thí nghiệm đồng ruộng): Tính theo công thức Henderson - Tilton.

$$HLPT (\%) = \left(1 - \frac{Ta \times Cb}{Ca \times Tb}\right) \times 100$$

Trong đó:

HLPT (%): Hiệu lực phòng trừ.

Tb: CSB (%) ở công thức trước xử lý.

Ta: CSB (%) ở công thức sau xử lý.

Cb: CSB (%) ở công thức đối chứng trước xử lý.

Ca: CSB (%) ở công thức đối chứng sau xử lý.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của dịch chiết bạch đàn đến khả năng nảy mầm của bào tử nấm *Alternaria sesami*

Đánh giá khả năng ức chế nảy mầm của bào tử *Alternaria sesami*, thí nghiệm tiến hành ở nồng độ 5%, 10% và 15% để từ đó tìm ra nồng độ của dịch chiết bạch đàn có hiệu lực ức chế cao đối với sự nảy mầm của bào tử và lựa chọn sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo (bảng 1).

Bảng 1. Ảnh hưởng của dịch chiết bạch đàn đến khả năng nảy mầm của bào tử nấm *Alternaria sesami*

Công thức	Nồng độ (%)	Tỷ lệ bào tử nảy mầm (%)			Hiệu lực ức chế (%)		
		12 giờ	24 giờ	48 giờ	12 giờ	24 giờ	48 giờ
CT1	5	0	28,64	28,64	100	71,36 ^{bc}	62,49 ^c
CT2	10	0	13,48	15,98	100	86,52 ^a	84,02 ^a
CT3	15	0	10,88	11,39	100	87,12 ^a	85,61 ^a
CT4		100	100	100			
<i>LSD</i> _{0,05}						7,02	4,67

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Dịch chiết bạch đàn sau 12 giờ hiệu lực ức chế ở tất cả các công thức đều đạt 100%, sau 24 giờ hiệu lực ức chế đối với sự nảy mầm của bào tử tỷ lệ thuận với nồng độ, hiệu lực ức chế dao động từ 71,36 - 87,12%, hiệu lực ức chế ở CT2, CT3 không có sự sai khác ở mức ý nghĩa thống kê. Ở nồng độ 10% hiệu lực ức chế khả năng nảy mầm của bào tử nấm *Alternaria sesami* tương đương với nồng độ 15%. Sau 48 giờ hiệu lực ức chế ở các công thức giảm so với hiệu lực ức chế sau 24 giờ, ở CT1 (nồng độ dịch chiết 5%) hiệu lực ức chế giảm từ 71,36% xuống

62,49%, ở CT5 (86,52% xuống 84,02%) và CT6 (87,12% xuống 85,61%).

3.2. Đánh giá hiệu lực của dịch chiết bạch đàn đối với bệnh đốm nâu chanh leo trong điều kiện nhà lưới

Để lựa chọn nồng độ phù hợp của dịch chiết bạch đàn để đưa ra thử nghiệm ngoài sản xuất, tiếp tục tiến hành thí nghiệm đánh giá hiệu lực của dịch chiết bạch đàn ở nồng độ 5%, 10% và 15% đến khả năng phòng chống bệnh đốm nâu *Alternaria sesami* gây bệnh trên cây chanh leo trong điều kiện nhà lưới (bảng 2).

Bảng 2. Hiệu lực phòng chống bệnh đốm nâu trên cây chanh leo từ dịch chiết bạch đàn trong điều kiện nhà lưới (Viện Bảo vệ thực vật, 2017)

CT	Nồng độ	Trên quả			Trên lá		
		TLB (%)	CSB (%)	HL (%)	TLB (%)	CSB (%)	HL (%)
CT1	15	100	12,95	53,90 ^g	100	7,12	65,04 ^e
CT2	10	100	15,42	45,17 ^d	100	10,26	49,63 ^b
CT3	5	100	19,67	30,05 ^a	100	12,07	40,77 ^a
Đ/C		100	28,12	-	100	20,37	-
<i>LSD_{0,05}</i>				4,31			5,89

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Khi phun dịch bạch đàn nồng độ 15% hiệu lực phòng trừ bệnh trên quả và trên lá là 53,90% và 65,04%, khi phun dịch Bạch đàn ở nồng độ 10% và 5% HLPT A. *sesami* trên quả và trên lá ở cả 2 công thức đều nhỏ hơn 50%. Như vậy hiệu lực phòng trừ bệnh trên lá và trên quả của CT1; CT2 và CT3 có sự sai khác ở mức ý nghĩa thống kê.

3.3. Hiệu lực phòng chống của dịch chiết bạch đàn đối với bệnh đốm nâu *Alternaria sesami* trên vườn chanh leo ngoài sản xuất tại Nghệ An

Thí nghiệm về đánh giá hiệu lực của dịch chiết bạch đàn ở nồng độ 15% trên vườn cây chanh leo ngoài sản xuất ở thời kỳ kiến thiết cơ bản (6 tháng tuổi) và thời kỳ kinh doanh.

Bảng 3. Hiệu lực của dịch Bạch đàn đối với bệnh đốm nâu trên cây chanh leo ngoài sản xuất (Nghệ An 2017 - 2018)

Công thức	Tuổi cây	Trên quả					Trên lá				
		TXL		SXL		HLPT (%)	TXL		SXL		HLPT (%)
		TLB (%)	CSB (%)	TLB (%)	CSB (%)		TLB (%)	CSB (%)	TLB (%)	CSB (%)	
1	6 tháng tuổi	-	-	-	-	-	12,19	3,15	20,06	8,24	63,93 ^c
2	1 năm tuổi	15,89	5,58	57,00	14,1	51,8 ^b	5,41	3,15	39,87	10,63	53,50 ^b
3	2 năm tuổi	18,21	5,83	57,90	19,03	37,73 ^a	7,32	3,17	48,73	14,14	38,10 ^a
4 (Đ/C)	Không phun	18,17	5,74	74,82	30,09	-	7,60	3,15	50,78	22,85	-
<i>LSD_{0,05}</i>						6,68					6,24

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Kết quả bảng 3 cho thấy ở các công thức thuốc thời kỳ kiến thiết cơ bản, nấm A. *sesami* chưa xuất hiện nhiều, bộ lá chưa dày, khi phun dịch chiết được phủ đồng đều trên toàn bộ tán cây, dễ dàng tiếp xúc và tồn tại trên lá nên tăng khả năng ức chế

sự xâm nhập và nảy mầm của bào tử A. *sesami* trên lá chanh leo. Khi cây bắt đầu ra hoa tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh đều tăng lên tuy nhiên hiệu lực phòng trừ của dịch chiết bạch đàn 15% vào thời kỳ này là 63,93% cao nhất so với các thời kỳ khác.

Vườn chanh leo vào thời kỳ kinh doanh bề mặt giàn đã được phủ kín, cành lá phát triển nhanh, số quả trên mỗi cành tương đối nhiều, mặc dù sau mỗi lần thu hoạch vườn chanh leo đều được tiến hành cắt tỉa nhưng nguồn bệnh trên cây vẫn tồn tại ở lá và quả, khả năng tái xâm nhập và gây bệnh trên lá và quả chanh leo diễn ra thuận lợi, vì vậy thời kỳ này hiệu lực phòng trừ của dịch bạch đàn 15% giảm hơn so với thời kỳ kiến thiết cơ bản, HLPT đối với vườn chanh leo từ 1 năm tuổi và vườn chanh leo 2 năm tuổi trên lá và trên quả giữa công thức 2 và công thức 3 đã có sự sai khác ở mức có ý nghĩa ở mức $LSD_{0,05}$. Tuy nhiên HLPT trong cùng công thức ở trên quả và trên lá gần tương đương với nhau.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Dịch chiết bạch đàn ở các nồng độ 5%; 10% và 15% đều có hiệu lực ức chế 100% sự nảy mầm của bào tử nấm *Alternaria sesami* sau 12 giờ xử lý. Sau 48 giờ hiệu lực ức chế của dịch chiết Bạch đàn ở các nồng độ lần lượt là 62,49; 84,02 và 85,61%.

Dịch chiết Bạch đàn nồng độ 15% có hiệu lực phòng trừ bệnh đốm nâu chanh leo (vườn từ 6 tháng đến 1 năm tuổi) đạt 51,8 - 63,93%.

4.2. Đề nghị

Nghiên cứu kỹ thuật tách chiết và sử dụng dịch chiết bạch đàn để tạo cơ sở khoa học trong việc sản xuất chế phẩm sinh học phòng chống bệnh đốm nâu hại chanh leo do nấm *A. sesami* gây ra tại Nghệ An và các vùng trồng khác tại Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abo - El- Seoud, M.A., Sarhan, M.M., Omar, A.E. and Helal, M.M (2005), *Bioside formulation of essential oils having antimicrobial activity*. Archiv. Phytopathol. Plant Protection 38: 175 - 184.
2. Cục Trồng trọt, Bộ NN&PTNT (2019), *Báo cáo về tình hình sản xuất chanh leo ở Việt Nam*.
3. Võ Thị Dung, Hà Việt Cường, Hà Minh Thanh và Đỗ Duy Hưng (2019), “Định danh loài *Alternaria sesami* gây bệnh đốm nâu chanh leo tại Nghệ An”, Tạp chí Bảo vệ thực vật, số 4, tr 39 - 49.
4. Nguyễn Tuấn Lộc, Nguyễn Huy Khánh, Hà Việt Cường, Nguyễn Văn Liêm, Võ Thị Dung và cs. (2017), *Kết quả nghiên cứu bước đầu về thành phần sâu, bệnh hại cây chanh leo tại huyện Quế Phong, tỉnh Nghệ An*, Tạp chí BVTV tr 17 - 26.
5. Masoud Zaker (2013), *Screening Some Medicinal Plant Extracts Against Alternaria sesami, the Causal Agent of Alternaria Leaf Spot of sesame, Shahrood agricultural research center, Shahrood, Iran*.
6. Morales FJ, Lozano I, Arroyave J, Velasco AC, Varon F (2002), Partial characterization of a Tymovirus infecting passion fruit in Colombia, South America. Journal of Phytopathology 150, 292 - 296.
7. M. Zaker and H. Mosallanejad, (2010), Antifungal Activity of Some Plant Extracts on *Alternaria alternata*, the Causal Agent of *Alternaria* Leaf Spot of Potato. Pakistan Journal of Biological Sciences, 13: 1023 - 1029.
8. Sale PR, Alexander G (1986), *Passionfruit diseases and pests: biology, damage, control*. AgLink HPP321: 4 p. New Zealand Ministry of Agriculture and Fisheries, Media Services.
9. Yong Phil Choi, Narayan Chandra Paul, Hyang Burm Lee, and Seung Hun Yu. Field transmission efficiency of *Alternaria sesami* in Sesame from infected seed. The Korean Society of Mycology 2014:405 - 408.

XÁC ĐỊNH LIỀU LƯỢNG BANJO FORTE 400SC PHÒNG TRỪ HIỆU QUẢ BỆNH MỐC SƯƠNG DO *Phytophthora infestans* GÂY RA TRÊN CÂY RAU HỌ CÀ

Nguyễn Phi Dũng¹, Nguyễn Lệnh Đồng¹, Vũ Đức Cường¹

¹Chi cục Trồng trọt và Bảo vệ thực vật tỉnh Lâm Đồng

TÓM TẮT

Bệnh mốc sương do nấm *Phytophthora infestans* gây ra là bệnh hại rất quan trọng trên cây họ Cà *Solanaceae* trên phạm vi toàn cầu. Ở tỉnh Lâm Đồng bệnh có khả năng gây thiệt hại 100% năng suất cà chua và khoai tây nếu nguồn bệnh không kiểm soát hiệu quả. Các thí nghiệm được thực hiện từ tháng 8 - 11/2020 tại tỉnh Lâm Đồng nhằm xác định liều lượng Banjo forte 400SC sử dụng phòng trừ hiệu quả bệnh mốc sương trên cây cà chua, khoai tây. Mỗi thí nghiệm gồm 5 nghiệm thức được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên, 3 lần lặp lại, diện tích ô cơ sở là 30 m². Kết quả thí nghiệm cho thấy sau 2 lần phun Banjo forte 400SC với lượng từ 1,0 - 1,25 lít/ha/lần, cách nhau 5 ngày đã kiểm soát hiệu quả 80 - 85% bệnh mốc sương gây hại trên lá cà chua và khoai tây so với đối chứng

Từ khóa: bệnh mốc sương, Banjo forte 400SC, cây cà chua và khoai tây.

ABSTRACT

Determination of Banjo forte 400SC applied doses which controlled efficiently late blight disease caused by *Phytophthora infestans* on solanaceae

Late blight disease which caused by the *Phytophthora infestans* species was a so important disease on *Solanaceae* family crops in the world. In Lam Dong province of Vietnam, the disease was able to lose about 100% tomato and potato yield when the pathogen was not prevented successfully. Experiments were carried out from August to November 2020 in Lam Dong province to find out the dosage of Banjo forte 400SC that prevented effectively this disease. Experiments were conducted in completely randomized block design with 5 treatments and 3 replications. Plot size was 30 m². Results showed that Banjo forte 400SC was applied from 1.0 - 1.25 l/ha/once to spray on foliage with 2 times in 5 days intervals provide 80 - 85% disease control compared with untreated control.

Keywords: late blight disease, Banjo forte 400SC, tomato, potato.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh mốc sương là bệnh hại quan trọng bậc nhất đối với cây cà chua và khoai tây trên thế giới (Son và cs., 2008), hàng năm gây thiệt hại trên 5 tỷ USD vì thế bệnh được quan tâm như là một mối đe dọa đến an ninh lương thực toàn cầu (Latijnhouwers và cs., 2004). Ở Mỹ bệnh gây thiệt hại 7% năng suất cà chua và 3,5% năng suất khoai tây trong hơn 2 thập niên gần đây (Marcin và cs., 2014), ở Ethiopia bệnh là nguyên nhân gây thiệt hại khoảng 31 - 100% năng suất cà chua và khoai tây (HARC, 2007). Thuốc trừ bệnh tổng hợp vẫn có vai trò quan trọng trong chiến lược phòng trừ bệnh mốc sương trên cây họ Solanaceae, số lần phun thuốc trừ bệnh thường được áp dụng từ 7 - 20 lần tùy thuộc vào thời tiết, áp lực nguồn bệnh và giống trồng (Cooke và cs., 2011).

Ở Việt Nam, Lâm Đồng là tỉnh có diện tích trồng cây cà chua, khoai tây lớn nhất cả nước, với diện tích canh tác hàng năm khoảng trên 8.000 ha, sản lượng khoảng trên 400.000 tấn. Do điều kiện đất đai và khí hậu thuận lợi nên cây cà chua, khoai tây được trồng thâm canh liên tục từ nhiều năm qua. Điều này đã góp phần tạo điều kiện để nguồn dịch hại tích lũy, phát triển và gây hại ngày càng nghiêm trọng, nhất là bệnh mốc sương do nấm *Phytophthora infestans*. Bệnh có khả năng gây thiệt hại 100% năng suất cà chua và khoai tây nếu nguồn bệnh không kiểm soát tốt.

Cho đến nay, các loại hóa chất trừ nấm vẫn được nông hộ sử dụng rất phổ biến và thường xuyên trong phòng trừ bệnh hại trên cây cà chua và khoai tây,

chủ yếu là bệnh mốc sương. Để đa dạng chủng loại thuốc trừ nấm bệnh mốc sương nhằm đáp ứng nhu cầu cấp thiết từ sản xuất cà chua, khoai tây ở Việt Nam, bài báo này giới thiệu các kết quả thí nghiệm xác định liều lượng Banjo forte 400SC sử dụng phòng trừ hiệu quả bệnh mốc sương trên cây cà chua, khoai tây.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu thí nghiệm

- Các vật liệu thiết yếu: Bình bơm thuốc BVTV chuyên dụng 16 lít, thuốc trừ nấm bệnh Banjo forte 400SC của ADAMA Việt Nam.

- Giống cà chua thí nghiệm: Rita, mật độ trồng 35.000 cây.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thời gian và địa điểm thí nghiệm

- Thời gian thực hiện: Từ tháng 8 - 11/2020.

- Địa điểm thí nghiệm: Các thí nghiệm được thực hiện tại tỉnh Lâm Đồng, cụ thể huyện Đức Trọng và Đơn Dương đối với cây cà chua, TP. Đà Lạt và huyện Đức Trọng đối với cây khoai tây.

2.2.2. Phương pháp thí nghiệm

- Phương pháp bố trí: Mỗi đối tượng cây trồng được thực hiện với 3 thí nghiệm tương tự nhau, mỗi thí nghiệm gồm 5 nghiệm thức được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên (RCBD), 3 lần lặp lại, diện tích ô cơ sở là 30 m², dải bảo vệ và cách ly là 1 luống cà chua hoặc khoai tây. Các nghiệm thức gồm:

Ký hiệu	Nghiệm thức	Tên hoạt chất	Liều lượng sử dụng	
			Hoạt chất (g/ha/lần)	Thương phẩm (lít/ha/lần)
NT1	Banjo forte 400SC		150 + 150	0,75
NT2	Banjo forte 400SC	Dimethomorph + Fluazinam	200 + 200	1,00
NT3	Banjo forte 400SC		250 + 250	1,25
NT4	Thuốc đối chứng	Fluopicolide + Propamocarb	62,5 + 625	1,00
NT5	Đối chứng		Phun nước lã	

Ghi chú: NT là nghiệm thức.

- *Phương pháp xử lý thuốc:* Thực hiện 2 lần phun thuốc cách nhau 5 ngày, lần đầu tiên phun khi bệnh mới xuất hiện (tỷ lệ lá bệnh 5 - 7%). Dung dịch thuốc ở mỗi liều lượng thí nghiệm được phun ướt đều bộ lá của cây vào buổi chiều mát với lượng 600 lít/ha/lần.

- *Phương pháp điều tra bệnh hại:* Mỗi ô nghiệm thức chọn ngẫu nhiên 05 điểm trên 2 đường chéo góc cách mép ngoài ô tối thiểu 1m trước khi cố định điểm điều tra. Tại mỗi điểm điều tra 2 cây, trên mỗi cây quan sát và ghi nhận tổng số lá chết và số lá chết bị bệnh theo thang phân cấp ở dưới.

- *Chỉ tiêu điều tra:*

+ Tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh trước và 5 ngày sau phun lần 1, 5 và 10 ngày sau phun thuốc lần 2.

+ Hiệu lực của thuốc trên lá tại các thời điểm: 5 ngày sau phun lần 1 và 5, 10 ngày sau phun lần 2.

- *Các công thức tính:*

+ Tỷ lệ bệnh trên lá (%) = (Số lá bị bệnh/Tổng số lá điều tra) × 100

+ Chỉ số hại (CSH) được tính theo công thức của Townsend - Heuberger:

$$CSH(\%) = \frac{\sum(a.b)}{N.T} \cdot 100$$

Trong đó: $\Sigma(a.b)$: Tổng của tích số lá bị hại với cấp hại tương ứng

N: Tổng số lá điều tra

T: Cấp hại cao nhất trong bảng phân cấp

- *Thang phân cấp bệnh như sau:*

Cấp 1: ≤ 5% diện tích lá bị hại

Cấp 2: > 5 - 10% diện tích lá bị hại

Cấp 3: > 10 - 25% diện tích lá bị hại

Cấp 4: > 25 - 50% diện tích lá bị hại

Cấp 5: > 50% diện tích lá bị hại

- Hiệu lực của thuốc được tính theo công thức Henderson - Tilton:

$$\text{Hiệu lực (\%)} = \left[1 - \left(\frac{Ta}{Tb} \times \frac{Cb}{Ca} \right) \right] \times 100$$

Trong đó: Ta: Chỉ số bệnh trong ô thí nghiệm sau xử lý.

Tb: Chỉ số bệnh trong ô thí nghiệm trước xử lý.

Cb: Chỉ số bệnh trong ô đối chứng trước xử lý.

Ca: Chỉ số bệnh trong ô đối chứng sau xử lý.

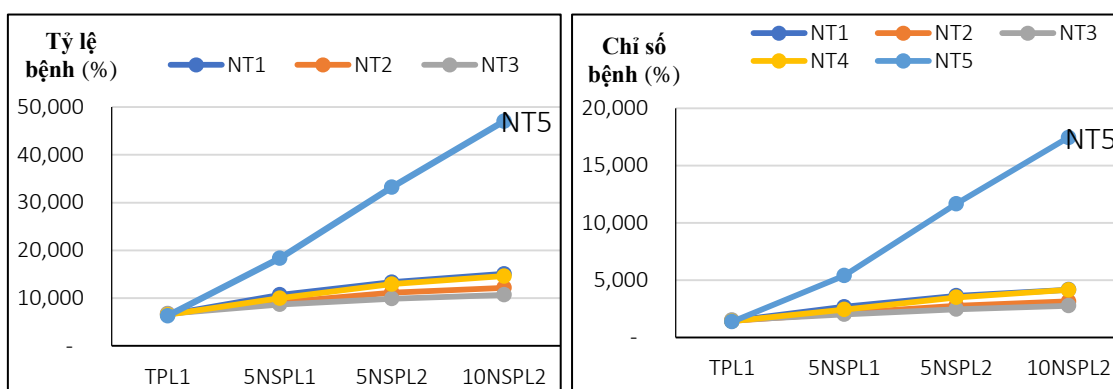
- *Xử lý số liệu:* Phần mềm thống kê SAS 9.1 để phân tích ANOVA và trắc nghiệm LSD (Least Significant Difference) ở mức ý nghĩa 95%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả thí nghiệm phòng trừ bệnh mốc sương trên cây cà chua tại tỉnh Lâm Đồng

Sự gây hại của bệnh mốc sương trên lá cây cà chua ở các nghiệm thức phun thuốc trừ nấm Banjo forte 400SC (NT1, NT2, NT3) và thuốc đối chứng (NT4)

diễn tiến ở mức thấp hơn rất rõ ràng so với nghiệm thức đối chứng không phun thuốc (NT5) ở tất cả các thời điểm theo dõi từ sau phun thuốc đến kết thúc theo dõi (TPL1 đến 10 NSPL2). Trong khi đó, sự gia tăng mức độ bệnh hại giữa các nghiệm thức phun thuốc khá tương đương nhau ở cùng thời điểm theo dõi từ sau phun (hình 1).



Hình 1. Tỷ lệ và chỉ số bệnh mốc sương trên cây cà chua vụ mùa mưa tại tỉnh Lâm Đồng

(TPL1 là trước phun lần 1; NSPL1 là ngày sau phun lần 1; NSPL2 là ngày sau phun lần 2; NT là nghiệm thức; Giá trị tỷ lệ và chỉ số bệnh là giá trị trung bình của 3 thí nghiệm)

Hiệu lực phòng trừ bệnh mốc sương trên cây cà chua của các nghiệm thức phun thuốc trừ nấm không cao (dưới 70%) ở thời điểm 5 ngày sau phun lần thứ 1 (NSPL1). Sau đó hiệu lực tăng mạnh từ thời điểm 5 ngày sau phun lần 2

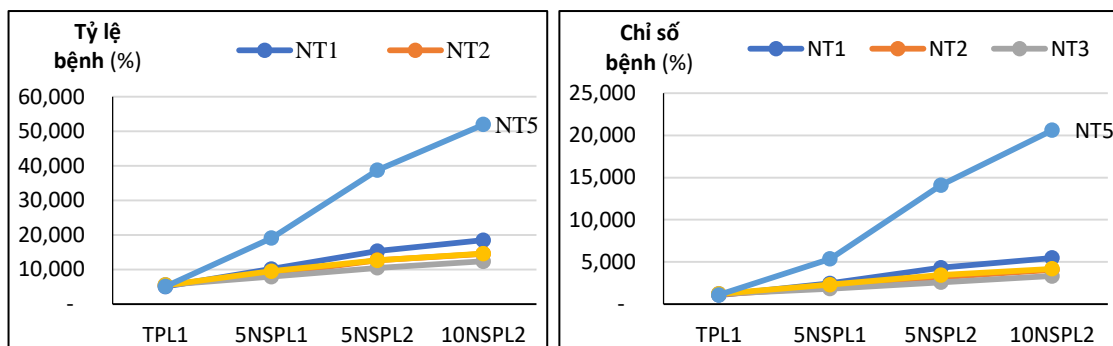
(NSPL2) đến kết thúc theo dõi (10 NSPL2). Trong đó, NT2 và NT3 có hiệu lực phòng trừ bệnh mốc sương trên lá cà chua khoảng 77 - 86%, cao hơn có ý nghĩa thống kê ở mức 95% so với NT1 và NT4 (bảng 1).

Bảng 1. Hiệu lực phòng trừ bệnh mốc sương trên cây cà chua vụ mùa mưa tại tỉnh Lâm Đồng

Nghiệm thức	Hiệu lực (%)		
	5 NSPL1	5 NSPL2	10 NSPL2
NT1	50,50 ^c	69,55 ^b	76,62 ^b
NT2	61,27 ^{ab}	76,94 ^a	82,48 ^a
NT3	65,07 ^a	80,55 ^a	85,46 ^a
NT4	54,73 ^{bc}	70,09 ^b	76,12 ^b
CV (%)	6,57	2,82	2,80
LSD _{0,05}	7,60	4,18	4,49

Ghi chú: Các giá trị trong cột theo sau bởi cùng ký tự khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua trắc nghiệm phân hạng LSD ở mức ý nghĩa 95%; NT là nghiệm thức; NSPL1 và 2 là ngày sau phun lần 1 và 2. Giá trị hiệu lực là giá trị trung bình của 3 thí nghiệm.

3.2. Kết quả thí nghiệm phòng trừ bệnh mốc sương trên cây khoai tây tại tỉnh Lâm Đồng



Hình 2. Tỷ lệ và chỉ số bệnh mốc sương trên cây khoai tây vụ mùa mưa tại tỉnh Lâm Đồng (TPL1 là trước phun lần 1; NSPL1 là ngày sau phun lần 1; NSPL2 là ngày sau phun lần 2; NT là nghiệm thức. Giá trị tỷ lệ và chỉ số bệnh là giá trị trung bình của 3 thí nghiệm)

Trên cây khoai tây ở các nghiệm thức, sự gây hại của bệnh mốc sương trên lá giữa nghiệm thức không phun thuốc (NT5) và các nghiệm thức phun thuốc (NT1, NT2, NT3 và NT4) cũng diễn tiến tương tự như trên cây cà chua. Nhưng,

diễn tiến của bệnh ở các nghiệm thức phun thuốc có xu hướng mạnh dần theo thứ tự NT3, NT4, NT2 và NT1, trong khi diễn tiến của bệnh trên cây cà chua có sự thay đổi thứ tự giữa NT2 và NT4 (hình 2 và hình 1).

Bảng 2. Hiệu lực phòng trừ bệnh mốc sương trên cây khoai tây vụ mùa mưa tại tỉnh Lâm Đồng

Nghiệm thức	Hiệu lực (%)		
	5 NSPL1	5 NSPL2	10 NSPL2
NT1	52,80 ^c	69,50 ^c	73,80 ^c
NT2	61,52 ^{ab}	77,38 ^b	80,63 ^b
NT3	67,10 ^a	82,47 ^a	84,82 ^a
NT4	58,51 ^b	76,28 ^b	80,46 ^b
CV (%)	6,76	2,69	2,13
LSD _{0,05}	8,10	4,10	3,41

Ghi chú: Các giá trị trong cột theo sau bởi cùng ký tự khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua trắc nghiệm phân hạng LSD ở mức ý nghĩa 95%; NT là nghiệm thức; NSPL1 và 2 là ngày sau phun lần 1 và 2. Giá trị hiệu lực là giá trị trung bình của 3 thí nghiệm.

Hiệu lực phòng trừ bệnh mốc sương trên lá khoai tây của các nghiệm thức phun thuốc cũng đạt mức dưới 70% ở thời điểm 5 ngày sau lần phun thứ nhất. Sau lần phun thứ 2, hiệu lực phòng trừ bệnh ở các nghiệm thức NT2, NT3, và NT4 ở mức 76 - 85% từ thời điểm 5 - 10 NSPL2.

Trong đó, NT3 có hiệu lực đạt 82 - 85% cao hơn có ý nghĩa thống kê ở mức 95% so với các nghiệm thức khác, kể đến là NT2 và NT4 có hiệu lực đạt 76 - 80% cao hơn có ý nghĩa thống kê ở mức 95% so với NT1 (bảng 2).

Như vậy, sau 2 lần phun thuốc cách nhau 5 ngày, các nghiệm thức phun Banjo forte 400SC (Dimethomorph 200 g/l + Fluazinam 200 g/l) với lượng từ 1,0 - 1,25 lít/ha/lần có khả năng kiểm soát hiệu quả 77 - 86% bệnh mốc sương gây hại trên lá cà chua và khoai tây trong điều kiện mùa mưa tại tỉnh Lâm Đồng. Trước đó Dowley và Neville (2001) đã báo cáo rằng hoạt chất Dimethomorph và Fluazinam có khả năng kiểm soát tốt bệnh mốc sương trên cây khoai tây và làm giảm chỉ số bệnh ở mức có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng không phun thuốc. Schepers và cs. (2018) cũng báo cáo rằng Banjo forte (Dimethomorph 200 g/l + Fluazinam 200 g/l) với liều lượng sử dụng 1 lít/ha/lần cũng cho khả năng kiểm soát hiệu quả bệnh mốc sương do nấm *Phytophthora infestans* gây ra trên cây khoai tây tại Hà Lan. Trong thí nghiệm này, Banjo forte 400SC với lượng từ 1,0 - 1,25 lít/ha/lần cũng cho thấy kiểm soát rất hiệu quả đối với bệnh mốc sương trên cây cà chua và khoai tây tại Lâm Đồng. Sự kiểm soát hiệu quả bệnh mốc sương trên cây cà chua và khoai tây của Banjo forte 400SC là do Fluazinam ngăn chặn quá trình tái tạo năng lượng của tế bào nguồn bệnh do làm gián đoạn quá trình oxy hóa Phosphoryl (Schepers và cs., 2018) trong khi Dimethomorph thấm sâu vào tế bào mô cây và ức chế sự phát triển của sợi nấm (Matheron và Porchas, 2000).

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Thực hiện 2 lần phun Banjo forte 400SC với lượng 1 - 1,25 lít/ha/lần cách nhau 05 ngày khi bệnh mới xuất hiện có khả năng phòng trừ rất hiệu quả bệnh mốc sương cà chua và khoai tây trong điều kiện mùa mưa tại tỉnh Lâm Đồng.

4.2. Đề nghị

Bổ sung Banjo forte 400SC vào danh mục các loại thuốc phòng trừ bệnh mốc sương trong quy trình kỹ thuật sản xuất cà chua, khoai tây của tỉnh Lâm Đồng để khuyến cáo nông hộ áp dụng vào sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cooke L.R., Schepers T.A.M.H., Hermansen A., Bain R.A., Bradshaw N.J.T., Wander J.G.N., Anderson B., Hansen J.G., Hannukkala A., and Nielsen B.J. (2011), Epidemiology and integrated control of potato late blight in Europe. *Potato research*, 54:183 - 222.
2. Dowley J.L. and Neville T. (2001), *Efficacy evaluation of fungicide programmes for the control of Late Blight in potatoes*. Teagasc. ISBN 1 84170 271 4.
3. HARC (2007), Impact of farmer's selected IDM options on potato late blight control and yield. *African Crop Science Conference Proceedings*, 8: 2091 - 2094.
4. Latijnhouwers M., Ligterink W., Vleeshouwers V.G., Vanwest P., and Govers F. (2004), A Ga subunit controls zoospore mobility and virulence in the potato late blight pathogen *Phytophthora infestans*. *Molecular Microbiology*, 51: 925 - 936.
5. Matheron M.E., and Porchas M. (2000), Impact of Azoxystrobin, Dimethomorph, Fluazinam, Fosetyl-Al, and Metalaxyl on growth, sporulation, and zoospore cyst germination of three *Phytophthora* spp. *Plant Dis.* 84:454 - 458.
6. Nowicki M., Foolad R.M., Nowakowska M., and Kozik U.E. (2012), Potato and Tomato late blight caused by *Phytophthora infestans*: An overview of pathology and resistance breeding. *Plant disease*, 96 (1): 4
7. Schepers T.A.M.H., Kessel J.G., Forch G.M., Van de Bosch B.M.G., Lucca F., Topper G.C., and Evenhuis A. (2018), Reduced efficacy of Fluazinam against *Phytophthora infestans* in the Netherlands. *Eur. J Plant Pathol* 151: 947 - 960.
8. Son S.W., Kim H.Y., Choi G.J., Lim H.K., Jang K.S., Lee S.O., Sung N.D., and Kim J.C. (2008), Bikaverin and fusaric acid from *Fusarium oxysporum* show antioomycete activity against *P. infestans*. *Journal of Applied Microbiology*, 104:692 - 698.

HIỆU QUẢ QUẢN LÝ BỆNH CHÁY LÁ KHOAI MÔN CỦA CHẾ PHẨM XẠ KHUẨN *Streptomyces* sp. AP4 ĐỐI KHÁNG TRIỂN VỌNG Ở ĐIỀU KIỆN PHÒNG THÍ NGHIỆM VÀ NHÀ LƯỚI

Nguyễn Phú Dũng¹, Văn Viễn Lương¹,
Lê Minh Tường², Chế Lý Hùng³

¹Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học An Giang,
Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh

²Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

³Công ty Nicotex

TÓM TẮT

Đề tài được thực hiện nhằm đánh giá được khả năng đối kháng của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (AP 4) với nấm *Phytophthora* sp. gây bệnh cháy lá trên cây khoai môn trong chế phẩm tốt nhất. Kết quả ở điều kiện phòng thí nghiệm chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (AP 4) có khả năng đối kháng với nấm *Phytophthora* sp. sau 7 ngày tồn trữ tốt nhất ở chế phẩm MS 2% có mật số xạ khuẩn $1,184 \times 10^6$ cfu/ml, bán kính vòng vô khuẩn 14,38 - 23,88 mm và hiệu suất đối kháng 47,92 - 64,9% từ 2 - 6 ngày sau chủng bệnh (NSCB). Kết quả thí nghiệm ở điều kiện nhà lưới cho thấy khả năng phòng trị bệnh cháy lá trên khoai môn của thuốc Mancozeb tốt nhất và cao hơn so với chế phẩm MS 2%, Cám 2%, nhưng ở chế phẩm Bắp 2% có hiệu quả thấp nhất trong suốt 4 - 13 NSCB thông qua tỉ lệ bệnh, chỉ số bệnh, hiệu quả giảm bệnh và chỉ số diện tích dưới đường cong tiến triển bệnh.

Từ khóa: bệnh cháy lá khoai môn, *Streptomyces* sp. (AP 4), chế phẩm MS 2%, cám 2% và bắp 2%.

ABSTRACT

The objectives of study were to determine the cultural factors effect on the Actinimycetes isolates therefore establish a procedure to create biological product for management of leaf blight disease on taro caused by *Phytophthora* sp. fungus. In laboratory conditions, the results indicated that *Streptomyces* sp. (AP4) were againted the best to *Phytophthora* sp. after 7 days of storage in MS 2% medium, it had a antagonistic bacteria density of 1.184×10^6 CFU/ml, inhibition zone of 14.38 - 23.88 mm and an antagonistic efficacy of 47.92 - 64.9% at 2 - 6 days after inoculation (dai). In the greenhouse conditions, the results showed that the ability to control leaf blight on taro

disease of Mancozeb 80WP pesticide was the best and higher than that of MS 2% and Bran 2% formulation, but the lowest efficiency in Corn 2% medium during 4 - 13 dai through disease incidence, disease index, disease reduction effectiveness and area under disease progress curve.

Keywords: leaf blight disease on taro, *Streptomyces* sp. (AP4), MS 2% medium, Bran 2% medium and Corn 2% medium.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam là quốc gia có điều kiện tự nhiên thuận lợi cho việc phát triển cây khoai môn (*Colocasia esculenta*). Năm 2012, tổng diện tích các loại cây có củ (trong đó có khoai môn - sọ) của cả nước đạt 741,3 nghìn ha (Trần Phương Dinh, 2019). Tuy nhiên, khoai môn cũng có nhiều mầm bệnh và côn trùng tấn công như bệnh cháy lá, bệnh khảm lá, sâu khoang, nhện đỏ, rệp bông... làm ảnh hưởng đến năng suất. Trong đó, bệnh cháy lá khoai môn do nấm *Phytophthora colocasiae* gây ra thiệt hại đáng kể, nếu bị bệnh cháy lá nặng có thể giảm đến 50% năng suất (Nguyễn Phi Hùng, 2010). Thuộc nhóm vi sinh vật có lợi, dòng xạ khuẩn *Streptomyces* đang được chú trọng trong phòng trừ sinh học bệnh cây, chúng có khả năng ức chế mầm bệnh với nhiều cơ chế như: tiết kháng sinh, sự tiêu sinh, cộng sinh và kí sinh... Xạ khuẩn có khả năng tiết ra các enzyme ngoại bào như: chitinase (Nguyễn Thành Thủ, 2017), glucanase, β -1,3-glucanase có thể ức chế được với nhiều mầm bệnh. Các chất kháng sinh do dòng xạ khuẩn sinh ra như: streptomycin, chloramphenicol, oreomycin, teramycin, tetracyclin,... thuộc nhóm tetracyclines, macrolides và aminoglycosides (Trần Thị Xuân An, 2009); 80% chất kháng sinh hiện có đều được sản xuất từ *Streptomyces*, một chi quan trọng của xạ khuẩn (Watve *et al.*,

2001). Đã có nhiều kết quả nghiên cứu về sử dụng xạ khuẩn để kiểm soát bệnh hại cây trồng do nấm gây ra như bệnh thối thân trên mè do nấm *Phytophthora nicotianae* gây ra (Phạm Công Hưởng, 2013), bệnh cháy lá thối thân trên sen do nấm *Phytophthora* sp. gây ra (Lê Văn Tiến, 2015). Điều này chứng tỏ xạ khuẩn có tiềm năng rất lớn và cần có những nghiên cứu sâu hơn về nhóm vi sinh vật này để phòng trừ bệnh cháy lá trên khoai môn do nấm *Phytophthora* sp. gây ra nên đề tài cần được thực hiện.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chuẩn bị nguồn vật liệu

Nguồn nấm *Phytophthora* sp. được phân lập từ các mẫu bệnh tại huyện An Phú (An Giang) và định danh dựa trên đặc điểm hình thái theo miêu tả của Nguyễn Phi Hùng (2010).

Nguồn xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (AP4) đã được phân lập theo phương pháp Hsu and Lockwood (1975) từ các mẫu đất ở huyện An Phú (An Giang), định danh đặc điểm hình thái theo phương pháp của Shirling and Gottlieb (1966) và đánh giá tính đối kháng với nấm *Phytophthora* sp. (Nguyễn Phú Dũng, 2019).

Các môi trường trong nuôi cấy và phân lập: Môi trường ISP-4 (Kuster,

1959), PDA (Shurfleff and Averre, 1997) và môi trường thạch agar.

Các loại chất mang (ché phẩm) nhân nuôi được tuyển chọn gồm Cám mịn 2%; Cùi Bắp 2% và MS (Manitol Soya Flour medium) - Đậu nành 2%. Quy trình tạo chất mang nhân nuôi được thực hiện dựa theo Vidhyasekaran and Muthamilan (1995).

2.2. Thí nghiệm 1: Khảo sát mật số và khả năng đối kháng trên đĩa thạch của xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (AP4) trong môi trường nuôi cấy (ché phẩm) sau thời gian tồn trữ 1 tuần

❖ **Mục tiêu nghiên cứu:** Xác định mật số và khả năng đối kháng trên đĩa thạch của xạ khuẩn *Streptomyces* sp. sau thời gian tồn trữ ở điều kiện phòng thí nghiệm.

❖ **Bố trí:** Ché phẩm ở từng loại chất mang được tồn trữ 1 tuần, sau đó tiến hành bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên và 4 lần lặp lại ở điều kiện phòng thí nghiệm, gồm các bước sau:

➤ Bước 1: Khảo sát mật số xạ khuẩn/ché phẩm

- **Pha loãng ché phẩm:** Cân 1g mẫu cho vào ống nghiệm chứa 9ml nước cất đã khử trùng và vortex để đồng nhất mẫu (mẫu ở độ pha loãng 10^{-1}). Mẫu được tiếp tục pha loãng thành các độ pha loãng 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} .

- **Trái đĩa:** Hút 50 μ l huyền phù xạ khuẩn đã được pha loãng về nồng độ thích hợp vào đĩa môi trường nutrient agar (WA) và trải đều lên bề mặt môi trường bằng que tam giác, sau đó ủ đĩa ở

30°C; sau 48 giờ, đếm số khuẩn lạc được hình thành.

➤ Bước 2: Chuẩn bị nấm

Phytophthora sp.

- Cấy nấm từ nguồn lên môi trường PDA.

- Sau 3 ngày cấy chuyển nấm sang môi trường PCA.

- Khi nấm được cấy ra môi trường PCA sau 7 ngày tiến hành cắt rãnh cho 2ml nước cất thanh trùng vào mỗi rãnh.

- Để đĩa nấm vào tủ với hệ thống chiếu đèn 12 giờ tối - 12 giờ sáng với nhiệt độ khoảng 25°C (nhiệt độ trong phòng cấy).

- Sau 7 ngày, quan sát trên kính hiển vi đến khi thấy xuất hiện động bào tử.

➤ Bước 3: Chuẩn bị huyền phù xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (AP4)

- Chủng xạ khuẩn được nuôi nhân mật số trong đĩa petri chứa môi trường MS trong 5 - 7 ngày, tiến hành bơm 3ml nước cất đã được thanh trùng vào đĩa, dùng lam vô trùng để cạo và thu huyền phù, lược huyền phù thu được bằng vải lược thanh trùng, thu được dung dịch gốc.

- Pha loãng và chà dung dịch gốc vào đĩa Petri chứa 10ml môi trường MS. Dựa vào số khuẩn lạc hình thành trên đĩa ở mỗi nồng độ pha loãng sau 48 giờ, suy ra mật số bào tử sống ở huyền phù ban đầu. Thực hiện phương pháp pha loãng để thu huyền phù xạ khuẩn ở mật số 10^8 cfu/ml.

➤ Bước 4: Khảo sát khả năng đối kháng

- Dùng dụng cụ đục lỗ đường kính 5 mm đục lấy khoanh nấm từ đĩa nguồn

chuyển vào đĩa petri chứa 10 ml môi trường PDA.

- Đặt khoanh giấy thấm ($\phi = 5$ mm) vào huyền phù xạ khuẩn đã chuẩn bị và dùng nhíp kẹp khoanh giấy thấm đưa lên thành để ráo. Đặt khoanh giấy thấm đối chứng (nước cất) đối diện với khoanh nấm *Phytophthora* sp. và cách thành đĩa 1 cm.

- Đĩa petri được đặt trong điều kiện nhiệt độ phòng.

- Theo dõi và đánh giá khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với nấm bằng cách đo bán kính vòng vô khuẩn trong thời gian 2, 4 và 6 ngày sau thí nghiệm.

❖ **Ghi nhận chỉ tiêu:**

- **Mật số của xạ khuẩn *Streptomyces* sp./Chất mang nhân nuôi (chế phẩm):** Mỗi loại chế phẩm khác nhau ở mỗi đĩa được lặp lại 4 lần. Số liệu mật số xạ khuẩn là giá trị trung bình của 4 lần lặp lại.

- **Đánh giá khả năng đối kháng của chủng xạ khuẩn với nấm bệnh:** Bằng cách đo bán kính vòng vô khuẩn (BKVVK) trong thời gian 2, 4 và 6 ngày sau bố trí. Bán kính vòng vô khuẩn được đo ở mặt sau đĩa petri từ điểm ngoài cùng của bì khuẩn lạc đến điểm lan cuối cùng của vòng vô khuẩn. Số liệu BKVVK là giá trị trung bình của 4 lần lặp lại. Tính hiệu suất đối kháng (HSDK) theo Moayedı and Mostowfizadeh-ghalamfarsa (2009):

$$\text{HSDK \%} = \frac{\text{BKKL}_{\text{đc}} - \text{BKKL}_{\text{xk}}}{\text{BKKL}_{\text{đc}}} \times 100\%$$

Trong đó: BKKL_{đc}: Bán kính tán nấm phát triển về phía đối chứng.
BKKL_{xk}: Bán kính tán nấm phát triển về phía xạ khuẩn.

2.3. Thí nghiệm 2: Khảo sát khả năng phòng trị bệnh cháy lá thối củ khoai môn của xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (AP4) trong môi trường nuôi cấy (chế phẩm) sau thời gian tồn trữ 1 tuần ở điều kiện nhà lưới

2.3.1. Mục tiêu nghiên cứu

Xác định khả năng làm giảm bệnh cháy lá thối củ khoai môn trong điều kiện nhà lưới của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. trong môi trường nhân nuôi (chế phẩm).

2.3.2. Phương pháp tiến hành

- Bước 1: Chuẩn bị cây khoai môn

Giống khoai môn là giống khoai lùn, sạch bệnh, củ giống đường kính 3 - 4 cm có khối lượng 20 - 30 g không thối hoặc khô, lớp vỏ ngoài có nhiều lông. Ngâm củ giống trong thau nước ngập xấp xỉ, có xử lý thuốc trừ nấm trong vòng 12 giờ, sau đó rửa cho sạch, trải bao bố nơi mát tránh bị mưa rồi trùm bao lên củ giống thời gian 1 - 3 ngày. Chuẩn bị liếp ươm, rải tro trấu, rải củ đều lên mặt liếp sau đó phủ lớp tro trấu trên mặt (tro trấu và đất đã được thanh trùng từ trước). Sau 10 - 12 ngày lấy ra trồng vào chậu. Mỗi chậu trồng 2 cây.

- Bước 2: Chuẩn bị nguồn nấm bệnh (thí nghiệm 1)

- **Bước 3: Chuẩn bị huyền phù xạ khuẩn (thí nghiệm 1):** Chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (AP4) sau khi được tồn trữ 1 tuần trong các túi chế phẩm sẽ được đem ra pha loãng với tỉ lệ 100 ml nước cất/1 g môi trường nhân nuôi (chế phẩm) chứa xạ khuẩn.

- Bước 4: Chủng bệnh nhân tạo:

Cây khoai môn trồng được 1 tháng thì tiến hành chủng bệnh nhân tạo. Đầu tiên, di chuyển tất cả các chậu cây vào phòng ủ bệnh. Tiến hành phun 10ml huyền phù chứa bào tử nấm *Phytophthora* sp. (5×10^4 cfu/ml) đã chuẩn bị lên lá khoai môn của mỗi chậu. Các chậu được che tối hoàn toàn bằng tấm nilon đen, ở nhiệt độ 25°C. Sau đó, 24 giờ đem các chậu cây ra ngoài điều kiện bình thường, thực hiện tưới phun sương, tiến hành quan sát và ghi nhận triệu chứng.

- Bước 5: Tiến hành thí nghiệm 2

+ Tiến hành phun lên tán lá của các cây Khoai môn ở mỗi chậu 10ml huyền phù xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (AP4) 10^8 cfu/ml và 10ml dung dịch thuốc hóa học đặc trị Mancozeb 80WP được chọn áp dụng phòng trừ nấm *Phytophthora* sp., trong đó thời điểm phun xịt giai đoạn 1 ngày trước và sau khi chủng bệnh.

+ Thí nghiệm 2 được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 6 nghiệm thức (bảng 1) và 4 lần lặp lại ở nhà lưới Đại học An Giang. Mỗi chậu khoai được xử lý với mỗi loại chế phẩm chứa chất mang khác nhau được tính là một nghiệm thức.

Bảng 1. Các nghiệm thức xử lý ở điều kiện nhà lưới

TT	Nghiệm thức	Nồng độ	Thời điểm phun xịt (ngày)
1	MS 2%		
2	Cám 2%	10ml dd (mật số 10^8 cfu/ml)/cây	Phun giai đoạn trước và sau khi chủng bệnh 1 ngày
3	Bắp 2%		
4	Thuốc Mancozeb 80WP	50g/25l	
5	ĐC (+) - Chủng bệnh	10ml/cây	Chủng nấm <i>Phytophthora</i> sp., phun nước cất
6	ĐC (-) - Không chủng bệnh	---	Không chủng nấm <i>Phytophthora</i> sp., phun nước cất

- Chỉ tiêu theo dõi: Ghi nhận mức độ gây hại của nấm *Phytophthora* sp. trên cây khoai ở các thời điểm 4, 7, 10 và 13

ngày sau thí nghiệm theo qui chuẩn ghi nhận bệnh của Little and Hills (1978):

o Tỷ lệ bệnh (TLB)(%) = $\left(\frac{\text{Số mẫu bệnh}}{\text{tổng số mẫu quan sát}} \right) \times 100$

o Chỉ số bệnh (CSB): $CSB = \frac{\sum \text{Số cây bệnh ở mỗi cấp} \times \text{cấp bệnh tương ứng}}{\sum \text{Tổng số cây đánh giá} \times \text{cấp bệnh cao nhất}} \times 100$

o Hiệu quả giảm bệnh (HQGB): $HQGB (\%) = \frac{\text{TLB đối chứng} - \text{TLB xử lý}}{\text{TLB đối chứng}} \times 100$

Diện tích dưới đường cong tiến triển bệnh (AUDPC - Area Under

Disease Progress Curve): Thê hiện diễn biến bệnh theo thời gian trên mỗi nghiệm

thức được tính theo công thức Jeger and Viljanen-Rollinson (2001):

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} \left(\frac{R_{i+1} + R_i}{2} \right) (t_{i+1} - t_i)$$

Trong đó: R_i, R_{i+1} : Tỷ lệ trái bệnh trên cây vào thời điểm ghi nhận i và $i+1$.

t_i, t_{i+1} : Thời điểm ghi nhận i và thời điểm kế tiếp $i+1$ (ngày).

n : Tổng số lần theo dõi bệnh.

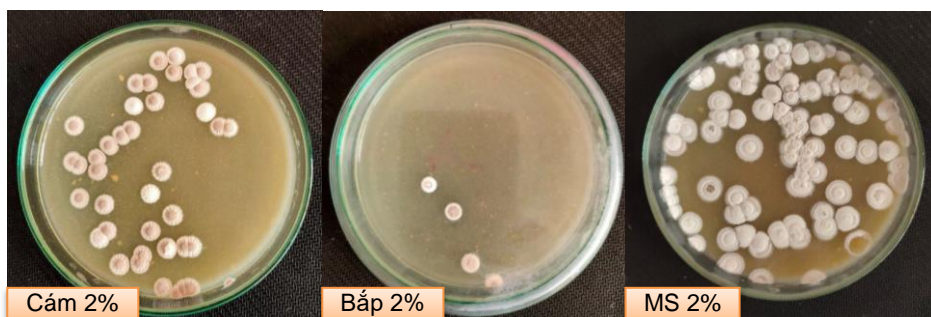
2.4. Xử lý số liệu

Số liệu khảo sát được phân tích thống kê bằng phần mềm SAS, sử dụng phân tích phương sai một chiều (One-way ANOVA), kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 5% để so sánh trung bình các nghiệm thức.

Bảng 2. Mật số của xạ khuẩn *Streptomyces sp. (AP4)* ở các chế phẩm khác nhau

Nghiệm thức	Mật số xạ khuẩn <i>Streptomyces sp. (AP4)</i>
MS 2%	$1,184 \times 10^{6a}$
Cám 2%	$0,83 \times 10^{6b}$
Bắp 2%	$0,03 \times 10^{6c}$
Mức ý nghĩa	**
CV (%)	6,7

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% qua phép kiểm định Duncan. **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.



Hình 1. Mật số xạ khuẩn *Streptomyces sp. AP4* trong các môi trường nuôi cấy ở thời điểm 5 NSK

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đối với chủng xạ khuẩn *Streptomyces sp. (AP4)* sau thời gian tồn trữ 1 tuần ở điều kiện phòng thí nghiệm

3.1.1. Mật số của xạ khuẩn trong môi trường nuôi cấy

Kết quả từ bảng 2 và hình 1 cho thấy mật số của chủng xạ khuẩn *Streptomyces sp. (AP4)* diễn biến ở các môi trường tồn trữ sau 7 ngày (1 tuần) như sau: Mật số xạ khuẩn ở nghiệm thức MS 2% đạt $1,184 \times 10^6$ cfu/ml, có khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức Cám 2% ($0,83 \times 10^6$ cfu/ml) và Bắp 2% có mật số xạ khuẩn là $0,03 \times 10^6$ cfu/ml, ở mức thấp nhất, kết quả này có thể Bắp 2% với thành phần kém tương thích hơn cho xạ khuẩn phát triển.

Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Phạm Tuấn Vũ (2015), trong các môi trường chất mang khảo sát mật số xạ khuẩn *Streptomyces helveticus* AG10 sau 1 tuần tồn trữ thì xạ khuẩn trên môi trường MS cho khả năng sinh bào tử tốt nhất, tiếp theo là đến môi trường Cám. Hơn nữa, môi trường chất mang bột đậu nành (MS) cũng là nguồn dinh dưỡng rất tốt cho sự phát triển của vi khuẩn (Nguyễn Thị Thu Nga, 2003; Dương Thị Nguyễn Quyên, 2008).

3.1.2. Khả năng đối kháng của xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (AP4) trong môi trường nuôi cấy trên đĩa thạch

3.1.2.1. Bán kính vô khuẩn

Kết quả được thể hiện cụ thể ở bảng 3 cho thấy trong cả 3 chế phẩm sau 1 tuần

tồn trữ đều có khả năng tạo ra bán kính vòng vô khuẩn với nấm *Phytophthora* sp. nhưng có sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% so với nghiệm thức Đ/C trong suốt 2 - 6 NSKC. Chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (AP4) ở chế phẩm MS 2% được giữ BKVK ở mức 14,38 - 23,88 mm cao nhất và khác biệt với các nghiệm thức còn lại và lần lượt ở chế phẩm Cám 2% (9,38 - 22,19 mm) và chế phẩm Bắp 2% (7,81 - 19,44 mm). Kết quả chứng tỏ chủng xạ khuẩn AP4 ở chế phẩm MS 2% sau 1 tuần tồn trữ có khả năng đối kháng với nấm *Phytophthora* sp. cao hơn so với ở chế phẩm Cám 2% và Bắp 2%. Kết quả trên cũng phù hợp với nghiên cứu của Đỗ Văn Thịnh (2017), các chủng xạ khuẩn đối kháng mạnh với nấm *Phytophthora* sp. có bán kính vòng vô khuẩn dao động từ 17 - 22 mm.

Bảng 3 & 4. Bán kính vòng vô khuẩn (BKVK) và hiệu suất đối kháng (%) của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (AP4)

Nghiệm thức	Bán kính vòng vô khuẩn (mm)			Nghiệm thức	Hiệu suất đối kháng (%)		
	2 NSKC	4 NSKC	6 NSKC		2 NSKC	4 NSKC	6 NSKC
MS 2%	23,88 ^a	18,88 ^a	14,38 ^a	MS 2%	64,90 ^a	62,92 ^a	47,92 ^a
Cám 2%	22,19 ^b	17,19 ^b	9,38 ^b	CÁM 2%	55,29 ^b	57,29 ^b	31,25 ^b
Bắp 2%	19,44 ^c	14,44 ^c	7,81 ^c	BẮP 2%	39,44 ^c	48,13 ^c	26,04 ^c
Đ/C	17,50 ^d	0,00 ^d	0,00 ^d	ĐC	28,21 ^d	0,00 ^d	0,00 ^d
Mức ý nghĩa	**	**	**	Mức ý nghĩa	**	**	**
CV (%)	2,3	2,1	4,7	CV (%)	7,3	2,1	4,7

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% qua phép kiểm định Duncan. **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; NSKC: Ngày sau khi cấy; Đ/C: Đối chứng.

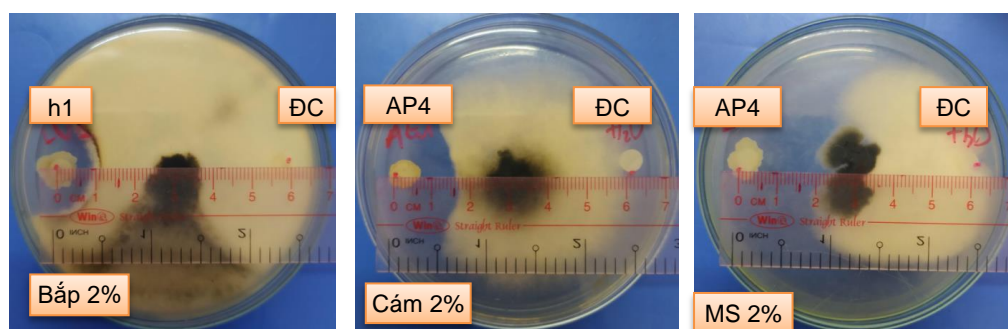
Nhìn chung, khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn có khuynh hướng giảm dần theo thời gian. Trong đó, ở nghiệm thức MS 2% thể hiện khả năng đối kháng cao và ổn định so với các nghiệm thức còn lại đến thời điểm 6

ngày sau thí nghiệm. Kết quả cũng phù hợp với nghiên cứu của Shimizu *et al.* (2001) đã lựa chọn môi trường MS nuôi cấy để tạo bào tử cho xạ khuẩn *Streptomyces* sp. đối kháng với nấm *Colletotrichum orbiculera*.

3.1.2.2. Hiệu suất đối kháng

Dẫn liệu từ hình 2 và bảng 4 cho thấy trong suốt giai đoạn 2 - 6 NSKC thì có sự khác biệt về mật thống kê ở mức ý nghĩa 1% giữa các nghiệm thức so với nghiệm

thức ĐC về HSDK (%). Cụ thể, chủng *Streptomyces* sp. (AP4) ở chế phẩm MS 2% vẫn giữ được HSDK (%) ở mức 47,92 - 64,9% cao và khác biệt so với chế phẩm Cám 2% (31,25 - 55,29%) và thấp nhất ở chế phẩm Bắp 2% (26,04 - 48,13%).



Hình 2. Khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. AP4 trong các chất mang nhân nuôi với nấm bệnh *Phytophthora* sp. ở thời điểm 6 NSKC

Như vậy, từ kết quả ở bảng 3 và bảng 4 cho thấy xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (AP4) được nuôi trong môi trường MS 2% luôn thể hiện sự đối kháng cao với nấm *Phytophthora* sp. qua các thời điểm khảo sát và duy trì đến 6 NSKC với BKVK và HSDK cao. Kết quả cũng đã xác định xạ khuẩn có khả năng đối kháng với nấm *Phytophthora nicotianae* gây bệnh trên mè (Phạm Công Hương, 2013). Theo Lê Văn Tiến (2015), xạ khuẩn có khả năng đối kháng với nấm *Phytophthora* sp. gây hại trên sen.

3.2. Khả năng phòng trị bệnh cháy lá thối củ Khoai môn của xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (AP4) trong chất mang nhân nuôi sau thời gian tồn trữ 1 tuần ở điều kiện nhà lưới

3.2.1. Tỷ lệ bệnh

Kết quả được trình bày ở bảng 5 cho thấy qua 13 NSCB tất cả các nghiệm thức

đều khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% so với nghiệm thức Đ/C về tỉ lệ bệnh (TLB). Cụ thể, cả 2 nghiệm thức Mancozeb 80WP và Đ/C (-) vẫn duy trì TLB lần lượt 12,67 - 33,35% và 9,1 - 21,45% ở mức thấp và khác biệt nhất so với các nghiệm thức còn lại trong suốt 4 - 13 NSCB. Đối với 2 nghiệm thức MS 2% và Cám 2% có TLB dao động từ 22,38 - 55,50% đều không có sự khác biệt thống kê lẫn nhau, nhưng khác biệt và thấp hơn so với nghiệm thức Bắp 2% (35,26 - 74,47%). Riêng ở nghiệm thức Đ/C (+) luôn có TLB (%) với dao động 54,53 - 92,03% cao và khác biệt nhất so với các nghiệm thức còn lại. Kết quả chứng tỏ nghiệm thức xử lý Mancozeb 80WP có khả năng kiểm soát bệnh tốt nhất; kể đến ở cả 2 nghiệm thức MS 2% và Cám 2%; riêng ở nghiệm thức Bắp 2% cho hiệu quả thấp nhất trong suốt 13 NSCB. Theo Nguyễn Xuân Thành và ctv. (2005) cho rằng xạ khuẩn có khả năng sinh tiết chất

kháng sinh enzym ngoại bào trong quá trình phát triển có thể vì chính sản phẩm này của xạ khuẩn đã làm ức chế sự phát triển của nấm *Phytophthora* sp.

3.2.2. Chỉ số bệnh

Chỉ số bệnh (CSB) cũng thể hiện rõ sự chênh lệch và khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% của các nghiệm thức trong suốt 4 - 13 NSCB (bảng 6). Tương tự như đối với TLB (%) thì CSB (%) ở cả 2 nghiệm thức Mancozeb 80WP và Đ/C (-) vẫn duy trì lần lượt 2,11 - 11,12% và 1,52 - 4,41% ở mức thấp và khác biệt nhất so với các nghiệm thức còn lại trong suốt 4 - 13 NSCB. Đối với 2 nghiệm thức MS 2% và Cám 2% có CSB dao động từ 3,73 - 18,81% đều không có

sự khác biệt thống kê lẫn nhau, nhưng khác biệt và thấp hơn so với nghiệm thức Bắp 2% (7,44 - 32,11%). Riêng ở nghiệm thức Đ/C (+) luôn có CSB (%) với dao động 16,37 - 45,25% cao và khác biệt nhất so với các nghiệm thức còn lại. Kết quả phân tích trên cũng chứng tỏ nghiệm thức xử lý Mancozeb 80WP cho hiệu quả kiểm soát bệnh tốt nhất; kể đến ở cả 2 nghiệm thức MS 2% và Cám 2%; riêng ở nghiệm thức Bắp 2% cho hiệu quả thấp nhất trong suốt 13 NSCB. Kết quả cũng phù hợp với nghiên cứu của Trần Phương Dinh (2019) cho thấy ngoài nghiệm thức xử lý thuốc hóa học thì nghiệm thức xử lý xạ khuẩn luôn có chỉ số bệnh thấp và duy trì đến 6 NSCB.

Bảng 5 & 6. Tỷ lệ bệnh (TLB) và chỉ số bệnh (%) của các nghiệm thức

Nghiệm thức	Tỷ lệ bệnh (%) ở các NSCB				Nghiệm thức	Chỉ số bệnh (%) ở các NSCB			
	4 NSCB	7 NSCB	10 NSCB	13 NSCB		4 NSCB	7 NSCB	10 NSCB	13 NSCB
MS 2%	22,38 ^c	42,19 ^c	51,79 ^c	54,71 ^c	MS2%	3,73 ^c	10,83 ^c	15,48 ^c	18,24 ^c
Cám 2%	23,99 ^c	47,50 ^c	50,05 ^c	55,50 ^c	Cám2%	4,00 ^c	12,45 ^c	15,14 ^c	18,81 ^c
Bắp 2%	35,26 ^b	63,81 ^b	70,45 ^b	74,47 ^b	Bắp2%	7,44 ^b	18,39 ^b	25,43 ^b	32,11 ^b
Mancozeb	12,67 ^d	33,45 ^d	33,35 ^d	33,35 ^d	Mancozeb	2,11 ^d	7,04 ^d	9,08 ^d	11,12 ^d
ĐC (-)	9,10 ^d	16,35	21,45	21,45	ĐC-	1,52 ^d	3,26 ^e	4,41 ^e	4,41 ^e
ĐC (+)	54,53 ^a	84,76 ^a	80,59 ^a	92,03 ^a	ĐC+	16,37 ^a	32,48 ^a	35,93 ^a	45,25 ^a
Mức ý nghĩa	**	**	**	**	Mức ý nghĩa	**	**	**	**
CV (%)	12,2	9,5	7,9	8,5	CV (%)	14,7	8,5	12,1	6,3

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% qua phép kiểm định Duncan. **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; NSCB: Ngày sau chủng bệnh.

3.2.3. Hiệu quả giảm bệnh

Theo kết quả thể hiện ở bảng 7 và hình 3 cho thấy hiệu quả giảm bệnh (HQGB) đối với bệnh cháy lá trên khoai môn ở các nghiệm thức đều có sự khác biệt về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 1%

lẫn nhau trong suốt 4 - 13 NSCB. Ở nghiệm thức xử lý Mancozeb 80WP cho hiệu suất đối kháng thể hiện qua HQGB (%) ở mức cao (58,53 - 76,57%) và khác biệt nhất so với các nghiệm thức còn lại qua 13 NSCB. Đối với cả 2 nghiệm thức MS 2% và Cám 2% có HQGB với dao

động từ 35,62 - 58,83% (cả 2 nghiệm thức này không có sự khác biệt về mật thống kê lẫn nhau) cao và khác biệt hơn so với nghiệm thức Bấp 2% có HQGB (%) thấp nhất (19,06 - 35,19%) từ 4 - 13 NSCB. Kết quả chứng tỏ đến thời điểm này nghiệm thức Mancozeb 80WP và MS 2% đều cho hiệu quả quản lý bệnh cao nhất và tốt hơn Cám 2% và Bấp 2%. Theo Nguyễn Phú Dũng và ctv. (2019) cũng ghi nhận *Streptomyces* sp. CM.AG11 có khả năng quản lý bệnh tốt tương đương thuốc Mancozeb 80WP chỉ ở giai đoạn 6 ngày sau chùng bệnh. Nhưng kể từ 8 - 12 NSCB thì chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. CM.AG11 cho hiệu quả quản lý bệnh thấp hơn Mancozeb 80WP.

3.2.4. Diện tích dưới đường cong tiến triển bệnh (AUDPC)

Theo bảng 8 cho thấy chỉ số AUDPC của các nghiệm thức đều có sự khác biệt về mật thống kê ở mức ý nghĩa 1% và dao động từ 159,222 - 715,89, trong đó

nghiệm thức xử lý Mancozeb có chỉ số AUDPC ở mức thấp (269,44), chỉ số AUDPC của 2 nghiệm thức MS 2% (394,77) và Cám 2% (416,19) không có sự khác biệt với nhau nhưng khác biệt với Mancozeb 80WP và Bấp 2% (567,375).

Tóm lại, kết hợp phân tích dữ liệu về TLB, CSB, HQGB và AUDPC cho thấy nghiệm thức xử lý Mancozeb 80WP vẫn cho hiệu quả quản lý bệnh tốt nhất; kế đến ở 2 nghiệm thức MS 2% và Cám 2%, nhưng thấp nhất ở nghiệm thức Bấp 2% trong suốt 4 - 13 NSCB so với nghiệm thức ĐC (+). Kết quả ghi nhận tương tự nghiên cứu trước đây của Nguyễn Thành Thủ (2017) là nấm *P. colocasiae* tương đối mẫn cảm với hoạt chất Mancozeb cũng cho hiệu quả ức chế với nấm *Phytophthora nicotianae* gây thối gốc vùng (mè). Ngoài ra các hoạt chất Metalaxyl, Dimethomorph, Mancozeb cũng có khả năng ức chế cao đối với nấm *P.infestans* trên khoai tây (Emil Rekanovic, 2012).

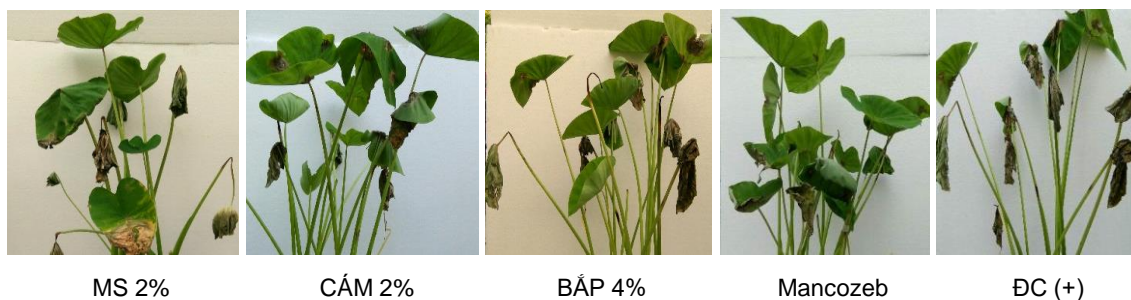
Bảng 7. Hiệu quả giảm bệnh (%) của các nghiệm thức

Nghiệm thức	HQGB (%) ở các NSCB			
	4 NSCB	7 NSCB	10 NSCB	13 NSCB
MS 2%	58,83 ^b	50,30 ^b	37,71 ^b	40,48 ^b
Cám 2%	56,03 ^b	43,83 ^b	35,62 ^b	38,55 ^b
Bấp 2%	35,19 ^c	24,57 ^c	12,49 ^c	19,06 ^c
Mancozeb	76,57 ^a	60,43 ^a	58,53 ^a	63,72 ^a
Mức ý nghĩa	**	**	**	**
CV (%)	9,8	14,0	14,8	14,5

Bảng 8. Giá trị AUDPC của các nghiệm thức

Nghiệm thức	AUDPC
MS 2%	394,77 ^c
Cám 2%	416,19 ^c
Bấp 2%	567,36 ^b
Mancozeb	269,44 ^d
Đ/C (-)	159,26 ^e
Đ/C (+)	715,90 ^a
Mức ý nghĩa	**
CV (%)	6,0

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% qua phép kiểm định Duncan. **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; ns: Không có sự khác biệt; NSCB: Ngày sau chùng bệnh.



Hình 3. Hiệu quả giảm bệnh cháy lá khoai môn của các nghiệm thức được phun thuốc và các chất mang nhân nuôi so với Đ/C (+) ở 13 NSCB trong điều kiện nhà lưới

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Ở điều kiện phòng thí nghiệm chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (AP4) trong chế phẩm MS 2% sau 7 ngày tồn trữ có mật số $1,184 \times 10^6$ cfu/ml, bán kính vòng vô khuẩn 14,38 - 23,88 mm và hiệu suất đối kháng 47,92 - 64,9% từ 2 - 6 ngày sau chủng bệnh cao nhất so với chế phẩm CÁM 2% và BẮP 2%.

Ở điều kiện nhà lưới xử lý Mancozeb 80WP cho hiệu quả quản lý bệnh tốt nhất; kể đến ở 2 chế phẩm MS 2% và CÁM 2%, nhưng thấp nhất ở chế phẩm BẮP 2% trong suốt 4 - 13 ngày sau chủng bệnh thể hiện qua các chỉ tiêu về tỉ lệ bệnh, chỉ số bệnh, hiệu quả giảm bệnh và diện tích dưới đường cong tiến triển bệnh sau thời gian một tuần tồn trữ.

4.2. Đề nghị

Tiếp tục nghiên cứu và đánh giá khả năng đối kháng của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (AP4) trên các loại chế phẩm nhân nuôi khác nhau ở điều kiện ngoài đồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Văn Thịnh (2017), Đánh giá khả năng gây hại của các chủng nấm *Phytophthora* spp. gây bệnh cháy lá trên khoai môn và bước đầu nghiên cứu biện pháp phòng trị. Luận văn tốt nghiệp Đại học, Ngành Bảo vệ thực vật, Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ.
2. Dương Thị Nguyễn Quyên (2008), Tìm môi trường nhân nuôi và tồn trữ vi khuẩn *Burkholderia cepacia* TG17. Trường Đại học Cần Thơ.
3. Emil Rekanovic (2012), Toxicity of metalaxyl, azoxystrobin, dimethomorph, cymoxanil, zoxamide and mancozeb to *Phytophthora infestans* isolates from erbia. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*(2012),47:403 - 409.
4. Jeger, M. J., and Viljanen-Rollinson, S. L.H. (2001), The use of the area under the disease-progress curve (AUDPC) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars. *Theoretical and Applied Genet.* 102 (1):32 - 40.
5. Lê Văn Tiến (2015), Khảo sát khả năng phòng trị bệnh thối thân trên sen do nấm *Phytophthora* sp. bằng biện pháp sinh học và hóa học trong điều kiện phòng thí nghiệm. Luận văn tốt nghiệp kỹ sư Ngành Bảo vệ thực vật, Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng. Trường Đại học Cần Thơ.
6. Little, T.M and F.J. Hills. (1978), *Agricultural experimentation: Design and analysis*. John and Sons, New York, pp 234.

7. Moayed G. and Mostowfizadeh-ghalamfarsa R. (2009), Antagonistic Activities of *Trichoderma* spp. on Phytophthora Root Rot of Sugar Beet. Iran Agricultural Research 28(2) 21 - 38.
8. Nguyễn Phi Hùng (2010). Nghiên cứu nấm *Phytophthora colocasiae* gây bệnh cháy lá trên một số giống khoai môn (*Colocasia esculenta* L.). Luận văn Thạc sĩ khoa học nông nghiệp. Đại học Nông Lâm TP. HCM.
9. Nguyễn Phú Dũng (2019), Phân lập, tuyển chọn và thời điểm phun chủng xạ khuẩn đối kháng bệnh cháy lá khoai môn ở điều kiện phòng thí nghiệm và nhà lưới Đại học An Giang 2018 - 2019. Chuyên đề nông nghiệp đồng bằng sông Cửu Long: Ứng dụng công nghệ cao hướng đến phát triển bền vững 11/2019. Tạp chí Nông nghiệp & Phát triển nông thôn. Trang 17 - 27.
10. Nguyễn Phú Dũng, Lê Minh Tường và Trần Phương Dinh (2019), Tuyển chọn và hiệu quả phòng trị của xạ khuẩn đối với bệnh cháy lá khoai môn do nấm *Phytophthora* sp. gây ra ở An Giang. Đề tài cấp cơ sở tỉnh An Giang 2019. Khoa Nông nghiệp. Trường Đại học An Giang.
11. Nguyễn Thành Thủ (2017), Đánh giá hiệu quả phòng trị của xạ khuẩn đối với bệnh cháy lá khoai môn do nấm *Phytophthora* sp. gây ra. Luận văn tốt nghiệp kỹ sư Ngành Bảo vệ thực vật. Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng. Trường Đại học Cần Thơ.
12. Nguyễn Thị Ngọc Huệ và Nguyễn Văn Việt (2004), Tài nguyên di truyền khoai môn - sọ ở Việt Nam. NXB Nông nghiệp.
13. Nguyễn Thị Thu Nga (2003), Khảo sát đặc tính sinh học, khả năng đối kháng của vi khuẩn *Burkholderia cepacia* TG17 đối với nấm *Rhizoctonia solani* Kunh và tìm môi trường nhân nuôi vi khuẩn này. Luận văn cao học Ngành Nông học, Trường Đại học Cần Thơ.
14. Nguyễn Xuân Thành, Nguyễn Bá Hiên, Hoàng Hải và Vũ Thị Hoan (2005), Giáo trình vi sinh vật công nghiệp. NXB Giáo dục.
15. Phạm Công Hương (2013), Đánh giá hiệu quả của xạ khuẩn và thuốc hóa học trong phòng trị bệnh thối thân (*Phytophthora nicotianae*) trên mè trong điều kiện nhà lưới. Luận văn tốt nghiệp kỹ sư Ngành Bảo vệ thực vật. Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng. Trường Đại học Cần Thơ.
16. Phạm Tuấn Vũ (2015), Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện nhân nuôi đối với một số chủng xạ khuẩn có triển vọng. Luận văn tốt nghiệp kỹ sư Ngành Bảo vệ thực vật. Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng. Trường Đại học Cần Thơ.
17. Shimizu M, N. Fujita, Y. Nakagawa, T. Nishimura, T. Furumai, Y. Igarashi, H. Onaka, R. Yoshida and H. Kunoh (2001), Disease resistance of tissue-cultured seedling of rhododendron after treatment with *Streptomyces* sp. R-5. J Gen Plant Pathol 67, pp 325 - 332. Tuzun, S. and J. Kloepper, 1995. Practical application and implementation of induced resistance. In Induced Resistance to Disease in Plants: 152 - 168. Springer Netherlands.
18. Shurtleff, M. C. and Averre III, C. W. (1997), The plant disease clinic and field diagnosis of abiotic diseases. APS press. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. pp 245.
19. Trần Phương Dinh (2019), Đánh giá khả năng phòng trị của xạ khuẩn đối với bệnh cháy lá khoai môn do nấm *Phytophthora* sp. gây ra. Luận văn Thạc sĩ nông nghiệp. Đại học An Giang.
20. Trần Thị Xuân An (2009), Bài giảng vi sinh vật. Trường Đại học Nông Lâm Huế.
21. Vidhyasekaran, P. and Muthamilan M. (1995), Development of Formulation of *Pseudomonas fluorescens* for Control of Chickpea wilt. Plant disease. 79(8): 782 - 786.
22. Watve, M.G., R. Tickoo, M.M. Jog and B.D. Bhole (2001), How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces*?. Archives of microbiology, 176(5): 386 - 390.

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA CHẾ PHẨM Trichoderma - Streptomyces TRONG XỬ LÝ CỦ GỪNG GIỐNG ĐẾN SINH TRƯỞNG PHÁT TRIỂN, NĂNG SUẤT VÀ CHẤT LƯỢNG CỦ

Trần Thị Thu Hà¹, Võ Hoàng Thu Trinh²,
Trương Thị Bích Phượng³

¹Trường Đại học Nông Lâm, Đại Học Huế

²Trạm Trồng trọt và BVTV Tuy Hoà, Phú Yên

³Trường Đại học Khoa học, Đại Học Huế

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện để đánh giá ảnh hưởng của từng loại chế phẩm Trichoderma, chế phẩm Streptomyces và sự phối trộn chế phẩm Trichoderma - Streptomyces (tỷ lệ 1:1) khi xử lý củ gừng giống đến sự sinh trưởng phát triển, năng suất và chất lượng củ gừng sau thu hoạch. Kết quả nghiên cứu cho thấy, sự ảnh hưởng của các chế phẩm trong thí nghiệm đến sinh trưởng thân lá của cây gừng không có sự khác biệt rõ rệt. Công thức xử lý củ gừng giống trước khi trồng bằng chế phẩm Trichoderma cho năng suất cao hơn và có sự khác biệt so với hai công thức còn lại. Chế phẩm Trichoderma - Streptomyces (tỷ lệ 1:1) làm tăng độ ẩm, hàm lượng cellulose, tro, protein, lipid và vitamin C trong củ gừng sau thu hoạch.

Từ khoá: chế phẩm Trichoderma, chế phẩm Streptomyces, chế phẩm Trichoderma - Streptomyces, xử lý củ gừng giống.

ABSTRACT

Effect of Trichoderma - Streptomyces biological product by treatment of ginger tuber on growth, development, yield and quality of ginger tuber

This study has been carried to evaluate the effect of every single biological product of Trichoderma, Streptomyces and the combination of Trichoderma - Streptomyces (ratio of 1:1) by treatment of ginger tuber on growth, development and yield, quality of ginger tuber. The results show that effect of biological product on growth of leaf, stem of ginger was not statistically significant. However, the treatment of Trichoderma had effect on yield of ginger tuber which was significantly higher than two other treatments.

For the quality of the ginger tuber, the treatment of combination Trichoderma and Streptomyces with ratio of 1:1 had increased humidity, content of cellulose, ash, protein, lipid and vitamin C after harvesting.

Keywords: Biological product of Trichoderma, biological product of Streptomyces, combination of Trichoderma - Streptomyces, treatment of ginger tuber.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gừng (*Zingiber officinale* (Willd.) Roscoe) là cây trồng phổ biến ở nước ta. Củ gừng vừa là gia vị được sử dụng phổ biến trong các món ăn vừa là cây thảo dược lâu đời trong y học dân gian (Trần Đình lý và cs., 1993). Ngày nay, gừng được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp dược phẩm và thực phẩm, đặc biệt là trong việc thu lấy tinh dầu gừng. Tinh dầu gừng là loại tinh dầu có các tác dụng đã được chứng minh như chống nôn, chống viêm, chống oxy hóa, chống khối u,... (Rahmani và cs., 2014). Ngoài ra, gừng còn dùng trong chế biến bánh kẹo, nước giải khát, tinh dầu gừng sử dụng trong dược phẩm, thực phẩm chức năng, mỹ phẩm (Mohammad và Hamed, 2012).

Cây gừng được nhân giống chủ yếu bằng củ. Trước khi đem trồng, củ gừng giống thường được tách thành từng nhánh nhỏ. Việc đó tạo ra vết thương khiến cho củ gừng sau khi trồng bị nấm bệnh tấn công dẫn đến các bệnh như thối khô, thối nhũn củ, cháy lá,... Vì vậy, để hạn chế nấm bệnh tấn công người ta xử lý củ gừng bằng tro bếp, vôi, chế phẩm sinh học, thuốc hoá học,...

Ngày nay, trong xu hướng sử dụng các chủng vi sinh vật đối kháng để phòng trừ sâu bệnh trên cây trồng thì nấm *Trichoderma* và xạ khuẩn *Streptomyces* là

một trong những loại vi sinh vật đối kháng được quan tâm nghiên cứu và sử dụng để xử lý hạt giống do các đặc tính ưu việt của chúng trên nhiều loại cây trồng khác nhau.

Nấm *Trichoderma* có khả năng tiêu diệt và khống chế ngăn ngừa các loại nấm bệnh hại cây trồng gây bệnh xì mũ, vàng lá thối rễ, chết yếu, héo rũ như: *Rhizoctonia solani*, *Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora* sp., *Sclerotium rolfsii*... Ngoài hiệu quả trừ nấm gây bệnh, làm giảm tỷ lệ cây bị bệnh, chế phẩm từ nấm *Trichoderma* còn có tác dụng tốt đối với cây trồng. Dùng chế phẩm nấm *Trichoderma* làm cho cây khỏe hơn, tăng sức đề kháng với vi sinh vật gây bệnh, tác dụng kích thích sinh trưởng cây trồng (Chet và Baker, 1981).

Trong nông nghiệp, xạ khuẩn *Streptomyces* với khả năng hình thành kháng sinh có thể giúp cho cây trồng chống lại các bệnh do vi khuẩn gây ra... Ngoài ra xạ khuẩn còn tác dụng thúc đẩy sự sinh trưởng của cây trồng (El-Abyard và cs., 1993; Tan và cs., 2006).

Xuất phát từ những đặc điểm trên, chúng tôi thực hiện đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm Trichoderma - Streptomyces đến sinh trưởng phát triển và năng suất, một số chỉ tiêu chất lượng củ gừng sau thu hoạch.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Đất thịt nhẹ tại phường Thủy Biều, thành phố Huế.

- Giống gừng sẻ Huế đang được trồng phổ biến ở Thủy Biều, tỉnh Thừa Thiên Huế.

- Phân bón:

+ Phân hỗn hợp NPK (16-16-8) của Công ty Cổ phần Phân bón Bình Điền.

+ Phân hữu cơ vi sinh HCMK7 của Công ty Cổ phần Phân bón Bình Điền - MeKong có thành phần hữu cơ 18%, Nts 2%, P₂O₅hh 2%, K₂Ohh 1% + TE(CaO, MgO, B, Cu, Zn), nấm đối kháng *Trichoderma* 1 × 10⁶ cfu/g.

- Chế phẩm *Trichoderma* - *Streptomyces* (TS), dạng bột không tan với mật độ bào tử 10⁸ cfu/g chế phẩm, do Bộ môn Bảo vệ thực vật, Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế cung cấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thời gian và địa điểm thí nghiệm

Thí nghiệm được tiến hành trong 2 vụ từ ngày 21/8/2019 đến ngày 15/3/2020 và 25/9/2020 đến 20/4/2021 tại phường Thủy Biều, thành phố Huế.

2.2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên (Randomized completely block design- RCBD) với 3 công thức (CT) và 3 lần nhắc lại. Mỗi lần nhắc lại có diện tích 2 m², mỗi công thức có diện tích là 6 m², tổng diện tích của 3 công thức là 18 m².

Cách xử lý củ gừng giống bằng chế phẩm *Trichoderma* - *Streptomyces* trước khi trồng: Củ gừng sau khi chia ra thành từng khúc được lăn đều sao cho bột chế phẩm bám đều trên củ giống và vết cắt.

Bảng 1. Các công thức thí nghiệm chế phẩm *Trichoderma* - *Streptomyces* trên cây gừng

Công thức	Kí hiệu	Chế phẩm sử dụng	Tỷ lệ phối trộn (%)
I	Strep	<i>Streptomyces</i>	100
II	Tricho - Strep	<i>Trichoderma</i> + <i>Streptomyces</i>	50:50
III	Tricho	<i>Trichoderma</i>	100

Các công thức thí nghiệm được bón lót MK7 (2 tấn/ha), khoảng cách trồng 30 × 30 cm, bón thúc NPK (0,14 tấn/ha) theo quy trình sau:

- Đợt 1 (60 ngày sau trồng (NST)) bón 1/2 lượng phân: 0,07 tấn/ha.

- Đợt 2 (120 NST) bón 1/2 lượng phân: 0,07 tấn/ha.

- Chỉ tiêu sinh trưởng: Theo dõi 15 cây/CT, đo các chỉ tiêu định kỳ 7

ngày/lần, gồm: tỷ lệ nảy mầm (%), chiều cao cây (cm), số lá/cây, khả năng đẻ nhánh (nhánh/cây).

- Chỉ tiêu dịch hại: Xác định mật độ dịch hại (ốc sên, sâu ăn lá) theo Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây trồng QCVN 01-38:2010/BNNPTNT). Định kỳ theo dõi 7 ngày/lần. Xác định đường cong

tích lũy sâu hại theo thời gian AUPPC (Area under pest progress curve) (Campell & Madden, 1990).

- Chỉ tiêu năng suất:

+ Từ ô tiêu chuẩn (1 m²) đo đếm, tính toán các chỉ tiêu: số khóm/m², số củ/khóm, trọng lượng củ và năng suất lý thuyết (NSLT). NSLT (tấn/ha) = Số khóm/m² × số củ/khóm × trọng lượng củ (g) × 10.000 m²/1.000.000 g.

+ Năng suất thực thu (NSTT) được tính trung bình trên 5 điểm cho một công thức. Mỗi điểm thu hoạch 1 m². NSTT (tấn/ha) = (trọng lượng củ/m² × 10.000 m²) /1.000.000 g.

- Đánh giá chất lượng củ gừng sau thu hoạch: Định lượng vitamin C bằng phương pháp sử dụng I₂; Xác định hàm

lượng tro dựa vào khối lượng thực vật còn lại sau khi hóa tro trong lò nung; Xác định hàm lượng acid béo tổng số bằng tính sự chênh lệch khối lượng mẫu trước và sau khi chiết hết chất béo; Xác định hàm lượng protein theo phương pháp Bradford (1976); Xác định hàm lượng nước (độ ẩm) của củ gừng được xác định bởi sự chênh lệch khối lượng của mẫu thực vật tươi trước khi sấy và sau khi sấy khô tuyệt đối (Trần Thanh Phong và cs., 2013). Các chỉ tiêu được phân tích tại phòng thí nghiệm Bộ môn Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế.

Số liệu được xử lý thống kê sinh học bao gồm giá trị trung bình, phân tích ANOVA bằng phần mềm SPSS 20 và Microsoft office Excel 2010.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của chế phẩm TS đến tỷ lệ nảy mầm

Bảng 2. Ảnh hưởng của chế phẩm TS đến tỷ lệ nảy mầm

Công thức	Chế phẩm	Các kì điều tra (NST) - ĐVT: %		
		31	38	45
I	Strep	60,61 ^a ± 6,06	93,94 ^a ± 6,06	93,94 ^a ± 6,06
II	Tricho - Strep	66,67 ^a ± 3,03	96,97 ^a ± 3,03	96,97 ^a ± 3,03
III	Tricho	72,73 ^a ± 9,09	93,94 ^a ± 3,03	100 ^a ± 0,00

Ghi chú: Trong cùng 1 cột các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa với p < 0,05; ± SE: Sai số chuẩn.

Ở 31 NST, tỷ lệ nảy mầm các công thức đạt từ 60,61% đến 72,73%. Đến 38 NST tỷ lệ nảy mầm ở các công thức đều đạt trên 90%, trong đó cao nhất là công thức II với tỷ lệ nảy mầm (96,97%). Trong khi công thức I và II kết thúc nảy

mầm ở kỳ điều tra 38 NST thì công thức III tiếp tục nảy mầm và đạt tỷ lệ 100% ở 45 NST. Tuy nhiên sự sai khác giữa các công thức qua các kỳ điều tra không có ý nghĩa về mặt thống kê ở xác suất p < 0,05.

3.2. Ảnh hưởng của chế phẩm TS đến động thái tăng trưởng chiều cao cây

Bảng 3. Ảnh hưởng của chế phẩm TS đến chiều cao cây

CT	Chế phẩm	Các kì điều tra (NST) - ĐVT: cm								
		45	52	59	66	73	80	87	94	101
I	Strep	24,81 ^a ± 1,52	29,16 ^a ± 1,45	32,95 ^a ± 1,23	38,59 ^a ± 1,50	43,61 ^a ± 1,43	47,67 ^a ± 1,23	49,73 ^a ± 1,32	51,31 ^a ± 1,39	51,96 ^a ± 1,41
		24,65 ^a ± 1,01	29,47 ^a ± 1,01	34,55 ^a ± 1,12	40,62 ^a ± 1,70	45,61 ^a ± 1,59	49,26 ^a ± 1,58	51,15 ^a ± 1,56	52,44 ^a ± 1,61	53,07 ^a ± 1,63
III	Tricho	27,60 ^a ± 1,39	30,68 ^a ± 1,54	35,36 ^a ± 1,43	41,25 ^a ± 1,40	45,58 ^a ± 1,55	49,83 ^a ± 1,45	52,61 ^a ± 1,30	53,88 ^a ± 1,21	54,45 ^a ± 1,15

Ghi chú: Trong cùng 1 cột các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa với $p < 0,05$; ± SE: Sai số chuẩn.

Sau khi nảy mầm, cây gừng tăng trưởng mạnh về chiều cao qua các kỳ điều tra từ 45 NST đến 101 NST. Chiều cao cây trung bình của các công thức tăng từ 24,65 đến 27,6 cm (45 NST) lên 51,96 đến

54,45 cm (101 NST). Trong các kỳ điều tra công thức III có chiều cao trung bình cao hơn các công thức còn lại, tuy nhiên không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức ở xác suất $p < 0,05$.

3.3. Ảnh hưởng của chế phẩm TS đến động thái ra lá mới

Bảng 4. Ảnh hưởng của chế phẩm TS đến số lá

CT	Chế phẩm	Các kì điều tra (NST) - ĐVT: lá/cây								
		45	52	59	66	73	80	87	94	101
I	Strep	3,53 ^a ± 0,32	4,67 ^a ± 0,30	6,87 ^a ± 0,29	10,33 ^a ± 0,40	11,80 ^a ± 0,38	13,27 ^a ± 0,45	14,87 ^a ± 0,49	16,27 ^a ± 0,30	16,73 ^a ± 0,25
		2,87 ^a ± 0,32	4,33 ^a ± 0,30	6,40 ^a ± 0,35	9,27 ^a ± 0,47	11,87 ^a ± 0,32	13,27 ^a ± 0,28	15,20 ^a ± 0,31	16,47 ^{ab} ± 0,32	17,00 ^a ± 0,31
III	Tricho	3,53 ^a ± 0,24	4,80 ^a ± 0,28	6,73 ^a ± 0,23	9,87 ^a ± 0,40	12,27 ^a ± 0,47	14,27 ^a ± 0,46	16,07 ^a ± 0,47	17,47 ^b ± 0,49	18,13 ^b ± 0,40

Ghi chú: Trong cùng 1 cột các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa với $p < 0,05$; ± SE: Sai số chuẩn.

Lá gừng được hình thành từ các mầm lá ở các mắt thân. Lá xuất hiện đầu tiên khi nảy mầm là lá không hoàn toàn (không có phiến lá), còn gọi là bao mầm, người ta không tính lá này. Lá mọc tiếp theo được tính là lá thật đầu tiên.

Qua các kỳ điều tra từ 45 đến 101 NST, số lá ở các công thức tăng từ 2,87 lá đến 3,53 lá lên 16,73 lá đến 18,13 lá. Số lá trung bình ở công thức III ở các kỳ điều tra cao hơn hai công thức còn lại, tuy nhiên sự khác biệt chỉ có ý nghĩa thống

kê ở xác suất $p < 0,05$ trong kỳ điều tra 94 NST trở đi.

3.4. Ảnh hưởng của chế phẩm TS đến khả năng đẻ nhánh

Tương tự như chiều cao cây và số lá, số nhánh của cây gừng cũng tăng nhanh trong giai đoạn từ 45 đến 101 NST. Ở kỳ

điều tra 45 NST số nhánh ở các công thức là 2,00 nhánh đến 2,40 nhánh thì đến 101 NST tăng lên 17,13 nhánh đến 18,27 nhánh. Tuy nhiên không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về số nhánh qua các kỳ điều tra giữa các công thức thí nghiệm ở xác suất $p < 0,05$.

Bảng 5. Ảnh hưởng của chế phẩm TS đến số nhánh

CT	Chế phẩm	Các kì điều tra (NST) - ĐVT: nhánh/cây								
		45	52	59	66	73	80	87	94	101
I	Strep	2,40 ^a ± 0,25	3,27 ^a ± 0,38	4,80 ^a ± 0,45	5,67 ^a ± 0,52	8,33 ^a ± 0,72	10,33 ^a ± 0,77	12,67 ^a ± 0,84	14,20 ^a ± 0,96	17,13 ^a ± 1,09
II	Tricho-Strep	2,00 ^a ± 0,20	3,07 ^a ± 0,25	4,47 ^a ± 0,32	5,33 ^a ± 0,43	8,27 ^a ± 0,62	10,53 ^a ± 0,69	13,00 ^a ± 0,83	14,80 ^a ± 0,85	17,27 ^a ± 1,08
III	Tricho	2,07 ^a ± 0,15	3,13 ^a ± 0,29	4,67 ^a ± 0,30	5,80 ^a ± 0,43	8,53 ^a ± 0,58	10,87 ^a ± 0,63	13,20 ^a ± 0,71	15,20 ^a ± 0,79	18,27 ^a ± 0,98

Ghi chú: Trong cùng 1 cột các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa với $p < 0,05$; ± SE: Sai số chuẩn.

3.5. Ảnh hưởng của chế phẩm TS đến sâu bệnh hại gừng

Trong quá trình thí nghiệm không ghi nhận có sự xuất hiện của bệnh hại. Hai đối tượng dịch hại xuất hiện là sâu ăn lá (*Diaphania indica*) và ốc sên (*Bradybaena similaris*).

Kết quả xử lý AUPPC cho thấy rằng tổng mức độ gây hại của ốc sên qua các kỳ điều tra ở công thức II là thấp nhất (366,80), cao nhất là công thức I (380,33), công thức III là 370,07 nhưng sự sai khác giữa các công thức không có ý nghĩa về mật độ thống kê ở xác suất $p < 0,05$ (Số liệu không trình bày). Tương tự với ốc sên, sâu ăn lá xuất hiện và gây hại các công thức thí nghiệm từ kỳ điều tra từ 45 NST đến 101 NST. Tuy nhiên sự xuất hiện của sâu ăn lá ở các công thức không liên tục

và mật độ sâu cũng không cao. Xử lý AUPPC nhận thấy tổng mức độ gây hại của sâu ăn lá qua các kỳ điều tra ở công thức I là cao nhất (7,93), công thức II và công thức III đều là 6,53 (Số liệu không trình bày). Tuy nhiên sự sai khác giữa các công thức không có ý nghĩa về mật độ thống kê ở xác suất $p < 0,05$.

3.6. Ảnh hưởng của chế phẩm TS đến các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất củ gừng

Năng suất lý thuyết của các công thức dao động từ 54,4 (tấn/ha) đến 62,8 (tấn/ha). Công thức III có NSLT cao nhất đạt 62,8 (tấn/ha) và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với công thức I 54,4 (tấn/ha) nhưng không có sự khác biệt có ý nghĩa so với công thức II 58,4 (tấn/ha).

Năng suất thực tế của các công thức dao động từ 52,5 (tấn/ha) đến 56,0 (tấn/ha). Công thức III có NSTT cao nhất đạt 56,0 (tấn/ha) và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với công thức I (52,5 tấn/ha) và công thức II (53,5 tấn/ha).

Bảng 8. Ảnh hưởng của chế phẩm TS đến các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất củ gừng

CT	Chế phẩm	Số khóm/m ² (khóm)	Trọng lượng khóm (g)	NSLT (tấn/ha)	NSTT (tấn/ha)
I	Strep	6	940,00	54,4 ^a ± 1,39	52,5 ^a ± 0,37
II	Tricho-Strep	6	973,33	58,4 ^{ab} ± 2,88	53,5 ^a ± 1,68
III	Tricho	6	1046,67	62,8 ^b ± 3,49	56,0 ^b ± 0,79

Ghi chú: Trong cùng 1 cột các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa với p < 0,05; ± SE: Sai số chuẩn.

Kết quả nghiên cứu cho thấy chế phẩm Trichoderma có tác động tích cực đến sinh trưởng, phát triển và năng suất gừng. Theo Harman và cs., (2004), ngoài hiệu quả trực tiếp trên các tác nhân gây bệnh cây, nhiều loài *Trichoderma* còn

định cư ở bề mặt rễ cây giúp thay đổi khả năng biến dưỡng của cây, nhiều dòng nấm đã kích thích sự tăng trưởng của cây, gia tăng khả năng hấp thụ dinh dưỡng, cải thiện năng suất cây và giúp chống chịu với stress phi sinh học.

3.7. Ảnh hưởng của chế phẩm TS đến một số chỉ tiêu phẩm chất của củ gừng sau thu hoạch

Bảng 9. Ảnh hưởng của chế phẩm TS đến một số chỉ tiêu phẩm chất của củ gừng sau thu hoạch

CT	Chế phẩm	Độ ẩm (%)	Cellulose (%)	Tro (%)	Protein (%)	Lipid (%)	Vitamin C (%)
I	Strep	76,40 ^b ± 0,39	19,60 ^a ± 1,03	9,00 ^{ab} ± 0,31	0,83 ^b ± 0,001	2,66 ^a ± 0,33	0,15 ^{ab} ± 0,005
II	Tricho-Strep	76,72 ^b ± 0,24	20,40 ^a ± 1,22	10,40 ^b ± 0,46	0,84 ^b ± 0,004	2,90 ^a ± 0,08	0,16 ^b ± 0,002
III	Tricho	71,20 ^a ± 0,33	19,20 ^a ± 0,83	8,40 ^a ± 0,31	0,74 ^a ± 0,003	2,32 ^a ± 0,64	0,14 ^a ± 0,003

Ghi chú: Trong cùng 1 cột các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa với p < 0,01; ± SE: Sai số chuẩn.

Các chỉ tiêu về hàm lượng cellulose, tro protein, lipid và vitamin C ở công thức II đều cao hơn các công thức còn lại, cho thấy sự kết hợp giữa Trichoderma và Streptomyces (tỷ lệ 1:1) giúp làm tăng phẩm chất củ gừng sau thu hoạch. Tuy nhiên, độ ẩm ở công thức II cũng đạt cao nhất.

4. KẾT LUẬN

- Về chỉ tiêu sinh trưởng: Sinh trưởng thân lá gừng không có nhiều sự khác biệt khi sử dụng các chế phẩm để xử lý củ gừng giống, mặc dù chế phẩm Trichoderma tỏ ra có ưu thế hơn chế phẩm Streptomyces và chế phẩm Trichoderma-Streptomyces (tỷ lệ 1:1);

- **Về chỉ tiêu dịch hại:** Các công thức trong thí nghiệm đều không ghi nhận sự xuất hiện của bệnh hại. Sự xuất hiện và mức độ gây hại của ốc sên và sâu ăn lá chủ yếu do giai đoạn sinh trưởng của cây gừng và yếu tố thời tiết mà không phụ thuộc vào loại chế phẩm.

- **Về chỉ tiêu năng suất:** Sử dụng chế phẩm Trichoderma để xử lý củ gừng giống trước khi trồng cho năng suất cao hơn sử dụng chế phẩm Streptomyces và chế phẩm Trichoderma-Streptomyces (tỷ lệ 1:1);

- **Về chỉ tiêu phẩm chất:** Sự kết hợp giữa hai chế phẩm Trichoderma và Streptomyces (tỷ lệ 1:1) làm tăng độ ẩm và hàm lượng cellulose, tro, protein, lipid và vitamin C trong củ gừng sau thu hoạch.

Lời cảm ơn: Đây là kết quả của đề tài khoa học và công nghệ cấp tỉnh được ngân sách nhà nước tỉnh Thừa Thiên Huế đầu tư, mã số TTH.2018-KC03.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cục Bảo vệ thực vật (2010), Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây trồng, BNNPTNT.
2. Trần Đình Lý, Trần Đình Đại, Hà Thị Dung, Đỗ Hữu Thư, Đào Trọng Hưng, Nguyễn Văn Phú, Lê Thị Ngọc Lan, Nguyễn Thị Đô, Hà Văn Tú (1993), *1900 loài cây có ích ở Việt Nam*, Trung tâm KHTN và Công nghệ Quốc gia, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật. NXB Thế giới, tr. 360 - 364.
3. Trần Thanh Phong, Võ Thị Mai Hương, Phạm Thị Ngọc Lan, Hoàng Thị Kim Hồng, Nguyễn Thị Thu Thủy, Hoàng Tấn Quảng (2013), *Thực hành Sinh lý thực vật - Hóa sinh và Vi sinh vật học*. NXB Đại học Huế.
4. Campbell, C. L.; Madden, L. V. (1990), *Introduction to plant disease epidemiology*, Wiley-Interscience.
5. Chet I., Baker R. (1981), Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 71, pp. 286 - 290.
6. El-Abyad Ms, Ma El-Sayed, Ar El-Shanshoury, S.M. El-Sabbagh. (1993), Towards the biological control of fungal and bacterial diseases of tomato using antagonistic Streptomyces spp. *Plant and Soil* 149, 185 - 95.
7. Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I., Lorito M. (2004), *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology* 2, pp.43 - 56.
8. Mohammad S.M. and Hamed H.K. 2012. Ginger (*Zingiber officinale*): A review. *Journal of Medicinal Plants Research* 6(26): pp.4255 - 4258.
9. Rahmani A.H., Shabrmi F.M.A. and Aly S.M. (2014), Active ingredients of ginger as potential candidates in the prevention and treatment of diseases via modulation of biological activities, *International Journal of Physiology Pharmacology Pathophysiology* 6(2), pp. 125 - 136.
10. Tan Hm, Lx Cao, Zf He, Gj Su, B. Lin, Sn Zhou. (2006), Isolation of endophytic actinomycetes from different cultivars of tomato and their activities against *Ralstonia solanacearum* in vitro. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 22, 1275 - 80.

KHẢO SÁT HOẠT TÍNH KHÁNG *Xanthomonas* spp. VÀ *Fusarium* spp. PHÂN LẬP TỪ CÂY HỒ TIÊU CỦA DUNG DỊCH TẠO BỞI PLASMA NGUỘI TRONG ĐIỀU KIỆN IN VITRO

Thân Quốc An Hạ^{1,2*}, Đinh Quốc Hòa³,
Nguyễn Võ Kỳ Duyên¹, Phạm Hoài Thương¹, Phạm Hữu Thiện¹

¹Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng,
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Học viện Khoa học và Công nghệ,
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Công ty cổ phần Hóa chất Nông Việt

* Tác giả liên hệ: anhathan@yahoo.com

TÓM TẮT

Các bệnh trên cây trồng thường do các vi sinh vật gây ra. Trong đó *Xanthomonas* spp. và *Fusarium* spp. là hai loại vi sinh vật gây hại cho cây trồng thường thấy. Chúng gây ảnh hưởng xấu đến năng suất cũng như chất lượng cây trồng. Trong nghiên cứu này, các hoạt chất của dung dịch tạo bởi plasma nguội đã được chế tạo bằng phương pháp phóng điện plasma rào cản điện môi và khảo sát khả năng kháng vi sinh vật trên đối tượng là *Xanthomonas* spp. và *Fusarium* spp. thông qua phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu và đo vòng kháng khuẩn/nấm. Kết quả chỉ ra rằng khả năng kháng khuẩn dễ hơn so với kháng nấm, cụ thể trên *Fusarium* spp. đến mẫu P20 thì vòng kháng nấm bắt đầu xuất hiện trong khi trên *Xanthomonas* spp. ở mẫu P15 đã có xuất hiện vòng kháng khuẩn. Sự khác biệt này là do cấu tạo tế bào sinh vật nhân sơ và nhân thực khác nhau nên cần thành phần, tỷ lệ và nồng độ các hoạt chất có trong dung dịch tạo bởi plasma nguội khác nhau.

Từ khóa: *Xanthomonas* spp., *Fusarium* spp., dung dịch tạo bởi plasma nguội.

ABSTRACT

Evaluation of invitro antimicrobial efficacy of the dielectric barrier discharge (DBD) cold plasma against *Xanthomonas* spp. and *Fusarium* spp. isolated from black pepper

Plant diseases are usually caused by microorganisms. To be specific, *Xanthomonas* spp. and *Fusarium* spp. are two types of microorganisms that are commonly found harmful to plants. They adversely affected the yield as well as the quality of the crop. In

this study, the bioactive substances of the solution made by cold plasma were prepared by the dielectric barrier plasma discharge method, and they were investigated the antimicrobial ability on Xanthomonas spp. and Fusarium spp. through the determination of the minimum inhibitory concentration and disk diffusion method. The results indicate that the solution made by cold plasma treatment showed higher antibacterial activity than antifungal activity. While the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was P20 on Fusarium spp., Xanthomonas spp. showed MIC at sample P15. This difference rooted in the structural difference between prokaryotic and eukaryotic cells; therefore, they require different compositions, ratios and concentrations of bioactive substances in the solution made by cold plasma treatment.

Keywords: *Xanthomonas spp., Fusarium spp., the solution made by cold plasma treatment.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, các giải pháp nông nghiệp sạch đang được sự quan tâm của toàn cầu. Việc nâng cao chất lượng và sản lượng của sản phẩm là một trong những yếu tố quan trọng. Trong đó, nguyên nhân gây thiệt hại chính cho năng suất cây trồng là do các vi sinh vật gây hại như *Xanthomonas* spp. và *Fusarium* spp. gây ra, đây là các tác nhân phổ biến trên các loại cây trồng ở các nước nhiệt đới (Osdaghi và cộng sự, 2016; Potnis và cộng sự, 2015) trong đó có Việt Nam.

Xanthomonas spp. là một chi của vi khuẩn *Proteobacteria*, đây là vi khuẩn gây ra các bệnh đốm và đốm vi khuẩn ở lá, thân và trái trên nhiều cây trồng như cà chua, xà lách xoăn, bệnh bạc lá, lem lép hạt ở lúa và các cây công nghiệp khác như cây tiêu, cây điều,... Trong khi đó, *Fusarium* spp. lại là một chi lớn của nấm sợi, thường gây các bệnh trên cây trồng như héo do tắc bó mạch, thối rễ, thân và bắp, thối cổ rễ cây con và thối củ (Horst, 2008). Do đó, việc tìm kiếm các hoạt chất mới hay phương pháp mới để hạn chế tác hại của

các loại vi sinh vật này đồng thời không gây hại cho môi trường, con người và vật nuôi là điều cần thiết.

Các phương pháp truyền thống thường được dùng để tiêu diệt *Xanthomonas* spp. và *Fusarium* spp. gây bệnh trên cây trồng là sử dụng các loại thuốc bảo vệ thực vật từ nano bạc (Mishra và cộng sự, 2020; Ballottin và cộng sự, 2017), nano đồng (Kalyan và Chander Mani, 2012; Carvalho, 2019) và các loại thuốc diệt nấm có nguồn gốc sinh học (Kaitlin DeJesus, 2019). Tuy nhiên, các hoạt chất này thường để lại tồn dư trong đất, nước, không khí cũng như gây các tác hại cho con người trong quá trình sử dụng. Trên thế giới, hiện đã và đang có rất nhiều nghiên cứu sử dụng kỹ thuật plasma để tạo ra các sản phẩm có tác dụng diệt khuẩn (Qisen Xiang và cộng sự, 2018; Lin và cộng sự, 2019), diệt nấm (Los và cộng sự, 2020) và cả tăng trưởng cây trồng (Stoleru và cộng sự, 2020; Naumova và cộng sự, 2011; Sivachandiran và Khacef, 2017) mà vẫn hạn chế được các nhược điểm của các phương pháp truyền thống. Chính vì vậy mà xử lý cây bị nhiễm bệnh do vi sinh vật bằng dung dịch tạo bởi

plasma nguội là một giải pháp thay thế bền vững và đầy hứa hẹn (Park và cộng sự, 2013).

Cho đến nay, tại Việt Nam chưa có nhiều công bố sử dụng dung dịch tạo bởi plasma nguội vào việc kháng bệnh do vi sinh vật gây ra trên cây trồng, đặc biệt với *Xanthomonas* spp. và *Fusarium* spp. Chính vì vậy trong nghiên cứu này dung dịch tạo bởi plasma nguội được điều chế và đánh giá khả năng kháng *Xanthomonas* spp. và *Fusarium* spp. trong quy mô invitro.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Điều chế dung dịch tạo bởi plasma nguội

Dung dịch tạo bởi plasma nguội được điều chế bằng phương pháp phóng điện

plasma qua lớp điện môi (Dielectric barrier discharge - DBD) theo các nghiên cứu trước đây của nhóm nghiên cứu về Plasma ứng dụng tại Viện Khoa học Vật liệu Ứng dụng (Pham, Nguyen, 2020; Nguyen, 2020; Pham, Bui, Khacef, 2018).

Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình điều chế dung dịch tạo bởi plasma nguội bao gồm: lưu lượng khí mang, lưu lượng nước cung cấp vào hệ thống, các thông số máy tạo tia plasma và thời gian lưu. Trong đó, lưu lượng không khí cung cấp vào hệ thống tạo plasma được ổn định là 2 L/giờ, thể tích nước sử dụng là 500 mL với lưu lượng bơm vào hệ thống bằng bơm định lượng là 200 mL/phút. Thời gian lưu mẫu được thay đổi tăng dần từ 5, 10, 15, 20, 25 đến 30 phút để tạo ra các loại dung dịch tạo bởi plasma nguội khác nhau. Các mẫu được điều chế được liệt kê trong bảng 1.

Bảng 1. Số mẫu dung dịch khảo sát

Thứ tự	Mẫu dung dịch khảo sát	Ký hiệu
1	Nước cất	C
2	Dung dịch tạo bởi plasma nguội trong 05 phút	P5
3	Dung dịch tạo bởi plasma nguội trong 10 phút	P10
4	Dung dịch tạo bởi plasma nguội trong 15 phút	P15
5	Dung dịch tạo bởi plasma nguội trong 20 phút	P20
6	Dung dịch tạo bởi plasma nguội trong 25 phút	P25
7	Dung dịch tạo bởi plasma nguội trong 30 phút	P30

2.2. Phân lập các chủng vi sinh vật

Chủng vi sinh vật sử dụng được phân lập từ các mẫu lá và rễ của cây tiêu đen (*Piper nigrum*) có dấu hiệu của các bệnh lý do *Xanthomonas* spp. và *Fusarium* spp. gây ra từ huyện Lộc Ninh, tỉnh Bình Phước, Việt Nam.

Chủng *Xanthomonas* spp.: Lá tiêu chứa vết bệnh phẩm được cắt thành từng miếng nhỏ (2 × 2 cm) và ngâm trong 10mL nước cất vô trùng. Trái hỗn dịch chứa khuẩn *Xanthomonas* spp. thu được lên môi trường thạch dextrose khoai tây (Potato Dextrose Agar-PDA). Ủ đĩa thạch

chứa dịch khuẩn trong tủ ấm 30°C trong 24 giờ. Các khuẩn lạc đơn lẻ thể hiện các đặc điểm của *Xanthomonas* spp. được chọn lọc và tinh sạch bằng cách cấy lại trên môi trường PDA. Các chủng vi khuẩn này được xác định bằng PCR và các đặc điểm sinh lý được miêu tả bởi Areas và cộng sự (2015).

Chủng *Fusarium* spp.: Rễ tiêu được rửa sạch dưới vòi nước. Cắt mô bệnh điển hình (1 × 1 cm) sau đó khử trùng bằng cồn 70° trong 20 giây rồi rửa sạch lại bằng nước cất vô trùng. Thấm khô miếng cắt bằng giấy thấm vô trùng, dùng dao đã khử trùng cắt vết bệnh thành các miếng nhỏ (5 × 5 mm). Đặt các mô vừa cắt bằng môi trường nghèo dinh dưỡng. Khi nấm đã phát triển với kích thước 1 - 2 cm, lấy phần đầu sợi nấm cấy chuyển sang môi trường PDA.

2.3. Phương pháp đánh giá khả năng kháng vi sinh vật của dung dịch tạo bởi plasma nguội

Trong nghiên cứu này, khả năng kháng khuẩn, kháng nấm của dung dịch tạo bởi plasma nguội được đánh giá thông qua 2 phương pháp là xác định nồng độ ức chế tối thiểu (Minimum inhibitory concentration-MIC) và phương pháp đo đường kính vòng kháng khuẩn.

➤ Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)

Dung dịch tạo bởi plasma nguội ở thời gian 5 - 30 phút được sử dụng để khảo sát.

Với khuẩn *Xanthomonas* spp.: Dùng pipet hút 0,9 mL dung dịch tạo bởi

plasma nguội và 0,1 ml dung dịch khuẩn *Xanthomonas* spp. vào eppendorf. Lắc đều eppendorf bằng máy vortex trong 1 phút để dung dịch tạo bởi plasma nguội tiếp xúc *Xanthomonas* spp. Dùng pipet hút 0,1 ml hỗn hợp từ eppendorf trải lên đĩa thạch. Các đĩa thạch được úp ngược và ủ trong tủ ấm 32°C. Sau 24 giờ, thực hiện đếm số khuẩn lạc xuất hiện trên đĩa thạch. Điểm MIC được xác định là dung dịch tạo bởi plasma nguội ở thời gian ngắn nhất có số khuẩn lạc xuất hiện là dưới 3.

Với nấm *Fusarium* spp.: Nồng độ ức chế tối thiểu được thực hiện bằng phương pháp pha loãng. MIC được xác định là dung dịch tạo bởi plasma nguội ở thời gian ngắn nhất không có vi nấm phát triển (Panchai và cộng sự, 2015).

➤ Phương pháp đo đường kính vòng kháng khuẩn

Khả năng kháng vi sinh vật của dung dịch tạo bởi plasma nguội được xác định theo phương pháp của De Angelis và cộng sự. Dung dịch tạo bởi plasma nguội ở thời gian 5 - 30 phút được sử dụng để khảo sát. Hút 100 µL dịch chứa vi sinh vật (*Xanthomonas* spp. hoặc *Fusarium* spp.) vào từng đĩa petri chứa môi trường MH (Mueller Hinton Agar), dùng que cấy trang trải đều dịch chứa vi sinh vật. Sau đó tạo những giếng nhỏ bằng dụng cụ tạo giếng, tiếp theo hút 0,15 mL dung dịch tạo bởi plasma nguội ở các thời gian khác nhau vào từng giếng và để yên 15 phút cho dung dịch tạo bởi plasma nguội khuếch tán trên môi trường thạch.

Ủ các đĩa petri ở nhiệt độ 32°C, đo vòng kháng khuẩn xuất hiện trên đĩa thạch sau 24 giờ.

Khả năng kháng khuẩn của dung dịch tạo bởi plasma nguội được xác định dựa vào đường kính vòng kháng khuẩn (ΔD) xuất hiện xung quanh lỗ thạch.

$$\Delta D = D - d$$

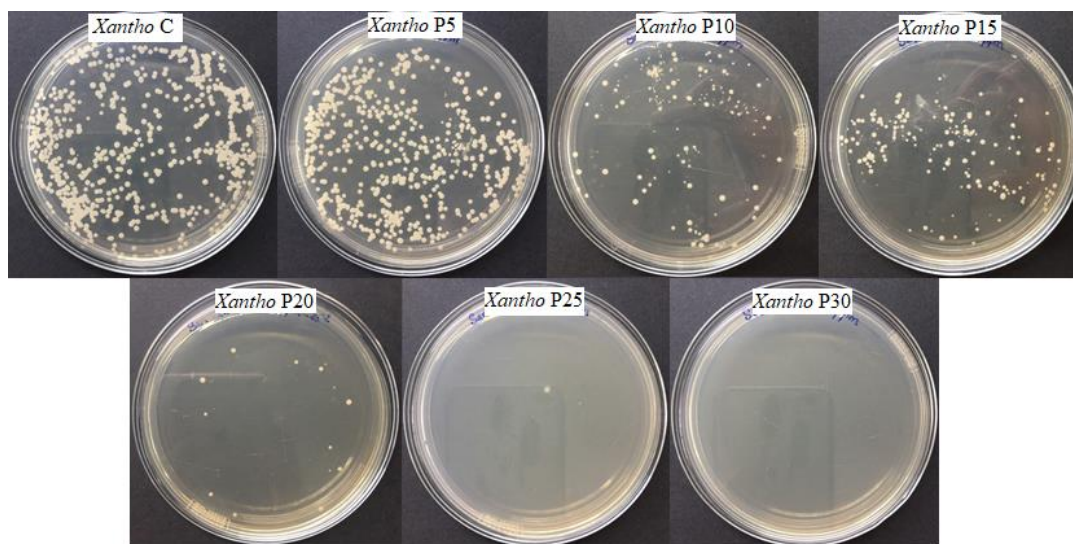
D: Đường kính vòng vô khuẩn (mm).

d: Đường kính lỗ thạch (mm).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hoạt tính kháng khuẩn của dung dịch tạo bởi plasma nguội

Hoạt tính kháng khuẩn của các mẫu dung dịch tạo bởi plasma nguội được đánh giá bằng phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu. Kết quả xác định nồng độ ức chế tối thiểu MIC của dung dịch tạo bởi plasma nguội đến vi khuẩn *Xanthomonas* spp. thể hiện ở hình 1.



Hình 1. Ảnh chụp các đĩa thạch có chứa mẫu đối chứng và các dung dịch tạo bởi plasma nguội ở thời gian khác nhau với *Xanthomonas* spp.

Hình 1 cho thấy điểm MIC của dung dịch tạo bởi plasma nguội là ở thời gian 25 phút vì ở điều kiện này dung dịch tạo bởi plasma nguội có khả năng ức chế hoàn toàn sự phát triển của vi khuẩn *Xanthomonas* spp. Dung dịch tạo bởi plasma nguội ở các khoảng thời gian dưới 25 phút không ảnh hưởng đến sự phát triển của vi khuẩn *Xanthomonas* spp. Kết quả này thể hiện dung dịch tạo bởi plasma nguội có khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh đốm lá rất cao. Sau 1

ngày cấy vi khuẩn, mật độ khuẩn lạc giảm khi thời gian hoạt hóa plasma tăng lên, trong đó số khuẩn lạc cao nhất là ở mẫu đối chứng. Hiệu quả kháng tăng theo thời gian là do sự gia tăng nồng độ các hợp chất chứa oxy có hoạt tính (Reactive oxygen species-ROS) và các hợp chất chứa ni-tơ có hoạt tính (Reactive nitrogen species-RNS): NO₂, NO₃, H₂O₂, O₃, OH,... được hình thành trong quá trình dung dịch bị tác động bởi các tia plasma nguội.

Bảng 2. Kết quả bán kính vòng kháng khuẩn các loại dung dịch tạo bởi plasma nguội ở thời gian khác nhau

Mẫu	C	P5	P10	P15	P20	P25	P30
Bán kính vòng kháng khuẩn (mm)	0	0	0	2 ± 0,05	5 ± 0,05	7 ± 0,05	8 ± 0,05

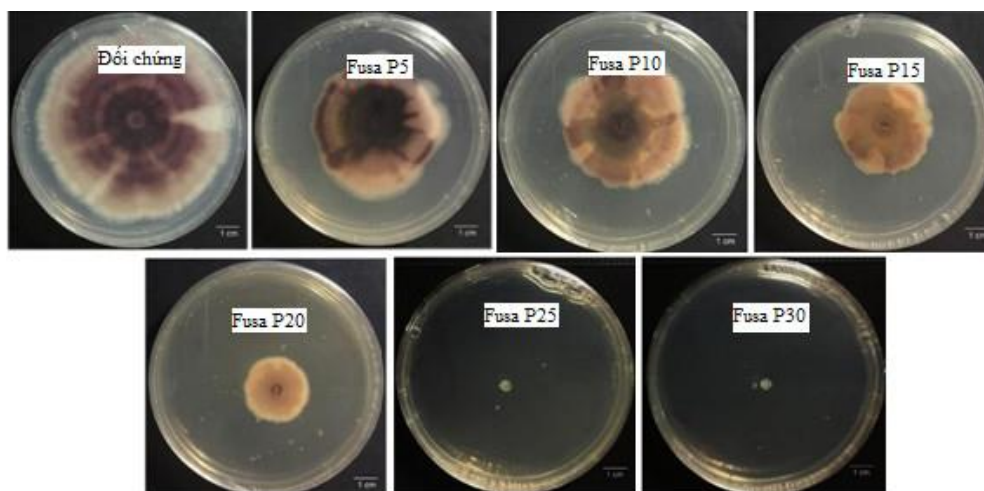
Trong trường hợp xác định hiệu quả kháng khuẩn của dung dịch tạo bởi plasma nguội dựa vào bán kính vòng kháng khuẩn ở bảng 2 thể hiện rõ dung dịch tạo bởi plasma trong khoảng thời gian 15 phút thì vòng kháng khuẩn bắt đầu xuất hiện với bán kính là 2 mm. Thời gian tác động của tia plasma càng dài thì đường kính vòng kháng khuẩn càng lớn. Điều này chỉ ra rằng dung dịch tạo bởi plasma nguội hoàn toàn có khả năng kháng *Xanthomonas* spp.

Có rất nhiều nhóm nghiên cứu đưa ra các cơ chế kháng khuẩn của dung dịch tạo bởi plasma nguội. Laurita và cộng sự (2015) cho rằng chính giá trị pH thấp và sự hình thành của H_2O_2 trong dung dịch tạo bởi plasma nguội đã tạo nên khả năng kháng khuẩn của nó. Trong khi đó, Traylor và cộng sự (2011) cho rằng dung dịch tạo bởi plasma nguội gây ra sự ức chế vi khuẩn là do các hoạt chất sinh ra từ sự tương tác của H_2O_2 và ion NO_2^- . Một nghiên cứu khác của Oehmigen và cộng sự (2011) đã chỉ ra cơ chế kháng khuẩn chi tiết hơn là trong điều kiện axit, quá trình oxy hóa bởi các gốc hydroperoxyl và quá trình peroxy hóa lipid của màng tế bào bắt đầu. Do đó, màng tế bào bị phá hủy để tạo điều kiện cho các proton đi vào bên trong tế bào. Đồng thời, gốc

ONOOH được tạo ra bởi các gốc nitơ thâm nhập vào bên trong tế bào vi khuẩn và phân hủy thành NO_2^- và $\cdot OH$ có tính oxy hóa cao và phá hủy tế bào vi sinh vật từ bên trong. Ngoài ra, các công trình khác đã xác định một số tác nhân tích cực đối với quá trình bất hoạt vi khuẩn của dung dịch tạo bởi plasma nguội là nhờ vào sự kết hợp của nhiều yếu tố như giá trị pH, oxy và nitơ (Chen và cộng sự, 2008; Zhang và cộng sự, 2008; Lukes và cộng sự, 2014). Từ các nghiên cứu trên cho thấy hiệu quả kháng khuẩn của dung dịch tạo bởi plasma nguội phụ thuộc vào nhiều yếu tố như: giá trị pH, các loại oxi có hoạt tính (Reactive oxygen species-ROS) và các loại nitơ có hoạt tính (Reactive nitrogen species-RNS). Tùy thuộc vào thành phần, tỷ lệ và nồng độ các chất và thời gian tiếp xúc của dung dịch tạo bởi plasma nguội với vi sinh vật.

3.2. Hoạt tính kháng nấm của dung dịch tạo bởi plasma nguội

Phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu MIC được sử dụng để đánh giá hoạt tính kháng nấm của các mẫu dung dịch tạo bởi plasma nguội. Kết quả xác định nồng độ ức chế tối thiểu MIC của dung dịch tạo bởi plasma nguội đến nấm *Fusarium* spp. thể hiện ở hình 2.



Hình 2. Ảnh chụp các đĩa thạch có chứa mẫu đối chứng và các dung dịch tạo bởi plasma nguội ở thời gian khác nhau với nấm *Fusarium* spp.

Hình 2 cho thấy dung dịch tạo bởi plasma nguội ở các khoảng thời gian dưới khác nhau có ảnh hưởng đến sự phát triển của sợi nấm *Fusarium* spp. không giống nhau. Cụ thể hơn, ở mẫu C và P5, cho thấy sợi nấm phát triển đồng đều, xốp mịn, lan rộng, màu sắc thể hiện rõ. Trong khi đó mẫu P10 và P15 thì sự phát triển của sợi nấm bắt đầu bị kìm hãm, sợi nấm

bắt đầu phát triển không đồng đều và đến mẫu P20 thì sợi nấm bị co ép lại, đường kính tản nấm cũng nhỏ hơn và không mịn như các mẫu dung dịch tạo bởi plasma nguội có thời gian 5 - 15 phút. Với mẫu P25 và 30 thì hoàn toàn không có sợi nấm xuất hiện. Vậy nên ta có thể kết luận điểm MIC của dung dịch tạo bởi plasma nguội là ở thời gian 25 phút.

Bảng 3. Kết quả bán kính vòng kháng khuẩn các loại dung dịch tạo bởi plasma nguội ở thời gian khác nhau

Mẫu	C	P5	P10	P15	P20	P25	P30
Bán kính vòng kháng nấm (mm)	0	0	0	0	1 ± 0,05	3 ± 0,05	4 ± 0,05

Bảng 3 cho thấy vòng kháng khuẩn chỉ xuất hiện từ khoảng thời gian 20 phút trở lên. Điều này phù hợp với nghiên cứu trước đây (Matan và cộng sự, 2014). Dung dịch tạo bởi plasma nguội ở thời gian lâu hơn là 25 và 30 phút có vòng kháng nấm to hơn, điều này là do các hợp chất có khả năng kháng nấm có trong dung dịch tạo bởi plasma nguội nồng độ cao hơn.

Dựa vào các kết quả thu được ở hình 2 và bảng 3 ta có thể thấy dung dịch tạo bởi plasma nguội có hiệu quả kháng nấm thấp hơn so với hiệu quả kháng khuẩn trong các điều kiện tương đương. Điều này được giải thích là do sự khác biệt về cấu trúc và thành phần của tế bào vi sinh vật nhân sơ và nhân thực. Cấu trúc tế bào của nấm phức tạp hơn vi khuẩn, do đó phải áp dụng các điều kiện điều chế dung

dịch tạo bởi plasma nguội khác nhau để đạt được hiệu quả bất hoạt tương đương (Scholtz và cộng sự, 2015; Kamgang Youbi và cộng sự, 2009). Về tác động kháng nấm thì dung dịch tạo bởi plasma nguội đã làm bào tử nấm bị vỡ ra, teo lại và dẹt, bề mặt tế bào thô ráp, nhăn nheo (Lee và cộng sự, 2015). Avramidis và cộng sự (2010) đã sử dụng kính hiển vi quang học, họ quan sát thấy dung dịch tạo bởi plasma nguội làm cấu trúc thành tế bào và màng tế bào bị hư hỏng, dẫn đến rò rỉ tế bào chất. Một nghiên cứu khác của Dasan và cộng sự (2017), dựa vào ảnh thu được từ kính hiển vi điện tử quét (Scanning Electron Microscope - SEM) đã chứng minh rằng các bào tử của *A. parasiticus* mất tính toàn vẹn sau khi xử lý bằng dung dịch tạo bởi plasma nguội và các chất trong tế bào phân tán thành các cụm. Dựa trên những quan sát này, có thể giả thuyết rằng cơ chế kháng nấm của dung dịch tạo bởi plasma nguội là do các ROS, cụ thể là $\cdot\text{OH}$ và oxy đơn $\text{O}_2\cdot$ trong dung dịch tạo bởi plasma nguội có xu hướng tấn công các axit béo không no trên màng tế bào dẫn đến phá vỡ thành tế bào nấm và gây ra sự xâm nhập của các ion, các hợp chất phân cực vào trong tế bào (Laroussi và cộng sự, 2002; Deng và cộng sự, 2006) và/hoặc bị rò rỉ các thành phần nội bào như axit nucleic và protein - do đó dẫn đến giảm hoạt động trao đổi chất dẫn đến chết tế bào (Misra và cộng sự, 2018; Lee và cộng sự, 2015).

4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, các mẫu dung dịch tạo bởi plasma nguội đã được điều chế và đánh giá hoạt tính kháng nấm và

kháng khuẩn gây bệnh trên cây trồng. Kết quả cho thấy khả năng kháng *Xanthomonas* spp. đạt được với mẫu có thời gian lưu là 15 phút trong khi để kháng *Fusarium* spp. thì cần thời gian lưu là 20 phút. Điều này cho thấy khả năng kháng khuẩn, kháng nấm là do thành phần, tỷ lệ và nồng độ các hoạt chất có trong dung dịch tạo bởi plasma nguội gây ra. Các kết quả này là tiền đề cho việc nghiên cứu tìm kiếm một phương pháp mới để phòng chống các bệnh trên cây trồng do vi sinh vật gây ra mà vẫn đảm bảo thân thiện với môi trường, con người và vật nuôi.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được hỗ trợ bởi Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VinIF) và sự bảo trợ của Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Bình Phước.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Agata Los, Dana Ziuzina, Daniela Boehm, Patrick J Cullen, Paula Bourke (2020), Inactivation Efficacies and Mechanisms of Gas Plasma and Plasma-Activated Water against *Aspergillus flavus* Spores and Biofilms: a Comparative Study. *Appl Environ Microbiol.* doi: 10.1128/AEM.02619 - 19.
2. Avramidis G, Stüwe B, Wascher R, Bellmann M, Wieneke S, von Tiedemann A, Viöl W. (2010), Fungicidal effects of an atmospheric pressure gas discharge and degradation mechanisms. *Surf Coat Tech* 205: S405 - S408.
3. Burgess L.W., Knight T.E., Tesoriero L. and Phan H.T. (2008), Diagnostic manual for plant diseases in Vietnam. ACIAR Monograph No. 129, pp.2010. ACIAR: Canberra.
4. Chen, C. W., Lee, H.-M., & Chang, M. B. 2008. Inactivation of aquatic microorganisms by low-frequency AC discharges. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 36(1), 214 - 219.
5. Chia-Min Lin, Yu-Chi Chu, Chun-Ping Hsiao, Jong-Shinn Wu, Chang-Wei Hsieh and Chih-Yao Hou (2019), The Optimization of Plasma-

- Activated Water Treatments to Inactivate Salmonella Enteritidis (ATCC 13076) on Shell Eggs. *Foods* 2019, 8(10), 520.
6. D. Park, K. Davis, S. Gilani, C. Alonzo, D. Dobrynin, G. Friedman, A. Fridman, A. (2013), Rabinovich and G. Fridman. Reactive nitrogen species produced in water by non-equilibrium plasma increase plant growth rate and nutritional yield. *Curr Appl Phys.*, 13, 19 (2013).
 7. Daniela Ballotin, Stephanie Fulaz, Flávia Cabrini, Junko Tsukamoto, Nelson Durán, Oswaldo L. Alves, Ljubica Tasic (2017), Antimicrobial textiles: Biogenic silver nanoparticles against *Candida* and *Xanthomonas*. *Materials Science and Engineering: C* vol 75, p.582 - 589.
 8. Dasan BG, Boyaci IH, Mutlu M. (2017), Nonthermal plasma treatment of *Aspergillus* spp. spores on hazelnuts in an atmospheric pressure fluidized bed plasma system: Impact of process parameters and surveillance of the residual viability of spores. *J Food Eng* 196:139 - 149.
 9. Horst R. (2008), Plant Diseases and Their Pathogens. In: Horst R. (eds) *Westcott's Plant Disease Handbook*. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4585-1_3
 10. Huu Thien Pham, Ky Duyen Vo Nguyen (2020), The Preparation of Palladium -Based Catalyst via Dielectric - Barrier Discharge (DBD) for Total Oxidation of n-butanol and CO at Low Temperature. *Journal of Chemical Engineering Transactions* vol. 77.
 11. K. Naumova, A. I. Maksimov & A. V. Khlyustova (2011), Stimulation of the germinability of seeds and germ growth under treatment with plasma-activated water. *Surface Engineering and Applied Electrochemistry* vol. 47, p. 263 - 265.
 12. K. Oehmigen, M. Hähnel, R. Brandenburg, C. Wilke, K.-D. Weltmann and T. von Woedtke (2010), The Role of Acidification for Antimicrobial Activity of Atmospheric Pressure Plasma in Liquids. *Plasma Process. Polym.* 7, 250 - 257.
 13. Kaitlin DeJesus (2019), Preventative Compositions of *Azadirachta indica* Against *Fusarium oxysporum*. *Pathology. The FASEB journal*.
 14. Kalyan K. Mondal, Chander Mani (2012), Investigation of the antibacterial properties of nanocopper against *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae*, the incitant of pomegranate bacterial blight. *Annals of Microbiology* vol 62, p. 889 - 893.
 15. Kamgang-Youbi G, Herry JM, Meylheuc T, Brisset JL, Bellon-Fontaine MN, Doubla A, Naitali M. (2009), Microbial inactivation using plasma-activated water obtained by gliding electric discharges. *Lett Appl Microbiol* 48:13 - 8.
 16. L. Sivachandiran, A. Khacef. (2017), Enhanced seed germination and plant growth by atmospheric pressure cold air plasma: combined effect of seed and water treatment. *RSC Advances Issue 4, vol. 7, p. 1822 - 1832*.
 17. Lee GJ, Sim GB, Choi EH, Kwon Y-W, Kim JY, Jang S, Kim SH. (2015), Optical and structural properties of plasma-treated *Cordyceps bassiana* spores as studied by circular dichroism, absorption, and fluorescence spectroscopy. *Journal of Applied Phys.*
 18. Matthew J Traylor, Matthew J Pavlovich, Sharmin Karim, Pritha Hait, Yukinori Sakiyama, Douglas S Clark and David B Graves (2011), Long-term antibacterial efficacy of air plasma-activated water., *J. Phys. Appl. Phys.* 44, 472001.
 19. M. Laroussi, J. P. Richardson, and F. C. Dobbs (2002), Effects of nonequilibrium atmospheric pressure plasmas on the heterotrophic pathways of bacteria and on their cell morphology. *Appl. Phys. Lett.* 81, 772.
 20. Madian Perez, Enrico Biondi, Romolo Laurita, Mariarita Proto, Fabio Sarti, Matteo Gherardi, Assunta Bertaccini, Vittorio Colombo (2019), Plasma activated water as resistance inducer against bacterial leaf spot of tomato. *Plos one*.
 21. Maysa S., Ricardo M. Gonçalves, José M. Soman, Renate K. Sakate, Ricardo Gioria, Tadeu AF da Silva Júnior, Antonio C. Maringoni (2014), Prevalence of *Xanthomonas euvesicatoria* on Pepper in Brazil. *Journal of Phytopathology*.
 22. Misra NN, Yadav B, Roopesh MS, Jo C (2019), Cold Plasma for Effective Fungal and Mycotoxin Control in Foods: Mechanisms, Inactivation Effects, and Applications. *CRFSFS* 18:106 - 120.

23. Narumol Matan, Mudtorlep Nisoa, Nirundorn Matan, Tanong Aewsiri (2014), Effect of cold atmospheric plasma on antifungal activities of clove oil and eugenol against molds on areca palm (*Areca catechu*) leaf sheath. *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 86, Part C, Pages 196 - 201.
24. Nguyen Thanh Hai, Dang Hoang Trang, and Nguyen Thi Thanh Ha (2018), Herbal Extracts in Combination with Nanosilver Inhibit Bacterial Leaf Blight Disease Caused by *Xanthomonas oryzae pv oryzae* in Rice. *Vietnam Journal of Agricultural Sciences* vol 1 No 4.
25. Nguyen Vo Ky Duyen (2020), Nghiên cứu tạo nước hoạt hóa plasma và ứng dụng nâng cao tỷ lệ nảy mầm hạt và tăng trưởng của xà lách xoăn (*Lactuca capitata*). Luận văn Thạc sĩ sinh học thực nghiệm, Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.
26. Oehmigen, K., Winter, J., Hahnel, M., Wilke, C., Brandenburg, R., Weltmann, K.-D., & von Woedtke, T. (2011), Estimation of possible mechanisms of *Escherichia coli* inactivation by plasma treated sodium chloride solution. *Plasma Processes and Polymers*, 8(10), 904 - 913.
27. Osdaghi E, Taghavi SM, Hamzehzarghani H AND Lamichlane JR (2016), Occurrence and characterization of the bacterial spot pathogen *Xanthomonas euvesicatoria* on pepper in Iran. *J Phytopathol* 164, 722 - 734.
28. P. Lukes, E. Dolezalova, I. Sisrova and M. Clupek (2014), Aqueous-phase chemistry and bactericidal effects from an air discharge plasma in contact with water: evidence for the formation of peroxyxynitrite through a pseudo-second-order post-discharge reaction of H_2O_2 and HNO_2 . *Plasma Sources Sci. Technol.* 23, 15019.
29. Potnis n, Timilsina S, Strayer A, Shantharaj D, Barak JD, Paret ML, Vallad GE AND Jones JB (2015), Bacterial spot of tomato and pepper: diverse *Xanthomonas* species with a wide variety of virulence factors posing a worldwide challenge. *Mol Plant Pathol* 16, 907 - 920.
30. Qisen Xiang, Chaodi Kang, Liyuan Niu, Dianbo Zhao, Ke Li, Yanhong Bai (2018), Antibacterial activity and a membrane damage mechanism of plasma-activated water against *Pseudomonas deceptionensis* CM2. *LWT*, Volume 96, 395 - 401.
31. R. Laurita, D. Barbieri, M. Gherardi, V. Colombo and P. Lukes (2015), Chemical analysis of reactive species and antimicrobial activity of water treated by nanosecond pulsed DBD air plasma. *Clin. Plasma Med.* 3, 53 - 61.
32. Renato Carvalho, Kamil Duman, Jeffrey B. Jones & Mathews L. Paret (2019), Bactericidal Activity of Copper-Zinc Hybrid Nanoparticles on Copper-Tolerant *Xanthomonas perforans*. *Scientific Reports* vol. 9.
33. Sandhya Mishra, Xiaodong Yang, Shatrupa Ray, Leonardo Fernandes Fraceto & H. B. Singh (2020), Antibacterial and biofilm inhibition activity of biofabricated silver nanoparticles against *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* causing blight disease of rice instigates disease suppression. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* vol. 36, Iss. 4.
34. Scholtz V, Pazlarova J, Souskova H, Khun J, Julak J (2015), Nonthermal plasma-A tool for decontamination and disinfection. *Biotechnol Adv* 33:1108 - 19.
35. Thien Huu Pham, Ha Manh Bui, Ahmed Khacef (2018), Oxidation of propene from air by atmospheric plasma-catalytic hybrid system. *Journal of the Serbian Chemical Society* 83, No.5
36. Vasile Stoleru, Radu Burlica, Gabriela Mihalache, Delicia Dirlau, Silvica Padureanu, Gabriel-Ciprian Teliban, Dragos Astanei, Alexandru Cojocaru, Oana Beniuga & Antoanela Patras (2020), Plant growth promotion effect of plasma activated water on *Lactuca sativa* L. cultivated in two different volumes of substrate. *Scientific Reports* vol. 10.
37. Wu, S., Zhang, Q., Ma, R., Yu, S., Wang, K., Zhang, J., & Fang, J. (2017), Reactive radical-driven bacterial inactivation by hydrogen-peroxide-enhanced plasma-activated-water. *The European Physical Journal Special Topic* 226 (13), 2887 - 2899.
38. X. Deng, J. Shi, and M. G. Kong (2006), Physical Mechanisms of Inactivation of *Bacillus subtilis* Spores Using Cold Atmospheric Plasmas. *IEEE Trans. Plasma Sci.* 34, 1310.
39. Z. Machala, B. Tarabova, K. Hensel, E. Spetlikova, L. Sikurova and P. Lukes (2013), Formation of ROS and RNS in Water Electro-S prayed through Transient Spark Discharge in Air and their Bactericidal Effects Plasma Process. *Polym.*, 10, 649.

NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG NANO BẠC PHÒNG TRỪ BỆNH THÁN THƯ GÂY HẠI CÂY ỚT *Capsicum frutescens* L. VÀ THỬ NGHIỆM MÔ HÌNH

Chu Trung Kiên¹, Nguyễn Hiếu Hạnh¹,
Trần Anh Tuấn¹, Hồ Thị Thanh Huyền¹, Huỳnh Hữu Tín¹,
Chu Văn Khương¹ và Nguyễn Thị Lan Anh²

¹ Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam

² Đại học Công nghệ TP. Hồ Chí Minh (HUTECH)

TÓM TẮT

Nghiên cứu sử dụng nano bạc phòng trừ bệnh thán thư gây hại cây ớt *Capsicum frutescens* L. và thử nghiệm mô hình được thực hiện từ tháng 10/2018 đến tháng 12/2019 tại tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu gồm 2 nội dung: Thí nghiệm xác định thời điểm phun nano bạc phòng trừ hiệu quả bệnh thán thư trên cây ớt trong suốt vụ và thử nghiệm mô hình phòng trừ bệnh thán thư bằng nano bạc. Kết quả thí nghiệm cho thấy phun Mifum 0.6SL với nồng độ nano bạc 60ppm định kỳ 15 ngày/lần từ thời điểm 15 - 45 ngày sau trồng, sau đó phun thường xuyên 10 ngày/lần cho đến 105 ngày sau trồng có khả năng làm giảm 77,56% chỉ số bệnh thán thư trên lá và 73,14% tỷ lệ bệnh thán thư trên quả so với đối chứng không phun. Mô hình sử dụng Mifum 0,6SL có khả năng quản lý hiệu quả bệnh thán thư trên cây ớt, năng suất cao hơn trên 11%, lãi ròng cao hơn trên 10 triệu đồng/ha/vụ so với sử dụng hóa chất trừ nấm bệnh theo kinh nghiệm của nông hộ và không để lại dư lượng kim loại Ag trong sản phẩm.

Từ khóa: bệnh thán thư, cây ớt, nano bạc.

ABSTRACT

Study on the use of silver nanoparticles to control anthracnose disease on hot chili and evaluate the application model

The study was conducted from October 2018 to December 2019 in Ba Ria Vung Tau province with two trials. The first trial was to determine the silver nanoparticles application times for the high efficacy of controlling anthracnose disease on hot chili during the season. The other trial was to evaluate the application model of silver nanoparticles for controlling anthracnose disease. Results showed that spraying Mifum

0.6SL (silver nanoparticles with 60ppm concentration) 15 days interval from 15 to 45DAP (day after planting), then application 10 days interval until 105DAP has decreased 77,56% of diseased severity on leaves as well as reduced 73,14% diseased incidence on fruits in comparison with untreated control. The result from model testing showed that the yield of plot that spraying Mifum 0.6SL has increased about 11%, net profit get higher than 10 million VND per ha per season compared with farmer's plot which applied the chemical fungicides for prevention anthracnose disease and non metal residues in fresh product.

Keywords: Anthracnose disease, hot chili, silver nanoparticles.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam, bệnh hại cây ớt *Capsicum frutescens* L. do nấm *Colletotrichum* sp. gây ra là một trong những bệnh hại rất quan trọng, gây thiệt hại đến 50% năng suất ớt ở Đông Nam Bộ và Tây Nam Bộ, các giống ớt trồng hiện nay đều nhiễm bệnh thán thư (Phạm Thị Diệu Phương và cs., 2013). Tại TP. Hồ Chí Minh bệnh thán thư gây thiệt hại năng suất ớt từ 12 - 25% ở huyện Hóc Môn và 10,9 - 52,9% ở huyện Bình Chánh (Trần Thanh Tùng và cs., 2002).

Trong sản xuất hiện nay, các loại hóa chất trừ nấm bệnh thường được lựa chọn để kiểm soát bệnh thán thư, nhưng hiệu quả không cao. Mặt khác, sử dụng liên tục các loại hóa chất bảo vệ thực vật dẫn đến mối nguy tồn dư hóa chất trong nông sản rất cao đồng thời ảnh hưởng tiêu cực đến môi trường sinh thái và sức khỏe con người nên bị giới hạn sử dụng và không phù hợp trong sản xuất an toàn, bền vững.

Sử dụng các loại nano bạc trong sản xuất nông nghiệp nhằm giảm bớt sự phụ thuộc vào các loại hóa chất độc hại và hướng đến nền nông nghiệp an toàn, bền vững, thân thiện với môi trường đang

được các nước trên thế giới đặc biệt quan tâm, trong đó có Việt Nam. Do đó, bài báo này cung cấp những thông tin thiết yếu về việc sử dụng nano bạc để phòng trừ hiệu quả thán thư trên cây ớt.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Vật liệu nano: Mifum 0.6SL (nano bạc 0,1% + Chitosan 0,5%) do Viện Khoa học vật liệu ứng dụng nghiên cứu và sản xuất.

Giống trồng: Giống ớt cay F1 mã số NH No1 do Công ty Hương Nông phân phối. Mật độ trồng là 16.000 cây/ha, khoảng cách $1,2 \times 0,5$ m.

Thời gian và địa điểm: Từ tháng 10/2018 đến tháng 12/2019, tại tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thí nghiệm xác định thời điểm phun nano bạc phòng trừ hiệu quả bệnh thán thư trên cây ớt trong suốt vụ

- **Phương pháp bố trí thí nghiệm:** Bố trí thí nghiệm theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên (RCBD) với 5 nghiệm thức và 3 lần lặp lại, mỗi ô cơ sở 50 m^2 . Các nghiệm thức gồm:

Nghiệm thức	Ký hiệu	Thời điểm xử lý (ngày sau trồng - NST)	Số lần phun
1	NT1	Phun Mifum 0,6SL định kỳ 15 ngày/lần, từ 15 - 105 NST	7
2	NT2	Phun Mifum 0,6SL định kỳ 15 ngày/lần từ 15 - 45 NST, sau đó phun định kỳ 10 ngày/lần đến 95 NST	8
3	NT3	Phun Mifum 0,6SL ở thời điểm 30 NST và 45 NST, sau đó phun định kỳ 10 ngày/lần đến 95 NST	7
4	NT4	Phun Amista 250SC theo nồng độ khuyến cáo của nhà sản xuất ở thời điểm 30 NST và 45 NST, sau đó phun định kỳ 10 ngày/lần đến 95 NST	7
5	NT5	Phun nước lã	8

- *Phương pháp xử lý:* Dung dịch Mifum 0,6SL ở nồng độ nano bạc 60 ppm và Amista 250SC ở nồng độ 0,1% được phun ướt đều trên cây vào buổi chiều mát. Lượng dung dịch thuốc phun từ 350 - 450 lít/ha/lần.

- Các yếu tố kỹ thuật phi thí nghiệm được áp dụng chung cho tất cả các nghiệm thức trong suốt vụ.

- Phương pháp theo dõi:

+ *Bệnh thán thư trên lá:* Theo dõi định kỳ 7 ngày/lần từ khi bệnh xuất hiện đến 120 NST, tại mỗi ô nghiệm thức điều tra 5 điểm cố định được chọn ngẫu nhiên, mỗi điểm điều tra cố định 01 cây, đếm 20 - 30 lá để xác định mức độ bệnh và chỉ số AUDPC từ khi bệnh xuất hiện đến 120 NST.

+ *Bệnh thán thư trên quả:* Ở giai đoạn thu hoạch, mỗi ô nghiệm thức điều tra 5 điểm cố định được chọn ngẫu nhiên trên hai đường chéo góc, mỗi điểm điều tra cố định 01 cây, mỗi cây chọn 4 cành (cấp 2 - 3) theo 4 hướng, đếm tổng số quả già đến chín và số quả bị bệnh của mỗi cành để xác định tỷ lệ quả bị bệnh (%).

+ *Năng suất thương phẩm (tấn/ha):* Năng suất quả thương phẩm của mỗi nghiệm thức được quy ra từ năng suất quả thương phẩm của ô nghiệm thức thu được từ 3 lần thu hoạch ở thời điểm bắt đầu thu hoạch, thu hoạch rộ và kết thúc thu hoạch.

- Các chỉ tiêu theo dõi:

+ Tỷ lệ và chỉ số bệnh thán thư trên lá (%).

+ Tỷ lệ bệnh thán thư trên quả (%).

+ Giá trị AUDPC của mỗi bệnh điều tra (%*ngày).

+ Năng suất quả thương phẩm (tấn/ha).

2.2.2. Thử nghiệm mô hình phòng trừ hiệu quả bệnh thán thư trên cây ớt bằng nano bạc

- *Cơ sở xây dựng mô hình:* Trên cơ sở kết quả nội dung 2.3.1, Mifum 0,6SL ở nồng độ nano bạc 60ppm được phun định kỳ 15 ngày/lần từ 15 - 45 NST, sau đó phun 10 ngày/lần đến 105 NST. Các yếu tố kỹ thuật phi thí nghiệm thực hiện trong mô hình được áp dụng như nhau ở cả 2 lô. Các yếu tố thí nghiệm áp dụng giữa 2 lô thí nghiệm như sau:

Lô thử nghiệm	Lô đối chứng
Phun Mifum 0,6SL ở nồng độ nano bạc 60 ppm (96ml/16 lít nước) 15 ngày/lần từ 15 - 45 NST, sau đó phun 10 ngày/lần đến 105 NST	Phun luân phiên Amista 250SC (16ml/16 lít nước) với Ridomil Gold 68WG (60g/16 lít nước) từ 15 - 105 NST

- *Bố trí thử nghiệm*: Bố trí thử nghiệm diện rộng không lặp lại, gồm 2 lô (lô thử nghiệm phun nano bạc và lô đối chứng theo kinh nghiệm của nông dân) mỗi lô 1.000 m². Tổng diện tích thử nghiệm là 2.000 m².

- *Phương pháp theo dõi bệnh thán thư trên cây ớt*: Tương tự như ở mục 2.3.1, nhưng số cây quan sát là 3 cây/điểm đối với bệnh thán thư trên quả và 5 cây/điểm đối với bệnh thán thư trên lá.

+ *Năng suất thương phẩm (tấn/ha)*: Được quy ra từ năng suất thương phẩm thực thu của mỗi lô ở tất cả các lần thu hoạch.

+ *Tồn dư thuốc trừ bệnh*: Mẫu quả ớt của mỗi lô được lấy ngẫu nhiên tại thời điểm thu hoạch rộ (20 ngày sau lần thu hoạch đầu tiên) để phân tích dư lượng thuốc BVTV nhóm lân hữu cơ và carbamat; kim loại bạc. Tổng số mẫu phân tích là 6 (3 mẫu từ lô quy trình và 3 mẫu từ lô nông hộ), mỗi mẫu là 0,5 kg.

- Các chỉ tiêu theo dõi:

+ Tỷ lệ và chỉ số lá bị bệnh thán thư (%).

+ Tỷ lệ quả bị bệnh thán thư (%).

+ Giá trị AUDPC của mỗi bệnh điều tra (%*ngày).

+ Năng suất quả thương phẩm (tấn/ha).

+ Lãi ròng (triệu đồng/ha).

+ Dư lượng thuốc BVTV nhóm lân hữu cơ và carbamat; kim loại bạc trong quả.

2.2.3. Cách tính các chỉ tiêu theo dõi

- Chỉ số tích lũy bệnh theo thời gian được tính theo công thức AUDPC (The area under disease progressive curve) của Shanner và Finney (1997) như sau:

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

Trong đó: y_i là chỉ số bệnh hại ở lần theo dõi thứ i .

t_i là số ngày của lần theo dõi i .

n là tổng số lần theo dõi.

- Lãi ròng (triệu đồng/ha) = Tổng thu - Tổng chi.

2.3. Xử lý số liệu

Phần mềm thống kê SAS 9.1 để phân tích ANOVA và trắc nghiệm LSD ở mức ý nghĩa 95%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thí nghiệm xác định thời điểm phun nano bạc phòng trừ hiệu quả bệnh thán thư

Mức độ bệnh thán thư trên lá cây ớt cay tích lũy từ 30 - 120 NST được ghi nhận ở bảng 1 cho thấy sự tích lũy tỷ lệ và chỉ số bệnh thán thư ở các nghiệm thức phun nano bạc và nghiệm thức phun Amista 250SC (NT4) giảm mạnh và thấp hơn có ý nghĩa thống kê ở mức 95% so với nghiệm thức đối chứng (NT5) không phun thuốc. Trong đó, NT2 thấp hơn các nghiệm thức khác và khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 95% so với NT1 về chỉ số AUDPC của chỉ số bệnh.

Bảng 1. Mức độ bệnh thán thư trên lá cây ớt thí nghiệm

Thí nghiệm	Tỷ lệ bệnh		Chỉ số bệnh	
	AUDPC (%*ngày)	Mức giảm so với Đ/C (%)	AUDPC (%*ngày)	Mức giảm so với Đ/C (%)
NT1	1.274,71 ^b	51,89	428,55 ^b	58,49
NT2	923,47 ^b	65,15	231,61 ^c	77,56
NT3	1.244,04 ^b	53,05	373,20 ^b ^c	63,85
NT4	1.042,68 ^b	60,65	323,83 ^b ^c	68,63
NT5 (Đ/C)	2.649,79 ^a		1.032,27 ^a	
CV (%)	18,94		20,98	
LSD _{0,05}	508,81		188,75	

Ghi chú: AUDPC là giá trị bệnh tích lũy 13 lần theo dõi; các giá trị trung bình trong cùng cột theo sau bởi cùng ký tự khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua trắc nghiệm LSD ở mức ý nghĩa 95%; Đ/C là đối chứng.

Tỷ lệ bệnh thán thư trên quả ớt tại thời điểm thu hoạch ở các thí nghiệm thức phun nano bạc và thí nghiệm thức phun Amista 250SC (NT4) thấp hơn có ý nghĩa thống kê ở mức 95% so với thí nghiệm thức đối chứng (NT5), tương ứng mức giảm tỷ lệ quả bị bệnh từ 61,93 - 73,14%, trong đó NT2 có mức giảm cao nhất (bảng 2).

Năng suất quả ớt thương phẩm thu được từ các thí nghiệm thức phun nano bạc hoặc hóa chất trừ nấm bệnh (NT4) cao hơn có ý nghĩa thống kê ở mức 95% so với thí nghiệm thức đối chứng (NT5), tương ứng mức tăng năng suất từ 63,80 - 83,94%, cao nhất là NT2 (bảng 2).

Bảng 2. Mức độ bệnh thán thư trên quả ớt và năng suất thương phẩm

Thí nghiệm	Tỷ lệ bệnh/quả (%)	Mức giảm tỷ lệ bệnh so với Đ/C (%)	Năng suất quả thương phẩm (tấn/ha)	Mức tăng năng suất so với Đ/C (%)
NT1	8,97 ^b	61,93	4,99 ^a	63,80
NT2	6,33 ^b	73,14	5,60 ^a	83,94
NT3	8,74 ^b	62,91	5,33 ^a	75,10
NT4	7,10 ^b	69,87	5,34 ^a	75,52
NT5 (Đ/C)	23,56 ^a		3,04 ^b	
CV (%)	21,79		9,30	
LSD _{0,05}	4,49		0,85	

Ghi chú: AUDPC: Giá trị bệnh tích lũy 7 lần theo dõi; Các giá trị trung bình trong cùng cột theo sau bởi cùng ký tự khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua trắc nghiệm LSD ở mức ý nghĩa 95%; Đ/C: Đối chứng.

Như vậy, kết quả thí nghiệm đã cho thấy phun Mifum 0.6SL với nồng độ nano bạc ở mức 60 ppm có khả năng phòng trừ các bệnh hại chính trên cây ớt cay trong

suốt vụ. Trong đó, NT2 có năng suất quả thương phẩm cao hơn các thí nghiệm thức khác. Do đó NT2 được lựa chọn là yếu tố thí nghiệm chính áp dụng trong mô hình.

3.2. Thử nghiệm mô hình

Bảng 3. Bệnh hại chính trên cây ớt cay trong mô hình

Nghiệm thức	AUDPC của TLB/lá (%*ngày)	AUDPC của CSB/lá (%*ngày)	AUDPC của TLB/quả (%*ngày)	Dư lượng trong quả
Lô thử nghiệm	730,67	302,29	118,50	KPH
Lô nông hộ	800,71	319,28	166,16	KPH
T-Test	ns	ns	*	

Ghi chú: AUDPC: Giá trị bệnh tích lũy của 6 lần điều tra đối với bệnh héo xanh, 12 lần đối với bệnh thán thư trên lá, 3 lần đối với bệnh thán thư trên quả; TLB: Tỷ lệ bệnh; CSB: Chỉ số bệnh; KPH: Không phát hiện dư lượng thuốc BVTV hoặc nano trên quả khi thu hoạch; ns: Khác biệt không có ý nghĩa thống kê, *: Khác biệt ở mức ý nghĩa 95% qua trắc nghiệm T-Test.

Sự tích lũy bệnh hại chính trên cây ớt từ khi bệnh xuất hiện cho đến 120 NST được ghi nhận ở bảng 3 cho thấy bệnh thán thư trên lá ở 2 lô trong mô hình là tương đương nhau. Kết quả thử nghiệm cũng ghi nhận tỷ lệ bệnh thán thư trên quả ớt ở thời kỳ thu hoạch của

lô thử nghiệm thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với ở lô áp dụng theo nông hộ. Kết quả phân tích dư lượng hóa chất trừ nấm và nano bạc trong quả cho thấy không phát hiện tồn dư hóa chất BVTV và kim loại Ag trong quả ớt cay ở cả 2 lô.

Bảng 4. Năng suất và hiệu quả kinh tế cây ớt cay trong mô hình

Nghiệm thức	Năng suất (tấn/ha)	Tổng thu (triệu đồng/ha)	Tổng chi (triệu đồng/ha)	Lãi ròng (triệu đồng/ha)
Lô thử nghiệm	7,87	157,3	92,8	64,5
Lô nông hộ	7,04	140,8	86,6	54,2
T-Test	*			

Ghi chú: Giá ớt cay trung bình trong vụ là 20.000 đồng/kg; *: Khác biệt ở mức ý nghĩa 95% qua trắc nghiệm T-Test.

Năng suất quả ớt cay thương phẩm thu được ở lô sử dụng Mifum 0,6SL cao hơn 11% so với lô áp dụng theo kinh nghiệm của nông hộ và khác biệt có ý nghĩa thống kê. Do đó, lãi ròng thu được cao hơn so với lô áp dụng theo nông hộ trên 10 triệu đồng/ha (bảng 4).

Như vậy, sử dụng nano bạc phòng trừ bệnh hại trên cây ớt *Capsicum frutescens* L. có khả năng quản lý hiệu quả bệnh thán

thư suốt vụ, làm giảm thất thoát năng suất quả thương phẩm dẫn đến tăng lợi nhuận cho người trồng. Mức độ bệnh thán thư ở lô sử dụng nano bạc thấp hơn so với lô áp dụng hóa chất trừ bệnh theo kinh nghiệm của nông hộ là do: (1) Tính kích kháng của cây được gia tăng từ các lần phun Mifum 0,6SL ở nồng độ nano bạc 60ppm ở thời điểm 15NST; (2) Tính kháng hệ thống (SAR) của cây được hình thành sau nhiều lần phun khi bệnh xuất hiện cho

đến 105NST; và (3) Sự tấn công trực tiếp của nano bạc khi tiếp xúc với nguồn bệnh ở các lần phun khi bệnh xuất hiện. Trong khi đó, các loại hóa chất trừ nấm áp dụng theo kinh nghiệm của nông hộ không có yếu tố để hình thành tính kháng hệ thống (SAR). Sự tác động chủ yếu của thuốc tới nguồn bệnh dựa vào cơ chế tiếp xúc và nội hấp hạn chế nên chỉ có hiệu quả cao trong khoảng thời gian ngắn sau mỗi lần phun và suy giảm nhanh dưới sự tác động của các yếu tố ngoại cảnh như tia UV, nhiệt độ, nước tưới hoặc mưa,... Do đó, bệnh sớm phát triển trở lại và phát triển nhanh vào giai đoạn thu hoạch cho đến cuối vụ khi việc phun thuốc bị hạn chế để giảm tồn dư hóa chất BVTV trong quả. Mặc dù chi phí sử dụng nano bạc cao hơn chi phí sử dụng hóa chất trừ nấm, nhưng an toàn và thân thiện với môi trường hơn điều này đã được Kim và cs. (2012) khẳng định.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

- Phun Mifum 0.6SL với nồng độ nano bạc 60ppm định kỳ 15 ngày/lần từ thời điểm 15 - 45NST, sau đó phun thường xuyên 10 ngày/lần cho đến 105NST có khả năng phòng trừ hiệu quả bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum* sp. trong suốt vụ. Năng suất quả ớt thương phẩm cao hơn khá rõ so với nghiệm thức phun Amista 250SC theo nồng độ khuyến cáo của nhà sản xuất.

- Mô hình sử dụng Mifum 0,6SL có khả năng quản lý hiệu quả bệnh thán thư trên cây ớt, năng suất cao hơn trên 11%, lãi ròng cao hơn trên 10 triệu đồng/ha/vụ so với sử dụng hóa chất trừ nấm bệnh theo kinh nghiệm của nông hộ và không để lại dư lượng kim loại Ag trong sản phẩm.

4.2. Đề nghị

- Bổ sung Mifum 0.6SL và cách sử dụng như của đề tài vào quy trình kỹ thuật trồng ớt cay an toàn ở tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu.

- Vận dụng làm cơ sở dữ liệu cho các đề tài nghiên cứu tương tự.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kim S.W., Jung J.H., Lamsal K., Kim Y.S., Min J.S., and Lee Y.S. (2012), Antifungal effects of silver nanoparticles (AgNPs) against various plant pathogenic fungi. *Mycobiology*, 40: 53 - 58.
2. Phạm Thị Diệu Phương, Trần Thị Vân, Bùi Cách Tuyến và Lê Đình Đôn (2013), Nghiên cứu nấm *Colletotrichum* spp. gây hại trên ớt tại vùng Đông Nam Bộ và Tây Nam Bộ của Việt Nam. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 3+4: 60 - 64.
3. Trần Thanh Tùng, Hoàng Xuân Quang, Mai Thị Vinh, Nguyễn Văn Kiện, Đinh Hồng Giang, Nguyễn Xuân Hà và Trần Thị Lộc (2002), Nghiên cứu xây dựng quy trình phòng trừ tổng hợp bệnh thán thư trên ớt (*Colletotrichum* spp.) tại thành phố Hồ Chí Minh. *Báo cáo trồng trọt kết quả nghiên cứu khoa học công nghệ năm 2001 - 2002*.

KHẢO SÁT HIỆU QUẢ PHÒNG TRỪ BỆNH ĐỐM VÀN TRÊN CÂY LÚA CỦA QUẦN THỂ NẤM RỄ NỘI CỘNG SINH - THÍ NGHIỆM NHÀ LƯỚI

Phạm Bảo Lộc¹, Phạm Thị Hải Nghi², Nguyễn Phúc Tuyên²,
Nguyễn Quốc Khương¹, Đỗ Thị Xuân^{2*}

¹Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ,

²Viện NC&PT Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

*Tác giả liên hệ: dtxuan@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu đánh giá hiệu quả của các quần thể (QT) nấm rễ nội cộng sinh (AM) giúp phòng trừ bệnh đốm vằn do nấm *Rhizoctinia solani* Kuhn gây hại và hỗ trợ sự sinh trưởng của cây lúa (*Oryza sativa* L.) trong điều kiện nhà lưới. Sáu QT nấm AM được sử dụng cho nghiên cứu. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 6 nghiệm thức (NT) được chủng QT nấm AM, 1 NT đối chứng không chủng nấm rễ và không chủng bệnh, 1 NT đối chứng chủng bệnh, đối chứng chủng bệnh có xử lý thuốc Validan 3SL. Nấm *R. solani* được chủng vào đất tại thời điểm cây lúa được 40 ngày tuổi và mật số nấm bệnh là 10^6 cfu/g đất. Kết quả thí nghiệm cho thấy NT xử lý thuốc hóa học có hiệu quả giảm bệnh cao nhất tiếp theo các NT được chủng với ba QT nấm LM-AG, PH và VT có hiệu quả giúp giảm tỉ lệ bệnh, giảm số chồi bị bệnh, có hiệu quả giảm bệnh cao hơn so với NT đối chứng chủng bệnh. Ba QT nấm rễ này giúp hỗ trợ sự phát triển của lúa và cho năng suất lúa đạt tương đương với NT chủng bệnh xử lý thuốc. Kết quả nghiên cứu cho thấy QT nấm LM-AG, PH và VT có tiềm năng kiểm soát tốt bệnh đốm vằn, hỗ trợ sự phát triển và giúp tăng năng suất lúa trong điều kiện thí nghiệm nhà lưới.

Từ khóa: Arbuscular mycorrhizal, cây lúa, bệnh đốm vằn, *Rhizoctonia solani*.

ABSTRACT

Investigating the efficacy of arbuscular mycorrhizal fungi on controlling sheath blight disease in rice - the greenhouse experiment

The aim of this study was to evaluate the efficacy of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi on controlling the rice sheath blight caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn and enhancing rice (*Oryza sativa* L.) plant development under the greenhouse conditions.

Người phân biên: TS. Lê Phước Thành.

Six arbuscular mycorrhizal populations were studied. The greenhouse experimnt was set up as a completely randomized design with 9 treatments including 6 treatments inoculated by AM fungal populations, 1 treatment without pathogen inoculation, 1 treatment with *R. solani* and 1 chemical treatment with *R. solani* and fungicide Validan 3SL. The density of *R. solani* inoculated to the treatments was 10^6 cfu/g of dry soil and applied to the experiment when rice plant was 40 days old. The results showed that the chemical treatment showed the greatest reduction of *R. solani* infection on panicles, followed by the treatments inoculated with LM-AG, PH and VT. In addition, the three treatments of LM-AG, PH and VT significantly enhanced plant growth and rice yield compared with the other treatments. The study has found that the three treatments of LM-AG, PH and VT helped rice plant growth and development and reduced *R. solani* infection under green house connditions.

Keywords: Arbuscular mycorrhial, rice plant, rice sheath blight, *Rhizoctonia solani*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm rễ nội cộng sinh *Arbuscular mycorrhiza* (AM) được xem là một trong các nhóm vi sinh vật có lợi trong đất giúp hỗ trợ cây trồng sinh trưởng và phát triển. Nấm AM có mối quan hệ tương hỗ với rễ của hơn 80% các loài thực vật và phân bố trên toàn thế giới (Öpik *et al.*, 2010). Trong hình thức cộng sinh này, sợi nấm AM hấp thu dinh dưỡng như photpho, lưu huỳnh, ni tơ, các vi lượng từ đất cung cấp cho cây trồng, đổi lại thực vật cung cấp nguồn carbon cho nấm rễ. Nhiều nghiên cứu cho thấy, nấm AM có vai trò hỗ trợ sinh trưởng và phát triển cũng như khả năng ức chế nguồn nấm bệnh hiện diện trong đất canh tác của cây trồng cạn (Akhtar and Siddiqui, 2008; Latef and Chaoxing, 2011; Nguyễn Thanh Phong và *ctv.*, 2018; Pinto, 2020).

Bệnh đốm vằn do nấm *R. solani* Kuhn gây hại trên lúa được xem là bệnh quan trọng thứ hai sau bệnh cháy lá (Park

et al., 2008). Có nhiều công bố cho thấy một số vi sinh vật giúp ức chế sự phát triển của nấm *R. solani* trong điều kiện in vitro và ngoài đồng. Tuy nhiên nghiên cứu về vai trò hỗ trợ sinh trưởng, kiểm soát nguồn bệnh của QT nấm AM với cây lúa vẫn còn hạn chế. Do đó nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá khả năng hỗ trợ của các QT nấm AM lên hiệu quả đối kháng bệnh đốm vằn do nấm *R. solani* Kuhn và sự phát triển trên lúa trong điều kiện nhà lưới.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và vật liệu

Đất thí nghiệm: Đất canh tác lúa được thu tại Phong Điền - Cần Thơ, phơi khô, loại bỏ tạp chất, hữu cơ. Cát rửa sạch, phơi khô trong không khí. Đất và cát được trộn với nhau theo tỉ lệ 1:1 (w/w) và thanh trùng 2 lần ở 121°C trong 30 phút (mỗi lần cách nhau 24 giờ). Thành phần hóa học của đất thí nghiệm được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Một số đặc tính hóa học của đất thí nghiệm

Đất thí nghiệm	pH _{H₂O} (1:2,5)	EC (mS/cm)	CHC (%)	N _{ts} (%)	NH ₄ ⁺ -N (mg/kg)	P _{ts} (%P ₂ O ₅)	P _{dt} (mgP/kg)
Đất:cát (1:1)	5,23	0,169	0,462	0,025	2,54	0,054	1,94

Ghi chú: Chỉ tiêu pH_{H₂O}, EC được phân tích với tỉ lệ đất:nước là 1:2,5 - đo bằng pH kế, EC kế; CHC: Theo phương pháp Walkley Black; N_{ts}: Theo phương pháp Kjeldahl, NH₄⁺-N: Theo phương pháp so màu quang phổ, P_{ts}: Theo phương pháp so màu quang phổ, P_{dt}: Theo phương pháp Bray 2.

Nguồn chủng nấm rễ AM: 6 QT chứa bào tử nấm AM bao gồm LM-AG, PH, VT, ĐT, CĐ9, CĐ10 được tuyển chọn từ kết quả nghiên cứu của Nguyễn Phúc Tuyên (2020) được sử dụng cho thí nghiệm. Số lượng bào tử hiện diện trong các quần thể được trình bày ở bảng 2.

Giống lúa OM5451. Chậu trồng lúa là chậu đen (φ 23 cm).

Nấm *R. solani* được cung cấp từ Bộ môn Bảo vệ thực vật, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ và được duy trì trên môi trường PDA. Mỗi đĩa thạch nguồn nấm *R. solani* được trộn với môi trường trấu + 0,1% PDB 24 giờ trước khi chủng bệnh (môi trường được thanh trùng 2 lần).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 9 NT và 5 lần lặp lại. Các QT nấm AM được chủng cho thí nghiệm là 50 bào tử/100 g đất khô kiệt (4 kg/chậu). Chủng QT nấm AM trước khi tiến hành sạ lúa, mỗi chậu sạ 10 hạt lúa đã nảy mầm. Vào thời điểm 7 ngày sau sạ (NSS) tiến hành tỉa và chừa lại 5 cây cho mỗi chậu. Khi cây lúa được 40 NSS tiến hành chủng nấm *R. solani* bằng cách rải đều môi trường có chứa nấm *R. solani* vào gốc lúa với mật số nguồn

nấm bệnh được chủng là 10⁶ cfu/g đất. Các NT bao gồm:

- ĐC-KCB: Đối chứng không chủng bệnh.
- ĐC-CB: Đối chứng + *R. solani*
- Validan 3SL: Đối chứng + *R. solani* có xử lý thuốc Validan 3SL 2 ngày sau khi chủng bệnh (NSKCB).
- LM-AG: QT LM-AG + *R. solani*
- VT: QT VT + *R. solani*
- ĐT: QT ĐT + *R. solani*
- CĐ10: QT CĐ10 + *R. solani*
- CĐ9: QT CĐ 9 + *R. solani*
- PH: QT PH + *R. solani*

Trong quá trình sinh trưởng của lúa sử dụng phân bón theo khuyến cáo của Nguyễn Ngọc Đệ (2008) với công thức phân là 90N - 40P₂O₅ - 30K₂O (kg/ha).

Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm:

- *Chỉ tiêu nông học:* Chiều cao, số chồi và sự xâm nhiễm của nấm AM theo các giai đoạn 40, 60 ngày sau sạ. Ở giai đoạn thu hoạch, ghi nhận chỉ tiêu chiều cao cây, sự xâm nhiễm của nấm AM, khối lượng hạt tươi, khối lượng hạt ở ẩm độ 14%, khối lượng hạt chắc, tỉ lệ hạt chắc.

- *Chỉ tiêu bệnh học:* Ghi nhận thời điểm xuất hiện bệnh, tỉ lệ số chồi bị bệnh, tỉ lệ chiều dài vết bệnh (Sharma *et al.*, 1990), hiệu quả giảm bệnh so với NT đối chứng (Prasad and Kumar, 2011).

2.2.2. Phương pháp đánh giá sự xâm nhiễm của nấm AM trên rễ cây lúa

Rễ lúa được thu theo vào các thời điểm, được xử lý và nhuộm rễ theo phương pháp của Đỗ Thị Xuân và ctv. (2016) và Phạm Thị Hải Nghi và ctv. (2020). Rễ sau khi nhuộm được quan sát dưới kính hiển vi quang học. Tỷ lệ xâm nhiễm được đánh giá theo công thức Lakshman (2014).

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập được xử lý trong Microsoft Excel và xử lý thống kê theo phương pháp phân tích ANOVA (One-way kiểm định Duncan) bằng phần mềm IBM SPSS Statistics 22.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ xâm nhiễm

Tại thời điểm 40 NSS, tỷ lệ xâm nhiễm của tất cả các NT được chủng với QT nấm AM trên rễ lúa đạt trong

khoảng 84,6 - 92,4%, cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$) so với cả 3 NT đối chứng không chủng nấm AM. Đồng thời các NT PH, LM-AG, VT, có tỷ lệ xâm nhiễm lần lượt là 92,4%, 91,4%, 90,4% khác biệt có ý nghĩa so với NT CĐ 10 với tỷ lệ xâm nhiễm của nấm AM là 84,6% qua phân tích thống kê.

Tại thời điểm 60 NSS, tỷ lệ xâm nhiễm của nấm AM ở các NT đều tăng so với thời điểm 40 NSS và các NT có chủng QT nấm AM đều đạt cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$) so với 3 NT đối chứng. Trong đó, NT LM-AG và PH có tỷ lệ xâm nhiễm đạt cao nhất là 94,6%, khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với các NT VT, CĐ9, CĐ10 nhưng khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$) so với NT ĐT.

Đến thời điểm thu hoạch (90 NSS), tất cả các NT có chủng nấm AM đều có tỷ lệ xâm nhiễm cao nhất (100%) khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các NT đối chứng (bảng 2).

Bảng 2. Tỷ lệ xâm nhiễm của nấm AM trên rễ cây lúa tại các thời điểm khảo sát

Nghiệm thức	Số lượng bào tử/100 g nguồn chủng ban đầu	Tỷ lệ xâm nhiễm của nấm AM trên lúa (%)		
		40 NSS	60 NSS	90 NSS
ĐC-KCB	-	5,20 ^c	6,00 ^c	5,00 ^b
ĐC-CB	-	4,60 ^c	5,60 ^c	5,80 ^b
Validan 3SL	-	4,80 ^c	4,00 ^c	5,80 ^b
LM-AG	1559	91,4 ^a	94,6 ^a	100 ^a
VT	1676	90,4 ^a	92,8 ^{ab}	100 ^a
ĐT	1920	88,2 ^{ab}	90,2 ^b	100 ^a
CĐ10	1339	84,6 ^b	92,0 ^{ab}	100 ^a
CĐ9	2026	89,4 ^{ab}	92,2 ^{ab}	100 ^a
PH	1193	92,4 ^a	94,6 ^a	100 ^a
Mức ý nghĩa		**	**	**
CV (%)		4,46	3,76	1,52

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép kiểm định Duncan. **: Khác biệt với mức ý nghĩa 1%. Số liệu được chuyển sang $\arcsin\sqrt{x}$ trước khi xử lý thống kê.

Các nghiệm thức đối chứng vẫn quan sát được sự xâm nhiễm của nấm AM vào rễ lúa ở giai đoạn thu hoạch nhưng tỉ lệ xâm nhiễm này không đáng kể. Nguyên nhân có thể là do giọt bắn của nước tưới trong quá trình tưới hoặc dụng cụ trong quá trình chăm sóc cây lúa. Kết quả này cũng tương tự nghiên cứu của Parvin *et al.* (2020), có một tỉ lệ xâm nhiễm rất thấp, không đáng kể trên các NT đối chứng không chủng nấm AM. Watanarojanaporn *et al.* (2013) cho rằng giai đoạn 90 NSS và 120 NSS, tỉ lệ tái xâm nhiễm của nấm AM vào rễ cây lúa là cao nhất so với các thời điểm khảo sát 30, 60 NSS là do vào các thời điểm về sau do hệ sợi nấm phát triển vươn dài bên trong đất, đồng thời theo Wang *et al.* (2013); Wang *et al.* (2015) khi cây lúa chuyển sang các giai đoạn làm đồng và chín, lượng oxy cây lúa

cung cấp trở lại cho nấm AM nhiều hơn giai đoạn cây con nên nấm phát triển mạnh hơn và tỉ lệ xâm nhiễm cao hơn.

3.2. Khả năng hỗ trợ sinh trưởng của nấm AM

Số chồi của cây lúa tại các thời điểm khảo sát (40 NSS và 60 NSS) của các NT chủng với nấm AM đều cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$) so với các NT đối chứng. Trong đó, các NT VT, CĐ9 có số chồi đạt nhiều và khác biệt ý nghĩa thống kê so với NT ĐT và CĐ10 (bảng 3). Nấm AM thúc đẩy mạnh mẽ khả năng nảy chồi của hầu hết các loài cỏ vùng nhiệt đới và ôn đới (Cavagnaro *et al.* 2014). Brejda *et al.* (1993) cho rằng nấm AM thúc đẩy khả năng nảy chồi mạnh mẽ của 3 loại cỏ chính được trồng để che phủ ở bang Nebraska (Mỹ).

Bảng 3. Số chồi và chiều cao cây lúa tại một số thời điểm khảo sát

Nghiệm thức	Số chồi/chậu		Chiều cao cây lúa (cm)		
	40 NSS	60 NSS	40 NSS	60 NSS	90 NSS
ĐC-KCB	18,6 ^d	18,0 ^d	73,7 ^{cd}	76 ^{bc}	85,6 ^b
ĐC-CB	19,8 ^d	19,4 ^d	73,3 ^{cd}	75,9 ^{bc}	85,9 ^{ab}
Validan 3SL	20,2 ^d	19,4 ^d	72,7 ^d	75,4 ^c	86,0 ^{ab}
LM-AG	27,0 ^{bc}	26,2 ^{bc}	75,3 ^{bc}	78,6 ^a	88,7 ^a
VT	30,6 ^a	30,0 ^a	75,1 ^{bc}	78,1 ^{ab}	88,5 ^{ab}
ĐT	26,4 ^c	25,8 ^c	77,0 ^{ab}	79,8 ^a	87,8 ^{ab}
CĐ10	25,8 ^c	25,2 ^c	76,7 ^{ab}	79,9 ^a	88,0 ^{ab}
CĐ9	29,8 ^{ab}	28,8 ^{ab}	76,0 ^{ab}	79,2 ^a	88,3 ^{ab}
PH	27,6 ^{abc}	26,6 ^{bc}	77,5 ^a	80,4 ^a	89,0 ^a
Mức ý nghĩa	**	**	**	**	**
CV (%)	7,09	6,44	1,48	1,80	1,84

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan. **: Khác biệt với mức ý nghĩa 1%.

Chiều cao cây lúa qua các thời điểm khảo sát (40, 60, 90 NSS) của các NT có chủng QT nấm AM đều có xu hướng cao hơn so với 3 NT đối chứng không chủng nấm trong đó QT nấm LM-AG và PH hỗ trợ cây lúa tăng trưởng và đạt chiều cao tốt nhất, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các NT đối chứng từ giai đoạn 60 và 90 NSS (bảng 3). Theo Watanarajanaporn *et al.* (2013), khi chủng nấm AM, cây lúa có chiều cao cao hơn so với NT không chủng nấm AM vào đất trồng nhưng không khác biệt qua phân tích thống kê, Tisarum *et al.* (2020) cũng cho rằng chiều cao của giống lúa nương (*Oryza sativa* L. ssp. *indica* cv. Leum Pua) được cải thiện khi chủng nấm AM vào đất trồng.

3.3. Khả năng phòng trừ bệnh đốm vằn của nấm AM trên cây lúa

Nghiệm thức đối chứng không chủng bệnh không xuất hiện triệu chứng bệnh đốm vằn trong suốt thời gian theo dõi sự gây hại của bệnh đốm vằn trên lúa trong thí nghiệm này (bảng 4, bảng 5). Các NT được chủng bệnh cho thấy, triệu chứng của bệnh đốm vằn bắt đầu xuất hiện vào thời điểm 2 - 3 ngày sau khi chủng bệnh tùy thuộc vào NT.

3.3.1. Tỷ lệ số chồi bị bệnh

Tại thời điểm 3 NSKCB, các NT có sự hỗ trợ của nấm AM đều có tỉ lệ trung bình (TLTB) số chồi lúa bị nhiễm bệnh đốm vằn thấp hơn khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$) so với NT đối chứng âm (đối chứng có chủng bệnh) nhưng cao

hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với NT đối chứng dương (Validan 3SL). Trong đó, NT sử dụng Validan 3SL có TLTB số chồi lúa bị bệnh thấp nhất (33,7%), tiếp theo là 2 NT có sự hỗ trợ của nấm AM PH và VT với TLTB số chồi lúa bị nhiễm bệnh lần lượt là 39,8% và 40,6%. Hai NT PH và VT có TLTB số chồi lúa bị nhiễm bệnh thấp hơn khác biệt qua phân tích thống kê so với các NT có chủng nấm rễ khác (bảng 4).

Từ giai đoạn 7, 14 và 21 NSKCB TLTB số chồi bị bệnh ở tất cả các NT có chủng bệnh tăng dần và đạt 100% số chồi bị nhiễm bệnh ở NT đối chứng âm (giai đoạn 14 NSKCB). Tương tự như giai đoạn 3 NSKCB, NT Validan 3SL có TLTB số chồi bị nhiễm bệnh đạt thấp nhất, tiếp theo là các NT được chủng với QT nấm AM và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với NT đối chứng âm chủng bệnh ($p < 0,01$) (bảng 4). Trong các NT được chủng với QT nấm AM, QT VT, PH, LM-AG và CD9 có TLTB số chồi lúa bị bệnh thấp hơn các NT có chủng nấm AM khác, tuy nhiên tỉ lệ này cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với NT đối chứng dương (Validan 3SL) (bảng 4).

Nhìn chung, tất cả các nghiệm thức có sự hỗ trợ của nấm AM đều cho TLTB số chồi lúa bị bệnh đốm vằn thấp hơn so với NT đối chứng âm có chủng bệnh nhưng TLTB của số chồi bị nhiễm bệnh vẫn còn cao hơn so với NT sử dụng thuốc hóa học Validan 3SL.

Bảng 4. Tỷ lệ số chồi lúa bị bệnh đốm vằn và tỷ lệ chiều dài vết bệnh trên lúa tại các thời điểm khảo sát

Nghiem thức	Tỷ lệ chồi bị bệnh (%) theo thời gian (NSKCB)				Tỷ lệ chiều dài vết bệnh (%) theo thời gian khảo sát (NSKCB)			
	3	7	14	21	3	7	14	21
ĐC-KCB	0,00 ^f	0,00 ^e	0,00 ^e	0,00 ^f	0,00 ^d	0,00 ^g	0,00 ^g	0,00 ^g
ĐC-CB	56,6 ^a	95,9 ^a	100 ^a	100 ^a	6,22 ^a	15,8 ^a	26,3 ^a	28,0 ^a
Validan 3SL	33,7 ^e	42,6 ^d	50,7 ^d	50,7 ^e	3,31 ^c	4,53 ^f	3,67 ^f	3,57 ^f
LM-AG	43,7 ^c	51,8 ^{bc}	63,0 ^c	65,2 ^{cd}	3,88 ^c	8,48 ^{de}	10,5 ^e	9,62 ^e
VT	40,6 ^d	44,9 ^c	61,6 ^c	62,9 ^d	3,30 ^c	8,94 ^{cd}	11,4 ^d	10,7 ^d
ĐT	47,7 ^b	56,8 ^{bc}	69,0 ^b	69,7 ^c	5,17 ^b	9,22 ^{cd}	11,5 ^d	10,9 ^d
CĐ10	48,0 ^d	59,0 ^b	72,1 ^b	76,0 ^b	4,97 ^b	10,6 ^b	15,0 ^b	15,7 ^b
CĐ9	43,7 ^c	53,8 ^{bc}	60,5 ^c	61,8 ^d	5,27 ^{ab}	9,83 ^{bc}	13,6 ^c	13,4 ^c
PH	39,8 ^d	52,9 ^{bc}	62,4 ^c	63,1 ^d	3,49 ^c	7,85 ^e	10,7 ^{de}	10,0 ^{de}
Mức ý nghĩa	**	**	**	**	**	**	**	**
CV (%)	4,57	5,32	3,51	3,86	4,99	2,96	2,18	2,47

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan. **: Khác biệt với mức ý nghĩa 1%. Số liệu tỉ lệ số chồi bị nhiễm bệnh được chuyển sang $\arcsin\sqrt{x}$ trước khi xử lý thống kê. Số liệu tỉ lệ chiều dài vết bệnh tại các thời điểm 3 NSKCB, 7 NSKCB được chuyển sang $\sqrt{x+0,5}$ trước khi xử lý thống kê và số liệu tại các thời điểm 14 NSKCB, 21 NSKCB được chuyển sang $\arcsin\sqrt{x}$ trước khi xử lý thống kê.

3.3.2. Tỷ lệ chiều dài vết bệnh

Nhìn chung chiều dài vết bệnh tăng dần từ giai đoạn 3 NSKCB đến giai đoạn 21 NSKCB ở NT đối chứng âm chủng bệnh và chiều dài vết bệnh ở NT này đạt dài nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các NT còn lại ($p < 0,01$) và NT chủng bệnh có xử lý Validan 3SL có chiều dài vết bệnh đạt thấp nhất (hình 1). Chiều dài vết bệnh ở NT này tăng dần từ giai đoạn

3NSKCB đến 7 NSKCB, thuốc Validan được xử lý tại thời điểm 2 NSKCB nên giúp hạn chế sự phát triển của vết bệnh, chiều dài vết bệnh giảm dần đến giai đoạn 21 NSKCB. Ở các NT được chủng các QT LM-AG, VT, ĐT, CĐ9 và CĐ10 có tỉ lệ chiều dài vết bệnh tăng dần từ giai đoạn 3 NSKCB đến giai đoạn 14 NSKCB sau đó tỉ lệ chiều dài vết bệnh trung bình giảm ở giai đoạn 21 NSKCB (bảng 4).

Bảng 5. HQGB đốm vằn trên lúa và thành phần năng suất của lúa

Nghiệm thức	HQGB (%) theo thời gian chủng bệnh				Thành phần năng suất lúa			
	3 NSKCB	7 NSKCB	14 NSKCB	21 NSKCB	Khối lượng lúa tươi (g/chậu)	Khối lượng lúa khô (g/chậu)	Khối lượng hạt chắc (g/chậu)	Tỉ lệ hạt chắc (%)
ĐC-KCB	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	22,1 ^b	21,3 ^b	16,9 ^b	79,4 ^d
ĐC-CB	0,00 ^d	0,00 ^g	0,00 ^g	0,00 ^g	12,4 ^d	11,4 ^e	8,95 ^d	78,3 ^d
Validan 3SL	47,1 ^b	71,1 ^b	85,6 ^b	86,9 ^b	26,5 ^a	25,9 ^a	21,8 ^a	84,1 ^c
LM-AG	36,0 ^b	44,5 ^{cd}	57,8 ^c	63,5 ^c	28,4 ^a	27,8 ^a	24,8 ^a	89,2 ^a
VT	45,8 ^b	41,8 ^{cde}	54,2 ^{cd}	59,3 ^d	27,2 ^a	26,1 ^a	23,4 ^a	89,7 ^a
ĐT	12,7 ^c	38,5 ^{de}	52,5 ^d	57,7 ^d	19,3 ^{bc}	18,3 ^{cd}	16,0 ^b	87,1 ^{abc}
CD10	16,4 ^c	29,8 ^f	38,4 ^f	39,2 ^f	16,9 ^c	15,8 ^d	13,6 ^c	85,7 ^{bc}
CD9	12,3 ^c	35,2 ^{ef}	44,6 ^e	48,9 ^e	20,5 ^b	19,9 ^{bc}	17,6 ^b	88,6 ^{ab}
PH	40,5 ^b	47,2 ^c	55,7 ^{cd}	60,9 ^{cd}	28,3 ^a	27,7 ^a	25,0 ^a	90,3 ^a
Mức ý nghĩa	**	**	**	**	**	**	**	**
CV (%)	13,2	5,18	2,57	2,57	2,90	2,94	3,10	1,04

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan. **: Khác biệt với mức ý nghĩa 1%. Số liệu HQGB được chuyển sang arcsin√x trước khi xử lý thống kê. Số liệu năng suất lúa tươi, năng suất lúa khô, trọng lượng hạt chắc được chuyển sang log(X) trước khi xử lý thống kê. Số liệu tỉ lệ hạt chắc được chuyển sang √x trước khi xử lý thống kê.

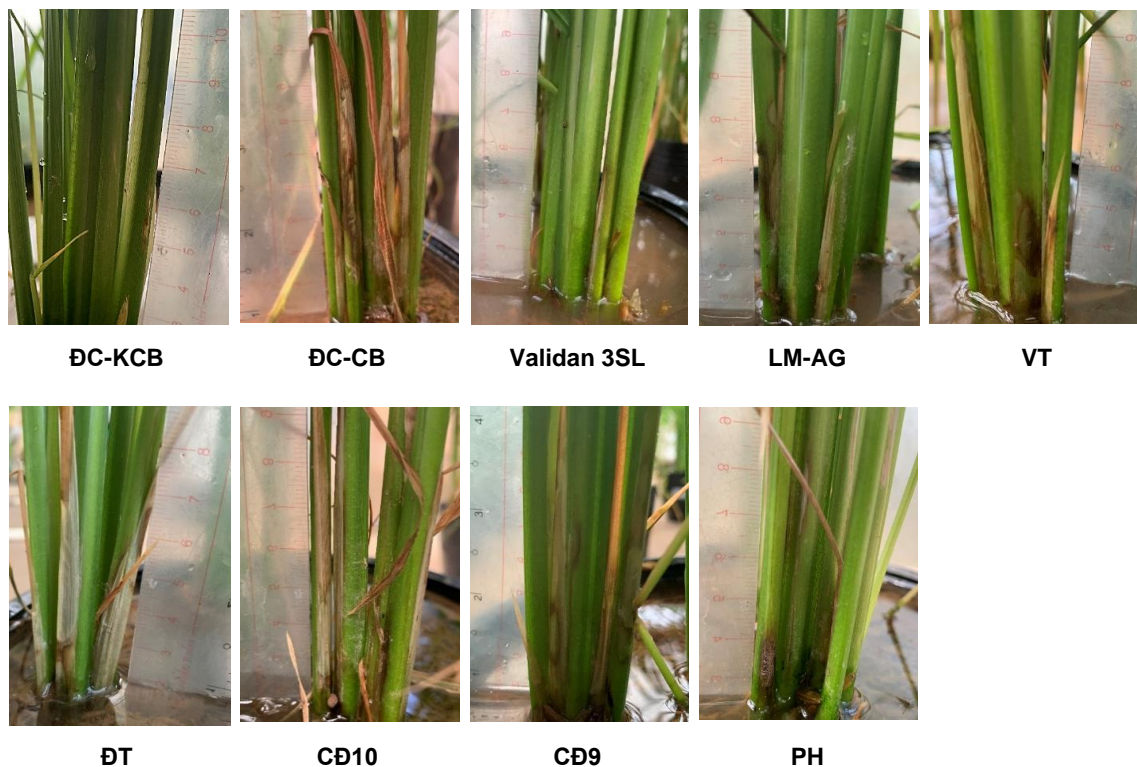
3.3.3. Hiệu quả giảm bệnh

Kết quả thí nghiệm cho thấy tại thời điểm 3 NSKCB, hiệu quả giảm bệnh (HQGB) ở các NT chủng bệnh đạt dao động trong khoảng 0 - 47% và NT Đ/C dương (Validan 3SL) có HQGB đạt cao nhất tại các thời điểm theo dõi và khác biệt có ý nghĩa (p < 0,01) so với các NT có chủng bệnh còn lại. NT Đ/C âm không có HQGB. NT đối chứng dương sử dụng Validan 3SL có HQGB cao nhất. Các NT có hỗ trợ của nấm AM tuy HQGB thấp hơn NT Đ/C dương nhưng cao hơn, khác biệt có ý nghĩa thống kê với NT Đ/C âm, trong đó, các NT LM-AG, VT, PH có HQGB cao hơn và khác biệt có ý nghĩa so với các NT có chủng nấm AM khác (bảng 5).

3.3.4. Năng suất lúa

Năng suất lúa khô ẩm độ 14% của các NT dao động trong khoảng 11,4 g/chậu - 27,8 g/chậu. Trong đó, các NT LM-AG, PH, VT, đối chứng dương có năng suất lúa đạt cao nhất lần lượt là 27,8 g/chậu, 27,7 g/chậu, 26,1 g/chậu, 25,9 g/chậu và khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,01) so với các NT còn lại. Nghiệm thức Đ/C âm có năng suất lúa đạt thấp nhất (11,4 g/chậu) khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các NT còn lại. Tương tự, trọng lượng hạt chắc của các NT PH, LM-AG, VT, đối chứng dương có trọng lượng hạt chắc lần lượt là 25,0 g/chậu, 24,8 g/chậu, 23,4 g/chậu, 21,8 g/chậu cao hơn khác biệt có ý nghĩa

thống kê ($p < 0,01$) so với các NT còn lại và NT đối chứng âm chủng bệnh có trọng lượng hạt chắc ít nhất (8,95 g/chậu) (bảng 5).



Hình 1. Vết bệnh đốm vằn trên lúa tại thời điểm 7 NSKCB

Tỉ lệ hạt chắc thời điểm thu hoạch của các NT khảo sát dao động khoảng 78,3 - 90,3%. Các NT PH, VT, LM-AG có tỉ lệ hạt chắc lần lượt là 90,3%, 89,7%, 89,2% cao hơn khác biệt không có ý nghĩa với các NT CĐ 9, ĐT nhưng khác biệt có ý nghĩa qua phân tích thống kê ($p < 0,01$) so với các NT CĐ 10, đối chứng dương, đối chứng không chủng bệnh, đối chứng âm.

Theo kết quả khảo sát tỉ lệ xâm nhiễm của nấm AM vào các thời điểm khảo sát (bảng 2) chứng tỏ có sự hiện diện của nấm AM trong suốt quá trình sinh trưởng, phát triển của cây lúa. Năng suất lúa tại thời điểm thu hoạch (bảng 5) của các NT khảo sát cho thấy, nấm AM giúp hỗ trợ sinh

trưởng làm tăng năng suất lúa. Nghiệm thức đối chứng không chủng bệnh tuy không bị nhiễm bệnh nhưng năng suất lúa vẫn thấp hơn so với các NT có hỗ trợ của các QT nấm LM-AG, VT, PH. Theo Huang *et al.* (2006) sự xâm nhập của nấm rễ làm tăng khả năng kháng bệnh đốm vằn trên bắp do *R. solani* gây ra và cải thiện sự phát triển của cây.

Tuy mức độ bị ảnh hưởng bệnh đốm vằn nặng hơn so với NT Đ/C dương nhưng các NT LM-AG, PH, VT đều có năng suất lúa cao hơn. Nếu xét về phân tích thống kê, các NT LM-AG, PH, VT, Validan 3SL khác biệt không có ý nghĩa nhưng với năng suất lúa của các NT LM-

AG, PH cao hơn so với NT Validan 3SL khoảng 7% cho thấy được tiềm năng của nấm AM hỗ trợ làm tăng năng suất, lợi nhuận kinh tế. Từ kết quả này cho thấy nấm QT nấm AM giúp hỗ trợ sự sinh trưởng, phát triển của cây lúa, tăng năng suất lúa, đồng thời hỗ trợ làm tăng hiệu quả phòng trừ bệnh cho cây lúa. Trong các QT nấm AM này thì QT LM-AG, PH-HG, VT-HG cho thấy tiềm năng phòng trừ bệnh đốm vằn trên lúa cao và giúp tăng năng suất lúa trong điều kiện thí nghiệm nhà lưới.

4. KẾT LUẬN

Các QT nấm AM giúp cây lúa giảm số chồi bị bệnh, chiều dài vết bệnh đồng thời làm tăng hiệu quả giảm bệnh đốm vằn do nấm *R. solani* Kuhn gây hại trên lúa. Tuy khả năng phòng trừ bệnh đốm vằn kém hơn so với NT sử dụng thuốc hóa học Validan 3SL nhưng các QT nấm LM-AG, PH, VT vẫn cho thấy tiềm năng kiểm soát tốt đối với bệnh đốm vằn do nấm *R. solani*, hỗ trợ quá trình sinh trưởng, phát triển của cây lúa, tăng chiều cao cây, tăng số chồi và tăng năng suất lúa tốt hơn so với NT Đ/C chủng bệnh và NT Đ/C không chủng bệnh trong điều kiện nhà lưới.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Dự án Nâng cấp trường Đại học Cần Thơ VN14-P6 bằng nguồn vốn vay ODA-A7 từ Chính phủ Nhật. Học viên Phạm Thị Hải Nghi, mã số: VINIF.2020.ThS.96 được tài trợ bởi Quỹ VINIF thuộc Tập đoàn Vingroup và được hỗ trợ bởi chương trình học bổng đào tạo thạc sĩ, tiến sĩ trong nước của Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VinIF), Viện Nghiên cứu dữ liệu lớn (VinBigdata).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Azcón-Aguilar, C., & Barea, J. M. (1997), Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens-an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza*, 6(6), 457 - 464.
2. Brejda, J. J., Yocom, D. H., Moser, L. E., & Waller, S. S. (1993), Dependence of 3 Nebraska Sandhills warm-season grasses on vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Rangeland Ecology & Management/Journal of Range Management Archives*, 46(1), 14 - 20.
3. Cavagnaro, R. A., Oyarzabal, M., Oosterheld, M., & Grimoldi, A. A. (2014), Screening of biomass production of cultivated forage grasses in response to mycorrhizal symbiosis under nutritional deficit conditions. *Grassland Science*, 60(3), 178 - 184.
4. Đỗ Thị Xuân, Nguyễn Phan Ngọc Tường Vi và Dương Hồ Kiều Diễm (2016), Khảo sát sự xâm nhiễm và sự hiện diện của bào tử nấm rễ nội cộng sinh (*Arbuscular mycorrhiza*) trong mẫu rễ và đất vùng rễ của cây bắp, mè và ớt được trồng ở thành phố Cần Thơ. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 46: 47 - 53.
5. Huang, J. H., Zeng, R. S., & Luo, S. M. (2006), Studies on disease resistance of maize toward sheath blight induced by arbuscular mycorrhizal fungi. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 14(3), 167 - 169.
6. Jacott, C. N., Murray, J. D., & Ridout, C. J. (2017), Trade-offs in arbuscular mycorrhizal symbiosis: disease resistance, growth responses and perspectives for crop breeding. *Agronomy*, 7(4), 75.
7. Lakshman, H. (2014), Full Length Article Response of soilless grown *Basella alba* L. inoculated With AM Fungi-A Strategy for Mass Multiplication. *Science research reporter*, 4, 39 - 43.
8. Latef, A. A. H. A., & Chaoping, H. (2011), Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition, antioxidant enzymes activity and fruit yield of tomato grown under salinity stress. *Scientia Horticulturae*, 127(3), 228 - 233.
9. Nguyễn Ngọc Đê (2008), Giáo trình cây lúa. Viện Nghiên cứu Phát triển đồng bằng sông Cửu Long, Bộ môn Tài nguyên cây trồng, Trường Đại học Cần Thơ. 243 pp.

10. Nguyễn Phúc Tuyên (2020), Thu thập và tuyển chọn quần thể nấm rễ nội cộng sinh (*Arbuscular mycorrhizal*) hỗ trợ sinh trưởng và phát triển của cây lúa. Luận văn cao học ngành Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.
11. Nguyễn Thanh Phong, Nguyễn Thị Quyên, Trần Hoàng Ý, Khả Lê Khánh Toàn và Đỗ Thị Xuân (2018), Khảo sát khả năng hỗ trợ sinh trưởng của cộng đồng nấm rễ trên cây bắp trong điều kiện nhà lưới. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, 91 - 99.
12. Öpik, M., Vanatoa, A., Vanatoa, E., Moora, M., Davison, J., Kalwij, J. M.,... & Zobel, M. (2010), The online database MaarjAM reveals global and ecosystemic distribution patterns in arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *New Phytologist*, 188(1), 223 - 241.
13. Park, D. S., Sayler, R. J., Hong, Y. G., Nam, M. H., & Yang, Y. (2008), A method for inoculation and evaluation of rice sheath blight disease. *Plant Disease*, 92(1), 25 - 29.
14. Parvin, S., Van Geel, M., Yeasmin, T., Verbruggen, E., & Honnay, O. (2020), Effects of single and multiple species inocula of arbuscular mycorrhizal fungi on the salinity tolerance of a Bangladeshi rice (*Oryza sativa* L.) cultivar. *Mycorrhiza*, 30(4), 431 - 444.
15. Phạm Thị Hải Nghi, Lê Thị Yến Phi, Trang Thị Hồng Đoan, Diệp Quỳnh Uyên, Nguyễn Phúc Tuyên, Đỗ Thị Xuân (2020), Khảo sát ảnh hưởng của một số tính chất hóa học đất lên sự hiện diện của nấm rễ nội cộng sinh trong đất trồng lúa tại tỉnh Hậu Giang. Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ, 24 - 31.
16. Pinto, J. T. M. (2020), *The role of arbuscular mycorrhiza in the biological control of Fusarium oxysporum in tomato* (Master's thesis, Universidade de Évora).
17. Prasad, B. N., & Kumar M. R. (2011), Comparative efficacy of different isolates of *Trichoderma* spp. against *Rhizoctonia solani*, incitant of sheath blight of rice. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*, 1(3), 107 - 111.
18. Sharma, N. R., Teng, P. S., & Olivarce F. M. (1990), Comparison of assessment methods for rice sheath blight disease. *Philippine Phytopathology (Philippines)*.
19. Song, Y. Y., Cao, M., Xie, L. J., Liang, X. T., Zeng, R. S., Su, Y. J.,... & Luo, S. M. (2011), Induction of DIMBOA accumulation and systemic defense responses as a mechanism of enhanced resistance of mycorrhizal corn (*Zea mays* L.) to sheath blight. *Mycorrhiza*, 21(8), 721 - 731.
20. Tisarum, R., Theerawitaya, C., Samphumphuang, T., Polispitak, K., Thongpoem, P., Singh, H. P., & Cha-Um, S. (2020), Alleviation of salt stress in upland rice (*Oryza sativa* L. ssp. *indica* cv. Leum Pua) using arbuscular mycorrhizal fungi inoculation. *Frontiers in plant science*, 11, 348.
21. Wang, X., Yao, H., Wong, M. H., & Ye, Z. (2013), Dynamic changes in radial oxygen loss and iron plaque formation and their effects on Cd and As accumulation in rice (*Oryza sativa* L.). *Environmental geochemistry and health*, 35(6), 779 - 788.
22. Wang, Y., Li, T., Li, Y., Björn, L. O., Rosendahl, S., Olsson, P. A.,... & Fu, X. (2015), Community dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi in high-input and intensively irrigated rice cultivation systems. *Applied and environmental microbiology*, 81(8), 2958 - 2965.
23. Watanarajanaporn, N., Boonkerd, N., Tittabut, P., Longtonglang, A., Young, J. P. W., & Teaumroong, N. (2013), Effect of rice cultivation systems on indigenous arbuscular mycorrhizal fungal community structure. *Microbes and environments*, ME13011.

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ LOẠI PHÂN HỮU CƠ ĐẾN CÂY GỪNG SẺ TẠI THỪA THIÊN HUẾ

Trương Thị Bích Phượng¹, Võ Hoàng Thu Trinh²,
Trần Thị Thu Hà³, Phạm Lê Hoàng³

¹Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

²Chi cục Trồng trọt và BVTV Phú Yên

³Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

TÓM TẮT

Mục đích của nghiên cứu này để đánh giá ảnh hưởng của phân hữu cơ vi sinh MK7 và phân gà ủ *Trichoderma* sử dụng bón lót cho cây gừng sẻ đến sự sinh trưởng phát triển, năng suất và chất lượng củ gừng sau thu hoạch. Hai loại phân hữu cơ đang sử dụng rộng rãi trong canh tác gừng tại Huế là phân chuồng và phân hữu cơ Thanh Tiên được sử dụng làm đối chứng cho nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu cho thấy: Phân hữu cơ MK7 làm tăng chiều cao cây, số lá/cây, giúp cây gừng đẻ nhánh sớm hơn; năng suất cao nhất (đạt 55,5 tấn/ha) (đối với phân chuồng là 41,9 tấn/ha và phân hữu cơ Thanh Tiên là 50,6 tấn/ha). Bón phân hữu cơ MK7 làm tăng độ ẩm và protein trong củ gừng.

Từ khoá: phân bón cho cây gừng, phân hữu cơ MK7, phân hữu cơ vi sinh, bón lót cho cây gừng.

ABSTRACT

Research on effect of organic fertilisers on “Sẻ” ginger crop in Thua Thien Hue

The purpose of this study is evaluating the effect of microbial-composts, MK7 and chicken manure composted by *Trichoderma*, on ginger “Sẻ” growth, development and ginger tuber yield, quality after harvest, when using these organically microbial compost, to fertilise before planting ginger tuber. Two types of microbial-composts, which are manure and Thanh Tien microbial-compost, are commonly used in ginger cultivation are in Hue. They are used as control treatments for this study. The result show that MK7 increases plant height, number of leaves/plant, branch formation earlier and ginger tuber yield is the highest (reaching 55.5 tons/ha). Meanwhile, ginger tuber yield reach 41.9 tons/ha when treating with manure and ginger tuber yield reach 50.6 tons/ha when treating with Thanh Tien organic fertiliser. In addition, MK7 increase moisture and protein content in ginger tuber.

Keywords: compost for ginger, organic fertiliser of MK7, microbial-compost, ginger tuber.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây gừng (*Zingiber officinale* (Willd.) Roscoe) ở nước ta được trồng rất phổ biến từ Bắc vào Nam. Củ gừng còn có giá trị như là một loại thảo dược, là cây thuốc dân gian quan trọng đối với con người, gừng còn được dùng trong công nghiệp thực phẩm làm bánh kẹo, mứt rất được ưa chuộng (Mohammad và Hamed, 2012). Tinh dầu gừng là loại tinh dầu có các tác dụng đã được chứng minh như chống nôn, chống viêm, chống oxy hóa, chống khối u... (Rahmani và cs., 2014).

Bộ phận chính thu hoạch của cây gừng là củ gừng nằm ở dưới đất, bộ rễ gừng ít phát triển nên muốn củ gừng phát triển tốt, đất cần tơi xốp, nhiều mùn, thoát nước tốt. Đất xấu, thiếu nước, thiếu dinh dưỡng sẽ làm cho củ gừng có chất lượng và năng suất thấp. Vì vậy việc cung cấp phân hữu cơ cho cây gừng là rất cần thiết và đóng vai trò rất quan trọng để cải thiện chất lượng đất, từ đó nâng cao năng suất và chất lượng củ gừng. Áp dụng các biện pháp canh tác như phơi đất trước trồng, xử lý đất bằng vôi, xử lý củ giống, bón phân chuồng, bón phân hóa học cân đối và sử dụng thuốc trừ vi khuẩn Staner 20WP có thể xử lý được bệnh hại (Trần Thị Nga, 2015). Theo Kong Xiang-bo và cs. (2007), bón phân hữu cơ sinh học có thể thúc đẩy sự phát triển của gừng, tăng đường kính thân, thêm cành, tăng số lượng phát triển của thân lá so với phân bón hóa học ở cùng hàm lượng NPK, đường kính thân, cành, năng suất và khối lượng tươi của thân và lá của công thức

bón phân hữu cơ sinh học cao hơn so với công thức bón phân hóa học. Bón phân hữu cơ sinh học có thể cải thiện hàm lượng các chất khô, tinh dầu và giảm hàm lượng nitrat.

Trên thực tế, người nông dân trồng gừng nói chung và tại Huế nói riêng đã có sự quan tâm nhất định đến vai trò của phân hữu cơ cho cây gừng. Họ thường bón phân hữu cơ cho cây gừng theo kinh nghiệm và tận dụng các nguồn sẵn có để làm phân bón. Tuy nhiên, vai trò của phân hữu cơ trong trồng gừng vẫn chưa được phát huy hết do người nông dân sử dụng các loại phân hữu cơ chưa phù hợp, làm cho năng suất giảm, phẩm chất củ gừng trồng chưa ổn định.

Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm lựa chọn ra loại phân hữu cơ phù hợp giúp cho cây gừng sinh trưởng phát triển tốt, năng suất cao và phẩm chất tốt.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Đất thịt nhẹ tại phường Thủy Biều, thành phố Huế.

- Giống gừng Sẻ được trồng phổ biến ở Thủy Biều, tỉnh Thừa Thiên Huế.

- Phân hóa học:

+ Phân hỗn hợp NPK (16-16-8) của Công ty Cổ phần Phân bón Bình Điền.

- Phân hữu cơ:

+ Phân chuồng: Ủ hoai mục do người dân tự sản xuất theo phương pháp truyền

thống (C 25%, N 0,89%, P₂O₅ 0,42%, K₂O 0,45%).

+ Phân hữu cơ Thanh Tiên được mua từ hợp tác xã phường Thủy Biều, tỉnh Thừa Thiên Huế.

+ Phân hữu cơ vi sinh MK7 của công ty cổ phần phân bón Bình Điền MeKong có thành phần hữu cơ 18%, đạm tổng số (Nts) 2%, lân hữu hiệu (P₂O₅ hh) 2%, kali hữu hiệu (K₂O hh) 1% + TE (CaO, MgO, B, Cu, Zn), nấm đối kháng *Trichoderma* 1 × 10⁶ cfu/g.

+ Phân gà ủ với chế phẩm *Trichoderma* với mật độ tế bào 10⁸ cfu/g chế phẩm. Một tấn phân gà được ủ với 3 kg chế phẩm *Trichoderma*, ủ ít nhất 1 tháng trước khi đem bón cho gừng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thời gian và địa điểm thí nghiệm

Thí nghiệm được tiến hành trong 2 vụ từ ngày 21/8/2019 đến ngày 15/3/2020 và 25/9/2020 đến 20/4/2021 tại phường Thủy Biều, thành phố Huế.

2.2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên (Randomized completely block design-RCBD) với 4 công thức và 3 lần nhắc lại. Trong đó công thức III và IV làm đối chứng (Đ/C). Mỗi lần nhắc lại có diện tích 1,5 m², mỗi công thức có diện tích là 4,5 m², tổng diện tích của 3 công thức là 18 m².

Bảng 1. Các công thức thí nghiệm

Công thức	Kí hiệu	Loại phân	Lượng phân (tấn/ha)
I	MK7	Phân hữu cơ MK7	2,0
II	PG	Phân gà ủ <i>Trichoderma</i>	2,0
III (Đ/C1)	PC	Phân chuồng truyền thống	5,0
IV (Đ/C2)	TT	Phân hữu cơ Thanh Tiên	4,0

Các công thức thí nghiệm được bón lót phân hữu cơ 100% trước khi trồng.

Các công thức thí nghiệm được trồng với khoảng cách 30 cm × 30 cm, bón thúc NPK (0,14 tấn/ha) theo quy trình sau:

- Đợt 1 (60 ngày sau trồng (NST)) bón ½ lượng phân: 0,07 tấn/ha.

- Đợt 2 (120 NST) bón ½ lượng phân: 0,07 tấn/ha.

2.2.3. Các chỉ tiêu và phương pháp theo dõi

- *Chỉ tiêu sinh trưởng*: Theo dõi 15 cây/CT, đo đếm các chỉ tiêu định kỳ 7 ngày/lần, gồm: chiều cao cây (cm), số lá/cây (lá/cây), khả năng đẻ nhánh (nhánh/cây).

- *Chỉ tiêu dịch hại*: Xác định mật độ dịch hại theo Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về phương pháp điều tra phát hiện

dịch hại cây trồng QCVN 01-38:2010/BNNPTNT. Định kỳ theo dõi 7 ngày/lần. Xác định đường cong tích lũy sâu hại theo thời gian AUDPC (Area Under Disease Progress Curve) (Campell & Madden, 1990).

- *Chỉ tiêu năng suất:*

+ Từ ô tiêu chuẩn (1 m²) đo đếm, tính toán các chỉ tiêu: số khóm/m², số củ/khóm, khối lượng củ và năng suất lý thuyết (NSLT). NSLT (tấn/ha) = Số khóm/m² × số củ/khóm × khối lượng củ (g) × 10.000 m²/1.000.000 g.

+ Năng suất thực thu (NSTT) được tính trung bình trên 5 điểm cho một công thức. Mỗi điểm thu hoạch 1 m². NSTT (tấn/ha) = (khối lượng củ/m² × 10.000 m²)/1.000.000 g.

Đánh giá chất lượng củ gừng sau thu hoạch: Định lượng vitamin C bằng phương pháp sử dụng I₂; Xác định hàm lượng tro dựa vào khối lượng thực vật

còn lại sau khi hóa tro trong lò nung; Xác định hàm lượng acid béo tổng số bằng tính sự chênh lệch khối lượng mẫu trước và sau khi chiết hết chất béo; Xác định hàm lượng protein theo phương pháp Bradford (1976); Xác định hàm lượng nước (độ ẩm) của củ gừng được xác định bởi sự chênh lệch khối lượng của mẫu thực vật tươi trước khi sấy và sau khi sấy khô tuyệt đối (Trần Thanh Phong và cs., 2013).

Số liệu được xử lý thống kê sinh học bao gồm giá trị trung bình, phân tích ANOVA bằng phần mềm SPSS 20 và Microsoft office Excel 2010.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của các loại phân hữu cơ đến tỷ lệ nảy mầm

Điều tra tỷ lệ nảy mầm ở các 31, 38 và 45 ngày sau trồng (NST).

Bảng 2. Ảnh hưởng của các loại phân hữu cơ đến tỷ lệ nảy mầm

CT	Phân hữu cơ	Các kì điều tra (NST) - ĐVT: %		
		31	38	45
I	MK7	66,67 ^a ± 3,03	81,82 ^a ± 5,25	100 ^a ± 0,00
II	PG	60,61 ^a ± 3,03	84,85 ^a ± 3,03	96,97 ^a ± 3,03
III (Đ/C1)	PC	72,73 ^a ± 5,25	84,85 ^a ± 6,06	96,97 ^a ± 3,03
IV (Đ/C2)	TT	63,64 ^a ± 5,25	90,91 ^a ± 5,25	96,97 ^a ± 3,03

Ghi chú: Trong cùng 1 cột các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa với p < 0,05; ± SE: Sai số chuẩn.

Ở 31 NST, tỷ lệ nảy mầm các công thức đạt từ 60,61% đến 72,73%. Ở 38 NST, tỷ lệ nảy mầm các công thức đạt từ

81,82% đến 84,85%. Đến 45 NST tỷ lệ nảy mầm ở các CT đạt > 96%, trong đó CT I đạt tỷ lệ nảy mầm 100% nhưng

không có sự khác biệt có ý nghĩa so với hai công thức còn lại.

Kết quả ảnh hưởng của các loại phân hữu cơ đến động thái tăng trưởng chiều cao cây gừng được trình bày ở bảng 3.

3.2. Ảnh hưởng của các loại phân hữu cơ đến động thái tăng trưởng chiều cao cây

Bảng 3. Ảnh hưởng của các loại phân hữu cơ đến chiều cao của cây gừng

CT	Phân hữu cơ	Các kì điều tra (NST) - ĐVT: cm								
		45	52	59	66	73	80	87	94	101
I	MK7	30,59 ^b ± 2,72	35,00 ^b ± 2,68	39,28 ^b ± 2,18	44,41 ^b ± 1,81	51,33 ^b ± 2,64	53,99 ^b ± 2,16	56,59 ^b ± 2,38	58,38 ^b ± 2,71	58,64 ^b ± 2,70
		21,95 ^a ± 1,51	26,08 ^a ± 1,87	29,70 ^a ± 2,05	35,30 ^a ± 2,00	41,23 ^a ± 2,34	44,83 ^a ± 2,61	46,58 ^a ± 2,59	47,84 ^a ± 2,64	49,11 ^a ± 2,41
III (Đ/C1)	PC	21,86 ^a ± 3,28	26,38 ^a ± 2,92	30,89 ^a ± 2,60	37,41 ^a ± 2,26	41,80 ^a ± 2,28	44,11 ^a ± 2,73	46,51 ^a ± 2,73	47,96 ^a ± 2,42	48,80 ^a ± 2,05
		24,28 ^{ab} ± 1,43	29,38 ^{ab} ± 1,54	32,28 ^a ± 1,77	39,81 ^{ab} ± 1,56	46,18 ^{ab} ± 1,98	48,38 ^{ab} ± 2,19	50,24 ^{ab} ± 2,30	51,89 ^{ab} ± 2,35	53,21 ^{ab} ± 2,59

Ghi chú: Trong cùng 1 cột các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa với $p < 0,05$; ± SE: Sai số chuẩn.

Sau khi nảy mầm, cây gừng sinh trưởng phát triển mạnh về chiều cao. Ở các kỳ điều tra 45 đến 101 NST, chiều cao cây trung bình ở công thức I đều cao hơn và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở xác suất $p < 0,05$ so với đối chứng 1 nhưng không có sự khác biệt so với đối chứng 2. Chiều cao cây của công thức II qua các kỳ điều tra không có sự khác biệt so với 2 công thức đối chứng.

3.3. Ảnh hưởng của loại phân hữu cơ đến động thái ra lá

Lá gừng được hình thành từ các mầm lá ở các mắt thân. Lá xuất hiện đầu tiên khi nảy mầm là lá không hoàn toàn

(không có phiến lá), còn gọi là bao mầm, người ta không tính lá này. Lá mọc tiếp theo được tính là lá thật đầu tiên.

Cây gừng ở giai đoạn 45 đến 101 NST có tốc độ tăng trưởng số lá mạnh. Số lá tăng từ 2,00 đến 4,13 lá (giai đoạn 45 NST) tăng lên 15,38 đến 18,38 lá (giai đoạn 101 NST). Ở các kỳ điều tra, số lá của công thức I cao hơn và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng 1. Chiều cao cây của công thức I có sự khác biệt so với các công thức còn lại ở 2 kỳ điều tra cuối 94 và 101 NST. Chiều cao cây ở công thức II không có sự khác biệt so với 2 công thức đối chứng qua các kỳ điều tra.

Bảng 4. Ảnh hưởng của các loại phân hữu cơ đến số lá của cây gừng

CT	Phân hữu cơ	Các kì điều tra (NST) - ĐVT: lá/cây								
		45	52	59	66	73	80	87	94	101
I	MK7	4,13 ^c ± 0,58	5,25 ^b ± 0,59	7,50 ^b ± 0,38	10,00 ^c ± 0,60	13,25 ^b ± 0,45	14,75 ^b ± 0,31	16,25 ^b ± 0,37	17,75 ^b ± 0,45	18,38 ^b ± 0,50
II	PG	2,50 ^{ab} ± 0,33	3,88 ^a ± 0,30	5,75 ^a ± 0,37	7,00 ^a ± 0,33	10,88 ^a ± 0,35	12,88 ^a ± 0,35	14,13 ^a ± 0,40	14,88 ^a ± 0,40	15,38 ^a ± 0,38
III (Đ/C1)	PC	2,00 ^a ± 0,27	3,75 ^a ± 0,31	5,75 ^a ± 0,31	8,00 ^{ab} ± 0,63	10,63 ^a ± 0,75	12,75 ^a ± 0,49	14,00 ^a ± 0,63	14,88 ^a ± 0,77	15,50 ^a ± 0,73
IV (Đ/C2)	TT	3,25 ^{bc} ± 0,37	4,63 ^{ab} ± 0,46	6,88 ^b ± 0,30	8,63 ^{bc} ± 0,42	12,13 ^{ab} ± 0,44	13,75 ^{ab} ± 0,56	15,13 ^{ab} ± 0,52	16,38 ^{ab} ± 0,63	16,75 ^a ± 0,53

Ghi chú: Trong cùng 1 cột các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa với $p < 0,05$; ± SE: Sai số chuẩn.

3.4. Ảnh hưởng của các loại phân hữu cơ đến khả năng đẻ nhánh

Củ gừng thực chất là thân rễ mầm lên tạo thành (Đỗ Tất Lợi, 1999). Khả năng đẻ nhánh của củ gừng phụ thuộc

vào giống, điều kiện đất đai, phân bón,... Với cùng một giống, điều kiện đất đai thì loại phân giúp cây gừng có khả năng đẻ nhánh mạnh và sớm thì có thể cho năng suất cao.

Bảng 5. Ảnh hưởng của các loại phân hữu cơ đến số nhánh của cây gừng

CT	Phân hữu cơ	Các kì điều tra (NST) - ĐVT: nhánh/cây								
		45	52	59	66	73	80	87	94	101
I	MK7	3,00 ^b ± 0,27	4,83 ^b ± 0,46	5,75 ^b ± 0,68	6,63 ^a ± 0,73	9,75 ^a ± 0,98	12,38 ^a ± 1,02	14,50 ^a ± 1,18	16,50 ^a ± 1,17	18,50 ^a ± 1,15
II	PG	1,50 ^a ± 0,19	2,25 ^a ± 0,37	3,88 ^a ± 0,44	4,75 ^a ± 0,45	7,50 ^a ± 0,98	9,63 ^a ± 1,00	11,38 ^a ± 0,96	13,13 ^a ± 0,74	15,63 ^a ± 0,60
III (Đ/C1)	PC	1,88 ^a ± 0,40	3,25 ^{ab} ± 0,49	4,75 ^{ab} ± 0,73	5,63 ^a ± 0,73	8,13 ^a ± 1,26	10,00 ^a ± 1,34	12,50 ^a ± 1,48	13,88 ^a ± 1,58	15,75 ^a ± 1,77
IV (Đ/C2)	TT	2,13 ^a ± 0,13	3,75 ^b ± 0,31	5,50 ^{ab} ± 0,50	6,38 ^a ± 0,53	9,63 ^a ± 1,02	11,50 ^a ± 1,18	13,50 ^a ± 1,00	14,88 ^a ± 0,85	16,50 ^a ± 0,73

Ghi chú: Trong cùng 1 cột các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa với $p < 0,05$; ± SE: Sai số chuẩn.

Số nhánh ở công thức I cao hơn các công thức còn lại, đặc biệt là ở những kỳ điều tra đầu. Tuy nhiên dần về sau số nhánh giữa các công thức dần đồng đều và không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa các công thức. Điều đó cho thấy cây gừng ở công thức I đẻ nhánh mạnh và sớm hơn các công thức khác.

3.5. Ảnh hưởng của các loại phân hữu cơ đến tỉ lệ bệnh héo xanh vi khuẩn

Kết quả ảnh hưởng của các loại phân hữu cơ đến bệnh héo xanh vi khuẩn do *R. Solanacearum* được trình bày ở bảng 6.

Bảng 6. Ảnh hưởng của các loại phân hữu cơ đến tỉ lệ bệnh héo xanh vi khuẩn

CT	Phân hữu cơ	Các kì điều tra - ĐVT: con/cây									AUPPC
		45	52	59	66	73	80	87	94	101	
I	MK7	0,00	0,00	0,00	0,13	0,00	0,25	0,00	0,00	0,00	5,25 ^a ± 2,56
II	PG	0,00	0,13	0,13	0,13	0,13	0,38	0,00	0,13	0,13	13,13 ^a ± 3,84
III (Đ/C1)	PC	0,00	0,14	0,14	0,00	0,14	0,29	0,14	0,14	0,00	12,00 ^a ± 4,13
IV (Đ/C2)	TT	0,13	0,13	0,00	0,13	0,00	0,13	0,13	0,13	0,00	13,13 ^a ± 7,53

Ghi chú: Trong cùng 1 cột các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa với $p < 0,05$; ± SE: Sai số chuẩn; AUPPC: Area under pest progress curve.

Bệnh héo xanh vi khuẩn gây hại sớm nhất ở công thức IV (kỳ điều tra 45 NST, và muộn nhất ở công thức I (kỳ điều tra 66 NST). Kết quả AUDPC cho thấy tỉ lệ bệnh các kỳ điều tra ở công thức I là thấp nhất (5,25), tuy nhiên sự sai khác không có ý nghĩa về mặt thống kê so với giữa các công thức khác ở xác suất $p < 0,05$.

3.6. Ảnh hưởng của các loại phân hữu cơ đến các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của cây gừng

Trong sản xuất nông nghiệp thì năng suất cây trồng là kết quả của cả quá trình canh tác mà người trồng trọt rất quan tâm. Năng suất cũng là chỉ tiêu tổng hợp để đánh giá khả năng sinh trưởng phát triển của cây trồng một cách toàn diện và chính xác nhất.

Bảng 7. Ảnh hưởng của các loại phân hữu cơ đến các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất củ gừng

Công thức	Phân hữu cơ	Số khóm/m ² (khóm)	Khối lượng khóm (g)	NSLT (tấn/ha)	NSTT (tấn/ha)
I	MK7	6	1040,00	62,4 ^c ± 3,7	55,5 ^c ± 0,2
II	PG	6	720,00	43,2 ^b ± 4,2	41,1 ^b ± 2,5
III (Đ/C1)	PC	6	733,33	44,0 ^a ± 0,8	41,9 ^a ± 0,8
IV(Đ/C2)	TT	6	880,00	52,8 ^a ± 1,4	50,60 ^a ± 0,7

Ghi chú: Trong cùng 1 cột các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa với $p < 0,05$; ± SE: Sai số chuẩn.

Kết quả trình bày ở bảng 7 cho thấy, các loại phân bón khác nhau có ảnh hưởng đến trọng lượng khóm gừng. Khối lượng của 1 khóm dao động từ 720,00 g đến 1040,00 g. Công thức I có khối lượng khóm lớn nhất đạt 1040,00 g, cao hơn so với công thức đối chứng 1 và 2 lần lượt là 733,33 g và 880,00 g. Công thức II có

khối lượng khóm thấp nhất trong các công thức thí nghiệm (720,00 g).

Năng suất lý thuyết của các công thức dao động từ 43,2 tấn/ha đến 62,4 tấn/ha. Công thức MK7 có NSLT cao nhất (62,4 tấn/ha), cao hơn so với công thức đối chứng 1 (44,0 tấn/ha) và đối chứng 2 (43,2 tấn/ha), sai khác có ý nghĩa về mặt

thống kê ở xác suất $p < 0,05$. Công thức PG có NSLT (52,8 tấn/ha) thấp nhất trong các công thức thí nghiệm và sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với công thức MK7 và TT ở xác suất $p < 0,05$.

Năng suất thực thu của các công thức dao động từ 41,1 (tấn/ha) đến 55,5 (tấn/ha). Công thức MK7 có NSTT cao nhất đạt 55,5 (tấn/ha), cao hơn so với công thức đối chứng 1 (41,9 tấn/ha) và đối chứng 2 (41,1 tấn/ha), sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở xác suất $p < 0,05$. Công thức PG có NSTT (50,6 tấn/ha) thấp nhất trong các công thức thí nghiệm và sai khác có ý nghĩa thống kê với công thức MK7 và TT ở xác suất $p < 0,05$.

MK7 là một loại phân hữu cơ vi sinh. Kết quả nghiên cứu trên ngô lai của

Cao Ngọc Điệp và Trần Minh Thiện (2012) cho thấy sử dụng phân hữu cơ vi sinh góp phần tiết kiệm 50% phân bón hóa học nhưng năng suất tương đương với nghiệm thức bón 100% phân hóa học, từ đó góp phần giảm chi phí sản xuất đồng thời đem lại lợi nhuận lớn cho người sản xuất.

3.7. Ảnh hưởng của các loại phân hữu cơ đến một số chỉ tiêu phẩm chất củ gừng sau thu hoạch

Phẩm chất của củ gừng phụ thuộc vào giống, chế độ canh tác, thời gian thu hoạch, công tác bảo quản sau thu hoạch,... Chất lượng củ gừng góp phần quyết định đến giá trị kinh tế và mục đích sử dụng của chúng.

Bảng 8. Ảnh hưởng của các loại phân hữu cơ đến một số chỉ tiêu phẩm chất củ gừng sau thu hoạch

CT	Phân hữu cơ	Độ ẩm (%)	Cellulose (%)	Tro (%)	Protein (%)	Lipid (%)	Vitamin C (%)
I	MK7	78,32 ^c ± 0,34	16,20 ^a ± 0,53	11,00 ^a ± 0,58	0,86 ^d ± 0,002	3,38 ^b ± 0,21	0,14 ^a ± 0,003
II	PG	72,96 ^a ± 0,49	20,60 ^a ± 0,87	8,40 ^a ± 0,69	0,64 ^a ± 0,001	2,92 ^{ab} ± 0,11	0,14 ^a ± 0,002
III (Đ/C1)	PC	72,92 ^a ± 0,31	16,60 ^a ± 1,06	7,80 ^a ± 0,87	0,71 ^c ± 0,001	2,42 ^a ± 0,13	0,16 ^a ± 0,008
IV (Đ/C2)	TT	75,48 ^b ± 0,26	16,20 ^a ± 1,33	10,80 ^a ± 0,81	0,70 ^b ± 0,001	3,30 ^b ± 0,05	0,15 ^a ± 0,005

Ghi chú: Trong cùng 1 cột các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa với $p < 0,01$; ± SE: Sai số chuẩn.

Trong các chỉ tiêu phân tích phẩm chất thì các công thức có sự khác biệt về độ ẩm, hàm lượng protein và hàm lượng lipid. Công thức I có độ ẩm, hàm lượng protein cao nhất và có sự khác biệt có ý nghĩa so với 2 công thức đối chứng. Công thức II có độ ẩm và hàm lượng lipid thấp hơn Đ/C 2 nhưng lại không có sự khác biệt so với Đ/C 1.

4. KẾT LUẬN

- Về chỉ tiêu sinh trưởng: Phân hữu cơ MK7 làm tăng sinh trưởng của cây gừng, tăng chiều cao cây, số lá/cây, giúp cây gừng đẻ nhánh sớm hơn.

- Bón các loại phân hữu cơ khác nhau công thức I có tỉ lệ bệnh héo xanh vi khuẩn thấp nhất, xuất hiện muộn so với các công thức khác.

- Về chỉ tiêu năng suất: Bón phân hữu cơ MK7 cho thực thu cao nhất (55,5 tấn/ ha) trong các công thức thí nghiệm (so với phân chuồng là 41,9 tấn/ha, so với phân hữu cơ Thanh Tiên là 52,8 tấn/ha).

- Về chỉ tiêu phẩm chất: Phân hữu cơ MK7 làm tăng độ ẩm và protein trong củ gừng so với bón phân chuồng và phân hữu cơ Thanh Tiên.

Kết luận chung: Lựa chọn công thức bón phân hữu cơ MK 7 khi canh tác gừng sẽ trên đất thịt nhẹ với lượng bón 2 tấn/ha.

Lời cảm ơn: Đây là kết quả của đề tài khoa học và công nghệ cấp tỉnh được ngân sách nhà nước tỉnh Thừa Thiên Huế đầu tư, mã số: TTH.2018-KC03.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (2010), Quy chuẩn Kỹ thuật Quốc gia về phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây trồng, QCVN 01-38: 2010/BNNPTNT.
2. Cao Ngọc Diệp và Trần Minh Thiện (2012), Ảnh hưởng của phân hữu cơ vi sinh trên đất sản xuất từ chất thải ao nuôi cá tra đến tăng trưởng và năng suất bắp lai (*Zea mays* L.) trồng trên đất phù sa nông trường sông Hậu, thành phố Cần Thơ. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ 24a, tr. 1 - 8.
3. Đỗ Tất Lợi (1999), Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản Y học, tr. 366 - 368.
4. Trần Thị Nga (2015), Nghiên cứu biện pháp quản lý bệnh héo chết nhanh cây gừng ở Quảng Nam. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, tr. 106 - 112
5. Trần Thanh Phong, Võ Thị Mai Hương, Phạm Thị Ngọc Lan, Hoàng Thị Kim Hồng, Nguyễn Thị Thu Thủy, Hoàng Tấn Quảng (2013), Thực hành Sinh lý thực vật-Hóa sinh và Vi sinh vật học. Nhà xuất bản Đại học Huế.
6. Campbell, C. L.; Madden, L. V. , (1990), Introduction to plant disease epidemiology, Wiley-Interscience.
7. Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I., Lorito M (2004), *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology* 2, pp.43 -56.
8. Kong Xiang-bo, Xu Kun, Shang Qing-wen, Wang Yu-xia (2007), Effect of bioorganic fertilizer on the growth yield and quality of ginger. *J.Soil and Fertilizer Sciences in China*, (2):64 - 67.
9. Mohammad SM and Hamed HK. (2012), Ginger (*Zingiber officinale*): A review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(26), pp 4255 - 4258.
10. Rahmani A.H., Shabrimi F.M.A. and Aly S.M. (2014), Active ingredients of ginger as potential candidates in the prevention and treatment of diseases via modulation of biological activities, *Int. J. Physiology Pharmacology Pathophysiology*, 6(2), pp. 125 - 136.

KHẢO SÁT CON ĐƯỜNG XÂM NHIỄM CỦA *Pseudomonas* GÂY BỆNH HÉO XANH, *Fusarium* GÂY BỆNH THỐI RỄ CÂY TÍA TÔ XANH (*Perilla frutescens*) VÀ ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ IN VITRO CỦA MỘT SỐ HOẠT CHẤT ĐỐI VỚI HAI MẦM BỆNH NÀY

Nguyễn Quốc Thái^{1*}, Trần Thị Kiều¹, Nguyễn Văn Thành¹

Khoa Nông nghiệp - Thủy sản, Trường Đại học Cửu Long

*Tác giả liên hệ: nguyenquocthai@mku.edu.vn

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này là tìm ra con đường lây nhiễm của vi khuẩn *Pseudomonas* sp. (gây bệnh héo xanh) và nấm *Fusarium* sp. (gây thối rễ) trên cây Tía tô xanh, đồng thời chọn ra các hoạt chất có khả năng kiểm soát sự phát triển của hai tác nhân này trong điều kiện phòng thí nghiệm. Kết quả cho thấy cả vi khuẩn *Pseudomonas* sp. và nấm *Fusarium* sp. đều xâm nhập vào cây tía tô qua rễ, gây suy yếu nhanh chóng và cây Tía tô bị chết trong trường hợp rễ bị tổn thương. Hiệu quả của các hoạt chất chống lại các mầm bệnh đã được thực hiện trên đĩa petri ở điều kiện in vitro với bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên. Kết quả chỉ ra rằng axit oxolinic có tác dụng ức chế *Pseudomonas* cao. Bên cạnh đó, gentamicin sulfate + oxytetracycline hydrochloride và streptomycin sulfate + oxytetracycline hydrochloride có tác dụng tốt, còn bronopol ức chế vừa phải. Đối với *Fusarium*, các hoạt chất bao gồm dimethomorph, myclobutanil hoặc azoxystrobin + difenoconazole, metriam complex + pyraclostrobin, trifloxystrobin + tebuconazole đều thể hiện khả năng ức chế sự phát triển của nấm rất tốt.

Từ khóa: *Fusarium*, hoạt chất, *Perilla frutescens*, *Pseudomonas*.

ABSTRACT

Finding infection pathway of *Pseudomonas* sp. (bacterial wilt) and *Fusarium* sp. (root rot) on *Perilla frutescens*, and evaluating efficacy of several active ingredients on controlling the growth of these phytopathogens *in vitro*

The objective of this research was to find out the infection pathway of *Pseudomonas* sp. (causing bacterial wilt) and *Fusarium* sp. (causing root rot) on *Perilla frutescens*, and evaluate the active ingredients capable of controlling the growth of these two

Người phân biên: TS. Lê Thanh Toàn.

phytopathogens in vitro. The results showed that both Fusarium sp. and Pseudomonas sp. penetrated on the Perilla frutescens root, causing rapid weakening. The host plant of Perilla was death when the root is damaged. Efficacy of active ingredients against those pathogens was made on petri dishes at in vitro conditions with completely randomized design. The results indicated that oxolinic acid had a high inhibitory effect on Pseudomonas. Besides, gentamicin sulfate + oxytetracycline hydrochloride and streptomycin sulfate + oxytetracycline hydrochloride have good effect, while bronopol inhibits moderately. For Fusarium, the active ingredients including dimethomorph, myclobutanil or azoxystrobin + difenoconazole, metriam complex + pyraclostrobin, trifloxystrobin + tebuconazole had ability to inhibit the growth of fungi very well.

Keywords: active ingredient, *Fusarium*, *Perilla frutescens*, *Pseudomonas*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây tía tô Hàn Quốc (*Perilla frutescens*) hay còn gọi là cây lá mè là một loại rau thơm có xuất xứ từ đất nước Hàn Quốc và được trồng tại Việt Nam vài năm trở lại đây do giá trị kinh tế cao nhờ xuất khẩu. Tuy là loại cây mới đưa vào canh tác nhưng thực tế đã ghi nhận có nhiều loại côn trùng và bệnh gây hại nghiêm trọng trên loài cây này từ giai đoạn trồng đến thu hoạch. Trong đó, bệnh héo xanh và thối rễ là hai đối tượng gây hại rất nghiêm trọng. Bệnh làm giảm năng suất gây thiệt hại nặng nề về kinh tế. Thực tế đã ghi nhận vào năm 2020, tại huyện Chợ Mới (An Giang) đã có hơn 2ha trong tổng số 4 ha canh tác cây tía tô xanh bị nhiễm bệnh; tại Vĩnh Long cũng bị nhiễm bệnh 1,8 ha (chiếm tỉ lệ 100%). Bệnh lây lan rất nhanh và làm tàn lụi cây tía tô xanh trong thời gian rất ngắn. Vi khuẩn *Pseudomonas* và *Fusarium* đều là những tác nhân gây bệnh đa ký chủ và gây ra những bệnh nguy hiểm trên cây trồng (Agrios, 2005; Burgess *et al.*, 2014). Kiến thức về sự phát sinh, phát triển của bệnh và phòng trị còn rất ít. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm

(1) xác định con đường xâm nhiễm của tác nhân gây bệnh vào cây tía tô xanh và (2) khảo sát hiệu quả của một số loại hoạt chất hóa học đối với vi khuẩn và nấm gây bệnh trong điều kiện phòng thí nghiệm.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thu thập và phân lập mầm bệnh

Mầm bệnh được thu thập tại ruộng trồng tía tô xanh 45 ngày tuổi. Cây có triệu chứng bệnh điển hình của héo xanh (cây kém phát triển, lá bị héo và rũ xuống) và thối rễ (cây phát triển kém, lá vàng, đầu rễ bị thối đen) tại ruộng trồng tía tô tại tỉnh Vĩnh Long. Mầm bệnh được mang về phòng thí nghiệm và phân lập trên môi trường Water Agar. Vi khuẩn gây bệnh héo xanh được nhân nuôi trên môi trường King' B, nấm gây bệnh thối rễ được nhân nuôi trên môi trường PDA.

2.2. Thí nghiệm 1. Xác định con đường xâm nhiễm của các tác nhân gây bệnh vào cây tía tô xanh

Thí nghiệm đối với vi khuẩn *Pseudomonas* được thực hiện theo kiểu

hoàn toàn ngẫu nhiên, lặp lại 3 lần với 2 nhân tố gồm: vi khuẩn (có hoặc không) và tổn thương (tổn thương ở thân, rễ và không tổn thương) (bảng 1). Đối với nấm *Fusarium* gây bệnh thối rễ, thí

thí nghiệm được thực hiện tương tự với 2 nhân tố gồm: nấm gây bệnh (có hoặc không) và tổn thương (có hoặc không tổn thương rễ) (bảng 2).

Bảng 1. Bố trí thí nghiệm xác định con đường xâm nhiễm của vi khuẩn *Pseudomonas* sp. gây bệnh héo xanh vào cây tía tô xanh

	Không có vi khuẩn	Có vi khuẩn
Không tổn thương	Tưới nước cất cho chậu trồng cây (đối chứng).	Tưới vi khuẩn gây bệnh vào gốc cây.
Tổn thương thân	- Chà giấy nhám vào thân cây tạo vết thương dài 1 cm. - Dùng bông gòn nhúng vào nước cất, cố định tại vị trí tổn thương bằng bọc nilon để nước cất không chảy xuống gốc cây.	- Chà giấy nhám vào thân cây tạo vết thương dài 1 cm. - Dùng bông gòn nhúng vào huyền phù vi khuẩn mật số 10^3 cfu/ml sau đó cố định tại vị trí tổn thương bằng bọc nilon để vi khuẩn không chảy xuống gốc cây.
Tổn thương rễ	- Dùng dao nhẵn xuống phần rễ ở 4 vị trí của chậu trồng tía tô cách gốc cây 5 cm và sâu 10 cm. - Tưới nước cất vào vị trí bị tổn thương.	- Dùng dao nhẵn xuống phần rễ ở 4 vị trí của chậu trồng tía tô cách gốc cây 5 cm và sâu 10 cm. - Tưới vi khuẩn gây bệnh mật số 10^3 cfu/ml vào vị trí rễ bị tổn thương.

Bảng 2. Bố trí thí nghiệm xác định con đường xâm nhiễm của nấm *Fusarium* sp. vào cây tía tô xanh

	Không nấm	Có nấm
Không tổn thương	Tưới nước cất vào chậu trồng cây ở 4 vị trí cách gốc 5 cm (đối chứng).	Tưới bào tử nấm gây bệnh mật số 10^6 bt/ml vào gốc cây ở 4 vị trí cách gốc 5 cm.
Có tổn thương	- Tạo vết thương bằng cách dùng dao nhẵn xuống phần rễ ở 4 vị trí cách gốc 5 cm và sâu 10 cm. - Tưới nước cất vào vị trí bị tổn thương.	- Tạo vết thương bằng cách dùng dao nhẵn xuống phần rễ ở 4 vị trí cách gốc 5 cm và sâu 10 cm. - Tưới bào tử nấm gây bệnh mật số 10^6 bt/ml vào vị trí rễ bị tổn thương.

Các cây thí nghiệm được theo dõi và so sánh với cây đối chứng về tình trạng phát triển của cây sau khi xử lí. Kết quả được ghi nhận ở 10 ngày sau lây bệnh (NSLB).

2.3. Thí nghiệm 2. Đánh giá khả năng khống chế trực tiếp của một số hoạt

chất trừ bệnh đối với vi khuẩn *Pseudomonas* sp. gây bệnh héo rũ trên cây tía tô xanh trong điều kiện in vitro

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên 1 nhân tố với 6 hoạt chất, 3 lần lặp lại. Các hoạt chất cùng với liều lượng được thử nghiệm gồm:

Bacillus subtilis (1,5 g/l), Bronopol (1,98 g/l), Nano bạc (2,5 mg/l), Oxolinic acid (625 mg/l), Gentamicin sulfate (25 mg/l) + Oxytetracycline hydrochloride (75 mg/l), Oxytetracycline hydrochloride (110 mg/l) + Streptomycin Sulfate (70 mg/l), cùng với đối chứng (xử lý nước cất vô trùng). Nguồn vi khuẩn *Pseudomonas* được nhân nuôi trong 2 ngày trên môi trường King's B. Sau đó hòa vi khuẩn vào nước cất thanh trùng tạo huyền phù vi khuẩn mật số 10^3 cfu/ml trải đều trên mặt đĩa petri đã rót 10 ml môi trường King'B vô trùng. Lần lượt nhúng các khoan giấy (\varnothing 6 mm) vô trùng vào các dung dịch hoạt chất và nước, và đặt lên đĩa petri, mỗi đĩa đặt 5 khoan giấy gồm 1 khoan đối chứng (thấm nước cất vô trùng) ở tâm đĩa và 4 khoan ở 4 góc đĩa cách tâm đĩa 30 mm. Tiến hành quan sát và đo bán kính vòng vô khuẩn vào thời điểm 2 và 3 ngày sau cấy.

2.4. Thí nghiệm 3. Đánh giá khả năng không chế trực tiếp của một số hoạt chất trừ bệnh đối với nấm *Fusarium* sp. gây bệnh thối rễ trên cây tía tô xanh trong điều kiện in vitro

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên 1 nhân tố với 8 hoạt chất, 6 lần lặp lại. Các hoạt chất cùng với liều lượng được thử nghiệm gồm: Dimethomorph (0,5 g/l), Hexaconazole (0,16 ml/l), Metalaxyl (0,5 g/l), Myclobutanil (2 g/l), Azoxystrobin (0,15 ml/l) + Difenoconazole (0,1 ml/l), Metriam complex (1,1 g/l) + Pyraclostrobin (0,1 g/l), Iprovalicarb (0,165 g/l) + Propineb (1,84 g/l), Trifloxystrobin (1 g/l) +

Tebuconazole (1,88 g/l), cùng với đối chứng (xử lý nước cất vô trùng). Nguồn nấm gây bệnh *Fusarium* được nuôi cấy trên môi trường PDA trong 3 ngày, sau đó đục lấy khoan nấm (\varnothing 6 mm) đặt vào tâm đĩa petri khác để thử hoạt chất có chứa 10 ml môi trường PDA, các khoan giấy vô trùng (\varnothing 6 mm) thấm hoạt chất thử nghiệm lần lượt đặt ở 3 vị trí trên đĩa petri cách tâm đĩa 30 mm. Tiến hành ghi nhận bán kính vòng vô khuẩn ở các khoan giấy thấm hoạt chất thuốc trên các đĩa petri khi nấm gây bệnh phát triển đến khoan giấy đối chứng.

2.5 Xử lý số liệu

Các số liệu được tổng hợp với phần mềm Excel 2010 và phân tích phương sai với phần mềm SPSS 20.0, trắc nghiệm phân hạng qua phép thử Duncan 5%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xác định con đường xâm nhiễm của vi khuẩn *Pseudomonas* gây bệnh héo xanh vào cây tía tô xanh

Quan sát các cây tía tô thử nghiệm ở thời điểm 10 ngày sau xử lý, đối với các nghiệm thức không có vi khuẩn gồm: Đối chứng (không tổn thương không có vi khuẩn), tổn thương thân không phun vi khuẩn và tổn thương rễ không tưới vi khuẩn, cây phát triển bình thường không có biểu hiện của bệnh héo xanh.

Trong các nghiệm thức có vi khuẩn bao gồm: Tổn thương thân phun vi khuẩn, tổn thương rễ tưới vi khuẩn và không tổn thương tưới vi khuẩn, nghiệm

thức tổn thương thân tằm vi khuẩn không biểu hiện triệu chứng bệnh bất thường trong khi các nghiệm thức tổn thương rễ tưới vi khuẩn và không tổn thương tưới vi khuẩn ghi nhận thấy các triệu chứng cháy rìa lá, lá bị rũ xuống, thân cây đen, cây phát triển chậm. Cây có tổn thương rễ và tưới vi khuẩn chết sớm ở thời điểm 7

ngày sau xử lý, trong khi cây không tổn thương rễ có tưới vi khuẩn chết chậm hơn, ở 13NSLB (ngày sau lây bệnh). Việc rễ cây tía tô bị tổn thương rễ cùng với sự có mặt của vi khuẩn gây bệnh đã làm cho bệnh tiến triển nhanh hơn, do vi khuẩn có thể xâm nhập vào cây bằng 2 cách: lông hút ở rễ và vết thương ở rễ (bảng 3).

Bảng 3. Phản ứng của cây tía tô xanh khi xử lý với nấm bệnh theo các vị trí và con đường xâm nhiễm khác nhau

	Có vi khuẩn (tằm/tưới)	Không có vi khuẩn
Không tổn thương	Cây chậm phát triển, lá héo và rũ xuống	Phát triển bình thường
Tổn thương thân	Phát triển bình thường	Phát triển bình thường
Tổn thương rễ	Cây chậm phát triển, lá héo, rũ xuống và chết	Phát triển bình thường

Kết quả này trùng hợp với thông tin của Phạm Văn Kim (2000) khi cho rằng vi khuẩn xâm nhập qua rễ cây thông qua các lỗ hồng tự nhiên và vết thương vật lý, sau đó di chuyển vào mạch xylem nơi chúng ngăn chặn sự di chuyển của nước dẫn đến héo và sau đó là cái chết của cây, những triệu chứng này dẫn đến tổn thất năng suất nặng nề. Vi khuẩn sản sinh ra các enzyme pectinase và cellulase để làm phân hủy thành tế bào tạo ra các khoang chứa đầy chất nhày của vi khuẩn, đồng thời cũng oxy hóa hợp chất phenol (của tế bào ký chủ) tạo các phân tử màu và các triệu chứng làm nâu mạch dẫn của cây ký chủ (Vũ Triệu Mân, 2007). Các chất nhày ở trong mạch dẫn ở dạng exopolysaccharide (EPS) và lipopolysaccharide (LPS) làm tắc nghẽn mạch dẫn cản trở sự vận chuyển nước và nhựa trong cây làm cây héo nhanh chóng.

3.2. Kết quả xác định con đường xâm nhiễm của nấm *Fusarium* gây bệnh thối rễ vào cây tía tô xanh

Đối với nấm *Fusarium*, ở thời điểm 10 ngày sau chủng bệnh, đối với các cây tía tô không xử lý nấm gồm: Đối chứng (không tổn thương không tưới nấm), tổn thương không tưới nấm thì cây phát triển bình thường, không có biểu hiện của bệnh thối rễ. Trong khi các cây có xử lý nấm gồm: Tổn thương tưới nấm, không tổn thương tưới nấm đều ghi nhận cây có biểu hiện triệu chứng của bệnh thối rễ: cháy vàng mép lá, lá khô, cổ rễ xuất hiện những vạch nâu, đầu rễ thối đen, cây kém phát triển. Bên cạnh đó, cây có tổn thương khi tưới nấm chết sớm hơn so với cây không bị tổn thương rễ (bảng 4). Như vậy, khi nấm *Fusarium* có sẵn trong đất, nấm xâm nhiễm nhanh chóng vào cây tía tô thông qua các vết thương ở rễ làm cây chết sớm.

Bảng 4. Triệu chứng của cây tía tô xanh khi xử lý với mầm bệnh theo các nghiệm thức khác nhau

	Không tưới nấm	Có tưới nấm
Không tổn thương	Phát triển bình thường	Cây chậm phát triển, lá khô, vàng ở 2 bìa và rụng. Đầu rễ bị thối đen.
Có tổn thương	Phát triển bình thường	Cây chậm phát triển, lá khô, vàng ở 2 bìa và rụng. Phần dưới gốc cây xuất hiện những đường vạch màu nâu. Đầu rễ bị thối đen, cây chết sớm ở 7NSLB.

3.3. Hiệu quả của 6 loại hoạt chất trừ bệnh đối với vi khuẩn gây bệnh héo xanh trên tía tô xanh trong điều kiện in vitro

Kết quả ghi nhận bán kính vòng vô khuẩn ở 2 và 3 NSC trên các đĩa petri có vi khuẩn và các khoanh giấy thấm hoạt chất trừ bệnh cho thấy hoạt chất Oxolinic

acid có khả năng hạn chế sự phát triển của vi khuẩn *Pseudomonas* nhất. Các hoạt chất khác cũng tạo bán kính vòng vô khuẩn khá tốt (7,3 - 10,3 mm). Riêng vi khuẩn *Bacillus subtilis* và Nano bạc không thể hiện hiệu quả.

Bảng 5. Bán kính vòng vô khuẩn (mm) khi xử lý các loại thuốc trừ bệnh ở nồng độ khuyến cáo và gấp đôi khuyến cáo được quan sát tại thời điểm 2 NSC và 3 NSC

STT	Hoạt chất	Bán kính vòng vô khuẩn (mm)	
		2 NSC	3 NSC
1	<i>Bacillus subtilis</i> (1,5 g/l)	0,0 ^e	0,0 ^d
2	Bronopol (1,98 g/l)	9,0 ^c	8,0 ^c
3	Nano bạc (2,5 mg/l)	0,0 ^e	0,0 ^d
4	Oxolinic acid (625 mg/l)	15,3 ^a	15,0 ^a
5	Gentamicin sulfate (25 mg/l) + Oxytetracycline hydrochloride (75 mg/l)	7,3 ^d	10,3 ^b
6	Streptomycin Sulfate (70 mg/l) + Oxytetracycline hydrochloride (110 mg/l)	13,3 ^b	9,7 ^b
7	Nước (đối chứng)	0,0 ^e	0,0 ^d
	<i>F</i>	**	**
	<i>CV (%)</i>	8,3	14,7

Ghi chú: Trên cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi cùng một chữ thì không khác biệt ý nghĩa qua phép thử Duncan 5%. **: Khác biệt mức ý nghĩa 1%.

Hoạt chất Oxolinic acid cũng đã được xác định có hiệu quả trên nhiều chủng vi khuẩn *Erwinia carotovora* gây bệnh thối

nhũn trên cải bắp (Trương Kiều Diễm, 2012) hoặc vi khuẩn *Xanthomonas* sp. gây bệnh cháy lá trên cây hành lá

(Nguyễn Thị Kim Vui *et al.*, 2019). Theo Champoiseau và Momol (2008), bệnh héo xanh do vi khuẩn *Pseudomonas solanacearum* là bệnh rất khó kiểm soát bởi vi khuẩn này có phổ kí chủ rộng, lưu tồn trong đất lâu năm. Việc sử dụng một loại thuốc liên tục có thể dẫn đến hiện tượng kháng thuốc vì vậy nên luân phiên sử dụng các loại thuốc trừ bệnh.

3.4. Thí nghiệm 3. Đánh giá khả năng không chế trực tiếp của một số hoạt chất trừ bệnh đối với nấm *Fusarium* sp. gây bệnh thối rễ trên cây tía tô xanh trong điều kiện in vitro

Bảng 6 cho thấy chỉ có 2 nghiệm thức thử nghiệm với hoạt chất Metalaxyl và Iprovalicarb + Propineb là không thể hiện hiệu quả không chế sự phát triển khuẩn ty của nấm *Fusarium*, các hoạt chất còn lại

đều tạo bán kính vòng vô khuẩn từ khá đến tốt. Trong đó, thấp nhất là ở hoạt chất Hexaconazole (5,5 mm), các hoạt chất Dimethomorph, Myclobutanil hoặc Azoxystrobin + Difenoconazole, Metriam complex + Pyraclostrobin, Trifloxystrobin + Tebuconazole có bán kính vòng vô khuẩn tốt hơn, đạt từ 9,2 - 9,8 mm.

Một số nghiên cứu của các tác giả khác như Reid *et al.* (2002) đã xác định hoạt chất trừ bệnh Benomyl và Fludioxonil có khả năng hạn chế sự tấn công của nấm *Fusarium* đối với cây măng tây trong điều kiện nhà lưới. Hoặc, Prothioconazole và Pydiflumetofen giúp hạn chế bệnh và gia tăng năng suất thương phẩm đối với cây dưa hấu bị bệnh héo *Fusarium* tại Bắc Carolina, Mỹ (Miller *et al.*, 2020).

Bảng 6. Bán kính vòng vô khuẩn (mm) khi xử lí các loại thuốc trừ bệnh ở nồng độ khuyến cáo và gấp đôi khuyến cáo được quan sát tại thời điểm 2 NSC và 3 NSC

STT	Hoạt chất	Bán kính vòng vô khuẩn (mm)
1	Dimethomorph (0,5 g/l)	9,8 ^a
2	Hexaconazole (0,16 ml/l)	5,5 ^b
3	Metalaxyl (0,5 g/l)	0,0 ^c
4	Myclobutanil (2 g/l)	9,3 ^a
5	Azoxystrobin (0,15 ml/l) + Difenoconazole (0,1 ml/l)	9,3 ^a
6	Metriam complex (1,1 g/l) + Pyraclostrobin (0,1 g/l)	9,2 ^a
7	Iprovalicarb (0,165 g/l) + Propineb (1,84 g/l)	0,0 ^c
8	Trifloxystrobin (1 g/l) + Tebuconazole (1,88 g/l)	9,2 ^a
9	Nước (đối chứng)	0,0 ^c
	F	**
	CV (%)	11,1

Ghi chú: Trên cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi cùng một chữ thì không khác biệt ý nghĩa qua phép thử Duncan 5%. **: Khác biệt mức ý nghĩa 1%.

4. KẾT LUẬN

Vi khuẩn *Pseudomonas* sp. và nấm *Fusarium* sp. gây bệnh cho cây tía tô xanh bằng cách xâm nhập từ rễ vào cây và nhanh chóng làm cây chết khi rễ bị tổn thương. Đối với vi khuẩn *Pseudomonas* sp. gây bệnh héo xanh, hoạt chất Oxolinic acid có hiệu quả ức chế cao. Tiếp đến là Gentamicin sulfate + Oxytetracycline hydrochloride và Streptomycin Sulfate + Oxytetracycline hydrochloride cho hiệu quả khá, còn Bronopol ức chế trung bình. Đối với nấm *Fusarium* sp. gây bệnh thối rễ, các hoạt chất Dimethomorph, Myclobutanil hoặc Azoxystrobin + Difenconazole, Metriam complex + Pyraclostrobin, Trifloxystrobin + Tebuconazole đều có khả năng ức chế sự phát triển của nấm rất tốt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Agrios, G.N. (2005), *Plant Pathology*. 5th edition. Elsevier Academic Press.
2. Burgess, L. W., T. E. Knight, L. Tesoriero và Phan Thúy Hiền (2014), Cẩm nang chẩn đoán bệnh cây ở Việt Nam. Trung tâm Nghiên cứu Nông nghiệp Quốc tế Australia (ACIAR). 210 trang.
3. Champoiseau, P. G. and T. M. Momol (2008), Bacterial Wilt of Tomato
4. Miller N.F., J. R. Standish, and L. M. Quesada-Ocampo (2020), Sensitivity of Prothioconazole and Pydiflumetofen in vitro and efficacy for *Fusarium* wilt management in watermelon. *Plant health progress*. 21: 13 - 18.
5. Nguyễn Thị Kim Vui, Nguyễn Hữu Huệ, Huỳnh Kim Định và Nguyễn Thị Thu Nga (2019), Đánh giá hiệu quả phòng trị của thực khuẩn thể chất kích kháng và thuốc hóa học đối với bệnh cháy lá trên cây hành lá do vi khuẩn *Xanthomonas* sp. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*.
6. Phạm Văn Kim (2000), Các nguyên lý về bệnh hại cây trồng. Khoa Nông nghiệp. Trường Đại học Cần Thơ.
7. Reid T. C., M. K. Hausbeck; and K. Kizilkaya (2002), Use of fungicides and biological controls in the suppression of *Fusarium* crown and root rot of *Asparagus* under greenhouse and growth chamber conditions, *The American Phytopathological Society*.
8. Trương Kiều Diễm (2012), Hiệu quả của một số loại thuốc đối với vi khuẩn *Erwinia carotovora* gây bệnh thối nhũn trên bắp cải. Luận văn tốt nghiệp đại học, Ngành Nông học. Trường Đại học Cửu Long.
9. Vũ Triệu Mân (2007), Giáo trình Bệnh cây đại cương. Chuyên ngành Bảo vệ thực vật. Trường Đại học Nông nghiệp 1 Hà Nội.

NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT CHẾ PHẨM CHAETOMIUM CP2-VMNPB TRỪ NẤM *Fusarium* spp. HẠI RỄ CÂY CHÈ

Nguyễn Văn Thiệp¹, Cao Phi Bằng²,
Trịnh Thị Kim Mỹ¹, Nguyễn Thị Kim Oanh¹,
Nguyễn Huy Thịnh¹, Vũ Xuân Dương²

¹Viện KHKT Nông Lâm nghiệp miền núi phía Bắc
²Trường Đại học Hùng Vương

TÓM TẮT

Cây chè (*Camellia sinensis*) được trồng phổ biến ở hầu hết các tỉnh trung du, miền núi Việt Nam. Hiện nay, các vườn chè lâu năm thường bị bệnh thối rễ làm chết cây chè gây thiệt hại nghiêm trọng. Nghiên cứu tạo chế phẩm vi sinh phòng trừ bệnh thối rễ chè đạt được kết quả. Phân lập từ đất trồng chè, cà phê chè và lựa chọn được 2 chủng nấm *Chaetomium* có hoạt tính đối kháng mạnh với nấm bệnh đó là Cb-CPT1 và Cg-CFSL1. Chủng Cg-CFSL1 ức chế 64,33% tản nấm và ức chế 93,8% sản sinh bào tử nấm bệnh *Fusarium* spp. Chủng Cb-CPT1 ức chế 58,44% tản nấm và ức chế 90,08% sản sinh bào tử nấm bệnh *Fusarium* spp.. Hai chủng Cb-CPT1 và Cg-CFSL1 được sử dụng để tạo chế phẩm trừ nấm bệnh và được đặt tên là *Chaetomium* CP2-VMNPB. Trong thí nghiệm trừ bệnh thối rễ chè do *Fusarium* spp. trong chậu, áp dụng liều lượng 1,5 - 2 ml/cây, chế phẩm CP2-VMNPB có hiệu lực trừ bệnh thối rễ chè rất tốt, đạt từ 82,34% đến 83,43% sau 3 tháng xử lý.

Từ khóa: chế phẩm sinh học trừ nấm, *Camellia sinensis*, *Chaetomium*, *Chaetomium* CP2-VMNPB, *Fusarium*.

ABSTRACT

Research on the production of microbial product *Chaetomium* CP2-VMNPB to control *Fusarium* spp. damaging tea roots

Tea (*Camellia sinensis*) is widely grown in most of the midland and mountainous provinces of Vietnam. Currently, perennial tea gardens often suffer from root rot disease, which kills tea trees, causing serious damage. Research on the production of microbial preparations to prevent tea root rot disease has achieved positive results. In this study, two strains of *Chaetomium* having strong antagonistic activity against the

disease fungus, *Cb-CPT1* and *Cg-CFSL1* were isolated from tea and arabica coffee plantations. The *Cg-CFSL1* strain inhibited 64.33% of the fungal colony diameter and inhibited 93.8% of fungal spores while the *Cb-CPT1* strain inhibited 58.44% of the fungal colony diameter and 90.08% of the fungal spores of *Fusarium* spp.. Both strains, *Cb-CPT1* and *Cg-CFSL1* were used in making bio-fungicide and were named *Chaetomium CP2-VMNPB*. In pots condition, to control tea root rot caused by *Fusarium* spp., at a dosage of 1.5 - 2 ml/plant, *CP2-VMNPB* showed a very good effect against tea root rot, reaching from 82.34% to 83.43% after three months of treatment.

Keywords: Bio-fungicide, *Camellia sinensis*, *Chaetomium*, *Chaetomium CP2-VMNPB*, *Fusarium*.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây chè được trồng phổ biến ở hầu hết các tỉnh trung du, miền núi Việt Nam với khoảng 116.000 ha chè đang thu hoạch, sản xuất trên 269000 tấn chè khô (FAOSTAT, 2019). Chè là cây trồng mũi nhọn của nhiều tỉnh vùng miền núi phía Bắc, là nguồn thu nhập chính của người sản xuất trong vùng. Tuy nhiên, canh tác chè gặp nhiều khó khăn do diễn biến bệnh hại ngày càng phức tạp. Bệnh gây hại trên tất cả các bộ phận của cây chè, ức chế sinh trưởng phát triển của cây, ảnh hưởng đến sinh trưởng, năng suất và chất lượng sản phẩm. Những năm gần đây, các vườn chè lâu năm thường bị bệnh thối rễ gây thiệt hại nghiêm trọng và trở thành bệnh hại chính ở hầu khắp các vùng chè nước ta. Bệnh làm cho cây chè sinh trưởng chậm lại, búp ít, lá trở lên cằn cỗi, héo dần và rụng, cành tăm khô dần từ ngoài vào trong, cây chè suy yếu và chết. Bệnh thường bắt đầu từ những điểm trong vườn chè sau loang rộng dần, gây mất khoảng trong nương chè. Bệnh gây thối rễ héo lá cây chè do một số loại nấm hại khác

nhau: Lehmann Danzinger (2000); Michael R. Zeiss, K.d. Braber (2001) cho biết đó là các loại nấm như *Poria hypolaterite* Berk, *Phellinus* sp., *Sphaerostilbe repens*, *Rosellinia* spp., *Armillariella mellea*. Một số nghiên cứu cũng cho biết *Fusarium* là một trong những tác nhân phổ biến gây bệnh ở rễ cây chè (Onsando *et al.*, 1997; Liyanage *et al.*, 2013): *Fusarium solani* gây thối thân, thối rễ cây chè ở Sri Lanka, làm cho tỷ lệ cây chè chết có thể từ 50 - 85%, ở Kenya, bệnh này có thể làm chết mất bụi chè tới 50%. Ở Ấn Độ, nấm *Fusarium* làm đen và chết cành cây chè đã trở thành phổ biến tại hầu hết các vườn chè và gây mất mùa rất lớn (Bhattacharjee *et al.*, 2015). Trong nước, Nguyễn Văn Hùng (1998) gọi bệnh thối rễ cây chè bắt đầu từ những điểm trong vườn chè sau loang rộng dần là bệnh chết loang, do nấm *Rosellinia necatrix* Berl. gây ra. Ngoài ra có bệnh thối khô rễ, bệnh thối khô cổ rễ, bệnh thối rễ màu đen, bệnh thối rễ màu đỏ và bệnh thối rễ màu nâu. Nguyen Huu Phong (2016) cho biết *Fusarium oxysporum*

là một trong những tác nhân gây bệnh héo rũ, thối rễ cây chè.

Bệnh thối rễ hại chủ yếu ở chè tuổi lớn, tốc độ lây lan nhanh, rất khó phòng trừ, xử lý bằng thuốc trừ bệnh hóa học chỉ làm chậm tốc độ lây lan bệnh. Từ thực tế phòng trừ bệnh rất khó khăn, hướng sử dụng vi sinh vật đối kháng phòng trừ bệnh hại rễ chè được nghiên cứu. Trong các vi sinh vật đối kháng, nấm *Chaetomium* đã được nghiên cứu và ứng dụng để phòng trừ bệnh hại cây trồng. Loài nấm này đối kháng mạnh mẽ với nhiều loài nấm bệnh và được áp dụng như là thuốc trừ nấm sinh học phổ rộng (K. Soyong, 2001). Nấm *Chaetomium* được sử dụng phòng trừ các bệnh hại thực vật

như *Alternaria*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Helminthosporium victoriae*, *Phomopsis sojiae*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Phytophthora parasitica*, *P. palmivora*... (Kasem Soyong, 2020).

Trong quá trình nghiên cứu, chúng tôi đã xác định một số nấm bệnh hại rễ cây chè ở vùng miền núi phía Bắc mà các loài phổ biến là *Fusarium roseum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* sp. cùng tồn tại. Do vậy, trong phạm vi bài viết này chúng tôi trình bày tóm tắt một số kết quả nghiên cứu tạo chế phẩm từ nấm đối kháng *Chaetomium* phòng trừ nấm *Fusarium* spp. gây bệnh thối rễ cây chè.



Hình 1. Bệnh hại rễ chè và nấm gây bệnh
(A, B: Triệu chứng bệnh; C: Bào tử nấm bệnh *Fusarium* spp.)

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Mẫu đất từ các vườn chè dùng phân lập nấm *Chaetomium*.

- Nấm bệnh là *Fusarium* spp. từ nguồn lưu giữ tại Bộ môn CNSH & BVTV, Viện KHKT Nông Lâm nghiệp miền núi phía Bắc.

- Môi trường làm thuần, nuôi cấy nấm *Chaetomium*, *Fusarium*: PDA

- Phụ gia làm chế phẩm: dầu thực vật Cái Lân, nước sạch.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu thập, phân lập và làm thuần nấm đối kháng *Chaetomium*

Để có các chủng nấm *Chaetomium* chế tạo chế phẩm trừ bệnh, chúng tôi thu

thập mẫu đất từ các vườn chè và vườn cà phê chè ở các tỉnh Phú Thọ, Thái Nguyên, Yên Bái, Nghệ An, Sơn La, Điện Biên.

Mẫu đất thu thập được làm nhỏ cho vào đĩa petri, đặt các mẫu giấy lọc diện tích 1 cm² lên trên bề mặt, phun ẩm và giữ ẩm thường xuyên ở nhiệt độ phòng để bẫy nấm theo phương pháp của K. Soyong và Quimio (1989). Lấy nấm *Chaetomium* đã có trên bẫy cây lên môi trường PDA (gồm khoai tây 200 g, dextro 20 g, agar 15 g). Sau đó lấy riêng rẽ từng quả thể cấy lên môi trường PDA, khi sợi nấm mọc, cắt đỉnh sợi nấm cấy lên môi trường sẽ được nấm *Chaetomium* thuần. Nấm thuần đã xác định danh tính được lưu giữ trong ống thạch nghiêng để dùng cho các thí nghiệm. Nấm gốc được bảo quản lâu dài trong ống tube ở tủ lạnh -20°C.

2.2.2. Đánh giá hoạt tính của *Chaetomium* với nấm bệnh

- Thí nghiệm tiến hành cấy đối xứng 2 loại nấm đối kháng và nấm gây bệnh trên bề mặt môi trường PDA trong đĩa petri đường kính 9 cm, cắm cây ở vị trí cách mép đĩa petri 1cm (K. Soyong, 1992; Lê Ánh Hồng, 2005; Kaewchai *et al.*, 2010):

- + Đĩa 1: NĐK.
- + Đĩa 2: NĐK và NGB.
- + Đĩa 3: NGB (đối chứng).

Ghi chú: NĐK: Nấm đối kháng; NGB: Nấm gây bệnh.

- Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên với 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc 10 đĩa.

- Hàng ngày theo dõi tốc độ phát triển và sự lấn át nhau của NĐK và NGB, đo đường kính vùng nấm phát triển và đếm số lượng bào tử của cả 2 loại NĐK và NGB để xác định hiệu quả ức chế của NĐK đối với NGB. Đếm số lượng bào tử nấm bằng thước đếm hồng cầu dưới kính hiển vi.

Hiệu quả ức chế của nấm đối kháng được tính theo công thức:

$$\text{PIRG (Percent Inhibition of Radical Growth)} = (R1 - R2)/R1 \times 100.$$

Trong đó: R1 là đường kính tán nấm hoặc số lượng bào tử của nấm bệnh ở đối chứng; R2 là đường kính của tán nấm hoặc số lượng bào tử nấm bệnh ở đĩa cấy đối kháng.

2.2.3. Chế tạo và đánh giá chế phẩm

Chế phẩm được tạo ra theo các bước như sau:

Bước 1. Nuôi nhân sinh khối các chủng nấm đối kháng trên môi trường PDB.

Bước 2. Nuôi cấy tạo bào tử các chủng nấm đối kháng trên môi trường PDA.

Bước 3. Chuẩn bị chất phụ gia và phối trộn chế phẩm.

Bước 4. Đóng chai và bảo quản chế phẩm.

- Thí nghiệm tạo chế phẩm: nghiên cứu tỷ lệ thành phần các vật liệu làm chế phẩm gồm dầu ăn, nước, đường sacarose và bào tử nấm theo 4 công thức (mục

III.3.2). Lượng bào tử nấm *Chaetomium* cho vào đạt 10^6 cfu/ml.

- Thí nghiệm đánh giá hiệu lực của chế phẩm: Trồng cây chè 1 năm tuổi trong chậu, đặt trong nhà lưới, khi cây xanh tốt thì lây nấm bệnh thối rễ *Fusarium* spp. Sau lây bệnh 1 tháng thì xử lý chế phẩm. Chế phẩm CP2-VMNPB hòa loãng với nước và tưới cho cây theo các các liều lượng: CT1: 0,5 ml chế phẩm/cây; CT2: 1 ml chế phẩm/cây; CT3: 1,5 ml chế phẩm/cây; CT4: 2,0 ml chế phẩm/cây; CT5: đối chứng, phun nước lã.

Quan trắc chỉ số bệnh thông qua triệu chứng bệnh biểu hiện trên lá theo qui ước:

- Mức 1: Cây khỏe mạnh, lá xanh;
- Mức 2: Có 1 - 25% lá vàng;
- Mức 3: 26 - 50% lá vàng;
- Mức 4: 51 - 75% lá vàng,
- Mức 5 > 75% lá vàng.

Bảng 1. Hoạt tính đối kháng của hai chủng *Chaetomium* đối với sinh trưởng nấm gây bệnh *Fusarium* sp. sau nuôi cấy một tháng

Công thức	ĐK tản nấm (cm)	Hiệu lực đối kháng (%)
<i>Fusarium</i> spp. (Đối chứng)	9,00 ^a	
Cb-CPT1 với <i>Fusarium</i> spp.	3,74 ^b	58,44 ^b
Cg-CFSL1 với <i>Fusarium</i> spp.	3,21 ^c	64,33 ^a
CV (%)	3,86	3,10
LSD _{0,05}	0,41	4,30

Kết quả ở bảng 1 và hình 1 cho thấy một tháng sau khi cấy trên môi trường PDA, hai chủng *Chaetomium* ảnh hưởng đối kháng đến nấm bệnh *Fusarium* spp. khác nhau. Ở đĩa đối chứng nấm bệnh *Fusarium* spp. phát triển kín đĩa petri kích

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả thu thập và phân lập nấm đối kháng *Chaetomium*

Từ các mẫu đất đã phân lập được 19 chủng *Chaetomium*. Trong số các chủng đã xác định, hai chủng *Chaetomium bostrychoides* CPT1 (Cb-CPT1) và *Chaetomium globosum* CFSL1 (Cg-CFSL1) khá phổ biến và biểu hiện sinh trưởng mạnh trong quá trình nhân nuôi. Từ sàng lọc sơ bộ, hai chủng này được sử dụng đánh giá hoạt tính đối kháng đối với nấm *Fusarium* spp. gây bệnh hại rễ chè.

3.2. Đánh giá hoạt tính đối kháng của *Chaetomium* với *Fusarium* spp.

Kết quả đánh giá hoạt tính đối kháng của hai chủng Cb-CPT1 và Cg-CFSL1 đối với nấm bệnh *Fusarium* spp. được trình bày ở bảng 1, bảng 2 và hình 2.

thước 9cm, tản nấm khá dày. Trong khi ở đĩa cấy đối kháng, tản nấm *Fusarium* sp. bị tản nấm *Chaetomium* ức chế nên kích thước bị thu nhỏ lại và nhỏ hơn kích thước tản nấm *Chaetomium*. Như cặp đối kháng giữa chủng Cg-CFSL1 và

Fusarium spp., tản nấm *Fusarium* spp. có đường kính là 3,21 cm còn chủng Cg-CFSL1 là 5,79 cm; cặp Cb-CPT1 và *Fusarium* spp., kích thước tản nấm *Fusarium* spp. là 3,74 cm còn chủng Cb-CPT1 là 5,26 cm. Đồng thời trên bề mặt tản nấm *Fusarium* còn xuất hiện những quả thể chứa bào tử túi của *Chaetomium* (hình 2). Đó là do khi nấm *Chaetomium* đã phát triển mạnh, sợi nấm lan sang phía tản nấm *Fusarium* chúng lấn dần và ức chế sinh trưởng của nấm bệnh làm cho kích thước nấm bệnh thu hẹp lại (Soytong *et al.*, 2001). Những sợi nấm *Chaetomium* phủ trên bề mặt nấm bệnh sinh sản tạo thành các quả thể trên bề mặt nấm bệnh.

Trong hai chủng *Chaetomium* khảo sát thì chủng Cg-CFSL1 có hoạt tính đối kháng với nấm bệnh *Fusarium* spp. mạnh hơn chủng Cb-CPT1. Hiệu lực đối kháng của chủng Cg-CFSL1 đối với sinh trưởng tản nấm bệnh *Fusarium* spp. đạt 64,33%, trong khi hiệu lực đối kháng của chủng Cb-CPT1 đạt 58,44%.

Cả nấm đối kháng và nấm bệnh, sợi nấm sau một thời gian sinh trưởng phát triển, sẽ sinh sản ra bào tử, nấm *Chaetomium* ức chế sinh trưởng hệ sợi nấm bệnh, cũng ức chế chúng sinh sản ra bào tử. Chúng tôi đánh giá hoạt tính này thông qua số lượng bào tử nấm bệnh hình thành ở thí nghiệm đối kháng so với nấm bệnh phát triển tự do.

Bảng 2. Khả năng ức chế sinh sản bào tử nấm bệnh *Fusarium* spp. của hai chủng Cb-CPT1 và Cg-CFSL1 sau 1 tháng

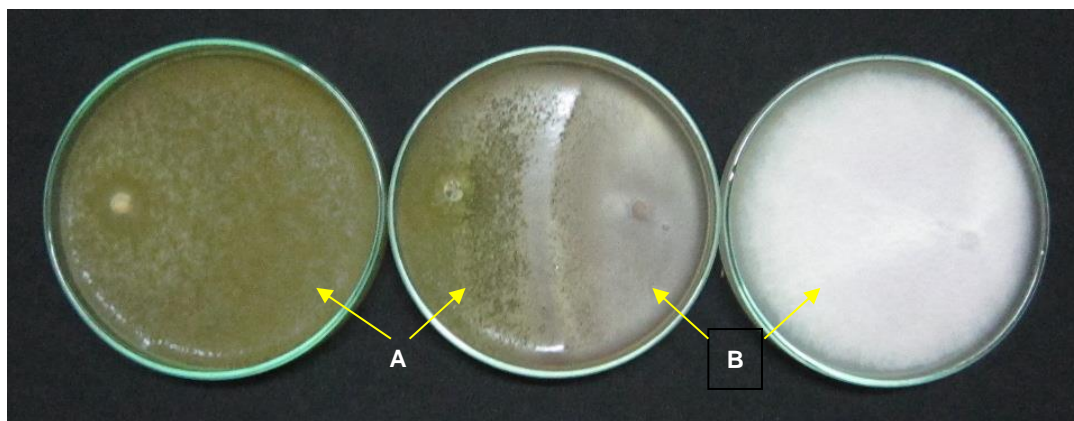
Công thức thí nghiệm	Số lượng bào tử ($\times 10^7$)	Hiệu quả ức chế bào tử (%)
<i>Fusarium</i> spp. (Đối chứng)	67,46 ^a	
Cb-CPT1 với <i>Fusarium</i> spp.	6,20 ^b	90,08 ^b
Cg-CFSL1 với <i>Fusarium</i> spp.	4,18 ^c	93,80 ^a
CV (%)	8,03	6,24
LSD _{0,05}	1,76	3,12

Kết quả tương tự như đối với tản nấm, hai chủng *Chaetomium* tác động ức chế sinh sản bào tử nấm bệnh cũng khác nhau. Số lượng bào tử của nấm *Fusarium* spp. ở công thức đối kháng với chủng Cg-CFSL1 là 4.18×10^7 bào tử/g, ít hơn ở công thức đối kháng với chủng Cb-CPT1 (6.2×10^7 bào tử). Hiệu quả ức chế sản sinh bào tử nấm

bệnh của chủng Cb-CPT1 đạt 90,08%, chủng Cg-CFSL1 ức chế 93,8%. Hiệu quả ức chế nấm bệnh ở bảng 1 và 2 cho thấy các chủng nấm *Chaetomium* ức chế phát triển tản nấm bệnh không mạnh nhưng lại ức chế sự hình thành bào tử nấm bệnh rất tốt, kết quả này rất có ý nghĩa cho biết *Chaetomium* có khả năng hạn chế sự lây lan và phát sinh thành

dịch của bệnh thối rễ cây trồng do *Fusarium* sp. Kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu của nhiều tác giả, họ đều cho rằng nấm *Chaetomium* ức chế

mạnh khả năng sinh sản bào tử nấm bệnh, làm thu hẹp sự phát tán của bệnh (K. Soyong and Quimio 1989; K. Soyong, 1995; Kaewchai, 2010).



Hình 2. Hoạt tính đối kháng của *C.g* vs *Fusarium* sp.

Ghi chú: A: Tàn nấm *Chaetomium*; B: Tàn nấm *Fusarium* sp.

Tùng chủng Cb-CPT1 và Cg-CFSL1 đã có hiệu lực đối kháng khá mạnh mẽ đối với nấm *Fusarium* spp. gây bệnh thối rễ cây chè. Hai chủng nấm đối kháng này

cũng đã được đánh giá sự phù hợp với nhau thông qua sử dụng hỗn hợp hai chủng đối kháng với nấm bệnh *Fusarium* spp. Kết quả nghiên cứu ghi nhận ở bảng 3.

Bảng 3. Hoạt tính đối kháng của hỗn hợp hai chủng *Cb-CPT1* và *Cg-CFSL1* đối với nấm bệnh *Fusarium* spp.

Công thức thí nghiệm	Kích thước tàn nấm (cm)	Số lượng bào tử (10^7)
<i>Fusarium</i> sp. (Đối chứng)	9,00	39,60
Hỗn hợp Cg-CFSL1 + Cb-CPT1 với <i>Fusarium</i> spp.	3,10	2,14
Hiệu quả đối kháng (%)	65,55	94,59
$LSD_{0,05}$ (hiệu quả đối kháng)	6,84	7,56
CV% (hiệu quả đối kháng)	13,40	11,06

Kết quả cho thấy hiệu quả đối kháng của hỗn hợp hai chủng Cg-CFSL1 + Cb-CPT1 đối với sinh trưởng tàn nấm *Fusarium* spp. đạt 65,55%, đối với sinh sản bào tử nấm bệnh đạt 94,59% tương đương kết quả đối kháng của từng chủng. Kết quả thí

nghiệm đã chứng tỏ kết hợp hai chủng *Chaetomium* thì hoạt tính đối kháng với nấm bệnh vẫn mạnh mẽ và có thể phối hợp hai chủng trong chế phẩm mà không bị tác động ảnh hưởng tiêu cực, do vậy chế phẩm sẽ có phổ tác động rộng hơn.

3.3. Nghiên cứu tạo chế phẩm mới và đánh giá hiệu quả của chế phẩm

3.3.1. Nghiên cứu chế tạo chế phẩm mới

Để tạo ra chế phẩm có hiệu quả, cần phối hợp bào tử nấm đối kháng với các chất phụ gia theo công thức thích hợp vừa đảm bảo tính chất lý hóa của thuốc bảo vệ thực vật theo quy định, vừa bảo quản được bào tử nấm đối kháng trong thời gian dài mà khi sử dụng bào tử nhanh chóng hoạt hóa, phát huy hiệu lực của chế phẩm. Các chế phẩm được tạo ra có các thành phần gồm dầu ăn, nước, đường sacarose, axit amin và bào tử nấm theo các công thức như sau:

- CT1: Dầu thực vật 50%; nước sạch 49%; đường sacarose + axit amin bột 1%.

- CT2: Dầu thực vật 60%; nước sạch 39%; đường sacarose + axit amin bột 1%.

- CT3: Dầu thực vật 70%; nước sạch 29%; đường sacarose + axit amin bột 1%.

- CT4: Dầu thực vật 80%; nước sạch 19%; đường sacarose + axit amin bột 1%.

Ở mỗi công thức thêm lượng bào tử nấm *Chaetomium* cho đạt 10^6 cfu/ml.

Từ 4 công thức thí nghiệm phối trộn được 4 chế phẩm với tỷ lệ thành phần các chất phụ gia khác nhau, hoạt chất là hai chủng Cg-CFSL1 và Cb-CPT1 như nhau. Sau khi trộn đều trong máy trộn, công thức 2 (gồm dầu thực vật 60%; nước sạch 39%; đường sacarose + axit amin bột 1%) thành dung dịch dạng huyền phù, không bị kết tủa, lắng đọng đạt yêu cầu làm chế phẩm. Bào tử nấm đối kháng trong chế phẩm đạt tối thiểu $1,0 \times 10^6$ cfu/ml.

3.3.2. Đánh giá hiệu lực của chế phẩm ở điều kiện phòng thí nghiệm

Để lựa chọn công thức phối trộn chế phẩm có hiệu quả trừ bệnh tốt nhất, tiến hành đánh giá hiệu lực của các chế phẩm mới tạo ra đối với nấm bệnh trong điều kiện phòng thí nghiệm. Nấm bệnh cấy trên môi trường PDA trong đĩa petri 9cm và cấy chế phẩm ở vị trí đối diện, theo dõi sự phát triển của tản nấm sau 1 tháng, tính hiệu quả ức chế của chế phẩm (PIRG) được kết quả ở bảng 4.

Bảng 4. Hiệu lực của các chế phẩm mới đối với nấm bệnh *Fusarium spp.*

Chế phẩm	Hiệu quả ức chế (%)
CT1	44,90 ^d
CT2	85,62^a
CT3	71,73 ^b
CT4	65,57 ^c

Ghi chú: CV = 4,1%; LSD_{0,05} = 5,17.

Ở điều kiện phòng thí nghiệm, chế phẩm công thức 2 có hiệu lực trừ nấm bệnh *Fusarium sp.* cao nhất đạt là 85,62%. Trên cơ sở kết quả các thí nghiệm đánh giá hiệu lực trừ nấm bệnh, tính đồng nhất của dung dịch chế phẩm, chế phẩm công thức 2 đã được sử dụng sản xuất chế phẩm. Chế phẩm mới được đặt tên là chế phẩm *Chaetomium* CP2-VMNPB.

3.3.3. Đánh giá hiệu lực phòng trừ nấm bệnh của chế phẩm *Chaetomium* CP2-VMNPB ở điều kiện nhà lưới

Cây chè con sử dụng làm thí nghiệm được trồng trong chậu, sau khi rễ cây ổn định, tiến hành lây bệnh, khi triệu chứng

bệnh xuất hiện thì tiến hành xử lý chế phẩm. Mục tiêu là ngoài việc đánh giá hiệu lực của chế phẩm, còn xác định liều lượng sử dụng chế phẩm hợp lý. Chế phẩm CP2-VMNPB hòa loãng với nước và phun cho cây theo các liều lượng: 0,5 ml chế phẩm/cây; 1ml chế phẩm/cây; 1,5 ml chế phẩm/cây; 2,0 ml chế phẩm/cây. Xử lý chế phẩm 2 lần cách nhau 1 tháng, sau đó quan sát diễn biến bệnh sau 3 tháng. Kết quả ghi nhận ở bảng sau.

Bảng 5. Hiệu lực của chế phẩm CP2-VMNPB đối với bệnh thối rễ chè ở điều kiện nhà lưới sau 3 tháng

Công thức	Chỉ số bệnh (%)	Hiệu lực trừ bệnh (%)
CT1 - 0,5 ml/cây	0,13 ^b	79,43 ^c
CT2 - 1,0 ml/cây	0,13 ^b	80,71 ^{bc}
CT3 - 1,5 ml/cây	0,12 ^{b^c}	82,34 ^{ab}
CT4 - 2,0 ml/cây	0,11 ^c	83,43 ^a
CT5 - Không xử lý	0,68 ^a	
CV (%)	5,04	1,28
LSD _{0,05}	0,015	1,96

Sau một thời gian xử lý chế phẩm CP2-VMNPB, quan sát thấy triệu chứng bệnh ở các cây chè thí nghiệm đều giảm. Ở các công thức xử lý liều lượng chế phẩm khác nhau thì chỉ số bệnh khác nhau và hiệu quả trừ bệnh cũng khác nhau. Kết quả thí nghiệm cho thấy xử lý với liều lượng 0,5 - 1,0 ml chế phẩm/chậu (cây) có chỉ số bệnh tương đương nhau và hiệu lực trừ bệnh cũng tương đương nhau (từ 79,43 - 80,71%); xử lý chế phẩm với liều lượng từ 1,5 - 2,0 ml/chậu thì hiệu quả trừ bệnh tương đương nhau và đạt kết quả cao nhất (từ 82,34% đến 83,43%).

Kết quả thí nghiệm cho thấy sử dụng liều lượng 2ml/cây, chế phẩm CP2-VMNPB

có hiệu lực trừ bệnh thối rễ chè rất tốt. Tuy nhiên do chế phẩm sử dụng vi sinh vật trừ bệnh nên hiệu quả kéo dài, có thể áp dụng liều lượng 1,5 ml/cây xử lý sớm khi cây xuất hiện những triệu chứng bệnh đầu tiên sẽ đạt cả về hiệu quả trừ bệnh và hiệu quả kinh tế từ tiết kiệm chế phẩm và năng suất cây trồng.

4. KẾT LUẬN

Xác định được 2 chủng nấm đối kháng *Chaetomium* khá phổ biến trong đất trồng chè và cà phê chè ở miền Bắc Việt Nam là *Chaetomium bostrychoides* CPT1 và *Chaetomium globosum* CFSL1.

Các chủng nấm *Chaetomium* mới xác định đều có hoạt tính đối kháng mạnh với nấm bệnh *Fusarium* spp. gây bệnh thối rễ cây chè. Hiệu quả ức chế sinh trưởng tàn nấm bệnh của chủng Cg-CFSL1 đạt 64,33%, của chủng Cb-CPT1 đạt 58,44%; hiệu quả ức chế sản sinh bào tử nấm bệnh của chủng Cg-CFSL1 đạt 93,8%, của chủng Cb-CPT1 đạt 90,08%.

Xác định được hai chủng nấm đối kháng Cg-CFSL1 và Cb-CPT1 không đối kháng nhau trong hỗn hợp chế phẩm.

Xác định được công thức tối ưu phối trộn chế phẩm *Chaetomium* CP2-VMNPB có tỷ lệ khối lượng các thành phần gồm dầu ăn thực vật 60%; nước sạch 39%; đường sacaroze + axit amin bột 1%, nồng độ bào tử nấm đối kháng 10⁶ cfu/ml.

Chế phẩm *Chaetomium* CP2-VMNPB có hiệu lực trừ bệnh thối rễ chè do nấm *Fusarium* spp. trong điều kiện nhà lưới khá cao, ở liều lượng 1,5 - 2 ml chế phẩm/cây hiệu lực trừ bệnh đạt 82,34% đến 83,43%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bhattacharjee J, Bhattacharjee D, Borkar SG (2015), Performance of fungal plant pathogens in the culture media in presence of host plant parts. In: The abstracts of National Seminar on Sustaining Hill Agriculture in Changing Climate held December, 04 - 07, 2015, Agartala, Tripura, pp 363
- Charoenporn C., Kanokmedhakul S., Lin F.C., Poaaim S., Soyong K. (2010), Evaluation of bio-agent formulations to control Fusarium wilt of tomato. African Journal of Biotechnology, 9: 5836 - 5844.
- Lê Thị Ánh Hồng (2005), *Nghiên cứu ứng dụng nấm Chaetomium trong sản xuất các chế phẩm vi sinh bảo vệ thực vật phòng chống các bệnh nấm hại*, Báo cáo tổng kết KHKT, Viện Di truyền nông nghiệp, Bộ Nông nghiệp và PTNT.
- Nguyễn Văn Hùng (1998), *Sâu, bệnh, cỏ dại hại chè*. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
- Kaewchai, S.1 and Soyong, K.2, "Application of biofungicides against *Rigidoporus microporus* causing white root disease of rubber trees". Journal of Agricultural Technology 2010. Vol.6(2): 349 - 363.
- Kasem Soyong and T.H. Quimio (1989), A taxonomic study on the philippine species of *Chaetomium*. The Phillippine Agriculturist 72, p. 59 - 72.
- Kasem Soyong, T.H. Quimio (1989), Antagonism of *Chaetomium globosum* to the rice blast pathogen, *Pyricularia oryzae*. Kasesat J. (Nat. Sci.) 23, p. 198 - 203.
- Kasem Soyong (1989), Antagonism of *Chaetomium cupreum* to *Pyricularia oryzae*: a case study to biocontrol of a rice blast disease. Thai Phytopathology 9: 28 - 33.
- Kasem Soyong (1992), *Antagonism of Chaetomium cupreum to Pyricularia oryzae*. Journal of Plant Protection in the Tropics. 9(31): 17 - 23.
- Kasem Soyong, s. Kanokmedhakul, v. Kukongviriyapa and M. Isobe (2001), Application of *Chaetomium* species (Ketomium®) as a new broad spectrum biological fungicide for plant disease control: A review article. Fungal Diversity 7: 1 - 15.
- Kasem Soyong (1995), *Chaetomium as a biocontrol agent against plant pathogens*. The XII International plant Congress. Hagne, Netherland, 2 - 7 july, 1995.
- Kasem Soyong (2007), Disease Management for Biological Agriculture. Faculty of Agricultural Technology, KMITL, BKK, Thailand.
- Kasem Soyong and Somdej Kanokmedhakul (2020), Application Of Chaetomium Species In Agriculture And Related Fields. Published by Min Service Supply Partnership, Bangkok, Thailand, 101p.
- Kwanjai Kanokmedhakul; Somdej Kanokmedhakul; Kasem Soyong (1993), Testing of Chaetomium and some plant extracts for controlling fusarium wilt of tomato (*Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*). Journal of Agricultural Research and Extension, 1993 v. 10(2) p. 5 - 10
- Lehmann-Danzinger H. (2000), Diseases and pests of tea: Overview and possibilities of integrated pest and disease management. Journal of Agriculture in the Tropics and Subtropics, 101: 13 - 38.
- Liyanage NHP, Jagathpriya Weerasena OVDS, Liyanaarachchi CJ, Wijesundera RLC, Abeysinghe SB, Reeder R (2013), *Recent emergence of Fusarium dieback of tea (Camellia sinensis) in Sri Lanka and its potential link with tea shot hole borer (Euwallacea fornicates)*. The 19th Australasian plant pathology conference. Auckland, New Zealand, p 80.
- Michael R. Zeiss, Koen den Braber K.D. (2001), Tea IPM Ecological Guide: A Trainer's Reference Guide on Crop Development, Ma-jor Agronomic Practices, and Disease and Insect Man-agement in Small-holders' Tea Cultivation in Northern Vietnam. CIDSE/Vietnam.
- Onsando JM, Wargo P, Wando SW (1997), Distribution, severity, and spread of Armillaria root disease in Kenya tea plantations. Plant Disease 81, 133 - 7.
- Phong, N. H., Pongnak, W. and Soyong, K. (2016), Antifungal activities of *Chaetomium* spp. against *Fusarium* wilt of tea. Plant Protection Science, 52 (1):10 - 17.

NGHIÊN CỨU ÁP DỤNG CÁC BIỆN PHÁP THỰC HÀNH NÔNG NGHIỆP THÔNG MINH NHẪM GIẢM THIỂU SÂU BỆNH HẠI VÀ THÍCH ỨNG VỚI BIẾN ĐỔI KHÍ HẬU TRONG SẢN XUẤT LÚA TẠI VIỆT NAM

Nguyễn Văn Tuất¹, Phạm Đức Hùng²

¹Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

²Hội Giống cây trồng Việt Nam

TÓM TẮT

Việt Nam là quốc gia áp dụng hiệu quả một số chương trình trong nông nghiệp như IPM, SRI, 3G3T, 1P5G,... Tuy nhiên việc kết hợp giữa các qui trình trồng trọt và kỹ thuật tưới nước và đánh giá tổng hợp theo hướng sản xuất nông nghiệp thông minh (CSA) còn ít được nghiên cứu, tổng hợp và đưa ra khuyến cáo thiết thực cho người sản xuất. Dự án VIAIP-WB 7 đã thực hiện các biện pháp CSA và hỗ trợ cho một số địa phương thiết kế, lập kế hoạch và thực hành các mô hình CSA trên cây lúa - là cây trồng cho lượng lớn phát thải khí nhà kính. Kết quả thực hiện CSA trên lúa tại 5 tỉnh cho thấy hiệu quả giảm chi phí vật tư đầu vào, áp dụng đồng bộ các biện pháp trồng trọt và thủy lợi đã cho năng suất, chất lượng lúa cao hơn so với sản xuất đại trà, giảm đáng kể phát thải khí nhà kính và có ý nghĩa lớn về sản xuất lúa hiệu quả trong bối cảnh biến đổi khí hậu.

Từ khóa: *lúa, nông nghiệp thông minh (CSA), biến đổi khí hậu, phát thải khí nhà kính.*

ABSTRACT

Research on applying climate smart agricultural practices to reduce pests and diseases and adapt to climate change in rice production in Vietnam

Vietnam is a country that effectively applies a number of programs in agriculture such as IPM, SRI, 3G3T, 1P5G, etc., However, the combination of farming processes and irrigation techniques and integrated assessment towards climate smart agricultural production (CSA) has little research, synthesis and practical recommendations for producers. The VIAIP-WB 7 project has implemented CSA measures and supported a

number of localities to design, plan and practice CSA models on rice that is one crop producing a large amounts of greenhouse gas emissions.

The results of CSA implementation on rice in 5 provinces showed that the efficiency of reducing input costs, applying synchronous cultivation and irrigation methods has resulted in higher yield and quality of rice compared to mass production, significantly reducing greenhouse gas emissions and of great significance for efficient rice production in the context of climate change.

Keywords: *Rice, climate smart agriculture (CSA), climate change, greenhouse gas emissions.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngành Nông nghiệp đang phải giải quyết đồng thời các thách thức có liên quan mật thiết với nhau: Đảm bảo an ninh lương thực (ANLT) và thu nhập cho người dân; Thích ứng và giảm nhẹ tác động của biến đổi khí hậu đối (BĐKH) với sản xuất nông nghiệp. Sự gia tăng dân số toàn cầu, theo ước tính của FAO, đến năm 2050, dân số thế giới sẽ tăng thêm 1/3 so với hiện tại tương đương khoảng 2 tỷ người và chủ yếu sống ở các nước đang phát triển. Tăng dân số sẽ tạo áp lực cho nông nghiệp trong việc sản xuất để đáp ứng nhu cầu về lương thực thực phẩm, dẫn đến tăng nhu cầu về sử dụng đất đai và các nguồn tài nguyên thiên nhiên để phục vụ cho sản xuất nông nghiệp. Do đó, ANLT vẫn là thách thức lớn trong bối cảnh BĐKH đã và đang diễn ra ngày càng khắc nghiệt hơn trong tương lai.

Tại Việt Nam, nông nghiệp đã và sẽ tiếp tục là một trụ cột chính của nền kinh tế. Nông nghiệp đóng góp 16,23% GDP, 18,2% giá trị xuất khẩu và tạo việc làm cho khoảng 41,9% lao động (Tổng cục Thống kê, 2017). Vì vậy, nông nghiệp

cần phải duy trì đà tăng trưởng để đảm bảo nhu cầu về lương thực và các nhu cầu khác về thực phẩm, năng lượng, thuốc chữa bệnh, nguyên nhiên liệu phục vụ nền kinh tế.

Nông nghiệp thông minh với BĐKH (CSA) được FAO (2013) xác định như một cách tiếp cận nhằm đảm bảo ANLT cho hơn 9 tỷ người trên toàn cầu vào 2050. Mục tiêu của CSA là đảm bảo tính sẵn có, đủ các chất dinh dưỡng của lương thực, thực phẩm trong khi giảm được tác động của BĐKH, cũng như đóng góp cho giảm phát thải KNK. Thực hành CSA nhằm đạt được 3 mục tiêu, gồm đảm bảo an ninh lương thực và dinh dưỡng; thích ứng bao gồm khả năng chống chịu và phục hồi với các điều kiện bất lợi của khí hậu, dịch hại và sâu bệnh, ổn định năng suất và giảm lượng phát thải KNK cũng như hấp thụ/tích tụ carbon. Dự án Cải thiện Nông nghiệp có tưới (VIAIP) do Ngân hàng Thế giới tài trợ nhằm mục tiêu chính là nâng cao tính bền vững của hệ thống sản xuất nông nghiệp có tưới tại một số tỉnh khu vực miền núi phía Bắc và khu vực Duyên hải miền Trung - là những địa phương chịu ảnh hưởng lớn do tác động cực đoan của BĐKH, thông

qua áp dụng các biện pháp thực hành nông nghiệp thông minh thích ứng với biến đổi khí hậu.

2. VẬT LIỆU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Thời gian và địa điểm nghiên cứu ứng dụng: Tại các mô hình CSA đại diện các tỉnh Phú Thọ, Thanh Hóa, Hà Tĩnh và Quảng Nam, từ vụ Đông Xuân 2018 - vụ Mùa 2019.

- Vật liệu: Các giống lúa trồng phổ biến và triển vọng ở các tỉnh nêu trên.

- Nội dung nghiên cứu: Thiết kế, xây dựng và đánh giá kết quả các mô hình canh tác lúa thông minh (CSA).

- Phương pháp nghiên cứu:

+ Lựa chọn các giống lúa đại diện cho từng mùa vụ tại từng điểm nghiên cứu, có thị trường tốt và thích nghi với điều kiện tự nhiên tại nơi thí nghiệm. Lựa chọn các điểm xây dựng mô hình theo các chỉ tiêu như tính đại diện, sự cam kết tham gia của người dân,... Thiết kế các mô hình và đối chứng theo hướng dẫn của dự án. Các yếu tố điều tra như chọn đại diện theo giống, thời vụ, địa hình (chân đất), giai đoạn sinh trưởng, phát triển của cây lúa và tập quán canh tác.

+ Thời gian điều tra (Theo quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về phương pháp điều tra và phát hiện dịch hại lúa QCVN 166-2014/BNNPTNT). Khu vực điều tra: Vùng trọng điểm lúa: Chọn khu vực trồng lúa có diện tích trên 20ha đại diện cho các yếu tố điều tra chính. Vùng không trọng điểm lúa: Chọn khu vực trồng lúa có diện tích trên 2 ha đại diện cho các yếu tố điều

tra chính. Điểm điều tra: Mỗi yếu tố điều tra 10 điểm tương đối ngẫu nhiên và đồng đều trên tuyến điều tra. Điểm điều tra phải cách bờ ít nhất 2 m.

- Các bước xây dựng mô hình CSA:
i) Tiến hành tham vấn, thiết kế mô hình, xây dựng kế hoạch thực hiện mô hình;
ii) Công khai mục tiêu, nội dung và mức độ đầu tư của dự án và trách nhiệm vốn đối ứng của nông dân tham gia đến các hộ nông dân và chính quyền sở tại;
iii) Cán bộ kỹ thuật tiến hành hướng dẫn kỹ thuật cho các hộ nông dân và cùng với họ lên kế hoạch triển khai và chăm sóc;
iv) Các hộ tham gia mô hình được nhận vật tư tương ứng theo định mức để thực hiện mô hình;
v) Cán bộ kỹ thuật thường xuyên đi thăm mô hình và hướng dẫn kỹ thuật cho người dân;
vi) Trên cơ sở kết quả thực hiện mô hình cùng với hộ nông dân, tiến hành đánh giá những ưu và khuyến điểm, cũng như kết quả đạt được của mô hình.

- Xử lý số liệu: Số liệu được tính toán và xử lý trong Excel.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THỰC HÀNH CSA

* *Tại tỉnh Phú Thọ:* Mô hình CSA về sản xuất lúa theo hướng cánh đồng mẫu lớn và đa dạng cây màu vụ Đông cho vùng đất vằn trũng tại xã Hương Nộn, huyện Tam Nông. Cơ cấu cây trồng tại khu ruộng chủ yếu là 2 vụ lúa/năm và khoảng 30 - 35% cơ cấu 3 vụ/năm (2 vụ lúa + cây vụ Đông), cây vụ Đông chủ yếu là ngô 80%, 20% bí xanh, bí đỏ. Cơ cấu giống lúa: Lúa lai chiếm 60 - 70% ở vụ Xuân và 40 - 50% ở vụ Mùa. Các giống lúa lai là Nhị ưu 838, TH3-3, Syn 6. Các giống lúa thuần là Thiên ưu 8,

RVT, TBR225, HT1, J02, Khang Dân đột biến. Giống ngô sử dụng cho vụ Đông là NK66, DK8868. Năng suất lúa trung bình vụ Xuân đạt 5,2 tấn/ha (lúa lai 5,4 tấn/ha, lúa thuần 5,0 tấn/ha); vụ Mùa đạt 5,0 tấn/ha (lúa lai 5,2 tấn/ha, lúa thuần 4,8 - 4,9 tấn/ha); năng suất ngô vụ Đông đạt 5,3 tấn/ha. Tỷ lệ áp dụng cơ giới hóa vào làm đất (cày, bừa) khoảng 80%, chủ yếu là sử dụng các loại máy, công cụ cỡ nhỏ.

Tưới nước: Phương pháp tưới tràn và chảy từ ruộng gần mương tưới đến ruộng kế tiếp được áp dụng tại khu ruộng mẫu và toàn bộ cánh đồng, lúa sau khi cấy được duy mực nước từ 3 - 5 cm ở một số giai đoạn sinh trưởng phát triển cây lúa, áp dụng kỹ thuật tưới ướt khô xen kẽ (AWD).

Kết quả: Số lần phun thuốc BVTV của mô hình là 2 lần, trong khi ngoài mô hình là 3 - 4 lần. Tiết kiệm lượng nước 15 - 20% so với đại trà. Hiệu quả sản xuất, lợi nhuận đều tăng từ 15 - 40% so với sản xuất thông thường.

*** Tại tỉnh Thanh Hóa:** Mô hình CSA về xây dựng cánh đồng lớn trong sản xuất lúa tại xã Yên Phong (huyện Yên Định) và xã Thiệu Công (huyện Thiệu Hóa). Áp dụng kỹ thuật thâm canh lúa cải tiến (SRI), gồm sử dụng giống có thời gian sinh trưởng thích hợp (< 120 ngày đối với vụ Mùa và < 135 ngày đối với vụ Xuân); sử dụng hạt giống lúa xác nhận; sử dụng phương thức gieo mạ khay, cấy máy với lượng giống 30 - 33 kg/ha đối với lúa lai; 40 - 45 kg/ha đối với lúa thuần. Bón phân hợp lý dựa trên đặc điểm giống, mùa vụ, tiềm năng năng suất của giống. Việc điều tiết lượng phân đạm theo bảng so màu lá, có căn cứ theo kết quả phân tích mẫu nông hóa. Sử dụng biện pháp quản lý dịch hại tổng hợp (IPM) để canh tác lúa. Tưới nước

tiết kiệm theo kỹ thuật tưới ướt khô xen kẽ. Ứng dụng cơ giới hóa trong các công đoạn làm đất, gieo cấy, thu hoạch. Xử lý gốc rạ sau thu hoạch bằng chế phẩm sinh học *Trichoderma* để làm phân bón hữu cơ.

- Đối với mô hình CSA lúa: Năng suất lúa vụ Xuân đạt 78 tạ/ha (tăng 5,4% so với sản xuất truyền thống), giá trị kinh tế tăng 36,8%; Năng suất lúa vụ Mùa đạt 62 tạ/ha (tăng 5,2% so với sản xuất truyền thống), giá trị kinh tế tăng 32,6%.

Kết quả: Nông dân áp dụng số lần phun chế phẩm sinh học 4 - 6 lần/vụ. Giảm 1 - 2 lần phun thuốc BVTV so với trước (5 - 8 lần/vụ). Năng suất tăng 5,2 - 5,4% so với sản xuất truyền thống; giá trị kinh tế tăng 32,6 - 36,8%.

*** Tại tỉnh Hà Tĩnh:** Xây dựng mô hình CSA lúa theo hướng cánh đồng mẫu tại 2 xã là Tượng Sơn (huyện Thạch Hà) và Kỳ Giang (huyện Kỳ Anh). Các quy trình áp dụng trên cây lúa áp dụng bao gồm:

- **Về giống:** Sử dụng các giống chất lượng cao (BT09, NA2, Thiên Ưu 8, RVT,...).

- **Đối với IPM:** Người nông dân nắm vững các biện pháp phòng trừ dịch hại tổng hợp và thực hành thành thạo trên đồng ruộng, bên cạnh đó có khả năng truyền đạt cho nhiều người khác kinh nghiệm phòng trừ dịch hại.

- **Đối với kỹ thuật bón phân, chăm sóc:** Người nông dân có trình độ thâm canh cao, đã chủ động sử dụng các nguồn phân chuồng sẵn có từ chăn nuôi trong hộ gia đình (phân trâu, bò, gà, lợn,... đã qua xử lý) để bón cho cây lúa. Lượng phân bón hóa học được bón đúng liều lượng, bón đúng thời gian, thời điểm

và theo từng thời kỳ sinh trưởng phát triển của cây lúa.

- *Biện pháp tưới trong mô hình:* Đã áp dụng biện pháp tưới khô xen kẽ và phương pháp SRI, kết quả cho thấy lượng nước tưới giảm nước hơn 30% so với canh tác truyền thống.

* **Tại tỉnh Quảng Trị:** Mô hình CSA về cánh đồng lớn sản xuất lúa chất lượng cao theo hướng hàng hóa và nâng cao hiệu quả trên đơn vị diện tích tại 6 xã thuộc 3 huyện Vĩnh Linh, Gio Linh và Cam Lộ. Các biện pháp thực hiện bao gồm:

- *Làm đất:* Sử dụng máy cày 5 - 7 chảo để cày vùi rơm rạ trước khi gieo trồng từ 15 - 30 ngày. Sử dụng máy để cày và bừa đất thật nhuyễn trước khi gieo trồng 3 - 5 ngày, cày sâu 10 - 12cm, kết hợp bón lót và vệ sinh đồng ruộng, hiệu quả cao. Đất nhuyễn bừa tạo điều kiện cho mầm lúa phát triển nhanh.

- *Gieo cấy:* Sử dụng máy kéo sạ hàng, hiệu quả cao, đỡ tốn công tỉa dặm.

- *Làm cỏ:* Hạn chế được cỏ gây hại.

- *Thu hoạch:* Sử dụng máy gặt đập liên hợp, thu hoạch nhanh, gọn, hạn chế thất thoát sau thu hoạch.

- *Xử lý phụ phẩm:* Sử dụng chế phẩm phân hủy gốc rạ, hiệu quả cao, gốc rạ phân hủy nhanh cung cấp phân bón trở lại cho đất.

Kết quả: Đã giảm 70% lượng phân bón so với tập quán. Giảm 1 - 2 lần phun thuốc BVTV so với đại trà là 2 - 3 lần. Sử dụng chế phẩm phân hủy gốc rạ hiệu quả cao. Gốc rạ phân hủy nhanh cung cấp phân bón trở lại cho đất. Áp dụng tưới tiết kiệm trên 100% diện tích mô hình.

* **Tại tỉnh Quảng Nam:** Mô hình CSA về cánh đồng lớn luân canh lúa - màu trên hệ thống canh tác đất lúa tại 3 địa điểm là xã Bình Chánh (huyện Thăng Bình), xã Quế Xuân 1 (huyện Quế Sơn và xã Đại Minh (huyện Đại Lộc). Các quy trình áp dụng trên cây lúa áp dụng bao gồm:

- *Kỹ thuật làm đất:* Đặc biệt quan tâm đào tạo kỹ thuật cày vùi rơm rạ trước khi gieo trồng.

- *Kỹ thuật ngâm ủ hạt giống.*

- *Phương thức sạ hàng:* Cách sử dụng công cụ sạ hàng thay cho phương thức sạ lan.

- *Làm cỏ, sục bùn bằng công cụ làm cỏ:* Mục tiêu để thay thế cho phương thức sử dụng thuốc trừ cỏ.

- *Kỹ thuật bón phân:* Sử dụng biện pháp quản lý dinh dưỡng tổng hợp (INM); sử dụng phân bón nhả chậm, lượng bón hợp lý và thời điểm bón phù hợp với yêu cầu sinh lý của cây lúa theo từng mùa vụ và vùng đặc trưng.

- *Kỹ thuật sử dụng chế phẩm Trichoderma để xử lý phế phụ phẩm làm phân bón hữu cơ vi sinh.*

- *Kỹ thuật tưới nước tiết kiệm cho lúa theo kỹ thuật tưới ướt khô xen kẽ.*

- *Kỹ thuật phòng trừ sâu, bệnh hại theo chương trình quản lý dịch hại tổng hợp (IPM).*

- *Tập huấn về vấn đề thu hoạch, làm khô, làm sạch và bảo quản.*

Kết quả: Năng suất trung bình trong mô hình trong vụ Đông Xuân đạt 64,5 tạ/ha, tăng 14,1%; vụ Hè Thu đạt 61,0 tạ/ha, tăng 13,4%. Năng suất trung bình các mô hình CSA cao hơn ruộng đại trà (đối chứng) từ 1,6 - 12,8 tạ/ha.

Lợi nhuận ở ruộng mô hình CSA cao hơn ruộng sản xuất đại trà từ 5,2 - 16,0 triệu đồng/ha, do giảm chi phí từ giống, phân bón và thuốc BVTV và giá bán sản phẩm cao hơn từ liên kết sản xuất giống. Lượng giống sạ 70 kg/ha (giảm so với ngoài mô hình 20 - 30 kg/ha). Giảm 15kg N/ha (\approx 32,6 kg urê/ha) so với ngoài mô hình. Giá lúa giống cao hơn 20% so với giá lúa ngoài thị trường (lúa thối). Thu nhập ruộng mô hình CSA cao hơn ruộng sản xuất đại trà từ 5,2 - 16,0 triệu đồng/ha, do giảm chi phí từ giống, phân bón và thuốc BVTV và giá bán sản phẩm cao hơn từ liên kết sản xuất giống.

*** Đánh giá về kết quả xây dựng mô hình CSA trên lúa:**

Từ kết quả triển khai các mô hình CSA trên cây lúa tại các tỉnh Quảng Nam, Quảng Trị, Hà Tĩnh, Thanh Hóa, Phú Thọ, thực hiện quy trình thâm canh cây lúa theo CSA đã mang lại hiệu quả so sánh với phương thức canh tác đại trà.

Về mặt kỹ thuật: Các nhân tố góp phần đem lại hiệu quả cho các mô hình gồm: Tiết kiệm nước tưới do giảm số lần tưới, giảm lượng nước tưới, giảm lượng giống sử dụng, giảm lượng phân bón, giảm thuốc BVTV. Trong số các mô hình sản xuất lúa thì áp dụng sản xuất lúa theo hướng cánh đồng lớn và chuyển đổi đất trồng lúa sang trồng rau màu cho hiệu quả kỹ thuật cao nhất về mức độ giảm lượng tưới nước, giảm lượng giống gieo, sử dụng phân bón nhà chậm, giảm số lần phun thuốc BVTV, sử dụng phân hữu cơ vi sinh và giảm lượng phát thải khí nhà kính từ 4,3 - 4,42 tấn CO₂-e/ha/năm. Đặc biệt, mô hình luân canh lúa với cây rau màu khác, hiệu quả BVTV cao nhất, trên cây màu số lần thuốc BVTV giảm từ 3 - 6 lần/vụ so với canh tác thông thường. Tóm tắt hiệu quả kỹ thuật và thu nhập tăng thêm của các hộ dân tham gia mô hình CSA lúa tại các mô hình xem bảng 1, 2.

Bảng 1. Hiệu quả kỹ thuật tại các mô hình

Loại mô hình CSA	Giảm số lần cấp nước (lần/vụ)	Giảm lượng hạt giống (kg/ha/vụ)	Giảm phân đạm (kg N/ha/vụ)	Giảm số lần phun thuốc BVTV (lần/vụ)	Giảm KNK/ha/năm (tấn CO ₂ -e)
Cánh đồng mẫu lớn canh tác lúa (TH, HT, QT)	1 - 2 lần; giảm 30% do áp dụng SRI (HT)	15 - 20	Sử dụng phân bón nhà chậm (PNC)	1 - 2 lần	4,42
Cánh đồng lớn canh tác hai vụ lúa và đa dạng hóa cây màu vụ Đông (PT, TH)	1 - 2 lần, tiết kiệm 15 - 20% lượng nước tưới so đại trà	Trên lúa giảm 15 - 20	Sử dụng PNC trong sản xuất lúa	1 - 2 lần	BQ (0,89) TH (1,26 - 1,46); PT(0,27)
Chuyển đổi đất trồng lúa sang trồng rau màu gắn với chế biến và xuất khẩu (TH)	Trên lúa giảm 1 - 2 lần	Trên lúa giảm 20 - 25 kg/ha	Sử dụng PNC trong sản xuất lúa	3 - 5; lúa giảm 1 - 2 lần; màu: giảm 3 - 6 lần	4,3
Chuyển đổi từ canh tác lúa 2 vụ sang canh tác 1 lúa - 1 màu (QN)	3 lần	Giảm lượng giống lúa sạ 20 - 30 kg/ha	Sử dụng PNC, giảm 15 kgN/ha	3 - 4 lần	1,83

Ghi chú: TH: Thanh Hóa; HT: Hà Tĩnh; QT: Quảng Trị; PT: Phú Thọ; QN: Quảng Nam.

Bảng 2. Tổng hợp thu nhập tăng thêm của các hộ dân tham gia mô hình

Loại mô hình	Số hộ tham gia mô hình	Diện tích đã gieo trồng (ha)	Diện tích đã gieo trồng Tr.bình mỗi hộ (ha)	Tỷ lệ tăng năng suất so đối chứng (%)	Tỷ lệ giảm chi phí so ĐC (%)	Giá trị thu nhập thuần trung bình/ha (triệu VND)	Tỷ lệ tăng thu nhập so ĐC (%)	Giá trị thu nhập tăng thêm/ha (triệu VND)	Giá trị thu nhập tăng thêm BQ mỗi hộ (triệu VND)
MH trồng lúa	2660	1881.3	0.71		10.92	27.26	26.30	6.36	4.50

4. KẾT LUẬN

Nông nghiệp thông minh (CSA) là cách tiếp cận mới dựa trên nguyên tắc tổng hợp các công nghệ, tiến bộ kỹ thuật mới hoặc chưa được người dân tiếp cận để lập kế hoạch và thực hành có sự tham gia của người dân, cơ quan chuyên môn và quản lý thông qua đào tạo tập huấn về CSA và thực hành trực tiếp trên ruộng mô hình, từ đó người dân tự nhân rộng vào sản xuất đại trà. CSA áp dụng đồng bộ các công nghệ, kỹ thuật như ICM, IPM kết hợp với kỹ thuật tưới nước tiết kiệm, hiệu quả; sản xuất theo chuỗi giá trị, khuyến khích áp dụng các tiến bộ kỹ thuật như sử dụng phân bón hiệu quả, phân hữu cơ vi sinh, thuốc bảo vệ thực vật sinh học, xử lý phụ phế phẩm sau thu hoạch nhằm nâng cao hiệu quả sản xuất lúa, giảm phát thải khí nhà kính và nâng cao nhận thức của người dân về biến đổi khí hậu.

Đề nghị triển khai nhân rộng mô hình CSA trên lúa ở các vùng dễ bị tổn thương

do BĐKH dễ thích ứng và giảm nhẹ biến đổi khí hậu, góp phần sản xuất nông nghiệp bền vững.

Lời cảm ơn: Tác giả xin chân thành cảm ơn Dự án VIAIP- WB7 đã cung cấp số liệu và thông tin về kết quả thực hành nông nghiệp thông minh trong sản xuất nông nghiệp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Báo cáo kết quả dự án VIAIP-WB7 năm 2020. Ban quản lý Trung ương Các dự án thủy lợi. Bộ Nông nghiệp và PTNT.
2. FAO. Báo cáo hàng niên 2013.
3. Khung xác định tiêu chí lựa chọn mô hình nông nghiệp thông minh thích ứng với biến đổi khí hậu (CSA). VIAP. 7/2015.
4. QCVN 166-2014/BNNPTNT.
5. Tổng cục Thống kê. Báo cáo hàng niên 2017.
6. Viện Môi trường Nông nghiệp (2019), Báo cáo tư vấn dịch vụ Đo đạc và Đánh giá phát thải khí nhà kính trong các mô hình CSA thuộc Dự án Cải thiện Nông nghiệp có tưới VIAIP-WB7.

HIỆU QUẢ GIẢM BỆNH BẠC LÁ LÚA (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) CỦA CÁC LOẠI DỊCH TRÍCH THỰC VẬT BẢN ĐỊA TẠI ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Trương Văn Xạ¹, Nguyễn Đắc Khoa^{2*}

¹Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Vĩnh Long

²Trường Đại học Cần Thơ

*Tác giả liên hệ: ndkhoa@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu tuyển chọn được các loại dịch trích thực vật bản địa phổ biến tại đồng bằng sông Cửu Long có khả năng phòng trừ bệnh bạc lá (cháy bìa lá) lúa do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây ra. Trong số 15 loại dịch trích thực vật được tuyển chọn do có chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học, 12 loại không ức chế sự nảy mầm và phát triển hạt lúa (trừ dịch trích lá cây chó đẻ, thuốc cú và thù lù cạnh), 11/12 loại này có khả năng ức chế trực tiếp mầm bệnh trên đĩa thạch (trừ dịch trích lá húng quế). Kết quả khảo sát hiệu quả giảm bệnh bạc lá trong điều kiện nhà lưới cho thấy 5 loại dịch trích gồm sổng đời 2%, cỏ cắt heo 2%, trầu không 2%, cà độc dược 2% và cỏ hôi 2% có hiệu quả tương đương với thuốc hóa học.

Từ khóa: bạc lá, cháy bìa lá, dịch trích thực vật, lúa, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*.

ABSTRACT

This study aims at screening for aqueous extracts of indigenous plants in the Mekong Delta of Vietnam capable of controlling rice bacterial leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Fifteen plants having bioactive compounds were selected to study. Twelve extracts, except those of *Phyllanthus niruri* L. (chó đẻ), *Artemisia vulgaris* L. (thuốc cú) and *Physalis angulata* L. (thù lù cạnh) did not show any adverse effects on the germination and development of rice seeds; among them, eleven extracts, except that of *Ocimum sanctum* (húng quế), showed their direct inhibitory effects on the pathogen. Five extracts including those of *Kalanchoe pinnata* (sổng đời) 2% w/v, *Ageratum conyzoides* (cỏ cắt heo) 2%, *Piper betle* L. (trầu không) 2%, *Datura metel* (cà độc dược) 2% and *Chromolaena odorata* (cỏ hôi) 2% showed similar disease-reducing effects compared to that of chemical control under greenhouse conditions.

Keywords: bacterial leaf blight, plant extract, rice, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*.

Người phân biện: TS. Đỗ Thị Xuân.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh bạc lá (cháy bìa lá) lúa do vi khuẩn Gram âm *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) gây ra (SwinGS. *et al.*, 1990). Vi khuẩn *Xoo* xâm nhiễm và phát triển trong mạch dẫn, làm nghẽn mạch dẫn làm cho cây mạ chết héo hoặc bạc lá ở giai đoạn lúa đẻ nhánh đến lúa trổ (Niño-Liu *et al.*, 2006). Bệnh được phát hiện và gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến sản xuất lúa gạo (Niño-Liu *et al.*, 2006; Singh, 2011; Verdier *et al.*, 2012) và có thể làm giảm năng suất từ 20 - 50% (Zhang *et al.*, 2004). Ở Việt Nam, bệnh đã gây thiệt hại lớn cho người nông dân (Dinh *et al.*, 2008). Ngoài thiệt hại năng suất, bệnh còn gây thiệt hại nghiêm trọng đến chất lượng lúa gạo.

Các biện pháp phòng trừ bệnh bạc lá lúa được các nhà khoa học tập trung nghiên cứu như sử dụng các loại thuốc hoá học (Khan *et al.*, 2012); nghiên cứu và sử dụng giống mang gen kháng (Zhang *et al.*, 2015); sử dụng vi sinh vật đối kháng (Chithrashree *et al.*, 2011; Suryadi *et al.*, 2013; Hop *et al.*, 2014; Khoa *et al.*, 2016). Một chiến lược khác để phòng trừ bệnh bạc lá lúa là kích thích tính kháng bệnh lưu dẫn (kích kháng). Kích kháng là phương pháp giúp cho cây bị nhiễm bệnh có khả năng kháng được bệnh ở một mức độ nào đó sau khi được xử lý bằng tác nhân kích kháng (Kloepper *et al.*, 1992); và là phương pháp quản lý bệnh hại trên cây trồng một cách bền vững và thân thiện với môi trường (Nguyễn Đắc Khoa, 2018). Tác nhân kích kháng không tác động trực tiếp lên mầm bệnh mà chúng tạo ra các tín hiệu giúp kích thích cơ chế tự vệ có sẵn trong cây,

trong đó có sự tăng tích lũy các hợp chất phenol, phytoalexin và protein liên quan đến quá trình phát sinh bệnh (PR-protein) nhằm ngăn chặn sự phát triển của mầm bệnh (van Loon *et al.*, 1998). Các tác nhân kích kháng mầm bệnh bạc lá lúa đã được báo cáo, gồm acilbenzolar-S-methyl và Salicylic acid (Mohan Babu *et al.*, 2003a; 2003b), vitamin B₁ (Ahn *et al.*, 2005); vi khuẩn vùng rễ kích thích sinh trưởng như các loài *Bacillus* spp. (Chithrashree *et al.*, 2011), *Pseudomonas fluorescens* (Lingaiah and Umesha, 2013); dịch trích Cà độc dược (*Datura metel*) (Kagale *et al.*, 2004), Cang mai (*Adhatoda vasica*) (Govindappa *et al.*, 2011), Cỏ hôi (*Chromolaena odorata*) (Khoa, 2010; Khoa *et al.*, 2011; Rodríguez-Algaba *et al.*, 2015), Ngũ trảo (*Vitex negundo*) (Nisha *et al.*, 2012), Sóng đời (*Kalanchoe pinnata*) (Khoa *et al.* 2017; Nguyễn Thị Thu Hương và ctv., 2018); Cỏ Cứt heo (*Ageratum conyzoides*) (Trương Văn Xạ và Nguyễn Đắc Khoa, 2020). Quản lý bệnh bạc lá lúa bằng việc sử dụng tác nhân kích kháng có nguồn gốc tự nhiên như dịch trích thực vật sẽ lợi thế hơn sử dụng hóa chất hay vi sinh vật như dễ phân hủy, không độc hại cho người và môi trường, dễ sử dụng và có thể tận dụng nguồn nguyên liệu tại chỗ nên giúp giảm chi phí sản xuất.

Nghiên cứu này được thực hiện từ năm 2020 - 2021 ở Trường Đại học Cần Thơ nhằm tuyển chọn các loại dịch trích thực vật bản địa phổ biến tại đồng bằng sông Cửu Long có khả năng phòng trừ bệnh bạc lá lúa do vi khuẩn *Xoo* gây ra; từ đó tìm ra được biện pháp sinh học để phòng trừ bệnh bạc lá có hiệu quả kinh tế và thân thiện với môi trường.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Vi khuẩn *Xoo* được Nhóm Nghiên cứu Bệnh cây thuộc Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ cung cấp. Vi khuẩn *Xoo* được nuôi trên môi trường Wakimoto cải tiến [0,5 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$; 1,82 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$; 5 g pepton; 20 g sucrose; 0,05 g $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$; 15 g agar; nước cất vừa đủ 1L; pH 7,0] (Karganilla *et al.*, 1973).

Giống lúa Jasmine 85 được xử lý trước khi gieo gồm các bước xử lý 3 sôi:2 lạnh (khoảng 50 - 54°C) trong 20 - 30 phút, ngâm hạt trong dịch trích 1 ngày (đổi chứng-ngâm nước) và ủ ấm trong 2 ngày trước khi sạ. Sạ 10 hạt/chậu (30 × 45 cm - chứa 7 kg đất phù sa đã được xử lý với vôi trước đó).

Phân hóa học bón cho lúa theo công thức 120 N - 40 P - 60 K (khuyến cáo của Trung tâm Khuyến nông Cần Thơ); cụ thể, lượng phân bón cho từng chậu gồm bón lót 2 ngày trước sạ với lượng 2,4g P (Super phosphate, Lam Thao Fertilizers and Chemicals JSC, Vietnam) và bón thúc vào 10, 20, 40 và 70 ngày sau sạ với lượng 0,5 g N (urea, Dam Phu My, Vietnam) và 0,12 g K (Potassium chloride, Vinacam JSC, Vietnam).

Đối chứng dương là thuốc hóa học Starner 20WP (Công ty Bảo vệ thực vật 1 Trung ương) có hoạt chất oxolinic acid 20%, kháng khuẩn phổ rộng, đặc biệt hiệu quả với bệnh bạc lá. Trong thí nghiệm nhà lưới, phun phòng bệnh ở thời điểm 5 ngày trước chủng bệnh và phun trị bệnh thời điểm 5, 10 và 15 ngày sau chủng

bệnh với lượng 7,5 mg trong 10 mL nước cho mỗi chậu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tuyển chọn các loại dịch trích thực vật

Các loại dịch trích thực vật được tuyển chọn cho nghiên cứu phải đáp ứng ba tiêu chí gồm: (1) cây cỏ phổ biến, dễ tìm và thường dùng làm thuốc dân gian; (2) loại thực vật được sử dụng thường là vật liệu cho các nghiên cứu phòng trị các mầm bệnh vi khuẩn hoặc nấm hại trên cây trồng và (3) dịch trích thực vật có chứa một số hoạt chất biến dưỡng thứ cấp có khả năng kích thích tính kháng của cây trồng như mô tả bởi Kúc (2006).

Nguyên liệu được chọn là những lá trưởng thành, không sâu bệnh; được thu vào lúc 9 - 11 giờ sáng tại khu vực đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL). Sau đó mẫu được rửa sạch và giã nhuyễn trong nước cất ở điều kiện nhiệt độ phòng để thu dịch trích. Nồng độ dịch trích thực vật được chuẩn bị theo phương pháp trọng lượng/thể tích (w/v) và sử dụng ngay sau đó.

2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của dịch trích đến khả năng nảy mầm và phát triển của hạt lúa

Thí nghiệm được thực hiện bằng phương pháp đặt hạt trên giấy Whatman ẩm (Singh và Rao, 1977), bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 3 lần lặp lại (100 hạt/lần) và 3 nhân tố gồm (1) 15 loại dịch trích; (2) 3 nồng độ (0,5%, 1% và 2%) và (3) 2 cách xử lý hạt với dịch trích (ngâm hạt 1 ngày và áo hạt 1 giờ). Nghiệm thức đối chứng âm là nước cất. Các chỉ tiêu được ghi

nhận gồm tỷ lệ nảy mầm, chiều dài rễ và chiều dài chồi mầm ở thời điểm 7 ngày sau đặt hạt.

2.2.3. Khảo sát khả năng ức chế sự phát triển *Xoo* của dịch trích thực vật

Thí nghiệm được thực hiện bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch (Harris *et al.*, 1989). Dịch trích thực vật (w/v) được lọc bằng đầu lọc Ø 0,2 µm trong điều kiện vô trùng. Trải đều 50 µl huyền phù vi khuẩn *Xoo* 10⁹ cfu/mL lên đĩa môi trường Wakimoto cải tiến. Sau đó, đục 4 giếng có đường kính 6mm, chuyển 20 µl dịch trích vào giếng 1, 2 và 3 với nồng độ dịch trích lần lượt là 0,5%, 1% và 2%; giếng 4 - đối chứng dương với 20 µl dung dịch CuSO₄ 1M để ức chế sự phát triển của vi khuẩn Gram âm (Khoa *et al.*, 2011; Khoa *et al.*, 2017), ủ đĩa ở nhiệt độ 30 ± 0,5°C. Sau 3 ngày quan sát vòng vô khuẩn tạo ra (nếu có) gây ra bởi sự ức chế trực tiếp mầm bệnh của các dịch trích thực vật.

2.2.4. Khảo sát khả năng làm giảm bệnh bạc lá của dịch trích trong điều kiện nhà lưới

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, 3 lần lặp lại, ở 3 nồng độ dịch trích là 0,5%, 1% và 2%. Mầm bệnh được chủng vào cây lúa theo Kauffman *et al.*, (1973). Chiều dài vết bệnh được ghi nhận ở 7, 14 và 21 ngày sau chủng bệnh (NSCB) (Khoa *et al.*, 2017; Trương Văn Xạ và Nguyễn Đắc Khoa, 2020); hiệu quả giảm bệnh được tính theo Nisha *et al.* (2012) và Khoa *et al.*, (2017). Huyền phù *Xoo* 10⁹ CFU/mL dùng để chủng bệnh nhân tạo được chuẩn bị bằng cách cho 2 loop vi khuẩn trên môi

trường Wakimoto cải tiến vào 10 mL nước cất thanh trùng, ước lượng OD₆₀₀ = 0,37 bằng máy đo quang phổ (GENESYS™ 10S UV-Vis Spectrophotometer). Chủng bệnh bằng cách dùng kéo thanh trùng nhúng vào huyền phù vi khuẩn, cắt 5 chóp lá trưởng thành với chiều dài từ đỉnh lá khoảng 2 - 3 cm của từng cây lúa ở giai đoạn 45 ngày sau sạ (Khoa *et al.*, 2017).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tuyển chọn các loại dịch trích thực vật và đánh giá ảnh hưởng đến khả năng nảy mầm

Mười lăm loại dịch trích thực vật bản địa được tuyển chọn dịch trích đều thỏa mãn 3 tiêu chí đã đặt ra được trình bày trong bảng 1. Trong đó, tiêu chí cây cỏ phổ biến và chứa hợp chất biến dưỡng thứ cấp có khả năng kích kháng luôn được chú trọng. Các dịch trích này đều có chứa các hoạt chất biến dưỡng thứ cấp có khả năng kích thích tính kháng bệnh của cây trồng như mô tả của Kúc (2006). Các loại thực vật này đều chứa các hợp chất phenolic và flavonoid, có vai trò quan trọng trong việc kích kháng của cây trồng. Bên cạnh đó các loại dịch trích thực vật này cũng là nguyên liệu để nghiên cứu kích thích tính kháng các loại bệnh hại do nấm, vi khuẩn, virus khác của cây trồng (Kúc. 2006). Bên cạnh đó, các loại dịch trích thực vật này đã được sử dụng làm vật liệu trong các nghiên cứu chống lại bệnh hại trên cây lúa (Kagale *et al.*, 2004; Khoa *et al.*, 2011; Pal *et al.*, 2011). Đồng thời, các dịch trích cây sống đời (Khoa *et al.*, 2017), cỏ cút heo (Trương Văn Xạ và Nguyễn Đắc Khoa, 2020) được sử dụng lại trong nghiên cứu này để kiểm chứng hiệu quả giảm bệnh bạc lá lúa.

Bảng 1. Mười năm loại cây cỏ bản địa được sử dụng làm nghiên liệu nghiên cứu

TT	Tên thực vật	Hoạt chất biến dưỡng	Nghiên cứu liên quan	Ảnh hưởng đến hạt nảy mầm
1	Cà độc dược (<i>Datura metel</i>)	Saponins, flavonoids, tannins	Kagale <i>et al.</i> (2004) Khoa <i>et al.</i> (2017) Trương Văn Xạ và Nguyễn Đắc Khoa (2020)	Không ảnh hưởng
2	Cây chó đẻ (<i>Phyllanthus niruri</i> L.)	Tannins, triterpenoids, alkaloids	Kagale <i>et al.</i> (2004)	Ức chế khả năng nảy mầm hạt lúa
3	Cỏ cút heo (<i>Ageratum conyzoides</i>)	Cadinen, caryphyllen, geratocromen, phenolic	Khoa <i>et al.</i> (2011) Khoa <i>et al.</i> (2017) Trương Văn Xạ và Nguyễn Đắc Khoa (2020)	Không ảnh hưởng
4	Cỏ hôi (<i>Chromolaena odorata</i>)	Alkaloid, tannin, flavanoid, saponin, steroid, anisic acid, phenolic	Khoa <i>et al.</i> (2011) Rodríguez-Algaba <i>et al.</i> (2015) Khoa <i>et al.</i> (2017) Trương Văn Xạ và Nguyễn Đắc Khoa (2020)	Không ảnh hưởng
5	Cỏ mực (<i>Eclipta prostrate</i>)	Saponin, flavonoid, tannin	Kagale <i>et al.</i> (2004) Khoa <i>et al.</i> (2011) Khoa <i>et al.</i> (2017) Trương Văn Xạ và Nguyễn Đắc Khoa (2020)	Không ảnh hưởng
6	Đậu biếc (<i>Clitoria ternatean</i>)	Anthocyanin, alkaloid, tanin		Không ảnh hưởng
7	Diếp cá (<i>Houttuynia cordata</i>)	Alkaloid, phenolic, flavonol, quercetin	Kagale <i>et al.</i> (2004) Khan <i>et al.</i> (2014)	Không ảnh hưởng
8	Húng quế (<i>Ocimum sanctum</i>)	Linalol, cineol, estragol methyl-chavicol	Pal <i>et al.</i> (2011) Khoa <i>et al.</i> (2017) Trương Văn Xạ và Nguyễn Đắc Khoa (2020)	Không ảnh hưởng
9	Lá lốt (<i>Piper sarmentosum</i>)	Alkaloid, caryophylen, benzylaxetat		Không ảnh hưởng
10	Sống đời (<i>Kalanchoe pinnata</i>)	flavionoid, phenolic	Khoa <i>et al.</i> (2011) Khoa <i>et al.</i> (2017) Trương Văn Xạ và Nguyễn Đắc Khoa (2020)	Không ảnh hưởng
11	Tàng dầy lá (<i>Plectranthus amboinicus</i>)	Carvacrol, cymene, caryophyllene		Không ảnh hưởng
12	Cây thuốc cú (<i>Artemisia vulgaris</i> L.)	Flavonoid, adenin, cholin	Pal <i>et al.</i> (2011) Khan <i>et al.</i> (2014)	Ức chế phát triển rễ và chồi mầm lúa
13	Thù lù cạnh (<i>Physalis angulata</i> L.)	Anthocyanin, alkaloid, physalin, physagulid, physagulid	Pal <i>et al.</i> (2011)	Ức chế phát triển chồi mầm lúa

TT	Tên thực vật	Hoạt chất biên dương	Nghiên cứu liên quan	Ảnh hưởng đến hạt nảy mầm
14	Tía tô (<i>Perilla frutescens</i> var. <i>crispa</i>)	Anthocyanin, perillaldehyde, limonene, linalool, caryophyllene, menthol, alpha-Pinene	Kagale <i>et al.</i> (2004)	Không ảnh hưởng
15	Trầu không (<i>Piper betle</i> L.)	Allylcatechol, chavibetol, cineol, estragol, methyl eugenol, p-cymen, caryophyllen, cadinen, tanin	Dương Thành Lộc và Nguyễn Chí Cường (2020)	Không ảnh hưởng

Kết quả thí nghiệm xác định được 12/15 loại dịch trích thực vật không ảnh hưởng đến khả năng nảy mầm, phát triển của chồi mầm và rễ mầm tại thời điểm khảo sát. Ảnh hưởng của ba loại dịch trích còn lại gồm cây chó đẻ, thuốc cú và thù lù

cạnh được trình bày trong bảng 2 và bảng 3. Trong đó, dịch trích lá cây chó đẻ ức chế sự nảy mầm của hạt, dịch trích lá thù lù cạnh ức chế sự phát triển của chồi mầm và dịch trích lá thuốc cú ức chế sự phát triển của cả rễ mầm và chồi mầm lúa.

Bảng 2. Ảnh hưởng của dịch trích thực vật bằng phương pháp áo hạt lên khả năng nảy mầm và phát triển của hạt lúa sau 7 ngày đặt hạt

Dịch trích thực vật		Thí nghiệm		
		Áo hạt		
		0,5%	1%	2%
Cây chó đẻ (<i>Phyllanthus niruri</i> L.)	Ger	82 ^d	86 ^{cd}	80 ^{de}
	MSL	37,4 ± 5,4 ^l	46,6 ± 4,8 ^{a-l}	47,1 ± 4,6 ^{a-l}
	MRL	53,8 ± 12,4 ^q	80,2 ± 9,9 ^{f-p}	83,4 ± 14,7 ^{d-p}
Cây thuốc cú (<i>Artemisia vulgaris</i> L.)	Ger	90 ^{bc}	96 ^a	93 ^{ab}
	MSL	48,5 ± 4,2 ^{a-l}	50,3 ± 4,2 ^{a-k}	47,3 ± 3,6 ^{a-l}
	MRL	81,7 ± 5,3 ^{a-k}	80,5 ± 6,4 ^{a-o}	78,0 ± 8,2 ^{e-p}
Thù lù cạnh (<i>Physalis angulata</i> L.)	Ger	91 ^b	89 ^c	90 ^{bc}
	MSL	41,3 ± 3,1 ^{kl}	44,8 ± 3,1 ^{d-l}	45,6 ± 3,7 ^{c-l}
	MRL	87,0 ± 5,6 ^{c-o}	88,4 ± 7,8 ^{b-o}	100,7 ± 10,8 ^{a-h}
Đối chứng	Ger		89 ^c	
	MSL		52,5 ± 3,3 ^{a-k}	
	MRL		83,1 ± 1,1 ^{d-p}	

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột theo sau bởi một hoặc những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) bằng phép thử Duncan. Ger: Germination (tỷ lệ nảy mầm), MSL: Mean shoot length (trung bình dài chồi mầm), MRL: Mean root length (trung bình dài rễ mầm).

Bảng 3. Ảnh hưởng của dịch trích thực vật bằng phương pháp ngâm hạt lên khả năng nảy mầm và phát triển của hạt lúa sau 7 ngày đặt hạt

Dịch trích thực vật		Nghiệm thức		
		Ngâm hạt		
		0,5%	1%	2%
Cây chó đẻ (<i>Phyllanthus niruri</i> L.)	Ger	83 ^d	88 ^c	75 ^e
	MSL	52,2 ± 5,6 ^{a-k}	57,7 ± 11,8 ^{abcd}	41,4 ± 14,6 ^{kl}
	MRL	95,3 ± 3,1 ^{a-l}	98,0 ± 16,9 ^{a-i}	69,1 ± 22,8 ^{nopq}
Cây thuốc cú (<i>Artemisia vulgaris</i> L.)	Ger	94 ^{ab}	90 ^{bc}	95 ^a
	MSL	50,6 ± 5,1 ^{a-h}	47,1 ± 7,3 ^{a-j}	45,1 ± 2,9 ^{a-g}
	MRL	81,6 ± 9,3 ^{e-p}	74,9 ± 2,0 ^{nopq}	75,1 ± 4,1 ^{a-o}
Thù lù cạnh (<i>Physalis angulata</i> L.)	Ger	88 ^c	90 ^{bc}	87 ^c
	MSL	56,5 ± 1,2 ^{a-e}	50,9 ± 4,4 ^{a-k}	49,1 ± 5,5 ^{a-l}
	MRL	92,2 ± 3,7 ^{a-n}	86,9 ± 9,5 ^{c-o}	83,8 ± 5,9 ^{d-p}
Đối chứng	Ger		89 ^c	
	MSL		52,5 ± 3,3 ^{a-k}	
	MRL		83,1 ± 1,1 ^{d-p}	

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột theo sau bởi một hoặc những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) bằng phép thử Duncan. Ger: Germination (tỷ lệ nảy mầm), MSL: Mean shoot length (trung bình dài chồi mầm), MRL: Mean root length (trung bình dài rễ mầm).

Mười hai loại dịch trích thực vật (cà độc dược, cỏ cứt heo, cỏ hôi, cỏ mực, đậu biếc, diếp cá, húng quế, lá lốt, tàng dây lá, sồng đò, tía tô và trầu không) không ảnh hưởng đến khả năng nảy mầm và phát triển hạt lúa được sử dụng làm nguyên liệu cho thí nghiệm khảo sát khả năng ức chế sự phát triển vi khuẩn *Xoo* trên đĩa thạch.

3.2. Khả năng ức chế sự phát triển *Xoo* của dịch trích thực vật

Kết quả khảo sát khả năng ức chế sự phát triển *Xoo* trên đĩa thạch của 12 loại dịch trích thực vật được trình bày trong bảng 4. Trong đó, 11 loại dịch trích thực vật có khả năng ức chế vi khuẩn ngoại trừ húng quế.

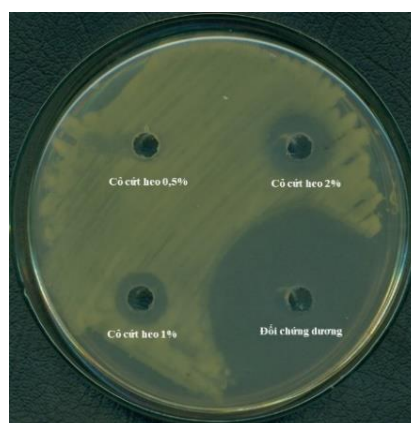
Bảng 4. Khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) của 12 loại dịch trích thực vật bản địa

Loại dịch trích	Nồng độ (w/v)		
	0,5%	1%	2%
Cà độc dược (<i>Datura metel</i>)	+	+	++
Cỏ cứt heo (<i>Ageratum conyzoides</i>)	-	+	++
Cỏ hôi (<i>Chromolaena odorata</i>)	-	+	+
Cỏ mực (<i>Eclipta prostrate</i>)	-	+	+
Đậu biếc (<i>Clitoria ternatean</i>)	+	+	++
Diếp cá (<i>Houttuynia cordata</i>)	-	-	+
Húng quế (<i>Ocimum sanctum</i>)	-	-	-
Lá lốt (<i>Piper sarmentosum</i>)	-	-	+
Tàng dây lá (<i>Plectranthus amboinicus</i>)	+	+	++
Sống đời (<i>Kalanchoe pinnata</i>)	+	++	++
Tía tô (<i>Perilla frutescens</i> var. <i>crispa</i>)	+	+	++
Trầu không (<i>Piper betle</i> L.)	+	++	++

Ghi chú: (-): Dịch trích không ức chế vi khuẩn Xoo; (+): Dịch trích có khả năng ức chế vi khuẩn Xoo (đường kính < 2cm); (++): Dịch trích có khả năng ức chế mạnh vi khuẩn Xoo (đường kính ≥ 2 cm).

Các loại dịch trích có khả năng ức chế mạnh sự phát triển vi khuẩn được ghi nhận gồm cà độc dược, cỏ cứt heo (hình 1), đậu biếc, tàng dây lá, sống đời, tía tô và trầu không. Trong nghiên cứu này cho thấy dịch trích cà độc dược, sống đời và trầu không có khả năng ức chế sự phát triển Xoo trong điều kiện in vitro, kết quả này tự tương như các nghiên cứu Kagale *et al.*, (2004); Khoa *et al.* (2017); Dương Thành Lộc và Nguyễn Chí Cường (2020). Ngoài ra, nghiên cứu này còn xác định được các loại dịch trích khác có khả năng ức chế mạnh sự phát triển Xoo gồm đậu biếc, tàng dây lá và tía tô. Theo Okwu và Josiah (2006), các loại thực vật có chứa các hợp chất phenolics, alkaloids và các chất chuyển hóa thứ cấp khác đều có khả năng ức chế sự phát triển vi khuẩn Gram

âm. Mười một loại dịch trích thực vật có khả năng ức chế sự phát triển vi khuẩn Xoo được sử dụng làm nguyên liệu cho thí nghiệm khảo sát khả năng giảm bệnh bạc lá lúa trong điều kiện nhà lưới.

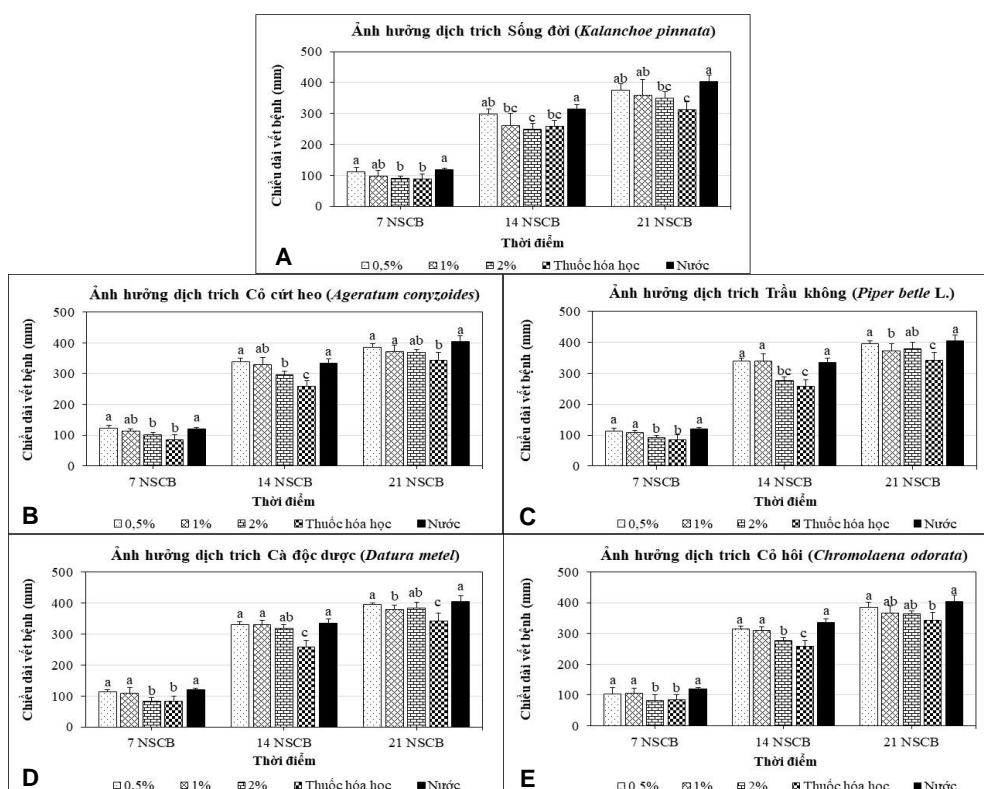


Hình 1. Khả năng ức chế sự phát triển Xoo của dịch trích nước lá cỏ cứt heo tại thời điểm 3 ngày sau khi thử nghiệm

3.3. Hiệu quả giảm bệnh bạc lá của dịch trích trong điều kiện nhà lưới

Hiệu quả giảm chiều dài vết bệnh khi xử lý với các loại dịch trích thực vật được đánh giá bằng cách so sánh chiều dài vết bệnh ở 7, 14 và 21 NSCB giữa những nghiệm thức có xử lý dịch trích so với xử lý nước cất (đối chứng âm) và thuốc hóa học (đối chứng dương). Kết quả, trung

bình chiều dài vết bệnh của các nghiệm thức ngâm hạt bằng các loại dịch trích lá sống đời, cỏ cút heo, cà độc dược, trà không và cỏ hôi tương đương đối chứng dương (hình 2). Còn lại các nghiệm thức ngâm hạt bằng dịch trích đậu biếc, cỏ mực, tía tô, diếp cá, lá lốt, tàng dày lá không cho hiệu quả giảm bệnh khi so sánh với đối chứng âm.



Hình 2. Trung bình chiều dài vết bệnh bạc lá (mm) khi được ngâm hạt bằng các loại dịch trích thực vật trong điều kiện nhà lưới

Ghi chú: Các cột trong cùng một thời điểm theo sau bởi một hoặc những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) bằng phép thử Duncan. NSCB: Ngày sau chúng bệnh.

Kết quả nghiên cứu đã xác định nghiệm thức ngâm hạt bằng dịch trích sống đời 2% cho hiệu quả giảm chiều dài vết bệnh duy trì đến 21 NSCB tương đương với thuốc hóa học (hình 2A) và tương đồng với kết quả của nghiên cứu của Khoa *et al.* (2017). Đối với nghiệm

thức ngâm hạt dịch trích cỏ cút heo 2% và trà không 2% cho hiệu quả giảm chiều dài vết bệnh duy trì đến 14 NSCB tương đương với nghiệm thức đối chứng dương (hình 2B, 2C). Trong khi đó, dịch trích cà độc dược 2% và cỏ hôi 2% duy trì hiệu quả giảm bệnh đến 7 NSCB (hình

2D, 2E). Thí nghiệm ngâm hạt bằng dịch trích thực vật được tiến hành cách khá xa thời điểm chủng bệnh nhân tạo (45 ngày), nhưng vẫn giúp giảm chiều dài vết bệnh (gồm dịch trích sống đời, cỏ cút heo, trầu không, cà độc dược và cỏ hôi), vì thế rất có thể khả năng làm giảm bệnh của dịch trích có liên quan nhiều đến cơ chế kích kháng. Khi cây được xử lý bằng tác nhân kích kháng, cây sẽ được tăng một số biểu hiện phòng vệ vật lý, tăng nồng độ sản phẩm trao đổi chất thứ cấp, tăng biểu hiện các PR-protein, tăng tích tụ phenols và phản ứng siêu nhạy cảm (van Loon và van Strien, 1999). Trong đó, PR-protein là kết quả của quá trình phản ứng tự vệ của cây, chúng giúp hạn chế sự xâm nhiễm và lây lan của mầm bệnh (Conrath *et al.*, 2002), đồng thời chúng cũng là một trong những cơ sở để xác định khả năng tự vệ của cây (Sticher *et al.*, 1997). Sự tăng hoạt tính các enzyme là một trong những biểu hiện rõ nhất chứng tỏ tính kháng bệnh trên cây trồng đã được kích hoạt (Garcion *et al.*, 2014). Tuy nhiên, trong tự nhiên quá trình kích hoạt phản ứng tự vệ của cây thường không đủ mạnh hoặc quá chậm so với sự tấn công của mầm bệnh (Khoa, 2010). Vì vậy, cần phải có một tác nhân kích thích cây kích hoạt quá trình đó được nhanh và mạnh hơn để ngăn chặn xâm nhiễm và lây lan của mầm bệnh hiệu quả hơn.

IV. KẾT LUẬN

Nguyên cứu đã tuyển chọn được 12/15 loại dịch trích thực vật không ức chế sự nảy mầm và phát triển hạt lúa (trừ dịch trích lá cây chó đẻ, thuốc cú và thù lù cạnh), 11/12 loại này có khả năng ức chế trực tiếp mầm bệnh trên đĩa thạch (trừ

dịch trích lá húng quế). Trong đó, 5 loại dịch trích có hiệu quả giảm bệnh bạc lá trong điều kiện nhà lưới gồm sống đời 2%, cỏ cút heo 2%, trầu không 2%, cà độc dược 2% và cỏ hôi 2% có hiệu quả tương đương với thuốc hóa học. Trong đó, dịch trích sống đời, cỏ cút heo và cỏ hôi có khả năng áp dụng rộng rãi hơn cà độc dược và trầu không. Bởi vì, trầu không là loại dược liệu bản địa nhưng cần phải trồng và tốn chi phí để chăm sóc; còn đối với cà độc dược nếu sử dụng liều lượng lớn có nguy cơ gây độc cho người. Trong khi đó, cỏ hôi, cỏ cút heo và sống đời là loại thực vật hoang dại khá phổ biến.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ahn, I.P., S. Kim and Y.H. Lee (2005), Vitamin B₁ functions as an activator of plant disease resistance. *Plant Physiology*, 138: 1505 - 1515.
2. Chithrashree, U.S., A.C. Udayashankar, S. ChandraNayaka, M.S. Reddy and C. Srinivas (2011), Plant growth-promoting rhizobacteria mediate induced systemic resistance in rice against bacterial leaf blight by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Biological Control*, 59: 114 - 122.
3. Conrath, U., M.C. Pieterse and B. Mauch-Mani (2002), Priming in plant-pathogen interactions. *Trends Plant Science*, 5: 210 - 216.
4. Dinh, H.D, N.K. Oanh, N.D. Toan, P.V. Du and L.C. Loan (2008), Pathotype profile of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolated from the rice ecosystem in Cuu long river delta, 16: 34 - 40.
5. Dương Thành Lộc và Nguyễn Chí Cương (2020), Hoạt tính sinh học của cao chiết thực vật đối với bệnh bạc lá lúa *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* trong điều kiện nhà lưới. Kỷ yếu Hội nghị Nông nghiệp bền vững thích ứng biến đổi khí hậu 2020.
6. Garcion, C., O. Lamotte, J.L. Cacas and J.P. Métraux (2014), Mechanisms of defence to pathogens: biochemistry and physiology. In: D.R. Walters, A.C. Newton and G.D. Lyon.

- eds, 2014. Induced Resistance for Plant Defense: A Sustainable Approach to Crop Protection. 2nd ed. Chichester: John Wiley and Sons, 106 - 136.
7. Govindappa, M., S. Umesha and S. Lokesh (2011), Adathoda vasica leaf extract induces resistance in rice against bacterial leaf blight disease *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Internationnal Journal of Plant Physiology and Biochemistry, 3(1): 6 - 14.
 8. Harris, R.J., D.M.E. Stiles and T.R. Klaenhammer (1989), Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes*. Journal of Food Protection, 52: 384 - 387.
 9. Hop, D.V, P.T. Phuong Hoa, N.D. Quang, P.H. Ton, T.H.Ha, N. Van Hung, N.T. Van, T. Van Hai, N.T. Kim Quy, N.T. Anh Dao and V. Thi Thom (2014), Biological control of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* causing rice bacterial blight disease by *Streptomyces toxytricini* VN08 - A-12, isolated from soil and leaf-litter samples in Vietnam. Biocontrol science, 19(3):103 - 111.
 10. Kagale, S., T. Marimuthu, B. Thayumanavan, R. Nandakumar and R. Samiyappan (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: 91 - 100.
 11. Karganilla, A.D., M. Paris-Natural and S.H. Ou (1973), A comparative study of culture media for *Xanthomonas oryzae*. The Philipp. Agric, 57: 141 - 152.
 12. Kauffman, H.E., P.K. Reddy, S.P.Y. Hiesh and S.D. Merca (1973), Animproved technique for evaluating resistance of rice varieties to *Xanthomonas oryzae*. Plant Disease Report, 57: 537 - 541.
 13. Khan, J.A., R. Siddiq, H.M.A. Arshad, H.S. Anwar, K. Saleem and F.F. Jamil (2012), Chemical control of bacterial leaf blight of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Pakitsan Journal of Phytopathology, 24:97 - 100.
 14. Khoa N.Đ, T.V. Xa, L.T. Hào (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.
 15. Khoa, N. D. (2010), Control of sheath blight and other rice diseases by induced resistance using an extract of the plant *Chromolaena odorata*. PhD thesis. Faculty of Life Sciences, University of Copenhagen, Denmark, 100 pages.
 16. Khoa, N.D, T.Q.Tuan, N.D.N. Giao (2016), Effects of Serratia nematodiphila CT-78 on rice bacterial leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Biological Control, 103: 1 - 10.
 17. Khoa, N.D., P.T.H. Thuy, T.T. Thuy, D.B. Collinge and H.J.L. Jørgensen (2011), Disease-reducing effect of *Chromolaena odorata* extract on sheath blight and other rice diseases. Phytopathology, 101(2): 231 - 240.
 18. Kloepper, J.W, S. Tuzun and J.A. Kuć (1992), Propose definitions relates to induced disease resistance. Biocontrol Science and Technology. 2: 349 - 351.
 19. Kuć, J. (2006), Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. European Journal of Plant Pathology, 107: 7 - 12.
 20. Lingaiah, S. and S. Umesha (2013), *Pseudomonas fluorescens* inhibits the *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, the bacterial leaf blight pathogen in rice. Canadian Journal of Plant Protection, 1: 147 - 153.
 21. Mohan Babu, R., A. Sajeena, A. Vijaya Samundeeswari, A. Sreedhar, P. Vidhyasekeran and M.S. Reddy (2003a), Induction of bacterial blight (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) resistance in rice by treatment with acibenzolar-S-methyl. Annals of Applied Biology, 143: 333 - 340.
 22. Mohan Babu, R., A. Sajeena, A. Vijaya Samundeeswari, A. Sreedhar, P. Vidhyasekeran, K. Seetharaman and M.S. Reddy (2003b), Induction of systemic resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* by salicylic acid in *Oryza sativa* (L.). Journal of Plant Diseases and Protection, 110: 419 - 431.
 23. Nguyễn Đắc Khoa (2018), Bệnh bạc lá lúa. Sách Bệnh hại cây trồng Việt Nam. Chủ biên: Vũ Triệu Mân, Nguyễn Văn Tuất, Bùi Cách Tuyền và Phạm Văn Kim. Nhà xuất bản Học viện Nông nghiệp, Việt Nam. 643 trang (112 - 119).

24. 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 Trường Đại học Cần Thơ, 54: 13 - 21.
25. Niño-Liu, D.O., P.C. Ronald and A.J. Bogdanove (2006), *Xanthomonas oryzae* pathovars: model pathogen of a model crop. Molecular plant pathology, 7(5): 303 - 324.
26. Nisha, S., K. Revathi, R. Chandrasekaran, S.A. Kirubakaran, S. Sathish-Narayanan, M.J. Stout and S. Senthil-Nathan (2012), Effect of plant compounds on induced activities of defense-related enzymes and pathogenesis related protein in bacterial blight disease susceptible rice plant. Physiological and Molecular Plant Pathology, 80: 1 - 9.
27. Okwu, D.E. and C. Josiah (2006), Evaluation of the chemical composition of two Nigerian medicinal plants. African Journal of Biotechnology, 5: 357 - 361.
28. Pal, T.K., S. Bhattacharya and K. Chakraborty (2011), Induction of Systemic Resistance in Rice by Leaf Extract of *Cymbopogon citratus* and *Ocimum sanctum* against Sheath Blight Disease. Archives of Applied Science Research, 3(1): 392 - 400.
29. Rodríguez-Algaba, R., J.C. Sørensen, H. Sørensen, N.Đ. Khoa, D.B. Collinge and H.J.L. Jørgensen (2015), Activity-guided separation of *Chromolaena odorata* leaf extract reveals fractions with rice disease-reducing properties. European Journal of Plant Pathology, 143: 331 - 341.
30. Singh, R.A and M.H.S. Rao (1977), A simple technique for detecting *Xanthomonas oryzae* in rice seeds. Seed Science and Technology, 5: 123 - 127.
31. Singh, U.D., R.Gogoi and K.K. Mondal (2011), Molecular approach for augmenting disease resistance in cereals: rice and maize. In: Plant pathology in India: vision 2030. New Delhi, India: Indian Phytopathological Society; pages. 21 - 30. 294 pages.
32. Sticher, L., B. Mauch-Mani and J.P. Métraux (1997), Systemic acquired resistance. Annual Review of Phytopathology, 35: 235 - 270.
33. Suryadi, Y., D.N. Susilowati, T.P. Priyatno, I.M. Samudra, T.S. Kadir and N.R. Mubarik (2013), Prospect of Using Bacterial Bioformulation to Suppress Bacterial Leaf Blight of Rice: A Case Study in Cianjur, West Java. Penelitian Pertanian Tanaman Pangan, 32: 83 - 90.
34. Swings, J, M. van Denmooter, L. Vauterin, B. Hoste, M. Gillis, T.W. Mew and K. Kersters (1990), Reclassification of the Causal Agents of Bacterial Blight (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) and Bacterial Leaf Streak (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola*) of Rice as Pathovars of *Xanthomonas oryzae* (ex Ishiyama 1922) sp.nov., nom.rev. International Journal of Systematic Bacteriology, 40: 309 - 311.
35. Trương Văn Xạ và Nguyễn Đắc Khoa (2020), Tuyển chọn dịch trích thực vật có khả năng giúp giảm bệnh bạc lá lúa (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*). Hội thảo Quốc gia Bệnh hại Thực vật Việt Nam lần thứ 19, ngày 23 - 25/10/2020. Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Hà Nội. Việt Nam.
36. van Loon, L.C, P.A. Bakker and C.M. Peiterse (1998), Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. Annual Review of Phytopathology, 36: 453 - 483.
37. van Loon, L.C. and E.A. van Strien (1999), The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. Physiological and Molecular Plant Pathology, 55(2): 85 - 97.
38. Verdier, V, C. Vera Cruz, J.E. Leach (2012), Controlling rice bacterial blight in Africa: Needs and prospects. Journal of Biotechnology, 159(4): 320 - 328.
39. Zhang, F., D.L. Zhuo, F. Zhang, L.Y. Huang, W.S. Wang, J.L. Xu, C. Vera Cruz, Z.K. Li and Y.L. Zhou (2015), *Xa39*, a novel dominant gene conferring broad-spectrum resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice. Plant Pathology, 64: 568 - 575.

KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG NẤM GÂY BỆNH CÂY TRỒNG CỦA CÁC HỆ VI SINH VẬT BẢN ĐỊA TỪ CÁC HỆ THỐNG CANH TÁC CÂY TRỒNG KHÁC NHAU Ở SÓC TRĂNG

Lê Thị Xã¹, Nguyễn Khởi Nghĩa^{2*}

¹Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ sinh học,
Trường Đại học Cần Thơ

²Bộ môn Khoa học Đất, Khoa Nông nghiệp,
Trường Đại học Cần Thơ

* Tác giả liên hệ: nknghia@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm khảo sát khả năng đối kháng sinh học của các hệ vi sinh vật bản địa (IMO) thu thập từ các hệ thống canh tác cây trồng khác nhau trong tỉnh Sóc Trăng đối với nấm gây bệnh thực vật *Fusarium oxysporum* và *Rhizoctonia solani*. Hoạt động đối kháng của 15 IMO thu thập được nghiên cứu trong điều kiện phòng thí nghiệm với ba kiểu thí nghiệm là IMO và nấm bệnh được chủng trên môi trường thạch PDA cùng lúc, IMO được chủng trước và sau khi chủng nấm bệnh. Kết quả cho thấy tất cả các IMO khảo sát đều có khả năng đối kháng cao với 2 loại nấm bệnh với các mức độ khác nhau và IMO được chủng trước nấm bệnh cho hiệu quả cao nhất. Đặc biệt, các IMO được thu thập từ đất trồng tre, bưởi và ổi cho hiệu quả đối kháng tốt nhất. Khả năng đối kháng nấm gây bệnh thực vật của các IMO có thể khai thác để bảo vệ cây trồng.

Từ khóa: đối kháng sinh học, nấm gây bệnh thực vật, *Fusarium oxysporum*, hệ vi sinh vật bản địa, *Rhizoctonia solani*.

ABSTRACT

The aim of this study was to assess antagonistic capacity of various indigenous microorganisms (IMO) collected from different cropping systems within Soc Trang province against plant pathogenic fungus including *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani*. Bio-control activity of fifteen collected IMOs was investigated under the laboratory conditions with three different scenarios. IMO and pathogenic fungus were incubated at the same time and IMO was incubated before and after inoculation of fungus. The results illustrated that all surveyed IMOs were found highly potential in

fungus inhibition with different extents and IMO which were introduced before the inoculation of pathogenic fungi showed their highest efficiency. Particularly, three IMOs which were collected from bamboo, grapefruit and guava farms showed their highest antagonistic efficacy. The antagonistic functions of IMOs could be exploited for plant protection from plant-pathogenic fungus.

Keywords: *antagonism, fungal plant pathogens, Fusarium oxysporum, indigenous microorganism, Rhizoctonia solani.*

1. GIỚI THIỆU

Hiện nay, phương thức canh tác nông nghiệp bền vững, thân thiện với môi trường sinh thái và thích ứng với biến đổi khí hậu được quan tâm và ưu tiên hàng đầu. Trong nông nghiệp bền vững, áp dụng vi sinh vật kích thích sinh trưởng cây trồng (Plant Growth Promotion Microorganisms - PGPM) đặc biệt là các vi sinh vật có nguồn gốc bản địa được khuyến khích sử dụng để đạt được những lợi ích tối đa (Reddy, 2011). Cho Han Kyu, người Hàn Quốc là người đầu tiên đưa ra khái niệm vi sinh vật bản địa (indigenous microorganisms - IMO) bao gồm tập hợp những vi sinh vật thu được bằng phương pháp bẫy các vi sinh vật trong đất bằng cách sử dụng gạo nấu chín làm nguồn dinh dưỡng dẫn dụ trong đó bao gồm có nấm, vi khuẩn, xạ khuẩn,... (Kyu and Koyama, 1997; Reddy, 2011). IMO có tiềm năng trong việc làm phân bón sinh học, ủ phân compost sinh học, phân hủy sinh học, hoà tan lân, cố định đạm, tổng hợp hormone thực vật và đối kháng sinh

học (Kumar and Gopal, 2015). Trước đó, Chiemela *et al.* (2013) chỉ ra rằng ứng dụng IMO trong nông nghiệp là phương pháp thân thiện với môi trường và giúp tăng cường phân hủy chất hữu cơ, dinh dưỡng cho cây, tăng độ phì của đất, năng suất cây trồng và khả năng kháng bệnh của cây. Gần đây, tại Hawaii, một nghiên cứu đã được thực hiện để nghiên cứu chức năng kiểm soát sinh học cũng như cơ chế của IMO đối với một bệnh cây rất nặng do *Ceratocystis* sp. trên cây Ohia khi nhiều cây Ohia bị chết đột ngột. Do được điều trị bằng IMO, sức khỏe của các cây Ohia đã nhanh chóng phục hồi (Board of Land and Natural Resources State of Hawaii, 2018). Nhìn chung, IMO mang lại nhiều lợi ích cho cây trồng đã được ứng dụng rộng rãi trong nông nghiệp. Thêm vào đó, tại Sóc Trăng có hệ thống canh tác cây trồng đa dạng và đặc trưng với các loại cây trồng như lúa, mía, hành tím, dưa hấu, cam, bưởi, ổi, rau màu... và nấm *Fusarium oxysporum* và *Rhizoctonia solani* là các loại nấm bệnh phổ biến gây ra dịch bệnh cho cây trồng làm

thiệt hại kinh tế cho nông dân của tỉnh. Tuy vậy, những nghiên cứu khoa học, ứng dụng của IMO trong kiểm soát sinh học vẫn còn thiếu và cần được làm sáng tỏ. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục tiêu khảo sát khả năng đối kháng sinh học của các hệ vi sinh vật bản địa (IMO) thu thập từ các hệ thống canh tác cây trồng khác nhau trong tỉnh Sóc Trăng đối với nấm gây bệnh thực vật *Fusarium oxysporum* và *Rhizoctonia solani*.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguồn nấm gây hại cây trồng

Nấm gây bệnh thực vật được sử dụng trong nghiên cứu này là *Fusarium oxysporum* và *Rhizoctonia solani*. Nấm *F. oxysporum* gây ra bệnh héo rũ trên cây mè và nấm *R. solani* gây ra bệnh thối rễ trên nhiều loại cây trồng. Nguồn nấm này được cung cấp bởi phòng thí nghiệm Bệnh thực vật, Bộ môn Bảo vệ thực vật, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ.

2.2. Thu thập các hệ vi sinh vật bản địa (IMO) từ các đất canh tác các cây trồng khác nhau ở tỉnh Sóc Trăng

IMO được thu thập theo phương pháp của Kyu and Koyama (1997). Tóm tắt quy trình thu như sau: Gạo nấu chín để nguội, cân 1,0 kg cho vào rổ nhựa vuông (25 × 15 × 8 cm). Dùng

vải mùng và dây buộc để bao xung quanh rổ chứa cơm. Sử dụng giá đào hố đất với chiều sâu 20 - 30 cm, chiều dài và chiều rộng tương ứng với kích thước của rổ. Đặt rổ vào trong hố đất, phủ lên trên rổ cơm bằng xác lá cây và đất hiện diện tại vị trí đặt mẫu. Sau 3 ngày ủ, vi sinh vật phát triển khắp bề mặt cơm, tiến hành thu rổ cơm có chứa vi sinh vật cho vào bình thủy tinh có nắp đậy. Nguồn vi sinh vật này chính là IMO₁. Tiến hành trộn đều đường mía (đã đun sôi để nguội) với IMO₁ theo tỷ lệ 1:1 (w/w) cho đến khi hỗn hợp chuyển thành dạng sánh đặc và đồng nhất. Đậy bằng giấy/vải và để yên ở nơi thoáng mát, trong 1 tuần nhằm giúp lên men nhân sinh khối vi sinh vật chứa trong mẫu cơm vừa thu thập. Mẫu chứa vi sinh vật sau khi lên men 1 tuần gọi là IMO₂.

2.3. Đánh giá khả năng đối kháng với nấm gây bệnh thực vật *Fusarium oxysporum* và *Rhizoctonia solani* của các hệ IMO₂ thu thập

Cân 10 g của mỗi IMO₂ cho vào chai thủy tinh 250 mL có chứa 90 mL nước cất đã khử trùng, sau đó đặt trên máy lắc ngang với tốc độ 90 vòng/phút trong 60 phút, để yên trong 10 phút. Dung dịch IMO này được sử dụng như một nguồn vi sinh vật cho các thí nghiệm đối kháng.

Đối với nấm *F. oxysporum*, hoạt động đối kháng sinh học của 15 hệ

IMO được thu thập được khảo sát trên môi trường PDA với ba kiểu bố trí thí nghiệm khác nhau: (1) IMO và *F. oxysporum* được bố trí cùng lúc trên môi trường PDA và với khoảng cách giữa 2 đối tượng là 4 cm, (2) IMO được chủng trước 2 ngày so với *F. oxysporum* và (3) IMO được chủng sau 2 ngày sau so với *F. oxysporum*. Do sự sinh trưởng của nấm *R. solani* rất nhanh chỉ sau 2 ngày ủ, sợi nấm của *R. solani* đã phát triển hoàn toàn trên đĩa môi trường PDA. Do đó, đối với *R. solani* chỉ có hai kiểu bố trí thí nghiệm được áp dụng: (1) IMO và *R. solani* được bố trí cùng lúc trên thạch PDA và với khoảng cách 4 cm giữa chúng và (2) IMO được chủng 2 ngày trước khi *R. solani* được chủng.

Hoạt động đối kháng của IMO chống lại nấm *F. oxysporum* và *R. solani* được đánh giá bằng kỹ thuật cấy đối xứng hai bên (Vincent, 1947). Chuyển một lõi thạch có đường kính 5 mm chứa nấm mục tiêu 5 ngày tuổi vào trung tâm của nửa bên phải đĩa Petri trong điều kiện vô trùng. Phía đối diện đục 1 lỗ thạch có đường kính tương tự và cho vào lỗ thạch 20 μ l dung dịch IMO pha loãng bên trên, để trong 30 phút chờ khô hoàn toàn. Tương tự cho các đối chứng, tuy nhiên không cho IMO vào lỗ thạch. Mỗi IMO gồm ba lần lặp lại. Tất cả các đĩa Petri được ủ ở tối ở phòng thí nghiệm sau 7 ngày ủ *F. oxysporum* và sau 2

ngày ủ cho *R. solani*. Tỷ lệ ức chế nấm bệnh được tính theo công thức được đưa ra bởi Vincent (1947).

$$H (\%) = [(Dc-Dt)/Dc] \times 100$$

Trong đó: H: Tỷ lệ ức chế, Dc: Trung bình đường kính đối chứng, Dt: Đường kính của nấm bệnh khi xử lý IMO.

2.4. Phân tích số liệu

Số liệu được phân tích bằng ANOVA và được so sánh bằng thử nghiệm DUNCAN với phần mềm MINITAB.

3. KẾT QUẢ THẢO LUẬN

3.1. Thu thập IMO

Mười bốn IMO đã được thu thập ở tỉnh Sóc Trăng và một IMO hỗn hợp được tạo ra từ hỗn hợp của tất cả mười bốn hệ vi sinh vật này. Các hệ IMO được thu thập từ đất trồng tre, đất luân canh (bắp, dưa hấu, bí rợ), đất trồng chuối, hành tím, rau xà lách, lúa, dưa hấu, đồng cỏ, bắp, rau xen canh, cam, bưởi, ổi và mía ở Sóc Trăng, Việt Nam.

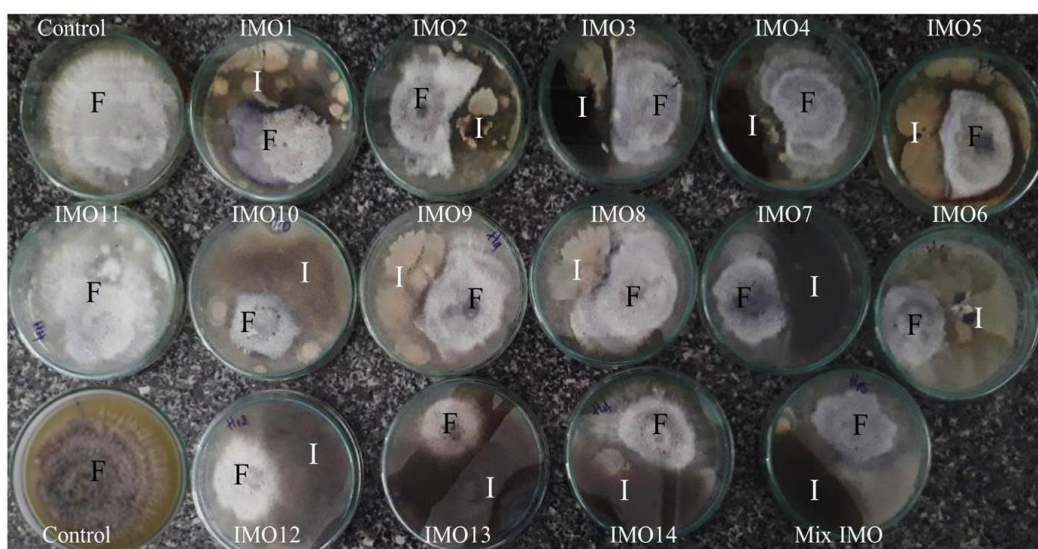
3.2. Tiềm năng đối kháng của IMO với nấm gây bệnh thực vật

3.2.1. Tiềm năng đối kháng của IMO với nấm *Fusarium oxysporum*

Kết quả nghiên cứu về hoạt động đối kháng của 15 hệ IMO đối với nấm *F. oxysporum* được trình bày trong hình 1 và bảng 1 cho thấy tất cả 15 IMO được thử nghiệm đều có tác dụng

đôi kháng cao với *F. oxysporum* với mức độ khác nhau đáng kể. Trong ba kiểu bố trí, có thể thấy hiệu quả ức chế sợi nấm đã được ghi nhận như sau: thí nghiệm IMO được chủng trên PDA 2 ngày trước khi chủng nấm *F. oxysporum* cho hiệu quả cao hơn thí nghiệm nấm *F. oxysporum* được bố trí cùng lúc và thí nghiệm IMO chủng sau nấm *F. oxysporum* 2 ngày. Trong thí nghiệm IMO được đặt trước 2 ngày so với *F. oxysporum*, bốn IMO thu thập từ tre, hành tím, bưởi và ổi thể hiện khả năng đối kháng cao nhất của chúng đối với *F. oxysporum* với tỷ lệ ức chế là 100%. Hơn nữa, IMO thu thập từ đất tre, bưởi và ổi có khả năng ngăn chặn sự phát triển của *F. oxysporum* lên đến 100% trong điều kiện IMO và nấm bệnh được chủng cùng một thời điểm vì phân hủy hoàn toàn sợi nấm của nấm bệnh và có thể

ức chế sự phát triển của *F. oxysporum* lên đến xấp xỉ 50% ngay cả khi mầm bệnh xuất hiện trước 2 ngày. IMO từ cỏ hoang có hiệu quả thấp nhất; tuy nhiên, khi được chủng cùng lúc hoặc trước nấm bệnh cho hiệu quả ức chế nấm tăng đáng kể từ 13,12% lên 38,79% trong thí nghiệm bố trí cùng thời điểm và 51,97% trong thí nghiệm IMO bố trí trước. Xu hướng tương tự được tìm thấy trong các IMO còn lại, với tỷ lệ ức chế nấm bệnh dao động từ 38,10% đến 67,01% trong thí nghiệm bố trí cùng thời điểm và từ 58,54% đến 81,19% trong thí nghiệm IMO bố trí trước so với *F. oxysporum*. Như vậy, có thể thấy rằng tất cả các IMO được khảo sát đều có tiềm năng lớn trong kiểm soát sinh học chống lại *Fusarium oxyporum* và IMO thu thập từ các đất trồng ổi và bưởi cho thấy hiệu quả cao nhất so với các loại khác.



Hình 1. Hoạt động đối kháng của 15 IMO đối với nấm *Fusarium oxysporum* sau 7 ngày nuôi cấy ở thí nghiệm IMO chủng sau *F. oxysporum* 2 ngày

Bảng 1. Hiệu quả đối kháng của 15 IMO đối với nấm gây bệnh *Fusarium oxysporum*

Kí hiệu	IMO từ đất canh tác	Tỉ lệ ức chế (%)			
		IMO > <i>F.ox</i>	IMO= <i>F.ox</i>	IMO < <i>F.ox</i>	Trung bình
IMO1	Tre	100,0 ^a	100,0 ^a	25,25 ^{cd}	75,08
IMO2	Đất luân canh	80,14 ^b	54,08 ^{cd}	25,57 ^{cd}	52,26
IMO3	Chuối	81,19 ^b	44,90 ^{ef}	22,95 ^{cd}	49,68
IMO4	Hành tím	100,0 ^a	47,48 ^c	23,78 ^{cd}	57,08
IMO5	Rau	68,99 ^{bcd}	49,66 ^{de}	24,26 ^{cd}	47,64
IMO6	Lúa	66,20 ^{cde}	67,01 ^b	40,98 ^{bc}	58,06
IMO7	Dưa hấu	44,98 ^g	45,24 ^{ef}	22,30 ^{cd}	37,50
IMO8	Cỏ hoang	51,97 ^{fg}	38,79 ^f	13,12 ^d	34,63
IMO9	Bắp	60,98 ^{def}	51,70 ^{cde}	26,56 ^c	46,41
IMO10	Rau xen canh	70,73 ^{bcd}	52,04 ^{cde}	48,53 ^{ab}	57,10
IMO11	Cam	58,54 ^{def}	38,10 ^f	26,56 ^c	40,07
IMO12	Bưởi	100,0 ^a	100,0 ^a	46,89 ^{ab}	82,30
IMO13	Ổi	100,0 ^a	100,0 ^a	56,39 ^a	85,46
IMO14	Mía	53,31 ^{efg}	46,60 ^e	26,23 ^c	42,05
IMOmix	IMO hỗn hợp	76,31 ^{bc}	54,42 ^{cd}	26,87 ^c	52,53

Ghi chú: Trong cùng một cột các giá trị có phần chữ theo sau khác nhau thì khác biệt nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$) “=” nghĩa là IMO và *F. oxysporum* được ủ cùng lúc, “>” nghĩa là IMO được chủng trước *F. oxysporum* 2 ngày và “<” có nghĩa là IMO được chủng sau *F. oxysporum* 2 ngày.

Nhìn chung, việc xử lý IMO như một nguồn vi sinh vật có lợi cho cây trồng bởi khả năng ức chế rất lớn của nó đối với *F. oxysporum* với tỷ lệ ức chế sợi nấm dao động trong khoảng 34,63% đến 85,46%. Kết quả này tương tự các nghiên cứu trước đây của Yuliar *et al.* (2013), Dar *et al.* (2013) và Toppo and Naik (2015). Stanojkovic-Sebic *et al.* (2017) chỉ ra rằng rất khó kiểm soát hoàn toàn các bệnh trong đất đặc biệt các bệnh do nấm *Fusarium* bằng phương pháp hóa học. Cũng theo tác giả này, sự không ổn định về hiệu quả ức chế các mầm

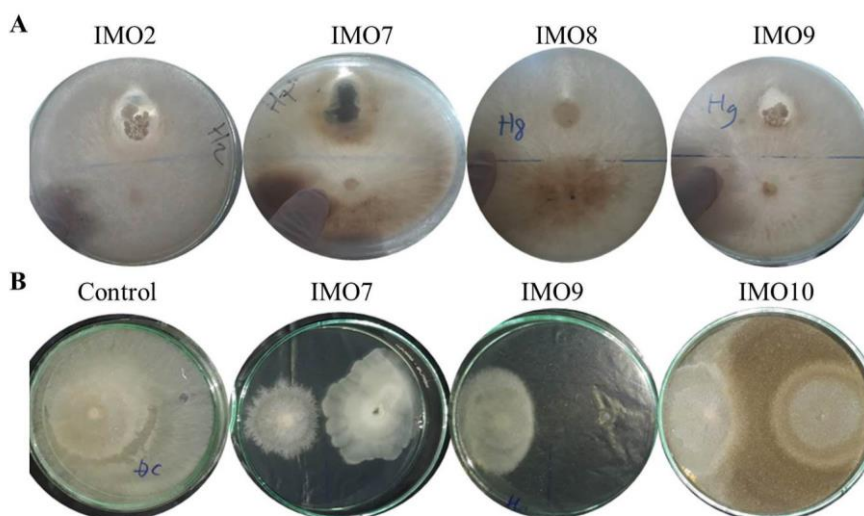
bệnh trong đất ở các điều kiện môi trường khác nhau được xem là một yếu tố hạn chế phổ biến trong các biện pháp sinh học. Do đó gần đây, có các nghiên cứu tập trung vào đánh giá hiệu quả của các cộng đồng vi sinh vật bản địa chống lại các mầm bệnh này từ đất nhằm duy trì sự ổn định hiệu quả ức chế (Huy *et al.*, 2017). Như vậy, sự nhạy cảm của *F. oxysporum* với IMO trong nghiên cứu này cho thấy IMO có thể được sử dụng như một tác nhân sinh học kiểm soát nấm *F. oxysporum*. Trong trường hợp nấm gây bệnh xuất hiện trước, IMO có thể

được sử dụng để điều trị nấm gây bệnh. Tuy nhiên, để có hiệu quả tốt hơn, IMO nên được xử lí trước để phòng ngừa nấm bệnh này. Hơn nữa, để đảm bảo hiệu quả ức chế ổn định của IMO cho các chức năng này, một hỗn hợp nhiều IMO có nguồn gốc khác nhau là cần thiết.

3.2.2. Tiềm năng đối kháng của IMO với *Rhizoctonia solani*

Kết quả khảo sát khả năng đối kháng của 15 IMO đối với nấm *Rhizoctonia solani* trong trường hợp cả IMO và nấm đều được chủng cùng thời điểm (Hình 2A) cho thấy IMO có hiệu quả thấp trong việc ức chế *R.*

solani vì sợi nấm bệnh phát triển phủ trên bề mặt đĩa Petri sau 2 ngày chủng. Tuy nhiên, chúng không thể vượt qua vùng tăng trưởng của các IMO ngoại trừ IMO từ đất đồng cỏ và đất trồng cam. Điều này có thể được giải thích bởi sự sinh trưởng nhanh chóng của *R. solani* dẫn đến IMO chưa kịp hình thành cơ chế đối kháng nấm bệnh. Kết quả này tương tự với Ghai *et al* (2007) khi khảo sát tính đối kháng sinh học của các chủng nấm phân lập cho thấy chúng đối kháng mạnh mẽ với nấm *F. oxysporum* và nấm *Sclerotium rolfsii* nhưng không ức chế đối với sự phát triển của *R. solani*.



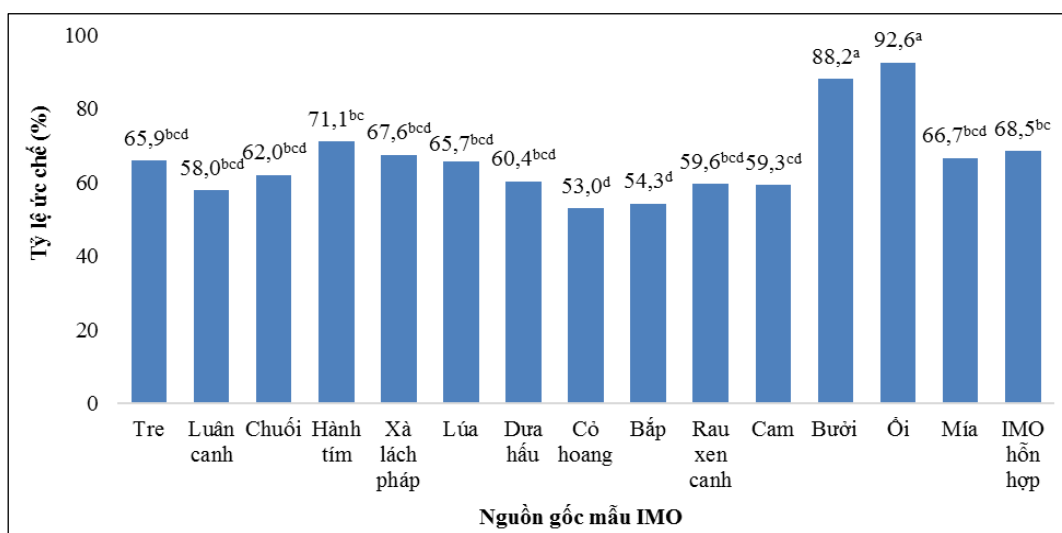
Hình 2. Hoạt động đối kháng nấm *Rhizoctonia solani* của các IMO sau 2 ngày nuôi cấy (A: IMO và *R. solani* được chủng cùng thời điểm; B: IMO chủng trước *R. solani* 2 ngày)

Tuy nhiên, trong trường hợp IMO được chủng trước 2 ngày so với *R. solani* hiệu quả ức chế tăng rất đáng kể và khác nhau giữa các IMO (hình 2B và hình 3). Theo đó sự tăng trưởng

sợi nấm của *Rhizoctonia* bị ức chế trong khoảng từ 52,96 - 92,59%. Trong đó hiệu quả ức chế cao nhất đối với nấm bệnh đã được quan sát thấy ở IMO ôi với hiệu quả ức chế là

92,59%. Kế theo là IMO bưởi có hiệu quả ức chế là 88,19%, trong khi 13 IMO còn lại có tỷ lệ ức chế dao động khoảng 52,96 - 71,11%. Đặc biệt trong cả 2 thí nghiệm đối kháng trên nấm *F.*

oxysporum và *R. solani* hệ vi sinh vật bản địa hỗn hợp cho thấy khả năng đối kháng khá tốt và ổn định trong các thời điểm bố trí.



Hình 3. Hiệu quả đối kháng của 15 IMO đối với nấm gây bệnh *Rhizoctonia solani* sau 2 ngày nuôi cấy

Từ kết quả này, có thể thấy rằng tất cả 15 IMO được thử nghiệm có hiệu quả đối kháng đối với nấm *F. oxysporum* cao hơn so với nấm *R. solani*, đồng thời tác dụng ức chế của các IMO đối với cả hai dòng nấm này được chứng minh là hiệu quả hơn khi chủng IMO trước nấm bệnh. Điều này ngụ ý rằng IMO có thể được sử dụng để phòng ngừa các bệnh do nấm trong đất sinh ra như *F. oxysporum* và *R. solani*. Điều này có thể được giải thích là do các vi sinh vật trong IMO bao gồm nấm, vi khuẩn và xạ khuẩn có thể tiết ra một số hợp chất hoặc enzyme phân hủy hoặc ức chế sự phát triển của sợi nấm *F. oxysporum* (Xa

and Nghia, 2019). Kết quả của nghiên cứu này phù hợp với nghiên cứu của Ghai *et al.* (2007), Robles-Yerena *et al.* (2010) và Huy *et al.* (2017). Ngoài ra, Koche *et al.* (2013) đã phát hiện ra rằng các hợp chất chống nấm chiết xuất từ dung dịch nuôi cấy được phát hiện là rất hiệu quả trong việc ức chế sự phát triển của nấm bệnh lên tới 42,79% và 20,45% đối với *R. solani* và *F. solani*.

Hơn nữa, theo Duffy and Weller (1995) và Hervas *et al.* (1998), đã khẳng định hỗn hợp của các loài vi sinh vật khác nhau cho hiệu quả kiểm soát mầm bệnh tốt hơn bởi chúng có thể thích nghi tốt hơn với những thay

đổi của môi trường, đồng thời có thể có nhiều cơ chế ức chế mầm bệnh cũng như khả năng chống lại một loạt các mầm bệnh khi chúng xuất hiện. Tóm lại, từ kết quả ghi nhận được của nghiên cứu này và kết quả của các nghiên cứu trước đó đã hỗ trợ cho nghiên cứu này rằng các hệ vi sinh vật bản địa có khả năng kiểm soát sinh học cao đối với các loại nấm gây bệnh thực vật như *F. oxysporum* và *R. solani* mà các cơ chế đối kháng sinh học của các IMO cần được nghiên cứu sâu hơn trong tương lai.

4. KẾT LUẬN

Kiểm soát sinh học đối với nấm gây bệnh thực vật là phương pháp tiếp cận sinh thái của bảo vệ thực vật. Nghiên cứu này đã xác nhận hoạt tính kháng nấm rõ rệt của tất cả các IMO thu thập từ các hệ thống canh tác cây trồng khác nhau trong tỉnh Sóc Trăng. Đối với IMO, không cần phải phân lập các chủng vi sinh vật đơn lẻ cho mục đích ứng dụng mà vẫn có chức năng đối kháng nấm tốt ở mức độ khá cao bên cạnh các chức năng khác như kích thích sinh trưởng thực vật đã được chứng minh qua các nghiên cứu trước đây. Hai IMO được thu thập từ các trang trại trồng ổi và bưởi cho thấy hoạt động rõ rệt nhất của chúng trong việc kiểm soát sinh học đối với hai loại nấm gây bệnh thực vật *Fusarium oxysporum* và *Rhizoctonia solani*. Kết quả của nghiên cứu này cho thấy rằng

các vi sinh vật bản địa có tiềm năng lớn trong việc kiểm soát sinh học đối với nấm bệnh thực vật trong đất và có thể được khai thác trong phòng trừ bệnh hại và bảo vệ cây trồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Board of Land and Natural Resources State of Hawaii (2018), Project Issuance of right-of-entry permit to big island resource conservation and development council for the purpose of conducting research on the efficacy of li-digenous microorganisms to confer resistance to Ohia against rapid Ohia death on State Lands. Puna, Hawaii.
2. Chiemela FA, Serafin LN, Ricardo LI, Joseph LN. (2013), Application of indigenous microorganisms (IMO) for bio-conversion of agricultural waste. *International Journal of Science and Research*, 4(5):778 - 84.
1. Dar WA, Beig MA, Ganie SA, Bhat JA, Shabir-u-Rehman, Razvi SM. (2013), In vitro study of fungicides and biocontrol agents against *Fusarium oxysporum* f.sp. pini causing root rot of Western Himalayan fir (*Abies pindrow*). *Scientific Research and Essays*,8(30):1407 - 12.
2. Duffy BK, Weller DM. (1995), Use of *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* alone and in combination with fluorescent *Pseudomonas* spp. to suppress take-all of wheat. *Plant Disease*, 79:907 - 11.
3. Ghai S, Sood SS, Jain RK. (2007), Antagonistic and antimicrobial activities of some bacterial isolates collected from soil samples. *Indian Journal of Microbiology*, 47:77 - 80.
4. Hervas A, Landa B, Datnoff LEM, Jimenez-Diaz RM. (1998), Effects of commercial and indigenous microorganisms on *Fusarium* wilt development in chickpea. *Biological Control*, 13(3):166 - 76.
5. Huy ND, Nguyen PQ, Hong NTT, Giang H, Vien NV, Canh NT. (2017), Isolation and

- evaluation of antagonistic ability of *Trichoderma asperellum* against soil borne plant pathogen. *Vietnam Journal of Agricultural Sciences*, 15(12):1593 - 640.
6. Koche D, Gade RM, Deshmukh AG (2013), Antifungal activity of secondary metabolites produced by *Pseudomonas fluorescens*. *The Bioscan*, 8(2):723 - 6.
 7. Kumar BL, Gopal DVR. (2015), Effective role of indigenous microorganism for sustainable environment. *Biotech*, 5(6):867 - 76.
 8. Kyu CH, Koyama A. (1997), Korean Natural Farming: Indigenous Microorganisms and Vital Power of Crop/Livestock. Republic of Korea: *Korean Nature Farming Association Publisher*, 39 - 48.
 9. Reddy R. (2011), Cho's Global Natural Farming. Bengaluru, India: South Asia Rural Reconstruction Association.
 10. Robles-Yerena L, Rodríguez-Villarreal RA, Ortega-Amaro MA, Fraire-elázquez S, Simpson J, Rodríguez-Guerra R, Jiménez-Bremont JF. (2010), Characterization of a new fungal antagonist of *Phytophthora capsici*. *Scientia Horticulturae*, 125(3):248 - 55.
 11. Stanojković-Sebić A, Pavlović S, Starović M, Pivić R, Dinić Z, Lepšanović Z, Jošić D. (2017), Antagonistic activity of indigenous *Pseudomonas* isolates against *Fusarium* species isolated from anise. *Horticulture*, 61:413 - 6.
 12. Toppo SR, Naik UC. (2015), Isolation and characterization of bacterial antagonist to plant pathogenic fungi (*Fusarium* spp.) from agro based area of Bilaspur. *International Journal of Research Studies in Biosciences*, 6-14.
 13. Vincent JM. (1947), Distortion of fungal hyphae in the presence of certain inhibitors. *Nature*, 159(4051):850.
 14. Xa LT, Nghia NK. (2019), Microbial diversity of indigenous microorganism communities from different agri-ecosystems in Soc Trang province, Vietnam. Proceeding of the International Conference on Biotechnology of Ho Chi Minh City Open University 2019: Research and Application in Biotechnology; 2019 July 26; Ho Chi Minh City Open University, Vietnam.
 15. Yuliar S, Supriyati D, Rahmansyah M. (2013), Biodiversity of endophytic bacteria and their antagonistic activity to *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum*. *Global Journal of Biology, Agriculture and Health Sciences*, 2(4):111 - 8.

NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN TẬP ĐOÀN MẪU GIỐNG CHANH LEO BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ KẾT HỢP ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI NÔNG HỌC

Nguyễn Văn Viêt^{1*}, Trần Đức Trung²,
Bùi Quang Đăng², Hoàng Mạnh Hùng¹ và ctv.

¹Công ty cổ phần Chanh leo Nafoods

²Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

* Tác giả liên hệ: nvvietvaas@gmail.com

TÓM TẮT

Đã sử dụng 18 chỉ thị phân tử ISSR và 15 chỉ thị SRAP phân tích đa dạng di truyền 31 mẫu giống chanh leo để xác định vật liệu chọn tạo giống mới. Kết quả cho thấy mức độ khác biệt di truyền giữa các mẫu giống dao động từ 0,1561 đến 0,89667. Trên sơ đồ hình cây 2 mẫu giống Incarnata 1 và Incarnata 2 (loài hoang dại) được phân thành nhóm riêng. Các mẫu giống chanh leo còn lại được phân thành nhóm chanh leo vàng, chanh leo tím và nhóm hỗn hợp tím-vàng. Các mẫu giống trong tập đoàn có thời gian từ trồng đến quả chín đầu tiên 167 - 241 ngày, trong đó 23 mẫu giống thuộc nhóm ngắn và trung ngày (76,6%), 3 mẫu dài ngày (10,0%) và 4 mẫu rất dài ngày (13,3%); 12 mẫu giống có quả màu vàng (40,0%), 15 mẫu màu tím (50,0%) và 3 mẫu màu sắc khác (10,0%); có 14 mẫu giống có mức nhiễm một số bệnh hại thấp (chiếm 46,6%); khối lượng quả biến động từ 8,0 đến 180,4g/quả, trong đó có 7 mẫu có quả nhỏ - trung bình (23,3%), 18 mẫu quả to (60,0%), 5 mẫu quả rất to (16,6%). Năng suất thực thu biến động từ 0,80 đến 24,07 tấn/ha. Đã thiết lập các cặp lai tiềm năng theo các định hướng khác nhau (thời gian sinh trưởng ngắn, khối lượng quả lớn, độ brix cao) dựa theo khác biệt di truyền kết hợp đặc điểm hình thái, nông học.

Từ khóa: chanh leo, đa dạng di truyền, chỉ thị phân tử ISSR và SRAP.

ABSTRACT

Study on genetic diversity of passion fruit collection by dna markers in combination with morphological and agronomic characteristics

In order to determine the materials sources for breeding new varieties, the study on genetic diversity of 31 passion fruit assesion by using 18 ISSR and 15 SRAP markers were used. The results showed, the level of genetic differences between varieties

ranging from 0.11561 to 0.89667. 2 samples *Incarnata 1* and *Incarnata 2* (wild species) are classified into separate groups. The remaining are classified into yellow passion fruit, purple passion fruit and purple-yellow mixed group. The assesion in the collection had a time from planting to the first ripe fruit 167 - 241 days, of which 76.6% assesions were in the short- and mid-day group, 10.0% long-day and 13.3% very long; 40.0% assesions with yellow fruit, 50.0% purple and 10.0% other color; 46.6% assesions had low levels of infection with some diseases; Fruit weight varied from 8.0 to 180.4g/fruit, of which 23.3% assesions had small-medium fruit, 60.0% big and 16.6% very big, The yield varied from 0.80 to 24.07 tons/ha.

Potential combination have been established in different directions (short growing period, high fruit weight, high brix level) based on genetic diversity combining with morphological and agronomic characteristics.

Keywords: passion fruit, genetic diversity, ISSR and SRAP markers.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chanh leo là cây ăn quả mới ở Việt Nam nhưng có khả năng thích ứng rộng, là loại trái cây có giá trị, giàu chất chống oxy hóa, chất khoáng, vitamin và chất xơ, giàu dinh dưỡng và tốt cho sức khỏe, có nhu cầu cao trên thị trường nội địa, xuất khẩu.

Theo Cục Trồng trọt, Bộ Nông nghiệp và PTNT, tổng diện tích chanh leo cả nước năm 2019 đạt 8.273ha; tổng sản lượng quả tươi đạt 140,44 nghìn tấn. Do thích hợp trồng tại nhiều vùng sinh thái và có hiệu quả kinh tế khá cao, diện tích trồng chanh leo có thể mở rộng lên hàng chục nghìn héc-ta. Chanh leo được tiêu thụ bằng hình thức ăn tươi hoặc sản phẩm chế biến. Để ăn tươi, ngoài các đặc tính đặc thù của chanh leo, quả cần có vị ngọt hơn. Ngược lại, để chế biến, quả chanh leo cần có hàm lượng axit cao hơn. Tuy nhiên hiện nay tại Việt Nam vẫn phải sử dụng quả chanh leo cho cả hai mục đích trên chỉ từ một giống chanh leo Đài Nông 1 có

nguồn gốc nhập nội từ Đài Loan đã được Bộ Nông nghiệp và PTNT công nhận là giống chính thức từ năm 2015.

Trước thực trạng trên, việc chọn tạo giống chanh leo mới mang bản quyền Việt Nam theo các mục đích khác nhau là yêu cầu cấp thiết. Ứng dụng chỉ thị phân tử kết hợp đánh giá đặc điểm hình thái nông học nguồn vật liệu nhằm thiết lập các cặp lai để rút ngắn thời gian chọn tạo giống chanh leo mới.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Tập đoàn giống chanh leo gồm 31 mẫu giống với 2 loại chanh leo trồng phổ biến có quả màu vàng và tím và một số mẫu giống có màu sắc quả khác. Các mẫu giống có nguồn gốc nhập nội, trong đó có mẫu giống chanh leo Đài Nông 1 đã được Bộ Nông nghiệp và PTNT công nhận là giống chính thức 2015 và một số dòng triển vọng từ các cặp lai của Công ty cổ phần Chanh leo Nafoods (bảng 1).

Bảng 1. Tập đoàn mẫu giống chanh leo tại Công ty cổ phần Chanh leo Nafoods, 2018

TT	Mẫu giống	Nguồn gốc	Màu sắc quả	TT	Mẫu giống	Nguồn gốc	Màu sắc quả
1	Yellow passion fruit	Nhập nội	Vàng	17	H4.86	Dòng lai triển vọng	Tím
2	Golden passion fruit	Nhập nội	Vàng	18	H5.27	Dòng lai triển vọng	Tím
3	Passion edulis sim Taiwan	Nhập nội	Vàng	19	H14.6	Dòng lai triển vọng	Tím
4	TN	Nhập nội	Vàng	20	H15.6	Dòng lai triển vọng	Tím
5	Germany	Nhập nội	Vàng	21	H4.93	Dòng lai triển vọng	Tím
6	NCY No1	Nhập nội	Vàng	22	A2	Dòng lai triển vọng	Tím
7	Giant Yellow	Nhập nội	Vàng	23	A7	Dòng lai triển vọng	Tím
8	NCY No2	Nhập nội	Vàng	24	A10	Dòng lai triển vọng	Tím
9	H2.96	Dòng lai triển vọng	Vàng	25	Clone A	Nhập nội	Tím
10	A12	Dòng lai triển vọng	Vàng	26	Clone B	Nhập nội	Tím
11	A13	Dòng lai triển vọng	Vàng	27	NCY No 2	Nhập nội	Đỏ hồng
12	Ecuador	Nhập nội	Vàng	28	Sky star	Nhập nội	Đỏ hồng
13	Edulis slim	Nhập nội	Tím đậm	29	Incarmata 01	Nhập nội (loài hoang dại)	Xanh nhạt
14	Đài Nông 1	Giống công nhận chính thức 2015	Tím	30	Incarmata 02	Nhập nội (loài hoang dại)	Xanh nhạt
15	Đài Nông 2	Nhập nội	Tím	31	Colombia	Nhập nội	Chưa xác định
16	Puli 3	Nhập nội	Tím				

- 18 chỉ thị phân tử ISSR và 15 chỉ thị phân tử SRAP được sử dụng để phân tích đa dạng di truyền các mẫu giống chanh leo (tham khảo từ nguồn Santos *et al.*, 2011; Li và Quiros, 2001).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu đa dạng di truyền bằng phân tích phân tử

- Tách chiết ADN tổng số: Tách chiết và tinh sạch bằng phương pháp CTAB có

cải tiến. Nồng độ và độ tinh sạch DNA được kiểm tra bằng đo độ hấp thụ quang (NanoDrop), độ nguyên vẹn của DNA được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 0,7%. Sàng lọc và xác định chỉ thị phân tử phù hợp cho chanh leo: 18 chỉ thị ISSR có tính đa hình cao trên các mẫu chanh leo vàng (Santos *et al.*, 2011), 15 chỉ thị SRAP có tính đa hình cao trên các mẫu chanh leo vàng (Li và Quiros, 2001) đã được lựa chọn. Nhân gen PCR: Phản ứng PCR được chuẩn bị trong ống Eppendorf 0,2ml và thực hiện trên máy chu trình nhiệt Gene Amp PCR System 9700. Sản phẩm của phản ứng PCR được kiểm tra kích thước và độ đặc hiệu trên gel agarose 2 - 3% (tùy thuộc loại chỉ thị phân tử và kích thước sản phẩm nhân gen), đệm TAE 1X. Ghi nhận kiểu gen: Kết quả xác định kiểu gen của các mẫu nghiên cứu được ghi nhận từ ảnh điện di bằng phần mềm TL120.

Phân tích số liệu và xác định tổ hợp lai tiềm năng: Quan hệ di truyền và phân nhóm các mẫu giống chanh leo dựa trên số liệu kiểu gen ISSR và SRAP được xác định bằng phần mềm Darwin 6. Các giống bố mẹ của tổ hợp lai tiềm năng được chọn lựa dựa vào khoảng cách di truyền/mức độ sai khác kiểu gen trong khoảng 60 - 80% nhằm đảm bảo ưu thế lai cao nhất.

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu đặc điểm hình thái, nông học các mẫu giống chanh leo

Các mẫu giống được trồng và đánh giá đặc điểm hình thái nông học theo quy trình khảo nghiệm giống chanh leo do Công ty cổ phần Chanh leo Nafoods ban hành 2017.

Phân nhóm một số chỉ tiêu đặc thù gồm thời gian sinh trưởng (từ trồng - quả chín đầu tiên): ngắn - trung bình (< 180 ngày), dài (180 - 200 ngày), rất dài: > 200 ngày). Khối lượng quả: quả nhỏ - trung bình (< 80 g/quả), quả to (80 - 150 g/quả), quả rất to (> 150 g/quả). Độ brix: thấp (< 15,0%), trung bình (15,0 - 16,9%), cao (> 17,0%).

Thời gian trồng: 25/5/2018. Địa điểm: Công ty cổ phần Chanh leo Nafoods (xã Tri Lễ, huyện Quế Phong, tỉnh Nghệ An).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định đa dạng di truyền các mẫu giống chanh leo

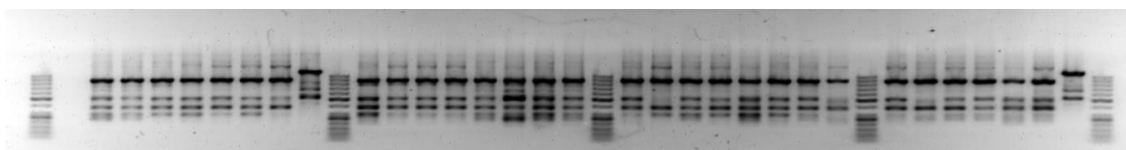
Kết quả đánh giá kiểu gen (hình 1) cho thấy các chỉ thị ISSR cho số lượng alen thu nhận mỗi chỉ thị khá cao, dao động từ 9 alen (TriAAC_3RC) đến 56 alen (DiGA_3YC), trung bình 20,222 alen/chỉ thị. Số lượng alen ghi nhận ở các chỉ thị ISSR cao cho thấy số lượng và sự phân bố của các đoạn trình tự microsatellite rất phổ biến trong hệ gen chanh leo, đặc biệt là đối với motif microsatellite nghiên cứu. Đối với các chỉ thị SRAP, số lượng alen dao động từ 6 alen (tổ hợp ME2 - EM9) đến 31 alen (tổ hợp ME1 - EM11), trung bình ghi nhận 15,267 alen/chỉ thị. Do các chỉ thị SRAP được thiết kế trên trình tự bảo thủ của vùng promoter của chi Brassica cho thấy trình tự promoter và cấu trúc các gene của chanh leo có mức độ tương đồng cao với các loài khác. Cả hai nhóm chỉ thị ISSR và SRAP có các chỉ số dị hợp tử (H và Hav) đạt lần lượt 0,436 và 0,450 tương ứng với 43 - 45% các mẫu giống dị hợp

tử tại các locus được đánh giá. Tương tự chỉ số PIC của các chỉ thị ISSR và SRAP trên bộ mẫu giống là khá thấp, lần (0,352 và 0,359) - mặc dù đây đều là các chỉ thị ngẫu nhiên. Điều này chứng tỏ trong bộ mẫu giống nghiên cứu có nhiều mẫu giống có quan hệ di truyền gần gũi.

Trong khi đó khả năng phân biệt các mẫu giống của hai nhóm chỉ thị ISSR và SRAP là khá cao (0,781 và 0,807). Điều này có thể giải thích do tập đoàn mẫu giống bao gồm cả các dạng chanh leo vàng, tím và con lai vốn có đặc điểm di truyền khá khác biệt.

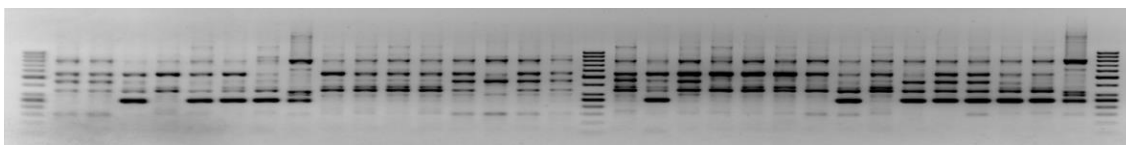
ISSR: TriACA_3RC

M 01 02 03 04 05 06 07 08 M 09 10 11 12 13 14 15 16 M 17 18 19 20 21 22 23 24 M 25 26 27 28 29 30 31 M

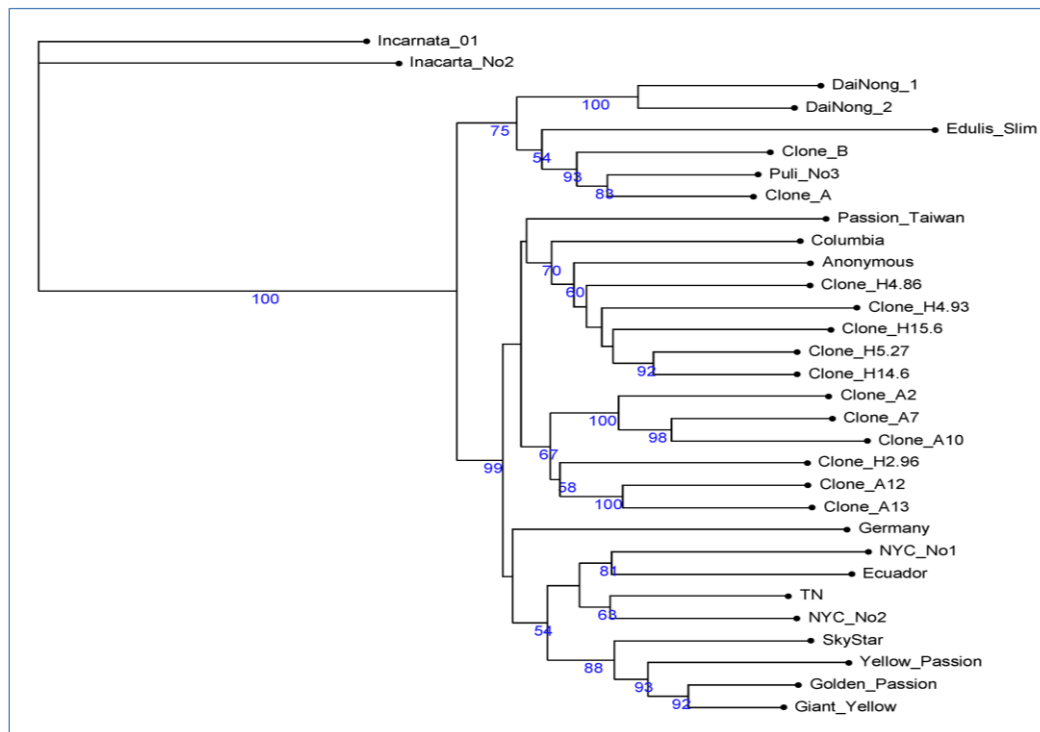


SRAP: ME2-EM11

M 01 02 03 04 05 06 07 08 09 10 11 12 13 14 15 16 M 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 M



Hình 1. Kết quả điện di sản phẩm PCR của 31 mẫu giống chanh leo với các chỉ thị ISSR TriACA_3RC và chỉ thị SRAP ME2 - EM11



Hình 2. Phân nhóm di truyền mẫu giống chanh leo trong tập đoàn
(Hệ số lặp lại bootstrap được thể hiện ở mỗi nhánh của cây phân nhóm)

Mức độ khác biệt di truyền giữa các mẫu giống dao động từ 0,1561 đến 0,89667 (tương ứng với mức độ tương đồng dao động từ 0,10333 đến 0,8439). Từ hình 2 cây phân nhóm cho thấy 2 mẫu giống Incarnata 1 và Incarnata 2 (loài hoang dại) được phân thành nhóm riêng, khác biệt hoàn toàn với các mẫu giống chanh leo còn lại (Hệ số bootstrap 100). Các mẫu giống chanh leo còn lại được phân biệt khá rõ giữa nhóm chanh leo

vàng, chanh leo tím và nhóm hỗn hợp tím-vàng. Đặc biệt, cây phân nhóm đã xác định rất rõ các mẫu giống có cùng nguồn gốc chung một tổ hợp lai với hệ số bootstrap cao. Từ kết quả phân tích mức độ khác biệt di truyền giữa các mẫu giống đã xác định 58 cặp mẫu giống có mức độ khác biệt di truyền trong khoảng 0,2 đến 0,4 (tương ứng với tương đồng di truyền trong khoảng 0,6 đến 0,8) để thiết kế các cặp lai có tiềm năng cho ưu thế lai cao.

3.2. Đánh giá đặc điểm hình thái nông học tập đoàn giống chanh leo

Bảng 2. Một số đặc điểm hình thái, nông học chính của tập đoàn mẫu giống chanh leo (Quế Phong, Nghệ An, 2018)

TT	Mẫu giống	Thời gian trồng - quả chín (ngày)	Màu sắc quả	Thối gốc do <i>Phytophthora</i> (%)	Thối gốc do <i>Fusarium</i> (%)	Đổm dầu (cấp 1 - 9)	Tổng số quả/cây	Khối lượng quả (g)	Năng suất thực thu (tấn/ha)	Brix (%)
1	Yellow passion fruit	172	Vàng	44,4	0	1	213	114,8	20,40	17,0
2	Golden passion fruit	177	Vàng	0	0	1	219	113,1	20,65	16,3
3	Passion edulis sim Taiwan	177	Vàng	22,2	0	1	185	105,6	16,24	16,5
4	TN	167	Vàng	0	0	1	218	118,3	21,49	16,2
5	Germany	173	Vàng	33,3	0	1	154	173,5	22,24	14,0
6	NCY No 1	177	Vàng	0	0	1	213	64,8	11,74	16,5
7	Giant Yellow	170	Vàng	0	0	1	173	160,4	23,15	16,5
8	NCY No2	202	Vàng	0	0	1	196	118,1	19,32	16,9
9	H2.96	179	Vàng	33,3	0	2	180	125,2	18,74	12,8
10	A12	180	Vàng	0	11,1	1	138	112,8	12,99	17,0
11	A13	175	Vàng	0	22,2	1	188	153,6	24,07	14,9
12	Ecuador	226	Vàng	0	0	1	153	132,6	16,90	14,6
13	Edulis sim	173	Tím	0	0	1	193	42,2	6,83	14,9
14	Đài Nông 1	170	Tím	0	11,1	1	257	72,4	15,49	16,8
15	Đài Nông 2	175	Tím	0	0	1	263	74,3	16,24	16,8
16	Puli 3	171	Tím	0	0	1	230	67,9	12,99	15,5

TT	Mẫu giống	Thời gian trồng - quả chín (ngày)	Màu sắc quả	Thối gốc do <i>Phytophthora</i> (%)	Thối gốc do <i>Fusarium</i> (%)	Đốm dầu (cấp 1 - 9)	Tổng số quả/cây	Khối lượng quả (g)	Năng suất thực thu (tấn/ha)	Brix (%)
17	H4.86	175	Tím	0	0	1	231	114,8	22,07	16,2
18	H5.27	192	Tím	0	0	1	145	180,4	21,82	15,4
19	H14.6	185	Tím	0	11,1	2	203	169,6	28,73	15,0
20	H15.6	170	Tím	22,2	0	1	198	154,9	25,57	17,0
21	H4.93	179	Tím	33,3	0	1	197	82,4	13,49	15,6
22	A2	185	Tím	0	11,1	1	203	140,5	23,74	16,6
23	A7	166	Tím	11,1	0	1	218	132,2	23,99	19,2
24	A10	169	Tím	0	0	1	220	103,4	18,99	16,9
25	Clone - A	170	Tím	0	11,1	1	224	95,3	17,82	16,2
26	Clone - B	172	Tím	0	0	2	211	92,3	16,24	16,0
27	Puli 2	171	Tím	0	0	1	216	70,2	12,66	15,2
28	Sky star	177	Đỏ hồng	33,3	0	1	199	106,3	17,65	17,2
29	Incanata 01	240	Xanh nhạt	0	11,1	1	13	8	0,81	-
30	Incanata 02	241	Xanh nhạt	0	11,1	1	12	8	0,80	-
31	Colombia	-	-	0	0	1	-	-	-	-

Kết quả nghiên cứu đặc điểm hình thái, nông học chính của tập đoàn 30 mẫu giống chanh leo (trừ mẫu giống Colombia chưa ra hoa) trên bảng 2 cho thấy thời gian từ trồng đến thu quả chín đầu tiên biến động từ 167 đến 241 ngày. Có 23 mẫu giống thuộc nhóm ngắn và trung ngày (76,6%), 3 mẫu dài ngày (10,0%) và 4 mẫu rất dài ngày (13,3%). Giống Đài Nông 1 đã công nhận chính thức trồng phổ biến trong sản xuất ở Việt Nam có thời gian trồng đến thu quả chín đầu tiên 170 ngày. Trong 30 mẫu giống có 12 mẫu giống có quả màu vàng (40,0%), 15 mẫu giống có quả màu tím (50,0%) và 3 mẫu giống có quả màu sắc khác (10,0%). Trên đồng ruộng các mẫu giống có mức

nhiễm sâu bệnh hại khác nhau, trong đó 14 mẫu giống có mức nhiễm bệnh thấp (chiếm 46,6%), (≤ 80 g/quả), (8 – 150 g/quả), (> 150 g/quả).

Tổng số quả/cây biến động từ 12 - 267 quả/cây, khối lượng quả biến động từ 8,0 đến 180,4 g/quả, trong đó có 7 mẫu giống có quả nhỏ - trung bình (23,3%), 18 mẫu quả to (60,0%), 5 mẫu quả rất to (16,6%). Năng suất thực thu biến động từ 0,80 đến 24,07 tấn/ha. Độ brix biến động từ 12,8 đến 17,2% trong đó 5 mẫu có độ brix thấp (16,6%), 21 mẫu có độ brix trung bình (70,0%), 4 mẫu có độ brix cao (13,3%). Giống Đài Nông 1 có 257 quả/cây, khối lượng quả 72.4 g/quả, năng suất thực thu 15,49 tấn/ha, độ brix 16,8%.

3.3. Xác định một số cặp lai tiềm năng

Dựa theo kết quả phân tích đa dạng di truyền và kết hợp đánh giá đặc điểm hình thái, nông học, đã lựa chọn một số cặp lai có mức độ khác biệt di truyền cao và các

mẫu giống có đặc điểm nổi trội để thiết lập một số cặp lai tiềm năng theo các định hướng khác nhau (5 cặp cho thời gian sinh trưởng ngắn, 3 cặp cho khối lượng quả lớn, 5 cặp cho độ brix cao) (bảng 3).

Bảng 3. Một số cặp lai chanh leo tiềm năng

TT	Cặp lai	Mức độ khác biệt di truyền	Mức độ tương đồng di truyền	Thời gian sinh trưởng (ngày)		Khối lượng quả (g/quả)		Brix (%)	
				Giống 1	Giống 2	Giống 1	Giống 2	Giống 1	Giống 2
I Cặp lai theo định hướng thời gian sinh trưởng ngắn									
1	A7 x A2	0.320	0.680	166	185	132,2	140,5	19,2	16,6
2	TN x Golden passion fruit	0.347	0.653	167	177	118,3	113,1	16,2	16,3
3	A10 x A2	0.352	0.648	169	185	103,4	140,5	16,9	16,6
4	H15.6 x H4.86	0.376	0.624	170	175	54,9	114,8	17,0	16,2
5	Đài Nông 1 x Đài Nông 2	0.258	0.742	170	175	72,4	74,3	16,8	16,8
II Cặp lai theo định hướng khối lượng quả lớn									
1	H5.27 x H15.6	0.298	0.702	192	170	180,4	54,9	15,4	17,0
2	H14.6 x H5.27	0.218	0.782	185	192	169,6	180,4	15,0	15,4
3	A13 x H2.96	0.363	0.637	175	179	153,6	125,2	14,9	12,8
III Cặp lai theo định hướng độ brix cao									
1	A7 x A12	0.369	0.631	166	180	132,2	112,8	19,2	17,0
2	Sky star x NYC No2	0.306	0.694	177	202	106,3	118,1	17,2	16,9
3	Sky star x TN	0.346	0.654	177	167	106,3	118,3	17,2	16,2
4	Yellow passion fruit x TN	0.383	0.617	172	167	114,8	118,3	17,0	16,2
5	A12 x H2.96	0.36	0.604	180	179	112,8	125,2	17,0	12,8

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

- Phân tích đa dạng di truyền mẫu giống chanh leo bằng 18 chỉ thị phân tử ISSR và 15 chỉ thị phân tử SRAP xác

định mức độ khác biệt di truyền giữa các mẫu giống 0,1561 đến 0,89667 (trung ứng với mức độ tương đồng 0,10333 - 0,8439). Trên sơ đồ hình cây 2 mẫu giống Incarnata 1 và Incarnata 2 (loài hoang dại) được phân thành nhóm riêng. Các

mẫu giống chanh leo còn lại được phân thành nhóm chanh leo vàng, chanh leo tím và nhóm hỗn hợp tím - vàng.

- Các mẫu giống trong tập đoàn có thời gian từ trồng đến quả chín đầu tiên 167 - 241 ngày, trong đó 23 mẫu giống thuộc nhóm ngắn và trung ngày (76,6%), 3 mẫu dài ngày (10,0%) và 4 mẫu rất dài ngày (13,3%); 12 mẫu giống có quả màu vàng (40,0%), 15 mẫu màu tím (50,0%) và 3 mẫu màu sắc khác (10,0%); có 14 mẫu giống có mức nhiễm một số bệnh hại thấp (chiếm 46,6%); khối lượng quả biến động từ 8,0 đến 180,4 g/quả, trong đó có 7 mẫu có quả nhỏ - trung bình (23,3%), 18 mẫu quả to (60,0%), 5 mẫu quả rất to (16,6%). Năng suất thực thu biến động từ 0,80 đến 24,07 tấn/ha.

- Đã thiết lập một số cặp lai tiềm năng theo các định hướng khác nhau (5 cặp cho thời gian sinh trưởng ngắn, 3 cặp cho khối lượng quả lớn, 5 cặp cho độ brix cao) dựa theo khác biệt di truyền kết hợp đặc điểm hình thái, nông học của nguồn vật liệu.

4.2. Đề nghị

Sử dụng 23 mẫu giống thuộc nhóm ngắn và trung ngày, 14 mẫu giống có mức nhiễm một số bệnh hại thấp, 18 mẫu quả to, 5 mẫu quả rất to, 4 mẫu có độ brix cao và kết quả phân tích đa dạng di truyền cho chọn tạo giống chanh leo.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin cảm ơn Bộ Nông nghiệp và PTNT đã tài trợ cho nghiên cứu này trong khuôn khổ đề tài cấp Bộ “Nghiên cứu chọn tạo giống chanh leo phục vụ các vùng nguyên liệu trọng điểm đáp ứng nhu cầu nội tiêu và xuất khẩu”.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Công ty Cổ phần Chanh leo Nafoods (2017), Quy trình khảo nghiệm giống chanh leo.
2. Cục Trồng trọt, Bộ Nông nghiệp và PTNT (2020), Hiện trạng về quản lý giống và sản xuất chanh dây tại Việt Nam. Báo cáo tại Hội thảo Chanh dây ngày 18 - 19/6/2020 của IFC, Ngân hàng Thế giới. Gia Lai, 18/6/2020.
3. Alexandre Pio Viana^{1*}, Telma Nair Santana Pereira¹, Messias Gonzaga Pereira¹, Margarete Magalhães de Souza¹, José Francisco, Martinez Maldonado², and Antônio Teixeira do Amaral Júnior (2006), Genetic diversity in yellow passion fruit. Populations Crop Breeding and Applied Biotechnology 6:87 - 94.
4. Carlos Bernard M. Cerqueira-Silva, Onildo N. Jesus 3, Elisa S. L. Santos, Ronan X. Corrêa and Anete P. Souza (2014), Genetic Breeding and Diversity of the Genus Passiflora: Progress and Perspectives in Molecular and Genetic Studies. Int. J. Mol. Sci. 2014. Molecular Sciences, ISSN 1422 - 0067.
5. Li, G.I.; Quiros, C.F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP) (2001), a new marker system based on a simple PCR reaction, its application to mapping and gene tagging in Brassica. Theor. Appl. Genet., 103 pp. 455 - 461.
6. Santos, L.F., de Oliveira, E.J., dos Santos Silva, A. *et al.* (2011), ISSR Markers as a Tool for the Assessment of Genetic Diversity in Passiflora. Biochem Genet 49: 540.

MỤC LỤC

1. KỶ NIỆM 20 NĂM NGÀY THÀNH LẬP HỘI NGHIÊN CỨU BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM (29/9/2001 - 29/9/2021) 3
GS.TS. Vũ Triệu Mân
2. TƯỢNG NHỚ GIÁO SƯ, TIẾN SĨ VŨ HOAN 15
GS.TS. Vũ Triệu Mân
3. CHẨN ĐOÁN XÁC ĐỊNH VIRUS GÂY BỆNH KHẢM XOĂN VÀNG LÁ TRÊN CÂY CÀ CHUA (*Solanum lycopersicum* L.) Ở HUYỆN ĐƠN DƯƠNG, TỈNH LÂM ĐỒNG 17
*Bùi Cách Tuyền, Phạm Đức Toàn, Danh Hiếu
Lê Cao Lượng, Huỳnh Văn Biết*
4. ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ CHỦNG VI KHUẨN NỘI SINH CHỌN LỌC ĐẾN TUYẾN TRÙNG *Pratylenchus coffeae* VÀ SINH TRƯỞNG CỦA CÂY CÀ PHÊ VỚI GIAI ĐOẠN KIẾN THIẾT CƠ BẢN TẠI ĐẮK LẮK 25
*Đỗ Thị Kiều An, Nguyễn Văn Nam
Trần Thị Huệ, Nguyễn Thị Hương Cẩm*
5. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG NẤM CỦA XẠ KHUẨN NỘI SINH *Streptomyces* sp. T3T6 PHÂN LẬP TỪ CÂY CÀ PHÊ TẠI TỈNH LÂM ĐỒNG 36
*Nguyễn Thị Hồng Hà, Hoàng Thị Huyền Trang
Trần Thị Hoa, Phạm Bích Ngọc, Chu Hoàng Hà, Đỗ Tiến Phát*
6. HIỆU QUẢ SỬ DỤNG VI KHUẨN HÒA TAN SILIC VÀ PHÂN SILIC LÊN KHẢ NĂNG CHỐNG CHỊU CỦA CÂY LÚA ĐỐI VỚI BỆNH ĐẠO ÔN DO NẤM *Pyricularia* sp. GÂY RA Ở ĐIỀU KIỆN NHÀ LƯỚI 43
Nguyễn Thị Thu Hà, Nguyễn Trường Trinh, Nguyễn Khởi Nghĩa
7. HIỆU QUẢ CỦA THỰC KHUẨN THÊ PHÒNG TRỪ BỆNH HÉO XANH TRÊN CÂY HOA VẠN THỌ (*Tagetes erecta* L.) DO VI KHUẨN *Ralstonia solanacearum* Smith 52
*Nguyễn Thị Thúy Hằng, Đoàn Thị Kiều Tiên
Đặng Hải Đông, Trần Đức Huy, Nguyễn Thị Thu Nga*
8. MỘT SỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG VI KHUẨN ĐỐI KHÁNG *Serratia nematodiphila* CT-78 PHÒNG TRỊ BỆNH BẠC LÁ VÀ KÍCH THÍCH CÂY LÚA TĂNG TRƯỞNG 59
Nguyễn Đắc Khoa, Nguyễn Thị Phi Oanh

9. PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN THỰC KHUẨN THỂ TRONG PHÒNG TRỪ BỆNH CHÁY LÁ DO *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* TRÊN CÂY KIỂU (*Allium chinense*) 68
Nguyễn Thị Thu Nga, Trần Ngọc Trúc, Giảng Thanh Nhưồng, Đoàn Thị Kiều Tiên, Võ Thị Bích Thủy, Trần Thị Ba
10. KHẢO SÁT KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG CỦA HAI DÒNG VI KHUẨN PHÂN LẬP M5.1 và M6 TỪ HẠT MÈ LÊN MEN VỚI NẤM *Fusarium solani* GÂY BỆNH VÀNG LÁ THỐI RỄ TRÊN CÂY CAM SÀNH TRONG ĐIỀU KIỆN *IN VITRO* 78
Đặng Thị Yến Nhung, Nguyễn Thị Mụi, Nguyễn Khởi Nghĩa
11. ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG KIỂM SOÁT BỆNH THÁN THƯ' TRÊN ỚT DO NẤM *Colletotrichum* sp. CỦA HAI DÒNG VI KHUẨN *Bacillus* sp. M3 VÀ *Bacillus* sp. G5 Ở ĐIỀU KIỆN NHÀ LƯỚI 87
Nguyễn Hữu Thiện, Trần Thị Cẩm Nhung, Nguyễn Khởi Nghĩa
12. KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA MÔI TRƯỜNG LÊN QUÁ TRÌNH TĂNG TRƯỞNG CỦA VI KHUẨN ĐỐI KHÁNG *Serratia nematodiphila* CT-78 ĐỂ PHÒNG TRỊ BỆNH BẠC LÁ LÚA 95
Nguyễn Quang Tiến, Lê Thị Hồng Thanh, Nguyễn Đắc Khoa
13. PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN VI KHUẨN *Pseudomonas* PHÁT HUỖNH QUANG CÓ KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG VỚI NẤM *Rhizoctonia solani* Kuhn 105
Lê Thanh Toàn, Nguyễn Phương Kiều Duyên, Ngô Thanh Tâm
14. ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC CHỦNG VI KHUẨN VÙNG RỄ CÂY HỒ TIÊU (*Piper nigrum* L.) ĐẾN KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG VÀ KHÁNG TUYẾN TRÙNG CỦA CÂY HỒ TIÊU GIAI ĐOẠN VƯỜN ƯƠM 114
Trịnh Thị Huyền Trang, Trần Thị Phương Hạnh, Nguyễn Thị Tình, Trần Thị Huế, Nguyễn Thị Vân
15. ĐẶC ĐIỂM VI KHUẨN *Ralstonia solanacearum* Smith GÂY BỆNH HÉO XANH TRÊN CÂY ỚT 124
Đỗ Phạm Thanh Trang, Nguyễn Thanh Phong, Cao Thị Thanh Thảo, Võ Thị Thu Oanh, Nguyễn Vũ Phong
16. KHẢO SÁT KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG CỦA XẠ KHUẨN ĐỐI VỚI NẤM *Curvularia* sp. GÂY BỆNH LEM LÉP HẠT LÚA 133
Lê Minh Tường, Lý Hùng
17. ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG PHÒNG TRỪ BỆNH THỐI GỐC THÂN KHOAI LANG DO *Rhizoctonia solani* CỦA CÁC CHỦNG XẠ KHUẨN TRONG ĐIỀU KIỆN NHÀ LƯỚI 142
Lê Minh Tường, Đinh Hoàng Kha

18. ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG CỦA CÁC CHỦNG XẠ KHUẨN ĐỐI VỚI VI KHUẨN *Xanthomonas* sp. GÂY BỆNH ĐÓM ĐEN TRÊN XOÀI 152
Lê Minh Tường, Lê Thị Ngọc Xuân, Nguyễn Trường Sơn
19. BỆNH CHẾT HÉO DO NẤM *Ceratocystis manginecans* GÂY HẠI TRÊN MỘT SỐ LOÀI CÂY TRỒNG LÂM NGHIỆP Ở VIỆT NAM 161
Nguyễn Minh Chí, Đào Ngọc Quang*
20. ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG CỦA NẤM *Trichoderma* VÀ XẠ KHUẨN ĐỐI VỚI NẤM *Rhizoctonia solani* GÂY BỆNH THỐI LÁ TRÊN RAU XÀ LÁCH (*Lactuca sativa*) 169
*Võ Tấn Đạt, Nguyễn Thanh Phong
Lê Thanh Đạm, Võ Thị Thu Oanh*
21. KHẢO SÁT TÍNH GÂY BỆNH CỦA NẤM *Rhizoctonia solani* Kühn TRÊN MỘT SỐ LOẠI RAU 180
*Võ Tấn Đạt, Nguyễn Thanh Phong
Lê Thanh Đạm, Võ Thị Thu Oanh*
22. ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI NẤM *Pyricularia oryzae* GÂY BỆNH ĐẠO ÔN LÚA TẠI AN GIANG VÀ HIỆU LỰC PHÒNG TRỪ CỦA CÁC VẬT LIỆU NANO DẠNG Ag/SiO_2 189
*Võ Thị Ngọc Hà, Trần Ngọc Phương Lan
Phạm Kim Huyền, Trần Công Khánh*
23. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH TÁC NHÂN GÂY BỆNH VÀ THUỐC TRỪ BỆNH CHÁY THÂN CÂY MĂNG TÂY TẠI NINH THUẬN 198
*Mai Văn Hào, Phan Công Kiên
Nguyễn Văn Chính, Nguyễn Thị Tuyết Nhi*
24. KHẢO SÁT MỘT SỐ CHI NẤM GÂY BỆNH TRÊN LỤC BÌNH (*Eichornia crassipes*) TẠI KHU VỰC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH 209
*Phạm Kim Huyền, Phạm Thị Hồng Nhung, Huỳnh Hữu Vinh
Phạm Thị Anh, Nguyễn Bảo Quốc, Võ Thị Ngọc Hà*
25. XÁC ĐỊNH TÁC NHÂN GÂY BỆNH CHẢY NHỰA THÂN CÂY BƯỞI DA XANH TẠI TỈNH BẾN TRE 218
*Nguyễn Thị Thúy Huỳnh, Nguyễn Thanh Phong, Lê Thanh Đạm
Phạm Hải Đăng, Trần Thanh Lâm, Nguyễn Thị Ngọc Loan
Võ Thị Thu Oanh, Nguyễn Vũ Phong*
26. ĐỊNH DANH LOÀI NẤM *Fusarium* spp. GÂY BỆNH HÉO RỄ TRÊN CÂY HOA CÁT TƯỜNG TẠI ĐÀ LẠT, LÂM ĐỒNG 232
Phan Đăng Khoa, Nguyễn Thanh Phong, Võ Thị Thu Oanh

27. PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH NẤM GÂY BỆNH THÁN THU
TRÊN CÂY NHO (*Vitis vinifera* L.) TẠI TỈNH NINH THUẬN 240
*Đặng Thị Hồng Nhiên, Nguyễn Mai Nghiệp
Nguyễn Ngọc Bảo Châu, Nguyễn Bảo Quốc*
28. NẤM *Fusarium oxysporum* TÁC NHÂN GÂY BỆNH THỐI GỐC, RỄ
TRÊN CÂY SACHI (*Plukentia volubilis* L.) TẠI QUỲNH LƯU, NGHỆ AN 253
*Hồ Thị Nhung, Nguyễn Tài Toàn
Võ Thị Dung, Nguyễn Thị Kim Hiên*
29. NGHIÊN CỨU BỆNH VÀNG LÁ THỐI RỄ HẠI CÂY CAM TẠI NGHỆ AN 259
*Hồ Thị Nhung, Nguyễn Sỹ Hùng, Nguyễn Hữu Hiên
Nguyễn Thị Thúy, Thái Thị Ngọc Lam*
30. *Phytophthora* spp. MỐI ĐE DỌA TIỀM TÀNG
ĐỐI VỚI LÂM NGHIỆP VIỆT NAM 268
*Đặng Như Quỳnh, Nguyễn Hoài Thu
Đào Ngọc Quang, Lê Văn Bình*
31. SÀNG LỌC MỘT SỐ CHỦNG *Trichoderma* sp. ĐỐI KHÁNG
VỚI NẤM *Fusarium* sp. GÂY BỆNH THỐI THÂN, LÁ DỨA (KHÓM) 277
*Nguyễn Thị Thanh Xuân, Văng Thị Tuyết Loan
Phạm Văn Quang, Lý Ngọc Thanh Xuân, Trần Trí Tâm
Trần Chí Nhân, Trần Ngọc Hữu, Nguyễn Quốc Khương*
32. THÀNH PHẦN VÀ MỨC ĐỘ PHỔ BIẾN CỦA TUYẾN TRÙNG TRÊN CÀ RỐT
TẠI LÂM ĐỒNG 286
*Nguyễn Lương Khôi, Trần Quốc Toàn
Nguyễn Thanh Phong, Lê Thanh Đạm, Nguyễn Vũ Phong*
33. SỰ TƯƠNG TÁC GIỮA TUYẾN TRÙNG *Pratylenchus* sp.
VÀ NẤM *Fusarium solani* GÂY BỆNH VÀNG LÁ THỐI RỄ
CÂY QUÝT HỒNG (*Citrus reticulata* Blanco cv. Hong) 293
Lê Minh Ngân, Trần Vũ Phấn
34. PHẢN ỨNG CỦA NẤM GIỐNG HỒ TIÊU ĐỐI VỚI TUYẾN TRÙNG SÙNG RỄ
Meloidogyne incognita 304
*Nguyễn Thị Nguyễn Vân, Nguyễn Thanh Phong
Lê Thanh Đạm, Võ Thị Thu Oanh, Nguyễn Vũ Phong*
35. SỬ DỤNG DỊCH CHIẾT BẠCH ĐÀN QUẢN LÝ BỆNH
ĐÓM NẤU (*Alternaria sesami*) TRÊN CHANH LEO TẠI NGHỆ AN 313
*Võ Thị Dung, Vũ Triệu Mân, Hồ Thị Nhung
Nguyễn Hoàng Tiến, Trần Thị Cúc*

36. XÁC ĐỊNH LIỀU LƯỢNG BANJO FORTE 400SC PHÒNG TRỪ HIỆU QUẢ BỆNH MỐC SƯƠNG DO *Phytophthora infestans* GÂY RA TRÊN CÂY RAU HỌ CÀ 319
Nguyễn Phi Dũng, Nguyễn Lệnh Đông, Vũ Đức Cường
37. HIỆU QUẢ QUẢN LÝ BỆNH CHÁY LÁ KHOAI MÔN CỦA CHẾ PHẨM XẠ KHUẨN *Streptomyces* sp. AP4 ĐỐI KHÁNG TRIÊN VỌNG Ở ĐIỀU KIỆN PHÒNG THÍ NGHIỆM VÀ NHÀ LƯỚI 325
*Nguyễn Phú Dũng, Văn Viễn Lương
Lê Minh Tường, Chế Lý Hùng*
38. NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA CHẾ PHẨM *Trichoderma - Streptomyces* TRONG XỬ LÝ CỬ GỪNG GIỐNG ĐẾN SINH TRƯỞNG PHÁT TRIỂN, NĂNG SUẤT VÀ CHẤT LƯỢNG CỎ 337
Trần Thị Thu Hà, Võ Hoàng Thu Trinh, Trương Thị Bích Phượng
39. KHẢO SÁT HOẠT TÍNH KHÁNG *Xanthomonas* spp. VÀ *Fusarium* spp. PHÂN LẬP TỪ CÂY HỒ TIÊU CỦA DUNG DỊCH TẠO BỞI PLASMA NGUỘI TRONG ĐIỀU KIỆN IN VITRO 345
*Thân Quốc An Hạ, Đinh Quốc Hòa
Nguyễn Võ Kỳ Duyên, Phạm Hoài Thương, Phạm Hữu Thiện*
40. NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG NANO BAC PHÒNG TRỪ BỆNH THÁN THƯ GÂY HẠI CÂY ỚT *Capsicum frutescens* L. VÀ THỬ NGHIỆM MÔ HÌNH 355
*Chu Trung Kiên, Nguyễn Hiếu Hạnh, Trần Anh Tuấn
Hồ Thị Thanh Huyền, Huỳnh Hữu Tín
Chu Văn Khương, Nguyễn Thị Lan Anh*
41. KHẢO SÁT HIỆU QUẢ PHÒNG TRỪ BỆNH ĐÓM VẦN TRÊN CÂY LÚA CỦA QUẢN THỂ NẤM RỄ NỘI CỘNG SINH - THÍ NGHIỆM NHÀ LƯỚI 362
*Phạm Bảo Lộc, Phạm Thị Hải Nghi, Nguyễn Phúc Tuyên
Nguyễn Quốc Khương, Đỗ Thị Xuân*
42. NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ LOẠI PHÂN HỮU CƠ ĐẾN CÂY GỪNG SẼ TẠI THỪA THIÊN HUẾ 373
*Trương Thị Bích Phượng, Võ Hoàng Thu Trinh
Trần Thị Thu Hà, Phạm Lê Hoàng*
43. KHẢO SÁT CON ĐƯỜNG XÂM NHIỄM CỦA *Pseudomonas* GÂY BỆNH HÉO XANH, *Fusarium* GÂY BỆNH THỐI RỄ CÂY TÍA TÔ XANH (*Perilla frutescens*) VÀ ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ IN VITRO CỦA MỘT SỐ HOẠT CHẤT ĐỐI VỚI HAI MẦM BỆNH NÀY 382
Nguyễn Quốc Thái, Trần Thị Kiều, Nguyễn Văn Thành

44. NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT CHẾ PHẨM CHAETOMIUM CP2-VMNPB
TRỪ NẤM *Fusarium* spp. HẠI RỄ CÂY CHÈ 390
*Nguyễn Văn Thiệp, Cao Phi Bằng, Trịnh Thị Kim Mỹ
Nguyễn Thị Kim Oanh, Nguyễn Huy Thịnh, Vũ Xuân Dương*
45. NGHIÊN CỨU ÁP DỤNG CÁC BIỆN PHÁP THỰC HÀNH NÔNG NGHIỆP
THÔNG MINH NHẪM GIẢM THIỂU SÂU BỆNH HẠI VÀ THÍCH ỨNG VỚI
BIẾN ĐỔI KHÍ HẬU TRONG SẢN XUẤT LÚA TẠI VIỆT NAM 400
Nguyễn Văn Tuất, Phạm Đức Hùng
46. HIỆU QUẢ GIẢM BỆNH BẠC LÁ LÚA (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)
CỦA CÁC LOẠI DỊCH TRÍCH THỰC VẬT BẢN ĐỊA
TẠI ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG 407
Trương Văn Xạ, Nguyễn Đắc Khoa
47. KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG NẤM GÂY BỆNH CÂY TRỒNG CỦA CÁC
HỆ VI SINH VẬT BẢN ĐỊA TỪ CÁC HỆ THỐNG CANH TÁC CÂY TRỒNG
KHÁC NHAU Ở SÓC TRĂNG 419
Lê Thị Xã, Nguyễn Khởi Nghĩa
48. NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN TẬP ĐOÀN MẪU GIỐNG CHANH LEO
BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ KẾT HỢP ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI NÔNG HỌC 419
*Nguyễn Văn Viêt, Trần Đức Trung
Bùi Quang Đăng, Hoàng Mạnh Hùng và ctv.*

HỘI THẢO QUỐC GIA BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM

Chịu trách nhiệm xuất bản
Giám đốc - Tổng biên tập
TS. LÊ LÂN

Biên tập và sửa bản in
PHẠM THANH THỦY - ĐÌNH VĂN THÀNH
Trình bày, bìa
VŨ HẢI YẾN

NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP
167/6 Phương Mai - Đống Đa - Hà Nội
ĐT: (024) 38523887, (024) 38521940 - Fax: 024.35760748
Website: <http://www.nxbnongnghiep.com.vn>
E - mail: nxbnn1@gmail.com
CHI NHÁNH NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP
58 Nguyễn Bình Khiêm - Q.I - Tp. Hồ Chí Minh
ĐT: (028) 38299521, 38297157 - Fax: (028) 39101036

In 150 bản khổ 19 × 26,5cm tại Công ty Cổ phần In Sao Việt.
Địa chỉ: Số 9/40 Ngụy Như Kon Tum, Thanh Xuân, Hà Nội.
Đăng ký KHXB số 3447-2021/CXBIPH/2-138/NN ngày 05/10/2021.
Quyết định XB số: 47/QĐ-NXBNN ngày 07/12/2021.
ISBN: 978-604-60-3373-8
In xong và nộp lưu chiểu quý IV/2021.