

**ĐẠI HỘI LẦN THỨ NHẤT
HỘI NGHIÊN CỨU BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM
(2019 - 2024)**

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

Lần thứ 18

**Tại Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam
3 - 4/8/2019**

**THE 18th NATIONAL CONFERENCE OF THE VIETNAMESE PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY
V.P.S. 3rd - 4th AUGUST 2019**



2019



**ĐẠI HỘI LẦN THỨ NHẤT
HỘI NGHIÊN CỨU BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM
(2019 - 2024)**

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



ISBN 978-604-60-2558-0

**Lần thứ 18
Tại Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam
3 - 4/8/2019**

**THE 18th NATIONAL CONFERENCE OF THE VIETNAMESE PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY
V.P.S. 3rd - 4th AUGUST 2019**

HỘI THẢO QUỐC GIA BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM LẦN THỨ 18

63-630
NN-2019-4/140-19



NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP

**HỘI NGHIÊN CỨU BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM
(V.P.S.)**

**ĐẠI HỘI LẦN THỨ NHẤT
HỘI NGHIÊN CỨU BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM
(2019 - 2024)**

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

Lần thứ 18 tại Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Miền Nam
3 - 4/8/2019

The 18th National Conference of the Vietnamese Phytopathological Society
V.P.S. 3rd - 4th August 2019

**NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP
HÀ NỘI - 2019**

**ĐẠI HỘI LẦN THỨ NHẤT HỘI NGHIÊN CỨU BỆNH HẠI
THỰC VẬT VIỆT NAM (2019 - 2024) & HỘI THẢO QUỐC GIA
BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM LẦN THỨ 18**

Chủ trì Đại hội và Hội thảo

GS.TS. VŨ TRIỆU MÂN
GS.TS. NGUYỄN THƠ
GS.TS. BÙI CHÍ BỬU
GS.TS. BÙI CÁCH TUYẾN
GS.TS. NGUYỄN VĂN TUẤT

Ban biên tập: GS.TS. Vũ Triệu Mân
TS. Nguyễn Đắc Khoa
ThS. Phạm Thanh Thủy

Ngày 3 - 4/8/2019

Tại Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Miền Nam

**CHƯƠNG TRÌNH ĐẠI HỘI ĐẠI BIỂU
HỘI NGHIÊN CỨU BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM
LẦN THỨ NHẤT NHIỆM KỲ (2019 - 2024)**

Thời gian: 8h30 ngày 3 tháng 8 năm 2019.

Địa điểm: Hội trường tầng 9 Trụ sở Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Miền Nam, số 121 Nguyễn Bình Khiêm, phường Đa Kao, quận 1, thành phố Hồ Chí Minh.

Thành phần: 125 đại biểu đại diện cho 250 Hội viên chính thức Hội Nghiên cứu Bệnh hại thực vật Việt Nam.

STT	Thời gian	Nội dung công việc	Chủ trì thực hiện
1	8h - 8h30	Đón tiếp đại biểu	Ban Tổ chức
2	8h30 - 8h40	- Chào cờ - Tuyên bố lý do, giới thiệu đại biểu - Giới thiệu và bầu Đoàn Chủ tịch	Ban Tổ chức
3	8h40 - 8h45	Giới thiệu và bầu thư ký Đại hội	Đoàn Chủ tịch
4	8h45 - 8h55	Thông qua Quy chế, Chương trình Đại hội (Biểu quyết giơ tay)	Đoàn Chủ tịch
5	8h55 - 9h10	Báo cáo quá trình thành lập Hội Nghiên cứu Bệnh hại thực vật Việt Nam của Ban Vận động thành lập Hội	Đoàn Chủ tịch
6	9h10 - 9h20	Đại diện Bộ Nội vụ công bố và trao Quyết định thành lập Hội Nghiên cứu Bệnh hại thực vật Việt Nam	Đại diện Bộ Nội vụ
7	9h20 - 10h00	Báo cáo Dự thảo Điều lệ hoạt động của Hội Nghiên cứu Bệnh hại thực vật Việt Nam lần thứ nhất, nhiệm kỳ 2019 - 2024 (Biểu quyết giơ tay)	Đoàn Chủ tịch chủ trì và toàn thể Hội viên dự đại hội
8	10h00 - 10h10	Đại diện lãnh đạo cấp trên phát biểu ý kiến	Đại diện lãnh đạo Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn

9	10h10 - 11h00	<p>1 - Bầu Ban Chấp hành và Ban Kiểm tra Hội Nghiên cứu Bệnh hại thực vật Việt Nam lần thứ nhất, nhiệm kỳ 2019 - 2024 (Biểu quyết giờ tay)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Thông qua đề án nhân sự của Ban Chấp hành và Ban Kiểm tra nhiệm kỳ 2019 - 2024 - Ứng cử, đề cử chốt danh sách bầu cử - Bầu cử <p>2 - Ban Chấp hành và Ban Kiểm tra nhiệm kỳ 2019 - 2024 ra mắt Đại hội</p>	Đoàn Chủ tịch và toàn thể Hội viên dự Đại hội
10	11h00 - 11h10	Báo cáo dự thảo Phương hướng hoạt động của Hội Nghiên cứu Bệnh hại thực vật Việt Nam lần thứ nhất nhiệm kỳ 2019 - 2024 (Biểu quyết giờ tay)	Đoàn Chủ tịch chủ trì, toàn thể Hội viên dự Đại hội
		Nghỉ giải lao (<i>Khách mời và đại biểu không trong thành phần Ban Chấp hành, Ban Kiểm tra</i>)	Khách mời và đại biểu
11	11h10 - 11h25	<p>Ban Chấp hành nhiệm kỳ 2019 - 2024 họp phiên đầu tiên:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Bầu Ban Thường vụ - Bầu Chủ tịch, Phó Chủ tịch, Tổng thư ký - Bầu các chức danh trong Ban Kiểm tra 	Ban Chấp hành và Ban Kiểm tra
12	11h25 - 11h35	Công bố và ra mắt Đại hội Ban Thường vụ, Chủ tịch, Phó Chủ tịch và Tổng Thư ký, Trưởng Ban Kiểm tra của Hội	Chủ tịch Hội
13	11h35 - 11h45	Phát biểu của Chủ tịch Hội Nghiên cứu Bệnh hại thực vật Việt Nam lần thứ nhất, nhiệm kỳ 2019 - 2024	Chủ tịch Hội
14	11h45 - 11h55	Thông qua Nghị quyết Đại hội lần thứ nhất nhiệm kỳ 2019 - 2024	Ban Thư Ký
15	11h55 - 12h00	<ul style="list-style-type: none"> - Bế mạc Đại hội - Chào cờ 	Ban Tổ chức

**BAN VẬN ĐỘNG THÀNH LẬP
HỘI NGHIÊN CỨU BỆNH HẠI THỰC VẬT
VIỆT NAM**
Số 02/NC-BHTV

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Tp. Hồ Chí Minh, ngày 03 tháng 8 năm 2019

BÁO CÁO

QUÁ TRÌNH VẬN ĐỘNG THÀNH LẬP HỘI NGHIÊN CỨU BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM

*Kính gửi Đại hội đại biểu toàn quốc Hội Nghiên cứu Bệnh hại thực vật Việt Nam,
Kính thưa Đại hội,*

Thay mặt Ban Vận động thành lập Hội Nghiên cứu Bệnh hại thực vật Việt Nam chúng tôi xin báo cáo với Đại hội quá trình thành lập của Hội chúng tôi như sau:

I. Ý TƯỞNG VÀ MỤC TIÊU THÀNH LẬP HỘI

Các nhà khoa học thế giới trong thế kỷ 21 đã coi bệnh cây là nguyên nhân gây ra mất mùa lớn nhất sau sự biến đổi của khí hậu. Ngày nay khi nông nghiệp công nghệ cao ngày càng mở rộng thì bệnh cây gây thiệt hại ngay cả trong phòng thí nghiệm và nhà kính nhà lưới, nơi đã loại hầu hết côn trùng và các nguyên nhân khác ra ngoài. Trước nhu cầu cấp thiết của sản xuất, cần huy động thêm tất cả các cán bộ kể cả những cán bộ đã nghỉ hưu, tăng cường trao đổi giữa các cơ quan và học tập kinh nghiệm quốc tế về phòng chống bệnh hại thực vật. Ngày 29/9/2001 được sự giúp đỡ của Liên hiệp Các Hội Khoa học và Kỹ thuật Việt Nam, Hội Các ngành Sinh học Việt Nam và sự ủng hộ của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn; Hội Sinh học phân tử bệnh lý thực vật Việt Nam đã được thành lập. Đến năm 2008 do cần phù hợp tên với các Hội cùng ngành trên thế giới để mở rộng hợp tác quốc tế, Hội đã xin đổi tên thành Hội Bệnh cây Việt Nam. Những năm gần đây nông nghiệp Việt Nam ngày càng hội nhập sâu vào chuỗi giá trị toàn cầu và phát triển rất mạnh. Cơ cấu tổ chức của Hội chỉ có vị thế một Hội nhỏ không có tư cách pháp nhân nằm trong Hội Các ngành Sinh học Việt Nam thuộc Liên hiệp Hội không còn phù hợp nữa. Hội đã phát triển lớn mạnh qua 17 cuộc Hội thảo toàn quốc về Bệnh cây và Sinh học phân tử. Đông đảo các Hội viên nghiên cứu về bệnh cây, côn trùng môi giới truyền bệnh, di truyền chọn giống chống bệnh, công nghệ sinh học, biện pháp phòng trừ sinh học, canh tác, hữu cơ sinh học... trong và ngoài ngành nông nghiệp khiến Hội từ một tổ chức nhỏ bé với 60 Hội viên lúc ban đầu đã thành một đơn vị với 17 Viện và 7 Trường Đại học có cán bộ tham gia Hội. Nhiều công trình khoa học của Hội và các Hội viên đã được công bố ở nước ngoài mang đến uy tín ngày càng tăng, ý tưởng tổ chức một Hội có tư cách pháp nhân đã được hình thành và ngày càng thổi

thúc Ban Lãnh đạo của Hội có quyết tâm thực hiện cuộc vận động này thành hiện thực. Hoạt động này trở thành mục tiêu phấn đấu của Lãnh đạo Hội.

II. QUÁ TRÌNH VẬN ĐỘNG THÀNH LẬP VÀ XIN CẤP PHÉP

Được sự nhất trí cao trong Ban Thường vụ và Ban Chấp hành Hội, đơn xin sắp xếp lại tổ chức của Chủ tịch Hội Bệnh cây ký ngày 20/3/2018 có kèm theo sự nhất trí của các Phó Chủ tịch và Tổng Thư ký Hội gửi tới Liên hiệp Hội và Hội Các ngành Sinh học Việt Nam. Đơn này đã được Chủ tịch Hội Các ngành Sinh học Việt Nam GS. Nguyễn Lân Dũng đồng ý và đề nghị Liên hiệp Các Hội Khoa học và Kỹ thuật Việt Nam xem xét. GS.TSKH. Đặng Vũ Minh - Chủ tịch Liên hiệp Hội đã họp với Ban Thường vụ và đi đến thống nhất cho phép Hội Bệnh cây được xem xét làm thủ tục tách ra khỏi Hội Các ngành Sinh học Việt Nam. Sự kiện này được ghi nhận bằng Công văn của Liên hiệp Hội số 425/LHHVN-TCCSH về việc Hỗ trợ các thủ tục thành lập Hội Nghiên cứu Bệnh hại thực vật Việt Nam do TSKH. Nghiêm Vũ Khải - Phó Chủ tịch Liên hiệp Hội ký gửi tới Bộ Nội vụ ngày 22/6/2018 và ngày 10/7/2018 Vụ trưởng Vụ Tổ chức phi Chính phủ - Bộ Nội vụ đã có Công văn số 3203/BNV-TCPCP hướng dẫn gửi đến Liên hiệp Hội và Chủ tịch Hội Bệnh cây. Chủ tịch Hội Bệnh cây đã thực hiện thành lập Hội theo hướng dẫn của Nghị định số 45/2010/NĐ-CP ngày 21/4/2010 của Chính phủ quy định về tổ chức, hoạt động và quản lý Hội; Nghị định số 33/2012/NĐ-CP ngày 13/4/2012 của Chính phủ sửa đổi bổ sung một số điều của Nghị định số 45/2010/NĐ-CP và Thông tư số 03/2013/TT-BNV ngày 16/4/2013 của Bộ Nội vụ quy định chi tiết thi hành Nghị định số 45/2010/NĐ-CP ngày 21/4/2010 của Chính phủ. Thực hiện tiến trình này Chủ tịch Hội và Ban Thường vụ đã thống nhất toàn Ban Chấp hành thực hiện phát động từ các chi hội hưởng ứng việc thực hiện Nghị định số 45 của Thủ tướng Chính phủ thực hiện thành lập Hội. Thành lập Ban Vận động thành lập Hội Nghiên cứu Bệnh hại thực vật Việt Nam gồm 21 thành viên đại diện cho các ngành khoa học, các cơ quan, các vùng miền, các lĩnh vực nghiên cứu, các cơ sở thực nghiệm, cơ sở đào tạo trong cả nước. Ngày 20/10/2018 Chủ tịch Hội với nhiệm vụ mới là Trưởng Ban Vận động thành lập Hội đã gửi công văn tới lãnh đạo Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (Bộ quản lý công tác chuyên môn của Hội) để xin công nhận Ban Vận động thành lập Hội. Đơn và tài liệu được Vụ Tổ chức cán bộ - Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn tiếp nhận và được thẩm định qua 5 cơ quan chuyên môn trong Bộ. Do Ban Vận động chúng tôi đã nghiêm túc thực hiện, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đã có Quyết định số 5055/QĐ-TCCB ngày 24/12/2018 do Thứ trưởng Trần Thanh Nam ký đã công nhận Ban Vận động thành lập Hội gồm 21 thành viên. Các Chi hội đã phát động đăng ký tham gia Hội. Kết quả có tới 726 đơn xin gia nhập Hội, trong đó có tới hơn 370 người đăng ký là Hội viên chính thức, 206 Hội viên liên kết và 150 sinh viên. Sau khi Ban Vận động thành lập Hội được công nhận, Trưởng Ban đã cùng các cán bộ văn phòng lập hồ sơ, viết đơn xin thành lập Hội, nhờ hướng dẫn của Vụ Tổ chức phi Chính phủ - Bộ Nội vụ xây dựng bản Điều lệ mới của Hội, Trưởng Ban Vận

động thành lập Hội chịu trách nhiệm kiểm tra chi tiết các tài liệu và làm việc trực tiếp với Bộ Nội vụ để hoàn thành các thủ tục trình Bộ Nội vụ. Sau khi hoàn thành hồ sơ được in thành 6 bản gồm các văn bản trình và 726 đơn xin gia nhập Hội để gửi 5 Bộ, Ngành thẩm định lại như Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, Bộ Công an, Hội Các ngành Sinh học Việt Nam. Sau sáu tháng thẩm định và thông qua lần phê duyệt cuối cùng của Ban Cán sự Đảng của Bộ Nội vụ gồm các thứ trưởng để thống nhất quan điểm. Ban Vận động thành lập Hội đã tập trung giải đáp mọi ý kiến của các cấp, cho đến giai đoạn cuối cùng vẫn tiếp tục thường trực đáp ứng mọi đề nghị của Bộ Công an, Bộ Nội vụ. Sau hơn một năm kể từ ngày 20/3/2018, những mong muốn ban đầu của Ban Chấp hành và toàn thể Hội viên Hội Nghiên cứu Bệnh hại thực vật Việt Nam đã được thực hiện. Bộ Nội vụ đã có Quyết định số 515/QĐ-BNV ngày 26/6/2019 về việc cho phép thành lập Hội Nghiên cứu Bệnh hại thực vật Việt Nam do Thứ trưởng Trần Anh Tuấn ký.

III. KẾT QUẢ CỦA QUÁ TRÌNH VẬN ĐỘNG

Quyết định số 515/QĐ-BNV ngày 26/6/2019 là kết quả của quá trình vận động thành lập Hội. Đây là thành công của toàn thể tập thể Hội viên Hội chúng ta, trong đó Ban Vận động thành lập Hội có vai trò trung tâm. Thay mặt Ban Vận động chúng tôi chân thành cảm ơn Bộ Nội vụ, Vụ Tổ chức phi Chính phủ - Bộ Nội vụ, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, Liên hiệp Các Hội Khoa học và Kỹ thuật Việt Nam, Hội Các ngành Sinh học Việt Nam, Bộ Công an và các bộ ngành khác đã quan tâm ủng hộ, giúp đỡ chúng tôi để đi đến quyết định này. Từ một Hội chỉ có vài trăm Hội viên chính thức, các chi hội đã vận động để Hội ta có tới 726 Hội viên mặc dù trong đó có tới 206 Hội viên danh dự và Hội viên liên kết, 150 sinh viên cũng chứng tỏ Hội chúng ta có sức lan tỏa mạnh cũng như sự hấp dẫn với mọi người trong ngành. Là nơi hoạt động thiết thực cho việc bảo vệ sản xuất nông nghiệp mà riêng ngành trồng trọt hàng năm xuất khẩu hàng chục tỷ USD vào các thị trường thế giới. Cũng qua cuộc vận động này chúng tôi thấy rõ tiềm năng phát triển của Hội và mong rằng sắp tới số Hội viên chính thức của Hội sẽ tăng lên vững chắc, để Hội chúng ta ngày càng vững mạnh, bước vào giai đoạn cách mạng 4.0 với nhiều thành công.

Trưởng Ban Vận động thành lập Hội

GS.TS. Vũ Triệu Mân

BỘ NỘI VỤ

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

ĐIỀU LỆ

HỘI NGHIÊN CỨU BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM

*(Phê duyệt kèm theo Quyết định số 515/QĐ-BNV
ngày 26 tháng 6 năm 2019 của Bộ trưởng Bộ Nội vụ)*

Chương I

QUY ĐỊNH CHUNG

Điều 1. Tên gọi, biểu tượng

- Tên tiếng Việt: Hội Nghiên cứu Bệnh hại Thực vật Việt Nam
- Tên tiếng Anh: Vietnamese Phytopathological Society
- Tên viết tắt tiếng Anh: VPS

Điều 2. Tôn chỉ, mục đích

- Hội Nghiên cứu Bệnh hại Thực vật Việt Nam (sau đây gọi tắt là Hội) là tổ chức xã hội - nghề nghiệp của các tổ chức và công dân Việt Nam đã và đang hoạt động trong lĩnh vực nghiên cứu khoa học, giảng dạy, giáo dục và đào tạo, tư vấn, quản lý khoa học trong ngành nông, lâm nghiệp và các loại bệnh hại thực vật trong nông, lâm nghiệp trên phạm vi cả nước.
- Mục đích của Hội nhằm tập hợp, đoàn kết Hội viên, hỗ trợ và giúp đỡ nhau đẩy mạnh hoạt động nghiên cứu, tuyên truyền, phổ biến, phát triển, ứng dụng và nâng cao chất lượng hoạt động khoa học công nghệ trong phát hiện, phòng chống các loại bệnh hại thực vật ở Việt Nam và góp phần thúc đẩy nền kinh tế nông, lâm nghiệp nói riêng và nền kinh tế - xã hội đất nước nói chung phát triển, đáp ứng yêu cầu công nghiệp hóa, hiện đại hóa và hội nhập quốc tế.

Điều 3. Địa vị pháp lý, trụ sở

- Hội có tư cách pháp nhân, con dấu, biểu tượng (logo) và tài khoản riêng; hoạt động theo quy định pháp luật Việt Nam và Điều lệ Hội được Bộ Nội vụ phê duyệt.
- Trụ sở chính của Hội đặt tại Phòng 310, Tầng 3, Nhà B, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, Trâu Quỳ, Gia Lâm, Hà Nội.
- Hội có thể thành lập Văn phòng Đại diện tại một số tỉnh, thành phố trực thuộc Trung ương theo nhu cầu và quy định của pháp luật.

Điều 4. Phạm vi, lĩnh vực hoạt động

1. Hội hoạt động trên phạm vi cả nước trong lĩnh vực nghiên cứu, quản lý và ứng dụng khoa học công nghệ mới vào phòng chống các loại bệnh hại thực vật ở Việt Nam đáp ứng yêu cầu, tiêu chuẩn trong nước và quốc tế.

2. Hội chịu sự quản lý nhà nước của Bộ Nội vụ và sự quản lý về ngành, lĩnh vực hoạt động của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn và các Bộ, Ngành khác có liên quan theo quy định của pháp luật.

Điều 5. Nguyên tắc tổ chức và hoạt động

1. Tự nguyện, tự quản.
2. Dân chủ, bình đẳng, công khai, minh bạch.
3. Tự bảo đảm kinh phí hoạt động.
4. Không vì mục đích lợi nhuận.
5. Tuân thủ Hiến pháp, pháp luật và Điều lệ Hội.

Chương II QUYỀN HẠN VÀ NHIỆM VỤ CỦA HỘI

Điều 6. Quyền hạn

1. Tổ chức và hoạt động theo Điều lệ Hội đã được Bộ trưởng Bộ Nội vụ phê duyệt và quy định pháp luật khác có liên quan.

2. Tuyên truyền tôn chỉ, mục đích hoạt động của Hội và đại diện cho Hội viên trong hoạt động đối nội, đối ngoại phù hợp với tôn chỉ, mục đích, chức năng, nhiệm vụ của Hội theo quy định của pháp luật. Tập hợp, đoàn kết, hướng dẫn, giúp đỡ Hội viên đẩy mạnh hoạt động nghiên cứu khoa học và ứng dụng khoa học và công nghệ trong phòng chống các loại bệnh hại thực vật ở Việt Nam.

3. Đại diện cho Hội viên kiến nghị, đề xuất với cơ quan nhà nước có thẩm quyền về các chủ trương, chính sách liên quan đến lĩnh vực hoạt động của Hội. Tham gia, phối hợp, hỗ trợ đào tạo nguồn nhân lực khoa học và công nghệ về các loại bệnh hại thực vật trong nông, lâm nghiệp; phối hợp, hỗ trợ các cơ quan, đơn vị hoạt động trong lĩnh vực nghiên cứu, ứng dụng, quản lý các công trình khoa học nghiên cứu về bệnh hại thực vật theo quy định của pháp luật.

4. Tham gia chương trình, dự án, đề tài nghiên cứu, tư vấn, phản biện và giám định xã hội trong nghiên cứu, đề xuất các biện pháp phòng trừ các loại bệnh hại thực vật ở Việt Nam khi được các cơ quan Đảng, Nhà nước yêu cầu; cung cấp dịch vụ về các vấn đề thuộc lĩnh vực hoạt động của Hội theo quy định của pháp luật.

5. Tổ chức hội nghị, hội thảo trong nước và quốc tế về các loại bệnh hại thực vật theo quy định của pháp luật. Trợ giúp Hội viên trong định hướng nghiên cứu liên kết

giữa kinh tế với khoa học công nghệ, nông nghiệp công nghệ cao, góp phần phát triển, cải thiện và nâng cao chất lượng nông, lâm sản đáp ứng tiêu chuẩn trong nước và xuất khẩu.

6. Mở rộng quan hệ, hợp tác với các tổ chức, cá nhân hoạt động cùng lĩnh vực ở trong và ngoài nước theo quy định của pháp luật để trao đổi học thuật và đăng tải các công trình khoa học và công nghệ trên tạp chí uy tín trong nước và quốc tế.

7. Tạo điều kiện cho Hội viên gặp gỡ, trao đổi thông tin và hợp tác với các tổ chức hoạt động trong lĩnh vực nghiên cứu khoa học và công nghệ về bệnh hại thực vật trong nước, các nước và quốc tế phù hợp với quy định của pháp luật Việt Nam và thông lệ quốc tế. Tập hợp, khuyến khích và động viên người Việt Nam ở nước ngoài tham gia các hoạt động nghiên cứu, ứng dụng khoa học công nghệ về bệnh hại thực vật ở Việt Nam theo quy định của pháp luật hiện hành.

8. Thành lập các tổ chức có tư cách pháp nhân trực thuộc Hội và được xuất bản tạp chí, chuyên san và các ấn phẩm khác theo quy định của pháp luật.

9. Được gây quỹ phục vụ cho các hoạt động của Hội từ phí đóng góp của Hội viên và các nguồn thu từ hoạt động kinh doanh, dịch vụ. Được nhận các nguồn tài trợ hợp pháp của các tổ chức, cá nhân trong và ngoài nước theo quy định của pháp luật.

10. Khen thưởng, kiến nghị với cơ quan nhà nước có thẩm quyền khen thưởng các Hội viên có thành tích xuất sắc trong nghiên cứu ứng dụng khoa học và công nghệ về các loại bệnh hại thực vật trong nước và quốc tế; khuyến khích sự tham gia, đầu tư, ứng dụng tiến bộ khoa học và công nghệ về bệnh hại thực vật phục vụ sản xuất và đời sống, góp phần thúc đẩy phát triển kinh tế - xã hội của đất nước.

11. Được gia nhập các tổ chức quốc tế tương ứng và ký kết, thực hiện thỏa thuận quốc tế theo quy định của pháp luật và báo cáo với cơ quan quyết định cho phép thành lập Hội, cơ quan quản lý nhà nước về ngành, lĩnh vực Hội hoạt động về việc gia nhập tổ chức quốc tế tương ứng, Hội được phép ký kết, thực hiện hợp tác và các thỏa thuận quốc tế phù hợp quy định của pháp luật Việt Nam và thông lệ quốc tế.

Điều 7. Nhiệm vụ

1. Chấp hành quy định của pháp luật và Điều lệ Hội trong quá trình tổ chức các hoạt động của Hội, các quy định pháp luật về sở hữu trí tuệ, báo chí, xuất bản, quyền tác giả, quyền liên quan và các quy định pháp luật khác có liên quan đến tổ chức, hoạt động của Hội và Điều lệ Hội. Không lợi dụng hoạt động của Hội để làm phương hại đến an ninh quốc gia, trật tự xã hội, đạo đức, thuần phong mỹ tục, truyền thống của dân tộc, quyền và lợi ích hợp pháp của cá nhân, tổ chức.

2. Tổ chức phối hợp hoạt động giữa các Hội viên, bảo vệ quyền, lợi ích hợp pháp của Hội viên vì lợi ích chung của Hội theo quy định của pháp luật hiện hành; hòa giải

tranh chấp, giải quyết các đơn, thư kiến nghị, khiếu nại, tố cáo trong nội bộ Hội theo quy định của pháp luật.

3. Tuyên truyền, phổ biến kiến thức, trình độ chuyên môn nghiệp vụ, kỹ thuật mới về các loại bệnh hại thực vật và phòng trừ bệnh hại trong sản xuất đáp ứng yêu cầu, tiêu chuẩn, chất lượng tiên tiến trong khu vực và trên thế giới cho Hội viên và cá nhân, tổ chức có nhu cầu theo quy định của pháp luật. Hướng dẫn Hội viên tuân thủ pháp luật, chế độ, chính sách của Nhà nước và Điều lệ, quy chế, quy định của Hội.

4. Tham gia ý kiến đối với dự thảo văn bản quy phạm, pháp luật có liên quan đến nội dung hoạt động của Hội theo quy định của pháp luật. Kiến nghị với cơ quan nhà nước có thẩm quyền về các vấn đề có liên quan đến sự phát triển của Hội và lĩnh vực Hội hoạt động theo quy định của pháp luật.

5. Tuân thủ các quy định của pháp luật và báo cáo cơ quan nhà nước có thẩm quyền khi thực hiện các công việc: hoạt động hàng năm của Hội, tổ chức Đại hội nhiệm kỳ, Đại hội bất thường, thay đổi các chức danh lãnh đạo chủ chốt; thay đổi trụ sở Hội; sửa đổi, bổ sung Điều lệ, thành lập Văn phòng Đại diện và các tổ chức có tư cách pháp nhân trực thuộc Hội.

6. Chấp hành sự hướng dẫn, kiểm tra, thanh tra của cơ quan nhà nước có thẩm quyền theo quy định của pháp luật.

7. Lập và lưu giữ tại trụ sở Hội danh sách Hội viên, Chi hội, Văn phòng Đại diện và các đơn vị trực thuộc Hội; sổ sách, chứng từ về tài sản, tài chính của Hội và Văn phòng Đại diện; biên bản các cuộc họp Ban Chấp hành, Ban Thường vụ và Ban Kiểm tra Hội.

8. Xây dựng và ban hành quy tắc đạo đức nghề nghiệp trong lĩnh vực hoạt động Hội và thực hiện các nhiệm vụ khác khi cơ quan có thẩm quyền yêu cầu.

Chương III

HỘI VIÊN

Điều 8. Hội viên và tiêu chuẩn Hội viên

1. Hội viên của Hội Nghiên cứu Bệnh hại Thực vật Việt Nam gồm Hội viên chính thức, Hội viên liên kết và Hội viên danh dự:

a) Hội viên chính thức: Tổ chức, công dân Việt Nam đã và đang hoạt động trong lĩnh vực nghiên cứu, giảng dạy, quản lý khoa học và công nghệ, giáo dục và đào tạo về khoa học nông, lâm nghiệp và các loại bệnh hại thực vật và cây trồng có liên quan, tán thành Điều lệ Hội Nghiên cứu Bệnh hại Thực vật Việt Nam, tự nguyện nộp đơn xin gia nhập Hội và được Hội xem xét, quyết định kết nạp;

b) Hội viên liên kết: Gồm tổ chức, công dân Việt Nam hoạt động chuyên môn liên quan đến lĩnh vực Hội hoạt động, có đóng góp tích cực cho sự phát triển của Hội, tán

thành Điều lệ Hội Nghiên cứu Bệnh hại Thực vật Việt Nam, tự nguyện nộp đơn gia nhập Hội, được Hội xem xét, công nhận;

c) Hội viên danh dự: Tổ chức, công dân Việt Nam không có điều kiện hoặc không có đủ tiêu chuẩn trở thành Hội viên chính thức, nhưng có đóng góp tích cực cho sự phát triển của Hội, tán thành Điều lệ Hội Nghiên cứu Bệnh hại Thực vật Việt Nam được Ban Chấp hành Hội xem xét, công nhận.

2. Tiêu chuẩn Hội viên chính thức:

a) Hội viên tổ chức: Các tổ chức hoạt động trong lĩnh vực nghiên cứu, quản lý khoa học và công nghệ, giáo dục và đào tạo, quản lý sản xuất, ứng dụng phòng trừ bệnh hại thực vật và liên quan đến cây trồng được thành lập theo quy định của pháp luật, có tư cách pháp nhân đều có thể đăng ký tham gia hoạt động Hội. Đại diện Hội viên của tổ chức gia nhập Hội phải là công dân Việt Nam có trình độ từ đại học trở lên, có tư tưởng chính trị, phẩm chất đạo đức tốt;

b) Công dân Việt Nam từ đủ 18 (mười tám) tuổi trở lên, có đầy đủ năng lực hành vi dân sự, có trình độ từ đại học, cao đẳng trở lên đã và đang công tác trong lĩnh vực nghiên cứu, giảng dạy, quản lý khoa học và công nghệ, giáo dục và đào tạo, nghiên cứu ứng dụng phòng chống bệnh hại thực vật, có tư tưởng chính trị, phẩm chất đạo đức tốt đều có thể trở thành Hội viên.

Điều 9. Nghĩa vụ của Hội viên

1. Chấp hành Điều lệ của Hội, các Nghị quyết Đại hội, các quyết định của Ban Chấp hành, Ban Thường vụ.

2. Thực hiện nghiêm các chủ trương của Đảng, chính sách, pháp luật của Nhà nước, giữ gìn uy tín và đạo đức nghề nghiệp.

3. Đoàn kết, xây dựng Hội phát triển vững mạnh vì lợi ích chung của Hội, Hội viên và của đất nước; xây dựng quan hệ hợp tác, giúp đỡ giữa các Hội viên.

4. Hội viên chính thức đóng góp Hội phí và các khoản xây dựng quỹ của Hội theo quy định của Hội, Hội viên danh dự và Hội viên liên kết không đóng Hội phí cho Hội nhưng có nhiệm vụ vận động các tổ chức, cá nhân bên ngoài Hội ủng hộ xây dựng quỹ của Hội.

5. Bảo vệ uy tín của Hội, không được tự ý nhân danh Hội hoặc đại diện Hội trong các quan hệ, giao dịch khi không được Hội phân công, giới thiệu bằng văn bản.

6. Thực hiện chế độ thông tin, báo cáo theo quy định của Hội, Điều lệ Hội và quy định của pháp luật.

7. Đóng Hội phí đầy đủ và đúng hạn theo quy định của Hội.

Điều 10. Quyền của Hội viên

1. Hội viên chính thức có quyền tham gia thảo luận, biểu quyết chương trình, kế hoạch hoạt động của Hội, đề đạt, phát biểu ý kiến về các chủ trương, chính sách của Đảng và Nhà nước liên quan đến lĩnh vực, phạm vi hoạt động của Hội theo Điều lệ Hội và quy định của pháp luật.

2. Được bảo vệ quyền lợi hợp pháp trong hoạt động nghề nghiệp theo quy định của pháp luật và Điều lệ Hội. Được dự Đại hội, tham gia ứng cử, bầu cử vào các chức danh lãnh đạo, Ban Kiểm tra theo quy định của Hội.

3. Được chất vấn về mọi hoạt động của Hội. Được cử tham gia hội nghị, hội thảo, bồi dưỡng chuyên môn, nghiên cứu khoa học, chuyển giao công nghệ, hỗ trợ, hướng dẫn công bố, đăng tải các công trình khoa học trên tạp chí của Hội, tạp chí khoa học trong nước và quốc tế theo quy định của Điều lệ và quy định của pháp luật.

4. Được ra khỏi Hội khi đã báo cáo với tổ chức Hội tự xét thấy không thể tiếp tục là Hội viên.

5. Được giới thiệu công dân, tổ chức có đủ tiêu chuẩn tham gia là Hội viên và được Hội xem xét khen thưởng nếu có nhiều đóng góp tích cực cho sự phát triển của Hội theo quy định của Hội, Điều lệ Hội và quy định của pháp luật.

6. Được cấp thẻ “Hội viên Hội Nghiên cứu Bệnh hại Thực vật Việt Nam”. Ban Chấp hành Hội quy định cụ thể việc ấn hành, cấp phát và quản lý thẻ Hội viên.

7. Hội viên liên kết và Hội viên danh dự được hưởng quyền và nghĩa vụ như Hội viên chính thức, trừ quyền biểu quyết các vấn đề của Hội và ứng cử, bầu cử Ban Lãnh đạo, Ban Kiểm tra của Hội.

Điều 11. Hình thức, thủ tục và thẩm quyền kết nạp, khai trừ, xóa tên Hội viên

1. Thủ tục kết nạp Hội viên: Tổ chức, công dân Việt Nam có đủ tiêu chuẩn theo quy định tại Điều 8 Điều lệ này muốn gia nhập Hội hoặc Hội viên muốn ra khỏi Hội phải làm đơn gửi Văn phòng Hội. Việc kết nạp, xóa tên Hội viên do Văn phòng Hội tổng hợp, báo cáo Ban Chấp hành Hội xem xét và trình Chủ tịch Hội ký quyết định.

2. Tư cách Hội viên sẽ bị chấm dứt hoặc bị xóa tên khỏi danh sách Hội viên của Hội khi xảy ra một trong các trường hợp sau:

a) Tự nguyện xin ra khỏi Hội khi xét thấy không thể hoặc không muốn tiếp tục tham gia hoạt động Hội. Trong trường hợp này, Hội viên thông báo chính thức bằng văn bản cho Văn phòng Hội trước (01) một tháng và phải nộp lại thẻ Hội viên;

b) Hội viên hoạt động trái với Điều lệ làm ảnh hưởng đến quyền lợi và uy tín của Hội;

c) Hội viên vi phạm pháp luật bị kết tội và phải chịu hình phạt khi có bản án kết tội của tòa án có hiệu lực pháp luật;

d) Hội viên bị chết, mất tích, tước quyền công dân hoặc bị hạn chế năng lực hành vi dân sự;

đ) Tổ chức tự ngừng hoạt động, bị cơ quan có thẩm quyền đình chỉ hoạt động hoặc bị mất tư cách pháp nhân, tuyên bố phá sản;

e) Hội viên không tham gia sinh hoạt Hội trong 03 (ba) kỳ liên tiếp, không đóng Hội phí trong thời gian từ 01 (một) năm trở lên mà không có lý do chính đáng.

3. Hội viên bị khai trừ khi có trên 1/2 (một phần hai) số Ủy viên Ban Chấp hành biểu quyết tán thành. Quyết định khai trừ Hội viên có hiệu lực kể từ ngày Chủ tịch Hội ký.

4. Văn phòng Hội có trách nhiệm đăng tải danh sách Hội viên kết nạp mới và thông báo danh sách Hội viên bị xóa tên công khai trên website của Hội trong vòng 30 (ba mươi) ngày làm việc kể từ ngày quyết định khai trừ có hiệu lực.

Chương IV **TỔ CHỨC, HOẠT ĐỘNG CỦA HỘI**

Điều 12. Cơ cấu tổ chức của Hội

1. Đại hội;
2. Ban Chấp hành;
3. Ban Thường vụ;
4. Ban Kiểm tra;
5. Văn phòng Hội, các ban chuyên môn;
6. Các tổ chức có tư cách pháp nhân trực thuộc Hội được thành lập theo quy định của pháp luật (nếu có).

Điều 13. Đại hội nhiệm kỳ, Đại hội bất thường

1. Cơ quan lãnh đạo cao nhất của Hội Nghiên cứu Bệnh hại Thực vật Việt Nam là Đại hội nhiệm kỳ hoặc Đại hội bất thường do Ban Chấp hành Hội triệu tập. Đại hội nhiệm kỳ được tổ chức 05 (năm) năm 01 (một) lần. Đại hội bất thường được triệu tập khi có ít nhất 2/3 (hai phần ba) tổng số Ủy viên Ban Chấp hành hoặc có ít nhất trên 1/2 (một phần hai) tổng số Hội viên chính thức đề nghị.

2. Đại hội nhiệm kỳ hoặc Đại hội bất thường được tổ chức dưới hình thức Đại hội toàn thể hoặc Đại hội đại biểu. Số lượng và cơ cấu đại biểu tham dự Đại hội do Ban Chấp hành Hội quyết định căn cứ vào tỷ lệ Hội viên ở các khu vực.

3. Đại hội toàn thể hoặc Đại hội đại biểu được coi là hợp lệ khi có ý kiến tổ chức Đại hội của Bộ Nội vụ theo quy định của pháp luật về Hội và khi có trên 1/2 (một phần hai) số Hội viên chính thức hoặc có trên 1/2 (một phần hai) số đại biểu chính thức có mặt.

4. Hội nghị thường niên: Căn cứ vào nhu cầu và tình hình hoạt động cụ thể, Hội có thể tổ chức Hội nghị thường niên 01 (một) năm 01 (một) lần để tổng kết, đánh giá các hoạt động của Hội và xác định phương hướng hoạt động của năm tiếp theo sát với hoạt động thực tiễn của Hội, Hội viên.

5. Đại hội có nhiệm vụ, quyền hạn:

a) Thảo luận và thông qua báo cáo tổng kết hoạt động nhiệm kỳ qua và xác định chương trình, phương hướng, nhiệm vụ hoạt động của Hội trong nhiệm kỳ tới;

b) Thảo luận và thông qua báo cáo kiểm điểm hoạt động nhiệm kỳ của Ban Chấp hành và Ban Kiểm tra của Hội;

c) Thông qua báo cáo tài chính của Hội nhiệm kỳ qua và kế hoạch tài chính của Hội trong nhiệm kỳ tới;

d) Thảo luận và thông qua việc sửa đổi, bổ sung Điều lệ hoặc đổi tên Hội (nếu có). Bầu Ban Chấp hành, Ban Kiểm tra Hội;

đ) Quyết định việc chia, tách; sáp nhập; giải thể; đổi tên hoặc gia nhập các tổ chức quốc gia, khu vực và quốc tế có cùng lĩnh vực hoạt động theo quy định của pháp luật;

e) Thảo luận và quyết định những vấn đề quan trọng của Hội vượt quá thẩm quyền giải quyết của Ban Chấp hành Hội;

g) Thông qua Nghị quyết Đại hội;

6. Nguyên tắc biểu quyết tại Đại hội:

a) Đại hội có thể biểu quyết bằng hình thức giơ tay hoặc bỏ phiếu kín, hình thức biểu quyết do Đại hội quyết định;

b) Việc biểu quyết thông qua các quyết định của Đại hội phải được trên 1/2 (một phần hai) tổng số đại biểu chính thức có mặt tại Đại hội biểu quyết tán thành;

c) Trường hợp vắng mặt, đại biểu được quyền gửi ý kiến tham gia bằng văn bản hoặc thư điện tử và có giá trị như đại biểu có mặt tại Đại hội. Cách thức, nội dung, thông tin gửi xin ý kiến đối với đại biểu vắng mặt do Ban Chấp hành quy định, đảm bảo tính khách quan, trung thực, đầy đủ.

7. Báo cáo kết quả Đại hội:

Trong thời hạn 30 (ba mươi) ngày sau Đại hội, Hội gửi tài liệu báo cáo kết quả Đại hội đến cơ quan nhà nước có thẩm quyền cho phép thành lập và phê duyệt Điều lệ Hội theo quy định của pháp luật.

Điều 14. Ban Chấp hành

1. Ban Chấp hành Hội do Đại hội bầu trong số các Hội viên chính thức của Hội, là cơ quan lãnh đạo của Hội giữa hai kỳ Đại hội. Số lượng, cơ cấu, tiêu chuẩn Ủy viên Ban Chấp hành do Đại hội quyết định. Nhiệm kỳ của Ban Chấp hành cùng với nhiệm kỳ Đại hội.

2. Ban Chấp hành Hội họp thường niên 01 (một) năm 01 (một) lần để xem xét, đánh giá tình hình hoạt động của Hội, bàn và quyết định các giải pháp cần thiết để thực hiện các quyết định, Nghị quyết của Đại hội. Khi cần thiết, Ban Chấp hành có thể họp bất thường theo triệu tập của Chủ tịch Hội.

3. Việc bổ sung, thay thế Ủy viên Ban Chấp hành trong từng trường hợp phải được trên 2/3 (hai phần ba) số Ủy viên Ban Chấp hành biểu quyết tán thành. Số Ủy viên Ban Chấp hành bổ sung không được quá 1/3 (một phần ba) so với số lượng Ủy viên Ban Chấp hành đã được Đại hội quyết định.

4. Nhiệm vụ, quyền hạn của Ban Chấp hành:

a) Lãnh đạo, tổ chức và hướng dẫn thực hiện Điều lệ, Nghị quyết, quyết định chương trình và kế hoạch công tác hàng năm của Hội; quy định về phí Hội viên;

b) Triệu tập Đại hội nhiệm kỳ, Đại hội bất thường, các hội nghị, hội thảo của Hội; chuẩn bị các nội dung và các vấn đề khác của Đại hội;

c) Báo cáo tình hình tổ chức, hoạt động của Hội trong nhiệm kỳ và xây dựng phương hướng hoạt động của nhiệm kỳ tới;

d) Quyết định số lượng, bầu và miễn nhiệm Ban Thường vụ: Chủ tịch, các Phó Chủ tịch, Tổng Thư ký và một số Ủy viên. Bầu bổ sung Ủy viên Ban Chấp hành trong nhiệm kỳ (nếu có);

đ) Quy định cơ cấu bộ máy hoạt động của Hội. Xây dựng và phê duyệt các quy chế của Hội: quy chế hoạt động của Ban Chấp hành, Ban Thường vụ; quy chế quản lý, sử dụng tài sản, tài chính; quy chế quản lý, sử dụng con dấu; quy chế khen thưởng, kỷ luật; kết nạp, khai trừ Hội viên và các quy định khác trong nội bộ Hội phù hợp với Điều lệ Hội và quy định của pháp luật;

e) Thông qua kế hoạch dự toán, thanh quyết toán tài chính hàng năm của Hội;

g) Miễn nhiệm Ủy viên Ban Chấp hành khi vi phạm một trong những nội dung theo quy định tại khoản 2, điều 12 Điều lệ này;

h) Xem xét việc kết nạp, khai trừ và xóa tên Hội viên;

i) Xem xét biểu dương, khen thưởng các Hội viên có thành tích và kỷ luật các Hội viên khi có vi phạm;

k) Quyết định chủ trương thành lập các tổ chức có tư cách pháp nhân trực thuộc Hội theo quy định của pháp luật;

l) Ban Chấp hành có quyền miễn nhiệm Chủ tịch, các Phó Chủ tịch và các chức danh khác trong các trường hợp: sức khỏe không đảm bảo; không thực hiện hoặc không làm tròn chức trách, nhiệm vụ được giao; có hành vi vi phạm, gây mất đoàn kết nội bộ. Quyết định miễn nhiệm các chức danh lãnh đạo của Hội được thông qua khi có trên 2/3 (hai phần ba) số Ủy viên Ban Chấp hành Hội biểu quyết tán thành;

m) Thực hiện các nhiệm vụ và quyền hạn khác theo quy định của Điều lệ.

5. Nguyên tắc hoạt động của Ban Chấp hành:

a) Ban Chấp hành hoạt động theo quy chế của Ban Chấp hành, tuân thủ quy định của pháp luật và Điều lệ Hội;

b) Ban Chấp hành họp định kỳ 01 (một) năm 01 (một) lần hoặc có thể họp bất thường theo yêu cầu của Ban Thường vụ hoặc trên 2/3 (hai phần ba) tổng số Ủy viên trong Ban Chấp hành. Cuộc họp của Ban Chấp hành được coi là họp lệ khi có trên 2/3 (hai phần ba) tổng số Ủy viên Ban Chấp hành tham gia dự họp. Các Nghị quyết, quyết định của Ban Chấp hành được thông qua khi có trên 2/3 (hai phần ba) tổng số Ủy viên Ban Chấp hành biểu quyết tán thành;

c) Ban Chấp hành quyết định theo nguyên tắc quá bán, thiểu số phục tùng đa số. Trong trường hợp biểu quyết ngang nhau thì quyết định thuộc về bên có ý kiến của Chủ tịch Hội hoặc người chủ trì hội nghị. Ban Chấp hành có thể biểu quyết bằng hình thức giơ tay hoặc bỏ phiếu kín, việc quy định hình thức biểu quyết do Ban Chấp hành quyết định.

Điều 15. Ban Thường vụ

1. Ban Thường vụ do Ban Chấp hành Hội bầu trong số các Ủy viên Ban Chấp hành; Ban Thường vụ gồm: Chủ tịch, các Phó Chủ tịch, Tổng Thư ký và các Ủy viên. Số lượng, cơ cấu, tiêu chuẩn Ủy viên Ban Thường vụ do Ban Chấp hành Hội quyết định. Nhiệm kỳ của Ban Thường vụ cùng với nhiệm kỳ của Đại hội.

2. Ban Thường vụ có nhiệm vụ, quyền hạn sau:

a) Giúp Ban Chấp hành triển khai thực hiện Nghị quyết Đại hội, Điều lệ Hội, tổ chức thực hiện Nghị quyết, quyết định của Ban Chấp hành; lãnh đạo hoạt động của Hội giữa hai kỳ họp Ban Chấp hành;

b) Dự thảo các nội dung báo cáo, Nghị quyết của Đại hội và hội nghị thường niên; dự thảo các chương trình hoạt động, Nghị quyết các kỳ họp giữa hai kỳ họp Ban Chấp hành Hội;

c) Chuẩn bị các nội dung cho các kỳ họp định kỳ của Ban Chấp hành;

d) Quyết định thành lập các tổ chức, đơn vị trực thuộc Hội theo Nghị quyết của Ban Chấp hành và quy định của pháp luật; quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức; quy chế khen thưởng, kỷ luật; quyết định bổ nhiệm, miễn nhiệm lãnh đạo các tổ chức, đơn vị thuộc, trực thuộc Hội;

đ) Quyết định khen thưởng, kỷ luật Hội viên; giải quyết đơn thư kiến nghị, khiếu nại, tố cáo của Hội viên theo quy định của Điều lệ Hội và quy định của pháp luật;

e) Báo cáo công tác trong các kỳ họp của Ban Chấp hành.

3. Nguyên tắc hoạt động của Ban Thường vụ:

a) Ban Thường vụ hoạt động theo quy chế do Ban Chấp hành ban hành, tuân thủ quy định của pháp luật và Điều lệ Hội;

b) Ban Thường vụ họp định kỳ 06 (sáu) tháng 01 (một) lần; khi cần thiết theo đề nghị của Chủ tịch Hội, Ban Thường vụ có thể họp bất thường để giải quyết các công việc quan trọng, cấp bách phát sinh. Các Nghị quyết, quyết định của Ban Thường vụ được thông qua khi có trên 2/3 (hai phần ba) tổng số Ủy viên Ban Thường vụ dự họp biểu quyết tán thành. Trong trường hợp biểu quyết ngang nhau thì quyết định thuộc về bên có ý kiến của Chủ tịch Hội hoặc người chủ trì hội nghị;

c) Các cuộc họp của Ban Thường vụ họp lệ khi có trên 2/3 (hai phần ba) tổng số Ủy viên thường vụ tham dự cuộc họp. Ban Thường vụ có thể biểu quyết bằng hình thức giơ tay hoặc bỏ phiếu kín, việc quy định hình thức biểu quyết do Ban Thường vụ quyết định.

Điều 16. Ban Kiểm tra

1. Ban Kiểm tra Hội do Đại hội bầu. Số lượng, cơ cấu, tiêu chuẩn Ủy viên Ban Kiểm tra do Đại hội quyết định. Trưởng, Phó Ban Kiểm tra do Ban Kiểm tra bầu. Nhiệm kỳ của Ban Kiểm tra theo nhiệm kỳ của Đại hội.

2. Ủy viên Ban Kiểm tra có thể bị miễn nhiệm trước thời hạn theo quyết định của Đại hội bất thường hoặc theo đề nghị của ít nhất 2/3 (hai phần ba) số Ủy viên Ban Chấp hành hoặc ít nhất trên 1/2 (một phần hai) tổng số Hội viên chính thức.

3. Ban Kiểm tra có nhiệm vụ:

a) Kiểm tra, giám sát việc thực hiện Điều lệ Hội, Nghị quyết Đại hội, các quyết định của Ban Chấp hành, Ban Thường vụ Hội, các quy chế của Hội trong hoạt động của các đơn vị, tổ chức thuộc và trực thuộc Hội, Hội viên; kiểm tra việc quản lý, sử dụng tài sản, tài chính của Hội;

b) Xem xét, giải quyết các đơn, thư phản ánh, kiến nghị, khiếu nại, tố cáo trong nội bộ Hội và những vấn đề có liên quan đến Hội, Hội viên, tổ chức pháp nhân trực thuộc Hội theo quy định của Điều lệ Hội và quy định của pháp luật;

c) Kiểm tra những vấn đề liên quan đến Hội, Hội viên, Chi hội, các tổ chức pháp nhân trực thuộc Hội do các cơ quan chức năng nhà nước yêu cầu. Kết luận về các đợt kiểm tra phải thông báo đầy đủ cho Ban Chấp hành, Ban Thường vụ Hội, các tổ chức, đơn vị trực thuộc Hội.

4. Trong khi thực hiện nhiệm vụ kiểm tra, Ban Kiểm tra có quyền yêu cầu Ban Chấp hành và các tổ chức, đơn vị trực thuộc Hội cung cấp thông tin tài liệu, chứng từ liên quan đến các vấn đề thuộc phạm vi kiểm tra.

5. Ban Kiểm tra hoạt động theo quy chế do Ban Kiểm tra ban hành, tuân thủ quy định của pháp luật và Điều lệ Hội.

Điều 17. Chủ tịch, Phó Chủ tịch Hội

1. Chủ tịch Hội do Ban Chấp hành Hội bầu ra trong số Ủy viên Ban Thường vụ Hội, là người đại diện pháp nhân của Hội trước pháp luật. Tiêu chuẩn Chủ tịch Hội do Ban Chấp hành Hội quy định. Chủ tịch Hội có nhiệm vụ và quyền hạn:

a) Thực hiện nhiệm vụ, quyền hạn theo quy chế hoạt động của Ban Chấp hành, Ban Thường vụ Hội;

b) Chịu trách nhiệm trước pháp luật, Ban Chấp hành và Ban Thường vụ Hội về mọi hoạt động của Hội. Chỉ đạo, điều hành mọi hoạt động của Hội theo quy định của Điều lệ Hội; Nghị quyết Đại hội; Nghị quyết, quyết định của Ban Chấp hành, Ban Thường vụ Hội;

c) Chủ trì các phiên họp của Ban Chấp hành; chỉ đạo chuẩn bị, triệu tập và chủ trì các cuộc họp của Ban Thường vụ;

d) Ký các văn bản của Hội; ký quyết định thành lập các tổ chức, đơn vị thuộc và trực thuộc Hội theo quy định của pháp luật và Điều lệ Hội;

đ) Ký quyết định kết nạp, khai trừ Hội viên, quyết định khen thưởng, kỷ luật Hội viên; ký các hợp đồng về tuyển dụng nhân sự vào làm việc tại Văn phòng Hội, Chi nhánh, Văn phòng Đại diện theo quy định của Bộ Luật Lao động và Điều lệ Hội;

e) Phân công công việc đối với các Phó Chủ tịch Hội trong từng lĩnh vực công việc của Hội;

g) Làm chủ tài khoản của Hội hoặc ủy quyền cho Tổng Thư ký. Phân công nhiệm vụ cho các Ủy viên Ban Chấp hành, chủ trì cuộc họp Ban Chấp hành nhiệm kỳ kế tiếp cho đến khi bầu được Chủ tịch mới;

h) Trực tiếp chỉ đạo công việc của Tổng Thư ký, phê duyệt nhân sự của Hội theo Nghị quyết của Ban Thường vụ;

i) Cử Hội viên, cán bộ Hội đi công tác, tham dự hội nghị, hội thảo, tham gia các chương trình điều tra khảo sát, nghiên cứu, giám định, tư vấn, phản biện, chuyển giao công nghệ, bồi dưỡng nghiệp vụ ở trong, ngoài nước nhằm thực hiện nhiệm vụ của Hội theo quy định pháp luật;

k) Khi Chủ tịch Hội vắng mặt, việc chỉ đạo, điều hành giải quyết công việc của Hội được ủy quyền bằng văn bản cho một Phó Chủ tịch Hội.

2. Phó Chủ tịch Hội

a) Phó Chủ tịch Hội do Ban Chấp hành bầu ra trong số Ủy viên Ban Thường vụ. Số lượng, tiêu chuẩn Phó Chủ tịch Hội do Ban Chấp hành quyết định;

b) Phó Chủ tịch giúp Chủ tịch Hội chỉ đạo, điều hành công tác của Hội theo sự phân công của Chủ tịch Hội; chịu trách nhiệm trước Chủ tịch Hội và trước pháp luật về lĩnh

vực công việc được phân công hoặc ủy quyền. Phó Chủ tịch Hội thực hiện nhiệm vụ, quyền hạn theo quy chế hoạt động của Ban Chấp hành, Ban Thường vụ Hội phù hợp với Điều lệ Hội và quy định của pháp luật;

c) Tùy nhu cầu công tác, một Phó Chủ tịch được ủy quyền thay mặt Chủ tịch Hội để điều hành công việc của Hội và chủ trì giải quyết công việc thường xuyên của Hội và khi Chủ tịch đi vắng, chịu trách nhiệm trước pháp luật, trước Chủ tịch Hội về những quyết định của mình.

Điều 18. Tổng Thư ký

1. Tổng Thư ký Hội do Chủ tịch Hội đề cử để Ban Chấp hành Hội bầu trong số Ủy viên Ban Thường vụ, giúp Chủ tịch và các Phó Chủ tịch Hội. Tổng Thư ký đảm trách các hoạt động của Văn phòng Hội, xử lý các công việc hành chính, tổng hợp; giúp giao dịch với các tổ chức, cá nhân trong và ngoài nước theo yêu cầu công tác của Hội. Người được bầu làm Tổng Thư ký đương nhiên là Chánh Văn phòng Hội.

2. Nhiệm vụ, quyền hạn của Tổng Thư ký:

- a) Quản lý tài sản, tài chính và hồ sơ tài liệu của Hội;
- b) Dự thảo các văn bản, kế hoạch và báo cáo của Hội;
- c) Tổ chức thực hiện các quyết định của Chủ tịch và công tác thông tin, bồi dưỡng nghiệp vụ, hội nghị, hội thảo;
- d) Hỗ trợ Hội viên triển khai các hoạt động của Hội.

Điều 19. Văn phòng, các ban chuyên môn, các tổ chức có tư cách pháp nhân trực thuộc Hội

1. Văn phòng Hội là cơ quan tham mưu giúp việc của Hội do Tổng Thư ký kiêm Chánh Văn phòng, có nhiệm vụ giúp việc cho Ban Chấp hành, Ban Thường vụ và thực hiện công việc hành chính tổng hợp, kế toán tài chính cho Hội; thu thập và cung cấp thông tin cho Hội viên; phục vụ các cuộc họp, hội nghị, hội thảo của Hội.

2. Tùy theo yêu cầu công việc thực tế, Ban Thường vụ thành lập các ban chuyên môn giúp việc để thực hiện các chương trình, đề án, đề tài của Hội. Trong trường hợp cần thiết, Chủ tịch Hội có thể mời một số chuyên gia tư vấn thực hiện nhiệm vụ của Hội theo quy định của pháp luật.

3. Việc thành lập các tổ chức có tư cách pháp nhân trực thuộc Hội do Ban Chấp hành Hội xem xét thông qua, Ban Thường vụ tổng hợp trình Chủ tịch Hội quyết định và đăng ký hoạt động theo quy định của pháp luật. Hội có trách nhiệm báo cáo Bộ Nội vụ về việc thành lập tổ chức có tư cách pháp nhân trực thuộc theo quy định của Điều lệ và quy định của pháp luật.

4. Văn phòng, các ban chuyên môn của Hội hoạt động theo quy chế do Chủ tịch Hội phê duyệt, tuân thủ Điều lệ Hội và quy định của pháp luật.

Chương V **TÀI SẢN, TÀI CHÍNH**

Điều 20. Tài sản, tài chính

1. Tài sản của Hội gồm: Trụ sở, cơ sở vật chất, trang thiết bị, phương tiện làm việc, phục vụ hoạt động được hình thành từ nguồn kinh phí của Hội; do các tổ chức, cá nhân trong và ngoài nước tài trợ, hiến, tặng theo quy định của pháp luật.

2. Tài chính của Hội gồm:

a) Các khoản thu:

- Hội phí của Hội viên;
- Các khoản kinh phí có được do thực hiện các chương trình, đề án, dự án, đề tài (nếu có);
- Các nguồn tài trợ của các tổ chức, cá nhân trong và ngoài nước đóng góp, ủng hộ dưới hình thức hiện vật hay bằng tiền theo quy định của pháp luật;
- Các nguồn thu từ hoạt động tư vấn, nghiên cứu khoa học và các hoạt động khác phù hợp với quy định của pháp luật;
- Các nguồn thu hợp pháp khác.

b) Các khoản chi:

- Chi cho các hoạt động thường xuyên của Hội như mua sắm trang thiết bị, máy móc, chi phí lương cho các cán bộ chuyên trách, phụ cấp cho cán bộ không chuyên trách, công tác phí;
- Khen thưởng cho các Hội viên;
- Chi cho các hoạt động về thông tin, tuyên truyền, các hoạt động quan hệ hợp tác quốc tế, các hoạt động mang tính xã hội khác;
- Thuế và các khoản thu nộp khác cho ngân sách nhà nước (nếu có);
- Các khoản chi hợp pháp khác.

3. Các nguồn tài chính thu từ hoạt động kinh doanh, dịch vụ của Hội và các nguồn tài trợ hợp pháp của các tổ chức, cá nhân trong và ngoài nước theo quy định của pháp luật phải dành cho hoạt động của Hội, không được chia cho Hội viên.

Điều 21. Nguyên tắc quản lý, sử dụng tài sản, tài chính

1. Tài chính, tài sản của Hội được ghi chép, theo dõi, hạch toán, quản lý, sử dụng và chi tiêu theo quy chế quản lý, sử dụng tài sản, tài chính do Ban Chấp hành Hội quy định, đảm bảo công khai, minh bạch, tiết kiệm, phù hợp với tôn chỉ, mục đích, Điều lệ Hội và các quy định của pháp luật nhà nước về chế độ chi tiêu tài chính đối với các tổ chức xã hội - nghề nghiệp và phải được báo cáo trước Đại hội của Hội.

2. Các khoản thu, chi của Hội phải được Ban Kiểm tra của Hội kiểm tra, xác nhận trước khi báo cáo ra Đại hội.

3. Tài sản, tài chính của Hội khi chia, tách; sáp nhập; hợp nhất và giải thể được giải quyết theo quy định của pháp luật.

Điều 22. Quyết toán tài chính

Hàng năm Hội phải báo cáo quyết toán tài chính theo quy định quản lý tài chính hiện hành của nhà nước gửi cơ quan nhà nước có thẩm quyền theo quy định của pháp luật. Quyết toán tài chính của Hội được thực hiện theo năm tài chính và được thông báo tới các Hội viên.

Chương VI CHIA, TÁCH; SÁP NHẬP; HỢP NHẤT; ĐỔI TÊN VÀ GIẢI THỂ HỘI

Điều 23. Chia, tách; sáp nhập; hợp nhất; đổi tên và giải thể Hội

1. Việc chia, tách; sáp nhập; hợp nhất; đổi tên và giải thể Hội thực hiện theo quy định của Bộ Luật Dân sự, quy định của pháp luật về Hội, Nghị quyết Đại hội, Điều lệ Hội và các quy định pháp luật có liên quan.

2. Các vấn đề về tài sản, tài chính, quyền và lợi ích, trách nhiệm và nghĩa vụ khác của Hội liên quan đến chia, tách; sáp nhập; hợp nhất; giải thể Hội được thực hiện theo quy định tại Nghị định số 45/2010/NĐ-CP của Thủ tướng Chính phủ.

Chương VII KHEN THƯỞNG VÀ KỶ LUẬT

Điều 24. Khen thưởng

1. Tổ chức, Hội viên của Hội có thành tích xuất sắc trong hoạt động Hội; các công dân, tổ chức có đóng góp cho hoạt động và sự phát triển của Hội, được Hội xem xét, khen thưởng. Trường hợp Hội viên có thành tích đặc biệt xuất sắc sẽ được Hội đề nghị cơ quan nhà nước có thẩm quyền khen thưởng theo quy định của pháp luật.

2. Ban Chấp hành Hội có trách nhiệm ban hành quy chế khen thưởng, quy định cụ thể hình thức, tiêu chuẩn, thủ tục, thẩm quyền khen thưởng Hội viên phù hợp với Điều lệ Hội và quy định của pháp luật.

Điều 25. Kỷ luật

1. Tổ chức, Hội viên của Hội vi phạm Nghị quyết, hoạt động trái Điều lệ Hội, làm ảnh hưởng đến danh dự, uy tín của Hội thì tùy theo mức độ vi phạm sẽ bị xử lý kỷ luật với các hình thức: phê bình, khiển trách, cảnh cáo, đình chỉ có thời hạn, cách chức, xóa

tên khỏi danh sách Hội viên. Trường hợp vi phạm nghiêm trọng thì đề nghị cơ quan có thẩm quyền giải quyết theo quy định của pháp luật.

2. Ban Chấp hành Hội có trách nhiệm ban hành quy chế kỷ luật, quy định cụ thể thủ tục, thẩm quyền kỷ luật Hội viên phù hợp với Điều lệ Hội và quy định của pháp luật.

Chương VIII **ĐIỀU KHOẢN THI HÀNH**

Điều 26. Thể thức sửa đổi, bổ sung Điều lệ

1. Chỉ có Đại hội nhiệm kỳ hoặc Đại hội bất thường của Hội Nghiên cứu Bệnh hại Thực vật Việt Nam mới có quyền sửa đổi, bổ sung Điều lệ này.

2. Việc sửa đổi, bổ sung Điều lệ phải được ít nhất 2/3 (hai phần ba) số đại biểu chính thức có mặt tại Đại hội biểu quyết tán thành và được cơ quan quản lý nhà nước có thẩm quyền phê duyệt mới có hiệu lực thi hành.

Điều 27. Hiệu lực thi hành

1. Điều lệ Hội Nghiên cứu Bệnh hại Thực vật Việt Nam gồm 08 (tám) Chương, 27 (hai mươi bảy) Điều đã được Đại hội Đại biểu toàn quốc lần thứ nhất (nhiệm kỳ 2019 - 2024) của Hội thông qua ngày 03 tháng 8 năm 2019 tại thành phố Hồ Chí Minh và có hiệu lực thi hành theo quyết định phê duyệt của Bộ trưởng Bộ Nội vụ.

2. Căn cứ các quy định của pháp luật về Hội và Điều lệ Hội, Ban Chấp hành Hội Nghiên cứu Bệnh hại Thực vật Việt Nam có trách nhiệm phổ biến, hướng dẫn và tổ chức thực hiện Điều lệ này./.

**BAN VẬN ĐỘNG THÀNH LẬP
HỘI NGHIÊN CỨU BỆNH HẠI THỰC VẬT
VIỆT NAM**

Số 03/NC-BHTV

**CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc**

Thành phố Hồ Chí Minh, ngày 3 tháng 8 năm 2019

**DỰ THẢO
PHƯƠNG HƯỚNG HOẠT ĐỘNG
CỦA HỘI NGHIÊN CỨU BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM
NHIỆM KỲ 2019 - 2024**

- Căn cứ Nghị định số 45/2010/NĐ-CP ngày 21/4/2010 Quy định về tổ chức, hoạt động và quản lý Hội;

- Căn cứ dự thảo Điều lệ Hội Nghiên cứu Bệnh hại Thực vật Việt Nam về tổ chức, nhiệm vụ và nội dung hoạt động. Dựa trên tình hình thực tế của hoạt động Hội để đưa ra phương hướng hoạt động sát thực với tình hình. Tôn chỉ, mục đích của Hội đã nêu rõ:

1. Hội Nghiên cứu Bệnh hại Thực vật Việt Nam (sau đây gọi tắt là Hội) là tổ chức xã hội - nghề nghiệp của các tổ chức và công dân Việt Nam đã và đang hoạt động trong lĩnh vực nghiên cứu khoa học, giảng dạy, giáo dục và đào tạo, tư vấn, quản lý khoa học trong ngành nông, lâm nghiệp và các loại bệnh hại thực vật trong nông, lâm nghiệp trên phạm vi cả nước.

2. Mục đích của Hội nhằm tập hợp, đoàn kết Hội viên, hỗ trợ và giúp đỡ nhau đẩy mạnh hoạt động nghiên cứu, tuyên truyền, phổ biến, phát triển, ứng dụng và nâng cao chất lượng hoạt động khoa học công nghệ trong phát hiện, phòng chống các loại bệnh hại thực vật ở Việt Nam và góp phần thúc đẩy nền kinh tế nông, lâm nghiệp nói riêng và nền kinh tế - xã hội đất nước nói chung phát triển, đáp ứng yêu cầu công nghiệp hóa, hiện đại hóa và hội nhập quốc tế.

Trên cơ sở đó Ban Vận động thành lập Hội đưa ra nội dung và phương hướng hoạt động sau:

1) Về Tổ chức: Trong 5 năm đầu Hội phân đấu kiện toàn về tổ chức. Thực hiện hoàn thiện bộ máy, làm đúng chức năng của Chủ tịch, Phó Chủ tịch, Tổng thư ký, Chánh Văn phòng và các tổ chức trực thuộc Hội quản lý. Thực hiện sinh hoạt Ban Chấp hành, Ban Thường vụ, Văn phòng theo đúng quy định của Điều lệ Hội.

Thực hiện sinh hoạt Chi hội cơ sở đều đặn 6 tháng một lần có nội dung thiết thực.

Thành lập các Ban Chuyên môn giúp Hội nhanh chóng kết nối các hoạt động trong và ngoài nước.

2) Hoàn thiện các văn bản quy định về tổ chức, sinh hoạt Hội như thủ tục xin vào Hội, xin ra Hội. Quy định về thi đua khen thưởng, về kỷ luật của Hội, Quy chế chi tiêu nội bộ,...

3) Trong 5 năm cần hoàn thành các hoạt động chính sau:

a- Chuẩn bị hoàn thành thủ tục xin xuất bản Tạp chí Bệnh hại thực vật Việt Nam. Tạp chí xuất bản một năm hai số bằng tiếng Việt và tiếng Anh. Để làm được việc này ngoài việc xin cấp phép xuất bản còn phải lo tạo một đội ngũ biên tập giỏi cả hai thứ tiếng và nâng cao chất lượng bài để đạt chất lượng quốc gia và giao lưu quốc tế.

b- Tổ chức tốt 5 cuộc Hội thảo Quốc gia và chuẩn bị khả năng tổ chức Hội thảo Quốc tế. Nhằm mục đích nối kết các nghiên cứu của Việt Nam với thành tựu khoa học thế giới về bệnh hại thực vật.

Đặc biệt chú ý phát triển nghiên cứu bệnh cây ở mức độ phân tử. Chú ý tạo giống kháng bệnh bằng công nghệ cao kết hợp các phương pháp truyền thống. Thực hiện hiện đại hóa các nghiên cứu bệnh hại thực vật, đưa các thành tựu của thời đại công nghệ 4.0 áp dụng từng phần vào khoa học bệnh cây.

c- Hội sẽ thực hiện tư vấn phản biện các bệnh hại nguy hiểm, gây thiệt hại kinh tế lớn tại Việt Nam hiện nay, đặc biệt là các bệnh hại trên các nông sản xuất khẩu chủ yếu quan trọng của nước ta nhằm tìm ra biện pháp phòng chống hiệu quả nhất. Đưa hệ thống phòng trừ vào chuỗi sản xuất sản phẩm.

d- Hội coi phương hướng phòng trừ chính cho các bệnh có nguồn gốc từ đất là phương pháp sử dụng hữu cơ sinh học. Cần hạn chế sử dụng thuốc hóa học và sử dụng phân hóa học một cách hợp lý. Đưa hữu cơ sinh học, các biện pháp phòng chống sinh học vào sản xuất, Hội coi việc hợp tác với các nhà khoa học Nhật Bản là quan trọng nhất để đưa việc sản xuất nông sản sạch xuất sang Nhật Bản và các nước phát triển.

4) Về đào tạo và hội nhập quốc tế

Trong nước Hội sẽ đứng ra làm cầu nối giữa các nhà khoa học và nông dân. Tất cả các công trình khoa học trong Hội đều sẽ không dừng lại trong phòng thí nghiệm mà đến với điểm thử nghiệm ngoài đồng và đưa vào sản xuất thông qua tổ chức đào tạo kỹ thuật viên.

Quan hệ quốc tế của Hội sẽ là cầu nối giúp các nhà khoa học trẻ đi học, đào tạo ở nước ngoài và giúp các chuyên gia trong Hội tìm được các đồng nghiệp, các nhà khoa học chuyên sâu về các lĩnh vực.

Hội chúng ta phấn đấu trở thành thành viên chính thức của Hội Nghiên cứu Bệnh hại Thực vật Châu Á - Thái Bình Dương và phấn đấu trong thời gian không xa trở thành thành viên của Hội Bệnh cây Thế giới.

Phương hướng hoạt động này sẽ được thực hiện dần trong hoạt động hàng năm của Hội. Chúng tôi tin tưởng với tinh thần trách nhiệm, với quyết tâm mới và vị trí của Hội càng nâng cao, toàn Hội chúng ta sẽ hoàn thành các hoạt động với kết quả cao nhất trong nhiệm kỳ 2019 - 2024.

Xin cảm ơn Đại hội.

Trưởng Ban Vận động thành lập Hội

QUẢN LÝ BỀN VỮNG BỆNH VIRUS KHẢM LÁ KHOAI MÌ (CMV) BẰNG BIỆN PHÁP SỬ DỤNG GIỐNG KHÁNG BỆNH

Nguyễn Thơ

Hội Khoa học Kỹ thuật Bảo vệ thực vật Việt Nam

ABSTRACT

Cassava is an important production in the Southern of Viet Nam. In the years recently it's appear cassava mosaic virus (CMV) severely on cassava plant in large scale of production. CMV is transmited from plant to plant by insect vector as Bemisia tabaci. Nowadays it's has resistant varieties to CMV in Viet Nam. We have some discussing about study and how to using resistant varieties for controlling CMV on cassava production.

Keywords: *Casava mosaic virus (CMV), vector, Bemisia tabasi, resistant varieties.*

Hàng trăm năm qua, ở nước ta cây khoai mì (cây sắn) chịu trồng nơi đất xấu, dễ trồng, thường trồng quảng canh là chính. Vì vậy cây khoai mì có năng suất thấp, ít bị sâu bệnh. Những năm gần đây, do nhu cầu quá lớn sản phẩm khoai mì làm nguyên liệu cho công nghiệp, nghề trồng khoai mì trở thành ngành sản xuất lớn trong nhiều tỉnh. Từ trồng quảng canh, nay khoai mì trở thành cây trồng thâm canh, trên diện rộng hàng ngàn héc-ta. Sự thâm canh trồng khoai mì chủ yếu dựa vào hóa học là chính. Do lạm dụng hóa học trong thời gian dài, cây khoai mì ngày càng nhiễm nhiều loại sâu bệnh rất khó phòng trị, trong đó có bệnh chổi rồng, bệnh thối củ, rệp sáp bột hồng. Trong những năm gần đây xuất hiện bệnh khảm lá khoai mì (CMV). Tuy mới xuất hiện, nhưng bệnh phát triển rất nhanh và phá hại trên diện rộng, nhất là tại tỉnh Tây Ninh. Cho đến nay, trong sản xuất, đã sử

dụng nhiều biện pháp để quản lý dịch hại, nhưng hiệu quả thấp. Tuy nhiên, cũng giống như nhiều nước khác, trong sản xuất đã xuất hiện giống kháng bệnh CMV. Biện pháp sử dụng giống kháng bắt đầu có hiệu quả trong quản lý dịch hại tại nhiều nơi. Trong bài này, chúng tôi xin trao đổi một số ý kiến về nghiên cứu và sử dụng giống kháng bệnh.

I. TÁC NHÂN, MÔI GIỚI TRUYỀN BỆNH VÀ TÌNH HÌNH LAN TRUYỀN BỆNH KHẢM LÁ KHOAI MÌ Ở CÁC TỈNH PHÍA NAM

Tác nhân gây bệnh CMV ở nước ta hiện nay còn đang nghiên cứu, chưa xác định. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu của các nước, theo Masashi Ugaki (2017, University of Tokyo) bệnh khảm lá khoai mì là do virus khảm lá khoai mì gây ra. Virus khảm lá khoai mì thuộc chi Begomovirus, họ Geminiviridae. Ở Châu Phi gây hại bởi loài *African cassava mosaic virus* (ACVM), ở Ấn Độ gây bệnh bởi loài

Người phân biên: TS. Nguyễn Hữu Hỷ.

Indian cassava mosaic virus (ICMV), cùng họ Geminiviridae còn có loài *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV). Chúng lan truyền bằng côn trùng bọ phấn trắng *Bemisia tabaci*, theo phương thức bền vững (Resistance), virus sống, tồn tại trong côn trùng môi giới, nhưng không truyền qua trứng cho thế hệ sau. Bệnh khảm lá khoai mì chỉ có trên cây khoai mì, không gây hại trên những cây trồng khác. Bệnh khảm lá khoai mì năm 1894 xuất hiện ở Châu Phi, năm 1993 phát triển đến Ấn Độ, 2015 đến Campuchia, năm 2017 bệnh xuất hiện tại Việt Nam.

Bệnh khảm lá khoai mì xuất hiện đồng thời với sự có mặt trên ruộng khoai mì của bọ phấn trắng *Bemisia tabaci*. Theo Cục Bảo vệ thực vật, tính đến tháng 10/2018, đã ghi nhận bệnh khảm lá khoai mì xuất hiện, gây hại các vùng trồng khoai mì của 12 tỉnh trồng hơn 224 ngàn ha với mức độ gây hại khác nhau, nặng nhất là tỉnh Tây Ninh với 100% diện tích khoai mì 36 ngàn ha bị nhiễm. Gia Lai có 136 ha bị nhiễm, trong đó nặng nhất 63 ha phải tiêu hủy. Như vậy bệnh khảm lá khoai mì mới phát hiện ở nước ta, nhưng mức độ lây lan rất nhanh và gây tác hại nặng.

II. BIỆN PHÁP PHÒNG TRỪ

2.1. Trồng giống chống chịu bệnh

Trong thời gian qua, các địa phương đã áp dụng nhiều biện pháp để phòng trừ bệnh khảm lá khoai mì, tuy nhiên tập trung nhất vẫn là biện pháp sử dụng giống kháng.

Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đang chỉ đạo các viện tập trung nghiên cứu giống khoai mì kháng bệnh. Trong khảo nghiệm của Trung tâm Nghiên cứu Thực nghiệm Nông nghiệp

Hung Lộc (Trung tâm Hưng Lộc) đã có 9/203 dòng khoai mì có biểu hiện kháng bệnh ở mức độ chống chịu, rõ nhất là giống KM94. Cuối năm 2018, Trung tâm Hưng Lộc đã phối hợp với Trung tâm Khuyến nông Tây Ninh triển khai mô hình trồng 100 ha bằng giống KM94 tại vùng dịch thuộc xã Tân Hội, huyện Tân Châu, tỉnh Tây Ninh. Theo đánh giá, giống KM94 khi trồng trong vùng dịch vẫn bị bệnh khảm, nhưng tỷ lệ nhiễm bệnh nhẹ hơn những giống khác như HL-S11, KM419, KM140. Năng suất củ và tỷ lệ bột của của giống KM94 giảm không đáng kể so với năng suất tiềm năng của giống. Như vậy, KM94 có tính kháng ở mức độ chống chịu đối với bệnh khảm lá khoai mì và là giống có triển vọng trồng trong vùng có dịch khảm lá hiện nay. Nhiều tỉnh đang trồng giống KM94 trên diện rộng từ năm 2017 đến nay.

2.2. Một số biện pháp phòng trừ chưa thật khả thi

Theo tổng kết của Sở Nông nghiệp và PTNT tỉnh Tây Ninh, các biện pháp quản lý dịch khảm lá khoai mì như sau cần nghiên cứu thêm:

- Việc nhổ, gom, đốt cây bị bệnh trên diện tích rộng là không khả thi vì không thể hết cây bệnh một cách triệt để. Chi phí nhổ bỏ và dọn hết cây bệnh ra khỏi ruộng lớn, quá tốn kém. Mặt khác, nhiều trường hợp nông dân không chịu nhổ bỏ. Ruộng khoai mì bị bệnh để lại, được chăm sóc tốt hơn, vẫn cho năng suất có thể chấp nhận được.

- Bọ phấn trắng là côn trùng có tính kháng thuốc tự nhiên. Công tác phun thuốc trừ bọ phấn trắng ngăn chặn truyền bệnh kém hiệu quả. Việc phun thuốc để trừ bọ

phần quá tốn kém, thiếu lao động và ô nhiễm môi trường.

Trên đây là những biện pháp quản lý dịch hại cần được nghiên cứu, điều chỉnh để có hiệu quả hơn.

III. ĐỀ XUẤT NGHIÊN CỨU VÀ GIẢI PHÁP QUẢN LÝ DỊCH HẠI BỆNH KHẢM LÁ KHOAI MÌ

3.1. Nghiên cứu virus khảm lá khoai mì gây hại bộ rễ và củ như thế nào

Virus sau khi lây nhiễm vào cây trồng đi xuống rễ, tuy nhiên virus có gây hại bộ rễ không lại là vấn đề khác. Ví dụ như bệnh virus vàng lùn - lùn xoắn lá lúa hại bộ lá rất nặng, nhưng không hại bộ rễ. Bệnh Greening trên cây cam quýt, lại gây hại bộ rễ rất nặng nề. Vậy bệnh CMV có gây hại bộ rễ cây khoai mì không? cần được nghiên cứu. Cây khoai mì bị bệnh giảm năng suất củ, có thể do lá bệnh giảm hiệu suất quang hợp làm giảm tích lũy chất khô, chưa hẳn do virus gây hại bộ rễ. Đây là vấn đề quan trọng, vì năng suất khoai mì chủ yếu từ bộ rễ.

3.2. Nghiên cứu và sử dụng giống chống chịu bệnh

Tiếp tục nghiên cứu chọn giống có năng suất củ tươi cao, tỷ lệ bột cao, chống chịu bệnh. Giống chống chịu vẫn bị bệnh, nhưng ở mức độ nhẹ hơn so với giống nhiễm. Sự chống bệnh có thể thể hiện theo các tiêu chí:

- Thời gian bị bệnh có thể chậm kể từ khi trồng.
- Khả năng ẩn bệnh (latent).
- Mức độ nặng của triệu chứng trên lá bệnh.
- Khả năng hình thành củ (năng suất củ).

- Khả năng tạo và tích lũy chất khô để hình thành tinh bột (chất lượng và tỷ lệ bột).

Cùng với những phương pháp nghiên cứu virus hiện đại, việc nghiên cứu xác định giống chống chịu có thể thực hiện theo phương pháp triệu chứng trên đồng ruộng. Khảo nghiệm giống ngay trong ổ dịch bệnh virus. Cuối cùng là so sánh hiệu quả kinh tế của giống chống chịu.

3.3. Xử lý làm chậm quá trình lây nhiễm virus trên cây giống khoai mì chống chịu bệnh

- Xử lý hom giống bằng thuốc nội hấp trừ côn trùng, làm chậm thời gian tiếp cận của bọ phấn, môi giới truyền bệnh.

- Xử lý sạch nguồn bệnh virus hom giống bằng phương pháp xử lý nhiệt.

Việc xử lý hom giống chống chịu bằng những biện pháp nói trên nhằm tăng thêm hiệu quả sử dụng giống kháng.

3.4. Canh tác cây trồng khỏe, tăng sức đề kháng bệnh của cây khoai mì

Như trên đã nói, việc trồng thâm canh khoai mì lạm dụng hóa học làm cho cây dễ bị nhiễm bệnh. Nên có cuộc cách mạng, chuyển đổi suy nghĩ, không lạm dụng phân thuốc BVTV hóa học, nhất là không dùng thuốc trừ cỏ. Cần phải chuyển hướng canh tác theo hướng hữu cơ và sinh học làm cho cây khỏe tăng sức đề kháng virus.

Theo chúng tôi, để quản lý dịch virus CMV trên khoai mì có hiệu quả nên đi theo hướng quản lý dịch hại tổng hợp dựa trên cơ sở sử dụng giống chống chịu. Canh tác theo hướng hữu cơ và sinh học. Sử dụng những tiến bộ về Probiotic trong sản xuất khoai mì chẳng những tốt cho

việc quản lý dịch CMV mà còn ngăn ngừa tốt bệnh thối củ, rệp sáp bột hồng, làm cho nghề trồng khoai mì trở nên bền vững.

Để có cơ sở canh tác và quản dịch hại theo hướng nói trên cần phải có chương trình nghiên cứu về giống kháng, canh tác theo hướng hữu cơ và sinh học trên cây khoai mì.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Masashi UGAKI (2017). The University of Tokyo, How cassava mosaic disease is transmitted from plant to plant by an insect vector, whitefly. Hội thảo Kiểm soát dịch hại trên cây sắn - Thách thức và giải pháp. Tổ chức tại Tp. Hồ Chí Minh, ngày 23 tháng 8 năm 2017, Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh và Dự án CASPS đồng tổ chức.
2. Lê Khắc Hoàng (2017). Tiềm năng và thách thức của ngành trồng sắn Việt Nam. Hội thảo Kiểm soát dịch hại trên cây sắn - Thách thức và giải pháp. Tổ chức tại Tp. Hồ Chí Minh, ngày 23 tháng 8 năm 2017, Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh và Dự án CASPS đồng tổ chức.
3. Sở Nông nghiệp và PTNT tỉnh Tây Ninh (2017, 2019). Báo cáo sơ kết công tác phòng
4. Viện Bảo vệ thực vật (2017). Một số nghiên cứu về bệnh virus khảm lá sắn và giải pháp phòng trừ. Hội nghị Sơ kết công tác phòng chống dịch bệnh khảm lá cây khoai mì và định hướng công tác phòng, chống dịch trong thời gian tới. Tổ chức tại Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn tỉnh Tây Ninh, ngày 21 tháng 9 năm 2017.
5. Nguyễn Hữu Hỷ, Đinh Văn Cường, Phạm Thị Nhạn (2017). Hiện trạng sản xuất sắn Việt Nam, sâu bệnh hại chính và định hướng nghiên cứu. Hội nghị Sơ kết công tác phòng chống dịch bệnh khảm lá cây khoai mì và định hướng công tác phòng, chống dịch trong thời gian tới. Tổ chức tại Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn tỉnh Tây Ninh, ngày 21 tháng 9 năm 2017.
6. JICA, Viện Bảo vệ thực vật Việt Nam. Cục Bảo vệ thực vật Việt Nam, Quy trình phòng trừ bệnh virus khảm lá khoai mì.

ẢNH HƯỞNG CỦA BỆNH KHÂM LÁ VIRUS ĐẾN NĂNG SUẤT VÀ HÀM LƯỢNG TINH BỘT CỦA MỘT SỐ GIỐNG Sắn TẠI ĐÔNG NAM BỘ VÀ TÂY NGUYÊN

Nguyễn Hữu Hỷ, Phạm Thị Nhạn

*Trung tâm Nghiên cứu Thực nghiệm Nông nghiệp Hưng Lộc
Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam*

TÓM TẮT

Những nguyên nhân chính làm giảm năng suất sắn tại Đông Nam Bộ và Tây Nguyên hiện nay chủ yếu là giống và sâu bệnh gây hại, đặc biệt là bệnh khảm lá do virus. Để đánh giá được mức độ ảnh hưởng của bệnh khảm lá do virus gây hại trên một số giống sắn được trồng phổ biến hiện nay, thí nghiệm được thực hiện trên 4 giống sắn KM94, KM140, KM419, HL-S11 và 2 dòng sắn S4, S7 tại Đồng Nai và Tây Ninh. Đồng thời đánh giá hiệu quả kinh tế của 4 mô hình trồng sắn tại 4 tỉnh Tây Ninh, Đồng Nai, Đắk Lắk, Gia Lai với quy mô 66 ha. Kết quả thu được khi so sánh 6 giống cả hai địa điểm cho thấy, giống sắn HL-S11 đều cho năng suất tinh bột cao nhất đạt 9,11 - 10,88 tấn tinh bột/ha, khi bị tỷ lệ nhiễm bệnh khảm lá đạt 100% thì năng suất củ tươi giảm từ 5,19 - 13,57%, hàm lượng tinh bột giảm từ 3,54 - 9,5%. Hiệu quả kinh tế của các mô hình đạt từ 39,2 - 58,5 triệu đồng/ha.

Từ khóa: Bệnh khảm lá virus, giống sắn HL-S11, mô hình trồng giống sắn mới.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh khảm lá sắn (khoai mì) có tên khoa học là Sri Lanka Cassava Mosaic Virus (SLCMV), bệnh lan truyền qua môi giới là bọ phấn trắng (*Bemisia tabaci*) và qua hom giống lấy từ cây bị bệnh, đây là bệnh rất nguy hiểm và khó phòng trừ. Theo số liệu của Cục Bảo vệ thực vật tính đến 28/02/2019 cả nước đã có 25.589,8 ha diện tích trồng sắn bị nhiễm khảm, phân bố tại 14 tỉnh thành trên cả nước gồm Tây Ninh, Đồng Nai, Bình

Dương, Bình Phước, Tp. Hồ Chí Minh, Long An, An Giang, Đắk Lắk, Ninh Thuận, Bình Thuận, Gia Lai, Kon Tum, Khánh Hòa, Bà Rịa - Vũng Tàu. Với tốc độ lây lan hiện nay rất khó kiểm soát được bệnh này. Nhiệm vụ cấp thiết hiện nay là tìm ra được một số giống sắn phổ biến trong sản xuất, có khả năng chống chịu được với bệnh để khuyến cáo cho người trồng sắn. Vì vậy việc đánh giá ảnh hưởng của bệnh khảm lá virus đến năng suất và hàm lượng tinh bột của một số giống sắn tại khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên có ý nghĩa to lớn đáp ứng nhu cầu cấp thiết của sản xuất.

Người phân biên: TS. Trần Công Khanh.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Giống sắn HL-S11, KM140, KM419, KM94 là các giống được trồng phổ biến tại khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên.

- 2 dòng sắn mới S4, S7 do Trung tâm Nghiên cứu Thực nghiệm Nông nghiệp Hưng Lộc lai tạo và đánh giá năm thứ 4.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nội dung nghiên cứu

Nội dung 1: So sánh năng suất củ tươi và hàm lượng tinh bột của một số giống sắn tại Tây Ninh và Đồng Nai năm 2018/2019.

Nội dung 2: Đánh giá hiệu quả kinh tế của một số mô hình trồng giống sắn mới tại Tây Ninh, Đồng Nai, Đắk Lắk, Gia Lai năm 2018/2019.

2.2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

a. Thí nghiệm so sánh giống

Các thí nghiệm được bố trí theo khối đầy đủ hoàn toàn ngẫu nhiên 6 nghiệm thức 3 lần lặp lại.

Diện tích ô thí nghiệm: 48 m².

Diện tích thu hoạch: 24 m².

Khoảng cách trồng: 1 m × 0,8 m. Mật độ trồng: 12,500 cây/ha.

Công thức phân bón: 100N - 50P₂O₅ - 100K₂O.

b. Mô hình trồng giống sắn mới

4 mô hình trồng thâm canh giống sắn mới tại Tây Ninh, Đồng Nai, Đắk Lắk, Gia Lai với tổng diện tích trồng năm 2018/2019 là 66 ha trên giống KM94, HL-S11.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian từ tháng 04/2018 - 3/2019.

- Địa điểm: Tại Tây Ninh, Đồng Nai, Đắk Lắk, Gia Lai.

2.4. Chỉ tiêu theo dõi, đánh giá và phân tích

- Chỉ tiêu về năng suất và hàm lượng tinh bột.

Năng suất củ tươi lấy mẫu tính toán khi thu hoạch.

Xác định hàm lượng tinh bột bằng cân tỷ trọng Reinman.

- Các chỉ tiêu về bệnh khảm lá.

Tỷ lệ bệnh (Lấy số liệu tại 1 tháng, 3 tháng, 6 tháng, 8 tháng, lúc thu hoạch).

$$\text{Tỷ lệ bệnh (\%)} = \frac{\text{Tổng số cây bị nhiễm bệnh}}{\text{Tổng số cây/ô thí nghiệm}} \times 100$$

Cấp bệnh được phân như sau:

Cấp 1: Không có triệu chứng.

Cấp 2: < 25% diện tích lá bị khảm, lá hơi bị biến dạng, cây không bị thấp lùn.

Cấp 3: 25 - 50% diện tích lá bị khảm, lá bị biến dạng trung bình, cây không bị thấp lùn.

Cấp 4: Từ > 50 - 75% diện tích lá bị khảm, lá bị biến dạng mạnh, cây bị thấp lùn.

Cấp 5: > 75 - 100% lá bị biến dạng, lá nhỏ, hầu như không có phiến lá và cây bị thấp lùn nặng.

Số liệu được xử lý bằng phần mềm SAS 9.1.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Diễn biến tỷ lệ bệnh khảm lá của các giống sắn năm 2018/2019 theo từng giai đoạn sinh trưởng

Kết quả theo dõi và đánh giá bệnh khảm lá sắn tại Tây Ninh và Đồng Nai năm 2018 cho thấy. Tại Đồng Nai mặc dù năm 2018 có 81,1 ha diện tích trồng sắn bị nhiễm bệnh khảm lá. Tuy nhiên bệnh chưa xuất hiện tại Trung tâm Nghiên cứu Thực nghiệm Nông nghiệp Hưng Lộc (xã Hưng Thịnh - huyện Trảng Bom - tỉnh Đồng Nai).

Theo dõi bệnh này tại Tân Hội - Tân Châu - Tây Ninh trên thí nghiệm so sánh

giống sắn cho thấy, bệnh xuất hiện ngay sau khi trồng khoảng 1 tháng với tỷ lệ nhiễm từ 12,67 - 26,5% mặc dù hom giống trồng được lấy từ Trung tâm Hưng Lộc không có nguồn bệnh. Chứng tỏ bệnh đã được lây qua môi giới truyền bệnh là bộ phận trắng. Tỷ lệ nhiễm bệnh ngày càng tăng theo các giai đoạn sinh trưởng, sau khoảng 3 tháng trồng trên giống HL-S11 và giống KM140 đã nhiễm với tỷ lệ trên 60% và đạt tỷ lệ nhiễm 100% ở 8 tháng sau trồng. Trong 6 giống khảo nghiệm có giống KM94 nhiễm ít hơn so với các giống khác nhưng cũng ở mức 99% khi thu hoạch.

Bảng 1. Diễn biến tỷ lệ bệnh khảm lá virus qua các thời gian sinh trưởng của một số giống sắn tại Tây Ninh năm 2018/2019

Tên giống	Tỷ lệ bệnh (%)				
	1 tháng	3 tháng	6 tháng	8 tháng	Thu hoạch
KM140	18,67	60,31	85,24	100,00	100,00
HL-S11	25,67	65,25	90,18	100,00	100,00
KM419	26,50	55,32	92,36	100,00	100,00
S4	19,33	48,17	89,00	100,00	100,00
S7	17,67	50,28	91,10	100,00	100,00
KM94	12,67	45,71	90,36	98,37	99,00

Đáng lưu ý khi quan sát bệnh khảm lá qua các thời kỳ cho thấy, tỷ lệ bệnh nhiễm cao lên đến 100%. Tuy nhiên cấp bệnh chỉ ở cấp 2, cấp 3. Cây vẫn sinh trưởng phát triển không có dấu hiệu thấp lùn và ngừng sinh trưởng.

3.2. Năng suất củ tươi và hàm lượng tinh bột của các giống sắn tại Tây Ninh và Đồng Nai năm 2018/2019

Khi đánh giá năng suất của các giống sắn trồng ở hai điều kiện khác nhau, trong

vùng nhiễm khảm nặng và vùng chưa xuất hiện khảm cho thấy tỷ lệ giảm về năng suất củ tươi từ 5,9 - 13,5% và 3,5 - 9,5% hàm lượng tinh bột. Xét riêng từng giống kết quả chỉ ra rằng giống sắn HL-S11 mặc dù tỷ lệ nhiễm bệnh khảm là 100% nhưng hàm lượng tinh bột vẫn đạt 28,34%. Hàm lượng tinh bột trong củ cao, cho nên khi bị giảm năng suất 7,4% thì giống này vẫn đạt năng suất tinh bột là 9,11 tấn/ha cao nhất trong 6 giống khảo nghiệm.

Bảng 2. Năng suất củ tươi và hàm lượng tinh bột của các giống sắn tại Tây Ninh và Đồng Nai năm 2018/2019

Tên giống	Tại Đồng Nai			Tại Tây Ninh			Chênh lệch hai tỉnh	
	Năng suất củ tươi	Hàm lượng tinh bột	Năng suất tinh bột	Năng suất củ tươi	Hàm lượng tinh bột	Năng suất tinh bột	Tỷ lệ giảm NS	Tỷ lệ giảm TB
KM140	39,49 ^a	25,70 ^{bc}	10,15 ^{ab}	35,34 ^a	24,6 ^c	8,69 ^{ab}	10,51	4,28
HL-S11	34,72 ^{bc}	31,33 ^a	10,88 ^a	32,15 ^{ab}	28,34 ^a	9,11 ^a	7,40	9,54
KM419	32,50 ^c	25,53 ^c	8,30 ^c	30,53 ^b	24,3 ^{cd}	7,42 ^c	6,06	4,82
S4	37,22 ^{ab}	25,40 ^c	9,45 ^b	33,28 ^{ab}	24,5 ^{cd}	8,15 ^{bc}	10,59	3,54
S7	37,36 ^{ab}	25,53 ^c	9,54 ^b	35,42 ^a	23,8 ^d	8,43 ^{ab}	5,19	6,78
KM94 (ĐC)	37,50 ^{ab}	27,17 ^b	10,19 ^{ab}	32,41 ^{ab}	25,4 ^b	8,23 ^{ab}	13,57	6,51
CV%	6,3	1,2	6,5	6,0	1,7	7,3		
LSD _{0,05}	4,1	0,6	1,1	3,6	0,6	1,1		

Thông qua kết quả về năng suất củ tươi và hàm lượng tinh bột của một số giống sắn ở Bảng 2 cho thấy bệnh khảm lá virus không phá hủy bộ rễ, có giảm cả về năng suất củ tươi và hàm lượng tinh bột tuy nhiên mức độ giảm dưới 15% nếu vật liệu trồng là từ nguồn gốc sạch không nhiễm khảm trước đó.

Đối với các giống trồng phổ biến tại Đông Nam Bộ hiện nay thì giống HL-S11 vẫn có ưu thế về năng suất cũng như hàm lượng tinh bột.

3.3. Đánh giá mức độ nhiễm bệnh khảm lá do virus tại một số mô hình trồng giống sắn tại Đông Nam Bộ và Tây Nguyên năm 2018/2019

Bốn mô hình trồng thâm canh giống sắn mới tại Tây Ninh, Đồng Nai, Đắk Lắk, Gia Lai với tổng diện tích trồng năm 2018/2019 là 66 ha trên giống KM94, HL-S11, là sản phẩm của Dự án Khuyến nông Trung ương “Xây dựng và nhân

rộng mô hình trồng giống sắn mới và thâm canh bền vững tại vùng nguyên liệu của nhà máy chế biến” do Trung tâm Nghiên cứu Thực nghiệm Nông nghiệp Hưng Lộc chủ trì.

Tính đến thời điểm tháng 7/2018 theo báo cáo của Cục Bảo vệ thực vật thì bốn tỉnh Tây Ninh, Đồng Nai, Đắk Lắk, Gia Lai đều đã có rất nhiều diện tích trồng sắn bị nhiễm bệnh khảm lá do virus gây hại. Cụ thể Tây Ninh (11.556,4 ha), Đồng Nai (312 ha), Gia Lai (141,2 ha), Đắk Lắk (1.319,7 ha). Tuy nhiên 66 ha mô hình do Trung tâm Nghiên cứu Thực nghiệm Nông nghiệp Hưng Lộc thực hiện, giống được lấy từ nguồn giống do Trung tâm sản xuất, do vậy 3 mô hình trồng tại Đồng Nai, Đắk Lắk, Gia Lai không bị nhiễm bệnh khảm lá. Mô hình tại Tây Ninh do mật độ bọ phấn ngoài ruộng quá cao nên với nguồn giống sạch thì cây vẫn bị nhiễm ngay ở giai đoạn một tháng sau trồng.

Bảng 3. Tỷ lệ bệnh khảm lá virus trong các mô hình trồng sắn tại các tỉnh Đông Nam Bộ và Tây Nguyên năm 2018/2019

Địa điểm	Giống sắn	Quy mô (ha)	Tỷ lệ bệnh (%)				
			1 tháng	3 tháng	6 tháng	8 tháng	Thu hoạch
Tây Ninh	KM94	20	15	48	78	100	100
Đồng Nai	HL-S11	20	-	-	-	-	-
Đắk Lắk	HL-S11	18	-	-	-	-	-
Gia Lai	HL-S11	18	-	-	-	-	-
Tổng cộng		66					

Với mức độ nhiễm bệnh khảm lá đạt 100% ở 8 tháng sau trồng, tuy nhiên chiều cao cây của giống sắn KM94 trong mô hình không có sự khác biệt so với những mô hình không bị nhiễm.

3.4. Hiệu quả kinh tế của các mô hình

Chi phí sản xuất trong các mô hình trồng sắn tại các tỉnh Đồng Nai, Tây Ninh, Đắk Lắk, Gia Lai cho thấy, với mức chi phí từ 15 - 16,6 triệu đồng/ha không bao gồm chi phí thuê đất và tiền giống cây sắn

do mô hình được triển khai trên ruộng của các hộ dân và giống được dự án cấp phát miễn phí. Chi phí chủ yếu tập trung ở công lao động chiếm 2/3 chi phí sản xuất cho mô hình trồng sắn, chênh lệch không nhiều ở các địa điểm khác nhau.

Mô hình tại Tây Ninh do có thêm một lần cày lên luống do vậy chi phí tăng thêm 800.000 đồng so với mô hình tại Đồng Nai. Tại Gia Lai và Đắk Lắk do tiền cày đất đắt hơn từ 1.000.000 - 1.500.000 đồng so với mô hình tại Đồng Nai.

Bảng 4. Hiệu quả kinh tế các mô hình trồng giống sắn tại một số tỉnh Đông Nam Bộ và Tây Nguyên năm 2018/2019

Nội dung	Đơn vị tính	Hiệu quả kinh tế của mô hình			
		Đồng Nai	Tây Ninh	Đắk Lắk	Gia Lai
Giống trồng mô hình		HL-S11	KM94	HL-S11	HL-S11
Tổng chi	Nghìn đồng	15.000	16.100	15.700	16.600
Công lao động	Nghìn đồng	10.500	11.300	10.500	11.500
Vật tư	Nghìn đồng	4.500	4.800	5.200	5.100
Năng suất củ tươi	Tấn/ha	35	33,2	34,7	31
Hàm lượng tinh bột	%	29,5	26	29,5	28
Giá mua tại ruộng	Nghìn đồng	2.100	1.700	1.900	1.800
Tổng thu	Nghìn đồng	73.500	56.440	65.930	55.800
Lãi	Nghìn đồng	58.500	40.340	50.230	39.200

Ghi chú: Urê: 8.000 đ/kg, supe lân: 3.500 đ/kg, kali: 8.500 đ/kg; công lao động: 200.000 đ/công. Cày đất 1,5 - 2,2 triệu/ha. Giá mua tại ruộng của các thương lái. Giá phụ thuộc vào hàm lượng tinh bột trong củ, đầu độ là 30%, cứ giảm 1 độ bột giá giảm 7 đồng/kg củ tươi. Công thu hoạch và vận chuyển của thương lái.

Với 2 giống sắn được trồng trong mô hình là KM94 tại Tây Ninh, HL-S11 tại Đồng Nai, Gia Lai, Đắk Lắk. Năng suất củ tươi của các mô hình dao động từ 31 - 35 tấn/ha, hàm lượng tinh bột từ 26 - 29,5%. Với giá bán cho các thương lái ngay tại ruộng thì lãi thuần của các mô hình đạt từ 39,2 - 58,5 triệu đồng/ha. Với giá sắn củ tươi năm 2019 dao động từ 1.700 - 2.100 đồng/kg củ tươi. Mô hình trồng giống sắn KM94 trong vùng dịch khảm lá tại Tây Ninh vẫn có thể cho năng suất đạt 33,2 tấn/ha và hàm lượng tinh bột đạt 26% cho lãi thuần 40.340.000 đồng/ha. Với thu nhập như vậy vẫn hấp dẫn rất nhiều so với các cây trồng khác ở cùng thời điểm.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Trong bộ giống khảo nghiệm tại Đồng Nai và Tây Ninh giống bị nhiễm 99 - 100% khi thu hoạch không có giống nào kháng bệnh khảm lá do virus. Năng suất củ tươi trong vùng dịch của các giống đạt từ 30,5 - 35,4 tấn/ha, ở vùng không có dịch đạt 32,5 - 39,4 tấn/ha. Khi bị tỷ lệ nhiễm bệnh khảm lá đạt 100% thì năng suất củ tươi giảm từ 5,19 - 13,57%, hàm lượng tinh bột giảm từ 3,54 - 9,5%.

Hiệu quả kinh tế của các mô hình đạt từ 39,2 - 58,5 triệu đồng/ha. Trồng giống KM94 trong mô hình tại Tây Ninh vẫn cho lãi thuần 1 ha là 40.340.000 đồng/ha. Giống sắn HL-S11 trong mô hình tại 3 tỉnh Đồng Nai, Đắk Lắk, Gia Lai cho lãi thuần 39.200.000 - 58.500.000 đồng/ha.

4.2. Đề nghị

Sử dụng vật liệu sạch khi trồng sắn tại vùng dịch để hạn chế tỷ lệ bệnh khảm lá ở 3 tháng đầu sau trồng.

Khuyến khích trồng những giống sắn có hàm lượng tinh bột cao như KM94, HL-S11 để ổn định được giá thu mua của nhà máy khi thu hoạch.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (2011). QCVN 01-61:2011/BNNPTNT. Quy chuẩn kỹ thuật khảo nghiệm giá trị canh tác và sử dụng của các giống sắn mới
2. Cục Bảo vệ thực vật. Tình hình bệnh khảm lá sắn và công tác chỉ đạo phòng, chống dịch. Diễn đàn Khuyến nông @ Nông nghiệp chuyên đề số 18/2018 - Giải pháp phòng chống bệnh khảm trên cây mì (sắn).
3. Cục Bảo vệ thực vật. Tình hình bệnh khảm lá sắn và công tác chỉ đạo phòng, chống dịch. Diễn đàn Khuyến nông @ Nông nghiệp chuyên đề số 20/2018 - Giải pháp phòng chống bệnh khảm trên cây mì (sắn).

HIỆU QUẢ HẠN CHẾ BỆNH HÉO RŨ VÀ CẢI THIỆN NĂNG SUẤT LẠC CỦA DUNG DỊCH NANO BẠC

Lê Như Cương¹, Nguyễn Thị Nhung^{1,2}
và Nguyễn Xuân Vũ³

¹ Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

² Chi cục Bảo vệ thực vật Khánh Hòa

³ Nghiên cứu sinh Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

ABSTRACT

Groundnut wilt diseases caused by the soil borne pathogens such as fungi, bacteria commonly damage groundnut at every growing stages. To control the disease, an integrated disease management system should be applied. In this study, silver nano liquid was used at different concentrations (0 ppm, 25.4 ppm and 76.3 ppm), and the number of sprays allowing to assess disease control, yield improvement and performance of economic results. Results of study show that silver nano highly controlled disease. Using silver nano at 76.3 ppm, sprayed twice at seedling and flowering stages for the highest yield. However, when comparing economic efficiency, it was found that using nano silver concentration of 25.4 ppm, sprayed once at seedling stage (three true leaves) for the highest economic efficiency.

Keywords: *Arachis hypogaea*, groundnut wilt diseases, silver nano.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây lạc (*Arachis hypogaea* L.) là một cây dễ trồng và thích ứng rộng với các vùng sinh thái khác nhau, từ ôn đới đến nhiệt đới. Tuy nhiên, nhóm bệnh héo rũ đã và đang là vấn đề nan giải cho nghề trồng lạc. Bệnh héo rũ do các tác nhân nấm và vi khuẩn gây ra là phổ biến như: *Aspergillus niger* (héo rũ do gốc mốc đen); *Sclerotium rolfsii* (héo rũ gốc mốc trắng); *Rhizoctonia solani* (lở cổ rễ); *Ralstonia solanacearum* (héo rũ tái xanh) (Le *et al.*, 2012; Lê Như Cương, 2004; Nguyễn Thị Nguyệt và *cs.*, 2004). Để hạn

chế bệnh hại cần áp dụng một hệ thống quản lý tổng hợp gồm nhiều biện pháp như biện pháp canh tác, biện pháp sinh học, sử dụng giống kháng bệnh và biện pháp hóa học (Lê Lương Tề, 1977; Nguyễn Thị Nguyệt và *cs.*, 2004).

Ứng dụng công nghệ nano là một hướng mới của thế giới trong nhiều lĩnh vực như y học, điện tử, may mặc, thực phẩm, nông nghiệp,... Các hạt nano bạc là vật liệu có khả năng kháng khuẩn và kháng nấm cao và được ứng dụng nhiều trong y tế, thực phẩm và nông nghiệp. Trong lĩnh vực y học, hoạt động kháng khuẩn của các hạt nano đã được áp dụng để chống lại các vi khuẩn gây bệnh; Trong

Người phân biên: PGS.TS. Nguyễn Vinh Trường.

lĩnh vực nông nghiệp, đã có nhiều nghiên cứu về tính kháng nấm của các hạt nano chống lại các tác nhân gây bệnh hại cây trồng (Jung *et al.* (2010; Kim *et al.*, 2012; Patel *et al.*, 2014; Servin *et al.*, 2015).

Trong trồng trọt, nano bạc ảnh hưởng lớn đến sự tăng trưởng và phát triển của thực vật như khả năng nảy mầm, tỷ lệ nảy chồi, tăng trưởng cây, tăng trưởng của rễ, kéo dài rễ (Rizwan *et al.*, 2017); Nano bạc giúp phòng trừ và tiêu diệt các loại virus, vi khuẩn, nấm bệnh gây hại cây trồng, giảm hoặc không cần dùng các loại thuốc bảo vệ thực vật độc hại, từ đó tạo môi trường thuận lợi cho cây trồng sinh trưởng phát triển, nâng cao năng suất chất lượng nông sản (Servin *et al.*, 2015). Sử dụng nano bạc được xem là hướng đi mới đảm bảo sự phát triển của một nền nông nghiệp sạch, an toàn, hiệu quả. Từ các nghiên cứu về khả năng kháng nấm trong điều kiện in-vitro và khả năng hạn chế bệnh hại trong điều kiện nhà lưới, chúng tôi tiếp tục đánh giá khả năng hạn chế bệnh hại lạc trong điều kiện đồng ruộng nhằm mục đích đánh giá tác dụng của nano bạc đối với bệnh héo rũ lạc ở điều kiện tự nhiên làm cơ sở xây dựng quy trình ứng dụng nano trong sản xuất lạc.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Giống lạc sử dụng là L14 được mua từ công ty giống; Dung dịch nano bạc 1000 ppm của Viện Công nghệ Sinh học, Đại học Huế; Thí nghiệm thực hiện tại xã Phong Sơn, huyện Phong Điền, tỉnh

Thừa Thiên Huế từ tháng 1 đến tháng 5 năm 2017.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm gồm có 9 công thức với 3 nồng độ nano bạc (0 ppm; 25,4 ppm và 76,3 ppm) và 3 phương pháp xử lý (phun 1 lần lúc lạc 3 lá thật, phun hai lần lúc lạc 3 lá thật và làm cỏ đợt 1, phun 3 lần lúc lạc 3 lá thật, làm cỏ đợt 1 và làm cỏ đợt 2). Thí nghiệm bố trí 3 lần lặp lại, diện tích ô thí nghiệm là 20 m² (4 m × 5 m). Nồng độ nano bạc 25,4 ppm và 76,3 ppm là hai nồng độ có sự sai khác với công thức đối chứng và có sự khác nhau giữa các công thức thí nghiệm khi chúng tôi tiến hành nghiên cứu trong điều kiện nhà lưới có lây nhiễm bệnh nhân tạo.

Tiến hành điều tra các bệnh héo rũ định kỳ 7 ngày 1 lần, mỗi ô thí nghiệm điều tra cố định 5 điểm, mỗi điểm 1 m², đếm số cây và đếm số cây chết do các nguyên nhân gây ra. Tính tỷ lệ cây héo trên đồng ruộng dựa vào tổng số cây chết ở tất cả các kỳ điều tra trên tổng số cây có trên ô thí nghiệm.

Số quả chắc/cây được theo dõi 10 cây/ô thí nghiệm, đếm số quả chắc/cây; theo dõi khối lượng 100 quả khô (g) bằng cách lấy ngẫu nhiên 100 g quả khô, sau đó đếm số quả có trong mẫu vừa cân và suy ra khối lượng quả khô. Năng suất thực thu là năng suất thu được trên ô thí nghiệm.

Số liệu được xử lý thống kê sinh học bằng phần mềm SPSS 16.0; Số liệu tỷ lệ phần trăm được chuyển qua arcsin trước lúc xử lý thống kê. Hàm tương quan giữa tỷ lệ cây héo và năng suất lạc được tính với phần

mềm Excel 2010; mức độ tin cậy của hệ số tương quan được tra bảng theo Kwanchai A. Gomez và Arturo A. Gomez (1984).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hiệu quả hạn chế bệnh hại

- *Bệnh lở cổ rễ:*

Bệnh lở cổ rễ do nấm *Rhizoctonia solani* gây ra. Nấm tồn tại lâu dài trong đất, trên tàn dư thực vật, gây hại trên nhiều đối tượng cây trồng trong đó có cây lạc. Với cây lạc, nấm thường xâm nhập gây hại giai đoạn nảy mầm gây chết mầm; gây hại giai đoạn cây con gây chết rạp cây con; gây hại giai đoạn cây lớn gây thối thân, thối lá, thối tia, thối quả. Khả năng hạn chế bệnh lở cổ rễ của dung dịch nano bạc được chúng tôi thể hiện ở Hình 1A. Qua kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ nano bạc ảnh hưởng đến khả năng hạn chế bệnh lở cổ rễ còn số lần phun không ảnh hưởng rõ ràng đến bệnh lở cổ rễ. Nguyên nhân là do triệu chứng gây lở cổ rễ chỉ xuất hiện giai đoạn cây con giai đoạn sau cây già không thể hiện triệu chứng lở cổ rễ khi bị bệnh (Lê Lương Tề, 1977). Kết quả nghiên cứu về mối tương quan giữa tỷ lệ bệnh lở cổ rễ và năng suất lạc cho thấy, khi tỷ lệ cây chết tăng làm cho năng suất giảm (hệ số góc < 0), với $r = - 0,5954$ (Hình 2A). Tuy nhiên với hệ số r này chưa đạt độ tin cậy với $p < 0,05$. Do đó có thể kết luận không có sự tương quan giữa tỷ lệ bệnh lở cổ rễ ở các công thức thí nghiệm với năng suất lạc. Nguyên nhân có do tỷ lệ bệnh thấp nên ít ảnh hưởng đến năng suất lạc.

- *Bệnh héo rũ gốc mốc đen:*

Bệnh héo rũ gốc mốc đen do nấm *Aspergillus niger* gây ra. Khả năng hạn chế bệnh héo rũ gốc mốc đen của dung

dịch nano bạc được thể hiện ở Hình 1B. Qua kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ nano bạc ảnh hưởng đến khả năng hạn chế bệnh héo rũ gốc mốc đen còn số lần phun không ảnh hưởng rõ ràng đến héo rũ gốc mốc đen. Nguyên nhân là do với bệnh này chủ yếu phát sinh gây hại giai đoạn cây con đến ra hoa, giai đoạn sau ít gây hại nên những lần phun sau không làm ảnh hưởng đến bệnh hại. Kết quả nghiên cứu về mối tương quan giữa tỷ lệ héo rũ gốc mốc đen và năng suất lạc cho thấy khi tỷ lệ cây chết tăng làm cho năng suất giảm (hệ số góc < 0), với $r = - 0,7695$ (Hình 2B). Với hệ số r này cho thấy có sự tương quan giữa tỷ lệ cây chết do bệnh héo rũ gốc mốc đen và năng suất lạc với $p < 0,05$. Dựa trên kết quả nghiên cứu có thể kết luận có sự tương quan giữa tỷ lệ héo rũ gốc mốc đen và năng suất lạc, khi bệnh tăng làm năng suất giảm.

- *Bệnh héo rũ gốc mốc trắng:*

Bệnh héo rũ gốc mốc trắng do nấm *Sclerotium rolfsii* gây ra. Khả năng hạn chế bệnh héo rũ gốc mốc trắng của dung dịch nano bạc được chúng tôi thể hiện ở Hình 1C. Qua kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ và số lần phun nano bạc ảnh hưởng đến khả năng hạn chế bệnh héo rũ gốc mốc trắng (Hình 1C). Kết quả nghiên cứu về mối tương quan giữa tỷ lệ héo rũ gốc mốc trắng và năng suất lạc cho thấy, khi tỷ lệ cây chết tăng làm cho năng suất giảm (hệ số góc < 0), với $r = - 0,7723$ (Hình 2C). Với hệ số r này cho thấy có sự tương quan giữa tỷ lệ cây chết do bệnh héo rũ gốc mốc trắng và năng suất lạc với $p < 0,05$. Dựa trên kết quả nghiên cứu có thể kết luận có sự tương quan giữa tỷ lệ

héo rû gốc mốc trắng với năng suất lạc, khi bệnh tăng làm năng suất giảm.

- Bệnh héo rû tái xanh:

Bệnh héo rû tái xanh do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* gây ra. Khả năng hạn chế bệnh héo rû tái xanh của dung dịch nano bạc được chúng tôi thể hiện ở Hình 1D. Qua kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ nano bạc ảnh hưởng đến khả năng hạn chế bệnh héo rû tái xanh còn số lần phun ít ảnh hưởng rõ ràng đến bệnh. Kết quả nghiên cứu về mối tương quan giữa tỷ lệ héo rû tái xanh và năng suất lạc cho thấy, khi tỷ lệ cây chết tăng làm cho năng suất giảm (hệ số góc < 0), tuy nhiên mức độ tương quan không chặt với $r = - 0,6570$ (Hình 2D).

3.2. Năng suất và hiệu quả kinh tế khi sử dụng nano bạc trên cây lạc

- Năng suất: Số liệu về năng suất thực thu của lạc được thể hiện ở Hình 1 (E). Kết quả nghiên cứu cho thấy khi sử dụng nano bạc làm tăng năng suất lạc so với đối chứng. Trong các phương pháp sử dụng nano bạc ở các nồng độ và số lần phun khác nhau cho thấy, sử dụng nano bạc với nồng độ 25,4 ppm phun 3 lần và nồng độ 76,3 ppm phun 2 lần cho năng suất cao

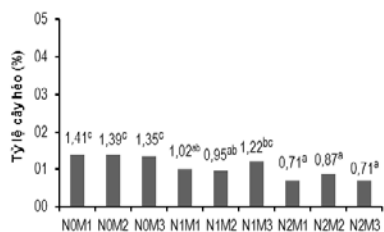
hơn đối chứng. Tuy nhiên mức độ sai khác giữa các công thức có sử dụng nano bạc không lớn. Nguyên nhân làm năng suất lạc tăng so với đối chứng có thể liên quan đến mức độ hạn chế một số bệnh héo rû lạc khi sử dụng nano bạc.

- Hiệu quả kinh tế: Là một nghiên cứu ứng dụng trên đồng ruộng, hiệu quả kinh tế mang lại của một biện pháp kỹ thuật phải được quan tâm. Một biện pháp kỹ thuật được áp dụng ngoài hiệu quả kỹ thuật và môi trường như nhà nghiên cứu và quản lý mong muốn, hiệu quả kinh tế phải mang lại rõ ràng thì người dân mới có thể áp dụng. Hiệu quả kinh tế mang lại của biện pháp sử dụng nano bạc trong hạn chế bệnh héo rû được thể hiện ở Bảng 1. Kết quả nghiên cứu cho thấy, công thức sử dụng nano bạc với nồng độ 25,4 ppm phun 1 lần cho lạc ở thời điểm lạc có 3 lá thật hiệu quả kinh tế cao nhất, tiếp đến là công thức sử dụng nồng độ 25,4 ppm phun 3 lần. Khi so sánh hiệu quả tăng năng suất và hiệu quả kinh tế cho thấy, sử dụng nồng độ nano bạc 76,3 ppm phun 2 lần cho năng suất cao nhất, nhưng hiệu quả kinh tế mang lại không cao điều này là do chi phí khá lớn cho việc sử dụng nano bạc.

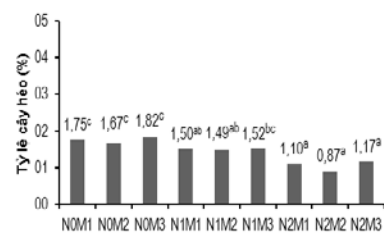
Bảng 1. Hiệu quả kinh tế khi sử dụng nano bạc trên cây lạc ở Thừa Thiên Huế

Công thức thí nghiệm	Chi phí sử dụng nano bạc (triệu đồng/ha)	Năng suất (tấn/ha)	Năng suất tăng thêm (tấn/ha)	Thu nhập tăng thêm (triệu đồng/ha)	Chênh lệch (triệu đồng/ha)	Hệ số lãi
N0M	0,0	2,8	0,0	0,0	0,0	-
N1M1	1,2	3,1	0,3	6,9	5,7	4,75
N1M2	2,4	3,0	0,2	4,6	2,2	0,92
N1M3	3,6	3,2	0,4	9,2	5,6	1,56
N2M1	3,6	3,0	0,2	4,6	1,0	0,28
N2M2	7,2	3,3	0,5	11,5	4,3	0,60
N2M3	10,8	3,1	0,3	6,9	- 3,9	- 0,36

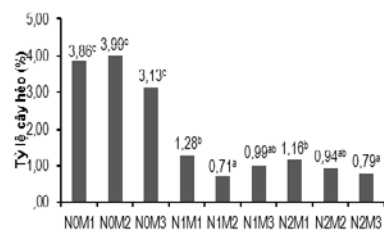
Ghi chú: Giá nano bạc 150.000 đồng/lít; giá lạt tại thời điểm thu hoạch là 23.000 đồng/kg; Năng suất trung bình của các công thức không sử dụng nano bạc (NOM = (NOM1 + NOM2 + NOM3) - 3) được sử dụng để tính toán hiệu quả kinh tế.



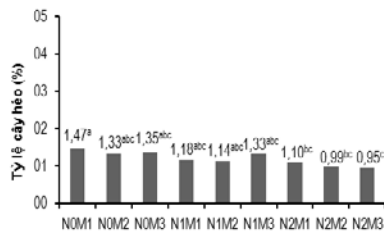
A



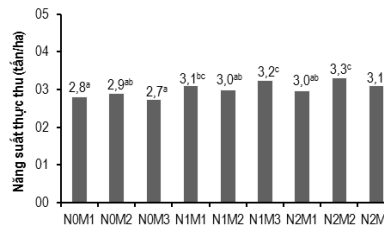
B



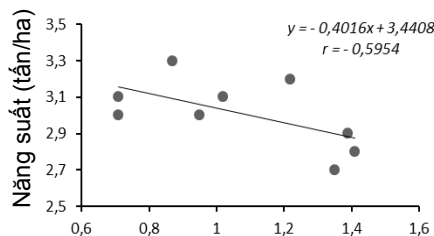
C



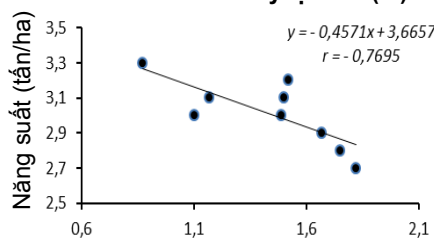
D



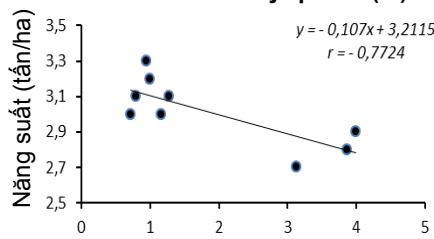
E



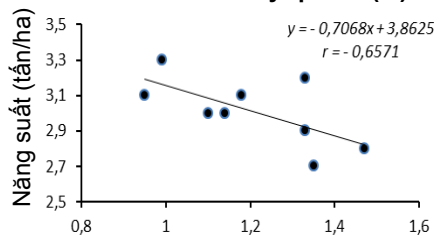
A Tỷ lệ chết (%)



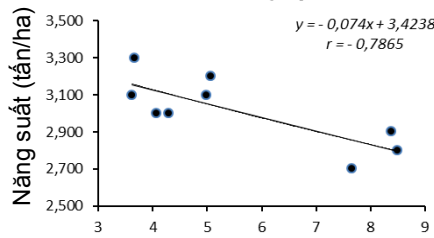
B Tỷ lệ chết (%)



C Tỷ lệ chết (%)



D Tỷ lệ chết (%)



E Tỷ lệ chết (%)

Hình 1.

Tỷ lệ chết do các bệnh lở cổ rễ (A), héo rũ gốc mốc đen (B), héo rũ gốc mốc trắng (C), héo rũ tái xanh (D) và năng suất thực thu lạc (E) ở các công thức thí nghiệm

Chữ cái trên các đỉnh cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa khi so sánh LSD ($p < 0,05$).

Hình 2.

Tương quan giữa tỷ lệ chết do bệnh lở cổ rễ (A), héo rũ gốc mốc đen (B), héo rũ gốc mốc trắng (C), héo rũ tái xanh (D), tổng tỷ lệ bệnh và năng suất thực thu lạc (E) ở các công thức thí nghiệm

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Nano bạc có khả năng hạn chế một số bệnh héo rũ hại lạc có nguồn bệnh từ đất như bệnh lở cổ rễ, héo rũ gốc mốc đen, héo rũ gốc mốc trắng và héo rũ tái xanh. Với nồng độ 76,3 ppm và phun 2 lần cho cho hiệu quả hạn chế bệnh hại cao nhất. Sử dụng nano bạc làm giảm một số bệnh héo rũ do đó làm tăng năng suất từ 0,2 đến 0,5 tấn/ha so với đối chứng. Sử dụng nano bạc nồng độ 25,4 ppm phun một lần vào lúc lạc có 3 lá thật cho hiệu quả kinh tế cao nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Như Cương (2004). Tình hình bệnh héo rũ hại lạc và kết quả nghiên cứu một số biện pháp phòng trừ tại tỉnh Thừa Thiên Huế. *Tạp chí Bảo vệ thực vật* 1, 9 - 15.
2. Jung, J. - H., Kim, S. - W., Min, J. - S., Kim, Y. - J., Lamsal, K., Kim, K. S., and Lee, Y. S. (2010). The Effect of nano - silver liquid against the white rot of the green onion caused by *Sclerotium cepivorum*. *Mycobiology* 38, 39 - 45.
3. 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.
4. Kwanchai A. Gomez, and Arturo A. Gomez, 1984. Statistical procedures for agricultural research, 2nd Edition. A Wiley - Interscience Publication.
5. Le, C. N., Mendes, R., Kruijt, M., and Raaijmakers, J. M. (2012). Genetic and phenotypic diversity of *Sclerotium rolfsii* in groundnut fields in Central Vietnam. *Plant Disease* 96, 389 - 397.
6. Nguyễn Thị Nguyệt, Nguyễn Thị Thanh, Trần Văn Minh và Lê Như Cương (2004). Kết quả nghiên cứu nhóm bệnh héo rũ hại lạc và một số biện pháp phòng trừ tại Quảng Bình. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn* 4, 1537 - 1538.
7. Patel, N., Desai, P., Patel, N., Jha, A., and Gautam, H. K. (2014). Agronanotechnology for plant fungal disease management: A Review. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* 3, 71 - 84.
8. Rizwan, M., Ali, S., Qayyum, M. F., Ok, Y. S., Adrees, M., Ibrahim, M., Zia - ur - Rehman, M., Farid, M., and Abbas, F. (2017). Effect of metal and metal oxide nanoparticles on growth and physiology of globally important food crops: A critical review. *Journal of Hazardous Materials* 322, Part A, 2 - 16.
9. Servin, A., Elmer, W., Mukherjee, A., De la Torre - Roche, R., Hamdi, H., White, J. C., Bindraban, P., and Dimkpa, C. (2015). A review of the use of engineered nanomaterials to suppress plant disease and enhance crop yield. *Journal of Nanoparticle Research* 17, 92.
10. Lê Lương Tê (1977). Giáo trình Bệnh cây. Nhà xuất bản Giáo dục, Hà Nội.

XÁC ĐỊNH MẪU *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC DỰA VÀO VIP3A

Dương Kim Hà¹, Trần Thị Kim Oanh²
Trần Thị Hồng Nhung², Trương Phước Thiên Hoàng²
Nguyễn Bảo Quốc², Lê Đình Đôn²

¹Trung tâm Giống cây trồng, vật nuôi và thủy sản

²Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh

ASBTRACT

Determination of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* Bioassay based on VIP3A

So we performed present of VIP3A gen in *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* based on VIP3A primers. 10 type *Bacillus thuringiensis* (Bt) strains isolated from different regions in Viet Nam were stained Gram, test presence of spores and crystal. After that, process SDS - PAGE with 5 in 10 type can create crystal: VP9.1; VP10.1; TG5.1; TG6.2 and BT 10.2. As a result, all of them have protein with 66 kDa.. To be sure that is VIP3A protein, conducted PCR with 10 type and 1 positive control. Size PCR product approximately 3.4kb and homological with positive control.

Keywords: *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, VIP3A protein.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Với sự phát triển của công nghệ gen, nhiều nghiên cứu cho thấy *Bt* hiện diện trong nhiều vùng sinh thái khác nhau, tồn tại trong đất, bụi sản phẩm tồn trữ, côn trùng chết, hạt giống, đất nông nghiệp và môi trường thủy sản (Martin và Travers, 1989; Ben-Dov và *ctv.*, 1997; Iriarte và *ctv.*, 1998) và thu được nhiều bộ sưu tập các dòng *B. thuringiensis* rất phong phú, có khả năng tiêu diệt nhiều loại côn trùng và sâu hại với các hoạt tính khác nhau. Tuy nhiên, mỗi dòng *B. thuringiensis* chỉ chứa

một số nhóm gen *cry* gây độc với một số loài côn trùng nhất định. Việc xác định các chủng *B. thuringiensis* có chứa nhóm gen *cry* mong muốn, tạo dòng và xác định trình tự gen độc tố là vấn đề rất cần thiết.

Bên cạnh đó, hiệu quả diệt sâu hại dựa vào protein độc tính dạng tinh thể *cry*, *cyt*, và *Bt* cũng sản sinh các loại protein diệt côn trùng khác gọi là Vip (Vegetative Insecticidal Protein - protein diệt côn trùng thực vật) (Abdelkefi-Mesrati và *ctv.*, 2011; Abdelmalek và *ctv.*, 2016; Leopoldo Palma, 2017; Estruch, 1996). Protein Vip được tổng hợp bởi gene chuyên biệt trong

giai đoạn sinh trưởng và phát triển của *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Btk).

Kết quả nghiên cứu quá trình sinh tổng hợp và cấu trúc chức năng các gene mã hóa tương ứng, đã thúc đẩy công nghệ sản xuất Btk chứa bào tử, protein độc tính của những dòng Btk bản địa và Btk được can thiệp di truyền, cũng như khai thác Btk để tạo chế phẩm tốt, yếu tố quan trọng nhất là dòng vi khuẩn Btk được đưa vào phải có khả năng tạo độc tố có độc lực cao. Một trong những độc tố cao nhất của vi khuẩn Btk là nội độc tố được quy định bởi đoạn gen Vip3 chiếm 67,4% trong 1789 mẫu đất chứa 2134 chủng *Bacillus thuringiensis* (Yu và ctv., 2010).

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Vip3A protein của vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*.

2.2. Thời gian thực hiện

Từ tháng năm 2017 đến tháng 5 năm 2018.

2.3. Địa điểm nghiên cứu

Phân lập mẫu vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* tại Viện Nghiên cứu Công nghệ Sinh học và Môi trường - Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh.

2.4. Vật liệu nghiên cứu

Phân tích 10 mẫu là các mẫu khuẩn lạc vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* đã được chọn lọc từ những mẫu được xác định có sự xuất hiện tinh thể độc và 1 mẫu đối chứng dương là *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* được cung cấp bởi TS. Boonhiang Promdonkoy (BIOTEC Thái Lan).

Các mẫu được thu thập từ các tỉnh Vĩnh Phúc, Bến Tre, Lâm Đồng và Tiền Giang (Bảng 1).

Bảng 1. Địa điểm thu mẫu và ký hiệu mẫu

Nguồn gốc mẫu	Vĩ độ	Kinh độ	Ký hiệu mẫu
Đạo Đức, Bình Xuyên, tỉnh Vĩnh Phúc	21 ⁰ 15'16,1"	105 ⁰ 39'59,0"	VBt2119.1
Thị xã Phúc Yên, tỉnh Vĩnh Phúc	21 ⁰ 13'40,6"	105 ⁰ 42'48,0"	VBt21110.1
Hậu Thành, Cái Bè, tỉnh Tiền Giang	10 ⁰ 23'05"	105 ⁰ 59'57"	VBt2735.1
Hậu Thành, Cái Bè, Tiền Giang	10 ⁰ 23'05"	105 ⁰ 59'57"	VBt2736.2
Thạnh Trị, Bình Đại, tỉnh Bến Tre	10 ⁰ 8'40,1"	106 ⁰ 38'12,5"	VBt27510.2
Bình Thành, Giồng Trôm, tỉnh Bến Tre	10 ⁰ 8'35,5"	106 ⁰ 32'33,8"	VBt2751.2
Bình Thành, Giồng Trôm, tỉnh Bến Tre	10 ⁰ 8'35,5"	106 ⁰ 32'33,8"	VBt2751.3
Hồ Lãng, Hồ Xuân Hương, tỉnh Lâm Đồng	11 ⁰ 57'04.6"	108 ⁰ 27'07.6"	VBt26313.2
Phường 4, Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng	11 ⁰ 54'46"	108 ⁰ 25'12"	VBt26311.1
Đức Trọng, tỉnh Lâm Đồng	11 ⁰ 47'41.1"	108 ⁰ 24'22.6"	VBt26323.1

Ghi chú: Ký hiệu mẫu: VBt2751.2 (số 275 - mã vùng điện thoại của Bến Tre; số 1 - mẫu số 1; số 2: dòng số 2).

Các dòng vi khuẩn *B. thuringiensis* sau khi chọn lọc, tiến hành nuôi cấy trên môi trường LB lỏng ở 30°C và lắc 180 vòng/phút trong 24 giờ và bảo quản trong glycerol 50% (-20°C) (Traver và *ctv.*, 1987).

Trình tự cặp prime để xác định gen Vip3A vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* var. *kurstakis* Fw/Rv 5' - CAT ATG AAC AAG AAT AAT ACT AAA TTA A - 3' và 5' - CTC GAG TTA CTT AAT AGA GAC ATC GGA - 3' với kích thước 28 bp/27 bp (Abdelkefi - Merrati và *ctv.*, 2005).

Thành phần hóa chất cho một phản ứng PCR: Nước tinh khiết 136 µl, 10 × PCR buffer + 25 mM MgCl₂ 26 µl, dNTP mixture (2mM) 26 µl, Forward primer (10 nM) 26 µl, Reverse primer (10 nM) 26 µl, Taq

DNA polymerase (3 - 5 units/µl) 6,5 µl (Kavitar Nair và *ctv.*, 2018).

Chu kỳ phản ứng PCR: 95°C trong 90 giây, 94°C trong 30 giây, 45°C trong 30 giây, 72°C trong 90 giây 24 chu kỳ, 72°C trong 420 giây, giữ lạnh ở 4°C.

Kỹ thuật SDS - PAGE (Abdelkefi - Merrati và *ctv.*, 2005).

Ly trích protein tổng số: Tăng sinh các giống có khả năng sinh tinh thể trong môi trường LB lỏng, lắc qua đêm ở 37°C trong 16 - 18 giờ.

Chuẩn bị gel SDS-polyacrylamide: Chuẩn bị gel tách 12% và gel gom 4% cho quá trình điện di. Thành phần hóa chất và thể tích các chất trong gel polyacrylamide (Bảng 2).

Bảng 2. Thành phần hóa chất trong gel polyacrylamide

Thành phần	Gel tách 12%	Gel gom 4%
Nước cất	2,24 ml	1,785 ml
Bis:Acrylamide(29:1)	2,8 ml	402 µl
Tris 8.8	1,82 ml	
Tris 6.8		750 µl
SDS 10%	70 µl	30 µl
APS	70 µl	30 µl
TEMED	7 µl	3 µl
Tổng	7 ml	1 ml

Chạy SDS - PAGE ở dòng điện 100 - 120 V, khoảng 3 giờ, Nhuộm và rửa nhuộm: Fixing: 50% ethanol + 10% acid acetic + 40% nước. Staining: 0.1% Commassie BR250 + fixing solution. Destaining: 40% ethanol + 10% acid acetic + 50% nước.

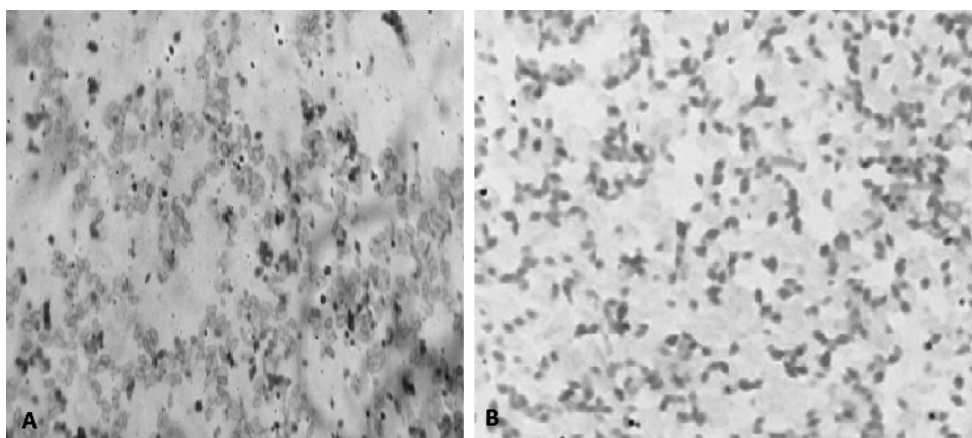
III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Tiến hành thử nghiệm đặc tính sinh hóa của 10 dòng vi khuẩn trên theo khóa phân loại của Bergey, thu được các dòng vi khuẩn thuộc chi *Bacillus* spp. phù hợp với các tiêu chí: gram dương, vi khuẩn hình que, sinh bào tử, catalase dương tính,

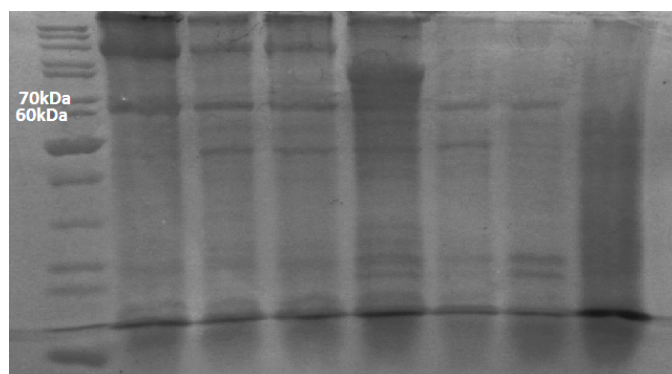
có khả năng thủy phân tinh bột, phản ứng V.P dương tính. Từ những dòng vi khuẩn có kích thước chiều rộng lớn hoặc bằng 1 μm có khả năng là *Bacillus thuringiensis*.

Các dòng vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* (Bt) được nuôi cấy trên môi trường LB rắn trong 72 - 96 giờ, sau đó tiến hành nhuộm bào tử và tinh thể. Kết

quả cho thấy, tất cả các dòng đều có sự xuất hiện bào tử, tuy nhiên chỉ có 5 trong 10 dòng có khả năng tạo tinh thể (VBt2119.1; VBt21110.1; VBt2735.1; VBt2736.2 và VBt27510.2) và các dòng này đều cho tinh thể dạng hình thoi (Hình 1).



Hình 1. Hình thái tế bào và tinh thể của vi khuẩn *Btk* dưới kính hiển vi (vật kính 100X)
A. Bào tử vi khuẩn bắt màu xanh; B. Tinh thể hình thoi



Hình 2. Kết quả SDS - PAGE

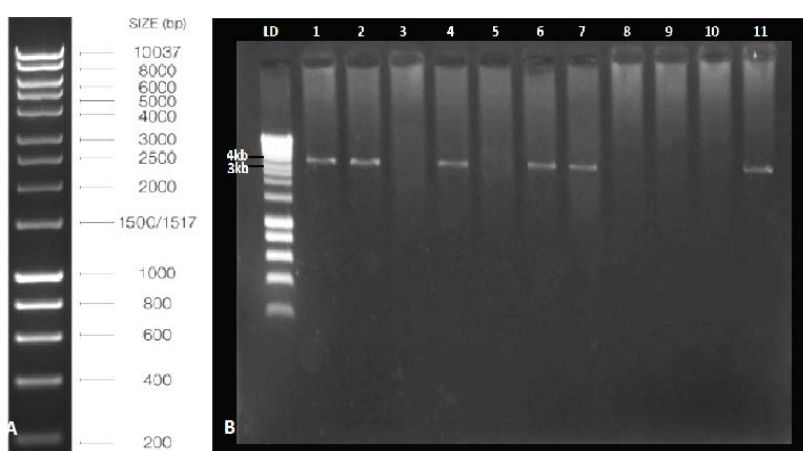
1. Đối chứng dương; 2. Dòng VBt2119.1; 3. Dòng VBt21110.1; 4. Dòng VBt2735.1; 5. Dòng VBt2736.2; 6. Dòng VBt27510.2; 7. Đối chứng âm; LD: Thang protein chuẩn 10 - 200 kDa. (Promega)

Từ các dòng tạo tinh thể hình thoi (VBt2119.1; VBt21110.1; VBt2735.1; VBt2736.2 và VBt27510.2) tiến hành thí nghiệm SDS - PAGE cho thấy đều có sự xuất hiện của protein khoảng 66 kDa.

Sử dụng cặp mồi Vip3A được lựa chọn và thiết kế để khuếch đại trình tự gen Vip3A, các sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 0.8%. Kết quả điện di sản phẩm PCR trên hình 3 cho thấy có 6 mẫu (trong đó có đối chứng dương) có sản

phẩm khuếch đại với kích thước khoảng 3,4 kb và chỉ xuất hiện 1 băng duy nhất và không có sản phẩm phụ, sản phẩm PCR ở 6 mẫu có sự tương đồng về kích thước sản phẩm PCR. Các dòng không sinh tinh thể đều không cho sản phẩm ở phản ứng PCR. Điều này chứng minh khả năng sinh tinh thể độc có liên quan mật thiết với sự hiện diện của các gen gây độc nói chung và gen Vip3A nói riêng.

So sánh kích thước sản phẩm của các mẫu ở giếng số 1, 2, 4, 6, 7 với đối chứng dương ở giếng số 11 *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* đã được chứng minh là mang gen Vip3A, có thể khẳng định rằng các mẫu VBt2119.1; VBt21110.1; VBt2735.1; VBt2736.2 và VBt27510.2 đều có gen Vip3A mã hóa cho protein độc tố Vip3A.



Hình 3. Kết quả phản ứng PCR vùng gen Vip-3A

A. Thang chuẩn hyper ladder 1kb; B. Kết quả PCR vùng gen Vip3A

Giếng 1: VBt2119.1; giếng 2: VBt21110.1; giếng 3: VBt2751.3; giếng 4: VBt27510.2;
giếng 5: VBt2736.2; giếng 6: VBt2735.1; giếng 7: VBt2751.2; giếng 8: VBt26313.2;
giếng 9: VBt26311.1; giếng 10: VBt26323.1; giếng 11: Đối chứng dương.

So với các gen gây độc khác như *cry* hay *cyt*, Vip3A có phổ kháng sâu bệnh và côn trùng rộng hơn. Bên cạnh đó, Vip3A còn có khả năng kiểm soát một số đối tượng sâu bệnh và côn trùng ít nhạy cảm với các gen *cry* như *Cry1* hoặc *Cry2*. Gen Vip3A là một gen rất được quan tâm trên thế giới, tuy nhiên tại Việt Nam gen này ít được chú ý hơn so với các gen *cry* hay *cyt* do hạn chế về một số kỹ thuật. Trong thí nghiệm này tất cả các mẫu có khả năng sinh tinh thể đều mang gen độc tố Vip3A mã hóa protein Vip3A. Những đặc tính

của Vip3A mở ra khả năng ứng dụng rất cao trong việc sử dụng thuốc trừ sâu vi sinh có nguồn gốc từ *Bt* dựa trên một số lượng lớn các loài gây hại hiện nay trên cây trồng (Leopoldo Palma, 2014).

IV. KẾT LUẬN

Đã xác định được 5 trong số 10 dòng vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* từ 3 tỉnh Vĩnh Phúc (VBt2119.1, VBt21110.1), Tiền Giang (VBt2735.1, VBt2736.2), Bến Tre (VBt27510.2) có sự hiện diện của protein nội độc tố Vip3A.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abdelkefi - Mesrati L., Tounsi S., Jaoua S. (2005). Characterization of a novel vip3 - type gene from *Bacillus thuringiensis* and evidence of its presence on a large plasmid. *FEMS Microbiol. Lett.* 244, 353 - 358.
2. Abdelkefi - Mesrati L., Boukedi H., Chakroun M., Kamoun F., Azzouz H., Tounsi S., et al. (2011). Investigation of the steps involved in the difference of susceptibility of *Ephesia kuehniella* and *Spodoptera littoralis* to the *Bacillus thuringiensis* Vip3Aa16 toxin. *J. Invertebr. Pathol.* 107, 198 - 201. 10.1016/j.jip.2011.05.014 [PubMed] [CrossRef]
3. Abdelmalek N., Sellami S., Ben Kridis A., Tounsi S., Rouis S. (2016). Molecular characterisation of *Bacillus thuringiensis* strain MEB4 highly toxic to the Mediterranean flour moth *Ephesia kuehniella* Zeller (*Lepidoptera: Pyralidae*). *Pest Manag. Sci.* 72, 913 - 921. 10.1002/ps.4066 [PubMed] [CrossRef]
4. Ben - Dov EQ, Zaritsky A, Dahan E, Barak Z, Sina R, Manasherob R., 1997. *Extended screening by PCR for seven cry group genes from field collected strains of Bacillus thuringiensis.* *Appl Environ Microbiol.* 63: 4883 - 4890.
5. Estruch, J. J., G. W. Warren, M. A. Mullins, G. J. Nye, J. A. Craig, and M. G. Koziel., (1996). Vip3A, a novel *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein with a wide spectrum of activities against lepidopteran insects. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:5389 - 5394.
6. Iriarte J, Bel Y, Ferrandis MD, Andrew R, Murillo J, Caballero P. (1998). Environmental distribution and diversity of *Bacillus thuringiensis* in Spain. *Syst Appl Microbiol.* 21:97 - 106.27.
7. Leopoldo Palma, David J. Scott, Gemma Harris, Salah - Ud Din, Thomas L. Williams, Oliver J. Roberts, Mark T. Young, Primitivo Caballero and Colin Berry 5 (2017). The Vip3Ag4 Insecticidal Protoxin from *Bacillus thuringiensis* Adopts A Tetrameric Configuration That Is Maintained on Proteolysis. *Journal of Toxins* 2017, 9, 165.
8. Kavita Nair, Roda Al - Thani, Dhabia Al - Thani, Fatima Al - Yafei, Talaat Ahmed, and Samir Jaoua (2018). Diversity of *Bacillus thuringiensis* strains from Qatar as shown by crystal morphology, δ - Endotoxins and Cry Gene Content. *Front Microbiol* 2018; Volume 9: Article 708.
9. Martin Paw and Travers RS (1989). Worldwide abundance and distribution of *Bacillus thuringiensis* isolates. *Appl Environ Microbiol* 55: 2437 - 2442.
10. Travers R.S., Martin P.A., and Reichelderfer C.F. (1987). Selective process for efficient isolation of soil *Bacillus* spp.. *Applied and Environmental Microbiology* 53: 1263 - 1266.

* **Lời cảm ơn:** Cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ Tp. Hồ Chí Minh đã cấp kinh phí cho nghiên cứu này. Cảm ơn TS. Boonhiang Promdonkoy (BIOTEC Thái Lan) đã cung cấp mẫu Btk và primer Vip3A cho nghiên cứu.

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG VÀ SINH TỔNG HỢP Cellulase CỦA MỘT SỐ CHỦNG *Bacillus* NỘI SINH TRÊN CÂY CÀ PHÊ

Nguyễn Thị Hồng Hà¹, Đỗ Thị Gấm^{2,3}

Nguyễn Thị Thu Hiền¹, Đỗ Tiến Phát^{1,2}

Chu Hoàng Hà^{1,2}, Phạm Bích Ngọc^{1,2}

¹ Viện Công nghệ Sinh học

Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

² Học viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³ Trung tâm Phát triển Công nghệ cao

Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

ABSTRACT

Research on growth ability and cellulase synthetic of *Bacillus* of coffee

Different bacteria showing cellulase activity have been indicated such as Bacillus, Cellulomonas, Vibrio, Archomobacter... In this study, some endophytic bacteria (Bacillus strains) isolated from coffeeshowed the cellulase activity. Different factors including temperature, culture time, pH, NaCl concentrations were evaluated to determine optimal conditions for bacterial growth and cellulase activity improvement. The results showed the differences in colony morphology of tested strains. Moreover, the highest density of the 3R01 strain was observed at 24 hours under conditions of 37°C and pH = 7, while that for 11R01 and 4R01 was found at 37°C and pH = 8. In addition, the growth of three Bacillus strains was completely inhibited in medium with 9 - 11% NaCl. The current result provided information for further studies in growing and utilizing of the endophytic bacteria isolated from coffee plants.

Keywords: Coffee, cellulase, endophytic bacteria, Bacillus.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay việc sử dụng quá nhiều thuốc trừ bệnh có nguồn gốc hóa học có thể dẫn đến suy thoái đất và hiện tượng kháng thuốc. Để đối phó với vấn đề này, việc kiểm soát sâu bệnh bằng biện pháp

sinh học ngày càng được chú ý và đã có nhiều nghiên cứu được thực hiện trong thời gian gần đây (Nguyen và cộng sự, 2008). Vi sinh vật nội sinh được xem là một trong những đối tượng quan trọng, trong đó một số loại đã được phân lập và sàng lọc để làm chế phẩm vi sinh. Do đặc tính sống nội sinh trong tế bào mô thực vật, các chế phẩm sinh học có nguồn gốc

Người phân biên: GS.TS. Bùi Cách Tuyền.

từ vi khuẩn nội sinh có thời gian thích nghi nhanh hơn và mang lại hiệu quả tốt khi áp dụng. Ngoài ra, vi sinh vật nội sinh tạo nhiều chất kháng sinh đối với nấm bệnh, các chất kích thích sinh trưởng cho cây trồng. Nghiên cứu, ứng dụng vi sinh vật nội sinh đã được tiến hành trên nhiều loại cây trồng quan trọng như lúa mì (Larran và cộng sự, 2002), chuối (Pocasangre và cộng sự, 2000), đậu nành (Larran và cộng sự, 2002) và cà chua (Larran và cộng sự, 2001). Tuy nhiên, các nghiên cứu về vi sinh vật nội sinh trên cây cà phê vẫn còn rất hạn chế (Vega và cộng sự, 2005). Đắk Lắk là một trong những tỉnh đứng đầu sản xuất cà phê với 41.526 ha canh tác (40.550 ha đang ở giai đoạn kinh doanh) và sản lượng cà phê nhân hàng năm đạt gần 113 nghìn tấn. Trong đó, khoảng 7.500 ha cà phê đã già cỗi, thoái hóa cho năng suất và chất lượng thấp cần được tái canh, hoặc ghép cải tạo trong giai đoạn 2013 - 2018. Tuy nhiên, việc trồng mới hay tái canh gặp nhiều khó khăn do ảnh hưởng của sâu bệnh và nấm. Nguyên nhân chủ yếu do việc trồng trọt lâu năm cây cà phê trên cùng một vùng canh tác. Nhóm *Bacillus* là vi khuẩn nội sinh được đánh giá có hiệu quả tốt trong việc nâng cao sự chống chịu và tăng khả năng sinh trưởng của cây trồng. Trong các nghiên cứu trước đây, chúng tôi đã phân lập được một số chủng *Bacillus* trên cây cà phê tái canh đồng thời xác định được các chủng có hoạt tính cellulase. Để phát triển và ứng dụng các chủng vi khuẩn này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đặc điểm hình thái, khả năng sinh trưởng và sinh tổng hợp cellulase của một số chủng *Bacillus* đã được phân lập trên các điều kiện môi trường khác

nhau nhằm tìm ra những điều kiện nuôi cấy phù hợp.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Nguyên liệu

Các chủng vi khuẩn *Bacillus* 3R01, 4R01 và 11R01 nội sinh phân lập từ cây cà phê tái canh có trong bộ sưu tập Phòng Công nghệ tế bào thực vật, Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.1.2. Môi trường

- *Môi trường nuôi cấy vi khuẩn*: MPA (g/l): meat extract 3; pepton 5; NaCl 5; agar 20; nước cất 1.000 ml, pH = 7.

- *Môi trường xác định hoạt lực enzym*: MPA - CMC (g/l): meat extract 3; pepton 5; NaCl 5; CMC 1%; agar 20; nước cất 1.000 ml. MPA - tinh bột tan (g/l): meat extract 3; pepton 5; NaCl 5; tinh bột tan 1; agar 20; nước cất 1.000 ml, pH = 7.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- *Xác định khả năng thủy phân tinh bột*: Môi trường tinh bột được khử trùng ở 0,8 atm trong 20 phút, sau đó đổ ra đĩa Petri. Cây chấm điểm vi khuẩn vào các đĩa, nuôi trong tủ 37°C trong 48 giờ. Sau đó lấy ra thử thuốc thử Lugol. Nếu vi khuẩn có khả năng thủy phân tinh bột sẽ tạo vòng phân giải xung quanh chỗ vi khuẩn sinh trưởng (Nguyễn Lâm Dũng, 1976).

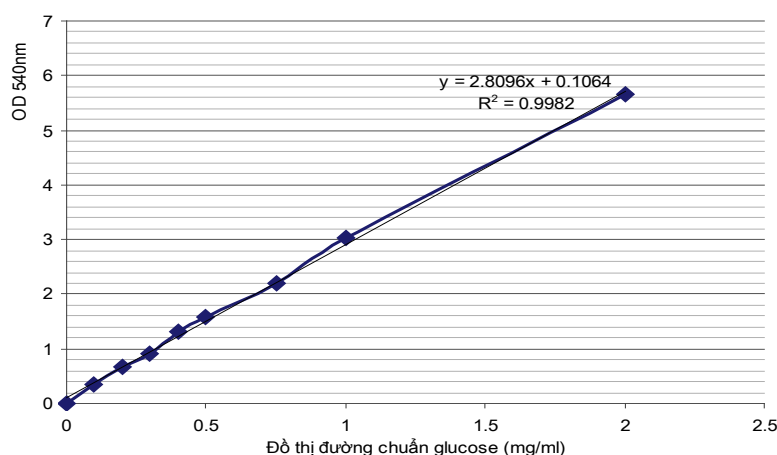
- *Xác định khả năng thủy phân cellulose*: Môi trường MPA có bổ sung CMC, sử dụng phương pháp cây chấm điểm trên đĩa, ủ ở nhiệt độ 37°C trong 48

giờ. Sau đó nhuộm màu bằng thuốc thử Lugol. Nếu vi khuẩn có khả năng thủy phân cellulase chúng sẽ tạo vòng phân giải xung quanh khuẩn lạc (Nguyễn Lâm Dũng, 1976).

- Phương pháp đường khử của Bernfeld:

Nuôi vi khuẩn trong môi trường MPA có bổ sung CMC ở nhiệt độ 37°C

trong 48 giờ sau đó thu dịch nuôi có chứa enzyme. Khi enzyme phân hủy cellulose tác dụng với cơ chất là CMC, sản phẩm tạo thành là glucose được hiện màu với thuốc thử DNS (3,5 - dinitrobenzoic acid), sau đó đo mật độ quang ở bước sóng 540 nm.



Hình 1. Đồ thị đường chuẩn glucose theo Bernfeld

- Xác định nhiệt độ nuôi cấy thích hợp:

Nuôi chủng vi khuẩn trên môi trường MPA lỏng trong các điều kiện nhiệt độ môi trường khác nhau. Các nhiệt độ được lựa chọn nghiên cứu là: 25, 30, 37, 40, 45, 50, 55, 60°C. Sau 24 giờ nuôi cấy tiến hành thu dịch chiết enzyme và xác định hoạt độ enzyme.

- Xác định pH môi trường nuôi cấy thích hợp.

Nuôi chủng vi khuẩn trên môi trường MPA lỏng trong các điều kiện pH môi trường khác nhau. Các chủng vi sinh vật sẽ được nghiên cứu về khả năng phát triển trong các điều kiện pH môi trường khác nhau. Các giá trị pH môi trường

khác nhau được lựa chọn nghiên cứu là: pH 4; 5; 6; 7; 8; 9. Sau 24 giờ nuôi cấy tiến hành thu dịch chiết enzyme và xác định hoạt độ enzyme.

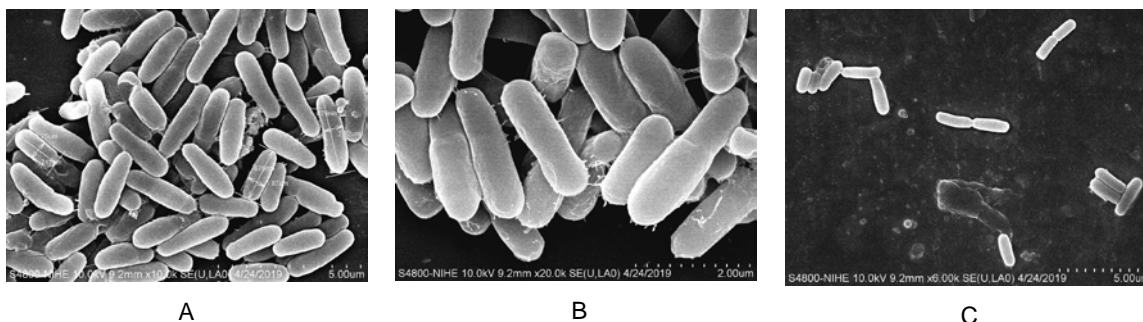
+ Kiểm tra khả năng chịu muối:

Nuôi chủng vi khuẩn trên môi trường MPA lỏng trong các nồng độ NaCl môi trường khác nhau. Các chủng vi sinh vật sẽ được nghiên cứu về khả năng phát triển trong các điều kiện bổ sung nồng độ NaCl khác nhau. Các giá trị nồng độ NaCl được lựa chọn nghiên cứu là: 1%, 3%, 5%, 7%, 9%, 11%. Sau 24 giờ nuôi cấy tiến hành quan sát, đánh giá khả năng sinh trưởng của các chủng vi sinh vật nghiên cứu bằng cách đo độ hấp thụ ánh sáng OD₆₀₀ nm.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

- *Đặc điểm hình thái khuẩn lạc và tế bào*: Đặc điểm hình thái khuẩn lạc và tế bào của các chủng vi khuẩn nghiên cứu được

xác định khi nuôi cấy trên môi trường MPA, sau 24 - 48 giờ quan sát hình thái khuẩn lạc và tế bào trên kính hiển vi điện tử quét, độ phóng đại 10000 lần.



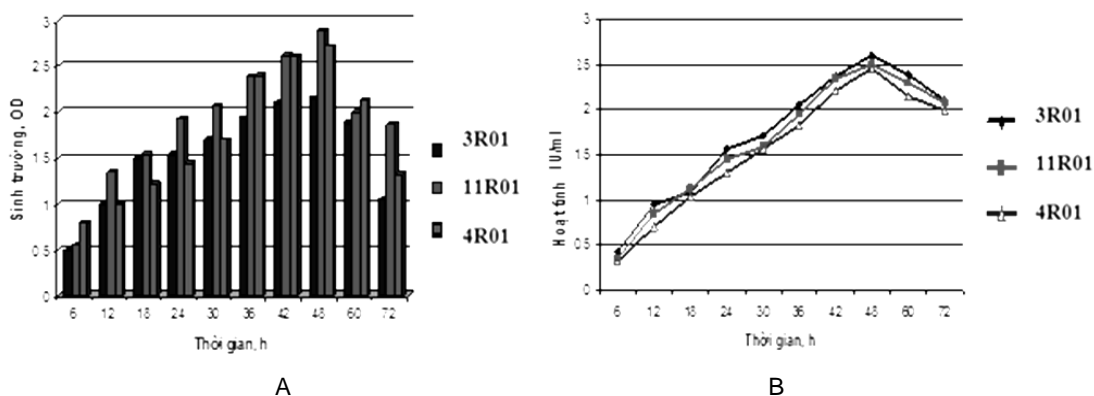
Hình 2. Hình thái tế bào các chủng vi khuẩn

A. Chủng 3R01; B. Chủng 4R01; C. Chủng 11R01

Kết quả Hình 2 cho thấy 2 chủng 3R01 và 4R01 đều có tế bào hình que dài, kích thước từ 1 - 5 μm . Hình thái tế bào của 2 chủng tương tự nhau nhưng hình thái khuẩn lạc thì khác nhau hoàn toàn. Trong đó chủng 3R01 có khuẩn lạc lồi, không bóng, nhầy, hơi nhăn, chủng 4R01 có khuẩn lạc màu trắng sữa, hơi lồi, mép răng cưa. Chủng 11R01 có tế bào hình que ngắn hơn, kích thước 1 - 2 μm , khuẩn lạc tròn, màu trắng kem.

3.1. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến sinh trưởng và sinh tổng hợp cellulase của các chủng vi khuẩn

Ba chủng vi khuẩn lựa chọn được nuôi cấy trên môi trường MPA, nhiệt độ 37°C, điều kiện lắc 200 vòng/phút. Dung dịch vi khuẩn được thu thập 6 giờ một lần và tiến hành đo OD với bước sóng 600 nm. Kết quả đánh giá sinh trưởng của vi khuẩn được trình bày ở Hình 3.



Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian đến sinh trưởng của 3 chủng vi khuẩn

A. Thời gian ảnh hưởng đến sinh trưởng của chủng khuẩn;
B. Thời gian ảnh hưởng đến hoạt tính enzyme của chủng khuẩn

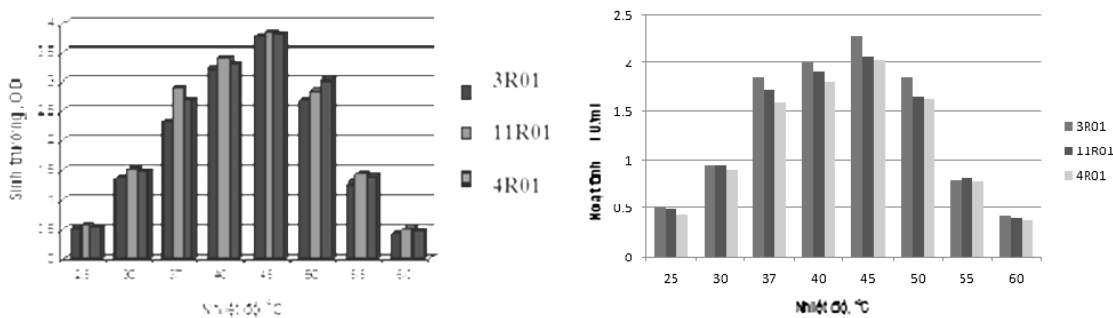
Kết quả phân tích OD₆₀₀ cho thấy mật độ của cả 3 chủng vi khuẩn đạt giá trị cực đại vào thời điểm 48 giờ sau nuôi cấy, OD₆₀₀ của chủng 3R01 đạt 2,148, 11R01: 2,91, 4R01: 2,71. Biểu đồ sinh trưởng (Hình 3a) cho thấy, từ 6 - 48 giờ các chủng tăng sinh rất nhanh. Tuy nhiên, sau 48 giờ độ của các chủng bắt đầu giảm xuống và đạt dưới 2 ở thời điểm 72 giờ do có sự cạnh tranh về dinh dưỡng.

Hàm lượng cellulase của vi khuẩn: Tương tự như thí nghiệm phần tính sinh trưởng, các chủng vi khuẩn lựa chọn được nuôi trong môi trường MPA lỏng có bổ sung 0,1% CMC, nuôi 37°C, lắc 200 vòng/phút. Mẫu dịch nuôi cấy được lấy ra kiểm tra 6 giờ một lần nhằm xác định khả năng sinh tổng hợp cellulase của các chủng nghiên cứu. Kết quả Hình 3b cho thấy 3 chủng vi khuẩn sau 6 giờ nuôi cấy, lượng enzyme sinh ra tăng liên tục nhưng tương đối khác nhau. Chủng 3R1 từ 6 - 24 giờ tăng nhanh, sau đó chậm dần, tiếp tục

tăng nhanh từ 42 - 48 giờ, lượng enzym sinh ra nhiều nhất tại thời điểm 48 giờ, đạt 2,58 IU/ml, kết quả cho thấy chủng 11R01 và 4R01 lượng sinh khối sinh ra rất lớn song khả năng sinh tổng hợp cellulase không cao bằng chủng 3R01. Hai chủng còn lại cũng đạt lượng enzym cao nhất ở 48 giờ, chủng 11R01 đạt 2,48 IU/ml, chủng 4R01 đạt 2,42 IU/ml. Sau 48 giờ lượng enzym sinh ra của cả 3 chủng đều giảm.

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy đến khả năng sinh trưởng và sinh tổng hợp cellulase của chủng vi khuẩn

Để xác định được nhiệt độ thích hợp cho sinh trưởng cũng như sinh tổng hợp cellulase của các chủng vi khuẩn, chúng tôi tiến hành nuôi cấy các chủng vi khuẩn ở dải nhiệt độ: 25, 30, 37, 40, 45, 50, 55 và 60°C, trên môi trường MPA, lắc 200 vòng/phút. Sau 48 giờ nuôi cấy chúng tôi tiến hành đánh giá sự sinh trưởng. Kết quả được thể hiện ở Hình 4.



Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sinh trưởng của các chủng vi khuẩn

Kết quả ở Hình 4 cho thấy, các chủng vi khuẩn có khả năng chịu được nhiệt độ khá cao, ở 25 - 30°C chủng sinh trưởng yếu nhưng từ 37 - 50°C chủng sinh trưởng

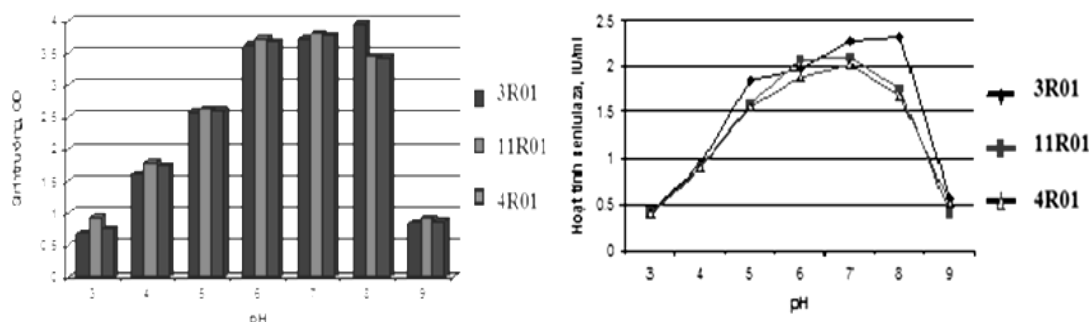
rất tốt, cả 3 chủng đạt tối ưu ở nhiệt độ 45°C. Ngoài ra, không có sự khác biệt về sinh trưởng của các chủng khác nhau ở ngưỡng nhiệt độ tối ưu này

Nhiệt độ không chỉ quyết định sự sinh trưởng của vi khuẩn mà còn ảnh hưởng tới sinh tổng hợp các loại enzym của các chủng vi sinh tạo ra. Để xác định ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng sinh cellulase, ba chủng vi khuẩn được nuôi trong môi trường MPA, lắc 200 vòng/phút (OD₆₀₀ đạt 0,0348) và nuôi ở các dải nhiệt độ 25, 30, 37, 40, 45, 50, 55, 60°C. Sau 48 giờ nuôi cấy tiến hành lấy kết quả. Kết quả Hình 4 cho thấy, dải nhiệt độ sinh tổng hợp cellulase của ba chủng vi khuẩn từ 37 - 50°C và nhiệt độ sinh tổng hợp cellulase tối ưu là 45°C, chủng 3R1 đạt 2,28 IU/ml, chủng 11R01 đạt 2,1 IU/ml, 4R01 đạt 2,02 IU/ml. Nếu

nhiệt độ nuôi cấy dưới 37°C và cao hơn 50°C thì khả năng sinh cellulase của các chủng đều yếu.

3.3. Ảnh hưởng của pH môi trường đến khả năng sinh trưởng và sinh tổng hợp cellulase của chủng vi khuẩn

pH môi trường ảnh hưởng rất lớn đến sinh trưởng của các vi sinh vật. Để xác định ngưỡng pH phù hợp, các chủng nghiên cứu được nuôi trong môi trường MPA lỏng, nhiệt độ 45°C, lắc 200 vòng/phút và dải pH môi trường là: 3; 4; 5; 6; 7; 8 và 9. Nuôi trong thời gian 48 giờ thu dịch đo OD (600 nm) kiểm tra sinh trưởng của chủng.



Hình 5. Ảnh hưởng của pH đến sinh trưởng của 3 chủng vi khuẩn

Kết quả trên cho thấy 3 chủng lựa chọn có thể sinh trưởng ở dải pH rộng 3 - 9, pH tối ưu của chủng 3R01 ở pH = 8, OD đạt 3,95, 11R01 đạt 3,82, 4R01 đạt 3,76 và hai chủng này tối ưu ở pH = 7.

Độ pH môi trường không chỉ ảnh hưởng tới sinh trưởng của vi khuẩn mà còn tác động rất lớn đến quá trình sinh tổng hợp cellulase của chủng. Để nghiên cứu sự ảnh hưởng đó, 3 chủng lựa chọn được nuôi cấy trong môi trường MPA lỏng và ở dải pH 3 - 9, nhiệt độ 45°C, lắc 200 vòng/phút. Sau 48 giờ lấy dịch làm

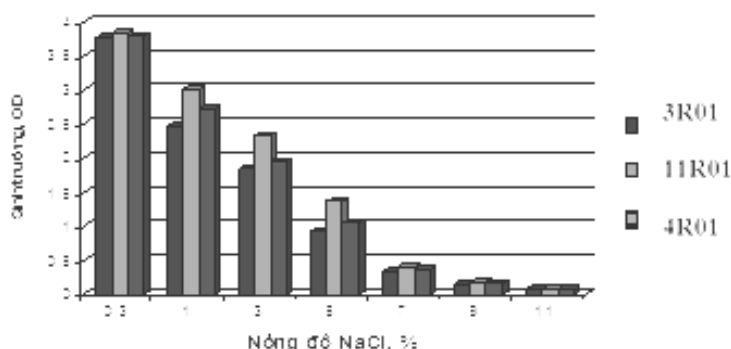
đường khử thu kết quả. Hình 5 cho thấy pH = 7 là pH tối ưu cho sinh tổng hợp enzym của 2 chủng 11R01 (2,08 IU/ml) và 4R01 (2,02 IU/ml), chủng 3R01 sinh tổng hợp cellulase cao nhất ở pH = 8 đạt 2,26 IU/ml.

3.4. Ảnh hưởng của nồng độ NaCl đến sinh trưởng của các chủng vi khuẩn

Các nghiên cứu trước đây cho thấy, việc dư thừa muối trong đất đã làm tăng áp suất thẩm thấu của dung dịch đất. Cây hấp thu được nước và chất khoáng từ đất

khi nồng độ muối tan trong đất nhỏ hơn nồng độ dịch bào của rễ, tức áp suất thẩm thấu và sức hút nước của rễ cây phải lớn hơn áp suất thẩm thấu và sức hút nước của đất. Nếu độ mặn của đất tăng cao dẫn đến sức hút nước của đất vượt quá sức hút

nước của rễ thì chẳng những cây không lấy được nước trong đất mà còn mất nước vào đất (123doc.org). Do vậy trong nghiên cứu này chúng tôi đánh giá ảnh hưởng của nồng độ NaCl đến sinh trưởng của các chủng vi khuẩn.



Hình 6. Ảnh hưởng của nồng độ NaCl đến sinh trưởng của các chủng vi khuẩn

Ba chủng vi khuẩn được nuôi trong môi trường MPA có hàm lượng NaCl là 0,3 và thay tiếp ở các nồng độ 1; 3; 5; 7; 9 và 11%, điều kiện 45°C, lắc 200 vòng/phút, sau 48 giờ nuôi cấy lấy mẫu xác định sinh trưởng bằng phương pháp đo mật độ quang OD (600 nm). Kết quả trình bày trên hình 6 cho thấy, ở nồng độ 0,3% tiêu chuẩn và nồng độ 1 - 5% ba chủng sinh trưởng bình thường, từ 7% NaCl các chủng sinh trưởng yếu và gần như không sinh trưởng ở nồng độ 9 - 11%. Việc các chủng vi khuẩn sinh trưởng tốt ở nồng độ muối cao sẽ giúp cho cây sinh trưởng và phát triển được ở vùng đất mặn.

IV. KẾT LUẬN

Các chủng vi khuẩn phân lập được có dạng hình que với kích thước từ 1 - 5 μm . Tuy nhiên hình thái khuẩn lạc có sự khác biệt rõ ràng giữa các chủng. Trong đó chủng 3R01 có hình dạng lồi, không bóng,

nhảy, hơi nhăn. Chủng 4R01 có khuẩn lạc màu trắng sữa, hơi lồi, mép răng cưa và chủng 11R01 có hình dạng tròn, màu trắng kem.

Chúng tôi đã xác định được điều kiện tối ưu cho sinh trưởng phát triển và sản xuất cellulase của 3 chủng vi khuẩn nghiên cứu. Trong đó, thời gian tối ưu là 48 giờ nhiệt độ tối ưu là 25 - 30°C, pH phù hợp là 7. Ngoài ra, nồng độ NaCl thích hợp cho sinh trưởng của các chủng vi khuẩn nghiên cứu là 1 - 5%.

Đã nghiên cứu về hình thái sinh học của 3 chủng 3R01, 11R01 và 4R01. Trong đó chủng 3R01 sinh trưởng tốt nhất ở 24 giờ trong điều kiện 37°C, pH = 7, chịu được nồng độ NaCl 11%; chủng 11R01 và 4R01 sinh trưởng tốt ở điều kiện 37°C, pH = 8, chịu được nồng độ NaCl 9%. Đã nghiên cứu được các yếu tố như nhiệt độ, pH đến khả năng sinh tổng hợp cellulase của 3 chủng vi khuẩn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. <https://123doc.org//document/3173736> - thích - nghi - của - thực - vật - trong - môi - trường - ngập - mặn.htm
2. Bernfeld, A. P. (1995). Methods in Enzymology, 1, pp.149 - 158.
3. Larran.S (2002). Isolation and analysis of endophytic microorganisms in wheat (*Triticum aestivum* L.). World Journal of Microbiology & Biotechnology 18: 683 - 686.
4. Larran.S (2001). Endophytic fungi in leaves of *Lycopersicon esculentum* Mill. World J Microbiol Biotechnol 17(2): 181 - 184
5. Pocasangre, L. (2000). Biological enhancement of banana tissue culture plantlets with endophytic fungi for the control of the burrowing nematodes *Radopholus similis* and the Panama disease. PhD thesis, University of Bonn, Germany
6. Vega FE, Pava - Ripoll M, Posada F, Buyer JS. (2005). Endophytic bacteria in *Coffea arabica* L. J. Basic Microbiol 45:371 - 380.
7. Nguyễn Lâm Dũng, Nguyễn Đăng Đức, Đặng Hồng Miên, Nguyễn Vĩnh Phước, Nguyễn Đình Quyền, Nguyễn Phùng Tiến, Phạm Văn Ty (1976). Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật, tập 2. NXB. KHKT, Hà Nội.
8. Nguyen N. A., Kadir J., Sunderasan E. (2008). Morphological and inter simple sequence repeat (ISSR), markers analyses of *Corynespora cassiicola* isolates from Rubber plantations in Malaysia, Mycopathologia, 166(4): 189 - 201.

* **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 KH-CN-TN/16-20.

ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ CỦA CaO VÀ SiO₂ TRONG PHÒNG TRỪ BỆNH CHÁY LÁ DO VI KHUẨN *Xanthomonas* sp. TRÊN CÂY HÀNH LÁ Ở ĐIỀU KIỆN NHÀ LƯỚI VÀ NGOÀI ĐỒNG

Tạ Duy Hùng¹, Khổng Văn Phú Luân¹
và Nguyễn Thị Thu Nga¹

¹Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

ABSTRACT

Evaluation on efficacy of CaO and SiO₂ in controlling bacterial leaf blight disease on onion caused by *Xanthomonas* sp. in the net house and field conditions

The aim of study was to investigate the effect of CaO and SiO₂ in controlling bacterial leaf blight disease on onion caused by Xanthomonas sp. in the net house and field conditions. In the net house conditions, the results showed that treatment mixture of CaO 0.97 g/kg of soil + SiO₂ 1.03 g/kg of soil was the most effective disease reduction, followed by mixture of CaO 0.72 g/kg of soil + SiO₂ 0.78 g/kg of soil, single CaO 0.97 g/kg of soil and SiO₂ 1.03 g/kg of soil. In the field experiment, the results showed that all treatments were effective in controlling the disease. In which, the treatment mixture of CaO 0.97 g/kg of soil + SiO₂ 1.03 g/kg of soil showed the highest efficacy in relieving the disease and stable during the survey. At the same time, this was also the treatment that resulted high commercial productivity and significant difference compared to the control treatment.

Keywords: Leaf blight of onion, CaO, SiO₂, *Xanthomonas* sp.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh cháy lá trên cây hành lá do vi khuẩn *Xanthomonas* sp. là một trong những bệnh gây hại nghiêm trọng ở hầu hết những vùng trồng hành. Theo Black *et al.* (2012), các triệu chứng bệnh đầu tiên xuất hiện dưới dạng các đốm trắng đến nâu, đốm màu sáng và các vết thương được bao quanh bởi quầng úng nước. Khi điều kiện thuận lợi cho mầm bệnh phát

triển, toàn bộ lá đều bị tấn công gây hại và cây có thể chết, năng suất cây trồng có thể giảm đáng kể và thiệt hại năng suất từ 10 đến 50% đã được báo cáo tại những cánh đồng bị nhiễm bệnh ở Colorado và California, lần lượt là 34 và 50% (Schwart and Otto, 2000; Nunez *et al.*, 2002). Sử dụng thuốc hóa học để phòng trị bệnh luôn là biện pháp hàng đầu của người nông dân, tuy nhiên biện pháp này gây ô nhiễm môi trường ảnh hưởng tới sức khỏe con người, gây mất cân bằng sinh học

Người phân biện: TS. Lê Thanh Toàn.

hình thành những mầm bệnh kháng thuốc. Để khắc phục tình trạng lạm dụng quá nhiều vào thuốc hóa học, giải pháp kích thích tính kháng bệnh của cây trồng đang được chú ý quan tâm. Kích thích tính kháng bệnh là sự kích thích để tạo ra tính kháng được bệnh của thực vật nhằm giúp cây trồng bị nhiễm bệnh trở nên có khả năng kháng được bệnh ở một mức độ nào đó sau khi được xử lý tác nhân kích kháng (Van Loon *et al.*, 1999; Phạm Văn Kim, 2002). Calcium silicate được ghi nhận có khả năng tăng tính kháng bệnh trên nhiều loại cây trồng chống lại mầm bệnh (Peters *et al.*, 2001; Seebold *et al.*, 2001). Trước xu thế tích cực của giải pháp kích kháng đem đến, việc sử dụng SiO₂ và CaO trong canh tác đã và đang mang lại nhiều hiệu quả tích cực đối với đời sống cây trồng. Vì vậy, nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả của silic dioxit và canxi oxit trong phòng trừ bệnh cháy lá trên cây hành do vi khuẩn *Xanthomonas* sp. là cơ sở để có thể ứng dụng vào thực tế trong phòng trị bệnh một cách hiệu quả, kinh tế thân thiện môi trường và thuận tiện cho người nông dân.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đánh giá hiệu quả của silic dioxit và canxi oxit đối với bệnh cháy lá trên cây hành do vi khuẩn *Xanthomonas* sp. trong điều kiện nhà lưới

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên một nhân tố, gồm 10 nghiệm thức với 5 lần lặp (mỗi lần lặp lại tương

ứng với 1 chậu) trong đó gồm: 3 nghiệm thức được xử lý bằng CaO ở các nồng độ 0,48; 0,72 và 0,97 g/kg đất, 3 nghiệm thức được xử lý bằng SiO₂ ở các nồng độ 0,52; 0,78 và 1,03 g/kg đất, 3 nghiệm thức xử lý kết hợp giữa CaO và SiO₂ ở từng dãy nồng độ đơn, nghiệm thức đối chứng không xử lý.

Chuẩn bị hành lá: Chuẩn bị chậu trồng hành bằng nhựa, cho vào mỗi chậu 2 kg đất. Mỗi chậu trồng 6 tép hành giống, hành được chăm sóc, tưới nước, bón phân để đảm bảo phát triển tốt.

Chuẩn bị nguồn vi khuẩn *Xanthomonas* sp. gây bệnh, vi khuẩn được nuôi trong môi trường King's B 2% trên đĩa Petri trong 48 giờ, sau đó cho 10 ml nước muối sinh lý vô trùng 0,9% để thu hoạch huyền phù vi khuẩn. Xác định mật số vi khuẩn trong huyền phù bằng phương pháp đo độ quang truyền ở bước sóng 600 nm, thực hiện pha loãng bằng nước cất vô trùng để đạt huyền phù có OD_{600nm} = 0,3 (tương ứng mật số 3×10^9 cfu/ml).

Chuẩn bị hóa chất: silic dioxit (SiO₂) ở các nồng độ 0,52; 0,78; 1,03 g/kg đất và canxi oxit (CaO) ở các nồng độ 0,48; 0,72; 0,97 g/kg đất.

Phương pháp xử lý: SiO₂ và CaO ở các nồng độ trên được tính và quy ra lượng cần sử dụng cho mỗi chậu hành. SiO₂ và CaO được rải vào trong đất 7 ngày trước khi lây bệnh.

Phương pháp lây bệnh: Trước khi lây bệnh tiến hành đánh dấu những lá hành

dùng để lấy chỉ tiêu. Thực hiện phun vi khuẩn khi cây hành được 30 - 40 ngày sau khi trồng với thể tích 25 ml/chậu. Sau đó các chậu được ủ bệnh trong điều kiện che tối, phòng ủ với thời gian 36 giờ. Sau khi ủ bệnh các chậu được chuyển và đặt ở điều kiện nhà lưới có che mưa (Mew *et al.*, 1993).

$$\text{AUDPC} = \sum_{i=1}^n \left[\frac{Y_{i+1} + Y_i}{2} \right] (t_{i+1} - t_i)$$

Trong đó:

Y_i, Y_{i+1} : Tỷ lệ bệnh trên lá 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.

Chỉ tiêu ghi nhận: (1) Tỷ lệ bệnh (%) = [(Số lá bị bệnh/Tổng số lá quan sát) × 100] ghi nhận ở các thời điểm 3, 7 và 11 ngày sau khi lây bệnh từ đó tính diện tích bệnh dưới đường cong tiến triển bệnh (AUDPC) theo (Cooke, 2006); (2) Ước lượng phần trăm diện tích lá bị bệnh một cách khách quan bằng mắt thường (Lang *et al.*, 2007), ghi nhận trên tổng các lá có thực hiện lây bệnh nhân tạo trên mỗi chậu. Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel và phân tích bằng phần mềm thống kê MstatC qua phép thử Duncan.

2.2. Đánh giá hiệu quả của silic dioxit và canxi oxit đối với bệnh cháy lá trên cây hành do vi khuẩn *Xanthomonas* sp. ở điều kiện ngoài đồng

Thí nghiệm được bố trí khối hoàn toàn ngẫu nhiên một nhân tố, gồm 8

thí nghiệm và 4 lần lặp lại, trong đó gồm 2 thí nghiệm được xử lý bằng CaO ở nồng độ 0,72 g/kg đất và 0,97 g/kg đất, 2 thí nghiệm được xử lý bằng SiO₂ ở nồng độ 0,78 g/kg đất và 1,03 g/kg đất, 2 thí nghiệm xử lý kết hợp giữa CaO và SiO₂ ở từng dãy nồng độ đơn, thí nghiệm đối chứng không xử lý và thí nghiệm đối chứng xử lý theo nông dân, tổng cộng 32 lô với diện tích mỗi lô khoảng 12 m².

Ruộng được chọn làm thí nghiệm là ruộng của nông dân canh tác hành tại xã Tân Bình, huyện Bình Tân tỉnh Vĩnh Long, với diện tích thí nghiệm 500 m². Kỹ thuật canh tác bao gồm giống, mật độ trồng, bón phân, tưới nước, chăm sóc và phòng trừ sâu hại, bệnh do nấm theo phương thức canh tác của nông dân.

Chuẩn bị nguồn vi khuẩn *Xanthomonas* sp. gây bệnh tương tự thí nghiệm 2.1, huyền phù vi khuẩn sau khi thu hoạch được trữ lạnh trong thùng xốp trong quá trình vận chuyển đến địa điểm thí nghiệm để lây bệnh.

Chuẩn bị hóa chất và cách xử lý: SiO₂ và CaO ở các nồng độ trên được tính và quy ra lượng cần sử dụng cho mỗi lô thí nghiệm, xử lý bằng cách rải vào trong đất 7 ngày trước khi lây bệnh và sau khi xử lý lần nhất 14 ngày.

Chỉ tiêu ghi nhận: (1) Tỷ lệ bệnh, (2) diện tích bệnh dưới đường cong tiến triển bệnh (AUDPC), (3) ước lượng phần trăm diện tích lá bị bệnh.

Chỉ tiêu năng suất: (1) Năng suất thực tế bằng cách cân tổng trọng lượng hành thu hoạch (không cần loại bỏ lá sâu bệnh) trên mỗi lô nghiệm thức, từ đó quy ra năng suất tấn/ha. (2) Năng suất thương phẩm bằng cách cân trọng lượng hành trên mỗi lô nghiệm thức sau khi loại bỏ các lá hành già và sâu bệnh từ đó quy ra năng suất tấn/ha.

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

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hiệu quả của silic dioxit và canxi oxit đối với bệnh cháy lá trên cây hành do vi khuẩn *Xanthomonas* sp. trong điều kiện nhà lưới

Kết quả thí nghiệm được ghi nhận thông qua chỉ tiêu tỷ lệ bệnh (TLB) và trung bình phần trăm diện tích lá bệnh (TBPTDTLB) được trình bày trong Bảng 1 và Bảng 2.

3.1.1. Tỷ lệ bệnh (TLB)

Kết quả Bảng 1 cho thấy qua ba thời điểm khảo sát các nghiệm thức được xử lý bằng CaO và SiO₂ cho kết quả tỷ lệ bệnh với mức độ khác nhau.

Bảng 1. Tỷ lệ bệnh qua các thời điểm điều kiện nhà lưới

Nghiệm thức	Tỷ lệ bệnh (%) qua các thời điểm			
	3 NSKLB	7 NSKLB	11 NSKLB	AUDPC
CaO 0,48 g/kg đất	42,4 ^{abc}	63,5 ^{ab}	90,2 ^{ab}	517,3 ^{abc}
SiO ₂ 0,52 g/kg đất	43,3 ^{ab}	67,9 ^{ab}	93,9 ^{ab}	537,8 ^{ab}
CaO 0,72 g/kg đất	32,4 ^{de}	52,6 ^{b - e}	81,2 ^{bc}	438,8 ^{cd}
SiO ₂ 0,78 g/kg đất	34,9 ^{cde}	57,6 ^{a - d}	84,5 ^{abc}	461,5 ^{bcd}
CaO 0,97 g/kg đất	31,2 ^{de}	43,6 ^{cde}	72,6 ^c	376,6 ^{de}
SiO ₂ 1,03 g/kg đất	33,5 ^{de}	45,2 ^{cde}	73,2 ^c	386,6 ^{de}
CaO 0,48 + SiO ₂ 0,52 g/kg đất	38,4 ^{bcd}	59,9 ^{abc}	89,6 ^{ab}	494,5 ^{abc}
CaO 0,72 + SiO ₂ 0,78 g/kg đất	30,7 ^{de}	41,6 ^{de}	70,8 ^c	366,0 ^{de}
CaO 0,97 + SiO ₂ 1,03 g/kg đất	28,6 ^e	35,4 ^e	49,4 ^d	298,1 ^e
Đối chứng	49,6 ^a	72,4 ^a	97,2 ^a	584,8 ^a
<i>Mức ý nghĩa</i>	**	**	**	**
<i>CV%</i>	9,2	15,1	13,5	15,4

Ghi chú: Trong cùng một cột những số có cùng chữ cái theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa ở mức 5% theo phép thử Duncan. **: Khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1%. Số liệu được chuyển đổi sang $\sqrt{x \pm \frac{1}{4n}}$ hoặc $\arcsin \sqrt{x \pm \frac{1}{4n}}$ trước khi xử lý thống kê. NSKLB: Ngày sau khi lây bệnh.

Thời điểm 3 NSKLB, những dấu hiệu của bệnh cháy lá đã bắt đầu biểu hiện rõ ràng và có sự khác biệt về tỷ lệ bệnh giữa các nghiệm thức. Ngoài 2 nghiệm thức xử lý CaO 0,48 g/kg đất (42,4%) và SiO₂ 0,52 g/kg đất (43,3%), các nghiệm thức còn lại đạt hiệu quả với TLB trong khoảng 28,6 - 38,4% thấp hơn và khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (49,6%), chiếm ưu thế là nghiệm thức xử lý kết hợp CaO 0,97 g/kg đất + SiO₂ 1,03 g/kg đất với TLB là 28,6% (Bảng 1).

Ở thời điểm 7 NSKLB, nhóm nghiệm thức được xử lý bằng CaO ở nồng độ 0,48 g/kg đất, SiO₂ 0,52 g/kg đất theo thời gian TLB ở mức thấp tuy nhiên chưa cho thấy được sự khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng. Cụ thể, nghiệm thức xử lý với SiO₂ 0,78 g/kg đất (57,6%) chưa cho thấy được sự khác biệt ý nghĩa so với đối chứng (72,4%). Những nghiệm thức còn lại với TLB thấp hơn và khác biệt ý nghĩa với nghiệm thức đối chứng, trong đó vượt trội nhất là nghiệm thức xử lý kết hợp CaO 0,97 g/kg đất + SiO₂ 1,03 g/kg đất với TLB 35,4% (Bảng 1).

Đến thời điểm 11 NSKLB, nghiệm thức xử lý kết hợp CaO 0,97 g/kg đất + SiO₂ 1,03 g/kg đất giữ được hiệu quả tốt nhất và ổn định theo thời điểm khảo sát với TLB 49,4% khác biệt ý nghĩa so với những nghiệm thức còn lại. Trong số những nghiệm thức còn lại, bốn nghiệm thức xử lý bằng CaO 0,72 g/kg đất, CaO 0,97 g/kg đất, SiO₂ 1,03 g/kg đất và

nghiệm thức xử lý kết hợp CaO 0,72 g/kg đất + SiO₂ 0,78 g/kg đất với TLB ở vào khoảng 70,8 - 81,2% không khác biệt nhau nhưng thấp hơn và khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (97,2%) (Bảng 1).

Diện tích bệnh dưới đường cong tiên triển bệnh (AUDPC) cho thấy ngoài nhóm nghiệm thức xử lý bằng CaO 0,48 g/kg đất, SiO₂ 0,52 g/kg đất thì những nghiệm thức còn lại với chỉ số trong khoảng 298,1 - 461,5 khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (584,8). Nghiệm thức xử lý kết hợp CaO 0,97 g/kg đất + SiO₂ 1,03 g/kg đất với giá trị AUDPC thấp nhất (298,1) cho thấy được khả năng làm chậm lây lan bệnh trên cây hành mà nghiệm thức đem lại là khá hiệu quả (Bảng 1).

3.1.2. Trung bình phần trăm diện tích lá bệnh (TBPTDTLB)

Ở thời điểm 3 NSKLB, tất cả những nghiệm thức được xử lý với TBPTDTLB ở vào khoảng từ 3,3 - 9,1%, trong số đó nghiệm thức xử lý kết hợp giữa CaO 0,97 g/kg đất + SiO₂ 1,03 g/kg đất đạt hiệu quả cao với TBPTDTLB thấp nhất 3,3% khác biệt ý nghĩa với nghiệm thức đối chứng (9,3%). Những nghiệm thức còn lại thể hiện hiệu quả phòng trị bệnh tương đương nhau không khác biệt so với đối chứng (Bảng 2).

Thời điểm 7 NSKLB, bốn nghiệm thức được chú ý nhất là CaO 0,97 g/kg đất (13,1%), SiO₂ 1,03 g/kg đất (14,6%), nghiệm thức kết hợp CaO 0,72 g/kg đất

+ SiO₂ 0,78 g/kg đất (12,8%) và CaO 0,97 g/kg đất + SiO₂ 1,03 g/kg đất (8,7%) với TBPTDTLB thấp hơn và khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (23,2%) (Bảng 2).

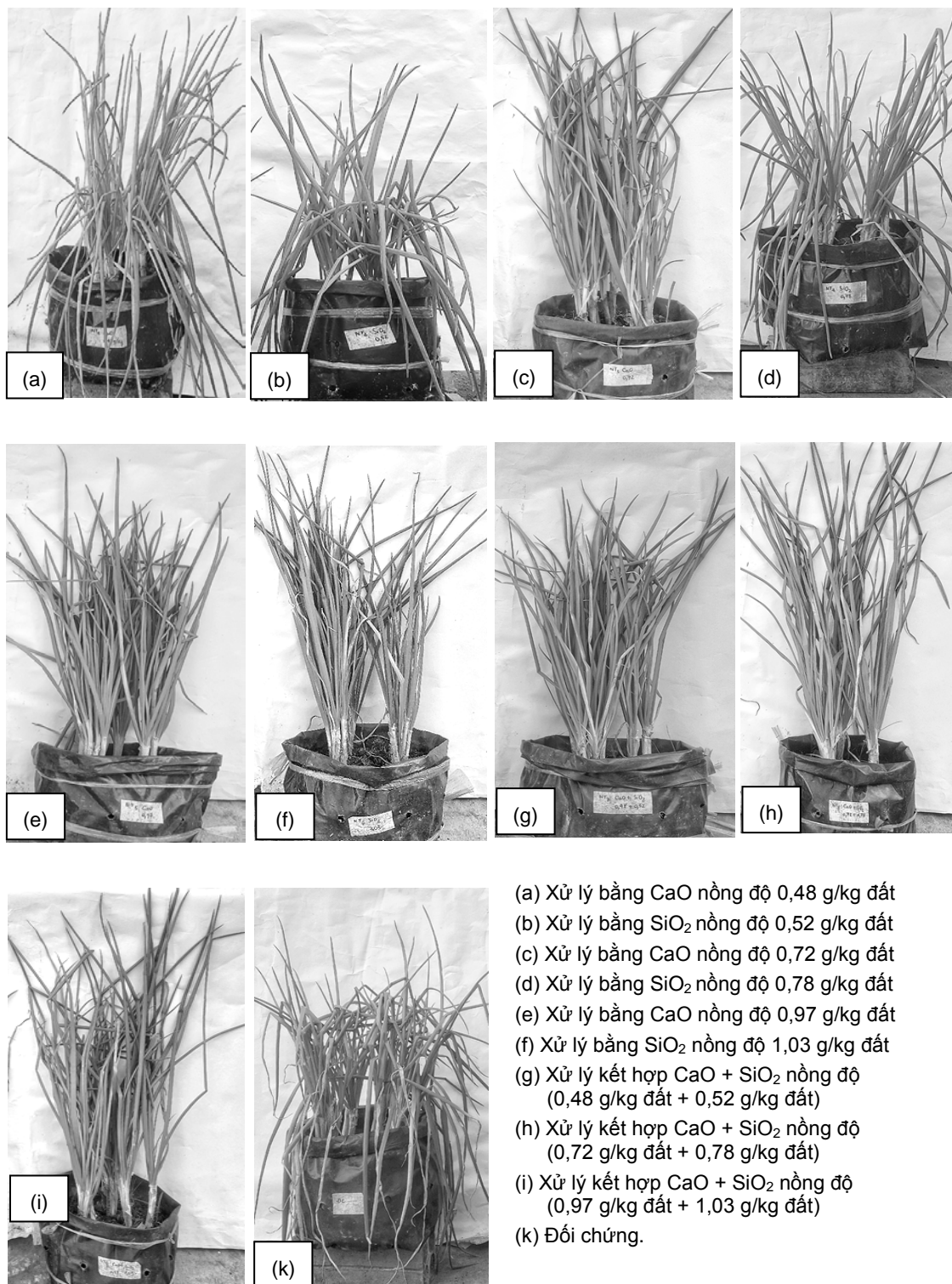
Đến thời điểm 11 NSKLB, tất cả các nghiệm thức xử lý đều thể hiện hiệu quả, với TBPTDTLB thấp hơn so với nghiệm thức đối chứng. Bốn nghiệm thức xử lý đơn (CaO 0,72 g/kg đất; SiO₂ 0,78 g/kg đất; CaO 0,97 g/kg đất; SiO₂ 1,03 g/kg

đất) và nghiệm thức xử lý kết hợp CaO 0,72 g/kg đất + SiO₂ 0,78 g/kg đất hiệu quả phòng trị bệnh ở mức tương đương nhau với TBPTDTLB thấp hơn đồng thời khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (38,2%). Nghiệm thức đạt hiệu quả tốt nhất đến thời điểm này là nghiệm thức xử lý kết hợp CaO 0,97 g/kg đất + SiO₂ 1,03 g/kg đất (14,6%) với sự khác biệt ý nghĩa với đối chứng và những nghiệm thức còn lại (Bảng 2).

Bảng 2. Trung bình phần trăm diện tích lá bệnh qua các thời điểm điều kiện nhà lưới

Nghiệm thức	Trung bình phần trăm diện tích lá bệnh (%) qua các thời điểm		
	3 NSKLB	7 NSKLB	11 NSKLB
CaO 0,48 g/kg đất	8,9 ^a	22,1 ^{ab}	33,5 ^{abc}
SiO ₂ 0,52 g/kg đất	9,1 ^a	20,5 ^{abc}	35,2 ^{ab}
CaO 0,72 g/kg đất	7,4 ^a	16,9 ^{abc}	29,5 ^{bcd}
SiO ₂ 0,78 g/kg đất	8,8 ^a	17,2 ^{abc}	30,5 ^{bcd}
CaO 0,97 g/kg đất	6,9 ^a	13,1 ^{cd}	27,6 ^{cd}
SiO ₂ 1,03 g/kg đất	7,2 ^a	14,6 ^{bcd}	28,6 ^{bcd}
CaO 0,48 + SiO ₂ 0,52 g/kg đất	8,1 ^a	19,4 ^{abc}	33,3 ^{abc}
CaO 0,72 + SiO ₂ 0,78 g/kg đất	5,2 ^{ab}	12,8 ^{cd}	25,5 ^d
CaO 0,97 + SiO ₂ 1,03 g/kg đất	3,3 ^b	8,7 ^d	14,6 ^e
Đối chứng	9,3 ^a	23,2 ^a	38,2 ^a
Mức ý nghĩa	*	**	**
CV%	19,2	17,2	10

Ghi chú: Trong cùng một cột những số có cùng chữ cái theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa ở mức 5% theo phép thử Duncan. *: Khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. **: Khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1%. Số liệu được chuyển đổi sang $\sqrt{x \pm \frac{1}{4n}}$ hoặc $\arcsin \sqrt{x \pm \frac{1}{4n}}$ trước khi xử lý thống kê. NSKLB: Ngày sau khi lây bệnh.



Hình 1. Hiệu quả phòng trị bệnh cháy lá hành khi được xử lý CaO và SiO₂ ở những nồng độ khác nhau, thời điểm 7 NSKLB trong điều kiện nhà lưới

Từ kết quả Bảng 1, Bảng 2 và Hình 1 thấy được rằng khi xử lý CaO nồng độ 0,48 g/kg đất; 0,72 g/kg đất và 0,97 g/kg đất còn đối với SiO₂ nồng độ 0,52 g/kg đất; 0,79 g/kg đất và 1,03 g/kg đất ở từng thời điểm đều mang lại những hiệu quả nhất định giúp cây hành chống lại bệnh cháy lá do vi khuẩn *Xanthomonas* sp. trong điều kiện nhà lưới. Tuy nhiên, xử lý đơn bằng CaO nồng độ 0,72 g/kg đất; 0,97 g/kg đất và SiO₂ nồng độ 0,78 g/kg đất; 1,03 g/kg đất cho hiệu quả phòng trị bệnh cao hơn và hiệu quả nhất là khi xử lý kết hợp giữa CaO nồng độ 0,97 g/kg đất + SiO₂ nồng độ 1,03 g/kg đất, mang lại kết quả khác biệt đồng thời ổn định qua thời điểm khảo sát.

Nguyễn Thanh Long (2017) đã chỉ ra rằng Calcium silicate ở nồng độ từ 1 g/kg đất đến 2 g/kg đất có khả năng kích kháng trên cây hành lá chống lại bệnh cháy lá hành do vi khuẩn *Xanthomonas* sp. Theo Nguyễn Thị Thúy Vi (2017), khi sử dụng Calcium silicate ở nồng độ 2 g/kg đất tưới vào đất có hiệu quả kích thích tính kháng bệnh héo xanh trên cây cúc vạn thọ. Canxi tạo ra một số tính kháng sâu bệnh trên thực vật thông qua ảnh hưởng của nó đối với mô hình tăng trưởng, giải phẫu học, hình thái học và thành phần hóa học của cây. Ở thực vật hàm lượng canxi tăng đã chứng minh rằng sức đề kháng cũng được tăng cường trong mô thực vật, chống chịu bệnh do vi khuẩn (Pèrombelon and Kelman, 1980 trích dẫn bởi Ngadze *et al.*, 2014). Silic cũng có thể làm tăng hoạt tính của peroxidase và chitinase, đóng vai trò quan trọng trong tương tác giữa cây trồng và mầm bệnh. Peroxidase tham gia vào việc củng cố vách tế bào và các bước cuối cùng của

quá trình sinh tổng hợp lignin, trong khi chitinase là một trong những PR protein đóng góp vào thủy phân thành tế bào của nhiều loại nấm thực vật (Shewry and Lucas, 1997). Ngoài ra việc bón silic giúp thành tế bào thực vật được dày lên do thành phần silic được tích tụ góp phần hạn chế sự xâm nhiễm của mầm bệnh được ghi nhận (Peters *et al.*, 2001; Seebold *et al.*, 2001).

3.2. Hiệu quả của silic dioxit và canxi oxit đối với bệnh cháy lá trên cây hành do vi khuẩn *Xanthomonas* sp. ở điều kiện ngoài đồng

Kết quả thí nghiệm được ghi nhận thông qua chỉ tiêu tỷ lệ bệnh, trung bình phần trăm diện tích lá bệnh và năng suất được trình bày trong Bảng 3, Bảng 4 và Bảng 5.

3.2.1. Tỷ lệ bệnh

Nhìn chung, qua các thời điểm khảo sát hầu hết nghiệm thức được xử lý đều cho thấy hiệu quả phòng trừ bệnh. Tuy ở một số thời điểm tỷ lệ bệnh thấp, về mặt thống kê không có sự khác biệt ý nghĩa, nhưng khi bước vào thời điểm cuối, cụ thể là 25 NSKLB đã thể hiện rõ cũng như cho thấy được việc xử lý bằng CaO và SiO₂ mang lại hiệu quả, khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (Bảng 3).

Ở thời điểm 5 NSKLB các nghiệm thức đều thể hiện bệnh với tỷ lệ từ 27 - 45,4%, ngoài nghiệm thức xử lý theo phương thức của nông dân thì tất cả những nghiệm thức được xử lý bằng CaO và SiO₂ tương ứng với từng mức nồng độ đều cho tỷ lệ bệnh tương đương nhau không khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (45,4%) (Bảng 3).

Thời điểm 15 NSKLB, các nghiệm thức đều cho thấy được hiệu quả phòng trị bệnh, cụ thể tỷ lệ bệnh nằm trong khoảng từ 38,7 - 51,9% trong khi nghiệm thức đối chứng với tỷ lệ 54,7%. Ở thời điểm này nghiệm thức xử lý theo nông dân chiếm ưu thế với tỷ lệ bệnh thấp 38,7% tiếp đến là nghiệm thức xử lý kết hợp CaO 0,97 g/kg đất + SiO₂ 1,03 g/kg đất với tỷ lệ bệnh ở vào mức 40,2%. Mặc dù, với những hiệu quả của từng nghiệm thức mang lại nhưng so về mặt thống kê thì thời điểm này chưa cho thấy được sự khác biệt ý nghĩa so với đối chứng (Bảng 3).

Đến thời điểm 25 NSKLB, thì tất cả các nghiệm thức đều có những biểu hiện cho thấy TLB thấp hơn và khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng. Cụ thể nghiệm thức đối chứng với tỷ lệ bệnh

70,0%, trong khi đó những nghiệm thức được xử lý với tỷ lệ bệnh từ 48,6 - 60,0%, ngoài nghiệm thức xử lý theo nông dân (47,9%) thì nghiệm thức xử lý kết hợp giữa CaO 0,97 g/kg đất + SiO₂ 1,03 g/kg đất cho hiệu quả phòng trị bệnh cao với tỷ lệ bệnh là 48,6% (Bảng 3).

Về giá trị diện tích dưới đường cong tiến triển bệnh (AUDPC) cho thấy các nghiệm thức xử lý giá trị nằm trong khoảng 817,0 - 1006 đều thấp hơn và khác biệt so với đối chứng (1120) trừ 2 nghiệm thức xử lý bằng CaO 0,72 g/kg đất (1002) và SiO₂ 0,78 g/kg đất (1006). Nghiệm thức xử lý theo nông dân (769,2) và nghiệm thức xử lý kết hợp CaO 1,97 g/kg đất + SiO₂ 1,03 g/kg đất (817,0) có chỉ số AUDPC thấp nhất khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (Bảng 3).

Bảng 3. Tỷ lệ bệnh qua các thời điểm điều kiện ngoài đồng

Nghiệm thức	Tỷ lệ bệnh (%) qua các thời điểm			
	5 NSKLB	15 NSKLB	25 NSKLB	AUDPC
CaO 0,72 g/kg đất	43,5	50,2	59,1 ^{bc}	1002 ^{ab}
SiO ₂ 0,78 g/kg đất	37,7	51,9	60,0 ^b	1006 ^{ab}
CaO 0,97 g/kg đất	34,6	47,7	54,3 ^{bcd}	917,9 ^{bcd}
SiO ₂ 1,03 g/kg đất	39,5	48,1	54,3 ^{bcd}	942,5 ^{bc}
CaO 0,72 + SiO ₂ 0,78 g/kg đất	33,2	43,2	53,3 ^{bcd}	866,0 ^{bcd}
CaO 0,97 + SiO ₂ 1,03 g/kg đất	31,0	40,2	48,6 ^{cd}	817,0 ^{cd}
Xử lý theo nông dân	27,0	38,7	47,9 ^d	769,2 ^d
Đối chứng	45,4	54,7	70,0 ^a	1120 ^a
Mức ý nghĩa	ns	ns	**	**
CV%	14,5	15,5	8,1	11,0

Ghi chú: Trong cùng một cột những số có cùng chữ cái theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa ở mức 5% theo phép thử Duncan. ns: Khác biệt không ý nghĩa. *: Khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. **: Khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1%. Số liệu được chuyển đổi sang $\sqrt{x \pm \frac{1}{4n}}$ hoặc $\arcsin \sqrt{x \pm \frac{1}{4n}}$ trước khi xử lý thống kê. NSKLB: Ngày sau khi lây bệnh.

3.2.2. Trung bình phần trăm diện tích lá bệnh

Ở thời điểm 5 NSKLB, 2 nghiệm thức bao gồm nghiệm thức xử lý kết hợp CaO 0,97 g/kg đất + SiO₂ 1,03 g/kg đất và nghiệm thức xử lý theo nông dân thể

hiện hiệu quả phòng trị bệnh với TBPTDLB lần lượt là 6,5% và 5,0% thấp hơn, khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (11,7%). Các nghiệm thức còn lại chưa cho thấy khác biệt so với đối chứng (Bảng 4).

Vào thời điểm 15 NSKLB, trung bình phần trăm diện tích lá bệnh của các nghiệm thức biểu hiện tăng cao, cụ thể ở vào khoảng 15,3 - 25,7%. Các nghiệm thức với TBPTDTLB ở mức tương đương nhau không cho thấy khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê (Bảng 4).

Đến thời điểm 25 NSKLB, tất cả các nghiệm thức xử lý đều có hiệu quả với TBPTDTLB thấp hơn và khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (35,2%) nhưng không khác biệt nhau về mặt thống kê, ngoại trừ nghiệm thức xử lý theo nông dân (17,9%) với nghiệm thức xử lý bằng SiO₂ 0,78 g/kg đất (25,0%) (Bảng 4).

Bảng 4. Trung bình phần trăm diện tích lá bệnh qua các thời điểm điều kiện ngoài đồng

Nghiệm thức	Trung bình diện tích lá bệnh (%) qua các thời điểm		
	5 NSKLB	15 NSKLB	25 NSKLB
CaO 0,72 g/kg đất	10,3 ^{ab}	20,9	24,8 ^{bc}
SiO ₂ 0,78 g/kg đất	11,6 ^a	20,9	25,0 ^b
CaO 0,97 g/kg đất	7,4 ^{abc}	18,3	23,0 ^{bc}
SiO ₂ 1,03 g/kg đất	8,3 ^{abc}	20,1	22,2 ^{bc}
CaO 0,72 + SiO ₂ 0,78 g/kg đất	8,1 ^{abc}	18,0	21,0 ^{bc}
CaO 0,97 + SiO ₂ 1,03 g/kg đất	6,5 ^{bc}	17,8	18,4 ^{bc}
Xử lý theo nông dân	5,0 ^c	15,3	17,9 ^c
Đối chứng	11,7 ^a	25,7	35,2 ^a
Mức ý nghĩa	*	ns	**
CV%	19,2	11,2	10,3

Ghi chú: Trong cùng một cột những số có cùng chữ cái theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa ở mức 5% theo phép thử Duncan. ns: Khác biệt không ý nghĩa. *: Khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. **: Khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1%. Số liệu được chuyển đổi sang $\sqrt{x \pm \frac{1}{4n}}$ hoặc $\arcsin \sqrt{x \pm \frac{1}{4n}}$ trước khi xử lý thống kê. NSKLB: Ngày sau khi lây bệnh.

3.2.3. Năng suất

Từ Bảng 5 cho thấy, những nghiệm thức được xử lý bằng CaO, SiO₂ cho năng suất thực tế dao động trong khoảng từ 17,6 - 20,0 tấn/ha. Nghiệm thức xử lý bằng SiO₂ 1,03 g/kg đất, xử lý kết hợp CaO 0,97 g/kg đất + SiO₂ 0,78 g/kg đất và nghiệm thức kết hợp CaO 0,97 g/kg đất + SiO₂ 1,03 g/kg đất là 3 nghiệm thức cho năng suất cao hơn và khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (15,0 tấn/ha).

Năng suất của những nghiệm thức còn lại không khác biệt so với nghiệm thức đối chứng.

Về năng suất thương phẩm thu được cho thấy sự khác biệt rõ rệt các nghiệm thức, ngoại trừ nghiệm thức xử lý bằng SiO₂ 0,78 g/kg đất thì hầu hết các nghiệm thức còn lại đều cho năng suất trong khoảng 16,6 - 19,4 tấn/ha cao hơn và khác biệt ý nghĩa so với đối chứng (13,6 tấn/ha) (Bảng 5).

Bảng 5. Năng suất ruộng hành thí nghiệm (tấn/ha)

Nghiệm thức	Năng suất thực tế (tấn/ha)	Năng suất thương phẩm (tấn/ha)
CaO 0,72 g/kg đất	17,9 ^{ab}	16,6 ^{ab}
SiO ₂ 0,78 g/kg đất	17,6 ^{ab}	16,2 ^{bc}
CaO 0,97 g/kg đất	18,3 ^{ab}	17,4 ^{ab}
SiO ₂ 1,03 g/kg đất	18,5 ^a	17,7 ^{ab}
CaO 0,72 + SiO ₂ 0,78 g/kg đất	19,8 ^a	18,5 ^{ab}
CaO 0,97 + SiO ₂ 1,03 g/kg đất	20,0 ^a	19,2 ^{ab}
Xử lý theo nông dân	20,3 ^a	19,4 ^a
Đối chứng	15,0 ^b	13,6 ^c
Mức ý nghĩa	*	**
CV%	11,5	10,8

Ghi chú: Trong cùng một cột những số có cùng chữ cái theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa ở mức 5% theo phép thử Duncan. *: Khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. **: Khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1%. Số liệu được chuyển đổi sang $\sqrt{x \pm \frac{1}{4n}}$ hoặc $\arcsin \sqrt{x \pm \frac{1}{4n}}$ trước khi xử lý thống kê. NSKLB: Ngày sau khi lây bệnh.

Qua kết quả này cho thấy việc sử dụng SiO₂ và CaO trong canh tác cây hành lá đã góp phần làm giảm mức độ nhiễm bệnh cũng như gia tăng năng suất. Theo Marschner (2012), silic không chỉ góp phần cho độ bền và độ cứng của thành tế bào, nó còn làm tăng tính đàn hồi của thành tế bào trong quá trình tăng trưởng. Các hiệu ứng sinh học của silic liên quan đến khả năng kháng bệnh của cây trồng là do silic tích tụ trong mô biểu bì, hình thành các phức hợp với hợp chất như phenolic, phytoalexin, glucanase, peroxidase điều hòa hoạt tính gây bệnh hoặc sự biểu hiện gen liên quan đến stress hạn chế xâm nhiễm và tấn công của mầm bệnh (Sakr, 2016). Không chỉ đối với cây hành lá mà nhiều cây trồng khác cũng đã cho thấy rằng việc sử dụng những loại phân bón có chứa hàm lượng silic, canxi đã góp gia tăng năng suất một cách hiệu quả. Cụ thể, Trần Văn Vũ (2011), nghiên cứu ảnh hưởng của phân bón super silic lên sinh trưởng và năng suất lúa OM2514 trên đất phù sa ở Cờ Đỏ thành phố Cần Thơ vụ Hè Thu 2011. Kết quả ghi nhận bón super silic với liều lượng 150 kg/ha cho lúa OM2514 trong vụ Hè Thu 2011 cho năng

suất cao (7,37 tấn/ha) và tăng năng suất 20,22%.

Theo Snyder *et al.* (1986) cho rằng, silic có thể làm gia tăng năng suất lúa tới 30% khi bón xi canxi silicate (phế phẩm của nhà máy sản xuất phân bón phosphate từ quặng apatit). Nguyễn Kim Thu (2011), cho rằng việc bổ sung canxi có hiệu quả đáng kể trong việc cải thiện năng suất và dinh dưỡng cho lúa. Đồng thời vôi có hiệu quả ổn định đến các đặc tính dinh dưỡng của đất. Nguyễn Thị Tường Vân (2011), nghiên cứu ảnh hưởng của calcium lên hàm lượng calcium trong gạo, độ cứng cây, sinh trưởng và năng suất lúa OM2514. Kết quả cho thấy bón CaO ở liều lượng 0,5 tấn/ha cho hiệu quả cao lên hàm lượng Ca trong gạo, độ cứng cây và năng suất lúa so với những nghiệm thức còn lại.

IV. KẾT LUẬN

Ở điều kiện nhà lưới, xử lý đất bằng CaO 0,97 g/kg đất kết hợp SiO₂ 1,03 g/kg đất cho hiệu quả giảm bệnh cháy lá trên hành do vi khuẩn *Xanthomonas* sp. kể đến là nghiệm thức xử lý kết hợp CaO 0,72 g/kg đất + SiO₂ 0,78 g/kg đất, xử lý đơn CaO

0,97 g/kg đất và nghiệm thức xử lý SiO₂ 1,03 g/kg đất. Ở điều kiện ngoài đồng, nghiệm thức xử lý kết hợp giữa CaO ở nồng độ 0,97 g/kg đất + SiO₂ ở nồng độ 1,03 g/kg đất được xem là nghiệm thức cho hiệu quả phòng trừ bệnh tốt nhất ổn định qua những thời điểm khảo sát, đây cũng là nghiệm thức mang lại năng suất thương phẩm cao khác biệt có ý nghĩa với đối chứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Black, L., Conn, K., Gabor, B., Kao, J. and Lutton, J. (2012). *Onion Disease Guide, Seminis Vegetable Seeds*.
2. Cooke, B.M. (2006). Disease assessment and yield loss. *In The epidemiology of plant diseases*. Springer Netherlands. 43 - 80.
3. Ngadze, E., T. A. Coutinho, D. Icishahayo, J. E. van der Waals (2014). Effect of calcium soil amendments on phenolic compounds and soft rot resistance in potato tubers. *Crop protection*, 62: 40 - 45.
4. Lang, J.M., D.H. Gent and H.F. Schwartz (2007). Management of *Xanthomonas* leaf blight of onion with bacteriophages and a plant activator. *Plant Dis*, 91(7):871 - 878.
5. Marschner, P. (2012). Rhizosphere biology. *In Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. Third edition, 369 - 388.
6. Mew, T.W., Alvarez, A.M., Leach, J.E. and Swings, J., 1993). Focus on bacterial blight of rice. *Plant Disease*, 77: 5 - 12.
7. Nunez, J.J., Gilbertson, R.L., Meng, X. and Davis, R.M. (2002). First report of *Xanthomonas* leaf blight of onion in California. *Plant Disease*, 86: 330.
8. Nguyễn Thanh Long (2017). Khảo sát các hợp chất kích kháng trong phòng trừ bệnh cháy lá hành do vi khuẩn *Xanthomonas* sp. trong điều kiện nhà lưới. Luận văn Tốt nghiệp Đại học ngành Bảo vệ thực vật. Đại học Cần Thơ.
9. Nguyễn Thị Thúy Vi (2017). Nghiên cứu biện pháp kích kháng phối hợp biện pháp phòng trừ sinh học sử dụng thực khuẩn thể trong phòng trừ bệnh héo xanh trên cây cúc vạn thọ do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* gây ra trong điều kiện nhà lưới. Luận văn Tốt nghiệp Đại học ngành Bảo vệ thực vật. Đại học Cần Thơ.
10. Nguyễn Thị Tường Vân (2011). Ảnh hưởng của calcium lên hàm lượng calcium trong gạo, độ cứng cây, sinh trưởng và năng suất lúa OM2514. Luận văn Tốt nghiệp Cao học. Đại học Cần Thơ.
11. Nguyễn Kim Thu (2011). Ảnh hưởng của calcium đến năng suất lúa trên đất phèn tại Vị Thủy - Hậu Giang và Thới Lai - Thành phố Cần Thơ. Luận văn Tốt nghiệp Cao học. Đại học Cần Thơ.
12. Peters, F.A.R., L.E. Datnoff, G.H. Korndorfer, K.W. Seebold and M.C. Rush (2001). Effect of silicon and host resistance on sheath blight development in rice. *Plant Dis*, 85(8):827 - 832.
13. Phạm Văn Kim (2002). Kết quả nghiên cứu ứng dụng sự kích kháng trong quản lý bệnh trên lúa. Hội thảo "Kích thích tính kháng bệnh lưu dân, một chiến lược thân thiện với môi trường để quản lý bệnh trên lúa". Bộ môn Bảo vệ thực vật, Khoa Nông nghiệp, Đại học Cần Thơ, trang 1 - 7.
14. Trần Văn Vũ (2011). Ảnh hưởng của phân bón super silic lên sinh trưởng và năng suất lúa OM2514 trên đất phù sa ở Cờ Đỏ thành phố Cần Thơ vụ Hè Thu 2011). Luận văn Tốt nghiệp Cao học. Đại học Cần Thơ.
15. Van Loon, L.C. and Van Strien, E.A., (1999). The families of pathogenesis-related protein, their activities, and comparative analysis of PR - 1 type protein. *Physiological and molecular plant pathology*, 55(2): 85 - 9.
16. Sakr, N. (2016). The role of silicon (Si) in increasing plant resistance against fungal diseases. *Hellenic Plant Protection Journal*, 9(1): 1 - 15.
17. Schwartz, H.F., Otto, K. (2000). First report of leaf blight of onion caused by *Xanthomonas campestris* in Colorado. *Plant Disease*, 84: 922.
18. Seebold, K.W., T.A. Kucharek, L.E. Datnoff, F.J. Correa - Victoria and M.A. Marchetti (2001). The influence of silicon on components of resistance to blast in susceptible, partially resistant, and resistant cultivars of rice. *Phytopathology*, 91(1):63 - 69.
19. Shewry, P.R., Lucas, J.A., (1997). Plant proteins that confer resistance to pests and pathogens: advances in botan. Res. *Incorp. Adv. Plant Pathol*, 26: 135 - 192.
20. Snyder, G.H., Jones, D.B. and Gascho, G.J., (1986). Silicon fertilization of rice on Everglades Histosols. *Soil Sci. Soc. Am. J*, 50: 1259 - 126.

PHÂN LẬP VI KHUẨN ĐỐI KHÁNG VỚI NẤM *Colletotrichum* sp. GÂY BỆNH THÁN THƯ TRÊN ỚT TỪ ĐẤT TRỒNG LÚA Ở MỘT SỐ TỈNH ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Trần Gia Huy, Trần Âu Khánh Ngân
Nguyễn Thị Kiều Anh, Nguyễn Thị Liên

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

ABSTRACT

Anthracnose disease in chilli caused by Colletotrichum sp. is one of the most important limiting factors of chilli production worldwide. This study aim to isolate and select the potential antagonistic bacteria which can against this pathogenic fungi. From 9 soil samples collected in rice field soil from Tien Giang, An Giang, Hau Giang and Soc Trang provinces, 43 bacterial strains with antifungal effect were selected. The antagonistic efficiency of all isolates ranged from 33.34 to 62.79%. Study the biochemical characteristics of isolates indicated that 25 isolates were capable to produce siderophores, 32 to degrade chitin, 25 to degrade cellulose and 39 strains showed proteolytic activity. The VT10 strain, which showed inhibitory effect of 62.7% was identified as Bacillus amyloliquefaciens by the combination of 16S rRNA sequencing method and Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.

Keywords: Bacterial strains, *Colletotrichum* sp., antifungal, rice field soil.

I. GIỚI THIỆU

Cây ớt (*Capsicum* spp.) là một trong những loại rau màu mang lại hiệu quả kinh tế cao vì không chỉ được sử dụng làm gia vị tươi mà còn cung cấp nguyên liệu cho công nghiệp chế biến thực phẩm và dược liệu. Chính vì vậy, nhu cầu và diện tích trồng ớt ở nhiều nước có xu hướng gia tăng. Ở nước ta, diện tích trồng ớt khoảng 5.000 ha cho một vụ trồng tại 18 tỉnh, thành phố từ Bắc tới Nam (Le Dinh Don *et al.*, 2007). Bệnh thán thư do nấm

Colletotrichum sp. là một trong những tác nhân gây thiệt hại nghiêm trọng đến năng suất cây ớt, là nguyên nhân gây sụt giảm sản lượng ớt hàng năm từ 10 - 80% tại Ấn Độ, Thái Lan và Việt Nam (Mahasuk *et al.*, 2009).

Sử dụng thuốc hóa học để phòng trị bệnh trên mang lại hiệu quả ban đầu nhưng về lâu dài, các hóa chất bảo vệ thực vật lưu tồn và tích lũy trong đất, mạch nước ngầm và nông sản sẽ gây nguy hiểm cho con người cũng như các sinh vật khác, làm ô nhiễm môi trường, mất cân bằng sinh thái.

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

Các biện pháp sinh học đã được áp dụng và đạt hiệu quả cao trong việc quản lý bệnh hại cây trồng. Đây là giải pháp dựa trên sự tương tác giữa các vi sinh vật trong hệ sinh thái nhằm phát huy vai trò của các vi sinh vật có ích nhờ khả năng đối kháng với tác nhân gây bệnh (Agrios, 2005). Trên cơ sở đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm mục tiêu phân lập và sàng lọc các dòng vi khuẩn có khả năng đối kháng tốt với nấm *Colletotrichum* sp. ở quy mô phòng thí nghiệm cũng như thử nghiệm một nguồn phân lập mới là đất trồng lúa so với hướng phân lập đã được thực hiện là đất vùng rễ ớt (Nguyễn Thị Liên *et al.*, 2016).

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Mẫu nấm *Colletotrichum* sp. được cung cấp bởi Phòng Công nghệ gen Thực vật, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ. Mẫu đất được thu tại các ruộng lúa đang phát triển tốt ở Tiền Giang, An Giang, Hậu Giang và Sóc Trăng.

2.2. Phân lập vi khuẩn từ các mẫu đất thu được

Mười g mỗi mẫu đất được cho vào bình tam giác có chứa 90 mL nước cất đã khử trùng và khuấy đều trong 30 phút. Mẫu được tiến hành pha loãng thành các dãy nồng độ 10^{-1} , 10^{-2} và 10^{-3} , sau đó được trải đều lên đĩa môi trường Nutrient Agar (NA). Các đĩa này được ủ ở 30°C cho đến khi có sự xuất hiện của khuẩn lạc. Các khuẩn lạc khác nhau về màu sắc, hình dạng, độ nổi và dạng bìa được chọn để

tiến hành sàng lọc các dòng có khả năng đối kháng với nấm *Colletotrichum*. Những dòng được chọn tiếp tục được cấy chuyển trong những lần tiếp theo để tách dòng. Quan sát và mô tả một số đặc điểm tế bào và khuẩn lạc của các dòng này.

2.3. Khảo sát khả năng đối kháng nấm *Colletotrichum* sp.

Nấm *Colletotrichum* sp. được cấy vào đĩa Petri chứa môi trường NA và ủ ở $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ trong 2 - 3 ngày. Vi khuẩn được nuôi tăng sinh trên môi trường Luria - Broth (LB) và ủ lắ ở 30°C , 120 vòng/phút trong 24 giờ. Khả năng đối kháng được khảo sát bằng phương pháp nhỏ giọt. Các đĩa này được ủ ở $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ trong 5 ngày. Đo bán kính của hệ sợi nấm trên điểm có chủng vi khuẩn và đối chứng. Tỷ lệ ức chế sự phát triển nấm được tính như sau: $I = (R - r)/R \times 100$ (Lamsal *et al.*, 2012) (I: Tỷ lệ ức chế sự phát triển của nấm (%); R: Bán kính của hệ sợi nấm ở điểm đối chứng; r: Bán kính của hệ sợi nấm ở điểm có chủng vi khuẩn (cm)).

2.4. Khảo sát cơ chế đối kháng của các dòng vi khuẩn

Khả năng sinh siderophore của các dòng vi khuẩn được khảo sát bằng cách nuôi cấy trên môi trường CAS - blue agar (Schwyn and Neilands, 1987). Các dòng vi khuẩn được sàng lọc khả năng phân hủy protease và chitin. Thử nghiệm khả năng phân hủy chitin được thực hiện trên môi trường YEG (Yeast Extract Glucose) agar bổ sung 1% dịch huyền phù chitin (Hsu and Lockwood, 1975), sau khi nuôi cấy vi

khuẩn trong 3 ngày, xác định khả năng phân hủy chitin của vi khuẩn bằng cách nhuộm với thuốc thử Lugol. Những dòng vi khuẩn phân hủy chitin sẽ tạo vòng halo không bắt màu xung quanh khuẩn lạc. Khả năng sinh protease được tiến hành trên môi trường SMA (Ghorbel *et al.*, 2003). Khả năng phân hủy cellulose được khảo sát trên môi trường khoáng cơ bản có bổ sung 1% CMC. Sau khi nhuộm với dung dịch Congo Red 0,1%, những dòng vi khuẩn phân hủy CMC sẽ tạo vòng halo không màu xung quanh khuẩn lạc (Teather and Wood, 1982). Kết quả của các khảo sát này được xác định bằng công thức: (Đường kính vòng halo - Đường kính khuẩn lạc).

2.5. Định danh vi khuẩn đối kháng

Dòng vi khuẩn có khả năng ức chế nấm tốt được định danh bằng kỹ thuật sinh học phân tử. Quá trình trích DNA được hiệu chỉnh dựa theo mô tả của Sambrook *et al.* (1989). Vùng gene 16S rRNA được khuếch đại bằng cặp mồi 27F và 1492R (Weisburg *et al.*, 1991) với trình tự: 27F (5'AGAGTTTGATCCTGGCTC3') và 1492R (5'TACGGTTACCTTGTACGACT3'). Phản ứng PCR được tiến hành theo chu kỳ nhiệt: Biến tính ở 94°C trong 5 phút; Tiếp theo là 35 chu kỳ lặp lại của 3 giai đoạn: Biến tính ở 94°C trong 2 phút (1), gắn mồi ở 52°C trong 1 phút 30 giây (2), kéo dài ở 72°C trong 1 phút 30 giây (3). Sau đó kéo dài ở 72°C trong 7 phút và trở ở 4°C. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5% và được gửi giải trình tự tại Singapore. So sánh trình tự vùng gene 16S

rRNA của dòng vi khuẩn cần định danh với các trình tự có trong ngân hàng dữ liệu của NCBI bằng công cụ BLASTN.

2.6. Xử lý số liệu

Số liệu được nhập bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 và được phân tích thống kê ANOVA bằng phần mềm Minitab phiên bản 16.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập vi khuẩn

Thông qua khảo sát sơ bộ khả năng ngăn chặn sự phát triển của khuẩn ty nấm *Colletotrichum* sp. xung quanh khuẩn lạc, sàng lọc được 43 trên 136 khuẩn lạc có hình thái khác nhau (chiếm 31,62%) từ 9 mẫu đất trồng lúa ở 4 tỉnh Tiền Giang, An Giang, Sóc Trăng và Hậu Giang có khả năng đối kháng. Trong đó, 2 mẫu đất tỉnh Hậu Giang cho số dòng vi khuẩn đối kháng phân lập được nhiều nhất (17 dòng, chiếm 39,53%), 2 mẫu đất ở tỉnh An Giang cho số dòng vi khuẩn đối kháng phân lập được ít nhất (7 dòng, chiếm 16,28%).

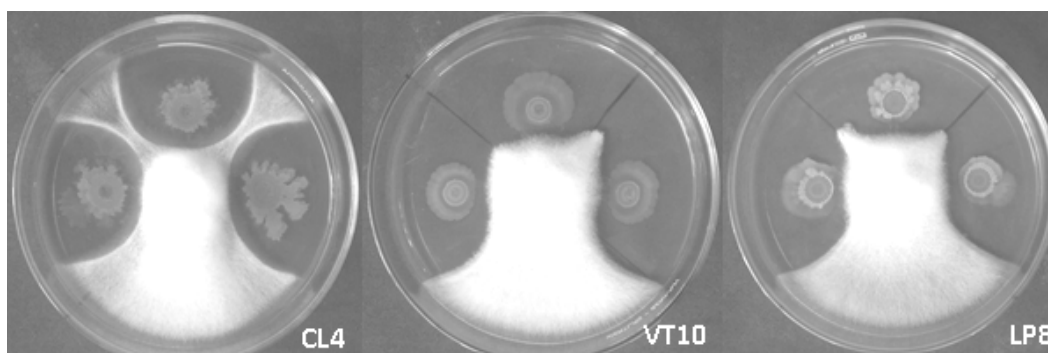
Kết quả mô tả hình thái khuẩn lạc và tế bào cho thấy trong 48 dòng phân lập được, phần lớn khuẩn lạc có màu trắng đục (chiếm 41,86%), hồng nhạt (23,26%), vàng nhạt (20,93%), màu trắng ngà (4,65%), còn lại là trắng trong (2,33%), vàng đậm (2,33%), vàng cam (2,33%) và đỏ (2,33%). Về hình dạng, đa số khuẩn lạc có dạng tròn (chiếm 81,40%), còn lại là không đều (chiếm 18,60%). Phần lớn các khuẩn lạc có bìa gợn sóng (chiếm 34,88%), bìa nguyên (chiếm 30,23%), bìa

răng cưa (chiếm 30,23%), một số ít có bì chia thùy (chiếm 4,65%). Độ nổi khuẩn lạc có các dạng dài (chiếm 62,79%), mô (32,56%) và phẳng (4,65%). Bề mặt đa số khuẩn lạc có nhiều nếp nhăn, một số ít bóng láng. Sau khi nuôi cấy 48 giờ, đường kính khuẩn lạc dao động từ 1 - 8 mm. Về đặc điểm tế bào, hầu hết các dòng vi khuẩn có dạng que ngắn (79,07%), còn lại là que dài (18,60%) và sợi (2,33%). Các tế bào ở dạng liên kết (chiếm 79,07%) và đơn hoặc đôi (11,63%). Hầu hết chúng đều có khả năng chuyển động. Qua đó cho thấy có sự đa dạng lớn về hình thái khuẩn lạc về tế bào của các dòng vi khuẩn.

3.2. Khả năng đối kháng nấm *Colletotrichum* sp. của vi khuẩn

Hiệu suất đối kháng của 43 dòng vi khuẩn đối với nấm *Collectotrichum* sp. dao động từ 33,34 - 62,79% sau 5 ngày cấy, trong đó có 27/43 dòng vi khuẩn có khả năng đối kháng từ 50% trở lên. Trong đó, 13 dòng vi khuẩn (CL4, VT10, LP8, TS3, CL5, VT8, DH2.2, LP5, TX11, VT17, PH9, PH20 và LP7) thể hiện khả năng đối kháng cao và khác biệt không có

ý nghĩa thống kê ở mức 5%, nhưng khác biệt so với các dòng còn lại. Dòng vi khuẩn CL4 cho thấy hiệu suất đối kháng cao nhất đạt 62,79% trong khi dòng VT19 có hiệu suất đối kháng thấp nhất với 33,34% (Hình 1). Nghiên cứu Lamsal *et al.* (2012) khi đánh giá hiệu quả của vi khuẩn vùng rễ trong việc phòng trừ sinh học bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum acutatum* gây ra trên ớt, với dòng vi khuẩn có khả năng đối kháng nấm cao nhất đạt 69,22% và thấp nhất đạt 54,48%, ghi nhận sau 5 ngày. Các dòng vi khuẩn được phân lập từ vùng rễ ớt (Nguyen Thi Lien *et al.*, 2016) cho khả năng đối kháng với nấm *Colletotrichum* sp từ 47,5 đến 55,34%. Đối chiếu với các kết quả này, có thể thấy các dòng vi khuẩn đất trồng lúa có triển vọng tốt để sử dụng làm tác nhân phòng trừ sinh học với nấm bệnh trên ớt. Hiện tượng vi khuẩn đối kháng có khả năng ức chế mầm bệnh trên các cây trồng khác nhau cũng được thể hiện ở nghiên cứu của Défago *et al.* (1990) với vi khuẩn *Pseudomonas* được phân lập từ cây thuốc lá có thể đối kháng với nấm *Thielaviopsis basicola* trên cây bông và cherry.



Hình 1. Vi khuẩn ức chế sự phát triển của khuẩn ty nấm trên đĩa thạch

Khả năng đối kháng mạnh nhất vào ngày thứ 5, từ ngày thứ 6 trở đi, bán kính sợi nấm trong các đĩa cấy hầu như không thay đổi hoặc thay đổi không đáng kể, một số trường hợp giảm đi do khuẩn ty nấm nơi tiếp giáp với khuẩn lạc vi khuẩn bị chết đi. Sau 10 ngày, 38/43 dòng vi khuẩn vẫn duy trì được khả năng đối kháng với nấm.

3.3. Kết quả khảo sát cơ chế đối kháng của vi khuẩn

3.3.1. Khả năng sinh siderophore

Sắt là một yếu tố cần thiết cho sự sinh trưởng của tất cả các sinh vật. Vi khuẩn thường tiết ra siderophore, một hợp chất có ái lực mạnh với sắt (Miller, 2009). Các dòng vi khuẩn được khảo sát khả năng sinh siderophore dựa trên sự liên kết với ion sắt làm biến đổi màu môi trường CAS - blue agar từ màu xanh thành màu vàng. Kết quả cho thấy có 25/43 dòng vi khuẩn (chiếm 58,14%) có khả năng sinh siderophore dao động từ 0,2 - 1,73 cm. Ba dòng vi khuẩn thể hiện khả năng sản sinh siderophore cao nhất là TX17, TS3 và CL4 với khả năng sinh siderophore lần lượt là 1,73 cm, 1,63 cm và 1,50 cm, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các dòng còn lại. Dòng CL2.8 sinh siderophore thấp nhất (0,20 cm).

3.3.2. Khả năng phân hủy cellulose, chitin và protein

Cellulose là một trong những thành phần chính của vách tế bào nấm bệnh. Vì vậy, vi khuẩn có khả năng sinh cellulase giúp ức chế sự phát triển của nấm bằng cách phân hủy vách tế bào. Các dòng vi khuẩn được nuôi trong môi

trường có cơ chất CMC. Sau khi được nhuộm với Congo Red, 25/43 dòng (chiếm 58,14%) thể hiện khả năng phân hủy cellulose thông qua vòng phân hủy không màu xung quanh khuẩn lạc. Khả năng này dao động từ 0,73 - 2,60 cm. Ba dòng PH9 (2,60 cm), LP15 (2,17 cm) và PH16 (2,10 cm) thể hiện khả năng phân hủy cellulose cao nhất trong khi dòng TX17 (0,73 cm) có khả năng phân hủy cellulose yếu nhất.

Vi khuẩn có khả năng ngăn chặn sự phát triển của tế bào nấm bệnh bằng cách tiết ra chitinase và thủy phân chitin - thành phần quan trọng cấu tạo nên vách tế bào của hầu hết các loại nấm. Khả năng phân hủy chitin của các dòng vi khuẩn được thể hiện trong Bảng 2. Kết quả cho thấy trong 43 dòng vi khuẩn, có 32 dòng (chiếm 74,42%) thể hiện khả năng phân hủy chitin. Nhìn chung, khả năng này dao động từ 0,20 - 3,23 cm. Dòng VT10 cho kết quả khả năng phân hủy chitin cao nhất (3,23 cm) và dòng LP16 thể hiện khả năng phân hủy chitin thấp nhất (0,20 cm), khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các dòng còn lại với độ tin cậy 95%.

Kết quả cho thấy có 39/43 dòng vi khuẩn (chiếm 90,70%) có thể tiết protease với khả năng phân hủy protein dao động từ 0,23 - 2,30 cm. Dòng LP23 thể hiện khả năng phân hủy protein cao nhất (2,30 cm) trong khi dòng LP24 có khả năng phân hủy protein thấp nhất (0,23 cm). Từ kết quả khảo sát các cơ chế đối kháng với nấm, có thể thấy đa số những dòng vi khuẩn này đều có đủ 4 cơ chế: sinh siderophore, phân hủy chitin, protein và

cellulose (chiếm 46,51%). Có 23,26% số dòng vi khuẩn thể hiện 1 trong 4 khả năng trên. Riêng dòng CL2.9 không có cả 4 cơ chế trên lại thể hiện khả năng ức chế sự phát triển của *Colletotrichum* sp. với hiệu suất 50,72%. Như vậy, dòng vi khuẩn này có thể đã kháng lại nấm bệnh theo một cơ chế khác. Bảng 1 cho thấy các dòng vi khuẩn có hiệu suất đối kháng cao đều có 4

cơ chế đối kháng. Điều này cho thấy sự phối hợp của nhiều cơ chế đối kháng ở vi khuẩn có thể đem lại hiệu quả đối kháng cao hơn so với từng cơ chế riêng lẻ. Thông qua so sánh hiệu quả ức chế sự phát triển nấm trên đĩa thạch và khả năng sinh các loại enzyme, dòng VT10 được chọn để định danh.

Bảng 1. Cơ chế đối kháng của 5 dòng vi khuẩn có hiệu suất đối kháng mạnh

Dòng vi khuẩn	Hiệu quả ức chế (%)	Sản sinh siderophore (cm)	Sinh chitinase (cm)	Sinh protease (cm)	Sinh cellulase (cm)	Số cơ chế đối kháng
CL4	62,79	1,50	2,33	0,80	1,60	4
VT10	62,70	1,03	3,23	2,13	1,82	4
LP8	59,69	1,13	1,40	1,73	2,07	4
TS3	59,09	1,63	2,00	1,83	0,98	4
VT8	58,73	0,67	2,17	1,30	1,68	4

3.4. Kết quả định danh vi khuẩn đối kháng

3.4.1. Kết quả giải trình tự vùng gen 16S rRNA

Kết quả giải trình tự gen 16S rRNA được so sánh với các trình tự trong cơ sở dữ liệu GenBank của NCBI của dòng VT10 cùng có độ tương đồng cao nhất là 99% với trình tự của các loài vi khuẩn: *Bacillus methylotrophicus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus siamensis*, *Bacillus vallismortis*, *Bacillus tequilensis* và *Bacillus nematocida*.

3.4.2. Kỹ thuật vi sinh - Hệ thống phân loại Bergey

Bacillus methylotrophicus là một loài khá mới thuộc chi *Bacillus* không thể phát triển được trong môi trường có sự hiện diện của NaCl lớn hơn 4,0% (Sumpavapol

et al., 2010). Khi khảo sát khả năng phát triển trên môi trường NA có bổ sung 6,5% NaCl, dòng VT10 cho kết quả dương tính, điều này chứng tỏ dòng VT10 không thuộc loài *B. methylotrophicus*.

Theo Sumpavapol *et al.* (2010), vi khuẩn *Bacillus siamensis* âm tính với oxidase trong khi dòng VT10 thì có phản ứng dương tính với oxidase, làm đổi màu giấy thử sang màu tím xanh. Bên cạnh đó, vi khuẩn *Bacillus nematocida* âm tính trong phản ứng sinh acid từ arabinose, tuy nhiên qua thử nghiệm cho thấy dòng VT10 có khả năng lên men arabinose, sinh ra acid làm đổi màu môi trường từ xanh lá cây sang vàng. Như vậy dòng VT10 không thuộc hai loài *Bacillus siamensis* và *Bacillus nematocida*.

Theo Gatson *et al.* (2006), *Bacillus tequilensis* có kích thước (0,9 × 4,0) μm

lớn hơn nhiều so với dòng vi khuẩn VT10 ($0,6 \times 1,67 - 2,00$) μm nên dòng VT10 không thuộc loài này. Vi khuẩn *B. vallismortis* và *B. subtilis* không có khả năng lên men lactose, mặt khác *B. amyloliquefaciens* có khả năng sinh ra acid từ quá trình lên men lactose, do đó thử nghiệm lên men lactose có thể phân biệt giữa *B. amyloliquefaciens* và hai vi khuẩn trên (Gastron *et al.*, 2006). Kết quả thử nghiệm khả năng lên men lactose cho thấy dòng vi khuẩn VT10 có khả năng làm đổi màu môi trường Phenol Red Broth từ đỏ sang vàng. Như vậy dòng vi khuẩn VT10 thuộc loài *Bacillus amyloliquefaciens*.

Đến nay, chưa có báo cáo nào đề cập đến tác hại của vi khuẩn *B. amyloliquefaciens*, mặt khác, loài vi khuẩn này đã chứng tỏ được tính an toàn và đã được ứng dụng trong nông nghiệp, công nghiệp (Sietske and Diderichsen, 1991). Điều đó cho thấy đây là dòng vi khuẩn có tiềm năng có thể ứng dụng để sản xuất chế phẩm sinh học.

Bảng 2. Đặc điểm của dòng vi khuẩn *Bacillus amyloliquefaciens* VT10

Đặc tính khảo sát	VT10
Gram	+
String Test thử nghiệm KOH 3%	-
Nội bào tử	+
Khả năng di động	+
Kỵ khí bắt buộc	-
Catalase	+
Kích thước (μm) (Chiều ngang \times Chiều dài)	$0,60 \times (1,67 - 2,00)$
Môi trường NaCl 6,5%	+
Oxidase	+
Lên men arabinose	+
Lên men lactose	+

IV. KẾT LUẬN

Đề tài đã phân lập được 43 dòng vi khuẩn có khả năng đối kháng với nấm *Colletotrichum* sp. từ đất trồng lúa tại các tỉnh Tiền Giang, An Giang, Hậu Giang và Sóc Trăng. Hiệu suất đối kháng của các dòng vi khuẩn dao động từ 33,34 - 62,79% với 27/43 dòng vi khuẩn có hiệu suất đối kháng từ 50% trở lên.

Qua khảo sát các cơ chế đối kháng, có 25 dòng vi khuẩn có khả năng sản sinh siderophore, 25 dòng vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose, 32 dòng vi khuẩn phân hủy chitin và 39 dòng vi khuẩn phân hủy protein. Kết hợp định danh bằng phương pháp giải trình tự vùng gen 16S rRNA và một số thử nghiệm sinh hóa xác định dòng vi khuẩn VT10 là *Bacillus amyloliquefaciens*. Tuy nhiên Cần có những nghiên cứu thêm về khả năng kháng bệnh thán thư của chủng vi khuẩn *Bacillus amyloliquefaciens* VT10 trên ở điều kiện nhà lưới và ngoài đồng để khẳng định thêm hiệu quả phòng trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Agrios, G. N. (2005). Plant pathology. 5th edition. San Diego, California: Elsevier Academic Press, p.922.
2. Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A.,... and Whitman, W. B. (Eds.). (2011). Bergey's manual of systematic bacteriology: Volume 3: The Firmicutes (Vol. 3). Springer Science & Business Media.
3. Defago, G., Berling, C.H., Burger, U., Haas, D., Kahr, G., Voisard, C., Wirthner, P. and Wiithrich, B. (1990). Suppression of black root rot of tobacco by a Pseudomonas strain: potential applications and mechanisms. in Hornby D, ed. Biological control of soil - borne plant pathogens. Oxon (UK): CAB International. 93 - 108.

4. Don, L.D., Van, T.T., Vy, T.T.P., and Kieu, P.T.M. (2007). *Colletotrichum* sp. attacking on chili pepper growing in Vietnam, First international symposium on chili anthracnose, National horticultural research institute, Rural development of administration republic of Korea, p.67.
5. Gatson, J. W., Benz, B.F., Chandrasekaran, C., Satomi, Venkateswaran, M.K., and Hart, M.E. (2006). *Bacillus tequilensis* sp. nov., isolated from a 2000 - year - old Mexican shaft - tomb, is closely related to *Bacillus subtilis*. Int J Syst Evol Microbiol.56: 1475 - 1484.
6. Ghorbel, B., Sellami - Kamoun, A. and Nasri, M. (2003). Stability studies of protease from *Bacillus cereus* BG1. Enzyme and Microbial Technology. 32(5): 513 - 518.
7. Hsu and Lockwood (1975). Powdered Chitin Agar as a selective medium for enumeration of *Actinomycetes* in Water and Soil, Appl Microbiol. 29(3): 422 - 426.
8. Lamsal, K., Kim, S.W., Kim, Y.S., and Lee, Y.S. (2012). Application of rhizobacteria for plant growth promotion effect and biocontrol of anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* on pepper. Mycobiology. 40(4): 244 - 251.
9. Liên, N.T., Như, N.T.Y., Mai, T.T.X., Pha, N.T. (2016). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn từ đất vùng rễ ớt có khả năng đối kháng với nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên ớt. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 47:16 - 23.
10. Mahasuk P., Humpeng N., Wasee S., Taylor P.Q.J., Mongkolporn O. (2009). Inheritance of resistance to anthracnose (*Colletotrichum capsici*) at seedling and fruiting stages in chili pepper (*Capsicum* sp.). Plant Breeding. 128:701 - 706.
11. Miller, M.J. (2009). Siderophores (iron chelators) an siderophore drug conjugates (new methods for microbially selective drug delivery). University of Notre Dame. Dame.
12. Sambrook, J., E. Fritsch, F. and Maniatis.T., 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. New York: Cold spring harbor laboratory press.
13. Schwyn, B. and J. B. Neilands. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. Analytical biochemistry, 160(1):47 - 56.
14. Sietske, A. and Diderichsen, B., 1991. On the safety of *Bacillus subtilis* and *B. amyloliquefaciens*: a review. Applied microbiology and biotechnology. 36(1):1 - 4.
15. Sumpavapol, P., L. Tongyongk, S. Tanasupawat, N. Chokesajjawatee, P. Luxananil and W. Visessanguan (2010). *Bacillus siamensis* sp. nov., isolated from salted crab (poo - khem) in Thailand. International journal of systematic and evolutionary microbiology. 60(10): 2364 - 2370.
16. Teather, R. M. and Wood, P. J. (1982). Use of Congo red - polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. Appl. Environ. Microbiol. 43: 777 - 780.
17. Weisburg, W.G., Barns, S.M., Pelletier, D.A., and Lane, D.J., (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. Journal of bacteriology. 173(2): 697 - 703.

HIỆU QUẢ CỦA VI KHUẨN *Bacillus* sp. TRONG PHÒNG TRỊ BỆNH CHÁY BÌA LÁ LÚA DO VI KHUẨN *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Ở ĐIỀU KIỆN NGOÀI ĐỒNG TẠI THÀNH PHỐ CẦN THƠ

Võ Minh Luân¹, Trần Vũ Phấn²

¹Học viên cao học ngành Bảo vệ thực vật, K24,
Trường Đại học Cần Thơ

²Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

ABSTRACT

Effectiveness of *Bacillus* sp. in the prevention of bacterial leaf blight of caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* under field conditions in Can Tho city

The study was conducted from June 2018 to September 2018 in Phong Dien district, Can Tho city, to evaluate the effectiveness of *Bacillus* - R15 strains for preventing bacterial leaf blight disease caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* under field conditions. The experiment used OM4900 rice variety, including 6 treatments (*Bacillus* - R15 strain, treated 3, or 7 days intervals, without or combination with 1 spray of chemical bactericide on 5% flowering stage; positive control was Starner 20WP, and negative control), 4 repetitions, arranged in a completely random block design, each experimental plot was 45 m². Record the bacterial leaf blight disease according to IRRI (2013) at the time before treatment of biological control agent and repeated at 7 day intervals until 10 days before harvest, then calculate disease severity. The results showed that all treatment with *Bacillus* - R15 were effective in reducing bacterial leaf blight severity, in which treatment (1) (*Bacillus* - R15 with 3 day interval sprays or treatment (3) (in combination with one spray of Starner 20WP at 5% heading) were highly effective in reducing disease severity, with disease suppression were 59.51% and 56.93%, respectively, equal to that of farmers' practices (Starner 20WP, 1.25%, two sprays) (59.70%).

Keywords: *Bacillus*, bacterial leaf blight, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*.

I. GIỚI THIỆU

Bệnh cháy bìa lá (bạc lá) do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) luôn được xem là một trong các bệnh quan trọng ở các vùng canh tác lúa (Ou, 1985),

bao gồm Đồng bằng sông Cửu Long, nhất là trong các vụ lúa vào mùa mưa (Phạm Văn Kim, 2015), do năng suất có thể bị thiệt hại tới 50% khi bị nhiễm bệnh nặng và thường giảm 10 - 20% nếu bị nhiễm ở giai đoạn đẻ nhánh tối đa (Mew *et al.*, 1993). Nhằm giảm tổn thất và tránh sự bùng phát

Người phân biên: PGS.TS. Lê Minh Tường.

của bệnh, giống kháng được xem là lựa chọn tốt nhất để quản lý Xoo, tuy nhiên hiệu quả của giống kháng thay đổi tùy theo chủng Xoo cụ thể, mặt khác áp lực đồng tiến hóa, thường làm cho tính kháng của các giống không bền (Mew *et al.*, 1993; Khan and Naeem, 2014; Chukwu *et al.*, 2019). Việc lạm dụng thuốc hóa học thường kèm theo các rủi ro cho môi trường và đặc biệt là sức khỏe của con người, mặt khác các thuốc trừ bệnh vi khuẩn thường có hiệu quả không cao (Gnanamanickam, 2009; Kim *et al.*, 2016; Panwar *et al.*, 2018; Chukwu *et al.*, 2019) và chi phí có khuynh hướng ngày càng cao. Trước các rủi ro tiềm ẩn đó, gần đây biện pháp sinh học ngày càng được quan tâm, nhằm khắc phục các nhược điểm của thuốc hóa học, duy trì được hệ sinh thái nông nghiệp bền vững. Vi khuẩn vùng rễ có lợi, đặc biệt là nhiều loài thuộc chi *Bacillus* (Shafi *et al.*, 2017) được coi là tác nhân phòng trừ sinh học tiềm năng do có thể duy trì và phát triển được quần thể từ đó áp chế được vi khuẩn gây bệnh qua nhiều cơ chế khác nhau như đối kháng, cạnh tranh về không gian và chất dinh dưỡng và kích thích tính kháng bệnh của cây (Yasmin *et al.*, 2016). Trong điều kiện của đồng bằng sông Cửu Long, nhiều chủng *Bacillus* có đối kháng tốt với Xoo trong điều kiện in vitro và nhà lưới cũng đã được tuyển chọn trong đó một số chủng cho hiệu quả phòng trị bệnh cháy bìa lá tương đương với thuốc hóa học (Trần Vũ Phấn và ctv., 2016). Tuy nhiên, Xoo rất đa dạng về mặt di truyền và có phản ứng

khác nhau trong tương tác với tác nhân phòng trừ sinh học và điều kiện môi trường (Gnanamanickam, 2009; Khan *et al.*, 2014), nên hiệu quả kiểm soát bệnh của tác nhân sinh học phụ thuộc vào việc tuyển chọn được tác nhân sinh học phù hợp với các vùng canh tác cụ thể, ngoài ra còn có thể liên quan đến số lần hay thời điểm xử lý tác nhân phòng trừ sinh học (Meena, 2014). Do vậy, nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả của việc ứng dụng *Bacillus* với thời gian xử lý khác nhau trong việc kiểm soát bệnh cháy bìa lá lúa ở điều kiện ngoài đồng tại Tp. Cần Thơ.

II. PHƯƠNG TIỆN, PHƯƠNG PHÁP

Thí nghiệm đánh giá hiệu lực phòng trị bệnh cháy bìa lá trên giống lúa OM4900 thực hiện vụ Thu Đông năm 2018 tại xã Trường Long, huyện Phong Điền, thành phố Cần Thơ.

Nguồn vi khuẩn *Bacillus* là chủng *Bacillus*-R15 có đối kháng mạnh với vi khuẩn gây bệnh (bán kính vô khuẩn 13,63 mm vào 7 ngày sau trắc nghiệm, số liệu chưa công bố) được cung cấp từ Bộ môn Bảo vệ thực vật, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ.

Thí nghiệm được bố trí khối hoàn toàn ngẫu nhiên 4 lặp lại, 6 nghiệm thức, diện tích mỗi nghiệm thức 45 m², tổng diện tích là 1080 m². Vi khuẩn *Bacillus* - R15 được xử lý ở dạng huyền phù (10⁶ cfu/ml), phun 320 lít/ha, đối chứng dương xử lý thuốc Starner 20WP (nồng độ 1‰), đối chứng âm xử lý nước tại ruộng.

Bảng 1. Các nghiệm thức trong thí nghiệm

Nghiệm thức	Cách xử lý	Ghi chú
NT1	<i>Bacillus</i> - R15, lặp lại sau mỗi 3 ngày	Khi bệnh mới xuất hiện ở ô dự báo (52 NSS), tổng 7 lần xử lý
NT2	<i>Bacillus</i> - R15, lặp lại sau mỗi 7 ngày	Khi bệnh mới xuất hiện ở ô dự báo (52 NSS), tổng 3 lần xử lý
NT3 (NT1 + Thuốc)	<i>Bacillus</i> - R15, lặp lại sau mỗi 3 ngày, với 1 lần phun Starner 20WP (1‰) lúc lúa trổ 5%	Giai đoạn đầu xử lý tương ứng với NT1, 7 ngày sau khi xử lý Starner, tiếp tục xử lý với <i>Bacillus</i> - R15
NT4 (NT2 + Thuốc)	<i>Bacillus</i> - R15, lặp lại sau mỗi 7 ngày, với 1 lần phun Starner 20WP (1‰) lúc lúa trổ 5%	Giai đoạn đầu xử lý tương ứng với NT2, 7 ngày sau khi xử lý Starner, tiếp tục xử lý với <i>Bacillus</i> - R15
Đối chứng dương	Starner 20WP, 1‰, phun 3 lần (làm đồng, trổ 5% và trổ đều)	Thuốc hóa học theo tập quán của nông dân
Đối chứng âm	Phun nước	Ứng với mỗi lần có xử lý vi khuẩn hay thuốc.

Ruộng được sạ bằng máy phun, mật độ 170 kg/ha, được chăm sóc theo nông dân, công thức phân bón, 100 N - 40 P₂O₅ - 30 K₂O (Nguyễn Ngọc Đệ, 2008) bón thành 4 đợt. Bố trí 4 ô dự báo (2 m²/ô tại bốn góc của ruộng thí nghiệm, để theo dõi tình hình xuất hiện bệnh.

Xử lý phòng trị bệnh tùy theo nghiệm thức (Bảng 1), được phun vào lúc chiều mát. Lần xử lý đầu tiên vào 52 ngày sau sạ (NSS), khi bệnh cháy bìa lá bắt đầu xuất

hiện trên các ô dự báo bệnh. Thuốc sâu Sunato 800WG 2 lần vào 30 NSS và 70 NSS cho toàn ruộng.

Các chỉ tiêu về bệnh cháy bìa lá được ghi nhận vào thời điểm trước khi xử lý tác nhân phòng trừ và vào các thời điểm 7, 14, 21, 28, 35 ngày sau khi xử lý. Tỷ lệ bệnh và phân cấp bệnh được đánh giá tại 5 điểm trên 2 đường chéo góc (10 cây/điểm, quan sát 3 lá trên cùng/cây).

$$\text{Chỉ số bệnh (\%)} = \frac{[(N1x1) + (N3x3) + (N5x5) + \dots (Nnxn)]}{Nxn} \times 100$$

Trong đó: N1, N3, N5: Số lá nhiễm bệnh cấp 1, cấp 3, cấp 5.

Nn: Số lá nhiễm bệnh ở cấp n.

N: Tổng số lá điều tra.

n: Cấp bệnh cao nhất (cấp 9).

Cấp bệnh được đánh giá dựa theo % diện tích nhiễm bệnh trên lá như sau: cấp 1 (1 - 5%), cấp 3 (6 - 12%), cấp 5 (13 - 25%),

cấp 7 (26 - 50%) và cấp 9 (51 - 100%) (IRRI, 2013).

Hiệu quả giảm bệnh (HQGB) so với đối chứng:

$$HQGB (\%) = ((CSB_{đc} - CSB_{nt}) / CSB_{đc}) \times 100$$

Trong đó: $CSB_{đc}$: Chỉ số bệnh đối chứng, CSB_{nt} : Chỉ số bệnh nghiệm thức xử lý.

Năng suất thực tế (tấn/ha): Thu 5 m² lúa ở giữa mỗi lô, cân trọng lượng và quy về trọng lượng tấn/ha, ở 14% ẩm độ.

Số liệu được xử lý bằng phần mềm EXCEL và dùng SPSS để phân tích phương sai, kiểm định DUNCAN để so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Chỉ số bệnh cháy bìa lá

Kết quả được trình bày ở Bảng 2 cho thấy:

- **Ở thời điểm trước xử lý:**

Chỉ số bệnh của các nghiệm thức trước xử lý không khác biệt có ý nghĩa thống kê, biến thiên từ 14,81 - 16,06%, cho thấy bệnh nhiễm khá đồng đều giữa các ô thí nghiệm.

Bảng 2. Chỉ số bệnh cháy bìa lá

STT	Nghiệm thức (NT)	Chỉ số bệnh cháy bìa lá (%)					
		TXL	7 NSXL	14 NSXL	21 NSXL	28 NSXL	35 NSXL
1	<i>Bacillus</i> - R15 (3 ngày/lần)	15,85	16,04 b	10,26 c	11,74 c	12,78 c	15,11 c
2	<i>Bacillus</i> - R15 (7 ngày/lần)	15,72	20,72 a	13,37 b	15,59 b	18,06 b	24,33 b
3	NT1 + Starner 20WP	15,24	16,28 b	09,98 c	11,78 c	12,83 c	16,22 c
4	NT2 + Starner 20WP	15,93	20,63 a	14,30 b	17,67 b	17,50 b	21,31 b
5	Hóa học theo nông dân	16,06	13,67 c	09,59 c	10,35 c	11,46 c	15,00 c
6	Đối chứng âm	14,81	21,74 a	20,33 a	23,44 a	29,24 a	37,83 a
	<i>F (tính)</i>	<i>ns</i>	**	**	**	**	**
	<i>CV%</i>	8,10	7,02	13,34	14,31	12,61	11,07

Ghi chú:

- Các số cùng 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 ở $p = 0,05$.

- **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; ns: Không có ý nghĩa thống kê.

- Số liệu được chuyển sang $\arcsin \sqrt{X/100}$ khi phân tích; NSXL: Ngày sau xử lý. TXL: Trước xử lý.

Từ 7 ngày sau xử lý, giữa các nghiệm thức có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

- **Thời điểm 7 ngày sau xử lý:**

Nghiệm thức (5) phun thuốc hóa học theo nông dân có chỉ số bệnh thấp nhất (13,67%), kể đến là các nghiệm thức (1) và (3) xử lý 3 ngày/lần; Nghiệm thức (2) và (4) có chỉ số bệnh tương đương với đối chứng phun nước. Qua đó cho thấy, nghiệm thức xử lý với vi khuẩn *Bacillus* -

R15 lặp lại 3 ngày/lần đã bắt đầu cho thấy khả năng kiểm soát bệnh.

- **Các thời điểm 14, 21, 28 và 35 ngày sau xử lý:**

Nhìn chung, tương ứng với từng thời điểm đánh giá, các nghiệm thức được xử lý với chủng vi khuẩn *Bacillus* - R15 hoặc thuốc hóa học Starner 20WP có chỉ số bệnh biến động trong khoảng 9,59 - 24,33%, đều thấp hơn đối chứng (20,33 - 37,83%).

Trong đó, các nghiệm thức (NT1) xử lý với vi khuẩn *Bacillus* - R15 3 ngày/lần hoặc (NT3) 1 lần phun thuốc Starner 20WP + vi khuẩn *Bacillus* - R15 3 ngày/lần có chỉ số bệnh tương đương với nghiệm thức (NT5) được xử lý thuốc hóa học theo nông dân. Các nghiệm thức (2) hoặc (4) với khoảng cách giữa 2 lần xử lý là 7 ngày tuy cũng có chỉ số bệnh thấp hơn đối chứng, nhưng đều cao hơn nghiệm thức được xử lý 3 ngày/lần. Kết quả này cho thấy thời gian cách nhau giữa 2 lần xử lý có ảnh hưởng trên hiệu quả giảm bệnh cháy bìa lá của các nghiệm thức.

Cũng từ kết quả ở Bảng 2, có thể thấy chỉ số bệnh của các nghiệm thức đã tăng theo thời gian và giai đoạn phát triển của cây lúa, càng về sau bệnh có khuynh hướng tăng nặng hơn, bao gồm cả nghiệm thức xử lý thuốc hóa học theo nông dân (phun 3 lần vào giai đoạn làm đồng, trở 5%

và trở đều, ứng với 47, 60 và 68 ngày sau sạ - NSS). Điều này cho thấy trong thí nghiệm này, hiệu quả của thuốc Starner 20WP hoặc vi khuẩn *Bacillus* đã giúp làm chậm tốc độ và mức độ nhiễm bệnh của cây lúa.

3.2. Hiệu quả giảm bệnh cháy bìa lá của các nghiệm thức

• Thời điểm 7 ngày sau xử lý:

Kết quả ghi nhận được ở Bảng 3 cho thấy, các nghiệm thức được xử lý bằng vi khuẩn *Bacillus* - R15 ở thời điểm 7 ngày sau xử lý đã có hiệu quả giảm bệnh (HQGB) so với đối chứng phun nước. Tuy nhiên, các nghiệm thức (1 - 4) được xử lý chỉ với vi khuẩn *Bacillus* - R15 hoặc thêm 1 lần thuốc Starner 20WP đều có HQGB thấp hơn nghiệm thức (5) xử lý thuốc hóa học theo nông dân (2 lần phun thuốc Starner 20WP).

Bảng 3. Hiệu quả giảm bệnh cháy bìa lá

STT	Nghiệm thức (NT)	Hiệu quả giảm bệnh (%)				
		7 NSXL	14 NSXL	21 NSXL	28 NSXL	35 NSXL
1	<i>Bacillus</i> -R15 (3 ngày/lần)	25,01 ^b	49,04 ^a	49,05 ^a	56,04 ^a	59,51 ^a
2	<i>Bacillus</i> - R15 (7 ngày/lần)	4,52 ^b	33,62 ^b	32,55 ^b	37,57 ^b	34,72 ^c
3	NT1 + Starner 20WP	24,70 ^b	50,43 ^a	48,86 ^a	55,85 ^a	56,93 ^a
4	NT2 + Starner 20WP	05,17 ^c	29,61 ^b	23,94 ^b	39,91 ^b	43,28 ^b
5	Hóa học theo nông dân	36,51 ^a	52,17 ^a	54,76 ^a	60,31 ^a	59,70 ^a
6	Đối chứng âm	0,00 ^d	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^d
	<i>F</i> (tính)	**	**	**	**	**
	CV%	27,89	20,47	21,57	15,84	12,49

Ghi chú:

- Các số cùng 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%.

- Giá trị% được chuyển sang $\arcsin \sqrt{X/100}$ (với X tính bằng %); NSXL: Ngày sau xử lý.

• **Các thời điểm 14, 21, 28 và 35 ngày sau xử lý:**

Từ thời điểm 14 ngày sau xử lý, hiệu quả của các nghiệm thức được xử lý với chủng *Bacillus* - R15 bắt đầu thể hiện rõ hơn, trong đó các nghiệm thức xử lý cách nhau 3 ngày (1) và (3) với hiệu quả giảm bệnh tương đương với nghiệm thức xử lý thuốc hóa học theo nông dân, duy trì ở mức 556,93 - 59,70 vào thời điểm 35 NSXL. Hai nghiệm thức (2) và (4) cũng cho hiệu quả giảm bệnh so với đối chứng, tương đương nhau, và đều thấp hơn so với các nghiệm thức được xử lý còn lại. Như vậy, trong điều kiện vụ lúa Thu Đông để đạt hiệu quả trong kiểm soát bệnh cháy bìa lá lúa, khoảng cách giữa 2 lần xử lý vi khuẩn *Bacillus* cần cách nhau không quá 7 ngày, như trong kết quả thí nghiệm này (Bảng 3).

3.3. Thành phần năng suất và năng suất thực tế

Kết quả được trình bày ở Bảng 4 cho thấy:

• **Hạt chắc trên bông:**

Số hạt chắc/bông của nghiệm thức được xử lý biện pháp phòng trị bệnh cháy bìa lá đều cao hơn so với đối chứng phun nước (68 hạt chắc/bông). Ba nghiệm thức (1), (3) và (5) có số hạt chắc trên bông biến thiên từ 76 - 78 hạt/bông, tương đương nhau và cao hơn so với các nghiệm thức còn lại. Số hạt chắc trên bông là yếu tố đóng góp quan trọng trong năng suất, và thường bị ảnh hưởng bởi kỹ thuật canh tác, điều kiện môi trường, bao gồm ảnh hưởng do các tác nhân gây bệnh trên cây lúa (Nguyễn Ngọc Đệ, 1998).

Bảng 4. Chỉ tiêu năng suất của các nghiệm thức

STT	Nghiệm thức	Số hạt chắc/bông	Tỷ lệ (%) hạt chắc	Trọng lượng 1.000 hạt(g)	Năng suất thực tế (t/ha)
1	<i>Bacillus</i> - R15 (3 ngày/lần)	76,77 ^a	89,06 ^a	28,71	6,94 ^a
2	<i>Bacillus</i> - R15 (7 ngày/lần)	72,48 ^b	84,20 ^c	28,39	6,00 ^c
3	NT1 + Stamer 20WP	77,66 ^a	88,73 ^a	29,25	6,87 ^{ab}
4	NT2 + Stamer 20WP	73,09 ^b	87,62 ^b	28,67	6,56 ^b
5	Hóa học theo nông dân	78,10 ^a	88,19 ^a	29,39	6,98 ^a
6	Đối chứng âm	68,67 ^c	79,42 ^d	29,05	5,09 ^d
	<i>F (tính)</i>	*	**	ns	**
	CV%	2,74	1,50	2,40	3,60

Ghi chú:

- Các số cùng cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt qua phép kiểm định Duncan ở $p = 0,05$.

- **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; *: Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; ns: Không ý nghĩa thống kê

• **Tỷ lệ (%) hạt chắc:**

Các nghiệm thức được xử lý tác nhân phòng trị bệnh cháy bìa lá đều có tỷ lệ hạt

chắc cao hơn so với đối chứng (79,42%). Trong đó, các nghiệm thức được xử lý 3 ngày/lần với vi khuẩn *Bacillus*-R15 hoặc

thuốc hóa học theo nông dân có tỷ lệ hạt chắc biến thiên từ 88,19 - 89,06%, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Các nghiệm thức này cũng có hiệu quả giảm bệnh cao (Bảng 3), như vậy, với kết quả được trình bày ở Bảng 4 có thể thấy các nghiệm thức này do đã kiểm soát bệnh tốt, giúp làm giảm tỷ lệ hạt lép.

- **Trọng lượng 1.000 hạt (g):**

Các nghiệm thức có trọng lượng 1.000 hạt biến thiên từ 28,39 - 29,39 g và

không khác biệt nhau về mặt ý nghĩa thống kê.

- **Năng suất thực tế:**

Năng suất thực tế của các nghiệm thức biến thiên trong khoảng 5,09 - 6,98 tấn/ha, thấp nhất là nghiệm thức đối chứng nước (5,06 tấn/ha). Các nghiệm thức (1), (3) và (5) có năng suất tương đương nhau, biến động trong khoảng 6,87 - 6,98 tấn/ha, cao hơn các nghiệm thức còn lại.



Hình 1. Tình hình bệnh cháy bìa lá lúa ở các nghiệm thức ở thời điểm 14 NSXL (61 NSS) vụ lúa Thu Đông 2018, xã Trường Long, huyện Phong Điền, Tp. Cần Thơ

*** Thảo luận chung:**

Hiệu quả của tác nhân phòng trừ sinh học liên quan đến nhiều cơ chế tác động khác nhau, như tác động trực tiếp lên mầm bệnh (thông qua kháng sinh, cạnh tranh, ký sinh), can thiệp vào cơ chế gây bệnh của mầm bệnh và kích kháng hoặc đơn giản bằng cách làm cho cây phát triển tốt hơn, do đó dù cây chưa hoàn toàn khỏi bệnh nhưng thiệt hại có thể được đền bù (Campbell, 1989; Gnanamanickam, 2009; Bardin *et al.*, 2015). Ngoài ra, hiệu quả của tác nhân phòng trừ sinh học thường có liên quan đến điều kiện môi trường đồng ruộng (nhiệt độ, độ ẩm, bức xạ), khả năng thích ứng sinh thái (sống sót, thiết lập quần thể) của tác nhân sinh học, đặc điểm của vi khuẩn đối kháng (tạo các chất chuyển hóa cần thiết hoặc enzyme) (Bardin *et al.*, 2015). Trong nghiên cứu này, chủng vi khuẩn *Bacillus* - R15 đã thể hiện hiệu quả phòng trị đối với bệnh cháy bìa lá lúa, thông qua các nghiệm thức được xử lý có chỉ số bệnh thấp hơn so với đối chứng nước và tương đương thuốc hóa học xử lý theo nông dân (Bảng 2). Hiệu quả này có thể do *Bacillus* - R15 ngoài khả năng thích ứng sinh thái cao cũng sở hữu nhiều cơ chế tác động ức chế mầm bệnh (Shafi *et al.*, 2017). Hiệu quả ở điều kiện ngoài đồng còn có liên quan đến khả năng sống sót, thiết lập quần thể của tác nhân phòng trừ sinh học, thường giảm khi tác nhân phòng trừ sinh học bị suy giảm mật số (Bardin *et al.*, 2015). Trong nghiên cứu này, hai nghiệm thức (1) và (3) được xử lý 3 ngày/1 lần, có chỉ số bệnh và hiệu quả giảm bệnh đều tương đương với nghiệm thức phun thuốc hóa học và cao hơn so với khi được xử lý 7 ngày/lần, sự

khác nhau cũng thể liên quan đến sự khác nhau về mật số của *Bacillus* - R15 giữa 2 khoảng cách thời gian xử lý. Nghiên cứu của Gangwar and Sinha (2014) ghi nhận khi xử lý tác nhân phòng trừ sinh học (viz. *Pseudomonas fluorescens* 10⁶ cfu/g) vào một tuần trước khi lây nhiễm bệnh hiệu quả giảm bệnh cháy bìa lá so với đối chứng vào khoảng 50% (chỉ số bệnh 35,00% và đối chứng 70,00%), cao hơn so với khi xử lý đồng thời hoặc một tuần sau khi lây nhiễm bệnh. Như vậy, liều lượng và tần suất áp dụng tác nhân phòng trừ sinh học phải được chuẩn hóa dựa trên giá trị kinh tế của loại cây trồng, đây có thể là một cách tiếp cận thực tế và đáng tin cậy (Meena, 2014). Qua kết quả nghiên cứu này, biện pháp phun qua lá 3 ngày/1 lần phun và kết hợp thêm chất bám dính để quản lý bệnh cháy bìa lá trên lúa nhưng cần có những nghiên cứu thêm để có thể giảm số lần xử lý bằng cách phun vào thời điểm thích hợp nhất để cho hiệu quả kiểm soát bệnh cao với chi phí hợp lý.

IV. KẾT LUẬN

Trong điều kiện ngoài đồng, chủng vi khuẩn *Bacillus* - R15, khi được xử lý từ thời điểm trở 5%, cách nhau 3 ngày/lần, giúp giảm mức độ thiệt hại do bệnh cháy bìa lá và có hiệu quả tương đương với khi xử lý bằng thuốc hóa học Starner 20WP (3 lần), giúp tăng số hạt chắc/bông, tỷ lệ hạt chắc và năng suất thực tế và tương đương so với khi được xử lý bằng thuốc hóa học.

Nghiên cứu thêm về cách phun vào thời điểm thích hợp để giảm số lần phun nhưng vẫn cho hiệu quả kiểm soát bệnh với chi phí hợp lý.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bardin M., Ajouz S., Comby M., Lopez - Ferber M., Graillot B., Siegwart M. and Nicot P.C. (2015). Is the efficacy of biological control against plant diseases likely to be more durable than that of chemical pesticides? *Front. Plant Sci.* 6:566. doi: 10.3389/fpls.2015.00566.
2. Campbell R. (1989). *Biological Control of Microbial Plant Pathogens*. Cambridge: Cambridge University Press. pp: 266 - 275.
3. Chukwu SC, Rafii MY, Ramlee SI, Ismail SI, Hasan MM, Oladosu YA, Magaji UG, Akos I, Olalekan KK. (2019). Bacterial leaf blight resistance in rice: A review of conventional breeding to molecular approach. *Mol Biol Rep.* 46(1):1519 - 1532. doi: 10.1007/s11033 - 019 - 04584 - 2. Epub 2019 Jan 9.
4. Gangwar G.P. and Sinha A.P. (2014) Effect of bioagent application time against bacterial leaf blight of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Uyeda and Ishiyama) Dowson. *Journal of Applied and Natural Science* 6 (1): 95 - 100.
5. Gnanamanickam S.S. (2009). *Biological control of rice diseases*. Springer, pp. 67 - 78.
6. IRRI (2013). *Standard Evaluation System (SES) for Rice* 5th edition, IRRI, Manila, Philippines.
7. Khan M.A., Naeem M., Iqbal M. (2014). Breeding approaches for bacterial leaf blight resistance in rice (*Oryza sativa* L.), current status and future directions. *Eur. J. Plant Pathol.* 139: 27 - 37
8. Kim S. - I, Song J.T., Jeong J - Y., Seo H.S. Niclosamide inhibits leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae* in rice. *Sci. Rep.* 6, 21209; doi: 10.1038/srep21209.
9. Meena B. (2014). Biological control of pest and diseases using fluorescent pseudomonads. In: Sahayaraj K. (ed.), *Basic and Applied Aspects of Biopesticides*, Springer India, pp: 17 - 29.
10. Mew T.W., Alvarez A.M., Leach J.E., Swings J., 1993. Focus on bacterial blight of rice. *Plant Disease* 77 (1): 5 - 12.
11. Nguyễn Ngọc Đệ (2008). *Giáo trình cây lúa. Tài liệu giảng dạy lưu hành nội bộ*. Trường Đại học Cần Thơ, 164 trang.
12. Ou S.H., 1985. *Rice Diseases*, 2nd ed. Commonwealth Mycological Institute, Kew, UK.
13. Panwar B.S., Trivedi R., Ravikiran R., Ram C. and Narayanan S. (2018). Molecular marker - based screening for bacterial leaf blight resistance genes in landraces and cultivars of rice in Gujarat. *Indian J. Plant Genet. Resour.* 31(1): 51 - 56.
14. Phạm Văn Kim (2015). *Các bệnh hại lúa quan trọng ở Đồng bằng sông Cửu Long*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, 126 trang.
15. Shafi J., Tian H. and Ji M. (2017). *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: A review. *Biotechnology and Biotechnological Equipment* 31 (3): 446 - 459.
16. Trần Vũ Phấn (2016). Ứng dụng vi khuẩn vùng thân, lá và rễ lúa kết hợp với dẫn xuất từ chitosan để phòng trừ một số bệnh hại quan trọng và kích thích tăng trưởng cây lúa. Báo cáo kết quả nghiên cứu khoa học đề tài cấp tỉnh, tỉnh Hậu Giang.
17. Yasmin S., Zaka A., Imran A., Zahid M.A., Yousaf S., Rasul G., Arif M., Mirza M.S. (2016). Plant growth promotion and suppression of bacterial leaf blight in rice by inoculated bacteria. *PloS ONE* 11(8): e0160688. doi:10.1371/ journal.pone.0160688.

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG PHÒNG TRỊ CỦA CÁC CHỦNG XẠ KHUẨN ĐỐI VỚI BỆNH HÉO RŨ TRÊN CÂY KHOAI LANG DO NẤM *Fusarium oxysporum* GÂY RA Ở ĐIỀU KIỆN NGOÀI ĐỒNG TẠI HUYỆN BÌNH TÂN, TỈNH VĨNH LONG

Đỗ Nguyễn Trường Đức Minh¹, Nguyễn Văn Tập²
Trần Văn Dũng³ và Lê Minh Tường³

¹Học viên cao học ngành Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ

²Nghiên cứu sinh ngành Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ

³Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

ABSTRACT

Biocontrol of wilt disease of sweet potato caused by *Fusarium oxysporum* with actinomycetes isolates in field conditions in Binh Tan district, Vinh Long province

The study was aimed to evaluate biocontrol potential of *Fusarium* wilt disease on sweet potato by promising Actinomycetes isolates. The *in vitro* test showed that the selected Actinomycetes isolate TTR4 produced the greatest concentration of IAA (3,875 µg/ml). The field experiment was set up in a randomized complete block design with 18 treatments and 4 replications. The results showed that the two selected Actinomycetes isolates TTR4 and TTH15 had great potential for control of *Fusarium* wilt disease on sweet potato through reductions of disease incidence and disease severity, which were not significantly different from the fungicide treatment. Moreover, the two isolates TTR4 and TTH15 did not affect the plant growth and the number of shoots.

Keywords: Actinomyces, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* wilt on sweet potato, Indole Acetic Acid (IAA).

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Huyện Bình Tân tỉnh Vĩnh Long là một trong những huyện có diện tích trồng khoai lang lớn nhất ĐBSCL với diện tích trồng trong năm 2017 là 13.964 ha với tổng sản lượng 295.363 tấn (Niên giám Thống kê tỉnh Vĩnh Long, 2017). Với nhu cầu sử dụng ngày càng tăng nên diện tích trồng và sản lượng thu hoạch cũng đang tăng theo từng vụ, tuy nhiên tình hình dịch hại bùng phát ngày càng triển biến phức

tạp gây thất thu đáng kể, trong đó bệnh héo rũ do nấm *Fusarium oxysporum* là một bệnh gây thất thu nặng xuất hiện nhiều trong đầu vụ nếu không có biện pháp phòng trừ kịp thời trong quá trình canh tác. Hiện nay, nông dân đã áp dụng nhiều loại thuốc hóa học trong việc đối phó với bệnh héo rũ do nấm *Fusarium oxysporum* có tác dụng nhanh chóng. Tuy nhiên việc sử dụng thuốc hóa học liên tục sẽ làm ảnh hưởng đến môi trường và sức khỏe người sử dụng đặc biệt là dễ hình thành tính kháng và phát sinh loài mới (Backman *et al.*, 1997). Nhằm hướng tới một nền nông

Người phân biện: TS. Lê Phước Thạnh.

nghiệp xanh, việc sử dụng các đối tượng vi sinh vật có lợi trong việc phòng trừ dịch hại trong sản xuất nông nghiệp đang là một xu hướng được khuyến khích. Trong đó xạ khuẩn là một trong số những tác nhân phòng trừ sinh học đang được nghiên cứu rộng rãi và chúng tỏ ra nhiều ưu điểm tốt để đối kháng với mầm bệnh thông qua nhiều cơ chế như khả năng tiết enzyme ngoại bào, tiết kháng sinh, cạnh tranh dinh dưỡng,... và cả kích thích sinh trưởng cho cây trồng khỏe mạnh để tăng sức đề kháng với mầm bệnh và góp phần gia tăng năng suất (Lê Minh Tường và *ctv.*, 2016). Trong những năm gần đây, đã có nhiều nghiên cứu về sử dụng xạ khuẩn để đối kháng với nhiều mầm bệnh trên cây trồng, trong đó có bệnh thán thư trên gấc (Lê Thị Mỹ Linh, 2014; Lê Minh Tường, 2014), thán thư trên xoài (Lê Minh Tường và Nguyễn Hồng Quý, 2016), thán thư trên sen (Lê Minh Tường và Đỗ Văn Sử, 2016), thán thư trên ớt (Lê Minh Tường và *ctv.*, 2016)... Có thể thấy rằng, việc ứng dụng xạ khuẩn để phòng trị bệnh trên cây trồng đang là biện pháp mới triển vọng và thân thiện với môi trường. Do đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm tìm ra chủng xạ khuẩn có khả năng quản lý bệnh héo rũ trên cây khoai lang do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra, từ đó làm tiền đề cho những nghiên cứu sau nhằm tìm ra sản phẩm sinh học trong quản lý bệnh héo rũ trên cây khoai lang nói riêng và bệnh hại có nguồn gốc từ đất nói chung.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thí nghiệm 1: Khảo sát khả năng sinh tổng hợp IAA các chủng xạ khuẩn có triển vọng

* **Mục tiêu:** Đánh giá khả năng kích thích tăng trưởng của các chủng xạ khuẩn thông qua cơ chế sinh tổng hợp IAA.

* Chuẩn bị nguồn xạ khuẩn:

Sáu chủng xạ khuẩn TTR4; TTH15; TL10; TL8; TĐ7 và TTH12 nhận được từ Bộ môn Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ. Theo Nguyễn Hữu Khánh (2016), các chủng xạ khuẩn này có khả năng đối kháng cao với nấm *Fusarium oxysporum* gây bệnh héo rũ trên cây khoai lang trong điều kiện phòng thí nghiệm.

* **Bố trí thí nghiệm:** Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 7 nghiệm thức với 4 lần lặp lại, mỗi nghiệm thức là một chủng xạ khuẩn và đối chứng không có xạ khuẩn.

* **Nguyên tắc:** Đánh giá khả năng sinh tổng hợp IAA của các chủng xạ khuẩn dựa trên nồng độ IAA có trong dịch chiết xạ khuẩn. Nồng độ IAA được sinh ra trong dịch nuôi cấy được xác định bằng phương pháp so màu với thuốc thử Salkowski ở bước sóng 530nm. IAA và các hợp chất tương tự khi tác dụng với thuốc thử Salkowski cải tiến sẽ cho màu vàng nhạt đến hồng đậm phụ thuộc vào lượng IAA thô và các hợp chất tương tự.

* **Cách thực hiện:** Phương pháp xác định phương trình đường chuẩn của mỗi tương quan giữa chỉ số OD_{530nm} và nồng độ IAA.

- Pha IAA tinh khiết ở nồng độ 0, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 mg/l trong dung dịch đệm phosphat.

- Lấy 8 ml thuốc thử cho vào các ống nghiệm có nồng độ IAA khác nhau với thể tích 2ml, mỗi nồng độ lặp lại 3 lần.

- Để yên nhiệt độ trong phòng 20 phút cho phản ứng xảy ra hoàn toàn. Sau đó tiến hành đo OD ở bước sóng 530 nm.

- Từ kết quả trên sẽ thiết lập được phương trình đường chuẩn của dung dịch IAA thông qua chỉ số OD_{530nm}. Dựa vào

phương trình đường chuẩn để xác định nồng độ IAA (mg/ml) do các chủng xạ khuẩn tiết ra trong dịch nuôi cấy.

- Xác định nồng độ IAA thô trong dung dịch nuôi cấy xạ khuẩn.

Xạ khuẩn được nhân nuôi trong bình tam giác chứa 100 ml ISP4 lỏng có bổ sung L-tryptophan (0,1g/l) và được nuôi lắc 100 vòng/phút trong 5 ngày. Sau đó thu dịch nuôi cấy và đem ly tâm 4500 vòng/phút trong 15 phút.

Thu dịch trong để đo lượng IAA mà xạ khuẩn sinh tổng hợp trong quá trình sinh trưởng, lấy 2 ml dung dịch trong cho vào ống nghiệm chứa sẵn 8 ml salkowski cải tiến, đối chứng là 2 ml nước cất + 8 ml thuốc thử. Lắc đều và để yên trong 20 phút, sau đó đem đo chỉ số OD ở bước sóng 530 nm. Chỉ số OD được so với đồ thị chuẩn để xác định lượng IAA mà xạ khuẩn sinh tổng hợp trong quá trình nuôi cấy.

2.2 Thí nghiệm 2: Đánh giá khả năng quản lý bệnh héo rũ cây khoai lang do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra ở điều kiện ngoài đồng của các chủng xạ khuẩn có triển vọng

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Địa điểm và mùa vụ: Ruộng nông dân ở ấp Tân Trung, xã Tân Bình, huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long, vụ Đông Xuân 2017 - 2018

Diện tích ruộng thí nghiệm: 600 m².

Mỗi luống thí nghiệm có kích thước dài 3m, rộng 0.9m, cao 40 cm. Các luống thí nghiệm được tách riêng với ruộng nông dân bên cạnh và giữa các ô thí nghiệm.

Thí nghiệm được bố trí theo khối hoàn toàn ngẫu nhiên 1 nhân tố với 4 lần lặp lại bao gồm 18 nghiệm thức (Bảng 1).

Bảng 1. Các nghiệm thức của thí nghiệm ngoài đồng

Nghiệm thức	Xử lý đất trước 2 ngày và ngâm hom 2 giờ trước khi trồng	Xử lý thời điểm 20 NSKT	Xử lý thời điểm 40 NSKT	Xử lý thời điểm 60 NSKT
NT1: TTH15 - T	x			
NT2: TTH15 - T + 20	x	x		
NT3: TTH15 - T + 40	x		x	
NT4: TTH15 - T + 60	x			x
NT5: TTH15 - T + 20 + 40	x	x	x	
NT6: TTH15 - T + 20 + 60	x	x		x
NT7: TTH15 - T + 40 + 60	x		x	x
NT8: TTH15 - T + 20 + 40 + 60	x	x	x	x
NT9: TTR4 - T	x			
NT10: TTR4 - T + 20	x	x		
NT11: TTR4 - T + 40	x		x	
NT12: TTR4 - T + 60	x			x
NT13: TTR4 - T + 20 + 40	x	x	x	
NT14: TTR4 - T + 20 + 60	x	x		x
NT15: TTR4 - T + 40 + 60	x		x	x
NT16: TTR4 - T + 20 + 40 + 60	x	x	x	x
NT17: Thuốc				
NT18: Đối chứng (ĐC)				

Ghi chú: Các thời điểm xử lý xạ khuẩn cách nhau 20 ngày; Nghiệm thức thuốc sử dụng thuốc Carbenzim 500FL; Nghiệm thức đối chứng sử dụng nước cất vô trùng.

2.2.2. Các bước thực hiện

* Chuẩn bị đất, giống:

Chuẩn bị đất trồng: Đất được cày xới kỹ, dọn sạch cỏ dại, đốt rom rạ vụ trước. Sau đó tiến hành lên luống trồng, chiều cao từ 0,3 - 0,5 m; rộng 0,8 - 0,9 m; dài 2,7 - 3 m, đào mương dọc theo ruộng để ếm phèn và dẫn thoát nước; mương đào nhỏ sâu khoảng 1 m, rộng 0,5 - 0,6 m.

Chọn hom giống: chọn hom giống khoai lang tím nhạt, dài khoảng 0,25 - 0,35 m, có nhiều mắt (6 - 8 mắt); tiến hành trồng 2 hàng dây song song cách nhau 0,3 m, đặt toàn bộ hom xuống đất sâu từ 0,2 - 0,25 m; kỹ thuật trồng canh tác theo cách của nông dân. Mật độ trồng 40 hom/luống.

* **Chuẩn bị nguồn xạ khuẩn:** Các chủng xạ khuẩn sau khi được nuôi cấy trong đĩa petri 7 ngày trên môi trường MS, cho 5 ml nước cất thanh trùng vào đĩa, rồi cạo lấy hết bào tử xạ khuẩn pha thành huyền phù xạ khuẩn. Thực hiện phương pháp pha loãng, chà đếm mật số xạ khuẩn rồi pha loãng về mật số 10^8 cfu/ml.

* Xử lý thuốc và huyền phù xạ khuẩn:

- Đối với thuốc hóa học: Liều lượng theo khuyến cáo của nhà sản xuất, thời gian tưới, số lần tưới thực hiện đồng thời với thời điểm xử lý xạ khuẩn ở các thời điểm, 20 NSKT, 40 NSKT và 60 NSKT.

- Đối với huyền phù xạ khuẩn: Tưới huyền phù bào tử xạ khuẩn với mật số 10^8 cfu/ml, với liều lượng:

+ Giai đoạn ngâm hom giống 2 giờ trước khi trồng với lượng 3 lít/2560 hom.

+ Giai đoạn xử lý 2 ngày trước khi trồng: Tưới với lượng 1 bình 6 lít/luống.

+ Giai đoạn xử lý 20, 40, 60 ngày sau khi trồng: Tưới với lượng 1 bình 6 lít/luống.

Tiến hành tưới vào buổi chiều mát. Trong quá trình tưới, sử dụng bịch nilon cao 1.5 m che chắn để tránh ảnh hưởng đến các ô thí nghiệm khác.

* **Chăm sóc:** Ruộng được chăm sóc theo cách nông dân ở địa điểm thí nghiệm.

* **Ghi nhận chỉ tiêu:** Vào thời điểm 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63 thì tiến hành đánh giá chỉ tiêu bệnh và chỉ tiêu nông học.

* **Ghi nhận chỉ tiêu bệnh:** Phương pháp: Đếm tổng số dây và tổng số dây bị bệnh trên luống để tính tỷ lệ bệnh (TLB), cấp bệnh từ đó tính chỉ số bệnh (CSB) và hiệu quả giảm bệnh (HQGB).

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

$$CSB (\%) = [(a_1X_1 + a_2X_2 + \dots + a_nX_n) / PN] \times 100\%$$

Trong đó: $a_1 \dots a_n$: số cây bệnh ở cấp 1, ..., n

$X_1 \dots X_n$: cấp bệnh 1, ..., n

P: Tổng số cây quan sát.

N: Cấp bệnh cao nhất.

Cấp bệnh: Đánh giá cấp bệnh dựa trên triệu chứng héo của cây dựa theo thang đánh giá cấp bệnh của Tziros *et al.* (2007); được phân 4 cấp như sau:

Cấp 1: Cây khỏe.

Cấp 2: Xuất hiện mất màu diệp lục tố ở những lá bên dưới hoặc cây héo.

Cấp 3: Xuất hiện hoại tử ở những lá bên dưới, lá ở bên trên bị vàng và héo.

Cấp 4: Cây chết.

* Hiệu quả giảm bệnh:

$$B (\%) = \frac{\Sigma \text{Số cây nhiễm bệnh đối chứng} - \Sigma \text{Số cây nhiễm bệnh xử lý}}{\Sigma \text{Số cây nhiễm bệnh đối chứng}} \times 100\%$$

*** Ghi nhận chỉ tiêu nông học:**

Đánh dấu ngẫu nhiên 10 dây khoai/luống. Sau đó đo chiều dài dây khoai, đếm số chồi.

2.2.3. 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.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Khả năng sinh tổng hợp IAA của 6 chủng xạ khuẩn thí nghiệm trong dịch nuôi cấy

Từ kết quả Bảng 2 có thể thấy tất cả 6 chủng xạ khuẩn đều ghi nhận có khả năng sinh tổng hợp IAA trong dịch nuôi cấy. Trong đó, chủng xạ khuẩn TTR4 có khả năng sinh tổng hợp IAA nhiều nhất và khác biệt ý nghĩa so với các chủng còn lại, với nồng độ tiết ra là 3,875 µg/ml. Tiếp đến là 2 chủng xạ khuẩn TTH15 và TL8 với nồng độ IAA lần lượt là 2,825 µg/ml và 3,125 µg/ml. Chủng xạ khuẩn TL10 có khả năng tiết IAA với lượng thấp nhất (1,475 µg/ml) và khác biệt so với các chủng xạ khuẩn còn lại.

Việc sản xuất các Phytohormon được xem là một yếu tố quan trọng trong sự sinh trưởng và phát triển của cây trồng chịu tác động của chất điều hòa sinh trưởng đặc biệt là Indole acetic acid (IAA) là những hợp chất có nhân indol một tiền chất quan trọng của auxin, được tổng hợp từ tryptophan trong mô phân sinh ngọn, lóng và lá non. Sau đó, auxin sẽ di chuyển đến vùng rễ, nó có ảnh hưởng nhiều lên sự sinh trưởng và phát triển của cây trồng qua việc kéo dài và phân chia tế bào, kích thích sự nảy mầm của hạt, của chồi. Hơn nữa, IAA còn có khả năng gia tăng hình thành rễ phụ giúp cho cây trồng tăng khả

năng hấp thu dinh dưỡng (Sharma, 2014). Theo kết quả nghiên cứu của Sousa và ctv. (2008) cũng đã cho thấy tất cả 6 chủng xạ khuẩn ông phân lập đều có khả năng tiết IAA và kích thích cây cà chua tăng trưởng.

Bảng 2. Nồng độ IAA (µg/ml) mà 6 chủng xạ khuẩn sinh tổng hợp trong quá trình nuôi cấy

Chủng xạ khuẩn	Nồng độ IAA trong dịch chiết nuôi cấy (µg/ml)
TTR4	3,875a
TTH15	2,825 b
TL10	1,475 d
TL8	3,125 b
TĐ7	2,275 c
TTH12	2,275 bc
Mức ý nghĩa	*
CV%	12,46

Ghi chú: Trong cùng một cột chữ cái theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan ở mức ý nghĩa 5%.

3.2. Khả năng quản lý bệnh héo rũ cây khoai lang do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra ở điều kiện ngoài đồng của các chủng xạ khuẩn có triển vọng

3.2.1. Chỉ tiêu bệnh

*** Tỷ lệ bệnh:**

Kết quả ghi nhận chỉ tiêu tỷ lệ bệnh (TLB) héo rũ qua các thời điểm được trình bày ở Bảng 3. Ở thời điểm 14 NSKT ở tất cả các nghiệm thức xử lý xạ khuẩn có tỷ lệ bệnh (TLB) trong khoảng 0,00 - 4,38% thấp hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức ĐC, trong đó các nghiệm thức sử dụng xạ khuẩn đều có tỷ lệ bệnh tương đương với nghiệm thức đối chứng thuốc ngoại trừ các nghiệm thức TTH15 - T + 60; TTH15 - T + 40 + 60; TTH15 - T + 20 + 40 + 60; TTR4 - T; TTR4 - T + 40; TTR4 - T + 60; TTR4 - T + 40 + 60;

TTR4 - T + 20 + 40 + 60. Ở thời điểm 21 NSKT có thêm 2 nghiệm thức xuất hiện bệnh là các nghiệm thức TTH15 - T, TTH15 - T + 20 + 40 với TLB là 1,25 và 0,63% cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với với nghiệm thức thuốc và thấp hơn khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức ĐC. Ở thời điểm 28 NSKT các nghiệm thức TTH15 - T + 20, TTH15 - T + 40, TTH15 - T + 20 + 60, TTR4 - T + 20, TTR4 - T + 20 + 40 và TTR4 - T + 20 + 60 vẫn đạt TLB 0,00% thấp hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức ĐC và không khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức thuốc. Thời điểm 35 NSKT có TLB ở các nghiệm thức tương tự thời điểm 28 NSKT ngoại trừ nghiệm thức TTR4 - T + 20 có TLB tăng từ 0,00% lên 0,63% cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê với nghiệm thức thuốc và thấp hơn khác biệt ý nghĩa thống kê với nghiệm thức ĐC. Thời điểm 42 NSKT ở nghiệm thức TTH15 - T + 40 + 60 có TLB tăng lên 5,00% nhưng vẫn thấp hơn khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức ĐC và cao hơn khác biệt ý nghĩa thống kê với nghiệm thức thuốc. Có hai nghiệm thức xử lý xạ khuẩn có TLB tăng ở thời điểm này là TTR4 - T + 60 và TTR4 - T + 40 + 60 với TLB là 2,50% nhưng thấp hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức ĐC và khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức thuốc. Tại thời điểm 49 NSKT tất cả các nghiệm thức có TLB hầu như không đổi so với thời điểm 42 NSKT ngoại trừ nghiệm thức TTH15 - T + 20 + 60 có TLB tăng là 0,63% nhưng vẫn thấp hơn khác biệt ý nghĩa thống kê với nghiệm thức ĐC và khác biệt ý nghĩa thống kê với nghiệm thức thuốc. Ở thời điểm 56 NSKT và 63 NSKT ở tất cả các nghiệm thức có TLB không thay đổi so với thời điểm 49 NSKT cho thấy rằng nấm *Fusarium oxysporum* gây bệnh héo rũ chỉ tập trung xuất hiện

vào giai đoạn đầu của thời kỳ sinh trưởng dây khoai lang.

*** Chỉ số bệnh:**

Kết quả ghi nhận chỉ tiêu chỉ số bệnh (CSB) héo rũ qua các thời điểm được trình bày ở Bảng 4. Tại thời điểm 14 NSKT ở các nghiệm thức xử lý xạ khuẩn có CSB dao động từ 0,00 - 2,50%, trong đó nghiệm thức TTR4 - T và TTH15 - T + 40 + 60 có CSB lần lượt là 2,5% và 1,41% cao hơn các nghiệm thức xử lý xạ khuẩn còn lại nhưng thấp hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức ĐC (6,25%). Các nghiệm thức xử lý xạ khuẩn còn lại có CSB không khác biệt ý nghĩa thống kê với nghiệm thức Thuốc (0,00%) và thấp hơn khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức ĐC. Tại thời điểm 21 NSKT chỉ số bệnh ở các nghiệm thức xử lý xạ khuẩn có tăng nhưng vẫn thấp hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức ĐC (10,00%), trong đó các nghiệm thức TTH15 - T + 20, TTH15 - T + 40, TTH15 - T + 20 + 60, TTR4 - T + 20, TTR4 - T + 20 + 40, TTR4 - T + 20 + 60 có CSB là 0,00% và tương đương với nghiệm thức thuốc. Tại thời điểm 28 NSKT chỉ số bệnh ở các nghiệm thức xử lý xạ khuẩn dao động từ 0,00 - 3,75% thấp hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức ĐC (11,25%) và không khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức thuốc (0,00%). Ngoại trừ nghiệm thức TTR4 - T và TTH15 - T + 40 + 60 có CSB là 3,75% cao hơn khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức thuốc và thấp hơn khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức ĐC. Đến thời điểm 35 NSKT các nghiệm thức TTH15 - T + 60, TTH15 - T, TTH15 - T + 20 + 40, TTR4 - T + 20 có chỉ số bệnh tăng so với thời điểm 28 NSKT và có CSB lần lượt là 1,25%, 1,15%, 1,09% và 0,16% nhưng không khác biệt ý nghĩa thống kê với nghiệm

thức thuốc và thấp hơn khác biệt ý nghĩa thống kê với nghiệm thức ĐC. Các nghiệm thức xử lý xạ khuẩn còn lại không thay đổi CSB so với thời điểm 28 NSKT, không khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức thuốc. Từ thời điểm 49 NSKT đến 63 NSKT chỉ số bệnh ở tất cả các nghiệm thức không thay đổi dao động từ 0,00 - 11,25%. Tất cả nghiệm thức xạ khuẩn đều không khác biệt ý nghĩa thống kê với nghiệm thức thuốc ngoại trừ nghiệm thức TTR4 - T và TTH15 - T + 40 + 60 có CSB lần lượt là 4,38% và 5% tuy nhiên thấp hơn khác biệt ý nghĩa thống kê với nghiệm thức ĐC.

*** Hiệu quả giảm bệnh:**

Chỉ tiêu hiệu quả giảm bệnh (HQGB) được thể hiện qua Bảng 5. Ở thời điểm 14 NSKT các nghiệm thức xử lý xạ khuẩn cho thấy khả năng giảm bệnh với hiệu quả giảm bệnh (HQGB) dao động trong khoảng 68 - 100%, trong đó các nghiệm thức TTH15 - T, TTH15 - T + 20, TTH15 - T + 40, TTH15 - T + 20 + 40, TTH15 - T + 20 + 60, TTR4 - T + 20, TTR4 - T + 20 + 40, TTR4 - T + 20 + 60 có HQGB đạt 100% và tương đương với nghiệm thức thuốc. Tại thời điểm 21 NSKT các nghiệm thức sử dụng chủng xạ khuẩn đều có HQGB tương đương với nghiệm thức thuốc ngoại trừ nghiệm thức TTH15 - T + 40 + 60 có HQGB 58,82% thấp hơn và

khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức thuốc. Tại thời điểm 28 NSKT hiệu quả giảm bệnh ở tất cả các nghiệm thức xử lý xạ khuẩn không thay đổi nhiều, trong đó các nghiệm thức TTH15 - T + 20, TTH15 - T + 40, TTH15 - T + 20 + 60, TTR4 - T + 20, TTR4 - T + 20 + 40, TTR4 - T + 20 + 60 tiếp tục cho thấy khả năng giảm bệnh tốt đạt HQGB 100% không khác biệt ý nghĩa thống kê với nghiệm thức Thuốc. Thời điểm 35 NSKT các nghiệm thức xử lý xạ khuẩn có HQGB dao động từ 58,82 - 100% không khác biệt ý nghĩa thống kê với nhau và không khác biệt ý nghĩa thống kê với nghiệm thức thuốc. Tại thời điểm 42 NSKT các nghiệm thức xử lý xạ khuẩn có HQGB dao động từ 55 - 100% không khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức thuốc ngoại trừ nghiệm thức TTH15 - T + 40 + 60 có HQGB 54,58% thấp hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê với nghiệm thức thuốc nhưng không khác biệt ý nghĩa thống kê với các nghiệm thức TTR4 - T, TTR4 - T + 60, TTR4 - T + 40 + 60 có HQGB đạt 77,78%. Tại thời điểm 49 - 63 NSKT các nghiệm thức có HQGB tiếp tục dao động từ 55 - 100% không khác biệt ý nghĩa thống kê với nhau cho thấy đến thời điểm này nấm bệnh không còn xuất hiện gây hại nặng cho khoai lang.

Bảng 3. Tỷ lệ bệnh héo rũ khoai lang ở các giai đoạn khảo sát

TT	Nghiệm thức	Tỷ lệ bệnh (%) ở các giai đoạn							
		14 NSKT	21 NSKT	28 NSKT	35 NSKT	42 NSKT	49 NSKT	56 NSKT	63 NSKT
1	TTH15 - T	0,00 d	1,25 bc	1,25 b	1,25 b	1,25 c	1,25 c	1,25 c	1,25 c
2	TTH15 - T + 20	0,00 d	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,00 d
3	TTH15 - T + 40	0,00 d	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,00 d
4	TTH15 - T + 60	0,63 c	1,25 bc	1,25 b	1,25 b	1,25 c	1,25 c	1,25 c	1,25 c
5	TTH15 - T + 20 + 40	0,00 d	0,63 c	1,25 b	1,25 b	1,25 c	1,25 c	1,25 c	1,25 c
6	TTH15 - T + 20 + 60	0,00 d	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,63 c	0,63 d	0,63 d
7	TTH15 - T + 40 + 60	3,13 bc	4,38 b	4,38 b	4,38 b	5,00 b	5,00 b	5,00 b	5,00 b

TT	Nghiệm thức	Tỷ lệ bệnh (%) ở các giai đoạn							
		14 NSKT	21 NSKT	28 NSKT	35 NSKT	42 NSKT	49 NSKT	56 NSKT	63 NSKT
8	TTH15 - T + 20 + 40 + 60	1,25 bc	1,25 bc	1,25 b	1,25 b	1,25 b	1,25 c	1,25 c	1,25 c
9	TTR4 - T	4,38 b	4,38 b	4,38 b	4,38 b	4,38 b	4,38 bc	4,38 bc	4,38 bc
10	TTR4 - T + 20	0,00 d	0,00 c	0,00 c	0,63 c	0,63 d	0,63 c	0,63 c	0,63 c
11	TTR4 - T + 40	0,63 c	0,63 c	0,63 c	0,63 c	0,63 d	0,63 c	0,63 c	0,63 c
12	TTR4 - T + 60	1,88 bc	1,88 bc	1,88 b	1,88 b	2,50 bc	2,50 bc	2,50 bc	2,50 bc
13	TTR4 - T + 20 + 40	0,00 d	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,00 d
14	TTR4 - T + 20 + 60	0,00 d	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,00 d
15	TTR4 - T + 40 + 60	1,88 bc	1,88 bc	1,88 b	1,88 b	2,50 bc	2,50 bc	2,50 bc	2,50 bc
16	TTR4 - T + 20 + 40 + 60	1,25 cd	1,25 bc	1,25 b	1,25 b	1,25 c	1,25 c	1,25 c	1,25 c
17	Thuốc	0,00 d	0,00 c	0,00 c	0,63 c	0,63 d	0,63 d	0,63 d	0,63 c
18	ĐC	9,38a	10,63 a	10,63a	10,63 a	11,25a	11,25 a	11,25 a	11,25 a
	Mức ý nghĩa	*	*	*	*	*	*	*	*
	CV%	46,26	46,89	46,77	47,50	42,31	42,75	42,75	42,75

Ghi chú: Các trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một hay những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê trong phép thử Duncan.*: Khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5%, NSKT: Ngày sau khi trồng. Số liệu được biến đổi dưới dạng $\text{degrees}(\text{asin}(\sqrt{X/100}))$ trước khi phân tích thống kê.

Qua kết quả Bảng 3, Bảng 4 và Bảng 5 cho thấy 2 chủng xạ khuẩn TTR4 và TTH15 đều thể hiện khả năng phòng trị bệnh héo rũ khoai lang do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra với những mức độ khác nhau. Các nghiệm thức được xử lý huyền phù xạ khuẩn ở thời điểm 20, 40 hoặc kết hợp 20 + 40 NSKT cho thấy khả năng phòng trị bệnh hiệu quả tương đương với nghiệm thức thuốc. Nhìn chung, việc xử lý 2 chủng xạ khuẩn TTR4 và TTH15 giúp hạn chế TLB và CSB héo rũ trên khoai lang ở hầu hết các nghiệm thức có xử lý xạ khuẩn. Các nghiệm thức này cho HQGB héo rũ ở những mức tương đương nhau và tương đương với nghiệm thức thuốc trong suốt quá trình khảo sát. Có thể vì bệnh héo rũ trong vụ này (tháng 11 - 03 dương lịch) xuất hiện ít với áp lực bệnh không cao, nên hiệu quả giảm bệnh giữa nghiệm thức xử lý xạ khuẩn và thuốc chưa thật sự khác biệt rõ với nhau.

Khả năng quản lý nấm bệnh héo rũ trên khoai lang của hai chủng xạ khuẩn TTR4 và TTH15 phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Hữu Khánh (2016) trong điều kiện phòng thí nghiệm. Kết quả cho thấy rằng hai chủng xạ khuẩn này có khả năng đối kháng với nấm *Fusarium oxysporum* thông qua ức chế sự mọc mầm của bào tử, ức chế sự hình thành bào tử và khả năng giết bào tử; cùng với khả năng tiết siderophore để cạnh tranh sắt với mầm bệnh, đồng thời tiết enzyme chitinase, enzyme β -glucanase và enzyme cellulase cao để phân giải vách tế bào của nấm bệnh. Có thể chính những đặc tính và cơ chế đối kháng này đã giúp cho 2 chủng xạ khuẩn phát huy vai trò quản lý bệnh héo rũ trên khoai lang do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra ở ngoài đồng.

3.2.2. Chỉ tiêu nông học

* Chiều dài dây khoai lang:

Chiều dài dây khoai lang ở các giai đoạn được trình bày trong Bảng 6. Ở thời

điểm 14 NSKT, chiều dài dây khoai lang ở các nghiệm thức xử lý xạ khuẩn tương đối bằng nhau dao động trong khoảng 13,88 cm - 17,90 cm trong đó các nghiệm thức TTH15 - T + 40; TTH15 - T + 20 + 60; TTH15 - T + 40 + 60; TTR4 - T; TTR4 - T + 20; TTR4 - T + 20 + 40; TTR4 - T + 20 + 60 và TTR4 - T + 20 + 40 + 60 có chiều dài dây dài hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng và không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức thuốc. Từ thời điểm 21 - 35 NSKT, chiều dài dây khoai lang ở các nghiệm thức xử lý xạ khuẩn tiếp tục tăng dao động từ 23,68 cm - 29,40 cm ở 21 NSKT, từ 40,54 cm - 49,90 cm ở 28 NSKT và từ 47,65 cm - 59,19 cm ở 35 NSKT không khác biệt ý nghĩa thống kê với nhau và với nghiệm thức thuốc cũng như nghiệm thức ĐC.

Qua kết quả Bảng 6 cho thấy, xử lý huyền phù xạ khuẩn (tưới đất trước khi trồng, ngâm hom trước khi trồng và tưới vào đất khi xử lý bệnh) không làm ảnh hưởng đến sự phát triển của dây khoai lang và một số nghiệm thức còn làm tăng

chiều dài của dây khoai lang giai đoạn 14 ngày sau khi trồng.

*** Số chồi/dây khoai lang:**

Số chồi qua các giai đoạn được trình bày ở Bảng 7. Trong thời điểm 14 - 21 NSKT số chồi giữa các nghiệm thức xử lý xạ khuẩn dao động từ 1,70 - 2,60 chồi ở 14 NSKT, từ 2,8 - 3,68 chồi ở 21 NSKT khác biệt không có ý nghĩa thống kê với nhau với nghiệm thức Thuốc cũng như nghiệm thức đối chứng.

Thời điểm 28 - 35 NSKT số chồi giữa các nghiệm thức tăng dao động trong khoảng 4,42 - 7,78 chồi và 5,9 - 9,88 chồi khác biệt với nhau về ý nghĩa thống kê, nhưng nhìn chung so với nghiệm thức thuốc và ĐC thì không có sự khác biệt rõ rệt.

Qua bốn thời điểm cho thấy việc xử lý huyền phù xạ khuẩn (tưới đất trước khi trồng, ngâm hom trước khi trồng và tưới vào đất khi xử lý bệnh) chưa cho thấy được sự khác biệt giữa các nghiệm thức, chứng tỏ việc xử lý xạ khuẩn không ảnh hưởng đến sự phát triển bình thường của số chồi dây khoai lang.

Bảng 4. Chỉ số bệnh héo rũ dây khoai lang qua các giai đoạn khảo sát

STT	Nghiệm thức	Chỉ số bệnh (%) ở các giai đoạn							
		14 NSKT	21 NSKT	28 NSKT	35 NSKT	42 NSKT	49 NSKT	56 NSKT	63 NSKT
1	TTH15 - T	0,00 c	0,94 bcd	1,09 bcd	1,15 bc	1,25 cd	1,25 cd	1,25 cd	1,25 cd
2	TTH15 - T + 20	0,00 c	0,00 d	0,00 d	0,00 c	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,00 d
3	TTH15 - T + 40	0,00 c	0,00 d	0,00 d	0,00 c	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,00 d
4	TTH15 - T + 60	0,47 bc	0,94 bcd	1,09 bcd	1,25 bc	1,25 cd	1,25 cd	1,25 cd	1,25 cd
5	TTH15 - T + 20 + 40	0,00 c	0,31 cd	0,63 cd	1,09 bc	1,25 cd	1,25 cd	1,25 cd	1,25 cd
6	TTH15 - T + 20 + 60	0,00 c	0,00 d	0,00 d	0,00 c	0,00 d	0,63 d	0,63 d	0,63 d
7	TTH15 - T + 40 + 60	1,41 b	3,44 b	3,75 b	3,75 b	4,69 b	5,00 b	5,00 b	5,00 b
8	TTH15 - T + 20 + 40 + 60	0,47 bc	0,63 bcd	1,25 bcd	1,25 bc	1,25 cd	1,25 cd	1,25 cd	1,25 cd
9	TTR4 - T	2,50 b	3,13 bc	3,75 bc	3,75 c	4,38 bc	4,38 bc	4,38 bc	4,38 bc
10	TTR4 - T + 20	0,00 c	0,00 d	0,00 d	0,16 c	0,47 d	0,63 d	0,63 d	0,63 d
11	TTR4 - T + 40	0,47 bc	0,63 cd	0,63 cd	0,63 bc	0,63 d	0,63 d	0,63 d	0,63 d
12	TTR4 - T + 60	1,25 bc	1,56 bcd	1,88 bcd	1,88 bc	2,19 bcd	2,50 bcd	2,50 bcd	2,50 bcd
13	TTR4 - T + 20 + 40	0,00 c	0,00 d	0,00 d	0,00 c	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,00 d

STT	Nghiệm thức	Chỉ số bệnh (%) ở các giai đoạn							
		14 NSKT	21 NSKT	28 NSKT	35 NSKT	42 NSKT	49 NSKT	56 NSKT	63 NSKT
14	TTR4 - T + 20 + 60	0,00 c	0,00 d	0,00 d	0,00 c	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,00 d
15	TTR4 - T + 40 + 60	1,10 bc	1,72 bcd	1,88 bcd	1,88 bc	2,50 bcd	2,50 bcd	2,50 bcd	2,50 bcd
16	TTR4 - T + 20 + 40 + 60	0,47 bc	0,47 cd	0,63 cd	0,63 bc	0,63 d	0,63 d	0,63 d	0,63 d
17	Thuốc	0,00 c	0,00 d	0,00 d	0,16 c	0,47 d	0,63 d	0,63 d	0,63 d
18	ĐC	6,25 a	10,00 a	11,25 a	11,25 a	11,25 a	11,25 a	11,25 a	11,25 a
	Mức ý nghĩa	*	*	*	*	*	*	*	*
	CV%	39,17	44,52	46,65	47,20	41,98	41,35	41,35	41,35

Bảng 5. Hiệu quả giảm bệnh héo rũ dây khoai lang qua các giai đoạn khảo sát

STT	Nghiệm thức	Hiệu quả giảm bệnh (%) ở các giai đoạn							
		14 NSKT	21 NSKT	28 NSKT	35 NSKT	42 NSKT	49 NSKT	56 NSKT	63 NSKT
1	TTH15 - T	100,00 a	88,24 ab	88,24 ab	88,24	88,89 ab	88,89	88,89	88,89
2	TTH15 - T + 20	100,00 a	100,00 a	100,00 a	100,00	100,00 a	100,00	100,00	100,00
3	TTH15 - T + 40	100,00 a	100,00 a	100,00 a	100,00	100,00 a	100,00	100,00	100,00
4	TTH15 - T + 60	93,33 ab	88,24 ab	88,24 ab	88,24	89,89 ab	88,89	88,89	88,89
5	TTH15 - T + 20 + 40	100,00 a	94,12 a	88,24 ab	88,24	89,89 ab	88,89	88,89	88,89
6	TTH15 - T + 20 + 60	100,00 a	100,00 a	100,00 a	100,00	100,00 a	94,44	94,44	94,44
7	TTH15 - T + 40 + 60	68,00 b	58,82 b	58,82 b	58,82	54,58 c	55,58	55,58	55,58
8	TTH15 - T + 20 + 40 + 60	86,67 ab	88,24 ab	88,24 ab	88,24	88,89 ab	88,89	88,89	88,89
9	TTR4 - T	73,33 b	76,47 ab	76,47 ab	76,47	77,78 bc	77,78	77,78	77,78
10	TTR4 - T + 20	100,00 a	100,00 a	100,00 a	94,12	94,44 ab	94,44	94,44	94,44
11	TTR4 - T + 40	93,33 ab	94,12 a	94,12 a	94,12	94,44 ab	94,44	94,44	94,44
12	TTR4 - T + 60	80,00 ab	82,35 ab	82,35 ab	82,35	77,78 bc	77,78	77,78	77,78
13	TTR4 - T + 20 + 40	100,00 a	100,00 a	100,00 a	100,00	100,00 a	100,00	100,00	100,00
14	TTR4 - T + 20 + 60	100,00 a	100,00 a	100,00 a	100,00	100,00 a	100,00	100,00	100,00
15	TTR4 - T + 40 + 60	80,00 ab	82,35 ab	82,35 ab	82,35	77,78 bc	77,78	77,78	77,78
16	TTR4 - T + 20 + 40 + 60	86,67 ab	88,24 ab	88,24 ab	88,24	88,89 ab	88,89	88,89	88,89
17	Thuốc	100,00 a	100,00 a	100,00 a	94,12	94,44 ab	94,44	94,44	94,44
	Mức ý nghĩa	*	*	*	ns	*	ns	ns	ns
	CV%	17,33	18,98	19,23	20,38	18,01	18,58	18,58	18,58

Ghi chú: Các trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một hay những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê trong phép thử Duncan.* khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5%, NSKT: Ngày sau khi trồng. Số liệu được biến đổi dưới dạng $\text{degrees}(\text{asin}(\sqrt{X/100}))$ trước khi phân tích thống kê.

Bảng 6. Chiều dài dây khoai ở các giai đoạn khảo sát

STT	Nghiệm thức	Chiều dài dây khoai lang ở các giai đoạn			
		14 NSKT	21 NSKT	28 NSKT	35 NSKT
1	TTH15 - T	15,48 b	23,68	40,54	49,17
2	TTH15 - T + 20	15,31 b	26,81	47,90	58,56
3	TTH15 - T + 40	15,49 ab	29,31	48,50	59,19
4	TTH15 - T + 60	14,80 bc	26,00	45,45	51,50

STT	Nghiem thức	Chiều dài dây khoai lang ở các giai đoạn			
		14 NSKT	21 NSKT	28 NSKT	35 NSKT
5	TTH15 - T + 20 + 40	15,01 b	24,83	43,81	51,42
6	TTH15 - T + 20 + 60	15,74 ab	26,26	47,04	52,70
7	TTH15 - T + 40 + 60	15,69 ab	27,30	48,38	57,79
8	TTH15 - T + 20 + 40 + 60	15,50 b	25,73	46,37	51,64
9	TTR4 - T	17,90 a	28,54	47,55	57,70
10	TTR4 - T + 20	16,00 abc	27,89	47,62	57,86
11	TTR4 - T + 40	14,79 bc	24,29	42,43	49,04
12	TTR4 - T + 60	14,33 bc	24,45	43,34	49,62
13	TTR4 - T + 20 + 40	15,75 ab	26,11	46,26	55,66
14	TTR4 - T + 20 + 60	15,80 ab	25,38	45,51	47,65
15	TTR4 - T + 40 + 60	14,58 bc	26,76	46,05	56,28
16	TTR4 - T + 20 + 40 + 60	15,75 ab	25,51	45,36	50,80
17	Thuốc	18,03 a	29,40	49,90	53,15
18	ĐC	13,09 c	25,86	45,43	51,26
<i>Mức ý nghĩa</i>		*	ns	ns	ns
CV (%)		9,35	13,28	11,40	14,08

Ghi chú: Các trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một hay những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê trong phép thử Duncan.* khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5%, NSKT: Ngày sau khi trồng.

Bảng 7. Số chồi/dây khoai lang qua các giai đoạn

STT	Nghiem thức	Số chồi/dây khoai lang qua các giai đoạn			
		14 NSKT	21 NSKT	28 NSKT	35 NSKT
1	TTH15 - T	2,00	2,83	5,87 abcd	6,99abcd
2	TTH15 - T + 20	1,85	3,25	7,28 ab	8,83 abc
3	TTH15 - T + 40	1,90	2,80	6,88 ab	8,43 abc
4	TTH15 - T + 60	2,00	3,60	6,23 abc	7,85abcd
5	TTH15 - T + 20 + 40	2,08	3,13	6,95 ab	9,03 ab
6	TTH15 - T + 20 + 60	1,90	3,38	6,62 abc	8,48 abc
7	TTH15 - T + 40 + 60	2,33	3,68	6,85 ab	9,88 a
8	TTH15 - T + 20 + 40 + 60	1,98	3,68	5,57abcd	6,85 bcd
9	TTR4 - T	1,83	3,55	4,70 cd	5,90 d
10	TTR4 - T + 20	1,88	3,50	6,17abcd	8,08abcd
11	TTR4 - T + 40	2,23	3,46	5,75abcd	8,48 abc
12	TTR4 - T + 60	2,60	3,09	5,68abcd	8,02abcd
13	TTR4 - T + 20 + 40	1,78	3,65	7,78 a	9,15 ab
14	TTR4 - T + 20 + 60	2,53	3,68	5,77abcd	8,00abcd
15	TTR4 - T + 40 + 60	2,48	3,23	5,14 bcd	7,15abcd
16	TTR4 - T + 20 + 40 + 60	1,70	2,80	4,42 d	6,43 cd
17	Thuốc	2,20	3,45	5,45 bcd	7,53abcd
18	ĐC	1,83	3,70	6,08abcd	7,68abcd
<i>Mức ý nghĩa</i>		ns	ns	*	*
CV (%)		38,11	19,68	10,82	9,41

Ghi chú: Các trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một hay những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê trong phép thử Duncan.* khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5%, NSKT: Ngày sau khi trồng. Số liệu được biến đổi dưới dạng log(X) trước khi phân tích thống kê.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

- Chủng xạ khuẩn TTR4 có khả năng tiết IAA cao nhất trong tổng số 6 chủng xạ khuẩn thí nghiệm

- Xử lý huyền phù xạ khuẩn TTR4 và TTH15 ở thời điểm 20, 40 hoặc kết hợp 20 + 40 NSKT hoặc kết hợp 20 + 60 NSKT cho thấy khả năng phòng trị bệnh héo rũ trên khoai lang hiệu quả tương đương với nghiệm thức thuốc.

- Việc xử lý huyền phù hai chủng xạ khuẩn TTR4 và TTH15 không làm ảnh hưởng đến sự phát triển của chiều dài dây và số chồi dây khoai lang.

- Đề nghị đánh giá khả năng phòng trị bệnh héo rũ trên khoai lang ở các mùa vụ khác nhau và các địa phương khác nhau ở Đồng bằng sông Cửu Long.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Backman, P. A., M. Wilson and J. F. Murphy (1997). Bacteria for biological control of plant disease. In: Recheigl N. A. and J. E. Recheigl (eds), environmentally safe approaches to crop diseases control. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, 95 - 109.
- Lê Minh Tường và Đỗ Văn Sử (2016). Đánh giá khả năng phòng trị của xạ khuẩn đối với bệnh thán thư trên cây sen ở Đồng bằng sông Cửu Long. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. Trang 78 - 84.
- Lê Minh Tường, Đinh Hồng Thái, Lý Văn Giang và Phạm Tuấn Vũ (2016). Trong: Nguyễn Thị Thu Cúc và Lê Văn Vàng (Chủ biên). Quản lý dịch hại cây trồng thân thiện môi trường. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ.
- Lê Minh Tường (2014). Hiệu quả của xạ khuẩn trong phòng trị bệnh thán thư hại gấc do nấm *Colletotrichum* spp. gây ra. Hội thảo Quốc gia về Bệnh hại thực vật Việt Nam. Trang 238 - 248.
- Nguyễn Hồng Quý và Lê Minh Tường (2016). Đánh giá khả năng phòng trị của xạ khuẩn đối với bệnh thán thư trên xoài do nấm *Colletotrichum* sp. gây ra. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Số chuyên đề: Nông nghiệp (Tập 3): 120 - 127.
- Nguyễn Hữu Khánh (2016). Khảo sát khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn có triển vọng với nấm *Fusarium oxysporum* gây bệnh héo rũ trên khoai lang. Luận văn Tốt nghiệp kỹ sư ngành Bảo vệ thực vật. Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng. Trường Đại học Cần Thơ.
- Niên giám Thống kê tỉnh Vĩnh Long (2017). Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn tỉnh Vĩnh Long. 233 trang.
- Sharma, M. (2014). Actinomycetes: Source, Identification, and Their Applications. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(2): 801 - 832.
- Sousa, C. S., A. C. F. Soares and M. S. Garrido (2008). Characterization of *Streptomyces* with potential to promote plant growth and biocontrol. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, 65 (1): 50 - 55.

ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ PHÒNG TRỊ CỦA THỰC KHUẨN THỂ VÀ THUỐC TRỪ VI KHUẨN ĐỐI VỚI BỆNH HÉO XANH DO *Ralstonia solanacearum* TRÊN CÂY HOA CÚC Ở ĐIỀU KIỆN NGOÀI ĐỒNG

Trần Thanh Tùng¹, Huỳnh Ngọc Tâm², Lê Uyển Thanh³
Lưu Thái Danh¹, Nguyễn Thị Thu Nga¹

¹Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

²NCS Viện NC và PT Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

³Trường Đại học Đồng Tháp

ABSTRACT

Assessment of the effectiveness of bacteriophages and bacteriocide for controlling bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* on *Chrysanthemum* sp. in field conditions

The experiment was conducted for investigation of the effectiveness of bacteriophages and bacteriocide application in controlling bacterial wilt caused by *R. solanacearum* on *Chrysanthemum* sp. in field conditions. The results found that all treatments applied with bacteriophages or bacteriocide showed effect in reduction of bacterial wilt disease more than 50%. The treatment applied with single bacteriophage Φ BT56 was more effective than treatment applied with bacteriophage mixture. The treatment combine bacteriophage Φ BT56 and bacteriocide (Streptomycin and Oxytetracycline) was more effective in disease reduction than treatment applied with single bacteriophage Φ 56. In conclusion, apply phage or bacteriocide (Streptomycin and Oxytetracycline) could reduce bacterial wilt on *A. sp.* and combination bacteriophage plus bacteriocide could increase disease reduction effectiveness in the field conditions.

Keywords: Bacteriophages, bacteriocide, *Chrysanthemum* sp., *R. solanacearum*.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh héo xanh trên cây hoa cúc do vi khuẩn *R. solanacearum* gây thiệt hại nghiêm trọng về giá trị và phẩm chất của hoa (Nguyễn Thị Thu Cúc và Trần Thị Thu Thủy, 2015). Hiện nay, tập quán canh tác của nông dân chủ yếu dựa vào biện pháp hóa học, biện pháp này tác động tiêu cực đến phẩm chất hoa cúc môi trường

cùng sức khỏe con người, gián tiếp gây ra tính kháng thuốc của mầm bệnh, giảm đa dạng sinh học... Vì vậy, trong xu hướng tiến đến một nền nông nghiệp bền vững, an toàn việc đẩy mạnh ứng dụng các chế phẩm sinh học nhằm cải tạo đất, cân bằng hệ vi sinh vật đất đã và đang là vấn đề cấp thiết của Việt Nam nói riêng và thế giới nói chung. Những năm gần đây, việc nghiên cứu thực khuẩn thể là loại virus kí sinh và tiêu diệt tế bào vi khuẩn trong phòng trừ sinh học bệnh cây trồng đã

Người phân biện: TS. Nguyễn Đắc Khoa.

được công bố như phòng trị *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh trên thuốc lá, cây cà chua cây hoa vạn thọ (Tanaka *et al.*, 1990; Fujiwara *et al.*, 2011; Nguyễn Thúy An và *ctv.*, 2017); *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* gây bệnh loét trên cam (Balogh *et al.*, 2009), bệnh cháy bìa lá do *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Nguyễn Thị Trúc Giang, 2014) hay bệnh thối gốc lúa do *Erwinia chrysanthemi* (Trần Hưng Minh và *ctv.*, 2016). Hiện nay thuốc trừ vi khuẩn bằng thực khuẩn thể được thương mại với tên sản phẩm là AgriPhage để phòng trừ bệnh đốm lá do vi khuẩn *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* và *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* trên cà chua và ớt (Nagy *et al.*, 2012). Nhóm nghiên cứu của Huỳnh Ngọc Tâm và *ctv.* (2017; 2018a; 2018b), Huỳnh Ngọc Tam *et al.* (2019) đã phân lập, đánh giá và tuyển chọn được 2 dòng thực khuẩn thể là ΦBT56, ΦBT67 có hiệu quả cao trong việc phòng trị bệnh héo xanh do vi khuẩn *R. solanacearum* ở điều kiện phòng thí nghiệm và nhà lưới. Vì vậy nghiên cứu đánh giá hiệu quả phòng trị của thực khuẩn thể và thuốc trừ vi khuẩn đối với bệnh héo xanh do vi khuẩn *R. solanacearum* trên cây hoa cúc ở điều kiện thực địa được thực hiện nhằm tìm biện pháp mang lại hiệu quả phòng trị bệnh cao góp phần giảm việc áp dụng thuốc hóa học trong canh tác hoa cúc tại ĐBSCL.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và vật liệu nghiên cứu

Giống hoa cúc được sử dụng trong thí nghiệm là Cúc Tiger do trại giống cây trồng “Út Hiệp” ở thành phố Sa Đéc (Đồng Tháp) cung cấp. Đây là giống cúc

mẫn cảm với bệnh héo xanh lại có giá trị kinh tế cao và được trồng rộng rãi tại các tỉnh ĐBSCL.

Giá thể trồng cây hoa cúc gồm phân hữu cơ, xơ dừa và đất theo tỉ lệ 1:1:1. Giá thể phải tơi xốp, nhuyễn và thoát nước nhanh để rễ phát triển tốt.

Nguồn vi khuẩn gây bệnh nặng và thực khuẩn thể phòng trị hiệu quả được phân lập từ các tỉnh ĐBSCL cùng Lâm Đồng và đã được khảo sát trong điều kiện phòng thí nghiệm và nhà lưới (Huỳnh Ngọc Tâm và *ctv.*, 2017; Huỳnh Ngọc Tâm và *ctv.* 2018a; Huỳnh Ngọc Tam *et al.*, 2019).

Thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) với hoạt chất: Streptomycin (5%) và Oxytetracycline (5%) (Huỳnh Ngọc Tâm và *ctv.*, 2018b).

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Địa điểm nghiên cứu: Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ.

Thời gian nghiên cứu: Thí nghiệm được tiến hành vào tháng 9 - 12/2017.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm đánh giá hiệu quả phòng trị của thực khuẩn thể và thuốc hóa học đối với bệnh héo xanh do vi khuẩn *R. solanacearum* trên cây hoa cúc ở điều kiện thực địa được thực hiện tại khu đất thực nghiệm của Khoa Nông nghiệp, trường Đại học Cần Thơ để đánh giá hiệu quả quản lý của thực khuẩn thể đối với bệnh héo xanh khi không có áp lực bệnh tự nhiên. Thí nghiệm được bố trí khối hoàn toàn ngẫu nhiên một nhân tố với 7 nghiệm thức và 4 lần lặp lại gồm:

+ Nghiệm thức 1: Đối chứng không lây bệnh.

+ Nghiệm thức 2: Đối chứng có lây bệnh.

+ Nghiệm thức 3: Xử lý thực khuẩn thể ΦBT56 mật số 10^8 PFU/mL định kỳ 10 ngày/lần.

+ Nghiệm thức 4: Xử lý thực hỗn hợp hai TKT (ΦBT56 + ΦBT67) mật số 10^8 PFU/mL định kỳ 10 ngày/lần.

+ Nghiệm thức 5: Xử lý thuốc hóa học định kỳ 10 ngày/lần.

+ Nghiệm thức 6: Xử lý thực khuẩn thể ΦBT56 mật số 10^8 PFU/mL định kỳ 10 ngày/lần kết hợp thuốc trừ khuẩn khi TLB > 10%.

+ Nghiệm thức 7: Xử lý hỗn hợp hai TKT (ΦBT56 + ΦBT67) mật số 10^8 PFU/mL định kỳ 10 ngày/lần kết hợp thuốc trừ khuẩn khi TLB > 10%.

Cách thức tiến hành:

Chuẩn bị cây con: Chuẩn bị giá thể tương tự như nông dân bao gồm xơ dừa, đất, phân hữu cơ, sau đó cho vào chậu có đường kính 20 cm (2,5 kg/chậu), tưới ẩm và trồng cây giống (3 cây/chậu), mỗi nghiệm thức trồng 40 chậu tương đương với 4 lần lặp lại, sau khi trồng 20 ngày thì bắt đầu bố trí thí nghiệm.

Chuẩn bị nguồn vi khuẩn: Dòng vi khuẩn có khả năng gây hại cao nhất (Huỳnh Ngọc Tâm *et al.*, 2019) được nuôi cấy trong đĩa petri chứa môi trường King's B trong 48 giờ cho khuẩn lạc phát triển, sau đó cho nước cất thanh trùng vào đĩa rồi thu huyền phù vi khuẩn và pha loãng để tạo huyền phù vi khuẩn có mật số 10^8 CFU/mL.

Chuẩn bị nguồn thực khuẩn thể: 2 dòng thực khuẩn thể Φ56 và Φ67 được nhân mật số trong 24 giờ, sau đó thu

hoạch huyền phù thực khuẩn thể rồi tiến hành đếm mật số bằng phương pháp pha loãng và trải trên đĩa chứa vi khuẩn được nuôi trong môi trường King's B 0,8%. Dựa vào số lượng đốm vô khuẩn (plaques) hình thành trên đĩa sau 24 giờ để xác định mật số thực khuẩn thể trong huyền phù, tiến hành pha loãng theo công thức $C \times V = C' \times V'$ để được mật số 10^8 PFU/mL cho mỗi dòng thực khuẩn thể.

Chuẩn bị thuốc hóa học: Thuốc hóa học hiệu quả được tuyển chọn trong điều kiện phòng thí nghiệm có hoạt chất Streptomycin và Oxytetracycline (Huỳnh Ngọc Tâm và ctv., 2018b).

Phương pháp lây bệnh nhân tạo: Tiến hành lây bệnh nhân tạo ở thời điểm 20 ngày sau khi trồng, bằng cách tưới huyền phù vi khuẩn *R. solanacearum* đã được chuẩn bị vào đất xung quanh gốc cây (5mL/cây) (Huỳnh Ngọc Tâm và ctv., 2019).

Phương pháp xử lý thực khuẩn thể: Tưới huyền phù từng dòng thực khuẩn thể và hỗn hợp TKT (Mix) tương ứng với từng nghiệm thức vào đất xung quanh gốc cây (5 mL/cây) vào buổi chiều lúc tắt nắng (lúc 17 giờ/ và định kỳ 10 ngày/lần) (Huỳnh Ngọc Tâm và ctv., 2019)..

Phương pháp xử lý thuốc hóa học: phun thuốc hóa học theo nồng độ và thời điểm xử lý hiệu quả nhất khi các nghiệm thức có bệnh xuất hiện và định kỳ 10 ngày/lần (Huỳnh Ngọc Tâm và ctv., 2019).

Chỉ tiêu ghi nhận: Theo dõi và quan sát triệu chứng bệnh hàng ngày. Khi triệu chứng bệnh xuất hiện thì tiến hành ghi nhận tỷ lệ bệnh và cấp độ bệnh cách mỗi 10 ngày và kết thúc thí nghiệm khi hoa nở thương phẩm.

Tỷ lệ bệnh được tính như sau:

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

Cấp bệnh: Được đánh giá theo thang đánh giá của Ateka *et al.* (2001) gồm 5 cấp: Cấp 0: không bệnh; Cấp 1: có 1 lá héo; Cấp 2: có 2 lá héo; Cấp 3: tất cả lá đều héo trừ 2 lá trên đỉnh; Cấp 4: tất cả các lá đều héo; Cấp 5: cây chết.

Diện tích dưới đường cong tiến triển bệnh AUDPC được tính theo công thức của Jeger and Viljanen-Rollinson (2001) như sau:

$$AUDPC = \sum_{i=1}^n [(Y_{i+1} + Y_i) \div 2] \times (t_{i+1} - t_i)$$

Trong đó: i là lần theo dõi bệnh thứ i; n là tổng số lần theo dõi bệnh; Y là tỷ lệ bệnh (%); t là ngày theo dõi bệnh (ngày).

Hiệu quả giảm bệnh: Được tính theo công thức Abbott (1925) như sau:

$$HQGB (\%) = [(C - T) : C] \times 100$$

Trong đó: C: Số cây bị bệnh héo xanh ở nghiệm thức đối chứng; T: Số cây bị bệnh héo xanh ở nghiệm thức có xử lý TKT hoặc thuốc hóa học.

Xử lý số liệu: Tỷ lệ bệnh, cấp bệnh, hiệu quả giảm bệnh được ghi nhận và xử lý bằng Excel, phân tích thống kê bằng phần mềm Mstat-C với phép thử Duncan.

III. KẾT QUẢ THẢO LUẬN

Nhìn chung về kết quả ghi nhận tỉ lệ bệnh (TLB) (Bảng 1) và trung bình cấp bệnh (TBCB) (Bảng 2) qua các thời điểm khảo sát cho thấy tất cả các nghiệm thức có xử lý thực khuẩn thể đơn lẻ hay hỗn hợp thực khuẩn thể, thuốc hóa học và nghiệm thức phối hợp thực khuẩn thể cùng thuốc hóa học đều thể hiện hiệu quả phòng trừ bệnh với TLB và TBCB thấp hơn và khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng không xử lý. Trong đó, nghiệm thức xử lý đơn lẻ thực khuẩn thể ΦBT56 và nghiệm thức phối hợp thuốc hóa học với thực khuẩn thể ΦBT56 có tỷ lệ bệnh (Bảng 1) cùng trung bình cấp bệnh (Bảng 2) tương đương nhau và thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức khác (từ thời điểm 49NSKLB về sau) (Hình 1).

Bảng 1. Tỷ lệ bệnh héo xanh của cây hoa cúc do vi khuẩn *R. solanacearum* của các nghiệm thức ở điều kiện ngoài đồng

Nghiệm thức	9 NSKLB	29 NSKLB	49 NSKLB	59 NSKLB	AUDPC
Đối chứng không lây bệnh	0,0 c	0,0 c	0,0 d	0,00 d	0,0 d
Đối chứng lây bệnh	9,2 a	15,0 a	30,8 a	36,7 a	1029,2 a
TKT ΦBT56	1,76 bc	4,2 b	6,7 c	7,5 c	245,8 c
Hỗn hợp 2 TKT	3,3 bc	7,5 b	13,3 b	15,8 b	470,8 b
Hóa học	4,2 ab	6,7 b	11,7 b	15,0 b	437,5 b
Hóa học + TKT ΦBT56	2,5 bc	2,5 bc	5,8 c	8,3 c	220,8 c
Hóa học + Hỗn hợp 2 TKT	5,0 ab	6,7 b	11,7 b	14,2 b	437,5 b
<i>Mức ý nghĩa</i>	**	**	**	**	**
<i>CV %</i>	41,52	33,20	21,15	13,72	25,69

Chú thích: Trong cùng một cột, những số trung bình nghiệm thức được theo sau bởi một hoặc những chữ giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê theo phép thử Duncan. Mức ý nghĩa 5% (*); Mức ý nghĩa 1% (**). Số liệu % được chuyển sang $\sqrt{(x)}$ hoặc $\arcsin\sqrt{(x)}$ trước khi phân tích thống kê. NSKLB: ngày sau khi lây bệnh, AUDPC: Diện tích bên dưới đường cong tiến triển bệnh. TKT: Thực khuẩn thể

Về diện tích bên dưới đường cong tiến triển bệnh (AUDPC) (Bảng 1) tất cả các nghiệm thức có xử lý đều có hiệu quả giảm bệnh rõ rệt có giá trị AUDPC dao động trong khoảng 220,8 - 470,8 thấp hơn và khác biệt ý nghĩa so với đối chứng 1029,2. Trong đó hai nghiệm thức xử lý

đơn lẻ thực khuẩn thể ΦBT56 và nghiệm thức phối hợp giữa biện pháp hóa học với thực khuẩn thể ΦBT56 có giá trị AUDPC thấp nhất khác biệt ý nghĩa so với ba nghiệm thức hỗn hợp thực khuẩn thể, hóa học và phối hợp thuốc hóa học với hỗn hợp thực khuẩn thể.

Bảng 2. Cấp độ bệnh héo xanh của cây hoa cúc do vi khuẩn *R. solanacearum* của các nghiệm thức ở điều kiện ngoài đồng

Nghiệm thức	9 NSKLB	29 NSKLB	49 NSKLB	59 NSKLB
ĐC không lây bệnh	0,00 c	0,00 c	0,00 d	0,00 d
ĐC lây bệnh	0,28 a	0,63 a	1,28 a	1,71 a
TKT ΦBT56	0,05 bc	0,15 bc	0,25 c	0,34 c
Hỗn hợp 2 TKT	0,08 bc	0,33 b	0,60 b	0,73 b
Hóa Học	0,12 bc	0,27 b	0,52 b	0,66 b
Hóa học + TKT ΦBT56	0,08 bc	0,12 bc	0,27 c	0,40 c
Hóa học + Hỗn hợp 2 TKT	0,15 b	0,27 b	0,54 b	0,65 b
Mức ý nghĩa	**	**	**	**
CV %	75,37	56,46	27,21	21,74

Dựa vào kết quả hiệu lực phòng trị (Bảng 3) cho thấy ở thời điểm 59 ngày sau khi lây bệnh ở tất cả các nghiệm thức có xử lý biện pháp phòng trừ vi khuẩn *R. solanacearum* đều có hiệu quả giảm bệnh cao hơn 50%, trong đó ở nghiệm thức xử

lý thực khuẩn thể ΦBT56 và nghiệm thức phối hợp giữa biện pháp hóa học với thực khuẩn thể ΦBT56 có hiệu quả giảm bệnh lần lượt là 79,6% và 77,5%, thể hiện cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại.

Bảng 3. Hiệu lực phòng trị bệnh héo xanh do vi khuẩn *R. solanacearum* trên cây hoa cúc ở các nghiệm thức ở điều kiện ngoài đồng

Nghiệm thức	9NSKLB	29NSKLB	49NSKLB	59NSKLB
Đối chứng lây bệnh	0,0 b	0,0 b	0,0 c	0,0 c
TKT ΦBT56	79,2 a	70,8 a	83,4 a	79,6 a
Hỗn hợp 2 TKT	66,7 a	47,9 a	56,7 b	56,7 b
Hóa Học	58,3 a	56,3 a	61,9 b	58,8 b
Hóa học + TKT ΦBT56	70,8 a	81,3 a	81,1 a	77,5 a
Hóa học + Hỗn hợp 2 TKT	45,8 a	54,2 a	61,7 b	61,4 b
Mức ý nghĩa	*	**	**	**
CV %	55,83	43,25	18,38	14,83

Ghi chú: Trong cùng một cột, những số trung bình nghiệm thức được theo sau bởi một hoặc những chữ giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa ở mức thống kê theo phép thử Duncan. Mức ý nghĩa 5%(*); Mức ý nghĩa 1% (**). Số liệu % được chuyển sang $\sqrt{(x)}$ hoặc $\arcsin\sqrt{(x)}$ trước khi phân tích thống kê.

Ở hai nghiệm thức xử lý thực khuẩn thể thì nghiệm thức xử lý đơn thực khuẩn thể Φ 56 thể hiện hiệu quả giảm bệnh cao hơn so với nghiệm thức xử lý hỗn hợp thực khuẩn thể.

Tóm lại qua kết quả Bảng 3 cho thấy tất cả các nghiệm thức có xử lý các biện pháp phòng trừ đều có hiệu quả giảm bệnh hơn 50% đối với bệnh héo xanh do vi khuẩn *R. solanacearum*, đặc biệt nghiệm thức phối hợp biện pháp hóa học với thực khuẩn thể Φ BT56 và nghiệm thức xử lý đơn thực khuẩn thể Φ BT56 có hiệu quả giảm bệnh cao nhất đạt trên 70%. Kết quả

trương tự cũng được ghi nhận trên bệnh héo xanh trên cà chua và khoai tây khi sử dụng thực khuẩn thể (Bhunchoth *et al.*, 2015; Elhalag *et al.*, 2018; Wei *et al.*, 2017). Như vậy, thực khuẩn thể (mật số 10^8 pfu/ml) có thể được sử dụng để phòng trừ bệnh do héo xanh do vi khuẩn *R. solanacearum* bằng cách xử lý giá thể trước và sau khi trồng cây với định kỳ 10 ngày để làm giảm mật số của vi khuẩn gây bệnh trong giá thể và hạn chế khả năng xâm nhiễm, phát sinh phát triển của bệnh héo xanh do vi khuẩn *R. solanacearum*.



Hình 1. Bệnh héo xanh trên các nghiệm thức vào thời điểm 49 ngày sau khi lây bệnh

- A. Đối chứng có lây bệnh.
- B. Xử lý thực khuẩn thể Φ BT56 (10^8 PFU/mL).
- C. Xử lý TKT Φ BT56 (10^8 PFU/mL) kết hợp thuốc trừ khuẩn khi TLB > 10%.

IV. KẾT LUẬN

Xử lý TKT Φ BT56, hỗn hợp hai TKT (Φ BT56 + Φ BT67) ở mật số 10^8 PFU/mL, thuốc trừ khuẩn đơn lẻ định kỳ 10 ngày lần hay xử lý phối hợp giữa TKT với thuốc hóa học khi cần thiết đều thể hiện hiệu quả giảm bệnh hơn 50% đối với bệnh héo xanh do vi khuẩn *R. solanacearum* trên cây hoa Cúc (*Chrysanthemum* sp.) ở điều kiện ngoài đồng. Trong đó nghiệm thức xử lý thực khuẩn thể đơn Φ BT56 có hiệu quả giảm bệnh héo xanh trên cây hoa

Cúc cao hơn so với xử lý hỗn hợp thực khuẩn thể. Nghiệm thức phối hợp biện pháp hóa học có hoạt chất *Streptomycin* và *Oxytetracycline* với thực khuẩn thể Φ BT56 có hiệu quả giảm bệnh héo xanh trên cây hoa cúc cao hơn xử lý đơn. Vì thế, có thể xử lý thực khuẩn thể trên ruộng trồng cây hoa cúc để quản lý bệnh héo xanh và chỉ phối hợp thuốc hóa học với thực khuẩn thể để xử lý khi áp lực bệnh trên ruộng cao, nhằm tăng hiệu quả giảm bệnh héo xanh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abbott, W. S. (1925). A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of economic entomology*, 18: 265 - 269.
2. Ateka, E.M., A.W. Mwang'Ombe and J.W. Kimenju (2001). Reaction of potato cultivars to *R. solanacearum* in Kenya. *African crop science journal*, 9 (1): 251-256.
3. Balogh, B., T. Momol, A. Obradovic and J. Jones (2009). Bacteriophages as agents for the control of plant pathogenic bacteria. In: D. Walters. *Disease Control in Crops: Biological and Environmentally Friendly Approaches*. Blackwell Publishing. New Jersey, US. 246-256.
4. Bhunchoth, A., N. Phironrit, C. Leksomboon, O. Chatchawankanphanich, S. Kotera, E. Narulita, T. Kawasaki, M. Fujie, and T. Yamada (2015). Isolation of *Ralstonia solanacearum*-infecting bacteriophages from tomato fields in Chiang Mai, Thailand, and their experimental use as biocontrol agents. *J. Appl. Microbiol.* 118(4):1023 - 1033.
5. Biền Văn Minh (2006). Phương pháp khảo sát phage. *Tạp chí Khoa học Trường ĐH Sư phạm Huế*. 65:24 - 26.
6. Burgess, L.W., Knight T.E., Tesoriero L. and Phan T.H. (2009). Cẩm nang chẩn đoán bệnh cây ở Việt Nam. ACIAR: Canberra, 210 pp.
7. Elhalag, K., M. Nasr-Eldin, A. Hussien and A. Ahmad (2018). Potential use of soilborne lytic Podoviridae phage as a biocontrol agent against *Ralstonia solanacearum*. *J. Basic Microbiol.* 58 (8):658 - 669.
8. Fujiwara, A., M. Fujisawa, R. Hamasaki, T. Kawasaki, M. Fujie and T. Yamada (2011). Biocontrol of *R. solanacearum* by Treatment with Lytic Bacteriophage. *Applied and Environmental Microbiology*, 77 (12): 4155-4162.
9. Greer, G. G. (2005). Bacteriophage control of foodborne bacteria. *Journal of Food Protection*, 68 (5): 1102-1111.
10. Huỳnh Ngọc Tâm, Lê Uyển Thanh, Trần Thanh Tùng, Thị Dim, Lưu Thái Danh và Nguyễn Thị Thu Nga (2017). Phân lập và tuyển chọn thực khuẩn thể hiệu quả trong việc phòng trừ vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* gây bệnh héo xanh trên cây hoa cúc (*Chrysanthemum* sp.). *Hội thảo Quốc gia Bệnh hại thực vật Việt Nam*, 16: 89-100.
11. Huỳnh Ngọc Tâm, Trần Thanh Tùng và Lê Uyển Thanh, Lưu Thái Danh, Nguyễn Thị Thu Nga (2018a). Tuyển chọn thực khuẩn thể có tiềm năng kiểm soát bệnh héo xanh do vi khuẩn *R. solanacearum* trên cây hoa cúc (*Chrysanthemum* sp.) trong điều kiện phòng thí nghiệm. *Hội nghị Khoa học Toàn quốc về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật*, 7: 1434 - 1442.
12. Huỳnh Ngọc Tâm, Lê Uyển Thanh, Trần Thanh Tùng, Lưu Thái Danh và Nguyễn Thị Thu Nga (2018b). Đánh giá hiệu quả phòng trị của một số hoạt chất kháng sinh và hóa học đối với vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh trên cây hoa cúc (*Chrysanthemum* sp.). *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 22: 17 - 24.
13. Huỳnh Ngọc Tâm, Lê Uyển Thanh, Trần Thanh Tùng, Nguyễn Minh Đăng, Lưu Thái Danh và Nguyễn Thị Thu Nga (2019). Đánh giá hiệu quả phòng trị của thực khuẩn thể và thuốc trừ vi khuẩn đối với bệnh héo xanh do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* trên cây hoa cúc (*Chrysanthemum* sp.) ở điều kiện ngoài đồng. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, số tháng 5/2019: 95-100.
14. Huynh Ngoc Tam, Le Uyen Thanh, Trinh Quang Phap, Tran Thanh Tung, Luu Thai Danh and Nguyen Thi Thu Nga (2019). Isolation and Virulent Evaluation of *R. solanacearum* cause the Bacterial Wilt in *Chrysanthemum* (*Chrysanthemum* sp.) from Mekong Delta and Lam Dong Province. *Biological-forum - An International Journal*, 11 (1): 101-106.
15. 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 Genetics*, 102 (1): 32-40.
16. Kurtböke, I., 2012. *Bacteriophage*. InTech. Rijeka, Croatia. 256 pp.

17. Makari Hanumanthappa, K., Palaniswamy M. and Angayarkanni J., 2013. Isolation of lytic bacteriophage against *R. solanacearum* causing wilting symptoms in ginger (*Zingiber officinale*) and potato (*Solanum tuberosum*) plants. *International Research Journal of Biological Sciences*, 2 (11): 78-84.
18. Mehan, V.K and McDonald D., 1995. "Techniques for diagnosis of *Pseudomonas solanacearum*, and for resistance screening against groundnut bacterial wilt", *Technical Report*, International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics.
19. Nagy, J.K., L. Kigáli and I. Schwarczinger, 2012. Phage therapy for plant disease control with a focus on fire blight. *Central European Journal of Biology*, 7 (1): 1-12.
20. Nguyễn Thị Thu Cúc và Trần Thị Thu Thủy, 2014. Dịch hại trên hoa hồng, cúc, mai, vạn thọ. NXB Trường Đại học Cần Thơ. 117 trang.
21. 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, Nông nghiệp*, 4: 194-203.
22. Nguyễn Thúy An, Phạm Văn Kim, Nguyễn Văn Minh Phụng, Nguyễn Thị Thu Nga, 2017. Phân lập và tuyển chọn các dòng thực khuẩn thể trong phòng trừ bệnh héo xanh trên cây hoa vạn thọ (*Tagetes papula* L.) do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* Smith. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 49: 44-52.
23. Phạm Văn Kim, 2000. Vi sinh chuyên khoa. Tài liệu lưu hành nội bộ. Trường Đại học Cần Thơ. Cần Thơ. 193 trang.
24. Tanaka, H., H. Negishi, H. Maeda, 1990. Control of tobacco bacterial wilt by an avirulent strain of *Pseudomonas solanacearum* M4S and its bacteriophage. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 56: 243-246.
25. Trần Ngọc Trân, Nguyễn Thị Thu Nga và Khương Minh Trí, 2016. Phân lập và đánh giá hiệu quả của thực khuẩn thể trong phòng trừ bệnh cháy lá do vi khuẩn *Xanthomonas* sp. trên cây hành lá. *Hội thảo Quốc gia Bệnh hại thực vật Việt Nam*, 15: 1-9.
26. Trun, N. and J. Trempey, 2009. *Fundamental Bacterial Genetics*. 3rd edition. John Wiley & Sons. Hoboken, New Jersey, USA. 309 pp.
27. Wei, C., J. Liu, A. N. Maina, F. B. Mwaura, J. Yu, C. Yan, R. Zhang, and H. Wei. 2017. Developing a bacteriophage cocktail for biocontrol of potato bacterial wilt. *Virol. Sin.* 32(6):476-484.

KIỂM SOÁT SINH HỌC BỆNH RỤNG LÁ CAO SU (CLFD) BẰNG VI KHUẨN *Bacillus amyloliquefaciens*

Nguyễn Bảo Quốc¹, Nguyễn Ngọc Bảo Châu²
Nguyễn Đoàn Nguyễn Phương¹, Nguyễn Văn Minh
Phạm Ngọc Giàu³, Nguyễn Anh Nghĩa³

¹ Viện Nghiên cứu Công nghệ Sinh học và Môi trường
Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh

² Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Mở Tp. Hồ Chí Minh

³ Viện Nghiên cứu Cao su Việt Nam

Corynespora cassiicola là tác nhân gây bệnh rụng lá cao su (Corynespora Leaf Fall Disease - CLFD) dẫn đến giảm năng suất canh tác cao su tự nhiên. Hiện nay, việc sử dụng vi khuẩn đối kháng chống lại mầm bệnh nấm đã được coi là một trong những phương pháp thân thiện với môi trường để kiểm soát bệnh hại thực vật. Trong nghiên cứu này, việc xác định gene mã hóa độc tố cassiicolin được xem là tác nhân gây bệnh nấm quan trọng liên quan đến CLFD đã được tiến hành và khả năng gây bệnh của các mẫu nấm phân lập *C. cassiicola* chứa gen cas được đánh giá trên lá tách rời. Ngoài ra, việc kiểm soát sinh học của vi khuẩn *Bacillus amyloliquefaciens* (T3) đối với bệnh CLFD cũng được thực hiện để hiểu rõ mức độ biểu hiện của gen mã hoá độc tố cassiicolin. Kết quả chỉ ra rằng 2 trong số 20 mẫu phân lập (MPL) nấm *C. cassiicola* có chứa gen mã hoá độc tố cassiicolin thuộc nhóm 2 (cas2) và 18 MPL *C. cassiicola* còn lại được phân thành nhóm cas0. Kết quả kiểm soát *C. cassiicola* bằng vi khuẩn *Bacillus amyloliquefaciens* ở dạng in-vitro và in-planta cho thấy sự xuất hiện vòng đối kháng với nấm *C. cassiicola* và sự suy giảm có ý nghĩa sự lan rộng của độc tố cassiicolin trên tế bào lá cao su. Điều thú vị trong nghiên cứu này chính là sự biểu hiện giảm của gene cas2 khi xử lý bằng *B. amyloliquefaciens* trái ngược với sự gia tăng biểu hiện của các gene mã hoá các protein thuộc nhóm lipopeptides của vi khuẩn như iturin, fengycin có vai trò đối kháng với nấm bệnh. Những phát hiện thu được trong nghiên cứu này đã khẳng định vai trò quan trọng của lipopeptides do *B. amyloliquefaciens* tiết ra trong việc kiểm soát bệnh CLFD trên cây cao su.

TUYỂN CHỌN CHẤT MANG
ĐỂ TỒN TRỮ XẠ KHUẨN *Streptomyces albaduncus*
ĐỐI KHÁNG VỚI NẤM *Fusarium oxysporum*
GÂY BỆNH THỐI CỦ HÀNH TÍM

Nguyễn Quang Tiến¹, Nguyễn Thị Phi Oanh²
và Nguyễn Đắc Khoa¹

¹Bộ môn Công nghệ Sinh học Phân tử,
Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học
²Bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự nhiên,
Trường Đại học Cần Thơ.

ABSTRACT

**Selection of carrier materials for the antagonistic *Streptomyces albaduncus*
against *Fusarium basal* rot caused by *Fusarium oxysporum***

Streptomyces albaduncus was shown capable of reducing the *Fusarium basal* rot of shallot (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) caused by *Fusarium oxysporum*. This study aims at selecting carrier materials for its long - term storage. Five difference formulations were prepared using five carrier materials, i.e., rice bran, talc, peat, rice husk and sawdust. *S. albaduncus* could maintain its density at 10^9 spores/g formulation and biological activities in rice bran, talc and peat after nine months of storage. The disease - reducing effects of *S. albaduncus* were maintained under greenhouse conditions after the storage duration. Rice bran was the best carrier among those tested, which could be used in further formulation studies.

Keywords: *Allium cepa* var. *ascalonicum*, formulation, *Fusarium basal* rot, rice bran, shallot, *Streptomyces albaduncus*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sử dụng biện pháp sinh học để phòng trừ bệnh hại cây trồng đang được quan tâm do đây là biện pháp thân thiện với môi trường, không ảnh hưởng đến sức khỏe con người, vật nuôi và có tính bền vững (Agrios, 1988). Dịch trích thực vật hay vi sinh vật đối kháng có thể được sử dụng để

phòng trị bệnh hại trên các loại cây trồng khác nhau như lúa, hành tím và khoai lang tím (Trần Thị Bích Thảo, 2017; Nguyễn Đắc Khoa, 2018). Các chủng vi khuẩn có khả năng đối kháng tốt với mầm bệnh tiếp tục được nghiên cứu để tạo chế phẩm sinh học (Nguyễn Đắc Khoa và *ctv.*, 2010; Đặng Hoài An và *ctv.*, 2017).

Người phân biện: TS. Nguyễn Đức Độ.

Tuy nhiên, người nông dân Việt Nam vẫn đang rất “lạm dụng” hóa chất trong sản xuất nông nghiệp. Cụ thể ở huyện Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng, hành tím (*Allium ascalonicum*) là một trong những đặc sản có giá trị kinh tế cao và có vị trí quan trọng trong cơ cấu cây trồng. Song, canh tác hành tím trong những năm gần đây có chiều hướng suy giảm, củ hành kém chất lượng và khó tồn trữ sau thu hoạch. Nguyên nhân chính là phân và thuốc hóa học đã làm gia tăng sâu bệnh hại trên cây hành tím (Đặng Thị Cúc, 2008). Với hiện trạng trên, Trần Việt Quyền (2016) đã phân lập, tuyển chọn vi khuẩn đối kháng có khả năng phòng trị bệnh thối củ hành tím và xác định xạ khuẩn *Streptomyces albaduncus* có hiệu quả giảm bệnh tốt nhất trong điều kiện nhà lưới và điều kiện tồn trữ.

Sản xuất chế phẩm sinh học chứa vi khuẩn đối kháng phụ thuộc vào khả năng duy trì mật số tế bào sống, độ thuần và hoạt tính sinh học của vi khuẩn sau một thời gian tồn trữ nhất định (Heijnen and van Veen, 1991; Nguyễn Đắc Khoa và ctv., 2002; Brar *et al.*, 2006). Khả năng này phụ thuộc vào thành phần các hợp chất có trong chế phẩm; trong đó chất mang có vai trò quyết định đến hiệu quả của chế phẩm sinh học (Smith, 1992; Vidhyasekaran and Muthamilan, 1995). Nghiên cứu tuyển chọn chất mang không có công thức chung mà thường phụ thuộc vào nhiều yếu tố như chủng vi sinh vật được tồn trữ, phương pháp áp dụng, dạng chế phẩm muốn sản xuất và điều kiện môi trường (Brar *et al.*, 2006). Vì vậy, đề tài được thực hiện nhằm

tuyển chọn chất mang tồn trữ xạ khuẩn *Streptomyces albaduncus*, làm tiền đề để sản xuất chế phẩm sinh học phòng trừ bệnh thối củ hành tím tại Vĩnh Châu và các vùng trồng hành khác, hướng đến nền sản xuất nông nghiệp sạch và bền vững.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Xạ khuẩn *Streptomyces albaduncus* và nấm *Fusarium oxysporum* được Nhóm Nghiên cứu Bệnh cây, Phòng Thí nghiệm Sinh học Phân tử, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ cung cấp. Hành giống được thu mua tại huyện Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng. Các nguyên liệu được sử dụng làm chất mang gồm cám, bột talc thương mại, than bùn (Cần Thơ), trấu và mùn cưa (cây sao).

Môi trường Nutrient agar (NA) nuôi cấy xạ khuẩn, gồm 5 g peptone, 3 g beef extract, 5 g NaCl, 20 g agar và nước cất đủ 1 L. Môi trường Potato dextrose agar (PDA) nuôi cấy nấm, gồm 20 g glucose, 15 g agar và dịch chiết khoai tây đủ 1 L.

2.2. Chuẩn bị bào tử xạ khuẩn và xác định mật số bào tử

Xạ khuẩn *S. albaduncus* được cấy trên môi trường NA trước khi được cấy chuyển và nuôi trong các túi gạo theo phương pháp của Soares *et al.* (2007). Mật số bào tử xạ khuẩn được xác định bằng phương pháp đếm trên buồng đếm hồng cầu dưới kính hiển vi quang học.

2.3. Tạo chế phẩm dạng bột

Chế phẩm dạng bột được phối trộn theo công thức của Vidhyasekaran và Muthuamilan (1995). Sau đó, mỗi 5 g chế phẩm được phân phối vào các túi nylon và khử trùng nhiệt ướt 2 lần liên tục cách nhau 24 giờ ở 121°C, 1 atm trong 30 phút. Các túi chế phẩm được chia thành hai nhóm, gồm nhóm 1 (không lên men bán rắn) và nhóm 2 (có lên men bán rắn). Mỗi túi chế phẩm của nhóm 1 được chủng vào 2 mL bào tử xạ khuẩn với mật số $3,7 \times 10^8$ bào tử/g, sau đó sấy ở 45°C đến khi độ ẩm dưới 20% và trữ ở nhiệt độ phòng ($28 \pm 2^\circ\text{C}$). Mỗi túi chế phẩm của nhóm 2 được chủng vào 2 mL bào tử xạ khuẩn mật số $3,7 \times 10^6$ bào tử/g và được duy trì ở độ ẩm 50% cho đến khi mật số đạt 10^9 bào tử/g; sau đó, các túi chế phẩm này được sấy đến khi độ ẩm dưới 20% và trữ ở nhiệt độ phòng.

2.4. Khảo sát khả năng đối kháng trên đĩa thạch của xạ khuẩn *Streptomyces albaduncus* với nấm *Fusarium oxysporum* sau thời gian tồn trữ

Nấm *F. oxysporum* được nuôi cấy trên đĩa Petri chứa môi trường PDA trong 7 ngày, sau đó được cấy vào trung tâm đĩa môi trường PDA mới. Xạ khuẩn được cấy từ ba túi chế phẩm của cùng một chất mang (3 lần lặp lại) sang môi trường NA trong 48 giờ, sau đó được cấy lên đĩa Petri chứa nấm bệnh và ủ ở nhiệt độ phòng ($28^\circ\text{C} \pm 2$). Sau 7 ngày, bán kính vòng vô khuẩn được ghi nhận để khảo sát khả năng đối kháng.

2.5. Khảo sát khả năng làm giảm bệnh thối củ hành tím của xạ khuẩn sau thời gian tồn trữ trong điều kiện nhà lưới

Các nghiệm thức có khả năng duy trì mật số và khả năng đối kháng của xạ khuẩn trên đĩa thạch được khảo sát trong thí nghiệm này.

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được thực hiện vào tháng thứ 5 và tháng thứ 8 trong quá trình tồn trữ chất mang và mỗi lần thí nghiệm và bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, 5 nghiệm thức với 3 lần lặp lại, gồm xử lý xạ khuẩn trong các chất mang (1) cám, (2) bột talc, (3) than bùn; (4) thuốc hóa học Score 250 EC (đối chứng dương) và (5) nước cất (đối chứng âm).

Chuẩn bị đất: Đất được phơi khô, xử lý vôi, trộn với tro trấu và cát (tỷ lệ 2:1:1). Sau đó, đất được cho vào các túi nylon và khử trùng nhiệt ướt trước khi trồng hành.

Xử lý xạ khuẩn: Xạ khuẩn trong mỗi túi chế phẩm được đưa về mật số 10^8 bào tử/mL trong nước cất vô trùng, sau đó được phun vào đất trồng hành với lượng 5 mL/chậu ở thời điểm 2 ngày trước khi trồng.

Phương pháp chủng bệnh: Thí nghiệm được chia thành hai trường hợp, gồm chủng bệnh trước khi trồng, củ hành được áo qua dung dịch chứa bào tử nấm mật số 10^7 bào tử/mL và chủng bệnh sau khi trồng ở thời điểm 30 ngày, huyền phù bào tử nấm được phun trực tiếp vào gốc hành cho ướt đều với lượng 5 mL/chậu.

Ghi nhận chỉ tiêu: Mức độ bệnh (%) được ghi nhận tại thời điểm 7, 14, 21, 28

và 35 ngày sau chủng bệnh (NSCB) theo công thức của Sintayehu *et al.* (2014).

2.6. Khảo sát khả năng làm giảm bệnh thối củ hành tím của xạ khuẩn sau thời gian tồn trữ trong điều kiện tồn trữ

Các nghiệm thức có khả năng duy trì mật số và khả năng đối kháng của xạ khuẩn trên đĩa thạch được khảo sát trong thí nghiệm này.

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được thực hiện vào tháng thứ 5 trong quá trình tồn trữ chất mang và được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, 5 nghiệm thức với 3 lần lặp lại (100 củ hành/lần lặp lại). Củ hành được xử lý với xạ khuẩn trong các chất mang (1) cám, (2) bột talc, (3) than bùn, (4) thuốc hóa học Score 250EC (đối chứng dương) và (5) nước cất (đối chứng âm).

Xử lý xạ khuẩn: Xạ khuẩn trong túi chế phẩm được điều chỉnh về mật số 10^8 bào tử/mL trong nước cất vô trùng, sau đó được phun lên củ hành đã chủng bệnh 24 giờ.

Phương pháp chủng bệnh: Chủng bệnh bằng cách phun trực tiếp 10^7 bào tử/mL huyền phù bào tử nấm với lượng 20 mL lên bề mặt củ hành cho ướt đều và ủ bệnh.

Ghi nhận chỉ tiêu: Quan sát và đánh giá khả năng giảm bệnh của xạ khuẩn dựa trên tỷ lệ phần trăm (%) số lượng củ hành bị bệnh trên tổng số củ hành thí nghiệm cho mỗi nghiệm thức. Chỉ tiêu được thu 5 lần tại thời điểm 7, 14, 21, 28 và 35 NSCB.

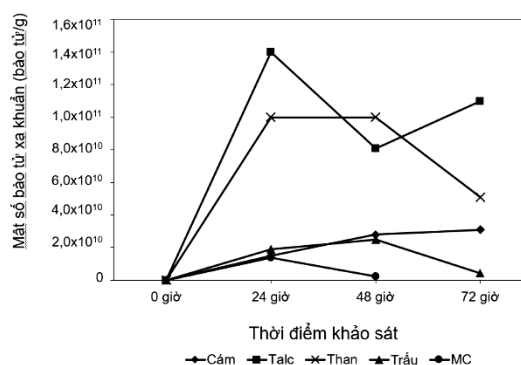
2.7. Xử lý số liệu

Các phân tích thống kê so sánh phương sai giữa các trung bình nghiệm thức được thực hiện bằng phần mềm SPSS 20.0.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

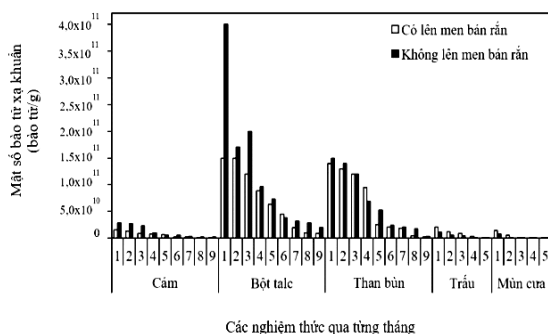
3.1. Kết quả khảo sát mật số bào tử của xạ khuẩn *Streptomyces albaduncus* trong chế phẩm sau mỗi tháng tồn trữ

Mật số bào tử xạ khuẩn tăng lên nhiều lần so với thời điểm đóng gói ở cả hai nhóm nghiệm thức. Trong đó, mật số bào tử ở các nghiệm thức của nhóm 2 tăng lên đáng kể sau 72 giờ lên men bán rắn (từ 10^6 bào tử/g tăng lên 10^9 bào tử/g (cám), 10^{11} bào tử/g (bột talc và than bùn).



Hình 1. Mật số bào tử xạ khuẩn *Streptomyces albaduncus* sau 72 giờ lên men bán rắn

Mật số bào tử xạ khuẩn của các túi chế phẩm ở cả hai nhóm nghiệm thức giảm dần sau 9 tháng tồn trữ. Trong đó, hai nghiệm thức trấu và mùn cưa có hiện tượng bị nhiễm nấm ở tháng thứ 4 và nhiễm nấm hoàn toàn ở tháng thứ 5. Đến tháng thứ 9, phần lớn các túi chế phẩm ở các nghiệm thức cám, bột talc và than bùn vẫn còn trạng thái tốt.

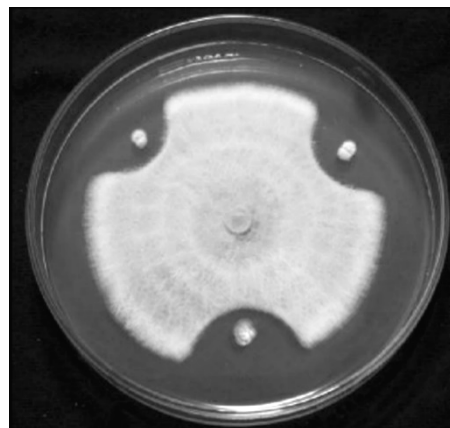


Hình 2. Kết quả khảo sát mật số bào tử xạ khuẩn *Streptomyces albaduncus* sau 9 tháng tồn trữ

Kết quả nghiên cứu của Omer (2010) cũng ghi nhận mật số của bào tử vi sinh vật trong chế phẩm dạng khô giảm dần theo thời gian. Trong đó, mật số bào tử ở 3 nghiệm thức cám, bột talc và than bùn vẫn được duy trì ở mức cao sau 9 tháng tồn trữ, trên 10⁹ bào tử/mL.

3.2. Kết quả khảo sát khả năng đối kháng trên đĩa thạch của xạ khuẩn *Streptomyces albaduncus* với nấm *Fusarium oxysporum* sau thời gian tồn trữ

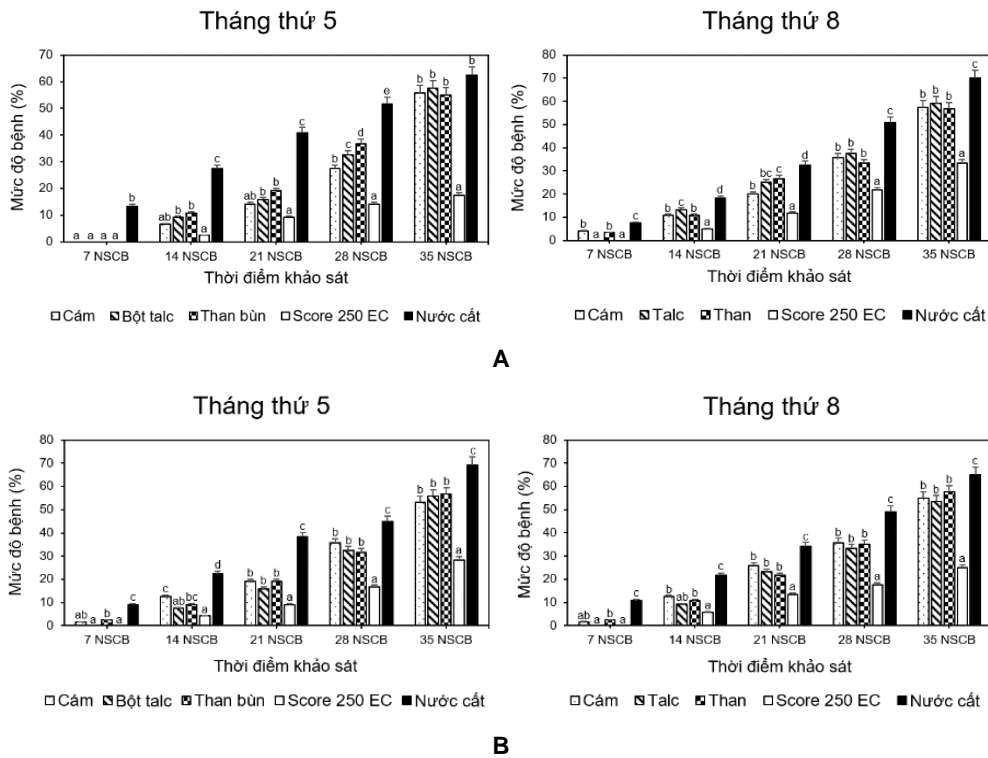
Xạ khuẩn *S. albaduncus* ở tất cả các nghiệm thức của cả hai nhóm vẫn còn khả năng đối kháng với nấm bệnh *F. oxysporum* sau 7 ngày nuôi cấy. Bán kính vòng vô khuẩn ở các nghiệm thức trong khoảng 4,2 - 5,9 mm. Trong đó, các nghiệm thức cám, bột talc và than bùn duy trì được khả năng đối kháng của xạ khuẩn ổn định đến tháng thứ 9 (bán kính vòng vô khuẩn trên 5,0 mm). Alekhya và Gopalakrishnan (2014) cho rằng kích thước vòng vô khuẩn ở mức 4 - 8 mm thì xạ khuẩn *Streptomyces* có khả năng ức chế tốt sự phát triển của nấm *F. oxysporum*.



Hình 3. Vòng vô khuẩn được tạo ra do xạ khuẩn *Streptomyces albaduncus* đối kháng với nấm *Fusarium oxysporum* trên đĩa môi trường PDA

3.3. Kết quả khảo sát khả năng làm giảm bệnh thối củ hành tím của xạ khuẩn *Streptomyces albaduncus* sau thời gian tồn trữ trong điều kiện nhà lưới

Qua hai lần khảo sát ở tháng thứ 5 và tháng thứ 8 tồn trữ, xạ khuẩn trong các nghiệm thức chất mang ở cả hai trường hợp chủng bệnh đều có hiệu quả giảm bệnh tốt và duy trì đến 35 NSCB. Mức độ bệnh của củ hành đều thấp hơn có ý nghĩa so với đối chứng âm, kết quả này phù hợp với kết quả của Trần Việt Quyền (2016). Hơn nữa, hiệu quả làm giảm bệnh của xạ khuẩn trong hai thời điểm chủng bệnh trước trồng và chủng bệnh sau trồng 30 ngày là như nhau, có nghĩa là biện pháp sinh học này có hiệu quả lâu dài và ổn định. Dựa vào hai tiêu chí là xạ khuẩn trong các nghiệm thức chất mang phải có tác dụng giảm bệnh hiệu quả nhất (giảm mức độ bệnh) và duy trì được hiệu quả giảm bệnh thì chất các loại chất mang đều đáp ứng được. Trong đó, xạ khuẩn trong nghiệm thức chất mang cám có hiệu quả làm giảm bệnh ổn định hơn cả.



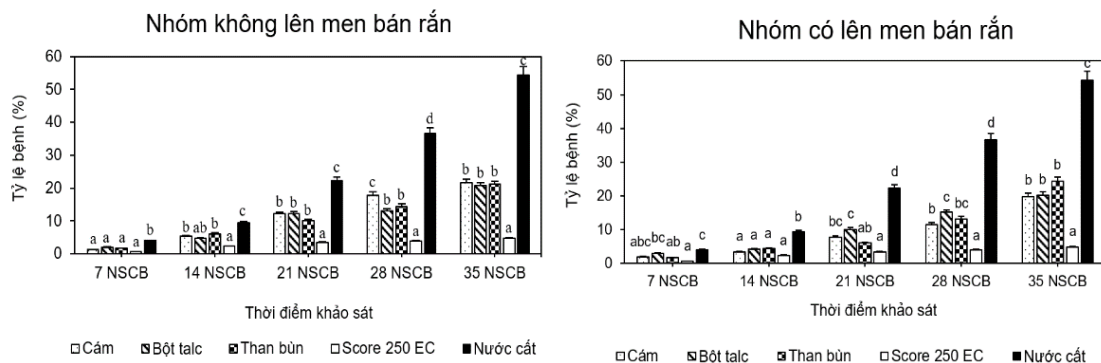
Hình 4. Mức độ bệnh (%) của củ hành tím khi được xử lý với xạ khuẩn *Streptomyces albaduncus* trong nhóm nghiệm thức không lên men bán rắn trong điều kiện nhà lưới

A. Trường hợp chủng bệnh trước trồng; B. Trường hợp chủng bệnh sau trồng 30 ngày

3.4. Kết quả khảo sát khả năng làm giảm bệnh thối củ hành tím của xạ khuẩn *Streptomyces albaduncus* sau thời gian tồn trữ trong điều kiện tồn trữ

Nhìn chung, tỷ lệ các củ hành bị nhiễm bệnh ở tất cả các nghiệm thức tăng theo

thời gian khảo sát. Tuy nhiên, hiệu quả làm giảm bệnh của xạ khuẩn ở cả 2 nhóm nghiệm thức tương đương nhau, đều cao hơn đối chứng âm (nước cất) và thấp hơn đối chứng dương (thuốc Score 250EC).



Hình 5. Mức độ bệnh (%) của củ hành tím khi được xử lý với xạ khuẩn *Streptomyces albaduncus* trong điều kiện tồn trữ

Khả năng hoạt động của nấm bệnh giảm nhiều so với thời điểm nghiên cứu của Trần Việt Quyền (2016) trong cùng thí nghiệm. Nguyên nhân của tình trạng này có thể do ảnh hưởng của nhiệt độ vì củ hành được tồn trữ trong điều kiện của nông dân (tồn trữ trong nhà kho), nhiệt độ ở kho tồn trữ ở mức cao hơn nhiệt độ phát triển bình thường của nấm bệnh. Nấm *F. oxysporum* phát triển tốt ở nhiệt độ từ 25 - 26°C, bị ức chế ở nhiệt độ thấp hơn 18°C (Ben - Yephet and Shtienberg, 1994). Bên cạnh đó, nhiệt độ cao thích hợp cho tế bào thực vật tiến hành các quá trình trao đổi chất, tạo ra các hợp chất thứ cấp, kích thích tính kháng bệnh tự nhiên trong cây (Kloepper *et al.*, 1992; Steiner and Schönbeck, 1995; Walters *et al.*, 2008). Tuy nhiên, hiệu quả làm giảm bệnh của xạ khuẩn *S. albaduncus* vẫn được ghi nhận. Kết quả của thí nghiệm này cho thấy xạ khuẩn (mật số 10^8 bào tử/mL) trong tất cả các nghiệm thức đều có hiệu quả giảm bệnh kéo dài đến thời điểm 35 NSCB. Mặt khác, các thí nghiệm khảo sát khả năng tạo vòng vô khuẩn trên đĩa thạch và khảo sát khả năng làm giảm bệnh trong điều kiện nhà lưới cho thấy đây là chủng xạ khuẩn có tính đối kháng mạnh với nấm *F. oxysporum*.

Tóm lại, kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Trần Việt Quyền (2016), xạ khuẩn vẫn còn khả năng làm giảm bệnh thối củ hành tím sau 5 tháng tồn trữ. Kết hợp với kết quả của các thí nghiệm trước, chất mang cám được chọn để tiếp tục nghiên cứu tạo chế phẩm sinh học chứa xạ khuẩn *S. albaduncus*.

IV. KẾT LUẬN

Năm loại nguyên liệu (cám, bột talc, than bùn, trấu và mùn cưa) được chọn để khảo sát khả năng tồn trữ bào tử xạ khuẩn trong 9 tháng. Sau thời gian tồn trữ chỉ có ba loại chất mang là cám, bột talc và than bùn duy trì được mật số trên 10^9 bào tử/g, khả năng đối kháng của xạ khuẩn đối với nấm bệnh trên đĩa thạch (bán kính vòng vô khuẩn khoảng 5,0 mm) và hiệu quả giảm bệnh thối củ hành tím trong điều kiện nhà lưới, tồn trữ. Chất mang cám được chọn để thực hiện các nghiên cứu tạo chế phẩm tiếp theo vì cám duy trì ổn định mật số bào tử và hiệu quả giảm bệnh của xạ khuẩn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Agrios, G.N. (1988). Plant pathology, Third edition. Academic press, Inc.. 845pp.
2. Alekhya, G., and Gopalakrishnan, G. (2014). Characterization of antagonistic *Streptomyces* as potential biocontrol agent against fungal pathogens of chickpea and sorghum. The Philippine Agricultural Scientist. 97(2): 191 - 198.
3. Ben - Yephet, Y., and Shteinberg, D. (1994). Effects of solar radiation and temperature on Fusarium wilt in carnation. Phytopathology. 84(12): 1416 - 1421.
4. Brar, S.K., Verma, M., Tyagi, R.D., and Valero, J.R. (2006). Recent advances in downstream processing and formulations of *Bacillus thuringiensis* based biopesticides. Process Biochemistry. 41: 323 - 342.
5. Đặng Hoài An, Nguyễn Thị Phi Oanh và Nguyễn Đắc Khoa (2017). Tuyển chọn chất mang để tồn trữ vi khuẩn *Bacillus aerophilus* đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây bệnh cháy bìa lá lúa. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 52b: 8 - 15.
6. Đặng Thị Cúc (2008). Hiệu quả của phân hữu cơ vi sinh trong cải thiện độ phì nhiêu đất và khả năng kháng bệnh trên hành tím (*Allium cepa*) tại huyện Vĩnh Châu. Luận văn Tốt nghiệp Cao học chuyên ngành Khoa học Đất. Trường Đại học Cần Thơ.

7. Heijnen, C.E., and Veen, J.A. (1991). A determination of protective microhabitats for bacteria introduced into soil. *FEMS Microbiology Letters*. 85: 73 - 80.
8. Kloepper, J.W., Tuzun, S., and Kuc, J.A. (1992). Proposed definitions relates to induced disease resistance. *Biocontrol Science and Technology*. 2: 349 - 351.
9. 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.
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. Nguyễn Đắc Khoa, Nguyễn Thị Thu Nga và Phạm Văn Kim (2002). Thiết kế và thử nghiệm nổi lên men vi khuẩn để sản xuất vi khuẩn đối kháng dùng trong biện pháp sinh học đối phó với bệnh đốm vằn trên lúa. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 2002: 169 - 173.
12. Omer, A.M. (2010). Bioformulations of *Bacillus* spores for using as biofertilizer. *Life Science Journal*. 7(4): 124 - 131.
13. Sintayehu, A., Ahmed, S., Fininsa, C., and Sakhuja, P.K. (2014). Evaluation of green manure amendments for the management of *Fusarium* basal rot on shallot. *International Journal of Agronomy*. 2014: 1 - 6.
14. Smith, R.S., 1992. Legume inoculant formulation and application. *Canadian Journal of Microbiology*. 38: 485 - 492.
15. Soares, A.C.F., Sousa, C.S., Garrido, M.S., and Perez, J.O. (2007). Production of Streptomycete Inoculum in Sterile Rice. *Scientia Agricola*. 64(6): 641 - 644.
16. Steiner, U., and Schönbeck, F., 1995. In Hammerschmidt, R. and J. Kuc (Editors). Induced resistance to disease in plants. Springer. Dordrecht. 86 - 110.
17. Trần Thị Bích Thảo (2017). Xác định mầm bệnh thối đồng tiền trên khoai lang tím tại huyện Bình Tân, Vĩnh Long và tuyển chọn vi khuẩn đối kháng trong đất để phòng trị bệnh. Luận văn Tốt nghiệp Cao học ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ.
18. Trần Việt Quyền (2016). Phân lập, tuyển chọn và định danh vi khuẩn đối kháng có khả năng phòng trị bệnh thối củ hành tím (*Allium ascalonicum*) ở thị xã Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng. Luận văn Tốt nghiệp Cao học ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ.
19. Vidhyasekaran, P., and Muthamilan, M. (1995). Development of Formulation of *Pseudomonas fluorescens* for Control of Chickpea wilt. *Plant Disease*. 79: 782 - 786.
20. Walters, D., Newton, A., and Lyon, G., (Editors) (2008). Induced resistance for plant defence: a sustainable approach to crop protection. John Wiley and Sons. New Jersey. 258pp.

SÀNG LỌC VÀ ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ ĐỐI KHÁNG CỦA XẠ KHUẨN ĐỐI VỚI NẤM *Corynespora cassiicola* TRÊN CÂY CAO SU

Nguyễn Thị Thanh Trang^{1,2}, Nguyễn Anh Nghĩa¹
Vũ Thị Quỳnh Chi¹, Nguyễn Ngọc Mai¹
Nguyễn Thị Kim Uyên¹, Võ Thị Thu Oanh²

¹ Viện Nghiên cứu Cao Su Việt Nam

² Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh

ABSTRACT

Screening and antagonistic efficacy evaluation of actinomycetes isolates against *Corynespora cassiicola* fungus on rubber tree (*Hevea brasiliensis*)

A new approach to biological control of *Corynespora* leaf fall disease, one of the most important diseases of rubber tree, was attempted with the use of phylloplane actinomycetes from the rubber trees. Among 124 phylloplane actinomycetes isolates, 22 isolates were found to be antagonistic to *C. cassiicola* fungus and were evaluated for the production of cell wall degrading enzymes (chitinase, cellulase) and IAA. It was shown, 14 isolates produced chitinase, 22 isolates produced cellulase. All the 22 isolates showed the potential to produce IAA, with average values ranging from 4.78 to 21.63 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Eight of 22 isolates were selected and investigated antagonistic activity against *C. cassiicola* fungus using actinomycetes culture filtrates. The result showed that isolates TA19 and TA57 inhibited the mycelia growth of *C. cassiicola* fungus with radiuses of the inhibition zones of 22.10 mm and 20.50 mm and antagonistic efficacy of 51.85% and 45.76%, respectively, at 7 days after co - culture, in which isolate TA19 presented antagonistic efficacy equivalent to fungicide Anvil 5SC. Further study needs to be undertaken to evaluate the antagonistic activity of two isolates TA19 and TA57 against *C. cassiicola* fungus using detached leaf assay and field testing as well as the morphological characteristics and the identification of these two.

Keywords: Actinomycetes, *C. cassiicola*, Antagonism, *Hevea brasiliensis*.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh rụng lá *Corynespora* do nấm *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei gây ra là một trong những bệnh quan

trọng trên cây cao su ở các quốc gia Châu Á và Châu Phi [1]. Bệnh gây hại trên lá và chồi, làm chết cây con trên vườn ươm và giảm tỷ lệ mắt ghép hữu hiệu trên vườn nhân. Bệnh nặng có thể gây rụng lá hàng loạt nhiều lần, làm giảm sinh trưởng, năng suất và đôi khi gây chết cây trên vườn cao

Người phân biên: PGS.TS. Phạm Thị Minh Tâm.

su kiến thiết cơ bản và vườn kinh doanh [2]. Hằng năm, các công ty trong ngành và người trồng cao su phải đầu tư chi phí rất lớn cho công tác phun thuốc phòng trị bệnh. Tuy nhiên, hoá chất bảo vệ thực vật đã trở thành mối quan tâm lo lắng của cộng đồng, do tác động tiêu cực của chúng đối với môi trường, sinh vật không phải mục tiêu và khả năng gây ung thư cho con người [3]. Hướng tới một nền nông nghiệp sinh thái bền vững, sử dụng các tác nhân kiểm soát sinh học có nguồn gốc từ vi sinh vật được xem là công cụ quản lý bệnh cây hiệu quả và thân thiện với môi trường. Xạ khuẩn là nhóm vi sinh vật được ứng dụng phổ biến nhờ khả năng tổng hợp chất kháng sinh, các hoạt chất sinh học có lợi cho cây trồng, đặc biệt là khả năng phân giải cellulose và chitin có trong thành phần vách tế bào sợi nấm. Thuốc trừ nấm sinh học có nguồn gốc từ xạ khuẩn đã được nghiên cứu và ứng dụng trên nhiều đối tượng bệnh hại cây trồng khác nhau. Tuy nhiên, đến nay các nghiên cứu áp dụng trên cây cao su vẫn còn hạn chế, chủ yếu chỉ tập trung vào nhóm xạ khuẩn đất phòng trị một số bệnh rễ và thân. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm chọn lọc và đánh giá hiệu quả đối kháng của một số chủng xạ khuẩn với nấm *C. cassiicola* gây bệnh rụng lá *Corynespora* trên cây cao su.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu thí nghiệm

- 124 chủng xạ khuẩn được phân lập từ lá cao su sạch bệnh thuộc nhiều dòng vô tính khác nhau.

- Mẫu phân lập nấm *C. cassiicola* CoryLK25 lưu trữ tại Bộ môn Bảo vệ thực

vật, Viện Nghiên cứu Cao su Việt Nam, được đăng ký trên ngân hàng GenBank (NCBI) với mã số KF387581.

2.2. Phương pháp thí nghiệm

2.2.1. Chọn lọc các chủng xạ khuẩn có hiệu quả đối kháng nấm *C. cassiicola*

Bố trí thí nghiệm: Theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, 125 nghiệm thức (mỗi chủng xạ khuẩn là một nghiệm thức và nghiệm thức đối chứng không có xạ khuẩn), 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại (ô cơ sở) gồm 3 đĩa Petri.

Thực hiện: Mẫu nấm *C. cassiicola* đường kính 6 mm được cấy vào giữa đĩa Petri chứa 10 mL môi trường PDA, khuẩn lạc xạ khuẩn cấy ở 4 góc xung quanh cách mẫu nấm 3 cm, nghiệm thức đối chứng chỉ cấy nấm.

Chỉ tiêu theo dõi: Hoạt tính kháng nấm của mỗi chủng xạ khuẩn được đánh giá bằng phương trình $AB = B - A$ (mm) khi nấm ở nghiệm thức đối chứng mọc đầy đĩa. Trong đó: A: bán kính tản nấm phát triển về phía khuẩn lạc xạ khuẩn; B: bán kính tản nấm ở nghiệm thức đối chứng; AB: hoạt tính kháng nấm. Chủng xạ khuẩn có AB lớn hơn 20 mm được chọn sử dụng cho các thí nghiệm sau [4].

2.2.2. Khảo sát một số đặc tính sinh hóa của các chủng xạ khuẩn

- **Thí nghiệm 1:** Xác định khả năng phân giải chitin

Bố trí thí nghiệm: Theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, 22 nghiệm thức (mỗi chủng xạ khuẩn là một nghiệm thức), 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại (ô cơ sở) gồm 3 đĩa Petri.

Thực hiện: Khuẩn lạc xạ khuẩn có đường kính 6 mm được cấy thành 3 điểm cách đều nhau trên đĩa Petri chứa môi trường chitin agar. Xác định hoạt tính enzyme chitinase bằng thuốc nhuộm Lugol 1%.

Chỉ tiêu theo dõi: Đường kính vòng phân giải chitin D - d (mm) ở các thời điểm 7, 14, 21 ngày sau cấy. Trong đó, D: đường kính vòng phân giải chitin, d: đường kính xạ khuẩn. Đường kính vòng phân giải (VPG) được đánh giá ở cấp 0: không có VPG; cấp 1: VPG từ 1 - 5 mm; cấp 2: VPG từ >5 - 10 mm; cấp 3: VPG từ >10 - 15 mm; cấp 4: VPG từ >15 - 20 mm và cấp 5: VPG từ 20 mm trở lên [5].

- **Thí nghiệm 2:** Xác định khả năng phân giải cellulose.

Bố trí thí nghiệm: Theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, 22 nghiệm thức (mỗi chủng xạ khuẩn là một nghiệm thức), 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại (ô cơ sở) gồm 3 đĩa Petri.

Thực hiện: Khuẩn lạc xạ khuẩn đường kính 6 mm được cấy thành 3 điểm cách đều nhau trên đĩa Petri chứa môi trường CMC agar (carboxyl methyl cellulose - một dạng hòa tan của cellulose). Xác định hoạt tính enzyme cellulase bằng thuốc nhuộm Lugol 1%.

Chỉ tiêu theo dõi: Đường kính vòng phân giải CMC D - d (mm) ở thời điểm 7 ngày sau cấy. Trong đó, D: đường kính vòng phân giải cellulose, d: đường kính xạ khuẩn. Đường kính vòng phân giải (VPG) được đánh giá cấp 0: không có VPG; cấp 1: VPG < 1 mm; cấp 2: VPG từ 1 - 3 mm; cấp 3: VPG từ >3 - 6 mm; cấp 4: VPG từ 6 mm trở lên [5].

- **Thí nghiệm 3:** Xác định khả năng sản sinh hormone tăng trưởng IAA

Bố trí thí nghiệm: Theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, 22 nghiệm thức (mỗi chủng xạ khuẩn là một nghiệm thức), 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại (ô cơ sở) gồm 1 bình tam giác.

Thực hiện: Các chủng xạ khuẩn được nuôi cấy trong bình tam giác chứa 100 mL môi trường Nutrient Broth có bổ sung L-tryptophan 0,2%, lắc 120 vòng/phút trong 7 ngày. Dịch xạ khuẩn được cho vào các ống falcon 50 mL và ly tâm ở 10.000 vòng/phút trong 5 phút để thu dịch chiết. Sau đó 2 mL dịch chiết này được cho vào các ống nghiệm chứa sẵn 4 mL thuốc thử Salkowsky.

Chỉ tiêu theo dõi: Hàm lượng IAA ($\mu\text{g/mL}$) trong dịch nuôi cấy xạ khuẩn được xác định bằng phương pháp so màu trên máy đo quang phổ ở bước sóng 530nm và đối chiếu với đồ thị đường chuẩn [6].

Dụng cụ chuẩn: Pha IAA tinh khiết ở các nồng độ 10, 20, 30, 40, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$. Ở mỗi nồng độ, lấy 2 mL dung dịch cho vào ống nghiệm chứa 4 mL thuốc thử Salkowsky, so màu ở bước sóng 530 nm (đối chứng gồm 2 mL nước cất). Dựa vào chỉ số OD và nồng độ IAA để vẽ đường chuẩn.

2.2.3. Đánh giá hiệu quả đối kháng của dịch chiết xạ khuẩn với nấm *C. cassiicola*

Bố trí thí nghiệm: Theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, 10 nghiệm thức. Trong đó: 8 nghiệm thức tương ứng với 8 dịch chiết xạ khuẩn, 1 nghiệm thức đối chứng chuẩn (Anvil 5SC 0,2%) và 1 nghiệm thức đối chứng xử lý bằng nước cất vô trùng, 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại (ô cơ sở) gồm 3 đĩa Petri.

Thực hiện: 50 µL dịch bào tử nấm (nồng độ 5×10^4 bào tử/mL) được trải đều trên đĩa Petri chứa 10 mL môi trường PDA. Lỗ thạch đường kính 8 mm được tạo giữa đĩa, hút 100 µL dịch nuôi cấy xạ khuẩn nhỏ vào lỗ thạch (dịch xạ khuẩn đã được lọc qua màng polycarbonate đường kính 0,2 µm).

Chỉ tiêu theo dõi: Bán kính vòng vô khuẩn (mm) và hiệu suất đối kháng (%) được xác định khi nấm ở nghiệm thức đối chứng mọc đầy đĩa. Hiệu suất đối kháng = $[(G1 - G2)/G1] \times 100$. Trong đó, G1: Bán kính tản nấm ở nghiệm thức đối chứng; G2: Bán kính tản nấm ở nghiệm thức xử lý xạ khuẩn hoặc thuốc trừ nấm [7].

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được tổng hợp bằng phần mềm Excel, xử lý thống kê sinh học theo

phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) và trắc nghiệm phân hạng bằng phần mềm PC - SAS (Personal Computer - Statistical Analysis System) Ver 9.0.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Chọn lọc các chủng xạ khuẩn có hiệu quả đối kháng nấm *C. cassiicola*

Khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn với nấm *C. cassiicola* được đánh giá bằng phương pháp đồng nuôi cấy trên môi trường PDA. Kết quả cho thấy, 124 chủng xạ khuẩn phân lập từ lá cao su đều có khả năng ức chế sự tăng trưởng của nấm *C. cassiicola*, với hoạt tính kháng nấm biến thiên từ 16,0 - 30,64 mm. Trong đó, 22 chủng có hoạt tính kháng nấm lớn hơn 20 mm (Bảng 1). Các chủng xạ khuẩn này được xem là những chủng tiềm năng và được chọn để sử dụng cho các thí nghiệm sau.

Bảng 1. Các chủng xạ khuẩn có hoạt tính kháng nấm (AB) lớn hơn 20 mm

STT	Chủng xạ khuẩn	AB (mm)	STT	Chủng xạ khuẩn	AB (mm)	STT	Chủng xạ khuẩn	AB (mm)
1	TA3	24,58	8	TA45	27,61	15	TA93	26,94
2	TA6	25,67	9	TA48	21,79	16	TA99	22,30
3	TA8	23,06	10	TA55	26,67	17	TA108	23,06
4	TA9	24,06	11	TA57	27,30	18	TA114	26,76
5	TA14	22,67	12	TA60	27,70	19	TA115	23,42
6	TA19	30,64	13	TA61	27,42	20	TA119	25,27
7	TA44	25,27	14	TA85	21,24	21	TA121	22,27
						22	TA123	21,30

3.2. Một số đặc tính sinh hóa của các chủng xạ khuẩn

Kết quả đánh giá khả năng phân giải chitin, cellulose và khả năng sản sinh

hormone tăng trưởng IAA của 22 chủng xạ khuẩn được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Khả năng phân giải chitin, cellulose và sản sinh IAA của 22 chủng xạ khuẩn

Chủng xạ khuẩn	Đường kính VPG chitin 21 NSC (mm)	Đường kính VPG cellulose 7 NSC (mm)	Hàm lượng IAA ($\mu\text{g/mL}$)
TA3	24,5 ^{bcd} (Cấp 5)	35,4 ^{bc} (Cấp 4)	12,65 ⁱ
TA6	(Cấp 0)	33,1 ^{ed} (Cấp 4)	14,43 ^f
TA8	22,8 ^{efd} (Cấp 5)	28,0 ^g (Cấp 4)	10,88 ^k
TA9	24,9 ^{bc} (Cấp 5)	30,8 ^f (Cấp 4)	17,47 ^d
TA14	10,0 ⁱ (Cấp 2)	14,8 ^l (Cấp 4)	14,09 ^g
TA19	21,9 ^{ef} (Cấp 5)	32,9 ^e (Cấp 4)	12,69 ^j
TA44	(Cấp 0)	39,3 ^a (Cấp 4)	21,63 ^a
TA45	(Cấp 0)	16,3 ^l (Cấp 4)	10,67 ^k
TA48	14,5 ^h (Cấp 3)	34,8 ^{cd} (Cấp 4)	12,85 ⁱ
TA55	26,1 ^{ab} (Cấp 5)	28,7 ^g (Cấp 4)	9,41 ^l
TA57	13,1 ^h (Cấp 3)	18,0 ⁱ (Cấp 4)	13,71 ^h
TA60	26,2 ^{ab} (Cấp 5)	25,6 ^h (Cấp 4)	17,79 ^c
TA61	(Cấp 0)	34,8 ^{cd} (Cấp 4)	14,74 ^e
TA85	(Cấp 0)	33,6 ^{ed} (Cấp 4)	6,59 ⁿ
TA93	(Cấp 0)	34,9 ^{cd} (Cấp 4)	6,07 ^o
TA99	23,5 ^{efcd} (Cấp 5)	30,4 ^f (Cấp 4)	6,15 ^o
TA108	(Cấp 0)	15,7 ^j (Cấp 4)	9,43 ^l
TA114	27,6 ^a (Cấp 5)	39,2 ^a (Cấp 4)	13,79 ^h
TA115	(Cấp 0)	36,9 ^b (Cấp 4)	18,52 ^b
TA119	21,6 ^f (Cấp 5)	32,8 ^e (Cấp 4)	8,74 ^m
TA121	19,8 ^g (Cấp 4)	30,8 ^f (Cấp 4)	4,78 ^p
TA123	23,7 ^{ecd} (Cấp 5)	33,1 ^{ed} (Cấp 4)	11,20 ^j
CV%	3,76	2,43	1,17
F tính	130,15 ^{***}	310,78 ^{***}	5265,4 ^{***}

Ghi chú: VPG: Vòng phân giải, NSC: Ngày sau cấy.

Các giá trị trung bình trong cùng một cột số liệu, có cùng mẫu tự thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,01$ trong trắc nghiệm Duncan.

Ở thời điểm 21 ngày sau thí nghiệm, ghi nhận được 14 chủng xạ khuẩn có khả năng phân giải chitin. Trong đó, 10 chủng có đường kính vòng phân giải đạt cấp 5 (TA3, TA8, TA9, TA19, TA55, TA60, TA99, TA114, TA119 và TA123), một chủng cấp 4 (TA121), hai chủng cấp 3 (TA48, TA57) và một chủng cấp 2 (TA14). Các chủng xạ khuẩn này có đường kính vòng phân giải tăng dần qua

từng thời điểm quan trắc. Ba chủng TA114, TA60 và TA55 có đường kính vòng phân giải tăng nhiều nhất và là những chủng có khả năng phân giải cao (lần lượt là 27,6 mm; 26,2 mm và 26,1 mm), khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với các chủng còn lại.

Ở thời điểm 7 ngày sau thí nghiệm, 22 chủng xạ khuẩn khảo sát đều có khả năng phân giải cellulose, với đường kính

vòng phân giải biến thiên từ 14,8 mm đến 39,3 mm, được đánh giá ở cấp 4. Trong đó, hai chủng TA44 và TA114 có đường kính vòng phân giải cao nhất, khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với các chủng còn lại. Kết quả trên cho thấy các chủng xạ khuẩn đối kháng tốt với nấm *C. cassiicola* đều có khả năng phân giải cellulose. Tuy nhiên, chỉ 63,6% trong số đó có khả năng phân giải chitin. Điều này chứng tỏ khả năng phân giải chitin và cellulose giữa các chủng xạ khuẩn là khác nhau.

Cellulose hiện diện ở thành tế bào của hầu hết các loại nấm. Enzym cellulase có khả năng thủy phân thành tế bào sợi nấm, ức chế sự sinh trưởng của nấm bệnh gây hại cây trồng. Enzym chitinase tăng hiệu quả kiểm soát sinh học đối với nấm bệnh và côn trùng gây hại bằng cách tham gia trực tiếp vào quá trình thủy phân thành tế bào chứa chitin (8). Kết quả thí nghiệm tương tự với một số nghiên cứu trên các đối tượng bệnh hại cây trồng khác. Hai chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. 5 và *Streptomyces* sp. 7 phân lập từ cây thảo được ở Ấn Độ có khả năng tiết enzym cellulase và chitinase phá hủy thành tế bào, ức chế sinh trưởng của nấm *Fusarium solani*, *Phytophthora infestans* và *Botrytis cinerea* (4). Enzym cellulase và chitinase được sản xuất từ 4 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* spp. (ZY-153, B-49, X-4 và Z-13) có khả năng ức chế sinh trưởng và thủy phân thành tế bào nấm *Verticillium dahliae* gây bệnh thối rễ trên cây bông vải [9].

Kết quả xác định khả năng sản sinh hormon tăng trưởng IAA cho thấy, 22 chủng xạ khuẩn thử nghiệm đều tiết IAA với hàm lượng khác biệt ở mức rất có

ý nghĩa thống kê. Trung bình sau 3 đợt đo mẫu, hàm lượng IAA của các dịch chiết xạ khuẩn biến thiên từ 4,78 - 21,63 $\mu\text{g/mL}$. Trong đó, chủng TA44 có hàm lượng IAA cao nhất và khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với các chủng còn lại. Kết quả này cho thấy, xạ khuẩn phân lập từ lá cao su có khả năng sinh tổng hợp IAA. Trên thế giới, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện và chứng minh xạ khuẩn tiết IAA kích thích sinh trưởng thực vật. Chủng *S. viridis* CMU - H009 có khả năng tiết IAA (143,95 $\mu\text{g/mL}$) giúp tăng tỷ lệ nảy mầm cũng như chiều dài rễ của cây ngô (bắp) và đậu [10]. *S. nobilis* WA-3, *S. kunmingensis* WC-3 và *S. enissocaesilis* TA-3 sản xuất IAA với hàm lượng lần lượt là 79,5; 79,23 và 69,26 $\mu\text{g/mL}$ làm tăng số lượng lá, rễ, chiều dài chồi và trọng lượng cây trên lúa mì [11].

Dựa vào kết quả của các thí nghiệm trên, 8 chủng xạ khuẩn TA8, TA9, TA14, TA19, TA55, TA57, TA114 và TA119 được lựa chọn để thử nghiệm khả năng đối kháng bằng dịch chiết xạ khuẩn với nấm *C. cassiicola*, có so sánh với thuốc trừ nấm.

3.3. Đánh giá hiệu quả đối kháng của dịch chiết xạ khuẩn với nấm *C. cassiicola*

Bán kính vòng vô khuẩn (BKVVK) và hiệu suất đối kháng (HSĐK) với nấm *C. cassiicola* của các nghiệm thức xử lý dịch chiết xạ khuẩn và thuốc trừ nấm Anvil 5SC được thể hiện ở Bảng 3. Anvil 5SC với hoạt chất hexaconazole là thuốc trừ nấm được khuyến cáo trong phòng trị bệnh rụng lá *Corynepora* trên cây cao su hiện nay.

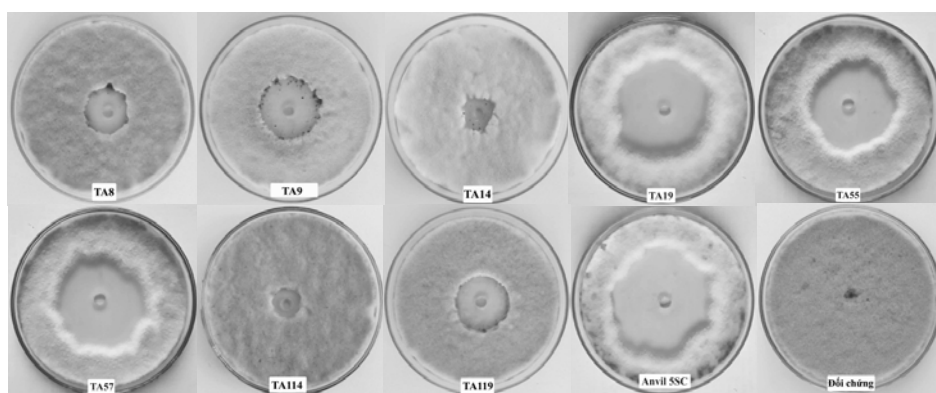
Bảng 3. Bán kính vòng vô khuẩn và hiệu suất đối kháng của các dịch chiết xạ khuẩn với nấm *C. cassiicola* ở thời điểm 7 ngày sau thí nghiệm

Xạ khuẩn/Thuốc trừ nấm	Bán kính vòng vô khuẩn (mm)	Hiệu suất đối kháng (%)
TA8	12,3 ^e	17,98 ^e
TA9	15,6 ^d	30,42 ^d
TA14	10,5 ^f	11,63 ^f
TA19	22,1 ^a	51,85 ^a
TA55	17,2 ^c	40,74 ^c
TA57	20,5 ^b	45,76 ^b
TA114	7,5 ^g	8,99 ^g
TA119	15,3 ^d	29,63 ^d
Anvil 5SC 0,2%	22,7 ^a	52,38 ^a
Đối chứng	0,00 ^h	0,00 ^h
CV%	4,21	3,48
F tính	411,93***	555,14****

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng một cột số liệu, có cùng mẫu tự thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,01$ trong trắc nghiệm Duncan.

Kết quả Bảng 3 cho thấy các nghiệm thức xử lý dịch chiết xạ khuẩn và thuốc trừ nấm đều có khả năng ức chế sự tăng trưởng của nấm *C. cassiicola* với BKVVK biến thiên từ 7,5 - 22,7 mm và HSDK từ 8,99 - 52,38%, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng (Hình 1). Ở thời điểm 7 ngày sau thí nghiệm, Anvil 5SC và chủng xạ khuẩn TA19 là hai nghiệm thức có BKVVK và HSDK cao nhất, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Trong đó, chủng TA19 có BKVVK và HSDK lần lượt là 22,7 mm và 51,85% tương đương thuốc Anvil 5SC với khác biệt không có ý

nghĩa thống kê. Kế đến, chủng TA57 có BKVVK là 20,5 mm với HSDK 45,76%, cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng xạ khuẩn còn lại. Từ kết quả thí nghiệm, TA19 và TA57 được xem là hai chủng xạ khuẩn triển vọng có khả năng đối kháng cao với nấm *C. cassiicola*. Kết quả này phù hợp với thí nghiệm đầu tiên khi chọn lọc các chủng xạ khuẩn có hiệu quả đối kháng nấm *C. cassiicola* bằng phương pháp đồng nuôi cấy. Trong số 124 chủng xạ khuẩn phân lập, TA19 là chủng có hoạt tính kháng nấm cao nhất (AB = 30,64 mm), TA57 ở vị trí thứ năm (AB = 27,3 mm).

**Hình 1. Hiệu quả đối kháng của các dịch chiết xạ khuẩn với nấm *C. cassiicola***

BKVVK và HSDK là hai chỉ tiêu quan trọng dùng để đánh giá hiệu quả kiểm soát của xạ khuẩn đối với các tác nhân gây bệnh cây trồng. Nhiều nghiên cứu về khả năng đối kháng của xạ khuẩn thông qua hai chỉ tiêu này đã được thực hiện. Hai chủng xạ khuẩn TO - 47 và TO - 67 phân lập từ đất trồng lúa thể hiện khả năng đối kháng cao với nấm *P. oryzae* với BKVVK lần lượt là 7,4 mm và 7,2 mm; HSDK là 68,46% và 66,44% [12]. Kết quả thí nghiệm tương tự nghiên cứu về khả năng đối kháng của xạ khuẩn với nấm *C. cassiicola* gây bệnh trên cây dưa leo [13]. Dịch chiết xạ khuẩn XN - 1 phân lập từ lá dưa leo có hiệu quả ức chế 78,34% tốc độ tăng trưởng của sợi nấm *C. cassiicola* trên môi trường PDA sau 3 ngày nuôi cấy.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Trong số 124 chủng xạ khuẩn phân lập từ lá cao su, 22 chủng thể hiện khả năng đối kháng với nấm *C. cassiicola*. Trong đó, 14 chủng có khả năng phân giải chitin, 22 chủng có khả năng phân giải cellulose và tiết hormon tăng trưởng IAA.

Từ 8 chủng xạ khuẩn được lựa chọn để thử nghiệm hiệu quả đối kháng bằng dịch chiết nuôi cấy, hai chủng TA19 và TA57 thể hiện khả năng ức chế sự tăng trưởng của nấm *C. cassiicola* cao nhất. Trong đó, chủng TA19 có BKVVK và HSDK tương đương thuốc trừ nấm Anvil 5SC.

4.2. Đề nghị

Tiếp tục khảo sát khả năng đối kháng của hai chủng xạ khuẩn TA19 và TA57 với nấm *C. cassiicola* bằng phương pháp

lây bệnh trên lá cao su cắt rời và trong điều kiện vườn nhân.

Khảo sát đặc điểm hình thái và định danh hai chủng xạ khuẩn TA19 và TA57.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ismail, H. and Jeyanayagi, I. (1999). Occurrence and identification of physiological races of *Corynespora cassiicola* of Hevea. In: Proceeding of IRRDB Symposium 1999, October 1999, HaiKou, Hainan, China. Hainan Publishing House, pp. 263 - 272.
2. Tập đoàn Công nghiệp Cao su Việt Nam, (2012). Quy trình Kỹ thuật Cây cao su.
3. Cook, R.J. (1993). Making greater use of microbial inoculants in agriculture. Annual Review of Phytopathology 31: 53 - 80.
4. Priya (2012). Endophytic Actinomycetes from Indian Medicinal Plants as Antagonists to Some Phytopathogenic Fungi. Open Access Scientific Reports (1, 4): 259.
5. Gopalakrishnan, S., Vadlamudi S., Katta, K. and Varshney, R.K. (2014). Evaluation of *Streptomyces* strains isolated from herbal vermicompost for their plant growth - promotion traits in rice. Microbiological Research 169 (2014) 40 - 48
6. Shutsrirung, A. and Boonkerd, N. (2013). Diversity of endophytic actinomycetes in mandarin grown in northern Thailand, their phytohormone production potential and plant growth promoting activity. Soil Science and Plant Nutrition 59: 322 - 330.
7. Moayed, G. and Ghalamfarsa, R.M. (2009). Antagonistic Activities of *Trichoderma* spp. on *Phytophthora* Root Rot of Sugar Beet. Iran Agricultural Research 29 (2): 21 - 38.
8. Lê Thị Huệ (2010). Khảo sát khả năng sinh tổng hợp enzyme chitinase của một số chủng nấm sợi thuộc giống *Aspergillus*, *Trichoderma* và ứng dụng. Luận văn Thạc sĩ Sinh học, Đại học Sư phạm Tp. Hồ Chí Minh.
9. Xue, L., Xue, Q., Chen, Q., Lin, C., Shen, G. and Zhao, J. (2013). Isolation and evaluation of rhizosphere actinomycetes with potential

- application for biocontrol of Verticillium wilt of cotton. *Crop Protection* 43: 231 - 240.
10. Khamana, S., Yokota, A., Peberdy, J.F. and Lumyyong, S. (2010). Indole - 3 - acetic acid production by *Streptomyces* sp. isolated from some Thai medicinal plant rhizospher soils. *EurAsia Journal BioSciences* 4: 23 - 32.
 11. Anwar, S., Ali, B. and Sajid, I. (2016). Screening of Rhizospheric Actinomycetes for Various In - vitro and In - vivo Plant Growth Promoting (PGP) Traits and for Agroactive Compounds. *Frontiers in Microbiology* 7: 1334.
 12. Nguyễn Thị Ánh Hồng (2014). Đánh giá khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với nấm *Pyricularia oryzae* Cavara gây bệnh cháy lá lúa và khảo sát một số cơ chế đối kháng của chúng. Luận văn Đại học ngành BVTV, Trường Đại học Cần Thơ.
 13. Wang, M. and Ma, Q. (2011). Antagonistic Actinomycete XN - 1 from Phyllosphere Microorganisms of Cucumber to Control *Corynespora cassiicola*. *Cucurbit Genetics Cooperative Report* 33 - 34: 17 - 21.

NGHIÊN CỨU BỆNH NẤM *Fusarium* spp. HẠI NGÔ VỤ HÈ THU NĂM 2018 TẠI GIA LÂM, HÀ NỘI VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG TRỪ

Đỗ Tấn Dũng, Đỗ Trung Kiên

Học viện Nông nghiệp Việt Nam

ABSTRACT

Studies on the damping - off disease caused by *Rhizoctonia solani* Kühn fungus in the range of different crops grown in 2019 Spring season in Gia Lam, Hanoi and control methods

Investigation of current status of fungal diseases of maize caused by Fusarium spp. in Gia Lam - Hanoi in 2018 indicated that disease incidence at the flagging stage was found to be the highest in three maize cultivars (NK4300, MK02 and MAX68), at 6.39%, 6.21% and 6.30%. After collecting diseased samples and isolating subsequently on the culture media, 11 isolates of Fusarium spp. were collected from different parts of maize (Leaf sheath, burning stems and seeds). Results from studying the inhibitory effects of antagonistic organism, Bacillus subtilis, against Fu - B - PD isolates on culture medium demonstrated that the effects reached its highest levels against BS-G, BS-0, BS-C and HT-7 at 69.09%, 67.27%, 69.69% and 69.09%, respectively. The effect gradually decreased when antagonistic bacteria were present at the same time and after sub - culturing Fusarium spp. The results of the inhibitory effect of antagonistic bacteria on the other isolates of Fusarium spp. on artificial media also gave similar results.

Keywords: *Fusarium* spp., disease symptoms, maize cultivars, fungal isolates, antagonistic bacteria (*Bacillus subtilis*), inhibitory effect.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây ngô được coi là cây lương thực đứng thứ 2 sau lúa gạo với diện tích hàng năm ngày càng tăng lên. Những năm gần đây, ngoài các giống ngô được chọn lọc lai tạo, nước ta còn nhập nội nhiều giống ngô có tiềm năng cho năng suất cao, phù hợp với các vùng sinh thái. Tuy nhiên việc sản xuất ngô chịu chi phối ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố vô sinh và hữu sinh, trong đó

ảnh hưởng trực tiếp là các bệnh nấm hại ngô. Bệnh nấm *Fusarium* gây thối gốc rễ, thối thân, thối bắp, gây mốc hồng, mốc đỏ trên bẹ, áo bắp, hạt ngô, khi bệnh phát sinh gây hại có thể ảnh hưởng rõ rệt đến năng suất và đặc biệt là chất lượng hạt ngô giống và ngô thương phẩm (Đỗ Tấn Dũng và cs., 2017). Vì vậy việc tiến hành nghiên cứu bệnh nấm *Fusarium* spp hại ngô và quản lý bệnh nhằm giảm thiểu tác hại do bệnh gây ra là vấn đề cần thiết trong sản xuất hiện nay.

Người phân biên: TS. Trần Nguyễn Hà.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu: Điều tra tình hình bệnh nấm *Fusarium* spp. hại ngô vùng Hà Nội năm 2018, nghiên cứu một số đặc điểm hình thái, sinh học và biện pháp sinh học quản lý bệnh.

Địa điểm nghiên cứu: Phòng thí nghiệm Bộ môn Bệnh cây, Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam và các xã trồng ngô vùng Gia Lâm, Hà Nội vụ Hè Thu năm 2018.

Vật liệu nghiên cứu: Các mẫu bệnh nấm *Fusarium* spp. hại ngô điều tra thu thập ngoài đồng ruộng; vi khuẩn đối kháng *Bacillus subtilis* (Isolate BS-G, BS-0, BS-C, HT-7, nguồn Bộ môn Bệnh cây). Môi trường nuôi cấy: WA, PDA, CLA, CZA và các trang thiết bị cần thiết tại phòng thí nghiệm Bộ môn Bệnh cây, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

Nội dung nghiên cứu: Điều tra, xác định tỷ lệ nhiễm bệnh nấm *Fusarium* spp. trên các giống ngô, phân ly nuôi cấy, nghiên cứu một số đặc tính sinh học của isolate nấm *Fusarium* spp.. Khảo sát hiệu lực của vi khuẩn đối kháng phòng trừ nấm *Fusarium* spp. hại ngô.

Phương pháp nghiên cứu: Điều tra bệnh theo Quy chuẩn Kỹ thuật Quốc gia về phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây ngô của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn năm 2014 (QCVN 01-167: 2014/BNNPTNT). Mỗi ruộng (giống ngô) điều tra theo 5 điểm đường chéo góc, số

mẫu điều tra của mỗi điểm là 15 cây ngẫu nhiên hoặc số bắp (hoặc bẹ lá, áo bắp) của 15 cây. Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ bệnh (TLB%). Phương pháp nghiên cứu trong phòng và nhà lưới: Dựa vào triệu chứng bệnh nấm *Fusarium* spp. điển hình xâm nhập gây hại các bộ phận cây ngô. Phân ly nuôi cấy nấm *Fusarium* spp. theo Phương pháp nghiên cứu BVTV tập I (Viện Bảo vệ thực vật, 1997) và Burgess, L.W và cs. (2009). Nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường đến sự phát triển của các isolate nấm *Fusarium* spp., quan sát đặc điểm hình thái màu sắc tán nấm, màu môi trường, cành bào tử phân sinh (Phialides) và bào tử phân sinh (conidium). Khảo sát hiệu lực ức chế của vi khuẩn đối kháng phòng trừ nấm *Fusarium* spp. trên môi trường nhân tạo.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Điều tra bệnh nấm *Fusarium* spp. hại ngô

Điều tra tình hình bệnh nấm *Fusarium* spp. hại ngô tại Gia Lâm, Hà Nội được trình bày ở bảng 1, 2 và 3. Số liệu điều tra cho thấy bệnh phát sinh gây hại từ giai đoạn cây ngô có 7 - 9 lá, cao điểm của bệnh vào giai đoạn trổ cờ trên ba giống ngô điều tra. Tỷ lệ bệnh cao nhất trên giống ngô NK4300 tại 3 điểm điều tra Đặng Xá, Kim Sơn, Phù Đổng lần lượt là 4,63, 5,22, 6,39%; trên giống MK02 có mức nhiễm bệnh tương ứng là 4,63, 5,40, 6,21% và trên giống MAX68 nhiễm bệnh ở 3 điểm điều tra tương ứng là 5,49, 5,17 và 6,30%.

Bảng 1. Diễn biến bệnh nấm Fusarium spp. hại ngô (giống NK4300) vụ Hè Thu tại Gia Lâm, Hà Nội

Ngày điều tra	Điểm điều tra GDST	Tỷ lệ bệnh (%) tại các điểm điều tra		
		Xã Đặng Xá	Xã Kim Sơn	Xã Phù Đổng
3/7/2018	7 - 9 lá	0,00	0,00	0,00
10/7/2018	Xoăn ngọn	0,93	1,07	1,20
17/7/2018	Xoăn ngọn	1,21	1,48	1,48
25/7/2018	Trở cờ	2,99	3,01	3,56
02/8/2018	Trở cờ	4,21	5,22	6,39
9/8/2018	Bấp non	2,49	2,53	2,28
16/8/2018	Bấp non	1,95	1,68	2,33
23/8/2018	Bấp	1,99	2,02	1,75

Ghi chú: GDST: Giai đoạn sinh trưởng.

Bảng 2. Diễn biến bệnh nấm Fusarium spp. hại ngô (giống MK02) vụ Hè Thu tại Gia Lâm, Hà Nội

Ngày điều tra	Điểm điều tra GDST	Tỷ lệ bệnh (%) tại các điểm điều tra		
		Xã Đặng Xá	Xã Kim Sơn	Xã Phù Đổng
9/7/2018	7 - 9 lá	0,00	0,27	0,80
16/7/2018	Xoăn ngọn	0,53	0,80	1,08
23/7/2018	Xoăn ngọn	1,34	1,62	1,49
01/8/2018	Trở cờ	3,13	3,56	4,40
8/8/2018	Trở cờ	4,63	5,40	6,21
15/8/2018	Bấp non	2,35	2,85	2,77
22/8/2018	Bấp non	2,26	2,63	2,69
29/8/2018	Bấp	2,00	1,75	2,77

Ghi chú: GDST: Giai đoạn sinh trưởng.

Bảng 3. Diễn biến bệnh nấm Fusarium spp. hại ngô (giống MAX68) vụ Hè Thu tại Gia Lâm, Hà Nội

Ngày điều tra	Điểm điều tra GDST	Tỷ lệ bệnh (%) tại các điểm điều tra		
		Xã Đặng Xá	Xã Kim Sơn	Xã Phù Đổng
11/7/2018	7 - 9 lá	0.13	0.27	0.27
18/7/2018	Xoăn ngọn	1.47	0.94	1.20
25/7/2018	Xoăn ngọn	1.36	1.49	2.57
03/8/2018	Trở cờ	2.75	4.66	5.28
10/8/2018	Trở cờ	5.49	5.17	6.30
17/8/2018	Bấp non	2.39	2.27	2.66
24/8/2018	Bấp non	2.61	2.64	2.41
03/9/2018	Bấp	1.89	2.07	1.98

Ghi chú: GDST: Giai đoạn sinh trưởng.

3.2. Phân ly nuôi cấy, nghiên cứu một số đặc điểm hình thái, sinh học các isolate nấm *Fusarium* spp. hại ngô

Kết quả nghiên cứu thể hiện ở Bảng 4, Bảng 5 và Bảng 6.

Bảng 4. Danh mục các isolate (mẫu phân lập) nấm *Fusarium* spp. hại ngô tại Gia Lâm, Hà Nội vụ Hè Thu năm 2018

STT	Điểm điều tra, thu thập mẫu bệnh	Bộ phận gây hại	Ký hiệu isolate nấm <i>Fusarium</i> spp.	Ngày phân lập
1	Kim Sơn - Gia Lâm	Áo bắp	Fu - B' - KS	14/6/2018
2	Đặng Xá - Gia Lâm	Hạt	Fu - H - ĐX	18/6/2018
3	Phù Đồng - Gia Lâm	Hạt	Fu - H - PĐ	01/7/2018
4	Dương Xá - Gia Lâm	Hạt	Fu - H - DX	08/7/2018
5	Kim Sơn - Gia Lâm	Bẹ lá	Fu - Bẹ - KS	08/7/2018
6	Phù Đồng - Gia Lâm	Bẹ lá	Fu - Bẹ - PĐ	08/7/2018
7	Đặng Xá - Gia Lâm	Bẹ lá	Fu - Bẹ - ĐX	15/7/2018
8	Đặng Xá - Gia Lâm	Áp bắp	Fu - B' - ĐX	05/8/2018
9	Kim Sơn - Gia Lâm	Đốt thân	Fu - Đốt - KS	05/8/2018
10	Đông Anh - Hà Nội	Bẹ lá	Fu - Bẹ - 2	15/9/2018
11	Đông Anh - Hà Nội	Đốt thân	Fu - Đốt - ĐA	20/9/2018

Số liệu Bảng 4 cho thấy, từ các mẫu cây ngô nhiễm bệnh, chúng tôi phân lập thuần chủng được 11 isolate nấm *Fusarium* spp. gây bệnh trên đốt thân, bẹ lá, áo bắp, hạt ngô tại các địa điểm khác nhau trong vùng Hà Nội.

Kết quả thí nghiệm thể hiện Bảng 5 và 6 cho thấy các isolate nấm *Fusarium* spp. hại ngô khi nuôi cấy trên 2 môi trường PGA và CZA đều phát triển thích hợp, thể hiện những đặc điểm riêng của loài *Fusarium* spp. về màu sắc tản nấm, màu môi trường, sợi nấm, quá trình hình thành

cành bào tử phân sinh và bào tử phân sinh. Trên 2 môi trường PGA và CZA, các isolate nấm *Fusarium* spp. có sự khác nhau rõ nét về độ bông xốp, màu sắc tản nấm và màu sắc môi trường. Kết quả quan sát sợi nấm, cành bào tử phân sinh và bào tử phân sinh của các isolate nấm *Fusarium* spp. dưới kính hiển vi cho thấy: Sợi nấm đa bào, không màu; cành bào tử phân sinh không màu, bào tử phân sinh không màu có 2 loại hình bào tử gồm: bào tử lớn đa bào, hình lưới liềm hoặc hơi cong, bào tử nhỏ đơn bào, hình oval hoặc hơi tròn.

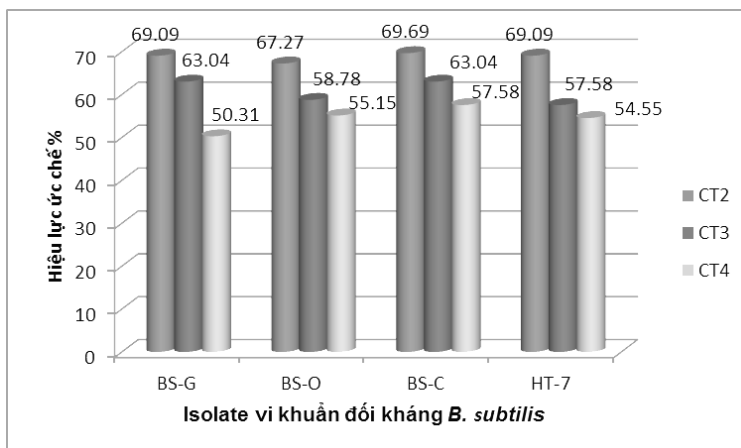
Bảng 5. Một số đặc điểm hình thái, sinh học nấm *Fusarium spp.* trên môi trường PDA

Isolate nấm <i>Fusarium spp.</i>	Một số đặc điểm hình thái sinh học nấm <i>Fusarium spp.</i> hại ngô			
	Đặc điểm tản nấm	Màu sắc môi trường	Đặc điểm sợi nấm	Đặc điểm bào tử
Fu - B' - KS	Bông, xốp, lúc đầu có màu trắng, về sau chuyển sang màu tím.	Tím	Đa bào, không màu	Bào tử lớn: có 3 - 5 vách ngăn, không màu, bào tử nhỏ hình oval.
Fu - H - ĐX	Xốp, lúc đầu có màu tím, trắng xen kẽ về sau chuyển sang màu tím đậm.	Tím đậm	Đa bào, không màu	Bào tử lớn không xuất hiện, bào tử nhỏ không màu, hình oval.
Fu - H - PĐ	Xốp, lúc đầu có màu trắng, về sau chuyển sang màu tím nhạt.	Nâu vàng	Đa bào, không màu	Hình thành bào tử hậu.
Fu - H - DX	Xốp, lúc đầu có màu trắng, về sau chuyển sang màu tím nhạt.	Tím nhạt	Đa bào, không màu	Bào tử lớn không xuất hiện, bào tử nhỏ không có vách ngăn, hình oval.
Fu - Bẹ - KS	Bông, xốp, lúc đầu có màu trắng, về sau chuyển sang màu tím nhạt.	Tím nhạt	Đa bào, không màu	Bào tử lớn không xuất hiện, bào tử nhỏ không màu hình oval.
Fu - Bẹ - PĐ	Bông, xốp, có màu trắng	Tím đậm	Đa bào, không màu	Bào tử lớn không xuất hiện, bào tử nhỏ đơn bào hình oval.
Fu - Bẹ - ĐX	Màu nâu vàng	Nâu vàng	Đa bào, không màu	Bào tử lớn có 3 - 5 vách ngăn, vách dày, không màu. Bào tử nhỏ đơn bào.
Fu - B' - ĐX	Bông, xốp, lúc đầu có màu trắng, về sau chuyển sang màu tím.	Tím	Đa bào, không màu	Bào tử lớn không xuất hiện trên môi trường. Bào tử nhỏ đơn bào, hình oval.
Fu - Đốt - KS	Xốp, lúc đầu có màu trắng, về sau chuyển sang màu tím.	Nâu vàng	Đa bào, không màu	Hình thành bào tử hậu.
Fu - bẹ - 2	Màu đỏ	Đỏ	Đa bào, không màu	Bào tử lớn không màu, có 3 vách ngăn. Bào tử nhỏ đơn bào, hình oval.
Fu - Đốt - ĐA	Xốp, có màu hồng	Hồng	Đa bào, không màu	Bào tử lớn không màu, đa bào, hai đầu nhọn, cong hình lưới liềm, 3 - 7 vách ngăn. Bào tử nhỏ không màu, đơn bào, hình elip.

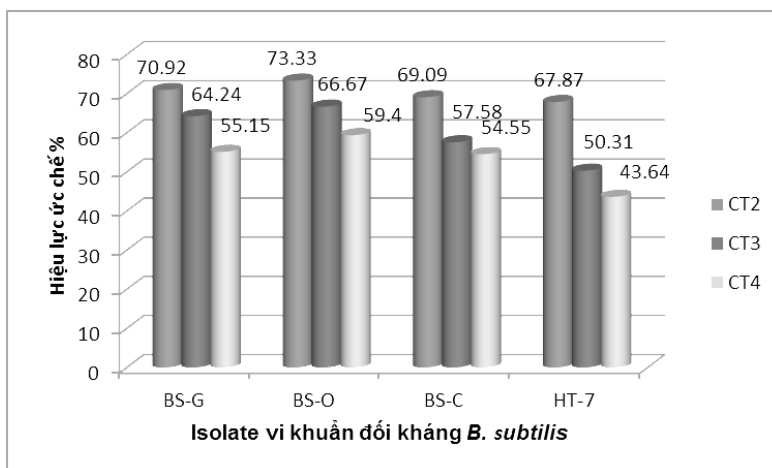
Bảng 6. Một số đặc điểm hình thái, sinh học nấm *Fusarium* spp. trên môi trường CZA

Isolate nấm <i>Fusarium</i> spp.	Một số đặc điểm hình thái sinh học nấm <i>Fusarium</i> spp. hại ngô			
	Đặc điểm tán nấm	Màu sắc môi trường	Đặc điểm sợi nấm	Đặc điểm bào tử
Fu - B' - KS	Bông, xốp, hồng nhạt	Vàng nhạt	Đa bào, không màu	Bào tử lớn: có 3 - 5 vách ngăn, không màu, bào tử nhỏ hình oval.
Fu - H - ĐX	Bông, xốp, hồng	Nâu vàng	Đa bào, không màu	Bào tử lớn không xuất hiện, bào tử nhỏ không màu, hình oval.
Fu - H - PĐ	Bông, xốp, hồng nhạt	Nâu vàng	Đa bào, không màu	Hình thành bào tử hậu.
Fu - H - DX	Bông, xốp, hồng nhạt	Vàng	Đa bào, không màu	Bào tử lớn không xuất hiện, bào tử nhỏ không có vách ngăn, hình oval.
Fu - Bẹ - KS	Bông, xốp, lúc đầu có màu vàng nhạt, về sau chuyển sang màu hồng nhạt.	Nâu vàng	Đa bào, không màu	Bào tử lớn không xuất hiện, bào tử nhỏ không màu hình oval.
Fu - Bẹ - PĐ	Bông, xốp, trắng	Vàng nhạt	Đa bào, không màu	Bào tử lớn không xuất hiện, bào tử nhỏ đơn bào hình oval.
Fu - Bẹ - ĐX	Bông, xốp, nâu vàng	Nâu vàng	Đa bào, không màu	Bào tử lớn có 3 - 5 vách ngăn, vách dày, không màu. Bào tử nhỏ đơn bào.
Fu - B' - ĐX	Bông, xốp, lúc đầu có màu vàng nhạt, về sau chuyển sang màu hồng.	Nâu vàng	Đa bào, không màu	Bào tử lớn không màu, có 3 - 4 vách ngăn. Bào tử nhỏ đơn bào, hình oval.
Fu - Đốt - KS	Bông, xốp, hồng nhạt	Vàng	Đa bào, không màu	Hình thành bào tử hậu.
Fu - bẹ - 2	Bông, xốp, trắng	Vàng nhạt	Đa bào, không màu	Bào tử lớn không màu, có 3 vách ngăn. Bào tử nhỏ đơn bào, hình oval.

* Khảo sát hiệu lực ức chế của vi khuẩn đối kháng (*Bacillus subtilis*) với nấm *Fusarium* spp. hại ngô trên môi trường nhân tạo, được trình bày ở Đồ thị 1 và 2.



Đồ thị 1. Hiệu lực ức chế của các isolate vi khuẩn đối kháng *Bacillus subtilis* với isolate nấm *Fu* - Bẹ - PĐ sau 5 ngày thí nghiệm trên môi trường PDA



Đồ thị 2. Hiệu lực ức chế của các isolate vi khuẩn đối kháng *Bacillus subtilis* với isolate nấm *Fu* - Bẹ - KS sau 5 ngày thí nghiệm trên môi trường PDA

Ghi chú: CT2: Cây vi khuẩn *B. subtilis* trước, sau 24 giờ cấy nấm *Fusarium* spp.; CT3: Cây đồng thời nấm *Fusarium* spp. và vi khuẩn *B. subtilis*, CT4: Cây nấm *Fusarium* spp. trước, sau 24 giờ cấy vi khuẩn *B. subtilis*.

Kết quả thí nghiệm khảo sát hiệu lực ức chế của vi khuẩn đối kháng với nấm *Fusarium* spp. hại ngô (Đồ thị 1) cho thấy:

Ở công thức 1, khi cấy riêng rẽ nấm *Fusarium* spp. thì isolate nấm *Fu* - Bẹ - PĐ phát triển nhanh, kích thước tản nấm tăng mạnh qua các ngày sau cấy. Ở công thức 2, khi isolate vi khuẩn đối kháng HT-7 có mặt trước nấm *Fu* - Bẹ - PĐ trên

môi trường 24 giờ, thì HLƯC của isolate vi khuẩn đối kháng HT-7 có HLƯC đạt cao nhất là 69,09%. Ở công thức 4, khi cấy isolate nấm *Fu* - Bẹ - PĐ trước isolate vi khuẩn đối kháng HT-7, thì isolate vi khuẩn đối kháng HT-7 có HLƯC đạt tới 54.55%. Nhưng khi cấy đồng thời isolate nấm *Fu* - Bẹ - PĐ và isolate vi khuẩn đối kháng HT-7 (CT3) thì HLƯC của isolate

vi khuẩn đối kháng HT-7 với nấm gây bệnh đạt đến 57,58%. Hiệu lực ức chế của các isolate vi khuẩn đối kháng BS-G, BS-O, BS-C với isolate nấm *Fu - Bẹ - PĐ* trên môi trường cũng cho những nhận xét tương tự. Thí nghiệm khảo sát hiệu lực ức chế của vi khuẩn đối kháng với isolate nấm *Fu - Bẹ - KS* (Đồ thị 2) cũng cho chúng tôi các kết quả tương tự. Kết quả nghiên cứu cho thấy có thể sử dụng vi khuẩn đối kháng (*Bacillus subtilis*) ứng dụng trong phòng trừ và quản lý bệnh nấm *Fusarium* spp. hại ngô.

IV. KẾT LUẬN

Điều tra đánh giá tỷ lệ nhiễm bệnh nấm *Fusarium* spp. trên 3 giống ngô NK4300, MK02, MAX68 vụ Hè Thu tại Gia Lâm, Hà Nội năm 2018. Phân ly nuôi cấy, nghiên cứu xác định được đặc điểm hình thái sinh học của 11 isolate nấm *Fusarium* spp. hại thân, bẹ lá, áo bắp và hạt. Khảo sát hiệu lực ức chế và phương pháp ứng dụng vi khuẩn đối kháng *Bacillus subtilis* trong phòng trừ quản lý bệnh nấm *Fusarium* spp. hại ngô.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tấn Dũng, Đỗ Trung Kiên (2018). *Nghiên cứu nấm Fusarium spp. hại ngô năm 2017 vùng Hà Nội*. Hội thảo Quốc gia Bệnh hại thực vật Việt Nam, lần thứ 17, tr. 73 - 78.
2. Hurria H.Al - Juboory and Kamil S. Juber, (2013). *Efficiency of some inoculation methods of Fusarium proliferatum and F.verticillioides on the systemic infection and seed transmission on maize under field conditions*. Dept. Plant Protection/College of Agriculture/University of Baghdad.
3. Nguyen Thi Thanh Xuan, 18/12/2013. *Comparative studies on the infection and colonization of maize leaves by Fusarium graminearum, F.proliferatum and F.verticillioides*".
4. John F. leslie and Brett A. Summerell (2012). *The Fusarium Laboratory Manual*.
5. Giovanna Caputo Almeida - Ferreira, Ione Parra Barbosa - Tessmann, Rose Segal, Miguel Miguel Machinski Junior (2012). *Occurrence of zearalenone in Wheat and corn based products commercialized in the State of Parana, Brazil*.
6. Andres Ares, J.L, R.C.Alonso Ferro, L.Campo Ramirez and J.Moreno Gonzalez, 2004. *Short communication. Fusarium graminearum Schwabe, a maize root and stalk rot pathogen isolated from lodged plants in northwest Spain*.
7. Lester W.Burgess, Brett A.Summerell, Suzanne Bullock, Kathryn P.Gott, David Backhouse. *Fusarium Research Laboratory* (1994). Department of Crop Sciences University of Sydney.
8. Lester W.Burgess *et al.* (2009). *Cẩm nang chẩn đoán bệnh cây ở Việt Nam*, 2012 tr.
9. QCVN 01-167: 2014/BNNPTNT. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây ngô, 16 tr.

MỘT SỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU BỆNH LỞ CỔ RỄ (*Rhizoctonia solani* Kühn) HẠI MỘT SỐ CÂY TRỒNG VỤ XUÂN NĂM 2019 TẠI GIA LÂM, HÀ NỘI VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG TRỪ

Đỗ Tấn Dũng, Đỗ Trung Kiên

Học viện Nông nghiệp Việt Nam

ABSTRACT

Studies on the damping - off disease caused by *Rhizoctonia solani* Kühn fungus in the range of different crops grown in 2019 Spring season in Gia Lam, Hanoi and control methods

*Damping - off disease (*Rhizoctonia solani*) is well - known to be a serious crop disease in the range of crops, such as tomato, soybean, cucumber, cowpea and peanut. Results of the current status of damping - off disease in 2018 showed that the developmental and harmful diseases on host plants were different and the highest rate of tomato disease was 7.6%, groundnut (4.5%), soybean (6.3%), cucumber (7.2%) and cowpea (6.6%). In addition to this, results from morphological and biological characteristics and pathogenicity of *R. solani* fungus isolates indicated that *R. solani* has wide host range. The inhibitory effect of *Trichoderma viride* (*T. viride*) antagonistic fungus against fungal isolates of *R. solani* on artificial medium demonstrated that the inhibitory effect with fungal isolate causing damping - off disease reached 79.1% on tomato, and reached 79.8% on cucumber. The effect of *T. viride* to prevent damping - off disease in pot conditions (on the ground disinfection) showed that the effect of *T. viride* antagonistic fungus with damping - off disease reached 73.2% on tomato, and 76.2% on cucumber.*

Keywords: Damping - off disease, *Rhizoctonia solani* fungus, host plant, biological control, *Trichoderma viride* antagonistic fungus.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong số các bệnh nấm hại vùng rễ trên cây trồng có nguồn gốc trong đất thì bệnh lở cổ rễ (LCR) do loài *Rhizoctonia solani* (*R. solani* Kühn) phát sinh gây hại phổ biến trên nhiều chủng loại cây trồng khác nhau thuộc họ Cà, họ Đậu, họ

Bầu bí,... Nấm gây bệnh có phạm vi ký chủ rộng, nguồn bệnh tồn tại chủ yếu trong đất, trên tàn dư cây bệnh, cây ký chủ, cỏ dại, vật liệu giống nhiễm bệnh,... Ảnh hưởng của các điều kiện thời tiết khí hậu, kỹ thuật chăm sóc, địa thế đất đai, chế độ luân canh cây trồng đến sự phát sinh và gây hại của bệnh cũng rất khác nhau. Vì vậy, việc tiến hành điều

Người phân biên: PGS.TS. Nguyễn Văn Viên.

tra nghiên cứu mức độ phổ biến, tác hại của bệnh lở cổ rễ và khảo sát biện pháp sinh học phòng trừ bệnh là cần thiết trong sản xuất cây rau màu hiện nay ở vùng Hà Nội và phụ cận.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Điều tra, thu thập mẫu bệnh lở cổ rễ hại một số cây ký chủ như cà chua, lạc, đậu tương, dưa chuột, đậu đũa,... và mẫu hạt giống một số loại cây trồng. Môi trường dùng để phân lập, nuôi cấy nấm *R. solani* như môi trường PDA (khoai tây - gluco - agar), PCA (khoai tây - cà rốt - agar) và môi trường WA (nước cất - agar). Nấm đối kháng *Trichoderma viride* do Bộ môn Bệnh cây, Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam cung cấp. Đất phù sa được khử trùng và một số hóa chất, vật tư thiết yếu khác phục vụ cho thí nghiệm. Nghiên cứu được thực hiện tại Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam và một số vùng trồng rau màu, huyện Gia Lâm, Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Điều tra bệnh lở cổ rễ hại một số cây trồng theo phương pháp điều tra phát hiện sâu bệnh hại cây trồng của Cục Bảo vệ thực vật (1995), Viện Bảo vệ thực vật (1997). Chọn ruộng, chọn điểm, điều tra theo phương pháp 5 điểm chéo góc, cố định điểm điều tra, mỗi điểm 50 cây, đếm số cây bị bệnh, tính tỷ lệ bệnh (TLB%), điều tra định kỳ 7 ngày một lần.

Phương pháp phân lập mẫu bệnh lở cổ rễ và phân lập nấm gây bệnh, theo phương pháp nghiên cứu bảo vệ thực vật, Viện Bảo vệ thực vật (1997).

Nghiên cứu đặc điểm hình thái, sinh học của các mẫu phân lập (Isolate) nấm *R. solani* trên môi trường PDA: Đặc điểm màu sắc tản nấm, hình thái sợi nấm, khả năng hình thành hạch, ảnh hưởng của nhiệt độ, môi trường nuôi cấy đến sự phát triển của nấm.

Nghiên cứu phạm vi ký chủ của nấm *R. solani*: Từ các isolate nấm *R. solani* thuần đã phân ly nuôi cấy được, lây nhiễm nhân tạo trên một số cây ký chủ (cà chua, dưa chuột, đậu tương) trong điều kiện chậu vại. Tiến hành lây nhiễm trên các mẫu hạt giống của một số cây trồng (lây nhiễm trên hạt khỏe); thí nghiệm được nhắc lại 3 lần, mỗi lần 30 hạt, 10 hạt trên mỗi chậu, mỗi chậu dùng 1 đĩa Petri (đường kính 90 mm) nuôi cấy nấm *R. solani* thuần. Theo dõi số cây bị bệnh sau lây nhiễm 7 - 14 ngày; tính TLB%.

Khảo sát hiệu lực ức chế và hiệu lực phòng trừ của nấm đối kháng *Trichoderma viride* với nấm *R. solani* gây bệnh lở cổ rễ trên cây cà chua, dưa chuột trên môi trường nhân tạo và trong điều kiện chậu vại.

- Các chỉ tiêu theo dõi và phương pháp xử lý số liệu:

$$TLB (\%) = \frac{A}{B} \times 100$$

Trong đó: A là số cây nhiễm bệnh lở cổ rễ; B là tổng số cây điều tra.

$$\text{Hiệu lực ức chế (HLUC \%)} = \frac{\text{ĐC} - \text{TN}}{\text{ĐC}} \times 100$$

ĐC: Đường kính tán nấm ở công thức đối chứng; TN: Đường kính tán nấm ở công thức thí nghiệm.

Trong đó: C là số hạt (cây) nhiễm bệnh lở cổ rễ ở công thức đối chứng, T là số hạt (cây) nhiễm bệnh lở cổ rễ ở công thức thí nghiệm (xử lý nấm đối kháng *Trichoderma viride*).

Các kết quả được tính toán sai số thí nghiệm bằng phương pháp phân tích phương sai với phần mềm IRRISTAT 5.0 (Phạm Tiến Dũng, Nguyễn Đình Hiền, 2010).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Điều tra thực trạng bệnh lở cổ rễ gây hại trên một số cây trồng cạn vùng Gia Lâm, Hà Nội năm 2018

Triệu chứng điển hình của bệnh là gây hại ở thời kỳ cây con, vết bệnh ban đầu có màu nâu, nâu nhạt ở phần cổ rễ hay phần thân còn non sát mặt đất, về sau chuyển sang màu nâu - nâu đen, vết bệnh phát triển làm cho bộ phận bị bệnh teo thắt, cây con đổ gục và chết (Hình 1 và 2). Bệnh phát triển gây hại làm ảnh hưởng lớn đến số cây trên diện tích gieo trồng, đến sự sinh trưởng và phát triển của cây. Kết quả điều tra, thu thập bệnh lở cổ rễ (LCR) gây hại trên một số cây trồng được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1. Tình hình bệnh lở cổ rễ trên một số cây trồng cạn phổ biến vùng Gia Lâm, Hà Nội vụ Xuân năm 2019

Ngày điều tra sau gieo, trồng	Tỷ lệ bệnh (%) trên các cây ký chủ				
	Cà chua	Lạc	Đậu tương	Dưa chuột	Đậu đũa
7	7,6	0	0	0,8	0,4
14	6,4	4,5	6,3	7,2	6,6
21	3,6	3,2	5,2	5,1	4,7
28	2,8	1,7	2,8	2,2	1,6
35	0,4	0,8	0,5	1,4	1,1

Kết quả điều tra cho thấy bệnh lở cổ rễ phát sinh phát triển rất phổ biến trên các loại cây rau màu khác nhau. Bệnh phát sinh gây hại nặng ở thời kỳ cây con và mức độ nhiễm bệnh giảm dần vào giai đoạn cây đã lớn. Mức độ nhiễm bệnh lở cổ rễ đạt cao nhất trên cà chua, lạc, đậu tương, dưa chuột, đậu đũa ở thời điểm điều tra sau gieo trồng 7 - 14 ngày, tương ứng là 7,6%; 4,5%; 6,3%; 7,2% và 6,6%. Điều tra bệnh lở cổ rễ trên các loại cây

trồng khác nhau như cây cải canh, cải bắp, súp lơ, mồng tơi, xà lách,... cũng cho chúng tôi những nhận xét tương tự về tình hình phát sinh gây hại của bệnh ngoài đồng ruộng.

3.2. Nghiên cứu một số đặc điểm hình thái, sinh học của các mẫu phân lập (isolate) nấm *Rhizoctonia solani* gây bệnh lở cổ rễ trên các cây ký chủ

Kết quả nghiên cứu trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Một số đặc điểm hình thái, sinh học các isolate nấm *Rhizoctonia solani* Kühn gây bệnh lở cổ rễ

Isolate nấm <i>R. solani</i> phân lập trên cây	Chi tiêu				
	Vách tế bào sợi nấm	Đặc điểm sợi nấm	Màu sắc sợi nấm	Khả năng hình thành hạch	Đặc điểm tản nấm
<i>R. solani</i> đậu đũa	Dày	Nhiều nhân, nhân to	Vàng nâu	Không	Màu vàng nâu, dẹt, bám chặt mặt môi trường.
<i>R. solani</i> cà chua	Mỏng	Ít nhân, nhân nhỏ	Vàng nhạt	Không	Màu vàng nâu, dẹt, bám chặt mặt môi trường.
<i>R. solani</i> dưa chuột	Mỏng	Ít nhân, nhân nhỏ	Vàng nhạt	Không	Màu vàng nâu, dẹt, bám chặt mặt môi trường.
<i>R. solani</i> lạc	Mỏng	Ít nhân, nhân nhỏ	Vàng nhạt	Không	Màu vàng nâu, dẹt, bám chặt mặt môi trường.
<i>R. solani</i> đậu tương	Mỏng	Ít nhân, nhân nhỏ	Vàng nhạt	Không	Màu vàng nhạt, sợi nấm bông, xốp trên mặt môi trường.
<i>R. solani</i> xà lách	Dày	Ít nhân, nhân nhỏ	Vàng nâu	Có	Màu vàng nhạt, sợi nấm bông, xốp trên mặt môi trường.

Quá trình phân lập, nuôi cấy nấm *Rhizoctonia solani* trên môi trường nhân tạo WA, PDA và giám định tác nhân gây bệnh. Kết quả cho thấy các isolate nấm *Rhizoctonia solani* đều có đặc điểm chung là tản nấm ban đầu có màu vàng nâu, nâu vàng nhạt, về sau chuyển sang màu nâu sẫm. Tản nấm thường phát triển với tốc độ rất nhanh, mịn áp sát bề mặt môi trường hoặc xốp, sợi nấm đa bào, màu nâu hoặc nâu vàng, phân nhánh nhiều, chỗ phân nhánh sợi nấm hơi thắt lại, sát đó có vách ngăn, phân nhánh gần như vuông góc. Hạch nấm khi non có màu trắng, khi hạch già có màu nâu, hơi thô, không định hình (chỉ có isolate nấm *R. solani* trên cây xà lách hình thành hạch trên môi trường). Các isolate nấm *R. solani* làm biến đổi màu môi trường nuôi cấy từ màu trắng đục, sang màu vàng nâu - nâu sẫm. Một số đặc điểm cấu tạo sợi nấm, màu sắc sợi,

vách tế bào sợi nấm cũng có sự khác nhau giữa các isolate nấm *R. solani* phân lập từ các cây ký chủ (Hình 1).

- Nghiên cứu phạm vi ký chủ của nấm *R. solani* gây bệnh lở cổ rễ: Lây nhiễm nhân tạo trong điều kiện chậu vại trên các cây ký chủ. Tiến hành sử dụng các isolate nấm *R. solani* thuần phân lập trên 3 cây ký chủ thuộc các họ thực vật khác nhau. Kết quả thí nghiệm được trình bày ở Bảng 3.

Số liệu bảng 3 cho thấy các isolate nấm *R. solani* phân lập từ cây cà chua, dưa chuột, đậu tương đều có thể lây nhiễm chéo cho nhau. Thời kỳ tiềm dục trên các cây ký chủ ngắn, dao động từ 3 - 4 ngày. Tỷ lệ phát bệnh trên các cây trồng lây nhiễm cũng khác nhau, khi lây nhiễm các isolate nấm *R. solani* trên chính cây ký chủ thường cao hơn so với

khi lây nhiễm isolates nấm *R. solani* phân lập từ cây trồng khác họ thực vật. Mặt khác, các isolate nấm *R. solani* phân lập trên các cây ký chủ cùng họ thực vật khi lây nhiễm chéo cho nhau đều cho tỷ lệ phát bệnh cao hơn các cây ký chủ khác họ. Qua đó cho thấy các isolate

nấm *R. solani* gây hại trên cây ký chủ khác nhau thể hiện tính gây bệnh và tính độc khác nhau. Kết quả nghiên cứu trên là cơ sở khoa học trong việc ứng dụng biện pháp luân canh trong phòng trừ bệnh lở cổ rễ gây hại các loại cây rau màu khác nhau.

Bảng 3. Kết quả lây nhiễm nhân tạo nấm *R. solani* gây bệnh lở cổ rễ trên một số cây ký chủ

Isolate nấm <i>R. solani</i> phân lập trên cây	Loại cây ký chủ	Số cây lây bệnh	Số cây nhiễm bệnh	Tỷ lệ phát bệnh (%)	Thời kỳ tiềm dục (ngày)
Cà chua	Cà chua	90	86	95,5 ^a	3 - 4
	Dưa chuột	90	84	93,3 ^a	3 - 4
	Đậu tương	90	80	88,8 ^b	4 - 5
Dưa chuột	Cà chua	90	85	94,4 ^b	3 - 4
	Dưa chuột	90	87	96,6 ^a	3
	Đậu tương	90	82	91,1 ^c	4 - 5
Đậu tương	Cà chua	90	79	87,7 ^b	4 - 5
	Dưa chuột	90	83	92,2 ^a	3 - 4
	Đậu tương	90	85	94,4 ^a	3 - 4

3.3. Khảo sát hiệu lực ức chế của nấm đối kháng *Trichoderma viride* (*T. viride*) với nấm *Rhizoctonia solani* (*R. solani*) hại cà chua và dưa chuột trên môi trường nhân tạo PDA

Thí nghiệm bố trí gồm 4 công thức, mỗi công thức nhắc lại 3 lần, mỗi lần 3 đĩa Petri: CT1: Cây riêng rẽ nấm *T.viride* và nấm *R.solani* riêng rẽ; CT2: Cây nấm *T.viride* trước, sau 24 giờ cấy nấm *R. solani*; CT3: Cây nấm *R.solani* trước, sau 24 giờ cấy nấm *T. viride*; CT4: cấy cùng nấm *R. solani* và nấm *T. viride* trên hộp môi trường. Chỉ tiêu theo dõi: Đo đường kính tản nấm ở mỗi công thức sau thí nghiệm 24, 48, 72 giờ, tính hiệu lực ức chế của nấm *T. viride* với nấm *R. solani*

theo công thức Abbott. Kết quả thí nghiệm trình bày ở Bảng 4 và 5.

Số liệu Bảng 4 và 5 đã cho thấy khi nấm *T. viride* có mặt trước nấm *R. solani* trên môi trường thì hiệu lực ức chế (HLƯC) cao nhất, tới 79,1% với nấm *R. solani* gây bệnh lở cổ rễ ở cà chua và 79,8% với nấm *R. solani* gây bệnh lở cổ rễ ở dưa chuột. Còn khi nấm đối kháng *T. viride* có mặt cùng hoặc sau nấm gây bệnh *R. solani* thì HLƯC của nó giảm dần. Qua đó chứng tỏ rằng khi nấm đối kháng có mặt trước nấm gây bệnh thì bản thân nó có khả năng sinh trưởng, phát triển nhanh, chiếm chỗ, cạnh tranh, sản sinh enzyme và độc tố có tác dụng ức chế, tiêu diệt nấm gây bệnh.

Bảng 4. Khảo sát hiệu lực ức chế của nấm đối kháng *T. viride* với nấm *R. solani* gây bệnh lở cổ rễ cây cà chua trên môi trường PDA

Đường kính tân nấm (mm) sau thí nghiệm	Công thức	Công thức 1		Công thức 2		Công thức 3		Công thức 4	
		<i>T. viride</i>	<i>R. solani</i>	<i>T. viride</i>	<i>R. solani</i>	<i>T. viride</i>	<i>R. solani</i>	<i>T. viride</i>	<i>R. solani</i>
24 giờ		24,5	21,6	23,3	-	-	21,5	22,9	20,8
48 giờ		64,1	54,7	53,7	21,1	21,7	45,9	52,1	32,7
72 giờ		90,0	90,0	69,6	18,9	30,2	58,1	54,1	35,0
HLƯC (%)				79,1		35,5		61,1	

Bảng 5. Khảo sát hiệu lực ức chế của nấm đối kháng *T. viride* với nấm *R. solani* gây bệnh lở cổ rễ cây dưa chuột trên môi trường PDA

Đường kính tân nấm (mm) sau thí nghiệm	Công thức	Công thức 1		Công thức 2		Công thức 3		Công thức 4	
		<i>T. viride</i>	<i>R. solani</i>	<i>T. viride</i>	<i>R. solani</i>	<i>T. viride</i>	<i>R. solani</i>	<i>T. viride</i>	<i>R. solani</i>
24 giờ		23,7	21,7	22,5	-	-	21,5	21,3	20,8
48 giờ		63,6	55,2	62,9	21,1	21,1	45,2	52,1	22,8
72 giờ		90,0	90,0	71,2	18,2	18,2	64,2	54,5	34,3
HLƯC (%)				79,8		28,7		61,9	

3.4. Khảo sát hiệu lực của nấm đối kháng *T. viride* phòng trừ bệnh lở cổ rễ cây cà chua và cây dưa chuột trong điều kiện chậu vại

Từ các kết quả nghiên cứu hiệu lực ức chế của nấm *T. viride* với các isolate nấm *R. solani* trên môi trường nhân tạo, chúng tôi tiến hành nghiên cứu khả năng phòng trừ bệnh lở cổ rễ gây hại ở cà chua và dưa chuột bằng nấm *T. viride* trong điều kiện chậu vại, trên nền đất phân đã khử trùng. Thí nghiệm gồm 4 công thức, mỗi công thức nhắc lại 3 lần, mỗi lần một chậu, mỗi chậu 30 hạt (hạt cà chua và dưa chuột khỏe).

Ghi chú: CT1: Ngâm hạt cà chua (hoặc hạt dưa chuột) trong dịch nấm *R. solani* 30 phút, sau đó gieo; CT2: Ngâm hạt cà chua (hoặc hạt dưa chuột) trong dịch nấm *R. solani* 30 phút, sau đó gieo, khi cây có lá mầm thì xử lý bằng dịch nấm *T. viride*; CT3: Ngâm hạt cà chua (hoặc hạt dưa chuột) trong dịch nấm *T. viride* 30 phút, sau đó gieo, khi có lá mầm thì xử lý bằng dịch nấm *R. solani*; CT4: Ngâm hạt cà chua (hoặc hạt dưa chuột) trong hỗn hợp dịch nấm *R. solani* và *T. viride* 30 phút, sau đó gieo.

Kết quả thí nghiệm phòng trừ bệnh lở cổ rễ thể hiện ở Bảng 6 và 7. Số liệu thí nghiệm cho thấy nấm đối kháng *T. viride* có hiệu lực cao trong phòng trừ bệnh lở cổ rễ gây hại ở cà chua và dưa chuột. Khi xử lý hạt cà chua (hoặc hạt dưa chuột) trong dịch nấm đối kháng *T. viride* trước nấm *R. solani* thì hiệu lực phòng trừ bệnh lở cổ rễ trên cà chua đạt cao nhất là 73,2% và bệnh lở cổ rễ hại trên dưa chuột là 76,2%.

Còn khi xử lý hạt bằng nấm đối kháng *T. viride* cùng với nấm *R. solani* thì hiệu lực phòng trừ bệnh lở cổ rễ trên cà chua và dưa chuột tương ứng là 52,6% và 50,1%, nhưng khi xử lý hạt bằng nấm đối kháng *T. viride* sau nấm *R. solani*, thì hiệu lực phòng trừ bệnh của nấm đối kháng giảm xuống rõ rệt (HLPT bệnh lở cổ rễ hại cà chua là 31,7% và bệnh lở cổ rễ dưa chuột là 36,9%).

Bảng 6. Hiệu lực phòng trừ của nấm đối kháng *Trichoderma viride* với bệnh lở cổ rễ cây cà chua trong điều kiện chậu vại

Công thức	Số hạt lây bệnh	Số hạt nhiễm bệnh	TLB (%)	HLPT (%)
CT1	90	82	91,1 ^a	0
CT2	90	56	62,2 ^b	31,7
CT3	90	22	24,4 ^d	73,2
CT 4	90	40	44,4 ^c	52,6

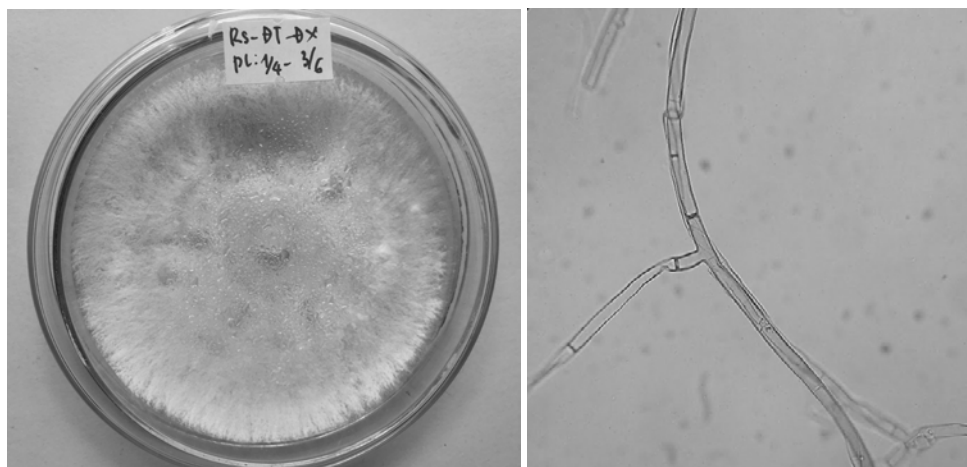
Bảng 7. Hiệu lực phòng trừ của nấm đối kháng *Trichoderma viride* với bệnh lở cổ rễ cây dưa chuột trong điều kiện chậu vại

Công thức	Số hạt lây bệnh	Số hạt nhiễm bệnh	TLB (%)	HLPT (%)
CT1	90	84	93,3 ^a	0
CT2	90	53	58,8 ^b	36,9
CT3	90	20	22,2 ^d	76,2
CT 4	90	42	46,6 ^c	50,1

IV. KẾT LUẬN

Bệnh lở cổ rễ hại cây trồng do loài nấm *R. solani* Kühn là một trong các loại bệnh phổ biến, phát sinh gây hại trên nhiều loại cây trồng khác nhau, nhất là giai đoạn cây con. Loài *R. solani* Kühn là loài có tính ký sinh đa thực và có phạm vi ký chủ rộng trên nhiều loài cây trồng như họ Cà, họ Đậu, họ Bầu bí,... Nấm đối

kháng *Trichoderma viride* có hiệu lực ức chế cao với nấm *R. solani* trên môi trường nhân tạo đạt tới 79,1% với nấm gây bệnh lở cổ rễ cây cà chua và 79,8% với nấm gây bệnh lở cổ rễ cây dưa chuột. Hiệu lực phòng trừ của nấm đối kháng *Trichoderma viride* với bệnh lở cổ rễ cây cà chua đạt tới 73,3% và bệnh lở cổ rễ cây dưa chuột là 76,3% trong điều kiện thí nghiệm trên chậu vại.



Hình 1. Hình thái tản nấm, sợi nấm *Rhizoctonia solani* gây bệnh lở cổ rễ cây đậu tương

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cục Bảo vệ thực vật (1995). Phương pháp điều tra phát hiện sâu, bệnh, cỏ dại hại cây trồng, NXB Nông nghiệp Hà Nội.
2. Đỗ Tấn Dũng (2001). Bệnh héo rũ hại một số cây trồng cạn và biện pháp phòng chống, NXB Nông nghiệp Hà Nội, 89 trang.
3. Phạm Tiến Dũng, Nguyễn Đình Hiền (2010). Thiết kế thí nghiệm và xử lý kết quả bằng phân tích thống kê IRRISTAT, NXB Tài chính, Hà Nội.
4. Lê Lương Tề (1997). Nghiên cứu hoạt tính đối kháng và khả năng ứng dụng chế phẩm sinh học *Trichoderma viride* phòng trừ bệnh cây, Tạp chí BVTV số 4/1997, tr. 8 - 12.
5. Trần Thị Thuần (1998). Hiệu quả đối kháng của nấm *Trichoderma viride* đối với nấm hại cây trồng, Tạp chí BVTV số 4/1998, tr. 16 - 20.
6. Viện Bảo vệ thực vật (1997). Phương pháp nghiên cứu Bảo vệ thực vật tập I, NXB Nông nghiệp Hà Nội.
7. Rachid Lahlali *et al.* (2010). Screening, identification and evaluation of potential biocontrol fungal endophytes against *Rhizoctonia solani* AG3 on potato. Research letter, University of Montréal, QC, Canada.
8. Radwan M. Barakat *et al.* (2007). Biological control of *Rhizoctonia solani* by indigenous *Trichoderma* spp isolates from Palestine, Hebron University Research Journal, vol 3, No1, pp.1 - 15.
9. Sneh, B., Burpee, L., Ogoshi, A. (1991). Identification of *Rhizoctonia* Species. American Phytopathological Society, APS Press. St. Paul, MN., p. 126 - 135.
10. Vincelli, P.C., Beapro, C. M.S. (1989). Comparison of media for isolating *Rhizoctonia solani* from soil. Plant Dis, pp. 1014 - 1017., p. 25 - 36.

ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI CỦA NẤM *Corynespora cassiicola* GÂY BỆNH RỤNG LÁ CORYNESPORA TRÊN CÂY CAO SU Ở VIỆT NAM

Nguyễn Đôn Hiệu¹, Nguyễn Anh Nghĩa¹
và Nguyễn Bảo Quốc²

¹ Viện Nghiên cứu Cao su Việt Nam

² Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh

ABSTRACT

Morphological characteristics of *Corynespora cassiicola* causing Corynespora leaf fall disease on rubber tree in Vietnam

Morphological characteristics on PSA culture medium of 76 Corynespora cassiicola isolates collected from 16 rubber clones in Vietnam was analyzed. Colony morphology of the studied isolates varied from light grey to dark grey colour, thin or thick hairy texture, and round or slightly polygonal shape. Growth of these isolates ranged from very slow to very fast. Some isolates produced pink pigment. In addition, conidial morphology was found greatly different in shape and size not only among isolates but also within each isolate. Conidia was obclavate, cylindrical, straight, curved or oval with the size ranging from 14.0 µm to 385.4 µm in length and from 1.9 µm to 14.1 µm in width. The number of pseudoseptate varied from 0 to 26.

Keywords: *Corynespora cassiicola*, isolate, rubber clone, rubber tree.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm *Corynespora cassiicola*, tác nhân gây bệnh rụng lá Corynespora trên cây cao su, là một trong những đối tượng quan trọng được quan tâm tại hầu hết các nước trồng cao su do mức độ và phạm vi của bệnh gia tăng nhanh chóng. Tác hại của bệnh ảnh hưởng sinh trưởng và sản lượng, gây thiệt hại kinh tế nghiêm trọng. Nấm phân bố trên nhiều vùng sinh thái và có phổ ký chủ rộng với 404 loài thực vật thuộc các nhóm cây ăn quả, cây công

nh nghiệp, cây lâm nghiệp, cây ngũ cốc, cây rau màu và nhiều loại cây cảnh (Farr và Rossman, 2019).

Cho đến nay, nghiên cứu về đa dạng di truyền và tính gây bệnh của nấm *C. cassiicola* trên cây cao su tại Việt Nam đã chứng minh có ít nhất 02 nhóm di truyền chính tồn tại trên cây cao su và một số cây ký chủ khác nhưng chưa thể làm sáng tỏ mối tương quan phù hợp giữa các phân nhóm di truyền với đặc điểm hình thái, tính gây bệnh, nguồn gốc địa lý hoặc nguồn gốc ký chủ của các mẫu nấm (Nguyễn Đôn Hiệu và ctv., 2014). Trong nghiên cứu này, đặc điểm hình thái của 76

Người phân biên: GS.TS. Nguyễn Văn Tuất.

mẫu phân lập (MPL) nấm *C. cassiicola* thu thập từ cây cao su trên nhiều vùng địa lý ở Việt Nam đã được khảo sát trên môi trường nuôi cấy nhân tạo PSA (Potato Sucrose Agar). Kết quả nghiên cứu là nguồn dữ liệu cho các nghiên cứu về đa dạng di truyền, tuyển chọn thuốc trừ nấm, tuyển chọn giống cao su kháng bệnh và trên cơ sở đó góp phần hiểu hơn về đặc điểm dịch tễ học của loài nấm này.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Nguồn nấm: Các nguồn nấm đơn bào tử được phân lập trên cây cao su tại nhiều vùng trồng cao su ở Việt Nam. Tổng số mẫu nấm thu được là 76 MPL nấm tại 12 tỉnh phân bố trải rộng từ khu vực Đông Nam Bộ, Tây Nguyên, Miền Trung và Miền núi phía Bắc. Số mẫu nấm thu thập tại vùng Đông Nam Bộ là 40 MPL, bao gồm: Bình Dương (12 MPL), Bình Phước (8 MPL), Tây Ninh (5 MPL), Đồng Nai (15 MPL); Số mẫu nấm thu thập tại vùng Tây Nguyên là 8 MPL, bao gồm: Gia Lai (4 MPL), Kon Tum (4 MPL); Số mẫu nấm thu thập tại Miền Trung là 19 MPL, gồm có: Bình Thuận (7 MPL), Quảng Nam (9 MPL), Quảng Trị (3 MPL). Số mẫu nấm thu tại Miền Búi Phía Bắc là 9 MPL, gồm có: Lai Châu (3 MPL), Sơn La (3 MPL) và Lào Cai (3 MPL). Các MPL nấm đã được giải trình tự vùng rDNA-ITS và được xác định đúng là nấm *Corynespora cassiicola*. Trình tự nucleotide của 76 MPL nấm đã được đăng ký trên cơ sở dữ liệu GenBank (NCBI GenBank database) với mã số đăng ký (accession number) từ KF387577 đến KF387609 và từ MK896359 đến MK896420.

Các thiết bị dụng cụ cần thiết cho thí nghiệm nuôi cấy trong phòng thí nghiệm: Nồi hấp khử trùng, tủ sấy tiệt trùng, đèn cồn, que cấy tam giác, que cấy thẳng, kim mũi mác, lame, lammele, kính hiển vi quang học, đĩa Petri, bình tam giác, becher các loại, bình cầu và môi trường nuôi cấy PSA.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, 76 nghiệm thức tương ứng với 76 MPL, các MPL được cấy trên môi trường PSA, mỗi MPL cấy 3 đĩa Petri ứng với 3 lần lặp lại. Môi trường PSA sau khi hấp tiệt trùng được cho vào đĩa Petri (25 ml/đĩa) để nguội rồi tiến hành cấy mẫu nấm có đường kính 0,8 cm vào trung tâm đĩa, để ở nhiệt độ $27 \pm 2^\circ\text{C}$ trong 7 ngày.

Các chỉ tiêu theo dõi:

- Đường kính tản nấm (cm) ở thời điểm 7 ngày sau khi cấy nấm.
- Quan sát và mô tả màu sắc, cấu trúc và hình dạng của tản nấm ở thời điểm 7 ngày sau cấy nấm.
- Kích thước bào tử nấm: đo chiều dài và chiều rộng bào tử ở thời điểm 7 ngày sau cấy nấm, mỗi MPL (nghiệm thức) đo 50 bào tử.
- Đếm số vách ngăn giả ở mỗi bào tử (pseudosepta conidia), mỗi MPL (nghiệm thức) đếm 50 bào tử.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm hình thái tản nấm *C. cassiicola*

Tất cả 76 MPL đều sinh trưởng tốt trên môi trường PSA, có sự khác biệt về

màu sắc tản nấm (từ xám trắng, xám, xám đen), hình dạng (từ tròn đến đa giác), cấu trúc sợi nấm mọc trên bề mặt môi trường tạo tản nấm từ mỏng đến dày, sợi nấm của các MPL mọc chìm hoặc mọc nhô cao lên khỏi bề mặt môi trường (Bảng 1).

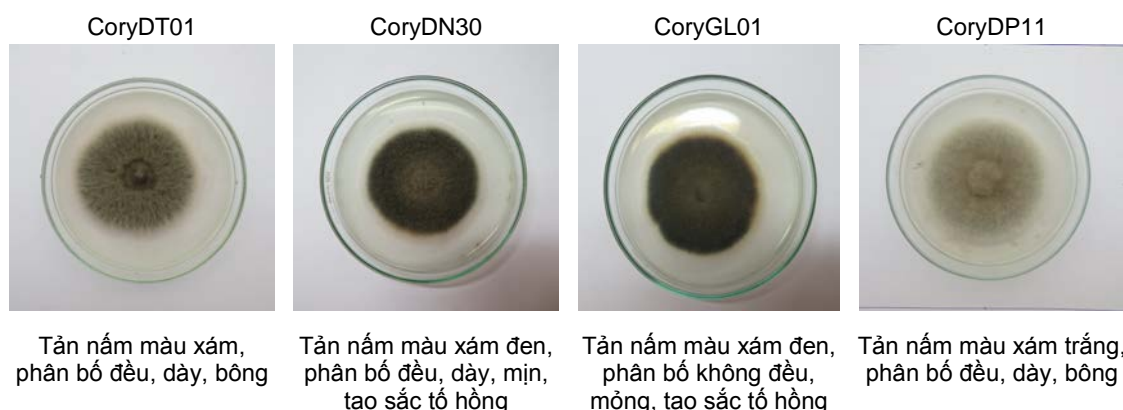
Màu sắc tản nấm biến thiên từ xám trắng đến xám đen, một số MPL tạo sắc tố hồng làm đổi màu một phần môi trường nuôi cấy. Màu sắc tản nấm của phần lớn số MPL là màu xám (49 MPL), kể đến là màu xám đen (19 MPL), và 8 MPL còn lại có tản nấm màu xám trắng (CoryDT02, CoryDP11, CoryDN32, CoryBT17, CoryBT18, CorySL01, CoryLCAI1 và CoryLCAI2).

Hình dạng tản nấm, phần lớn các MPL có tản nấm hình dạng tròn tương đối đều (67 MPL) và 9 MPL còn lại có sợi nấm mọc không đồng đều tạo tản nấm hình đa giác (CoryLK02, CoryGL01, CoryKT02, CoryKT03, CoryBT08, CoryBT18, CoryQN01, CoryQN08 và CoryQN14).

Phần lớn số MPL nấm (64 MPL) có cấu trúc tản nấm được xếp vào nhóm “dày, bông”, sợi nấm mọc nhiều, mọc bông lên khỏi bề mặt môi trường. Nhóm có cấu trúc “dày, mịn” với kết cấu sợi nấm mịn, mọc dày lên khỏi bề mặt môi trường, gồm 7 MPL (CoryLK32, CoryDN30, CoryPK01, CoryBT13, CoryBT17, CoryLCAI1, CoryLCAI2). Còn lại 5 MPL thuộc nhóm có cấu trúc tản

nấm “mỏng”: CoryDN13, CoryGL01, CoryQN03, CoryQN08 và CoryLCAI3.

Tốc độ tăng trưởng tản nấm trung bình sau 7 ngày nuôi cấy và kích thước tản nấm ở thời điểm 7 ngày sau cấy có sự khác biệt ý nghĩa giữa những MPL (Bảng 1). Phân tích trắc nghiệm đa đoạn Duncan tách các nguồn nấm ra thành nhiều nhóm. Các MPL CoryDN10, CoryBT06, CoryDN03, CoryDT04, CoryLK24, CoryDN15, CoryDP08 và CoryBT03 có tốc độ tăng trưởng nhanh (10,5 - 11,5 mm/ngày), tương ứng với kích thước tản nấm sau 7 ngày nuôi cấy từ 73,7 mm đến 80,3 mm, tăng trưởng nhanh nhất là MPL CoryBT03. Các MPL CoryKT03, CoryKT02, CoryGL01, CoryLC01, CoryBT17, CoryDN06, CoryLK27, CoryKT04, CoryDP04, CoryLK32, CoryGL03, CoryLK02, CoryDT01, CoryQN03, CoryLK60, CoryQN08, CoryKT01, CoryLCAI1, CoryDT03, CoryQN01, CoryDN24, CoryDN30, CoryPK01, CoryBT08, CoryTN02, CoryQN14, CoryTN09 và CoryLK33 có tốc độ tăng trưởng chậm (6,2 - 8,4 mm/ngày), tương ứng với kích thước tản nấm sau 7 ngày nuôi cấy từ 43,3 mm đến 59,0 mm, tăng trưởng chậm nhất là MPL CoryKT03. Các MPL còn lại có tốc độ tăng trưởng ở mức trung bình (8,5 - 10,1 mm/ngày), tương ứng với kích thước tản nấm sau 7 ngày nuôi cấy từ 60 mm đến 71 mm.



Hình 1. Sự biến thiên về hình thái tàn nấm *C. cassicola* nuôi cấy trên môi trường PSA

Bảng 1. Một số đặc điểm hình thái và sinh trưởng của tàn nấm *C. cassicola* sau 7 ngày nuôi cấy trên môi trường PSA

STT	MPL	Màu sắc	Hình dạng	Cấu trúc	Tốc độ tăng trưởng trung bình (mm/ngày) TB ± SD	Kích thước (mm) TB ± SD
1	CoryLK02	Xám	Tròn	Dày, bông	7,7 ^{t-y} ± 0,1	54,0 ^{u-z} ± 1,0
2	CoryLK24	Xám	Tròn	Dày, bông	10,9 ^{a-d} ± 0,1	76,0 ^{a-d} ± 1,0
3	CoryLK27	Xám	Tròn	Dày, bông	7,3 ^{v-z} ± 0,2	51,3 ^{w-a'} ± 1,5
4	CoryLK29	Xám	Tròn	Dày, bông	9,2 ^{i-p} ± 0,2	64,7 ^{i-q} ± 1,5
5	CoryLK32	Xám đen	Đa giác	Dày, mịn	7,7 ^{u-y} ± 0,2	53,7 ^{v-z} ± 1,5
6	CoryLK33	Xám	Tròn	Dày, bông	8,4 ^{m-v} ± 0,1	59,0 ^{m-w} ± 1,0
7	CoryLK60	Xám	Tròn	Dày, bông	7,8 ^{t-y} ± 0,1	54,3 ^{u-z} ± 0,6
8	CoryDT01	Xám	Tròn	Dày, bông	7,7 ^{t-y} ± 0,1	54,0 ^{u-z} ± 1,0
9	CoryDT02	Xám trắng	Tròn	Dày, bông	9,4 ^{h-n} ± 0,1	66,0 ^{h-n} ± 1,0
10	CoryDT03	Xám	Tròn	Dày, bông	7,9 ^{s-y} ± 0,3	55,3 ^{t-z} ± 2,1
11	CoryDT04	Xám đen	Tròn	Dày, bông	10,7 ^{a-e} ± 0,4	75,0 ^{a-e} ± 2,6
12	CoryDT05	Xám	Tròn	Dày, bông	8,9 ^{j-s} ± 0,1	62,0 ^{j-u} ± 1,0
13	CoryBL01	Xám	Tròn	Dày, bông	9,1 ^{i-q} ± 0,2	63,7 ^{i-s} ± 1,5
14	CoryDP03	Xám	Tròn	Dày, bông	9,3 ^{i-p} ± 0,4	65,0 ^{i-q} ± 2,6
15	CoryDP04	Xám	Tròn	Dày, bông	7,6 ^{u-y} ± 0,1	53,3 ^{v-z} ± 0,6
16	CoryDP07	Xám đen	Tròn	Dày, bông	9,0 ^{i-s} ± 0,4	63,0 ^{i-t} ± 2,6
17	CoryDP08	Xám	Tròn	Dày, bông	11,1 ^{ab} ± 0,3	77,7 ^{ab} ± 2,1
18	CoryDP09	Xám	Tròn	Dày, bông	9,4 ^{h-n} ± 0,1	66,0 ^{h-n} ± 1,0
19	CoryDP11	Xám trắng	Tròn	Dày, bông	9,8 ^{d-k} ± 0,8	68,7 ^{d-k} ± 5,7
20	CoryTN02	Xám	Tròn	Dày, bông	8,3 ^{n-w} ± 0,4	58,3 ^{o-w} ± 2,5
21	CoryTN09	Xám	Tròn	Dày, bông	8,4 ^{m-v} ± 0,1	59,0 ^{m-w} ± 1,0
22	CoryTN10	Xám	Tròn	Dày, bông	9,1 ^{i-q} ± 0,4	64,0 ^{i-r} ± 2,6
23	CoryTN11	Xám	Tròn	Dày, bông	9,5 ^{f-m} ± 0,6	66,7 ^{f-n} ± 4,2

STT	MPL	Màu sắc	Hình dạng	Cấu trúc	Tốc độ tăng trưởng trung bình (mm/ngày) TB ± SD	Kích thước (mm) TB ± SD
24	CoryTN13	Xám	Tròn	Dày, bông	9,4 ^{h-n} ± 0,4	66,0 ^{h-n} ± 3,0
25	CoryDN03	Xám đen	Tròn	Dày, bông	10,6 ^{a-f} ± 0,7	74,3 ^{a-f} ± 5,1
26	CoryDN06	Xám	Tròn	Dày, bông	7,2 ^{w-a'} ± 0,5	50,7 ^{x-b'} ± 3,2
27	CoryDN07	Xám	Tròn	Dày, bông	9,6 ^{e-l} ± 0,2	67,3 ^{i-t} ± 1,5
28	CoryDN10	Xám	Tròn	Dày, bông	10,5 ^{a-h} ± 0,1	73,7 ^{a-h} ± 0,6
29	CoryDN12	Xám	Tròn	Dày, bông	8,7 ^{k-u} ± 0,1	61,0 ^{k-v} ± 1,0
30	CoryDN13	Xám	Tròn	Dày, bông	8,6 ^{l-u} ± 0,4	60,0 ^{l-v} ± 2,6
31	CoryDN15	Xám đen	Tròn	Mỏng	10,9 ^{abc} ± 0,2	76,3 ^{abc} ± 1,2
32	CoryDN21	Xám đen	Tròn	Dày, bông	9,2 ^{i-p} ± 0,3	64,7 ^{i-q} ± 2,1
33	CoryDN23	Xám	Tròn	Dày, bông	9,5 ^{f-m} ± 0,6	66,3 ^{g-n} ± 4,0
34	CoryDN24	Xám	Tròn	Dày, bông	8,0 ^{q-w} ± 0,4	56,3 ^{r-y} ± 2,9
35	CoryDN25	Xám	Tròn	Dày, bông	9,2 ^{i-p} ± 0,1	64,7 ^{i-q} ± 0,6
36	CoryDN27	Xám đen	Tròn	Dày, bông	8,8 ^{k-u} ± 0,2	61,3 ^{k-v} ± 1,5
37	CoryDN30	Xám đen	Tròn	Dày, mịn	8,1 ^{p-w} ± 0,5	57,0 ^{q-w} ± 3,5
38	CoryDN32	Xám trắng	Tròn	Dày, bông	9,4 ^{h-n} ± 0,6	66,0 ^{h-n} ± 4,0
39	CoryDN39	Xám	Tròn	Dày, bông	9,5 ^{g-n} ± 0,1	66,3 ^{g-n} ± 0,6
40	CoryPK01	Xám	Tròn	Dày, mịn	8,2 ^{o-w} ± 0,5	57,3 ^{p-w} ± 3,2
41	CoryGL01	Xám đen	Đa giác	Mỏng	6,9 ^{y-a'} ± 0,8	48,3 ^{z-b'} ± 5,7
42	CoryGL02	Xám	Tròn	Dày, bông	6,9 ^{y-a'} ± 0,3	48,3 ^{z-b'} ± 2,1
43	CoryGL03	Xám	Tròn	Dày, bông	7,7 ^{u-y} ± 0,4	54,0 ^{u-z} ± 2,6
44	CoryKT01	Xám đen	Tròn	Dày, mịn	7,9 ^{s-y} ± 0,2	55,3 ^{t-z} ± 1,5
45	CoryKT02	Xám	Đa giác	Dày, bông	6,4 ^{z-a'} ± 0,1	45,0 ^{a-b'} ± 1,0
46	CoryKT03	Xám đen	Đa giác	Dày, bông	6,2 ^{a'} ± 0,3	43,3 ^{b'} ± 2,3
47	CoryKT04	Xám	Tròn	Dày, bông	7,4 ^{v-z} ± 0,1	51,7 ^{w-a'} ± 0,6
48	CoryBT03	Xám	Tròn	Dày, bông	11,5 ^a ± 0,1	80,3 ^a ± 0,6
49	CoryBT06	Xám	Tròn	Dày, bông	10,6 ^{a-g} ± 0,1	74,0 ^{a-g} ± 1,0
50	CoryBT08	Xám	Đa giác	Dày, bông	8,2 ^{o-w} ± 0,4	57,3 ^{p-w} ± 2,5
51	CoryBT09	Xám	Tròn	Dày, bông	9,0 ^{i-r} ± 0,5	63,3 ^{i-t} ± 3,5
52	CoryBT13	Xám	Tròn	Dày, mịn	8,6 ^{k-u} ± 0,1	60,3 ^{l-v} ± 0,6
53	CoryBT17	Xám trắng	Tròn	Dày, mịn	7,2 ^{w-a'} ± 0,7	50,7 ^{x-b'} ± 4,7
54	CoryBT18	Xám trắng	Đa giác	Dày, bông	9,0 ^{i-r} ± 0,4	63,3 ^{i-t} ± 2,9
55	CoryQN01	Xám	Đa giác	Dày, bông	8,0 ^{r-y} ± 0,2	55,7 ^{s-z} ± 1,5
56	CoryQN02	Xám đen	Tròn	Dày, bông	8,9 ^{j-s} ± 0,7	62,0 ^{j-u} ± 4,6
57	CoryQN03	Xám đen	Tròn	Mỏng	7,7 ^{t-y} ± 0,2	54,0 ^{u-z} ± 1,7
58	CoryQN04	Xám đen	Tròn	Dày, bông	9,7 ^{e-l} ± 0,4	67,7 ^{e-l} ± 2,5
59	CoryQN05	Xám	Tròn	Dày, bông	8,7 ^{k-u} ± 0,2	61,0 ^{k-v} ± 1,7
60	CoryQN06	Xám	Tròn	Dày, bông	9,1 ^{i-q} ± 0,2	64,0 ^{i-r} ± 1,7
61	CoryQN07	Xám	Tròn	Dày, bông	9,3 ^{i-o} ± 0,3	65,3 ^{i-p} ± 2,1
62	CoryQN08	Xám	Đa giác	Mỏng	7,8 ^{t-y} ± 0,7	54,7 ^{u-z} ± 4,7

STT	MPL	Màu sắc	Hình dạng	Cấu trúc	Tốc độ tăng trưởng trung bình (mm/ngày) TB ± SD	Kích thước (mm) TB ± SD
63	CoryQN13	Xám	Tròn	Dày, bông	8,6 ^{l-u} ± 0,8	60,3 ^{l-v} ± 5,5
64	CoryQN14	Xám đen	Đa giác	Dày, bông	8,4 ^{m-v} ± 0,9	58,7 ^{n-x} ± 6,4
65	CoryQT01	Xám	Tròn	Dày, bông	9,6 ^{e-l} ± 0,1	67,3 ^{e-l} ± 0,6
66	CoryQT02	Xám	Tròn	Dày, bông	9,7 ^{e-l} ± 0,6	68,0 ^{e-l} ± 4,0
67	CoryQT03	Xám	Tròn	Dày, bông	8,7 ^{k-u} ± 1,9	61,0 ^{k-v} ± 13,0
68	CoryLC01	Xám đen	Tròn	Dày, bông	7,0 ^{x-a'} ± 0,4	49,0 ^{y-b'} ± 3,0
69	CoryLC02	Xám	Tròn	Dày, bông	9,6 ^{f-m} ± 0,4	67,0 ^{f-m} ± 2,6
70	CoryLC03	Xám	Tròn	Dày, bông	9,4 ⁱ⁻ⁿ ± 0,4	65,7 ^{i-o} ± 3,1
71	CorySL01	Xám, trắng	Tròn	Xám trắng	10,1 ^{b-i} ± 0,4	71,0 ^{b-i} ± 3,0
72	CorySL02	Xám	Tròn	Dày, bông	10,0 ^{c-j} ± 0,3	70,0 ^{c-j} ± 2,0
73	CorySL03	Xám	Tròn	Dày, bông	9,7 ^{e-l} ± 0,3	68,0 ^{e-l} ± 2,0
74	CoryLcai01	Xám trắng	Tròn	Dày, mịn	7,9 ^{s-y} ± 0,2	55,3 ^{t-z} ± 1,5
75	CoryLcai02	Xám trắng	Tròn	Dày, mịn	10,0 ^{c-j} ± 0,3	70,0 ^{c-j} ± 2,0
76	CoryLcai03	Xám đen	Tròn	Mỏng	9,0 ^{i-s} ± 0,6	63,3 ^{i-t} ± 4,0
<i>F tính</i>					19,73**	19,67**
<i>CV%</i>					5,0	5,01

Ghi chú: TB: Giá trị trung bình, SD: Độ lệch chuẩn.

Các giá trị trung bình trong cùng một cột số liệu, có cùng mẫu tự thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,01$ trong trắc nghiệm Duncan.

3.2. Đặc điểm hình thái bào tử của nấm *C. cassiicola*

Sự đa dạng về hình thái bào tử được ghi nhận không chỉ giữa những MPL khác nhau mà ngay cả trên cùng một MPL nấm. Ghi nhận sự biến thiên về hình dạng bào tử (hình chùy, dài, thẳng, cong lưỡi liềm, bầu dục), kích thước bào tử với chiều dài từ 14 μm đến 385,4 μm , chiều rộng từ 3,7 μm đến 14,1 μm , số vách ngăn giả (speudosepta) từ 0 đến 26 vách ngăn. Có nhiều dạng bào tử trên cùng mỗi MPL và tỷ lệ các dạng hình này rất khác nhau giữa các MPL. Các biến thể trong hình dạng bào tử và tỷ lệ của các hình dạng này khác nhau giữa các MPL. Các hình dạng có thể chiếm đa số ở MPL này nhưng là thiểu số trên MPL khác. Trong số 3.800 bào tử

được quan sát, bào tử dài nhất là 385,4 μm được ghi nhận trên MPL CoryBT17, bào tử ngắn nhất là 14 μm được ghi nhận trên MPL CoryBT08, bào tử có bề rộng lớn nhất là 14,1 μm được ghi nhận trên MPL CoryBT18, bào tử có bề rộng nhỏ nhất là 3,7 μm được ghi nhận trên MPL CoryQN07, bào tử có số vách ngăn giả nhiều nhất cũng được ghi nhận trên MPL CoryBT08 (26 vách ngăn), nhiều bào tử không có vách ngăn được ghi nhận trên nhiều MPL nấm.

Kết quả trình bày tại Bảng 2 cho thấy có sự khác biệt ý nghĩa về kích thước trung bình của bào tử giữa những MPL nấm. Trong đó, CoryDN30 là mẫu nấm có giá trị trung bình chiều dài bào tử lớn nhất (169,7 μm) tương ứng với trung bình số

vách ngăn giả nhiều nhất (12,1 vách ngăn), CoryBT13 là mẫu nấm có giá trị trung bình chiều dài bào tử ngắn nhất (37,8 μm) tương ứng với trung bình số vách ngăn giả ít nhất (1,2 vách ngăn). Trong khi đó, CoryQN14 là mẫu nấm có giá trị trung bình chiều rộng lớn nhất (8,4 μm) và MPL CoryLCAI2 có giá trị trung bình chiều rộng nhỏ nhất (5,9 μm).

Một số MPL có giá trị trung bình số vách ngăn giả rất thấp (1,2 - 1,7 vách ngăn) như CoryBT13, CorySL01, CoryKT02 và CoryGL03. Kết quả phân tích trắc nghiệm đa đoạn Duncan có thể phân tách các nguồn nấm ra thành 22 nhóm theo chiều dài bào tử, 26 nhóm theo chiều rộng bào tử và 23 nhóm theo số lượng vách ngăn trên bào tử.



Hình 2. Sự biến thiên về hình dạng và kích thước của bào tử nấm *C. cassiicola*

Bảng 2. Kích thước chiều dài, chiều rộng và số vách ngăn giả (speudosepta) của bào tử nấm *C. cassiicola*

STT	MPL	Chiều dài (μm) TB \pm SD	Chiều rộng (μm) TB \pm SD	Số vách ngăn TB \pm SD
1	CoryLK02	89,0 ^{d-n} \pm 31,4	7,5 ^{c-r} \pm 1,3	2,8 ^{s-x} \pm 1,5
2	CoryLK24	89,4 ^{d-m} \pm 31,8	7,8 ^{a-m} \pm 1,2	2,7 ^{s-x} \pm 1,3
3	CoryLK27	82,7 ^{e-o} \pm 24,4	7,0 ^{m-y} \pm 1,1	3,3 ^{n-v} \pm 1,6
4	CoryLK29	80,6 ^{g-r} \pm 28,9	7,6 ^{b-p} \pm 1,3	3,1 ^{p-w} \pm 1,9
5	CoryLK32	61,5 ^{p-x} \pm 25,8	6,9 ^{n-y} \pm 1,1	2,1 ^{w-y} \pm 1,4
6	CoryLK33	104,6 ^{d-g} \pm 37,7	7,1 ^{l-y} \pm 1,4	2,4 ^{u-y} \pm 1,7
7	CoryLK60	82,0 ^{f-q} \pm 27,6	8,1 ^{a-f} \pm 1,6	2,8 ^{s-x} \pm 1,3
8	CoryDT01	79,9 ^{g-r} \pm 46,6	7,1 ^{k-w} \pm 1,5	3,7 ^{k-u} \pm 2,4
9	CoryDT02	64,5 ^{n-w} \pm 25,9	7,1 ^{l-y} \pm 1,2	3,2 ^{p-w} \pm 1,7
10	CoryDT03	82,9 ^{e-o} \pm 42,9	7,1 ^{l-y} \pm 1,3	4,5 ^{e-r} \pm 2,5
11	CoryDT04	95,7 ^{d-j} \pm 35,1	7,7 ^{a-n} \pm 1,2	5,1 ^{d-l} \pm 1,9
12	CoryDT05	103,6 ^{d-g} \pm 41,8	7,1 ^{k-w} \pm 1,6	6,7 ^c \pm 3,6
13	CoryBL01	81,9 ^{f-q} \pm 43,3	7,3 ^{h-v} \pm 1,4	4,5 ^{e-r} \pm 2,5
14	CoryDP03	71,9 ^{j-v} \pm 32,5	7,1 ^{k-x} \pm 1,2	4,1 ^{h-t} \pm 2,3

STT	MPL	Chiều dài (μm)		Chiều rộng (μm)		Số vách ngăn	
		TB \pm SD		TB \pm SD		TB \pm SD	
15	CoryDP04	76,0 ^{h-r}	$\pm 43,2$	7,3 ^{h-v}	$\pm 1,0$	3,8 ^{j-u}	$\pm 2,6$
16	CoryDP07	76,5 ^{h-r}	$\pm 29,6$	7,4 ^{d-t}	$\pm 1,1$	4,6 ^{e-q}	$\pm 2,1$
17	CoryDP08	94,5 ^{d-k}	$\pm 41,8$	7,7 ^{a-n}	$\pm 1,1$	5,7 ^{c-g}	$\pm 2,4$
18	CoryDP09	85,4 ^{e-o}	$\pm 29,9$	7,7 ^{a-n}	$\pm 1,2$	4,9 ^{d-n}	$\pm 2,5$
19	CoryDP11	94,5 ^{d-k}	$\pm 40,4$	7,9 ^{a-l}	$\pm 1,1$	5,5 ^{c-i}	$\pm 3,2$
20	CoryTN02	77,9 ^{h-r}	$\pm 30,9$	8,1 ^{a-f}	$\pm 1,2$	2,6 ^{t-y}	$\pm 1,6$
21	CoryTN09	92,2 ^{d-k}	$\pm 30,8$	7,6 ^{c-q}	$\pm 1,2$	2,8 ^{s-x}	$\pm 1,4$
22	CoryTN10	111,4 ^{cd}	$\pm 43,4$	6,9 ^{m-y}	$\pm 1,2$	5,7 ^{c-f}	$\pm 3,3$
23	CoryTN11	76,9 ^{h-r}	$\pm 33,6$	7,0 ^{m-y}	$\pm 1,0$	3,0 ^{q-w}	$\pm 1,7$
24	CoryTN13	82,2 ^{f-q}	$\pm 33,0$	8,0 ^{a-h}	$\pm 1,2$	4,2 ^{f-s}	$\pm 2,7$
25	CoryDN03	54,8 ^{s-y}	$\pm 28,0$	7,5 ^{c-s}	$\pm 1,3$	2,7 ^{s-x}	$\pm 2,3$
26	CoryDN06	79,9 ^{g-r}	$\pm 30,3$	7,5 ^{c-s}	$\pm 1,1$	4,3 ^{f-s}	$\pm 2,0$
27	CoryDN07	105,7 ^{def}	$\pm 33,9$	8,1 ^{a-f}	$\pm 1,0$	5,9 ^{cde}	$\pm 2,7$
28	CoryDN10	97,5 ^{d-i}	$\pm 42,7$	8,0 ^{a-i}	$\pm 1,2$	5,9 ^{cde}	$\pm 3,3$
29	CoryDN12	91,0 ^{d-l}	$\pm 36,8$	8,2 ^{a-e}	$\pm 1,1$	4,9 ^{d-n}	$\pm 2,5$
30	CoryDN13	93,2 ^{d-k}	$\pm 38,2$	8,1 ^{a-g}	$\pm 1,5$	5,2 ^{c-k}	$\pm 2,7$
31	CoryDN15	66,5 ^{h-w}	$\pm 41,9$	7,6 ^{c-r}	$\pm 1,3$	3,6 ^{l-v}	$\pm 3,2$
32	CoryDN21	88,2 ^{d-n}	$\pm 34,1$	7,9 ^{a-l}	$\pm 1,3$	4,7 ^{d-p}	$\pm 2,1$
33	CoryDN23	65,9 ^{m-w}	$\pm 29,2$	7,3 ^{g-u}	$\pm 1,2$	3,0 ^{q-w}	$\pm 1,8$
34	CoryDN24	53,6 ^{t-y}	$\pm 20,5$	6,8 ^{f-y}	$\pm 1,0$	3,0 ^{q-w}	$\pm 1,9$
35	CoryDN25	77,1 ^{h-r}	$\pm 29,8$	7,5 ^{c-r}	$\pm 1,1$	4,2 ^{g-t}	$\pm 2,1$
36	CoryDN27	61,5 ^{p-x}	$\pm 45,7$	6,8 ^{q-y}	$\pm 1,2$	3,1 ^{p-w}	$\pm 2,7$
37	CoryDN30	169,7 ^a	$\pm 62,4$	6,6 ^{u-z}	$\pm 0,8$	12,1 ^a	$\pm 4,9$
38	CoryDN32	78,2 ^{h-s}	$\pm 30,6$	8,0 ^{a-j}	$\pm 1,0$	3,1 ^{p-w}	$\pm 1,5$
39	CoryDN39	85,9 ^{e-o}	$\pm 47,7$	8,3 ^{abc}	$\pm 1,5$	2,6 ^{t-y}	$\pm 1,7$
40	CoryPK01	93,5 ^{d-k}	$\pm 55,4$	6,3 ^{y-z}	$\pm 1,1$	4,0 ^{i-u}	$\pm 3,3$
41	CoryGL01	92,5 ^{d-k}	$\pm 35,2$	7,0 ^{m-y}	$\pm 1,3$	5,4 ^{c-i}	$\pm 2,0$
42	CoryGL02	56,3 ^{f-y}	$\pm 28,0$	6,3 ^{x-z}	$\pm 1,1$	3,1 ^{p-w}	$\pm 1,8$
43	CoryGL03	69,9 ^{k-v}	$\pm 29,6$	6,5 ^{v-z}	$\pm 1,0$	1,7 ^{w-y}	$\pm 1,1$
44	CoryKT01	128,0 ^{bc}	$\pm 53,7$	7,6 ^{b-q}	$\pm 1,5$	5,6 ^{c-h}	$\pm 3,5$
45	CoryKT02	45,7 ^{w-y}	$\pm 19,8$	6,7 ^{t-y}	$\pm 1,2$	1,7 ^{w-y}	$\pm 2,1$
46	CoryKT03	62,9 ^{o-w}	$\pm 36,7$	6,7 ^{s-y}	$\pm 1,4$	4,7 ^{d-p}	$\pm 3,3$
47	CoryKT04	93,6 ^{d-k}	$\pm 37,5$	6,9 ^{m-y}	$\pm 1,1$	2,4 ^{u-y}	$\pm 1,4$
48	CoryBT03	78,5 ^{h-s}	$\pm 49,7$	7,5 ^{c-r}	$\pm 1,6$	4,2 ^{g-t}	$\pm 3,2$
49	CoryBT06	75,9 ^{h-r}	$\pm 27,3$	6,8 ^{o-y}	$\pm 0,9$	3,5 ^{m-v}	$\pm 2,1$
50	CoryBT08	135,4 ^b	$\pm 76,1$	8,4 ^{ab}	$\pm 1,5$	10,4 ^b	$\pm 6,9$
51	CoryBT09	88,7 ^{d-n}	$\pm 35,2$	8,2 ^{a-d}	$\pm 1,8$	3,1 ^{p-w}	$\pm 1,6$
52	CoryBT13	37,7 ^y	$\pm 12,5$	7,2 ^{h-v}	$\pm 0,9$	1,2 ^y	$\pm 1,0$
53	CoryBT17	84,5 ^{e-o}	$\pm 56,3$	7,6 ^{c-q}	$\pm 1,3$	2,9 ^{r-w}	$\pm 2,5$
54	CoryBT18	88,7 ^{d-n}	$\pm 76,6$	7,7 ^{a-n}	$\pm 1,9$	3,7 ^{i-u}	$\pm 3,3$
55	CoryQN01	99,9 ^{d-h}	$\pm 27,7$	7,1 ^{k-w}	$\pm 1,1$	2,9 ^{s-w}	$\pm 1,4$
56	CoryQN02	90,4 ^{d-m}	$\pm 34,9$	7,6 ^{b-p}	$\pm 1,4$	2,6 ^{t-y}	$\pm 1,3$
57	CoryQN03	98,1 ^{d-i}	$\pm 41,6$	7,2 ^{j-w}	$\pm 1,3$	5,0 ^{d-m}	$\pm 2,8$
58	CoryQN04	61,6 ^{p-x}	$\pm 39,9$	6,6 ^{u-z}	$\pm 1,3$	3,7 ^{k-u}	$\pm 3,6$

STT	MPL	Chiều dài (μm)	Chiều rộng (μm)	Số vách ngăn
		TB \pm SD	TB \pm SD	TB \pm SD
59	CoryQN05	80,3 ^{g-r} \pm 33,6	7,0 ^{m-y} \pm 1,2	3,4 ^{n-v} \pm 1,8
60	CoryQN06	83,8 ^{e-o} \pm 41,0	7,2 ^{h-v} \pm 1,5	2,6 ^{t-y} \pm 1,9
61	CoryQN07	74,5 ^{i-u} \pm 28,7	6,6 ^{u-z} \pm 1,1	2,8 ^{s-x} \pm 1,8
62	CoryQN08	74,8 ^{i-u} \pm 49,4	7,2 ^{h-v} \pm 1,4	4,0 ^{i-u} \pm 3,2
63	CoryQN13	107,0 ^{de} \pm 41,9	8,2 ^{a-d} \pm 1,3	2,8 ^{s-x} \pm 1,7
64	CoryQN14	80,4 ^{g-r} \pm 39,4	8,4 ^a \pm 1,3	3,3 ^{o-w} \pm 2,2
65	CoryQT01	106,0 ^{def} \pm 42,4	7,3 ^{t-u} \pm 1,4	6,2 ^{c-d} \pm 2,9
66	CoryQT02	86,6 ^{e-o} \pm 33,1	7,7 ^{a-o} \pm 1,1	5,3 ^{c-j} \pm 2,3
67	CoryQT03	83,0 ^{e-o} \pm 29,8	8,0 ^{a-h} \pm 1,2	4,8 ^{d-o} \pm 2,1
68	CoryLC01	69,6 ^{k-v} \pm 42,9	6,8 ^{p-y} \pm 1,3	5,2 ^{c-k} \pm 4,1
69	CoryLC02	80,6 ^{g-r} \pm 42,1	7,4 ^{e-u} \pm 1,2	3,4 ^{m-v} \pm 2,1
70	CoryLC03	93,0 ^{d-k} \pm 39,3	7,1 ^{k-x} \pm 1,2	5,7 ^{c-f} \pm 2,5
71	CorySL01	55,2 ^{s-y} \pm 25,3	7,9 ^{a-k} \pm 1,6	1,3 ^{x-y} \pm 1,5
72	CorySL02	51,1 ^{u-y} \pm 27,3	7,4 ^{t-u} \pm 1,3	2,5 ^{u-y} \pm 1,7
73	CorySL03	57,8 ^{q-y} \pm 36,2	7,8 ^{a-m} \pm 1,1	2,6 ^{t-y} \pm 1,7
74	CoryLcai01	48,1 ^{v-y} \pm 21,1	6,4 ^{w-z} \pm 1,2	2,7 ^{s-x} \pm 1,9
75	CoryLcai02	62,1 ^{o-x} \pm 39,0	5,9 ^z \pm 1,0	3,4 ^{m-v} \pm 2,6
76	CoryLcai03	39,1 ^{x-y} \pm 18,1	7,2 ^{i-v} \pm 1,2	2,1 ^{w-y} \pm 1,3
	<i>F</i> tính	14,98**	9,65**	24,49**
	CV%	46,84	17,14	63,61

Ghi chú: TB: Giá trị trung bình, SD: Độ lệch chuẩn.

Các giá trị trung bình trong cùng một cột số liệu, có cùng mẫu tự thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,01$ trong trắc nghiệm Duncan.

3.3. Thảo luận

Đặc điểm hình thái của 76 MPL nấm trong nghiên cứu này được ghi nhận phù hợp với mô tả trong tài liệu tra cứu CMI (Commonwealth Mycology Institute) về đặc điểm hình thái của nấm *C. cassiicola* (Ellis và Holliday, 1971). Bên cạnh đó, trình tự vùng rDNA-ITS của các MPL nấm đã được giải và đăng ký trên cơ sở dữ liệu GenBank (NCBI GenBank database) khẳng định 76 MPL được nghiên cứu thuộc về loài *C. cassiicola*.

Sự khác biệt về hình thái tản nấm, hình thái bào tử của các MPL nấm được ghi nhận trong nghiên cứu này là khá tương đồng và phù hợp với các nghiên

cứ trước đây của Nguyen Anh Nghia (2009); Silva và ctv. (1998); Darmono và ctv. (1996); Phan Thanh Dung (1995); Chee (1988) và Onesirosan và ctv. (1974. Sự biến thiên về kích thước và hình dạng của bào tử không chỉ được ghi nhận giữa các MPL khác nhau mà còn trong cùng một MPL nấm.

Nghiên cứu đặc điểm hình thái đóng vai trò quan trọng trong phân loại nấm, là phương pháp cổ điển, không thể thiếu trong nghiên cứu nấm bệnh vì có thể nhận dạng loài nấm bệnh một cách nhanh chóng, khá chính xác và dễ thực hiện. Tuy nhiên, căn cứ vào các đặc điểm hình thái thì không thể giúp xác định có hay không sự khác biệt về cấu trúc di truyền của nấm

ở mức dưới loài. Sự biến thiên về đặc điểm hình thái của 76 MPL nấm là rất cao ở tất cả các chỉ tiêu quan trắc dẫn đến mối hoài nghi về sự đa dạng ở mức dưới loài của những mẫu nấm này, nhưng sử dụng phương pháp nghiên cứu hình thái không thể tìm thấy được mối tương quan giữa chúng. Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu cũng không ghi nhận được mối tương quan về sự khác biệt hình thái của 76 MPL với nguồn gốc ký chủ (DVT cao su) hoặc vùng địa lý nơi mẫu nấm được thu thập. Hiện nay, có nhiều chỉ thị phân tử là công cụ hữu ích trong nhận diện và phân nhóm các đặc điểm di truyền của nấm ở mức độ dưới loài. Vì vậy, để có thể hiểu rõ hơn về loài nấm này thì việc tiếp tục áp dụng các kỹ thuật phân tử kết hợp với nghiên cứu tính gây bệnh của nấm là rất cần thiết.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Có sự đa dạng về màu sắc, kích thước, hình dạng, sự phân bố tản nấm và hình thái bào tử nấm *C. cassiicola* thu được trên cây cao su tại nhiều vùng địa lý khác nhau ở Việt Nam. Nghiên cứu đặc điểm hình thái giúp nhận dạng nhưng không thể phân nhóm nấm *C. cassiicola* ở cấp độ dưới loài.

4.2. Đề nghị

Ứng dụng các chỉ thị phân tử để nghiên cứu đa dạng di truyền của loài nấm này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chee K.H. (1988). Studies on sporulation, pathogenicity and epidemiology of *Corynespora*. *Journal of Natural Rubber Research* 1: 21 - 29.
2. Damono T.W., Darussamin A. and Pawirosoemardjo S. (1996). Variation among isolates of *Corynespora cassiicola* associated with *Hevea brasiliensis* in Indonesia. In: *Proceeding Workshop on Corynespora Leaf Fall Disease of Hevea Rubber, Medan, Indonesia. Indonesian Rubber Research Institute*: 79 - 91.
3. Ellis, M.B., Holliday, P. (1971). *Corynespora cassiicola*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria 303, pp. 1 - 2.
4. Farr, D.F., Rossman, A.Y. (2019). Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Retrieved May 4, 2019, from <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>.
5. Nguyen Don Hieu, Nguyen Anh Nghia, Vu Thi Quynh Chi and Phan Thanh Dung (2014). *Genetic diversity and pathogenicity of Corynespora cassiicola isolates from rubber tree and other hosts in Vietnam*. *Journal of Rubber Research*, 73 (3): 187 - 203.
6. Nguyen Anh Nghia. (2009). *Diversity of Corynespora cassiicola isolates and changes in rubber (Hevea brasiliensis) leaf protein profiles in response to pathogen inoculation*. PhD. Thesis, Universiti Putra Malaysia.
7. Onesirosan P.T., Arny D.C., Durbin R.D. (1974). Host specificity of Nigerian and North American isolates of *Corynespora cassiicola*. *Phytopathology* 64: 1365 - 1367.
8. Phan Thanh Dung. (1995). *Studies on C.cassiicola (Berk. & Curt) Wei on rubber*. MSc. thesis, University Pertanian Malaysia.
9. Silva W.P.K., Deverall B.J. and Lyon B.R. (1998). Molecular, physiological and pathological characterization of *Corynespora* leaf spot fungi from rubber plantations in Sri Lanka. *Plant pathology* 47 (3): 267 - 277.

PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH MỘT SỐ LOÀI NẤM GÂY HẠI TRÊN SÂM NGỌC LINH

Trần Thị Hoa¹, Nguyễn Thị Hồng Hà¹, Đỗ Tiến Phát^{1,2}
Lương Văn Hào³, Phạm Bích Ngọc^{1,2}

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

² Học viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam,
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³ Trung tâm Cứu hộ, Bảo tồn và Phát triển sinh vật Hoàn Liên

ABSTRACT

Isolation and identification of fungi on rotten roots of Ngọc Linh Ginseng

Thirteen fungal strains were isolated from four rotten roots of Ngọc Linh Ginseng in Kontum. The fungi could be divided into MS1 to MS13 groups based on their morphological characteristics. Of these strains, MS3 was found in all four analyzed samples at high density. This strain was observed in isolated medium with green color, short hairs, hyphae like garbage and white border. The morphological, physiological, biochemical analysis were performed to deeply classify and characterize the MS3 strain. In addition, ITS regions were amplified and used for sequencing. The results showed that MS3 belongs to Fusarium genus with high similarity (98.57%) to Aspergillus. This initial result should be potential for further researches in Ngọc Linh Ginseng protection from fungal disease.

Keywords: Ngọc Linh Ginseng, Aspergillus, Fusarium, Kon Tum.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâm Ngọc Linh (SNL) là một loài cây thuộc họ Araliaceae. Sâm có nhiều tên gọi khác nhau như: sâm Việt Nam, sâm Khu Năm (sâm K5), sâm trúc (sâm đốt trúc, trúc tiết nhân sâm), củ ngải rơm con hay cây thuốc giầu. Đây là loại sâm quý được tìm thấy tại miền Trung Trung Bộ Việt Nam. SNL phân bố ở nơi có độ cao từ 1200 m trở lên tại các huyện miền núi

Ngọc Linh thuộc huyện Đăk Tô và huyện Tu Mơ Rông tỉnh Kon Tum, huyện Nam Trà My tỉnh Quảng Nam. Đây là một loại cây thân thảo sống lâu năm, cao 40 cm đến 100 cm, thân rễ có sẹo và các đốt như đốt trúc, có màu lục hoặc hơi tím, đường kính thân độ 4 - 8 mm (Thanh Hải, 2017) (Cam Lu - Trương Hiệu, 2011).

Sâm Ngọc Linh cũng là loại nhân sâm thứ 20 được tìm thấy trên thế giới và được đánh giá là loài sâm tốt nhất thế giới hiện nay. Theo kết quả nghiên cứu từ năm

Người phân biên: GS.TS. Vũ Triệu Mân.

1978 của Bộ Y tế Việt Nam, phần thân rễ của cây sâm Ngọc Linh Việt Nam chứa 50 hợp chất saponin, trong đó 25 saponin có cấu trúc hoá học thường thấy trong sâm Triều Tiên, sâm Mỹ, sâm Nhật Bản và 25 saponin có cấu trúc mới, không có trong các loại sâm khác. Như vậy Sâm Ngọc Linh là một trong những loại sâm có hàm lượng saponin nhiều nhất. Ngoài ra, các bộ phận trên mặt đất của sâm như lá, thân (cọng) Sâm Ngọc Linh đã phân lập được 19 saponin dammaran, trong đó có 8 saponin có cấu trúc mới. Các công trình nghiên cứu đã xác định được thành phần dược tính trong Sâm Ngọc Linh có 17 acid amin, 20 chất khoáng vi lượng và hàm lượng tinh dầu là 0,1% (Võ Văn Mạnh, 2011).

Với những hoạt chất quý như vậy, Sâm Ngọc Linh ngày càng được thị trường trong và ngoài nước biết đến nhiều hơn, loại dược liệu này đem lại hiệu quả kinh tế cao và được biết đến với vai trò xoa dịu giảm nghèo cho đồng bào dân tộc thiểu số. Do vậy, nhu cầu mở rộng và phát triển trồng SNL ngày càng cao. Tuy nhiên ở Việt Nam, khí hậu có độ ẩm cao tạo điều kiện cho nấm mốc phát triển. Dược liệu bị nhiễm nấm mốc vào khoảng 12 - 28%. Nghiên cứu về mức độ nhiễm nấm mốc cho thấy có trên 1.400 chủng nấm mốc thuộc 43 loài có mặt trong 35 loại dược liệu khảo sát (Nguyễn Thị Nguyệt, 2014).

Trong đó, các loại dược liệu nói chung và SNL nói riêng rất dễ nhiễm các loài nấm hoại sinh và gây bệnh thối thân, củ... (Aziz *et al.*, 1998; Rawat *et al.*,

2014). Các loài nấm mốc này đều có khả năng phát triển rất nhanh, gây tổn thất lượng dược liệu lớn, thiệt hại kinh tế, thậm chí một số loài có thể tiết ra các độc tố, ảnh hưởng tới chất lượng dược liệu và sức khỏe người dùng. Đây cũng chính là yếu tố hạn chế lớn trong việc mở rộng và phát triển việc trồng trọt SNL ở nước ta.

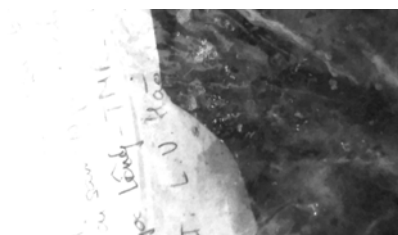
Các nghiên cứu gần đây cho thấy, SNL bị sâu bệnh hại ở giai đoạn cây giống 2 - 3 năm tuổi đặc biệt là bệnh lở cổ rễ do nấm *Puccinia solani* Kuhn., thối củ do vi khuẩn *Erwinia* sp., *Pseudomonas* sp., gỉ sắt do nấm *Puccinia*, rệp muội đã được nghiên cứu và đưa ra quy trình phòng trừ tổng hợp, an toàn và hiệu quả cao (Hoàng Diệu Linh và *cs.*, 2017).

Những nghiên cứu bệnh hại đối với SNL cho đến nay còn hạn chế. Do vậy, việc đẩy mạnh công tác phát hiện, xác định tác nhân gây bệnh và xây dựng biện pháp phòng trừ bệnh hại trong đó có các bệnh về nấm rất quan trọng. Trên cơ sở đó chúng tôi tiến hành nghiên cứu "*Phân lập và xác định một số loài nấm gây hại trên Sâm Ngọc Linh*".

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

- Các mẫu SNL bị bệnh được thu từ các vườn sâm tại Kon Tum.
- Tình trạng mẫu: Có mùi thối, nhiều lát sâm nhũ đen và chảy nước.
- Các mẫu được tiến hành phân lập ngay hoặc bảo quản trong tủ lạnh 4°C để tiến hành phân lập sau.



2.2. Phương pháp

2.2.1. Phân lập, làm thuần chủng và giữ giống

Từng mẫu sâm được trộn đều, lấy ngẫu nhiên tại 5 điểm trong túi và tiến hành phân lập. Theo phương pháp pha loãng (Nguyễn Lâm Dũng và cs., 2000) sử dụng môi trường PDA có bổ sung chloramphenicol (0,2%). Quá trình làm thuần được thực hiện bằng cách tiếp tục cấy truyền các tản nấm trên bề mặt môi trường PDA có bổ sung chloramphenicol từ 2 - 3 lần. Sau khi đã làm thuần, các chủng nấm mốc được cấy trên môi trường giữ giống PDA theo phương pháp giữ giống trên thạch nghiêng (Nguyễn Lâm Dũng, 1983).

Các chủng nấm được phân lập ở 28°C trong vòng 3 - 5 ngày. Quan sát bằng mắt thường bề mặt khuẩn lạc nấm, hình dạng khuẩn ty.

2.2.2. Nhận diện các dòng nấm thông qua đặc điểm hình thái (Maren A Klich, 2002)

a. Quan sát đặc điểm hình thái khuẩn lạc

Sau khi phân lập, các mẫu nấm được quan sát bằng mắt thường và kính hiển vi. Các chỉ tiêu quan sát gồm: hình dạng, kích thước, dạng mặt, dạng mép khuẩn lạc,

màu sắc hệ sợi, màu sắc mặt dưới, giọt tiết, sắc tố khuếch tán ra môi trường.

b. Quan sát các đặc điểm vi học cần thiết

Thực hiện tiêu bản mốc, quan sát ở vật kính 40X cấu tạo khuẩn ty và bào tử.

- Bào tử (hình dạng, kích thước, màu sắc, bề mặt...).

- Sợi nấm (có hay không có vách ngăn, màu sắc, bề mặt có hoặc không có bó sợi...).

- Dựa trên kết quả thu nhận được tra khoá phân loại, xác định tên chi tương ứng.

2.2.3. Định danh nấm bằng phương pháp sinh học phân tử

- Tách chiết DNA của nấm: Nấm được nuôi cấy trên môi trường PDA (Potato Glucose Agar): 2% D-glucose (Đức); 1,8%(w/v) agar (Việt Nam); 20% (w/v) khoai tây trong 3 ngày ở điều kiện nhiệt độ phòng. Sau đó, tơ nấm được lấy và ly trích DNA theo Chomczynski & Sacchi (1987).

- Nhân dòng và đọc trình tự các gen quan tâm: ADN tổng số của nấm được sử dụng trong phản ứng PCR nhằm nhân dòng các gen quan tâm thông qua các cặp môi đặc hiệu ITS1(forward):

5' - TCCGTAGGTGAACCTGCGG - 3';

ITS4(reverse): 5' -

TCCTCCGCTTATTGATATGC - 3'.

Sản phẩm PCR được giải trình tự theo phương pháp Sanger. So sánh trình tự thu được với trình tự trên Ngân hàng gene NCBI để xác định loài của mẫu nấm khảo sát.

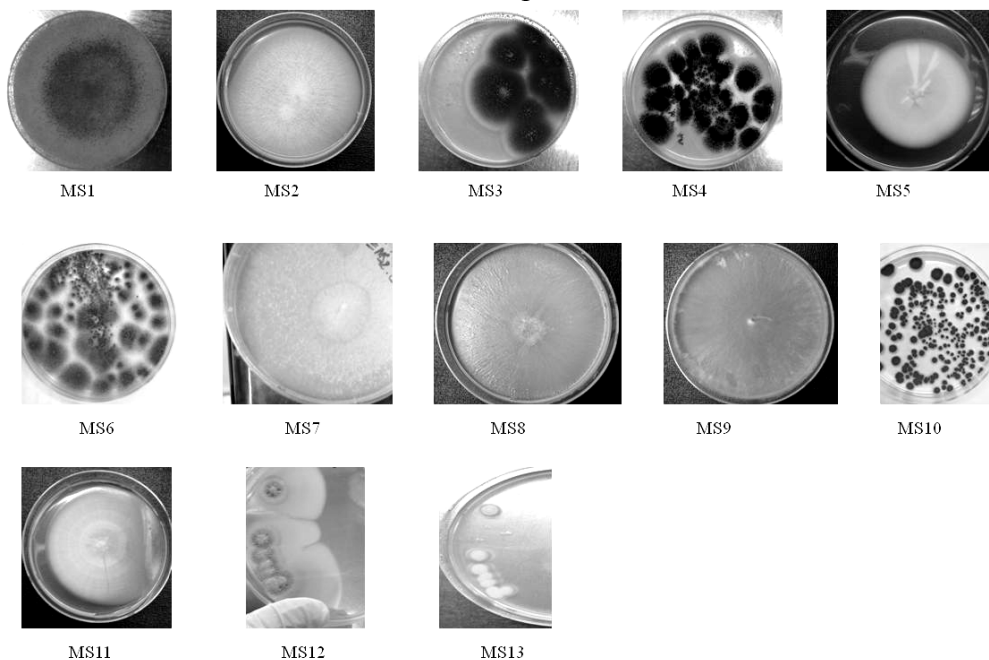
III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nhận diện sơ bộ các dòng nấm phân lập được thông qua hình thái

Từ 04 mẫu SNL khác nhau, tiến hành phân lập được 13 dòng nấm trên môi trường PDA. Sau 5 ngày nuôi cấy, các đặc điểm của hệ sợi nấm được ghi nhận và tổng hợp trong Bảng 1.

Kết quả phân lập cho thấy, các loại nấm mốc khác nhau xuất hiện trên các mẫu SNL nhiễm bệnh. Các mẫu có nhiều

lát đen, nhũn mật độ của nấm dày hơn và đa dạng về màu sắc như xanh, vàng, đen, trắng, ghi. Tốc độ phát triển của chúng rất nhanh, với nấm có hệ sợi dài như MS1 chỉ sau 2 - 3 ngày, ở 28°C sợi nấm đã bao phủ như mạng lưới kín đĩa, đầu sợi nấm là những hạt đen li ti. Nấm có màu vàng tươi như rom MS9 hay bề mặt xù xì như sơ mướp MS7 cũng có tốc độ phát triển mạnh. Các loại nấm mốc phân lập sinh trưởng ở dải nhiệt từ 28 - 37°C. Nấm MS3 màu xanh lá cây có mật độ cao nhất và xuất hiện ở cả 04 mẫu SNL, tốc độ phát triển mạnh và chịu được nhiệt, có khả năng sinh trưởng ở nhiệt độ trên 37°C, đây có thể là chủng nấm đóng vai trò chính gây thối củ SNL. Chúng tôi tiếp tục phân loại chủng này dựa vào các đặc điểm hình thái, đặc điểm vi thể, đặc điểm sinh lý sinh hoá và kỹ thuật sinh học phân tử.

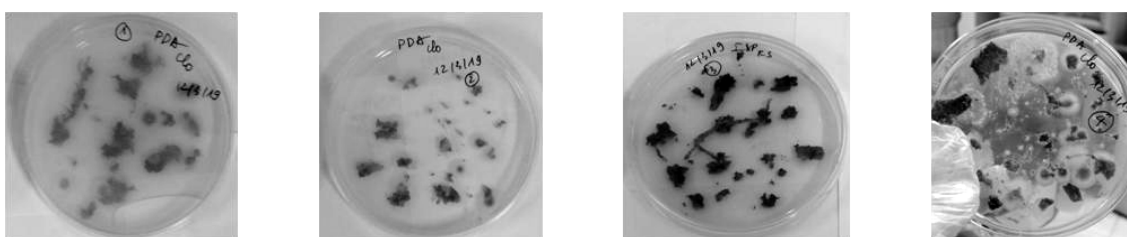


Hình 1. Hình ảnh khuẩn lạc 13 chủng nấm mốc gây hại trên củ SNL

3.2. Nhận diện nấm MS3 thông qua đặc điểm vi học, sinh lý sinh hoá

Nấm MS3 có dạng tròn, màu xanh rêu đậm ở trung tâm do các khuẩn ty sinh sản phát triển bào tử, phần rìa của khuẩn lạc có màu trắng do sự phát triển của những khuẩn ty dinh dưỡng với các sợi mảnh và trắng. Không có sắc tố tiết ra môi trường và giọt tiết. Khuẩn lạc phát triển sau 2 ngày cấy và sản sinh bào tử ở ngày thứ 3.

Đầu sợi nấm hình cầu, tỏa tia rất đều khi non và xé rách tạo dạng cột khi già, vùng sinh sản khắp mặt bông, cuống có đặc trưng dài vượt trội. Nhiệt độ thích hợp từ 25 - 50°C. Có khả năng đồng hóa tốt các nguồn đường như CMC, D-maltose, sucrose, glucose, mannitol, inositol. Có khả năng sinh các enzyme như amylase, protease, cellulase. Không sinh axit.

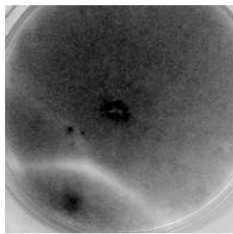


Hình 2. Mốc xanh MS3 xuất hiện mật độ cao ở cả 04 mẫu SNL

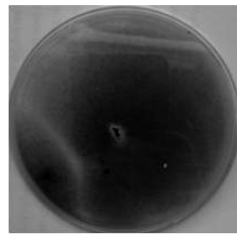
Bảng 1. Đặc điểm khuẩn lạc một số nấm mốc phân lập SNL trên môi trường PDA sau 5 ngày nuôi cấy

Tên chủng	Hình dạng	Hình dạng bề mặt	Màu sắc mặt trên (KTKS)	Đường kính (mm)
MS1	Tròn, mọc nhanh đầy đĩa	Lông xù cao	Màu trắng xám, tập trung ở giữa khuẩn lạc có các hạt màu ghi đen ở đầu KTKS	80 - 85
MS2	Tròn, mọc nhanh	Lông tơ xếp nếp, viền trong bao quanh	Trắng, đế hơi vàng nâu	50 - 60
MS3	Không tròn, hình cánh quạt	Lông mịn, tâm khuẩn lạc có bụi phấn màu trắng. Viền trắng	Xanh lá cây, đế vàng xanh	25 - 35
MS4	Không tròn	Hạt dày, xốp, tơi như cát	Đen sậm, đế có tâm vàng	10 - 30
MS5	Tròn	Lông tơ mịn, lì, viền trong	Trắng, vàng ở tâm. Đế vàng	40 - 50
MS6	Không tròn	Lông mịn như bụi phấn, viền trong lan tỏa	Ghi đen, sẫm màu ở tâm	5 - 15
MS7	Tròn	Sợi dài bông như xơ mướp, hanh vàng, tâm 1 vành tròn, mọc nhanh	Trắng ngà	80 - 85
MS8	Mọc nhanh, tràn đầy đĩa	Sợi xếp nếp, lì mặt thạch, bóng	Trắng đục	80 - 85

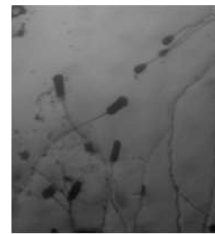
Tên chủng	Hình dạng	Hình dạng bề mặt	Màu sắc mặt trên (KTKS)	Đường kính (mm)
MS9	Mọc nhanh, tràn đầy đĩa	Lông tơ ngắn, lì mặt thạch	Vàng tươi, mép viền lông trắng tinh mịn, đế vàng	80 - 85
MS10	Gần tròn đến tròn	Hạt mịn, dày đặc như bụi, xốp, viền trong veo	Xanh rêu	0,1 - 10
MS11	Tròn	Lông tơ mịn, xếp nếp, các vành tròn đồng tâm	Trắng đục, đế tâm hanh vàng	60
MS12	Cánh quạt	Lông lì, ngắn, mịn, có tâm lõi như cánh hoa. ½ khuẩn lạc lan toả như cánh quạt màu vàng	Vàng, socola sữa	40
MS13	Tròn	Lông mịn, lõi trên mặt thạch	Trắng tinh	10



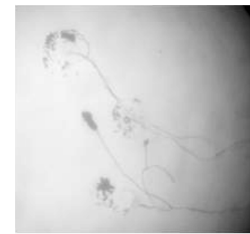
Mặt trên



Mặt dưới



Cuồng sinh bào tử



Hình 3. Hình dạng của nấm MS3 quan sát ở vật kính 40X

Căn cứ vào kết quả khảo sát các đặc điểm của khuẩn lạc nhận thấy, chủng nấm mốc MS3 mang các đặc điểm đặc trưng của chi nấm mốc *Aspergillus*. Dựa trên một số đặc điểm sinh lý sinh hoá và các đặc điểm vi học của MS3 kết hợp với khóa phân loại vi nấm của Samson (1994) nhận thấy, chủng MS3 có đặc điểm giống với nấm sợi thuộc loài *Aspergillus fumigatus*. Hơn thế nữa theo Haines (1995), *A. fumigatus* có khả năng chịu nhiệt cao, là một loại nấm dung nạp tốt với nhiệt độ và phát triển tốt ở nhiệt độ trên 40°C, đặc biệt có thể tồn tại ở nhiệt độ 55°C, và có thể đến 70°C; trong khi các loài nấm khác cùng chi *Aspergillus* khó sinh trưởng ở nhiệt độ trên 40°C. Đó là

đặc điểm quan trọng để phân biệt loài *A. fumigatus* với các loài nấm khác thuộc chi *Aspergillus*. Vì vậy, chủng nấm mốc này được cấy trên môi trường PDA ở 40°C, 45°C, 50°C để đánh giá khả năng phát triển của nó. Kết quả cho thấy chủng MS3 sinh trưởng tốt ở các mức nhiệt trên. Chúng tôi tiếp tục phân loại sâu hơn dựa trên kỹ thuật sinh học phân tử để định danh chính xác loài nấm mốc này.

3.3. Định danh nấm MS3 bằng kỹ thuật sinh học phân tử

Vùng gene ITS của nấm MS3 có tổng số nucleotide là 541. Kết quả trình tự gene được so sánh với cơ sở dữ liệu trên Genbank (NCBI) bằng công cụ BLAST

SEARCH, cho thấy trình tự này có độ tương đồng cao nhất 98,57% với trình tự của loài nấm mốc gây bệnh *A. fumigatus* đã được đăng ký trong Genbank (Hình 4).

Kết hợp giữa kết quả nghiên cứu về hình thái và phân tích trình tự vùng ITS, chủng nấm MS3 được đặt tên là *A. fumigatus* MS3.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
<input type="checkbox"/> Aspergillus fumigatus isolate 24 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosoma	985	985	97%	0.0	98.57%	MH345864.1
<input type="checkbox"/> Aspergillus fumigatus isolate 16 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosoma	983	983	97%	0.0	98.57%	MH345856.1
<input type="checkbox"/> Aspergillus fumigatus isolate 116 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosom	981	981	96%	0.0	98.57%	MH345956.1
<input type="checkbox"/> Aspergillus fumigatus strain NR27 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosor	981	981	94%	0.0	99.45%	MH270555.1
<input type="checkbox"/> Aspergillus fumigatus strain SCAU135 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S rib	981	981	96%	0.0	98.57%	MF135498.1
<input type="checkbox"/> Aspergillus fumigatus isolate LF9 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosom	981	981	97%	0.0	98.23%	JF815073.1
<input type="checkbox"/> Aspergillus fumigatus isolate LF8 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosom	981	981	97%	0.0	98.23%	JF815072.1
<input type="checkbox"/> Aspergillus fumigatus isolate HNMF102 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ri	979	979	96%	0.0	98.57%	MH725577.1
<input type="checkbox"/> Aspergillus fumigatus isolate HNMF095 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ri	979	979	96%	0.0	98.57%	MH725575.1

Hình 4. Kết quả định danh chủng nấm mốc MS3 dựa vào vùng gene ITS

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Đã phân lập được 13 loại nấm từ 04 mẫu bệnh SNL có hình thái khác nhau. Trong số đó nấm MS3 là loại phổ biến có mặt ở cả 04 mẫu SNL, loại nấm này có thể là tác nhân chính gây ra bệnh thối củ SNL.

Thông qua kết quả định danh đến loài dựa trên đặc điểm hình thái đại thể, vi thể, đặc điểm sinh lý sinh hoá và kỹ thuật sinh học phân tử chúng tôi tạm thời đặt tên chủng nấm phân lập được là *Aspergillus fumigatus* MS3.

Trên đây là kết quả bước đầu về nghiên cứu bệnh hại đối với SNL, chúng tôi sẽ tiếp tục định danh các chủng nấm còn lại và nghiên cứu sâu hơn để cung cấp thêm thông tin cho việc phòng trừ lại các bệnh này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aziz, N.H., Youssef, Y.A., El - Fouly, M.Z., Moussa, L.A. (1998). Contamination of some common medicinal plant samples and spices

- by fungi and their mycotoxins. Botanical Bulletin of Academia Sinica. 39: 279 - 285.
2. Burgess, L.W., Knight, T.E., Tesoriero, L., Phan, H.T. (2008). Diagnostic manual for plant diseases in Vietnam. ACIAR Monograph No. 129, 210 pages.
3. Cam Lu, Trương Hiệu. (2003). Truy cập ngày 5 tháng 9 năm 2011. “Ngọc Linh, từ cây sâm quý đến thương hiệu quý”
4. Haines, J. (1995). *Aspergillus* in compost: straw man or fatal flaw. Biocycle, 6:32 - 35.
5. Hoàng Diệu Linh, Chu Thị Mỹ, Lê Thị Thu, Phan Thúy Hiền, Nguyễn Xuân Nam, Nguyễn Minh Khởi (2017). Nghiên cứu phòng trừ sâu bệnh hại chính trên Sâm Ngọc Linh trong vườn ươm. Tạp chí Dược liệu, tập 22, số 6: 387 - 392.
6. Maren A Klich (2002). Identification of common *Aspergillus* species. Pulished by the Central bureau voor Schimmelcultues, Utrecht, the Netherlands. 107 pp.
7. Nguyễn Lân Dũng, Nguyễn Đình Quyên và Phạm Văn Ty (2000). Vi sinh vật học. Nhà xuất bản Giáo dục.
8. Nguyễn Lân Dũng (1983). Thực tập vi sinh vật học. Nhà xuất bản Đại học và Trung học Hà Nội.

9. Nguyễn Thị Nguyệt (2014). Nghiên cứu công nghệ đặc chế và bảo quản dược liệu hoài sơn sau thu hoạch. Luận văn Thạc sĩ. Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Hà Nội.
10. P. Chomczynski, N. Sacchi (1987). Single - step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate - phenol - chloroform extraction. *Anal Biochem*, 162: 156 - 159.
11. Roger, S. and Beasley, D. (2005). Management of plant pathogen collections. Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, Queensland, Australia. 82 pages.
12. Sampson R. A. (1994). Current systematics of the genus *Aspergillus*. In: The genus *Aspergillus*. From taxonomy and genetics to industrial application. Plenum Press, New York, N.Y. 261 - 276.
13. Thanh Hải (2003). Truy cập ngày 19 tháng 3 năm 2017. “Sâm Ngọc Linh thoát khỏi nguy cơ tuyệt chủng!”
14. Võ Văn Mạnh (2010). Truy cập ngày 13 tháng 9 năm 2011. “Thu hút đầu tư nhằm bảo tồn và phát triển Sâm Ngọc Linh - Kon Tum”. “Thành phần hóa học của Sâm Ngọc Linh - Kon Tum” Trung tâm Xúc tiến đầu tư miền Trung, Cục Đầu tư nước ngoài, Bộ Kế hoạch và Đầu tư Việt Nam.
15. White, T.J., T.D. Bruns, S. Lee, J. Taylor. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, T.J. White PCR protocols, a guide to methods and applications. San Diego, California: Academic Press. p315 - 322.

HIỆU QUẢ ỨNG DỤNG CỦA DỊCH TRÍCH CỎ HÔI, HÀNH LÁ, SỐNG ĐỜI ĐỐI VỚI SỰ PHÁT TRIỂN NẤM *Curvularia* sp. VÀ *Nigrospora* sp. PHÂN LẬP TỪ HẠT LÚA

Nguyễn Thanh Phong và Lê Thanh Toàn

Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

ABSTRACT

Efficacy of extracts from *Eupatorium* leaf, spring onion, *Kalanchoe* leaf on *Curvularia* sp. and *Nigrospora* sp. isolated from rice grains

Rice production is always affected by many constraints such as climate change, natural disasters and plant pests. Among them, pests of rice grains is main factor affecting directly to total yield and quality of rice, especially fungal pathogens. *Curvularia* sp. and *Nigrospora* sp. are two important fungi of seed-borne mycoflora causing discoloration of rice grain.

The research was conducted to assess efficacy of aqueous extracts from *Eupatorium* leaf, leaf and bulb of spring onion, *Kalanchoe* leaf at the concentrations of 2, 4 and 8% on hyphal growth of *Curvularia* sp. AG11 and *Nigrospora* sp. AG08. The results showed that extract from leaf and bulb of spring onion at a concentration of 8% had high effect on inhibiting hyphal growth of *Curvularia* sp. In addition, leaf and bulb of spring onion at a concentration of 2% showed good efficacy on inhibiting growth of *Nigrospora* mycelium. These ecofriendly, cost effective, safe plant extracts can, therefore, be used as an economic and valuable alternative for pesticides on controlling discoloration of rice grain.

Keywords: Discoloration of rice grain, *Curvularia* sp., *Nigrospora* sp., spring onion extract.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam là một nước có nền nông nghiệp lâu đời do khí hậu thuận lợi, đất đai màu mỡ thích hợp cho sự phát triển của nhiều loại cây trồng (Nguyễn Văn Khoa và Phạm Văn Cường, 2015). Đặc biệt là cây lúa, gắn liền với tên gọi nền văn minh lúa nước. Việt Nam đã trở thành nước xuất khẩu lúa gạo ở vị trí thứ hai của

thế giới (Vũ Thị Lưu và ctv., 2015), nhưng giá bán không cao. Việc sản xuất lúa gạo luôn chịu ảnh hưởng của rất nhiều yếu tố bất lợi như sự thay đổi khí hậu toàn cầu, các thiên tai, dịch hại (Đình Công Huỳnh và ctv., 2012; Toan et al., 2012 và 2017). Theo công bố của Viện Nghiên cứu Lúa Quốc tế (IRRI), nhiều yếu tố dịch hại có thể là yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến năng suất và chất lượng lúa hàng hóa, đặc biệt là các loài nấm gây bệnh thường làm

Người phân biện: TS. Châu Nguyễn Quốc Khánh.

giảm năng suất một cách rõ rệt. Thêm vào đó, nước ta lại có truyền thống thâm canh tăng vụ, khí hậu nóng ẩm là điều kiện thuận lợi để nấm bệnh phát triển gây hại đến lúa, đặc biệt là bệnh lem lép hạt làm giảm chất lượng hạt và thất thu năng suất lúa trầm trọng. *Curvularia* sp. và *Nigrospora* sp. là hai loài nấm phổ biến gây lem lép hạt lúa (Butt *et al.*, 2011; Utopo *et al.*, 2011; Trần Thị Thu Thủy và *ctv.*, 2012). Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích tìm ra loại dịch trích thực vật với nồng độ có hiệu quả với nấm *Curvularia* sp. và *Nigrospora* sp., làm nền tảng cho các nghiên cứu tiếp theo để ứng dụng vào thực tế sản xuất.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Thí nghiệm đánh giá độ hiệu quả của các loại dịch trích thực vật đối với hai loại nấm *Curvularia* sp. và *Nigrospora* sp. được bố trí tại Phòng Thí nghiệm Nedo, Bộ môn Bảo vệ thực vật, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ.

Một số loại dịch trích thực vật đã được tiến hành khảo sát hiệu quả sơ bộ, từ đó chọn ra các loại dịch trích thực vật cho thí nghiệm là lá cỏ hôi (*Eupatorium odoratum*), lá sống đời (*Kalanchoe pinnata*), thân, lá hành (*Allium fistulosum*) với các nồng độ 2, 4 và 8%.

Nguồn nấm *Curvularia* sp. AG11 và *Nigrospora* sp. AG08 được cung cấp từ Bộ môn Bảo vệ thực vật, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ. Nấm được nuôi cấy trong đĩa petri khoảng 10 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm. Khuẩn ty nấm sẽ được đục thành các khoanh có đường kính khoảng 5 mm khi thực hiện thí nghiệm.

2.2. Khảo sát hiệu quả của các loại dịch trích đối với nấm *Curvularia* sp. gây bệnh lem lép hạt

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 10 nghiệm thức (9 nghiệm thức sử dụng dịch trích thực vật và 1 nghiệm thức đối chứng), 5 lần lặp lại. Ở nghiệm thức đối chứng, dịch trích thực vật được thay thế bằng nước cất thanh trùng.

Mẫu thực vật sau khi thu về sẽ được rửa sạch đất cát, cân thực vật theo khối lượng đã tính rồi nghiền với 5 ml nước cất thanh trùng trong cối và chày thủy tinh đã thanh trùng khô. Sau đó, rót phần dịch trích thu được qua giấy lọc Whatman (có đường kính lỗ lọc 0,5 μ m) vào 1 cốc thủy tinh đã thanh trùng khô. Dùng bọc nylon bao cả bộ cốc thủy tinh và giấy lọc bên trên.

Nấu tan môi trường PDA. Khi chai môi trường đạt nhiệt độ khoảng 55 - 60°C thì đưa dịch trích thực vật đã chuẩn bị sẵn vào chai môi trường, lắc chai môi trường để dịch trích hòa tan đều vào môi trường. Các loại dịch trích thực vật được tính toán khối lượng sao cho khi hòa tan vào chai thủy tinh chứa 95 ml môi trường PDA sẽ đạt được nồng độ đã định sẵn. Sau đó, môi trường trong chai sẽ được đổ vào các đĩa petri, tương ứng với lượng 10 ml môi trường/đĩa petri. Sau khi môi trường đặc lại, các khoanh khuẩn ty nấm đã chuẩn bị được đặt vào chính giữa đĩa petri.

Ghi nhận đường kính khuẩn lạc (ĐKKL) của nấm vào các thời điểm 24, 48 và 72 giờ sau đặt khoanh khuẩn ty (GSDKT). Hiệu quả của thuốc (HQT) được tính theo công thức $HQT (\%) = (\text{ĐKKL}_{dc} - \text{ĐKKL}_i) / \text{ĐKKL}_{dc} * 100\%$, trong đó ĐKKL_{dc} là đường kính khuẩn lạc của

nghiệm thức đối chứng, ĐKKL_i là đường kính khuẩn lạc của nghiệm thức dịch trích thực vật i. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.3. Khảo sát hiệu quả của các loại dịch trích đối với nấm *Nigrospora* sp. gây bệnh lem lép hạt

Thí nghiệm được thực hiện tương tự thí nghiệm 2.2. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.4. Phương pháp phân tích số liệu

Số liệu được xử lý với Microsoft Excel, phân tích phương sai ANOVA và so sánh sự khác biệt ở $p = 0,05$ giữa các trung bình nghiệm thức bằng phần mềm thống kê MSTATC qua phép thử Duncan.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hiệu quả của các loại dịch trích đối với nấm *Curvularia* sp. gây bệnh lem lép hạt

Qua các thời điểm khảo sát sự phát triển của khuẩn ty nấm *Curvularia* sp. là

24, 48, 72 GSDKT thì dịch trích lá cỏ hôi, thân và lá hành có tác dụng hạn chế sự phát triển của khuẩn ty nấm còn dịch trích lá sồng đời thì không có hiệu quả (Bảng 1). Tại thời điểm 24 GSDKT, dịch trích thân và lá hành ở nồng độ 8% giúp ức chế sự phát triển của khuẩn ty nấm ở nồng độ 8% đường kính là 13,20 mm, dịch trích thân và lá hành 4% là 15,00 mm, đối với dịch trích lá cỏ hôi 2% là 13,20 mm, 4% (12,80 mm) và 8% (12,40 mm) so với đường kính đối chứng là 16,80 mm; còn dịch trích lá sồng đời thì không có tác dụng. Ở thời điểm 48 GSDKT, các loại dịch trích trên vẫn tiếp tục thể hiện hiệu quả, dịch trích lá sồng đời vẫn không có hiệu quả ở mức ý nghĩa 5%. Đến thời điểm 72h SDKT, dịch trích thân và lá hành thì nồng độ 8% vẫn có hiệu quả cao nhất với đường kính khuẩn ty nấm là 42,20 mm so với đối chứng là 47,40 mm ở mức ý nghĩa 5%, cỏ hôi 8% hạn chế sự phát triển của khuẩn ty nấm tốt hơn cỏ hôi 4%, dịch trích lá sồng đời cũng không có tác dụng (Bảng 1).

Bảng 1. Đường kính (mm) của khuẩn ty nấm *Curvularia* sp. khi xử lý dịch trích trong điều kiện in vitro

Nghiệm thức	Thời điểm quan sát (giờ sau đặt khuẩn ty)		
	24 GSDKT	48 GSDKT	72 GSDKT
Lá cỏ hôi 2%	13,20 c	31,00 c	48,20 ab
Lá cỏ hôi 4%	12,80 c	30,40 c	46,00 c
Lá cỏ hôi 8%	12,40 c	28,20 c	44,60 c
Thân và lá hành 2%	16,20 a	32,60 b	47,80 ab
Thân và lá hành 4%	15,00 b	30,80 c	46,60 bc
Thân và lá hành 8%	13,20 c	27,60 c	42,20 c
Lá sồng đời 2%	16,40 a	32,80 ab	47,40 ab
Lá sồng đời 4%	16,80 a	34,00 a	48,80 a
Lá sồng đời 8%	16,20 a	32,40 b	48,40 a
Đối chứng xử lý nước cất	16,80 a	33,20 ab	47,40 ab
Mức ý nghĩa	*	*	*
CV%	6,16	4,24	5,23

Ghi chú: Trong cùng một cột, những số có cùng chữ số theo sau thì khác biệt không ý nghĩa ở mức 5%.

Hiệu quả ức chế của dịch trích lá cỏ hôi, thân và lá hành, lá sống đời đối với sự phát triển của khuẩn ty nấm *Curvularia* sp. trong điều kiện in-vitro được trình bày ở Bảng 2. Tại thời điểm 24 GSDKT, cả 3 nồng độ của dịch trích lá cỏ hôi và nồng độ 8% của dịch trích thân và lá hành cho hiệu quả ức chế sự phát triển của khuẩn ty nấm rất rõ rệt từ 21,22 - 26,07% ở mức ý nghĩa 5%, trong khi đó dịch trích lá sống đời thì khác biệt không ý nghĩa so với đối

chứng. Tại thời điểm 48 GSDKT, hiệu quả ức chế của dịch trích lá cỏ hôi và dịch trích thân lá hành có phần giảm, chỉ còn lại nồng độ 8% là có hiệu quả cao. Tại thời điểm 72 GSDKT, nồng độ 8% của thân và lá hành có hiệu quả ức chế cao nhất khoảng 10,96 - 16,07%, kế tiếp là nồng độ 8% của cỏ hôi 5,89%. Dịch trích lá sống đời không ức chế được sự phát triển của khuẩn ty nấm ở mức ý nghĩa 5% (Bảng 2).

Bảng 2. Hiệu quả ức chế (%) của dịch trích thực vật đối với sự phát triển khuẩn ty nấm *Curvularia* sp. trong điều kiện in-vitro

Nghiệm thức	Thời điểm quan sát (giờ sau đặt khuẩn ty)		
	24 GSDKT	48 GSDKT	72 GSDKT
Lá cỏ hôi 2%	21,22 a	6,56 c	0,00 c
Lá cỏ hôi 4%	23,58 a	8,36 c	2,94 b
Lá cỏ hôi 8%	26,07 a	14,99 b	5,89 ab
Thân và lá hành 2%	3,46 c	1,76 d	0,00 c
Thân và lá hành 4%	10,54 b	7,15 c	1,67 b
Thân và lá hành 8%	21,29 a	16,87 a	10,96 a
Lá sống đời 2%	2,15 c	1,14 d	0,00 c
Lá sống đời 4%	0,00 d	0,00 e	0,00 c
Lá sống đời 8%	3,33 c	2,37 d	0,00 c
Đối chứng xử lý nước cất	0,00 d	0,00 e	0,00 c
<i>Mức ý nghĩa</i>	*	*	*
<i>CV%</i>	15,45	12,77	13,37

Ghi chú: Trong cùng một cột, những số có cùng chữ số theo sau thì khác biệt không ý nghĩa ở mức 5%.

Từ kết quả đã phân tích về đường kính và hiệu quả ức chế của khuẩn ty nấm *Curvularia* sp. khi xử lý bằng dịch trích lá cỏ hôi, thân và lá hành, lá sống đời. Hiệu quả đạt được không cao, hiệu quả cao nhất là dịch trích từ thân và lá hành ở nồng độ 8%.

3.2. Hiệu quả của các loại dịch trích đối với nấm *Nigrospora* sp. gây bệnh lép hạt

Qua các thời điểm quan sát là 24, 48 và 72 GSDKT, khi xử lý dịch trích đối với nấm *Nigrospora* sp., loại dịch trích với

nồng độ khác nhau sẽ có hiệu quả khác nhau. Tại thời điểm 24 GSDKT, chỉ có dịch trích cỏ hôi 2% có khả năng ức chế tốt giúp làm giảm sự phát triển của khuẩn ty nấm, đường kính là 6,80 mm so với đối chứng ở mức ý nghĩa 5% là 8,80 mm, các nồng độ và dịch trích còn lại không có tác dụng. Tại thời điểm 48 GSDKT, dịch trích

thân và lá hành với nồng độ 2% có hiệu quả cao với đường kính là 10,60 mm, đường kính khuẩn ty đối chứng ở mức ý nghĩa 5% là 22 mm. Tại thời điểm 72 GSDKT, nồng độ 2% của dịch trích thân và lá hành vẫn có tác dụng rất cao đường kính là 10,80 mm so với đối chứng là 35 mm ở mức ý nghĩa 5% (Bảng 3).

Bảng 3. Đường kính (mm) của khuẩn ty nấm *Nigrospora* sp. khi xử lý dịch trích trong điều kiện in vitro

Nghiệm thức	Thời điểm quan sát (giờ sau thử nghiệm)		
	24 GSDKT	48 GSDKT	72 GSDKT
Lá cỏ hôi 2%	6,800 c	17,80 b	29,20 bc
Lá cỏ hôi 4%	9,800 b	22,20 b	33,40 b
Lá cỏ hôi 8%	10,40 b	23,80 a	37,40 b
Thân và lá hành 2%	9,000 b	10,60 c	10,80 c
Thân và lá hành 4%	11,80 ab	23,00 b	33,80 b
Thân và lá hành 8%	9,800 b	18,80 b	28,20 bc
Lá sống đời 2%	12,40 ab	26,20 a	40,60 a
Lá sống đời 4%	13,40 a	29,80 a	46,00 a
Lá sống đời 8%	11,60 ab	25,60 a	39,20 a
Đối chứng xử lý nước cất	8,800 b	22,00 b	35,00 b
Mức ý nghĩa	*	*	*
CV%	22,45	19,63	19,82

Ghi chú: Trong cùng một cột, những số có cùng chữ số theo sau thì khác biệt không ý nghĩa ở mức 5%.

Hiệu quả ức chế khuẩn ty nấm *Nigrospora* sp. khi xử lý dịch trích lá cỏ hôi, thân và lá hành, lá sống đời qua các thời điểm lấy chỉ tiêu là 24, 48 và 72 GSDKT cho thấy khả năng ức chế của các loại dịch trích với nồng độ khác nhau có thể biến động theo thời gian. Tại thời điểm 24 GSDKT, chỉ có dịch trích lá cỏ hôi nồng độ 2% là có hiệu quả ức chế 12,22% so với đối chứng ở mức ý nghĩa 5%. Các dịch trích còn lại không có nồng

độ nào ức chế sự phát triển của khuẩn ty nấm. Tại thời điểm 48 GSDKT, dịch trích thân và lá hành có hiệu quả ức chế tăng cao 48,43%, tiếp theo là dịch trích lá cỏ hôi nồng độ 2% khả năng ức chế đạt 15,25%. Tại thời điểm 72 GSDKT, hiệu quả ức chế cao nhất vẫn là dịch trích thân và lá hành nồng độ 2% với 67,70%, dịch trích lá cỏ hôi thì nồng độ 2% vẫn có hiệu quả ức chế tốt (Bảng 4).

Bảng 4. Hiệu quả ức chế (%) của dịch trích thực vật đối với sự phát triển khuẩn ty nấm *Nigrospora* sp. trong điều kiện in-vitro

Nghiệm thức	Thời điểm quan sát (giờ sau đặt khuẩn ty)		
	24 GSDKT	48 GSDKT	72 GSDKT
Lá củ hồi 2%	12,22 a	15,25 a	13,64 a
Lá củ hồi 4%	0,00 b	0,00 b	2,16 a
Lá củ hồi 8%	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Thân và lá hành 2%	0,00 b	48,43 a	67,70 a
Thân và lá hành 4%	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Thân và lá hành 8%	0,00 b	12,46 a	17,38 a
Lá sống đời 2%	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Lá sống đời 4%	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Lá sống đời 8%	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Đối chứng xử lý nước cất	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Mức ý nghĩa	*	*	*
CV%	13,83	14,21	13,70

Ghi chú: Trong cùng một cột, những số có cùng chữ số theo sau thì khác biệt không ý nghĩa ở mức 5%.

Qua kết quả khảo sát về đường kính và hiệu quả ức chế khi xử lý các loại dịch trích là lá củ hồi, thân và lá hành, lá sống đời đối với nấm *Nigrospora* sp., ta thấy dịch trích từ lá củ hồi, thân và lá hành đều có hiệu quả ở nồng độ 2%, đặc biệt là thân lá hành nồng độ 2% có hiệu quả rất cao trên 60%.

Cây hành (*Allium cepa* L.) và các cây thuộc họ Hành tỏi chứa các hoạt chất như allicin, quercetin và acid gallic, được ghi nhận có hiệu quả ức chế sự phát triển của nấm và vi khuẩn gây hại cây trồng (Gurjar *et al.*, 2012). Hàm lượng quercetin và acid gallic trong lá hành được xác định lần lượt là 103,2 mg/kg và 179,4 mg/kg, theo trọng lượng tươi (Aslam *et al.*, 2017). Trong các nghiên cứu về hiệu quả đối với nấm bệnh gây hại cây trồng, dịch trích lá hành có thể ức chế sự phát triển của nấm *Helminthosporium turcicum* và *Ascochyta rabiei* (Khan *et al.*, 1998), *Pythium*

aphanidermatum gây héo gục cây ớt (Muthukumar *et al.*, 2010), *Aspergillus niger* (Irkin and Korukluoglu, 2007), các vi khuẩn gram dương (Vamshi *et al.*, 2010), *Aspergillus parasiticus* (Fan and Chen, 1999). Nồng độ dịch trích hành càng cao thì bán kính vòng vô khuẩn càng lớn, hay khả năng ức chế sự phát triển của vi sinh vật càng tốt (Jeffrey and Herbert, 2003; Purseglove, 2005).

IV. KẾT LUẬN

Trong ba loại dịch trích lá củ hồi, thân và lá hành, lá sống đời với các nồng độ là 2%, 4% và 8% trên 2 loại nấm là *Curvularia* sp. và *Nigrospora* sp., kết quả cho thấy dịch trích thân và lá hành 8% có hiệu quả đối với nấm *Curvularia* sp. làm hạn chế sự phát triển của khuẩn ty nấm. Tuy nhiên, thân và lá hành 2% lại có hiệu quả ức chế tốt sự phát triển của khuẩn ty nấm *Nigrospora* sp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aslam, Z., Akhtar, S., Imran, M., Nadeem, M., Gilani, S.A., Magdy, E., & Ahmed E.G. (2017). Antioxidant activity, anti-inflammatory activities, anti-cancer and chemical composition of spring onion extracts. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 8(2): 1880 - 1890.
2. Butt, A.R., Yaseen, S.I., & Javaid, A. (2011). Seed-borne mycoflora of stored rice grains and its chemical control. *The Journal of Animal & Plant Science*, 21(2): 193 - 196.
3. Đinh Công Huỳnh, Huỳnh Kỳ, Lê Thanh Toàn, Trần Thị Thu Thủy và Phạm Văn Kim (2012). Khảo sát hiệu quả kích kháng của đồng clorua và acibenzolar-S-methyl đối với bệnh đạo ôn trên lúa (*Pyricularia grisea* (Cooke.) Sacc.) trên khía cạnh phân tử. Hội thảo Quốc gia Bệnh hại Thực vật Việt Nam (20 - 21/4/2012). Nhà xuất bản Nông nghiệp. 233 - 239.
4. Fan, J.J., & Chen, J.H. (1999). Inhibition of aflatoxin-producing fungi by Welsh onion extracts. *J. Food Prot.*, 62: 414 - 417.
5. Gurjar, M.S., Ali, S., Akhtar, M. và Singh, K.S. (2012). Efficacy of plant extracts in plant disease management. *Agricultural Sciences*, 3: 425 - 433.
6. Irkin, R., & Korukluoglu, M. (2007). Control of *Aspergillus niger* with garlic, onion and leek extracts. *African J. Biotechnol.*, 6: 384 - 387.
7. Jeffrey, B.H., & Herbert, B. (2003). Photochemical dictionary - A handbook of bioactive compounds, 1st edition. Taylor and Francis London Washington DC. 234 - 245.
8. Khan, T.Z., Nasir, M.A., & Bokhari, S.A. (1998). Antifungal properties of some plant extracts. *Pakistan J Phytopathol.*, 10: 62 - 65.
9. Muthukumar, A., Eswaran, A., Nakkeeran, S., & Sangeetha, G. (2010). Efficacy of plant extracts and biocontrol agents against *Pythium aphanidermatum* inciting chilli damping-off. *Crop Protect.*, 29: 1483 - 1488.
10. Nguyễn Văn Khoa, & Phạm Văn Cường (2015). Hiệu quả sử dụng đạm của cây lúa cạn vùng Tây Bắc. *Tạp chí Khoa học và Phát triển* 2015, 13(8): 1333 - 1342.
11. Purseglove, J.W. (1979). Tropical crops (Monocotyledon). Longman Scientific and Technical, England. 27 - 38.
12. Toan, L.T., Dien, L.V., Nhien, N.T.T., & Kim P.V. (2012). Induced systemic resistance against rice grassy stunt virus - a promising field for ecological rice production. *J. Viet. Env.*, 2(1): 48 - 53.
13. Toan, L.T., Thumanu, K., Wongkaew, S., Boonkerd, N., Teaumroong, N., Phansak, P., & Buensanteai, N. (2017). Salicylic acid-induced accumulation of biochemical components associated with resistance against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice. *Journal of Plant Interactions*, 12 (1): 108 - 120.
14. Trần Thị Thu Thủy, Nguyễn Thanh Nam, Võ Thị Yến Nhi, Nguyễn Thị Nường, Nguyễn Phạm Thanh Nguyên, Lâm Chí Tâm, Lê Thị Mai Trinh, Nguyễn Thị Ngọc Vẹn và Lê Thanh Toàn (2012). Thành phần nấm hại trên hạt lúa ở bảy tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long. Hội thảo Quốc gia Bệnh hại Thực vật Việt Nam (20 - 21/4/2012). Nhà xuất bản Nông nghiệp. Trang 221 - 227.
15. Utopo, E.B., Ogbodo, E.N., & Nwogbaga, A.C. (2011). Seedborne mycoflora associated with rice and their influence on growth at Abakaliki, Southeast Agro-Ecology, Nigeria. *Libyan Agriculture Research Center Journal Internation*, 2 (2): 79 - 84.
16. Vamshi, K., Rao, K., Sandhya, S., Sai, K., David, M., Satya, L., & Vijaya, L. (2010). *In-vitro* antibacterial activity of dried scale leaves of *Allium cepa* L. De. *Pharmacia Lettre*, 2(5): 187 - 192.
17. Vũ Thị Lư, Trần Thị Thu Huyền, Phan Thị Thu Hồng, Nguyễn Thị Thảo và Nguyễn Thị Thủy (2015). Xây dựng cơ sở dữ liệu và hệ thống tra cứu các giống lúa phổ biến ở Việt Nam. *Tạp chí Khoa học và Phát triển* 2015, 13(5): 813 - 824.

ĐIỀU TRA TÌNH HÌNH, MỨC ĐỘ GÂY HẠI CỦA BỆNH THỐI CỬ SẮN (*Phytophthium helicoides*) VÀ ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ PHÒNG TRỪ BỆNH TRÊN HAI MÔ HÌNH CANH TÁC TẠI TỈNH TÂY NINH

Đào Duy Sang¹, Nguyễn Thanh Phong¹
Nguyễn Như Thanh², Võ Thị Thu Oanh¹

¹Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh
²Chi cục Kiểm dịch Thực vật Vùng II

ABSTRACT

**Investigation current status, poportion
of cassava root rot disease (*Phytophthium helicoides*) and assessment the result
of disease management of two models at Tay Ninh province**

*Cassava root rot disease, caused by *Phytophthium helicoides*, is one of the most serious problems on cassava plant in rainy seasons in Vietnam. Not only the development and the quality of cassava products are affected, but the yield lost can also be higher when the disease appears. The beginning investigation focus on general information about the cassava root rot disease at Tay Ninh province in Southern Vietnam. Symptoms appeared two months after transplanting and severely damaged to the 5 - 7 months plants. Monocropping at lowland, high density planting (23,000 cut stems/ha), large amount of chemical fertilizer applying in a long period of time without supplying organic matter and microorganisms, mixture pesticides applying to control pests with many times in a year crop are factors which may contribute to the development of the root rot disease. Two comparison models have shown that applying supporting techniques helped control root rot disease effectively with lower rate of rot tubers (5,56%), yield at 30.35 tons/ha, higher yield 25.12 tons/ha than the controlled model.*

Keywords: *Phytophthium helicoides, Cassava root rot disease, Manihot esculenta.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây sắn (*Manihot esculenta*) là loại cây chịu hạn, dễ trồng, ít tốn công chăm sóc, là một trong những cây trồng chủ lực của tỉnh Tây Ninh với diện tích trồng hàng năm vào khoảng 50.000 ha được trồng

chuyên canh, xen trong vườn cao su, luân canh trên đất trồng lúa đã mang lại hiệu quả kinh tế cao cho nông dân các vùng trồng sắn của Tây Ninh.

Tuy nhiên trong vài năm gần đây, một số đối tượng dịch hại như rệp sáp bột hồng, bọ phấn trắng, chổi rồng, cháy lá vi khuẩn, thối gốc lở cổ rễ, thối củ phát sinh

Người phân biên: PGS.TS. Phạm Thị Minh Tâm

gây hại nghiêm trọng. Về nguyên nhân có thể là do nguồn giống cây đã bị thoái hóa, sức đề kháng kém, bị nhiễm dịch hại (rệp sáp bột hồng, bọ phấn trắng), thâm canh trồng liên tục trong thời gian dài, chưa thực hiện tốt khâu vệ sinh đồng ruộng, sau thu hoạch chủ yếu cày vùi tàn dư vào đất (nguồn bệnh tích lũy trong đất ngày càng nhiều), bón phân chủ yếu là phân hóa học, ít sử dụng phân hữu cơ, đất nghèo dinh dưỡng, hoặc trồng trên đất thấp, tiêu thoát nước kém, ẩm độ đất cao đã làm cho bệnh lở cổ rễ, thối củ phát sinh, lan truyền, gây hại nặng làm ảnh hưởng lớn đến năng suất và chất lượng củ ở cuối vụ.

Từ năm 2014, bệnh thối củ sản xuất hiện cục bộ, rải rác ở một số vùng trồng sản của tỉnh Tây Ninh, đến năm 2015 các huyện Tân Châu, Hòa Thành và Gò Dầu bị nhiễm bệnh khoảng 10% ở giai đoạn từ 2 - 5 tháng tuổi (Chi cục BVTV Tây Ninh, 2015, 2016). Năm 2017, bệnh phát sinh gây hại hầu hết trên các huyện trồng sản của tỉnh với mức độ thiệt hại lên đến 70% (Chi cục BVTV Tây Ninh, 2017). Để phòng trừ bệnh thối củ, nông dân chủ yếu chỉ sử dụng thuốc hóa học, khi thấy bệnh lan rộng mới xử lý, phương pháp chủ yếu là phun trên lá kết hợp với các loại thuốc trừ sâu, trong khi bệnh thối củ phát sinh gây hại từ trong đất do vậy đã không ngăn chặn được bệnh nhất là trong mùa mưa. Trong nghiên cứu này, mô hình canh tác với việc sử dụng phân hữu cơ, chế phẩm sinh học *Trichoderma*, xử lý giống trước khi trồng, giảm liều lượng phân vô cơ, phun thuốc đúng chủng loại và phun sớm khi bệnh mới xuất hiện đã được thực hiện để đánh giá hiệu quả kiểm soát bệnh thối củ so với tập quán của

nông dân, làm cơ sở đề xuất, khuyến cáo áp dụng ngoài sản xuất cho các vùng trồng sản của tỉnh Tây Ninh cũng như các vùng lân cận là rất cần thiết.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Thời gian thực hiện: Điều tra bệnh thực hiện từ tháng 02/2018 - 11/2018. Bố trí mô hình từ tháng 4/2018 - 02/2019.

Địa điểm nghiên cứu: Xã Tân Hưng, Thạnh Đông và thị trấn Tân Châu. Thí nghiệm mô hình thực hiện tại xã Tân Hưng, huyện Tân Châu, tỉnh Tây Ninh.

Giống sản thí nghiệm: KM94.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Điều tra tình hình, diễn biến mức độ bệnh thối củ sản tại tỉnh Tây Ninh

Điều tra được thực hiện tại 3 xã thuộc huyện Tân Châu, tỉnh Tây Ninh là Tân Hưng, Thạnh Đông và thị trấn Tân Châu theo QCVN 01-38:2010-BNNPTNT về phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây trồng. Mỗi xã điều tra 10 ruộng, mỗi ruộng điều tra 10 điểm phân bố trên 2 đường chéo góc, diện tích 50 m²/điểm. Điều tra diễn biến, mức độ bệnh được thực hiện trên ruộng và điểm cố định, định kỳ 15 ngày/lần, bắt đầu từ khi cây sản được 2 tháng tuổi đến thu hoạch.

* Các chỉ tiêu theo dõi:

Tỷ lệ cây bệnh (%): Tại các điểm điều tra ghi nhận cây bị bệnh, bao gồm các triệu chứng: lá héo rũ, vàng lá, thối gốc, lở cổ rễ và thối củ. Tính tỷ lệ cây bệnh (TLCB) theo công thức:

$$\text{TLCB (\%)} = \sum \frac{\text{Số cây bị bệnh}}{\text{Số cây điều tra}} \times 100$$

Tỷ lệ củ bị thối (%): Tính một lần tại thời điểm thu hoạch, mỗi ruộng chọn ngẫu nhiên 10 điểm phân bố trên hai đường chéo góc, mỗi điểm 25 m². Thu toàn bộ số củ ở mỗi điểm, đếm tổng số củ bị thối và tính theo công thức:

$$\text{TLCT (\%)} = \sum \frac{\text{Số củ bị thối}}{\text{Số cây điều tra}} \times 100$$

2.2.2. Đánh giá hiệu quả kiểm soát bệnh thối củ sắn trên hai mô hình canh tác tại Tây Ninh

Thí nghiệm bố trí diện rộng không lặp lại, gồm 2 ruộng, mỗi ruộng có diện tích 10.000 m² tương ứng với 2 mô hình: mô hình thí nghiệm và mô hình đối chứng theo tập quán nông dân. Giống sắn thí nghiệm là KM94, những tác động kỹ thuật chính của 2 ruộng thí nghiệm được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Các tác động kỹ thuật ở hai mô hình thí nghiệm

Kỹ thuật tác động chính	Ruộng mô hình	Ruộng đối chứng
Làm đất và vệ sinh ruộng	Dọn sạch cỏ dại, tàn dư vụ trước, cày đất kỹ 2 lần, san đất bằng phẳng Xử lý vôi Dolomite: 500 kg/ha.	Không dọn cỏ và tàn dư. Cày xới đất một lần Không xử lý vôi
Mật độ trồng	Mật độ: 17.857 hom/ha Xử lý hom giống: Metalaxyl + Mancozeb: 4 gram/20 lít nước.	Mật độ: 20.408 hom/ha Không xử lý hom giống
Phân bón	Trước khi trồng: Phân hữu cơ Komix (1,2 tấn/ha) + lân supe (500 kg/ha) Xử lý <i>Trichoderma</i> (NolaSub): 15 kg/ha sau bón phân hữu cơ 5 ngày. Phân vô cơ: Giai đoạn 40 và 90 ngày sau trồng: Urê (130,5 kg/ha/lần) + KCl (133,5 kg/ha/lần). - Giai đoạn 60 và 120 ngày sau trồng, tưới bổ sung <i>Trichoderma</i> 15 lít/ha/lần. Phòng trừ cỏ dại: + Làm cỏ bằng tay 2 lần ở giai đoạn 30 và 60 ngày sau trồng.	Trước khi trồng: lân supe (800 kg/ha) Không xử lý <i>Trichoderma</i> Phân vô cơ: Giai đoạn 40 và 90 ngày sau trồng: Urê (160 kg/ha/lần) + KCl (160 kg/ha/lần) Không bổ sung <i>Trichoderma</i> Phòng trừ cỏ dại: + Phun 3 lần thuốc trừ cỏ hoạt chất Glyphosate, định kỳ 1 tháng/lần vào giai đoạn 30, 60 và 90 ngày sau trồng
Phòng trừ bệnh thối củ sắn	Xử lý thuốc khi xuất hiện bệnh từ 3 - 5%. + Lần 1: Cuprous oxid + Dimethomorph + Lần 2: Chlorothalonil + Cymoxanil + Mancozeb + Lần 3: Mancozeb + Metalaxyl M Thời điểm xử lý cách nhau 10 ngày, lượng nước phun 600 lít/ha.	Khi bệnh xuất hiện, xử lý 3 lần hỗn hợp thuốc/lần phun: Cuprous oxid + Dimethomorph và Azoxystrobin + Difenconazol, mỗi lần cách nhau 7 ngày với lượng nước phun 400 lít/ha.

*** Phương pháp điều tra và chỉ tiêu theo dõi:**

- **Tỷ lệ cây bệnh (TLCB%):** Trên ruộng mô hình và ruộng đối chứng chọn 25 điểm nằm trên đường chéo góc, mỗi điểm 25 m². Tại các điểm điều tra ghi nhận triệu chứng bệnh trên cây như: héo, vàng lá, thối góc, lở cổ rễ và thối củ. Thời điểm theo dõi: Trước khi phun thuốc, 7 ngày sau mỗi lần phun. Ở lần phun cuối theo dõi đến 14 ngày.

- **Tỷ lệ củ bị thối (%):** Theo dõi một lần tại thời điểm thu hoạch, mỗi ruộng chọn ngẫu nhiên 10 điểm phân bố trên hai đường chéo góc, mỗi điểm 25 m². Thu toàn bộ củ sắn ở mỗi điểm, đếm tổng số củ bị thối và tính tỷ lệ củ bị thối.

- Các chỉ tiêu năng suất:

+ **Năng suất lý thuyết (NSLT)** được tính theo công thức:

$$\text{NSLT (tấn/ha)} = \frac{\text{Trọng lượng củ trung bình/cây(kg/cây)} \times \text{mật độ trồng}}{1000}$$

+ **Năng suất thực thu (tấn/ha):** Cân khối lượng củ tươi thực thu của mỗi ruộng mô hình.

- Hàm lượng tinh bột:

Hàm lượng tinh bột (%) được xác định bằng phương pháp tỉ trọng của CIAT.

- **Năng suất tinh bột (tấn/ha) =** Năng suất củ tươi × Hàm lượng tinh bột/100

*** Phương pháp xử lý số liệu:**

Số liệu về tỷ lệ cây bệnh và tỷ lệ củ bị bệnh trên 2 mô hình canh tác được xử lý thống kê T-test.

4 tháng sau khi trồng với hiện tượng lá chuyển màu vàng, héo rũ, khô rụng, cổ rễ bị thối, teo thắt phần gốc sát mặt đất, sau đó lan xuống củ gây thối mục củ giai đoạn hình thành củ (Hình 1). Kết quả điều tra tình hình bệnh tại 3 xã của huyện Tân Châu cho thấy, mức độ nhiễm bệnh trên đồng ruộng thay đổi tùy theo vùng trồng. Các ruộng sắn ở xã Tân Hưng bị nhiễm bệnh nặng nhất với tỷ lệ cây bệnh trung bình là 18,48% và tỷ lệ củ bị thối lên đến 20,81%. Tại xã Thạnh Đông, tỷ lệ cây sắn bị bệnh là 16,16% và tỷ lệ củ thối ở cuối vụ là 19,89%. Kết quả điều tra cũng ghi nhận, ruộng điều tra ở thị trấn Tân Châu bệnh xuất hiện chậm và gây hại nhẹ với mức độ nhiễm bệnh 13,00% và củ bị thối 17,66% (Bảng 2).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tình hình, diễn biến mức độ bệnh thối củ sắn tại huyện Tân Châu, tỉnh Tây Ninh

Bệnh thối củ sắn (còn gọi là bệnh lở cổ rễ giai đoạn đầu) xuất hiện rải rác từ 2 -



Hình 1. Triệu chứng các giai đoạn bệnh thối củ sắn ngoài đồng ruộng

A. Lá héo vàng; B - C. Thối cổ rễ; D. Củ bị thối mục

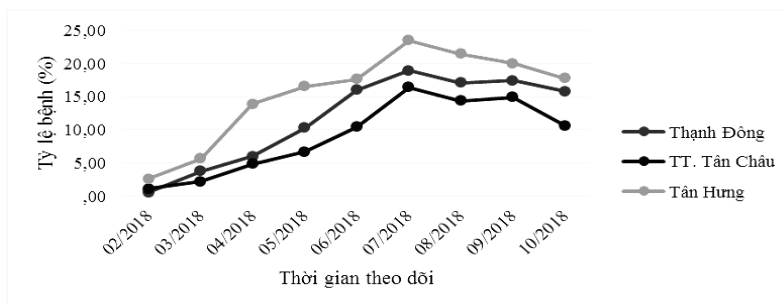
Bảng 2. Tình hình bệnh thối củ sắn tại huyện Tân Châu, tỉnh Tây Ninh

Điểm điều tra (xã)	Diện tích TB (ha)	TLCB (%)	TLCT (%)
Tân Hưng	4,9	18,48	20,81
Thanh Đông	4,3	16,16	19,89
Thị trấn Tân Châu	5,9	13,00	17,66
Trung bình	-	15,88	20,13

Ghi chú: TLCB: Tỷ lệ cây bệnh; TLCT: Tỷ lệ củ bệnh (bị thối).

Kết quả điều tra diễn biến bệnh cho thấy, bệnh xuất hiện triệu chứng lá bị vàng, héo rũ. Khô và rụng bắt đầu từ tháng thứ 2 sau trồng. Sau đó bệnh tăng dần qua các tháng điều tra, gây hại nặng từ tháng thứ 5, nặng ở tháng thứ 7 và sau đó giảm dần cho

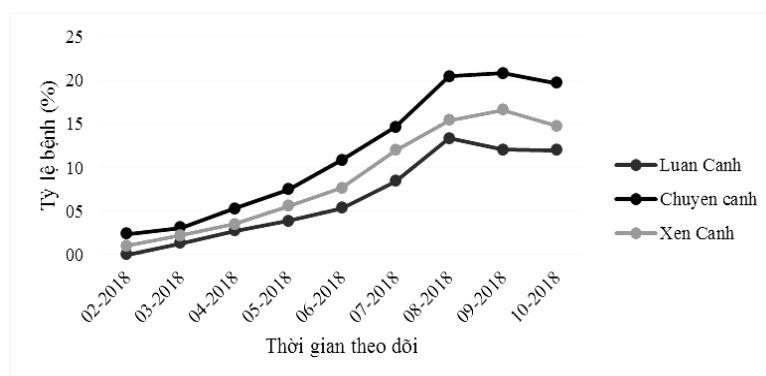
đến khi thu hoạch. Các ruộng điều tra ở xã Tân Hưng có tỷ lệ bệnh cao nhất với tỷ lệ nhiễm bệnh lên đến 23,55%, kế đến là xã Thanh Đông và thấp nhất là thị trấn Tân Châu với mức độ bệnh là 16,44% ở giai đoạn 10 tháng sau trồng (Hình 2).



Hình 2. Diễn biến mức độ bệnh thối củ sắn tại huyện Tân Châu, tỉnh Tây Ninh

Ở Tân Châu có 3 loại hình canh tác sắn là trồng thuần, trồng xen với cao su và trồng luân canh với cây lúa nước. Kết quả điều tra diễn biến bệnh ở những hình thức canh tác này cho thấy, vùng trồng sắn chuyên canh tập trung ở xã Tân Hưng có

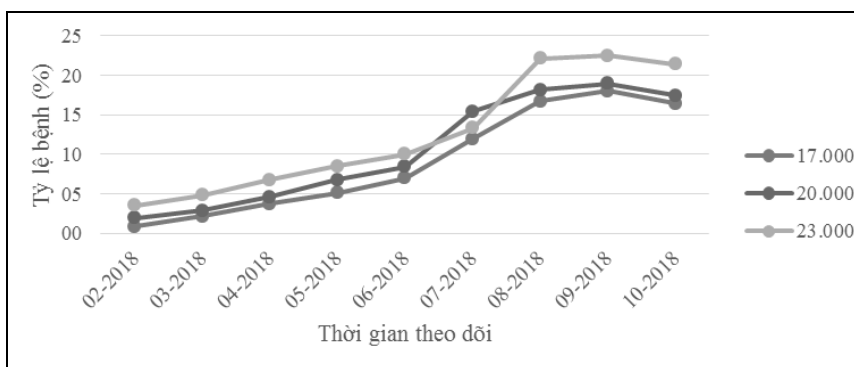
mức độ nhiễm bệnh nặng nhất với tỷ lệ bệnh lên đến 20,81%, ruộng trồng sắn xen với cây cao su bị nhiễm bệnh trung bình 16,59% và ruộng trồng luân canh với cây lúa nước có mức độ nhiễm bệnh thấp 13,33% (Hình 3).



Hình 3. Diễn biến bệnh thối củ sắn ở các ruộng canh tác khác nhau tại huyện Tân Châu, tỉnh Tây Ninh

Mật độ hom giống trồng trên héc-ta ở Tân Châu cũng có sự khác nhau theo địa bàn canh tác. Có 3 mật độ trồng phổ biến được nông dân áp dụng là 17.000 hom/ha, 20.000 hom/ha và 23.000 hom/ha. Kết quả điều tra bệnh trên 3 mật độ trồng cho thấy, mức độ nhiễm bệnh thối củ sắn ở các ruộng điều tra biến động từ 17,15 - 22,50%. Trong đó, những ruộng sắn có mật độ 23.000 hom/ha bị nhiễm bệnh rất nặng, nhất là trong mùa mưa, trên những vùng đất trồng chuyên canh, đất thấp,

đóng váng và thoát nước chậm. Đặc thù của cây sắn là sinh khối tương đối lớn, khi cây giao tán, rậm rạp, tạo ẩm độ cao trong mùa mưa, đây chính là yếu tố làm cho bệnh phát sinh gây hại nặng và rất khó phòng trừ. Đa số các ruộng điều tra tại xã Tân Hưng đều trồng sắn với một độ 23.000 hom/ha do vậy tỷ lệ nhiễm bệnh rất cao, trung bình 22,50%, cá biệt có một vài ruộng tỷ lệ nhiễm bệnh lên đến 31,56% ở giai đoạn từ 7 - 9 tháng sau khi trồng (Hình 4).



Hình 4. Diễn biến bệnh thối củ sắn ở các mật độ trồng khác nhau tại huyện Tân Châu, tỉnh Tây Ninh

3.2. Hiệu quả kiểm soát bệnh thối củ sắn trên hai mô hình canh tác tại Tây Ninh

Ở mô hình canh tác theo tập quán nông dân, bệnh thối củ sắn xuất hiện và gây hại

sớm từ giai đoạn 2 tháng sau khi trồng với triệu chứng ban đầu là lá héo rũ, vàng với tỷ lệ 6,67%. Trong khi đó, ở ruộng mô hình 5 tháng sau trồng bệnh mới xuất hiện với mức độ thấp 3,16% (Bảng 3).

Bảng 3. Mức độ bệnh trên hai mô hình canh tác ở các thời điểm xử lý thuốc trừ bệnh

Ruộng theo dõi	Tỷ lệ cây bệnh trung bình (%) ở các thời điểm theo dõi				
	TXL (TB ± SD)	7NSXL1 (TB ± SD)	7NSXL2 (TB ± SD)	7NSXL3 (TB ± SD)	14NSXL3 (TB ± SD)
Mô hình	3,16 ± 1,91	6,49 ± 2,04	7,02 ± 1,74	7,51 ± 1,88	8,62 ± 2,03
Đối chứng	6,67 ± 3,78	9,52 ± 3,88	14,29 ± 3,49	18,10 ± 3,98	23,81 ± 3,66
T - test	t = 4,14 > t _α = 2,03	t = 3,58 > t _α = 2,03	t = 8,72 > t _α = 2,03	t = 12,65 > t _α = 2,03	t = 18,15 > t _α = 2,03
Mức ý nghĩa	*	*	*	*	*

Kết quả Bảng 3 cho thấy, ở ruộng mô hình thí nghiệm do trồng với mật độ thưa (17.857 hom/ha), có xử lý hom giống bằng thuốc trừ bệnh, dùng vôi Dolomit xử lý đất, sử dụng phân hữu cơ Komix và chế phẩm *Trichoderma* nên mức độ nhiễm bệnh thấp hơn so với mô hình đối chứng. Sau 3 lần xử lý thuốc, mức độ bệnh trung bình ở hai mô hình khác biệt rất có nghĩa, tỷ lệ bệnh ở mô hình thí nghiệm là 8,62%, trong khi đó ở mô hình đối chứng tỷ lệ bệnh lên đến 23,81%. Tuy cả 2 mô hình đều xử lý 3 lần thuốc trừ bệnh, nhưng ở mô hình đối chứng nông dân không sử dụng bổ sung chế phẩm *Trichoderma*, chỉ sử dụng cùng loại hỗn hợp các thuốc Cuprous oxid + Dimethomorph và Azoxystrobin + Difenconazol cho cả 3 lần xử lý và phun phủ đều trên tán lá. Điều này cho thấy, chủng loại thuốc, phương pháp xử lý thuốc cho đối tượng bệnh thối củ của nông dân là không hợp lý từ đó dẫn đến hiệu quả trừ bệnh không cao.

Như vậy, các giải pháp áp dụng ở ruộng mô hình thí nghiệm như: Xử lý vôi Dolomit ở đầu vụ, bón phân hữu cơ Komix, trồng với mật độ theo khuyến cáo (Nguyễn Hữu Hỷ và *ctv.*, 2017), giảm lượng phân vô cơ, định kỳ bổ sung chế phẩm *Trichoderma* và xử lý thuốc đúng chủng loại cho tác nhân gây bệnh khi bệnh mới xuất hiện đã kiểm soát được bệnh thối củ ngay từ đầu, tỷ lệ nhiễm bệnh thấp hơn so với ruộng đối chứng canh tác theo tập quán canh tác của nông dân.

Hiệu quả của việc kiểm soát bệnh thối củ sắn được thể hiện qua chỉ tiêu đánh giá mức độ củ bị thối khi thu hoạch. Kết quả cho thấy có sự khác biệt về tỷ lệ củ sắn bị thối giữa hai mô hình canh tác. Ở ruộng mô hình thí nghiệm có mức độ nhiễm bệnh trung bình 13,07%, tỷ lệ củ bị thối 5,56% thấp hơn so với ruộng đối chứng có tỷ lệ cây bệnh là 29,52% và tỷ lệ củ bị thối lên đến 13,97% (Bảng 4).

Bảng 4. Tình hình bệnh thối củ sắn trên hai mô hình ở giai đoạn thu hoạch

Ruộng theo dõi	Tỷ lệ cây bệnh (%)	Tỷ lệ củ thối (%)
Mô hình	13,07 ± 2,66	5,56 ± 1,84
Đối chứng	29,52 ± 4,76	13,97 ± 3,77
<i>T</i> - test	$ t = 4,14 > t_{\alpha} = 2,03$	$ t = 4,14 > t_{\alpha} = 2,03$
Mức ý nghĩa	*	*

Từ kết quả về năng suất thực thu ở hai mô hình cho thấy, ruộng mô hình thí nghiệm đạt năng suất 30,35 tấn/ha cao hơn và khác biệt so với ruộng đối chứng 25,12 tấn/ha (Bảng 5).

Như vậy, các giải pháp kỹ thuật áp dụng ở mô hình thí nghiệm bước đầu đã đạt hiệu quả giảm bệnh và đạt năng suất cao hơn so với kiểu canh tác theo tập quán của nông dân.

Bảng 5. Năng suất lý thuyết, năng suất thực thu của hai mô hình

Ruộng theo dõi	Năng suất lý thuyết (tấn/ha)	Năng suất thực thu (tấn/ha)
Mô hình	35,07	30,35
Đối chứng	28,26	25,12
<i>T - test</i>	$ t = 3,3 < t_{\alpha} = 2,03$	
Mức ý nghĩa	ns	

Kết quả phân tích chất lượng củ sắn ở hai mô hình canh tác cho thấy, hàm lượng tinh bột và năng suất tinh bột ở ruộng mô hình đạt 27,45% và 9,22 tấn/ha, cao hơn so với ruộng đối chứng 25,38% và 7,16 tấn/ha (Bảng 6). Điều này cho thấy, có thể thấy việc sử dụng phân hữu cơ Komix, chế

phẩm *Trichoderma* và áp dụng hợp lý loại thuốc trừ bệnh, thời điểm phun, phương pháp xử lý thuốc để kiểm soát bệnh thối củ đã đạt hiệu quả cao, hàm lượng tinh bột và năng suất tinh bột cao hơn so với ruộng đối chứng canh tác theo tập quán nông dân.

Bảng 6. Hàm lượng tinh bột và năng suất tinh bột củ sắn trên hai mô hình canh tác

Ruộng theo dõi	Hàm lượng tinh bột (%)	Năng suất tinh bột (tấn/ha)
Mô hình	27,45	9,22
Đối chứng	25,38	7,16
<i>T - test</i>	$ t = 4,96 > t_{\alpha} = 2,03$	$ t = 2,8 > t_{\alpha} = 2,03$
Mức ý nghĩa	*	*

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Bệnh thối củ sắn xuất hiện từ giai đoạn 2 tháng sau khi trồng và gây hại nặng ở giai đoạn 5 - 7 tháng cho đến khi thu hoạch. Bệnh phát sinh gây hại nặng trên chân đất trũng, thoát nước kém, đất trồng chuyên canh lâu năm, tập quán không sử dụng phân hữu cơ làm cho đất nghèo dinh dưỡng, bệnh diễn biến phức tạp và gây hại nặng khi thời tiết khí hậu thay đổi. Các yếu tố canh tác như mật độ trồng dày, trồng chuyên canh lâu năm, hoặc trồng xen trong vườn cao su, đất trũng, thoát nước kém là yếu tố làm cho bệnh lưu tồn, phát sinh gây hại nặng.

Các giải pháp kỹ thuật áp dụng trong mô hình như xử lý vôi Dolomit ở đầu vụ, sử dụng phân hữu cơ Komix, giảm lượng phân vô cơ, định kỳ bổ sung chế phẩm *Trichoderma*, trồng với mật độ theo khuyến cáo. Thường xuyên theo dõi ruộng, phát hiện sớm và phun thuốc khi bệnh mới xuất hiện đã mang lại hiệu quả trong việc kiểm soát bệnh thối củ sắn với mức độ củ sắn bị thối khi thu hoạch thấp 5,56%, năng suất thực thu đạt 30,35 tấn/ha. Bên cạnh việc kiểm soát bệnh thối củ sắn, năng suất củ cao, hàm lượng tinh bột trong củ và năng suất tinh bột cũng cao hơn so với mô hình đối chứng. Để có cơ

sở khuyến cáo áp dụng, cần tiếp tục thực hiện mô hình thêm 1 - 2 vụ ở những điều kiện canh tác khác nhau trước khi khuyến cáo cho sản xuất đại trà tại tỉnh Tây Ninh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (2010). Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia QCVN 01-38:2010/BNNPTNT về phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây trồng.
2. Chi cục BVTV Tây Ninh (2015). Báo cáo tình hình bệnh lở cổ rễ khoai mì và giải pháp phòng trừ. *Báo cáo định kỳ về điều tra phát hiện dịch hại trên cây khoai mì*. 3 trang.
3. Chi cục BVTV Tây Ninh (2016). Điều tra sự phát sinh gây hại của bệnh lở cổ rễ trên cây khoai mì tại Tây Ninh năm 2016. 3 trang.
4. Chi cục BVTV Tây Ninh (2017). Giải pháp tạm thời phòng trừ bệnh lở cổ rễ khoai mì. *Báo cáo định kỳ về tại Tây Ninh điều tra phát hiện dịch hại trên cây khoai mì*. 5 trang.
5. Cooke, B. M. (2006). Disease assessment and yield loss. In *The epidemiology of plant diseases*. Springer Netherlands. pp. 43 - 80.
6. 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.
7. Nguyễn Đức Cường (2009). Kỹ thuật trồng sắn. *Nhà xuất bản Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*. 43 trang.
8. Nguyễn Hữu Hỷ, Phạm Thị Nhạn, Đinh Văn Cường, Tống Quốc Ân, Võ Văn Tuấn, Bạch Văn Long (2017). Quy trình canh tác sắn bền vững cho vùng Đông Nam Bộ. Trung tâm Nghiên cứu Thực nghiệm Hưng Lộc. 4 trang.
9. Võ Thị Thu Oanh (2017). Nghiên cứu xác định tác nhân gây bệnh lở cổ rễ cây khoai mì tại Tây Ninh. *Báo cáo nghiệm thu đề tài cơ sở Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh*. 56 trang.

XÁC ĐỊNH SỰ HIỆN DIỆN ĐỘC TỐ ALTERNARIOL CỦA *Alternaria* spp. GÂY BỆNH ĐỐM NÂU TRÊN CÂY CHANH DÂY (*Passiflora edulis*)

Lê Phạm Đoàn Trang¹, Phan Thị Thu Hiền²
Lê Tiểu Yến³ và Lê Đình Đôn³

¹Trung tâm Kiểm định và Khảo nghiệm thuốc bảo vệ thực vật phía Nam

²Trung tâm Kiểm dịch thực vật sau nhập khẩu II

³Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh

ABSTRACT

The present study of “Determining the presence of alternariol (AOH) produced by *Alternaria* spp. causing brown spot disease on passion fruit (*Passiflora edulis*)” with the aim to develop liquid chromatography procedure for determining the presence of alternariol produced by *Alternaria* spp. Alternariol toxin samples were collected by multiplying *Alternaria* spp. on the PD medium in 21 days, the extract was then extracted and cleaned - up by the QuEChERS kit. LC - MS/MS have been used for confirmation and quantification of alternariol in the extract. The analysis were separated in a C18 column with a gradient elution using 5 mM ammonium acetate/0.1% acetic acid in methanol and 5 mM ammonium acetate/0.1% acetic acid in water. The calibration curve showed good linear correlation ($R^2 > 0.99$). The quantitation limit and recovery were 0.01 mg ml^{-1} and 84%, respectively and the coefficient of variation (CV) was less than 20%. The results showed that the detection of AOH toxin in fungal extracts using LC - MS/MS was confirmed with 10 out of 13 samples detected the presence of alternariol.

Keywords: Alternariol toxin, LC - MS/MS, *Alternaria* spp., passion fruit.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Mycotoxin là chất chuyển hóa thứ cấp độc hại tự nhiên được hình thành bởi nấm. Nhiều loại nấm có khả năng tạo mycotoxin bao gồm các chi *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* và *Alternaria*. *Alternaria* là chi nấm thuộc nhóm ký sinh và hoại sinh và cũng là tác nhân gây bệnh phổ biến trên nhiều loại cây trồng ở giai đoạn trước và sau thu hoạch. Nhiều loài

Alternaria được biết có thể sản sinh ra nhiều chất chuyển hóa thứ cấp, chủ yếu là độc tố thực vật (Dẫn theo Luke và Gracen, 1972), đóng một vai trò quan trọng trong sinh bệnh học của cây và sản sinh ra nhiều chất chuyển hóa thứ cấp có hại cho sức khỏe của động vật và con người. Các độc tố sinh ra từ *Alternaria* thuộc ba nhóm cấu trúc: dẫn xuất axit tetramic, axit tenuazonic; các dẫn xuất dibenzopyrone, alternariol, alternariol mono-methyl ether, altenuene; và các dẫn xuất perylene, các chất thay thế (Ostry, 2008).

Người phân biên: TS. Trần Thanh Tùng.

Alternaria là một chi nấm gây hại phổ biến trên một số loài cây trồng, dưới điều kiện thích hợp, *Alternaria* có thể sản sinh ra một loạt các độc tố cũng như các chất chuyển hóa thứ cấp. Loài *A. alternata* có lẽ là quan trọng nhất trong việc sản sinh ra các độc tố và thường xảy ra ở các hạt có dầu như: hạt ngũ cốc, hạt hướng dương, hạt ô liu, các loại trái cây. Dựa trên ảnh hưởng của *Alternaria* đối với cây trồng, độc tố *Alternaria* được chia làm 2 loại: độc tố không chọn lọc ký chủ (NST) và độc tố chọn lọc ký chủ (HSTs - Host Specific Toxins). Một số độc tố không chọn lọc ký chủ như alternariol, alternariol monomethyl ether, acid tenuazonic và altertoxin đã được các tác giả nghiên cứu về tính độc và được mô tả khả năng gây tác hại cho động vật (EFSA, 2011). Một nghiên cứu khác của Slavov và cộng sự (2004) về khả năng sản sinh ra các độc tố chuyên tính từ nấm *Alternaria alternata*. Tác giả cho rằng có ít nhất 12 loại độc tố thực vật chuyên tính được sinh ra từ các loài nấm *Alternaria* khác nhau, hầu hết 12 loại độc tố này được sinh ra từ các dòng lai của nấm *Alternaria alternata*. Trong số 12 loại độc tố thì loại độc tố AT được sinh ra từ cây thuốc lá bị bệnh do *Alternaria alternata* và đóng vai trò cho việc gây bệnh trên cây thuốc lá.

Nhiều công trình nghiên cứu về sự ảnh hưởng của độc tố AOH nói riêng và các độc tố khác nói chung đối với con người, động vật và thực vật cho thấy tầm quan trọng của các độc tố sinh ra từ

Alternaria. Ở Việt Nam chưa có những nghiên cứu liên quan về các độc tố sinh ra từ *Alternaria* và cũng chưa có những nghiên cứu về xây dựng phương pháp hoặc phát triển quy trình sắc ký lỏng để xác định sự hiện diện của AOH sản sinh ra từ *Alternaria*. Do đó đề tài “Xác định sự hiện diện độc tố alternariol của *Alternaria spp.* gây bệnh đốm nâu trên cây chanh dây” đã được thực hiện.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Hóa chất: MgSO₄ khan, NaCl (PA), PSA cỡ hạt 40 μm, axetonitril (Merck), metanol (Merck), axit axetic (PA), chất chuẩn alternariol (TRC), amonium axetat (PA).

Dụng cụ và thiết bị: Các thiết bị cơ bản sử dụng trong phòng thí nghiệm hóa phân tích như máy đánh sóng siêu âm, khuấy từ, ly tâm, cô quay chân không, vortex, tủ sấy, kính hiển vi, tủ định ôn, buồng cấy, cân phân tích micropipet, eppendof, khay nhựa, bình tam giác, ống đong, đĩa Petri, màng lọc PTFE 0,45 μm và thiết bị phân tích sắc ký lỏng khối phổ 2 lần (LC-MS/MS) Shimadzu LCMS-8040, được trang bị nguồn ion hóa phun điện tử (ESI), bơm 4 kênh LC-20ADXR, bộ lấy mẫu tự động SIL-20ACXR của hệ thống Shimadzu và cột Phenomenex C18 (100 mm × 3 mm × 3,5 μm).

Nguồn nấm *Alternaria spp.* được sử dụng trong nghiên cứu như sau:

Bảng 1. Nguồn nấm *Alternaria* spp. được sử dụng trong nghiên cứu

STT	Mẫu phân lập	Địa điểm thu thập mẫu	Bộ phận bị hại	Tên loài
1	CDNK1.13	Sân bay Tân Sơn Nhất	Lá CD	<i>Alternaria alternata</i>
2	CDNK7.13	Sân bay Tân Sơn Nhất	Lá CD	<i>Alternaria alternata</i>
3	CDNK18.14	Sân bay Tân Sơn Nhất	Lá CD	<i>Alternaria alternata</i>
4	DN9L1.10	Đắk Nông	Lá CD	<i>Alternaria passiflorae</i>
5	DN8T4.11	Đắk Nông	Quả CD	<i>Alternaria passiflorae</i>
6	DN11T1.16	Đắk Nông	Quả CD	<i>Alternaria alternata</i>
7	DN3T2.17	Đắk Nông	Quả CD	<i>Alternaria passiflorae</i>
8	LD4T3.10	Lâm Đồng	Quả CD	<i>Alternaria passiflorae</i>
9	LD16L1.14	Lâm Đồng	Lá CD	<i>Alternaria passiflorae</i>
10	LD1T1.16	Lâm Đồng	Quả CD	<i>Alternaria passiflorae</i>
11	LD2T1.16	Lâm Đồng	Quả CD	<i>Alternaria</i> sp.
12	DN1C1.18 ^(a)	Đắk Nông	Lá cỏ	<i>Alternaria</i> sp.
13	DN3C3.18 ^(b)	Đắk Nông	Lá cỏ	<i>Alternaria</i> sp.
14	Mẫu trắng ^(c)	-	-	<i>Sclerotium rolfsii</i>

Ghi chú: CD: Chanh dây, DN: Đắk Nông, LD: Lâm Đồng, L: Lá, T: Quả, NK: Nhập khẩu, (a): Mẫu cút heo (*Agertatum conyzoides* L.) được thu thập trong vườn chanh dây, (b): Mẫu cỏ song nha lông (*Bidens pilosa* L.) được thu thập từ vườn chanh dây, (c) Mẫu trắng được sử dụng trong nghiên cứu là dòng nấm *Sclerotium rolfsii*.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chuẩn bị môi trường PD

Khoai tây gọt sạch vỏ, cân 200 g thái hạt lựu nấu trong 20 phút lọc bã, thu dịch chiết thêm 20 g dextrose. Đun trên máy khuấy từ đến khi đường tan hết, định mức cho đủ 1 lít môi trường bằng nước cất. Sau đó cho vào mỗi chai (loại chai có dung tích 500 ml) 100 ml môi trường và sau khi chuẩn bị xong được đem hấp khử trùng ở 121°C trong 20 phút.

2.2.2. Phương pháp nhân nấm và thu dung dịch nuôi cấy

Các mẫu phân lập *Alternaria* spp. được nuôi trong môi trường lỏng PD bằng cách dùng dụng cụ đục lỗ đục các

mảnh thạch đường kính 0,5 mm có chứa nấm *Alternaria* spp. được nuôi trên môi trường PDA 7 ngày tuổi. Hơ kỹ miệng bình chứa môi trường đã chuẩn bị trên ngọn lửa đèn cồn. Dùng que cấy vô trùng lấy 5 mảnh thạch cho vào mỗi chai có chứa môi trường PD. Nấm được nuôi trong 3 tuần, sau đó thu các dung dịch nuôi cấy để sử dụng trong các thí nghiệm xác định độc tố nấm bằng thiết bị LC-MS/MS.

2.2.3. Phương pháp tách chiết mẫu

Ly trích các độc tố nấm *Alternaria* từ các dòng phân lập đại diện cho các loài đã được thực hiện bằng phương pháp QuEChERS theo nguyên tắc: Chiết AOH ra khỏi nền mẫu bằng axetonitril, loại nước bằng MgSO₄ khan, làm sạch bằng

PSA sau đó xác định bằng máy sắc ký lỏng khối phổ LC-MS/MS.

Hút 2 ml dung dịch nấm vào ống Falcon 50 ml, thêm vào 10 ml axetonitril (1% axit axetic) và 7,5 ml nước cất, vortex trong 4 phút; thêm 4 g MgSO₄ và 1 g NaCl, vortex 3 phút; sau đó ly tâm 7.500 vòng/phút trong 6 phút. Hút 6 ml lớp dung dịch phía trên vào ống Falcon 15 ml, thêm vào 0,2 g PSA, 0,6 g MgSO₄; vortex 2 phút, ly tâm 4.000 vòng/phút trong 5 phút. Hút 3 ml lớp dung dịch phía trên cô cạn ở 40°C bằng máy cô quay chân không, hòa tan bằng 0,4 ml metanol; lọc qua màng lọc PTFE 0,45 µm và xác định bằng máy sắc ký lỏng LC-MS/MS.

2.2.4. Phương pháp xác định sự hiện diện của độc tố Alternariol sinh ra từ *Alternaria* spp. bằng sắc ký lỏng ghép khối phổ LC-MS/MS (Noser và cộng sự, 2011)

Thiết bị LCMS-8040 Shimadzu, nguồn ion: ESI-, điện áp: 4000 V, tốc độ dòng khí: drying gas: 15 l/phút; nebulizing gas: 45 psi.

Bơm 4 kênh LC-20ADXR của hệ thống Shimadzu

Bộ lấy mẫu tự động SIL-20ACXR của hệ thống Shimadzu

Cột: Phenomenex C18 (100 mm × 3 mm × 3,5 µm)

Nhiệt độ cột: 40°C.

Tốc độ dòng: 0,3 ml/phút.

Pha động A: Metanol có hàm lượng amonium axetat 5 mmol/l và axit axetic 0,1%.

Pha động B: Nước có hàm lượng amonium axetat 5 mmol/l và axit axetic 0,1%

Thể tích tiêm: 10 µl.

Bảng 2. Chương trình gradient tách AOH

Thời gian (phút)	% MeOH	% H ₂ O
0	5	95
0,5	5	95
10	70	30
12	95	5
17	95	5
17,5	5	95
20	5	95

Bảng 3. Điều kiện phân mảnh

Hoạt chất	Mảnh khối mẹ	Mảnh khối con 1 (*)	CE (V)	Mảnh khối con 2	CE (V)	Thời gian quét (ms)
Alternariol	256,96	147,03	34	215,00	35	100

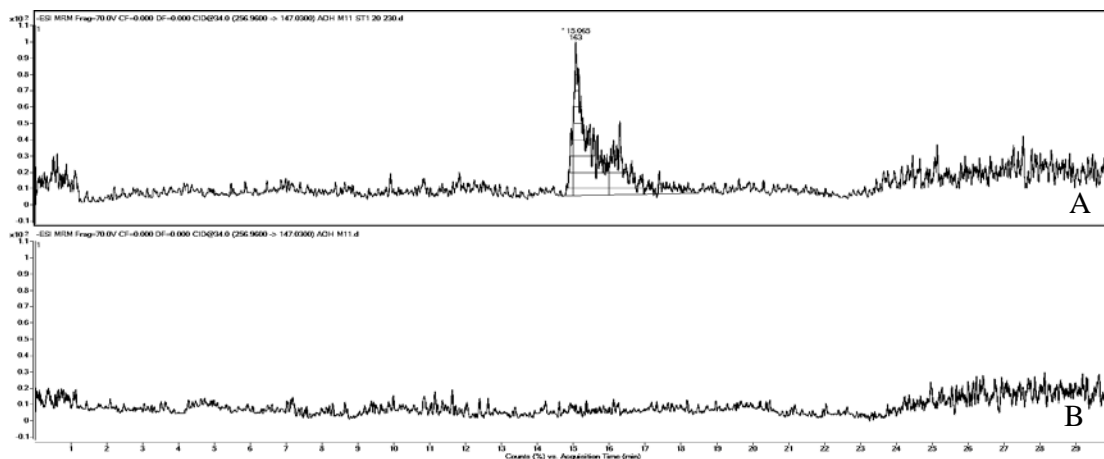
Ghi chú: (*): Dùng để định lượng.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tính đặc hiệu

Tính đặc hiệu của phương pháp phân tích được xác định thông qua việc sử

dụng mẫu trắng và mẫu trắng thêm chất chuẩn AOH. Kết quả được trình bày trong Hình 1.



Hình 1. Sắc ký đồ trong thẩm định tính đặc hiệu

A. Sắc ký đồ mẫu trắng thêm chuẩn, B. Sắc ký đồ mẫu trắng

Dựa vào kết quả được thể hiện trong Hình 1 cho thấy, sắc ký đồ của mẫu trắng không xuất hiện peak nhiều tại thời gian lưu của chất phân tích AOH. Vậy kết luận phương pháp có tính đặc hiệu cao.

3.2. Giới hạn định lượng và giới hạn định tính

Phân tích lặp lại mẫu thêm chuẩn ở nồng độ 0,1 µg/ml thu được tỷ lệ S/N là 123,3 (Hình 2). Vậy giới hạn định lượng (LOQ) ở khoảng nồng độ 0,01 µg/ml (ứng với tỷ lệ S/N khoảng 10) và giới hạn định tính khoảng 0,003 µg/ml.



Hình 2. Sắc ký đồ mẫu chuẩn tại nồng độ 0,1 µg/ml

3.3. Đường chuẩn và khoảng tuyến tính dịch chuẩn ở các nồng độ 0,1; 0,2; 0,5; 1; 2 (µg/ml).
 Đường chuẩn của hoạt chất Alternariol được xây dựng với 5 dung

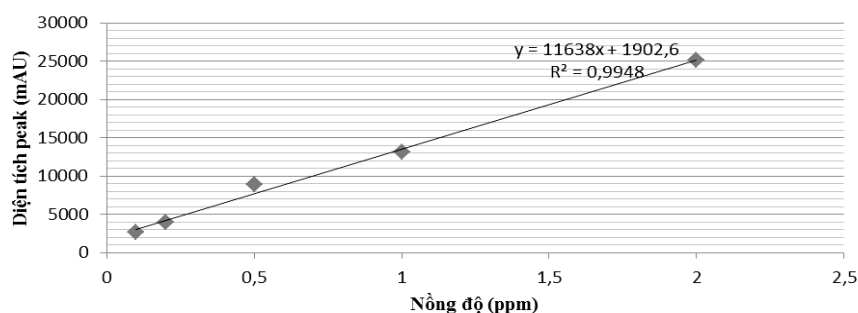
Bảng 3. Cách pha dãy chuẩn AOH

Nồng độ đầu (µg/ml)	10	5	2,5	1	0,5
Thể tích dịch chuẩn (µl)	20	20	20	20	20
Thể tích dịch mẫu (µl)	80	80	80	80	80
Thể tích sau (µl)	100	100	100	100	100
Nồng độ thu được (µg/ml)	2	1	0,5	0,2	0,1

Để tránh ảnh hưởng của nền mẫu, dung dịch pha chuẩn được dùng là mẫu trắng *Sclerotium roflsii*. Sau đó dung dịch được lọc qua màng lọc PTFE 0,45 µm tiến hành phân tích sắc ký với điều kiện đã chọn. Thu thập số liệu diện tích peak thiết lập phương trình hồi quy: $y = ax + b$. Trong đó: a: Giá trị độ dốc, x: Nồng độ AOH (µg/ml), y: Diện tích peak (mAU), b: Giá trị hệ số chặn.

Kết quả trên cho thấy mối tương quan giữa diện tích thu được từ sắc ký đồ với nồng độ của chất chuẩn AOH được thiết lập với phương trình hồi quy tuyến tính $y = 11638x + 1902,6$; hệ số tương quan $R^2 = 0,9948$ đáp ứng yêu cầu $1 \geq R^2 \geq 0,99$ (Trần Cao Sơn, 2010).

Như vậy nồng độ và diện tích peak có độ tuyến tính tốt trong khoảng nồng độ 0,1 - 2 µg/ml.



Hình 3. Đồ thị biểu diễn mối tương quan giữa nồng độ và diện tích peak Alternariol

3.4. Độ chính xác

Bảng 4. Kết quả đánh giá độ chính xác thông qua hàm lượng AOH trong mẫu thêm chuẩn

Lần lặp lại	Hiệu suất thu hồi (%)
1	83
2	93
3	74
4	86
5	84
6	87
Trung bình (%)	84,5
RSD (%)	7,362

Dựa vào kết quả đã đạt được và chỉ tiêu lựa chọn cho thấy phương pháp phân tích đã chọn cho độ chính xác cao với độ lệch chuẩn nằm trong giới hạn cho phép $RSD = 7,362 (\leq 20\%)$, hiệu suất đạt từ 70 - 120% (SANTE/11813/2017).

3.5. Xác định sự hiện diện của độc tố alternariol sinh ra từ *Alternaria* spp. bằng phương pháp sắc ký lỏng ghép khối phổ LC-MS/MS

Tiến hành nhân nấm với điều kiện được chọn từ thí nghiệm trên tiến hành nhân nấm trong môi trường PD.

Kết quả phân tích Bảng 5 cho thấy 10 trong số 13 mẫu *Alternaria* spp. thí nghiệm cho kết quả dương tính đối với độc tố alternariol. Mẫu DN3T-2.17 cho khả năng sinh độc tố cao nhất (0,46 $\mu\text{g/ml}$), 3/13 mẫu chỉ mang tính chất định tính, bao gồm mẫu CDNK7.13, mẫu CDNK1.13; LD16L-1.14 với nồng độ

mẫu < LOQ, 3/13 mẫu không phát hiện độc tố AOH: mẫu LD1T-1.16; LD2T-1.16 và DN11T-1.16.

Kết quả này khác với thí nghiệm của Siciliano và cộng sự (2015) tiến hành phân tích trên một số mẫu *Alternaria* spp. bằng thiết bị LC-MS/MS với kết quả cho thấy 5/5 mẫu phát hiện alternariol và 1/5 mẫu phát hiện TEN (tentoxin).

Vì alternariol là nội độc tố được sinh ra từ quá trình nảy mầm của bào tử *Alternaria* spp. nên lượng độc tố còn phụ thuộc nhiều yếu tố trong đó có mật độ bào tử của mẫu. Trên thực tế các mẫu LD1T-1.16, LD2T-1.16, DN11T-1.16 trong quá trình cấy truyền qua nhiều lần để lưu trữ và giữ nguồn nấm thí nghiệm các mẫu có thể bị biến đổi, lượng bào tử giảm, phát triển yếu hơn hoặc không còn bào tử nên có thể làm ảnh hưởng đến quá trình sinh ra các độc tố của *Alternaria*, trong đó có độc tố AOH.

Bảng 5. Kết quả phân tích hàm lượng AOH trung bình trên mẫu thực

STT	Mẫu	Kết quả ($\mu\text{g/ml}$)
1	CDNK1.13	+
2	CDNK7.13	+
3	CDNK18.14	0,03
4	DN9L1.10	0,065
5	DN8T4.11	0,045
6	DN11T1.16	-
7	DN3T2.17	0,46
8	LD4T3.10	0,02
9	LD16L1.14	+
10	LD1T1.16	-
11	LD2T1.16	-
12	DN1C1.18	0,145
13	DN3C3.18	0,02
14	Mẫu trắng	-

Ghi chú: (+) Phát hiện độc tố AOH nồng độ nhỏ hơn LOQ (< 0,01 $\mu\text{g/ml}$); (-) Không phát hiện độc tố AOH (< LOD).

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Trên cơ sở các kết quả thực nghiệm đã đưa ra được quy trình phát hiện độc tố alternariol bằng thiết bị LC-MS/MS với các kết quả sau:

- Điều kiện xác định bằng LC-MS/MS: Sử dụng cột C18 (100 mm × 3 mm × 3,5 μm), pha động đơn giản metanol và nước có hàm lượng amonium axetat 5 mmol/l và axit axetic 0,1% theo chương trình gradient (Bảng 2), tốc độ dòng 0,3 ml/phút, nhiệt độ cột 40°C, thể tích tiêm 10 μl, tín hiệu đo bằng detector MS/MS với nguồn ESI-.

- Kết quả cho thấy đường chuẩn có hệ số tương quan tuyến tính tốt ($R^2 > 0,99$). Giới hạn định lượng và hiệu suất thu hồi của phương pháp lần lượt là 0,01 μg/ml và 84% với hệ số biến thiên (CV) < 20% ở các mức nồng độ khảo sát.

- Đã xác định được 10/13 mẫu nấm *Alternaria* có sự hiện diện của độc tố AOH. Trong đó có bảy mẫu *Alternaria* có nồng độ của AOH từ 0,02 - 0,46 μg/ml.

- Cả hai loài *Alternaria alternata*, *Alternaria passiflorae* và một loài chưa xác định được tên loài (*Alternaria* sp.) đều có khả năng sinh ra độc tố AOH.

4.2. Đề nghị

- Tối ưu hóa phương pháp phân tích để cải thiện hình dạng peak sắc ký, tăng độ nhạy bao gồm xử lý mẫu và các thông số trên thiết bị.

- Nghiên cứu thêm tính ổn định của phương pháp để tăng thêm tính khả thi khi áp dụng vào thực tiễn.

- Khảo sát thêm một số độc tố của *Alternaria* spp. làm cơ sở dữ liệu cho các nghiên cứu tiếp theo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. European Food Safety Authority (EFSA) (2011). Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of *Alternaria* toxins in feed and food. *EFSA Journal* 2011; 9(10):2407: 97 pages.
2. Luke H. H. and Gracen V. E., 1972. Phytopathogenic Toxins. In *Microbial Toxins* (Solomon Kadis, Alex Ciegler and Samuel J. Ajl). Academic press, New York and London, pp. 131 - 137.
3. Noser, J., Schneider, P., Rother, M. and Schmutz, H. (2011). Determination of six *Alternaria* toxins with UPLC-MS/MS and their occurrence in tomatoes and tomato products from the Swiss market. *Mycotoxin research*, 27(4), pp. 265 - 271.
4. Ostry V., 2008. *Alternaria* mycotoxins: an overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs. *World Mycotoxin Journal* 1(2): 175 - 188.
5. Slavov S., Mayama S. and Atanassov A., (2004). Toxin production of *Alternaria alternata* tobacco pathotype. *Kobe University, Japan. Biotechnol Eq*, pp. 90 - 95.
6. Templeto G. E., 1972. *Alternaria* Toxins Related to Pathogenesis in Plants. In *Microbial Toxins* (Solomon Kadis, Alex Ciegler and Samuel J. Ajl). Academic press, New York and London, pp. 169 - 191.
7. Trần Cao Sơn (2010). *Thẩm định phương pháp trong phân tích hóa học và vi sinh vật*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, 103 trang.
8. European Commission (2017). *Analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed*. SANTE/11813/2017, EU., 46 pages.

HIỆU QUẢ ỨNG DỤNG CỦA DỊCH TRÍCH CỎ HÔI, CỎ CÚT HEO VÀ HÚNG CHANH ĐẾN SỰ PHÁT TRIỂN KHUẨN TY NẤM *Alternaria* sp. VÀ *Aspergillus* sp. PHÂN LẬP TỪ HẠT LÚA

Lê Huyền Thảo và Lê Thanh Toàn

Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

ABSTRACT

Efficacy of extracts from fragrant thoroughwort, billygoat-weed, lectranthus on inhibiting hyphal growth of seed-borne *Alternaria* sp. and *Aspergillus* sp. in rice grains

Grain discoloration is one of the most important diseases on rice production in Viet Nam, not only affects rice yield and grain quality but also impact on national rice export. Among various fungal pathogens, Alternaria sp. and Aspergillus sp. are important fungi on rice grain. The research on efficacy of leaf extracts from fragrant thoroughwort, billygoat-weed, and lectranthus on inhibiting hyphal growth of Alternaria sp. TV03 and Aspergillus sp. TV28 was conducted at Plant Protection Department, College of Agriculture, Can Tho University. The results showed that leaf extract of billygoat-weed 4%, and lectranthus 4% had high efficacy on inhibiting the growth of Alternaria sp. Meanwhile, development of Aspergillus was only limited at a higher concentration at 8% of leaf extracts of billygoat-weed, and lectranthus.

Keywords: Leaf extract, *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa (*Oryza sativa* L.) là một trong những cây lương thực quan trọng hàng đầu thế giới và là nguồn sinh sống chủ yếu cho người Châu Á. Ở Việt Nam, người dân sinh sống dựa vào sản xuất nông nghiệp, đặc biệt là sản xuất lương thực. Trong những năm qua, một trong những yếu tố quan trọng để tăng sản xuất lúa gạo là sử dụng các giống mới năng suất cao, thâm canh tăng vụ, và sử dụng

nhều phân bón. Điều này làm phá vỡ cân bằng sinh học giữa cây trồng và sâu bệnh hại. Trong số các bệnh gây hại cho lúa, bệnh lem lép hạt là một trong những bệnh quan trọng nhất, không những ảnh hưởng đến chất lượng hạt, năng suất mà còn ảnh hưởng đến xuất khẩu lúa gạo ở nước ta (Nguyễn Kim Vân, 2004). Tất cả các nấm gây bệnh trên tán lá lúa đều có khả năng tồn tại và lan truyền qua hạt giống, ảnh hưởng đến chất lượng hạt gạo như bệnh đốm nâu (*Bipolaris oryzae*), bệnh đốm vòng (*Alternaria padwickii*),

Người phân biên: TS. Châu Nguyễn Quốc Khánh.

bệnh lúa von (*Fusarium moniliforme*), bệnh đạo ôn (*Pyricularia oryzae*), bệnh thối bẹ (*Sarocladium oryzae*)... Bệnh lem lép hạt lúa hiện diện quanh năm ở các vùng trồng lúa và đặc biệt gây hại nghiêm trọng ở các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long. Mặt khác, trong sản xuất nông nghiệp nói chung và sản xuất lúa gạo nói riêng, chất lượng hạt giống và mức độ sạch bệnh của hạt giống luôn được quan tâm hàng đầu, liên quan lớn đến mức độ nảy mầm, sự phát triển của cây và tình hình bệnh hại trên cây trồng ở vụ sau. Các đề tài nghiên cứu thành phần nấm gây hại trên hạt lúa tại các tỉnh ĐBSCL đã được thực hiện bởi Phạm Văn Dư và ctv. (2001), Huỳnh Văn Nghiệp và ctv. (2001), Hồ Văn Chiến (2001), Hồ Văn Thơ (2007), Huỳnh Thị Diễm (2011), Trần Thị Thu Thủy (2011) đều ghi nhận nhiều loài nấm hiện diện trên hạt lúa. Trong đó, nấm *Alternaria* sp. và *Aspergillus* sp. là những loài nấm quan trọng xuất hiện phổ biến trên hạt lúa. Nấm *Alternaria* sp. có khả năng xâm nhiễm trên đồng ruộng gây ra các vết đốm cháy trên lá, không những thế nó còn gây bệnh lem lép hạt sau khi thu hoạch với tỷ lệ nhiễm rất cao từ 39 - 80% (Nguyễn Kim Vân và ctv., 2006). Nấm *Aspergillus* sp. là một trong những loài nấm có khả năng tiết độc tố tồn tại trong hạt gây ảnh hưởng xấu đến sức khỏe con người, đặc biệt là độc tố aflatoxin gây ngộ độc cấp tính và mãn tính cho người và gia súc (Nguyễn Thơ, 2003). Hiện nay, việc

phòng trừ bệnh có nguồn gốc từ hạt chủ yếu là sử dụng thuốc hóa học. Hướng nghiên cứu về sử dụng các loại dịch trích thực vật để ức chế nấm gây bệnh trên hạt đang được nghiên cứu ở nhiều nước trên thế giới, nhưng chưa được thực hiện nhiều ở Việt Nam.

II. PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Phương tiện

Thí nghiệm đánh giá hiệu quả của 3 loại dịch trích thực vật đối với hai loại nấm *Alternaria* sp. và *Aspergillus* sp. được bố trí tại phòng thí nghiệm Nedo và nhà lưới Bộ môn Bảo vệ thực vật, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ. Các loại dịch trích thực vật được sử dụng bao gồm lá cỏ hôi (*Eupatorium odoratum*, ở nồng độ 2, 4 và 8%), lá cỏ cút heo (*Ageratum conyzoides*, 2, 4 và 8%), lá húng chanh (*Plectranthus amboinicus*, 2, 4 và 8%).

Nguồn nấm *Alternaria* sp. TV03 và *Aspergillus* sp. TV28 được cung cấp từ Bộ môn Bảo vệ thực vật, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ. Các mẫu nấm được nuôi cấy trong đĩa petri khoảng 10 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm. Khuẩn ty nấm sẽ được đục thành các khoanh có đường kính 5 mm khi thực hiện thí nghiệm.

2.2. Khảo sát hiệu quả của các loại dịch trích thực vật đối với nấm *Alternaria* sp. gây lem lép hạt lúa trong điều kiện *in-vitro*

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 10 nghiệm thức (9 nghiệm thức sử dụng dịch trích

thực vật và 1 nghiệm thức đối chứng), 5 lần lặp lại. Nghiệm thức đối chứng là môi trường PDA không chứa dịch trích thực vật.

Các loại thực vật sau khi thu về sẽ được rửa sạch đất cát, sau đó được trích với nước cất bằng cách tính nồng độ theo trọng lượng lá tươi/thể tích, kế tiếp cho vào máy xay sinh tố xay nhuyễn, lượt bỏ phần xác thu phần nước trích. Sau đó, phần dịch trích được thu qua giấy lọc Whatman có đường kính lỗ lọc 0,2 μm , vào 1 cốc thủy tinh đã thanh trùng, thao tác được tiến hành trong tủ cấy. Môi trường PDA được nấu tan bằng microwave. Khi chai môi trường đạt nhiệt độ khoảng 55 - 60°C, dịch trích thực vật đã chuẩn bị sẵn được cho vào chai môi trường, lắc chai môi trường để dịch trích hòa tan đều vào môi trường. Sau đó, môi trường trong chai sẽ được chiết vào các đĩa petri. Sau khi môi trường đặc lại, các khoanh khuẩn ty nấm đã chuẩn bị được đặt trên bề mặt môi trường ở chính giữa đĩa petri.

Đường kính khuẩn lạc (ĐKKL) của nấm được đo vào các thời điểm 24, 48 và 72 giờ sau đặt khoanh khuẩn ty (GSĐKT). Hiệu quả của dịch trích (HQ) được tính theo công thức $HQ (\%) = (\text{ĐKKL}_{\text{đc}} - \text{ĐKKL}_i) / \text{ĐKKL}_{\text{đc}} * 100\%$. Trong đó, $\text{ĐKKL}_{\text{đc}}$ là đường kính khuẩn lạc của nghiệm thức đối chứng, ĐKKL_i là đường kính khuẩn lạc của nghiệm thức dịch trích i. Thí nghiệm được lặp lại 2 lần.

2.3. Khảo sát hiệu quả của các loại dịch trích thực vật đối với nấm *Aspergillus sp.* gây lem lép hạt lúa trong điều kiện *in-vitro*

Thí nghiệm được thực hiện tương tự thí nghiệm 2.2. Thí nghiệm được lặp lại 2 lần.

2.4. Phương pháp phân tích số liệu

Số liệu được xử lý với Microsoft Excel, phân tích phương sai ANOVA và so sánh sự khác biệt ở $p = 0,05$ giữa các trung bình nghiệm thức bằng phần mềm thống kê MSTATC qua phép thử Duncan.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hiệu quả của các loại dịch trích thực vật đối với nấm *Alternaria sp.* gây lem lép hạt lúa trong điều kiện *in-vitro*

Ảnh hưởng của các loại dịch trích thực vật lên sự phát triển đường kính khuẩn ty nấm *Alternaria sp.* được trình bày trong Bảng 1. Các nghiệm thức xử lý với lá cỏ cứt heo và lá húng chanh cho thấy khả năng ức chế sự phát triển khuẩn ty nấm *Alternaria sp.* ngay từ thời điểm 24 GSĐKT và kéo dài đến 48 và 72 GSĐKT. Trung bình đường kính khuẩn ty của các nghiệm thức xử lý dịch trích lá cỏ cứt heo và lá húng chanh lần lượt khoảng 0,66 - 0,7 cm (24 GSĐKT), 1,40 - 1,60 cm (48 GSĐKT) và 2,50 - 2,52 cm (72 GSĐKT), so với đường kính nghiệm thức đối chứng 0,90 cm (24 GSĐKT), 1,76 cm (48 GSĐKT) và 2,90 cm (72 GSĐKT). Hai nghiệm thức xử lý lá cỏ hôi 4% và 8% cho thấy khả năng ức chế khuẩn ty nấm ở thời điểm 48 và 72 GSĐKT, trong khi nghiệm thức lá cỏ hôi 2% không thể hiện khả năng ức chế (Bảng 1).

Bảng 1. Ảnh hưởng của các loại dịch trích thực vật lên sự phát triển đường kính (cm) khuẩn ty nấm *Alternaria sp.* trong điều kiện in-vitro

Nghiệm thức	Thời điểm quan sát (GSDKT)		
	24	48	72
Lá cỏ hôi 2%	0,94 b	1,78 a	2,70 b
Lá cỏ hôi 4%	0,94 b	1,66 b	2,60 b
Lá cỏ hôi 8%	1,02 a	1,64 b	2,62 b
Lá cỏ cứt heo 2%	0,66 c	1,46 b	2,42 b
Lá cỏ cứt heo 4%	0,70 c	1,42 b	2,38 b
Lá cỏ cứt heo 8%	0,70 c	1,40 b	2,30 b
Lá húng chanh 2%	0,70 c	1,60 b	2,52 b
Lá húng chanh 4%	0,70 c	1,46 b	2,38 b
Lá húng chanh 8%	0,70 c	1,46 b	2,38 b
Đối chứng xử lý nước cất	0,90 b	1,76 a	2,90 a
Mức ý nghĩa	*	*	*
CV%	7,58	5,26	7,56

Ghi chú: Trong cùng một cột, những số có cùng chữ số theo sau thì khác biệt không ý nghĩa ở mức 5%.

Bảng 2 cho thấy hiệu quả ức chế sự phát triển khuẩn ty nấm *Alternaria sp.* của các loại dịch trích thực vật trong điều kiện in-vitro. Ở thời điểm 24 và 48 GSDKT, các nghiệm thức xử lý dịch trích lá cỏ cứt heo và lá húng chanh đều cho hiệu quả ức chế phát triển khuẩn ty nấm cao có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng không xử lý, trung bình hiệu quả ức

chế khuẩn ty nấm của các nghiệm thức xử lý có hiệu quả khoảng từ 21,90 - 27,94% (24 GSDKT) và 9,02 - 20,46% (48 GSDKT). Đến thời điểm 72 GSDKT, tất cả các nghiệm thức xử lý dịch trích thực vật đều cho hiệu quả ức chế phát triển khuẩn ty cao có ý nghĩa thống kê so với đối chứng không xử lý, trung bình hiệu quả từ 6,76 - 20,61% (Bảng 2).

Bảng 2. Hiệu quả ức chế (%) sự phát triển khuẩn ty nấm *Alternaria sp.* của các loại dịch trích thực vật trong điều kiện in-vitro

Nghiệm thức	Thời điểm quan sát (GSDKT)		
	24	48	72
Lá cỏ hôi 2%	0,00 b	0,00 c	6,76 b
Lá cỏ hôi 4%	0,00 b	5,69 b	10,28 b
Lá cỏ hôi 8%	0,00 b	6,80 b	9,59 b
Lá cỏ cứt heo 2%	27,94 a	16,99 a	16,38 a
Lá cỏ cứt heo 4%	21,90 a	19,28 a	17,83 a
Lá cỏ cứt heo 8%	21,90 a	20,46 a	20,61 a
Lá húng chanh 2%	21,90 a	9,02 b	13,02 a
Lá húng chanh 4%	21,90 a	16,99 a	17,76 a
Lá húng chanh 8%	21,90 a	16,99 a	17,88 a
Đối chứng xử lý nước cất	0,00 b	0,00 c	0,00 c
Mức ý nghĩa	*	*	*
CV%	7,66	15,34	13,48

Ghi chú: Trong cùng một cột, những số có cùng chữ số theo sau thì khác biệt không ý nghĩa ở mức 5%.

3.2. Hiệu quả của các loại dịch trích thực vật đối với nấm *Aspergillus sp.* gây lem lép hạt lúa trong điều kiện *in vitro*

Ảnh hưởng của các loại dịch trích thực vật lên sự phát triển đường kính khuẩn ty nấm *Aspergillus sp.* được trình bày trong Bảng 3. Ở thời điểm 24 GSDKT, nghiệm thức xử lý với dịch trích lá cỏ hôi nồng độ 8% có khả năng ức chế sự phát triển khuẩn ty nấm *Aspergillus sp.*, với đường kính khuẩn ty nhỏ hơn có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng không xử lý. Các nghiệm thức xử lý còn lại chưa thể hiện hiệu quả ức chế phát triển khuẩn ty, trung bình đường kính của các nghiệm thức này không khác biệt

ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng. Đến thời điểm 48 GSDKT, ngoại trừ nghiệm thức xử lý với cỏ hôi nồng độ 2% và 4%, cỏ cứt heo nồng độ 2% và 4%, các nghiệm thức xử lý với dịch trích còn lại đều cho đường kính khuẩn ty nhỏ hơn có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng không xử lý. Trung bình đường kính của các nghiệm thức xử lý hiệu quả từ 2,16 - 2,24 cm, trong khi trung bình đường kính khuẩn ty của nghiệm thức đối chứng là 2,34 cm. Ở thời điểm 72 GSDKT, trừ nghiệm thức xử lý với dịch trích cỏ cứt heo nồng độ 2% và húng chanh nồng độ 2%, các nghiệm thức còn lại tiếp tục cho hiệu quả ức chế phát triển khuẩn ty nấm (Bảng 3).

Bảng 3. Ảnh hưởng của các loại dịch trích thực vật lên sự phát triển đường kính (cm) khuẩn ty nấm *Aspergillus sp.* trong điều kiện *in vitro*

Nghiệm thức	Thời điểm quan sát (GSDKT)		
	24	48	72
Lá cỏ hôi 2%	1,08 ab	2,28 ab	3,70 c
Lá cỏ hôi 4%	1,06 ab	2,26 ab	3,72 c
Lá cỏ hôi 8%	1,00 b	2,16 c	3,70 c
Lá cỏ cứt heo 2%	1,10 a	2,28 ab	3,84 a
Lá cỏ cứt heo 4%	1,08 ab	2,26 ab	3,72 c
Lá cỏ cứt heo 8%	1,08 ab	2,22 b	3,62 d
Lá húng chanh 2%	1,08 ab	2,22 b	3,80 a
Lá húng chanh 4%	1,10 a	2,24 b	3,72 b
Lá húng chanh 8%	1,04 ab	2,20 bd	3,66 d
Đối chứng xử lý nước cất	1,10 a	2,34 a	3,82 a
<i>Mức ý nghĩa</i>	*	*	*
<i>CV%</i>	12,24	5,78	4,38

Ghi chú: Trong cùng một cột, những số có cùng chữ số theo sau thì khác biệt không ý nghĩa ở mức 5%.

Hiệu quả ức chế sự phát triển khuẩn ty nấm *Aspergillus sp.* của các loại dịch trích thực vật trong điều kiện *in vitro* được trình bày ở Bảng 4. Ở thời điểm 24 GSDKT, hai nghiệm thức dịch trích cỏ hôi 8% và

dịch trích lá húng chanh 8% thể hiện khả năng ức chế sự phát triển khuẩn ty nấm, thì các nghiệm thức còn lại chưa thấy có hiệu quả ức chế phát triển khuẩn ty nấm so với nghiệm thức đối chứng không xử

lý. Đến thời điểm 48 GSDKT, các nghiệm thức xử lý dịch trích còn lại đều cho hiệu quả ức chế phát triển khuẩn ty nấm có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng không xử lý, trung bình hiệu quả ức chế khuẩn ty nấm của các nghiệm thức xử lý có hiệu quả khoảng từ 2,50 - 7,68%.

Kết quả ghi nhận ở 72 GSDKT, nghiệm thức xử lý với cỏ cứt heo nồng độ 2% không còn thể hiện hiệu quả ức chế phát triển khuẩn ty nấm, các nghiệm thức xử lý dịch trích còn lại tiếp tục cho hiệu quả ức chế (Bảng 4).

Bảng 4. Hiệu quả ức chế (%) sự phát triển khuẩn ty nấm *Aspergillus sp.* của các loại dịch trích thực vật trong điều kiện in-vitro

Nghiệm thức	Thời điểm quan sát (GSDKT)		
	24	48	72
Lá cỏ hôi 2%	1,82 ab	2,54 b	3,12 ab
Lá cỏ hôi 4%	3,64 ab	3,33 b	2,62 ab
Lá cỏ hôi 8%	9,09 a	7,68 a	3,14 a
Lá cỏ cứt heo 2%	0,00 ab	2,50 b	0,00 d
Lá cỏ cứt heo 4%	1,82 ab	3,37 b	2,62 ab
Lá cỏ cứt heo 8%	1,82 ab	5,11 a	5,21 a
Lá húng chanh 2%	1,82 ab	5,11 a	0,53 c
Lá húng chanh 4%	0,00 b	4,24 a	2,60 ab
Lá húng chanh 8%	5,45 a	5,98 a	4,17 ab
Đối chứng xử lý nước cất	0,00 b	0,00 c	0,00 d
Mức ý nghĩa	*	*	*
CV%	12,83	26,33	18,27

Ghi chú: Trong cùng một cột, những số có cùng chữ số theo sau thì khác biệt không ý nghĩa ở mức 5%.

Kết quả nghiên cứu đối với nấm *Alternaria sp.* trong nghiên cứu này phù hợp với một số nghiên cứu trên thế giới. Một nghiên cứu khảo sát khả năng kháng nấm của một số loại dịch trích thực vật đối với nấm *Alternaria solani* được thực hiện bởi Goussous and Tahhan (2010) bằng phương pháp cho dịch trích vào môi trường PDA và đặt khoanh nấm với đường kính 10 mm vào giữa đĩa petri. Kết quả cho thấy dịch trích lá cây Oregano (*Majorana syriaca* L., thuộc họ Lamiaceae) ở nồng độ 5% đạt hiệu quả 56,2% khác biệt ý nghĩa thống kê so với đối chứng không xử lý. Begum and

Lokesh (2011) đã khảo sát khả năng kháng nấm *Alternaria alternata* gây bệnh trên cây đậu bắp bằng dịch trích lá cây húng chanh (*Coleus aromaticus*) cho hiệu quả ức chế cao ở cả hai nồng độ 50% và 100% (trọng lượng lá tươi/thể tích) có khác biệt với đối chứng không xử lý. Năm 2011, Anamika and Simon đã báo cáo dịch trích lá cây *Ocimum sanctum* (thuộc họ Lamiaceae) ở nồng độ 5% đạt hiệu quả ức chế sự phát triển của nấm *Alternaria alternata* khoảng 32,5%, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng không xử lý.

Các loại dịch trích được sử dụng để khảo sát hiệu quả ức chế trên nấm *Aspergillus* sp. đều cho hiệu quả ức chế khuẩn ty nấm, nhưng trong đó nghiệm thức xử lý với cỏ cứt heo và húng chanh thể hiện hiệu quả tương đối cao hơn hai loại dịch trích còn lại. Nghiệm thức xử lý ở nồng độ 2% và 4% của dịch trích cỏ cứt heo và húng chanh cho hiệu quả không ổn định. Nhưng nghiệm thức xử lý cỏ cứt heo và húng chanh ở nồng độ 8% đều cho hiệu quả ức chế sự phát triển khuẩn ty nấm cao có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng không xử lý. Trong một báo cáo của Mohammadifar *et al.* (2012) về khả năng kháng nấm gây bệnh sau thu hoạch của các loại dịch trích thực vật, phương pháp tiến hành trên môi trường PDA trong điều kiện *vitro* và chỉ tiêu ghi nhận là đường kính khuẩn lạc. Trong đó nhóm thực vật thuộc họ Lamiaceae (*Zataria multiflora* Boiss, *Satureia hortensis* và *Caryophyllum aromaticus*) ở nồng độ 500 ppm/100 ml ức chế 100% sự phát triển của nấm *Aspergillus* gây bệnh sau thu hoạch. Tương tự, Begum and Lokesh (2011) sử dụng dịch trích từ lá cây *Ocimum viride* cũng thuộc họ Lamiaceae để khảo sát sự kháng khuẩn trên nấm *Aspergillus* sp., phương pháp tiến hành cũng hòa dịch trích vào môi trường PDA với nồng độ khác nhau cũng thể hiện khả năng ức chế khuẩn lạc nấm có khác biệt ý nghĩa so với đối chứng.

IV. KẾT LUẬN

Đối với nấm *Alternaria* sp. TV03, nghiệm thức xử lý với dịch trích lá húng chanh và cỏ cứt heo ở nồng độ 4% thể hiện khả năng ức chế sự phát triển khuẩn ty nấm tốt, trong đó nghiệm thức xử lý với

húng chanh có khả năng ức chế cao hơn nghiệm thức xử lý cỏ cứt heo.

Đối với nấm *Aspergillus* sp. TV28, hai nghiệm thức xử lý với cỏ cứt heo ở nồng độ 8%, húng chanh 8% đều cho hiệu quả ức chế sự phát triển khuẩn ty tốt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Anamika, & Simon, S. (2011). Inhibitory effect of botanical extracts against *Alternaria alternate* of aloe vera dry rot. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 44(15): 1462 - 1466.
2. Begum, M., & Lokesh, S. (2011). Role of leaf extracts of some medicinal plants in the management of fungal diseases of okra. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 44(18): 1822 - 1828.
3. Goussous, S.J., & Tahhan, R.A. (2010). Antifungal activity of several medicinal plant extracts against the early blight pathogen (*Alternaria solani*). Archives of Phytopathology and Plant Protection, 43(17):1745 - 1757.
4. Mohammadifar, M., Norabadi, M.T., Hasanzadeh, M., Dashtipoor, S., Etebarian, H.R., & Sahebani, N. (2012). Study of antifungal activities of seven essential oils from some Iranian medicinal plants against various postharvest phytopathogenic fungi. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 45(17): 2046 - 2056.
5. Nguyễn Kim Vân (2004). Thành phần bệnh hại hạt giống một số cây trồng vùng Hà Nội. Tạp chí chuyên ngành Bảo vệ thực vật, số 3/2004.
6. Nguyễn Kim Vân, Ngô Bích Hào, Nguyễn Văn Viên, Đỗ Tấn Dũng, Ngô Thị Xuyên và Nguyễn Đức Huy (2006). Nguyên nhân gây bệnh hại hạt giống lúa, ngô, đậu tương, lạc, rau ở một số tỉnh phía Bắc Việt Nam và biện pháp phòng trừ. Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp, Tập IV, số 6: 39 - 47.
7. Nguyễn Thơ (2003). Thực trạng nhiễm độc tố vi nấm trên nông sản và giải pháp quản lý trong tương lai. Kỳ yếu Hội thảo biện pháp nâng cao năng suất lúa Hè Thu ở ĐBSCL, Cần Thơ 1/2003.

NGHIÊN CỨU HIỆU LỰC MỘT SỐ CHỦNG NẤM ĐỐI KHÁNG *Chaetomium* PHÒNG TRỪ BỆNH THÁN THƯ *Colletotrichum* HẠI CHÈ

Nguyễn Văn Thiệp¹, Nguyễn Thị Kim Oanh¹
Nguyễn Huy Thịnh¹, Kasem Soyong²

¹ Viện KHKT Nông Lâm nghiệp Miền núi phía Bắc (NOMAFSI)

² Trường Đại học King Mongkut's (KMUTL), Bangkok, Thái Lan

ABSTRACT

Efficacy of *Chaetomium* Species as Biological Control Agents against *Colletotrichum* Anthracnose on Tea (*Camellia sinensis*)

Currently anthracnose very important diseases on tea plants in Vietnam. Using chemical fungicides are not only low efficiency, but also pollute the environment. This paper presents the examination capacity of *Chaetomium* spp. for biological control *Colletotrichum theae-sinensis* causing anthracnose of tea plants in Vietnam. As antagonists, *Chaetomium bostrychodes* CPT1 and *Chaetomium globosum* CPT1 respectively reduced 59.9 and 65.3% colony diameter, 80.2 and 87.2% spore production of *Colletotrichum theae-sinensis*, in bi - culture test. Moreover, all crude extracts of the tested antagonists exhibited antifungal activity against mycelial growth of *Colletotrichum theae-sinensis*, with effective dose ED_{50} values ranging from 85 to 753 $\mu\text{g/ml}$, showing the inhibitory rates of 7.3 - 92.5% when tested concentrations were ranging from 10 - 1,000 $\mu\text{g/ml}$. The effectiveness of the biological control agents in the control of the pathogen in this study provided a convincing reason to promote the applications of these *Chaetomium* spp. to control *Colletotrichum* anthracnose in tea plants.

Keywords: *Colletotrichum* anthracnose of tea, Bio-control, *Chaetomium bostrychodes*, *Chaetomium globosum*, antagonists.

I. MỞ ĐẦU

Việt Nam hiện đứng thứ 5 về sản xuất chè trên thế giới (World Atlas, 2019), được trồng phổ biến ở vùng trung du và miền núi. Cây chè sinh trưởng phát triển và cho thu hoạch hầu như quanh năm nên sâu bệnh hại cũng diễn biến phức tạp rất

khó khăn trong phòng trừ. Đặc biệt nhiều loại bệnh gây thối rễ, thối búp, thối lá, khô cành làm suy yếu cây chè dẫn đến thất thu sản lượng chè. Một trong những bệnh hại lá, cành quan trọng là bệnh thán thư (*Colletotrichum theae-sinensis*). Bệnh hại trên lá, cành non, có những thời điểm trong năm, tỷ lệ bệnh có thể 80 - 90%, nương chè áp dụng hái bằng máy, bệnh

Người phân biên: PGS.TS. Ngô Vĩnh Viễn.

càng nhiều do máy hái cắt làm tổn thương lá, tạo điều kiện cho bệnh lây lan mạnh. Bệnh thán thư phổ biến những năm gần đây đã trở thành một trở ngại không nhỏ cho ngành công nghiệp chè của đất nước.

Hiện nay, việc phòng trừ bệnh hại chè phần lớn dựa vào các loại thuốc hóa học, nhưng cũng kém hiệu quả và thuốc hóa học còn để lại tồn dư trong môi trường và sản phẩm, có hại cho sức khỏe người tiêu dùng. Nhu cầu giảm sử dụng thuốc trừ nấm hóa học độc hại trong sản xuất nông nghiệp đã dẫn đến việc tìm kiếm các tác nhân phòng trừ sinh học chống lại mầm bệnh, an toàn cho cả môi trường và tiêu dùng của con người (Sáenz-de-Cabezón, 2010; Narayanasamy, 2013). Trong thực tế đã có các nghiên cứu và ứng dụng các vi sinh vật có ích để phòng chống các loại bệnh hại trên các loại cây trồng khác nhau, trong đó có các chủng nấm *Chaetomium* (K. Soyong, 1989). Nấm *Chaetomium* thuộc lớp nấm hoại sinh, chúng phân hủy cellulose và các chất hữu cơ khác (Sun *et al.*, 2006; Longoni *et al.*, 2012). Một số loài *Chaetomium* được báo cáo là có hoạt động đối kháng chống lại các bệnh hại thực vật khác nhau, như *C. globosum* và *C. cochlioides* có khả năng đối kháng với các loài nấm gây bệnh thuộc chi *Fusarium* và *Helminthosporium* (Tveit and Moore, 1954), *Alternaria*, *Collectotrichum* (Vannacci *et al.*, 1987; C. Talubnuc *et al.*, 2010),... Tính đối kháng của *Chaetomium* là do nấm tổng hợp chất kháng sinh *Chaetoglobosin*, chất này phá hủy màng tế bào, làm cho nguyên sinh chất bị phá vỡ và mất đi độc tính của nấm bệnh (Di Petro *et al.*, 1992;

K. Soyong, 2007). Ngoài ra nấm *Chaetomium* còn có tác dụng kích thích sinh trưởng phát triển, tăng sức đề kháng của cây trồng (Lê Thị Ánh Hồng, 2005; Doke *et al.*, 1991, 1997). Đã có những chế phẩm thương mại được phát triển từ các chủng *Chaetomium* spp. có hoạt tính mạnh (Soyong và cộng sự, 2001). Hơn nữa, có trên 200 hoạt chất có hoạt tính sinh học rộng đã được phát hiện từ chi *Chaetomium* và nhiều hoạt chất trong số đó thể hiện hoạt tính kháng nấm chống lại mầm bệnh thực vật (Zhang và cộng sự, 2012). Sử dụng một số dung môi chiết xuất các chất hoạt tính trong các chủng vi sinh vật đối kháng nhằm tìm hiểu cơ chế và đánh giá khả năng ức chế của chúng đối với tác nhân gây bệnh đã được nhiều tác giả công bố (Nguyen HP *et al.*, 2013; Park J.H *et al.*, 2013; Phung MH *et al.*, 2013; Qin JC. *et al.*, 2009).

Bài viết này chúng tôi trình bày khả năng đối kháng của *Chaetomium* spp. phân lập từ đất trồng chè ở vùng Miền núi phía Bắc để phòng trừ bệnh thán thư trên cây chè do nấm *Colletotrichum theae-sinensis* gây ra.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Các chủng nấm được sử dụng trong nghiên cứu:

Nấm bệnh *Colletotrichum theae-sinensis* gây bệnh thán thư trên cây chè là đối tượng để kiểm soát sinh học;

Các chủng nấm đối kháng *Chaetomium bostrychodes*-CPT1 (*Cb*-CPT1) và *Chaetomium globoosum* (*Cg*-CFSL1),

được sử dụng làm làm tác nhân đối kháng và dùng để chiết xuất hoạt chất đối kháng.

Nấm bệnh và các chủng nấm đối kháng được phân lập từ cây chè và đất trồng chè, do Viện Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp Miền núi phía Bắc thực hiện.

- Thí nghiệm đánh giá hoạt tính đối kháng của *Chaetomium* spp. đối với nấm bệnh *Colletotrichum theae-sinensis* trong điều kiện in-vitro:

Mỗi chủng *Chaetomium* được đánh giá riêng biệt sự đối kháng với nấm bệnh *C. theae-sinensis* bằng các kỹ thuật nuôi cấy theo phương pháp của Soyong (1992), Talubnuc *et al.* (2010). Nấm đối kháng và các loài nấm bệnh thuần được cấy trên môi trường PDA trong đĩa Petri (Bi-culture). Sử dụng một ống nhựa tròn đã khử trùng, đường kính lỗ 0,5 cm lấy mẫu agar đã có nấm thuần đặt lên môi trường PDA trong đĩa Petri 9 cm, cách rìa của đĩa 1 cm. Ở đĩa cấy đối kháng, đặt 2 mẫu agar có nấm bệnh và nấm đối kháng đối diện nhau, ở đĩa đối chứng chỉ đặt 1 mẫu agar nấm bệnh hoặc nấm đối kháng. Các đĩa đã cấy nấm đặt ở nhiệt độ phòng. Sau 30 ngày, đo đếm kích thước tản nấm và số lượng bào tử của cả nấm bệnh và nấm đối kháng. Hiệu quả ức chế của nấm đối kháng là %, tính theo công thức:

$$\text{Hiệu quả ức chế (\%)} = (1 - B/A) \times 100 \quad (1)$$

Trong đó: A là kích thước tản nấm hoặc số lượng bào tử của nấm bệnh ở đối chứng, B là kích thước tản nấm hoặc số lượng bào tử của nấm bệnh ở công thức đối kháng. Thí nghiệm được thiết kế hoàn toàn ngẫu nhiên với 4 lần lặp lại. Dữ liệu thu thập được như đường kính khuẩn lạc

và số lượng bào tử được phân tích phương sai (ANOVA) và số liệu trung bình được so sánh bằng khoảng cách Duncan (DMRT) với $P = 0,05$.

- Thí nghiệm đánh giá hoạt tính đối kháng của chất chiết xuất (Crude extract) từ các chủng *Chaetomium* đối với nấm bệnh *C. theae-sinensis*:

Hoạt chất của hai chủng *Chaetomium* nghiên cứu được chiết xuất tại phòng thí nghiệm Viện KHKT Nông Lâm nghiệp Miền núi phía Bắc theo phương pháp Kanokmedhakul *et al.* (2006). Mỗi nấm đối kháng được nuôi trong môi trường PDB ở 25 - 28°C trong 45 ngày. Sinh khối nấm thu được, sấy khô, nghiền và chiết xuất trong máy cô quay chân không với các dung môi lần lượt là Hexane, Ethyl acetate (EtOAc) và Methanol (MeOH) để tạo ra các chất chiết Hexane thô, EtOAc thô và MeOH thô.

Các chất chiết xuất (crude extracts) của mỗi chủng *Chaetomium* được dùng để đánh giá khả năng ức chế sự phát triển của sợi nấm bệnh *C. theae-sinensis*. Các thí nghiệm được thiết kế 2 nhân tố, hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), 4 lần nhắc lại. Yếu tố A là các chất chiết: A1 = Hexane, A2 = EtOAc và A3 = MeOH. Yếu tố B là các nồng độ chất chiết dùng trong thí nghiệm lần lượt là 0, 10, 50, 100, 500 và 1000 µg/ml. Chất chiết được cho vào môi trường PDA trong đĩa Petri đường kính 5 cm, sau đó cấy nấm *C. theae-sinensis* vào điểm trung tâm của đĩa. Để đạt được nồng độ đã định, các chất chiết được cân, hòa tan trong Dimethyl sulfoxide 2%, trộn vào môi trường PDA nóng chảy, hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C

trong 20 phút. Nuôi ở nhiệt độ phòng, đo đếm đường kính tản nấm và bào tử nấm bệnh khi tản nấm đã phát triển đầy đủ ở đĩa đối chứng (khoảng 5 ngày). Sự ức chế tốc độ tăng trưởng sợi nấm bệnh được tính bằng tỷ lệ % sử dụng công thức (1) ở trên. Trong đó A và B là đường kính tản nấm của các đĩa đối chứng và đĩa chứa chất chiết tương ứng. Ngoài ra, các giá trị liều hiệu quả (ED50) để ức chế sợi nấm được tính toán bằng các phân tích xác suất sử dụng phần mềm thống kê SPSS 19.0 (IBM Co.,USA).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đối kháng của *Chaetomium* đối với nấm bệnh thân thư chè *C. theae-sinensis*

Như kết quả được trình bày ở Bảng 1, ở các đĩa nuôi cấy đối kháng sau 30 ngày, đường kính tản nấm của nấm bệnh *C. theae-sinensis* đã giảm 59,9% và 65,3% do Cb-CPT1 và Cg-CFSL1, sản sinh bào tử *C. theae-sinensis* giảm 80,2 và 87,2%. Như vậy, trong cả sự ức chế tăng trưởng sợi nấm và sản sinh bào tử, chủng Cg-CFSL1 có hiệu quả cao hơn đáng kể so với chủng Cb-CPT1.

Bảng 1. Hiệu quả ức chế của *Chaetomium* spp. đối với sự phát triển sợi nấm và sản sinh bào tử của nấm bệnh *C. theae-sinensis*

Thí nghiệm	Sinh trưởng nấm		Sinh sản bào tử	
	Đường kính tản nấm (cm)	Hiệu quả ức chế (%)	Số lượng bào tử ($\times 10^7$)	Hiệu quả ức chế (%)
<i>C. theae-sinensis</i> (Đối chứng)	9,00 ^{a1}		80,2 ^a	
Cb-CPT1 vs <i>C. theae-sinensis</i>	3,6 ^b	59,9 ^b	15,3 ^b	80,2 ^b
Cg-CFSL1 vs <i>C. theae-sinensis</i>	3,1 ^c	65,3 ^a	10,3 ^c	87,2 ^a

¹ Trung bình của 4 lần nhắc lại; trong mỗi cột, các giá trị được biểu thị bằng cùng một chữ cái không khác biệt so sánh theo khoảng cách Duncan với p = 0,05.

Khả năng của *Chaetomium* spp. trong ngăn chặn sự hình thành bào tử và sự phát triển sợi nấm của mầm bệnh cũng được nhiều tài liệu ghi nhận. Nhiều nghiên cứu in-vitro đã chỉ ra rằng *Chaetomium* spp. ức chế sự phát triển hệ sợi nấm của nhiều bệnh khác nhau như *Drechslera sorokiniana* (Aggarwal *et al.*, 2003), *Phytophthora* spp. (Chaihiyaa *et al.*, 2013; Phùng và cộng sự, 2015a, 2015b), *Pestalotia* sp. (Nguyễn HP. và cộng sự, 2013), *Colletotrichum gloeosporioides* (Phùng và cộng sự, 2014). Kết quả trong nghiên cứu này cũng tương tự với các nghiên cứu trước đó.

3.2. Ảnh hưởng của các chất chiết xuất từ nấm đối kháng Cb-CPT1 và Cg-CFSL1 đến sự phát triển của nấm bệnh *C. theae-sinensis*

Kết quả ở Bảng 2, Bảng 3, Hình 1 và Hình 2 trình bày tất cả các đánh giá về các chất chiết xuất từ hai chủng nấm đối kháng Cb-CPT1 và Cg-CFSL1 đã cho thấy khả năng ức chế sự phát triển nấm bệnh *C. theae-sinensis*.

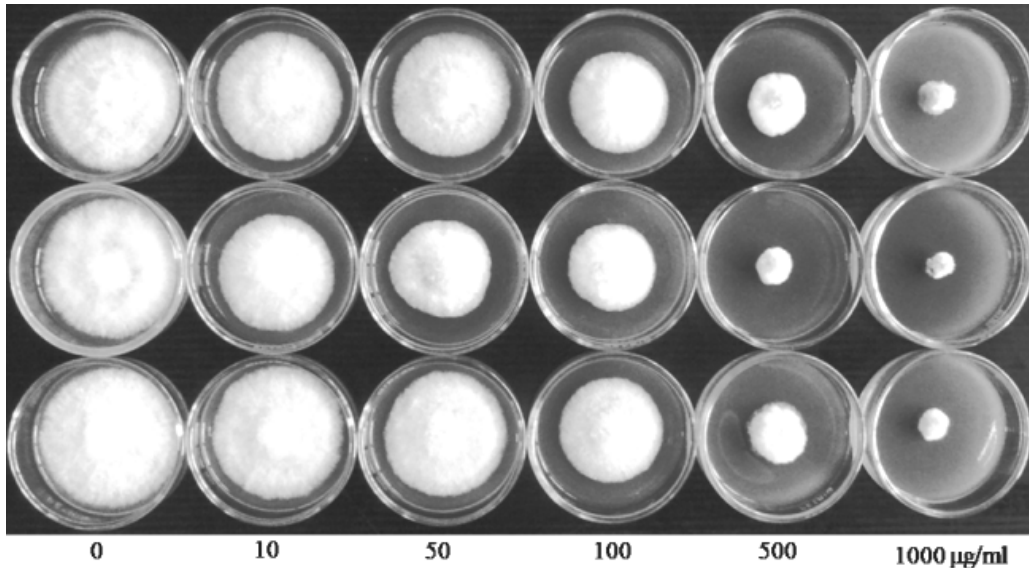
Các chiết xuất Hexane, EtAOc và MeOH của chủng Cg-CFSL1 đã ức chế sự phát triển của nấm bệnh thân thư chè

C. theae-sinensis, các giá trị ED₅₀ lần lượt thể hiện là 367, 85 và 325 µg/ml, tỷ lệ ức chế là 84,4%, 92,6% và 93,5% ở nồng độ 1000 µg/ml. Ở nồng độ thí nghiệm từ 10 - 500 µg/ml, sự ức chế tăng trưởng của nấm bệnh do chiết xuất EtOAc cao hơn đáng kể so với ức chế do các chiết xuất MeOH và hexane.

Bảng 2. Tỷ lệ ức chế sinh trưởng nấm bệnh *C. theae-sinensis* bằng chất chiết xuất của *Cg-CFSL1*

Chất chiết	Nồng độ (µg/ml)					ED ₅₀ (µg/ml)
	10	50	100	500	1,000	
Hexane	13,3 ^{h1}	19,5 ^g	36,3 ^e	71,0 ^c	84,4 ^b	367
EtOAc	25,5 ^f	35,3 ^e	53,8 ^d	83,8 ^b	92,6 ^a	85
MeOH	13,1 ^h	21,5 ^g	36,0 ^e	74,0 ^c	93,5 ^a	325

¹Trung bình của 4 lần nhắc lại; trong mỗi cột, các giá trị được biểu thị bằng cùng một chữ cái không khác biệt so sánh theo khoảng cách Duncan với p = 0,05.



Hình 1. Sinh trưởng của nấm bệnh *C. theae-sinensis* trong môi trường PDA có chất chiết xuất của chủng *Cg-CFSL1* ở các nồng độ khác nhau

(Dòng trên: Chiết xuất Hexane; dòng giữa: Chiết xuất EtOAc; dòng dưới: Chiết xuất MeOH)

Trong số các chất chiết xuất của chủng đối kháng Cb-CPT1, chất chiết xuất với MeOH có hoạt tính kháng nấm bệnh *C. theae-sinensis* mạnh hơn các chất chiết xuất khác. ED₅₀ là 92 µg/ml, so với 753 và 363 µg/ml của các chất chiết xuất hexane và EtAOc. Ở nồng độ 500 µg/ml, chất chiết xuất với MeOH ức chế sinh trưởng nấm

bệnh *C. theae-sinensis* 84,1%. Trong khi đó, chiết xuất hexane và EtAOc ức chế tương ứng là 53% và 70%. Do nấm bệnh *C. theae-sinensis* chưa tạo ra bào tử tại thời điểm đánh giá, nên tác dụng của chất chiết xuất đối kháng với sự hình thành bào tử của nấm bệnh, chúng tôi không được trình bày trong phạm vi bài viết này.

Bảng 3. Tỷ lệ ức chế sinh trưởng nấm bệnh *C. theae-sinensis* bằng chất chiết xuất của *Cb-CPT1*

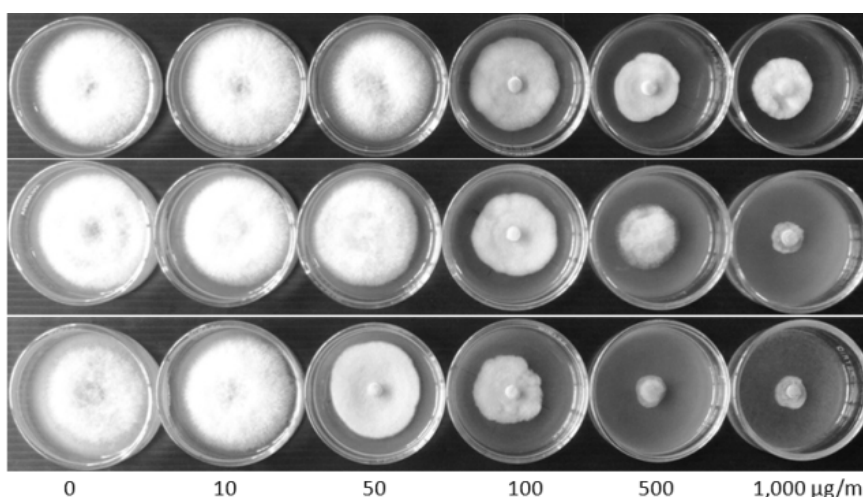
Chất chiết	Nồng độ (µg/ml)					ED ₅₀ (µg/ml)
	10	50	100	500	1,000	
Hexane	7.3 ^j	9.3 ^j	25.1 ^g	53.0 ^d	68.4 ^c	753
EtOAc	15.2 ⁱ	20.1 ^h	41.2 ^e	69.8 ^c	84.3 ^b	363
MeOH	17.3 ^{hi}	32.5 ^f	52.3 ^d	84.1 ^b	90.5 ^a	92

¹ Trung bình của 4 lần nhắc lại; trong mỗi cột, các giá trị được biểu thị bằng cùng một chữ cái không khác biệt so sánh theo khoảng cách Duncan với p = 0,05.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với những phát hiện trước đó. Các loài *Chaetomium* được biết như là nhà máy sản xuất hàng trăm chất chuyển hóa với các hoạt tính sinh học khác nhau đóng vai trò quan trọng trong các hoạt tính phòng trừ sinh học của chúng (Sun *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2012). Từ dịch lọc nuôi cấy của một chủng *C. globosum* xác định, Park *et al.* (2005) phân tích được các chất Chaetoviridin A và B. Trong đó, Chaetoviridin A thể hiện nhiều hoạt tính kháng nấm chống lại các nấm bệnh *Pythium ultimum*, *P. capsici*, *P. infestans* và nhiều nấm bệnh thực vật khác có giá trị IC₅₀ từ 1,23 - 33 µg/ml. Chaetoglobosin A và C (Zhang và cộng sự, 2013),

Chaetomugilin D (Qin *et al.*, 2009), có hoạt tính kháng nấm chống lại *Setosphaeria turcica*, *Mucor miehei*,... cũng được biết đến được sản xuất bởi *Chaetomium* spp.

Thí nghiệm chất chiết xuất từ cả hai chủng Cg-CFSL1 và Cb-CPT1 đã cho thấy khả năng kiểm soát nấm bệnh *C. theae-sinensis* gây bệnh thán thư trên cây chè. Hiệu quả của các tác nhân kiểm soát sinh học trong việc kiểm soát nấm bệnh trong nghiên cứu này đã cung cấp một lý do thuyết phục để thúc đẩy các ứng dụng các chủng Cg-CFSL1 và Cb-CPT1 này trong phòng trừ bệnh thán thư *C. theae-sinensis* cũng như các bệnh khác trên cây chè và các cây trồng khác.



Hình 2. Sinh trưởng của nấm bệnh *C. theae-sinensis* trong chất chiết xuất của chủng nấm đối kháng *Cb-CPT1* ở các nồng độ khác nhau
(Dòng trên: Chiết xuất Hexane; dòng giữa: Chiết xuất EtOAc; dòng dưới: Chiết xuất MeOH)

IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu hiệu quả ức chế sự phát triển của nấm gây bệnh thán thư trên cây chè *C. theae-sinensis* của các chủng nấm đối kháng Cg-CFSL1 và Cb-CPT1 phân lập từ đất trồng chè trong điều kiện phòng thí nghiệm cho một số kết quả:

- Chủng Cb-CPT1 ức chế 59,9% sinh trưởng sợi nấm và 80,2% sinh sản bào tử của nấm bệnh *C. theae-sinensis*; chủng Cg-CFSL1 ức chế 65,3% sinh trưởng sợi nấm và 87,2% sinh sản bào tử nấm bệnh *C. theae-sinensis*.

- Các hoạt chất của hai chủng Cg-CFSL1 và Cb-CPT1 chiết xuất cùng với các dung môi Hexane, EtOAc và MeOH đã ức chế sự phát triển của nấm bệnh *C. theae-sinensis* với các giá trị ED50 của các chất chiết từ chủng Cg-CFSL1 là 367, 85 và 325 µg/ml, từ chủng Cb-CPT1 là 753, 363 và 92 µg/ml.

Hiệu quả ức chế sự phát triển của nấm bệnh *C. theae-sinensis* của các chất chiết xuất ở nồng độ 1000 từ chủng Cg-CFSL1 lần lượt đạt 84,4%, 92,6% và 93,5%; từ chủng Cb-CPT1 lần lượt đạt 68,4%, 84,3% và 90,5%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 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 Phát triển nông thôn.
- Aryantha, N.P., and Guest, D.I. 2006. Mycoparasitic and Antagonistic Inhibition on *Phytophthora cinnamomi* Rands by Microbial Agents Isolated from Manure Composts. *Plant Pathology Journal*. 15(3): 291 - 298.
- Di Petro et al (1992). Role of antibiotics produced by in biocontrol of *Pythium ultimum*, a causal agent of damping off. *Phytopathology* 1992, 131 - 135
- Kanokmedhakul S, Kanokmedhakul K, Nasomjai P, Louangsysouphanh S, Soyotong K, Isobe M, Kongsaree P, Prabpai S et al. (2006). Antifungal azaphilones from the fungus *Chaetomium cupreum* CC003. *J Nat Prod*. 69:891 - 895.
- Longoni, P., Rodolfi, M., Pantaleoni, L., Doria, E., Concia, L., Picco, A.M., Cella, R. 2012. Functional analysis of the degradation of cellulosic substrates by a *Chaetomium globosum* endophytic isolate. *Applied and Environmental Microbiology*. 78(10):3693 - 3705.
- Narayanasamy, P. 2013. Biological Management of Diseases of Crops. New York: Springer.
- Nguyen, H.P, Pongnak, W., and Soyotong, K. 2013. Biological control of plant pathogenic fungi from tea using *Chaetomium* spp. In proceeding of ICIST 2013, KMITL, Bangkok, Thailand, November 28 - 29, 2013.
- Park, J.H., Choi G.J., Jang. K.S., Lim. H.K., Kim, H.T., Cho, K.Y., Kim, J.C. 2005. Antifungal activity against plant pathogenic fungi of chaetoviridins isolated from *Chaetomium globosum*. *FEMS Microbiol Letters*. 252(2): 309 - 313.
- Phung, M.H, Pongnak, W., and Soyotong, K. 2014. Biological control of Pomelo diseases using *Chaetomium* spp. *Journal of Agricultural Technology*. 10(4): 833 - 844.
- Phung, M.H., Wattanachai P, Kasem S, Poaim S. 2015a. Biological control of *Phytophthora palmivora* causing root rot of pomelo using *Chaetomium* spp. *Mycobiology*. 43(1):63 - 70.
- Phung, M.H., Wattanachai P, Kasem S, Poaim S. 2015a. Efficacy of *Chaetomium* Species as Biological Control Agents against *Phytophthora nicotianae* Root Rot in Citrus. 43(3): 288 - 296.
- Qin, J - C., Zhang, Y - M., Gao, J - M., Bai, M - S., Yang, S - X., Laatsch, H., Zhang, A - L. 2009. Bioactive metabolites produced by *Chaetomium globosum*, an endophytic fungus isolated from

- Ginkgo biloba. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters. 19(6):1572 - 1574.
13. Sáenz-de-Cabezón, F.J., Zalom, F.G., López-Olguín, J.F. 2010. A review of recent patents on macroorganisms as biological control agents. Recent Patents on Biotechnology. 4(1): 48 - 64.
 14. Shanthiyaa, V., Saravanakumar, D., Rajendran, L., Karthikeyan, G., Prabakar, K., Raguchander, T. 2013. Use of *Chaetomium globosum* for biocontrol of potato late blight disease. Crop Protection. 52(5): 33 - 38.
 15. Soyong, K., Kanokmedhakul, S., Kukongviriyapa, V., Isobe, M. 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.
 16. Sun, H., Yang, J., Lin, C., Huang, X., Xing, R., Zhang, K.Q. 2006. Purification and properties of a beta-1,3-glucanase from *Chaetomium* sp. that is involved in mycoparasitism. Biotechnology Letter. 28(2):131 - 135.
 17. Talubnuc C. ang Soyong K (2010). Biocontrol of vanina anthracnose using *Emericella nidulans*. *J. of Agricultural technology* 2010, 6(1): 47 - 55.
 18. The World's Top 10 Tea Producing Nationals. [Online]. Available:<https://www.worldal.com/aticle/the-worlds-top-10-tea-producing-nationals.html>
 19. Zhang, G., Wang, F., Qin, J., Wang, D., Zhang, J., Zhang, Y., Zhang, S., Pan, H. (2013). Efficacy assessment of antifungal metabolites from *Chaetomium globosum* No.05, a new biocontrol agent, against *Setosphaeria turcica*. Biological Control. 64(1): 90 - 98.
 20. Zhang, Q., Li, H.Q., Zong, S.C., Gao, J.M., Zhang, A.L. (2012). Chemical and bioactive diversities of the genus *Chaetomium* secondary metabolites. Mini Review Medicinal Chemistry. 12(2): 127 - 148.

**NGHIÊN CỨU PHÒNG TRỪ
BỆNH THỐI HẠCH CẢI BẮP (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary.)
BẰNG NẤM *Trichoderma asperellum***

Nguyễn Văn Viên

Bộ môn Bệnh cây, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

SUMMARY

**Study on Control of *Sclerotinia* rot of cabbage
caused by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. through *Trichoderma asperellum***

S. sclerotinia damage to cabbage on the field in Vanduc commum in Crop Spring - Summer in the last of April, disease rate is 16.33%. Sclerotia of *S. sclerotinia* are many shapes with average size the long is 17.2 mm, the wide is 7.2 mm. After 1 month the Sclerotia of *S. sclerotinia* were guarded in the dry soil have alive rate is 80%, they are in the damp soil alive rate is 55%. And 100% Sclerotia of *S. sclerotinia* were dead in the soil were saturated water.

Tr. asperellum was good antagonistic effective against *S. Sclerotiorum* in the PSA medum in the petri disk when culture them at the same time or *Tr. asperellum* are cultured 1 day before *S. Sclerotinia* is cultured.

Dip root of cabage in to solution 0.5g T32 production with 5 ml water in 5 minuts effective was 85.0%. The Effective of treatment T32 production at 12.5 mg with 10 ml water fore 3 times (the first time after cultivating, the second time after the first time 7 days, the third time after the second time 7 days) was 82.4%.

Keywords: *Sclerotinia* rot of cabbage, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Trichoderma asperellum*.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ¹

Cải bắp thuộc họ Hoa chữ thập được trồng trong vụ Đông Xuân ở nhiều vùng nước ta. Trong số các bệnh hại cây cải bắp có bệnh thối hạch do nấm *Sclerotinia sclerotiorum* gây ra là một trong những bệnh quan trọng ảnh hưởng đến năng suất, phẩm chất cây cải bắp. Nấm *Sclerotinia* là loài có phổ kí chủ rộng trên 400 loài thực vật, nấm tồn tại trong đất có khả năng xâm

nhiễm các giai đoạn cây cải bắp (Wikipedia, 2019)⁶. Theo K. Kamesh Krishnamoorthy và ctv., (2017)³ đã thí nghiệm hiệu lực của 8 thuốc trừ nấm propineb, carbendazim, tebuconazole, nativo (tebuconazole + trifloxystrobin), fosetyl aluminium, tricyclazole, metalaxyl and kresoxim methyl ở nồng độ 25, 50, 100 và 250 ppm đã hạn chế sự phát triển của *Sclerotinia sclerotiorum* trong nuôi cấy. Kết quả cũng chỉ ra thuốc nativo có hiệu lực ức chế nấm mạnh nhất. Theo S. Dutata và ctv. (2016)⁵ ở Ấn Độ phòng

Người phân biên: PGS.TS. Đỗ Tấn Dũng.

chống bệnh bằng thuốc 28,2%, chế phẩm sinh học 46,5%, thuốc thảo mộc 25,4% và giống kháng 16%. Chỉ có một số giống cải bắp đại có khả năng kháng nấm *S. sclerotiorum* (A. Taylor và ctv., 2017)¹.

Việc sử dụng thuốc trừ nấm hóa học xử lý đất là khó áp dụng vì tốn thuốc, ảnh hưởng xấu đến khu hệ vi sinh vật đất. Thối hạch là một trong những bệnh hại nguy hiểm xuất hiện thường xuyên trên cây cải bắp. Vì vậy việc nghiên cứu về bệnh thối hạch hại cải bắp và phòng trừ bệnh bằng chế phẩm nấm đối kháng *Trichoderma* là hết sức cần thiết, góp phần bảo vệ môi trường.

II. VẬT LIỆU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nấm *Sclerotinia sclerotiorum* gây bệnh thối hạch trên cải bắp, bệnh thối hạch cải bắp, nấm đối kháng *Tr. asperellum*.

2.2. Vật liệu, dụng cụ nghiên cứu

Các dụng cụ trong nghiên cứu nấm, khay trồng cây kích thước 12,5 × 20 cm = 250 cm². Cồn 90%, cồn 70%, đường Glucose, đường Saccarose, agar... Hạt và cây cải bắp giống KK Cros, Chế phẩm nấm đối kháng T32: có $2,4 \times 10^8$ CFU nấm *Tr. asperellum* do Bộ môn Bệnh cây, Học viện Nông nghiệp Việt Nam sản xuất.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp điều tra tình hình bệnh thối hạch cải bắp trên đồng ruộng

Điều tra bệnh theo quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây rau họ Hoa thập tự QCVN 01-169: 2014/BNNPTNT².

2.3.2. Phương pháp thu thập mẫu bệnh, phân lập nấm *Sclerotinia sclerotiorum* gây bệnh

Theo Lester W. Burgess và ctv.⁴: Thu hạch nấm ở cây bệnh, rửa sạch bằng nước cất, khử trùng bằng cồn 70% trong 15 giây, vớt hạch nấm cho vào đĩa nước vô trùng, rửa, nhấc hạch nấm đặt giấy vô trùng thấm khô nước, cấy 1 hạch nấm vào giữa đĩa, sau 2 ngày cấy đầu non sợi nấm cấy truyền sang môi trường PSA, theo dõi nấm phát triển thành hạch, lây bệnh lại vào cây cải bắp, khi hình thành vết bệnh, tiến hành phân lập lại (theo nguyên tắc Koch), chọn đĩa nấm thuần để giữ nguồn làm thí nghiệm tiếp theo.

2.3.3. Phương pháp nghiên cứu khả năng sống của hạch nấm *S. sclerotiorum*

Đất khô (phơi khô đất); đất ẩm (thường xuyên tưới ẩm); đất ngập nước (luôn luôn trong tình trạng ngập nước), mỗi loại đất trộn 100 hạch nấm. Sau mỗi tháng lấy ra 20 hạch nấm từ mỗi loại đất, vệ sinh, khử trùng hạch sạch sau đó cấy 5 hạch vào một đĩa môi trường PSA, theo dõi hạch sống (hạch mọc sợi), hạch chết (hạch không mọc sợi).

2.3.4. Nghiên cứu khả năng đối kháng của nấm *Tr. asperellum* với nấm *S. sclerotiorum* trên môi trường PSA

Nấm *Tr. asperellum* và nấm *S. sclerotiorum* được cấy trên môi trường PSA ở 2 vị trí đối diện, khoảng cách giữa hai nấm thí nghiệm là 3 cm và cách cạnh đĩa Petri là 2,5 cm, mỗi công thức nhắc lại 3 lần (3 đĩa). Thí nghiệm có 5 công thức: CT1: Cây nấm *S. sclerotiorum* và nấm *Tr. asperellum* cùng lúc, CT2: Cây nấm *S. sclerotiorum* trước 1 ngày, sau đó cấy

nấm *Tr. asperellum*, CT3: Cây nấm *Tr. asperellum* trước 1 ngày, sau đó cây nấm *S. sclerotiorum*, CT4: Chỉ cây nấm *S. sclerotiorum* giữa đĩa, CT5: Chỉ cây nấm *Tr. asperellum* giữa đĩa. Đo kích thước lớn nhất, bé nhất của khuẩn lạc từng nấm tại các thời điểm 2, 4 ngày sau khi cấy nấm. Tính hiệu lực đối kháng của nấm *Tr. asperellum* theo công thức Abbott.

2.3.5. Phương pháp nghiên cứu khả năng phòng trừ của chế phẩm nấm đối kháng T32 với nấm *S. sclerotiorum* gây bệnh thối hạch cải bắp trong nhà lưới

* *Chuẩn bị nguồn nấm bệnh*: Nhân sinh khối nấm bệnh vào giá thể trấu cám tỷ lệ 1:1 đã khử trùng. Khi nấm mọc kín túi, sử dụng giá thể này để lây bệnh nhân tạo.

* *Chuẩn bị khay đất nhiễm bệnh*: Trộn 10 g giá thể có nấm với 1 kg đất, trộn đều. Sau đó cho vào mỗi khay 1 kg đất này. Mỗi công thức là 1 khay, nhắc lại 3 lần.

2.3.5.1. Phun chế phẩm T32 vào đất sau gieo

Gồm 4 công thức: CT1: 3 kg chế phẩm/ha (tương đương 7,5 mg/khay), CT2: 5 kg chế phẩm/ha (tương đương 12,5 mg/khay), CT3: 10 kg chế phẩm/ha (tương đương 25 mg/khay), CT 4: Đối chứng, không xử lý chế phẩm nấm đối kháng. Mỗi khay gieo 30 hạt. Sau đó hòa chế phẩm T32 vào 3 ml nước phun 1 khay. Theo dõi số hạt mọc, tỷ lệ mọc, số cây sống, tỷ lệ cây sống, tỷ lệ cây bệnh sau 10, 20, 30 ngày.

2.3.5.2. Nhúng rễ cây con vào dung dịch nấm đối kháng T32

Gồm 4 công thức: CT1: Pha 0,1 g chế phẩm nấm đối kháng + 5 ml nước, CT2: Pha 0,3 g chế phẩm nấm đối kháng + 5 ml

nước, CT3: Pha 0,5 g chế phẩm nấm đối kháng + 5 ml nước, CT 4: Đối chứng nhúng rễ cây vào nước sạch. Pha chế phẩm T32 vào 5 ml nước, nhúng rễ cây cải bắp ướt đều trong 5 phút, sau đó trồng 10 cây/khay, theo dõi số cây sống, tỷ lệ cây sống, số cây bệnh, tỷ lệ cây bệnh sau trồng 10, 20, 30 ngày.

2.3.5.3. Tưới chế phẩm T32 một số lần sau trồng

Gồm 4 công thức: CT1: Tưới lần 1 sau trồng, CT2: Tưới lần 1 sau trồng, sau 7 ngày tưới lần 2, CT3: Tưới lần 1 sau trồng, sau 7 ngày tưới lần 2, sau 7 ngày tưới lần 3, CT 4: Đối chứng tưới nước sạch. Mỗi lần tưới 12,5 mg chế phẩm T32/10 ml nước tưới vào gốc cây cải bắp theo các công thức trên. Theo dõi số cây sống, tỷ lệ cây sống, tỷ lệ cây bệnh sau tưới 10, 20, 30 ngày.

2.3.5.4. Tưới chế phẩm T32 ở một số thời điểm sau trồng

Gồm 3 công thức: CT1: Tưới ở thời điểm sau trồng, CT2: tưới khi cây chớm bị bệnh, pha 12,5 mg chế phẩm T32 vào 10 ml nước tưới vào gốc cây cải bắp của mỗi khay (mỗi công thức), CT3: Đối chứng. Theo dõi tỷ lệ cây bệnh sau tưới chế phẩm 10, 20, 30 ngày.

2.3.6. Công thức tính toán và xử lý số liệu

2.3.6.1. Công thức tính toán

$$\text{Tỷ lệ bệnh (TLB) (\%)} = \frac{N}{T} \times 100$$

Trong đó: TLB: tỷ lệ bệnh (%).

N: số cây bị bệnh.

T: tổng số cây điều tra.

- Hiệu lực đối kháng (HLĐK) được tính theo công thức Abbott:

$$HLĐK (\%) = \frac{(C-T)}{C} \times 100$$

C: đường kính tán nấm bệnh (đối chứng).

T: đường kính tán nấm bệnh ở công thức đối kháng với nấm *Trichoderma asperellum*.

- Hiệu lực phòng trừ bệnh (HLPT) được tính theo công thức Abbott:

$$HLPT (\%) = \frac{(C-T)}{C} \times 100$$

C: số cây bệnh ở công thức đối chứng.

T: số cây bệnh ở công thức xử lý chế phẩm T32.

2.3.6.2. Phương pháp xử lý số liệu

Xử lý số liệu theo chương trình IRRISTAT 5.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN



Hình 1. Triệu chứng bệnh thối hạch cải bắp Hình 2. Hạch nấm *Sclerotinia sclerotiorum*

3.1. Diễn biến bệnh thối hạch cải bắp trên giống cải bắp KK-Cross

Bảng 1. Diễn biến bệnh thối hạch cải bắp trên giống cải bắp KK-Cross trồng đại trà tại xã Văn Đức, huyện Gia Lâm, Hà Nội vụ Xuân Hè 2017

Ngày điều tra	Tổng số cây điều tra	Số cây bệnh	TLB (%)	Giai đoạn sinh trưởng của cây
01/02/2017	300	0	0,00	Cây con
08/02/2017	300	0	0,00	Cây con
15/02/2017	300	7	2,33	Cây con
22/02/2017	300	14	4,67	Hồi xanh
01/03/2017	300	17	5,67	Trái lá bàng
08/03/2017	300	22	7,33	Trái lá bàng
15/03/2017	300	33	11	Cuốn bắp
22/03/2017	300	38	12,67	Cuốn bắp
29/03/2017	300	42	14	Cuốn bắp
05/04/2017	300	46	15,33	Cuốn bắp
22/04/2017	300	49	16,33	Thu hoạch

Tỷ lệ bệnh thối hạch cải bắp giai đoạn cây con thấp sau đó tỷ lệ bệnh tăng dần, nguyên nhân do vào giữa tháng 3 cây cải bắp bắt đầu thời kỳ cuốn mưa ẩm kéo dài là điều kiện thuận lợi cho bệnh phát triển, đến trung tuần tháng 4 khi thu hoạch tỷ lệ bệnh lên tới 16,33%.

3.2. Kích thước hạch nấm

Bảng 2. Kích thước hạch nấm *Sclerotinia sclerotiorum*

Nguồn hạch nấm	Số hạch thí nghiệm	Chiều dài (mm)			Chiều rộng (mm)		
		Lớn nhất	Nhỏ nhất	Trung bình	Lớn nhất	Nhỏ nhất	Trung bình
Từ cải bắp	30	27	6	17,2	11	3,5	7,2
Từ PSA	30	11	2,5	6,3	5,5	1,5	3,1
Từ PGA	30	9	4	5,6	4,7	2	2,9
Từ cám - agar	30	6,5	1,5	4,2	4	1,5	2,6
Từ PCA	30	8,5	2	5,3	4,9	1,8	3,4

Hạch nấm không định hình, từ nguồn hạch thu từ cải bắp bị bệnh, môi trường PSA, PGA, Cám Agar, PCA chiều dài của hạch nhỏ nhất là 2 mm, hạch lớn nhất là 27 mm, chiều rộng của hạch nhỏ nhất là 2 mm, hạch lớn nhất là 11 mm. Hạch trên cải bắp có kích thước lớn nhất chiều dài trung bình 17,2 mm, chiều rộng trung bình 7,2 mm.

3.3. Khả năng sống của hạch nấm *S. sclerotiorum* trong đất

Bảng 3. Khả năng bảo tồn sức sống của hạch nấm *Sclerotinia sclerotiorum* trong đất

Loại đất	Số hạch thí nghiệm từng tháng	Số hạch nấm mọc				Tỷ lệ hạch sống (%) sau thời gian			
		1 tháng	2 tháng	3 tháng	4 tháng	1 tháng	2 tháng	3 tháng	4 tháng
Đất khô	20	16	13	9	6	80	65	45	30
Đất ẩm	20	11	8	5	3	55	40	25	15
Đất ngập nước	20	0	0	0	0	0	0	0	0

Khả năng sống trong đất của hạch nấm *S. sclerotiorum* cao nhất là ở đất khô, tiếp đến là đất ẩm và cuối cùng hạch nấm *S. sclerotiorum* không có khả năng tồn tại trong môi trường đất ngập nước. Sau 1 tháng trên đất khô tỷ lệ sống của hạch nấm là 80% còn trên đất ẩm tỷ lệ sống của hạch nấm là 55%. Trong đất liên tục bị ngập nước 1 tháng hạch nấm đã bị chết.

3.4. Kết quả nghiên cứu khả năng đối kháng của nấm *Tr. asperellum* với nấm *S. sclerotiorum* trên môi trường PSA

Bảng 4. Khả năng đối kháng của nấm *Tr. asperellum* đối với nấm *S. sclerotiorum* trên môi trường PSA

Công thức	Kích thước tàn nấm (mm) sau cấy							
	2 ngày				4 ngày			
	S		T		S		T	
	D	R	D	R	D	R	D	R
1. Cùng cấy S và T	51,67	43,33	47,33	34,33	28	1,33	90	88,67
2. S cấy trước T 1 ngày	42,67	42	12,67	12,33	54	36,67	51,67	41
3. T cấy trước S 1 ngày	18,33	17	48,33	44,33	6	4	90	90
4. Chỉ cấy S	36	35,67			90	90		
5. Chỉ cấy T			47,67	48			90	90

Ghi chú: S: *S. sclerotiorum*, T: *Tr. asperellum*, D: chiều dài, R: chiều rộng. LSD_{0,05}: 0,83, CV%: 1,0.

Công thức 1, khi 2 nấm cùng được cấy 1 lúc, sau 2 ngày sự phát triển của 2 nấm không chênh lệch nhau nhiều, sang ngày thứ 4 thì nấm đối kháng đã át được gần như hết nấm *S. sclerotiorum*. Ở công thức 2, nấm *S. sclerotiorum* được cấy trước nấm *Tr. asperellum* phát triển tương đối nhanh. Tuy nhiên, nấm *Tr. asperellum* cũng phát triển rất nhanh. Ở ngày thứ 4,

nấm *Tr. asperellum* đã bắt đầu át tàn nấm *S. sclerotiorum*. Ở công thức 3, nấm *Tr. asperellum* được cấy trước 1 ngày đã mọc át gần như hết nấm *S. sclerotiorum* sau 4 ngày cấy.

Từ kết quả trên chúng tôi nhận thấy nấm *Tr.* có mặt trước hoặc đồng thời với nấm *S. sclerotiorum* thì hiệu lực đối kháng tốt hơn.

3.5. Kết quả nghiên cứu phòng trừ bệnh thối hạch cải bắp bằng chế phẩm T32 trong nhà lưới

3.5.1. Phun chế phẩm T32 vào đất sau gieo

Bảng 5. Hiệu lực của chế phẩm nấm T32 đối với bệnh thối hạch cải bắp do nấm *S. sclerotiorum* trong nhà lưới bằng phương pháp phun ngay sau khi gieo

Công thức thí nghiệm	Số hạt gieo	Tỷ lệ % cây bệnh sau mọc						Hiệu lực phòng trừ sau mọc 30 ngày (%)
		10 ngày		20 ngày		30 ngày		
		Số cây bệnh	Tỷ lệ cây bệnh (%)	Số cây bệnh	Tỷ lệ cây bệnh (%)	Số cây bệnh	Tỷ lệ cây bệnh (%)	
CT1: 3 kg T32/ha (7,5 mg/khay)	90	13	14,4	28	31,1	35	38,8	32,69 ^c
CT2: 5 kg T32/ha (12,5 mg/khay)	90	11	12,2	22	24,4	27	30,0	48,07 ^b
CT3: 10 kg T32/ha (25 mg/khay)	90	6	6,7	13	14,4	16	17,7	69,23 ^a
CT 4: Đối chứng, phun nước sạch	90	22	24,4	35	38,8	52	57,7	

LSD_{0,05}: 2,91, CV%: 3,6.

Công thức 1, sau khi xử lý T32 với lượng 7,5 mg/khay sau 30 ngày hiệu lực phòng trừ đạt 32,69% (mức c), công thức 2 xử lý T32 với lượng 7,5 mg/khay sau 30 ngày hiệu lực phòng trừ đạt 48,07% (xếp mức b), công thức 3 xử lý T32 với lượng 7,5 mg/khay sau 30 ngày hiệu lực phòng trừ đạt 74,11%, công thức 4 không xử lý nấm đối kháng sau 30 ngày tỷ lệ cây bị bệnh rất cao 69,23% (xếp mức a).

3.5.2. Nhúng rễ cây con vào dung dịch nấm đối kháng T32

Bảng 6. Hiệu lực của chế phẩm T32 phòng trừ bệnh thối hạch cải bắp trong nhà lưới theo phương pháp nhúng rễ cây giống vào dung dịch chế phẩm

Công thức thí nghiệm	Số cây thí nghiệm	Tỷ lệ % cây bệnh sau xử lý						Hiệu lực phòng trừ sau xử lý 30 ngày (%)
		10 ngày		20 ngày		30 ngày		
		Số cây bệnh	Tỷ lệ bệnh (%)	Số cây bệnh	Tỷ lệ bệnh (%)	Số cây bệnh	Tỷ lệ bệnh (%)	
CT1: 0,1g chế phẩm nấm T32 + 5ml nước	30	7	23,3	10	33,3	12	40,0	40,00 ^c
CT2: 0,3g chế phẩm nấm T32 + 5ml nước	30	6	20,0	8	26,7	9	30,0	55,00 ^b
CT3: 0,5g chế phẩm nấm T32 + 5ml nước	30	2	6,7	3	10,0	3	10,0	85,00 ^a
CT 4: Đối chứng; tưới nước sạch	30	12	40,00	16	53,3	20	66,7	

LSD_{0,05}: 2,62, CV%: 2,8.

Ở thời điểm 30 ngày sau xử lý chúng tôi thấy sự sai khác giữa các công thức thí nghiệm là có ý nghĩa. Khi lượng chế phẩm nấm đối kháng T32 dùng để nhúng rễ cây con tăng lên thì tỷ lệ cây cải bắp bị nhiễm bệnh giảm đi và hiệu lực phòng trừ bệnh

tăng lên, công thức 3 hiệu lực đạt 85,00% (xếp mức a).

Ở công thức 4 (đối chứng) số cây bị nhiễm bệnh nhiều nhất 20 cây, tỷ lệ bệnh cao 66,7%.

3.5.3 Tưới chế phẩm T32 một số lần sau trồng

Bảng 7. Hiệu lực của số lần tưới chế phẩm 32 vào đất phòng trừ bệnh thối hạch cải bắp trong nhà lưới

Công thức thí nghiệm	Số cây thí nghiệm	Tỷ lệ cây bệnh sau trồng 30 ngày		Hiệu lực phòng trừ sau trồng 30 ngày (%)
		Số cây bệnh	Tỷ lệ cây bệnh (%)	
CT1: Tưới lần 1 sau trồng	30	12	40,0	29,4 ^c
CT2: Tưới lần 1 sau trồng, sau 7 ngày tưới lần 2	30	9	30,0	47,1 ^b
CT3: Tưới lần 1 sau trồng, lần 2 sau lần 1 là 7 ngày tưới lần 3 sau lần 2 là 7 ngày	30	3	10,0	82,4 ^a
CT 4: Đối chứng chỉ tưới nước	30	17	56,7	

Ghi chú: Mỗi lần tưới: 12,5 mg chế phẩm T32/10 ml nước tưới 1 khay, LSD_{0,05}: 4,27, CV%: 4,6.

Công thức 1, chỉ tưới lần 1 sau trồng có số cây chết là 12 cây giảm hơn so với công thức đối chứng 5 cây đạt hiệu lực phòng trừ là 29,4% (xếp mức c), công thức 2, khi số lần tưới nấm đối kháng tăng lên (tưới lần 1 sau trồng, lần 2 sau lần 1 là 7 ngày) số cây chết giảm đi đáng kể còn 9

cây, tỷ lệ bệnh giảm chỉ còn 30,0% và hiệu lực phòng trừ tăng lên đạt là 47,1% (xếp mức b), công thức 3 khi số lần tưới nấm đối kháng vào gốc cây 3 lần số cây chết thấp nhất hiệu lực phòng trừ cao nhất lên tới 82,4% (xếp mức a).

3.5.4. Tưới chế phẩm T32 ở một số thời điểm sau trồng

Bảng 8. Hiệu lực của tưới chế phẩm T32 ở một số thời điểm sau trồng phòng trừ bệnh thối hạch cải bắp trong nhà lưới

Công thức thí nghiệm	Số cây thí nghiệm	Tỷ lệ cây bệnh sau tưới chế phẩm						Hiệu lực phòng trừ sau trồng 30 ngày (%)
		10 ngày		20 ngày		30 ngày		
		Số cây bệnh	Tỷ lệ (%)	Số cây bệnh	Tỷ lệ (%)	Số cây bệnh	Tỷ lệ (%)	
CT1: Tưới chế phẩm T32 ngay sau trồng	30	5	16,6	8	26,7	13	43,3	35 ^a
CT2: Tưới chế phẩm T32 khi vết bệnh xuất hiện ở gốc	30	7	23,3	11	36,7	15	50	25 ^b
CT3: Đối chứng chỉ tưới nước sạch	30	11	36,7	15	50,0	20	66,7	

Ghi chú: Pha 12,5 mg chế phẩm T32 vào 10 ml nước tưới vào gốc cây của 1 khay, LSD_{0,05}: 8,51, CV%: 10,4.

Ở công thức 1, tưới ngay sau khi gieo trồng số cây chết là 13 cây, tỷ lệ bệnh là 43,3% và hiệu lực phòng trừ đạt là 35% (xếp mức a).

Ở công thức 2 khi vết bệnh xuất hiện ở gốc cây lớn rồi mới dùng chế phẩm thì số cây chết nhiều (15 cây) sau 30 ngày, tỷ lệ bệnh là 50,0% và hiệu lực phòng trừ thấp nhất chỉ đạt 25% (xếp mức b).

Ở công thức 3 (đối chứng) sau 30 ngày số cây chết lên tới 20 cây, tỷ lệ cây bị bệnh lên đến 66,7%.

IV. KẾT LUẬN

- Nấm *S. sclerotinia* gây hại cho cây cải bắp vụ Xuân Hè trên đồng ruộng ở Văn Đức đến cuối tháng 4 (giai đoạn cuốn bắp tới thu hoạch) tỷ lệ bệnh là 16,33%.

- Hạch nấm *S. sclerotinia* không định hình, có kích thước lớn nhất chiều dài trung bình 17,2 mm, chiều rộng trung bình 7,2 mm. Sau 1 tháng trên đất khô tỷ lệ sống của hạch nấm là 80% còn trên đất ẩm tỷ lệ sống của hạch nấm chỉ còn 55%. Trong đất liên tục bị ngập nước 1 tháng hạch nấm đã bị chết.

- Nấm *Tr.* có mặt trước hoặc đồng thời với nấm *S. sclerotiorum* thì hiệu lực đối kháng tốt.

- 0,5 g chế phẩm nấm T32 + 5 ml nước nhúng rễ cây giống cải bắp trong 5 phút cho hiệu lực trừ bệnh là 85%.

- Tưới 3 lần; lần 1 sau trồng, lần 2 sau lần 1 là 7 ngày, tưới lần 3 sau lần 2 là 7 ngày, mỗi lần 12,5 mg chế phẩm T32/10 ml nước/công thức cho hiệu lực phòng trừ cao nhất đạt 82,4%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. A. Taylor, K. Rana, C. Handy, J. P. Clarkson (2017). Resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in wild *Brassica* species and the importance of *Sclerotinia subarctica* as a *Brassica* pathogen First published: 21 June 2017 Published online 22 August 2017^a 2017 British Society for Plant Pathology, <https://doi.org/10.1111/ppa.12745>, Plant Pathology (2018) 67, 433 - 444.
2. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (2014). QCVN 01-169-2014/BNNPTNT: Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây rau họ Hoa thập tự.
3. K. Kamesh Krishnamoorthy, A Sankaralingam And S Nakkeeran (2017). Management of head rot of Cabbage caused by *Sclerotinia sclerotiorum* through combined application of fungicides and biocontrol *Bacillus amyloliquefaciens*. International Journal of Chemical Studies 2017; 5(2): 401 - 404, <https://www.researchgate.net/publication/316405845>.
4. Lester W. Burgess, Tymothy E. Knight, Ien Tesoriero, Phan Thuy Hien (2009). Cẩm nang chẩn đoán bệnh cây ở Việt Nam.
5. S. Dutata, Tasvna, R. Borah, A. Roy Barman, S. Hansda, And P.P. Ghosh (2016). Overview of *Sclerotinia sclerotiorum* in India with special reference to its emerging severity in Eastern Region, 236 Indian Phytopath. 69 (4s): 236 - 239 (2016), <https://www.researchgate.net/publication/316987283>.
6. Wikipedia (2019). *Sclerotinia sclerotiorum*, https://en.wikipedia.org/wiki/Sclerotinia_sclerotiorum, This page was last edited on 27 April 2019, at 17:46 (UTC).

ĐÁNH GIÁ TÍNH ĐỘC CỦA NẤM *Corynespora cassiicola* MANG GEN MÃ HÓA ĐỘC TỔ CASSIICOLIN TRÊN MỘT SỐ DÒNG VÔ TÍNH CAO SU (*Hevea brasiliensis*)

Nguyễn Phương Vinh^{1,2}, Nguyễn Anh Nghĩa¹
Nguyễn Bảo Quốc²

¹Viện Nghiên cứu Cao su Việt Nam

²Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh

ABSTRACT

Virulence assessment of *Corynespora cassiicola* fungus carrying gene encoding Cassiicolin precursor protein on some rubber clones

Corynespora cassiicola is an important fungal pathogen on rubber trees in Vietnam. During infection, this fungus secretes cassiicolin toxin, a phytotoxic protein that plays an important role in its ability to cause disease. In terms of molecular biology, the cassiicolin coding gene, a genetic diversity factor, with six isoforms of Cas genes has been discovered. This study aimed to assess the virulence of 6 *C. cassiicola* fungal isolates carrying gene encoding Cas2 isoform of cassiicolin and 6 others that have not been identified their isoforms (Cas0) using detached leaf assay. All studied isolates showed very high virulence on RRIV 4 clone, high to very high virulence on RRIV 1 clone, moderate to high virulence on RRIV 107 clone, moderate to very high virulence on PB 255 clone. Among studied isolates, CoryLK01 isolate showed highest virulence on 4 clones. There was not clearly discriminate in virulence between Cas2 group and Cas0 group isolates.

Keywords: *Corynespora cassiicola*, cassiicolin, *Hevea brasiliensis*.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei., tác nhân gây bệnh rụng lá *Corynespora*, là đối tượng nấm bệnh gây hại nghiêm trọng trên cây cao su (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg) tại Việt Nam. Loài nấm này có khả năng lây lan nhanh và gây rụng lá hàng loạt, làm ảnh hưởng lớn đến sinh trưởng và sản lượng các

vườn cao su thuộc dòng vô tính (DVT) mẫn cảm.

Đến nay, nấm *C. cassiicola* đã được ghi nhận tại hơn 80 quốc gia, với trên 400 loài ký chủ (Farr và Rossman, 2019). Trên cây cao su, mức độ mẫn cảm của các DVT đối với loài nấm này biến thiên theo thời gian và vùng địa lý, điều này cho thấy dường như có sự tồn tại của các nòi nấm khác nhau. Tại Việt Nam, các nghiên cứu về đa dạng di truyền đã xác định loài nấm này có ít nhất 2 nhóm di truyền chính gây

Người phân biện: TS. Võ Thị Thu Oanh.

bệnh trên cây cao su và một số ký chủ khác (Nguyễn Đôn Hiệu và cs., 2014). Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào làm rõ được mối quan hệ giữa đa dạng di truyền và cấu trúc di truyền với tính gây bệnh.

Trong quá trình xâm nhiễm, nấm *C. cassiicola* tiết ra cassiicolin, một dạng protein độc với thực vật (phytotoxic protein) và có vai trò quan trọng đối với khả năng gây bệnh (Bréton và cs., 2000). Về mặt cấu trúc, cassiicolin là peptide gồm 27 amino acid, với một N-acid pyroglutamic và 6 cysteine (Lamotte và cs., 2007). Về mặt sinh học phân tử, gen mã hóa cassiicolin là một trong những yếu tố đa dạng di truyền. Có ít nhất 6 nhóm gen Cas (Cas1, Cas2, Cas3, Cas4, Cas5 và Cas6) đã được phát hiện (Déon và cs., 2014). Nhằm tìm hiểu mối quan hệ giữa đa dạng di truyền gen Cas với tính gây bệnh của nấm *C. cassiicola* trên cây cao su, tại Việt Nam đã có một số nghiên cứu được thực hiện liên quan đến lĩnh vực này. Trong đó, hai nghiên cứu của Phạm Thị Ngọc Giàu (2017) và Văn Thị Mỹ Linh (2018) đã xác định được 6

mẫu phân lập (MPL) nấm mang gen mã hóa cassiicolin nhóm Cas2 và 6 MPL chưa xác định được gen Cas (Cas0). Báo cáo này trình bày kết quả đánh giá tính độc trên cây cao su của 12 MPL nấm nêu trên.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các MPL nấm *C. cassiicola* sử dụng trong nghiên cứu đã được Phòng Nghiên cứu Bảo vệ thực vật, Viện Nghiên cứu Cao su Việt Nam phân lập từ lá cao su bị nhiễm bệnh *Corynespora* trên nhiều DVT trồng tại vùng Đông Nam Bộ, Tây Nguyên và Miền Trung. Các MPL này đã được Nguyễn Anh Nghĩa và cs. (2010); Văn Thị Mỹ Linh (2018) định danh theo đặc điểm hình thái và giải trình tự vùng rDNA-ITS, xác định là nấm *C. cassiicola*. Lá cao su sử dụng trong thí nghiệm là lá sạch bệnh ở giai đoạn 12 - 15 ngày tuổi thuộc các DVT RRIV 4, RRIV 1, RRIV 107 và PB 255.

Bảng 1. Danh sách 12 MPL nấm *C. cassiicola* sử dụng trong nghiên cứu

STT	Tên mẫu	Địa điểm thu mẫu	Phân lập từ DVT cao su	Năm phân lập	Dạng gen Cas
1	CoryLK03	Bến cát, Bình Dương	LH 99/383	2005	0
2	CoryLK04	Bến cát, Bình Dương	LH 99/757	2005	0
3	CoryLK16	Bến cát, Bình Dương	LH 99/638	2005	0
4	CoryBL01	Bình Long, Bình Phước	RRIV 3	2009	0
5	CoryDP01	Đồng Phú, Bình Phước	RRIV 4	2010	0
6	CoryDN01	Long Khánh, Đồng Nai	RRIV 3	2009	0
7	CoryQN01	Núi Thành, Quảng Nam	PB 260	2009	2
8	CoryDC01	Đức Cơ, Gia Lai	RRIM 600	2009	2
9	CoryKT01	Sa Thầy, Kon Tum	RRIV 4	2010	2
10	CoryBT07	Đức Linh, Bình Thuận	RRIV 4	2015	2
11	CoryDN22	Cẩm Mỹ, Đồng Nai	RRIV 3	2016	2
12	CoryLK01	Bến Cát, Bình Dương	LH97/0703	2009	2

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thời gian và địa điểm nghiên cứu: Nghiên cứu này được thực hiện từ tháng 2 - 3/2019, tại Phòng Nghiên cứu Bảo vệ thực vật, Viện Nghiên cứu Cao su Việt Nam.

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên 2 yếu tố (yếu tố A: 12 MPL nấm, yếu tố B: 4 DVT cao su), 48 nghiệm thức, 3 lần lặp lại, 3 lá cao su/ô cơ sở.

Thực hiện: Lá cao su sạch bệnh được rửa với thuốc chống mốc sodium benzoate một lần trong 30 giây, sau đó rửa lại 3 lần với nước cất, thấm khô rồi đặt úp lên tấm lưới thép bên trong hộp plastic đã được chuẩn bị môi trường ẩm độ thích hợp.

Chung bệnh được thực hiện theo phương pháp lây bệnh trên lá cao su cắt rời. Sử dụng pipette nhỏ một lượng dịch bào tử có nồng độ 4.000 bào tử/ml lên 10 điểm phân bố dọc theo 2 bên gân chính của lá, thể tích mỗi giọt là 20 µl. Sau khi chủng dịch bào tử, đặt hộp plastic dưới ánh sáng đèn huỳnh quang 12 giờ/ngày, ở nhiệt độ 25°C trong 7 ngày.

Chỉ tiêu theo dõi: Chỉ số lây nhiễm (CSLN) (Sharma, 2004) được đánh giá vào các thời điểm 3, 5 và 7 ngày sau chủng bệnh. Một vết chủng được xem là bị nấm lây nhiễm khi các mô lá tại vị trí chủng có màu sậm tối. Đánh giá cấp lây nhiễm theo bảng phân cấp trong tài liệu của Déon và cs. (2014) (Bảng 2).

Bảng 2. Bảng phân cấp lây nhiễm của nấm *C. cassiicola* theo phương pháp lây bệnh trên lá cao su cắt rời

Cấp lây nhiễm	Mô tả
0	Không có triệu chứng
1	Vết bệnh nhỏ như đầu kim nằm dưới vị trí chủng
2	Kích thước vết bệnh < 50% diện tích vết chủng
3	Kích thước vết bệnh từ 50 - 100% diện tích vết chủng
4	Kích thước vết bệnh từ 100 - 200% diện tích vết chủng
5	Kích thước vết bệnh từ > 200% diện tích vết chủng

Chỉ số lây nhiễm được tính theo công thức được đề nghị bởi Sharma (2004).

$$CSLN(\%) = \frac{\sum(\text{Số điểm chủng bị lây nhiễm từng cấp} \times \text{cấp lây nhiễm tương ứng})}{\text{Tổng số điểm chủng} \times \text{cấp lây nhiễm cao nhất}} \times 100$$

Đánh giá tính độc: Tính độc của các MPL trên các DVT được phân hạng theo CSLN dựa trên tài liệu của Prem và Jacob (2006), có điều chỉnh (Bảng 3).

Bảng 3. Phân hạng tính độc của các MPL nấm *C. cassiicola* dựa trên CSLN

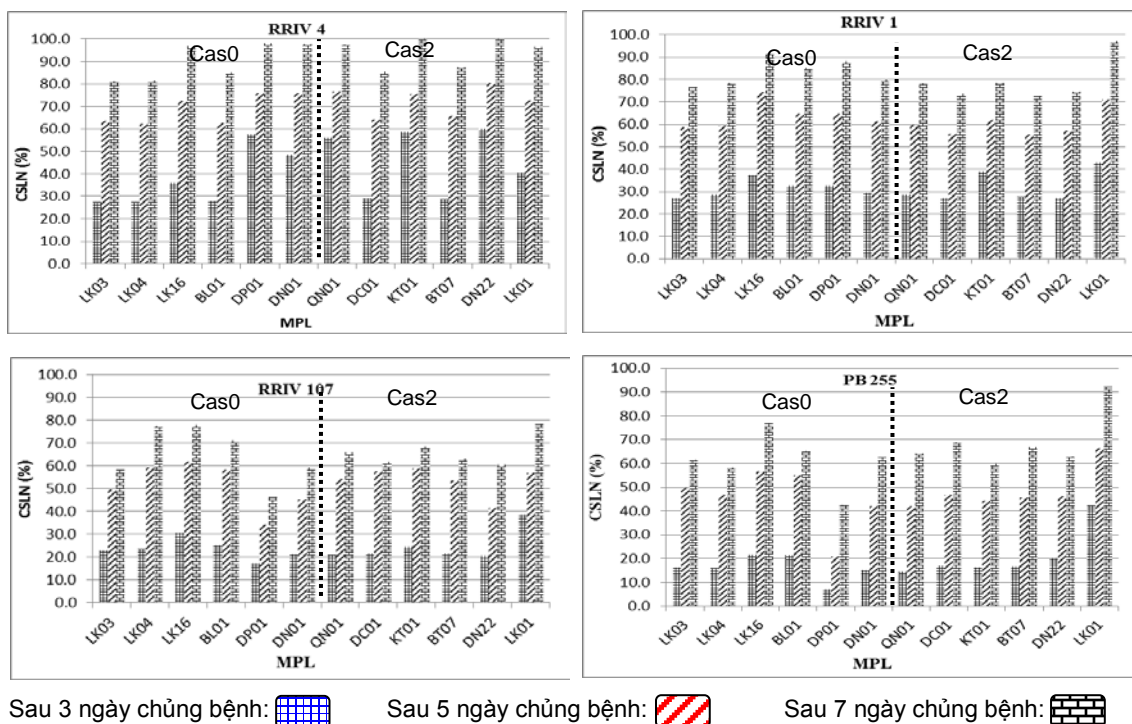
CSLN (%)	Đánh giá tính độc
0	Không độc
< 20	Tính độc rất thấp
20 - <40	Tính độc thấp
40 - <60	Tính độc trung bình
60 - <80	Tính độc cao
≥ 80	Tính độc rất cao

Xử lý số liệu: Số liệu về CSLN được chuyển đổi sang $\arcsin \sqrt{x}$ trước khi phân tích GLM (General Linear Model Analysis) bằng phần mềm SAS.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Cassiocolin là yếu tố quan trọng liên quan đến khả năng gây bệnh của nấm *C. cassiicola* (Bréton và cs., 2000). Để

đánh giá tính độc trên cây cao su của các MPL nấm *C. cassiicola* mang gen mã hóa cassiocolin, 12 MPL nấm trong đó 6 MPL mang gen Cas2 và 6 MPL chưa xác định được gen Cas (Cas0) đã được chủng bệnh trên 4 DVT cao su theo phương pháp chủng bệnh trên lá cắt rời. Kết quả chủng bệnh qua các lần quan trắc được trình bày tại Hình 1.



Hình 1. CSLN của các MPL nấm trên 4 DVT cao su sau 3, 5 và 7 ngày chủng bệnh

Tại thời điểm 3 ngày sau chủng, các MPL đều đã biểu hiện triệu chứng lây nhiễm trên 4 DVT, với CSLN từ 7,1 - 60%. Sau 7 ngày chủng bệnh, các MPL đều biểu hiện tính độc rất cao trên DVT RRIV 4, tính độc từ cao đến rất cao trên DVT RRIV 1, tính độc trung bình đến cao trên DVT RRIV 107, tính độc từ trung bình đến rất cao trên DVT PB 255. Trong đó, 2 MPL CoryLK03 và CoryDN01 biểu hiện tính độc trung bình trên DVT RRIV 107, 2 MPL CoryLK04

và CoryKT01 biểu hiện tính độc trung bình trên DVT PB 255, MPL CoryDP01 biểu hiện tính độc trung bình trên cả 2 DVT RRIV 107 và PB 255, các MPL còn lại đều biểu hiện tính độc cao đến rất cao trên các DVT thử nghiệm.

Kết quả phân tích biến lượng (GLM) cho thấy, có tương tác giữa hai yếu tố MPL và DVT lên CSLN của MPL ($p < 0,0001$). Điều này mang ý nghĩa, các MPL có tính độc khác nhau trên các DVT khác nhau. Do tác động tương tác nêu trên, nên tính

độc giữa các MPL được so sánh riêng trên từng DVT, tính độc trên các DVT được so sánh riêng ở từng MPL (Abebe, 2000).

So sánh tính độc của các MPL trên từng DVT, 4 MPL nhóm Cas2 (CoryQN01; CoryKT01; CoryDN22 và CoryLK01) và 3 MPL nhóm Cas0 (CoryLK16; CoryDP01 và CoryDN01) biểu hiện tính độc cao nhất trên DVT RRIV 4 với CSLN từ 96,4 - 100%. Một MPL nhóm Cas2 (CoryLK01) và 3 MPL nhóm Cas0 (CoryLK16; CoryBL01 và CoryDP01) biểu hiện tính độc cao nhất trên DVT RRIV 1 với CSLN từ 85,3 - 97,1%. Bốn MPL nhóm Cas2 (CoryQN01; CoryKT01; CoryBT07 và CoryLK01) và 3 MPL nhóm Cas0 (CoryLK04; CoryLK16 và CoryBL01) biểu hiện tính độc cao nhất trên DVT RRIV 107 với CSLN từ 63,3 - 78,4%. Chỉ có 1 MPL nhóm Cas2 (CoryLK01) biểu hiện tính độc cao nhất trên DVT PB 255 với CSLN là 92,2%. Mặc dù có sự khác biệt về tính độc giữa các MPL trên cùng DVT, nhưng không thấy sự tách nhóm rõ ràng về tính độc giữa các MPL nhóm

Cas2 và Cas0. Nhìn chung, trong các MPL thử nghiệm, MPL CoryLK01 biểu hiện tính độc cao nhất trên cả 4 DVT.

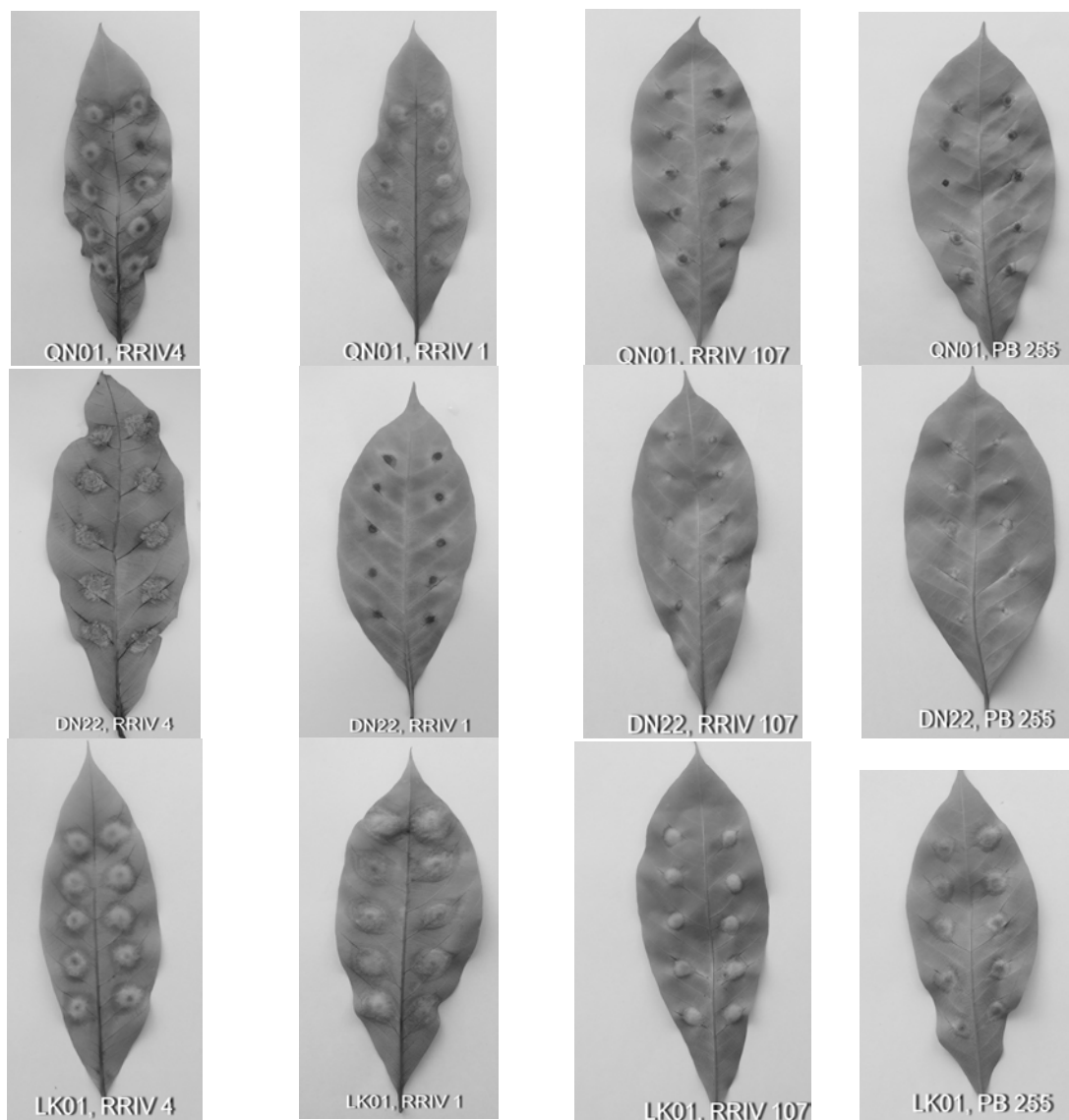
So sánh tính độc của từng MPL trên các DVT khác nhau. Một số MPL có sự khác biệt khá rõ rệt về tính độc trên các DVT khác nhau. MPL CoryLK04 biểu hiện tính độc cao nhất trên 3 DVT RRIV 4 (81,8%); RRIV 1 (78,4%) và RRIV 107 (77,6%), tính độc thấp nhất trên DVT PB 255 (58,4%). MPL CoryDP01 biểu hiện tính độc cao nhất trên 2 DVT RRIV 4 (98,0%) và RRIV 1 (88,2%), tính độc thấp nhất trên 2 DVT RRIV 107 (46,2%) và PB 255 (42,4%). MPL CoryQN01 biểu hiện tính độc cao nhất trên DVT RRIV 4 (97,3%), tính độc thấp nhất trên 3 DVT RRIV1 (78,2%); RRIV 107 (66,0%) và PB 255 (64,2%). MPL CoryDN22 biểu hiện tính độc cao nhất trên DVT RRIV 4 (100%), tính độc thấp nhất trên 2 DVT RRIV 107 (60,7%) và PB 255 (62,7%). Nhìn chung, các MPL đều biểu hiện tính độc cao nhất trên DVT RRIV4. Điều này cho thấy DVT RRIV 4 có tính miễn cảm cao nhất trong các DVT thử nghiệm.

Bảng 4. Chỉ số lây nhiễm của các nghiệm thức sau 7 ngày chủng bệnh

MPL	Gen Cas	CSLN của các MPL trên 4 DVT				CSLN trung bình theo MPL
		RRIV 4	RRIV 1	RRIV 107	PB 255	
CoryLK03	0	81,3 ^c	76,4 ^{bc}	58,2 ^{bc}	61,6 ^{bc}	69,4 ^d
CoryLK04	0	81,8 ^c	78,4 ^{bc}	77,6 ^a	58,4 ^{bc}	74,1 ^{cd}
CoryLK16	0	96,9 ^{ab}	91,8 ^{ab}	78,0 ^a	76,7 ^b	85,8 ^{ab}
CoryBL01	0	85,1 ^{bc}	85,3 ^{abc}	71,3 ^{ab}	65,1 ^{bc}	76,7 ^{cd}
CoryDP01	0	98,0 ^a	88,2 ^{abc}	46,2 ^c	42,4 ^c	68,7 ^{cd}
CoryDN01	0	97,8 ^{ab}	80,0 ^{bc}	59,3 ^{bc}	62,4 ^{bc}	74,9 ^{cd}
CoryQN01	2	97,3 ^a	78,2 ^{bc}	66,0 ^{ab}	64,2 ^{bc}	76,4 ^{bcd}
CoryDC01	2	85,6 ^{bc}	73,8 ^c	62,0 ^{bc}	68,7 ^b	72,5 ^{cd}
CoryKT01	2	100 ^a	78,7 ^{bc}	68,7 ^{ab}	59,8 ^{bc}	76,8 ^{bc}
CoryBT07	2	87,8 ^{bc}	72,7 ^c	63,3 ^{abc}	66,9 ^b	72,7 ^{cd}
CoryDN22	2	100 ^a	74,7 ^c	60,7 ^{bc}	62,7 ^{bc}	74,5 ^{bcd}
CoryLK01	2	96,4 ^{abc}	97,1 ^a	78,4 ^a	92,2 ^a	91,1 ^a
CSLN trung bình theo DVT		92,3 ^A	81,3 ^B	65,8 ^C	65,1 ^C	

Chú thích (Bảng 4): So sánh tính độc của các MPL trên cùng DVT, các số liệu có cùng mẫu tự (in thường) trên cùng cột hoặc các số liệu ở cột sau cùng có cùng mẫu tự thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,01$.

So sánh tính độc của từng MPL trên các DVT khác nhau, các số liệu có cùng mẫu tự (in hoa) trên cùng hàng hoặc các số liệu ở hàng dưới cùng có cùng mẫu tự thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,05$.



Hình 2. Kết quả chủng bệnh của một số MPL mang gen Cas2 trên 4 DVT cao su

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Có sự tương tác giữa tính độc của mẫu phân lập nấm *Corynespora cassiicola* và dòng vô tính cao su dẫn đến sự khác

biệt về tính độc của các mẫu phân lập nấm *C. cassiicola* trên các dòng vô tính cao su trong nghiên cứu.

Các mẫu phân lập biểu hiện tính độc rất cao trên dòng vô tính RRIV 4, tính độc từ cao đến rất cao trên dòng vô tính RRIV 1,

tính độc trung bình đến cao trên dòng vô tính RRIV 107 và tính độc từ trung bình đến rất cao trên dòng vô tính PB 255.

Trong các mẫu phân lập, CoryLK01 biểu hiện tính độc cao nhất trên cả 4 dòng vô tính. Không có sự phân biệt rõ rệt về tính độc giữa các mẫu phân lập nhóm Cas2 và các mẫu phân lập nhóm Cas0 trên các dòng vô tính thử nghiệm.

4.2. Đề nghị

Tiến hành thêm các nghiên cứu về đa dạng di truyền gen Cas của nấm *C. cassiicola* tại Việt Nam. Thực hiện đánh giá tính độc trên cây cao su đối với những mẫu phân lập mang các dạng gen Cas tìm được.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abebe, A. (2000). Introduction to Design and Analysis of Experiments with the SAS System, Auburn University. Page 62. Pp. 187.
2. Breton, F., Sanier, C., and D'auzac, J. (2000). Role of cassiicolin, a host - selective toxin, in pathogenicity of *Corynespora cassiicola*, causal agent of a leaf fall disease of hevea. Journal of Rubber Research 3 (2): 115 - 128.
3. Déon, M., Fumanal, B., Gimenez, S., Bieysse, D., Olivera R.R., Shuib, S.S., Breton, F., Elumalai, S., Vida, J.B., Seguin, M., Leroy, T., Roeckel - Drevet, and Pujade - Renaud V. (2014). Diversity of the cassiicolin gene in *Corynespora cassiicola* and relation with the pathogenicity in *Hevea brasiliensis*. Fungal Biology 118(1): 32 - 47.
4. Farr, D.F., and Rossman, A.Y. (2019). Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Retrieved May 15, 2019, <URL:https://nt.ars - grin.gov/fungaldatabases/>.
5. Phạm Thị Ngọc Giàu (2017). Bước đầu đánh giá biểu hiện gen Cas của nấm *Corynespora cassiicola* gây bệnh rụng lá cao su dưới sự tương tác đối kháng với vi khuẩn kháng nấm. Luận văn Thạc sĩ chuyên ngành Vi sinh. Trường Đại học Khoa học Tự nhiên.
6. Nguyen Don Hieu, Nguyen Anh Nghia, Vu Thi Quynh Chi, and Phan Thanh Dung (2014). Genetic diversity and pathogenicity of *Corynespora cassiicola* isolates from rubber tree and other hosts in Vietnam. Journal of rubber research 73 (3): 187 - 203.
7. Văn Thị Mỹ Linh (2018). Phát hiện và mô tả các gen mã hoá cassiicolin trên các chủng *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei. phân lập tại Việt Nam. Luận văn Thạc sĩ chuyên ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia TP. HCM.
8. Lamotte, F.D., Duviau, M.P., Sanier, C., Thai, R., Poncet, J., Bieysse, D., Breton, F., and Pujade, R.V. (2007). Purification and characterization of cassiicolin, the toxin produced by *Corynespora cassiicola*, causal agent of the leaf fall disease of rubber tree. Journal of Chromatography 849: 357 - 362.
9. Nguyen Anh Nghia, Duong Ngoc Kieu Thi, and Phan Thanh Dung (2010). Ribosomal DNA ITS (rDNA ITS) sequencing and inter simple sequence repeat (ISSR) markers analyses of *Corynespora cassiicola* isolates from rubber plantations in Vietnam. In Proceeding of IRRDB International Rubber Conference 2010. 18 - 19 October Sanya, Hainan, China, pp. 246 - 260.
10. Prem, E., and Jacob, K. (2006). Disease intensity assessment of *Corynespora* leaf fall disease. In A laboratory manual for international training on strategies for management of *Corynespora* leaf fall disease of *Hevea brasiliensis* (Jacob C.K., Srinivas P. and Roy C.B.). Rubber Research Institute of India, Kottayam 686 009, India, pp. 25 - 26.
11. Qi, Y., Xie, Y., Zhang, X., Pu, Zhang, H., Huang, S. (2009). Molecular and Pathogenic Variation Identified Among Isolates of *Corynespora cassiicola*. Molecular Biotechnology. 41: 145 - 151.
12. Sharma, P.D. (2004). Plant Pathology. Rastogi Publications. Page 99. Pp. 469.

HIỆU QUẢ CỦA NẤM NỘI SINH ĐỐI VỚI BỆNH ĐÓM NÂU (*Bipolaris oryzae*) TRÊN LÚA

Nguyễn Thị Thanh Xuân, Lý Lan Phương

Trường Đại học An Giang

ABSTRACT

Efficiency of endophytic fungi against Brown spot disease (*Bipolaris oryzae*) of rice

Rice brown spot (*Bipolaris oryzae*) is a serious disease causing a yield loss. Six endophytic fungi isolated from wild rice were determined the infection into rice leaves and ability to inhibited *Bipolaris oryzae*. Twenty day old rice seedlings were inoculated endophytic fungi by spraying on leaves and then inoculated with *Bipolaris oryzae* 27 days after sowing (DAS). Leaf segments were collected at 24, 48, 72 hours after inoculation (HAI) and re-isolation was carried out 7 days after inoculation (DAI). Conidia of *Penicillium* sp. (S141) and *Cladosporium* sp (L111) germinated 24 HAI and *Penicillium* sp. (S321), *Aspergillus* sp.(L371), *Aspergillus* sp.(L251) germinated 48 HAI. Length of germ tube varied 9 -26 μm . The results were illustrated by re-isolation frequency of 40 % for *Penicillium* sp. (S321), 20- 22.5% for *Penicillium* sp. (S141), *Aspergillus* sp. (L251), *Cladosporium* sp (L111) and 10 % for *Epithyrium* sp (S241). All six endophytic fungi significantly reduced the disease severity and disease incidence and the efficiency were from 39% to 58%.

Keywords: Fungal endophyte, infection, rice leaves, *Bipolaris oryzae*.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh đốm nâu lúa (*Bipolaris oryzae*) là bệnh gây thiệt hại cho các vùng trồng lúa, bệnh làm tăng số hạt lép, giảm khối lượng hạt, ảnh hưởng tới năng suất, bệnh kéo dài tới cuối thời kì sinh trưởng có thể làm cây lúa cằn lại, trở kém hạt lép lên tới 60 - 70% (Đoàn Hương Sơn, 2015; Phạm Văn Kim, 2015). Kiểm soát bệnh chủ yếu bằng thuốc hóa học đã gây ô nhiễm môi trường ngày càng nghiêm trọng.

Trước tình hình đó các nhà khoa học trên thế giới đã chuyển sang nghiên cứu nấm nội sinh để phòng ngừa sâu bệnh hại nhằm giúp hạn chế việc khai thác cạn kiệt nguồn tài nguyên thực vật, làm mất sự đa dạng sinh học và đe dọa tuyệt chủng các loài cây, gây hậu quả xấu tới môi trường tự nhiên. Các nấm nội sinh có thể tạo ra một số thành phần có khả năng kích thích cây phát triển và thích nghi với môi trường (Das & Varma, 2009). Khi kết hợp với ký chủ nấm nội sinh có thể ảnh hưởng đến sự tăng khả năng kháng côn trùng, nấm và các điều kiện bất lợi như hạn hoặc ngập lụt, cải thiện năng suất (Bush &

Người phân biên: TS. Nguyễn Thị Phong Lan.

Wilkinson, 1997). Do đó, nấm nội sinh có tiềm năng như là một tác nhân trong kiểm soát sinh học và sẽ đóng vai trò quan trọng trong sinh thái nông nghiệp bền vững. Các nấm nội sinh có trong cây lúa và bắp, dâu tây có tiềm năng cho phòng trừ sinh học nấm bệnh và công trùng (Amatuzzi *et al.*, 2018; Boughalleb-M'Hamdi, Salem, & M'Hamdi, 2018; Potshangbam, Devi, Sahoo, & Strobel, 2017). Nấm nội sinh đã có khả năng ức chế với nấm bệnh *Bipolaris oryzae*, *Fusarium sp.*, *Nigrospora oryzae* (Nguyễn Kim Chi & Xuân, 2018) theo phương pháp đồng nuôi cấy trong đĩa petri. Trong nghiên cứu tiếp theo này nhằm đánh sự xâm nhập nấm nội sinh vào lá lúa và khả năng đối kháng với nấm bệnh *Bipolaris oryzae* gây bệnh trên lá lúa.

II. PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguồn nấm

Nguồn nấm nội sinh: 6 dòng nấm nội sinh từ cây lúa hoang được lưu trữ trong phòng thí nghiệm Trường Đại học An Giang gồm: nấm *Penicillium sp.* (S321), *Epithyrium sp.* (S241), *Penicillium sp.* (S141), *Aspergillus sp.* (L371), *Aspergillus sp.* (L251), *Cladosporium sp.* (L111) và nấm bệnh *Bipolaris oryzae*.

2.2. Chuẩn bị nấm nội sinh và nấm bệnh

Các nấm nội sinh và nấm bệnh được nuôi cấy trên đĩa petri, môi trường PDA (khoai tây 200g, đường 20 g, agar 26 g, nước cất 1000 ml) đặt trong điều kiện nhiệt độ phòng đến khi hình thành bào tử. Sau đó Cho 10 ml nước cất vô trùng vào đĩa cấy nấm đã hình thành bào tử, dùng

lam cạo nhẹ trên bề mặt môi trường. Lấy phần dung dịch lọc qua 2 lớp. Sử dụng lam đếm để xác định mật số và điều chỉnh về số về mật số 10^6 .

2.3. Chuẩn bị cây lúa

Giống lúa OM5451 được xử lý 54°C trong 15 phút, sau đó rửa sạch, ngâm 24 giờ, ủ trong 24 giờ. Sau đó gieo lúa vào hộp nhựa, mỗi hộp 15 hạt lúa. Bón phân theo công thức 100 - 46 - 36.

2.4. Chuẩn bị dung dịch tẩy

Dung dịch tẩy gồm ethanol (99%): axit acetic (99,5%) theo tỷ lệ 3:1 và thêm chất bám dính formaldehyde 0,01 % để giữ cho bào tử không bị trôi trong quá trình tẩy lá.

2.5. Bố trí thí nghiệm và thu thập số liệu

2.5.1. Khảo sát sự xâm nhập của 6 dòng nấm nội sinh trên lá lúa

Thí nghiệm được bố trí theo khối hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 7 nghiệm thức và 4 lặp lại gồm 6 nấm nội sinh và 1 đối chứng (nước cất), mỗi hộp gieo 15 hạt lúa đã nảy mầm. Chúng các nấm nội sinh 20 ngày sau khi gieo với mỗi hộp từ 10 - 12 ml bằng bình phun tay.

- Tại thời điểm 24, 48, 72 giờ sau khi chủng nấm nội sinh, cắt mẫu lá (5 - 6 cm) đặt vào đĩa petri đã có chứa dung dịch tẩy. Sau khi lá đã được tẩy sạch màu xanh, quan sát sự nảy mầm, đo chiều dài ống mầm, chụp hình bằng chương trình LAS với kính hiển vi Leica 3000 M.

- Mỗi nghiệm thức chọn 2 cây, cắt lá thành những miếng nhỏ khoảng 1 cm khử trùng mẫu lá bằng NaOCl 1% trong 2 phút sau đó rửa lại bằng nước cất đã thanh

trùng 2 lần, làm khô mẫu bằng giấy thấm vô trùng trong tủ cấy và đặt vào đĩa petri đã có môi trường PDA.

Tỉ lệ xâm nhập của nấm nội sinh (%) = Số mẫu phát triển nấm/Tổng số mẫu) x 100

2.5.2. Xác định khả năng ức chế của nấm nội sinh với nấm bệnh đốm nâu (*Bipolaris oryzae*)

Chủng các nấm nội sinh vào 20 ngày sau khi gieo với mỗi hộp từ 10 - 12 ml sử dụng bình phun tay. 7 ngày sau khi chủng nấm nội sinh, tiến hành chủng nấm bệnh đốm nâu lên cây lúa mỗi hộp khoảng 10 - 12 ml với mật số 10^6 bào tử/ml. Ủ bệnh 48 giờ trong điều kiện ẩm độ cao trên 90%.

Thu thập số liệu: Đo chiều cao cây tại những thời điểm trước khi chủng nấm nội sinh, 7 và 14 ngày sau khi chủng nấm nội sinh (NSCNS).

Đánh giá bệnh trên lá lúa 7 và 14 ngày sau khi chủng nấm bệnh:

▪ Tỷ lệ bệnh (%) = (Số lá bệnh/Tổng lá điều tra) x 100

▪ Chỉ số bệnh: Trung bình chỉ số bệnh của 3 lá trên cùng tại thời điểm lá chủng bệnh.

▪ Phần trăm giảm bệnh: $Z (\%) = \frac{\text{Chỉ số bệnh của nghiệm thức đối chứng} - \text{Chỉ số bệnh của nghiệm thức có xử lý nấm nội sinh}}{\text{Chỉ số bệnh của nghiệm thức đối chứng}} \times 100$

2.6. Phân tích số liệu

Xử lý bằng chương trình Excel nhập số liệu, sử dụng phần mềm SPSS 20.0 phân tích phương sai (ANOVA) và Duncan để so sánh sự khác biệt các nghiệm thức. Các số liệu % được biến đổi $\log x$ hoặc \sqrt{x} .

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khả năng xâm nhập của 6 dòng nấm nội sinh trên lá lúa

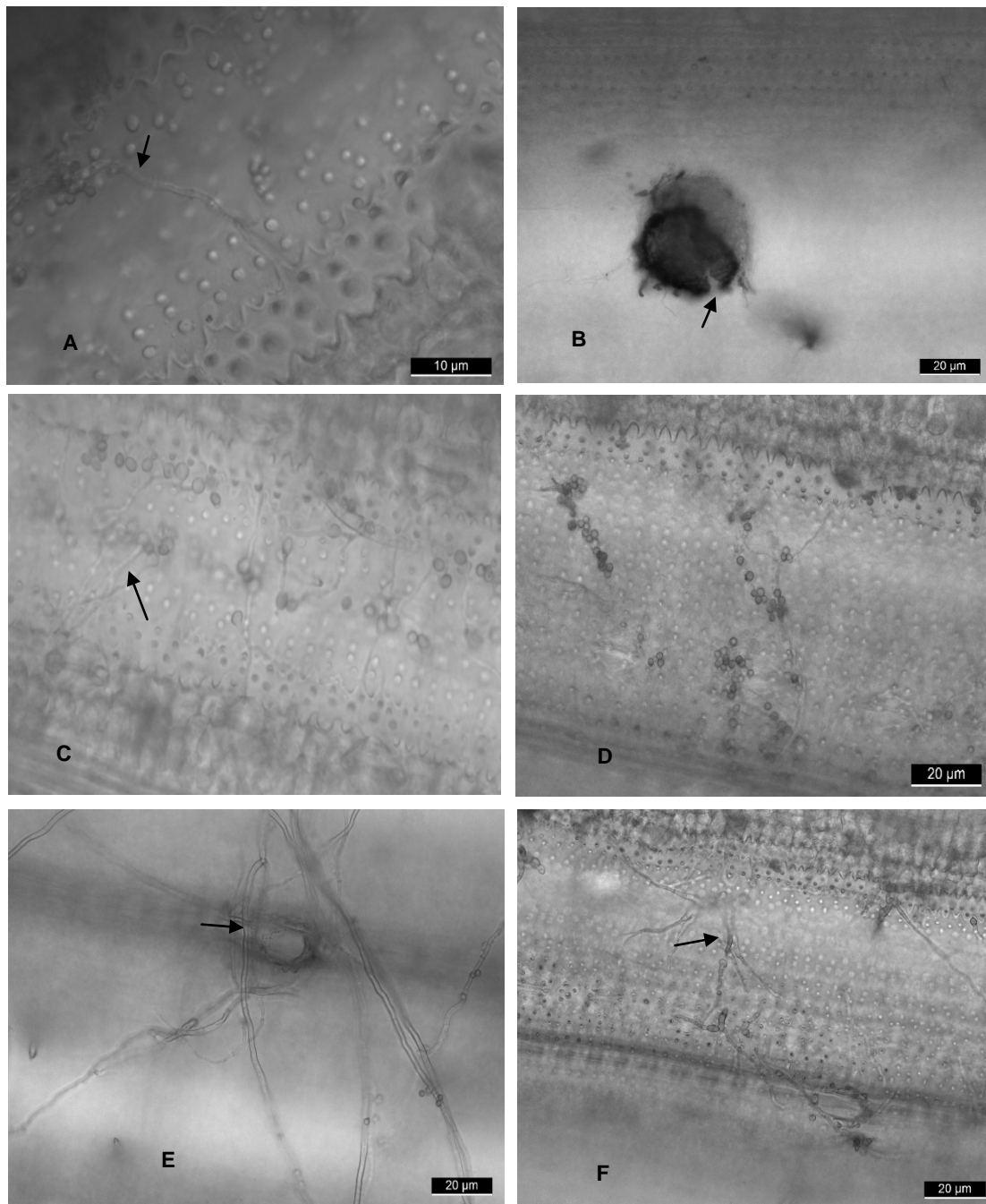
Ở thời điểm 48 giờ hầu hết các nấm nội sinh đều nảy mầm biến động từ 8,5 đến 67,3% và chiều dài ống mầm từ 9,3 đến 26,4 μm . Không quan sát được nấm *Epithyrium* sp. (S241) nảy mầm lúc 48 giờ sau khi chủng (Bảng 1 và Hình 1).

Tỷ lệ xâm nhập của nấm nội sinh cao nhất ở S321 là 40%, hai chủng *Epithyrium* sp. (S241) và *Aspergillus* sp. (L371) tỉ lệ xâm nhập vào lá lúa thấp nhất 10% (Bảng 1).

Bảng 1. Tỷ lệ nảy mầm, chiều dài ống mầm và tỉ lệ xâm nhập của các chủng nấm nội sinh trên lá lúa

Nghiệm thức	Tỉ lệ nảy mầm (%) *	Chiều dài ống mầm (μm) *	Tỷ lệ xâm nhập (%) **	
<i>Penicillium</i> sp. (S321)	44,19	20,28 \pm 7.03	40,0	c
<i>Epithyrium</i> sp. (S241)	0	0	10,0	a
<i>Penicillium</i> sp. (S141)	53,16	11,72 \pm 4.88	20,0	b
<i>Aspergillus</i> sp. (L371)	8,54	9,25 \pm 7.78	10,0	a
<i>Aspergillus</i> sp. (L251)	21,67	26,35 \pm 9.57	22,5	b
<i>Cladosporium</i> sp. (L111)	67,32	10,78 \pm 8.28	22,5	b

Chú thích: *: 48 giờ sau chủng nấm nội sinh, **: 7 ngày sau chủng nấm nội sinh.



Hình 1. Sự phát triển của nấm nội sinh chùng lên lá lúa:

A. Nấm *Penicillium* sp. (S321) ống mầm phát triển 48 giờ, B. Nấm *Epithyrium* sp. (S241) quả thể bắt đầu mở ra ở 48 giờ, C. Nấm *Penicillium* sp.(S141) ống mầm phát triển 48 giờ, D. *Aspergillus* sp. (L371) sợi nấm phát triển trên bề mặt lá 72 giờ, E. *Aspergillus* sp. (L251) sợi nấm phát triển trên bề mặt lá 72 giờ, F. *Cladosporium* sp. (L111) ống mầm phát triển dài 72 giờ.

3.2. Khả năng ức chế của nấm nội sinh với nấm bệnh đốm nâu (*Bipolaris oryzae*)

khác biệt ý nghĩa 1%. Nghiệm thức *Cladosporium* sp. (L111) cao hơn so với các nghiệm thức còn lại.

3.2.1. Ảnh hưởng nấm nội sinh lên chiều cao cây lúa

Chiều cao cây lúa 7 ngày sau khi chủng nấm nội sinh (NSCNNS) biến thiên từ 34,7 cm đến 41 cm (Bảng 2) và có sự

Chiều cao cây lúa 14 ngày sau khi chủng nấm nội sinh, đồng thời là 7 NSCNB biến thiên từ 42,7 cm đến 45,8 cm và không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê (Bảng 2).

Bảng 2. Ảnh hưởng của nấm nội sinh và nấm bệnh lên chiều cao (cm) cây lúa trước khi chủng nấm nội sinh, 7 và 14 ngày sau khi chủng nấm nội sinh

Nghiệm thức	Trước CNNS	7 NSCNNS	14 NSCNNS
<i>Penicillium</i> sp. (S321)	26,8	37,2	45,3
<i>Epithyrium</i> sp. (S241)	26,5	36,5	43,3
<i>Penicillium</i> sp. (S141)	26,0	37,9	44,8
<i>Aspergillus</i> sp.(L371)	26,1	34,7	44,3
<i>Aspergillus</i> sp. (L251)	26,8	38,3	44,5
<i>Cladosporium</i> sp. (L111)	27,4	41,0	45,8
ĐC (Nước cất)	25,6	35,5	45,3
Mức ý nghĩa	ns	**	ns
CV%	4,5	5,3	3,3

3.2.2. Tỷ lệ bệnh

Bảng 3. Ảnh hưởng của nấm nội sinh lên tỷ lệ bệnh đốm nâu, 7 và 14 NSCNB

Nghiệm thức	7 NSCNB	14 NSCNB
<i>Penicillium</i> sp. (S321)	78,00	81,66
<i>Epithyrium</i> sp. (S241)	81,34	84,33
<i>Penicillium</i> sp. (S141)	85,00	86,09
<i>Aspergillus</i> sp.(L371)	83,04	90,12
<i>Aspergillus</i> sp. (L251)	79,00	82,77
<i>Cladosporium</i> sp. (L111)	76,50	85,36
ĐC (Nước cất)	89,09	92,65
Mức ý nghĩa	**	*
CV%	5,28	4,86

Tỷ lệ bệnh 7 NSCNB biến động từ 76,50% đến 89,09%. Tỷ lệ bệnh ở nghiệm thức đối chứng cao nhất là 89,09% và thấp nhất ở *Penicillium* sp. (S321): 78,00%.

Tỷ lệ bệnh 14 NSCNB biến động từ 81,66% đến 92,65%. Tỷ lệ bệnh trung bình ở 7 nghiệm thức chiếm 86,14%. Tỷ lệ bệnh ở nghiệm thức đối chứng là 92,65%, thấp nhất ở nghiệm thức *Penicillium* sp. (S321): 81,66%.

3.2.3. Chỉ số bệnh

Chỉ số bệnh ở 7 ngày sau khi chủng nấm bệnh ở 7 nghiệm thức có sự khác biệt ý nghĩa thống kê 5%. Chỉ số bệnh trung bình biến thiên từ 3,66% đến 8,82%. Chỉ số bệnh cao nhất ở nghiệm thức ĐC:

8,82%, thấp nhất ở nghiệm thức *Penicillium* sp. (S321) là 3,66%. Hiệu quả giảm bệnh 7 ngày sau khi chủng biến thiên từ 38,81% đến 58,09%. Ở nghiệm thức *Penicillium* sp. (S321): 58,1% cao nhất, thấp nhất là nấm *Epithyrium* sp. (S241): 38,81% (Bảng 4).

Bảng 4. Ảnh hưởng của nấm nội sinh lên chỉ số bệnh và hiệu quả giảm bệnh đốm nâu lúa

Nghiệm thức	Chỉ số bệnh				Hiệu quả giảm bệnh			
	7 NSCNB		14 NSCNB		7 NSCNB		14 NSCNB	
<i>Penicillium</i> sp. (S321)	3,66	a	16,2	a	58,1	c	29,2	b
<i>Epithyrium</i> sp. (S241)	5,43	b	16,2	a	38,8	b	29,4	b
<i>Penicillium</i> sp. (S141)	4,25	ab	15,2	a	52,0	bc	34,3	b
<i>Aspergillus</i> sp. (L371)	5,13	ab	13,9	a	41,7	bc	39,2	b
<i>Aspergillus</i> sp. (L251)	3,93	ab	15,9	a	55,9	c	30,7	b
<i>Cladosporium</i> sp. (L111)	4,01	ab	16,7	a	54,8	bc	27,2	b
ĐC (Nước cất)	8,82	c	23,0	b	0	a	0	a
Mức ý nghĩa	**		**		**		**	
CV%	9,37		5,52		12,44		20,41	

Chỉ số bệnh 14 ngày sau khi chủng nấm bệnh biến thiên từ 13,94% đến 23,02%. Ở nghiệm thức ĐC chỉ số bệnh cao hơn các nấm nội sinh khác. Phần trăm giảm bệnh so với đối chứng giảm và biến thiên từ 27,17 % đến 39,17 % và không khác biệt giữa các nấm nội sinh.

* Thảo luận

Các nấm nội sinh có khả năng ảnh hưởng đến sinh trưởng của cây lúa về chiều cao, trọng lượng khô, trọng lượng tươi đã được báo cáo bởi Priyadarshani (2018). Nghiên cứu của Trương Kiều Mi (2017) nấm Endophytes có tiềm năng đối kháng với nấm bệnh đạo ôn cao nhất là *Cladosporium* sp. và *Aspergillus* sp. (2). Mặt khác theo nghiên cứu Sempere & Santamarina (2008) một số nấm

Penicillium có khả năng đối kháng với mầm bệnh trên thực vật dựa vào khả năng tạo ra các hợp chất kháng sinh. Nấm *Penicillium* sp. (S321) và *Aspergillus* sp. (L251) trong nghiên cứu này thể hiện khả năng đối kháng cao với nấm bệnh đốm nâu. Theo nghiên cứu của Ullah (2011) *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* và *Penicillium capsulatum* làm giảm sự phát triển khuẩn lạc và giảm chỉ số bệnh với *M. Phaseolina* (Ullah, 2011).

IV. KẾT LUẬN

Các nấm nội sinh bắt đầu nảy sau khi chủng vào: Dòng nấm *Cladosporium* sp. (L111) và *Penicillium* sp. (S141) có tỷ lệ nảy mầm cao hơn các nấm khác trên lá lúa 24 và 48 giờ sau chủng.

Chiều dài ống mầm tại thời điểm 48 giờ ở *Penicillium* sp. (S321): 20,28 μ m dài hơn so với các nấm nội sinh còn lại.

Nấm nội sinh *Penicillium* sp. (S321), *Epithyrium* sp. (S241), *Aspergillus* sp. (L251) và *Cladosporium* sp. (L111) có tỷ lệ bệnh khác biệt với đối chứng 7 ngày sau khi chủng nấm bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Amatuzzi, R., Cardoso, N., Poltronieri, A., Poitevin, C., Dalzoto, P., Zawadeneak, M., & Pimentel, I. (2018). Potential of endophytic fungi as biocontrol agents of *Duponchelia fovealis* (Zeller) (Lepidoptera: Crambidae). *Brazilian Journal of Biology*, 78(3), 429 - 435.
- Boughalleb-M'Hamdi, N., Salem, I. B., & M'Hamdi, M. (2018). Evaluation of the efficiency of *Trichoderma*, *Penicillium*, and *Aspergillus* species as biological control agents against four soil-borne fungi of melon and watermelon. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28(1), 25.
- Bush, LP., & Wilkinson, HH. (1997). Bioprotective alkaloids of grass-fungal endophyte symbioses. *Plant Physiology*, 114, 1.
- Das A., & Varma A. (2009). Symbiosis the art of living in Symbiotic Fungi. *Springer*, 1 - 28.
- Devlin Kuyek. (2000). Biotech and big business implications of crop cooperative strategies on rice research in ASLA - August. *Blast*, 58 - 67.
- Phạm Văn Kim (2015). *Các bệnh hại lúa quan trọng ở Đồng bằng sông Cửu Long*. NXB Nông nghiệp.
- Potshangbam, M., Devi, S. I., Sahoo, D., & Strobel, G. A. (2017). Functional characterization of endophytic fungal community associated with *Oryza sativa* L. and *Zea mays* L. *Frontiers in microbiology*, 8, 325.
- Sempere, F., & Santamarina, MP. (2008). Suppression of *Nigrospora oryzae* (Berk & Broome) Petch by an aggressive mycoparasite and competitor, *Penicilliumoxalicum* Currie & Thom. *International Journal of Food Microbiology*, 122, 35 - 43.
- Trương Kiều Mi (2017). *Ảnh hưởng của 5 loài nấm nội sinh trong cây lúa hoang lên sự phát triển mầm lúa và bệnh đạo ôn (Pyricularia oryzae) trên lúa*. Bài viết được trình bày tại Hội thảo Quốc gia Bệnh hại Thực vật Việt Nam, Đà Nẵng, Việt Nam.

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG KIỂM SOÁT TUYẾN TRÙNG *Meloidogyne javanica* KÝ SINH HỒ TIÊU CỦA NẤM *Paecilomyces lilacinus* VÀ *Trichoderma harzianum*

Phạm Thị Diệp¹, Nguyễn Thanh Phong¹, Nguyễn Vũ Phong²

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

²Bộ môn Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh

ABSTRACT

The study aims to determine the efficacy of two fungi *Paecilomyces lilacinus* PN02 and *Trichoderma harzianum* PN05 in the control of root - knot nematode *Meloidogyne javanica* parasite of black pepper Vinh Linh cultivar in net house condition. The nematode is isolated from the rhizospheric zones of black pepper vines and the species identification based on the perineal pattern. The ability to control the nematode of two fungi was investigated by singly and combined treatment by two methods. Results showed that *Meloidogyne javanica* parasite on black pepper in Bu Dang and Bu Dop districts in Binh Phuoc province. After 60 days of inoculation, the growth of cuttings has not been affected by nematodes. When treated single or mixing of two fungi, more than 60% of nematode density was reduced compared to control. Research results could be applied in biological control the root - knot nematodes.

Keywords: Biological control, black pepper, *Meloidogyne javanica*, *Paecilomyces lilacinus* PN02, *Trichoderma harzianum* PN05.

I. GIỚI THIỆU

Hồ tiêu (*Piper nigrum* L.) là loại cây công nghiệp nhiệt đới có giá trị kinh tế cao, một trong những nông sản xuất khẩu chủ lực của Việt Nam. Hồ tiêu được sử dụng nhiều trong đời sống con người như làm gia vị thức ăn, dược liệu, hương liệu, trừ côn trùng... Hiện nay, hồ tiêu đang đối mặt với nhiều tác nhân gây hại ảnh hưởng nghiêm trọng đến chất lượng và năng suất. Bên cạnh nấm, vi khuẩn, virus thì tuyến trùng ký sinh thực vật (nhóm tuyến trùng sung rễ) là tác nhân gây thiệt hại nghiêm trọng trên hồ tiêu. Tuyến trùng sung rễ

(*Meloidogyne*) ký sinh rễ non gây bướu rễ dẫn đến việc hấp thu dinh dưỡng kém làm cây suy yếu, các vết thương tạo ra trong quá trình ký sinh mở đường cho nhiều tác nhân gây hại xâm nhập gây bệnh như *Fusarium* spp. và *Phytophthora* spp.

Biện pháp hóa học được sử dụng phổ biến để phòng trừ tuyến trùng, tuy nhiên đối với nhóm nội ký sinh cố định như tuyến trùng *Meloidogyne* thì hiệu quả khá thấp. Thời gian gần đây, có nhiều nghiên cứu chứng minh biện pháp này để lại dư lượng thuốc BVTV trên sản phẩm, gây ảnh hưởng xấu đến sức khỏe con người cũng như môi trường sinh thái. Do đó, xu hướng quay trở lại nền nông nghiệp

Người phân biên: TS. Võ Thị Thu Oanh.

hữu cơ với việc tăng cường sử dụng các loại chế phẩm sinh học hiện đang là xu hướng chung và lâu dài của toàn cầu. Trong các tác nhân kiểm soát sinh học thì nấm *Trichoderma harzianum*, nấm *Paecilomyces lilacinus* được phân lập từ nốt sùng rễ và đất bị nhiễm tuyến trùng có khả năng ký sinh trứng và ấu trùng tuổi 2 (Jatala và *ctv.*, 1979). Những loại nấm này có thể vừa sống hoại sinh trong đất, vừa ký sinh côn trùng vừa ký sinh tuyến trùng, đang được ứng dụng nhiều trong phòng trị tuyến trùng sùng rễ. Khả năng kiểm soát tuyến trùng ngoài đồng ruộng cũng được thực hiện với nhiều kết quả khả quan (Mukhtar và *ctv.*, 2013).

Ở Việt Nam chưa có nhiều công bố ứng dụng *P. lilacinus* và *T. harzianum* trong kiểm soát tuyến trùng gây hại cây trồng. Trong nghiên cứu này hiệu quả kiểm soát tuyến trùng *M. javanica* ký sinh cây hồ tiêu trong điều kiện nhà lưới của hai loài nấm *P. lilacinus* và *T. harzianum* bản địa được trình bày.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Định danh tuyến trùng sùng rễ ký sinh hồ tiêu

Nguồn tuyến trùng sùng rễ *Meloidogyne* spp. được thu thập từ vườn hồ tiêu ở hai huyện Bù Đốp, Bù Đăng, tỉnh Bình Phước. Mẫu đất và rễ được thu ở độ sâu từ 5 - 15 cm xung quanh vùng rễ của trụ hồ tiêu bị vàng lá, còi cọc. Tiếp theo, trồng cây cà chua 15 ngày tuổi (giống Phú Nông 209) vào mẫu đất đã thu thập để nhân nguồn tuyến trùng. Sau 4 tuần, tách từng bọc trứng đặt vào đĩa Petri

chứa 2 ml nước cất vô trùng, phá vỡ lớp vỏ gelatin giải phóng trứng khỏi bọc trứng. Sau 5 ngày, hút nước chứa tuyến trùng J2 lây nhiễm trên cây cà chua 15 ngày tuổi trồng trong chậu nhựa 20 cm × 30 cm. Sau 21 ngày tách lấy 10 con cái trưởng thành của mỗi dòng tuyến trùng. Cắt và quan sát vùng vân sinh môn dưới kính hiển vi, định danh bằng cách so sánh với miêu tả của Esienback, 1985.

2.2. Chuẩn bị tuyến trùng tuổi 2

Rễ cà chua 56 ngày sau lây nhiễm tuyến trùng được sạch rửa với nước máy và cắt nhỏ thành từng đoạn 1 - 2 cm. Ngâm rễ trong nước chứa 0,7% (v/v) dung dịch Javel trong 3 phút. Lọc phần nước qua các rây lọc và thu trứng ở rây lọc 25 µm. Tiếp tục ngâm trứng trong dung dịch chứa 0,7% (v/v) Javel ngâm trong 10 phút. Sau đó, rửa trứng với nước cất và ủ trứng trong nước cất chứa kháng sinh trong 4 ngày, trong tối ở nhiệt độ phòng. Tuyến trùng tuổi 2 được thu và đếm dưới kính lúp. Chuẩn bị mật số 1000 J2/mL sử dụng cho thí nghiệm.

2.3. Chuẩn bị nguồn nấm thí nghiệm

Hai dòng nấm *P. lilacinus* PT02 và *T. harzianum* CT02 sử dụng trong nghiên cứu được cung cấp bởi Phòng Thí nghiệm Sinh học tích hợp thực vật (PIB), Bộ môn Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh. Nấm được nhân nguồn sơ cấp trên môi trường PDA. Sau 7 ngày, nấm được tiếp tục nhân nuôi trong túi PE chịu nhiệt với kích thước 20 × 40 cm với cơ chất là bắp vỡ hoặc thóc (500 g), peptone (0,5 g), nước (275 ml), nước (250 ml) được hấp khử trùng trong

30 phút ở 121°C, 1 atm. Sau 10 ngày, nghiền sinh khối và kiểm tra số lượng bào tử bằng buồng đếm hồng cầu Neubauer. Sau đó điều chỉnh mật số bào tử đạt $1.10^7/g$ cơ chất sử dụng cho thí nghiệm.

2.4. Đánh giá khả năng kiểm soát tuyến trùng của nấm *P. lilacinus* và *T. harzianum* điều kiện nhà lưới

Thí nghiệm được tiến hành từ tháng 9/2018 tại Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên đơn yếu tố gồm 8 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức gồm 15 chậu nhựa kích thước 10 × 16 cm, chứa 3 kg giá thể bao gồm đất:cát:phân chuồng hoai (1:1:1) đã hấp khử trùng. Hai hom hồ tiêu giống Vĩnh Linh được giâm trong chậu. Sau khi giâm 2 tháng tuổi, tiến hành lây nhiễm 5000 J2/chậu. Ba gram sinh khối nấm *P. lilacinus* (ký hiệu PL) hay *T. harzianum* (TH) đơn lẻ hay hỗn hợp hai loại nấm (PT) với mật số 1.10^7 bào tử/g được hòa trong 100 mL nước tưới vào chậu giâm ngay sau khi lây nhiễm tuyến trùng (1 lần) hay thêm 1 đợt vào 30 ngày sau lây nhiễm tuyến trùng (2 lần).

2.5. Theo dõi và phân tích số liệu

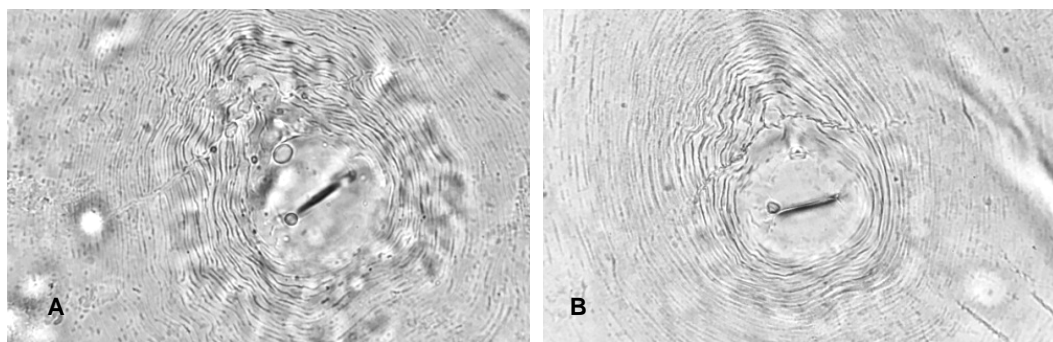
Theo dõi và ghi nhận chiều cao cây (cm), số lá 15 ngày một lần sau lây nhiễm tuyến trùng. Các chỉ tiêu gồm chiều dài rễ (cm), khối lượng rễ tươi (gram), khối lượng thân lá (gram), số nốt sùng, số bọc trứng, mật số con cái, được ghi nhận ở 60 NSLN tuyến trùng. Hiệu quả kiểm soát tuyến trùng được xác định nhờ vào hệ số sinh sản (R_f) theo Zhang và Schmitt (1994) là tỉ số của số lượng tuyến trùng sau 60 NSLN và số lượng tuyến trùng sử dụng lây nhiễm.

Các số liệu được phân tích thống kê ANOVA và trắc nghiệm phân hạng (nếu cần) bằng Tukey HSD Test.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm hình thái vân sinh môn loài tuyến trùng sùng rễ ký sinh hồ tiêu

Từ mẫu đất và rễ hồ tiêu thu thập tại hai huyện Bù Đốp, Bù Đăng (Bình Phước) đã phân lập được 17 dòng từ huyện Bù Đăng và 20 dòng từ huyện Bù Đốp, Bình Phước. Kết quả định danh dựa vào hình thái vân sinh môn con cái cho thấy tuyến trùng phân lập là loài *Meloidogyne javanica* (Hình 1).



Hình 1. Hình dạng vân sinh môn con cái tuyến trùng phân lập từ huyện Bù Đốp (A), Bù Đăng (B) tỉnh Bình Phước

3.2. Sinh trưởng của hom hồ tiêu ở 60 NSLN tuyến trùng

Chiều cao cây tiêu khi xử lý với nấm ở các thời điểm theo dõi không khác biệt so với 2 nghiệm thức đối chứng đạt từ 102 - 107 cm. Tương tự, động thái ra lá ở các nghiệm thức tương tự nhau. Ở thời điểm 60 NSLN, hom tiêu không lây nhiễm tuyến trùng có 24 lá, cao nhất so với các nghiệm thức còn lại, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa so với các nghiệm thức xử lý nấm (số liệu không trình bày). Khối lượng rễ tươi và khối lượng thân lá tươi

giữa các nghiệm thức không có khác biệt. Chiều dài rễ hồ tiêu khi xử lý với *P. lilacinus* 2 lần (PL-2) là lớn nhất (44 cm) khác biệt so với PL-1, TH-1, TH-2, ĐC (+) nhưng không khác biệt so với cây không lây nhiễm tuyến trùng hoặc cây được xử lý bởi hỗn hợp 2 loại nấm (PT-1, PT-2) (Bảng 1).

Như vậy, tuyến trùng *Meloidogyne javanica* không ảnh hưởng đến khối lượng rễ tươi, khối lượng thân tươi nhưng lại ảnh hưởng đến chiều dài rễ của cây hồ tiêu trong thí nghiệm (Hình 2).

Bảng 1. Chiều dài rễ, khối lượng thân lá tươi và rễ tươi cây hồ tiêu 60 NSLN

Nghiệm thức	Chiều dài rễ (cm)	Khối lượng rễ tươi (g)	Khối lượng thân lá tươi (g)
PL-1	37,7 ^c	8,26	38,4
PL-2	44,0 ^a	8,07	38,9
TH-1	37,1 ^c	8,76	36,3
TH-2	40,3 ^{bc}	8,41	38,9
PT-1	41,5 ^{ab}	8,51	39,1
PT-2	43,7 ^{ab}	8,40	39,9
ĐC(+)	37,7 ^c	8,06	36,1
ĐC(-)	43,6 ^{ab}	8,71	42,1
Mức ý nghĩa	**	ns	ns

Ghi chú: (ns): Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê; (**): Sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê. (PL-1) *P. lilacinus*, 1 lần; (PL-2): *P. lilacinus*, 2 lần; (TH-1): *T. harzianum*, 1 lần; (TH-2): *T. harzianum*, 2 lần; (PT-1): *P. lilacinus* + *T. harzianum*, 1 lần; (PT-2): *P. lilacinus* + *T. harzianum*, 2 lần; ĐC (+): Lây nhiễm tuyến trùng; ĐC (-): Không lây nhiễm tuyến trùng.



Hình 2. Bộ rễ cây hồ tiêu Vĩnh Linh 60 NSLN

(PL-1) *P. lilacinus*, 1 lần; (PL-2): *P. lilacinus*, 2 lần; (TH-1): *T. harzianum*, 1 lần; (TH-2): *T. harzianum*, 2 lần; (PT-1): *P. lilacinus* + *T. harzianum*, 1 lần; (PT-2): *P. lilacinus* + *T. harzianum*, 2 lần; ĐC (+): Lây nhiễm tuyến trùng; ĐC (-): Không lây nhiễm tuyến trùng

3.3. Khả năng kiểm soát tuyến trùng ký sinh hồ tiêu Vĩnh Linh của hai loại nấm trong điều kiện nhà lưới

Bảng 2. Mức độ ký sinh của tuyến trùng *M. javanica* ở giống hồ tiêu Vĩnh Linh ở 60 NSLN

Nghiệm thức	Số nốt sừng/g rễ	Số con cái/g rễ	Số bọ trứng/g rễ	Số tuyến trùng/g rễ	Số tuyến trùng/50 g đất	Rf	Đánh giá
PL-1	10,5 ^{bc}	12,1 ^{bc}	5,94 ^b	50,7 ^{ab}	196 ^b	2,83 ^b	++
PL-2	8,88 ^{cd}	12,0 ^{bc}	6,49 ^b	44,7 ^b	180 ^b	2,60 ^b	++
TH-1	11,6 ^b	15,0 ^b	6,61 ^b	53,1 ^a	207 ^b	3,00 ^b	++
TH-2	9,57 ^{bc}	13,9 ^{bc}	6,47 ^b	33,2 ^c	164 ^b	2,36 ^b	++
PT-1	8,64 ^{cd}	11,1 ^c	3,64 ^c	9,31 ^e	76 ^c	1,08 ^c	++
PT-2	6,53 ^d	11,8 ^{bc}	3,10 ^c	3,80 ^e	30 ^c	0,44 ^c	+++
ĐC (+)	14,1 ^a	20,2 ^a	8,51 ^a	21,4 ^d	569 ^a	8,01 ^a	-
Mức ý nghĩa	**	**	**	**	**	**	

Ghi chú: (**) Sự khác biệt ở mức 0,01; (++) Khả năng kiểm soát trung bình; (+++): Khả năng kiểm soát tốt. (PL-1) *P. lilacinus*, 1 lần; (PL-2): *P. lilacinus*, 2 lần; (TH-1): *T. harzianum*, 1 lần; (TH-2): *T. harzianum*, 2 lần; (PT-1): *P. lilacinus* + *T. harzianum*, 1 lần; (PT-2): *P. lilacinus* + *T. harzianum*, 2 lần; ĐC (+): Lây nhiễm tuyến trùng; ĐC (-): Không lây nhiễm tuyến trùng.

Kết quả thí nghiệm cho thấy giữa nghiệm thức xử lý nấm có sự khác biệt có ý nghĩa so với nghiệm thức không xử lý nấm (Bảng 2). Ở nghiệm thức sử dụng hai loại nấm xử lý 2 lần (PT-2) có số nốt sừng trung bình là 6,53/g rễ, số bọ trứng là 3,1/g rễ thấp nhất trong các nghiệm thức. Trong khi đó, nếu sử dụng hai loại nấm 1 lần ngay sau khi lây nhiễm tuyến trùng số con cái/g rễ là thấp nhất với 11 con cái/g rễ (PT-1).

Số tuyến trùng từ rễ khi xử lý 1 lần nấm BL hoặc TH (BL-1 và TH-1) khoảng 50 J2/g rễ, cao hơn nhiều lần so với khi xử lý 2 lần hỗn hợp hai loại nấm (3,80 J2/g rễ). Số tuyến trùng trong đất giảm thấp khi sử dụng hỗn hợp nấm xử lý 1 hay 2 lần (30 - 76 J2/50 g đất) so với sử dụng riêng lẻ 1 loại nấm (164 - 207 J2/50 g đất).

Hệ số sinh sản (Rf) được dùng để đánh giá khả năng kiểm soát tuyến trùng sùng rễ của hai loại nấm. Khi xử lý 1 hoặc

2 lần với từng loại nấm riêng lẻ đều có khả năng kìm hãm mật số tuyến trùng sinh ra tuy với mức độ thấp. Khi sử dụng hỗn hợp 2 loại nấm đã hạn chế tốt mật số tuyến trùng tạo ra, đặc biệt khi xử lý 2 đợt đã chứng minh hiệu quả hạn chế mật số tuyến trùng tạo ra (Rf = 0,44). Cần đánh giá ở mức độ đồng ruộng để có cơ sở khuyến cáo sử dụng hai loại nấm này như tác nhân kiểm soát sinh học trên cây hồ tiêu và các loại cây trồng khác.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Hai dòng nấm *P. lilacinus* PT02 và *T. harzianum* CT05 bản địa thu thập được có khả năng phòng trừ tuyến trùng sùng rễ *M. javanica* ký sinh trên cây hồ tiêu. Khi kết hợp cả hai loại nấm hiệu quả phòng trừ tuyến trùng tăng rõ rệt so với sử dụng riêng từng loại. Hai loại nấm này có triển vọng ứng dụng phòng trừ tuyến trùng sùng rễ trên cây hồ tiêu và trên các loại cây trồng khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. 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*, Vol. I, Biology and control, J. N. Sasser and C. C. Carter, eds., North Carolina State Univ. Graphics, Raleigh.
2. Jatala P., Tenback K.R., and M. Bocangel. 1979. Biological control of *Meloidogyne incognita* and *Globodera palliada* on potatoes, *Journal of Nematology* 11: 303.
3. Mukhtar, T., Arshad Hussain, M., & Zameer Kayani, M. (2013). Biocontrol potential of *Pasteuria penetrans*, *Pochonia chlamydosporia*, *Paecilomyces lilacinus* and *Trichoderma harzianum* against *Meloidogyne incognita* in okra. *Phytopathologia Mediterranea*, pp. 66 - 76.
4. Zhang, F. and Schmitt, D P., 1994. Host Status of 32 plant species to *Meloidogyne konaensis*. *J. Nematol.*, 26:744 - 48.

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG PHÒNG TRỊ CỦA CÁC CHỦNG XẠ KHUẨN ĐỐI VỚI BỆNH VÀNG LÁ THỐI RỄ TRÊN CÂY CÓ MÚI DO NẤM *Fusarium solani* GÂY RA Ở ĐIỀU KIỆN NGOÀI ĐỒNG TẠI HUYỆN CHÂU THÀNH A, TỈNH HẬU GIANG

Nguyễn Cô Bằng¹, Nguyễn Trường Sơn²
Nguyễn Phú Dũng³ và Lê Minh Tường⁴

¹Học viên Cao học ngành Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ

²Chi cục Trồng trọt và Bảo vệ thực vật, tỉnh Kiên Giang

³Khoa Nông nghiệp và TNTN, Trường Đại học An Giang

⁴Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

ABSTRACT

Evaluation of biocontrol activity of Actinomyces isolates on rot root diseases of citrus caused by *Fusarium solani* in field conditions at Chau Thanh A district, Hau Giang province

The objective of the research was to screen actinomyces isolates have the ability of biological control of rot root diseases on citrus caused by Fusarium solani. Cellulase activity assay was tested on CMC medium with 5 replications in laboratory condition. The results found that LM6 and LM25 isolates have expressed the cellulolytic activity, with the cellulose lyses halo radius of 24.10 mm and 24.04 mm respectively at 9 days after testing. In field condition, the experiments arranged in a randomized complete design with 14 treatments and 5 replications. The results shown that LM6 and LM25 have ability to control rot root disease on citrus such as high root recovery of the disease and high ratio of branches recovery of the disease and was not significantly different with the chemical treatment. In addition, conidia concentration of F. solani in soil was low and was not significantly different with the chemical treatment.

Keywords: Actinomyces, cellulose, *Fusarium solani*, rot root disease on citrus.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây có múi là một trong những cây ăn quả đặc sản lâu đời ở Việt Nam bởi giá trị dinh dưỡng và hiệu quả kinh tế cao. Gần đây, diện tích nhóm cây có múi ở Đồng bằng sông Cửu Long không ngừng tăng,

nhiều vùng chuyên canh được hình thành ở các tỉnh Vĩnh Long, Đồng Tháp, Hậu Giang,... Đi đôi với phát triển diện tích thì dịch hại cũng xuất hiện ngày càng nhiều. Trong đó, bệnh vàng lá thối rễ đang bộc phát mạnh, làm nhiều vườn cây có múi bị chết, phải đốn bỏ, gây thiệt hại không ít đến sản xuất và thu nhập của nông dân. Tác động trực tiếp của đối tượng dịch hại

Người phân biên: TS. Nguyễn Đức Cường.

này trên cây có múi là gây tổn thương bộ rễ, làm cho cây bị suy kiệt, chậm phát triển, giảm dần năng suất, chất lượng trái kém và bị rụng sớm. Bệnh vàng lá thối rễ lây lan rất nhanh, làm giảm năng suất trái và gây chết cây hàng loạt. Đến nay, biện pháp sử dụng thuốc hóa học được bà con nông dân sử dụng chính trong việc phòng trừ bệnh. Tuy nhiên, biện pháp này có nhược điểm là mầm bệnh dễ trở nên kháng thuốc, ảnh hưởng tới môi trường và sức khỏe con người. Hiện nay, sử dụng vi sinh vật đối kháng trong đó có xạ khuẩn đã và đang là hướng đi mới trong việc quản lý bệnh hại cây trồng nói chung và quản lý bệnh hại cây có múi nói riêng. Bởi vì xạ khuẩn có khả năng tiết kháng sinh và các enzyme ngoại bào, kích kháng cây trồng, kích thích cây trồng phát triển, điều này rất thuận lợi cho việc phòng trị các tác nhân gây hại cây trồng (Lê Minh Tường và ctv., 2016),... Do đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm tìm ra chủng xạ khuẩn có khả năng quản lý bệnh vàng lá thối rễ trên cây có múi do nấm *Fusarium solani* gây ra, từ đó làm tiền đề cho những nghiên cứu sau nhằm tìm ra sản phẩm sinh học trong quản lý bệnh vàng lá thối rễ trên cây có múi nói riêng và bệnh hại có nguồn gốc từ đất nói chung.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thí nghiệm 1: Khảo sát khả năng phân giải cellulose của các chủng xạ khuẩn có triển vọng.

2.1.1. Mục tiêu

Tìm hiểu khả năng tiết enzyme cellulase phân giải cellulose của các chủng xạ khuẩn triển vọng.

2.1.2. Chuẩn bị nguồn xạ khuẩn

Sáu chủng xạ khuẩn BM6, BM7, LV74, BM3, LM6 và LM25 nhận được từ Bộ môn Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ. Theo Nguyễn Ngọc Sơn (2016), các chủng xạ khuẩn này có khả năng đối kháng cao với nấm *Fusarium solani* gây bệnh vàng lá thối rễ cây có múi trong điều kiện phòng thí nghiệm.

2.1.3. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 5 lần lặp lại, mỗi nghiệm thức là 1 chủng xạ khuẩn thí nghiệm.

2.1.4. Cách thực hiện

Các chủng xạ khuẩn được nuôi cấy trong đĩa Petri chứa môi trường MS trong 5 ngày. Sau đó dùng pipet hút nước cất đã thanh trùng cho vào đĩa và dùng lame cạo lấy huyền phù xạ khuẩn, đếm mật số huyền phù xạ khuẩn bằng phương pháp chà đĩa rồi đưa về mật số 10^8 cfu/ml. Chuẩn bị các khoanh giấy thấm với đường kính 5 mm đã thanh trùng đem tẩm trong huyền phù xạ khuẩn. Sau đó đặt các khoanh giấy thấm này lên đĩa Petri chứa môi trường CMC agar, mỗi đĩa đặt 3 điểm đặt đĩa ở nhiệt độ phòng.

2.1.5. Chỉ tiêu theo dõi

Bán kính vòng phân giải cellulose ở các thời điểm 3, 5, 7, 9 ngày sau thí nghiệm bằng phương pháp nhuộm với dung dịch thuốc thử lugol 1%.

2.2. Thí nghiệm 2: Đánh giá khả năng quản lý bệnh vàng lá thối rễ cây có múi do nấm *Fusarium solani* gây ra ở điều kiện ngoài đồng của các chủng xạ khuẩn có triển vọng.

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

- Địa điểm: Vườn cam Sành 7 năm tuổi tại nông hộ Nguyễn Văn Khôi ở xã Thạnh Xuân, huyện Châu Thành A, tỉnh Hậu Giang.

- Diện tích vườn: 3.000 m².

- Thời gian thí nghiệm: Từ tháng 3 đến tháng 7 năm 2018.

- Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 14 nghiệm thức, 5 lần lặp lại, mỗi lặp lại là một cây cam bị bệnh vàng lá, thối rễ cấp 3 và được bố trí như Bảng 1.

Bảng 1. Cách thức bố trí các lần xử lý xạ khuẩn đánh giá khả năng quản lý bệnh vàng lá, thối rễ trên cam ở điều kiện ngoài đồng

STT	Nghiệm thức	Lần xử lý			
		Lần 1	Lần 2	Lần 3	Lần 4
1	LM25-XL1	X			
2	LM25-XL2	X	X		
3	LM25-XL3	X		X	
4	LM25-XL4	X	X	X	
5	LM25-XL5	X	X		X
6	LM25-XL6	X	X	X	X
7	LM6-XL1	X			
8	LM6-XL2	X	X		
9	LM6-XL3	X		X	
10	LM6-XL4	X	X	X	
11	LM6-XL5	X	X		X
12	LM6-XL6	X	X	X	X
13	Thuốc	X	X	X	X
14	Đ/C	X	X	X	X

Ghi chú: Mỗi lần xử lý cách nhau 15 ngày kể từ lần xử lý đầu tiên. Nghiệm thức xử lý huyền phù xạ khuẩn với mật số 10⁸ cfu/ml. Đ/C: Là nghiệm thức đối chứng được xử lý bằng nước. Thuốc: Loại thuốc được sử dụng là Anvil 5SC.

2.2.2. Các bước thực hiện

* Chọn vườn làm thí nghiệm:

Vườn được chọn để làm thí nghiệm là vườn cam Sành 7 năm tuổi, đang bị thối rễ cấp 3 (rụng lá và cho lá nhỏ 1 - 2 cành, rễ thối tương ứng với cành bị bệnh) trong hệ thống phân cấp rễ bệnh 0 - 5 (cấp 0: không bệnh, cấp 5: cây chết hơn 50% số cành lớn) (Dương Minh và ctv., 2010).

* Chuẩn bị nguồn xạ khuẩn:

Hai chủng xạ khuẩn LM6 và LM25 được cung cấp từ Bộ môn Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ. Hai chủng xạ khuẩn trên vừa có khả năng đối kháng cao với nấm *Fusarium solani* gây bệnh vàng lá, thối rễ trên cây có múi trong điều kiện phòng thí nghiệm (Nguyễn Ngọc Sơn, 2016); vừa có khả năng tiết enzyme

chitinase và glucanase cao (Phan Linh Tâm, 2017); vừa có khả năng tiết enzyme cellulase cao (kết quả từ thí nghiệm 1) trong điều kiện phòng thí nghiệm và có khả năng kiểm soát bệnh vàng lá thối rễ trên cây có múi trong điều kiện nhà lưới (Nguyễn Nhật Thanh, 2017).

Hai chủng xạ khuẩn LM6 và LM25 sau khi được nuôi cấy trong đĩa Petri 7 ngày trên môi trường MS, cho 5 ml nước cất thanh trùng vào đĩa, rồi dùng lame cạo lấy phần sợi khí sinh, lọc qua vải lọc để thu được huyền phù xạ khuẩn gốc. Thực hiện phương pháp pha loãng, chà đếm mật số xạ khuẩn trên môi trường MS, sau 2 ngày xác định mật số xạ khuẩn trong huyền phù gốc rồi pha loãng về mật số 10^8 cfu/ml cần dùng.

** Tưới thuốc và huyền phù xạ khuẩn:*

- Đối với thuốc hóa học: nồng độ liều lượng theo khuyến cáo trên bao bì của nhà sản xuất. Thời gian tưới, số lần tưới thực hiện bởi nông dân ở các nghiệm thức đối chứng dương. Liều Anvil 5SC phun 1 - 2 lít/ha (4 ml/1,5 lít nước).

- Đối với huyền phù xạ khuẩn: Tưới huyền phù xạ khuẩn với mật số 10^8 cfu/ml, liều lượng 1,5 lít/cây bệnh (tại vùng rễ bị thối) trong suốt quá trình làm thí nghiệm. Tiến hành tưới xạ khuẩn vào lúc sáng, sau khi tưới có sử dụng bọc nylon đen hoặc cỏ đậy lại trên bề mặt để tránh ánh nắng trực tiếp chiếu vào ảnh hưởng đến xạ khuẩn.

** Chăm sóc:*

Vườn được chăm sóc theo cách nông dân ở địa điểm thí nghiệm.

** Ghi nhận chỉ tiêu:*

Tại các thời điểm 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ngày sau khi xử lý xạ khuẩn lần đầu tiên thì tiến hành:

(1) Quan sát và ghi nhận lại số cành phục hồi trên cành bệnh tương ứng với rễ bị bệnh có hoặc không xử lý. Tính phần trăm số cành thứ cấp mới mọc ra từ cành bệnh cấp 1 (gọi tắt là tỷ lệ cành phục hồi - TLCPH) theo công thức:

$$\text{TLCPH} = 100 * \frac{\text{Số cành mới mọc ra}}{\text{Tổng số cành quan sát}}$$

(2) Quan sát và ghi nhận sự phục hồi của rễ bệnh theo cấp rễ phục hồi của Dương Minh và *ctv.*, 2010:

Cấp 0: Rễ còn thối, tiếp tục nhiễm bệnh.

Cấp 1: Rễ cây không thối tiếp nhưng chưa ra rễ mới.

Cấp 3: Từ rễ cũ có xuất hiện 1 - 4 rễ mới phục hồi/rễ cũ bị thối.

Cấp 5: Từ rễ cũ có xuất hiện từ 5 rễ mới phục hồi/rễ cũ bị thối.

(3) Tại thời điểm trước khi xử lý xạ khuẩn lần đầu tiên và 90 ngày sau khi xử lý xạ khuẩn lần đầu, tiến hành thu 100 g đất tại vị trí rễ quan sát/1 cây bệnh. Đem phần đất thu được về phòng thí nghiệm tiến hành pha loãng ở nồng độ 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , sau đó rút 20µl huyền phù chà lên môi trường PDA kháng sinh để xác định mật số nấm *Fusarium solani*.

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 SPSS 20.0 qua phép thử Duncan.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khả năng tiết enzyme cellulase phân giải cellulose của các chủng xạ khuẩn triển vọng

Từ kết quả thí nghiệm trong Bảng 2 có thể thấy hầu hết các chủng xạ khuẩn thí nghiệm đều có khả năng phân giải cellulose ở các mức độ khác nhau.

Bảng 2. Bán kính vòng phân giải cellulose của 6 chủng xạ khuẩn qua các thời điểm

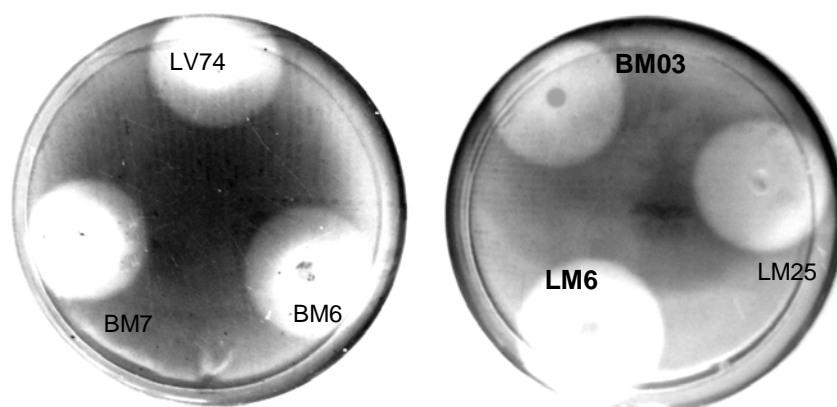
Chủng xạ khuẩn	Bán kính vòng phân giải cellulose (mm) qua các thời điểm			
	3 NSTN	5 NSTN	7 NSTN	9 NSTN
BM7	8,400 ^c	10,40 ^d	12,10 ^d	13,70 ^f
BM6	8,300 ^c	11,90 ^c	14,70 ^c	16,95 ^e
LV74	8,400 ^c	11,60 ^c	15,30 ^c	18,00 ^d
BM3	11,40 ^b	16,50 ^b	18,95 ^b	23,70 ^b
LM6	12,30 ^a	17,20 ^a	21,30 ^a	24,10 ^a
LM25	11,40 ^b	16,60 ^b	21,30 ^a	24,05 ^a
CV%	5,53	3,31	5,14	1,05
Mức ý nghĩa	*	*	*	*

Ghi chú: Trong cùng một cột các chữ cái theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncans ở mức ý nghĩa 5%.

Ở thời điểm 3 NSTN, chủng xạ khuẩn LM6 thể hiện khả năng phân giải cellulose mạnh nhất với bán kính vòng phân giải (BKVPG) là 12,30 mm, khác biệt ý nghĩa ở mức thống kê 5% so với các chủng còn lại. Kế đến là các chủng xạ khuẩn BM3 và LM25 có cùng BKVPG là 11,40 mm. Ở thời điểm 5 NSTN, BKVPG tiếp tục tăng, dao động trong khoảng 16,50 - 17,20 mm. Trong đó, chủng xạ khuẩn LM6 có BKVPG lớn nhất (17,20 mm) và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các chủng còn lại (Hình 1). Đến thời điểm 7 NSTN, BKVPG của các chủng xạ khuẩn vẫn tiếp tục tăng. Hai chủng xạ khuẩn LM6 và LM25 tiếp tục thể hiện khả năng phân giải cao nhất với cùng BKVPG là 21,30 mm, khác biệt ý nghĩa ở mức thống kê 5% so với các chủng còn lại. Tại thời điểm 9 NSTN, 2 chủng LM6 và LM25 vẫn thể

hiện khả năng phân giải cao nhất với BKVPG là 24,10 mm và 21,05 mm và khác biệt ý nghĩa thống kê so với chủng còn lại.

Việc ứng dụng xạ khuẩn để phân hủy xác bã thực vật và hữu cơ hay cụ thể hơn là phân hủy cellulose nên được quan tâm nghiên cứu rộng rãi. Đây là một biện pháp phòng trừ sinh học có lợi, nhất là khi hiện nay việc sử dụng phân bón, thuốc hóa học đang gây ra những ảnh hưởng tiêu cực đến môi trường của môi trường và những hệ lụy kèm theo. Xạ khuẩn có phân giải xác bã thực vật và hữu cơ sẽ mang lại cho đất một lượng chất dinh dưỡng nhất định, góp phần tăng độ phì nhiêu, màu mỡ, giảm được lượng phân hóa học sử dụng. Bên cạnh đất được tơi xốp sẽ tạo điều kiện cho cây trồng phát triển và tăng khả năng chống chịu với các điều kiện bất lợi.



Hình 1. Bán kính vòng phân giải cellulose của 6 chủng xạ khuẩn ở thời điểm 5 ngày sau bố trí thí nghiệm

3.2. Khả năng quản lý bệnh vàng lá thối rữa trên cây có múi của các chủng xạ khuẩn ở điều kiện ngoài đồng

3.2.1. Cấp rễ phục hồi

Cấp rễ phục hồi ở các nghiệm thức qua các thời điểm khảo sát được trình bày ở Bảng 3. Kết quả cho thấy rằng ở các nghiệm thức được xử lý xạ khuẩn có rễ được phục hồi dần qua các giai đoạn.

Tại thời điểm 10 ngày sau xử lý xạ khuẩn (NSXL), trung bình cấp rễ phục hồi ở các nghiệm thức có xử lý xạ khuẩn cũng như 2 nghiệm thức đối chứng không có khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5%. Kết quả tương tự được thể hiện ở thời điểm 20 NSXL, trung bình cấp rễ phục hồi ở các nghiệm thức thí nghiệm đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, giai đoạn 30 - 90 ngày NSXL, sự phục hồi rễ ở các nghiệm thức đã có sự khác biệt. Tại thời điểm 30 NSXL, cấp rễ phục hồi trung bình ở các nghiệm thức có xử lý xạ khuẩn đều cao hơn và khác biệt đối với đối chứng. Trong đó, các nghiệm thức: LM25-XL2, LM25-XL1, LM25-XL5, LM25-XL6 và LM6-XL4, LM6-XL5, LM6-XL6 có cấp phục hồi dao động từ 1 - 1,4, tương đương với

nghiệm thức thuốc hóa học (1,8) và khác biệt ý nghĩa ở mức 5% đối với tất cả các nghiệm thức còn lại. Cấp rễ phục hồi tại thời điểm 40 NSXL, thì cấp rễ phục hồi ở các nghiệm thức đều tăng (trừ đối chứng nước cất). Trong đó trung bình dao động từ khoảng 0 đến 2,6 (nghiệm thức xử lý thuốc và LM25-XL4). Trong đó, nghiệm thức: LM25-XL4, LM25-XL5, LM25-XL6, LM6-XL4 và LM6-XL6 có cấp rễ phục hồi dao động từ 1,8 - 2,6, tương đương với nghiệm thức thuốc hóa học (2,6) và khác biệt ý nghĩa ở mức 5% đối với tất cả các nghiệm thức còn lại. Trong giai đoạn từ 50 - 70 NSXL, cấp rễ phục hồi ở các nghiệm thức có xử lý xạ khuẩn và hóa học tiếp tục tăng, dao động từ 1 - 3 (ở 50 NSXL), từ 1 - 3,4 (ở 60 và 70 NSXL). Trong đó, nghiệm thức: LM25-XL4, LM25-XL5, LM25-XL6, LM6-XL4, LM6-XL5 và LM6-XL6 đều có cấp rễ phục hồi tương đương với nghiệm thức thuốc hóa học và khác biệt ý nghĩa ở mức 5% đối với tất cả các nghiệm thức còn lại. Trong giai đoạn 80 - 90 NSXL, rễ được tiếp tục phục hồi ở các nghiệm thức có xử lý xạ khuẩn và hóa học tuy nhiên sự phục hồi diễn ra chậm ở hầu hết các nghiệm thức, chỉ có các nghiệm thức LM25-XL4,

LM25-XL5, LM25-XL6, LM6-XL4, LM6-XL5 và LM6-XL6 sự phục hồi diễn ra nhanh (dao động từ 4,2 - 5 ở giai đoạn 90 NSXL) và có cấp rẽ phục hồi tương đương với nghiệm thức thuốc hóa học và khác biệt ý nghĩa ở mức 5% đối với tất cả các nghiệm thức còn lại.

Như vậy việc xử lý xạ khuẩn ở vùng rẽ cây cam sành bị bệnh vàng lá thối rẽ đã giúp cho rẽ phục hồi với những mức độ khác nhau so với nghiệm thức đối chứng (xử lý nước cất). Trong đó, ở các nghiệm thức xử lý xạ khuẩn 3 hoặc 4 lần giúp rẽ cây bệnh phục hồi nhanh và tương đương với nghiệm thức xử lý thuốc Anvil 5SC.

Theo Nguyễn Văn Huỳnh và Võ Thanh Hoàng (1999) thì bệnh vàng lá thối rẽ do nấm *F. solani* làm phá hủy hệ thống rẽ cây có múi, đặc biệt là rẽ non (đây là rẽ có nhiệm vụ hút dưỡng chất nuôi cây) cho nên làm cây còi cọc, vàng và rụng lá nhiều. Theo nhiều chuyên gia, một trong những cách để đối phó với bệnh này là phải tìm cách phục hồi nhanh chóng hệ thống rẽ để cứu cây. Cho nên với việc áp dụng 2 chủng xạ khuẩn LM6 và LM25 (đặc biệt ở những cách xử lý 3 hoặc 4 lần) đã cho thấy tiềm năng quản lý bệnh vàng lá thối rẽ trên vườn cây có múi thông qua việc giúp phục hồi nhanh chóng rẽ cây bệnh.

3.2.2. Tỷ lệ phân trấu cành phục hồi

Tỷ lệ cành phục hồi ở các nghiệm thức qua các thời điểm khảo sát được trình bày ở Bảng 4. Có thể thấy rằng ở các nghiệm thức được xử lý xạ khuẩn cành được phục hồi dần qua các giai đoạn.

Tại thời điểm 10 và 20 ngày sau khi tưới xạ khuẩn lần đầu (NSXL), tỷ lệ cành phục hồi ở các nghiệm thức có xử lý xạ

khẩn khác biệt ý nghĩa với nghiệm thức Đ/C (không có sự phục hồi) ở mức ý nghĩa 5% và tương đương với nghiệm thức xử lý thuốc hóa học (15,27%). Tại thời điểm 30 NSXL, tỷ lệ cành phục hồi ở các nghiệm thức có xử lý xạ khuẩn bắt đầu có sự khác biệt nhau nhưng chưa rõ rệt, tuy nhiên có sự khác biệt có ý nghĩa mức 5% đối với nghiệm thức Đ/C (4,15%). Trong đó, tất cả các nghiệm thức có xử lý xạ khuẩn (trừ nghiệm thức LM25-XL1 và LM25-XL3) thì đều có hiệu quả làm phục hồi cành bệnh tương đương với nghiệm thức đối chứng thuốc hóa học (20,91%). Tại thời điểm 40 ngày NSXL, tỷ lệ cành phục hồi ở tất cả nghiệm thức xử lý xạ khuẩn dao động trong khoảng 12,75 - 26,76% và đều khác biệt ý nghĩa ở mức 5% đối với nghiệm thức Đ/C (7,5%). Trong đó, tỷ lệ cành phục hồi của các nghiệm thức LM25-XL4, LM25-XL5, LM25-XL6, LM6-XL4, LM6-XL5 và LM6-XL6 có hiệu quả làm phục hồi cành bệnh tương đương với nghiệm thức đối chứng thuốc (26,48%). Thời điểm 50 và 60 NSXL, tất cả nghiệm thức xử lý xạ khuẩn hầu hết đều tăng và khác biệt rõ rệt với nghiệm thức Đ/C (7,05%) ở mức ý nghĩa 5%. Trong đó, các nghiệm thức xử lý xạ khuẩn 3 hoặc 4 lần có hiệu quả tương đương với nghiệm thức đối chứng thuốc (36,52%) và có tỷ lệ cành phục hồi dao động từ 27,85% (LM6-XL5) đến 30,49% (LM25-XL6). Các nghiệm thức xử lý xạ khuẩn còn lại (xử lý 1 hoặc 2 lần) có hiệu quả tương đương nhau, nghiệm thức LM6-XL1 có tỷ lệ thấp nhất 14,29% và cao nhất trong nhóm này là LM6-XL3 23,46%. Tiếp đến giai đoạn 70 NSXL, toàn bộ nghiệm thức có xử lý xạ khuẩn tiếp tục có sự phục hồi và khác biệt ở mức ý nghĩa 5% đối với nghiệm thức Đ/C (10,22%).

Bên cạnh nghiệm thức thuốc có tỷ lệ cành phục hồi cao nhất (44,25%) thì các nghiệm thức có tỷ lệ cành phục hồi cao liền sau thuốc và khác biệt so với các nghiệm thức còn lại là LM25-XL4, LM25-XL5, LM25-XL6, LM6-XL4, LM6-XL5 và LM6-XL6 dao động từ 33,78 - 40,44%.

Tại thời điểm 80 NSXL, nghiệm thức LM6-XL6 (48,56%) và LM25-XL6 (48,68%) có tỷ lệ cành phục hồi cao nhất và hiệu quả tương đương với nghiệm thức xử lý thuốc (48,94%). Tuy nhiên, hai nghiệm thức này cũng có tỷ lệ cành phục hồi không khác biệt so với các nghiệm thức là LM25-XL4, LM25-XL5, LM6-XL4 và LM6-XL5 lần lượt là 46,86%, 47,94%, 45,04% và 47,92%. Những nghiệm thức có xử lý xạ khuẩn đều khác biệt ý nghĩa ở mức 5% với nghiệm thức ĐC (10,22%).

Đến thời điểm 90 NSXL, tất cả nghiệm thức có xử lý xạ khuẩn tiếp tục có tỷ lệ cành phục hồi cao và khác biệt rõ rệt ở mức ý nghĩa 5% với nghiệm thức đối với nghiệm thức đối chứng nước cất (10,22%). Trong đó những nghiệm thức xử lý xạ khuẩn 3 hoặc 4 lần cho thấy hiệu quả rõ rệt với tỷ lệ cành phục hồi dao động từ 50,34 - 57,09% tương đương với nghiệm thức đối chứng thuốc (57,93%).

Có thể thấy việc cung cấp thêm xạ khuẩn 4 lần, cách nhau 15 ngày giúp làm cho cây cam phục hồi chồi tương đương với thuốc Anvil 5SC và khác biệt. Như vậy, việc tưới xạ khuẩn vào trong đất để phòng trị bệnh vàng lá thối rễ trên cây có múi ngoài làm cho hệ thống rễ được hồi phục còn làm cho cây có múi phục hồi lại những chồi từ những chồi cũ mà còn cho thấy tiềm năng quản lý bệnh này tốt hơn.

Bảng 3. Cấp rễ (trung bình) phục hồi ở các thời điểm quan sát của hai chủng xạ khuẩn với những lần xử lý khác nhau

STT	Nghiệm thức	Cấp rễ phục hồi								
		10 NSXL	20 NSXL	30 NSXL	40 NSXL	50 NSXL	60 NXSL	70 NSXL	80 NSXL	90 NSXL
1	LM25-XL1	0,4	0,6	0,8 ^{bc}	1,0 ^{cd}	1,0 ^b	1,0 ^b	1,0 ^b	1,0 ^b	1,0 ^b
2	LM25-XL2	0,6	1,0	1,0 ^{ab}	1,0 ^{cd}	1,0 ^b	1,0 ^b	1,0 ^b	1,0 ^b	1,0 ^b
3	LM25-XL3	0,4	0,6	0,8 ^{bc}	1,0 ^{cd}	1,0 ^b	1,4 ^b	1,4 ^b	1,4 ^b	1,4 ^b
4	LM25-XL4	0,6	0,8	1,0 ^{ab}	1,8 ^{abc}	2,2 ^a	3,0 ^a	3,0 ^a	3,8 ^a	5,0 ^a
5	LM25-XL5	0,6	0,8	1,4 ^{ab}	1,8 ^{abc}	2,2 ^a	3,0 ^a	3,0 ^a	3,8 ^a	4,2 ^a
6	LM25-XL6	0,6	1,0	1,0 ^{ab}	2,2 ^{ab}	3,0 ^a	3,0 ^a	3,0 ^a	4,6 ^a	5,0 ^a
7	LM6-XL1	0,4	0,6	0,8 ^{bc}	1,0 ^{cd}	1,0 ^b	1,0 ^b	1,0 ^b	1,0 ^b	1,0 ^b
8	LM6-XL2	0,6	0,8	0,8 ^{bc}	1,0 ^{cd}	1,0 ^b	1,0 ^b	1,0 ^b	1,4 ^b	1,4 ^b
9	LM6-XL3	0,4	0,6	0,8 ^{bc}	1,4 ^{bc}	1,4 ^b	1,4 ^b	1,4 ^b	1,4 ^b	1,4 ^b
10	LM6-XL4	0,6	0,8	1,0 ^{ab}	2,6 ^a	3,0 ^a	3,0 ^a	3,0 ^a	3,4 ^a	4,2 ^a
11	LM6-XL5	0,6	1,0	1,4 ^{ab}	1,4 ^{bc}	3,0 ^a	3,4 ^a	3,4 ^a	4,2 ^a	4,6 ^a
12	LM6-XL6	0,6	1,2	1,4 ^{ab}	1,8 ^{abc}	2,6 ^a	3,0 ^a	3,0 ^a	3,8 ^a	4,6 ^a
13	Thuốc	0,8	1,0	1,8 ^a	2,6 ^a	2,6 ^a	3,0 ^a	3,4 ^a	3,8 ^a	4,6 ^a
14	ĐC	0,0	0,0	0,0 ^c	0,0 ^d	0,0 ^c	0,0 ^c	0,2 ^c	0,4 ^b	0,4 ^b
	Mức ý nghĩa	ns	ns	*	*	*	*	*	*	*
	CV%	101,30	61,97	57,32	51,37	32,79	24,08	23,96	34,31	25,75

Ghi chú: (*) Khác biệt ý nghĩa 5%; ns: Không khác biệt ý nghĩa thống kê; NSXL: Ngày sau xử lý. 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. Đ/C: Nghiệm thức đối chứng xử lý bằng nước cất.

3.2.3. Mật số nấm *Fusarium solani* tại thời điểm trước và sau khi xử lý hai chủng xạ khuẩn

Mật số nấm *Fusarium solani* tại thời điểm xử lý xạ khuẩn lần đầu và lần cuối (90 ngày sau khi xử lý xạ khuẩn đầu tiên) được trình bày như Bảng 5.

Tại thời điểm trước khi xử lý xạ khuẩn lần đầu tiên, các nghiệm thức đều có mật số nấm không khác biệt ý nghĩa thống kê với nhau và dao động từ 6,31 đến 6,75. Đồng thời, cây được chọn làm thí nghiệm là cây đang bị thối rễ cấp 3 (rụng lá và cho lá nhỏ 1 - 2 cành, rễ thối tương ứng với cành bị bệnh) trong hệ thống phân cấp rễ bệnh 0 - 5 (cấp 0: không bệnh, cấp 5: cây chết hơn 50% số cành lớn) theo Dương Minh và ctv. (2008). Do đó, tạo được sự khách quan cho việc đánh giá hiệu quả quản lý bệnh hơn của các chủng xạ khuẩn triển vọng. Đến thời điểm 90 NSXL, log mật số nấm ở tất cả các nghiệm thức xử lý xạ khuẩn đều thấp hơn và có sự khác biệt ý nghĩa mức 5% với nghiệm thức ĐC, cụ thể dao động từ 4,56 đến 6,71. Trong đó, log mật số nấm cao nhất là nghiệm thức ĐC 7,36. Nghiệm thức có log mật số nấm tương đương với nghiệm thức thuốc là LM6-XL6 (4,56). Tuy nhiên, nghiệm thức này cũng có log

mật số nấm không khác biệt so với các nghiệm thức LM25-XL5 (4,66), LM25-XL6 (4,87), LM5-XL5 (4,91).

Từ kết quả Bảng 5 cho thấy khả năng của 2 chủng xạ khuẩn LM25 và LM6 khi được xử lý 3 hoặc 4 lần liên tục hay ngắt quãng 15 ngày đều có thể làm giảm mật số nấm *F. solani* trong đất, từ đó góp phần trong việc phòng trị bệnh vàng lá thối rễ trên cam Sành. Theo Phạm Văn Kim (2004) thì nấm *Fusarium solani* có sẵn trong đất, khi có cơ hội sẽ xâm nhập vào rễ thông qua các vết thương do tuyến trùng cắn phá tạo vết thương, rễ bị oi nước quá lâu, một số nấm khác kết hợp và dẫn tới hiện tượng vàng lá và thối rễ ở cây có múi. Cũng theo Phạm Văn Kim (2000), để nấm bệnh có thể tấn công và gây hại cho cây trồng thì cần hội tụ đủ nhiều yếu tố cây trồng mẫn cảm, ngoại cảnh thích hợp và tích đủ mật số bào tử nấm (áp lực mầm bệnh), nấm *Fusarium solani* cũng vậy. Cho nên việc xử lý 2 chủng xạ khuẩn đã làm giảm được áp lực mầm bệnh (mật số nấm *Fusarium solani* trong đất), đặc biệt là nghiệm thức LM6-XL6 (xử lý xạ khuẩn 4 lần cách nhau 15 ngày) có ý nghĩa rất lớn trong việc hạn chế sự xâm nhiễm và gây hại của nấm này đối với cây cam.

Bảng 4. Tỷ lệ cành phục hồi ở các thời điểm quan sát của hai chủng xạ khuẩn với những lần xử lý khác nhau

STT	Nghiệm thức	Tỷ lệ cành phục hồi (%)								
		10 NSXL ⁱ	20 NSXL ⁱ	30 NSXL ⁱ	40 NSXL ⁱⁱ	50 NSXL ⁱⁱ	60 NXSL ⁱⁱ	70 NSXL ⁱⁱ	80 NSXL ⁱⁱ	90 NSXL ⁱⁱ
1	LM25-XL1	7,50 ^a	9,17 ^a	13,58 ^b	15,01 ^{de}	15,01 ^b	15,0 ^{bc}	15,01 ^{de}	16,55 ^{cd}	18,09 ^b
2	LM25-XL2	8,42 ^a	13,77 ^a	16,44 ^{ab}	17,98 ^{b-e}	17,98 ^b	17,98 ^{bc}	17,98 ^{cd}	19,32 ^{cd}	20,65 ^b
3	LM25-XL3	8,65 ^a	9,98 ^a	13,18 ^b	17,02 ^{ode}	18,45 ^b	19,70 ^b	19,70 ^c	21,24 ^c	21,24 ^b
4	LM25-XL4	11,31 ^a	14,09 ^a	16,97 ^{ab}	26,76 ^a	29,52 ^a	35,36 ^a	39,28 ^b	46,86 ^b	55,99 ^a
5	LM25-XL5	10,59 ^a	13,08 ^a	18,71 ^{ab}	24,35 ^{abc}	28,37 ^a	35,43 ^a	39,83 ^b	47,94 ^b	53,78 ^a

STT	Nghiệm thức	Tỷ lệ canh phục hồi (%)								
		10 NSXL ⁱ	20 NSXL ⁱ	30 NSXL ⁱ	40 NSXL ⁱⁱ	50 NSXL ⁱⁱ	60 NXSL ⁱⁱ	70 NSXL ⁱⁱ	80 NSXL ⁱⁱ	90 NSXL ⁱⁱ
6	LM25-XL6	10,23 ^a	14,08 ^a	18,35 ^{ab}	25,15 ^{ab}	30,49 ^a	36,14 ^a	40,44 ^b	48,68 ^{ab}	57,09 ^a
7	LM6-XL1	7,70 ^a	9,03 ^a	11,64 ^{ab}	12,75 ^e	14,29 ^b	17,15 ^b	19,27 ^e	21,39 ^d	23,51 ^b
8	LM6-XL2	8,18 ^a	12,19 ^a	16,20 ^{ab}	17,87 ^{b-e}	17,87 ^b	23,30 ^b	26,36 ^{ode}	29,43 ^{cd}	32,50 ^b
9	LM6-XL3	8,29 ^a	9,54 ^a	12,12 ^{ab}	18,24 ^{b-e}	19,78 ^b	23,46 ^b	26,79 ^c	30,11 ^c	33,44 ^b
10	LM6-XL4	8,80 ^a	12,48 ^a	16,75 ^{ab}	25,19 ^{ab}	29,36 ^a	35,46 ^a	39,75 ^b	45,04 ^b	50,34 ^a
11	LM6-XL5	9,20 ^a	13,05 ^a	18,83 ^{ab}	21,25 ^{a-d}	27,85 ^a	32,19 ^a	38,78 ^b	47,92 ^b	52,09 ^a
12	LM6-XL6	9,80 ^a	14,62 ^a	18,26 ^{ab}	25,94 ^a	28,03 ^a	38,63 ^a	39,97 ^b	48,56 ^{ab}	56,09 ^a
13	Thuốc	9,30 ^a	15,27 ^a	20,91 ^a	26,48 ^a	29,35 ^a	36,52 ^a	44,25 ^a	48,94 ^a	57,93 ^a
14	ĐC	0,00 ^b	2,71 ^b	4,15 ^c	7,50 ^f	7,05 ^c	7,05 ^d	10,22 ^f	10,22 ^f	10,22 ^c
<i>Mức ý nghĩa</i>		*	*	*	*	*	*	*	*	*
CV%		19,80	19,02	16,63	14,23	11,56	9,48	8,16	10,13	8,52

Ghi chú: (*) là khác biệt ý nghĩa 5%; NSXL: Ngày sau xử lý; 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; Đ/C: Là nghiệm thức đối chứng nước cất; (i) Số liệu được biến đổi sang dạng \sqrt{x} trước khi phân tích thống kê; (ii) Số liệu được biến đổi sang dạng $\arcsin(\sqrt{x/100})$ trước khi phân tích thống kê.

Bảng 5. Mật số nấm *Fusarium solani* tại thời điểm trước và sau khi xử lý hai chủng xạ khuẩn

STT	Nghiệm thức	Log mật số nấm trước và sau khi xử lý	
		Trước xử lý	Sau xử lý
1	LM25-XL1	6,47	6,71 ^b
2	LM25-XL2	6,45	6,01 ^d
3	LM25-XL3	6,75	6,42 ^{bc}
4	LM25-XL4	6,35	4,99 ^e
5	LM25-XL5	6,66	4,66 ^{ef}
6	LM25-XL6	6,51	4,57 ^{fg}
7	LM6-XL1	6,59	6,13 ^{cd}
8	LM6-XL2	6,48	6,09 ^{cd}
9	LM6-XL3	6,73	6,36 ^{bcd}
10	LM6-XL4	6,62	4,94 ^e
11	LM6-XL5	6,53	4,91 ^{ef}
12	LM6-XL6	6,31	4,56 ^{fg}
13	Thuốc	6,41	4,29 ^g
14	ĐC	6,64	7,36 ^a
<i>Mức ý nghĩa</i>		ns	*
CV%		5,62	4,76

Ghi chú: *: Khác biệt ý nghĩa 5%. 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. Số liệu được biến đổi về dạng $\log(x)$ mật số bào tử nấm *Fusarium solani*.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

- Hai chủng LM6 và LM25 có khả năng tiết enzyme cellulase cao nhất trong tổng số 6 chủng xạ khuẩn thí nghiệm.

- Hai chủng LM6 và LM25 đều có khả năng phòng trị bệnh vàng lá thối rễ do nấm *Fusarium solani* ở điều kiện ngoài đồng thông qua các đánh giá về: cấp rễ phục hồi nhanh, tỷ lệ cành phục hồi cao, mật số nấm *F. solani* giảm.

- Đề nghị đánh giá khả năng phòng trị bệnh vàng lá thối rễ cây có múi ở các địa phương khác nhau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dương Minh, 2010. Khảo sát tác động đối kháng của nấm *Trichoderma* đối với nấm *Fusarium solani* gây bệnh thối rễ trên cam quýt tại Đồng bằng sông Cửu Long. Luận án Tiến sĩ Nông nghiệp. Chuyên ngành Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ.
2. Lê Minh Tường, Đinh Hồng Thái, Lý Văn Giang và Phạm Tuấn Vũ, 2016. Trong: Nguyễn Thị Thu Cúc và Lê Văn Vàng (Chủ biên). Quản lý dịch hại cây trồng thân thiện môi trường. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ. Trang: 203 - 205.
3. Nguyễn Ngọc Sơn, 2016. Đánh giá khả năng gây hại của nấm *Fusarium solani* gây bệnh vàng lá thối rễ trên cam (*Citrus × sinensis*) và bước đầu nghiên cứu biện pháp phòng trị. Luận văn Đại học. Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng. Trường Đại học Cần Thơ. 58 trang.
4. Nguyễn Nhật Thanh, 2017. Đánh giá hiệu quả phòng trị bệnh vàng lá thối rễ cây có múi của các chủng xạ khuẩn triển vọng trong điều kiện nhà lưới. Luận văn Đại học. Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng. Trường Đại học Cần Thơ. 47 trang.
5. Nguyễn Văn Huỳnh và Võ Thanh Hoàng, 1999. Sâu bệnh hại cây ăn trái. Nhà xuất bản Nông nghiệp. 63 trang.
6. Phạm Văn Kim, 2000a. Các nguyên lý về bệnh hại cây trồng. Giáo trình giảng dạy. Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng. Trường Đại học Cần Thơ. 66 trang.
7. Phan Linh Tâm, 2017. Khảo sát đặc tính của các chủng xạ khuẩn có triển vọng trong quản lý bệnh vàng lá thối rễ trên cây có múi do nấm *Fusarium solani* gây ra. Luận văn Đại học. Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng. Trường Đại học Cần Thơ. 44 trang.

CON SỐ VÀNG VÀ SỰ ĐẺ NHÁNH CỦA CÂY LÚA

Nguyễn Văn Biểu

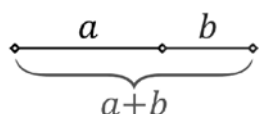
Hội các Ngành Sinh học Hà Nội

Được đặt tên theo nhà điêu khắc Phidias - người giám sát xây dựng và đóng vai trò chính trong điêu khắc trang trí đền Parthenon, số phi kỳ diệu không chỉ được coi là tỷ lệ vàng trong mỹ thuật mà các nhà khoa học còn nhận ra sự hiện diện của nó trong thế giới tự nhiên.

Dưới đây là bài viết của tiến sỹ Nguyễn Văn Biểu - Tổng thư ký Hội các Ngành sinh học Hà Nội, chuyên gia nông nghiệp - về mối liên hệ giữa số phi và sự đẽ nhánh của cây lúa.

Con số kỳ lạ

Trong toán học, số phi (tỷ lệ vàng hay con số vàng) được định nghĩa là cách xác định một điểm trên đoạn thẳng AB (hình dưới) sao cho tỷ số giữa AB với đoạn thẳng dài hơn (được tạo bởi A hoặc B với điểm đó) bằng tỷ lệ giữa đoạn thẳng dài hơn với đoạn ngắn hơn.

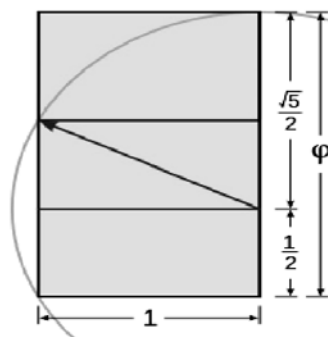


Dựa trên hình trên, phi (ký hiệu là φ) được biểu diễn bằng công thức: $(a+b)/a = a/b = \varphi$. Người ta đã tính được tỷ số này có dạng số vô tỷ với giá trị là: 1,6180339887498948420... Số phi có 2 tính chất toán học đặc biệt kỳ lạ là tổng của phi với 1 bằng tích của phi với chính nó.

Về hình học, có thể minh họa số phi qua hình chữ nhật vàng theo phương pháp Le Corbusier. Theo đó, phi là độ dài đoạn thẳng xuất phát từ hình vuông có cạnh là 1 đơn vị, chia đôi hình vuông và vẽ một

cung có bán kính là đường chéo nửa hình vuông, ta sẽ tìm được giá trị phi.

Điều kỳ lạ là dãy số phibonacci (mang tên nhà toán học lỗi lạc người Ý, được ông công bố năm 1202 khi nghiên cứu về sự tăng trưởng đàn thỏ, ong) cũng là con số vàng nhưng lại được biểu diễn dưới dạng một dãy vô hạn các số tự nhiên bắt đầu bằng hai phần tử 0 và 1. Các phần tử sau đó được thiết lập theo quy tắc mỗi phần tử tiếp theo luôn bằng tổng hai phần tử trước nó.



Dãy số phibonacci biểu thị bằng dãy số tự nhiên là 0, 1, 1, 2, 3, 5, 8, 13, 21, 34, 55, 89, 144, 233... với hai đặc điểm: Số

sau là tổng của hai số liền trước và tỷ lệ của số sau với số ngay trước nó chính là giá trị số phi theo mức chính xác tăng dần và chính là tỷ lệ vàng 1,618...

Dãy số phibonacci cũng phù hợp một cách kỳ lạ để diễn tả quy luật sinh sản của nhiều loài, quy luật mọc cành, đẻ nhánh, phân bố lá, ra hoa, phát triển rễ... của thực vật; phù hợp với một loạt cấu tạo, hình dạng, tỷ lệ từng bộ phận đến toàn bộ cơ thể sinh vật, thậm chí đúng cả với các bộ phận, cơ quan trên cơ thể người. Số phi xuất hiện trong các cấu trúc kiến trúc cổ xưa và hiện đại, trong cấu trúc các bản sonate của Mozart, Giao hưởng số 5 của Beethoven...

Nó cũng xuất hiện cùng rất nhiều hiện tượng tự nhiên khác mà không thể lý giải theo cách thông thường. Chẳng hạn, đem số 37 (thân nhiệt con người, tính theo độ C) chia cho 22,87 (nhiệt độ thích hợp cho cơ thể người) thì kết quả đúng bằng tỷ số vàng, hay sự phân bố các thiên hà trong vũ trụ cũng tuân theo con số vàng...

Mối liên quan đến sự đẻ nhánh của lúa

Năm 1966, khi tìm hiểu quy luật ra lá của cây, nhà khoa học Bunting A. H. và cộng sự đưa ra thuật ngữ phyllochron để chỉ quy luật ra lá hay tốc độ ra lá trên thân. Các nhà khoa học về lúa cũng đã phát hiện ra quá trình đẻ nhánh liên quan chặt chẽ với quá trình ra lá. Thường khi cây ra lá, mầm nách ở mắt ra lá bắt đầu phân hoá. Theo quy luật, khi lá thứ tư xuất hiện thì mầm lá thứ nhất kết thúc thời kỳ phân hoá và xuất hiện danh thứ nhất cấp 1. Khi cây ra lá thứ năm thì danh thứ hai cấp 1 xuất hiện...

Trong kỹ thuật trồng trọt, thời gian đẻ nhánh của cây lúa được tính từ khi lúa bén rễ, hồi xanh đến khi kéo dài lóng phía trên, làm đòng. Ở ruộng mạ cũng có hiện tượng đẻ nhánh nếu gieo mạ thưa. Những cây mạ quanh bờ cũng có thể đẻ 1 - 2 nhánh khi mạ già, có quá 4 - 5 lá (gọi là mạ ngành trê).

Tuy nhiên, ngay lúc đó, mật độ cây trong ruộng mạ tăng lên và quá trình đẻ nhánh ngừng lại do cạnh tranh ánh sáng và dinh dưỡng. Khả năng đẻ nhánh của cây lúa phụ thuộc vào phạm vi mắt đẻ (tức số lá trên cây mẹ, tuổi mạ và số lóng đốt kéo dài) và điều kiện ngoại cảnh (thời tiết, kỹ thuật chăm sóc, đất đai...).



**Từ một hạt thóc
có thể thu được 200 bông lúa**

Từ trước đến nay, đã có nhiều công trình nghiên cứu về sự đẻ nhánh của cây lúa nhưng hầu hết các kết quả công bố chỉ dựa trên quan sát thực nghiệm, rút ra các kết luận định tính - đẻ nhánh khỏe, trung bình hay yếu... Người đầu tiên quan sát, mô tả sự ra lá và đẻ nhánh của cây lúa cùng một số cây họ Hòa thảo khác (lúa mỳ, lúa mạch) là Katayama năm 1951.

Người ta cũng phân biệt thời gian đẻ nhánh hữu hiệu (mang bông) và vô hiệu (không có bông). Trên cây lúa, thông thường chỉ có những nhánh đẻ sớm, ở vị trí

mắt đẻ thấp, số lá nhiều, điều kiện dinh dưỡng thuận lợi mới đủ điều kiện để phát triển thành danh hữu hiệu; còn những nhánh đẻ muộn, thời gian sinh trưởng ngắn, số lá ít thường trở thành danh vô hiệu.

Việc hiểu rõ về sự đẻ nhánh của cây lúa sẽ giúp làm rõ hơn cơ sở khoa học của nhiều biện pháp kỹ thuật như: Cây mạ non (hạn chế ảnh hưởng của việc nhổ làm đứt rễ, hư danh), cấy nông tay (tạo điều kiện thuận lợi cho các đốt mạ đẻ nhánh); giúp hiểu và điều khiển số danh, số bông cần thu hoạch... Tuy vậy, chưa thấy tác giả nào nói đến mối liên quan giữa con số vàng và quy luật đẻ nhánh.

Khi tìm hiểu sự đẻ nhánh của cây lúa và quy luật đẻ nhánh của lúa, chúng tôi đã phát hiện thấy dãy số vàng phibonacci cũng xuất hiện đúng quy luật một cách kỳ lạ, dù cộng theo chiều ngang hay tính tổng số danh trên từng danh gốc. Điều này giúp chúng ta hiểu rõ quy luật và mô tả dễ dàng hơn sự đẻ nhánh của cây lúa.

Về mặt lý thuyết, có thể mô tả sự đẻ nhánh của cây lúa có 9 mắt đẻ nhánh bằng sơ đồ bên dưới. Nhìn vào sơ đồ này, có thể thấy, trong điều kiện lý tưởng, từ một cây mạ (một hạt thóc), chúng ta có thể thu được 55, 89, hoặc 144, 233 bông lúa hay thậm chí nhiều hơn nữa (với những giống nhiều lá) bằng cách cộng theo quy luật dãy số vàng.

Tuy nhiên trong thực tế, số danh quá lớn lại dẫn đến cạnh tranh không gian, cạnh tranh dinh dưỡng ngay giữa các danh trong khóm, làm suy giảm khả năng đẻ nhánh. Theo thông tin trao đổi qua email giữa chúng tôi với TS. Trần Văn Đạt - Chuyên gia cấp cao của Tổ chức Nông Lương Liên hợp quốc và Viện Nghiên cứu

Lúa Quốc tế, các chuyên gia của Viện Nghiên cứu Lúa Quốc tế cũng thực nghiệm và kết quả là từ 1 hạt thóc đã thu được 200 bông lúa.

Theo các tài liệu về lúa, các giống ngắn ngày thường có 12 - 15 lá, giống trung ngày có 16 - 18 lá và giống dài ngày thường có 18 - 20 lá. Thời kỳ mạ non, trung bình 3 ngày cây ra được 1 lá. Từ lá thứ tư, tốc độ ra lá chậm lại, 7 - 10 ngày ra được 1 lá.

Sơ đồ đẻ nhánh minh họa trên sẽ giúp các cán bộ kỹ thuật và nông dân hiểu rõ hơn sự đẻ nhánh của cây lúa. Đây cũng là cơ sở khoa học giúp giải thích rõ ràng hơn các biện pháp chăm sóc giúp cây lúa đẻ nhánh tập trung theo quy luật ra lá, giúp hiểu biết và điều khiển số bông/khóm.

Trong chương trình nghiên cứu và phát triển phương pháp cấy lúa mới ứng dụng hiệu ứng hàng biên và sức đẻ bông tối ưu, KS. Chu Văn Tiệp - cán bộ Trung tâm Tư vấn, Đào tạo và Chuyển giao tiến bộ khoa học nông nghiệp phát hiện ra: Cần thay đổi cách cấy lúa, giảm sâu số khóm chỉ còn 8 - 16 khóm/m² với khoảng cách cấy dễ dàng tính được nhờ biểu thức toán học đơn giản dựa vào đặc điểm của giống (chiều cao cây, dạng hình tán lá...) có điều chỉnh cho phù hợp với loại đất. Công nghệ cấy này đã tác động đến các yếu tố chính cấu thành năng suất lúa như số danh/khóm, số bông/m², số hạt/bông, trọng lượng nghìn hạt và đã tạo hiệu quả kinh tế đáng ngạc nhiên (giảm 30% lượng phân bón, giảm 50 - 70% lượng thuốc trừ bệnh, trừ sâu... và hiệu quả cuối cùng là tăng năng suất, tăng chất lượng sản phẩm và giảm mạnh giá thành).

Phương pháp cấy lúa hàng biên với sức đẻ bông tối ưu kể trên đã được Cục Sở hữu trí tuệ cấp bằng sáng chế năm 2015. Dựa vào đặc điểm từng giống, khoảng cách hàng rộng tính được khoảng 38 - 70 cm, hàng hẹp khoảng 20 - 30 cm và khóm cách khóm 18 - 26 cm, mỗi khóm cấy 2 - 3 dảnh và các khóm liền kề sắp xếp theo hình tam giác đều. Như vậy, mỗi khóm lúa được tạo điều kiện tốt và hợp lý nhất để sử dụng tối ưu ánh sáng, dinh dưỡng và sơ đồ đẻ nhánh của mỗi dảnh lúa (phyllochron) nêu trên sẽ giúp lý giải và minh họa dễ hiểu hơn.

Còn phương pháp SRI khuyến cáo cấy thưa hơn cấy mất sàng, cấy lúa theo hàng rộng, hàng hẹp, mật độ vẫn ở mức 32 - 35 khóm/m² nên khoảng cách khóm chưa đủ rộng, thiếu cơ sở để cây lúa thể hiện quy luật đẻ nhánh như sơ đồ trên vì bị quy luật cạnh tranh ánh sáng, dinh dưỡng... chi phối.

Chẳng hạn, số bông lý tưởng cần đạt khi cấy 2 dảnh/khóm sẽ là 13 - 21 dảnh/khóm (khi cây ra đến lá thứ 11 - 12 và sinh dảnh ở đót thứ năm hay sáu), cho số bông hữu hiệu tương ứng là 13 - 21 bông/dảnh và sẽ đạt tới 26 - 42 bông/khóm. Điều này chỉ có thể đạt được khi áp dụng đúng các biện pháp kỹ thuật: Cấy nông tay, chăm bón đủ và đặc biệt khi lúa được cấy theo phương pháp hiệu ứng hàng biên, tạo khoảng cách cần thiết để mỗi hàng lúa sử dụng ánh sáng tối ưu cho mục tiêu năng suất tối đa như: Số bông hợp lý, bông to và dài hơn, nhiều hạt hơn, tỷ lệ hạt chắc và trọng lượng hạt cao hơn.

Quy luật con số vàng không chỉ đúng với sự đẻ nhánh mà còn đúng và có ý nghĩa khi xem xét sự ra rễ, quá trình phân hóa hình thành hạt... và chúng tôi xin giải trình trong các bài viết sau này. Hy vọng hiểu biết về con số vàng giúp cho mùa vàng bội thu.

ĐẶC ĐIỂM SINH HÓA VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG NẤM GÂY BỆNH CÂY CỦA CAO CHIẾT LÁ CỎ TRANH, LÁ MUA VÀ DIỆP HẠ CHÂU ĐẰNG

Nguyễn Đức Độ, Phạm Ngọc Cẩn,
Đặng Anh Quốc, Lưu Hồng Ngọc,
Trương Hoàng Thiện, Nguyễn Thị Phương Chăm,
Nguyễn Thị Hồng Gấm, Phan Thị Ngọc Ngà
Lê Thị Diễm Phương và Phan Thị Trúc Quyên

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

ABSTRACT

Biochemical characteristics and inhibitory effects against fungal plant pathogens of ethanol and methanol extracts of *Imperata cylindrical* (L.), *Melastoma* sp. and *Phyllanthus amarus*

*This study is to investigate some biochemical characteristics and inhibitory effects against the 4 fungal plant pathogens (*Colletotrichum* sp., *Rhizoctonia* sp., *Rhizopus* sp. and *Sclerotium* sp.) of the ethanol and methanol extracts of *Imperata cylindrical* (L.) Beauv., *Melastoma* sp. and *Phyllanthus amarus* under invitro conditions. High concentrations of polyphenolic and saponin compounds were found in all extracts. They also showed strong antioxidant activities through reducing power and hydrogen peroxide radical scavenging methods. Using agar well diffusion method, the extracts exhibited their inhibitory effects against the fungal plant pathogens at the concentration of 100 mg/mL where the strongest effect was found against *Rhizoctonia* sp.*

Keywords: Antioxidant, fungal plant pathogens, plant extracts.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, các bệnh hại trên cây trồng ngày càng diễn biến phức tạp và khó phòng trị. Trong các tác nhân gây bệnh trên cây trồng thì nhóm nấm sợi gây bệnh rất đáng được quan tâm với mức độ nguy hại cao và tốc độ lây lan nhanh. Các loài nấm này làm ảnh hưởng nghiêm trọng đến năng suất cây trồng, gây thiệt hại lớn về mặt kinh tế trong canh tác nông nghiệp và

ngày càng kháng lại các loại nông dược đặc trị. Các dòng nấm sợi thường gây hại phổ biến trên cây trồng như *Colletotrichum* sp., *Rhizoctonia* sp., *Rhizopus* sp., *Sclerotium* sp. Theo Nguyễn Thị Hoàng Nữ *et al.* (2018), đã xác định nguyên nhân gây bệnh khô cuốn trái cam Soàn tại tỉnh Đồng Tháp là do 6 dòng nấm thuộc loài *Colletotrichum* sp. gây ra. Theo Nguyễn Thị Ngọc Ngân *et al.* (2018), xác định mầm bệnh nhiễm trên hạt lúa giống tại Hậu Giang thấy có sự hiện diện đến 7 mầm bệnh nấm. Hơn nữa, mầm bệnh đã

Người phân biên: TS. Nguyễn Đắc Khoa.

trở nên kháng với nhiều loại hóa chất này (Makovitzki *et al.*, 2007). Do đó nghiên cứu các biện pháp sinh học hiệu quả trong phòng trị các dòng nấm này là yêu cầu cấp thiết. Đã có nhiều công trình nghiên cứu về hiệu quả ức chế nhiều tác nhân gây bệnh cây trồng khác nhau bằng nhiều loại dịch trích thực vật hoang dại, đây cũng là một trong những hướng tiếp cận để đạt được mục tiêu của nền nông nghiệp bền vững ở thế kỷ 21 này.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Các dòng nấm sợi: *Colletotrichum* sp., *Rhizoctonia* sp., *Rhizopus* sp., *Sclerotium* sp. được cung cấp bởi phòng thí nghiệm Sinh hóa và Protein Enzyme, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.

Hóa chất: Dung môi DMSO (Pháp) dùng để pha loãng cao chiết, kháng sinh Nystatin làm đối chứng dương (KS), ethanol (Việt Nam), methanol (Việt Nam), vitamin C, Dextrose (Trung Quốc), Agar (Việt Nam), môi trường nuôi nấm Potato Dextrose Agar (PDA).

Ba loại thực vật cây cỏ tranh (*Imperata cylindrical*), cây diệp hạ châu đắng (*Phyllanthus amarus*), cây mua (*Melastoma* sp.) được thu trên địa bàn Tp. Cần Thơ.

2.2. Chuẩn bị cao chiết thực vật

Các loài thực vật được dùng trong nghiên cứu sau khi thu hái rửa sạch, rồi cắt nhỏ thành các đoạn ngắn 0,5 - 1 cm. Sau đó mẫu được xay nhỏ 500 gram mẫu với dung môi (tỷ lệ 1:6). Bước tiếp theo xử lý với sóng siêu âm công suất 120 W trong 60 phút. Mẫu được lọc qua Na₂SO₄ và tiến hành với cô quay hết dung môi và

hút chân không làm khô mẫu. Các nghiệm thức cao chiết: lá cỏ tranh trong ethanol (1:6), thân lá cây diệp hạ châu đắng trong ethanol (1:6), lá mua trong methanol (1:6).

2.3. Khảo sát hàm lượng polyphenol tổng theo phương pháp Folin - Ciocalteu

Thí nghiệm được thực hiện theo mô tả của Yadav và Agarwala (2011), có hiệu chỉnh (1 ml Na₂CO₃ 2%, 1 ml Folin - Ciocalteu 10%, 0,1 ml cao chiết).

2.4. Khảo sát hàm lượng saponin tổng bằng phương pháp quang phổ UV/VIS

Thí nghiệm được thực hiện theo mô tả của Hiai (1976), có hiệu chỉnh (sử dụng chất chuẩn từ 3 chất của nhóm ginsenoside).

2.5. Khảo sát khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp khử hydrogen peroxide (H₂O₂)

Thí nghiệm được thực hiện theo mô tả của Rahate *et al.* (2013), có hiệu chỉnh (2,5 ml H₂O₂ 4 mM trong đệm phosphate 0,05 M, 0,5 ml cao chiết hoặc vitamin C).

2.6. Khảo sát khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp khử ion Fe³⁺

Thí nghiệm được thực hiện theo mô tả của Oyaizu (1986), có hiệu chỉnh (90 µl vitamin C, 225 µl đệm phosphate 0,2 M (pH 6,6), 2125 µl H₂O khử ion, 125 µl FeCl₃).

2.7. Khảo sát hiệu quả ức chế nấm *Collectotrichum* sp., *Rhizoctonia* sp., *Rhizopus* sp., *Sclerotium* sp. của cao chiết bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch

Thí nghiệm khảo sát khả năng kháng nấm được tiến hành dựa theo mô tả của

Khan và Nasreen (2010). Thí nghiệm được bố trí theo cách thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại trên đĩa môi trường thạch PDA với đối chứng âm là dung môi pha cao (DMSO), đối chứng dương là Nystatin 0,3 mg/ml, nồng độ cao chiết là 100 mg/ml.

Ghi nhận kết quả: Bán kính vòng ức chế nấm được đo sau 22 giờ ủ khi tờ nấm lan đến rìa giếng đối chứng âm.

2.8. Khảo nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt nấm tối thiểu (MFC) của cao mua đối với nấm *Collectotrichum* sp., *Rhizoctonia* sp., *Rhizopus* sp. và cao diệp hạ châu đắng với nấm *Sclerotium* sp.

Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt nấm tối thiểu

(MFC) trên môi trường lỏng dựa trên phương pháp của Ruangpan (2004). Thí nghiệm được bố trí theo cách thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại theo dãy nồng độ được khảo sát.

2.9. Xử lý số liệu

Kết quả được xử lý bằng phần mềm thống kê Minitab 16.0 và so sánh trung bình bằng kiểm định Tukey.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả định lượng polyphenol tổng và saponin tổng trong cao chiết

Dựa vào phương trình đường chuẩn của mỗi phương pháp, hàm lượng polyphenol tổng và saponin tổng được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1. Hàm lượng polyphenol tổng và hàm lượng saponin tổng có trong cao chiết

Nghiệm thức (**)	Polyphenol tổng (mg GAE/g chiết xuất)	Saponin (mg/g chiết xuất)
Lá mua	159,290 ± 34,201 ^a	85,766 ± 2,137 ^a
Cây diệp hạ châu đắng	183,469 ± 2,170 ^a	32,957 ± 11,236 ^b
Lá cỏ tranh	48,830 ± 5,247 ^b	67,775 ± 5,035 ^a

Ghi chú: Các giá trị trong bảng này được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn của acid gallic: $y = 0,0054x + 0,0253$, $R^2 = 0,9576$ và đường chuẩn của ginsenoside (Rb1, Rg1, Rg3): $y = 0,0085x + 0,0416$, $R^2 = 0,9936$. Hàm lượng polyphenol tổng và saponin là giá trị trung bình của ba lần lặp lại. Ở mỗi nghiệm thức, các số có ít nhất 1 chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 1% (**) qua kiểm định Tukey.

Hàm lượng polyphenol tổng cao nhất ở cây diệp hạ châu đắng với giá trị là (183,469 mg GAE/g chiết xuất) và thấp nhất là ở lá cỏ tranh với giá trị là (48,83 mg GAE/g chiết xuất). Ngược lại, hàm lượng saponin tổng có trong cây diệp hạ châu đắng thấp nhất với giá trị là (32,957 mg/g chiết xuất) và lá mua có hàm lượng saponin tổng cao nhất (85,766 mg/g chiết

xuất). Kết quả hàm lượng 2 chất này của 3 loại cao chiết này khá cao khi so với những loài cây phổ biến như polyphenol trong trà xanh hay saponin trong nhân sâm. Tùy thuộc công thức phân tử từng chất và hàm lượng mà mỗi chất có mối tương quan đóng góp vào khả năng kháng ôxy hóa và kháng nấm của từng loại cao khác nhau.

3.2. Kết quả khả năng khử gốc tự do hydrogen peroxide và khử ion Fe³⁺ của cao chiết

Khả năng khử gốc tự do H₂O₂ của các nghiệm thức cao chiết đều mạnh hơn vitamin C, mạnh nhất là nghiệm thức cây diệp hạ châu đắng với giá trị IC₅₀ là 35,234 µg/mL, tiếp theo là lá

mua (IC₅₀ = 39,350 µg/mL), yếu nhất là lá cỏ tranh (IC₅₀ = 92,237 µg/mL), đối chứng dương là vitamin C với IC₅₀ = 108,268 µg/mL. Tương tự, khả năng khử ion Fe³⁺ mạnh nhất vẫn là cây diệp hạ châu đắng với IC₅₀ = 7,145 µg/mL, kế tiếp là lá mua (8,120 µg/mL) và yếu nhất là lá cỏ tranh (18,709 µg/mL), tất cả dữ liệu được thể hiện dựa trên Bảng 2.

Bảng 2. Giá trị IC₅₀ của cao chiết và vitamin C trong thí nghiệm kháng ôxy hóa bằng phương pháp H₂O₂ và khử ion Fe³⁺

Nghiệm thức	Giá trị IC ₅₀ (µg/mL)	
	H ₂ O ₂	Fe ³⁺
Lá mua	39,350 ± 0,605 ^c	8,120 ± 0,274 ^b
Cây diệp hạ châu đắng	35,234 ± 0,331 ^d	7,145 ± 1,773 ^b
Lá cỏ tranh	92,237 ± 0,561 ^b	18,709 ± 3,931 ^a
Vitamin C	108,268 ± 0,340 ^a	1,402 ± 0,021 ^c

Ghi chú: Giá trị IC₅₀ là giá trị trung bình của ba lần lặp, được tính dựa theo phương trình đường chuẩn của vitamin C: $y = 0,3086x + 16,591$; $R^2 = 0,9688$ (trong thử nghiệm H₂O₂) và $y = 44,33x - 12,165$; $R^2 = 0,9697$ (trong thử nghiệm khử Fe³⁺). Ở các nghiệm thức, các giá trị có ít nhất 1 chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 1% (***) qua kiểm định Tukey.

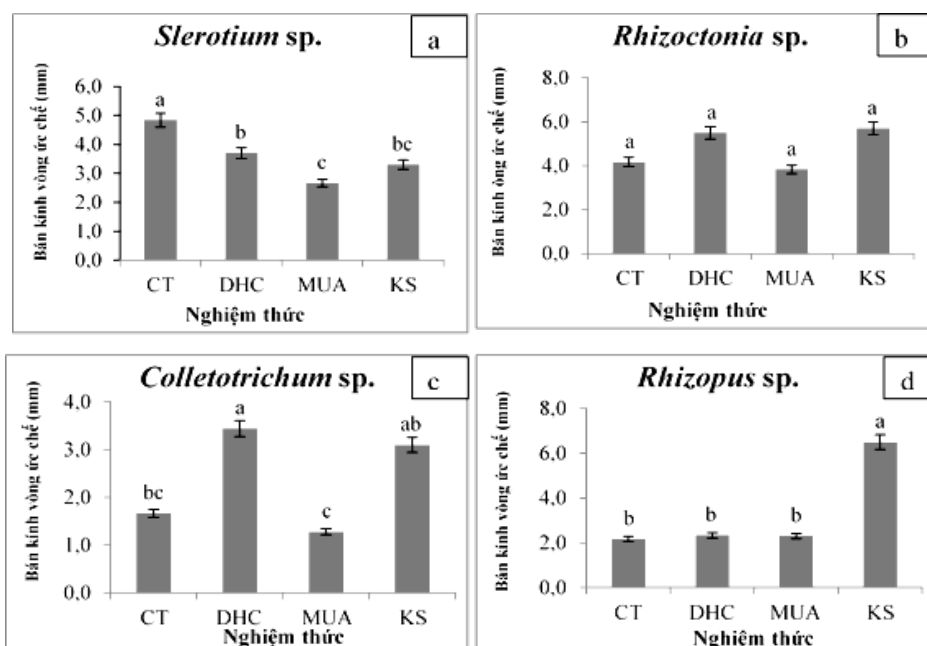
Qua kết quả trên có thể thấy khả năng kháng ôxy hóa có liên quan đến hàm lượng polyphenol tổng có trong cao chiết, cây diệp hạ châu đắng có hàm lượng này nhiều nhất và ít nhất là lá cỏ tranh, hàm lượng saponin không có đóng góp vào khả năng kháng ôxy hóa của cao chiết. Tính kháng ôxy hóa của từng loại cao chiết thể hiện mức độ khử các nhóm chức, ion... khác nhau ở mức độ phân tử giúp tìm mối liên hệ tương quan khả năng kháng nấm cũng như cơ chế phân tử (ức chế trao đổi chất, ức chế enzym hay kênh tín hiệu trên màng tế bào...) với tính kháng nấm ở từng loại cao chiết khảo sát.

3.3. Kết quả khảo sát hiệu quả ức chế nấm *Collectotrichum* sp., *Rhizoctonia* sp., *Rhizopus* sp., *Sclerotium* sp. của cao chiết

Các loại cao chiết đều có khả năng ức chế các dòng nấm được khảo sát. Trong đó *Sclerotium* sp. bị ức chế bởi tất cả các loại cao chiết trong đó cao chiết lá cỏ tranh cho kết quả tốt nhất 4,8 ± 0,3 (mm) (Hình 1a). *Rhizoctonia* sp. bị ức chế bởi tất cả các loại cao chiết trong đó cao từ diệp hạ châu đắng cho kết quả ức chế tốt nhất 5,5 ± 1,8 (mm) (Hình 1b). *Collectotrichum* sp. bị ức chế bởi bởi tất cả các loại cao chiết trong đó cao từ diệp hạ châu đắng cho kết quả ức chế tốt nhất 3,4 ± 0,6 (mm) (Hình 1c). *Rhizopus* sp. bị ức chế bởi các loại cao chiết, khác biệt

giữa các loại cao chiết không có ý nghĩa thống kê (Hình 1d). Theo Tzortzakis *et al.* (2007) tinh dầu cây sả *Cymbopogon citratus* L. (họ Poaceae) được chưng cất ở nồng độ 0,5 mg/mL cho khả năng ức chế đối với 1 số loại nấm như *Colletotrichum coccodes*, *Rhizopus stolonifera* và *Aspergillus niger*. Theo nghiên cứu của Mohamed *et al.* (2012) trên cây *Euphorbia helioscopia* (họ Euphorbiaceae) đối với nấm *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* và *Alternaria solani* ở nồng độ 100 mg/mL cho kết quả ức chế hơn 90%. Theo nghiên cứu của Jiang và Yang (2015), polyphenol trong trà ức chế sự tăng trưởng của *Rhizopus stolonifer* trong ống nghiệm. Kết quả định lượng phenol tổng và saponin tổng đều cho thấy cao chiết ethanol và methanol đều có sự hiện diện của phenol và saponin. Trong nghiên cứu của Morrissey (1999), phức hợp saponin và sterol trên màng tế bào

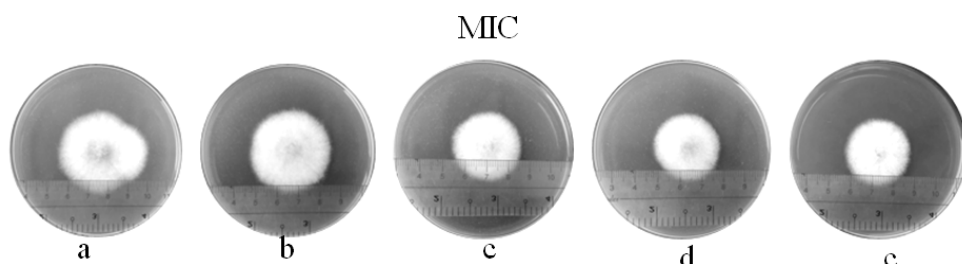
nấm tạo thành thông qua liên kết trung gian bởi gốc glycoside của phân tử saponin, kết quả thí nghiệm cho thấy có sự tác động lên quá trình tổng hợp thành tế bào, làm hỏng màng sinh chất và gây ra sự phân hủy sợi nấm và bào tử. Theo Zabka và Pavela (2013), hiệu quả ức chế nấm của một số hợp chất phenolic tự nhiên liên quan đến cấu trúc phân tử và vị trí tương đối của các nhóm chức có vai trò trong khả năng hòa tan và tích lũy các chất trong màng tế bào, dẫn đến mất ổn định màng tế bào. Tính kháng nấm của các hợp chất phenolic có liên quan đến khả năng ngăn chặn tổng hợp ATP và ergosterol. Bên cạnh đó, khả năng ức chế nấm của các loại cao chiết còn được liên quan đến tính kháng oxy hóa của chúng. Có thể thấy được cây diệp hạ châu đáng kháng oxy hóa mạnh nhất nên đồng thời cũng là cây cho hiệu quả ức chế nấm tốt nhất.



Hình 1. Khả năng ức chế 4 dòng nấm *Collectotrichum sp.*, *Rhizoctonia sp.*, *Rhizopus sp.*, *Sclerotium sp.* của cao chiết lá cỏ tranh, cây diệp hạ châu đắng, lá mua và nystatin.

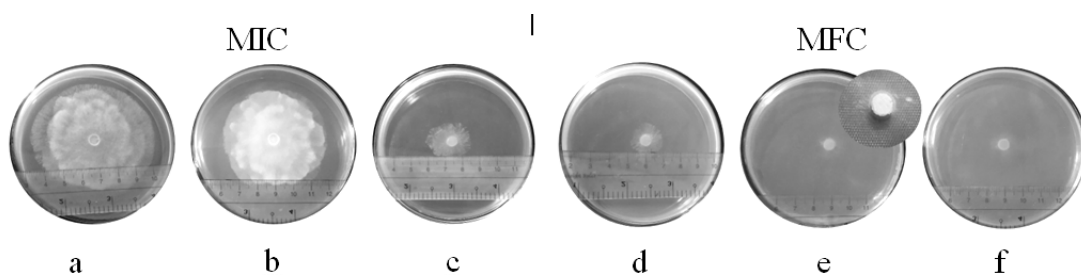
Qua thử nghiệm trong môi trường lỏng đã xác định được giá trị MIC và MFC của cao chiết lá mua và diệp hạ châu trên các chủng nấm *Colletotrichum* sp. (Hình 2), *Rhizopus* sp. (Hình 3), *Rhizoctonia* sp. (Hình 4), *Sclerotium* sp. (Hình 5). Theo Rahman *et al.* (2011) khi sử dụng trái từ cây dầu mè (*Jatropha curcas*) ly trích trong dung môi methanol cho thấy phần trăm ức chế là 46,42% đối với *C. gloeosporioides* ở nồng độ 10 mg/mL. Theo Maigari *et al.* (2017) chiết xuất methanol của bột cây họ trâm bầu

(*Anogeissus leiocarpus*) cho thấy chiết xuất có hoạt tính ức chế nấm *Rhizoctonia* spp. với giá trị MIC là 15,625 mg/mL và MFC là 62,5 mg/mL. Theo Bernadine *et al.* (2015), nghiên cứu trên cây *Mallotus oppositifolius* (họ Euphorbiaceae) với dung môi ethanol trên nấm *Sclerotium rolfsii*. Kết quả tìm được MIC là 6,25 mg/mL và MFC là 12,5 mg/mL. Có thể thấy rằng chiết xuất các cây cùng họ có khả năng làm chậm sự phát triển của tơ nấm và thậm chí là giết chết nấm.



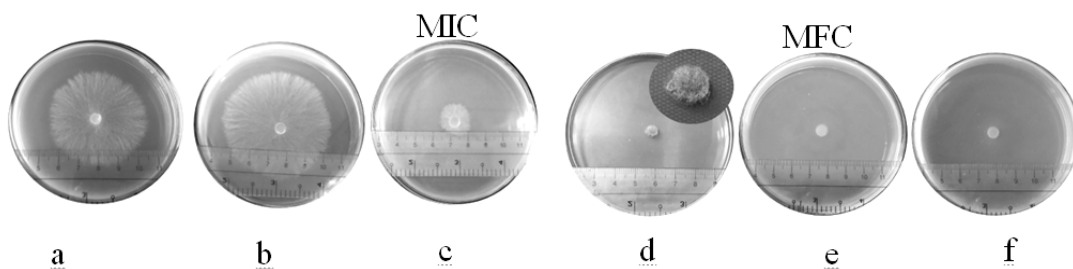
Hình 2. Kết quả xác định MIC của cao chiết lá cây mua với nấm *Colletotrichum* sp.

(a: Đối chứng nền, b: Đối chứng âm, c: 5 mg/mL, d: 10 mg/mL, e: 15 mg/mL)



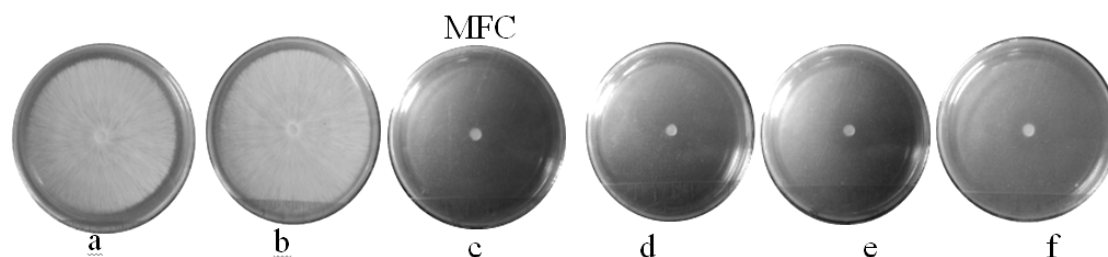
Hình 3. Kết quả xác định MIC và MFC của cao chiết lá cây mua với nấm *Rhizopus* sp.

(a: Đối chứng nền, b: Đối chứng âm, c: 20 mg/mL, d: 40 mg/mL, e: 60 mg/mL, f: 80 mg/mL)



Hình 4. Kết quả xác định MIC và MFC của cao chiết lá cây mua với nấm *Rhizoctonia* sp.

(a: Đối chứng âm, b: Đối chứng nền, c: 5 mg/mL, d: 20 mg/mL, e: 35 mg/mL, f: 50 mg/mL)



Hình 5. Kết quả xác định MFC của cao chiết điệp hạ châu với nấm *Sclerotium sp.*

(a: Đối chứng âm, b: Đối chứng nền, c: 0,25 mg/mL, d: 0,5 mg/mL, e: 0,75 mg/mL, f: 1 mg/mL)

IV. KẾT LUẬN

Khảo sát định lượng cho thấy tất cả cao chiết ba loài thực vật đều có hàm lượng các hợp chất tự nhiên polyphenol, saponin khá cao và hoạt tính kháng oxy hóa với hai phương pháp khử gốc tự do peroxide và ion Fe^{3+} đều mạnh. Các loại cao chiết đều có khả năng ức chế bốn loài nấm sợi gây bệnh cây như *Rhizoctonia sp.*, *Sclerotium sp.*, *Colletotrichum sp.*, *Rhizopus sp.*. Qua đó có thể thấy rằng, các hợp chất tự nhiên có trong các loại cao chiết thực vật cho khả năng ức chế hiệu quả nấm sợi gây bệnh trên cây trồng trong điều kiện in-vitro, đây là tiền đề để dùng cho các nghiên cứu sâu hơn cũng như có thể ứng dụng vào nền nông nghiệp bền vững trong khía cạnh quản lý bệnh hại cây trồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bernadine O. B. A. M., Soro Sibirina, Ouattara Djakalia, N'guessan Edouard Kouakou, Zirih Guédé Noël (2015). Étude ethnobotanique et évaluation in vitro de l'activité antifongique des extraits de feuilles de *Mallotus oppositifolius* sur deux souches phytopathogènes de *Sclerotium rolfsii*. European Scientific Journal vol.11, No.36 ISSN: 1857 - 7881.
- Folin, O. and Ciocalteu, V. (1927). On tyrosine and tryptophan determinations in protein. *Journal of biological chemistry*. 73. 2: 627 - 650.
- Hiai, S., Oura, H., and Nakajima, T. (1976). Color reaction of some sapogenins and saponins with vanillin and sulphuric acid. *Plana Medica*.29: 116 - 122.
- Jiang, Xiaodong, K. Feng and X. Yang (2015). In vitro antifungal activity and mechanism of action of tea polyphenols and tea saponin against *Rhizopus stolonifer*. *Journal of molecular microbiology and biotechnology*, 25.4: 269 - 276.
- Khan, Z.S. and S. Nasreen. (2010). Phytochemical analysis, antifungal activity and mode of action of methanol extracts from plants against pathogens. *Journal of Agricultural Technology*, 6. 4: 793 - 805.
- Makovitzki, A., Viterbo, A., Brotman, Y., Chet, I., & Shai, Y. (2007). Inhibition of fungal and bacterial plant pathogens in vitro and in planta with ultrashort cationic lipopeptides. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73(20), 6629 - 6636.
- Maigari, A. K., Y. Mukhtar, A. Abubakar and B. Muhammad (2017). Antifungal Activities of *Anogeissus leiocarpus* (African birch) Against *Aspergillus niger* and *Rhizoctonia* species. *International Journal of Health and Pharmaceutical Research*, ISSN 2045 - 4673, 3. 2.
- Mohamed A. E. H. H, Hisashi Matsuda, and Paul W. Pare (2012). *Euphorbia helioscopia*: chemical constituents and biological activities. *International Journal of Phytopharmacology*, 3. 1: 78 - 90.

9. Morrissey, J. P. and A. E. Osbourn (1999). Fungal resistance to plant antibiotics as a mechanism of pathogenesis. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 63. 3. 708 - 724.
10. Nguyễn Thị Hoàng Nữ, Mai Nguyễn Minh Trí, Đoàn Thị Kiều Tiên, Văn Quốc Giang, Huỳnh Kỳ và Nguyễn Thị Thu Nga (2018). Xác định tác nhân gây bệnh thối khô cuống trái cam Soàn (*Citrus sinensis* L.) tại Đồng Tháp. *Tạp chí Khoa học*, Trường Đại học Cần Thơ, tập 54, số 4B: 100 - 107.
11. Nguyễn Thị Ngọc Ngân, Trần Quốc Tuấn và Nguyễn Đắc Khoa (2018). Xác định mầm bệnh hiện diện trên hạt lúa giống IR50404 tại Hậu Giang. *Tạp chí Khoa học*, Trường Đại học Cần Thơ, tập 54, số 1B: 61 - 68.
12. Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44. 6: 307 - 315.
13. Rahate, K. P., R. Padma, N. G. Parvathy, V. Renjith (2013). Quantitative estimation of tannins, phenols and antioxidant activity of methanolic extract of *Imperata cylindrica*. *Int J Res Pharm Sci*, 4. 1: 73 - 7.
14. Rahman, M., S. H. Ahmad, M. T. M. Mohamed and M. Z. A. Rahman (2011). Extraction of *Jatropha curcas* fruits for antifungal activity against anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) of papaya. *African Journal of Biotechnology*, 10. 48: 9796 - 9799.
15. Ruangpan, L. (2004). Minimal inhibitory concentration (MIC) test and determination of antimicrobial resistant bacteria. In *Laboratory manual of standardized methods for antimicrobial sensitivity tests for bacteria isolated from aquatic animals and environment*. 31 - 55.
16. Sahan, Y. (2011). Effect of *Prunus laurocerasus* L. (cherry laurel) leaf extracts on growth of bread spoilage fungi. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 17.1: 83 - 92.
17. Tzortzakis, N. G., and Economakis, C. D. (2007). Antifungal activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.) essential oil against key postharvest pathogens. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8. 2: 253 - 258.
18. Yadav, R. N. S. and M. Agarwala (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of phytology*, 3. 12: 10 - 14.
19. Zabka M., Pavela R. (2013). Antifungal efficacy of some natural phenolic compounds against significant pathogenic and toxinogenic filamentous fungi. *Chemosphere* 93: 1051 - 1056.

ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ CỦA CHẾ PHẨM SINH HỌC TỪ VI KHUẨN *Bacillus* sp. TRONG QUẢN LÝ BỆNH ĐỐM NÂU DO NẤM *Neoscytalidium dimidiatum* TRÊN THANH LONG

Đỗ Hoàng Duy¹ và Trần Vũ Phấn²

¹ Học viên cao học ngành Bảo vệ thực vật
Trường Đại học Cần Thơ

² Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

ABSTRACT

Evaluation of bioformulation from *Bacillus* sp. for the management of brown spot disease caused by *Neoscytalidium dimidiatum* in dragon fruit

The study was conducted in nethouse condition of College of Agriculture, Can Tho University and field condition at Chau Thanh District, Dong Thap Province to assess the control effect of bioformulation from *Bacillus*-B61 for brown spot disease caused by *Neoscytalidium dimidiatum* on dragon fruit. In net house conditions, the bioformulation from 10^6 - 10^8 cfu/ml with two sprays (before and after pathogen inoculation) had good control effect on brown spot disease at 3, 5, 7, 10 days after pathogen inoculation. Under field conditions, the formulation (10^6 cfu/ml), effectively inhibits the development of the brown spot fungal pathogen, reach the same effect as treated by Nativo 750WG at 7, 10 and 14 days after treatments.

Keywords: *Bacillus*, bioformulation, brown spot disease, dragon fruit, *Neoscytalidium dimidiatum*.

I. GIỚI THIỆU

Diện tích trồng thanh long (*Hylocereus undulatus*) ở Việt Nam đến năm 2019 đạt khoảng 53 ngàn ha, với các vùng chuyên canh quy mô lớn, tập trung ở các tỉnh như Bình Thuận, Tiền Giang và Long An (Hội nghị Phát triển cây ăn quả phía Nam, 15/3/2019). Bệnh đốm nâu do nấm *Neoscytalidium dimidiatum*, bộc phát gây hại nặng trên thanh long từ năm 2012 (Phan Thị Thu Hiền và *ctv.*, 2014) và hiện

nay vẫn là nguyên nhân gây thất thu nghiêm trọng ở các vùng trồng thanh long. Để phòng trị bệnh đốm nâu, nông dân chủ yếu sử dụng biện pháp hóa học để phòng trị bệnh mà chưa có biện pháp quản lý an toàn hơn (Chau Quanh Na, 2015). Việc sử dụng thuốc hóa học đôi khi không mang lại hiệu quả do nông dân thường phát hiện bệnh ở giai đoạn muộn (Nguyễn Thành Hiếu và Nguyễn Văn Hòa, 2014). Mặt khác, các nước nhập khẩu thanh long có yêu cầu ngày càng cao hơn về dư lượng thuốc bảo vệ thực vật cho phép (Bộ Công thương, 2018). Từ đó, biện pháp phòng

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

trừ sinh học bằng vi sinh vật có lợi, bao gồm vi khuẩn thuộc chi *Bacillus* được quan tâm nhằm tìm ra giải pháp tiềm năng có thể thay thế nhằm hạn chế thiệt hại của bệnh đốm nâu gây ra trên thanh long, và thân thiện hơn với sức khỏe con người và môi trường (Cawoy *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2012; Hà Thị Thúy và ctv., 2016; Trần Vũ Phấn và ctv., 2017; Đỗ Thị Thanh Dung và ctv., 2018). Tuy nhiên, chưa có nhiều ứng dụng các tác nhân phòng trừ sinh học này ở điều kiện ngoài đồng được báo cáo. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả kiểm soát của chế phẩm từ chủng vi khuẩn *Bacillus-B61* đối với bệnh đốm nâu trên thanh long.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được thực hiện từ 10/2018 - 03/2019, ở điều kiện nhà lưới Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ và ngoài đồng tại huyện Châu Thành, tỉnh Đồng Tháp.

2.1. Đánh giá hiệu lực đối với bệnh đốm nâu trên cành thanh long của chế phẩm *Bacillus-B61* ở điều kiện nhà lưới

Thí nghiệm thực hiện trong điều kiện nhà lưới tại Trường Đại học Cần Thơ, được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, với 10 nghiệm thức, 4 lần lặp lại (một chậu thanh long).

Bảng 1. Các nghiệm thức trong thí nghiệm

Ký hiệu	Nghiệm thức	Cách xử lý	Mật số/Nồng độ
NT1	PT	Phun chế phẩm (CP) 1 ngày trước khi chủng bệnh	10 ⁶ CFU
NT2	2 giờ SKCB	Phun CP khoảng 2 giờ sau khi chủng bệnh	10 ⁶ CFU
NT3	PS	Phun CP 1 ngày sau khi chủng bệnh	10 ⁶ CFU
NT4	PTS	Phun CP 1 ngày trước và 1 ngày sau chủng bệnh	10 ⁶ CFU
NT5	PT	Phun chế phẩm (CP) 1 ngày trước khi chủng bệnh	10 ⁸ CFU
NT6	2 giờ SKCB	Phun CP khoảng 2 giờ sau khi chủng bệnh	10 ⁸ CFU
NT7	PS	Phun CP 1 ngày sau khi chủng bệnh	10 ⁸ CFU
NT8	PTS	Phun CP 1 ngày trước và 1 ngày sau chủng bệnh	10 ⁸ CFU
NT9	ĐC (+)	Nativo 750WG (đối chứng dương)	Khuyến cáo
NT10	ĐC (-)	Nước cất vô trùng (đối chứng âm)	Đủ ẩm

2.2.2. Chuẩn bị thí nghiệm

Sử dụng giống thanh long ruột đỏ, trồng một hom giống/chậu (kích thước 25 × 25 cm, chứa 4 kg đất mặt ruộng, phơi khô). Từ khi cây bén rễ (1 tháng sau khi trồng), bón 5 g NPK (20 - 20 - 15)/chậu/lần (Nguyễn Văn Kế, 2014), sau đó mỗi nửa tháng bón bổ sung. Khi chồi

phát triển dài 15 - 20 cm được buộc vào trụ để nhánh phát triển thẳng.

Huyền phù bào tử nấm *N. dimidiatum* (thu sau 4 - 5 ngày nuôi trên môi trường PDA (Atlas, 2010) trong đĩa Petri, ở điều kiện nhiệt độ 25°C) và được pha loãng về mật số 10⁶ bào tử/ml khi xử lý lây nhiễm bệnh.

Chế phẩm CP-B61 từ vi khuẩn *Bacillus* sp. cung cấp bởi phòng thí

nghiệm (Nguyễn Quan Sớm, 2018), pha thành huyền phù có bổ sung chất bám dính Visilon (0,15%) khi xử lý.

Cách tiến hành:

Lây bệnh nhân tạo (không tạo vết thương) bằng cách phun ướt đều cành thanh long (đã đánh dấu), với huyền phù bào tử *N. dimidiatum* (10^6 bào tử/ml) vào lúc chiều mát.

Xử lý chế phẩm từ vi khuẩn *Bacillus* spp. (mật số 10^8 hoặc 10^6 cfu/ml) bằng cách phun đều lên cành đã được đánh dấu, tùy theo nghiệm thức, phun lần hai khi bệnh phát triển trở lại.

Thuốc hóa học Nativo 750WG: Xử lý theo nồng độ khuyến cáo, được xử lý vào 1 ngày sau khi lây bệnh và phun lặp lại khi bệnh phát triển trở lại.

Chỉ tiêu ghi nhận: Ghi nhận số vết bệnh ban đầu và số vết bệnh mới trên cành thanh long đã đánh dấu vào các thời điểm 3, 5, 7, 10 ngày sau khi lây nhiễm bệnh.

Đánh giá hiệu quả giảm số vết bệnh H (HQGSVB) theo công thức:

$$H = \left(\frac{C - T}{C} \right) \times 100$$

Trong đó:

C: Số vết bệnh mới nghiệm thức đối chứng âm.

T: Số vết bệnh mới nghiệm thức vi khuẩn hoặc thuốc.

Đo đường kính phát triển của vết bệnh vào các thời điểm lấy chỉ tiêu, tính chỉ số bệnh.

2.2.3. Đánh giá hiệu lực phòng trị bệnh đốm nâu trên trái thanh long của chế phẩm CP-B61 ở điều kiện ngoài đồng

Được thực hiện từ 01/2019, trên vườn thanh long ruột đỏ 1,8 năm tuổi tại ấp An Thạnh, xã An Phú Thuận, huyện Châu Thành, tỉnh Đồng Tháp. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức khối hoàn toàn ngẫu nhiên, với 4 lặp lại (1 trụ/lặp lại), gồm 4 nghiệm thức: chế phẩm *Bacillus* sp. (10^6 cfu/ml), *Trichoderma* spp. (10^6 cfu/ml), thuốc Nativo 750WG và đối chứng không xử lý.

Cách tiến hành:

Loại trừ bột mầm bệnh qua xén tia cành, vệ sinh đồng ruộng, cắt cành non trên toàn vườn. Để tự nhiên, không lây bệnh trên cây thanh long.

Xử lý chế phẩm *Bacillus* sp.: Vào các thời điểm 1, 3, 7 và 10 ngày (mật số vi khuẩn *Bacillus*: 10^6 cfu/ml + chất bám dính Visilon nồng độ 0,5%) 1,5 lít/trụ thanh long.

Chỉ tiêu ghi nhận:

Chọn và đánh dấu 5 cành mang trái/5 hướng khác nhau/trụ, đếm số vết bệnh mới trên cành và trái thanh long vào các thời điểm 0, 3, 7, 10, 14 ngày sau khi xử lý tác nhân phòng trị bệnh.

Tính hiệu quả giảm số vết bệnh trên cành và trái của các nghiệm thức so với đối chứng âm (không xử lý), theo công thức Henderson - Tilton (1955).

Đánh giá hiệu quả giảm số vết bệnh (HQGSVB) theo công thức:

$$H = 100 \left(1 - \frac{T_a \times C_b}{T_b \times C_a} \right)$$

Trong đó:

H: Hiệu quả giảm số vết bệnh

T_a/T_b: Số vết bệnh sau/trước khi xử lý của nghiệm thức có xử lý.

C_a/C_b: Số vết bệnh sau/trước khi xử lý của nghiệm thức đối chứng.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Office Excel. Phân tích phương

sai ANOVA, dùng phép thử Duncan để so sánh khác biệt giữa các nghiệm thức bằng phần mềm MSTAT-C.

III. KẾT QUẢ THẢO LUẬN

3.1. Hiệu quả phòng trị bệnh đốm nâu trên cành thanh long của chế phẩm sinh học từ vi khuẩn *Bacillus* sp. trong điều kiện nhà lưới

* Số vết bệnh mới:

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy có sự khác biệt thống kê về số vết bệnh mới giữa các nghiệm thức ở mức ý nghĩa 1%.

Bảng 2. Số vết bệnh mới trên cành thanh long của các nghiệm thức tại thời điểm khảo sát

Nghiệm thức	Số vết bệnh mới/cành thanh long qua các thời điểm khảo sát			
	3 NSLB	5 NSLB	7 NSLB	10 NSLB
CP-B61 10 ⁶ (PT)	1,5 ^b	1,3 ^{bc}	1,8 ^b	0,5 ^b
CP-B61 10 ⁶ (2 giờ SKCB)	2,0 ^b	1,3 ^{bc}	1,3 ^{bc}	1,3 ^b
CP-B61 10 ⁶ (PS)	1,5 ^b	1,5 ^b	2,0 ^b	0,8 ^b
CP-B61 10 ⁶ (PTS)	1,0 ^b	0,5 ^{bc}	1,3 ^{bc}	0,5 ^b
CP-B61 10 ⁸ (PT)	1,3 ^b	1,0 ^{bc}	1,3 ^{bc}	0,5 ^b
CP-B61 10 ⁸ (2 giờ SKCB)	1,3 ^b	1,5 ^b	1,3 ^{bc}	0,8 ^b
CP-B61 10 ⁸ (PS)	1,8 ^b	1,3 ^{bc}	1,5 ^b	0,5 ^b
CP-B61 10 ⁸ (PTS)	1,0 ^b	0,3 ^c	1,0 ^{bc}	0,3 ^b
Nativo 750WG (Đ/C +)	1,5 ^b	1,0 ^{bc}	0,3 ^c	0,5 ^b
Đối chứng nước (Đ/C -)	6,3 ^a	6,5 ^a	6,8 ^a	6,0 ^a
CV (%)	33,29	41,14	37,76	55,00
Ý nghĩa F tính	**	**	**	**

Ghi chú:

- Các trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một hay những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê trong phép thử Duncan's.

- **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; NSLB: Ngày sau lây nhiễm bệnh.

- ĐC +: Đối chứng dương; Đối chứng âm: Nước cất.

Qua các thời điểm khảo sát, tất cả các nghiệm thức đều biểu hiện vết bệnh mới ở các mức độ khác nhau, tuy nhiên do thí nghiệm vào thời điểm ít mưa, nên áp lực bệnh không cao và có khuynh hướng tăng

theo thời gian, nhưng giảm thấp hơn ở thời điểm 7NSXL. Số vết bệnh mới ở các nghiệm thức được xử lý với chế phẩm hoặc thuốc Nativo dao động từ 0,3 - 2,0 thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với

nghiệm thức đối chứng âm, biến động trong khoảng 6,0 - 6,8. Không có sự khác biệt có ý nghĩa về số vết bệnh mới giữa hai mật số và các cách xử lý khác nhau.

Như vậy, các nghiệm thức được xử lý đều có số vết bệnh mới thấp hơn so với đối chứng, cho thấy chế phẩm sinh học có khả năng ức chế hiệu quả bệnh đốm nâu trên cành thanh long.

*** Hiệu quả giảm số vết bệnh:**

Kết quả trình bày ở Bảng 3 cho thấy, tất cả các nghiệm thức xử lý với chế phẩm

Bacillus sp., thuốc Nativo 750WG đều có hiệu quả giảm số vết bệnh từ 67,92 - 90,41% khác biệt ý nghĩa với đối chứng âm ở mức 1% ở các thời điểm.

Ở một vài thời điểm khảo sát (5, 7 và 10 NSXL), hai nghiệm thức CP-B61 10^6 hoặc CP-B61 10^8 , phun kết hợp (PTS) đều cho hiệu quả giảm số vết bệnh tốt hơn khi chỉ được xử lý 1 lần (PT, PS, hoặc 2 giờ sau khi lây nhiễm bệnh, tuy nhiên không khác biệt giữa hai mật số xử lý.

Bảng 3. Hiệu quả giảm số vết bệnh (HQGSVB) trên cành thanh long

Nghiệm thức	HQ giảm số vết bệnh/cành (%) qua các thời điểm			
	3 NSLB	5 NSLB	7 NSLB	10 NSLB
CP-B61 10^6 (PT)	76,25 ^{abc}	78,65 ^{bc}	76,73 ^{cd}	80,36 ^{cd}
CP-B61 10^6 (2 giờ SKCB)	67,92 ^c	74,65 ^c	77,22 ^{cd}	77,78 ^d
CP-B61 10^6 (PS)	76,25 ^{abc}	76,73 ^{bc}	74,10 ^d	77,40 ^d
CP-B61 10^6 (PTS)	83,54 ^a	88,45 ^a	85,85 ^{ab}	87,28 ^{ab}
CP-B61 10^8 (PT)	80,42 ^{ab}	82,30 ^b	81,69 ^{bc}	84,36 ^{bc}
CP-B61 10^8 (2 giờ SKCB)	80,42 ^{ab}	78,65 ^{bc}	79,58 ^{cd}	81,44 ^{cd}
CP-B61 10^8 (PS)	71,25 ^{bc}	76,31 ^{bc}	76,97 ^{cd}	80,65 ^{cd}
CP-B61 10^8 (PTS)	83,54 ^a	90,37 ^a	89,01 ^a	90,41 ^a
Nativo 750WG (Đ/C +)	76,25 ^{abc}	80,74 ^{bc}	86,13 ^{ab}	87,49 ^{ab}
Đối chứng nước (Đ/C -)	0 ^d	0 ^d	0 ^e	0 ^e
CV%	9,99	5,29	5,28	3,80
Ý nghĩa F tính	**	**	**	**

Ghi chú:

- Các trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một hay những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê trong phép thử Duncan's.
- **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; NSLB: Ngày sau khi lây nhiễm bệnh.
- Hiệu quả giảm số vết bệnh được chuyển sang arsin khi phân tích thống kê.
- Đối chứng dương: Thuốc Nativo 750WG; Đối chứng âm: Nước cất vô trùng.

Kết quả HQGSVB qua các thời điểm khảo sát cho thấy các nghiệm thức cho khả năng ức chế sự phát triển của bệnh đốm nâu ở các mức độ khác nhau, trong

biện pháp xử lý kết hợp (PTS) 2 lần phun cách nhau 3 ngày thường cho hiệu quả kiểm soát bệnh tốt hơn, dao động từ 87,28 - 90,41%, tuy nhiên không phụ thuộc rõ

vào mật số vi khuẩn được xử lý. Hiệu quả giảm số vết bệnh của CP-B61 cao tương đương với khi được xử lý với thuốc Nativo 750WG ở nồng độ 0,3‰.

*** Đường kính vết bệnh:**

Kết quả trình bày ở Bảng 4 cho thấy đường kính vết bệnh ở thời điểm 7 NSXL giữa các nghiệm thức chỉ 1 mm, tương

đương nhau nhưng đều nhỏ hơn so với đối chứng âm (1,5 mm).

Ở thời điểm 10 NSXL, đường kính vết bệnh có khuynh hướng tăng nhưng vẫn không khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức được xử lý CP-B61 hoặc thuốc Nativo 750WP, biến động trong khoảng 1,0 - 1,3 mm, nhưng đều nhỏ hơn so với đối chứng âm (2,5 mm).

Bảng 4. Đường kính vết bệnh trên cành thanh long tại các thời điểm khảo sát

Nghiệm thức	Đường kính vết bệnh/cành (mm) qua các thời điểm khảo sát	
	7 NSLB	10 NSLB
CP-B61 10 ⁶ (PT)	1,0 ^b	1,3 ^b
CP-B61 10 ⁶ (2 giờ SKCB)	1,0 ^b	1,3 ^b
CP-B61 10 ⁶ (PS)	1,0 ^b	1,3 ^b
CP-B61 10 ⁶ (PTS)	1,0 ^b	1,0 ^b
CP-B61 10 ⁸ (PT)	1,0 ^b	1,0 ^b
CP-B61 10 ⁸ (2 giờ SKCB)	1,0 ^b	1,3 ^b
CP-B61 10 ⁸ (PS)	1,0 ^b	1,0 ^b
CP-B61 10 ⁸ (PTS)	1,0 ^b	1,0 ^b
Nativo 750WG (Đ/C +)	1,0 ^b	1,5 ^b
Đối chứng nước (Đ/C -)	1,5 ^a	2,5 ^a
CV%	17,39	31,40
Ý nghĩa F tính	**	**

Ghi chú: - Các trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một hay những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê trong phép thử Duncan's.

- **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; NSLB: Ngày sau khi lây nhiễm bệnh.

Các kết quả trên có thể thấy khi được xử lý cách nhau 3 ngày (thời gian từ xử lý PT đến PS), với mật số 10⁶ cfu/ml, chế phẩm CP-B61 cho hiệu quả kiểm soát bệnh đốm nâu trong điều kiện nhà lưới và được ứng dụng cho thí nghiệm ngoài đồng.

3.2. Hiệu quả phòng trị bệnh đốm nâu trên trái thanh long của CP-B61 ở điều kiện ngoài đồng

*** Số vết bệnh mới trên trái:**

Thí nghiệm được thực hiện vào mùa nắng (cận Tết Nguyên Đán 2019), tuy nhiên, vườn có sử dụng hệ thống tưới

phun tự động (tưới 2 ngày/lần, trung bình 15 phút/lần tưới), nên ẩm độ tương đối cao và khi tiến hành thí nghiệm, vườn thanh long đang trong giai đoạn mang trái (20 - 22 ngày tuổi), đang nhiễm bệnh đốm nâu, tương đối đồng đều giữa các nghiệm thức.

Kết quả từ Bảng 5 cho thấy qua các thời điểm khảo sát, số vết bệnh mới ở các nghiệm thức xử lý tương đương nhau, dao động trong khoảng 0,53 - 1,1, và đều thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với đối chứng (4,2 - 7,68 vết bệnh).

Bảng 5. Số vết bệnh mới trên trái thanh long của các nghiệm thức tại thời điểm khảo sát

Nghiệm thức	Số vết bệnh mới/trái thanh long qua các thời điểm khảo sát			
	3 NSKXL	7 NSKXL	10 NSKXL	14 NSKXL
CP-B61 (10 ⁶)	0,65 ^b	0,18 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b
<i>Trichoderma</i> spp.	0,53 ^b	0,63 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b
Nativo 750WG (Đ/C +)	1,10 ^b	0,25 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b
Đối chứng nước (Đ/C -)	7,68 ^a	5,93 ^a	5,78 ^a	4,20 ^a
CV%	32,92	54,89	45,28	22,34
Ý nghĩa F tính	**		**	**

Ghi chú:

- Các trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một hay những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê trong phép thử Duncan's.

- **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; NSKXL: Ngày sau khi xử lý tác nhân phòng trị.

Quan sát ở 10 và 14 NSXL, các nghiệm thức *Bacillus* sp. 10⁶, *Trichoderma* spp. và Nativo 750WG đều không có vết bệnh mới xuất hiện trên trái thanh long, trong khi ở đối chứng (4,20). trái thanh long 20 ngày tuổi, khi được xử lý với chế phẩm sinh học CP-B61 (10⁶ cfu/ml) vào 1, 3, 7 và 10 ngày có hiệu quả ngăn sự hình thành

vết bệnh mới trên trái thanh long cho đến thu hoạch.

*** Hiệu quả giảm số vết bệnh:**

Qua kết quả Bảng 6 cho thấy tất cả các nghiệm thức xử lý có HQGSVB tương đương nhau và tăng qua các thời điểm xử lý, dao động từ 38,8 - 75,89%.

Bảng 6. Hiệu quả (%) giảm số vết bệnh trên trái thanh long tại các thời điểm khảo sát

Nghiệm thức	HQ giảm số vết bệnh/trái (%) qua các thời điểm khảo sát			
	3 NSXL	7 NSXL	10 NSXL	14 NSXL
CP-B61 (10 ⁶)	49,95 ^a	62,81 ^a	71,73 ^a	75,89 ^a
<i>Trichoderma</i> spp.	43,58 ^a	47,13 ^b	59,79 ^b	65,68 ^b
Nativo 750WG (Đ/C +)	38,80 ^a	53,18 ^{ab}	64,34 ^{ab}	69,60 ^{ab}
Đối chứng nước (Đ/C -)	0 ^b	0 ^c	0 ^c	0 ^c
CV%	30,18	19,25	11,13	8,72
Ý nghĩa F tính	**	**	**	**

Ghi chú:

- Các trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một hay những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê trong phép thử Duncan's.

- **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; NSXL: Ngày sau xử lý tác nhân phòng trị.

- Hiệu quả giảm số vết bệnh được chuyển sang arsin khi phân tích thống kê.

Ở thời điểm 3 NSXL, các nghiệm thức *Bacillus* sp. 10⁶, *Trichoderma* spp. và Nativo 750WG cho hiệu quả giảm số vết bệnh từ 38,8 - 49,95%, tương đương nhau.

Ở các thời điểm từ 7 NSXL, HQGSVB của hai nghiệm thức CP-B61 (10⁶) và *Trichoderma* spp. tương đương với thuốc hóa học Nativo 750WG, dao động từ 47,13 - 62,81%, tuy nhiên, *Bacillus* sp. 10⁶ (62,81 - 75,89%) cho hiệu quả cao hơn *Trichoderma* spp. (47,13 - 69,6%).

Chủng vi khuẩn *Bacillus*-B61 có đối kháng tốt với nấm *N. dimidiatum*, với bán kính vành khăn vô khuẩn đạt 7,75 mm, với hiệu suất đối kháng đạt 67,96%, vào 4 ngày sau thử nghiệm. Khi được xử lý dưới dạng huyền phù (10⁶ cfu/ml) *Bacillus*-B61 giúp giảm rõ số vết bệnh đốm nâu trên cành và trái thanh long (Trần Vũ Phấn và ctv., 2017). Chế phẩm sinh học từ dạng bột hòa nước của chủng *Bacillus*-B61 có mật số từ 10⁹ CFU/g dưới dạng nội bào tử, có bán kính vòng khăn vô khuẩn đạt 12,00 mm, với hiệu suất đối kháng 47,97% vào 3 ngày sau thử nghiệm (Nguyễn Quan Sớm, 2018). Nấm *Trichoderma* spp. cũng là tác nhân triển vọng trong phòng trừ sinh học bệnh đốm nâu trên thanh long (Lê Tấn Triển, 2017; Rusmarini *et al.*, 2017). Trong nghiên cứu này, các tác nhân xử lý đều cho hiệu quả ức chế sự phát triển của bệnh đốm nâu. Trong đó, chế phẩm CP-B61 khi được xử lý 4 lần (10⁶ cfu/ml) vào 1, 3, 7 và 10 ngày trên trái thanh long 20 ngày tuổi, có hiệu quả ngăn sự hình thành vết bệnh mới trên trái thanh long cho đến thu hoạch.

Hiệu quả của chế phẩm từ *Bacillus* sp. (10⁶ cfu/ml) tăng khi được xử lý bổ sung và duy trì được hiệu quả đến 75,89% vào

14 NSXL, tương đương với Nativo 750WG (0,3%).

IV. KẾT LUẬN

Chế phẩm CP-B61 (chủng *Bacillus*-B16 khi xử lý 3 ngày/lần, từ mật số 10⁶ cfu/ml, cho hiệu quả kiểm soát bệnh đốm nâu do nấm *N. dimidiatum* trên thanh long trong điều kiện nhà lưới.

Ở điều kiện ngoài đồng, chế phẩm sinh học CP-B61 khi được xử lý ở mật số 10⁶ cfu/ml vào các thời điểm 1, 3, 7 và 10 ngày có hiệu quả tốt kiểm soát bệnh đốm nâu trên trái thanh long

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Atlas R. M. (2010). Handbook of Microbiological media, 4th Edition. CRC Press.
2. Bộ Công thương, 2018. Bản tin Thị trường nông, lâm, thủy sản - số ra ngày 20/6/2018. <http://moit.gov.vn/web/guest/tin-chi-tiet/-/chi-tiet/ban-tin-nong-lam-thuy-san-so-ra-ngay-20-6-2018-12161-1701.html>, truy cập 24/8/2018.
3. Cawoy, H., Bettiol, W., Fickers, P., & Ongena, M. (2011). *Bacillus* - Based Biological Control of Plant Diseases. Pesticides in the Modern World - Pesticides Use and Management, pp. 273 - 302.
4. Chau Quanh Na, 2015. Điều tra và giám định bệnh hại trên thanh long tại huyện Châu Thành tỉnh Long An. Luận văn Tốt nghiệp Đại học, ngành Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ.
5. Đỗ Thị Thanh Dung, Lê Thanh Bình, Viên Thị Thanh Trúc, Võ Đình Quang, 2018. Khả năng đối kháng của vi khuẩn *Bacillus* sp. với vi nấm *Neoscytalidium dimidiatum* gây bệnh đốm trắng trên thanh long. Tạp chí Khoa học - Trường ĐHTSP Tp. Hồ Chí Minh, Tập 15, Số 12: 32 - 42.
6. Hà Thị Thúy, Lương Hữu Thành, Vũ Thúy Nga, Hứa Thị Sơn, Tống Hải Vân, 2016. Tuyển chọn chủng vi sinh vật có khả năng ức

- chế nấm *Neoscytalidium dimidiatum* gây bệnh đốm nâu thanh long. Hội thảo Quốc gia về Khoa học cây trồng lần thứ 2, Nhà xuất bản Nông nghiệp, tr. 1167 - 1172.
7. Lê Tấn Triển, 2017. Khảo sát khả năng phòng trị bệnh đốm nâu do nấm *Neoscytalidium dimidiatum* trên cây thanh long của các chủng nấm *Trichoderma* spp. Luận văn Tốt nghiệp Cao học ngành Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ, 68 trang.
 8. Nguyễn Quan Sớm, 2018. Nghiên cứu tạo chế phẩm dạng bột từ vi khuẩn *Bacillus* spp. và hiệu quả đối với bệnh đốm nâu thanh long do nấm *Neoscytalidium dimidiatum* trong điều kiện phòng thí nghiệm. Luận văn Tốt nghiệp Đại học ngành Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ.
 9. Nguyễn Thành Hiếu, Nguyễn Văn Hòa, 2014. Tình hình dịch hại trên thanh long và kết quả nghiên cứu của Viện Cây ăn quả Miền Nam trong thời gian qua. Bài tham luận của Hội thảo khoa học "Phát triển toàn diện theo hướng hiện đại cây thanh long tỉnh Long An", do Sở Khoa học Công nghệ tỉnh Long An tổ chức tại Hội trường UBND tỉnh Long An.
 10. Nguyễn Văn Ké, 2003. Kỹ thuật trồng thanh long. Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh. Nhà xuất bản Nông nghiệp Tp. Hồ Chí Minh.
 11. Nguyễn Văn Ké, 2014. Cây ăn quả nhiệt đới: Giống - Kỹ thuật trồng và chăm sóc một số cây đặc sản. NXB Nông nghiệp, 304 trang.
 12. Phan Thị Thu Hiền, Nguyễn Thị Huyền, Đinh Thị Ánh Tuyết, Võ Thị Ngọc Liễu, Cao Thị Mỹ Loan, Võ Thị Thu Oanh và Lê Đình Đôn, 2014. Nghiên cứu định danh và khảo sát đặc điểm sinh học của tác nhân gây bệnh đốm trắng hại thanh long (*Hylocereus undatus*). Hội thảo Quốc gia Bệnh hại thực vật Việt Nam, 181 - 190.
 13. Rusmarini W., Umi Kalsom Md Shah, Mohd Puad Abdullah, Suhaila Mamat, Tan Geok Hun, 2017. Identification of *Trichoderma harzianum* T3.13 and its interaction with *Neoscytalidium dimidiatum* U1, a pathogenic fungus isolated from dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia. International Journal of Agriculture and Environmental Research 03 (03): 3205 - 3228.
 14. Trần Vũ Phấn và ctv., 2017. Nghiên cứu sự phát sinh, phát triển và khả năng phòng trị bệnh đốm nâu (do nấm *Neoscytalidium dimidiatum* (Penz.) Crous & Slipper) trên thanh long (*Hylocereus undatus*) bằng biện pháp sinh học với nấm *Trichoderma* spp. và vi khuẩn *Bacillus* spp. tại Châu Thành, Long An. Báo cáo KQNC đề tài khoa học cấp cơ sở.

HIỆU QUẢ CỦA DỊCH TRÍCH NGHỆ (*Curcuma longa*) ĐẾN BỆNH THÁN THƯ DO NẤM *Colletotrichum capsici* TRÊN CÂY ỚT

Võ Thị Hương Dương, Huỳnh Văn Sáng

Trường Đại học An Giang

ABSTRACT

Effects of turmeric (*Curcuma longa*) extracts on anthracnose of pepper caused by *Colletotrichum capsici*

The research was conducted to determine solvents and concentration of turmeric extracts that have ability to inhibit of fungal growth and control efficacy on anthracnose pepper caused by *Colletotrichum capsici*. The first experiment was carried out in laboratory; followed randomize complete design with 8 treatments: three concentrations of turmeric extract in alcohol 70° solvent (10%, 15% and 20%), three concentrations of turmeric extract in distilled water solvent (10%, 15% and 20%), two treatments for controlling were distilled water and Topsin M. This study shows that active ingredients in turmeric, which inhibit fungi, dissolve in alcohol 70° solvent as well as in distilled water solvent. Turmeric extract at 20% concentration have higher effect on fungal growth, spore germination than turmeric 10% and distilled water. The second experiment was carried out in greenhouse; followed randomize complete design with 8 treatments: two turmeric extracts at 20% concentration in alcohol/water solvent apply before spraying fungi; two turmeric extracts at 20% concentration in alcohol/water solvent apply after spraying fungi; apply Topsin before/after spraying fungi and controlling was distilled water. Results shows that turmeric extract at 20% suppression of pepper anthracnose disease. Besides, spraying turmeric extract at 20% for preventing was better than treating disease.

Keywords: Turmeric extracts, solvent, pepper, *Colletotrichum capsici*.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây ớt là một loại rau gia vị có giá trị kinh tế cao, được trồng phổ biến trên cả nước. Tuy nhiên ớt thường bị nhiễm một số bệnh ảnh hưởng tới năng suất phẩm chất của trái sau thu hoạch. Trong đó bệnh thán thư là một bệnh thường gặp và gây

hại nghiêm trọng nhất đối với quả ớt. Tỷ lệ bệnh ở những ruộng bệnh nặng có thể lên tới 70% (Vũ Triệu Mân, 2007).

Một trong những biện pháp phòng trị bệnh chủ yếu hiện nay là sử dụng thuốc hoá học. Việc làm này gây ra những mặt tiêu cực rất lớn như ô nhiễm môi trường, dư lượng thuốc bảo vệ thực vật trong sản phẩm nông nghiệp ảnh hưởng đến sức

Người phân biên: TS. Nguyễn Thị Thanh Xuân.

khỏe con người và vật nuôi. Bên cạnh đó, biện pháp hoá học cũng dễ tập áp lực cho mầm bệnh phát sinh nội mới kháng thuốc và làm phá vỡ cân bằng sinh học trong hệ sinh thái (Maymon và *ctv.*, 2006; Chung và *ctv.*, 2008).

Vì thế trong xu hướng sản xuất nông nghiệp sạch ngày nay thì biện pháp sinh học rất được quan tâm; nhiều nghiên cứu đã sử dụng các dịch trích từ thực vật trong phòng trị bệnh cây. Nghiên cứu gần đây đã ghi nhận hoạt chất curcumin có trong nghệ có tác dụng ức chế sự phát triển của nấm bệnh *Colletotrichum capsici* (Jung Young *et al.*, 2006). Tuy nhiên ở Việt Nam việc sử dụng dịch trích trong nghiên cứu phòng trị bệnh thán thư trên ớt lại chưa được quan tâm nhiều. Vì vậy đề tài được thực hiện nhằm tìm ra dung môi và nồng độ dịch trích nghệ có khả năng phòng trị bệnh thán thư trên cây ớt.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thí nghiệm 1: Khảo sát khả năng ức chế của dịch trích nghệ đến sự phát triển nấm *Colletotrichum capsici* trên môi trường PDA

Thí nghiệm tiến hành nhằm xác định được loại dung môi hòa tan và nồng độ dịch trích nghệ có khả năng ức chế sự phát triển nấm *Colletotrichum capsici*.

Thí nghiệm bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 8 nghiệm thức với 5 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại tương ứng với 2 đĩa petri. Các công thức thí nghiệm bao gồm: dịch trích nghệ trong dung môi nước nồng

độ 10% (Nước 10%), 15% (Nước 15%), 20% (Nước 20%), dịch trích nghệ trong dung môi cồn nồng độ 10% (Cồn 10%), 15% (Cồn 15%), 20% (Cồn 20%), đối chứng nước cất thanh trùng và đối chứng thuốc Topsin M 70WP (theo nồng độ khuyến cáo).

- Môi trường PDA sau khi thanh trùng được đổ vào đĩa bằng cách dùng micropipet hút với liều lượng 10 ml cho vào mỗi đĩa petri.

- Dịch trích nghệ trong dung môi nước được thu bằng cách xay nhuyễn nghệ trong dung môi nước cất thanh trùng với tỷ lệ 1:1, sau đó đem lọc lấy phần dung dịch bằng giấy lọc Whatman No.1, ta được dịch trích gốc (nồng độ 100%); các nồng độ 10%, 15% và 20% được pha loãng với nước cất thanh trùng. Dịch trích nghệ trong dung môi cồn 70° được thực hiện tương tự bằng cách xay nhuyễn nghệ trong dung môi cồn 70° và pha loãng bằng nước cất thanh trùng.

- Nấm *Colletotrichum* 7 ngày tuổi được cắt với đường kính là 5 mm, sau đó đặt ở tâm đĩa petri. Giấy thấm Whatman No.1 có đường kính 5 mm đã được thanh trùng, nhúng vào dịch trích nghệ hoặc thuốc trừ nấm hoặc nước cất thanh trùng và sau đó đặt vào đĩa cách khoanh nấm 20 mm.

Ghi nhận chỉ tiêu Bán kính khuẩn ty nấm phát triển về phía khoanh dịch trích và đối chứng trong mỗi đĩa petri ở các thời điểm 24, 48, 72, 96 giờ sau khi cấy (SKC),... cho đến khi nấm phát triển đến khoanh đối chứng nước. Từ đó tính hiệu quả ức chế theo công thức:

$$HQ (\%) = (Ddc - Dtt)/(Ddc) \times 100 (\%).$$

Trong đó:

HQ: Hiệu quả ức chế của dịch trích thực vật (hoặc thuốc).

Ddc là bán kính khuẩn lạc nấm bệnh ở nghiệm thức đối chứng (nước cất thanh trùng).

Dtt là bán kính khuẩn lạc nấm bệnh ở nghiệm thức chứa dịch trích (Soytong *et al.*, 2005).

2.2. Thí nghiệm 2: Khảo sát khả năng ức chế của dịch trích nghệ lên sự nảy mầm của bào tử nấm *Colletotrichum capsici*

Thí nghiệm thực hiện nhằm đánh giá được khả năng ức chế của dịch trích nghệ lên sự nảy mầm của bào tử *Colletotrichum capsici*.

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên gồm có 8 nghiệm thức với 4

$$\text{Tỷ lệ nảy mầm (\%)} = \frac{\text{Số bào tử nảy mầm}}{\text{Tổng số bào tử quan sát}} \times 100\%$$

2.3. Thí nghiệm 3: Đánh giá khả năng ức chế của dịch trích nghệ tới bệnh thán thư trên ớt do nấm *Colletotrichum capsici* trong điều kiện nhà lưới

Từ kết quả thí nghiệm 1 và 2 chọn ra được dịch trích nghệ trong dung môi cồn nồng độ 20% và dung môi nước nồng độ 20% có hiệu quả ức chế nấm in-vitro. Trên cơ sở đó chúng tôi tiếp tục bố trí thí nghiệm khảo sát khả năng ức chế bệnh trong điều kiện nhà lưới. Ở thí nghiệm này, ngoài việc khảo sát hiệu quả xử lý dịch trích khác nhau khi phun lên cây, chúng tôi còn bố trí xem thời điểm phun nào (trước hay sau khi lây nhiễm bệnh) có hiệu quả cao hơn.

Thí nghiệm bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 7 nghiệm thức với 4 lần

lặp lại. Các công thức thí nghiệm bao gồm: Dịch trích nghệ trong dung môi nước nồng độ 10% (Nước 10%), 15% (Nước 15%), 20% (Nước 20%), dịch trích nghệ trong dung môi cồn nồng độ 10% (Cồn 10%), 15% (Cồn 15%), 20% (Cồn 20%), đối chứng nước cất thanh trùng và đối chứng thuốc Topsin M 70WP (theo nồng độ khuyến cáo).

- Cách thực hiện:

Huyền phù nấm pha trực tiếp vào dung dịch các nghiệm thức thuốc, nước cất và dịch trích nghệ để cho ra các nồng độ dung dịch 10%, 15% và 20%.

- Ghi nhận số bào tử nảy mầm ở các nghiệm thức sau 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ,... cho đến khi bào tử nảy mầm gần hết trong đĩa đối chứng nước và tính ra tỷ lệ nảy mầm bằng công thức:

lặp lại, mỗi lặp lại là 3 chậu, mỗi chậu trồng 3 cây ớt. Các công thức thí nghiệm gồm: (1) Phun dịch trích nghệ trong dung môi cồn nồng độ 20% trước khi lây nhiễm bệnh (Cồn 20 TLB); (2) Phun dịch trích nghệ trong dung môi nước nồng độ 20% trước khi lây nhiễm bệnh (Nước 20 TLB); (3) Phun thuốc Topsin trước khi lây nhiễm bệnh (Thuốc TLB); (4) Phun dịch trích nghệ trong dung môi cồn nồng độ 20% sau khi lây nhiễm bệnh (Cồn 20SLB); (5) Phun dịch trích nghệ trong dung môi nước nồng độ 20% sau khi lây nhiễm bệnh (Nước 20 SLB); (6) Phun thuốc Topsin sau khi lây nhiễm bệnh (Thuốc SLB); và (7) Đối chứng phun nước cất.

Việc tiến hành lây nhiễm bệnh sẽ được thực hiện khi cây có 7 lá thật bằng

cách phun huyền phù chứa bào tử nấm *Colletotrichum capsici* với mật số 10^5 bào tử/ml ở giai đoạn trước hoặc sau khi phun dịch trích nghệ (tùy nghiệm thức) (Đỗ Văn Sĩ và Lê Minh Tường, 2016). Ghi

nhận số lá bị bệnh vào các thời điểm 7, 9, 11, 13 và 15 ngày sau khi lây bệnh nhân tạo từ đó tính được tỷ lệ bệnh (%) bằng công thức:

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

Số liệu thí nghiệm được ghi nhận và xử lý số liệu bằng chương trình Excel và phần mềm SPSS 20.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Khả năng ức chế của dịch trích nghệ

lên sự phát triển nấm *Colletotrichum capsici* trên môi trường PDA

Khả năng ức chế của dịch trích nghệ lên sự phát triển của nấm được thể hiện qua độ dài bán kính nấm *Colletotrichum capsici*.

Bảng 1. Bán kính nấm *C. capsici* của các nghiệm thức ở các thời điểm

(Đơn vị tính: mm)

Nghiệm thức	Bán kính nấm của các nghiệm thức ở các thời điểm				
	24 giờ SKC	48 giờ SKC	72 giờ SKC	96 giờ SKC	120 giờ SKC
Nước 10%	3,36 ^{ab}	5,02 ^{ab}	7,78 ^a	9,74 ^{ab}	13,10 ^a
Nước 15%	3,10 ^{bc}	5,00 ^{ab}	6,44 ^b	8,64 ^{bc}	9,76 ^b
Nước 20%	3,50 ^a	4,76 ^{bc}	6,32 ^b	7,82 ^c	9,00 ^b
Cồn 10%	2,96 ^c	5,30 ^{ab}	7,54 ^a	9,80 ^{ab}	13,22 ^a
Cồn 15%	3,60 ^a	5,24 ^{ab}	6,74 ^b	8,54 ^{bc}	9,20 ^b
Cồn 20%	2,94 ^c	4,88 ^b	6,40 ^b	8,12 ^c	8,80 ^b
Nước	3,60 ^a	5,50 ^a	8,16 ^a	10,12 ^a	13,50 ^a
Thuốc Topsin	3,52 ^a	4,30 ^c	6,24 ^b	7,40 ^c	7,62 ^c
CV% 7,12		8,14	8,17	11,38	7,69
Mức ý nghĩa **		**	**	**	**

Ghi chú: Trong cùng 1 cột các số có cùng chữ theo sau giống nhau thì không có khác biệt ở mức ý nghĩa 1% qua phép thử DUCAN. ** Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.

Nhìn chung qua các thời điểm quan sát, bán kính nấm phát triển có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức và bán kính nấm ở nghiệm thức nước luôn lớn hơn các nghiệm thức còn lại.

Trong đó, nghiệm thức nghệ trong dung môi cồn nồng độ 15%, 20% và nghệ trong dung môi nước nồng độ 15%, 20% ức chế nấm tốt (6,32 - 6,7 cm ở 72 giờ SKC và 7,82 - 8,64 cm ở 96 giờ SCK), không khác

biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức thuốc trừ nấm Topsin (6,24 và 7,4 cm ở 72 và 96 giờ SKC); đồng thời dịch trích nghệ 15% có bán kính không khác biệt với nghệ 10% đến thời điểm 96 giờ sau khi cấy. Đến 120 giờ sau khi cấy, nghệ trong dung môi cồn nồng độ 15%, 20% và nghệ trong dung môi nước nồng độ 15%,

20% vẫn có bán kính nấm thấp hơn đối chứng có ý nghĩa thống kê.

Hiệu quả ức chế là chỉ số thể hiện rõ hơn sự ức chế của dịch trích đối nấm *Colletotrichum capsici*, độ dài bán kính càng ngắn thì hiệu quả ức chế càng cao và ngược lại.

Bảng 2. Hiệu quả ức chế của dịch trích nghệ với nấm *C. capsici* qua các thời điểm khảo sát

(Đơn vị tính: %)

Nghiệm thức	Hiệu quả ức chế của dịch trích nghệ qua các thời điểm				
	24 giờ SKC	48 giờ SKC	72 giờ SKC	96 giờ SKC	120 giờ SKC
Nước 10%	6,62 ^{bc}	8,71 ^{bc}	4,65 ^b	3,75 ^{bc}	2,96 ^c
Nước 15%	13,85 ^{ab}	9,07 ^{bc}	21,07 ^a	14,61 ^{ab}	27,40 ^b
Nước 20%	2,70 ^c	13,42 ^{ab}	22,54 ^a	22,70 ^a	33,32 ^b
Cồn 10%	17,76 ^a	3,63 ^{bc}	7,59 ^b	3,16 ^{bc}	0,74 ^c
Cồn 15%	0,00 ^c	11,23 ^b	17,39 ^a	15,60 ^a	31,85 ^b
Cồn 20%	18,33 ^a	14,74 ^{bc}	21,56 ^a	20,05 ^a	34,79 ^b
Thuốc Topsin	2,19 ^c	21,76 ^a	23,52 ^a	26,87 ^a	42,22 ^a
CV%	31,19	26,43	27,05	35,36	25,36
Mức ý nghĩa	**	**	**	**	**

Ghi chú: Trong cùng 1 cột các số có cùng chữ theo sau giống nhau thì không có khác biệt ở mức ý nghĩa 1% qua phép thử DUNCAN. ** Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.

Hiệu quả ức chế của dịch trích nghệ ở thời điểm 72 giờ SKC trong dung môi cồn nồng độ 15%, 20% và nước nồng độ 15%, 20% là 21,07 - 22,54%, không sai khác có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức thuốc Topsin là 23,52; ở 96 giờ SKC trong dung môi cồn nồng độ 15%, 20% và nước nồng độ 15%, 20% là 14,61 - 22,7%, không sai khác có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức thuốc Topsin là 26,87% (Bảng 2).

3.2. Khả năng ức chế của dịch trích nghệ lên sự nảy mầm của bào tử nấm *Colletotrichum capsici*

Nảy mầm là giai đoạn đầu tiên của quá trình xâm nhiễm vào ký chủ của nấm, nên ức chế được sự nảy mầm nấm thì sẽ hạn chế nấm phát triển.

Bảng 4. Tỷ lệ nảy mầm của bào tử nấm *C. capsici* ở các thời điểm quan sát

(Đơn vị tính: %)

Nghiệm thức	Tỷ lệ nảy mầm của bào tử nấm ở các thời điểm (giờ)						
	1 giờ	2 giờ	3 giờ	4 giờ	5 giờ	6 giờ	7 giờ
Nước 10%	1,67	3,33	6,60	16,60	25,00 ^{ab}	51,60 ^b	81,00 ^{ab}
Nước 15%	0,00	1,67	5,00	13,30	20,00 ^b	43,00 ^{bcd}	78,00 ^{ab}
Nước 20%	0,00	1,67	3,30	13,30	18,30 ^b	38,30 ^{cd}	75,00 ^b
Cồn 10%	0,00	1,67	10,00	18,30	20,00 ^b	50,00 ^{bc}	76,00 ^{ab}
Cồn 15%	0,00	1,67	6,60	13,30	20,00 ^b	41,00 ^{bcd}	73,30 ^b
Cồn 20%	0,00	1,67	5,00	13,30	18,30 ^b	43,00 ^{bcd}	73,30 ^b
Nước	3,33	0,00	11,6	23,3	28,30 ^a	66,60 ^a	85,00 ^a
Thuốc Topsin	0,00	0,33	3,3	10	18,30 ^b	35,00 ^d	35,00 ^c
CV%	230,0	117,80	65,10	33,55	17,48	13,78	6,77
Mức ý nghĩa	ns	ns	ns	ns	*	**	**

Ghi chú: Trong cùng 1 cột các số có cùng chữ theo sau giống nhau thì không có khác biệt ở mức ý nghĩa 1% hoặc 5% qua phép thử DUNCAN. ns Không khác biệt; ** Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; * Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%.

Sự nảy mầm của bào tử nấm *Colletotrichum capsici* bắt đầu có sự khác biệt giữa các nghiệm thức từ 4 giờ sau khi thả bào tử nấm vào dịch trích thí nghiệm. Kết quả cho thấy qua các thời điểm quan sát nghiệm thức nghệ trong dung môi cồn nồng độ 20% và nghệ trong dung môi

nước nồng độ 20% có tỷ lệ nảy mầm của bào tử thấp là 18,3% ở thời điểm 5 giờ và 38,3%; 43% ở 6 giờ. Điều đó chứng tỏ các nghiệm thức này có hiệu quả cao trong sự ức chế nảy mầm của bào tử nấm *Colletotrichum capsici*.

3.3. Khả năng phòng ngừa của dịch trích nghệ tới bệnh thán thư trên ớt do nấm *Colletotrichum capsici* trong điều kiện nhà lưới

Bảng 5. Tỷ lệ bệnh thán thư ở các thời điểm quan sát sau khi lây nhiễm bệnh

(Đơn vị tính: %)

Nghiệm thức	Tỷ lệ bệnh ở các thời điểm quan sát				
	7 ngày SKLB	9 ngày SKLB	11 ngày SKLB	13 ngày SKLB	15 ngày SKLB
Cồn 20 TLB	10,71	14,26 ^{cd}	24,94 ^b	28,53 ^c	28,57 ^c
Nước 20TLB	7,14	17,83 ^{bc}	42,85 ^{ab}	28,53 ^c	32,14 ^c
Thuốc TLB	3,57	3,57 ^d	3,57 ^c	3,57 ^d	3,57 ^d
Cồn 20 SLB	14,28	31,94 ^a	39,26 ^{ab}	46,42 ^b	49,99 ^b
Nước 20 SLB	10,71	28,53 ^{ab}	39,24 ^{ab}	39,69 ^b	49,99 ^b
Thuốc SLB	3,57	3,57 ^d	3,57 ^c	3,57 ^d	3,57 ^d
Đối chứng	17,85	32,08 ^a	53,54 ^a	64,28 ^a	71,42 ^a
CV%	83,55	45,9	42,85	33,18	26,1
Mức ý nghĩa	ns	**	**	**	**

Ghi chú: Trong cùng 1 cột các số có cùng chữ theo sau giống nhau thì không có khác biệt ở mức ý nghĩa 1% hoặc 5% qua phép thử DUNCAN. ** Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.

Kết quả Bảng 5 cho thấy thuốc Topsin có hiệu quả phòng trừ bệnh tốt thể hiện ở tỷ lệ bệnh thấp ở cả nghiệm thức trước và sau khi lây nhiễm mầm bệnh là 3,57% trong khoản 7 - 15 ngày SKLB. Dịch trích nghệ trong dung môi cồn và dung môi nước phát huy hiệu quả phòng trừ bệnh không khác nhau ở điều kiện nhà lưới (28,53% ở 13 ngày SKLB và 8,57 - 32,14% ở 15 ngày SKLB). Tỷ lệ bệnh ở nghiệm thức phun dịch trích trước và sau khi lây nhiễm bệnh thấp hơn đối chứng không phun có ý nghĩa thống kê ở 13 và 15 ngày SKLB. Đồng thời bệnh ở nghiệm thức phun dịch trích trước khi lây nhiễm bệnh thấp hơn bệnh ở nghiệm thức phun dịch trích nghệ sau khi lây nhiễm bệnh có ý nghĩa thống kê ở cả 3 thời điểm 9, 13 và 15 ngày SKLB.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Dịch trích nghệ trong dung môi cồn nồng độ 20% và trong dung môi nước nồng độ 20% có khả năng ức chế sự sinh trưởng và nảy mầm của nấm *Colletotrichum capsici* trong điều kiện *in-vitro* tuy nhiên thấp hơn so với thuốc Topsin. Việc xử lý phun dịch trích nghệ nồng độ 20% có ý nghĩa phòng ngừa bệnh thán thư trên ớt. Tuy nhiên phun dịch trích để phòng bệnh mang lại hiệu quả cao hơn so với trừ bệnh. Hoạt chất ức chế nấm trong nghệ hòa tan trong dung môi cồn 70° và nước không khác nhau.

Đề nghị tiếp tục nghiên cứu hiệu quả phòng trừ bệnh thán thư ớt của dịch trích nghệ với các dung môi và phương pháp ly trích khác nhau đồng thời nghiên cứu phụ gia thêm vào để tăng hiệu quả phòng trừ bệnh của dịch trích nghệ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bhavani. T.N. and M.V. Sreenivasa (1979). Effect of turmeric (*Curcuma longa*) fractions on the growth of some intestinal and pathogenic bacteria *in vitro*. *Indian J. Exp. Biol.*, 17: 1363 - 1366.
2. Đỗ Văn Sử và Lê Minh Tường (2016). Hiệu quả phòng trị của xạ khuẩn đối với bệnh thán thư trên cây ớt do nấm *Colletotrichum capsici*. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Số chuyên đề: Nông nghiệp (2016) (3): 28 - 35.
3. Jun Yong Cho, Gyung Ja Choi, Seon-Woo Lee, He Kyoung Lim, Kyung S'oo Jang, Chi Hwan Lim, Kwang Yun Cho and Jin-Cheol Kim (2006). *In vivo antifungal against various plant pathogenic fungi of curcuminoids isolated from the Rhizomes of Curcuma longa*. *Plant pathol. J.* 22(1): 94 - 96.
4. Maymon, M., A. Zveibil, S. Pivonia, D. Minz and S. Freeman (2006). Identification and Characterization of Benomyl - Resistant and Sensitive Population of *Colletotrichum gloeosporioides* from *Sttice* (*Limonium* spp.). *Phytopathology* 96: 542 - 548.
5. Soyong, K., Srinon, W., Rattanacherdchai, K., Kanokmedhakul (2005). Application of antagonistic fungi to control anthracnose disease of grape. *Journal of Agricultural Biotechnology*. 1: 33 - 41.
6. Vũ Triệu Mân (2007). *Giáo trình bệnh cây chuyên khoa*. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.

TUYỂN CHỌN CHẤT MANG TẠO CHẾ PHẨM SINH HỌC CHỨA VI KHUẨN ĐỐI KHÁNG ĐỂ PHÒNG TRỪ BỆNH BẠC LÁ LÚA

Nguyễn Đắc Khoa

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

ABSTRACT

Bacterial leaf blight (Xanthomonas oryzae pv. oryzae) is one of the most serious diseases in rice fields. Climate changes are attributed to increase virulence of the pathogen as this was shown to be correlated with the increase of temperature. The Plant Pathology Research Group at the Biotechnology R&D Institute of Can Tho University has worked on biological control of this disease using antagonistic microorganisms and plant extracts to diminish the use of chemicals. This paper presents the research results of this group on the use of antagonistic soil bacteria, i.e., isolation, testing for the antagonistic and disease - reducing effects under both greenhouse and field conditions, identification, biomass production and selection for carrier materials to make bio-formulations of the antagonistic bacteria.

Keywords: Antagonistic bacteria, bacterial leaf blight, biological control, biomass, carrier materials, *Xanthomonas oryzae pv. oryzae*.

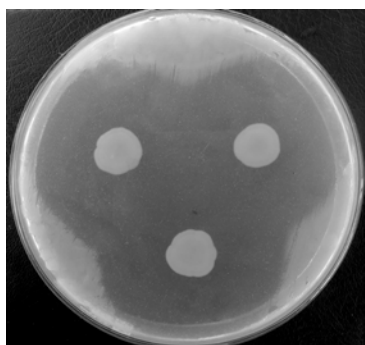
Bệnh bạc lá (cháy bìa lá) do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* (Xoo) gây ra là một trong những bệnh phổ biến và nghiêm trọng nhất trên ruộng lúa, đặc biệt vào mùa mưa. Biến đổi khí hậu làm cho bệnh càng trầm trọng do độc tính của mầm bệnh có tương quan với sự gia tăng nhiệt độ môi trường (Webb *et al.*, 2010). 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). Trong số 830 chủng vi khuẩn được phân lập từ đất ruộng tại Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL), 243 chủng có khả năng đối kháng với vi khuẩn Xoo và 6

chủng có hiệu quả giảm bệnh bạc lá cao trong điều kiện nhà lưới. Hiệu quả giảm bệnh ngoài đồng của các chủng vi khuẩn đối kháng này đã được chứng minh trên ruộng lúa (Nguyễn Đắc Khoa, 2016; Khoa *et al.*, 2016; Nguyễn Đắc Khoa, 2018). Bài viết này trình bày các kết quả nghiên cứu của Nhóm nghiên cứu Bệnh cây tại Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ, tập trung vào bước tuyển chọn chất mang có khả năng duy trì mật số vi khuẩn đối kháng, tính đối kháng với mầm bệnh trên đĩa thạch và hiệu quả giảm bệnh bạc lá trong điều kiện nhà lưới để tạo chế phẩm sinh học chứa vi khuẩn đối kháng ứng dụng phòng trừ bệnh bạc lá trên ruộng lúa.

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

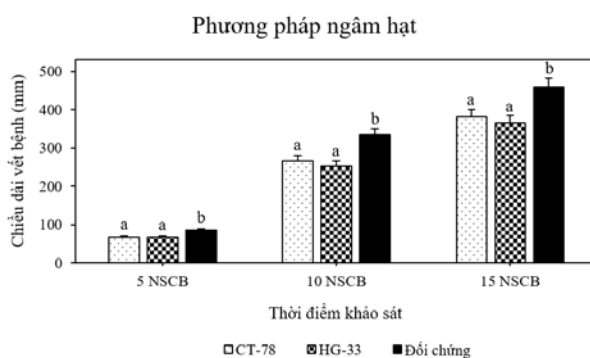
I. PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN VÀ ĐỊNH DANH VI KHUẨN ĐỐI KHÁNG

Tổng số 243 chủng vi khuẩn có khả năng đối kháng với mầm bệnh *Xoo* trên đĩa thạch được phân lập từ đất trồng lúa tại các tỉnh, thành phố thuộc ĐBSCL (Hình 1). Trong đó, 26 chủng được phân lập tại An Giang (Võ Thị Phương Trang, 2013), 96 chủng được phân lập tại Hậu Giang và Cần Thơ (Nguyễn Đặng Ngọc Giàu, 2014) và 121 chủng được phân lập tại Tiền Giang và Sóc Trăng (Trần Kim Thoa, 2015).



Hình 1. Vòng vô khuẩn do chủng HG - 33 đối kháng với *Xoo* tạo ra trên đĩa thạch (Nguyễn Đặng Ngọc Giàu, 2014)

Hiệu quả giảm bệnh bạc lá của các chủng vi khuẩn có khả năng đối kháng mạnh nhất với mầm bệnh *Xoo* trên đĩa thạch được khảo sát trong điều kiện nhà lưới với 3 cách xử lý gồm chủng vi khuẩn vào đất, ngâm hạt và phun qua lá ở các thời điểm 7, 14 và 21 ngày trước khi chủng bệnh. Trong chín chủng vi khuẩn được phân lập tại An Giang, hai chủng AG-62 và AG-131 cho hiệu quả giảm bệnh tốt nhất. Kết quả khảo sát các chủng vi khuẩn được phân lập tại Tiền Giang và Sóc Trăng cho thấy sáu chủng có khả năng làm giảm bệnh trong điều kiện nhà lưới và hai chủng TG-71 và ST - 115 có hiệu quả tốt nhất. Đối với bảy chủng vi khuẩn được phân lập tại Hậu Giang và Cần Thơ, hai chủng HG - 33 và CT-78 có hiệu quả giảm bệnh tốt nhất (Hình 2).



Hình 2. Hiệu quả giảm bệnh của hai chủng vi khuẩn CT-78 và HG - 33 khi được xử lý bằng phương pháp ngâm hạt (Nguyễn Đặng Ngọc Giàu, 2014)

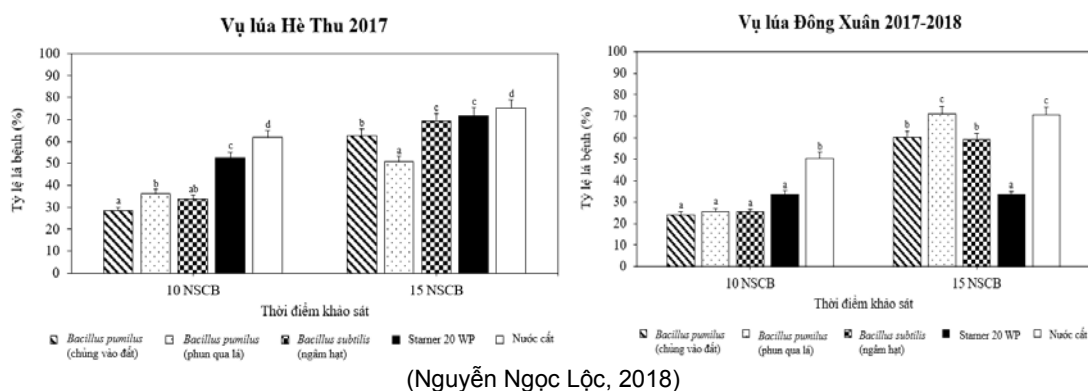
Kết hợp kỹ thuật vi sinh truyền thống dựa vào Hệ thống phân loại Bergey và kỹ thuật giải trình tự 16S rRNA, sáu chủng vi khuẩn có hiệu quả giảm bệnh tốt nhất được xác định lần lượt là *Bacillus stratosphericus*

AG-62, *Bacillus safensis* AG-131, *Bacillus aerophilus* HG - 33, *Serratia nematodiphila* CT-78, *Bacillus pumilus* TG-71 và *Bacillus subtilis* ST-115. Đây là các chủng vi khuẩn bản địa, được phân lập từ đất trồng lúa và

chưa tìm được thông tin cho thấy khả năng gây độc đối với môi trường, con người và vật nuôi nên được tiếp tục bố trí thí nghiệm khảo sát hiệu quả làm giảm bệnh trong điều kiện ngoài đồng ở các địa phương thuộc ba tỉnh An Giang, Tiền Giang và Vĩnh Long.

Các biện pháp xử lý có kết quả tốt nhất trong điều kiện nhà lưới gồm ngâm hạt, chủng vào đất và phun qua lá được sử dụng để khảo sát trên ruộng lúa. Đối với chủng vi khuẩn *B. stratosphericus* AG-62, biện pháp xử lý phun qua lá cho hiệu quả giảm bệnh tốt nhất và duy trì đến 15 ngày sau chủng bệnh (NSCB); bên cạnh đó, năng suất lúa cao và tỷ lệ lem lép hạt thấp hơn các nghiệm thức còn lại (Tô Anh Khoa, 2014). Kết quả khảo sát đối với chủng vi khuẩn *B. safensis* AG-131 và chủng *B. aerophilus* HG - 33 cho thấy các nghiệm thức phun vi khuẩn

vào đất 24 giờ trước khi sạ cho hiệu quả cao hơn các nghiệm thức còn lại và kéo dài đến 15 NSCB (Nguyễn Hoàng Thông, 2014; Nguyễn Mộng Huyền Trang, 2015). Đối với chủng vi khuẩn *S. nematodiphila* CT-78, cả ba biện pháp xử lý vi khuẩn đều có hiệu quả kéo dài đến 15 NSCB; trong đó, hai biện pháp ngâm hạt và phun qua lá cho hiệu quả tương đương với thuốc hóa học. Nghiệm thức ngâm hạt đạt hiệu quả phòng trừ bệnh cao nhất vì giúp giảm tỷ lệ chồi bệnh, tỷ lệ lá bệnh và chỉ số bệnh, đạt hiệu quả phòng trừ bệnh cao, giúp tăng năng suất và giảm tỷ lệ lem lép hạt (Phạm Trút My, 2015). Kết quả khảo sát hai chủng vi khuẩn còn lại gồm *B. pumilus* TG-71 và *B. subtilis* ST - 115 cho thấy hai biện pháp ngâm hạt và chủng vào đất cho hiệu quả phòng trị bệnh tốt trong cả hai vụ Hè Thu và Đông Xuân (Hình 3).



Hình 3. Tỷ lệ lá bệnh khi xử lý vi khuẩn *Bacillus pumilus* TG-71 và *Bacillus subtilis* ST - 115 trong vụ Hè Thu năm 2017 và vụ Đông Xuân năm 2017 - 2018 tại huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long (Nguyễn Ngọc Lộc, 2018)

II. TUYẾN CHỌN CHẤT MANG ĐỂ TẠO CHẾ PHẨM SINH HỌC

Chủng vi khuẩn *S. nematodiphila* CT-78 phân lập từ thành phố Cần Thơ có hiệu quả làm giảm bệnh bạc lá cao nhất trong 6 chủng vi khuẩn đối kháng (Khoa et al., 2016; Nguyễn Huỳnh Nhã Uyên và ctv., 2018) nên được chọn để nghiên cứu

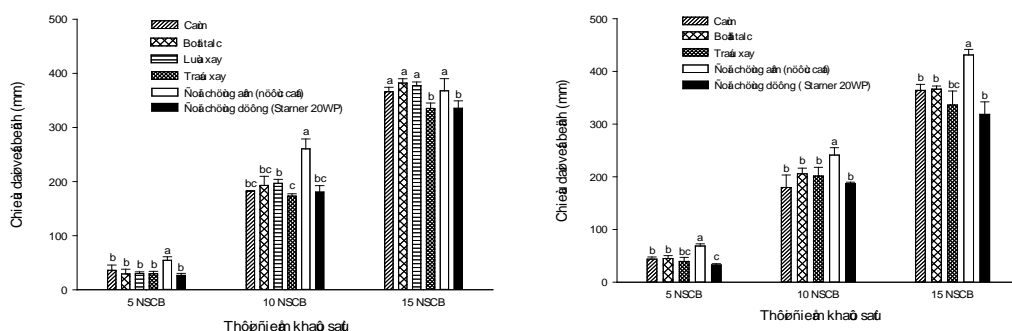
tạo sản phẩm sinh học phòng trừ bệnh bạc lá. Năm chất mang gồm cám, trấu, mùn cưa, bột talc và than bùn được sử dụng để tồn trữ vi khuẩn *S. nematodiphila* CT-78. Đối với nghiệm thức giữ độ ẩm chất mang ở 50%, sau 9 tháng tồn trữ, chất mang cám và trấu duy trì mật số vi khuẩn trên 10^8 CFU/g chế phẩm so với mật số chủng vào chất mang ban đầu là 2×10^6 CFU/mL

(vi khuẩn được nuôi trong môi trường lỏng nutrient broth trước khi được chủng vào chất mang). Đối với nghiệm thức tạo điều kiện cho vi khuẩn tiếp tục nhân mật số trong chất mang ở độ ẩm 50%, sau đó hạ độ ẩm xuống 20% để tồn trữ, chất mang bột talc và trấu duy trì mật số vi khuẩn trên 10^6 CFU/g chế phẩm sau 9 tháng tồn trữ. Trong những chế phẩm này, chủng vi khuẩn *S. nematodiphila* CT-78 vẫn còn khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xoo* và duy trì hiệu quả giảm bệnh bạc lá lúa trong điều kiện nhà lưới đến 15 NSCB (Nguyễn Huỳnh Nhã Uyên, 2018).

Đối với năm chủng vi khuẩn đối kháng còn lại (*B. aerophilus* HG-33, *B. safensis* AG-131, *B. pumilus* TG-71, *B. stratosphericus* AG-131 và *B. subtilis* ST-115), các chất mang gồm bột talc, cám, gạo xay, lúa xay và trấu xay được sử dụng để nghiên cứu tạo chế phẩm sinh học phòng trừ bệnh bạc lá (Đặng Hoài An, 2017). Kết quả thí nghiệm sau 6 tháng tồn trữ cho thấy mật số 5 chủng *Bacillus* sp. trong ba chất mang bột talc, cám và trấu xay đều đạt hơn 10^6 CFU/g chế phẩm. Các chất mang duy trì mật số vi khuẩn cao nhất sau thời gian tồn trữ gồm cám (*B. aerophilus* HG-33 $5,8 \times 10^6$ CFU/g chế phẩm, *B. safensis* AG-131 $6,1 \times 10^6$ CFU/g chế phẩm và *B. pumilus* TG-71

$1,38 \times 10^7$ CFU/g chế phẩm), trấu xay (*B. pumilus* TG-71 $1,36 \times 10^7$ CFU/g chế phẩm) và bột talc (*B. stratosphericus* AG-131 $2,24 \times 10^7$ CFU/g chế phẩm và *B. subtilis* ST - 115 $8,4 \times 10^6$ CFU/g chế phẩm). Sau 9 tháng tồn trữ, vi khuẩn *B. pumilus* TG-71 và *B. subtilis* ST - 115 trong ba chất mang trên đạt yêu cầu về mật số; trong đó hai chất mang duy trì được mật số cao nhất là trấu xay (*B. pumilus* TG-71 $4,9 \times 10^6$ CFU/g chế phẩm) và bột talc (*B. subtilis* ST - 115 $2,7 \times 10^6$ CFU/g chế phẩm). Đối với ba chủng vi khuẩn còn lại, chỉ có bột talc duy trì được mật số hơn 10^6 CFU/g chế phẩm. Sau 9 tháng tồn trữ, các chủng vi khuẩn *Bacillus* sp. trong những chế phẩm này đều duy trì được khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xoo* trên đĩa thạch và hiệu quả giảm bệnh bạc lá lúa trong điều kiện nhà lưới đến 15 NSCB (Hình 4).

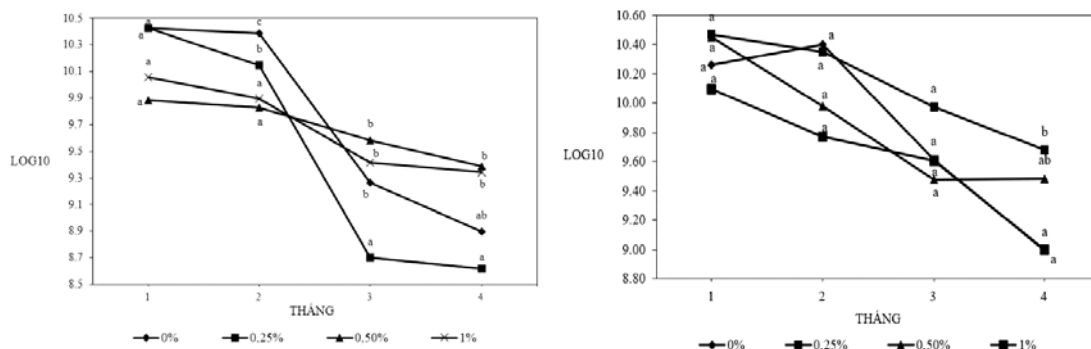
Để tồn trữ đến 6 tháng, cám được chọn làm chất mang cho *B. aerophilus* HG - 33 và *B. safensis* AG-131, trấu xay được chọn làm chất mang cho *B. pumilus* TG-71 và bột talc được chọn làm chất mang cho *B. stratosphericus* AG-62 và *B. subtilis* ST - 115. Để tồn trữ đến 9 tháng, trấu xay được chọn làm chất mang cho *B. pumilus* TG-71 và bột talc được chọn làm chất mang cho 4 chủng còn lại.



Hình 4. Chiều dài vết bệnh trên lá lúa khi ngâm hạt với chế phẩm chứa vi khuẩn *Bacillus aerophilus* HG - 33 (10^7 CFU/g chế phẩm) sau 3 tháng (A) và 6 tháng (B) tồn trữ (Đặng Hoài An, 2017)

Tồn trữ vi khuẩn có kết hợp với phương pháp lên men rắn (Zhuang *et al.*, 2010) được tiếp tục nghiên cứu để giảm lượng sinh khối vi khuẩn ban đầu cung cấp vào chất mang, từ đó giúp giảm chi phí sản xuất chế phẩm. Yếu tố quan trọng nhất trong kỹ thuật lên men rắn là độ ẩm và tính chất của chất mang. Chất mang tốt phải đảm bảo độ ẩm phù hợp và nguồn dinh dưỡng cần thiết cho sự phát triển và trao đổi chất của vi sinh vật (Singhanian *et al.*, 2009). Chất mang dùng trong kỹ thuật lên men rắn được chia thành 2 loại chính là chất mang trợ và chất mang tự nhiên. Chất mang trợ không có giá trị dinh dưỡng, chỉ đóng vai trò là nơi cho vi sinh vật bám vào (bột talc, các khoáng vật). Chất mang tự nhiên (các phế phẩm nông nghiệp) ngoài làm nơi bám cho vi sinh vật, còn cung cấp nguồn dinh dưỡng cho vi sinh vật phát triển (Couto and Sanroman, 2005). Ngoài ra, vi khuẩn được lên men rắn trong chất mang tự nhiên sẽ tăng mật số trong quá trình tồn trữ, góp phần làm giảm thời gian nuôi cấy giống vi khuẩn ban đầu (Lê Nguyễn Xuân Thanh, 2018; Huỳnh Thị Ngọc Tuyết, 2018). Vì vậy, chỉ có cám và trấu xay được chọn để tồn trữ 5 chủng vi khuẩn thuộc chi *Bacillus* nêu trên. Quá trình lên men bán rắn được thực hiện trước khi tiến hành tồn trữ vi khuẩn. Sau 96 giờ lên men rắn, chế

phẩm sử dụng chất mang cám cho hiệu quả lên men tốt nhất đối với cả 5 chủng vi khuẩn với mật số vi khuẩn trên 10^9 CFU/g chế phẩm so với 2×10^6 CFU/mL ban đầu (vi khuẩn được nuôi trong môi trường lỏng nutrient broth trước khi được chủng vào chất mang). Trong khi đó, các nghiệm thức trấu xay có mật số thấp hơn 10^6 CFU/g chế phẩm nên không được tiếp tục sử dụng. Sau 4 tháng tồn trữ, tất cả chế phẩm chất mang cám đều duy trì được mật số vi khuẩn cao hơn 10^8 CFU/g, khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xoo* và hiệu quả giảm bệnh trong điều kiện nhà lưới đến 15 NSCB. Ngoài ra, ảnh hưởng của dịch trích nấm men (yeast extract, YE) 0%, 0,25%, 0,5% và 1% lên quá trình lên men rắn trong chế phẩm cũng được khảo sát. Kết quả sau 96 giờ khảo sát cho thấy tỷ lệ YE bổ sung vào càng cao thì vi khuẩn lên men càng nhanh và mật số vi khuẩn đạt được càng cao. Sau 4 tháng tồn trữ, chế phẩm cám có bổ sung 0,5% YE là chất mang tốt nhất cho vi khuẩn *B. aerophilus* HG - 33 và *B. stratosphericus* AG-62; chế phẩm cám không bổ sung YE là chất mang tốt nhất cho vi khuẩn *B. safensis* và chế phẩm cám có bổ sung 0,25% YE được chọn là chất mang cho cả hai chủng *B. pumilus* TG-71 và *B. subtilis* ST - 115 (Hình 5).



Hình 5. Ảnh hưởng của dịch trích nấm men (yeast extract, YE) lên mật số vi khuẩn *B. stratosphericus* AG-62 (A) và *Bacillus aerophilus* HG - 33 (B) trong chế phẩm cám qua 04 tháng tồn trữ (Lê Nguyễn Xuân Thanh, 2018)

Hướng nghiên cứu này đang được tiếp tục thực hiện đối với vi khuẩn *S. nematodiphila* CT-78 để tạo ra chế phẩm sinh học phòng trị bệnh bạc lá lúa, giúp nông dân tiết kiệm chi phí sản xuất, bảo vệ môi trường và sức khỏe cộng đồng. Kinh phí do Sở Khoa học và Công nghệ thành phố Cần Thơ cấp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Couto, S.R. and Sanroman, M.A. (2005). Application of solid - state fermentation to ligninolytic enzyme production. *Biochemical Engineering Journal*. 22(3): 211 - 219.
2. Đặng Hoài An (2017). Tuyển chọn chất mang để tồn trữ vi khuẩn *Bacillus* sp. đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây bệnh cháy bìa lá lúa. Luận văn Tốt nghiệp Cao học ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ.
3. Huỳnh Thị Ngọc Tuyết (2018). Khảo sát ảnh hưởng chất mang lên mật số và hiệu quả giảm bệnh của vi khuẩn *Bacillus subtilis* và *Bacillus pumilus* đối với vi khuẩn gây bệnh cháy bìa lá lúa. Luận văn Tốt nghiệp Đại học ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ.
4. Khoa, N.Đ., Giàu, N.Đ.N. and Tuấn, T.Q., (2016). Effects of *Serratia nematodiphila* CT-78 on rice bacterial leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Biological control*. 103: 1 - 10.
5. Lê Nguyễn Xuân Thanh, 2018. Khảo sát khả năng ảnh hưởng của chất mang đến mật số và hiệu quả giảm bệnh của vi khuẩn *Bacillus aerophilus*, *Bacillus stratosphericus* và *Bacillus safensis* đối kháng với vi khuẩn gây bệnh cháy bìa lá lúa trong tồn trữ. Luận văn Tốt nghiệp Đại học ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ.
6. Nguyễn Đắc Khoa, 2016. Nghiên cứu phân lập các chủng vi khuẩn đối kháng trong đất đối với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* để phòng trừ bệnh bạc lá lúa ở Đồng bằng sông Cửu Long. Báo cáo Tổng kết đề tài nghiên cứu Khoa học và Công nghệ cấp Bộ. Bộ Giáo dục và Đào tạo. 134 trang.
7. 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, ngày 20/7/2018. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. Hà Nội. Việt Nam.
8. 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.
9. 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.
10. Nguyễn Hoàng Thông, 2014. Khảo sát khả năng phòng trị bệnh cháy bìa lá lúa của vi khuẩn *Bacillus safensis* trên ruộng lúa tỉnh An Giang và Tiền Giang. Luận văn Tốt nghiệp Đại học ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ.
11. Nguyễn Huỳnh Nhã Uyên, 2018. So sánh hiệu quả giảm bệnh của các chủng vi khuẩn *Bacillus* sp. và *Serratia* sp. đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây bệnh cháy bìa lá lúa và tuyển chọn chất mang tồn trữ vi khuẩn. Luận văn Tốt nghiệp Cao học ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ.
12. 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*. 9b: 59 - 66.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
 16. Singhania, R.R., Patel, A.K., Soccol, C.R. and Pandey, A., 2009. Recent advances in solid - state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*. 44(1): 13 - 18.
 17. Tô Anh Khoa, 2014. Khảo sát khả năng phòng trị bệnh cháy bìa lá lúa của vi khuẩn *Bacillus stratosphericus* trên ruộng lúa tỉnh An Giang và Tiền Giang. Luận văn Tốt nghiệp Đại học ngành Vi sinh vật học. Trường Đại học Cần Thơ.
 18. 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.
 19. 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.
 20. Webb, K.M., Oña, I., Bai, J., Garrett, K.A., Mew, W., Vera, C.M. and Leach, J.E., 2010. A benefit of high temperature: increased effectiveness of a rice bacterial blight disease resistance gene. *New Phytology*. 185: 568 - 576.
 21. Zhuang, L., Zhou, S., Wang, Z., Liu, Z. and Xu, R., 2011. Cost - effective production of *Bacillus thuringiensis* biopesticides by solid - state fermentation using wastewater sludge: Effects of heavy metals. *Bioresource Technology*. 102: 4820 - 4826.

PHÒNG TRỪ SINH HỌC BỆNH THỐI NHŨN HÀNH TÍM DO VI KHUẨN *Pseudomonas aeruginosa*

Nguyễn Đắc Khoa

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

ABSTRACT

Shallot is the major crop of Vĩnh Châu town, Sóc Trăng province. Pests have currently caused severe damages on shallot yield under both field and storage conditions. Bulb rot is one of the most serious problems. Five pathogens have been identified, i.e., Fusarium oxysporum (basal rot), Aspergillus niger (black mold), Collectotrichum gloeosporioides (anthracnose), Erwinia carotovora (soft rot) and Pseudomonas aeruginosa (bulb rot). Chemicals have been used as the major means but lead to adverse impacts on human health and the ecosystem. This paper presents the research results on biological control of shallot bulb rot, focusing on Pseudomonas aeruginosa, using antagonistic microorganisms and plant extracts of the Plant Pathology Research Group at the Biotechnology R&D Institute of Can Tho University since 2015.

Keywords: *Antagonistic bacteria, biological control, bulb rot, plant extract, Pseudomonas aeruginosa, shallot.*

Hành tím là cây trồng chủ lực của thị xã Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng. Canh tác hành tím tại địa phương này gặp nhiều khó khăn, dịch hại thường làm cho canh tác hành tím bị thất thu, trong đó bệnh thối củ gây hại rất phổ biến, không những trên ruộng hành mà còn gây hại trong quá trình tồn trữ, vì vậy đôi khi nông dân được mùa nhưng vẫn thất thu do không thể tồn trữ hành được lâu. Hiện trạng nông dân sử dụng hóa chất không theo đúng hướng dẫn cũng gây ra nhiều hệ lụy tại địa phương này (Infonet, 2015). Nhóm nghiên cứu Bệnh cây thuộc Viện Nghiên cứu phát

triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ đã tiến hành khảo sát thực trạng và nghiên cứu về bệnh thối củ hành tím từ năm 2015 đến nay nhằm tìm ra biện pháp sinh học để phòng trừ bệnh, giúp bà con nông dân tiết kiệm chi phí sản xuất, bảo vệ môi trường và sức khỏe cộng đồng. Năm mầm bệnh gây thối củ hành tím đã được xác định, bao gồm *Fusarium oxysporum* gây bệnh thối đế củ, *Aspergillus niger* gây bệnh thối đen, *Colletotrichum gloeosporioides* gây bệnh đốm đen, *Erwinia carotovora* gây bệnh thối ướt và *Pseudomonas aeruginosa* gây bệnh thối nhũn (Nguyễn Thái Học, 2016). Vi sinh vật đối kháng và dịch trích thực

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

vật được nghiên cứu để sử dụng làm biện pháp sinh học phòng trừ các mầm bệnh xuất hiện phổ biến nhất trên ruộng hành và trong quá trình tồn trữ (Nguyễn Đắc Khoa, 2018; Nguyễn Đắc Khoa, 2019). Đối với bệnh thối đế củ do nấm *F. oxysporum*, xạ khuẩn đối kháng *Streptomyces albaduncus* và 2 loại dịch trích lá của cây bình bát nước và sài đất có khả năng phòng trừ bệnh (Trần Việt Quyền, 2017; Vinh *et al.*, 2017). Bài viết này sẽ trình bày kết quả nghiên cứu về sử dụng vi khuẩn đối kháng, dịch trích thực vật và cao chiết thực vật để phòng trừ bệnh thối củ hành tím, tập trung vào mầm bệnh *P. aeruginosa*.

I. XÁC ĐỊNH MẦM BỆNH

Kết quả điều tra thực trạng trồng hành tại thị xã Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng cho thấy đa số nông dân cho rằng hiện tượng thối củ là do sâu hại. Vì thế, có đến

80% hộ xử lý thuốc Mipcin [hoạt chất 2 - isopropylphenyl methylcarbamate (U.S National Library of Medicine)] trộn với bột Talc để trị thối củ (Nguyễn Đắc Khoa, 2019). Thực tế cho thấy rất nhiều mẫu hành bị thối củ do mầm bệnh.

Trong 124 mẫu hành tím bị thối củ đã thu thập được ở 3 vụ trồng hành (hành giống, hành sớm và hành mùa) năm 2015 - 2016, thối củ do mầm bệnh chiếm tỷ lệ 66,1% (Hình 1). Các mầm bệnh được xác định bằng cách kết hợp giữa quy trình Koch, kỹ thuật vi sinh truyền thống và kỹ thuật sinh học phân tử (PCR và giải trình tự gen) bao gồm ba loài nấm *Aspergillus niger* (bệnh thối đen), *Fusarium oxysporum* (thối đế củ) và *Colletotrichum gloeosporioides* (đốm đen) và hai loài vi khuẩn *Erwinia carotovora* (thối ướt) và *Pseudomonas aeruginosa* (thối nhũn) (Nguyễn Thái Học, 2016).



Hình 1. Triệu chứng bệnh thối củ hành tím ngoài đồng
A. Thối đế củ; B. Thối nhũn (Nguyễn Thái Học, 2016)

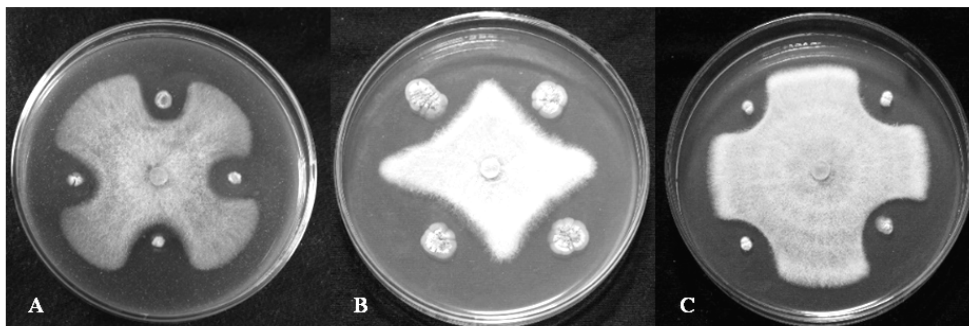
II. PHÒNG TRỪ SINH HỌC BỆNH THỐI ĐẾ CỦ HÀNH TÍM DO NẤM *Fusarium oxysporum*

Bệnh thối đế củ do nấm *F. oxysporum* gây ra trên hành tím là một trong những bệnh phổ biến, gây tổn thất nặng nề trong

giai đoạn cây con cho đến giai đoạn sau thu hoạch (Sintayehu *et al.*, 2014). Hai biện pháp sinh học gồm sử dụng vi khuẩn đối kháng và dịch trích thực vật đã được nghiên cứu để ứng dụng phòng trị bệnh này (Nguyễn Đắc Khoa, 2019).

Ba chủng vi khuẩn ATA-33, ATB-24 và ATB-32 được phân lập từ đất trồng hành có khả năng đối kháng với nấm *F. oxysporum* trên đĩa thạch mạnh nhất (Hình 2); trong đó, chủng vi khuẩn ATB-24 có hiệu quả giảm bệnh tốt nhất

trong điều kiện nhà lưới và trong điều kiện tồn trữ. Chủng ATB-24 được định danh là xạ khuẩn *Streptomyces albaduncus* (Trần Việt Quyền, 2016; Quyền *et al.*, 2017).



Hình 2. Vòng ức chế được tạo ra trên môi trường PDA của các chủng vi khuẩn ATB 24 (A), ATB 32 (B) và ATA 33 (C) (Trần Việt Quyền, 2016)

Đối với biện pháp sử dụng dịch trích thực vật, dịch trích của lá cây bình bát nước và sài đất có khả năng ức chế sự phát triển của nấm *F. oxysporum* trên đĩa thạch. Dịch trích lá bình bát nước còn làm giảm đáng kể sự nảy mầm của bào tử nấm *F. oxysporum* (Vinh *et al.*, 2017; Nguyễn Văn Vinh và *ctv.*, 2017).

Xạ khuẩn *S. albaduncus* và dịch trích lá cây sài đất có hiệu quả làm giảm bệnh thối ướt (*E. carotovora*) trong điều kiện ngoài đồng và có hiệu quả làm giảm bệnh thối để củ hành tím (*F. oxysporum*) trong điều kiện tồn trữ ở cả thí nghiệm diện rộng và thí nghiệm diện hẹp (Ngô Bửu Tân, 2018; Trần Thị Diễm My, 2018).

III. PHÒNG TRỪ SINH HỌC BỆNH THỐI NHŨN HÀNH TÍM DO VI KHUẨN *Pseudomonas aeruginosa*

Ngoài *F. oxysporum*, *P. aeruginosa* cũng là mầm bệnh gây thối củ (thối nhũn) phổ biến tại thị xã Vĩnh Châu, tỉnh Sóc

Trăng. *P. aeruginosa* gây hại chất lượng và sản lượng hành tím trong cả điều kiện ngoài đồng và tồn trữ (Bhat *et al.*, 2010).

3.1. Sử dụng vi khuẩn đối kháng

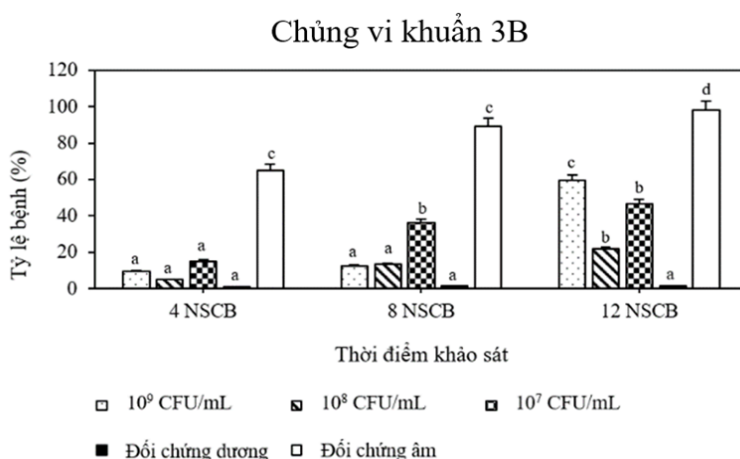
Đối với biện pháp sử dụng vi khuẩn đối kháng, 4 chủng vi khuẩn 2C, 3A, 3B và 4A được phân lập từ đất trồng hành ở thị xã Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng có khả năng đối kháng với mầm bệnh *P. aeruginosa* (Trương Tố Quyên, 2017). Trong đó, chủng 3B tạo vòng vô khuẩn lớn nhất (6 mm). Ngoài ra, dịch nuôi cấy không chứa tế bào vi khuẩn của chủng 4A cũng có khả năng ức chế sự phát triển của mầm bệnh, tạo vòng vô khuẩn có bán kính 5 mm.

Khả năng làm giảm bệnh thối nhũn hành tím của hai chủng vi khuẩn 3B và 4A được khảo sát trong điều kiện nhà lưới với hai biện pháp áo củ và chùng vào đất ở ba mật số 10^9 , 10^8 và 10^7 CFU/ml. Kết quả cho thấy cả hai chủng vi khuẩn đều có

hiệu quả giảm bệnh; trong đó, biện pháp áo củ với chủng 3B có hiệu quả giảm tỷ lệ bệnh đến 12 ngày sau chủng bệnh (NSCB) ở tất cả các nghiệm thức và hiệu quả giảm bệnh tương đương với thuốc hóa học đến 8 NSCB ở hai nghiệm thức 10^9 và 10^8 CFU/mL (Hình 3).

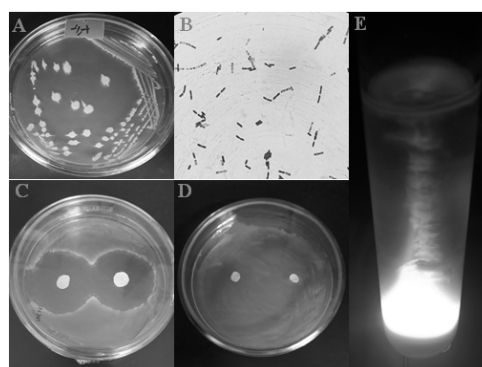
Hai chủng vi khuẩn 3B và 4A được định danh để hiểu rõ đặc tính, đảm bảo an toàn trước khi được thử nghiệm trong điều kiện ngoài đồng và làm cơ sở cho sản xuất

chế phẩm sinh học (Nguyễn Thị Mai Trinh, 2018). Kết quả định danh bằng kỹ thuật vi sinh truyền thống dựa trên Hệ thống phân loại Bergey cho thấy khuẩn lạc của chủng 4A và 3B trên môi trường NA (nutrient agar) có dạng tròn, lồi, biên không đều, màu trắng đục. Cả hai chủng đều là vi khuẩn Gram dương, hình que, sinh nội bào tử, có khả năng di động và sinh tổng hợp enzyme catalase.



Hình 3. Tỷ lệ bệnh (%) thời nhũn tại thời điểm 4, 8 và 12 ngày sau chủng bệnh ở nghiệm thức áo củ với chủng vi khuẩn 3B (Trương Tố Quyên, 2017)

Kết quả giải trình tự gen 16S rRNA cho thấy trình tự nucleotide của hai chủng tương đồng 99% với trình tự của các chủng *Bacillus* trên cơ sở dữ liệu. Các khảo sát sinh lý - sinh hóa bổ trợ cho thấy chủng vi khuẩn 4A mẫn cảm với kháng sinh ampicillin, không mẫn cảm với lincomycin và không có khả năng phát triển ở nhiệt độ 45°C. Chủng vi khuẩn 3B có khả năng phát triển ở nhiệt độ 45°C và không có khả năng thủy phân tinh bột. Hình 4 trình bày một số hình ảnh khảo sát trong quá trình định danh chủng vi khuẩn 4A.



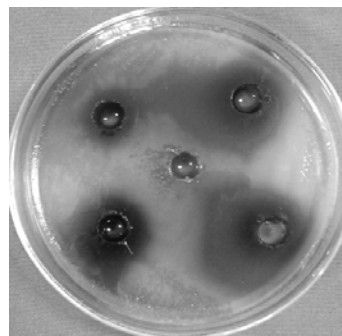
Hình 4. Một số khảo sát trong quá trình định danh chủng vi khuẩn 4A (Nguyễn Thị Mai Trinh, 2018)

- A: Khuẩn lạc vi khuẩn trên môi trường NA,
- B: Tế bào vi khuẩn dưới kính hiển vi quang học 100X,
- C: Khảo sát tính kháng ampicillin,
- D: Khảo sát tính kháng lincomycin,
- E: Khảo sát khả năng di động

Bằng cách kết hợp giữa kỹ thuật vi sinh truyền thống dựa trên Hệ thống phân loại Bergey, kỹ thuật giải trình tự gen 16S rRNA của vi khuẩn và các khảo sát sinh lý - sinh hóa, hai chủng vi khuẩn trên được xác định là *Bacillus safensis* (3B) và *Bacillus stratosphericus* (4A).

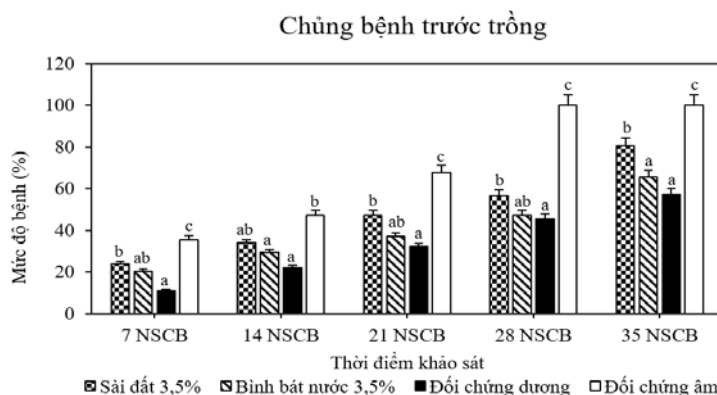
3.2. Sử dụng dịch trích thực vật

Dựa vào ba tiêu chí gồm: (1) loại thực vật phổ biến và dễ tìm ở Việt Nam, (2) thường được dùng làm thuốc dân gian; và (3) dịch trích của các loại thực vật có chứa một số hoạt chất biến dưỡng thứ cấp có khả năng ức chế vi khuẩn, 20 loại thực vật đã được tuyển chọn để làm dịch trích (Trần Huỳnh Phương Vy, 2018). Trong đó, hai loại dịch trích từ lá cây bình bát nước và sài đất có thể ức chế vi khuẩn *P. aeruginosa* trên môi trường King's B ở tất cả các nồng độ khảo sát (2,5%, 5% và 10% w/v). Dịch trích sài đất 2,5% có khả năng ức chế thấp nhất ($7,7 \pm 0,3$ mm) và dịch trích bình bát nước 10% có khả năng ức chế cao nhất ($20,3 \pm 1,8$ mm) (Hình 5).



Hình 5. Vòng ức chế của dịch trích lá cây bình bát nước đối với vi khuẩn *P. aeruginosa*
(Trần Huỳnh Phương Vy, 2018)

Khả năng giảm bệnh thối nhũn hành tím của dịch trích lá cây bình bát nước và sài đất được khảo sát trong điều kiện nhà lưới, chia thành hai trường hợp gồm chủng bệnh trước trồng và chủng bệnh sau trồng 30 ngày, với 3 mức nồng độ lần lượt là 1,5%; 2,5% và 3,5% (w/v). Kết quả cho thấy dịch trích bình bát nước 3,5% và dịch trích sài đất 3,5% đều có hiệu quả làm giảm bệnh thối nhũn hành tím kéo dài đến 35 NSCB ở cả hai trường hợp chủng bệnh (Hình 6). Trong điều kiện tồn trữ, hai nghiệm thức bình bát nước 3,5% và sài đất 3,5% duy trì hiệu quả làm giảm bệnh tốt nhất đến 21 ngày sau chủng bệnh.



Hình 6. Mức độ bệnh thối củ (%) khi được xử lý với dịch trích sài đất 3,5% và bình bát nước 3,5% trong điều kiện nhà lưới ở trường hợp chủng bệnh trước khi trồng
(Trần Huỳnh Phương Vy, 2018)

3.3. Sử dụng cao chiết lá bình bát nước

Dịch trích của lá bình bát nước có hoạt tính sinh học cao và có hiệu quả ức chế sự phát triển của mầm bệnh *P. aeruginosa*, *F. oxysporum*, *C. gloeosporioides* và *E. carotovora* gây bệnh trên hành tím (Nguyễn Văn Vinh, 2016; Nguyễn Văn Vinh *et al.*, 2017; Nguyễn Văn Vinh và *ctv.*, 2017; Trần Huỳnh Phương Vy, 2018). Trong lá bình bát nước có chứa các hợp chất giúp chống côn trùng, kháng khuẩn và kháng nấm (Padmaja *et al.*, 1995). Tuy nhiên, dịch trích tươi không bảo quản được lâu; trong khi đó, cao chiết của lá bình bát nước vừa dễ bảo quản và vẫn chứa hầu hết các hợp chất có hoạt tính sinh học có trong lá.

Hiệu suất trích ly của cao chiết lá bình bát nước non và cao chiết lá trưởng thành có giá trị lần lượt là 1,85% và 3,40% (Nguyễn Khánh Ngân, 2018). Cả hai loại cao này đều có khả năng ức chế vi khuẩn *P. aeruginosa* trên đĩa thạch tương đương với thuốc hóa học. Trong điều kiện nhà lưới, khi xử lý bằng phương pháp phun cao chiết qua lá ở 3 nồng độ 0,1%; 0,15% và 0,2% (w/v) ở thời điểm 48, 55 và 62 ngày sau khi trồng cho thấy cả ba nghiệm thức đều có hiệu quả làm giảm bệnh (Hình 7). Nghiệm thức cao chiết lá trưởng thành 0,1% được chọn vì đáp ứng được hai tiêu chí gồm: (1) có khả năng giúp giảm tỷ lệ thối nhũn; và (2) nồng độ sử dụng thấp giúp tiết kiệm được chi phí sản xuất cao chiết.



Cao chiết

Thuốc hóa học

Nước cất

Hình 7. Hình thái bên ngoài của củ hành bị bệnh sau khi được xử lý bằng cao chiết, thuốc hóa học và nước cất (Nguyễn Khánh Ngân, 2018)

Kết quả định tính, định lượng các hoạt chất sinh học cho thấy cả hai loại cao chiết đều chứa các hoạt chất kháng khuẩn, có hàm lượng polyphenol tổng cao đồng thời có hoạt tính kháng oxy hóa mạnh khi khảo sát bằng phương pháp khử gốc tự do

DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) và gốc H_2O_2 . Điều này chứng tỏ cao chiết lá bình bát nước có nhiều tiềm năng để phòng trị sinh học bệnh thối nhũn hành tím (Nguyễn Khánh Ngân, 2018).

Đề tài nghiên cứu về phòng trừ bệnh thối củ hành tím tại thị xã Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng đã được nghiệm thu năm 2018 (xếp loại xuất sắc). Kết quả được địa phương đánh giá rất cao và sẽ được chuyển giao cho tỉnh Sóc Trăng trong thời gian tới để triển khai ứng dụng trong thực tiễn. Tuy nhiên, để chế phẩm có thể đến tay nông dân, quy trình sản xuất chế phẩm từ vi sinh vật đối kháng hoặc dịch trích thực vật cần phải được nghiên cứu thêm để hoàn thiện chế phẩm và tối ưu hóa các yếu tố đầu vào. Hi vọng chế phẩm phòng trừ sinh học bệnh thối củ hành tím sẽ được hoàn thiện trong thời gian tới tại tỉnh Sóc Trăng, giúp nông dân tiết kiệm chi phí sản xuất, bảo vệ môi trường và sức khỏe cộng đồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bhat, K.A., Masood, S.D., Bhat, N.A., Bhat, M.A., Razvi, S.M., Mir, M.R., Wani, N. and Habib, M. (2010). Current Status of Post Harvest Soft Rot in Vegetables: A Review. *Asian journal of plant science*. 9(4): 200 - 208.
2. Infonet (2015). Một thị xã có 1.200 người mù: Hành tím có phải là thủ phạm? <https://infonet.vn/mot-thi-xa-co-1200-nguoi-mu-hanh-tim-co-phai-la-thu-pham-post164100.info>
3. Ngô Bửu Tân (2018). Khảo sát khả năng phòng trừ bệnh thối củ hành tím của xạ khuẩn *Streptomyces albaduncus* trong điều kiện ngoài đồng và tồn trữ tại thị xã Vĩnh Châu, Sóc Trăng. Luận văn Tốt nghiệp Cao học ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ. Cần Thơ.
4. 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, ngày 20/7/2018. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. Hà Nội. Việt Nam.
5. Nguyễn Đắc Khoa, 2019. Xác định mầm bệnh gây thối củ hành tím tại tỉnh Sóc Trăng và tuyển chọn biện pháp sinh học để phòng trị bệnh. Báo cáo Tổng kết đề tài nghiên cứu Khoa học và Công nghệ cấp tỉnh. Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Sóc Trăng. 276 trang.
6. Nguyễn Khánh Ngân, 2018. Hiệu quả phòng trị bệnh thối củ Hành tím (*Allium ascalonicum* L.) của cao chiết lá Bình bát nước (*Annona glabra* L.). Dự án Nghiên cứu Khoa học Kỹ thuật dành cho học sinh trung học lĩnh vực Khoa học Thực vật. Cần Thơ.
7. Nguyễn Thái Học, 2016. Phân lập và xác định các mầm bệnh phổ biến trên hành tím (*Allium ascalonicum*) tại thị xã Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng. Luận văn Tốt nghiệp Cao học ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ. Cần Thơ.
8. Nguyễn Thị Mai Trinh, 2018. Định danh vi khuẩn đối kháng với vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa* gây thối củ hành tím tại thị xã Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng. Luận văn Tốt nghiệp Đại học ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ, Cần Thơ.
9. Nguyễn Văn Vinh, 2016. Tuyển chọn dịch trích thực vật có khả năng phòng trị bệnh thối củ hành tím tại thị xã Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng. Luận văn Tốt nghiệp Cao học ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ, Cần Thơ.
10. Nguyễn Văn Vinh, Lâm Tấn Hào và Nguyễn Đắc Khoa (2017). Hiệu quả phòng trị bệnh thối củ trên hành tím do *Fusarium oxysporum* của dịch trích Bình bát nước và Sài đất trong điều kiện nhà lưới và tồn trữ. Hội thảo Quốc gia Bệnh hại Thực vật Việt Nam lần thứ 16, ngày 21 - 23/7/2017. Trường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng. Đà Nẵng. Việt Nam.
11. Padmaja, V., Thankamany, V., Hara, N., Fujimoto, Y. and Hisham, A. (1995). Biological activities of *Annona glabra* L. *Journal of Ethnopharmacology*. 48(1): 21 - 24.
12. Quyền, T.V., Tín, C.H.T. and Khoa, N.Đ (2017). Disease - reducing effects of antagonistic soil bacteria on *Fusarium basal* rot on shallot caused by *Fusarium oxysporum* in Vĩnh Châu, Sóc Trăng. *Can Tho University Journal of Science*. 6: 31 - 37.

13. Sintayehu, A., Ahmed, S., Fininsa, C. and Sakhuja, P.K. (2014). Evaluation of green manure amendments for the management of *Fusarium* basal rot on shallot. *International Journal of Agronomy*. 2014: 1 - 6.
14. Trần Huỳnh Phương Vy (2018). Tuyển chọn dịch trích thực vật có khả năng ức chế vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa* gây bệnh thối củ hành tím tại thị xã Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng. Luận văn Tốt nghiệp Đại học ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ. Cần Thơ.
15. Trần Thị Diễm My (2018). Khảo sát khả năng phòng trị bệnh thối để củ hành tím của dịch trích Sài đất trong điều kiện ngoài đồng và tồn trữ tại thị xã Vĩnh Châu, Sóc Trăng. Luận văn Tốt nghiệp Cao học ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ. Cần Thơ.
16. Trần Việt Quyền (2016). Phân lập, tuyển chọn và định danh vi khuẩn đối kháng có khả năng phòng trị bệnh thối củ hành tím (*Allium ascalonicum*) ở thị xã Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng. Luận văn Tốt nghiệp Cao học ngành Công nghệ Sinh học. Đại học Cần Thơ. Cần Thơ.
17. Trương Tố Quyên, (2017). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn đối kháng trong đất có khả năng phòng trị bệnh thối ứọt do vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa* tại Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng. Luận văn Tốt nghiệp Đại học ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ. Cần Thơ.
18. U.S. National library of Medicine. National Center for Biotechnology Information. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Isoprocarb>.
19. Vinh, N.V., Hào, L.T. and Khoa, N.Đ. (2017). Disease - reducing effects of aqueous leaf extracts of *Annona glabra* and *Wedelia calendulacea* on *Fusarium* basal rot of shallot caused by *Fusarium oxysporum*. *Can Tho University Journal of Science*. 6: 23 - 30.

HIỆU QUẢ CỦA THỰC KHUẨN THỂ TRONG PHÒNG TRỊ BỆNH THỐI HẠT TRÊN LÚA DO VI KHUẨN *Burkholderia glumae* Ở ĐIỀU KIỆN NGOÀI ĐỒNG

Nguyễn Minh Nhật¹, Nguyễn Văn Hùng¹
Đoàn Thị Kiều Tiên¹, Kaeko Kamei² và Nguyễn Thị Thu Nga¹

¹Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

²Viện Công nghệ Kyoto, Nhật Bản

ABSTRACT

The efficacy of bacteriophages in controlling bacterial grain rot on rice caused by *Burkholderia glumae* under field conditions

The study was investigated the control ability of bacteriophage for bacterial grain rot caused by *Burkholderia glumae* in the field conditions. The field experiment was followed randomized completely block design at Vinh Long province with six treatments (i.e. single phage Φ AG58 (10^8 pfu/ml), single phage Φ AG58 (10^7 pfu/ml), phage mixture (10^8 pfu/ml), phage mixture (10^7 pfu/ml), Starner 20 WP and control untreated) and four replications. The results showed that the infected grain rot and AUDPC of phage treatments gave significantly lower than the control at level 5%. The disease reduction of Φ AG58 (10^8 pfu/ml) and phage mixture (10^8 pfu/ml) were expressed over 50%. The actual yield of bacteriophage treatments had higher than the untreated control. In which, the phage mixture (10^8 pfu/ml) showed the best treatment in yield.

Keywords: Bacteriophage, bacterial grain rot, *Burkholderia glumae*, rice.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thực khuẩn thể (tên tiếng Anh: Bacteriophage) là một loại virus kí sinh, nhân bản trên tế bào vi khuẩn và giết chết tế bào vi khuẩn kí chủ trong một đến vài giờ và phóng thích ra một đến vài trăm thể thực khuẩn thể mới (Grath *et al.*, 2007). Thực khuẩn thể (TKT) từ khi được phát hiện đã được ứng dụng để kiểm soát bệnh hại trên cây trồng do vi khuẩn như bệnh đốm lá vi khuẩn trên cà chua, đào, loét

trên cam quýt do vi khuẩn *Xanthomonas* spp. (Civerolo *et al.*, 1969; Flaherty *et al.*, 2001; Balogh *et al.*, 2008), bệnh thối trên nấm rơm do *Pseudomonas* spp. (Munsch *et al.*, 1995); cháy lá, thối nhũn do *Erwinia* spp. (Schnabel *et al.*, 1999; Svircev *et al.*, 2005; Ravensdale *et al.*, 2007, trích dẫn bởi Balogh *et al.*, 2010). Tại Việt Nam, việc sử dụng TKT như là một tác nhân kiểm soát sinh học đã được nghiên cứu và mang lại thành công nhất định, cụ thể trong kiểm soát bệnh cháy bìa lá lúa do *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Người phân biên: TS. Lê Thanh Toàn.

(Nguyễn Thị Trúc Giang và *ctv.*, 2014); bệnh thối gốc lúa do *Erwinia chrysanthemi* (Trần Hưng Minh và *ctv.*, 2016); bệnh héo xanh trên cây hoa vạn thọ do *Ralstonia solanacearum* Smith (Nguyễn Thúy An và *ctv.*, 2017). Đối với bệnh thối hạt lúa do *Burkholderia glumae* thực khuẩn thể cũng được ghi nhận mang lại hiệu quả rất tốt trong hạn chế sự gây hại của mầm bệnh (Phan Quốc Huy và *ctv.*, 2016; Đoàn Thị Kiều Tiên và *ctv.*, 2018). Tuy nhiên, những nghiên cứu mới được thực hiện trong điều kiện phòng thí nghiệm và nhà lưới, nghiên cứu chưa được đánh giá khả năng phòng trị của TKT đối với bệnh thối hạt ở điều kiện ngoài đồng. Vì vậy, trên cơ sở đó nghiên cứu được thực hiện nhằm tìm hiểu hiệu quả phòng trị của TKT đối với bệnh thối hạt lúa do vi khuẩn *Burkholderia glumae* trước khi ứng dụng vào thực tế.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm so sánh hiệu quả phòng trị của TKT khi xử lý đơn lẻ hay hỗn hợp ở hai mật số 10^7 pfu/ml và 10^8 pfu/ml đối với bệnh thối hạt trên lúa do *B. glumae* ở điều kiện ngoài đồng, để tìm ra nghiệm thức mang lại hiệu quả cao trong ứng dụng thực tế.

Thí nghiệm được bố trí theo khối hoàn toàn ngẫu nhiên, 4 lần lặp lại (mỗi lần lặp lại là lô có diện tích 50 m^2) và bao gồm các nghiệm thức:

1. Thực khuẩn thể Φ BurAG58 (10^8 pfu/ml).
2. Thực khuẩn thể Φ BurAG58 (10^7 pfu/ml).
3. Hỗn hợp thực khuẩn thể (Φ BurAG58, Φ BurVL34, Φ BurDT47a, 10^8 pfu/ml).

4. Hỗn hợp thực khuẩn thể (Φ BurAG58, Φ BurVL34, Φ BurDT47a, 10^7 pfu/ml).

5. Thuốc hóa học Starner 20WP.

6. Đối chứng (chỉ cấy bệnh không xử lý phòng trị).

Chuẩn bị ruộng lúa thí nghiệm: Ruộng lúa thuê của nông dân, diện tích 1000 m^2 , sau khi thu hoạch lúa, đốt gốc rạ, cho nước vào ngâm rồi tháo nước, tiến hành xuống giống với lượng giống $9 \text{ kg}/1000 \text{ m}^2$. Trong quá trình canh tác chăm sóc và bón phân với liều lượng trên 1000 m^2 là 30 kg urea, 25 kg DAP, 10 kg kali, 10 kg NPK (20-20-15). Phun thuốc cỏ, sâu, bệnh theo tập quán canh tác của nông dân, hoàn toàn không xử lý thuốc hóa học có hoạt chất diệt khuẩn trên ruộng.

Chuẩn bị thực khuẩn thể: Thực khuẩn thể được nuôi trên môi trường King B 0,8% agar, sau 24 giờ thu hoạch huyền phù thực khuẩn thể bằng nước cất thanh trùng. Sau đó đếm mật số thực khuẩn thể bằng phương pháp pha loãng và trải đĩa, sau đó đưa huyền phù thực khuẩn thể về mật số 10^7 pfu/ml và 10^8 pfu/ml đối với nghiệm thức TKT đơn và hỗn hợp (với tỷ lệ 3 TKT trong hỗn hợp 1:1:1).

Chuẩn bị vi khuẩn: Vi khuẩn *Burkholderia glumae* DT46 được nuôi trên môi trường King B 2% agar sau 48 giờ, thu hoạch vi khuẩn bằng nước muối sinh lý 0,9%. Đưa huyền phù vi khuẩn về $\text{OD}_{600\text{nm}} = 0,15$ (tương ứng mật số 2×10^8 cfu/ml).

Cách xử lý TKT: Phun thực khuẩn thể 2 lần đối với nghiệm thức xử lý TKT. Lần 1 TKT được phun với thể tích $2 \text{ lít}/\text{lô}$ 50 m^2 trên bông vào giai đoạn cây lúa trổ đều.

Lần 2 TKT được phun với thể tích 2 lít/lô 50 m² trên bông vào 5 ngày sau khi phun lần 1.

Cách lây bệnh: Huyền phù vi khuẩn *Burkholderia glumae* DT46 được phun 40 lít/công 1000 m² trên bông vào 2 giờ sau khi phun thực khuẩn thể phun lần 1.

Cách xử lý thuốc ở nghiệm thức hóa học: Thuốc Starner 20WP được pha nồng

độ khuyến cáo được phun 2 lít/50 m² trên bông khi cây lúa bắt đầu xuất hiện bệnh.

Ghi nhận chỉ tiêu: Ở thời điểm 10, 15 và 20 ngày sau khi lây bệnh (NSKLB).

- **Tỷ lệ hạt bệnh (TLHB):** Mỗi lô thí nghiệm chọn ngẫu nhiên 50 bông nằm trên 5 điểm đánh dấu thuộc 2 đường chéo góc. Đếm tổng số hạt bị nhiễm bệnh và tổng số hạt trên bông.

$$TLHB (\%) = \frac{\text{Số hạt bị nhiễm bệnh/bông}}{\text{Tổng số hạt/bông}} \times 100$$

- **Diện tích bên dưới đường cong tiến triển bệnh (AUDPC)(Cooke, 2006):**

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} \left(\frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) \times (t_{i-1} - t_i)$$

Trong đó: n là số lần đo tỷ lệ bệnh.

y_i, y_{i+1} là tỷ lệ hạt bệnh tại lần đo thứ i và i + 1.

t_i, t_{i+1} là thời gian tại lần lấy chỉ tiêu tỷ lệ bệnh thứ i và i + 1.

- **Hiệu quả giảm bệnh (HQGB):** Dựa trên số liệu của tỷ lệ hạt bị bệnh thu được ở trên có công thức tính hiệu quả giảm bệnh sau (Abbott, 1925).

$$HQGB (\%) = \frac{ĐC - NT}{ĐC} \times 100$$

Trong đó: ĐC là tỷ lệ hạt bị bệnh của nghiệm thức đối chứng (%).

NT là tỷ lệ hạt bị bệnh của nghiệm thức có xử lý (%).

- **Năng suất thực tế và thành phần năng suất (Trương Đích, 2000):**

$$\text{Tỷ lệ hạt chắc (\%)} = \frac{\text{Số hạt chắc/bông}}{\text{Tổng số hạt/bông}} \times 100$$

+ Trọng lượng 1000 hạt (g):

$$W_{1000\text{hạt(ẩm độ 14\%)}}(g) = \frac{W_{1000\text{ hạt}} \times (100 - H_0)}{86} \times 100$$

Trong đó: H_0 : Ẩm độ của hạt tại thời điểm cân.

$W_{1000\text{ hạt}}$: Trọng lượng 1000 chắc lúc cân.

+ Năng suất thực tế (NSTT) (tấn/ha): Lấy toàn bộ hạt chắc cân trọng lượng rồi Tiến hành chọn và cắt ngẫu nhiên lúa đo ẩm độ sau đó quy về trọng lượng ở ẩm độ 14 (%) và đơn vị tấn/ha.

$$W_{(5m^2)}^{(âm\ độ\ 14\%)} (kg) = \frac{W_{(5m^2)} \times (100 - H_0)}{86} \times 100$$

Trong đó: H_0 là ẩm độ của hạt tại thời điểm cân (%).

W_{5m^2} : Trọng lượng hạt ở thời điểm cân.

NSTT (tấn/ha): $2 \times W_{5m^2}$ (14%).

Số liệu được phân tích thống kê bằng phần mềm MstactC qua kiểm định Duncan.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ hạt bệnh trên bông của các nghiệm thức qua các thời điểm khảo sát

Qua kết quả Bảng 1 cho thấy qua 3 thời điểm khảo sát, 4 nghiệm thức xử lý TKT thể hiện tỷ lệ bệnh thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng. Tuy nhiên, nghiệm thức hỗn hợp TKT (10^7 pfu/ml) không khác biệt với nghiệm thức đối chứng ở thời điểm 10 NSKLB và 15 NSKLB.

Tại thời điểm 10 NSKLB, tỷ lệ hạt bệnh của các nghiệm thức dao động từ 19,49% đến 35,98%. Các nghiệm thức bao gồm xử lý đơn TKT ở mật số 10^7 pfu/ml, xử lý đơn và hỗn hợp TKT ở mật số 10^8 pfu/ml và xử lý thuốc hóa học Starner 20WP đều thể hiện sự hiệu quả trong việc kiểm soát bệnh thối hạt thông qua có tỷ lệ hạt bệnh nhỏ hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng không xử lý. Riêng nghiệm thức xử lý hỗn hợp TKT ở mật số 10^7 pfu/ml có tỷ lệ hạt bệnh không khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng (Bảng 1).

Vào 15 NSKLB, nghiệm thức có tỷ lệ hạt bệnh thấp nhất là hỗn hợp TKT ở mật số 10^8 pfu/ml với tỷ lệ 21,16% và có khác

biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng với tỷ lệ hạt bệnh là 38,41%. Nghiệm thức đơn TKT ở mật số 10^8 pfu/ml, hỗn hợp TKT ở mật số 10^7 pfu/ml và nghiệm thức hóa học Starner 20WP cũng cho kết quả tương tự. Nghiệm thức hỗn hợp TKT ở mật số 10^7 pfu/ml không có khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng, kết quả này cũng tương tự thời điểm khảo sát 10 NSKLB (Bảng 1).

Đến thời điểm 20NSKLB, tỷ lệ hạt bệnh của các nghiệm thức đều tăng. Cao nhất là nghiệm thức đối chứng không xử lý 53,42% và khác biệt ý nghĩa thống kê so với tất cả các nghiệm thức có xử lý còn lại. Các nghiệm thức này tuy có tỷ lệ hạt bệnh khác nhau biến động từ 23,88% đến 41,59% nhưng vẫn không có khác biệt ý nghĩa thống kê với nhau (Bảng 1).

Về chỉ số AUDPC (Bảng 1) cho thấy, tất cả các nghiệm thức xử lý đều có chỉ số thấp hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng. Đối với các nghiệm thức xử lý TKT thì nghiệm thức hỗn hợp TKT ở mật số 10^7 pfu/ml là cho chỉ số AUDPC cao hơn các nghiệm thức còn lại. Tuy vậy chỉ số AUDPC của các nghiệm thức xử lý TKT này không có khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức hóa học Starner 20WP.

Bảng 1. Tỷ lệ hạt bệnh trên bông của các nghiệm thức qua các thời điểm

Nghiệm thức	Tỷ lệ hạt bệnh trên bông (%)			AUDPC
	10 NSKLB	15 NSKLB	20NSKLB	
ΦBurAG58 (10 ⁸ pfu/ml)	19,49 ^b	22,62 ^b	23,88 ^d	213,7 ^c
ΦBurAG58 (10 ⁷ pfu/ml)	18,29 ^b	26,16 ^b	30,48 ^{cd}	233,0 ^c
Mix TKT (10 ⁸ pfu/ml)	21,36 ^b	21,86 ^b	26,63 ^d	228,0 ^c
Mix TKT (10 ⁷ pfu/ml)	29,05 ^{ab}	30,32 ^{ab}	41,59 ^b	325,0 ^b
Thuốc Starner 20WP	22,69 ^b	25,43 ^b	39,83 ^{bc}	276,6 ^{bc}
Đối chứng	35,98 ^a	38,41 ^a	53,42 ^a	409,5 ^a
<i>Mức ý nghĩa</i>	*	*	*	*
<i>CV%</i>	17,96	12,14	12,2	17,34

Ghi chú: Số liệu được chuyển sang \sqrt{x} hoặc $\arcsin\sqrt{x}$ trước khi xử lý số liệu thống kê. Các số trung bình trong cùng một cột những số có cùng chữ cái theo sau giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% trong phép thử Duncan, * khác biệt ở mức ý nghĩa 5%, NSKLB: ngày sau khi lây bệnh. Mix TKT: hỗn hợp 3 TKT (ΦBurVL34, ΦBurAG58, ΦBurDT47a).

Nhìn chung, kết quả này cho thấy chỉ có nghiệm thức hỗn hợp TKT ở mật số 10⁷ pfu/ml là cho hiệu quả không khác biệt thống kê với đối chứng ở hai thời điểm khảo sát ban đầu, tất cả các nghiệm thức còn lại đều cho thấy sự hiệu quả ở 3 thời điểm khảo sát. Trong đó, hai nghiệm thức đơn và hỗn hợp TKT ở mật số 10⁸ pfu/ml cho tỷ lệ hạt bệnh thấp và ổn định hơn tất cả các nghiệm thức còn lại.

3.2. Hiệu quả giảm bệnh của các nghiệm thức qua các thời điểm khảo sát

Từ kết quả Bảng 2 cho thấy, tại thời điểm khảo sát 10 và 15 NSKLB thì hiệu quả giảm bệnh giữa các nghiệm thức không có khác biệt ý nghĩa thống kê. Đến thời điểm 20 NSKLB, hiệu quả giảm bệnh giữa các nghiệm thức có sự khác biệt ý nghĩa thống kê với nhau. Trong đó, nghiệm thức đơn TKT và nghiệm thức hỗn hợp TKT ở mật số 10⁸ pfu/ml có hiệu quả giảm bệnh cao hơn và khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức thuốc hóa học Starner 20 WP và nghiệm thức hỗn hợp TKT ở mật số 10⁷ pfu/ml.

Bảng 2. Hiệu quả giảm bệnh của các nghiệm thức xử lý qua các thời điểm khảo sát

Nghiệm thức	Hiệu quả giảm bệnh (%)		
	10 NSKLB	15 NSKLB	20 NSKLB
ΦBurAG58 (10 ⁸ pfu/ml)	43,76	40,97	55,46 ^a
ΦBurAG58 (10 ⁷ pfu/ml)	47,68	31,78	44,16 ^{ab}
Mix TKT (10 ⁸ pfu/ml)	39,69	43,13	49,62 ^a
Mix TKT (10 ⁷ pfu/ml)	18,31	21,25	21,92 ^b
Thuốc Starner 20WP	39,37	33,78	25,58 ^b
<i>Mức ý nghĩa</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	*
<i>CV%</i>	54,27	50,73	38

Ghi chú: Số liệu được chuyển sang \sqrt{x} hoặc $\arcsin\sqrt{x}$ trước khi xử lý số liệu thống kê. Các số trung bình trong cùng một cột những số có cùng chữ cái theo sau giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% trong phép thử Duncan, * khác biệt ở mức ý nghĩa 5%, NSKLB: ngày sau khi lây bệnh. Mix TKT: hỗn hợp 3 TKT (ΦBurVL34, ΦBurAG58, ΦBurDT47a).

3.3. Ảnh hưởng hiệu quả phòng trị của thực khuẩn thể đến thành phần năng suất

Kết quả thành phần năng suất qua Bảng 3 cho thấy các nghiệm thức có xử

lý đều mang lại hiệu quả về chỉ tiêu năng suất với nghiệm thức đối chứng không xử lý.

Bảng 3. Thành phần năng suất và năng suất của các nghiệm thức

Nghiệm thức	Chỉ tiêu năng suất			
	Tỷ lệ hạt chắc (%)	Trọng lượng 1000 hạt (g)	Năng suất lý thuyết (tấn/ha)	Năng suất thực tế (tấn/ha)
ΦBurAG58 (10 ⁸ pfu/ml)	73,60 ^{ab}	27,84	4,13 ^a	3,30 ^{ab}
ΦBurAG58 (10 ⁷ pfu/ml)	60,04 ^c	27,87	3,66 ^{ab}	2,91 ^b
Mix TKT (10 ⁸ pfu/ml)	77,55 ^a	27,67	4,44 ^a	3,67 ^a
Mix TKT (10 ⁷ pfu/ml)	56,83 ^c	27,33	3,54 ^{ab}	2,94 ^b
Starner 20WP	65,28 ^{bc}	28,77	3,69 ^{ab}	3,26 ^{ab}
Đối chứng	46,62 ^d	27,20	2,73 ^b	1,67 ^c
Mức ý nghĩa	*	ns	*	*
CV%	9,96	5,49	17,23	14,43

Ghi chú: Các số trung bình trong cùng một cột những số có cùng chữ cái theo sau giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% trong phép thử Duncan, * khác biệt ở mức ý nghĩa 5%, NSKLB: ngày sau khi lây bệnh. Mix TKT: hỗn hợp 3 TKT (ΦBurVL34, ΦBurAG58, ΦBurDT47a).

Về chỉ tiêu tỷ lệ hạt chắc, các nghiệm thức có xử lý đều có tỷ lệ hạt chắc cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng. Nghiệm thức hỗn hợp TKT ở mật số 10⁸ pfu/ml có tỷ lệ hạt chắc 77,55%, tương đương với nghiệm thức đơn TKT ở mật số 10⁸ pfu/ml với tỷ lệ hạt chắc là 73,60%, cao hơn và khác biệt ý nghĩa so với các nghiệm thức xử lý còn lại và đối chứng. Kế đến là ba nghiệm thức bao gồm đơn TKT, hỗn hợp TKT ở cùng mật số 10⁷ pfu/ml và thuốc hóa học Starner 20 WP cho kết quả tương tự nhau. Nghiệm thức đối chứng có tỷ lệ hạt chắc thấp nhất chỉ đạt 46,62%. Kết quả này cho thấy vi khuẩn *Burkholderia glumae* đã làm thiệt hại hơn 50% số hạt có trên một bông, làm ảnh hưởng nghiêm trọng đến năng suất lúa.

Về chỉ tiêu trọng lượng 1000 hạt, qua kết quả Bảng 3 cho thấy trọng lượng 1000 hạt của tất cả các nghiệm thức biến động từ 27,20 g đến 28,77 g và không

khác biệt ý nghĩa thống kê với nhau. Điều này phù hợp với nhận định của Nguyễn Đình Giao và *ctv.* (1997) trọng lượng 1000 hạt tương đối ít biến động, phụ thuộc chủ yếu vào giống.

Về năng suất lý thuyết (Bảng 3) hai nghiệm thức đơn TKT và hỗn hợp TKT ở cùng mật số 10⁸ pfu/ml có năng suất lý thuyết lần lượt là 4,13 tấn/ha và 4,44 tấn/ha cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng không xử lý chỉ đạt 2,73 tấn/ha. Ba nghiệm thức bao gồm đơn TKT, hỗn hợp TKT ở mật số 10⁷ pfu/ml và thuốc hóa học Starner 20WP có năng suất lý thuyết chưa khác biệt ý nghĩa so với đối chứng.

Về năng suất thực tế (Bảng 3) cho thấy tất cả các nghiệm thức xử lý đều có năng suất cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng không xử lý. Trong đó, năng suất cao nhất là nghiệm thức hỗn hợp TKT ở mật số

10^8 pfu/ml với 3,67 tấn/ha, tương đương với hai nghiệm thức đơn TKT ở mật số 10^8 pfu/ml và thuốc hóa học Starnor 20WP (năng suất lần lượt là 3,30 tấn/ha và 3,26 tấn/ha), cao hơn và khác biệt so với hai nghiệm thức đơn TKT và hỗn hợp TKT cùng mật số 10^7 pfu/ml. Năng suất thực tế thấp nhất là nghiệm thức đối chứng không xử lý với 1,67 tấn/ha.

Nhìn chung, hai nghiệm thức đơn TKT và hỗn hợp TKT ở mật số 10^8 pfu/ml cho hiệu quả giảm bệnh và tỷ lệ hạt chắc cao nên góp phần làm cho năng suất thực tế đạt tốt nhất so với tất cả các nghiệm thức còn lại. Qua đây cho thấy hai biện pháp xử lý đơn TKT ở mật số 10^8 pfu/ml và xử lý hỗn hợp TKT ở mật số 10^8 pfu/ml cho hiệu quả giảm bệnh cao hơn so với các biện pháp xử lý khác ở điều kiện ngoài đồng, góp phần làm cân bằng các thành phần năng suất để năng suất lúa không giảm nhiều khi bị vi khuẩn *Burkholderia glumae* gây hại.

Qua 3 thời điểm khảo sát cho thấy hiệu quả phòng trị bệnh thối hạt do vi khuẩn *Burkholderia glumae* của các nghiệm thức là khác nhau, có liên quan đến tỷ lệ hạt bệnh trên bông. Qua kết quả này cho thấy TKT có khả năng ngăn chặn sự phát triển của mầm bệnh trên cây trồng, điều tương tự này cũng đã được ghi nhận qua nhiều nghiên cứu (Fujiwara *et al.*, 2011).

Kết quả ghi nhận hiệu quả giảm bệnh gia tăng khi áp dụng mật số TKT gia tăng. Kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đây đã chứng minh rằng TKT cần phải được áp dụng ở mật số cao để kiểm soát bệnh hiệu quả (Balogh, 2002). Balogh (2002) ghi nhận TKT cho kết quả kiểm soát bệnh đốm vi khuẩn cà

chua nếu áp dụng ở mật số 10^6 hoặc 10^8 PFU/ml. Lang *et al.* (2007) cũng ghi nhận kết quả tương tự trong việc kiểm soát bệnh cháy lá hành do *Xanthomonas* với khoảng 10^5 đến 10^9 PFU/ml thì có hiệu quả phòng trị. Nhận định này phù hợp với kết quả thí nghiệm lần này, khi các nghiệm thức xử đơn TKT và hỗn hợp TKT cho thấy sự hiệu quả ổn định đều có mật số áp dụng TKT là 10^8 pfu/ml. Tương tự vậy, Đoàn Thị Kiều Tiên và ctv. (2018) sử dụng liệu pháp TKT để kiểm soát vi khuẩn *Burkholderia glumae* KG 52 gây bệnh thối hạt lúa, kết quả cho thấy ở mật số càng cao thì hiệu quả kiểm soát càng lớn. Trần Minh Hưng và ctv. (2016) cũng cho thấy kết quả tương tự khi dùng TKT để kiểm soát bệnh thối gốc lúa do vi khuẩn *Erwinia chrysanthemi* ở mật số 10^8 pfu/ml.

Ngoài ra, việc áp dụng liệu pháp hỗn hợp TKT cũng cho hiệu quả cao và ổn định theo thời gian. Trong thí nghiệm lần này, nghiệm thức hỗn hợp TKT ở mật số 10^8 pfu/ml cho thấy hiệu quả bền vững. Điều này phù hợp với nhận định của Balogh *et al.* (2010), khi sử dụng hỗn hợp TKT cũng cho hiệu quả kiểm soát cao và đặc biệt là để giảm tính kháng của vi khuẩn. Tương tự, Chae *et al.* (2014) cũng đã thành công trong việc sử dụng hỗn hợp TKT ở mật số 10^8 pfu/ml để kiểm soát bệnh cháy lá lúa do vi khuẩn *Xanthomonas pv. oryzae*. Qua đây cho thấy việc sử dụng TKT kiểm soát các tác nhân gây bệnh cây trồng là vi khuẩn mang đến hiệu quả cao và sẽ là một liệu pháp sinh học bền vững trong tiến trình sản xuất thực phẩm hữu cơ trong tương lai.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

Biện pháp áp dụng TKT mang lại hiệu quả phòng trừ bệnh thối hạt lúa do vi khuẩn *Burkholderia glumae* ở điều kiện ngoài đồng, trong đó nghiệm thức xử lý hỗn hợp TKT và nghiệm thức xử lý đơn dòng TKT ở mật số 10^8 pfu/ml thể hiện hiệu quả giảm bệnh cao và ổn định hơn ở mật số ở mật số 10^7 pfu/ml. Ngoài ra nghiệm thức xử lý hỗn hợp TKT ở mật số 10^8 pfu/ml cho năng suất cao nhất, tương đương nghiệm thức xử lý đơn dòng TKT ở mật số 10^8 pfu/ml và Starner 20WP, khác biệt so với các nghiệm thức xử lý ở mật số 10^7 pfu/ml.

Cần tiếp tục đánh giá khả năng phòng trừ bệnh thối hạt do vi khuẩn *Burkholderia glumae* của biện pháp xử lý TKT Φ BurAG58 và hỗn hợp TKT mật số 10^8 pfu/ml ở nhiều địa điểm khác nhau trên nhiều mùa vụ khác nhau để đánh giá hoàn chỉnh hơn về hiệu quả của TKT trong phòng trừ bệnh thối hạt ở điều kiện ngoài đồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abbott, W. S., 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18(2): 256 - 267.
- Balogh, B., 2002. Strategies for improving the efficacy of bacteriophages for controlling bacterial spot of tomato. *Master thesis*. University of Florida.
- Balogh, B., Jones, J. B., Iriarte, F. B., & Momol, M. T., 2010. Phage therapy for plant disease control. *Current pharmaceutical biotechnology*, 11(1), 48 - 57.
- Chae, J. C., Hung, N. B., Yu, S. M., Lee, H. K., & Lee, Y. H., 2014. Diversity of bacteriophages infecting *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in paddy fields and its potential to control bacterial leaf blight of rice. *J Microbiol Biotechnol*, 24(6), 740 - 747.
- Cooke, B., 2006. Disease assessment and yield loss. In *The epidemiology of plant diseases*, 43 - 80: Springer.
- Đoàn Thị Kiều Tiên, Lê Quốc Huy, Bùi Thị Thanh Mỹ, Kaeko Kamei, Nguyễn Thị Thu Nga, 2018. Nghiên cứu hiệu quả của thực khuẩn thể phòng trừ bệnh thối hạt do vi khuẩn *Burkholderia glumae* trên lúa. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 54b: 41 - 47.
- Fujiwara, A., Fujisawa M., Hamasaki R., Kawasaki T., Fujie M., Yamada T., 2011. Biocontrol of *Ralstonia solanacearum* by treatment with lytic bacteriophages. *Appl. Environ. Microbiol.* 77 4155 - 4162.
- Grath, M. Stephen and Douwe van Sinderen, 2007. *Bacteriophage: Genetics and Molecular Biology*, Caister Academic Press, 335p.
- Lang, J. M., Gent D. H. and Schwartz H. F., 2007. Management of *Xanthomonas* leaf blight of onion with bacteriophages and a plant activator. *Plant Disease*, 91 (7): 871 - 878.
- Nguyễn Đình Giao, Nguyễn Thiện Huyền, Nguyễn Hữu Tề và Hà Công Vương, 1997. Giáo trình cây lương thực (Tập 1 - Cây lúa). Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội.
- Nguyễn Thị Trúc Giang, Đoàn Thị Kiều Tiên, Nguyễn Thị Thu Nga, 2014. Phân lập thực khuẩn thể và đánh giá hiệu quả phòng trừ bệnh cháy bìa lá lúa do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Nông nghiệp* 4: 194 - 203.
- Nguyễn Thúy An, Nguyễn Văn Minh Phụng, Nguyễn Thị Thu Nga, Phạm Văn Kim, 2017. Phân lập và tuyển chọn các dòng thực khuẩn thể trong phòng trừ bệnh héo xanh trên cây hoa vạn thọ (*Tagetes papula* L.) do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* Smith. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 49b: 44 - 52.
- Phan Quốc Huy, Nguyễn Minh Trung, Hồ Cảnh Thịnh, Nguyễn Thị Thu Nga, 2016. Đánh giá hiệu quả của thực khuẩn thể trong phòng trừ bệnh thối hạt trên lúa do vi khuẩn *Burkholderia glumae*. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 45b:70 - 78.
- Trần Minh Hưng, Ngô Văn Chí, Phạm Minh Phú, Nguyễn Thị Thu Nga, 2016. Phân lập và bước đầu đánh giá hiệu quả của thực khuẩn thể trong phòng trừ bệnh thối gốc lúa do vi khuẩn *Erwinia chrysanthemi*. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Nông nghiệp* 3: 185 - 192.
- Trương Đích, 2000. Kỹ thuật trồng các giống lúa mới. Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội. Trang 11 - 12.

ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ CỦA MỘT SỐ LOẠI THUỐC TRỪ NẤM ĐỐI VỚI BỆNH THỐI CỎ SẴN (*Phytophthium helicoides*) TẠI HUYỆN TÂN CHÂU, TỈNH TÂY NINH

Võ Thị Thu Oanh¹, Nguyễn Thanh Phong¹
Nguyễn Như Thanh²

¹Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh

²Chi cục Kiểm dịch Thực vật Vùng II

ABSTRACT

Evaluation the efficacy of some fungicides against cassava root rot disease (*Phytophthium helicoides*) in Tan Chau district, Tay Ninh province

In recently years, cassava (Manihot esculenta Crantz) production was severely affected by cassava rot root disease. This disease affected to plant growth, reduced between 15 - 20% harvested yield. With the habitat using chemical fertilizers and growing intensively cassava in poorly drained soils lead to the disease accumulating in soil from year to year, and caused severe damage when the weather is favourable for disease development. Disease samples were collected and Phytophthium helicoides was confirmed the main factor causing rot root disease on cassava by morphological indentification.

In this study, the efficacy of some agro - chemicals in control of rot root disease was evaluated by using both in vitro assay and field. The result revealed that out of three fungicides, Cuprous acid + Dimethomorph; Mancozeb + Metalaxyl and Cinnamon extract oil inhibited completely mycelium growth of Phytophthium helicoides and reduced effectively the disease incidence, disease severity.

Keywords: *Phytophthium helicoides, Cassava root rot disease, Manihot esculenta.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây sắn là một trong những cây trồng chủ lực của tỉnh Tây Ninh trong nhiều năm qua. Do lợi ích kinh tế từ cây sắn mang lại rất cao nên diện tích sản xuất sắn liên tục gia tăng. Cùng với việc tăng đầu tư thâm canh, nhu cầu về nguồn giống tốt sử dụng

trồng trồng là rất lớn. Tuy nhiên, nguồn gốc sắn sử dụng sản xuất hiện tại không rõ xuất xứ, chủ yếu là do nông dân tự nhân giống, tự mua bán trao đổi thông qua nhiều con đường khác nhau. Tập quán canh tác sắn liên tục trong thời gian dài, chưa thực hiện tốt khâu vệ sinh đồng ruộng, chưa có biện pháp tiêu hủy, xử lý các bộ phận bị bệnh mà chủ yếu là để lại trong ruộng, thói quen sử dụng phân bón

Người phân biên: TS. Nguyễn Vũ Phong.

hóa học, rất ít hoặc không sử dụng phân hữu cơ, phân vi sinh từ đó dẫn đến tình trạng đất bị nghèo dinh dưỡng, nguồn bệnh tích lũy ngày càng nhiều.

Từ năm 2014, trên một số huyện trồng sắn của tỉnh Tây Ninh xuất hiện cục bộ một loại bệnh gây hại trên gốc thân, cổ rễ và gây thối mục củ. Đến năm 2015, bệnh phát sinh gây hại tại hầu hết các vùng trồng sắn trọng điểm của tỉnh và có xu hướng gia tăng về diện tích với mức độ gây hại lên đến 70% (Chi cục BVTV Tây Ninh, 2015). Bệnh phát sinh gây hại trên cây sắn từ giai đoạn 4 - 5 tháng tuổi đến thu hoạch làm ảnh hưởng nghiêm trọng đến sinh trưởng, năng suất và chất lượng củ sau thu hoạch.

Phytophthium helicoides là tác nhân chính gây bệnh có nguồn gốc từ đất và có phổ kí chủ rộng. *Phytophthium helicoides* lây lan qua nước và có thể tồn tại ở những nơi đất ẩm, trũng và ngập nước. Trên thế giới, *Phytophthium helicoides* là tác nhân gây bệnh trên thân, rễ, gây chết cây con và đóm lá trên nhiều loại cây kí chủ nhưng chủ yếu gây thối gốc, thối rễ (lở cổ rễ). Hiện nay, ở Việt Nam *Phytophthium helicoides* được phát hiện gây thối rễ cây vú sữa, cây có múi, là một trong 7 loài mới cho khu hệ nấm của Việt Nam gây bệnh trên một số cây lâm nghiệp như keo tai tượng, keo lai, phi lao (Phạm Quang Thu, 2016) và là tác nhân chính gây bệnh thối củ sắn tại Tây Ninh. Bệnh làm thiệt hại năng suất củ ước tính từ 15 - 20% (Chi cục BVTV Tây Ninh, 2015).

Hiện nay, để phòng trừ bệnh này, nông dân sử dụng rất nhiều loại thuốc trừ bệnh hóa học với nồng độ cao để trừ bệnh nhưng không có hiệu quả do phát

hiện bệnh trễ, sử dụng thuốc không hợp lý do chưa biết tác nhân gây bệnh. Chính vì vậy, vấn đề cấp thiết hiện nay là tìm ra những loại thuốc có hiệu quả cao để hạn chế sự lưu tồn, lây lan và phát sinh gây hại của bệnh.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Đối tượng nghiên cứu: Bệnh thối củ sắn và hiệu quả phòng trừ của một số loại thuốc trừ bệnh.

Thời gian thực hiện: Từ tháng 2/2018 đến tháng 12/2018.

Địa điểm nghiên cứu: Thí nghiệm trong phòng thực hiện tại Phòng Thí nghiệm Bệnh cây, Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh. Thí nghiệm ngoài đồng thực hiện tại xã Tân Hưng, huyện Tân Châu, tỉnh Tây Ninh.

Vật liệu nghiên cứu: Môi trường PDA (Potato Dextrose agar). Giống sắn thí nghiệm KM140 và các loại hoạt chất thuốc trừ bệnh (bảng 1).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đánh giá hiệu quả của một số loại thuốc trừ nấm đối với *Phytophthium helicoides* trong điều kiện phòng thí nghiệm

Thí nghiệm thực hiện theo phương pháp đầu độc môi trường (Nene và Thapliyal, 1982), bố trí đơn yếu tố hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 9 nghiệm thức tương ứng với 8 loại thuốc và 1 nghiệm thức đối chứng, 5 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại là 1 đĩa petri (9 cm), nhiệt độ phòng thí nghiệm ($28 \pm 2^\circ\text{C}$).

Phương pháp thực hiện: tiến hành cấy một khoan tán sợi *Phytophthium helicoides* có đường kính 5 mm vào tâm đĩa môi trường PDA với từng loại thuốc thí nghiệm theo liều lượng khuyến cáo.

Chỉ tiêu theo dõi:

Đo đường kính tán sợi (cm) ở 12, 24 và 36 giờ sau cấy (GSC), khi tán sợi phát triển chạm thành đĩa ở một ô cơ sở bất kỳ, ngừng quá trình đo. Đường kính trung bình được tính theo công thức: $d = (d1 + d2)/2$.

Trong đó, d1 và d2 là hai đường vuông góc phần tán sợi phân bố.

Tính độ hữu hiệu của thuốc theo công thức Vincent (1927):

$$\text{Hiệu lực của thuốc (\%)} = [(C - T)/C] \times 100$$

Trong đó:

C: Đường kính tán sợi trên môi trường không thuốc.

T: Đường kính tán sợi trên môi trường có thuốc.

Bảng 1. Các loại thuốc trừ nấm sử dụng trong thí nghiệm

STT	Tên thuốc	Hoạt chất	Nồng độ ppm/a.i
1	Eddy 72WP	Cuprous oxid + Dimethomorph	2250
2	Daconil 500SC	Chlorothalonil	800
3	Ridomil Gold 68WG	Mancozeb + Metalaxyl	2040
4	Novistar 360WP	Azoxystrobin + Difenoconazole + Dimethomorph	580
5	Daconil 75WP + Kasumin 2SL	Chlorothalonil + Kasugamycin	100
6	Daconil 500SC + Kanras 72WP	Chlorothalonil + Cymoxanil + Mancozeb	500 + 2250
7	Tiêu Tuyến Trùng 18EC	Tinh dầu quế	2000
8	Kasumin 2SL	Kasugamycin	500 + 40

2.2.2. Đánh giá hiệu quả của một số loại thuốc trừ nấm đối với bệnh thối củ sắn ngoài đồng ruộng tại huyện Tân Châu, tỉnh Tây Ninh

Thí nghiệm thực hiện trên giống sắn KM140, hom giống được xử lý dung dịch nước thuốc Agri-Fos 400SL nồng độ 2% trong 20 phút. Bón vôi với liều lượng 500 kg/ha, phân hữu cơ Komix-USM (3 tấn/ha) + *Trichoderma* (50 kg/ha) sau khi bón vôi 1 tuần.

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên, 7 nghiệm thức, 3 lần lặp lại, mỗi ô cơ sở là 50 m², tương ứng 90 hom/50 m². Gồm 6 nghiệm thức xử lý thuốc trừ bệnh và 1 nghiệm thức đối chứng.

Phương pháp xử lý: Thuốc được xử lý 3 lần, cách nhau 7 ngày. Lần xử lý thứ

nhất khi bệnh xuất hiện từ 2 - 3% (5 tháng sau trồng). Kết hợp sử dụng thuốc Tervigo 0,20SC tưới đồng đều trên toàn thí nghiệm, liều lượng 100 ml thuốc + 100 lít nước trước mỗi lần xử lý thuốc trừ bệnh 3 ngày.

Thời điểm theo dõi: Trước xử lý thuốc, 7 ngày sau mỗi lần xử lý. Ở lần xử lý thứ 3 theo dõi đến 14 và 21 ngày sau phun.

Phương pháp và chỉ tiêu theo dõi: Đếm tất cả số cây bị bệnh trong ô thí nghiệm (bao gồm các triệu chứng vàng lá, héo rũ, thối cổ rễ). Tính tỷ lệ cây bị bệnh theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ cây bệnh (\%)} = \text{Số cây bệnh} / \text{Tổng số cây theo dõi} \times 100.$$

Từ kết quả tỷ lệ cây bị bệnh tiến hành tính diện tích bên dưới đường cong tiến triển bệnh (AUDPC) theo Cooke, 2006.

$$\text{AUDPC} = \sum_{i=1}^{n-1} \left(\frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) x (t_{i+1} - t_i)$$

Trong đó:

y_i, y_{i+1} : Tỷ lệ cây bệnh 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).

Tỷ lệ củ thối: Theo dõi một lần khi thu hoạch. Trên mỗi ô thí nghiệm chọn 5 cây trên 2 đường chéo góc, nhỏ và làm sạch đất. Ghi nhận tổng số củ trên 5 cây và số củ bị thối để tính tỷ lệ củ bị thối theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ củ bệnh (\%)} = \frac{\text{Số củ bệnh}}{\text{Tổng số củ theo dõi}} \times 100$$

Năng suất/nghiệm thức (kg/NT): Cân trọng lượng củ trên mỗi ô thí nghiệm cơ sở, từ đó tính trung bình năng suất trên nghiệm thức.

Tinh dầu quế và Chlorothalonil + Kasugamycin vẫn có khả năng ức chế hoàn toàn sự phát triển của *P. helicoides*. Ba loại thuốc còn lại là Chlorothalonil; Azoxystrobin + Difenconazole + Dimethomorph và Kasugamycin tàn sợi có phát triển nhưng tăng trưởng chậm, tàn sợi rất thưa và mỏng hơn rất nhiều so với đối chứng (Bảng 2, Hình 1).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

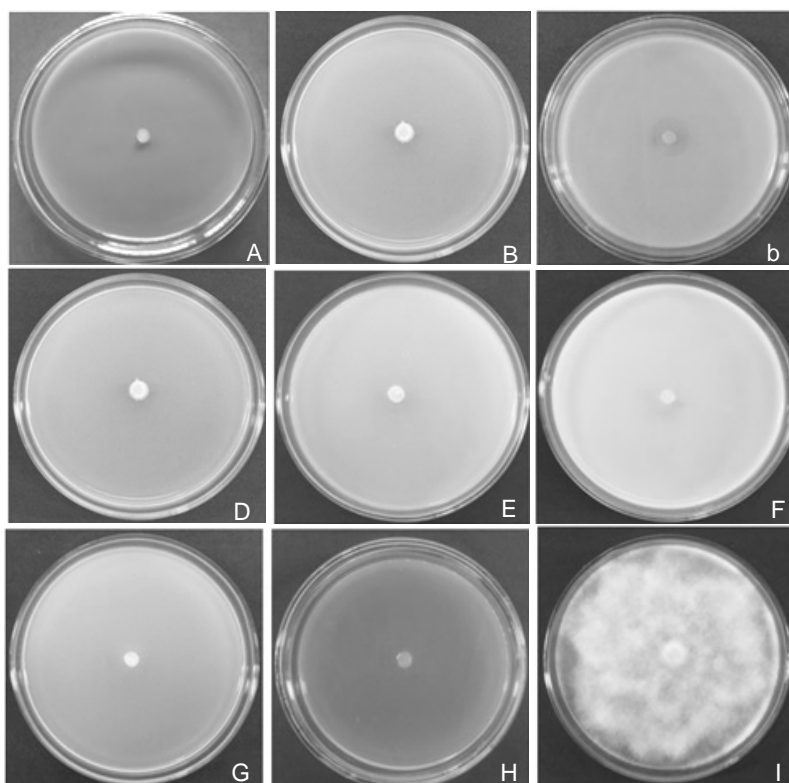
3.1. Hiệu quả của một số thuốc trừ nấm đối với *Phytophthium helicoides* trong điều kiện phòng thí nghiệm

Ở thời điểm 12 và 24 giờ sau cấy, tất cả 8 loại thuốc thí nghiệm đều có khả năng ức chế sự phát triển của tàn sợi *Phytophthium helicoides* (*P. helicoides*), trong đó có 5 loại thuốc duy trì khả năng ức chế tàn sợi đến 36 giờ sau cấy. Ở thời điểm 36 giờ sau cấy, chỉ có Cuprous acid + Dimethomorph; Mancozeb + Metalaxyl; Chlorothalonil + Cymoxanil + Mancozeb;

Như vậy, có 5 trong số 8 loại thuốc khảo sát có hiệu quả 100% ức chế hoàn toàn sự phát triển của tàn sợi *Phytophthium helicoides*, các thuốc Chlorothalonil, Azoxystrobin + Difenconazole + Dimethomorph chỉ đạt hiệu quả từ 83,44 - 88,44% và Kasugamycin hiệu quả thấp nhất, 79,06%.

Bảng 2. Hiệu lực của các loại thuốc trừ nấm đối với *Phytophthium helicoides* trong điều kiện phòng thí nghiệm

Nghiệm thức	Hiệu lực thuốc (%)		
	12 GSC	24 GSC	36 GSC
Cuprous acid + Dimethomorph	100	100	100
Chlorothalonil	100	100	83,44
Mancozeb + Metalaxyl	100	100	100
Azoxystrobin + Difenconazole + Dimethomorph	100	100	88,44
Kasugamycin	100	100	79,06
Chlorothalonil + Cymoxanil + Mancozeb	100	100	100
Tinh dầu quế	100	100	100
Chlorothalonil + Kasugamycin	100	100	100



Hình 1. Sự phát triển của nấm sợi *Phytopythium helicoides* trên môi trường thuốc ở 36 GSC

A: Cuprous oxid + Dimethomorph; B: Chlorothalonil; C: Mancozeb + Metalaxyl;
D: Azoxystrobin + Difenconazole + Dimethomorph; E: Chlorothalonil + Kasugamycin;
F: Chlorothalonil + Cymoxanil + Mancozeb; G: Tinh dầu quế; H: Kasugamycin; I: Đối chứng

3.2. Hiệu quả trừ bệnh thối củ sắn của một số loại thuốc trừ nấm ngoài đồng ruộng

Sau khi bệnh xuất hiện (5 tháng sau khi trồng) tiến hành phun thuốc lần 1 và sau đó định kỳ 7 ngày tiếp tục phun lần 2 và lần 3. Sau 3 lần xử lý thuốc, mức độ nhiễm bệnh ở các nghiệm thức xử lý Cuprous oxid + Dimethomorph, Mancozeb + Metalaxyl, Tinh dầu quế tăng chậm và đến 21 ngày sau phun lần 3, mức độ nhiễm bệnh lần lượt là 15,56% và 16,65% khác biệt rất có nghĩa so với đối chứng. Kế đến là nghiệm thức xử lý Chlorothalonil + Cymoxanil + Mancozeb với tỷ lệ bệnh là 21,85% (Bảng 3).

Như vậy, từ kết quả thí nghiệm ngoài đồng ruộng cho thấy, trong số 6 loại thuốc khảo sát chỉ có 3 loại cho hiệu quả kiểm soát bệnh thối củ sắn tốt, hạn chế được mức độ nhiễm bệnh dưới 20% so với đối chứng (31%), đó là Cuprous oxid + Dimethomorph, Mancozeb + Metalaxyl và Tinh dầu quế.

Về chỉ số AUDPC, các nghiệm thức xử lý thuốc trừ bệnh đạt trong khoảng từ 338,57 - 538,93 đều thấp hơn và có sự khác biệt so với đối chứng (AUDPC: 649,76). Đáng lưu ý nghiệm thức xử lý Tinh dầu quế có chỉ số AUDPC thấp nhất là 338,87, kế đến là nghiệm thức Mancozeb + Metalaxyl 348,87 khác biệt rất có nghĩa so với nghiệm thức đối chứng.

Bảng 3. Ảnh hưởng của các loại thuốc trừ nấm đến mức độ nhiễm bệnh thối củ sắn ở các thời điểm theo dõi

Nghiệm thức	Tỷ lệ bệnh (%)						AUDPC
	TXL	7 NSXL lần 1	7 NSXL lần 2	7 NSXL lần 3	14 NSXL lần 3	21 NSXL lần 3	
Đối chứng	2,29	11,48 ^a	16,68 ^a	21,85 ^a	27,04 ^a	29,26 ^a	649,76 ^a
Cuprous oxid + Dimethomorph	2,03	9,26 ^{ab}	11,11 ^b	12,22 ^{bcd}	14,07 ^{cd}	15,56 ^c	388,16 ^{cd}
Mancozeb + Metalaxyl	2,32	7,78 ^{ab}	10,00 ^b	11,11 ^{cd}	12,22 ^d	15,56 ^c	348,87 ^d
Azozystrobin + Difenconazole + Dimethomorph	2,06	8,89 ^{ab}	14,07 ^{ab}	17,78 ^{ab}	20,00 ^{cb}	22,97 ^{abc}	513,19 ^{bc}
Chlorothalonil + Cymoxanil + Mancozeb	2,28	8,89 ^{ab}	11,85 ^{ab}	12,96 ^{bcd}	16,67 ^{bcd}	21,85 ^{abc}	436,93 ^{bcd}
Tinh dầu quế	1,34	6,41 ^b	9,26 ^b	10,37 ^d	13,33 ^{cd}	16,65 ^{bc}	338,57 ^d
Chlorothalonil + Kasugamycin	2,42	10,37 ^{ab}	14,44 ^{ab}	17,41 ^{abc}	21,11 ^{ab}	26,30 ^{ab}	535,93 ^{ab}
<i>Mức ý nghĩa</i>	<i>ns</i>	*	*	*	*	*	*
<i>CV%</i>	26,06	22,37	22,59	22,27	20,52	21,28	15,27

Ghi chú: Trong cùng một cột các số có cùng chữ số theo sau giống nhau thì sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê; ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê; *: khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 95%; NSXL: ngày sau xử lý.

Bảng 4. Ảnh hưởng của các loại thuốc thí nghiệm đến năng suất và tỷ lệ củ sắn bị thối

Nghiệm thức	Năng suất thực thu (kg/NT)	Năng suất (tấn/ha)	Tỷ lệ củ thối (%)
Đối chứng	129,0 ^c	25,8	31,27 ^a
Cuprous oxid + Dimethomorph	236,4 ^a	47,28	6,12 ^c
Mancozeb + Metalaxyl	246,0 ^a	49,10	7,52 ^{bc}
Azozystrobin + Difenconazole + Dimethomorph	192,0 ^{ab}	38,40	14,36 ^b
Chlorothalonil + Cymoxanil+Mancozeb	210,6 ^{ab}	42,12	14,71 ^b
Tinh dầu quế	225,0 ^{ab}	45,00	10,05 ^{bc}
Chlorothalonil + Kasugamycin	171,0 ^{bc}	34,20	26,00 ^a
<i>Mức ý nghĩa</i>	*		*
<i>CV%</i>	14,57		25,98

Ghi chú: Trong cùng một cột các số có cùng chữ số theo sau giống nhau thì sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê; ns: sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê; *: sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 95%.

Kết quả Bảng 4 cho thấy, các nghiệm thức xử lý thuốc Cuprous oxid + Dimethomorph, Mancozeb + Metalaxyl và Tinh dầu quế có mức độ củ bị thối rất thấp, tỷ lệ củ bị thối lần lượt là 6,12%, 7,52% và 10,05% khác biệt rất có nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (31,27%). Kết quả cũng ghi nhận năng suất thực thu ở các

thử nghiệm xử lý thuốc đạt 236,4 tấn/ha, 246,0 tấn và 225,0 tấn/ha khác biệt rất có nghĩa so với đối chứng (171,0 tấn/ha).

3.3. Ảnh hưởng của các thuốc thí nghiệm đến mức độ ngộ độc trên cây sắn

Các thí nghiệm xử lý thuốc sử dụng trong thí nghiệm ở trên đều không ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của cây sắn (cấp 1).

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Trong điều kiện phòng thí nghiệm, có 5 trong số 8 loại thuốc trừ nấm thí nghiệm có hiệu quả 100% ức chế hoàn toàn sự phát triển của *Phytophthium helicoides*, 2 loại thuốc Chlorothalonil và Azoxystrobin + Dimethomorph hiệu quả từ 83,44 - 88,44%, thuốc Kasugamycin hiệu quả thấp chỉ đạt 79,06%.

Kết quả khảo sát hiệu lực của 6 loại thuốc trừ bệnh ngoài đồng ruộng sau 3 lần phun cho thấy, Cuprous oxid + Dimethomorph, Mancozeb + Metalaxyl và Tinh dầu quế có hiệu quả kiểm soát bệnh thối củ sắn tốt nhất, làm giảm mức độ nhiễm bệnh dưới 20%, tỷ lệ củ sắn bị thối hỏng khi thu hoạch thấp chỉ từ 6,12 - 10,05%, năng suất thực thu cao đạt 225 tấn, 236 tấn và 246 tấn/ha.

Tiếp tục thử nghiệm thêm những gốc thuốc trừ bệnh khác để chọn ra loại thuốc hiệu quả hơn đồng thời kết hợp với việc sử dụng phân hữu cơ vi sinh, chế phẩm *Trichoderma* và các giải pháp canh tác khác để gia tăng hiệu quả sử dụng thuốc

trừ bệnh trong việc kiểm soát bệnh thối củ sắn tại Tây Ninh và các vùng lân cận.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chi cục BVTV Tây Ninh (2015). Báo cáo tình hình bệnh lở cổ rễ khoai mì và giải pháp phòng trừ. *Báo cáo định kỳ về điều tra phát hiện dịch hại trên cây khoai mì*. 3 trang.
2. Cooke, B. M. (2006). Disease assessment and yield loss. In *The epidemiology of plant diseases*. Springer Netherlands. pp. 43-80.
3. 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.
4. Najwa Benfradi, Slim Tounsi and Naima Boughalled-M'Hamdi, 2016. In-Vitro Evaluation of Antagonist and Fungicides in Controlling Citrus Gummosis Caused by *Phytophthora*, *Phytophthium* and *Pythium* species in Tunisia. *British Microbiology Research Journal*:1-14.
5. Nene, Y.L. and Thapliyal, P.N. (1982). Fungicides in Plant Disease Control. *Oxford and IBH Publishing House, New Delhi*, p. 163
6. Phạm Quang Thu, 2016. Điều tra thành phần loài nấm gây bệnh thối rễ thuộc họ Pythiaceae gây hại keo tai tượng và keo lai ở các tỉnh miền Bắc Việt Nam. *Tạp chí Khoa học Lâm Nghiệp*, số 1/2016: 4251-4256.
7. Vincent, J. M. (1927). Distortion of fungal hyphae in the presence of certain inhibitore. *Nature* 159: 180.

ĐÁNH GIÁ TÌNH HÌNH BỆNH HẠI VÀ SỬ DỤNG NÔNG DƯỢC TRONG SẢN XUẤT HÀNH LÁ TẠI TỈNH ĐỒNG THÁP VÀ VĨNH LONG

Lê Thị Trúc Phương¹ và Dương Ngọc Thành²

¹ Học viên cao học ngành Bảo vệ thực vật, Đại học Cần Thơ

² Viện Nghiên cứu Phát triển ĐBSCL, Đại học Cần Thơ

ABSTRACT

Assessment of diseases situation and using pesticides to scallion production in Dong Thap and Vinh Long province

Objectives of the study are to assess of diseases situation, pesticides use and production efficiency of scallions in Hong Ngu district, Dong Thap province and Binh Tan district, Vinh Long province. The results showed that at 120 scallion fields, the common diseases consist of bacterial leaf blight, head burns, anthracnose, purple blotch, and stem death. Among them, the bacterial leaf blight disease was most serious one. There were 39 trade names of pesticides used by farmers to prevent and control scallion diseases. More than 90% of total farmers used the pesticides in excess of the recommended dosage. Especially for bacterial blight disease, 41.3% of total farmers used pesticides not as recommended. The farmer households have an average total investment cost of 20.763 million VND per 1000 m², an average profit of VND 17.733 million per 1000 m², and an effective capital of 0.85 VND. The most preferred solution in scallions cultivation is to build a cultivation model, implement production under VietGAP standard to reduce production costs, especially the cost of pesticides, thereby increasing profits for farmers.

Keywords: Diseases, financial efficiency, pesticides, scallion cultivation.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hành lá là một loại rau gia vị được sử dụng đa dạng và phổ biến trong chế biến thực phẩm. Bên cạnh đó, hành còn chứa một số dược liệu có công dụng trị ho, giải cảm. Hành lá được trồng với diện tích lớn trong cả nước. Tại Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL), nhiều tỉnh thành trồng phổ biến như Tiền Giang, Vĩnh Long,

Đồng Tháp, Sóc Trăng, Cần Thơ. Diện tích cây hành ngày càng được mở rộng và cung cấp nhiều cho thị trường trong và ngoài nước.

Trồng hành cho lợi nhuận khá cao, trên 15 triệu/công (Trần Thị Ba, 2015). Tuy nhiên, bên cạnh các yếu tố thuận lợi vẫn còn những vấn đề bất cập như bệnh thán thư trên hành do nấm *Colletotrichum* sp., cháy lá do vi khuẩn *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* (Roumagnac và ctv., 2004). Vì vậy, nông dân phải sử dụng nhiều loại và

Người phân biên: TS. Lê Thanh Toàn.

lượng thuốc bảo vệ thực vật để phòng trị, gây tổn kém trong canh tác cây hành. Việc sử dụng quá nhiều thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) trong sản xuất nông nghiệp đã được ghi nhận đến mức báo động như trên rau ăn lá ở tỉnh An Giang (Dương Hạnh Thúy Nhung, 2014), khoai lang và xà lách xoong ở Vĩnh Long (Nguyễn Hồng Vui, 2016) và dưa hấu ở Cần Thơ (Trần Thị Cẩm Tú, 2018). Tuy nhiên, trên cây hành chưa có những công bố chính thức về hiện trạng sử dụng thuốc trong việc phòng trị bệnh hại.

Do đó, nghiên cứu này đã được thực hiện nhằm phân tích hiện trạng canh tác, đánh giá tình hình bệnh hại và sử dụng thuốc bảo vệ thực vật trong sản xuất hành lá trên địa bàn 2 huyện trồng hành lá chủ lực của tỉnh Đồng Tháp và Vĩnh Long, từ đó đề ra các giải pháp phát triển sản xuất hành lá an toàn trong thời gian tới.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

➤ **Số liệu thứ cấp:** Được phỏng vấn trực tiếp tại Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn tỉnh, tại Trung tâm Khuyến nông Khuyến ngư, các Trạm Khuyến nông, Trạm Bảo vệ thực vật huyện. Số liệu thứ cấp bao gồm các báo cáo tổng kết, báo cáo hội thảo, các loại thông tin liên quan đến việc canh tác, bệnh hại và sử dụng thuốc phòng trị bệnh hành lá của hai tỉnh Đồng Tháp và Vĩnh Long.

➤ **Số liệu sơ cấp:** Được tiến hành thu thập từ các cuộc phỏng vấn trực tiếp nông hộ đang canh tác hành lá theo bảng câu hỏi soạn sẵn tại huyện Hồng Ngự, tỉnh Đồng Tháp và huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long. Số liệu này được sử dụng để phân

tích về mức độ hiệu quả canh tác hành lá ở 2 tỉnh.

Dựa vào tình hình thực tế sản xuất tại 2 huyện trên, số mẫu khảo sát điều tra được chọn ngẫu nhiên thuận tiện và theo quy luật số lớn. Tổng số mẫu khảo sát là 120 mẫu (Đồng Tháp 70 mẫu và Vĩnh Long 50 mẫu), tùy vào tình hình thực tế mà phân bổ số mẫu cho hợp với các vùng trồng hành lá ở từng tỉnh.

➤ **Phương pháp phân tích:** Để đáp ứng các nội dung nghiên cứu, trong nghiên cứu này sử dụng các công cụ phân tích như sau:

+ **Thống kê mô tả:** Bao gồm giá trị trung bình, giá trị nhỏ nhất, giá trị lớn nhất, tần số xuất hiện các đối tượng nghiên cứu, những số liệu điều tra, phỏng vấn: Các thông tin vốn đầu tư trong sản xuất, thông tin về tình hình bệnh hại và sử dụng thuốc trong phòng trị bệnh hại cho hành lá.

+ **Phân tích hiệu quả tài chính:** Hiệu quả tài chính được xác định dựa theo phương pháp phân tích chi phí - lợi nhuận:

- Doanh thu bình quân trên 1000 m² của mô hình hành lá.

- Chi phí sản xuất bình quân trên 1000 m² của mô hình hành lá.

- Lợi nhuận trên 1000 m² của mô hình.

- Tỷ suất lợi nhuận/chi phí cho biết với 1 đồng chi phí đầu tư hộ gia đình sẽ thu được bao nhiêu đồng lợi nhuận.

+ **Kiểm định T - test:** Được sử dụng ở 2 trường hợp: thứ nhất là so sánh liều lượng sử dụng thuốc BVTV của nông dân và liều lượng khuyến cáo của Công ty thuốc (one sample t - test) và trường hợp so sánh hai trung bình độc lập về hiệu quả sản

xuất hành lá giữa hai tỉnh (independent sample t - test).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tình hình bệnh hại trên ruộng hành lá

❖ Thành phần bệnh hại trên ruộng hành lá:

Kết quả điều tra 120 hộ trên 2 tỉnh cho thấy có 5 bệnh gây hại trên hành lá bao gồm: cháy đầu lá hành do nấm *Botrytis* sp., chết bụi do vi khuẩn *Erwinia* sp., đốm tím do nấm *Alternaria porri*, cháy lá do vi khuẩn *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*

và thán thư do nấm *Colletotrichum* sp. Trong 5 loại bệnh hại này, bệnh cháy lá do vi khuẩn chiếm tỷ lệ cao nhất 37,6%, cháy đầu lá hành chiếm 25,1%, tiếp theo là thán thư chiếm 21,3%, còn lại là bệnh đốm tím và chết bụi chiếm 16%.

Kết quả điều tra đã ghi nhận bệnh chết bụi xuất hiện 100% ở thời điểm ≤ 15 ngày, bệnh cháy đầu lá và thán thư chủ yếu xuất hiện ở thời điểm 16 - 45 ngày, bệnh đốm tím và cháy lá do vi khuẩn xuất hiện ở các giai đoạn sau nhưng chủ yếu là giai đoạn sau 31 ngày đến thu hoạch (Bảng 1).

Bảng 1. Tỷ lệ xuất hiện các loại bệnh gây hại trên cây hành lá qua các thời điểm trồng ở hai vùng nghiên cứu

Loại bệnh	Loại tỷ lệ bệnh hại	Thời điểm xuất hiện bệnh hại (ngày)				Tổng
		≤ 15	16 - 30	31 - 45	> 45	
Cháy đầu lá	BHTTG		54,5	43,9	1,5	100,0
	LBH		33,0	25,2	2,9	25,1
Chết bụi	BHTTG	19,0	61,9	9,5	9,5	100,0
	LBH	100,0	11,9	1,7	5,7	8,0
Đốm tím	BHTTG		33,3	42,9	23,8	100,0
	LBH		6,4	7,8	14,3	8,0
Cháy lá do vi khuẩn	BHTTG		26,3	48,5	25,3	100,0
	LBH		23,9	41,7	71,4	37,6
Thán thư	BHTTG		48,2	48,2	3,6	100,0
	LBH		24,8	23,5	5,7	21,3
Tổng	BHTTG	1,5	41,4	43,7	13,3	100,0
	LBH	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Ghi chú: BHTTG: % bệnh hại theo thời gian; LBH: % loại bệnh hại xuất hiện tại các thời điểm.

❖ Mức độ thiệt hại do các loại bệnh gây hại trên cây hành lá:

Kết quả Bảng 2 cho thấy phần lớn các bệnh đều gây thiệt hại ở mức $\leq 20\%$, riêng chỉ có bệnh cháy lá do vi khuẩn gây thiệt hại từ 21% cho đến $> 60\%$ (trên 66%

so với các bệnh khác), và gây thiệt hại nặng nhất ở mức 21 - 40% (54,5%). Mức độ gây hại của bệnh cháy lá do vi khuẩn trong thí nghiệm này phù hợp với kết quả của Roumagnac và ctv. (2004).

Bảng 2. Mức độ thiệt hại do các loại bệnh gây hại ở hai vùng nghiên cứu

Loại bệnh	Loại tỷ lệ bệnh hại	Mức độ thiệt hại bệnh theo nhóm (%)				Tổng
		≤ 20	21 - 40	41 - 60	> 60	
Cháy đầu lá	BHTH	71,6	23,9	3,0	1,5	100,0
	LBH	28,4	19,5	20,0	33,3	25,4
Chết bụi	BHTH	81,0	19,0			100,0
	LBH	10,1	4,9			8,0
Đốm tím	BHTH	95,2	4,8			100,0
	LBH	11,8	1,2			8,0
Cháy lá do vi khuẩn	BHTH	36,4	54,5	7,1	2,0	100,0
	LBH	21,3	65,9	70,0	66,7	37,5
Thán thư	BHTH	85,7	12,5	1,8		100,0
	LBH	28,4	8,5	10,0		21,2
Tổng	BHTH	64,0	31,1	3,8	1,1	100,0
	LBH	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Ghi chú: BHTH: % bệnh hại theo mức độ thiệt hại; LBH: % loại bệnh hại theo mức độ thiệt hại. (Nguồn: Số liệu điều tra nông hộ năm 2018).

3.2. Hiện trạng sử dụng thuốc trừ bệnh

❖ Số lần phun thuốc phòng trừ bệnh hại hành lá:

Kết quả Bảng 3 cho thấy số lần phun thuốc trừ bệnh dao động từ 3 đến 12 lần phun. Trong đó, số lần phun ở Đồng Tháp

chủ yếu là 6 - 9 lần/vụ (chiếm tỷ lệ 64,2%), có số lần phun cao nhất là 12 lần/vụ (0,2%) và trung bình là 7,6 lần/vụ. Tại tỉnh Vĩnh Long, số lần phun thuốc chủ yếu là 6 - 9 lần/vụ (chiếm tỷ lệ 91,7%), số lần phun cao nhất là 12 lần/vụ (1,3%) và trung bình là 8,1 lần/vụ.

Bảng 3. Số lần phun thuốc trừ bệnh ở hai vùng nghiên cứu

Số lần phun	Đồng Tháp		Vĩnh Long		Chung	
	Tần số	%	Tần số	%	Tần số	%
3 - 5	39	9,7	3	1,0	42	6,0
6 - 9	331	64,2	274	91,7	605	86,2
≥ 10	33	8,1	22	7,3	55	7,8
Tổng	403	100,0	299	100,0	702	100,0
<i>Trung bình</i>		7,6		8,1		7,8
<i>Nhỏ nhất</i>		3		5		3
<i>Lớn nhất</i>		12		12		12
<i>Độ lệch chuẩn</i>		1,44		1,11		1,33

❖ **Nhóm thuốc trừ nấm và vi khuẩn được nông dân sử dụng trị bệnh trên hành lá:**

Thành phần bệnh gây hại trên cây hành lá được chia làm 2 nhóm là nhóm tác nhân do nấm và nhóm tác nhân do vi khuẩn. Thuốc trừ bệnh được các công ty khuyến cáo sử dụng trên nấm và vi khuẩn gây bệnh. Đây là những dịch hại quan trọng được ghi nhận ở Bảng 4. Điều này cho thấy nông dân sử dụng chưa đúng loại thuốc phòng trị trên từng nhóm. Đặc biệt, nông dân sử dụng đúng thuốc trừ nấm để phòng trị các bệnh thán thư, đốm tím gây hại hành lá. Điều này có thể do các bệnh

này không chỉ xuất hiện trên hành lá mà còn trên nhiều loại cây trồng. Vì thế các nông dân trồng cây hành đã có kinh nghiệm nhận diện và dễ dàng hơn trong việc chọn thuốc.

Ngược lại, bệnh cháy lá do vi khuẩn có đến 41,3% nông dân sử dụng thuốc trừ nấm để phun trị bệnh do tác nhân vi khuẩn gây hại. Việc sử dụng không đúng thuốc có thể do nông dân chưa nhận diện được triệu chứng bệnh. Chính vì thế, bệnh cháy lá do vi khuẩn gây hại nặng trên hành lá và gây thiệt hại từ 21% cho đến > 60% và gây thiệt hại nặng nhất ở mức 21 - 40% (Bảng 4).

Bảng 4. Nhóm thuốc trừ nấm và vi khuẩn được nông dân sử dụng trị bệnh trên cây hành ở hai vùng nghiên cứu

Đối tượng bệnh	Nhóm thuốc sử dụng						Chung	
	Vi khuẩn		Nấm		Vi khuẩn và nấm			
	Tần số	%	Tần số	%	Tần số	%	Tần số	%
Cháy đầu lá hành	24	16,3	205	38,8	5	19,2	289	32,0
% nhóm thuốc	10,3		87,6		2,1		100,0	
Chết bụi	5	3,4	19	3,6	1	3,8	32	3,5
% nhóm thuốc	20,0		76,0		4,0		100,0	
Đốm tím lá	4	2,7	37	7,0	0	0,0	51	5,6
% nhóm thuốc	9,8		90,2		0,0		100,0	
Cháy lá do vi khuẩn	106	72,1	88	16,6	19	73,1	302	33,5
% nhóm thuốc	49,8		41,3		8,9		100,0	
Thán thư	8	5,4	180	34,0	1	3,8	228	25,3
% nhóm thuốc	4,2		95,3		0,5		100,0	
Tổng	147	100,0	529	100,0	26	100,0	902	100,0

❖ **Thời điểm phun thuốc trừ bệnh:**

Kết quả Bảng 5 cho thấy thời điểm phun thuốc trừ bệnh ở hai địa bàn nghiên cứu không có sự chênh lệch nhiều. Chủ yếu vẫn là phun định kỳ (chiếm tỷ lệ

81,7%) nhằm ngăn ngừa mầm bệnh. Nhưng có lẽ việc phun ngừa của nông dân chưa đúng thuốc nên không mang lại hiệu quả cao và dẫn đến tổn kém chi phí nhưng bệnh vẫn phát triển.

Bảng 5. Thời điểm phun thuốc trừ bệnh ở hai vùng nghiên cứu

Thời điểm phun thuốc trừ bệnh	Đồng Tháp		Vĩnh Long		Chung	
	Tần số	%	Tần số	%	Tần số	%
Phun định kỳ	56	80,0	42	84,0	98	81,7
Phun khi xuất hiện triệu chứng	14	20,0	8	16,0	22	18,3
Tổng	70	100,0	50	100,0	120	100,0

Ghi chú: TS: tần số.

❖ **Liều lượng thuốc bệnh nông dân sử dụng so với khuyến cáo của công ty:**

Kết quả Bảng 6 cho thấy lượng thuốc nông dân dùng thường cao hơn so với lượng khuyến cáo từ nhà sản xuất ở mức ý nghĩa 5%. Loại thuốc Ridomil Gold 68WP có liều lượng khuyến cáo sử dụng là 50 g/16 lít, nhưng thực tế nông dân sử dụng lượng thuốc là 57,04 g/16 lít (Đồng Tháp)

và 69,22 g/16 lít (Vĩnh Long). Điều này cho thấy, nông dân sử dụng thuốc trừ bệnh không đúng liều lượng khuyến cáo của công ty. Nông dân cho rằng khi sử dụng đúng với liều lượng thì vết bệnh lâu khô và không giảm bệnh. Vì thế, lượng thuốc sử dụng phải cao hơn, làm cho việc kháng thuốc của nấm và vi khuẩn nhanh hơn dễ bộc phát thành dịch hại.

Bảng 6. Liều lượng thuốc trừ bệnh phổ biến của nông dân ở hai vùng nghiên cứu sử dụng so với liều lượng thuốc công ty khuyến cáo

Loại	Đồng Tháp				Vĩnh Long			
	ND	KC	Giá trị t	Khác biệt (α)	ND	KC	Giá trị t	Khác biệt (α)
Ridomil Gold 68WG	57,04	50	4,13	0,000	69,22	50	4,36	0,000
Antracol 70WP	59,47	30	8,31	0,000	60,21	30	7,97	0,000
Anvil 5SC	48,03	40	2,43	0,021	70,24	40	8,36	0,000
Tilt super 300EC	30,44	10	5,99	0,000	49,68	10	8,01	0,000
Totan 200WP	19,82	10	7,42	0,000	34,95	10	11,33	0,000

Ghi chú: ND: nông dân; KC: khuyến cáo của công ty.

❖ **Hoạt chất thuốc trừ bệnh nông dân sử dụng:**

Qua điều tra có 25 loại hoạt chất được nông dân sử dụng phòng trừ bệnh gây hại trên hành lá. Kết quả nghiên cứu cho thấy hoạt chất được nông dân ở Đồng Tháp sử dụng chủ yếu là Metalaxyl kết hợp Mancozeb chiếm 13,4%, kể đến là Mancozeb 10,7%. Tuy nhiên, nông dân

Vĩnh Long chủ yếu sử dụng hoạt chất Mancozeb chiếm 13% và Validamycin chiếm 10,4%. Các hoạt chất còn lại chiếm tỷ lệ sử dụng thấp hơn.

Nhìn chung, kết quả điều tra cho thấy các loại thuốc trừ bệnh nông dân sử dụng chủ yếu có độ độc III chiếm tỷ lệ 57,3% và độ độc IV chiếm tỷ lệ 39% ở hai vùng nghiên cứu. Còn lại là thuốc có độ độc II

chiếm tỷ lệ thấp nhất 3,7%, không có sử dụng các thuốc có độ độc I. Điều này cho thấy người dân đã ý thức hơn trong việc chọn mua thuốc phòng trị bệnh.

❖ **Loại thuốc bệnh:**

Kết quả điều tra cho thấy nông dân ở cả 2 tỉnh sử dụng 39 loại thuốc trừ bệnh hại trên hành lá. Trong đó có 29 loại thuốc thuộc nhóm thuốc trừ nấm và 10 loại thuốc thuộc nhóm thuốc trừ vi khuẩn. Kết quả Bảng 7 cho thấy loại thuốc Ridomil Gold 68WP được sử dụng phổ biến ở tỉnh Đồng Tháp chiếm 13,4%, ngược lại ở tỉnh Vĩnh Long là Antracol 70WP chiếm

9,4%. Đặc biệt, loại thuốc Zinneb Bul 80WP và Vicarben 50SC được nông dân ở Vĩnh Long sử dụng nhưng không được nông dân Đồng Tháp sử dụng. Các loại thuốc khác được sử dụng nhưng chiếm tỷ lệ thấp hơn.

Việc nông dân chọn mua thuốc phụ thuộc vào nhiều yếu tố như được sự tư vấn của đại lý kinh doanh thuốc BVTV, báo đài, tập huấn của công ty hay sự chia sẻ thông tin giữa các nông dân với nhau mà chọn mua thuốc để phun trị bệnh hại trên cây hành lá.

Bảng 7. Một số loại thuốc trừ bệnh nông dân ở hai vùng nghiên cứu sử dụng

Loại	Đồng Tháp		Vĩnh Long		Tổng	
	Tần số	%	Tần số	%	Tần số	%
Ridomil Gold 68WP	54	13,4	23	7,7	77	11,0
Antracol 70WP	30	7,4	28	9,4	58	8,3
Anvil 5SC	30	7,4	25	8,4	55	7,8
Tilt super 300EC	20	5,0	22	7,4	42	6,0
Totan 200WP	27	6,7	13	4,3	40	5,7
.....
Zinneb Bul 80WP	0	0,0	3	1,0	3	0,4
Vicarben 50SC	0	0,0	2	0,7	2	0,3
Tổng	403	100,0	299	100,0	702	100,0

3.3. Chi phí và lợi nhuận của nông dân sản xuất hành lá

Nhìn chung, kết quả Bảng 8 cho thấy chi phí sản xuất, tổng thu, tổng chi, lợi nhuận và hiệu quả đồng vốn ở hai vùng nghiên cứu có sự khác biệt nhau ở mức ý nghĩa 5%. Ngoại trừ, chi phí thuốc BVTV và chi phí khác không có sự khác biệt nhau ở hai vùng nghiên cứu ở mức ý nghĩa 5%.

Trong các chi phí đầu tư canh tác hành lá thì chi phí giống và chi phí thuốc BVTV chiếm tỷ lệ cao so với các chi phí khác. Tổng chi của nông dân Đồng Tháp là 21,31 triệu đồng/1.000 m² cao hơn so với nông dân Vĩnh Long là 20,01 triệu đồng/1.000 m². Chi phí giống ở Đồng Tháp cao là do giá hành giống thời điểm nông dân xuống giống cao, đặc biệt Đồng Tháp sử dụng lượng hành giống nhiều và trồng mật độ dày, vì thế nặng về chi phí

giống. Trong khi đó, ở Vĩnh Long có chi phí bơm tưới, thu hoạch và lao động thuê cao hơn so với ở Đồng Tháp.

Mặc dù Đồng Tháp có tổng chi cao hơn Vĩnh Long nhưng lại có lợi nhuận cao hơn, lần lượt tại Đồng Tháp là 19,80 triệu đồng/1.000 m² và tại Vĩnh Long là 14,87 triệu đồng/1.000 m². Xét về hiệu quả đồng vốn ở Đồng Tháp là 0,93 đồng¹ và ở Vĩnh Long là 0,74 đồng. Kết quả này cho thấy

rằng nông dân canh tác hành lá ở Đồng Tháp có lợi nhuận cao hơn so với ở Vĩnh Long, mặc dù chi phí đầu tư cao hơn Vĩnh Long nhưng do cách làm líp đất rộng trồng được nhiều bụi hành và tiết kiệm đất nên cho năng suất cao hơn, cộng thêm giá của giống hành Hương ở Đồng Tháp cao hơn so với giá bán giống hành Trâu ở Vĩnh Long, vì thế tổng thu cao hơn so với Vĩnh Long.

Bảng 8. Chi phí và lợi nhuận của nông dân trồng hành lá

Đơn vị tính: triệu đồng/1.000 m²

Đề mục	Đồng Tháp		Vĩnh Long		Kiểm định t		Chung	
	Trung bình	%	Trung bình	%	Giá trị t	Khác biệt (α)	Trung bình	%
Chi phí làm đất	2,48	11,61	1,76	8,82	12,32	0,000	2,18	10,48
Chi phí giống	6,96	32,65	4,63	23,16	7,47	0,000	5,98	28,81
Chi phí phân bón	1,22	5,72	1,14	5,68	2,02	0,046	1,18	5,70
Chi phí thuốc BVTV	5,17	24,25	5,30	26,50	- 0,73	0,47	5,22	25,16
Chi phí bơm tưới	0,26	1,21	0,29	1,45	- 4,57	0,000	0,27	1,31
Chi phí thu hoạch	0,94	4,42	2,53	12,65	- 23,09	0,000	1,61	7,75
Chi phí lao động thuê	2,95	13,84	3,13	15,64	- 3,24	0,002	3,02	14,57
Chi phí khác	1,34	6,30	1,22	6,10	1,82	0,06	1,29	6,22
Tổng chi	21,31	100,00	20,01	100,00	3,28	0,001	20,76	100,00
Tổng thu	41,12		34,88		3,03	0,003	38,50	
Lợi nhuận	19,81		14,87		7,65	0,000	17,74	
Hiệu quả đồng vốn	0,93		0,74		6,20	0,000	0,85	

3.5. Một số giải pháp của nông dân đề xuất trong canh tác cây hành¹

Kết quả Bảng 9 cho thấy nông dân ở hai vùng nghiên cứu đề xuất các giải pháp bao gồm đề nghị thành lập các hợp tác xã bao tiêu sản phẩm (57,5%), trong đó nông dân Đồng Tháp đồng tình với giải pháp này cao chiếm 64,3% và nông dân tại Vĩnh Long là 48%. Việc thành lập hợp tác

xã giúp bình ổn đầu ra cho nông dân. Ngoài ra, nông dân Đồng Tháp đề xuất trồng hành lá trong nhà lưới chiếm 37,1% nhưng ở Vĩnh Long chỉ có 4%. Ngược lại, nông dân Vĩnh Long có đề xuất sản xuất hành lá theo tiêu chuẩn VietGAP chiếm 76% và tại Đồng Tháp là 31,4%.

Việc trồng hành lá theo VietGAP là đạt tiêu chuẩn cao, hành sạch, giá bán cao hơn nhưng mọi yêu cầu cũng tăng theo, chi phí đăng ký cao. Vì vậy, nông dân cần được sự hỗ trợ về chi phí đăng ký

¹ Chi 1 đồng lời được 0,93 đồng, hay chi 1 đồng thu được 1,93 đồng.

VietGAP. Đối với đề xuất trồng hành nhà lưới giúp quản lý tốt các sâu bệnh hại hành lá và giảm sử dụng thuốc BVTV. Các đề xuất này đều giúp cây hành đảm bảo chất lượng và phát triển thị trường. Chính vì thế, nông dân cũng cần được tập huấn nhiều về quy trình canh tác hành và quản lý phòng trừ sâu bệnh hại.

Bảng 9. Một số giải pháp của nông dân đề xuất đối với mô hình canh tác cây hành lá

Đề xuất	Đồng Tháp		Vĩnh Long		Chung	
	Tần số	%	Tần số	%	Tần số	%
Sản xuất theo VietGAP	22	31,4	38	76,0	60	50,0
Sản xuất theo rau an toàn	7	10,0	17	34,0	24	20,0
Trồng hành trong nhà lưới	26	37,1	2	4,0	28	23,3
Tổ chức các buổi tập huấn kỹ thuật và phòng trừ sâu bệnh	11	15,7	10	20,0	21	17,5
HTX bao tiêu sản phẩm	45	64,3	24	48,0	69	57,5
Tổng	70		50		120	

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Bệnh gây hại nhiều trên hành là cháy đầu lá hành do nấm *Botrytis* sp., chết bụi do vi khuẩn *Erwinia* sp., đốm tím do nấm *Alternaria porri*, cháy lá do vi khuẩn *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* và thán thư do nấm *Colletotrichum* sp. Trong đó, bệnh cháy lá do vi khuẩn gây hại nặng nhất.

Tổng số 39 loại thuốc trừ bệnh đã được ghi nhận ở các vùng trồng cây hành, đa phần nông dân sử dụng thuốc không đúng liều lượng khuyến cáo (trên 80%). Đối với thuốc phòng trừ bệnh, đa số nông dân sử dụng đúng thuốc, đặc biệt đối với bệnh cháy lá do vi khuẩn có 41,3% nông dân sử dụng chưa đúng thuốc. Phần lớn nông dân chọn phun thuốc định kỳ và phối trộn khi phun thuốc.

Về hiệu quả đầu tư sản xuất, nông dân ở Đồng Tháp có tổng chi phí đầu tư cao hơn so với Vĩnh Long. Tuy nhiên, nông

dân Đồng Tháp lại có lợi nhuận và hiệu quả đồng vốn cao hơn nông dân Vĩnh Long. Đánh giá cho thấy nông dân Đồng Tháp sản xuất hành lá đạt hiệu quả tài chính hơn so với tỉnh Vĩnh Long.

Giải pháp ưu tiên nhất là xây dựng mô hình, thực hiện sản xuất theo tiêu chuẩn VietGAP nhằm tăng hiệu quả sản xuất, đặc biệt là giảm chi phí thuốc BVTV, từ đó tăng lợi nhuận cho người sản xuất.

5.2. Đề nghị

Cần tổ chức các lớp tập huấn về kỹ thuật canh tác, nhận diện bệnh gây hại trên hành lá và hướng dẫn sử dụng thuốc BVTV cho nông dân hiểu rõ hơn.

Nông dân trồng hành lá cần sản xuất theo tiêu chuẩn VietGAP nhằm nâng cao chất lượng sản phẩm và giảm sử dụng thuốc BVTV trên hành, tránh ô nhiễm môi trường.

Thành lập các tổ hợp tác và hợp tác xã, bao tiêu sản phẩm cũng như tìm kiếm thêm nhiều thị trường cho hành lá.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dương Hạnh Thúy Nhung, 2014. Đánh giá hiện trạng sử dụng thuốc BVTV trên rau ăn lá tỉnh An Giang. Luận văn Tốt nghiệp cao học ngành Phát triển nông thôn. Đại học Cần Thơ.
2. Nguyễn Hồng Vui, 2016. Đánh giá hiện trạng sử dụng thuốc bảo vệ thực vật trên xà lách xoong và khoai lang tại tỉnh Vĩnh Long. Luận văn Tốt nghiệp Cao học ngành Phát triển nông thôn. Đại học Cần Thơ.
3. Roumagnac, P., O. Pruvost, F. Chiroleu and G. Hughes, 2004. Spatial and temporal analyses of bacterial blight of onion caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*. *Phytopathology* 94, 138 - 146.
4. Trần Thị Ba, 2015. <http://caab.ctu.edu.vn/gtrinh/bvtv/rau%20sach/source/kythuat/hanhl a.htm> (Truy cập ngày 24/08/2018).
5. Trần Thị Cẩm Tú, 2018. Đánh giá hiện trạng sử dụng thuốc bảo vệ thực vật trên dưa hấu tại huyện Phong Điền thành phố Cần Thơ. Luận văn Tốt nghiệp Cao học ngành Phát triển Nông thôn. Đại học Cần Thơ.

HIỆN TRẠNG SỬ DỤNG THUỐC BẢO VỆ THỰC VẬT TRÊN CÂY CHANH DÂY TẠI ĐẮK NÔNG

Phạm Thị Minh Tâm¹, Nguyễn Công Hậu²
Trần Minh Hào¹

¹Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh
²Công ty TNHH Nông nghiệp Tự nhiên HTP

ABSTRACT

Current status of pesticide use on passion fruit production in Dak Nong province

The survey was conducted from October 2017 to March 2018 to know how types of pesticide use and how an amount of pesticide application on vegetables. A total of 40 farmers from Dak Sakvillagerepresenting the most important areas of passion fruit production, in Dak Mil District, Dak Nong province were directly interviewed on their pesticide uses through the prepared questionnaire. It was noticed that there were 14 insecticide products containing 11 active ingredient and 12 fungicide products containing 14 active ingredient applied on plants of passion fruit. Tadayon 700EC and Ridomil Gold 68WP were the main pesticides used on passion fruit production with 60% interviewed farmers. It is note that farmers spraying pesticides higher than the recommended dosage were still common. Waiting period between last pesticide spraying and harvesting has not been strictly complied with farmers.

Keywords: *Insecticides, fungicides, passion fruit production.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ¹

Trong những năm gần đây “chanh dây” là cụm từ được tìm kiếm rất nhiều, là cây trồng đem lại nguồn lợi kinh tế cao phù hợp với điều kiện khí hậu cũng như đáp ứng được khả năng kinh tế của người dân. Với quy mô phát triển lớn ở Việt Nam cả về diện tích và sản lượng. Theo số liệu thống kê của Chi cục Kiểm dịch thực vật II năm 2014, cây chanh dây được du nhập vào phía Nam Việt Nam trên địa bàn tỉnh Đắk Nông với diện tích khoảng 621 ha.

Với số lượng chanh dây nhập khẩu ngày càng nhiều, mà các nghiên cứu về bệnh hại trên chanh dây thì chưa được đầu tư nghiên cứu nhiều. Và đó cũng là một trong những nguyên nhân gây khó khăn cho việc phòng ngừa và kiểm soát các sâu bệnh hại trên chanh dây. Bên cạnh đó, sự phát sinh gây hại do sâu bệnh ngày càng nghiêm trọng do thời tiết khí hậu, tập quán canh tác, lạm dụng kích thích tăng trưởng, phân bón lá, bón gốc, thuốc trừ sâu trừ bệnh quá nhiều chủng loại, liều lượng cao, hỗn hợp nhiều loại nhưng hiệu quả không cao. Theo thống kê, đã có khoảng 70%

Người phân biên: TS. Võ Thị Thu Oanh.

diện tích chanh dây bị nhiễm bệnh bã trầu, lở cổ rễ và nhiễm virus rất khó chữa trị và hồi phục, có khả năng chết toàn bộ vườn, gây thiệt hại kinh tế nặng nề cho người trồng (Sở Nông nghiệp và PTNT tỉnh Đắk Nông, 2014). Với việc sử dụng thuốc phòng trừ sâu bệnh không hợp lý, không những gây lãng phí mà còn có tác dụng ngược lại gây ảnh hưởng không tốt cho cây chanh dây, đặc biệt là ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe người tiêu dùng. Để giảm chi phí sản xuất đồng thời đảm bảo an toàn thực phẩm, bảo vệ môi trường thì thuốc BVTV phải được sử dụng đúng phương pháp và hợp lý. Vì vậy, nắm được tình hình sử dụng thuốc bảo vệ thực vật trên cây chanh dây tại xã Đắk Sắk, huyện Đắk Mil, tỉnh Đắk Nông là cần thiết và đã được thực hiện.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu đã được tiến hành từ tháng 10 năm 2017 đến tháng 03 năm 2018 tại xã Đắk Sắk, huyện Đắk Mil, tỉnh Đắk Nông. Liên hệ trực tiếp với UBND xã Đắk Sắk, cán bộ khuyến nông huyện Đắk Mil và ban ngành liên quan để thu thập số liệu thứ cấp là các thông tin tổng quát. Điều tra phỏng vấn trực tiếp 40 hộ nông dân là những hộ đang và có kinh nghiệm sản xuất chanh dây thông qua phiếu điều tra soạn sẵn. Các số liệu thu

thập bao gồm loại thuốc sử dụng, liều lượng thuốc sử dụng, số lần phun/vụ, tần suất phun và thời gian cách ly thuốc sẽ được ghi nhận, tổng hợp bằng phần mềm Microsoft Excel và được xử lý thống kê bằng phần mềm SPSS.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hiện trạng sử dụng thuốc trừ sâu trên chanh dây của các hộ điều tra tại xã Đắk Sắk, huyện Đắk Mil, tỉnh Đắk Nông

Kết quả điều tra cho thấy trên chanh dây thường xuyên xuất hiện các loại sâu hại như rệp sáp (*Planococcus citri*), rệp muội (*A. gossypii*), rệp đào (*Myzus persicae*), ruồi đục quả (*Bactrocera cucurbitae*), bọ trĩ (*Stenchaetothrips biformis*), nhện đỏ (*Tetranychus telarius*), bọ phấn (*Bemisia tabaci*), bọ xít (*Pentatomidae*), các loại sâu ăn lá (*Archips micaceana*) và đục thân (*Lophobaris piperis*). Trong đó, hai loại rệp muội (*A. gossypii*) và rệp đào (*Myzus persicae*) mang một loại virus rất nguy hiểm là Woodiness (PWV) là nguyên nhân gây ra bệnh quả đá (hóa cứng) trên chanh dây. Sâu đục thân (*Lophobaris piperis*) chiếm tỷ lệ gây hại cao nhất là 80%, tiếp theo đó là nhện đỏ (*Tetranychus telarius*) chiếm tỷ lệ gây hại là 77,5% và thấp nhất là rệp muội (*A. gossypii*) chiếm tỷ lệ gây hại là 35%.

Bảng 1. Các loại thuốc trừ sâu được sử dụng trên chanh dây của các hộ điều tra

Tên thương mại	Hoạt chất	Nhóm độc	Tỷ lệ hộ (%)	LLKC/8 lít nước	TGCL theo khuyến cáo (ngày)
Abavec super 5,5EC	Abamectin	II	30	5 - 7,5 ml	7
Bi - 58 40EC	Dimethoate	II	2,5	25 - 30 ml	14
Bigtwo 55SC (*)	Lambda-cyhalothrin	I	22,5	10 ml	7

Classico 480EC	Chlorpyrifos Ethyl + Acetamiprid	II	55	10 ml	14
Crymerin 50EC	Permethrin	II	42,5	8 ml	10
Dibafon 200SC	Carbosulfan	II	15	20 ml	14
Goldra 250WG	Thiamethoxam + Acetamiprid	II	27,5	3 g	7
Koben 15EC	Pyridaben	II	40	4,8 - 8 ml	7
Reasgant 3,6EC	Abamectin	II	55	2,4 - 4 ml	7
Saimida 100SL	Imidacloprid	II	37,5	6 ml	7
Sairifos 585EC	Chlorpyrifos Ethyl + Cypermethrin	II	35	6 - 8 ml	14
Tadagon 700EC	Chlorpyrifos Ethyl + Cypermethrin	II	60	7,5 - 10 ml	14
Thionova 25WG	Thiamethoxam	II	30	3,2 g	7
Triceny 705EC	Chlorpyrifos Ethyl + Cypermethrin	II	15	12,5 - 15 ml	14

Ghi chú: LLKC: Liều lượng khuyến cáo; *: Chế phẩm diệt côn trùng dùng trong gia dụng và y tế; TGCL: Thời gian cách ly; n = 40.

Kết quả điều tra cho thấy có 14 loại thuốc với 11 hoạt chất khác nhau đã được các hộ sử dụng để phòng trừ tổng hợp các loại sâu hại nghiêm trọng như: sâu đục thân, bọ xít, bọ phấn, bọ trĩ, nhện đỏ, rệp sáp. Đa số các loại thuốc đều thuộc nhóm

độc II. Trong đó, Tadagon 700EC được sử dụng phổ biến nhất với tỷ lệ 60%. Ngoài ra các thuốc trừ sâu như Bi-58 40EC, Dibafon 200SC, Triceny 705EC chiếm tỷ lệ số hộ thấp từ 2,5 - 15%.

Bảng 2. Liều lượng sử dụng thuốc trừ sâu cho chanh dây của các hộ điều tra

Tên thương mại	LLSD/8 lít nước	Số hộ	Tỷ lệ hộ (%)	LLNN/8 lít nước	LLKC/8 lít nước	LLCN/8 lít nước	Trung bình	SD
Abavec super 5,5EC	3,2 - < 5 ml	2	16,7					
	5 - 7,5 ml	5	41,7	3,2 ml	5 - 7,5 ml	12,5 ml	7,3	2,1
	> 7,5 - 12,5 ml	5	41,7					
Bi 58 - 40EC	24 - < 25 ml	1	100	24 ml	25 - 30 ml	-	24	0
	6,4 - < 10 ml	5	55,6					
Bigtwo 55EC (*)	10 ml	2	22,2	6,4 ml	10 ml	15 ml	9,3	2,1
	> 10 - 15 ml	2	22,2					
	8 - < 10 ml	6	27,3					
Classico 480EC	10 ml	4	18,2	8 ml	10 ml	15 ml	11,4	2,5
	> 10 - 15 ml	12	54,5					
Crymerin 50EC	6 - < 8 ml	2	11,8	6 ml	8 ml	12,5 ml	9,7	2,02
	8 ml	4	23,5					

Tên thương mại	LLSD/8 lít nước	Số hộ	Tỷ lệ hộ (%)	LLNN/8 lít nước	LLKC/8 lít nước	LLCN/8 lít nước	Trung bình	SD
	> 8 - 12,5 ml	11	64,7					
Dibafon 200SC	20 ml	2	33,3	20 ml	20 ml	30 ml	24	3,7
	> 20 - 30 ml	4	66,7					
Goldra 250WG	> 3 - 10 g	11	100	-	3 g	10 g	5,7	1,8
Koben 15EC	4,8 - 8 ml	6	37,5	4,8 ml	4,8 - 8 ml	15 ml	10,2	3,1
	> 8 - 15 ml	10	62,5					
	3,2 - < 4 ml	1	4,5					
Reasant 3,6EC	4 ml	4	18,2	3,2 ml	2,4 - 4 ml	10 ml	6,7	2,5
	> 4 - 10 ml	17	77,3					
	4,8 - < 6 ml	1	6,7					
Saimida 100SL	6 ml	1	6,7	4,8 ml	6 ml	15 ml	9,7	3,03
	> 6 - 15 ml	13	86,6					
Sarifos 585EC	6 - 8 ml	5	35,7	6 ml	6 - 8 ml	20 ml	10,5	2,8
	> 8 - 20 ml	9	64,3					
	6,4 - < 7,5 ml	3	12,5					
Tadagon 700EC	7,5 - 10 ml	11	45,8	6,4 ml	7,5 - 10 ml	15 ml	10,2	2,6
	> 10 - 15 ml	10	41,7					
Thionova 25WG	3,2 g	2	16,7	3,2 g	3,2 g	7,5 g	5,74	2,02
	> 3,2 - 7,5 g	10	83,3					
Triceny 705EC	10 - < 12,5 ml	2	33,3	10 ml	12,5 - 15 ml	15 ml	12,1	2,8
	12,5 - 15 ml	4	66,7					

Ghi chú: LLKC: Liều lượng khuyến cáo; *: Chế phẩm diệt côn trùng dùng trong gia dụng và y tế; LLSD: Liều lượng sử dụng; LLNN: Liều lượng nhỏ nhất; LLCN: Liều lượng cao nhất; n = 40.

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy nông dân trồng chanh dây tại xã Đắc SẮc cũng vẫn chưa tuân thủ đúng nguyên tắc “4 đúng” khi sử dụng thuốc BVTV. Trong tổng số 14 loại thuốc được sử dụng chỉ có 2 loại thuốc được nông dân sử dụng đúng liều khuyến cáo là Triceny 705EC và Bi 58-40EC. 12 loại thuốc có số hộ điều tra sử dụng vượt liều khuyến cáo, trong đó, thuốc Goldra 250WG có 100% hộ (11 hộ) sử dụng vượt liều khuyến cáo. Điều đáng chú ý là nông dân phun thuốc cao hơn liều khuyến cáo vẫn còn xảy ra phổ biến. Có 7 loại thuốc có liều lượng sử dụng trung bình cao hơn

khuyến cáo từ 1 - 1,5 lần là Abavec super 5.5EC, Classico 480EC, Crymerin 50EC, Dibafon 200SC, Koben 15EC, Sairifos 585EC, Tadagon 700EC. Đặc biệt, có 3 loại thuốc có liều lượng sử dụng trung bình cao hơn liều khuyến cáo trên 1,5 lần là Goldra 250WG, Reasant 3.6EC, Thionova 25WG.

Tám loại thuốc có số hộ điều tra sử dụng với liều lượng thấp hơn liều khuyến cáo là Abavec super 5.5EC, Crymerin 50EC, Saimida 100SL, Bigtwo 55EC, Tadagon 700EC, Triceny 705EC, Classico 480EC, Bi 58 - 40EC.

Bảng 3. Thời gian cách ly khi sử dụng thuốc trừ sâu trên chanh dây của các hộ điều tra

TGCL theo KC (ngày)	TGCL (ngày)	Số hộ	Tỷ lệ hộ (%)
7	5 - < 7	18	45
	7	13	32,5
	> 7 - 10	9	22,5
10	7 - < 10	27	67,5
	10	8	20
	> 10 - 14	5	12,5
14	10 - < 14	31	77,5
	14	6	15
	> 14 - 18	3	7,5

Ghi chú: TGCL: Thời gian cách ly; KC: Khuyến cáo.

Cây chanh dây là cây cho thu hoạch quả nhiều đợt, mỗi đợt thu hoạch cách nhau 2 - 3 ngày tương tự như những cây rau ăn quả thu hoạch nhiều đợt như dưa leo, khổ qua. Kết quả điều tra từ Bảng 3 cho thấy thời gian cách ly của thuốc càng dài thì sự tuân thủ của người dân đối với thời gian cách ly của thuốc càng giảm. Những thuốc có thời gian cách ly 7 ngày có 55% số hộ sử dụng cách ly thuốc theo đúng khuyến cáo. Tuy nhiên, khi thời gian cách ly của thuốc tăng lên đến 10 ngày thì số hộ sử dụng không tuân thủ thời gian cách ly theo đúng khuyến cáo của thuốc tăng cao, chiếm 67,5% và chỉ còn 32,5% số hộ tuân thủ thời gian cách ly. Khi thời gian cách ly của thuốc kéo dài đến 14 ngày thì số hộ tuân thủ thời gian cách ly giảm chỉ còn 22,5% và có tới 77,5% số hộ sử dụng thuốc không tuân thủ theo đúng khuyến cáo. Kết quả này cũng tương tự như kết quả điều tra về thời gian cách ly thuốc BVTV trên cây rau ăn quả thu hoạch

nhiều lần tại An Giang (Phạm Thị Minh Tâm và ctv., 2018). Adjrah và ctv. (2013) cũng đã kết luận rằng nông dân sản xuất rau ăn quả thu hoạch nhiều đợt ở Togo đã không đảm bảo thời gian cách ly thuốc khi thu hoạch. Điều này có nguy cơ ảnh hưởng đến chất lượng quả chanh dây vì có thể còn tồn dư thuốc trừ sâu trên quả.

3.2 Hiện trạng sử dụng thuốc trừ bệnh trên chanh dây ở các hộ điều tra tại xã Đắc Sắk, huyện Đắc Mil, tỉnh Đắk Nông

Qua khảo sát ở các hộ điều tra cho thấy các loại bệnh thường xuất hiện trên chanh dây là u sưng, đốm lá, đốm dầu, đốm nâu, đốm xám, thối rễ, thối hạch, héo rũ, bệnh ghẻ, tuyến trùng bướu rễ. Trong đó bệnh đốm nâu (*Alternaria passiflorae*) chiếm tỷ lệ gây hại cao nhất là 87,5%, tiếp theo đó là đốm dầu (*Pseudomonas syringae*) chiếm tỷ lệ gây hại là 77,5%, thấp nhất là bệnh thối rễ (*Phytophthora cinnamomi*) chiếm tỷ lệ gây hại là 12,5%.

Bảng 4. Các loại thuốc bệnh đã được sử dụng trên chanh dây ở các hộ điều tra

Tên thương mại	Hoạt chất	Nhóm độc	Đối tượng phòng trừ	LLKC/8 lít nước	TGCL theo khuyến cáo (ngày)	Tỷ lệ hộ (%)
Champion 37,5EC	Copper Hydroxide	III	Đốm nâu + Thối rễ	10 ml	7	60
Ditacin 8SL	Ningnanmycin	IV	Đốm nâu	6 ml	2	12,5
Forliet 80WP	Fosetyl - Aluminium	IV	Thối rễ	20 g	7	40
LiveShow 550WP	Ningnanmycin + Streptomycin	IV	Đốm nâu	2,56 g	7	22,5
Miksabe 100WP	Streptomycin + Oxytetracycline	IV	Đốm nâu	8 g	5	40
Newtracon 70WP	Propined	IV	Đốm nâu, đốm xám	20 - 25 g	7	57,5
Niko 72WP	Cymoxanil + Mancozeb	III	Đốm nâu, đốm xám	16 g	7	12,5
Ridomil Gold 68WP	Metalaxyl - M + Mancozeb	III	Đốm xám, đốm nâu	32 - 40 g	15	67,5
Toplusa 450SC	Azoxystrobin + Difenoconazole	III	Đốm nâu, đốm xám	4 - 4,8 ml	7	55
Topnati 330SC	Azoxystrobin + Tebuconazole + Sulfur	IV	Đốm nâu, đốm xám	6,4 - 8 ml	7	57,5
Vimonyl 72WP	Metalaxyl + Mancozeb	III	Đốm nâu, đốm xám	20 - 40 g	7	45
Yomisuper 23WP	Kasugamycin + Polyoxin	IV	Đốm nâu	9,6 g	7	55

Ghi chú: LLKC: Liều lượng khuyến cáo; TGCL: Thời gian cách ly; n = 40.

Qua Bảng 4 cho thấy có 12 loại thuốc với 14 hoạt chất được các hộ điều tra sử dụng khác nhau, thông thường các hộ sử dụng hỗn hợp 2 loại thuốc trừ bệnh với nhau bao gồm 1 loại thuốc dạng dung dịch và 1 loại thuốc dạng bột. Đa số các loại thuốc đều thuộc nhóm độc III và IV.

Trong đó, đối tượng phòng trừ chủ yếu là đốm nâu và đốm xám với các loại thuốc như Champion 37,5EC, Ridomil Gold 68WP, Newtracon 70WP và Topnati 330SC. Đây cũng là những loại thuốc được sử dụng nhiều với tỷ lệ hộ sử dụng từ 57,5 - 67,5%.

Bảng 5. Liều lượng sử dụng thuốc trừ bệnh trên chanh dây của các hộ điều tra

Tên thương mại	LLSD/8 lít nước	Số hộ	Tỷ lệ hộ (%)	LLNN/8 lít nước	LLKC/8 lít nước	LLCN/8 lít nước	Trung bình	SD
Champion 37,5EC	8 - < 10 ml	5	20,8	8 ml	10 ml	15 ml	12,1	2,9
	10 ml	5	20,8					
	> 10 - 15 ml	14	58,4					
Ditacin 8SL	3,2 - < 6 ml	2	40	3,2 ml	6 ml	6 ml	3,68	0,43
	6 ml	3	60					

Tên thương mại	LLSD/8 lít nước	Số hộ	Tỷ lệ hộ (%)	LLNN/8 lít nước	LLKC/8 lít nước	LLCN/8 lít nước	Trung bình	SD
Forliet 80WP	16 - < 20 g	5	31,3	16 ml	20 g	50 ml	21,1	3,9
	20 g	4	25					
	> 20 - 50 g	7	73,7					
LiveShow 550WP	> 2,56 - 4 g	9	100	-	2,56 g	4 g	3,6	0,42
Miksabe 100WP	8 g	4	25	8 g	8 g	12,5 g	10,4	2,03
	> 8 - 12,5g	12	75					
Newtracon 70WP	16 - < 20 g	9	39,1	16 g	20 - 25 g	25 g	20	3,3
	20 - 25 g	14	60,9					
Niko 72WP	16 g	1	20	16 g	16 g	25 g	20,2	3,2
	> 16 - 25 g	4	80					
Ridomil Gold 68WP	24 - < 32g	6	22,2	24 g	32 - 40 g	50 g	40,1	11,9
	32 - 40 g	11	40,4					
	> 40 - 50 g	10	37,4					
Toplusa 450SC	4 - 4,8 ml	3	13,6	4 ml	4 - 4,8 ml	12,5 ml	7,2	2,2
	> 4,8 - 12,5 ml	19	86,4					
Topnati 330SC	4,8 - < 6,4 ml	4	17,4	4,8 ml	6,4 - 8 ml	15 ml	8,7	2,08
	6,4 - 8 ml	9	39,1					
	> 8 - 15 ml	10	43,5					
Vimonyl 72WP	16 - < 20 g	3	18,8	16 g	20 - 40 g	40 g	26,1	8,9
	20 - 40 g	13	81,2					
Yomisuper 23WP	6 - < 9,6 g	5	22,7	6 g	9,6 g	15 g	11,06	3,01
	9,6 g	2	9,1					
	> 9,6 - 15 g	15	68,2					

Qua Bảng 5 cho thấy có 12 loại thuốc được các hộ điều tra thường xuyên sử dụng trên chanh dây, trong đó 9 loại thuốc có liều lượng sử dụng trung bình cao hơn liều lượng khuyến cáo từ 1 đến 1,5 lần là Ridomil Gold 68WP, Yomisuper 23WP, LiveShow 550WP, Miksabe 100WP, Champion 37.5EC, Topnati 330SC, Forliet 80WP, Niko 72WP. Đặc biệt, sản phẩm Toplusa 450SC có liều lượng sử dụng trung bình vượt liều lượng khuyến cáo cao nhất (gấp 1,5 lần).

Có 8 hộ sử dụng thuốc trừ bệnh với liều lượng thấp hơn liều lượng khuyến cáo là Vimonyl 72WP, Ridomil Gold

68WP, Newtracon 70WP, Yomisuper 23WP, Ditacin 8SL, Champion 37,5EC, Topnati 330SC, Forliet 80WP. Trong đó, thuốc Ditacin 8SL có tỷ lệ hộ sử dụng liều lượng thấp hơn liều lượng khuyến cáo chiếm 40%.

Kết quả trên cho thấy nhận thức của nông dân về sử dụng đúng liều lượng thuốc bệnh khuyến cáo cao hơn thuốc trừ sâu. Kết quả này cũng tương tự như kết quả của Phạm Thị Minh Tâm và *ctv.*, 2018 về nhận thức của nông dân sử dụng thuốc trừ bệnh trên cây rau ăn quả thu hoạch nhiều đợt như cây chanh dây ở An Giang.

Bảng 6. Thời gian cách ly (TGCL) khi sử dụng thuốc trừ bệnh trên chanh dây của các hộ điều tra

TGCL theo KC (ngày)	TGCL (ngày)	Số hộ	Tỷ lệ hộ (%)
2	2	19	47,5
	> 2 - 5	21	52,5
	3 - < 5	7	17,5
5	5	15	37,5
	> 5 - 7	18	45
	5 - < 7	13	32,5
7	7	15	37,5
	> 7 - 10	12	30
15	10 - < 15	40	100

Ghi chú: TGCL: Thời gian cách ly; KC: Khuyến cáo.

Qua Bảng 6 cho thấy tương tự như thời gian cách ly của thuốc trừ sâu, thời gian cách ly thuốc trừ bệnh trước khi thu hoạch chưa được nông dân tuân thủ đúng theo khuyến cáo. Đặc biệt khi thời gian cách ly của thuốc đối với nông sản dài từ 7 - 15 ngày thì tỷ lệ hộ nông dân không tuân thủ theo thời gian cách ly tăng cao, dao động từ 68,0% (đối với thuốc có thời gian cách ly 7 ngày) cho đến 100% số hộ không tuân thủ đúng thời gian cách ly thuốc theo khuyến cáo đối với thuốc yêu cầu thời gian cách ly lên tới 14 ngày.

IV. KẾT LUẬN

Có 14 loại thuốc trừ sâu với 11 hoạt chất khác nhau và 14 hoạt chất với 12 loại thuốc trừ bệnh thường được các hộ sử dụng trên chanh dây để phòng trừ các loại sâu, bệnh hại. Tadagon 700EC và Ridomil Gold 68WP là 2 loại thuốc trừ sâu, bệnh được sử dụng phổ biến nhất đều với 60% số hộ sử dụng. Điều đáng chú ý là nông dân phun thuốc BVTV cao hơn liều lượng khuyến cáo vẫn còn xảy ra phổ biến. Tuy

nhiên, nhận thức của nông dân về sử dụng thuốc trừ bệnh đúng liều lượng khuyến cáo cao hơn thuốc trừ sâu. Thời gian cách ly thuốc trừ sâu, bệnh trước khi thu hoạch chưa được nông dân tuân thủ đúng theo khuyến cáo. Đặc biệt khi thời gian cách ly của thuốc đối với nông sản càng dài thì tỷ lệ hộ nông dân không tuân thủ thời gian cách ly càng tăng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sở Nông nghiệp và PTNT tỉnh Đắk Nông, 2014. Báo cáo tình hình cây trồng 2014.
2. Yao Adjrah, Agbéko Dovlo, Simplicie D. Karou, Kwashie Eklou-Gadegbeku, Amégnona Agbonon, Comlan de Souza, Messanvi Gbeassor, 2013. Survey of pesticide application on vegetables in the Littoral area of Togo. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 4 (20): 715 - 720.
3. Phạm Thị Minh Tâm, Nguyễn Thị Thúy Liễu, Nguyễn Minh Thắng, 2018. Hiện trạng sử dụng thuốc bảo vệ thực vật trong sản xuất rau tại An Giang. *Hội thảo Quốc gia Bệnh hại Thực vật Việt Nam lần thứ 17*, 168 - 176.

KHẢO SÁT HÀM LƯỢNG POLYPHENOL TỔNG, SAPONIN TỔNG VÀ KHẢ NĂNG KHÁNG ÔXY HÓA, KHÁNG VI KHUẨN GÂY BỆNH THỰC VẬT CỦA CAO CHIẾT TỪ 4 LOÀI CÂY BẢN ĐỊA VÙNG ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Nguyễn Văn Thành, Huỳnh Thanh Duy,
Lương Phong Dũ, Trương Tô Hải Đăng,
Võ Thị Kim Thoa, Phạm Minh Tú, Lê Tuấn Vũ,
Nguyễn Vũ Luân, Nguyễn Đức Độ

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

ABSTRACT

Determination of the total polyphenol and saponin contents and testing for antioxidant and inhibitory effects against bacterial plant pathogens of ethanol extracts of the four common plants in the Mekong delta of Vietnam

*Ethanol leaf extracts of the four common plants in the Mekong delta of Vietnam including *Annona glabra* L., *Imperata cylindrica* L. (Beauv.), *Limonia acidissima* L. and *Ruellia tuberosa* L. were selected to determine the total polyphenol and saponin contents and to test for their antioxidant and inhibitory effects against two selected bacterial plant pathogens. Among the extracts tested, *R. tuberosa* L. contains the highest amount of total polyphenol compounds (121.42 mg GAE/g extract). The total saponin contents in the four extracts were detected from 18.7 to 48.8 mg/g. Based on their DPPH and hydrogen peroxide radical scavenging activities, the antioxidant effects of *R. tuberosa* L. extract was found to be the strongest among those of the four extracts. Indeed, its IC_{50} value in the DPPH test was 37.6 μ g/ml and that in the hydrogen peroxide test was 62.55 μ g/ml. All four extracts exhibited their inhibitory effects against the two selected bacterial plant pathogens, i.e., *Erwinia carotorova* and *Klebsiella variicola*, except *L. acidissima* L. for *K. variicola*. The diameters of inhibition zones using dual culture tests varied from 2.0 to 10.7 mm for *E. carotorova* and from 2.3 to 6.8 mm for *K. variicola*.*

Keywords: Antioxidant, bacterial plant pathogen, DPPH, H_2O_2 , inhibition, plant extract, polyphenol, saponin.

¹ Người phân biện: GS.TS. Nguyễn Văn Tuất.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh do vi khuẩn gây hại trên cây trồng ngày càng nghiêm trọng, nguyên nhân do sự thích nghi của mầm bệnh đối với môi trường và tăng cường độc lực gây hại lên các vật chủ (Ghatak, 2017). Chính vì vậy, một lượng lớn thuốc bảo vệ thực vật được sử dụng trong phòng trừ các bệnh hại trên cây trồng do vi khuẩn cũng tăng theo. Việc sử dụng thuốc bảo vệ thực vật với lượng lớn gây ra dư lượng trong cây trồng đặc biệt là đối với nông sản. Do yêu cầu ngày càng cao về tính an toàn của nông sản và môi trường nên việc nghiên cứu các hợp chất thực vật có hoạt tính sinh học, đặc biệt là khả năng kháng khuẩn có thể ứng dụng trong phòng trừ bệnh hại do vi khuẩn gây ra đối với cây trồng là điều cần thiết. Bởi thực vật có khả năng tổng hợp một lượng lớn các hợp chất tự nhiên (hoặc các hợp chất thứ cấp) gồm alkaloid, isoprenoid và phenolic... có các hoạt tính sinh học tiềm năng mà con người có thể khai thác sử dụng. Bên cạnh đó các hợp chất trên còn là nhân tố giúp cây tự bảo vệ, đề kháng lại các tác nhân ảnh hưởng từ môi trường (vi sinh vật gây hại) (Bernards *et al.*, 2011). Theo Daglia (2011) cho rằng polyphenol là một tác nhân kháng khuẩn, nghiên cứu của Avato *et al.* (2006) saponin từ cây *Medicago* sp. cũng có hoạt tính kháng khuẩn. Do đó, trong nghiên cứu này, các hợp chất từ bốn loài thực vật bản địa ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long được ly trích và tiến hành định lượng hai hợp chất là polyphenol tổng và saponin tổng, khảo sát các hoạt tính sinh học như kháng oxy hóa và kháng hai loài vi khuẩn gây hại trên thực vật. Qua đó đánh giá khả năng kháng

khuẩn, khả năng kháng oxy hóa với hàm lượng polyphenol và saponin chứa trong bốn loài cây trên.

II. PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chuẩn bị cao chiết

Mẫu lá của bốn loài thực vật trong thí nghiệm gồm bình bát nước (*Annona glabra* L.) thuộc họ Annonaceae, cỏ tranh (*Imperata cylindrica* L. (Beauv.)) thuộc họ Poaceae, cây quách (*Limonia acidissima* L.) thuộc họ Rutaceae và cây trái nỏ (*Ruellia tuberosa* L.) thuộc họ Acanthaceae được thu ở Cần Thơ, Hậu Giang và Trà Vinh. Mẫu lá được thu vào sáng sớm (6 - 7h), tránh chọn các lá bị sâu và có màu vàng. Các mẫu lá được rửa sạch và làm khô bề mặt trong điều kiện phòng (25 - 27°C, trong 3 - 4 giờ). Mẫu được xay nhuyễn với dung môi ethanol với tỷ lệ 1:5, sau đó xử lý mẫu với sóng siêu âm 120W trong 1 giờ. Lọc lấy phần dịch trong và dùng phương pháp cô quay chân không để loại đi dung môi, phần dịch sau khi cô quay được hút chân không đến khi khối lượng không đổi và thu lấy cao rắn trữ đông ở - 20°C.

2.2. Khảo sát hàm lượng polyphenol tổng và hàm lượng saponin tổng

Khảo sát hàm lượng polyphenol tổng theo mô tả của Yadav và Agarwala (2011) có hiệu chỉnh (1 ml Na₂CO₃ 2%, 1 ml Folin-Ciocaltue 10%, 0,1 ml cao chiết) và khảo sát hàm lượng saponin tổng theo mô tả của Hiai *et al.* (1976) có hiệu chỉnh (0,2 ml vanillin 4%, 0,5 ml mỗi nồng độ cao chiết hoặc chất chuẩn, 1,8 ml H₂SO₄ 70%, đo ở bước sóng 550 nm).

2.3. Khảo sát khả năng kháng oxy hóa khử gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) và khả năng khử gốc tự do hydrogen peroxide

Khảo sát khả năng khử gốc tự do DPPH của các nghiệm thức cao chiết được thực hiện theo phương pháp của Blois (1958). Thí nghiệm khảo sát khả năng khử gốc tự do hydrogen peroxide dựa trên mô tả của Sharma và Kumar (2011) có hiệu chỉnh (2,5 ml H₂O₂ 4 mM trong đệm phosphate 0,05 M, 0,5 ml cao chiết hoặc vitamin C).

2.4. Khảo sát khả năng kháng khuẩn của cao chiết

2.4.1. Nguồn vi khuẩn

Hai dòng vi khuẩn Gram âm *Klebsiella variicola* gây bệnh thối đồng tiền trên khoai lang và *Erwinia carotorova* gây thối củ ở hành tím được cung cấp bởi Nhóm Nghiên cứu Bệnh cây, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Đại học Cần Thơ cung cấp. Vi khuẩn được nuôi cấy trên đĩa thạch môi trường LB trước thí nghiệm 1 ngày. Sau đó tạo huyền phù vi khuẩn với mật số 10⁶ CFU/ml.

2.4.2. Phương pháp khảo sát khả năng kháng khuẩn

Khả năng kháng khuẩn của cao chiết được xác định thông qua phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch theo mô tả của Valgas *et al.*, 2007. Chuẩn bị cao chiết nồng độ là 100 mg/ml. Đối chứng dương là Ampicillin 4 mg/ml, đối chứng âm là DMSO 100%.

2.5. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Kết quả thí nghiệm được xử lý bằng Microsoft Excel 2016 và phần mềm Minitab version 16, phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định Tukey để so sánh các giá trị trung bình.

III. KẾT QUẢ THẢO LUẬN

3.1. Hàm lượng polyphenol tổng và hàm lượng saponin tổng

Hàm lượng polyphenol tổng và saponin tổng của bốn loài cây được trình bày trong Bảng 1. Hàm lượng polyphenol tổng được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn của gallic acid $y = 0,0032x - 0,017$; $R^2 = 0,9983$ và hàm lượng saponin tổng được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn của ginsenosides (Rb1, Rg1, Rg3) $y = 0,0144x + 0,0306$; $R^2 = 0,9985$.

Bảng 1. Hàm lượng polyphenol tổng (mg GAE/g chiết xuất) và hàm lượng saponin tổng (mg/g chiết xuất) của các nghiệm thức cao chiết

Loài thực vật	Hàm lượng polyphenol tổng (mg GAE/g chiết xuất)*	Hàm lượng saponin tổng (mg/g chiết xuất)*
Bình bát	69,0 ± 3,0 ^c	48,8 ± 0,4 ^a
Cỏ tranh	97,4 ± 6,7 ^b	41,4 ± 6,1 ^a
Quách	103,7 ± 3,3 ^b	48,8 ± 0,5 ^a
Trái nỏ	121,4 ± 8,8 ^a	18,7 ± 0,6 ^b

Ghi chú: Giá trị trong bảng là giá trị trung bình của ba lần lặp lại. Trong cùng một cột, các giá trị có ít nhất một chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5%; *: Qua kiểm định Tukey.

Qua kết quả định lượng polyphenol tổng cho thấy cao chiết của bốn loài cây đều chứa hàm lượng polyphenol cao, trong đó cao chiết từ lá cây trái nỏ và cây quách có hàm lượng polyphenol tổng lần lượt là 121,4 và 103,7 mg GAE/g chiết xuất, bình bát nước chứa hàm lượng polyphenol tổng thấp nhất (69 mg GAE/g chiết xuất). Hàm lượng polyphenol tổng của các nghiệm thức cao chiết giảm dần theo thứ tự trái nỏ, cây quách, cỏ tranh, bình bát nước. Đinh hương (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry) là một trong những loài thảo mộc có hàm lượng polyphenol nhiều nhất. Với dung môi ly trích là acetone 80%, Adefegha *et al.* (2012) đã xác định được hàm lượng polyphenol trong loài cây này là 55,19 mg GAE/g chiết xuất, kết quả này thấp hơn rất nhiều so với hàm lượng polyphenol có trong bốn loài thực vật trong thí nghiệm. Qua đó ta có thể khai thác một trong bốn loài cây trên và dùng dung môi ethanol sẽ ly trích được một lượng lớn các hợp chất thuộc nhóm polyphenol, mà không cần dùng đến nguồn nguyên liệu đắt tiền, quý hiếm như Đinh hương và dung môi acetone. Đồng thời bốn loài cây được khảo sát cũng chứa hàm lượng saponin tổng dao động từ 18,7 - 48,8 mg/g chiết xuất. Hàm lượng saponin giảm dần theo thứ tự, bình bát

nước, cây quách, cỏ tranh, trái nỏ. Tuy nhiên hàm lượng saponin trong bình bát nước, quách và cỏ tranh khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Nghiên cứu của Lee *et al.* (2015), rễ nhân sâm đỏ được sản xuất bằng phương pháp truyền thống từ nhân sâm tươi sáu năm tuổi tại Hàn Quốc, khi sử dụng dung môi nước để phân tích trên HPLC/UV (203 nm) có hàm lượng ginsenoside (Rb1, Rg1, Rg3) - là một nhóm chất thuộc nhóm saponin, có hàm lượng là 9,36 mg/g. So sánh với kết quả trong báo cáo này cho thấy hàm lượng saponin có trong bốn loài cây trên cao hơn nhiều so với nhân sâm. Kết quả này cũng cho thấy tiềm năng của saponin từ các loài cây bản địa vì đây là nguồn nguyên liệu dễ tìm, rẻ tiền nhưng lại có hàm lượng saponin cao hơn nhân sâm.

3.2. Khả năng kháng oxy hóa của cao chiết

Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng oxy hóa thông qua khả năng khử H₂O₂ và gốc tự do DPPH được trình bày trong Bảng 2. Trong thí nghiệm khử gốc tự do DPPH, phương trình đường chuẩn vitamin C là $y = 23,162x - 4,9876$; $R^2 = 0,9986$ và trong thử nghiệm H₂O₂ phương trình đường chuẩn vitamin C là $y = 0,4316x + 11,363$; $R^2 = 0,9859$.

Bảng 2. Giá trị IC₅₀ (µg/ml) của vitamin C và cao thô của bốn loài cây qua thử nghiệm khử gốc tự do DPPH, hydrogen peroxide

Loài thực vật	Giá trị IC ₅₀ (µg/ml)	
	Thử nghiệm với DPPH*	Thử nghiệm với hydrogen peroxide*
Bình bát	94,49 ± 0,18 ^b	98,29 ± 0,09 ^a
Cỏ tranh	96,44 ± 0,86 ^b	97,62 ± 0,49 ^a
Quách	234,15 ± 2,96 ^a	66,03 ± 1,76 ^c
Trái nỏ	37,64 ± 1,08 ^c	62,55 ± 0,69 ^d
Đối chứng (vitamin C)	6,75 ± 0,04 ^d	89,53 ± 0,14 ^b

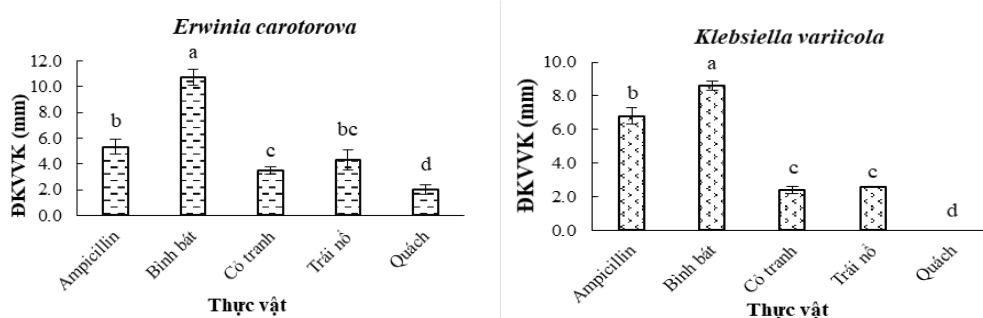
Ghi chú: Giá trị IC₅₀ (nồng độ ức chế 50%) là giá trị trung bình của ba lần lặp lại. Trong cùng một cột, các giá trị có ít nhất 1 chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5%; *: Qua kiểm định Tukey.

Các nghiệm thức cao chiết từ bốn loài thực vật khảo sát đều cho khả năng khử gốc tự do DPPH với giá trị IC_{50} trong khoảng từ 37,64 - 234,15 $\mu\text{g/ml}$ và khử gốc hydrogen peroxide với IC_{50} trong khoảng từ 62,55 - 98,29 $\mu\text{g/ml}$.

Khi so sánh khả năng khử gốc tự do DPPH, nghiệm thức cao chiết từ lá của cây trái nỏ cho khả năng khử gốc DPPH mạnh nhất ($IC_{50} = 37,64 \mu\text{g/ml}$), cao chiết từ lá quách cho hiệu lực khử yếu nhất ($IC_{50} = 234,15 \mu\text{g/ml}$). Trong thí nghiệm kháng oxy hóa bằng phản ứng khử gốc H_2O_2 , cao chiết từ lá trái nỏ cũng cho khả năng khử mạnh nhất ($IC_{50} = 62,55 \mu\text{g/ml}$) và yếu nhất ở bình bát nước. Khả năng khử gốc tự do H_2O_2 của cao chiết từ lá của bốn loài cây cũng tỷ lệ thuận với hàm lượng polyphenol chứa trong các nghiệm thức cao của các loài cây, do các chất trong polyphenol có nhóm chức hydroxyl, đây chính là thành

phần giúp loại bỏ các gốc tự do. Do đó, khi hàm lượng polyphenol tăng, hoạt tính chống oxy hóa cũng tăng (Saha *et al.*, 2016). Một báo cáo của 'da Silva' *et al.* (2005), với chiết xuất từ keo ong (propolis) cho thấy khả năng kháng oxy hóa tăng khi tăng hàm lượng polyphenol. Với trường hợp của cao chiết lá cây quách, tuy hàm lượng polyphenol cao (103,7 mg GAE/g chiết xuất) nhưng cho khả năng khử DPPH yếu nhất, nhưng lại cho thấy khả năng khử H_2O_2 mạnh. Theo Attarde *et al.* (2011) cho thấy trong cao chiết lá cây quách có chứa các hợp chất như triterpenoid, phenolic, quinone, tannin và flavonoid và saponin... do đó hoạt tính khử DPPH có thể là một nhóm nhỏ trong các nhóm trên. Vì vậy có thể các hợp chất thuộc nhóm polyphenol có trong cây quách có cấu trúc hóa học cho khả năng khử H_2O_2 dễ hơn so với khử gốc DPPH.

3.3. Khả năng kháng vi khuẩn của các loại cao chiết



Chú thích: ĐKVVK là đường kính vòng vô khuẩn.

Hình 1. Giá trị đường kính vòng vô khuẩn của bốn nghiệm thức cao chiết thực vật đối với *Erwinia carotorova* và *Klebsiella variicola* ở thời điểm 24 giờ

Kết quả khảo sát khả năng kháng khuẩn cho thấy tất cả các nghiệm thức cao chiết từ bốn loài thực vật đều cho khả năng ức chế vi khuẩn *E. carotorova* ở thời điểm 24 giờ với đường kính vòng vô khuẩn (ĐKVVK) dao động trong khoảng từ 2,0 - 10,7 mm. Đối với vi khuẩn

K. variicola, các nghiệm thức cao chiết của bốn loài cây cho khả năng ức chế với ĐKVVK dao động từ 2,4 - 8,6 mm. Cao chiết từ lá bình bát nước (*Annona glabra* L.) cho khả năng ức chế mạnh nhất đối với hai dòng vi khuẩn Gram âm thử nghiệm, ngoài ra cao chiết từ lá cây quách

(*Limonia acidissima* L.) không cho khả năng ức chế đối với vi khuẩn *K. variicola*. Theo nghiên cứu của Prasannabalaji *et al.* (2012) tiến hành thử nghiệm khả năng kháng *Klebsiella* sp. của chiết xuất lá khô *A. marmelos* (Rutaceae) ở nồng độ 50, 100, 200 mg/mL cả 3 nồng độ đều không cho khả năng kháng *Klebsiella* sp., cùng với kết quả nghiên cứu trong báo cáo này cho thấy có thể hầu hết các loài cây thuộc họ Rutaceae có khả năng ức chế yếu hoặc không ức chế vi khuẩn *Klebsiella* sp.

Các nghiệm thức cao chiết của các loài cây bình bát nước, cỏ tranh, trái nỏ và cây quách cũng cho thấy khả năng kháng khuẩn không tương quan với hàm lượng polyphenol và saponin tổng, nguyên nhân có thể do trong cao chiết ngoài polyphenol còn có các hợp chất khác có tính kháng khuẩn, tuy hàm lượng polyphenol tổng trong bình bát nước thấp nhưng ngoài nhóm polyphenol vẫn có thể có các hợp chất khác trong bình bát nước có khả năng kháng khuẩn. Theo Egydio-Brandão *et al.* (2017), trong cao chiết *Annona glabra* L. ngoài polyphenol còn chứa các hợp chất như carotenoid và alkaloid, hợp chất có hoạt tính sinh học được khám phá chủ yếu ở bình bát nước thuộc nhóm alkaloid, trong báo cáo cũng cho thấy alkaloid cũng có hoạt tính kháng khuẩn mạnh. Nghiên cứu Samy *et al.* (2015) đã định tính các hợp chất trong cao chiết lá trái nỏ, ngoài nhóm polyphenol còn có các hợp chất tannin, alkaloid và terpenoid. Theo Phan Thị Ngọc Ngà (2018) cao chiết từ lá cỏ tranh cũng chứa các hợp chất khác ngoài polyphenol như triterpenoid, tannin và alkaloid. Theo Cowan (1999) các hợp chất phenolic, alkaloid, tannin và terpenoid đều có hoạt tính kháng khuẩn theo những cơ chế tác động khác nhau

như tác động lên màng tế bào, DNA, protein... của vi khuẩn nhưng theo Dzidic *et al.* (2007) hàm lượng của chất kháng khuẩn và mục tiêu gắn kết của chất đó mà thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh hay yếu. Từ kết quả thí nghiệm cho thấy không thể hoàn toàn dựa vào hàm lượng tổng polyphenol hay saponin để kết luận một chỉ tiêu kháng vi sinh vật, bởi trong nhóm lớn như polyphenol hay saponin còn có nhiều phân nhóm nhỏ khác. Trong polyphenol có các nhóm hợp chất như flavonoid, tannin, quinone... Tùy vào từng loài cây tuy hàm lượng polyphenol tổng nhiều nhưng hợp chất có hoạt tính kháng khuẩn lại do một hợp chất chính như flavonoid hoặc tannin hoặc quinone... quyết định, có thể các hợp chất chính vừa đề cập có hàm lượng ít trong khi các hợp chất không có hoạt tính kháng khuẩn có hàm lượng nhiều, do đó khả năng kháng khuẩn chỉ tương quan với hàm lượng một nhóm chất mà có khả năng kháng khuẩn, tương tự với trong nghiên cứu của da Silva *et al.* (2005) cho thấy khả năng kháng khuẩn của chiết xuất keo ong tương quan với hàm lượng flavonoid.

IV. KẾT LUẬN

Các kết quả khảo sát cho thấy cao chiết từ lá của bốn loài cây: bình bát nước, cỏ tranh, quách và trái nỏ đều có hàm lượng polyphenol tổng và saponin tổng khá cao. Tuy nhiên, để có bằng chứng rõ hơn về từng hoạt tính sinh học cụ thể như khả năng kháng khuẩn hay khả năng kháng oxy hóa, ta cần tiến hành các nghiên cứu tiếp theo như dùng sắc kí để phân tách các hợp chất và khảo sát hoạt tính để có kết luận cụ thể về từng loài cây hoặc từng nhóm chất đóng góp vào hoạt tính và cơ chế như thế nào. Bốn loại cao chiết qua khảo sát sơ bộ

ở điều kiện in-vitro đều có khả năng kháng oxy hóa và tiềm năng ức chế các vi khuẩn gây bệnh thực vật. Qua đó góp phần nghiên cứu về hoạt tính sinh học của từng nhóm hợp chất tự nhiên để có thể ứng dụng vào nền nông nghiệp hữu cơ trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Adefegha, S. A., and Oboh, G, 2012. In vitro inhibition activity of polyphenol - rich extracts from *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. and Perry (Clove) buds against carbohydrate hydrolyzing enzymes linked to type 2 diabetes and Fe²⁺ - induced lipid peroxidation in rat pancreas. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(10): 774 - 781.
- Attarde, D. L., Chaudhari, B. J., and Bhambar, R. S, 2011. Phytochemical investigation and in vitro antioxidant activity of extracts from leaves of *Limonia acidissima* linn. (Rutaceae). *J Pharm Res*, 4(3): 766 - 768.
- Avato, P., Bucci, R., Tava, A., Vitali, C., Rosato, A., Bialy, Z., and Jurzysta, M, 2006. Antimicrobial activity of saponins from *Medicago* sp.: structure - activity relationship. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(6): 454 - 457.
- Bernards, M. A., Ivanov, D. A., Neculai, M. A., and Nicol, R. W, 2011. Ginsenosides: phytoanticipins or host recognition factors?. In *The biological activity of phytochemicals* (pp. 13 - 32). Springer, New York, NY.
- Blois, M. S, 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617): 1199.
- Cowan, M. M, 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4): 564 - 582.
- da Silva, J. F. M., de Souza, M. C., Matta, S. R., de Andrade, M. R., and Vidal, F. V. N, 2005. Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chemistry*, 99(3): 431 - 435.
- Daglia, M, 2011. Polyphenols as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*, 23(2): 174 - 181.
- Dzidic, S., Šušković, J., and Kos, B, 2007. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: biochemical and genetic aspects. *Food Technology & Biotechnology*, 46(1).
- Egydio - Brandão, A. P. M., Novaes, P., & Santos, D. Y. A. C, 2017. Alkaloids from *Annona*: Review from 2005 to 2016. *JSM Biochem. Mol. Biol.*, 4(3), 1031.
- Ghatak, A. 2017. Evolution and Adaptation in Phytopathosystems. In *The Phytopathogen* (pp. 3 - 20). Apple Academic Press.
- Hiai, S., Oura, H., and Nakajima, T, 1976. Color reaction of some saponin and saponins with vanillin and sulfuric acid. *Planta Medica*, 29(02), 116 - 122.
- Lee, S. M., Bae, B. S., Park, H. W., Ahn, N. G., Cho, B. G., Cho, Y. L., and Kwak, Y. S, 2015. Characterization of Korean Red Ginseng (*Panax ginseng* Meyer): history, preparation method, and chemical composition. *Journal of ginseng research*, 39(4): 384 - 391.
- Prasannabalaji, N., Muralitharan, G., Sivanandan, R. N., Kumaran, S., & Pugazhvendan, S. R, 2012. Antibacterial activities of some Indian traditional plant extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2, S291 - S295.
- Phan Thị Ngọc Ngà. 2018. Khảo sát hàm lượng polyphenol tổng, saponin và khả năng kháng oxy hóa của cao phân đoạn lá cỏ tranh (*Imperata cylindrica* (L.) Beauv.). Luận văn Tốt nghiệp Đại học. Đại học Cần Thơ, tr. 31.
- Saha, S., and Verma, R. J, 2016. Antioxidant activity of polyphenolic extract of *Terminalia chebula* Retzius fruits. *Journal of taibah university for science*, 10(6): 805 - 812.
- Samy, M. N., Khalil, H. E., Sugimoto, S., Matsunami, K., Otsuka, H., and Kamel, M. S, 2015. Biological studies on chemical constituents of *Ruellia patula* and *Ruellia tuberosa*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 4(1).
- Sharma, H. K., and Kumar, A, 2011. Evaluation of Total Phenol, Flavonoid and in vitro Antioxidant Activity of Methanolic Extract of Leaves of *Melastoma malabathricum* Linn. *Asian Journal of Chemistry*, 23(1): 434.
- Valgas, C., Souza, S. M. D., Smânia, E. F., and Smânia Jr, A, 2007. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38(2): 369 - 380.
- Yadav, R. N. S., and Agarwala, M, 2011. Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of phytology*.

ẢNH HƯỞNG CỦA NANO ĐẾN SỨC KHỎE HẠT GIỐNG VÀ BỆNH ĐẠO ÔN LÚA

Nguyễn Thị Thu Thủy¹, Nguyễn Thị Thanh Hải²
Trần Thái Hòa²

¹ Bộ môn Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế
² Khoa Hóa, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

ABSTRACT

The effect of nanoparticles on rice seed - health and blast disease

The current results of the effects of nanoparticles to rice seed health showed that the treated rice seeds with copper - zinc/chitosan oligosaccharide at 50 ppm improved significantly the germination rate, the length of radicle and plumule and reduced the germination time as compared with the control. In addition, the treated rice seeds with copper - zinc/COS have inhibited the fungal infection on seeds. Spraying copper - zinc/COS on rice plants at 45 and 65 days after sowing showed that to the infection of rice blast in the treated plants with nanoparticle is equivalent to treated plants with Beam 75WP. The current study is empirical evidence as the scientific basis for the application of Cu - Zn/COS as a technique to improve rice seed health and yield of crop.

Keywords: Nanoparticles, germination, yield, rice, rice blast.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong nông nghiệp, lúa (*Oryza sativa* L.) là cây lương thực quan trọng ở Châu Á, đồng thời cũng là nguồn thức ăn quan trọng của nhiều người dân trên thế giới (Khush, 2005). Việt Nam là một nước nông nghiệp với trên 75% dân số sống phụ thuộc chủ yếu vào nông nghiệp, vào lúa gạo và các sản phẩm từ lúa gạo. Trong suốt quá trình canh tác lúa luôn chịu ảnh hưởng bởi rất nhiều yếu tố như khí hậu, cỏ dại, bệnh hại, côn trùng, đặc biệt là sự gây hại của các mầm bệnh như nấm và vi khuẩn trên hạt lúa làm ảnh hưởng đến sức

khỏe của hạt (Ou, 1972). Khi hạt giống bị nhiễm bệnh do nấm gây ra có tỷ lệ nảy mầm thấp (khoảng 20 - 70%) và làm giảm năng suất lúa từ 1 - 10% (Savary *et al.*, 2000). Mầm bệnh kí sinh trên hạt lúa giống ảnh hưởng đến tỷ lệ nảy mầm, khả năng sinh trưởng, phát triển của cây lúa đồng thời liên quan chặt chẽ đến tình hình dịch bệnh sau khi gieo trồng (Cottyn *et al.*, 2001). Một số giải pháp thường được sử dụng để nâng cao hiệu suất nảy mầm và hạn chế nguồn bệnh là xử lý hạt giống với polyethylen glycol, muối vô cơ, chất dinh dưỡng, nước ấm và gần đây là các hạt nano. Công nghệ nano đang hướng tới sự phát triển như là một trong các ứng dụng chi phí thấp để cải thiện canh tác và

Người phân biên: PGS.TS. Nguyễn Vinh Trường.

tăng trưởng của thực vật. Việc ứng dụng công nghệ nano vào trong nông nghiệp đang mang đến một hiệu ứng đáng kể và mở ra một hướng nghiên cứu mới trong hệ thống nông nghiệp. Gần đây, một số dạng nano (AgNPs - nano bạc, AuNPs - nano vàng, CuNPs - nano đồng, ZnNPs - nano kẽm và nano carbon) đã được áp dụng như các tác nhân tiền xử lý hạt giống nhằm thúc đẩy khả năng nảy mầm, sinh trưởng và nâng cao khả năng chống chịu stress ở một số cây trồng (Malecka và cs., 2009). Xuất phát từ thực tiễn đó, chúng tôi thực hiện nghiên cứu đề tài “*Ảnh hưởng của nano đến sức khỏe hạt giống và bệnh đạo ôn hại lúa tại Thừa Thiên Huế*”.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Một số loại nano: COS (chitosan oligosaccharide); Cu/COS, Zn/COS, Cu-Zn/COS.

Thuốc trừ bệnh đạo ôn Beam 75WP.
Giống lúa HT1.

2.2. Địa điểm nghiên cứu

Thí nghiệm xác định ảnh hưởng đến tỷ lệ nảy mầm, tỷ lệ nhiễm bệnh của hạt được thực hiện tại phòng thí nghiệm của Bộ môn Bảo vệ thực vật, Khoa Nông học, Đại học Nông Lâm, Đại học Huế.

Thí nghiệm xác định ảnh hưởng của nano đến sự sinh trưởng, năng suất và tình hình bệnh hại của cây lúa được thực hiện tại Viện Nghiên cứu Phát triển, Trường Đại học Nông Lâm Huế.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp nghiên cứu ảnh

hưởng của nano đến tỷ lệ nảy mầm và tỷ lệ nhiễm bệnh

- *Bố trí thí nghiệm*: Hạt của giống lúa HT1 được cung cấp bởi Công ty Giống cây trồng Thừa Thiên Huế. Sử dụng 2 kg hạt giống ngâm ngập trong nước ấm (khoảng 40 - 45°C, tương ứng 3 sôi, 2 lạnh). Ngâm trong thời gian 30 - 36 giờ. Trong thời gian ngâm cần thay nước, đồng thời loại bỏ các hạt lửng, hạt lép. Sau khi giống được ngâm no nước, tiến hành đãi sạch rồi xử lý với nano: Cân 200 g hạt giống cho mỗi công thức, ngâm hạt giống trong các dung dịch nano và nước cất trong 3 giờ; Sau khi ngâm với dung dịch nano, hạt lúa được vớt ra và đem ủ kín. Thời gian ủ 48 giờ, định kì đảo đều hạt giống trong quá trình ủ để hạt lên đều. Đến khi chồi mầm đạt chiều dài 1/3 hạt thóc, rễ mầm đạt 1/2 chiều dài hạt thóc thì đem làm các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 1. Công thức thí nghiệm

Công thức	Nano	Nồng độ xử lý (ppm)
CT1	COS	50
CT2	COS	100
CT3	Cu/COS	50
CT4	Cu/COS	100
CT5	Zn/COS	50
CT6	Zn/COS	100
CT7	Cu-Zn/COS	50
CT8	Cu-Zn/COS	100
CT9	Nước cất	0

- *Chỉ tiêu nghiên cứu*:

+ Tỷ lệ nảy mầm trung bình: Được xác định theo Scott, 1984 có cải biến bằng cách lấy ngẫu nhiên 100 hạt, đếm số hạt nảy mầm đạt yêu cầu ở thời điểm 48 giờ (kể từ khi ủ) và được tính theo công thức.

$$GP (\%) = A/A+B *100$$

Trong đó: GP là tỷ lệ nảy mầm trung bình; A là số hạt nảy mầm đạt yêu cầu; B là số hạt còn lại (không đạt + không nảy mầm).

+ Thời gian nảy mầm: Được xác định theo phương pháp của Roberts và Eliss, 1981, có cải tiến bởi Ranal và Santana, 2006.

+ Rễ mầm và chồi mầm: Lấy ngẫu nhiên 50 hạt giống nảy mầm (đã xử lý nano) ở thời điểm 48 giờ sau khi ủ, tiến hành đo chính xác chiều dài rễ mầm (mm) và chồi mầm (mm).

+ Xác định khả năng ức chế nấm gây bệnh trên hạt giống của nano: Đĩa petri, giấy thấm và nước cất được khử trùng; thấm ướt hoàn toàn 2 - 3 tờ giấy thấm với nước cất và đặt vào đĩa petri; Lấy ngẫu nhiên 75 hạt giống của mỗi công thức xử lý nano và công thức không xử lý nano đặt vào 3 đĩa petri, mỗi đĩa 25 hạt; ủ ở nhiệt độ 25°C với chu kỳ 12 giờ sáng xen kẽ 12

giờ tối dưới ánh sáng đèn. Sau 6 - 8 ngày, hạt được quan sát dưới kính hiển vi nhìn nổi để xác định những hạt bị nhiễm nấm. (International Seed Testing Association, 1993). So sánh tỷ lệ nhiễm nấm của hạt giống không xử lý nano và hạt giống được xử lý nano để xác định hiệu quả ức chế nhiễm nấm của nano.

2.3.2. Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của nano đến sinh trưởng, năng suất và tình hình bệnh hại trên cây lúa

- *Bố trí thí nghiệm:* Chọn 1 công thức có hiệu quả cao nhất ở thí nghiệm 1, để tiếp tục thực hiện thí nghiệm tiếp theo. Thí nghiệm gồm 5 công thức, bố trí theo khối hoàn toàn ngẫu nhiên, 3 lần nhắc lại, mỗi công thức 50 m², tổng diện tích thí nghiệm là 1000 m². Sử dụng 4 kg hạt giống HT1 xử lý nano Cu-Zn/COS như ở thí nghiệm 1 để gieo ở CT1 và CT2. Sử dụng 6 kg hạt giống không xử lý nano để gieo ở CT3, CT4, CT5 và hàng bảo vệ.

Bảng 2. Công thức thí nghiệm

Công thức	Nội dung
CT1	Xử lí hạt giống với nano, phun nano 1 lần (45 ngày sau gieo)
CT2	Xử lí hạt giống với nano, phun nano 2 lần (45 ngày và 65 ngày sau gieo)
CT3	Xử lý thuốc Beam 75WP 1 lần (45 ngày sau gieo)
CT4	Xử lý thuốc Beam 75WP 2 lần (45 ngày và 65 ngày sau gieo)
CT5	Đối chứng (không xử lý nano và thuốc trừ bệnh)

- *Chỉ tiêu điều tra:*

+ Sự sinh trưởng, phát triển và năng suất của các giống lúa được đánh giá theo Quy chuẩn QCVN 01-55: 2011/BNNPTNT.

+ Các chỉ tiêu về bệnh đạo ôn được đánh giá theo Quy chuẩn Kỹ thuật Quốc gia về phương pháp điều tra phát hiện dịch hại lúa của Bộ Nông nghiệp và

Phát triển Nông thôn QCVN 01-166:2014/BNNPTNT.

2.3.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được phân tích phương sai một nhân tố bằng phần mềm Microsoft excel và Statistix 10.0.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nano đến sự nảy mầm và sự nhiễm nấm của hạt giống

Hạt giống được xử lý trong giai đoạn nảy mầm bằng cách ngâm ủ như đã trình bày ở phần phương pháp. Kết quả thu được trình bày ở Bảng 3 cho thấy, ở việc xử lý các loại nano ở giai đoạn ngâm ủ hạt giống tác động tích cực tới các chỉ số: tỷ lệ nảy mầm, thời gian nảy mầm trung bình, chiều dài rễ mầm và chiều dài chồi mầm. Tỷ lệ nảy mầm của các công thức giao động từ 91,89 - 98,75%, trong đó công thức 7 (nano Cu-Zn/COS 50 ppm) có tỷ lệ nảy mầm cao nhất, như vậy nano Cu-Zn/COS đã thúc đẩy nhanh quá trình nảy mầm của hạt. Tiếp đến là các công thức CT2, CT4, CT5 và CT8 có tỷ lệ nảy mầm cao hơn công thức đối chứng nhưng thấp hơn CT7

với sự sai khác có ý nghĩa thống kê. Công thức 1, 3 và 6 có tỷ lệ nảy mầm thấp hơn các công thức còn lại nhưng cao hơn công thức đối chứng. Như vậy hầu như tất cả các công thức sử dụng nano đều có tỷ lệ nảy mầm cao hơn công thức đối chứng và công thức phun nano Cu-Zn/COS 50ppm cho tỷ lệ nảy mầm cao nhất.

Xử lý nano cũng ảnh hưởng đến thời gian nảy mầm của hạt. Thời gian nảy mầm giao động từ 1,37 - 1,57 ngày, trong đó CT7 và CT8 có thời gian nảy mầm thấp nhất, CT2 có thời gian nảy mầm cao nhất. Như vậy, xử lý nano Cu-Zn/COS 50 và 100 ppm còn giúp đẩy nhanh quá trình nảy mầm với thời gian nảy mầm trung bình được rút ngắn lại với 1,37 ngày so với 1,57 và 1,53 ngày ở CT2 và công thức đối chứng.

Bảng 3. Ảnh hưởng của một số nano đến sức khỏe hạt giống lúa

Công thức	Tỷ lệ nảy mầm (%)	Thời gian nảy mầm (ngày)	Chiều dài rễ mầm (mm)	Chiều dài chồi mầm (mm)	Mức độ nhiễm nấm (%)
CT1	94,26 ^c ± 0,46	1,47 ^{abc} ± 0,04	10,58 ^b ± 0,29	4,78 ^{bc} ± 0,30	12,33 ^c ± 0,44
CT2	96,49 ^b ± 0,55	1,57 ^a ± 0,11	10,74 ^{ab} ± 0,39	4,95 ^{abc} ± 0,32	11,67 ^{cd} ± 0,44
CT3	92,80 ^{de} ± 0,21	1,47 ^{abc} ± 0,04	10,91 ^{ab} ± 0,32	4,64 ^c ± 0,08	11,33 ^{cd} ± 1,11
CT4	96,51 ^b ± 0,48	1,47 ^{abc} ± 0,11	10,70 ^{ab} ± 0,36	4,94 ^{abc} ± 0,19	10,33 ^{de} ± 0,44
CT5	95,79 ^b ± 0,24	1,40 ^{bc} ± 0,06	10,79 ^{ab} ± 0,36	5,1 ^{ab} ± 0,16	17,33 ^b ± 0,44
CT6	93,55 ^{cd} ± 0,63	1,50 ^{abc} ± 0,06	10,94 ^{ab} ± 0,59	5,14 ^{ab} ± 0,11	16,00 ^b ± 0,67
CT 7	98,75 ^a ± 0,42	1,37 ^c ± 0,04	11,42 ^a ± 0,13	5,19 ^a ± 0,04	10,67 ^{de} ± 0,44
CT 8	95,63 ^b ± 0,43	1,37 ^c ± 0,04	10,99 ^{ab} ± 0,37	5,22 ^a ± 0,07	9,33 ^e ± 0,44
CT 9 (Đ/C)	91,89 ^e ± 0,44	1,53 ^{ab} ± 0,04	9,65 ^c ± 0,21	4,03 ^d ± 0,18	24,00 ^a ± 0,67

Ghi chú: Các giá trị trung bình theo cột có các chữ cái in thường khác nhau sai khác ở $p \leq 0,05$.

Chiều dài rễ mầm của các công thức khác nhau là không giống nhau, trong đó các công thức xử lý nano có chiều dài rễ mầm cao hơn công thức đối chứng với sự sai khác có ý nghĩa thống kê. Công thức có chiều dài rễ mầm lớn nhất là CT7 (xử lý nano Cu-Zn/COS). Kích thước chồi mầm

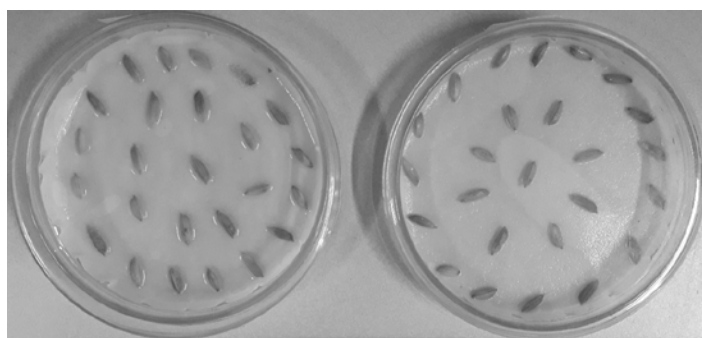
giao động từ 4,03 - 5,22 mm, trong đó CT7 và CT8 có chiều dài chồi mầm lớn nhất, tiếp đến là các công thức 2, 4, 5 và 6. Hai công thức 1 và 3 có chiều dài mầm cao hơn công thức đối chứng, nhưng thấp hơn các công thức còn lại với sự sai khác có ý nghĩa thống kê. Công thức đối chứng có chiều dài

chồi mầm thấp nhất, chỉ đạt 4,03 mm. Một nghiên cứu của Nguyễn Quang Hoàng Vũ và Hoàng Thị Kim Hồng, 2018 cho biết, sử dụng nano bạc 40 ppm để xử lý hạt giống Đai Thơm 8 đã làm tăng tỷ lệ nảy mầm của hạt và rút ngắn thời gian so với đối chứng.

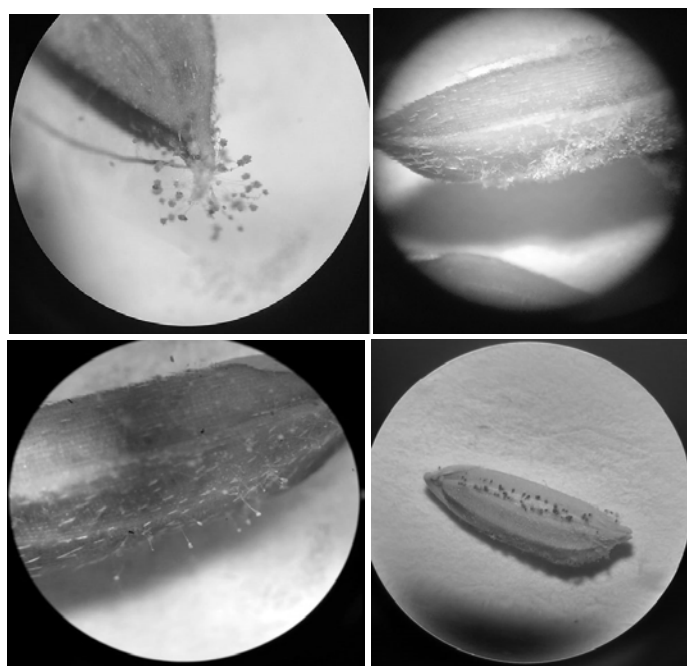
Tỷ lệ nhiễm nấm của các công thức giao động từ 9,33 - 24,0%, các công thức 4, 7 và 8 có tỷ lệ nhiễm nấm thấp nhất, thấp hơn tất cả các công thức còn lại với sự sai khác có ý nghĩa thống kê. Công thức đối chứng có tỷ lệ nhiễm nấm cao

nhất, tiếp đến là hai công thức 5 và 6 có tỷ lệ nhiễm nấm thấp hơn công thức đối chứng, nhưng cao hơn các công thức còn lại với sự sai khác có ý nghĩa thống kê.

Như vậy, qua kết quả cho thấy công thức xử lý nano Cu-Zn/COS 50 ppm cho tỷ lệ nảy mầm, chiều dài rễ mầm và chiều dài chồi mầm cao nhất, đồng thời hạn chế được sự nhiễm nấm của hạt tốt nhất. Vì vậy, chúng tôi chọn nano Cu-Zn/COS 50 ppm để tiếp tục thí nghiệm ngoài đồng ruộng.



Hình 1. Kiểm tra tỷ lệ nhiễm nấm trên hạt



Hình 2. Hạt giống lúa bị nhiễm nấm

3.2. Ảnh hưởng của nano đến sự sinh trưởng, năng suất và bệnh đạo ôn hại lúa

3.2.1. Ảnh hưởng của nano đến sinh trưởng cây lúa

Nhằm đánh giá sự sinh trưởng của các công thức thí nghiệm, chúng tôi đã đánh giá một số chỉ tiêu: chiều cao cây cuối cùng, số nhánh hữu hiệu. Kết quả nghiên cứu được trình bày ở Bảng 4.

Chiều cao cây cuối cùng: Kết quả nghiên cứu ở Bảng 4 cho thấy: Các công thức thí nghiệm có chiều cao cây trung bình dao động từ 89,23 cm đến 89,89 cm.

Nhìn chung, chiều cao cây của các công thức thí nghiệm không có sự sai khác.

Số nhánh hữu hiệu: Số nhánh hữu hiệu là một trong những chỉ tiêu sinh trưởng quyết định số lượng bông trên một khóm lúa. Kết quả đánh giá số nhánh hữu hiệu của các dòng lúa được thể hiện qua bảng 4 cho thấy: Số nhánh hữu hiệu của các công thức thí nghiệm giao động 2,51 - 2,72 nhánh. Nhìn chung, các công thức thí nghiệm có số nhánh hữu hiệu tương đương nhau.

Bảng 4. Ảnh hưởng nano đến sinh trưởng cây lúa

Công thức	Chiều cao cây cuối cùng (cm)	Tổng số nhánh (nhánh)	Số nhánh hữu hiệu (nhánh)	Tỷ lệ nhánh hữu hiệu (%)
CT1	89,50 ^a	3,31 ^a	2,65 ^a	80,06
CT2	89,58 ^a	3,36 ^a	2,72 ^a	82,02
CT3	89,89 ^a	3,28 ^a	2,62 ^a	79,87
CT4	89,45 ^a	3,38 ^a	2,65 ^a	82,40
CT5	89,23 ^a	3,25 ^a	2,51 ^a	77,23

Ghi chú: Các giá trị trung bình chiều cao cây, tổng số nhánh, số nhánh hữu hiệu theo cột có các chữ cái in thường khác nhau sai khác ở $P \leq 0,05$.

3.2.2. Ảnh hưởng của nano đến bệnh đạo ôn hại lúa

Kết quả điều tra tỷ lệ bệnh đạo ôn của các công thức thí nghiệm trước và sau phun thuốc được trình bày ở Bảng 5, qua kết quả chúng tôi nhận thấy:

Phun nano và thuốc hóa học lần 1 ở 45 ngày sau gieo: Trước khi phun 1 ngày, tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh ở các công thức có sự chênh lệch không đáng kể, không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê. 5 ngày sau phun, các công thức phun nano và thuốc hóa học có tỷ lệ bệnh giao động từ 15,07 - 15,20% thấp hơn công thức đối chứng (25,21%) ở mức sai khác có ý nghĩa thống kê. 7 và 14 ngày sau phun, tỷ

lệ bệnh của các công thức phun nano và thuốc hóa học có giảm hơn so với 5 ngày sau phun, riêng công thức đối chứng tỷ lệ bệnh tăng lên, và đạt cao ở 14 ngày sau phun (36,87%). Điều này cho thấy nano và thuốc hóa học có hiệu lực cao trong hạn chế bệnh đạo ôn hại lúa, tuy nhiên đến 14 ngày sau phun tỷ lệ bệnh đạo ôn trên các công thức có xu hướng giữ nguyên hoặc tăng nhẹ trở lại, chính vì vậy chúng tôi tiếp tục phun nano lần 2 trên một số công thức ở giai đoạn 65 ngày sau gieo.

Phun nano và thuốc lần 2: Công thức 2 và 4 phun nano và thuốc lần 2 nên tỷ lệ bệnh giảm và đạt thấp nhất ở 5 ngày sau phun (11,60 - 12,05%), công thức 1 và 3

không phun nano và thuốc nên tỷ lệ bệnh tăng lên đạt 15,53 và 15,87%, cao hơn công thức 2 và 4 ở mức sai khác có ý nghĩa thống kê. Riêng công thức đối chứng tỷ lệ bệnh tiếp tục tăng theo các kỳ điều tra, cao hơn rất nhiều so với các công thức thí nghiệm. Sau phun 7 và 14 ngày, tỷ lệ bệnh của công thức 2 và 4 tỷ lệ bệnh có xu hướng không tăng mà có sự giảm nhẹ, đạt thấp nhất ở 21 ngày sau phun lần lượt là 9,23 và 10,05%. Công thức 1 và công thức 3 chỉ phun nano và thuốc 1 lần

ở thời điểm 7, 14 và 21 ngày sau phun lần 2 tỷ lệ bệnh đạo ôn tăng lên, đạt cao nhất lần lượt là 21,21 và 22,19% ở 21 ngày sau phun thuốc lần 2. Ở công thức đối chứng, bệnh đạo ôn tiếp tục tăng cho đến khi điều tra cuối cùng 21 ngày sau phun lần 2 với tỷ lệ bệnh là 56,34%. Nhìn chung, phun nano Cu-Zn/COS 50 ppm và phun thuốc hóa học Beam 75WP 2 lần ở thời điểm 45 và 65 ngày sau gieo có khả năng hạn chế bệnh đạo ôn cao nhất.

Bảng 5. Ảnh hưởng nano đến tỷ lệ bệnh đạo ôn lá cây lúa

Ngày sau phun	Tỷ lệ bệnh (%)				
	CT1	CT2	CT3	CT4	CT5 (Đ/C)
1NTPL1	15,34 ^a	16,32 ^a	15,82 ^a	16,03 ^a	15,92 ^a
5 NSPL1	15,16 ^b	15,20 ^b	15,07 ^b	15,12 ^b	25,21 ^a
7NSPL1	14,26 ^b	14,07 ^b	14,40 ^b	14,17 ^b	30,43 ^a
14NSPL1	14,03 ^b	14,73 ^b	14,13 ^b	14,02 ^b	36,87 ^a
5NSPL2	15,53 ^b	11,60 ^c	15,87 ^b	12,05 ^c	41,23 ^a
7NSPL2	17,84 ^b	10,43 ^c	17,69 ^b	11,02 ^c	47,23 ^a
14NSPL2	19,48 ^b	9,87 ^c	20,03 ^b	10,18 ^c	51,26 ^a
21NSPL2	21,21 ^b	9,23 ^c	22,19 ^b	10,05 ^c	56,34 ^c

Ghi chú: Các giá trị trung bình tỷ lệ bệnh theo hàng có các chữ cái in thường khác nhau sai khác ở $p \leq 0,05$.

Chỉ số bệnh của các công thức thí nghiệm được trình bày ở Bảng 6. Qua Bảng 4 chúng tôi nhận thấy: Chỉ số bệnh ở các công thức trước phun thuốc lần 1 có sự chênh lệch không đáng kể, không có sự

sai khác có ý nghĩa thống kê. Ở 5, 7 và 14 ngày sau phun, các công thức phun nano và thuốc hóa học có tỷ lệ bệnh thấp hơn công thức đối chứng ở mức sai khác có ý nghĩa thống kê.

Bảng 6. Ảnh hưởng nano đến chỉ số bệnh đạo ôn lá cây lúa

Ngày sau phun	Chỉ số bệnh (%)				
	CT1	CT2	CT3	CT4	CT5 (Đ/C)
1NTPL1	3,36 ^a	3,41 ^a	3,51 ^a	3,28 ^a	3,73 ^a
5NSPL1	3,14 ^b	3,01 ^b	3,25 ^b	3,15 ^b	4,34 ^a
7NSPL1	3,08 ^b	2,91 ^b	2,94 ^b	2,98 ^b	4,97 ^a
14NSPL1	2,94 ^b	2,83 ^b	2,91 ^b	2,87 ^b	5,53 ^a
5NSPL2	3,76 ^b	2,81 ^c	3,98 ^b	2,91 ^c	6,87 ^a
7NSPL2	4,03 ^b	2,76 ^c	4,24 ^b	2,86 ^c	7,59 ^a
14NSPL2	4,93 ^b	2,76 ^c	4,89 ^b	2,81 ^c	8,93 ^a
21NSPL2	5,79	2,56	5,48 ^b	2,73	9,14 ^a

Ghi chú: Các giá trị trung bình chỉ số bệnh theo hàng có các chữ cái in thường khác nhau sai khác ở $p \leq 0,05$.

Sau phun thuốc lần 2, công thức 2 và 4 có chỉ số bệnh tiếp tục giảm và đạt thấp, công thức 1 và 3 không phun nano và thuốc hóa học lần 2 nên chỉ số bệnh tăng lên đạt 15,53 và 15,87%, cao hơn công thức 2 và 4 ở mức sai khác có ý nghĩa thống kê. Riêng công thức đối chứng chỉ số bệnh tiếp tục tăng theo các kỳ điều tra, cao hơn rất nhiều so với các công thức thí nghiệm. Nhìn chung, phun nano Cu-Zn/COS 50 ppm và phun thuốc hóa học Beam 75WP 2 lần ở thời điểm 45 và 65 ngày sau gieo có khả năng hạn chế bệnh đạo ôn tốt nhất.

3.2.3. Ảnh hưởng của nano đến năng suất cây lúa

Năng suất lúa được tạo thành bởi 4 yếu tố: số bông trên đơn vị diện tích, số hạt trên bông, tỷ lệ hạt chắc và trọng lượng 1000 hạt (Nguyễn Ngọc Đệ, 2009). Kết quả theo dõi một số chỉ tiêu cấu thành năng suất của các dòng lúa nghiên cứu được trình bày ở Bảng 7.

Số bông/m²: Trong các yếu tố cấu thành năng suất thì số bông/m² là yếu tố có liên quan chặt tới năng suất và được quyết định bởi số nhánh hữu hiệu. Số bông/m² của các công thức thí nghiệm biến động từ 331,39 đến 337,0 bông, không có sự sai khác về số bông/m² của các công thức thí nghiệm.

Số hạt chắc/bông: Từ kết quả thu được ở bảng 5 cho thấy: số hạt chắc trên bông dao động từ 104,00 - 116,04 hạt,

trong đó 2 công thức phun nano và thuốc hoá học 2 lần vào giai đoạn 45 ngày và 65 ngày sau gieo để phòng trừ bệnh có số hạt chắc trên bông cao hơn công thức đối chứng và các công thức còn lại ở mức sai khác có ý nghĩa.

Trọng lượng 1000 hạt: Kết quả ở Bảng 7 cho thấy: Trọng lượng 1000 hạt của các công thức thí nghiệm không có sự sai khác, giao động trong khoảng 21,36 - 21,53 g.

Năng suất lý thuyết: Năng suất lý thuyết của các công thức thí nghiệm dao động từ 71,79 đến 83,41 tạ/ha trong đó công thức phun nano và phun thuốc hóa học 2 lần/vụ cho năng suất lý thuyết cao hơn công thức đối chứng và các công thức còn lại.

Năng suất thực thu: Năng suất thực thu của các công thức thí nghiệm dao động từ 60,24 đến 67,96 tạ/ha, trong đó công thức phun nano Cu-Zn/COS và thuốc Beam 75WP 2 lần/vụ đạt năng suất thực thu tương đương nhau là 66,14 tạ/ha và 67,96 tạ/ha, cao hơn các công thức đối chứng và các công thức còn lại ở mức sai khác có ý nghĩa thống kê. Nguyên nhân là do công thức đối chứng và công thức phun thuốc hóa học và phun nano 1 lần/vụ bị nhiễm bệnh đạo ôn nặng hơn công thức phun nano và công thức phun thuốc hoá học 2 lần/vụ; đồng thời các công thức này có số hạt chắc/bông thấp hơn công thức phun nano Cu-Zn/COS và Beam 75 WP 2 lần/vụ.

Bảng 7. Ảnh hưởng của nano đến yếu tố cấu thành năng suất và năng suất cây lúa

Công thức	Số bông/m ²	Số hạt chắc/bông	P1000 hạt (g)	NSLT (tạ/ha)	NSTT (tạ/ha)
CT1	335,00 ^a	105,10 ^a	21,53 ^a	75,80 ^a	62,23 ^a
CT2	337,00 ^a	115,23 ^b	21,48 ^a	83,41 ^b	66,14 ^b
CT3	331,33 ^a	104,00 ^a	21,45 ^a	73,91 ^a	61,07 ^a
CT4	334,13 ^a	116,04 ^b	21,50 ^a	83,36 ^b	67,96 ^b
CT5 (đ/c)	331,39 ^a	101,43 ^a	21,36 ^a	71,79 ^a	60,24 ^a

Ghi chú: Các giá trị trung bình theo cột có các chữ cái in thường khác nhau sai khác ở $p \leq 0,05$

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

- Xử lí hạt giống lúa với nano đồng - kẽm/chitosan oligosaccharide 50 ppm đã làm tăng tỷ lệ nảy mầm, rút ngắn thời gian nảy mầm và làm giảm tỷ lệ nhiễm nấm trên hạt.

- Phun nano đồng - kẽm/chitosan oligosaccharide cho cây lúa ở thời điểm 45 và 65 ngày sau gieo có khả năng ức chế bệnh đạo ôn tương đương với thuốc hóa học Beam 75WP và làm tăng số hạt chắc/bông và năng suất thực thu của giống lúa HT1.

4.2. Kiến nghị

Thử nghiệm nano đồng - kẽm/chitosan oligosaccharide trên cây lúa ở một số vùng sinh thái khác để có kết luận chính xác hơn trong việc sử dụng nano trong sản xuất lúa ở Thừa Thiên Huế nhằm nâng cao hiệu suất cây trồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cottyn, B., Cerez, M.T. and Mew, T.W., 1994. Chapter 7 bacteria. In: Mew, T.W., Misra, J.K. (Eds.). A manual of rice seed health testing. IRRI. Philippines, pp. 30 - 42.

2. Khush, G.S., 2005. What it will take to feed 5.0 billion rice consumers in 2030. *Plant Molecular Biology*, 59(1): 1 - 6.

3. Malecka A., Piechalak A., Tomaszewska B. (2009). Reactive oxygen species production and antioxidative defense system in pea root tissues treated with lead ions: the whole roots level, *Acta Physiologiae Plantarum*, 31, 1053 - 1063.

4. Nguyễn Quang Hoàng Vũ và Hoàng Thị Kim Hồng, 2018. Ảnh hưởng của nano bạc lên khả năng nảy mầm và một số chỉ tiêu hóa sinh của hạt giống lúa Đài Thơm 8, *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học Tự nhiên*; ISSN 1859-1388. Tập 127, Số 1C, 2018, Tr. 181-191; DOI: 10.26459/hueuni-jns.v127i1C.4921

5. Ou, S.H., 1972. *Rice disease*. Commonwealth mycological institute. England, 368 pages.

6. Savary, S., Willocquet, L., Elazegui, F.A., Castilla, N.P. and Teng, P.S., 2000. Rice pest constraints in tropical Asia: Quantification of yield losses due to rice pests in a range of production situations. *Plant disease*, 84(3): 357 - 369.

7. Ranal M. A., Santana D. G. 2006. How and why to measure the germination process? *Brazilian Journal of Botany*, 29, 1 - 11.

8. Roberts E. H., Ellis R. A. 1981. The Quantification of Ageing and Survival in Orthodox Seeds, *Seed Science and Technology*, 9, 373 - 409.

9. Scott S., Jones, R., Williams, W. 1984. Review of data analysis methods for seed germination, *Crop Science*, 24, 1192 - 1199.

* **Lời cảm ơn:** Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 104.06 - 2017.311

HIỆU QUẢ CỦA HỖN HỢP THỰC KHUẨN THỂ KẾT HỢP VỚI CHẤT BẢO VỆ TRONG PHÒNG TRỊ BỆNH THỐI HẠT TRÊN LÚA DO VI KHUẨN *Burkholderia glumae* Ở ĐIỀU KIỆN NGOÀI ĐỒNG

Đoàn Thị Kiều Tiên¹, Nguyễn Duy Hoàng¹
Nguyễn Minh Sang¹, Kaeko Kamei²
Trần Thị Thu Thủy¹ và Nguyễn Thị Thu Nga¹

¹ Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ
² Viện Công nghệ Kyoto, Nhật Bản

ABSTRACT

The efficacy of phage cocktail with additives in controlling bacterial grain rot caused by *Burkholderia glumae* on rice in the field conditions

The aim of the study is to evaluate the effect of phage cocktail or phage cocktail plus soya flour 0.125% to prevent bacterial grain rot in the field conditions. The experiment was randomized in completely block design and included four treatments i.e phage cocktail (consisted 3 phages i.e Φ BurAG58, Φ BurVL34 and Φ BurDT47a), phage cocktail plus soya flour 0.125%, Starner 20WP, and untreated control. The results showed that all phage treatment expressed significantly lower percentage of infected grain rot and AUDPC than Starner 20WP treatment and untreated control; and disease reduction ability of these treatments over 50%. In addition, the actual yield of phage mixture plus soya flour 0.125% was significantly higher than the two treatments (Starner 20WP and untreated control).

Keywords: Phage cocktail, bacterial, *Burkholderia glumae*.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thực khuẩn thể (hay còn gọi là phage) là virus kí sinh chuyên tính tế bào vi khuẩn kí chủ và tiêu diệt tế bào kí chủ trong quá trình sinh trưởng của chúng (Adams, 1959; Kutter and Sulakvelidze, 2004; Balogh *et al.*, 2010; Nilsson, 2014). Ngày nay, thực khuẩn thể được biết đến là một trong những tác nhân phòng trị sinh học bệnh cây trồng do vi khuẩn gây ra

(Balogh *et al.*, 2010; Doss *et al.*, 2017). Đã có rất nhiều thành công trong việc sử dụng thực khuẩn thể trong phòng trị bệnh cây như bệnh héo xanh do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* (Fujiwara *et al.*, 2011, An *et al.*, 2017), bệnh cháy bìa lá do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Chae *et al.*, 2014), bệnh thối nhũn do vi khuẩn *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Lim *et al.*, 2013), bệnh thối và cháy cây con trên lúa, bệnh thối cây con do vi khuẩn *Burkholderia* (Adachi *et al.*, 2012). Tuy nhiên, trong

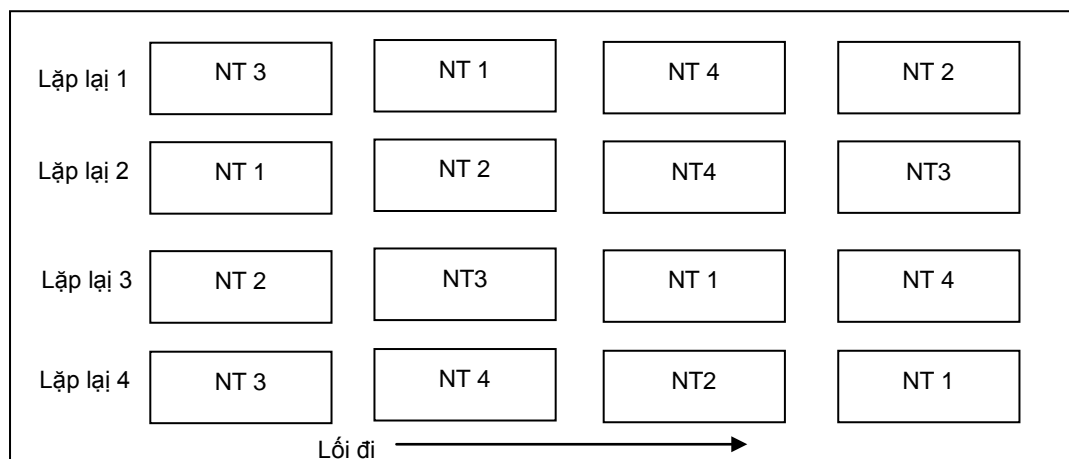
Người phân biên: PGS.TS. Trần Vũ Phấn

Thực tế việc ứng dụng thực khuẩn thể để phòng trị bệnh vi khuẩn trên tán lá cây gặp một số giới hạn làm thực khuẩn thể không thể phát huy tác dụng hoàn toàn như môi trường khô hạn, ánh sáng. Đặc biệt là tia UV là yếu tố rất quan trọng sẽ làm bất hoạt thực khuẩn thể trên bề mặt tán lá cây. Trong nghiên cứu trước của Đoàn Thị Kiều Tiên và ctv., (2018) đã sử dụng các loại bột như bột bắp, bột đậu nành, bột cà rốt với nồng độ 0,5% kết hợp thực khuẩn thể phòng trị bệnh thối hạt lúa do vi khuẩn *Burkholderia glumae*. Trong đó, bột đậu nành 0,5% có hiệu quả phòng trị bệnh thối hạt lúa vượt trội trong điều kiện nhà lưới. Vì vậy, trên cơ sở đó nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả hỗn hợp thực khuẩn thể kết hợp bột đậu nành ở điều kiện ngoài đồng nhằm hướng đến việc áp dụng thực khuẩn thể mang lại hiệu quả cao, góp phần giảm việc sử dụng thuốc thuốc hóa học trong canh tác nông nghiệp hiện nay.

II. PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thí nghiệm được thực hiện ngoài đồng tại ruộng lúa có diện tích 1000 m² trên giống lúa IR50404. Diện tích mỗi lô thí nghiệm là 38,5 m² (7 m × 5,5 m) và mỗi lô cách nhau một khoảng không gian là 0,5 m. Thí nghiệm được bố trí theo khối hoàn toàn ngẫu nhiên một nhân tố (Hình 1) với 4 nghiệm thức và 4 lần lặp lại:

- (1) Hỗn hợp TKT (ΦBurAG58, ΦBurVL34, ΦBurDT47a, 10⁸pfu/ml).
- (2) Hỗn hợp TKT (ΦBurAG58, ΦBurVL34, ΦBurDT47a, 10⁸pfu/ml) + bột đậu nành (BĐN) 0,125%.
- (3) Xử lý thuốc hóa học Starner 20WP.
- (4) Đối chứng (không xử lý phòng trừ nhưng có lây bệnh).



Hình 1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm ngoài đồng vụ Đông Xuân 2018 - 2019

Chuẩn bị thực khuẩn thể: Các dòng TKT được nuôi cấy trên môi trường King's B 0,8% trong 24 giờ, sau đó thu

lấy huyền phù và pha loãng để xác định mật số. Tiếp theo, sử dụng phương pháp pha loãng để điều chỉnh mật số thực

khuẩn thể đạt mật số TKT sử dụng trong thí nghiệm (Hỗn hợp TKT: 10^8 pfu/ml, tỷ lệ 1:1:1).

Chuẩn bị vi khuẩn: Vi khuẩn *Burkholderia glumae* DT46 được nuôi cấy trong môi trường King' B agar 2% trong 48 giờ, sau đó thu lấy huyền phù vi khuẩn bằng nước muối sinh lý 0,9%. Xác định mật số vi khuẩn trong huyền phù bằng phương pháp đo độ quang truyền ở bước sóng 600 nm ($OD_{600nm} = 0,3$, mật số 9×10^8 cfu/ml).

Cách tiến hành: Thực hiện phun TKT chỉ một lần duy nhất vào các lô thí nghiệm tương ứng các nghiệm thức lúc

chiều mát vào giai đoạn cây lúa trở đều. Sau đó 1 giờ, bắt đầu phun vi khuẩn cho tất cả các lô thí nghiệm. Đến thời điểm 3 NSKLB bệnh bắt đầu xuất hiện phun thuốc Starner 20WP (2,5 g/l) ở nghiệm thức xử lý thuốc.

Ghi nhận chỉ tiêu: Ghi nhận chỉ tiêu bệnh thối hạt lúa tại các thời điểm 3, 8, 13 NSKLB và thu hoạch.

- **Tỷ lệ hạt bệnh (TLHB):** Mỗi lô thí nghiệm chọn ngẫu nhiên 50 bông nằm trên 5 điểm đánh dấu thuộc 2 đường chéo gốc. Đếm tổng số hạt bị nhiễm bệnh và tổng số hạt trên bông.

$$TLHB (\%) = \frac{\text{Số hạt bị nhiễm bệnh/bông}}{\text{Tổng số hạt/bông}} \times 100$$

- Diện tích bên dưới đường cong tiến triển bệnh (AUDPC)

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} \left(\frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) \times (t_{i-1} - t_i)$$

Trong đó: n là số lần đo tỷ lệ bệnh.

y_i, y_{i+1} là tỷ lệ hạt bệnh tại lần đo thứ i và i+1.

t_i, t_{i+1} là thời gian tại lần lấy chỉ tiêu tỷ lệ bệnh thứ i và i+1.

- Hiệu quả giảm bệnh (HQGB): Dựa trên số liệu của tỷ lệ hạt bị bệnh thu được ở trên có công thức tính hiệu quả giảm bệnh sau (Abbott, 1925).

$$HQGB (\%) = \frac{ĐC - NT}{ĐC} \times 100$$

Trong đó: ĐC là tỷ lệ hạt bị bệnh của nghiệm thức đối chứng (%).

NT là tỷ lệ hạt bị bệnh của nghiệm thức có xử lý (%)- Năng suất và thành phần năng suất:

$$\text{Tỷ lệ hạt chắc}(\%) = \frac{\text{Số hạt chắc/bông}}{\text{Tổng số hạt/bông}} \times 100$$

Trọng lượng 1000 hạt (g):

$$W_{1000 \text{ hạt (âm độ 14\%)}} (g) = \frac{W_{1000 \text{ hạt}} \times (100 - H_0)}{86} \times 100$$

Trong đó: H_0 : Âm độ của hạt tại thời điểm cân; $W_{1000 \text{ hạt}} (g)$: Trọng lượng 1000 chắc lúc cân.

Năng suất lý thuyết (NSLT) (tấn/ha) được tính theo công thức như sau:

$$NSLT = N \times n \times \frac{W}{1000} \times \frac{1}{10^6} \times 10^4$$

Trong đó: N: Số bông/m²; n: Số hạt chắc/bông; W: Trọng lượng 1000 hạt; 1/10⁶: Hệ số quy đổi từ gam sang tấn; 10⁴: Hệ số quy đổi từ m² sang héc-ta.

Năng suất thực tế (NSTT) (tấn/ha): Tiến hành chọn và cắt ngẫu nhiên lúa trong phạm vi 5 m² ở mỗi lô nghiệm thức. Lấy toàn bộ hạt chắc cân trọng lượng rồi đo ẩm độ sau đó quy về trọng lượng ở ẩm độ 14 (%) và đơn vị tấn/ha.

$$W_{(5m^2)}(\text{ẩm độ}14\%) (\text{kg}) = \frac{W_{(5m^2)} \times (100 - H_0)}{86} \times 100$$

Trong đó: H₀ là ẩm độ của hạt tại thời điểm cân (%); W_{5m²}: Trọng lượng hạt ở thời điểm cân; NSTT (tấn/ha): 2 × W_{5m²} (14%).

Xử lý số liệu và thống kê: Các số liệu ghi nhận được xử lý trên Excel và phân tích thống kê bằng phần mềm MSTATC qua phép thử Duncan.

cho tỷ lệ hạt bệnh và AUDPC thấp hơn và khác biệt so với nghiệm thức xử lý Starner 20WP và đối chứng không xử lý thực khuẩn thể ở mức ý nghĩa 5% cụ thể như sau:

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Thí nghiệm được bố trí vào vụ Đông Xuân, thời tiết khô hanh, nắng nóng không thuận lợi cho sự phát triển của bệnh nên ruộng thí nghiệm được tiến hành lây nhiễm bệnh nhân tạo. Sau khi lây bệnh thối hạt do vi khuẩn *Burkholderia glumae* DT46 vào giai đoạn cây lúa trổ (55 ngày sau khi gieo), sau 3 ngày sau khi lây bệnh hạt lúa bắt đầu nhiễm bệnh thối hạt điển hình.

Vào thời điểm 3 NSKLB, bệnh thối hạt bắt đầu xuất hiện với tỷ lệ bệnh dao động trong khoảng từ 3,31% đến 25,27%. Trong đó hai nghiệm thức hỗn hợp TKT và hỗn hợp TKT + BDN 0,125% có tỷ lệ bệnh lần lượt là 4,68% và 3,31% thấp hơn và khác biệt với nghiệm thức Starner 20WP và đối chứng với tỷ lệ bệnh lần lượt là 23,73% và 25,27%.

3.1. Tỷ lệ hạt bệnh và diện tích bên dưới đường cong tiến triển bệnh (AUDPC)

Hiệu quả phòng trị bệnh thối hạt thông qua tỷ lệ hạt bị bệnh và diện tích bên dưới đường cong tiến triển bệnh (AUDPC) được thể hiện ở Bảng 1 qua ba thời điểm ghi nhận chỉ tiêu (3, 8 và 13 ngày sau khi lây bệnh (NSKLB)). Kết quả thấy rằng cả hai nghiệm thức hỗn hợp TKT và hỗn hợp TKT + BDN 0,125%

Đến các thời điểm 8 NSKLB và 13 NSKLB, tỷ lệ hạt bệnh của các nghiệm thức tiếp tục gia tăng, trong đó hai nghiệm thức hỗn hợp TKT và hỗn hợp TKT + BDN 0,125% có tỷ lệ bệnh thấp hơn và khác biệt so với nghiệm thức đối chứng.

Về diện tích bên dưới đường cong tiến triển bệnh cũng đã ghi nhận rằng nghiệm thức hỗn hợp TKT và hỗn hợp TKT + BDN 0,125% có AUDPC tương ứng 60,81 và 58,18 thấp hơn và khác biệt với nghiệm thức Starner 20WP và đối chứng với AUDPC lần lượt là 263,3 và 281,5.

Bảng 1. Tỷ lệ hạt bệnh thối hạt do vi khuẩn *Burkholderia glumae* qua các thời điểm khảo sát

Nghiệm thức	Tỷ lệ hạt bệnh (%)			AUDPC
	3 NSKLB	8 NSKLB	13 NSKLB	
Hỗn hợp TKT	4,68 ^b	5,62 ^c	8,39 ^b	60,81 ^b
Hỗn hợp TKT + BDN 0,125%	3,31 ^b	5,59 ^c	8,76 ^b	58,18 ^b
Starner 20WP	23,73 ^a	23,15 ^b	35,31 ^a	263,3 ^a
Đối chứng	25,27 ^a	27,94 ^a	31,48 ^a	281,5 ^a
Mức ý nghĩa	*	*	*	*
CV%	6,91	8,57	9,89	9,25

Ghi chú: Số liệu được chuyển sang \sqrt{x} hoặc $\arcsin \sqrt{x \pm \frac{1}{4n}}$ trước khi xử lý thống kê. Trong cùng một cột những số có cùng chữ cái theo sau giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% trong phép thử Duncan. *: Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%.

3.2. Hiệu quả giảm bệnh

Kết quả Bảng 2 thể hiện hiệu quả giảm bệnh của ba nghiệm thức hỗn hợp TKT và hỗn hợp TKT + BDN 0,125% và

Starner 20WP có sự khác biệt về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% qua ba thời điểm ghi nhận.

Bảng 2. Hiệu quả phòng trị bệnh thối hạt do vi khuẩn *Burkholderia glumae* bằng hỗn hợp thực khuẩn thể qua các thời điểm ghi nhận

Nghiệm thức	Hiệu quả giảm bệnh (%)		
	3 NSKLB	8 NSKLB	13 NSKLB
Mix (3 TKT)	81,46 ^a	79,33 ^a	72,56 ^a
Mix + BDN 0,125%	86,69 ^a	79,52 ^a	72,14 ^a
Starner 20WP	5,08 ^b	16,23 ^b	0,00 ^b
Mức ý nghĩa	*	*	*
CV%	14,91	7,57	24,78

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

Vào thời điểm 3 NSKLB, ba nghiệm thức hỗn hợp TKT và hỗn hợp TKT + BDN 0,125% và Starner 20WP có hiệu quả giảm bệnh từ 5,08% đến 86,69%. Trong đó hai nghiệm thức hỗn hợp TKT và hỗn hợp TKT + BDN 0,125% có hiệu quả giảm bệnh vượt trội lần lượt là 81,46% và 86,69% tương đương nhau và cao hơn khác

biệt so với nghiệm thức Starner 20WP với hiệu quả giảm bệnh là 5,08%.

Tương tự thời điểm 8 NSKLB và 13 NSKLB cả hai nghiệm thức Mix (3TKT) và mix + BDN 0,125% vẫn duy trì hiệu quả giảm cao hơn và khác biệt so với nghiệm thức Starner 20WP.

Về thành phần năng suất lúa IR50504 được thể hiện tại Bảng 3, kết quả đã ghi nhận có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 5% về% hạt chắc và năng suất thực tế giữa các nghiệm thức. Tuy nhiên, trọng lượng 1000 hạt không có sự khác biệt giữa các nghiệm thức.

Phần trăm hạt chắc đã được ghi nhận hai nghiệm thức hỗn hợp TKT và hỗn hợp TKT + BDN 0,125% có tỷ lệ hạt chắc lần lượt là 76,05% và 71,63% tương đương cao hơn và khác biệt với nghiệm thức Starner 20WP và đối chứng với phần trăm hạt chắc là 50,66% và 46,65%.

3.3. Năng suất thực tế và thành phần năng suất

Về năng suất lí thuyết cả bốn nghiệm thức có năng suất lí thuyết từ 3,88 tấn/ha đến 6,19 tấn/ha. Trong đó, nghiệm thức Mix (6,19 tấn/ha) tương đương với

nghiệm thức hỗn hợp TKT + BDN 0,125% (5,75 tấn/ha) và cao hơn nghiệm thức Starner 20WP (4,32 tấn/ha) và đối chứng (3,88 tấn/ha).

Về năng suất thực tế cả bốn nghiệm thức dao động từ 4,02 tấn/ha đến 4,52 tấn/ha. Trong đó năng suất thực tế của nghiệm thức hỗn hợp TKT + BDN 0,125% là 4,52 tấn/ha cao hơn và khác biệt so với nghiệm thức Starner 20WP (4,02 tấn/ha) và đối chứng (4,17 tấn/ha). Tuy nhiên, năng suất thực tế của nghiệm thức hỗn hợp TKT + BDN 0,125% không khác biệt so với nghiệm thức hỗn hợp TKT (4,22 tấn/ha).

Về trọng lượng 1000 hạt của cả bốn nghiệm thức gồm hỗn hợp TKT và hỗn hợp TKT + BDN 0,125%, Starner 20WP và đối chứng dao động trong khoảng từ 20,10 g đến 21,02 g không khác biệt về mặt thống kê.

Bảng 3. Thành phần năng suất lúa IR50404 vụ Đông Xuân 2018 - 2019

Nghiệm thức	% hạt chắc	NSLT (tấn/ha)	NSTT (tấn/ha)	W1000 hạt (g)
Mix (3 TKT)	76,05 ^a	6,19 ^a	4,22 ^{ab}	20,78
Mix + BDN 0,125%	71,63 ^a	5,75 ^{ab}	4,52 ^a	20,10
Starner 20WP	50,66 ^b	4,32 ^{bc}	4,02 ^b	21,02
Đối chứng	46,65 ^b	3,88 ^c	4,17 ^b	20,46
Mức ý nghĩa	*	*	*	ns
CV%	21,79	21,79	6,91	4,51

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

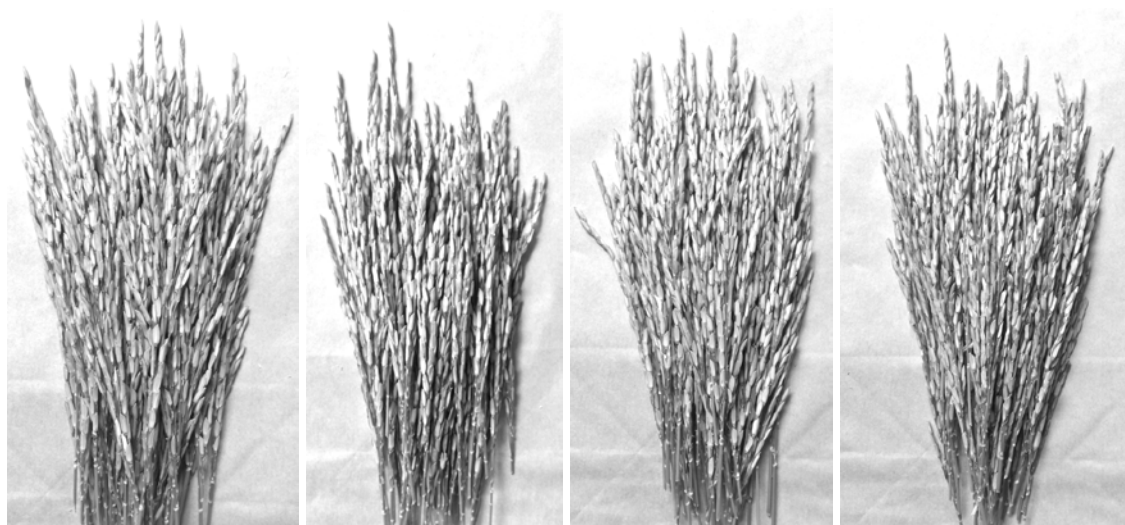
Nhìn chung qua kết quả tỷ lệ hạt bệnh, AUDPC (Bảng 1), hiệu quả giảm bệnh (Bảng 2) và thành phần năng suất (Bảng 3) có thể kết luận được rằng hỗn hợp TKT hoặc hỗn hợp TKT + BDN 0,125% cho hiệu quả giảm bệnh trên 50% trong điều kiện lây bệnh nhân tạo với áp lực bệnh

cao (9×10^8 cfu/ml). Thực vậy, sử dụng thực khuẩn thể phòng trị bệnh do vi khuẩn trên cây trồng đã có nhiều kết quả đã thành công như quản lý bệnh do vi khuẩn như *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Agrobacterium*, *Xanthomonas*, *Erwinia*, *Xylella*, *Pectobacterium* và *Dickeya*

(Abedon *et al.*, 2017). Bên cạnh đó, trong nghiên cứu này đã sử dụng hỗn hợp thực khuẩn thể phòng trị bệnh thối hạt lúa là một phương pháp tối ưu bởi vì hỗn hợp thực khuẩn thể sẽ tăng phổ kí chủ và đồng thời giảm tính kháng với vi khuẩn ký chủ. Theo Balogh *et al.* (2010) đã nhận định rằng để giảm tính kháng của vi khuẩn nên sử dụng hỗn hợp thực khuẩn thể phòng trị bệnh vi khuẩn trên cây trồng. Tiêu biểu, theo Chae *et al.* (2014) đã sử dụng hỗn hợp thực khuẩn thể phòng trị bệnh cháy bìa lá lúa do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* cho hiệu quả đáng kể.

Ngoài ra, sự tồn tại của TKT trên tán lá cây bị giới hạn rất nhiều yếu tố như UV và môi trường khô hạn trên bề mặt tán lá cây (Jones *et al.*, 2007). Cụ thể, ánh sáng mặt trời được ghi nhận gây giảm mật số TKT nghiêm trọng bởi nghiên cứu của Nguyễn Thị Trúc Giang (2016). Đặc biệt, trong nghiên cứu này đã xác định khi sử

dụng bột đậu nành 0,125% tuy không thể hiện khác biệt về tăng hiệu quả phòng trừ bệnh của TKT, nhưng góp phần gia tăng năng suất thể hiện cao hơn và khác biệt ý nghĩa so với đối chứng. Bởi vì nồng độ bột đậu nành 0,125% góp phần giảm bệnh tốt hơn thông qua bảo vệ sự tồn tại của TKT trên bông lúa tốt hơn (Nguyễn Minh Sang, 2019). Theo Born *et al.* (2015) cũng đã cho rằng trong bột đậu nành chứa các hợp chất phenolics có khả năng hấp thụ tia UV đặc biệt nằm trong dãy bước sóng 200 - 400 nm. Vì vậy, dựa trên kết quả đã làm thực nghiệm thấy rằng sử dụng hỗn hợp thực khuẩn thể hoặc hỗn hợp thực khuẩn thể kết hợp bột đậu nành 0,125% thể hiện phòng trị bệnh thối hạt lúa và góp phần tăng năng suất trên lúa ở điều kiện ngoài đồng. Kết quả này góp phần ứng dụng liệu pháp TKT trong phòng trừ bệnh thối hạt thay thế dần biện pháp hóa học trong tương lai.



Hình 2. Hiệu quả phòng trị bệnh thối hạt trên lúa do vi khuẩn *Burkholderia glumae* của các nghiệm thức vào thời điểm 8 ngày sau khi lây bệnh

IV. KẾT LUẬN

Xử lý hỗn hợp TKT (ΦBurAG58, ΦBurVL34, ΦBurDT47a ở mật số 10^8 pfu/ml) hay hỗn hợp TKT + BDN 0,125% mang lại hiệu quả phòng trị bệnh thối hạt trên lúa cao trên 50%. Trong đó nghiệm thức hỗn hợp TKT + BDN 0,125% góp phần cho năng suất thực tế của vượt trội so với 2 nghiệm thức Starner 20WP và đối chứng không xử lý.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abedon, S.T., García P., Mullany P., Aminov R., 2017. Phage therapy: past, present and future. *Frontiers in microbiology* 8, 981.
2. Abbott, W. S., 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18(2): 256 - 267.
3. 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.
4. Adams, M.H., 1959. Bacteriophages. *Bacteriophages*.
5. Nguyễn Thúy An, Phạm Văn Kim, Nguyễn Văn Minh Phụng, Nguyễn Thị Thu Nga, 2017. Phân lập và tuyển chọn các dòng thực khuẩn thể trong phòng trừ bệnh héo xanh trên cây hoa vạn thọ (*Tagetes papula* L.) do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* Smith. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 44 - 52.
6. Balogh, B., Jones J.B., Iriarte F., Momol M., 2010. Phage therapy for plant disease control. *Current pharmaceutical biotechnology* 11, 48 - 57.
7. Born, Y., Bosshard, L., Duffy, B., Loessner, M. J., and Fieseler, L., 2015. Protection of *Erwinia amylovora* bacteriophage Y2 from UV - induced damage by natural compounds. *Bacteriophage*. 5(4): 1 - 20.
8. Chae J - C, Hung N.B., Yu S - M, Lee H.K., Lee Y.H., 2014. Diversity of bacteriophages infecting *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in paddy fields and its potential to control bacterial leaf blight of rice. *J. Microbiol. Biotechnol* 24, 740 - 7.
9. Đoàn Thị Kiều Tiên, Lê Quốc Uy, Bùi Thị Thanh Mỹ, Kaeko Kamei và Nguyễn Thị Thu Nga, 2018. Nghiên cứu hiệu quả của thực khuẩn thể phòng trị bệnh thối hạt do vi khuẩn *Burkholderia glumae* trên lúa. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 54(7B): 41 - 47.
10. Doss, J., Culbertson K., Hahn D., Camacho J., Barezzi N., 2017. A Review of Phage Therapy against Bacterial Pathogens of Aquatic and Terrestrial Organisms. *Viruses* 9, 50.
11. Fujiwara, A., Fujisawa M., Hamasaki R., Kawasaki T., Fujie M., Yamada T., 2011. Biocontrol of *Ralstonia solanacearum* by treatment with lytic bacteriophages. *Applied and environmental microbiology* 77, 4155 - 62.
12. Kutter, E., Sulakvelidze A., 2004. *Bacteriophages: biology and applications*. CRC Press.
13. Lim, J. A., Jee, S., Lee, D. H., Roh, E., Jung, K., Oh, C., and Heu, S., 2013. Biocontrol of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* using bacteriophage PP1. *J Microbiol Biotechnol*, 23, 1147 - 1153.
14. Nilsson A.S., 2014. Phage therapy-constraints and possibilities. *Uppsala journal of medical sciences* 119, 192 - 8.
15. Nguyễn Minh Sang, 2019. Đánh giá khả năng phòng trị bệnh thối hạt do vi khuẩn *Burkholderia glumae* trên cây lúa bằng hỗn hợp thực khuẩn thể triển vọng với một số chất bảo vệ trong điều kiện nhà lưới. Luận văn Tốt nghiệp Đại học ngành BVTV. Đại học Cần Thơ.
16. Nguyễn Thị Trúc Giang, 2016. Nghiên cứu thực khuẩn thể trong phòng trị bệnh cháy bìa lá (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) trên lúa và các yếu tố môi trường tác động lên thực khuẩn thể. Luận văn Tốt nghiệp Cao học ngành BVTV. Đại học Cần Thơ.

NGHIÊN CỨU PHƯƠNG PHÁP TIÊM POTASSIUM PHOSPHONATE CHO CÂY HỒ TIÊU ĐỂ PHÒNG TRỪ BỆNH CHẾT NHANH TRONG ĐIỀU KIỆN NHÀ LƯỚI

Nguyễn Vĩnh Trường¹, Trần Hà Phong¹,
Nguyễn Thị Thu Thủy¹, Trương Thị Diệu Hạnh¹

¹Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

ABSTRACT

Injection of potassium phosphonate into young black pepper plants to control of *Phytophthora* foot rot in the greenhouse

Potassium phosphonate was evaluated for the control of Phytophthora foot rot of black pepper under in vitro and greenhouse conditions. The growth of Phytophthora capsici was inhibited by potassium phosphonate in in vitro. In the greenhouse, potassium phosphonate injected into one - year - old black pepper plants showed that the syringe 1cc and a short - term veterinary needle cut 15mm was appropriate. At 10% v/v potassium phosphonate concentration was showed that the infection of P. capsici on the leaves collected from the phosphonate - treated plants was inhibited and did not show any toxicity symptom on the young plants. It was proposed that potassium phosphonate should be applied by injection into black pepper plants in the field to assess the effectiveness of Phytophthora disease control in the coming years.

Keywords: *Phytophthora capsici, potassium phosphonate, injection.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam đang là quốc gia sản xuất hồ tiêu đứng hàng đầu thế giới về sản lượng, vượt qua cả Ấn Độ và là nước đứng đầu thế giới về tổng sản lượng xuất khẩu. Thống kê năm 2017, diện tích thực tế hồ tiêu cả nước ước đã lên tới 152000 ha tăng 17,6% (Hiệp hội Hồ tiêu Việt Nam, 2018). Lượng hạt tiêu xuất khẩu đạt 214855 tấn, trị giá 1,12 tỷ USD, tăng 20,9% (IPC, 2018). Tuy nhiên, sự phát triển diện tích lớn dẫn đến dịch bệnh phát triển mạnh,

gây ra hiện tượng tiêu chết hàng loạt. Một trong những dịch bệnh gây hại và ảnh hưởng lớn đến năng suất và chất lượng hạt tiêu được xác định là bệnh *Phytophthora* thối gốc rễ hồ tiêu (hay thường được gọi là bệnh chết nhanh) (Nguyễn Vĩnh Trường, 2018). Đối với bệnh hại này, việc phòng bệnh thường được quan tâm hơn là trị bệnh vì khi phát hiện ra bệnh thường cây đã bị nặng nên chỉ có thể loại bỏ đi và tiêu hủy ra khỏi vườn. Một trong những hợp chất đã và đang được nghiên cứu có tiềm năng và ý nghĩa trong phòng trừ bệnh do *Phytophthora* gây nên đó là potassium phosphonate. Hoạt chất này thường được

Người phân biên: TS. Trần Thị Nga.

sử dụng tiêm cho các cây trồng như bơ, sầu riêng, ca cao, cam, bưởi để phòng trừ bệnh do *Phytophthora*. Tuy nhiên, trên hồ tiêu thì điều này chưa từng được thực hiện. Đó là lý do chúng tôi thực hiện nghiên cứu phương pháp tiêm potassium phosphonate cho cây hồ tiêu.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Potassium phosphonate sử dụng sản phẩm thương mại Agrifos 400 của Công ty Donatechno. Hom hồ tiêu thân chính hom được dâm trong giá thể giâm tiêu (đất, mùn cưa, phân hữu cơ, phân vi sinh), sau 6 tháng khi cây được 7 - 10 lá thì sử dụng để thực hiện thí nghiệm. Nguồn *Phytophthora capsici* được phân lập từ cây hồ tiêu bị bệnh chết nhanh ở Gia Lai và được bảo quản ở Phòng Nghiên cứu Bệnh cây, Bộ môn Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Nông Lâm Huế. Thời gian nghiên cứu từ 2018 đến 2019.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của potassium phosphonate đến sự sinh trưởng của *Phytophthora capsici* trong điều kiện in-vitro

P. capsici được phân lập từ cây hồ tiêu bị bệnh chết nhanh ở Gia Lai trên cơ sở các đặc điểm hình thái theo mô tả của Erwin và Ribeiro (1996) và bảo quản trên môi trường PCA. Sợi nấm được cấy truyền lên PDA có bổ sung potassium phosphonate ở nồng độ khác nhau (0; 2,5; 5,0; 7,5 và 10 ppm) và đánh giá ảnh hưởng của hoạt chất theo phương pháp của Truong *et al.* (2018).

2.2.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của phương pháp tiêm potassium phosphonate đến sự sinh trưởng của cây tiêu trong nhà lưới

Nghiên cứu được thực hiện với cây hồ tiêu 1 tuổi. Sử dụng kim tiêm thú y với syringe 1 cc và các kích thước kim tiêm 5 mm và 20 mm để tiêm nước cho thân cây, sau đó dùng dây cao su buộc cố định vào cây. Tiến hành quan sát lượng nước được cây hấp thu, ghi nhận số liệu về tình trạng sức khỏe của cây hồ tiêu định kỳ 2 ngày/lần và theo dõi trong thời gian 30 ngày. Thí nghiệm gồm 2 công thức, 3 lần lặp lại, mỗi công thức là 4 cây hồ tiêu, được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên.

2.2.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ tiêm thuốc potassium phosphonate đến sự sinh trưởng của cây tiêu trong nhà lưới

Nghiên cứu được thực hiện với cây hồ tiêu 1 tuổi. Sử dụng kim tiêm thú y 16 được cắt ngắn còn 5 mm để tiêm hoạt chất cho cây với 5 nồng độ khác nhau (0, 10, 20, 30 và 40%), sau đó dùng dây cao su buộc cố định vào cây. Tiến hành quan sát lượng dung dịch thuốc được cây hấp thu, ghi nhận số liệu về tình trạng sức khỏe của cây hồ tiêu định kỳ 2 ngày/lần và theo dõi trong thời gian 30 ngày. Thí nghiệm gồm 5 công thức, 3 lần lặp lại, mỗi công thức là 2 cây hồ tiêu, được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên.

2.2.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của tiêm potassium phosphonate đến bệnh chết nhanh hồ tiêu trong điều kiện nhà lưới

Từ thí nghiệm trên, ở mỗi nồng độ xử lý potassium phosphonate thu 30 lá với

kích thước và màu sắc gần tương đương nhau (mỗi chậu hái 5 lá). Sử dụng phương pháp của Truong *et al.*, (2012) để đánh giá tính kháng bệnh cây tiêu. Tiến hành theo dõi sự phát triển của vết bệnh trên lá ở mỗi nồng độ sau 1 - 5 ngày lây bệnh.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Hiệu lực ức chế được tính theo công thức Abbott (1925):

$$E (\%) = \frac{a-b}{a} \times 100$$

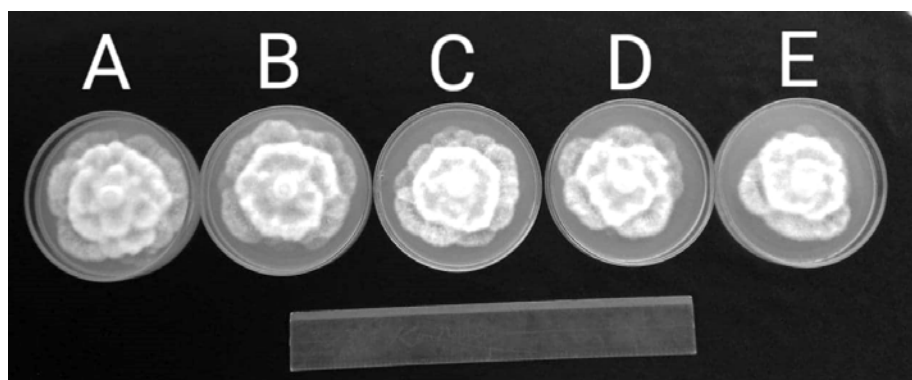
Trong đó: E là hiệu lực ức chế; a là chiều dài hoặc chiều rộng vết bệnh công thức đối chứng; b là chiều dài hoặc chiều rộng vết bệnh ở công thức xử lý. Các số liệu thu thập được phân tích phương sai một nhân tố và sai khác giữa các nghiệm thức được phân tích Tukey HSD test bằng phần mềm phần mềm SPSS 16.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của potassium phosphonate đến tác nhân gây bệnh chết nhanh trong điều kiện in-vitro

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng potassium phosphonate đến *P. capsici* được trình bày ở Bảng 1 và Hình 1. Chúng tôi nhận thấy có sự sai khác về đường kính tản nấm giữa các công thức thí nghiệm qua các ngày theo dõi. Đường kính tản nấm *P. capsici* khi nuôi cấy trên môi trường PDA ở công thức đối chứng có kích thước lớn nhất. Phân tích tukey

HSD cho thấy đường kính tản nấm ở công thức đối chứng có sự sai khác có ý nghĩa so với đường kính tản nấm ở nồng độ potassium phosphonate. Kết quả phân tích thống kê cho thấy giữa các nồng độ có sự sai khác có ý nghĩa ở ngày thứ nhất. Ở nồng độ 0 ppm có sự sai khác có ý nghĩa so với các nồng độ 5,0; 7,5 và 10 ppm nhưng không có sự sai khác với nồng độ 2,5 ppm. Ở nồng độ 7,5 ppm không có sự sai khác với các nồng độ 10 ppm. Tương tự ở ngày thứ 2, nồng độ 0 ppm không có sự sai khác với nồng độ 2,5 ppm nhưng sai khác với các nồng độ 5,0; 7,5 và 10 ppm, nồng độ 2,5 ppm không có sự sai khác giữa với nồng độ 5, 7,5 và 10 ppm. Ở ngày thứ 3, nồng độ 0 ppm không có sự sai khác với nồng độ 2,5 ppm nhưng sai khác có ý nghĩa với các nồng độ 5,0; 7,5 và 10 ppm, nồng độ 2,5 ppm không có sự sai khác với các nồng độ 5,0; 7,5 và 10 ppm. Ở ngày thứ 4, nồng độ 0 ppm có sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với các nồng độ 2,5; 5,0; 7,5 và 10 ppm, nồng độ 2,5 ppm cũng có sự sai khác có ý nghĩa với các nồng độ 5,0; 7,5 và 10 ppm. Ở ngày thứ 5, nồng độ 0 ppm có sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với nồng độ 10 ppm nhưng không sai khác với các nồng độ 2,5; 5,0 và 7,5 ppm, nồng độ 10 ppm có sự sai khác với nồng độ 2,5 ppm. Kết quả nghiên cứu cho thấy hiệu lực ức chế potassium phosphonate đối với sự phát triển của tản nấm *P. capsici* trên môi trường PDA ở nồng độ 10 ppm là cao nhất (16,3%).



Hình 1. Ảnh hưởng potassium phosphonate đến sinh trưởng *P. capsici* trên PDA sau 5 ngày

- A. 0 ppm
 B. 2,5 ppm
 C. 5 ppm
 D. 7,5 ppm
 E. 10 ppm
 — 10 mm

Bảng 1. Ảnh hưởng potassium phosphonate đến sinh trưởng *P. capsici* trên PDA

Đường kính tàn nấm qua các ngày theo dõi (mm)	Nồng độ (ppm)				
	0	2,5	5,0	7,5	10
Ngày 1	10,5 ^a ±0,33	10,1 ^{ab} ±0,24	9,2 ^{ab} ±0,20	9,1 ^b ±0,24	9,6 ^{ab} ±0,43
Ngày 2	28,2 ^a ±0,91	27,3 ^a ±0,31	23,3 ^b ±0,60	23,8 ^b ±0,24	24,1 ^b ±0,94
Ngày 3	40,7 ^a ±0,54	39,7 ^a ±0,35	36,5 ^b ±0,52	37,1 ^b ±0,31	37,0 ^b ±0,14
Ngày 4	59,2 ^a ±0,58	56,2 ^b ±0,68	49,1 ^c ±0,43	49,1 ^c ±0,69	50,1 ^c ±0,77
Ngày 5	64,8 ^a ±1,43	64,6 ^a ±0,94	57,3 ^{ab} ±1,46	56,7 ^{ab} ±2,06	54,3 ^b ±4,24
Hiệu lực ức chế sau 5 ngày (%)	-	0,4	11,6	12,5	16,3

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự sai khác ở mức $p \leq 0,05$.

3.2. Ảnh hưởng phương pháp tiêm potassium phosphonate đến sinh trưởng cây hồ tiêu trong điều kiện nhà lưới

3.2.1. Ảnh hưởng của phương pháp tiêm đến sinh trưởng cây hồ tiêu

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của phương pháp tiêm đến sinh trưởng cây hồ tiêu trong điều kiện nhà lưới qua 30 ngày theo dõi được trình bày ở Bảng 2 cho thấy lượng nước cây hút đối với phương pháp tiêm bằng syringe 1 cc với mũi kim tiêm thứ y 16 dài 20 mm ít hơn so với phương pháp tiêm bằng syringe 1 cc với mũi tiêm

thứ y 16 được cắt ngắn còn 5 mm. Kết quả phân tích thống kê turkey HSD cho thấy sự sai khác về lượng nước cây hút có ý nghĩa về mặt thống kê. Ở ngày 29, lượng nước còn lại ở syringe 1 cc kim tiêm dài 20 mm là 0,785 ml, trong lúc đó ở syringe 1cc mũi kim tiêm ngắn 5 mm là 0,455 ml, nghĩa là lượng nước cây hút ở seringe 1cc kim tiêm được cắt ngắn 5 mm lên đến 0,545 ml. Về các chỉ tiêu sinh trưởng như đầu tiên là số lá/cây qua, số cành/cây ta, màu sắc lá giữa hai phương pháp tiêm không có sự khác biệt.

Bảng 2. Ảnh hưởng phương pháp tiêm potassium phosphonate đến sinh trưởng cây hồ tiêu 1 tuổi trong điều kiện nhà lưới

Ngày	Chiều dài kim tiêm (mm)	Lượng nước còn lại (ml)	Số lá/cây (lá)	Số cành/cây (cành)	Màu sắc lá
1	5	0,953 ^b ±0,004	13,9	2,00	Xanh
	20	0,975 ^a ±0,003	13,6	1,75	Xanh
3	5	0,913 ^b ±0,003	13,9	2,00	Xanh
	20	0,961 ^a ±0,002	13,6	1,75	Xanh
5	5	0,877 ^b ±0,003	13,9	2,00	Xanh
	20	0,943 ^a ±0,003	13,6	1,75	Xanh
7	5	0,833 ^b ±0,004	13,9	2,00	Xanh
	20	0,928 ^a ±0,004	13,7	1,75	Xanh
9	5	0,795 ^b ±0,004	14,2	2,00	Xanh
	20	0,915 ^a ±0,001	14,0	1,75	Xanh
11	5	0,757 ^b ±0,002	14,5	2,00	Xanh
	20	0,901 ^a ±0,001	14,5	1,75	Xanh
13	5	0,715 ^b ±0,003	14,6	2,00	Xanh
	20	0,890 ^a ±0,003	14,6	1,75	Xanh
15	5	0,678 ^b ±0,008	14,6	2,00	Xanh
	20	0,879 ^a ±0,004	14,6	1,75	Xanh
17	5	0,639 ^b ±0,01	14,7	2,00	Xanh
	20	0,864 ^a ±0,004	14,8	1,75	Xanh
19	5	0,608 ^b ±0,01	14,8	2,00	Xanh
	20	0,852 ^a ±0,004	15,3	1,75	Xanh
21	5	0,573 ^b ±0,01	14,8	2,00	Xanh
	20	0,837 ^a ±0,005	15,6	1,75	Xanh
23	5	0,547 ^b ±0,01	15,1	2,00	Xanh
	20	0,821 ^a ±0,005	15,6	1,75	Xanh
25	5	0,518 ^b ±0,009	15,3	2,00	Xanh
	20	0,808 ^a ±0,005	15,8	1,75	Xanh
27	5	0,487 ^b ±0,007	15,3	2,00	Xanh
	20	0,795 ^a ±0,008	16,1	1,75	Xanh
29	5	0,455 ^b ±0,001	15,3	2,00	Xanh
	20	0,785 ^a ±0,007	16,3	1,75	Xanh

Ghi chú: Các giá trị của lượng nước còn lại ở trong cột không cùng chữ cái in thường sự sai khác ở mức $p \leq 0,05$.

3.2.2. Ảnh hưởng nồng độ tiêm potassium phosphonate đến sinh trưởng cây hồ tiêu

Kết quả đánh giá ảnh hưởng nồng độ tiêm potassium phosphonate đến

sinh trưởng cây hồ tiêu trong điều kiện nhà lưới được thể hiện ở Bảng 3 cho thấy lượng thuốc cây hút ở các nồng độ 0, 10, 20, 30 và 40% tương đối như

nhau. Kết quả phân tích thống kê turkey HSD cho thấy từ ngày 1 đến ngày 15 lượng thuốc cây hút không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các nồng độ. Tuy nhiên ngày thứ 17 lượng thuốc cây hút có sự sai khác có ý nghĩa về

mặt thống kê giữa các nồng độ tiêm, ở nồng độ tiêm 0% sai khác với nồng độ tiêm 40%. Kết quả theo dõi cho thấy từ ngày 9, với nồng độ tiêm trên 10% cây có biểu hiện bị ngộ độc và làm cho cây tiêu chết ở ngày thứ 17.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ tiêm potassium phosphonate đến sinh trưởng cây hồ tiêu 1 tuổi trong điều kiện nhà lưới

Ngày	Nồng độ (%)	Lượng thuốc còn lại (ml)	Số lá/cây (lá)	Số cành/cây (cành)	Màu sắc lá, tình trạng cây
1	0	0,958	8,83 ^a ±2,13	1,50	Xanh
	10	0,958	11,00 ^a ±1,26	1,50	Xanh
	20	0,957	9,33 ^a ±0,88	1,67	Xanh
	30	0,963	13,00 ^a ±1,73	1,83	Xanh
	40	0,948	15,00 ^a ±0,87	1,33	Xanh
3	0	0,918	8,67 ^a ±1,96	1,50	Xanh
	10	0,915	11,17 ^a ±1,17	1,50	Xanh
	20	0,917	9,33 ^a ±0,88	1,67	Xanh
	30	0,923	13,00 ^a ±1,73	1,83	Xanh
	40	0,912	15,00 ^a ±0,87	1,33	Xanh
5	0	0,877	8,67 ^a ±1,96	1,50	Xanh
	10	0,873	11,50 ^a ±1,26	1,50	Xanh
	20	0,880	9,50 ^a ±1,04	1,67	Xanh
	30	0,878	13,17 ^a ±1,88	1,83	Xanh
	40	0,873	14,83 ^a ±1,01	1,33	Xanh
7	0	0,830	8,67 ^a ±1,48	1,50	Xanh
	10	0,823	11,67 ^{ab} ±1,20	1,50	Xanh
	20	0,833	9,67 ^{ab} ±0,92	1,67	Xanh
	30	0,828	13,33 ^{ab} ±1,74	1,83	Xanh
	40	0,827	14,83 ^b ±1,01	1,33	Khô ở mép
9	0	0,788	9,17 ^a ±1,48	1,50	Xanh
	10	0,783	11,83 ^a ±1,36	1,50	Xanh
	20	0,792	10,17 ^a ±0,93	1,67	Xanh
	30	0,787	13,67 ^a ±1,88	1,83	Xanh
	40	0,788	15,00 ^a ±1,04	1,33	Khô ở mép
11	0	0,747	9,33 ^a ±1,45	1,50	Xanh
	10	0,745	12,00 ^a ±1,26	1,50	Xanh
	20	0,750	9,00 ^a ±1,73	1,67	Khô ở mép
	30	0,748	13,50 ^a ±1,44	1,83	Khô ở mép
	40	0,752	12,67 ^a ±1,01	1,00	Khô cả lá
13	0	0,707	9,33 ^a ±1,45	1,50	Xanh
	10	0,708	12,00 ^a ±1,26	1,50	Xanh
	20	0,708	10,67 ^a ±0,73	1,67	Khô ở mép
	30	0,712	12,67 ^a ±1,01	1,67	Khô ở mép
	40	0,708	12,67 ^a ±1,01	1,00	Khô nhiều lá

Bảng 3 (tiếp theo)

Ngày	Nồng độ (%)	Lượng thuốc còn lại (ml)	Số lá/cây (lá)	Số cành/cây (cành)	Màu sắc lá, tình trạng cây
	0	0,660	9,67 ^a ±1,48	1,50	Xanh
	10	0,662	12,17 ^a ±1,20	1,50	Xanh
	20	0,660	8,83 ^a ±0,67	1,17	Khô ở mép
	30	0,667	12,67 ^a ±1,01	1,67	Khô ở mép
	40	0,660	12,67 ^a ±1,01	1,00	Cây héo
	0	0,618	9,67 ^a ±1,48	1,50	Xanh
	10	0,620	12,50 ^a ±1,32	1,50	Xanh
17	20	0,622	8,83 ^a ±0,67	1,17	Khô ở mép
	30	0,627	12,67 ^a ±1,01	1,67	Khô ở mép
	40	0,595	2,50 ^a ±4,17	1,00	Cây héo khô
	0	0,568	9,83 ^a ±1,36	1,50	Xanh
	10	0,568	12,67 ^a ±1,48	1,50	Xanh
19	20	0,575	8,83 ^a ±0,67	1,17	Khô ở mép
	30	0,575	12,67 ^a ±1,01	1,67	Khô ở mép
	40	0,600	-	-	Cây chết
	0	0,530	10,17 ^a ±1,48	1,50	Xanh
	10	0,535	12,83 ^a ±1,36	1,50	Xanh
21	20	0,538	8,83 ^a ±0,67	1,17	Khô ở mép
	30	0,540	12,67 ^a ±1,01	1,67	Khô ở mép sâu hơn
	40	0,600	-	-	Cây chết
	0	0,498	10,33 ^a ±1,36	1,50	Xanh
	10	0,500	12,83 ^a ±1,36	1,50	Khô ở mép
23	20	0,503	8,83 ^a ±0,67	1,17	Khô ở mép sâu hơn
	30	0,508	12,67 ^a ±1,01	1,67	Cây chết
	40	0,600	-	-	Đen
	0	0,468	10,33 ^a ±1,36	1,50	Xanh
	10	0,468	13,33 ^a ±1,45	1,50	Xanh
25	20	0,470	8,83 ^a ±0,67	1,17	Khô ở mép
	30	0,475	11,50 ^a ±0,76	1,50	Lá rụng
	40	0,600	-	-	Cây chết
	0	0,442	10,67 ^a ±1,20	1,50	Xanh
	10	0,452	13,50 ^a ±1,61	1,50	Xanh
27	20	0,445	8,83 ^a ±0,67	1,17	Khô ở mép
	30	0,452	11,50 ^a ±0,76	1,50	Lá rụng
	40	0,600	-	-	Cây chết
	0	0,423	10,83 ^a ±1,09	1,50	Xanh
29	10	0,427	13,50 ^a ±1,61	1,50	Xanh
	20	0,425	8,83 ^a ±0,67	1,17	Khô ở mép
	30	0,428	11,50 ^a ±0,76	1,50	Lá rụng
	40	0,600	-	-	Cây chết

3.3. Ảnh hưởng phương pháp tiêm potassium phosphonate đến sự hạn chế bệnh chết nhanh do *Phytophthora capsici* trong điều kiện nhà lưới

Kết quả đánh giá phương pháp tiêm potassium phosphonate đến sự hạn chế bệnh chết nhanh do *P. capsici* trong điều kiện nhà lưới được trình bày ở Bảng 4 cho

thấy, sau 5 ngày chiều dài của vết bệnh lớn nhất ở các lá tiêu nồng độ thuốc 0% (70,5 mm) và nhỏ nhất ở nồng độ 30% (30,7 mm). Phân tích tukey HSD cho thấy sự khác biệt về chiều dài vết bệnh giữa các nồng độ. Tương tự, chiều rộng vết bệnh lớn nhất ở các lá tiêu xử lý nồng độ potassium phosphonate 0% (47,0 mm) và thấp nhất nồng độ 30% (18,6 mm). Phân tích thống kê Tukey HSD cho thấy ở nồng độ tiêm thuốc 0% có sự sai khác có ý

nghĩa với các nồng độ 10, 20 và 30%. Hiệu lực ức chế sự phát triển của kích thước vết bệnh trên lá tiêu được lây nhiễm *P. capsici* đã được tiêm thuốc potassium phosphonate với các nồng độ khác nhau sau 5 ngày theo dõi cho thấy về chiều dài ở nồng độ 30% đạt hiệu quả cao nhất (56,5%), thấp nhất ở nồng độ 10% (37,4%), tương tự về chiều rộng ở nồng độ 30% đạt hiệu quả cao nhất (60,4%), thấp nhất ở nồng độ 10% (39,1%).

Bảng 4. Chiều dài (d) và chiều rộng (r) vết bệnh trên lá hồ tiêu được xử lý potassium phosphonate sau 5 ngày lây bệnh nhân tạo

Chiều dài (d) và chiều rộng (r) vết bệnh (mm)		Nồng độ (%)			
		0	10	20	30
Ngày 1	d	14,7 ^a ±0,7	9,3 ^b ±1,8	7,3 ^b ±1,5	4,8 ^b ±1,2
	r	9,1 ^a ±1,2	4,6 ^b ±1,1	3,0 ^b ±0,7	2,4 ^b ±0,6
Ngày 2	d	26,5 ^a ±1,1	14,8 ^b ±2,6	9,9 ^b ±2,1	8,8 ^b ±2,2
	r	15,1 ^a ±1,8	7,0 ^b ±1,5	5,0 ^b ±1,2	3,2 ^b ±0,9
Ngày 3	d	40,5 ^a ±1,4	22,7 ^b ±3,9	17,1 ^b ±3,5	12,6 ^b ±3,3
	r	24,2 ^a ±2,6	13,4 ^b ±2,7	9,1 ^b ±2,0	6,7 ^b ±1,8
Ngày 4	d	55,5 ^a ±2,1	33,6 ^b ±5,8	27,7 ^b ±5,6	24,7 ^b ±5,8
	r	38,3 ^a ±4=3,9	21,7 ^b ±4,1	17,5 ^b ±3,6	14,1 ^b ±3,3
Ngày 5	d	70,5 ^a ±2,1	44,1 ^b ±7,4	37,3 ^b ±7,5	30,7 ^b ±7,1
	r	47,0 ^a ±4,6	28,6 ^b ±5,5	26,4 ^b ±5,3	18,6 ^b ±4,3
Hiệu lực ức chế sau 5 ngày (%)	d	-	37,4	47,1	56,5
	r	-	39,1	43,8	60,4

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,05$.

Potassium phosphonate là một chất ambimobile có thể vận chuyển đi lên hay xuống trong hệ thống xylem và phloem thực vật nói chung, cây tiêu nói riêng (Kumar *et al.*, 2009). Potassium phosphonate là phosphonate hay axit phosphonic đó là thành phần hoạt động chống lại các tác nhân gây bệnh và có hiệu quả chống lại các bệnh trên cây do nhiều loài *Phytophthora* gây ra (Geust and Grant, 1991). Cây được xử lý phosphonate kích thích sự sinh tổng hợp ethylene, phenylalanyl ammonia, lignin tăng sự tích lũy phytoalexin, các hợp chất này có vai trò quan trọng trong việc nâng cao tính

kháng bệnh của cây trồng, lúc này cây được xử lý phosphonate phản ứng như cây kháng bệnh. Do bản chất của hợp chất phosphonate và sự chuyển hóa nhanh chóng, nó có khả năng bảo vệ các mô thực vật và các cơ quan khác. Vì vậy chúng đã được sử dụng để chống lại các bệnh hại do *Phytophthora* cho nhiều loại cây trồng như bơ, cam quýt, sầu riêng, nhãn... bằng kỹ thuật tiêm thuốc vào hệ thống mạch dẫn của thân cây gỗ (Diczbalis *et al.*, 2004) hay cây hồ tiêu bằng tưới gốc và ngâm rễ (Truong *et al.*, 2012). Kết quả này cũng chỉ ra rằng potassium phosphonate tiêm vào thân cây tiêu có thể

là một phương pháp hữu hiệu cho phòng trừ bệnh chết nhanh, bởi phương pháp này sẽ hạn chế được sự tổn kém và lãng phí thuốc so với biện pháp tưới gốc, ngâm rễ hay phun lên lá rất.

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Potassium phosphonate có khả năng hạn chế sự sinh trưởng của tản nấm *Phytophthora capsici* khi nuôi cấy trên môi trường PDA. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của phương pháp tiêm potassium phosphonate đến sinh trưởng cây hồ tiêu trong điều kiện nhà lưới cho thấy phương pháp tiêm thích hợp cho cây hồ tiêu 1 năm tuổi là bằng syringe 1 cc với mũi tiêm thứ y 16 cắt ngắn còn 5 mm. Ở nồng độ potassium phosphonate 10% có khả năng kháng lại sự nhiễm bệnh do *P. capsici* gây ra và không gây ra ngộ độc cho cây. Tiến hành áp dụng thí nghiệm tiêm thuốc potassium phosphonate cho cây hồ tiêu trên đồng ruộng để đánh giá hiệu quả phòng trừ bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Anil Kumar, R., Vasu, K., Velayudhan, K.T., Ramachandran, V., Suseela Bhai, R. and Unnikrishnan, G. (2009). Translocation and distribution of ³²P labelled potassium phosphonate in black pepper (*Piper nigrum* L). *Crop Prot.* 28: 878 - 881.
- Diczbalis, Y., Vawdrey, L., Alvero, G., Campagnolo, D., Huynh Van, T., Mai Van, T., Binh, L. N., Binh, N. T. T., Tan, H. V., Nguyen Minh, C., O'Gara, E., and Guest, D. I. (2004). Diversity and management of *Phytophthora* in Southeast Asia. A. Drenth and D. I. Guest, editors. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research. Durian tree phenology and the control of *Phytophthora* diseases of durian using phosphonate trunk injection; p. 206 - 216.
- Erwin, D.C., Ribeiro O.K. (1996). *Phytophthora diseases worldwide*. APS Press: St.paul, Minn.
- Guest, D., and Grant, B. (1991). The complex action of phosphonates as antifungal agents. *Biol. Rev.* 66 (2):159 - 187.
- Hiệp hội Hồ tiêu Việt Nam (2018). Thống kê hồ tiêu qua các năm. <http://peppervietnam.com/thong-ke-ho-tieu-qua-cac-nam-2> (verified 6 Aug 2018).
- International Pepper Community (IPC) (2018). Vietnam. http://www.ipcnet.org/index_n.php (verified 6 Aug 2018).
- Nguyen Vinh Truong, Lester W. Bugess and Edward C.Y. Liew (2012). Greenhouse and field evaluations of potassium phosphonate: the control of *Phytophthora* foot rot of black pepper in Vietnam. *Arch. Phyto. and Plant Prot.* 45: 724 - 739.
- Nguyễn Vĩnh Trường (2013). Quy trình quản lý tổng hợp bệnh chết nhanh và bệnh chết chậm hồ tiêu ở Quảng Trị. Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội.
- Nguyễn Vĩnh Trường (2018). *Bệnh Phytophthora thối gốc rễ hồ tiêu*. Bệnh hại cây trồng Việt Nam (Chủ biên: Vũ Triệu Mân, Nguyễn Văn Tuất, Bùi Cách Tuyến, Phạm Văn Kim). NXB. Học viện Nông nghiệp Việt Nam, Trang: 430 - 438.
- Vinh Truong Nguyen, Khanh Van Tran Quang and Ngoc Quyen Tran (2018). Effect of oligochitosan - coated silver nanoparticles (OCAgNPs) on the growth and reproduction of three species *Phytophthora* in vitro. *Arch. Phyto. and Plant Prot.* 51 (5 - 6): 227 - 240. <https://doi.org/10.1080/03235408.2018.1458394>.

* **Lời cảm ơn:** Các tác giả xin chân thành cảm ơn Đại học Huế đã tài trợ kinh phí cho nghiên cứu này thông qua đề tài "Nghiên cứu phương pháp tiêm potassium phosphonate cho cây hồ tiêu để phòng trừ bệnh chết nhanh (*Phytophthora capsici*)" DHH2009-02-114.

KẾT QUẢ ĐIỀU TRA THÀNH PHẦN BỆNH HẠI LÚA VÀ NGÔ TRÊN ĐỒNG RUỘNG VÀ SAU THU HOẠCH TẠI MỘT SỐ VÙNG SINH THÁI CỦA VIỆT NAM

Nguyễn Văn Tuất¹, Nguyễn Văn Liêm² et al.

¹Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

²Viện Bảo vệ thực vật

ABSTRACT

Results of the investigation of rice and maize diseases in the field and post - harvest in some ecological regions of Vietnam

*This paper presents the results of surveys on updating disease components in rice and maize under field and post - harvest conditions at some locations representing seven (7) ecological regions, which is including the Northern Mountains and the Red River Delta, North Central, South Central, Central Highlands, Southeast and Mekong River Delta. The survey results in 2012 - 2017 have identified 37 rice diseases, of which there four (4) common and dangerous diseases on rice, including rice blast (*Pyricularia grisea*), sheath blight (*Rhizoctonia solani*), leaf blight (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) and brown spots (*Bipolaris oryzae*) in the field. In post - harvest conditions common diseases are brown spots (*Bipolaris oryzae*, *Curvularia* sp.), gray spots (*Alternaria padwickii*) and pink mold (*Fusarium moniliforme*).*

*On maize, there seventeenth (17) maize diseases have been identified, of which common diseases and high risk of diseases include sheath blight (*Rhizoctonia solani*), small leaf spot (*Bipolaris maydis*), large leaf spot (*Exerohilum turcicum*) and rust (*Puccinia sorghi*) in the field. Common diseases in post - harvest conditions are pink mold and black mold.*

Keywords: Rice, maize, diseases, ecological areas, post - harvest.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâu bệnh hại cây trồng nói chung, đặc biệt là sâu bệnh hại trên các cây trồng nông nghiệp có ý nghĩa kinh tế luôn luôn là yếu tố cản trở sự phát triển của sản xuất cây trồng nông nghiệp. Trong những năm gần đây ngành sản xuất lúa gạo đã có

những chuyển biến đáng kể, như mở rộng thị phần giống lúa chất lượng cao, tăng diện tích lúa thuần, áp dụng các biện pháp quản lý dịch hại tổng hợp, đa dạng hóa cây trồng luân canh với sản xuất lúa,... Đối với cây ngô: Diện tích trồng ngô có xu hướng giảm do sự cạnh tranh về giá thành sản xuất của ngô cao hơn so với sản phẩm nhập nội. Nguyên nhân chính là do

Người phân biên: PGS.TS. Nguyễn Văn Việt.

chi phí sản xuất quá cao, tỷ lệ áp dụng cơ giới hóa thấp, sâu bệnh nhiều,...

Việc tổ chức lại sản xuất, đầu tư thâm canh tăng năng suất, chuyển đổi cơ cấu cây trồng, sử dụng nhiều giống cây trồng mới và áp dụng các thành tựu khoa học kỹ thuật đã làm thay đổi rõ rệt thành phần sâu bệnh hại trên nhiều loại cây trồng ở các vùng sinh thái khác nhau ở Việt Nam, trong đó có cây lúa và ngô. Những thay đổi này cùng với những tác động của biến đổi khí hậu đã dẫn đến sự bùng phát thành dịch trên diện rộng của một số sâu bệnh hại trên lúa như bệnh virus lúa vàng lùn, lùn xoắn lá, bệnh virus lúa lùn sọc đen phương Nam, bệnh đạo ôn có chiều hướng bùng phát trở lại ở nhiều vùng trong cả nước, đặc biệt là ở một số vùng có thành phần nòi nấm gây bệnh đạo ôn cao. Qui luật phát sinh và gây thành dịch cũng thay đổi không theo qui luật, như bệnh bạc lá lúa xuất hiện quanh năm, ở nhiều vùng. Trên cây ngô hiện đang có nguy cơ do sâu keo mùa thu gây hại và các biện pháp phòng chống hiệu quả chưa được nghiên cứu, kể cả sử dụng thuốc hóa học bảo vệ thực vật.

Để củng cố và bổ sung Danh lục sâu bệnh hại lúa và ngô phục vụ sản xuất bền vững lúa, ngô - hai loại cây trồng ngũ cốc quan trọng của nước ta, nhóm nghiên cứu của Viện Bảo vệ thực vật đã tiến hành điều tra thu thập mẫu, phân lập và giám định tên khoa học của các loại bệnh ghi nhận được trên lúa và ngô trong điều kiện đồng ruộng và sau thu hoạch. Kết quả này có tác dụng giúp cán bộ kỹ thuật địa phương có thể xác định được chính xác đối tượng sâu bệnh hại, từ đó triển khai công tác bảo vệ thực vật một cách nhanh chóng, an toàn và hiệu

quả. Bài báo này trình bày kết quả điều tra thành phần sâu bệnh hại lúa, ngô ở một số địa phương đại diện của nước ta. Mục tiêu của đề tài là cập nhật, điều tra xác định thành phần bệnh hại lúa, ngô trên đồng ruộng và sau thu hoạch ở một số địa phương của nước ta.

II. NỘI DUNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung

Điều tra thu thập giám định thành phần sinh vật hại trên cây lúa, ngô và sản phẩm lúa gạo, ngô sau thu hoạch, đánh giá mức độ xuất hiện, nguy cơ gây hại của chúng theo các vùng đại diện.

2.2. Vật liệu

Các giống lúa, ngô phổ biến trong sản xuất, các đối tượng bệnh hại lúa, ngô; trang thiết bị và dụng cụ cần thiết cho thu thập mẫu, phân tích mẫu, giám định và bảo quản mẫu bệnh hại lúa, ngô,...

2.3. Phương pháp điều tra

Điều tra thành phần các loài bệnh hại trên cây lúa và sản phẩm sau thu hoạch được tiến hành theo phương pháp của Viện Bảo vệ thực vật (1997) và Quy chuẩn Kỹ thuật Quốc gia về Phương pháp điều tra, phát hiện dịch hại cây trồng QCVN 01-38 của Bộ Nông nghiệp và PTNT năm 2010.

** Phương pháp điều tra, thu thập bệnh hại trên các cây trồng và sản phẩm sau thu hoạch:*

- Chọn ruộng điều tra: Đại diện cho vùng sản xuất và các yếu tố giống, thời vụ và mức độ thâm canh.

- Cách điều tra: Mỗi ruộng điều tra 5 điểm (5 cây/điểm) theo hai đường chéo góc.

- Đánh giá tác hại: (Tổng số cây, lá, quả bị hại/Tổng số cây điều tra) × 100.

- Đánh giá mức độ phổ biến của bệnh theo thang 4 cấp:

-: Rất thấp với độ bắt gặp < 5% cây (bộ phận) bị bệnh;

+: Thấp với độ bắt gặp > 5 - 10% cây (bộ phận) bị bệnh;

++: Trung bình với độ bắt gặp 11 - 25% cây (bộ phận) bị bệnh;

+++: Nhiều với độ bắt gặp 26 - 50% cây (bộ phận) bị bệnh;

++++: Rất nhiều với độ bắt gặp > 50% cây (bộ phận) bị bệnh.

- Cách thu mẫu: Thu thập tất cả các loại triệu chứng bị hại trên đồng ruộng, bảo quản trong túi giấy hoặc túi nylon, sau đó phân lập trong phòng thí nghiệm để xác định tác nhân gây bệnh.

** Phương pháp giám định bệnh hại:*

- Quan sát vi sinh vật gây bệnh dưới kính hiển vi.

- Phân lập và nuôi cấy vi khuẩn, nấm theo các phương pháp chung.

- Xác định tác nhân gây bệnh thực vật theo một số tài liệu như: Đặng Vũ Thị Thanh và Hà Minh Trung (1999, 2001);, Đặng Vũ Thị Thanh và *nnk.* (2001, 2006); Nguyễn Vũ Thanh (2002); Nguyễn Vũ Thanh và *nnk.* (1983); Trịnh Tam Kiệt và *nnk.* (2001); Barnett và Hunter (1998); Bradbury (1986); Braun (1987, 1995, 1998); Brunt *et al.* (1996); Burgess và Nelson (1983); Burgess *et al.* (1994);

Crous và Braun (2003); Cummins và Hiratsuka (1996); Ellis (1971, 1976); Erwin và Ribeiro (1996); Hanlin (1992); Roger (1951, 1953, 1954); Robert và Gunnell (1992 a, b); Sutton (1980, 1992); Singh *et al.* (1991); Waterhouse (1968);...

- Đối với mẫu bệnh do virus và phytoplasma gây ra thì sử dụng phương pháp giải mã gene đặc trưng.

- Xử lý mẫu thực vật theo các phương pháp ép khô, giữ tiêu bản màu xanh. Lưu giữ trong hộp kính hay trong phong bì. Làm tiêu bản lamên mẫu nấm.

- Lưu giữ các vi sinh vật gây trên tiêu bản lam, trên giấy khô chân không và trong dầu khoáng.

** Địa điểm điều tra, thu thập mẫu bệnh hại lúa, ngô:*

- Điều tra các đối tượng bệnh hại lúa, ngô trên địa bàn 3 xã/huyện, 3 huyện/tỉnh, 3 tỉnh đại diện cho mỗi vùng sinh thái, 7 vùng sinh thái điều tra bao gồm: Miền núi phía Bắc, Đồng bằng sông Hồng, Bắc Trung Bộ, Nam Trung Bộ, Tây Nguyên, Đông Nam Bộ và Đồng bằng sông Cửu Long.

2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng Microsoft Excel và chạy thống kê bằng phần mềm SPSS 16.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sinh vật gây bệnh hại trên cây lúa và thóc bảo quản sau thu hoạch

Trong năm 2012 và 2013 đã tiến hành điều tra thu thập thành phần bệnh hại ở các vùng sinh thái Trung du miền núi Bắc Bộ (Lai Châu, Điện Biên, Sơn La, Hòa

Bình, Bắc Kạn, Phú Thọ, Thái Nguyên, Lạng Sơn, Quảng Ninh); Đồng bằng sông Hồng (Vĩnh Phúc, Hà Nội, Bắc Ninh, Hưng Yên, Hải Dương, Hải Phòng, Thái Bình, Nam Định); Duyên hải Bắc Trung Bộ (Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Tĩnh, Thừa Thiên Huế); Duyên hải Nam Trung Bộ (Quảng Nam, Quảng Ngãi, Bình Định, Phú Yên, Khánh Hòa); Tây Nguyên (Đắk Lắk, Đắk Nông, Lâm Đồng); Đông Nam Bộ (Ninh Thuận, Bình Thuận, Tây Ninh, Bình Phước, Tp. Hồ Chí Minh, Đồng Nai, Bà Rịa Vũng Tàu); Đồng bằng sông Cửu Long (Long An, Tiền Giang, Bến Tre, Vĩnh Long, Tp. Cần Thơ). Kết quả điều

tra thành phần bệnh hại lúa trước thu hoạch và trong bảo quản được trình bày trong Bảng 1.

Đợt điều tra trong năm 2012 - 2013 đã ghi nhận sự hiện diện và gây hại của 37 loại bệnh hại trên cây lúa và thóc bảo quản sau thu hoạch. Các tác nhân gây bệnh trên cây lúa thuộc 7 họ của 5 bộ nấm, 3 họ của 3 bộ vi khuẩn, 2 họ thuộc 2 bộ virus thực vật và 2 họ thuộc 2 bộ tuyến trùng hại thực vật. Trong đó, bộ nấm Hyphales có số loài gây hại nhiều nhất (15 loài), tiếp theo là bộ nấm Agonomycetales (7 loài), các bộ còn lại chỉ có từ 1 - 3 loài gây hại (Bảng 1).

Bảng 1. Thành phần bệnh hại trên lúa và thóc bảo quản sau thu hoạch đã thu thập được (điều tra năm 2012 - 2013)

STT	Tên bộ	Tổng số loài thu được	Số loài đã giám định được	Số loài chưa giám định được
1	Agonomycetales	7	7	0
2	Hyphales	15	15	0
3	Hypocreales	3	2	0
4	Ustilaginales	1	1	0
5	Sphaeriales	1	1	0
6	Burkholderiales	1	1	0
7	Pseudomonadales	1	1	0
8	Xanthomonadales	2	2	0
9	Unassigned	3	3	0
10	Mononegavirales	1	1	0
11	Apelenchida	1	1	0
12	Tylenchida	1	1	0
Tổng số		37	37	0

Danh lục của 37 bệnh hại lúa và thóc bảo quản sau thu hoạch được trình bày trong Bảng 2, trong đó có 24 bệnh gây hại trên cây lúa trước thu hoạch và 13 bệnh gây hại trên thóc bảo quản sau thu hoạch. Các bệnh phổ biến trên cây lúa có mức độ phổ biến từ trung bình (++) đến nhiều

(+++), và gây hại nguy hiểm gồm bệnh đạo ôn *Pyricularia grisea* Carava, bệnh khô vằn *Rhizoctonia solani* Kuhn, bệnh bạc lá *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Ishiyama Dye, tiêm lửa *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker. Các bệnh còn lại chỉ bắt gặp ở mức ít (+) đến trung

bình (++)). Trên thóc bảo quản các bệnh có mức độ phổ biến từ trung bình (++) đến nhiều (+++) gồm bệnh đốm xám *Alternaria padwickii* (Ganguly) Ellis, đốm nâu *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker, mốc đen hạt *Curvularia* sp., mốc hồng *Fusarium moniliforme* Sheldon (Bảng 2).

Bảng 2. Danh lục thành phần loài bệnh hại lúa và thóc bảo quản sau thu hoạch (điều tra năm 2012 - 2013)

STT	Tên tiếng Việt	Tên khoa học	Bộ phận bị hại	Mức độ phổ biến
Trước thu hoạch				
Bộ Agonomycetales				
Họ Agonomycetaceae				
1*	Khô vằn	<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn	Thân, lá	+++
2	Thối hạch	<i>Sclerotium oryzae</i> Cattaneo	Thân	+
Họ Dematiaceae				
3	Bông lá	<i>Alternaria padwickii</i> Ellis	Lá, hạt	++
4*	Tiêm lửa	<i>Bipolaris oryzae</i> (Breda de Haan) Shoemaker	Lá, hạt	+++
5	Khô lá mạ	<i>Cercospora oryzae</i> Miyake	Lá	+
6	Chấm nâu	<i>Curvularia lunata</i> (Wakkek) Boed	Lá, hạt	++
7	Đốm nâu xám	<i>Nigrospora oryzae</i> (Berkely et Broome) Petch	Lá, hạt	+
Bộ Hyphales				
Họ Moniliaceae				
8*	Đạo ôn	<i>Pyricularia grisea</i> Carava	Lá, thân, cổ bông, cổ gié, hạt	+++
9	Sheath rot	<i>Sarocladium oryzae</i> Sawada	Bẹ lá đòng, hạt	+
Họ Tuberculariaceae				
10	Lúa von	<i>Fusarium moniliforme</i> Sheldon	Toàn cây	+
11	Mốc hồng	<i>Fusarium</i> sp.	Hạt	+
Bộ Hypocreales				
Họ Hypocreaceae				
12	Hoa cúc	<i>Ustilaginoidea virens</i> (Cooke) Takahashi	Bông, hạt	+
Bộ Sphaeriales				
Họ Gnomoniaceae				
13	Bông lá	<i>Microdochium oryzae</i> Samuels et Hallett	Lá	+
Bộ Ustilaginales				
Họ Tilletiaceae				

STT	Tên tiếng Việt	Tên khoa học	Bộ phận bị hại	Mức độ phổ biến
14	Than đen hạt	<i>Tilletia barclayana</i> (Bref.) Sacc. & Syd.	Hạt	+
Bộ Burkholderiales				
Họ Burkholderiaceae				
15	Thối hạt	<i>Ralstonia glumea</i>	Hạt	+
Bộ Pseudomonadales				
Họ Pseudomonadaceae				
16	Thối nâu bẹ	<i>Pseudomonas fuscovaginae</i> Miyajima	Bẹ lá	+
Bộ Xanthomonadales				
Họ Xanthomonadaceae				
17*	Bạc lá	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> Ishiyama Dye	Lá	++++
18	Sọc lá vi khuẩn	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzicola</i> Fang	Lá	+
Bộ Unassigned				
Họ Reoviridae				
19*	Lùn xoắn lá	Rice ragged stunt virus (RRSV)	Toàn cây	+
20*	Lúa cỏ (vàng lùn)	Rice grassy stunt virus (RGSV)	Toàn cây	+
21*	Lùn sọc đen Phương Nam	Southern rice black - streaked dwarf virus (SRBSDV)	Toàn cây	+
Virus - Họ Rhabdoviridae				
22	Vàng lụi (Vàng lá di động)	Rice yellow stunt virus (RYSV)	Toàn cây	+
Bộ Apelenchida				
Họ Aphelenchoididae				
23	Trắng đầu lá lúa	<i>Aphelenchoides besseyi</i> Christie	Lá	+
Bộ Tylenchida				
Họ Heteroderidae				
24	Nốt sần rễ	<i>Meloidogyne graminicola</i> Gooden et Bich	Rễ	+
Sau thu hoạch				
Bộ Hyphales				
Họ Dematiaceae				
25	Đốm xám	<i>Alternaria padwickii</i> (Ganguly) M.B Ellis	Hạt	++
26*	Đốm nâu	<i>Bipolaris oryzae</i> (Breda de Haan) Shoemaker	Hạt	+ ++

STT	Tên tiếng Việt	Tên khoa học	Bộ phận bị hại	Mức độ phổ biến
27	Mốc xám	<i>Cladosporium</i> sp.	Hạt	+
28	Đốm nâu	<i>Curvularia</i> sp.	Hạt	++
Họ Moniliaceae				
29	Mốc vàng	<i>Aspergillus flavus</i> Link	Hạt	+
30	Mốc xám lục	<i>Aspergillus fumigatus</i> Fries.	Hạt	+
31	Mốc đen	<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem	Hạt	+
32	Nấm mốc	<i>Aspergillus ochraceus</i> Wilhelm	Hạt	+
33	Mốc xanh	<i>Penicillium</i> sp.	Hạt	+
34	Đạo ôn	<i>Pyricularia oryzae</i> Br. Et Car.	Hạt	+
Họ Tuberculariaceae				
35*	Mốc hồng	<i>Fusarium moniliforme</i> Sheldon	Hạt	++
Bộ Hypocreales				
Họ Hypocreaceae				
36	Hoa cúc	<i>Ustilaginoidea virens</i> (Cooke) Takahashi	Hạt	+
Bộ Ustilaginales				
Họ Tilletiaceae				
37	Than đen hạt	<i>Tilletia barclayana</i> (Bref.) Sacc. & P.Syd	Hạt	+

3.2. Sinh vật gây bệnh hại trên cây ngô và ngô hạt bảo quản sau thu hoạch

Trong năm 2012 - 2013, việc điều tra thành phần bệnh hại trên cây ngô trước thu hoạch và ngô hạt bảo quản sau thu hoạch đã được thực hiện ở các vùng sinh thái Trung du miền núi Bắc Bộ (Lai Châu, Điện Biên, Sơn La, Hòa Bình, Bắc Kạn, Phú Thọ, Thái Nguyên, Lạng Sơn, Quảng Ninh); Đồng bằng sông Hồng (Vĩnh Phúc, Hà Nội, Hưng Yên, Hải Dương, Hải Phòng, Thái Bình, Nam Định); Duyên hải Bắc Trung Bộ (Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Tĩnh, Thừa Thiên Huế); Duyên hải Nam Trung Bộ (Đà Nẵng, Quảng Nam, Quảng Ngãi, Bình Định, Phú Yên, Khánh Hòa);

Tây Nguyên (Đắk, Lắk, Đắk Nông, Lâm Đồng); Đông Nam Bộ (Đồng Nai, Tp. Hồ Chí Minh, Bà Rịa Vũng Tàu); và Đồng bằng sông Cửu Long (Tiền Giang). Kết quả điều tra thành phần sâu hại, bệnh hại và thiên địch sâu hại ngô được trình bày trong Bảng 3.

Trong các năm 2012 - 2013, kết quả điều tra thành phần bệnh hại trên ngô mới chỉ xác định được 17 loại bệnh hại thuộc 9 họ của 7 bộ nấm gây bệnh thực vật, 2 họ thuộc 2 bộ vi khuẩn hại thực vật và 1 họ thuộc bộ virus Unassigned. Trong đó bộ nấm Hyphales có số lượng loài gây hại là nhiều nhất (7 loài), các bộ còn lại chỉ có từ 1 - 2 loài đại diện (Bảng 3).

Bảng 3. Thành phần bệnh hại trên ngô trước và sau thu hoạch đã thu thập được (điều tra năm 2012 - 2013)

STT	Tên bộ	Tổng số loài thu được	Số loài đã giám định được	Số loài chưa giám định được
1	Agonomycetales	1	1	0
2	Hyphales	7	7	0
3	Pleosporales	2	2	0
4	Pucciniales	1	1	0
5	Sclerosporales	1	1	0
6	Ustilaginales	1	1	0
7	Mucorales	1	1	0
8	Enterobacteriales	1	1	0
9	Pseudomonadales	1	1	0
10	Unassigned	1	1	0
Tổng số		17	17	0

Danh lục của 17 loại bệnh hại trên ngô trước và sau thu hoạch được trình bày trong Bảng 4, trong đó có 10 loại bệnh gây hại trên cây ngô và 7 loại bệnh hại trên hạt ngô trong khu vực bảo quản. Trên cây ngô trước thu hoạch, các loại bệnh khô vằn *Rhizoctonia solani* Kühn, đốm lá nhỏ *Bipolaris maydis* Pas, đốm lá lớn *Exerohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs và gỉ sắt *Puccinia sorghi* Schwein là các bệnh hại phổ biến và chủ yếu ở hầu khắp các vùng trồng ngô được điều tra, với mức độ phổ biến của bệnh từ trung bình (++) đến rất nhiều (++++). Trên ngô hạt bảo quản sau thu hoạch, các bệnh mốc hồng *Fusarium moniliforme* Sheld, mốc đen *Aspergillus niger* Van Tieghem có

mức độ gây hại từ trung bình (++) đến phổ biến (+++) (Bảng 4). Kết quả điều tra năm 1967 - 1968 và năm 1977 - 1978 của Viện Bảo vệ thực vật đã ghi nhận có 32 loại bệnh gây hại trên ngô ở các tỉnh miền Bắc (trong đó có 26 bệnh nấm) và 20 loại bệnh gây hại ngô ở các tỉnh miền Nam (trong đó có 11 bệnh nấm). Theo điều tra gần đây, những bệnh hại chủ yếu trên ngô ở nước ta gồm bệnh khô vằn (*Rhizoctonia solani*), bệnh đốm lá lớn (*Exerohilum turcicum*), đốm lá nhỏ (*Bipolaris maydis*) và gỉ sắt (*Puccinia sorghi*) (Danh mục sâu, bệnh hại cây trồng ở Việt Nam, 2005). Như vậy, kết quả điều tra năm 2012 - 2013 một lần nữa đã khẳng định nhận xét nêu trên.

Bảng 4. Danh lục thành phần loài bệnh hại trên ngô trước và sau thu hoạch (điều tra năm 2012 - 2013)

STT	Tên tiếng Việt	Tên khoa học	Bộ phận bị hại	Mức độ phổ biến
Trước thu hoạch				
Bộ Agonomycetales				
Họ Agonomycetaceae				
1*	Khô vằn	<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn	Lá, bẹ lá, bắp	++ đến +++
Bộ Hyphales				
Họ Tuberculariaceae				
2*	Mốc hồng	<i>Fusarium verticillioides</i> (Saccardo) Nirenberg	Lá, thân, hạt	++
Bộ Pleosporales				
Họ Pleosporaceae				
3*	Đốm lá nhỏ	<i>Bipolaris maydis</i> Pas	Lá	++
4*	Đốm lá lớn	<i>Exserohilum turcicum</i> (Pass.) Leonard & Suggs	Lá	++
Bộ Pucciniales				
Họ Pucciniaceae				
5*	Gỉ sắt	<i>Puccinia sorghi</i> Schwein	Lá, bẹ lá, bắp	++ đến +++
Bộ Sclerosporales				
Họ Sclerosporaceae				
6	Bạch tạng	<i>Sclerospora maydis</i> Bult & Bisby	Lá	+
Bộ Ustilaginales				
Họ Ustilaginaceae				
7	Ung thư	<i>Ustilago maydis</i> (D.C.) Codra	Bắp	+
Bộ Enterobacteriales				
Họ Enterobacteriaceae				
8	Thối thân vi khuẩn	<i>Erwinia carotovora</i> (Jones) Bergey	Thân, lá	+
9	Cháy lá	<i>Pseudomonas avenae</i> Manns	Thân, lá	+
Virus				
Họ Reoviridae				
10	Lùn sọc đen Phương Nam	Southern rice black - streaked dwarf virus (SRBSDV)	Toàn cây	+

STT	Tên tiếng Việt	Tên khoa học	Bộ phận bị hại	Mức độ phổ biến
Sau thu hoạch				
Bộ Hyphales				
Họ Dematiaceae				
11	Mốc	<i>Curvularia</i> sp.	Hạt	+
Họ Moniliaceae				
12	Mốc vàng	<i>Aspergillus flavus</i> Link	Hạt	+
13*	Mốc đen	<i>Aspergillus niger</i> Van Tieghem	Hạt	+++
14	Mốc xanh	<i>Penicillium</i> sp.	Hạt	+
15	Mốc (Khô sọc lá)	<i>Cladosporium</i> sp.	Hạt	+
Họ Tuberculariaceae				
16*	Mốc hồng	<i>Fusarium verticillioides</i> (Saccardo) Nirenberg	Hạt	++
Bộ Mucorales				
Họ Mucoraceae				
17	Mốc	<i>Rhizopus</i> sp.	Hạt	+

IV. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

4.1. Kết luận

- Thành phần bệnh hại trên lúa, ngô trên đồng ruộng và sau thu hoạch đã được xác định trong đợt điều tra năm 2012 - 2017. Đã giám định được tên khoa học của 37 loại bệnh trên lúa, trong đó có 24 loài bệnh hại lúa trên đồng ruộng và 13 loại bệnh trong bảo quản. Có 4 bệnh phổ biến cao và gây hại nguy hiểm trên lúa gồm bệnh đạo ôn *Pyricularia grisea* Carava, bệnh khô vằn *Rhizoctonia solani* Kuhn, bệnh bạc lá *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Ishiyama Dye, tiêm lửa *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker. Các loại bệnh phổ biến trong bảo quản sau thu hoạch là bệnh đốm nâu do *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker, đốm nâu do *Curvularia* sp., đốm xám *Alternaria padwickii* (Ganguly)

M.B Ellis và mốc hồng *Fusarium moniliforme* Sheldon.

- Trên ngô đã xác định được 17 loại bệnh hại trên ngô trước và sau thu hoạch, trong đó có 10 loại bệnh gây hại trên cây ngô, trong đó các loại bệnh gây hại nặng và phổ biến nhất bao gồm: bệnh khô vằn *Rhizoctonia solani* Kühn, đốm lá nhỏ *Bipolaris maydis* Pas, đốm lá lớn *Exerohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs và bệnh gỉ sắt *Puccinia sorghi* Schwein. Xác định được 7 loại bệnh hại trên hạt ngô trong khu vực bảo quản, trong đó bệnh mốc hồng *Fusarium moniliforme* Sheld, mốc đen *Aspergillus niger* Van Tieghem là phổ biến và gây hại nặng.

4.2. Đề nghị

Sử dụng các kết quả điều tra xác định thành phần bệnh hại trên lúa, ngô làm tài liệu tham khảo cho công tác nghiên cứu,

chỉ đạo phòng trừ bệnh hại trong sản xuất lúa, ngô ở nước ta.

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. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (2010). Danh lục sinh vật hại trên một số cây trồng và sản phẩm cây trồng sau thu hoạch ở Việt Nam (Điều tra 2006 - 2010). NXB Nông nghiệp. 1187 trang.
3. Hà Minh Trung, Lê Văn Thuyết và Đặng Vũ Thị Thanh (1999). Kết quả điều tra bệnh cây ở các tỉnh phía Nam 1977 - 1979. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
4. Viện Bảo vệ thực vật (1975). Kết quả điều tra bệnh cây 1967 - 1968. NXB Nông thôn.
5. Viện Bảo vệ thực vật (1977). Phương pháp nghiên cứu bảo vệ thực vật. Tập I: Phương pháp điều tra cơ bản dịch hại nông nghiệp và thiên địch của chúng. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
6. Viện Bảo vệ thực vật (1999a). Kết quả điều tra bệnh cây tại các tỉnh phía Nam. NXB Nông nghiệp Hà Nội.
7. Viện Bảo vệ thực vật (1999b). Kết quả điều tra côn trùng và bệnh cây ăn quả ở Việt Nam. NXB Nông nghiệp Hà Nội.
8. Barnett, H.L. and Hunter, B.B. (1998). Illustrated genera of imperfect fungi. 217 pp. 4th ed., The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA.
9. Bradbury J.F. (1986). Guide to plant pathogenic bacteria, CAB International Mycological Institute, Kew, Surrey, UK. 632 pp.
10. Braun, U. (1998). A monograph of Cercospora, Ramularia and allied genera (Phytopathogenic Hyphomycetes), Vol 2. Pub. IHW - Verlag Eching bei München. 493 pp.
11. Brunt, A.A., Crabtree, K., Dallwitz, M.J., Gibbs, A.J. and Watson, L. (1996). Viruses of Plants - Descriptions and lists from the VIDE database. CABI.
12. Burgess, L.W., Summerell, B.A., Bullock, S., Gott, K.P. and Backhouse, D. (1994). Laboratory manual for Fusarium research. University of Sydney Press, Australia. 133 pp.
13. Singh, K.C., Frisvad, J., Thrane, U. and Mathur, S.B. (1991). An illustrated manual on identification of some seed - borne Aspergilli, Fusaria, Penicillia and their Mycotoxins. Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries. Ryvangs Alle 78 DK - 2900 Hellerup, Denmark.

** Lời cảm ơn: Tác giả xin chân thành cảm ơn Chương trình nghiên cứu nông nghiệp Quốc tế Hàn Quốc - KOPIA Việt Nam đã tài trợ cho dự án này. Cảm ơn các cán bộ khoa học và quản lý đã tham gia, tư vấn và hỗ trợ cho dự án thành công.*

MỤC LỤC

- ❖ CHƯƠNG TRÌNH ĐẠI HỘI ĐẠI BIỂU HỘI NGHIÊN CỨU BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM LẦN THỨ NHẤT NHIỆM KỲ (2019 - 2024) iii
- ❖ BÁO CÁO QUÁ TRÌNH VẬN ĐỘNG THÀNH LẬP HỘI NGHIÊN CỨU BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM v
- ❖ ĐIỀU LỆ HỘI NGHIÊN CỨU BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM viii
- ❖ DỰ THẢO PHƯƠNG HƯỚNG HOẠT ĐỘNG CỦA HỘI NGHIÊN CỨU BỆNH HẠI THỰC VẬT VIỆT NAM NHIỆM KỲ 2019 - 2024 xxiv
- ❖ QUẢN LÝ BỀN VỮNG BỆNH VIRUS KHẢM LÁ KHOAI MÌ (CMV) BẰNG BIỆN PHÁP SỬ DỤNG GIỐNG KHÁNG BỆNH 27
Nguyễn Thơ
- ❖ ẢNH HƯỞNG CỦA BỆNH KHẢM LÁ VIRUS ĐẾN NĂNG SUẤT VÀ HÀM LƯỢNG TINH BỘT CỦA MỘT SỐ GIỐNG SẴN TẠI ĐÔNG NAM BỘ VÀ TÂY NGUYÊN 31
Nguyễn Hữu Hỷ, Phạm Thị Nhạn
- ❖ HIỆU QUẢ HẠN CHẾ BỆNH HÉO RŨ VÀ CẢI THIỆN NĂNG SUẤT LẠC CỦA DUNG DỊCH NANO BẠC 37
*Lê Như Cương, Nguyễn Thị Nhung
và Nguyễn Xuân Vũ*
- ❖ XÁC ĐỊNH MẪU *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC DỰA VÀO VIP3A 43
*Dương Kim Hà, Trần Thị Kim Oanh,
Trần Thị Hồng Nhung, Trương Phước Thiên Hoàng
Nguyễn Bảo Quốc, Lê Đình Đôn*
- ❖ NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG VÀ SINH TỔNG HỢP Cellulase CỦA MỘT SỐ CHỦNG *Bacillus* NỘI SINH TRÊN CÂY CÀ PHÊ 49
*Nguyễn Thị Hồng Hà, Đỗ Thị Gấm,
Nguyễn Thị Thu Hiền, Đỗ Tiến Phát,
Chu Hoàng Hà, Phạm Bích Ngọc*

- ❖ ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ CỦA CaO VÀ SiO₂ TRONG PHÒNG TRỪ BỆNH CHÁY LÁ DO VI KHUẨN *Xanthomonas* sp. TRÊN CÂY HÀNH LÁ Ở ĐIỀU KIỆN NHÀ LƯỚI VÀ NGOÀI ĐỒNG 57
Tạ Duy Hùng, Không Văn Phú Luân và Nguyễn Thị Thu Nga
- ❖ PHÂN LẬP VI KHUẨN ĐỐI KHÁNG VỚI NẤM *Colletotrichum* sp. GÂY BỆNH THÁN THƯ TRÊN ỚT TỪ ĐẤT TRỒNG LÚA Ở MỘT SỐ TỈNH ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG 69
Trần Gia Huy, Trần Âu Khánh Ngân Nguyễn Thị Kiều Anh, Nguyễn Thị Liên
- ❖ HIỆU QUẢ CỦA VI KHUẨN *Bacillus* sp. TRONG PHÒNG TRỊ BỆNH CHÁY BÌA LÁ LÚA DO VI KHUẨN *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Ở ĐIỀU KIỆN NGOÀI ĐỒNG TẠI THÀNH PHỐ CẦN THƠ 77
Võ Minh Luân, Trần Vũ Phấn
- ❖ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG PHÒNG TRỊ CỦA CÁC CHỦNG XẠ KHUẨN ĐỐI VỚI BỆNH HÉO RŨ TRÊN CÂY KHOAI LANG DO NẤM *Fusarium oxysporum* GÂY RA Ở ĐIỀU KIỆN NGOÀI ĐỒNG TẠI HUYỆN BÌNH TÂN, TỈNH VĨNH LONG 86
Đỗ Nguyễn Trường Đức Minh, Nguyễn Văn Tập Trần Văn Dũng và Lê Minh Tường
- ❖ ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ PHÒNG TRỊ CỦA THỰC KHUẨN THỂ VÀ THUỐC TRỪ VI KHUẨN ĐỐI VỚI BỆNH HÉO XANH DO *Ralstonia solanacearum* TRÊN CÂY HOA CÚC Ở ĐIỀU KIỆN NGOÀI ĐỒNG 98
Trần Thanh Tùng, Huỳnh Ngọc Tâm, Lê Uyển Thanh Lưu Thái Danh, Nguyễn Thị Thu Nga
- ❖ KIỂM SOÁT SINH HỌC BỆNH RỤNG LÁ CAO SU (CLFD) BẰNG VI KHUẨN *Bacillus amyloliquefaciens* 106
Nguyễn Bảo Quốc, Nguyễn Ngọc Bảo Châu Nguyễn Đoàn Nguyên Phương, Nguyễn Văn Minh Phạm Ngọc Giàu, Nguyễn Anh Nghĩa
- ❖ TUYỂN CHỌN CHẤT MANG ĐỂ TỒN TRỮ XẠ KHUẨN *Streptomyces albaduncus* ĐỐI KHÁNG VỚI NẤM *Fusarium oxysporum* GÂY BỆNH THỐI CỤ HÀNH TÍM 107
Nguyễn Quang Tiến, Nguyễn Thị Phi Oanh và Nguyễn Đắc Khoa

- ❖ SÀNG LỌC VÀ ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ ĐỐI KHÁNG CỦA XẠ KHUẨN ĐỐI VỚI NẤM *Corynespora cassiicola* TRÊN CÂY CAO SU

*Nguyễn Thị Thanh Trang, Nguyễn Anh Nghĩa
Vũ Thị Quỳnh Chi, Nguyễn Ngọc Mai
Nguyễn Thị Kim Uyên, Võ Thị Thu Oanh*

115
- ❖ NGHIÊN CỨU BỆNH NẤM *Fusarium* spp. HẠI NGÔ VỤ HÈ THU NĂM 2018 TẠI GIA LÂM, HÀ NỘI VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG TRỪ

Đỗ Tấn Dũng, Đỗ Trung Kiên

124
- ❖ MỘT SỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU BỆNH LỖ CỔ RỄ (*Rhizoctonia solani* Kühn) HẠI MỘT SỐ CÂY TRỒNG VỤ XUÂN NĂM 2019 TẠI GIA LÂM, HÀ NỘI VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG TRỪ

Đỗ Tấn Dũng, Đỗ Trung Kiên

132
- ❖ ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI CỦA NẤM *Corynespora cassiicola* GÂY BỆNH RỤNG LÁ CORYNESPORA TRÊN CÂY CAO SU Ở VIỆT NAM

*Nguyễn Đôn Hiệu, Nguyễn Anh Nghĩa
và Nguyễn Bảo Quốc*

140
- ❖ PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH MỘT SỐ LOÀI NẤM GÂY HẠI TRÊN SÂM NGỌC LINH

*Trần Thị Hoa, Nguyễn Thị Hồng Hà, Đỗ Tiến Phát
Lương Văn Hào, Phạm Bích Ngọc*

150
- ❖ HIỆU QUẢ ỨC CHẾ CỦA DỊCH TRÍCH CỎ HÔI, HÀNH LÁ, SỐNG ĐỜI ĐỐI VỚI SỰ PHÁT TRIỂN NẤM *Curvularia* sp. VÀ *Nigrospora* sp. PHÂN LẬP TỪ HẠT LÚA

Nguyễn Thanh Phong và Lê Thanh Toàn

158
- ❖ ĐIỀU TRA TÌNH HÌNH, MỨC ĐỘ GÂY HẠI CỦA BỆNH THỐI CỦ SẴN (*Phytophthium helicoides*) VÀ ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ PHÒNG TRỪ BỆNH TRÊN HAI MÔ HÌNH CANH TÁC TẠI TỈNH TÂY NINH

*Đào Duy Sang, Nguyễn Thanh Phong
Nguyễn Như Thanh, Võ Thị Thu Oanh*

165
- ❖ XÁC ĐỊNH SỰ HIỆN DIỆN ĐỘC TỐ ALTERNARIOL CỦA *Alternaria* spp. GÂY BỆNH ĐÓM NÂU TRÊN CÂY CHANH DÂY (*Passiflora edulis*)

*Lê Phạm Đoan Trang, Phan Thị Thu Hiền
Lê Tiểu Yến và Lê Đình Đôn*

174
- ❖ HIỆU QUẢ ỨC CHẾ CỦA DỊCH TRÍCH CỎ HÔI, CỎ CỨT HEO VÀ HÚNG CHANH ĐẾN SỰ PHÁT TRIỂN KHUẨN TY NẤM *Alternaria* sp. VÀ *Aspergillus* sp. PHÂN LẬP TỪ HẠT LÚA

Lê Huyền Thảo và Lê Thanh Toàn

182

- ❖ NGHIÊN CỨU HIỆU LỰC MỘT SỐ CHỦNG NẤM ĐỐI KHÁNG *Chaetomium* PHÒNG TRỪ BỆNH THÁN THU *Colletotrichum* HẠI CHÈ 189
*Nguyễn Văn Thiệp, Nguyễn Thị Kim Oanh
Nguyễn Huy Thịnh, Kasem Soyong*
- ❖ NGHIÊN CỨU PHÒNG TRỪ BỆNH THỐI HẠCH CẢI BẮP (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary.) BẰNG NẤM *Trichoderma asperellum* 197
Nguyễn Văn Viên
- ❖ ĐÁNH GIÁ TÍNH ĐỘC CỦA NẤM *Corynespora cassiicola* MANG GEN MÃ HÓA ĐỘC TỔ CASSICOLIN TRÊN MỘT SỐ DÒNG VÔ TÍNH CAO SU (*Hevea brasiliensis*) 206
*Nguyễn Phương Vinh, Nguyễn Anh Nghĩa
Nguyễn Bảo Quốc*
- ❖ HIỆU QUẢ CỦA NẤM NỘI SINH ĐỐI VỚI BỆNH ĐÓM NÂU (*Bipolaris oryzae*) TRÊN LÚA 213
Nguyễn Thị Thanh Xuân, Lý Lan Phương
- ❖ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG KIỂM SOÁT TUYẾN TRÙNG *Meloidogyne javanica* KÝ SINH HỒ TIÊU CỦA NẤM *Paecilomyces lilacinus* VÀ *Trichoderma harzianum* 220
*Phạm Thị Diệp, Nguyễn Thanh Phong
Nguyễn Vũ Phong*
- ❖ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG PHÒNG TRỊ CỦA CÁC CHỦNG XẠ KHUẨN ĐỐI VỚI BỆNH VÀNG LÁ THỐI RỄ TRÊN CÂY CÓ MÚI DO NẤM *Fusarium solani* GÂY RA Ở ĐIỀU KIỆN NGOÀI ĐỒNG TẠI HUYỆN CHÂU THÀNH A, TỈNH HẬU GIANG 226
*Nguyễn Cô Băng, Nguyễn Trường Sơn
Nguyễn Phú Dũng và Lê Minh Tường*
- ❖ CON SỐ VÀNG VÀ SỰ ĐÈ NHÁNH CỦA CÂY LÚA 237
Nguyễn Văn Biếu
- ❖ ĐẶC ĐIỂM SINH HÓA VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG NẤM GÂY BỆNH CÂY CỦA CAO CHIẾT LÁ CỎ TRANH, LÁ MUA VÀ DIỆP HẠ CHÂU ĐĂNG 241
*Nguyễn Đức Độ, Phạm Ngọc Cẩm,
Đặng Anh Quốc, Lưu Hồng Ngọc, Trương Hoàng Thiện,
Nguyễn Thị Phương Chăm, Nguyễn Thị Hồng Gấm,
Phan Thị Ngọc Ngà, Lê Thị Diễm Phương
và Phan Thị Trúc Quyên*

- ❖ ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ CỦA CHẾ PHẨM SINH HỌC TỪ VI KHUẨN *Bacillus* sp. TRONG QUẢN LÝ BỆNH ĐÓM NẤU DO NẤM *Neoscytalidium dimidiatum* TRÊN THANH LONG

Đỗ Hoàng Duy và Trần Vũ Phấn

249
- ❖ HIỆU QUẢ CỦA DỊCH TRÍCH NGHỆ (*Curcuma longa*) ĐẾN BỆNH THÁN THƯ DO NẤM *Colletotrichum capsici* TRÊN CÂY ỚT

Võ Thị Hương Dương, Huỳnh Văn Sáng

258
- ❖ TUYỂN CHỌN CHẤT MANG TẠO CHẾ PHẨM SINH HỌC CHỨA VI KHUẨN ĐỐI KHÁNG ĐỀ PHÒNG TRỪ BỆNH BẠC LÁ LÚA

Nguyễn Đắc Khoa

265
- ❖ PHÒNG TRỪ SINH HỌC BỆNH THỐI NHŨN HÀNH TÍM DO VI KHUẨN *Pseudomonas aeruginosa*

Nguyễn Đắc Khoa

272
- ❖ HIỆU QUẢ CỦA THỰC KHUẨN THỂ TRONG PHÒNG TRỊ BỆNH THỐI HẠT TRÊN LÚA DO VI KHUẨN *Burkholderia glumae* Ở ĐIỀU KIỆN NGOÀI ĐỒNG

*Nguyễn Minh Nhật, Nguyễn Văn Hùng
Đoàn Thị Kiều Tiên, Kaeko Kamei
và Nguyễn Thị Thu Nga*

280
- ❖ ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ CỦA MỘT SỐ LOẠI THUỐC TRỪ NẤM ĐỐI VỚI BỆNH THỐI CŨ SẮN (*Phytophthium helicoides*) TẠI HUYỆN TÂN CHÂU, TỈNH TÂY NINH

*Võ Thị Thu Oanh, Nguyễn Thanh Phong
Nguyễn Như Thanh*

288
- ❖ ĐÁNH GIÁ TÌNH HÌNH BỆNH HẠI VÀ SỬ DỤNG NÔNG DƯỢC TRONG SẢN XUẤT HÀNH LÁ TẠI TỈNH ĐỒNG THÁP VÀ VĨNH LONG

Lê Thị Trúc Phương và Dương Ngọc Thành

295
- ❖ HIỆN TRẠNG SỬ DỤNG THUỐC BẢO VỆ THỰC VẬT TRÊN CÂY CHANH DÂY TẠI ĐẮK NÔNG

*Phạm Thị Minh Tâm, Nguyễn Công Hậu
Trần Minh Hào*

305
- ❖ KHẢO SÁT HÀM LƯỢNG POLYPHENOL TỔNG, SAPONIN TỔNG VÀ KHẢ NĂNG KHÁNG ÔXY HÓA, KHÁNG VI KHUẨN GÂY BỆNH THỰC VẬT CỦA CAO CHIẾT TỪ 4 LOÀI CÂY BẢN ĐỊA VÙNG ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

*Nguyễn Văn Thành, Huỳnh Thanh Duy
Lương Phong Dũ, Trương Tô Hải Đăng
Võ Thị Kim Thoa, Phạm Minh Tú, Lê Tuấn Vũ
Nguyễn Vũ Luân, Nguyễn Đức Độ*

313

- ❖ ẢNH HƯỞNG CỦA NANO ĐẾN SỨC KHỎE HẠT GIỐNG VÀ BỆNH ĐẠO ÔN LÚA 320
*Nguyễn Thị Thu Thủy, Nguyễn Thị Thanh Hải
Trần Thái Hòa*
- ❖ HIỆU QUẢ CỦA HỖN HỢP THỰC KHUẨN THÊ KẾT HỢP VỚI CHẤT BẢO VỆ
TRONG PHÒNG TRỊ BỆNH THỐI HẠT TRÊN LÚA 329
DO VI KHUẨN *Burkholderia glumae* Ở ĐIỀU KIỆN NGOÀI ĐỒNG
*Đoàn Thị Kiều Tiên, Nguyễn Duy Hoàng
Nguyễn Minh Sang, Kaeko Kamei
Trần Thị Thu Thủy và Nguyễn Thị Thu Nga*
- ❖ NGHIÊN CỨU PHƯƠNG PHÁP TIÊM POTASSIUM PHOSPHONATE
CHO CÂY HỒ TIÊU ĐỂ PHÒNG TRỪ BỆNH CHẾT NHANH 337
TRONG ĐIỀU KIỆN NHÀ LƯỚI
*Nguyễn Vĩnh Trường, Trần Hà Phong
Nguyễn Thị Thu Thủy, Trương Thị Diệu Hạnh*
- ❖ KẾT QUẢ ĐIỀU TRA THÀNH PHẦN BỆNH HẠI LÚA VÀ NGÔ 346
TRÊN ĐỒNG RUỘNG VÀ SAU THU HOẠCH TẠI MỘT SỐ VÙNG SINH THÁI
CỦA VIỆT NAM
Nguyễn Văn Tuất, Nguyễn Văn Liêm et al.

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

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
THANH THỦY - VĂN THÀNH

Trình bày, bìa
VŨ HẢI YẾN

In 250 khổ 19 × 27cm tại Công ty Cổ phần in Sao Việt.
Địa chỉ: Số 9/40 Ngụ Như Kôn Tum, Nhân Chính, Thanh Xuân, Hà Nội.
Đăng ký KHXB số 2823-2019/CXBIPH/1-228/NN ngày 29/7/2019.
Quyết định XB số: 66/QĐ-NXBNN ngày 30/7/2019.
ISBN: 978-604-60-3047-8
In xong và nộp lưu chiểu quý III/2019.