

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN VI KHUẨN VÙNG RỄ ĐỐI KHÁNG VỚI NẤM *Rhizoctonia solani* GÂY BỆNH LỞ CỔ RỄ CÂY ỚT

Lê Thanh Toàn^{1,*}

TÓM TẮT

Bệnh lở cổ rễ do nấm *Rhizoctonia solani* gây ra là loại bệnh khó phòng trị và gây thất thu trên cây ớt. Vì vậy, nghiên cứu đã được thực hiện để phân lập và tuyển chọn một số dòng vi khuẩn vùng rễ (VKVR) đối kháng với bệnh này. Từ 75 mẫu đất, 179 dòng vi khuẩn đã được phân lập và tách dòng. Kết quả tuyển chọn được 25 dòng VKVR có khả năng đối kháng nấm *R. solani*. Trong 25 dòng VKVR, 4 dòng vi khuẩn là: CTND1707 (77,5%), CTND5110 (76,6%), CTND2303 (72,6%) và CTND0201 (71,4%) có khả năng ức chế mạnh sự phát triển của nấm *R. solani*. Bốn dòng vi khuẩn này đều thể hiện hiệu quả ức chế sự phát triển bệnh lở cổ rễ do nấm *R. solani* gây ra trên cây ớt, thể hiện qua tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh thấp. Trong đó, dòng CTND2303 có hiệu quả giảm chỉ số bệnh đạt 63,7%, tương đương với hiệu quả của nghiệm thức đối chứng thuốc ở 20 ngày sau lây bệnh. Chủng CTND2303 được xác định có mức độ tương đồng gene ITS rất cao (99%) với chủng *Bacillus subtilis*.

Từ khóa: *Rhizoctonia solani*, ớt, vi khuẩn đối kháng.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh cây là mối quan tâm rất lớn đối với các nhà khoa học trong lĩnh vực nông nghiệp, đặc biệt là bệnh khó phòng trị như lở cổ rễ do nấm *Rhizoctonia solani* gây ra [1, 2]. Loài nấm *R. solani* là nấm đa ký chủ gây hại và tấn công trên nhiều loại cây trồng có giá trị kinh tế cao như cây ớt.

Biện pháp sử dụng thuốc hóa học chủ yếu được nhà nông sử dụng để phòng chống tác hại do nấm bệnh gây ra, với ưu điểm dập tắt dịch bệnh nhanh chóng, kịp thời nhưng còn nhiều hạn chế như ô nhiễm môi trường, phá vỡ cân bằng hệ sinh thái và làm phát sinh loài vi sinh vật mới. Ngày nay, biện pháp phòng trừ sinh học được chú trọng do có nhiều ưu điểm, như: Không gây ô nhiễm môi trường, hạn chế được mầm bệnh phát sinh loài mới kháng thuốc, có hiệu quả lâu dài. Một trong những biện pháp sinh học được sử dụng khá rộng rãi là sử dụng vi sinh vật có lợi như: Vi khuẩn, xạ khuẩn và nấm đối kháng với nguồn vi sinh vật gây bệnh trên cây trồng. Chủng *Pseudomonas* sp. DSS73

tiết ra tensin, viscosin, viscosinamid có khả năng kháng nấm *R. solani* và *Pythium ultimum* [3]. Tương tự, vi khuẩn *Pseudomonas huttiensis* 69, *P. aureofaciens* 31 và *Burkholderia glathei* 35 làm giảm sự phát triển nấm *R. solani* khoảng 9,71 - 12,87% [4]. Vi khuẩn *Pseudomonas fluorescens* tiết ra siderophore giúp hấp thu sắt tốt hơn các loại nấm bệnh, trong đó có nấm *F. oxysporum* [5]. Theo Ahmadzadeh (2007) [6], vi khuẩn *P. fluorescens* BP-3 có khả năng đối kháng với nấm *Sclerotinia sclerotiorum* gây bệnh đốm trắng trên cây cải dầu. Hay loài vi khuẩn *Rhanelia aquatilis* S108 ức chế nấm *R. solani* ở mức 56% [7]. Nghiên cứu sử dụng vi khuẩn có lợi để quản lý bệnh lở cổ rễ cây ớt chưa được nghiên cứu nhiều tại Việt Nam. Việc tìm ra các loại vi khuẩn bản địa có thể phòng trị bệnh do nấm *R. solani* là quan trọng. Vì vậy, nghiên cứu "Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn vùng rễ đối kháng với nấm *Rhizoctonia solani* gây bệnh lở cổ rễ cây ớt" đã được thực hiện, nhằm phân lập và tuyển chọn ra dòng VKVR đối kháng tốt với nấm *R. solani* trong điều kiện phòng thí nghiệm và nhà lưới.

¹ Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

* Email: lttoan@ctu.edu.vn

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Dụng cụ và thiết bị dùng trong thí nghiệm: Đĩa petri, tủ thanh trùng ướt, tủ thanh trùng khô, tủ cấy, cồn, nước cất, đĩa cấy.

Nguồn nấm *Rhizoctonia solani* BL15 (có tính độc cao) được cung cấp từ Phòng thí nghiệm Phòng trừ sinh học, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thu mẫu đất

Các mẫu đất được thu trong vùng rễ cây trồng ớt, cà chua, dưa leo, lấy ở độ sâu từ 6 - 15 cm, loại bỏ 5 cm phần đất và thực vật ở trên. Tổng cộng 75 mẫu đất được thu tại các ruộng trồng ớt, cà chua và dưa leo ở thành phố Cần Thơ. Mỗi 500 g mẫu được đựng trong túi nilon, dán nhãn, mang về phòng thí nghiệm và phân lập vi khuẩn có lợi ngay.

2.2.2. Phương pháp phân lập các dòng vi khuẩn đối kháng vùng rễ

Một g mẫu đất pha loãng với 9 ml nước cất khử trùng, khuấy đều, để ổn định ở 30°C trong 15 phút, pha loãng dịch trong phía trên đến nồng độ 10^{-3} . Sau đó, hút 10 μ l dung dịch ở mỗi nồng độ pha loãng trang lên môi trường King's B, ủ ở 30°C trong 48 giờ. Các khuẩn lạc khác nhau được tách và trang lên các đĩa petri theo đường zigzag để có thể thu được khuẩn lạc thuần. Nếu trên đĩa có nhiều hơn một dạng khuẩn lạc thì tiếp tục lặp lại các bước cho đến khi thu được các dạng khuẩn lạc thuần trên đĩa cấy. Các dòng vi khuẩn được trữ trong ống eppendorf và tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

Các dòng VKVR được đánh giá khả năng đối kháng với nấm *R. solani* (hai lần lặp lại) được tiến hành trên đĩa petri chứa 10 ml môi trường PDA, đặt 4 khoanh giấy thấm có đường kính 5 mm, đối xứng cách tâm 25 mm, mỗi một miếng được tẩm với 1 dung dịch huyền phù vi khuẩn. Tâm đĩa petri đặt khoanh nấm *R. solani*. Bán kính khuẩn lạc nấm *R. solani* được đo ở thời điểm 4 ngày sau thí nghiệm (NSTN) để xác định dòng VKVR có khả năng đối kháng. Hiệu suất đối kháng (HSDK)

được đánh giá bằng cách đo bán kính khuẩn lạc nấm *R. solani* về phía VKVR thí nghiệm và về phía đối chứng theo công thức $HSDK(\%) = [(BKKL_{đc} - BKKL_{vk}) / BKKL_{đc}] \times 100\%$.

Trong đó: BKKL_{đc} là bán kính khuẩn lạc nấm phát triển về phía đối chứng (mm); BKKL_{vk} là bán kính khuẩn lạc nấm phát triển về phía vi khuẩn (mm). Các dòng vi khuẩn thể hiện khả năng đối kháng trên 50% được chọn để thực hiện thí nghiệm.

2.2.3. Tuyển chọn các dòng VKVR đối kháng với nấm *R. solani*

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên một nhân tố, gồm các dòng vi khuẩn đã được phân lập, với 4 lần lặp lại. Những dòng VKVR được nhân sinh khối với thời gian 48 giờ trong môi trường King's B. Nấm gây bệnh *R. solani* được nuôi với thời gian 48 giờ trong môi trường PDA. Trên mỗi đĩa petri chứa 10 ml môi trường PDA đặt hai khoanh giấy thấm có đường kính 5 mm, đối xứng cách tâm 25 mm, một khoanh được tẩm với nước cất vô trùng (đối chứng), khoanh còn lại tẩm với dung dịch huyền phù VKVR thí nghiệm (10^8 cfu/ml). Khoanh tẩm nấm *R. solani* với đường kính 5 mm được đặt ở giữa đĩa petri. HSDK được đánh giá ở 1, 2, 3 và 4 NSTN, tương tự cách tính ở thí nghiệm 2.2.2. Các dòng vi khuẩn có HSDK cao được chọn để thực hiện thí nghiệm tiếp theo.

2.2.4. Đánh giá phòng trị bệnh lở cổ rễ cây ớt của một số dòng VKVR tuyển chọn

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên một nhân tố với 4 lần lặp lại, 2 cây ớt/lặp lại, gồm các dòng vi khuẩn có HSDK cao được chọn từ thí nghiệm trước (phương pháp xử lý vi khuẩn là tưới huyền phù vi khuẩn vào gốc ớt ở 10, 20 và 30 ngày sau gieo, NSG), đối chứng dương (xử lý thuốc hóa học có gốc thuốc Hexaconazole, Anvil 5SC) và đối chứng âm (xử lý nước cất). Những dòng VKVR cho HSDK tốt được nhân mật số với thời gian 48 giờ trong môi trường King's B. Hạt ớt ngâm 24 giờ trong nước cất, ớt được gieo 2 hạt/chậu. Nấm *R. solani* được nuôi cấy 14 ngày trên môi trường PDA để tạo hạch nấm. Thuốc trừ nấm có gốc thuốc Hexaconazole (Anvil 5SC) được sử dụng theo khuyến cáo trên bao bì. Cây ớt lây bệnh nhân tạo

(LBNT) ở 48 NSG [8]. Các chậu ớt đưa vào phòng ủ bệnh, đặt 2 hạch nấm *R. solani* xung quanh gốc ớt và cố định bằng một lớp băng keo mỏng. Cây ớt đặt trong phòng ủ bệnh sau 24 giờ, nhiệt độ 25°C, ẩm độ khoảng 95 ± 3% thì di chuyển ra điều kiện nhà lưới có che mát. Đánh giá cấp bệnh ở 10 và 20 ngày sau lây bệnh (NSLB) dựa theo thang đánh giá của Lê Như Cương và cs (2018) [9], cụ thể là cấp 0: không bị bệnh; cấp 1: vết bệnh hình thành nhưng sợi nấm không phát triển trên mô bệnh; cấp 2: vết bệnh hình thành và sợi nấm phát triển trên mô bệnh về sau hình thành hạch nấm; cấp 3: cành cấp 1 bị héo; cấp 4: toàn cây bị héo. Các chỉ tiêu ghi nhận bao gồm: Tỷ lệ bệnh (TLB, %) = (số cây bị bệnh/số cây thí nghiệm)*100%; chỉ số bệnh (CSB, %) = [(số cây bệnh cấp 1*1 + số cây bệnh cấp 2*2 + số cây bệnh cấp 3*3 + số cây bệnh cấp 4*4)/(tổng số cây*4)]*100% và hiệu quả giảm tỷ lệ bệnh (HQGTLB, %) = [(TLB đối chứng âm – TLB thí nghiệm xử lý)/TLB đối chứng âm]*100%. Dòng vi khuẩn cho hiệu quả tốt được chọn để định danh.

2.2.5. Phương pháp định danh dòng VKVR

Dòng VKVR được định danh bằng phương pháp sinh học phân tử (dựa trên giải trình tự vùng ITS) tại Công ty TNHH MTV Sinh hóa Phù Sa, phường Hưng Thạnh, quận Cái Răng, thành phố Cần Thơ.

2.2.6. Xử lý số liệu

Số liệu được tổng hợp, xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel. Thống kê phân tích ANOVA và

so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức bằng phần mềm MSTATC qua phép thử DUNCAN ở mức ý nghĩa 5%.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập VKVR từ các mẫu đất

Từ 75 mẫu đất ở huyện Thới Lai, 179 dòng vi khuẩn được phân lập, làm thuần. Trong đó, 25/179 dòng có khả năng ức chế sự phát triển của sợi nấm *R. solani* ở các mức khác nhau với tỉ lệ chiếm 13,97% (số liệu không được trình bày).

3.2. Tuyển chọn các dòng VKVR đối kháng với nấm *R. solani*

Kết quả đánh giá HSDK của 25 dòng VKVR đối kháng với nấm *R. solani* cho thấy, ở thời điểm 1 NSTN, dòng có HSDK cao nhất là CTND1707 (66,79%), tiếp theo là CTND3101 (42,0%), CTND5110 (61,5%), CTND2303 (51,7%), CTND0201 (42,1%), cao hơn có ý nghĩa so dòng có HSDK thấp nhất (CTND0102 đạt 1,7%). Đến thời điểm 2 NSTN, các dòng vi khuẩn đang trong giai đoạn tăng trưởng mạnh nên HSDK tăng nhanh. Các dòng có HSDK cao là: CTND6606 (71,9%), CTND3101 (68,8%), CTND0803 (69,4%), CTND1707 (81,3%), CTND0301 (69,4%), CTND1202 (71,3%), CTND5110 (81,9%), CTND2303 (80,6%), CTND0103 (73,8%), CTND0801 (71,3%), CTND0201 (80,5%), CTND0304 (68,8%), CTND0104 (70,0%), cao hơn có ý nghĩa so dòng có HSDK thấp nhất (CTND0304 chỉ đạt 0,3%). Dòng có HSDK tăng mạnh nhất là CTND5802 (53,8%). Dòng có HSDK tăng thấp nhất là CTND0503 (tăng 1,3%) (Bảng 1).

Bảng 1. HSDK (%) của các dòng vi khuẩn phân lập từ đất với nấm *R. solani* ở các NSTN

STT	VKVR	NSTN				Trung bình 4 ngày
		1	2	3	4	
1	CTND0604	12,1 g-j	43,6 bc	69,5 d-f	75,0 a-d	50,0 e-h
2	CTND0503	8,3 h-j	9,6 e	57,5 g	0,3 g	18,8 i
3	CTND6606	27,5 c-f	71,9 a	72,5 b-e	71,9 a-e	61,0 d
4	CTND5707	5,1 ij	9,0 de	0,3 i	0,3 g	3,5 k
5	CTND3101	42,0 b-d	68,8 a	70,0 c-f	70,0 a-e	62,7 cd
6	CTND1303	9,4 g-j	56,3 ab	55,6 g	55,6 e	44,2 g
7	CTND0305	7,3 ij	31,8 cd	56,1 g	68,5 a-e	40,9 g
8	CTND0304	2,7 j	0,3 e	0,3 i	0,3 g	0,8 l

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

STT	VKVR	NSTN				Trung bình 4 ngày
		1	2	3	4	
9	CTND0803	23,7 d-g	69,4 a	67,5 e-g	66,9 b-e	56,9 d-g
10	CTND1707	66,8 a	81,3 a	81,3 ab	80,6 ab	77,5 a
11	CTND0301	21,8 d-h	69,4 a	63,6 e-g	74,4 a-d	57,3 d-f
12	CTND1202	32,8 c-e	71,3 a	70,6 c-f	70,6 a-e	61,3 d
13	CTND0102	1,7 j	12,9 de	41,3 h	3,9 fg	14,8 i
14	CTND5110	61,5 ab	81,9 a	81,9 ab	81,3 ab	76,6 a
15	CTND1606	26,2 d-g	63,7 ab	73,2 a-e	78,5 a-c	60,4 de
16	CTND0802	11,6 f-j	57,5 ab	58,8 fg	58,8 de	46,6 fg
17	CTND2303	51,7 a-c	80,6 a	80,0 a-d	78,2 a-c	72,6 ab
18	CTND0103	35,8 c-e	73,8 a	74,4 a-e	74,4 a-d	64,6 b-d
19	CTND0801	32,3 c-e	71,3 a	73,1 a-e	72,5 a-e	62,3 cd
20	CTND1101	6,00 h-j	14,6 e	81,9 a	16,4 f	29,6 h
21	CTND0201	42,1 b-e	80,5 a	80,6 a-c	82,5 a	71,4 a-c
22	CTND0304	18,1 e-i	68,8 a	73,8 a-e	72,5 a-e	58,3 d-f
23	CTND0104	36,8 c-e	70,0 a	70,6 c-f	70,6 a-e	62,0 cd
24	CTND5808	5,4 i-j	59,2 ab	67,0 e-g	64,4 c-e	48,9 f-h
25	CTND0402	23,4 d-g	12,7 e	0,3 i	0,3 g	9,0 j
Mức ý nghĩa		**	**	**	**	**
CV(%)		34,17	41,03	8,82	13,42	8,99

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

Tại thời điểm 3 NSTN, các dòng VKVR đã ở giai đoạn phát triển ổn định nên HSDK có xu hướng tăng chậm hoặc bắt đầu giảm. Các dòng có HSDK cao là: CTND1707 (81,3%), CTND5110 (81,9%), CTND1606 (73,2%), CTND2303 (80,0%), CTND0103 (74,4%), CTND0801 (73,1%), CTND1101 (81,9%), CTND0201 (80,6%), CTND0304 (73,8%). Dòng có HSDK tăng cao nhất giữa 3 và 1 NSTN là CTND1101 (tăng 67,3%). Đến thời điểm ghi nhận chỉ tiêu cuối cùng (4 NSTN), đa số các dòng VKVR ở thời điểm này có HSDK giảm nhiều hơn so với ở giai đoạn trước do dinh dưỡng trong môi trường dần hết, sự thay đổi pH của môi trường và sự tích tụ độc tố trong quá trình phát triển của vi khuẩn và nấm. Các dòng có HSDK tiếp tục tăng là: CTND0604 (tăng 5,5%), CTND0305 (12,4%), CTND0301 (10,8%), CTND1606 (5,4%). Dòng có HSDK cao ở thời điểm

4 NSTN là: CTND0604 (75,0%), CTND6606 (71,9%), CTND3101 (70,0%), CTND0305 (68,5%), CTND1707 (80,6%), CTND0301 (74,4%), CTND1202 (70,6%), CTND5110 (81,3%), CTND1606 (78,5%), CTND2303 (78,1%), CTND0103 (74,4%), CTND0801 (72,5%), CTND0201 (82,5%), CTND0304 (72,5%) và CTND0104 (70,6%) (Bảng 1).

Cơ chế đối kháng của VKVR có thể liên quan tới cạnh tranh dinh dưỡng và nơi ở hay tiết enzyme phân hủy vách tế bào nấm hoặc tất cả các cơ chế trên – đối kháng phối hợp: Tiết kháng sinh, tạo men phân giải, cạnh tranh dinh dưỡng, nơi cư trú hay oxy với mầm bệnh [10, 11]. Qua kết quả thí nghiệm kết hợp với giá trị trung bình HSDK trên 70%, 4 dòng vi khuẩn có triển vọng ức chế tốt với vi khuẩn *R. solani* là: CTND1707 (77,5%), CTND5110

(76,6%), CTND2303 (72,6%) (Hình 1) và CTND0201 (71,4%) được sử dụng ở thí nghiệm tiếp theo.



Hình 1. Hình ảnh của chủng VKVR CTND2303 ức chế nấm *R. solani* ở thời điểm 4 NSTN

3.3. Hiệu quả phòng trị bệnh lở cổ rễ cây ớt của một số dòng VKVR

Nhìn chung, kết quả tỷ lệ bệnh cho thấy cây ớt được xử lý VKVR ở hai thời điểm đều khác biệt có ý nghĩa. Ở thời điểm 10 NSLB, các nghiệm thức xử lý VKVR có TLB khoảng 12,5 - 25,0%, thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng nước cất (75,0%). Ở thời điểm 20 NSLB, tỷ lệ bệnh của các nghiệm thức xử lý VKVR tăng, đạt khoảng 37,5 - 62,5%, tương đương với TLB nghiệm thức đối chứng thuốc (37,5%), tiếp tục thấp hơn có ý nghĩa so với TLB đối chứng nước cất (87,5%) (Bảng 2).

Số liệu ở bảng 2 cho thấy, chỉ số bệnh cây ớt ở các nghiệm thức xử lý VKVR đều thấp hơn và khác biệt so với đối chứng nước cất. Ở thời điểm 10 NSLB, nghiệm thức thí nghiệm chưa xuất hiện bệnh; các nghiệm thức CTND1707, CTND5110, CTND2303 và CTND0201 (lần lượt 20,0%, 22,5%, 15,0% và 21,5%) có chỉ số bệnh thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng nước cất (54,5%). Đến thời điểm 20 NSLB, chỉ số bệnh các nghiệm thức xử lý VKVR tăng, chiếm tỷ lệ khoảng 28,5 - 47%, tương đương ý nghĩa thống kê với đối chứng thuốc (27,5%) và khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng nước cất (78,5%).

Đối với chỉ tiêu hiệu quả giảm chỉ số bệnh, ở thời điểm 10 NSLB, các nghiệm thức xử lý VKVR đạt khoảng 58,7 - 72,5%, nhưng vẫn thấp hơn có ý nghĩa thống kê ở mức 5% so với nghiệm thức đối chứng thuốc (đạt 100%). Đến 20 NSLB, nghiệm thức thí nghiệm CTND2303 có hiệu quả đạt 63,7%, tương đương với hiệu quả của nghiệm thức đối chứng thuốc (65,0%) (Hình 2). Ba nghiệm thức còn lại là CTND1707, CTND5110 và CTND0201 tiếp tục thể hiện hiệu quả thấp hơn so với nghiệm thức đối chứng thuốc (Bảng 2). Dòng VKVR CTND2303 được chọn để định danh.

Bảng 2. TLB, chỉ số bệnh và hiệu quả giảm chỉ số bệnh lở cổ rễ cây ớt do *R. solani* gây ra qua các thời điểm

Nghiệm thức	TLB (%)		Chỉ số bệnh (%)		Hiệu quả giảm chỉ số bệnh (%)	
	10 NSLB	20 NSLB	10 NSLB	20 NSLB	10 NSLB	20 NSLB
CTND2303	12,5 a	37,5 a	15,0 a	28,5 a	72,5 a	63,7 b
CTND5110	25,0 a	50,0 a	22,5 a	39,0 a	58,7 a	50,3 a
CTND1707	25,0 a	50,0 a	20,0 a	42,5 a	63,3 a	45,9 a
CTND0201	25,0 a	62,5 a	21,5 a	47,0 a	60,1 a	40,1 a
Đối chứng thuốc	0,0 a	37,5 a	0,0 a	27,5 a	100,0 b	65,0 b
Đối chứng nước cất	75,0 b	87,5 b	54,5 b	78,5 b		
Mức ý nghĩa	*	*	*	*	*	*
CV (%)	51,0	48,5	36,5	47,4	37,4	42,1

Ghi chú: Trong cùng một cột, những số có chữ theo sau khác nhau thì khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5% (*); NSLB: ngày sau lây bệnh



Hình 2. Hình ảnh của cây ớt ở các nghiệm thức tại thời điểm 20 NSLB

A: nghiệm thức CTND2303, B: nghiệm thức đối chứng nước cất

3.4. Kết quả định danh dòng VKVR

Trình tự gene ITS của dòng VKVR CTND2303 được so sánh với trình tự của đoạn gene ITS của các chủng vi khuẩn đã biết trong ngân hàng gene của NCBI cho thấy, chủng CTND2303 được xác định có mức độ tương đồng rất cao (99%) với chủng *Bacillus subtilis*. Theo Huang và cs (2017) [12], *B. subtilis* SL-44 giúp ức chế sự phát triển nấm *R. solani* ở mức 42,3%, giúp cây ớt tăng khả năng hấp thu lân, tạo indole-3-acetic acid, tăng sinh khối cho cây ớt. Ngoài ra, vi khuẩn *B. subtilis* SL-44 còn giúp cây ớt tích tụ calose, tăng nồng độ enzyme peroxidase, catalase, superoxide dismutase, polyphenol oxidase và phenylalanine ammonia lyase [13]. Theo Varma và cs (2022) [2], vi khuẩn *B. subtilis* ức chế sự phát triển *in vitro* của nấm *R. solani* khoảng 34,81%. Tương tự, tại Pakistan, Mateen và cs (2022) [14] đã ghi nhận một dòng VKVR (RB7) có khả năng ức chế sự phát triển sợi nấm *R. solani* ở mức 54,81%, nhưng nghiên cứu này vẫn chưa định danh đến loài.

4. KẾT LUẬN

Từ 75 mẫu đất, 179 dòng vi khuẩn đã được phân lập và tách dòng. Kết quả tuyển chọn được 25 dòng VKVR có khả năng đối kháng nấm *R. solani*. Trong 25 dòng VKVR, bốn dòng vi khuẩn là: CTND1707 (77,5%), CTND5110 (76,6%), CTND2303 (72,6%) và CTND0201 (71,4%) có khả năng ức chế mạnh sự phát triển của nấm *R. solani*. Bốn dòng vi khuẩn này đều thể hiện hiệu quả ức chế sự phát triển bệnh lở cổ rễ do nấm *R. solani* gây ra trên cây ớt, thể hiện qua TLB và chỉ số bệnh thấp. Trong đó, dòng CTND2303 có hiệu quả giảm chỉ số bệnh đạt 63,7%, tương đương với hiệu quả của nghiệm thức đối chứng thuốc ở 20 NSLB. Chủng CTND2303 được xác định có mức độ tương

đồng gene ITS rất cao (99%) với chủng *Bacillus subtilis*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Varma, S., Kumhar, D. R. and Meena, A. K., Priyanka and Balvinder (2020). Integrated disease management of Rhizoctonia root rot of chilli (*Capsicum annum* L.) incited by *Rhizoctonia solani* Kuhn *in vivo*. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 9(4): 1635 - 1642. <https://doi.org/10.20546/ijemas.2020.904.192>.
2. Varma, S., Kumhar, D. R., Priyanka and Sheshma, M. K. (2022). Efficacy of bioagents and fungicide against root rot of chilli caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn. *The Pharma Innovation Journal*, 11 (2): 1242 - 1245.
3. Andersen J .B., Koch B., Nielsen T. H., Sorensen D., Hansen M. and Nybroe O. (2003). Surface motility in *Pseudomonas* sp. DSS73 is required for efficient biological containment of the root-pathogenic microfungi *Rhizoctonia solani* and *Pythium ultimum*. *Microbiology*, 149 (1): 37 - 46.
4. Mannai, S., Jabnoun-Khiaredine, H., Nasraoui, B., Daami-Remadi, M. (2018). Rhizoctonia root rot of pepper (*Capsicum annum*): Comparative pathogenicity of causal agent and biocontrol attempt using fungal and bacterial agents. *J Plant Pathol Microbiol*, 9(431): 1 - 9. doi: 10.4172/2157-7471.1000431.
5. Siddiqui Z. A. (2006). *PGPR: Biocontrol and biofertilization*. Springer Publisher. The Netherland. pp: 111 - 142.
6. Ahmadzadeh M. (2007). Effect of timing of application *Pseudomonas fluorescens* in suppression *Sclerotinia*, the causal agent of while mold in canola. *Communication Agriculture Apply Biology Scineces*, 72: 957 - 960.

7. Pineda-Mendoza, D. Y., Gonzalez-Mancilla, A., Almaraz, J. J., Rodríguez-Guzman, M. P., García-Barradas, O. and Argumedo-Delira, R. (2018). Characterization of the antifungal activity of three rhizobacterial strains against *Rhizoctonia solani*. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 16 (4), e1011, 10 pages. <https://doi.org/10.5424/sjar/201816413334>.
8. Pattanapitpaisal, P. and Kamlandharn, R. (2012). Screening of chitinolytic actinomycetes for biological control of *Sclerotium rolfsii* stem rot disease of chilli. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 34 (4): 387 - 393.
9. Lê Như Cường, Nguyễn Thị Nhung và Nguyễn Thị Diễm (2018). Khả năng kháng nấm và hạn chế bệnh héo rũ mốc gốc trắng lác (*Sclerotium rolfsii*) của dung dịch nano bạc. *Tạp chí Khoa học, Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 127 (3A): 161 - 171.
10. Pal K. K. and Gardener B. M. (2006). Biological control of plant pathogens. *The Plant Health Instructor*, 10: 1117 - 1202.
11. Trương Thị Bích Ngân (2009). Phân lập vi khuẩn vùng rễ trên dưa hấu và đánh giá khả năng đối kháng của các cây vi khuẩn đối với nấm gây bệnh héo *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* và nấm gây bệnh đốm lá chảy nhựa thân *Didymella bryoniae* trong điều kiện phòng thí nghiệm. Luận văn tốt nghiệp kỹ sư bảo vệ thực vật. Khoa Nông nghiệp. Trường Đại học Cần Thơ.
12. Huang, Y., Wu, Z., He, Y., Ye, B. C. and Li, C. (2017). Rhizospheric *Bacillus subtilis* exhibits biocontrol effect against *Rhizoctonia solani* in pepper (*Capsicum annuum*). *Hindawi BioMed Research International* (9397619): 1 - 9. <https://doi.org/10.1155/2017/9397619>.
13. Wu, Z., Huang, Y., Li, Y., Dong, J., Liu, X. and Li, C. (2019). Biocontrol of *Rhizoctonia solani* via induction of the defense mechanism and antimicrobial compounds produced by *Bacillus subtilis* SL-44 on pepper (*Capsicum annuum* L.). *Front. Microbiol*, 10: 2676. doi: 10.3389/fmicb.2019.02676.
14. Mateen, A., Mehmood, M. A., Ashfaq, M., Saddique, A. B., Binyamin, R., Ahmed, M. M. and Naeem, H. H. (2022). Management of chili root rot pathogen, *Rhizoctonia solani*, with potential rhizobacteria. *Plant Protection*, 06 (03): 275 - 284.

**ISOLATION AND SELECTION OF ANTAGONISTIC RHIZOBACTERIA AGAINST
Rhizoctonia solani CAUSING ROOT ROT IN CHILI**

Le Thanh Toàn¹

¹*College of Agriculture, Can Tho University*

Summary

Root rot caused by *Rhizoctonia solani* is a major disease and leads to severe damage in chili. Therefore, research was carried out to isolate and select antagonistic rhizobacteria strains against this disease. From 75 soil samples, 179 rhizobacteria strains were isolated and purified. The selection results showed 25 strains having antagonistic traits against *R. solani*. Among these 25 rhizobacteria strains, four antagonistic strains including CTND1707 (77.5%), CTND5110 (76.6%), CTND2303 (72.6%) and CTND0201 (71.4%) had high inhibition efficacy against *Rhizoctonia* root rot caused by *R. solani* in chili, expressed by low disease incidence and severity. Among them, the strain CTND2023 had efficacy at 63.7%, equivalent to pesticide control at 20 days after inoculation. The strain CTND2303 had very high identification of gene ITS (99%) to strain *Bacillus subtilis*.

Keywords: *Rhizoctonia solani*, chili, rhizobacteria.

Người phản biện: PGS.TS. Lê Như Kiều

Ngày nhận bài: 18/8/2023

Ngày thông qua phản biện: 8/9/2023

Ngày duyệt đăng: 23/11/2023