

HIỆU QUẢ CỦA CHẤT MANG NHÂN NUÔI XẠ KHUẨN *Streptomyces* sp. LV-DT PHÒNG TRỊ BỆNH CHÁY LÁ KHOAI MÔN DO NẤM *Phytophthora* sp.

Nguyễn Phú Dũng¹*, Lâm Nhựt Tân¹, Võ Thị Hương Dương¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá được khả năng đối kháng của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (LV-DT) với nấm *Phytophthora* sp. gây bệnh cháy lá trên cây khoai môn trong chất mang nhân nuôi (môi trường) tốt nhất. Kết quả ở điều kiện phòng thí nghiệm chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (LV-DT) có khả năng đối kháng với nấm *Phytophthora* sp. sau 7 ngày tồn trữ tốt nhất ở môi trường MS 2% có mật số xạ khuẩn $1,2 \times 10^6$ cfu/ml, bán kính vòng vô khuẩn 14,5 - 21 mm và hiệu suất đối kháng 40,84 - 61,04% từ 2 - 6 ngày sau chủng bệnh (NSCB). Kết quả thí nghiệm ở điều kiện nhà lưới cho thấy khả năng phòng trị bệnh cháy lá trên khoai môn của thuốc Niko 72WP tốt nhất và cao hơn so với môi trường MS 2%, cám bắp 2% và thấp nhất ở môi trường cám gạo lúa xay 2% trong suốt 4 - 13 NSCB thông qua tỉ lệ bệnh, chỉ số bệnh, hiệu quả giảm bệnh và chỉ số diện tích dưới đường cong tiến triển bệnh.

Từ khóa: Khoai môn, bệnh cháy lá, nấm *Phytophthora* sp., *Streptomyces* sp. (LV-DT), chế phẩm sinh học.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam là quốc gia có điều kiện tự nhiên thuận lợi cho việc phát triển cây khoai môn (*Colocasia esculenta*). Năm 2012, tổng diện tích các loại cây có củ (trong đó có khoai môn - sọ) của cả nước đạt 741,3 nghìn ha [1]. Tuy nhiên, khoai môn cũng có nhiều mầm bệnh và côn trùng tấn công như bệnh cháy lá, bệnh khảm lá, sâu khoang, nhện đỏ, rệp bông... làm ảnh hưởng đến năng suất. Trong đó, bệnh cháy lá khoai môn do nấm *Phytophthora colocasiae* gây ra thiệt hại đáng kể, nếu bị bệnh cháy lá nặng có thể giảm đến 50% năng suất [2].

Thuộc nhóm vi sinh vật có lợi, dòng xạ khuẩn *Streptomyces* đang được chú trọng trong phòng trừ sinh học bệnh cây, chúng có khả năng ức chế mầm bệnh với nhiều cơ chế như: tiết kháng sinh, sự tiêu sinh, cộng sinh và kí sinh... Xạ khuẩn có khả năng tiết ra các enzyme ngoại bào như chitinase [3], glucanase, β - 1,3 - glucanase có thể ức chế được với nhiều mầm bệnh. Các chất kháng sinh do dòng xạ khuẩn sinh ra như streptomycin, chloramphenicol, oreomycin, teramycin, tetracycline,... thuộc nhóm tetracyclines, macrolides và aminoglycosides [4]; 80% chất kháng sinh hiện có đều được sản xuất từ *Streptomyces*, một chi quan trọng của xạ khuẩn [5].

Đã có nhiều kết quả nghiên cứu về sử dụng xạ khuẩn để kiểm soát bệnh hại cây trồng do nấm gây ra như bệnh thối thân trên mè do nấm *Phytophthora nicotianae* gây ra [6], bệnh cháy lá thối thân trên sen do nấm *Phytophthora* sp. gây ra [7]. Điều này chứng tỏ xạ khuẩn có tiềm năng rất lớn và cần có những nghiên cứu sâu hơn về nhóm vi sinh vật này để phòng trừ bệnh cháy lá trên khoai môn do nấm *Phytophthora* sp. gây ra.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chuẩn bị nguồn vật liệu

Nguồn nấm *Phytophthora* sp. và xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (LV-DT) được phân lập từ các mẫu bệnh trên khoai môn và các mẫu đất tại tỉnh lộ 849 thuộc huyện Lấp Vò (Đồng Tháp), định danh đặc điểm hình thái theo Nguyễn Phi Hùng (2010) [8], Hsu và cs (1975) [9] và Shirling và Gottlieb (1966) [10]; tuyển chọn chủng đã được đánh giá tính đối kháng tốt nhất với nấm *Phytophthora* sp. theo Nguyễn Phú Dũng (2019) [11] và đang bảo quản tại Phòng thí nghiệm bệnh cây, Khoa Nông nghiệp - TNTN, Trường Đại học An Giang.

Các chất mang nhân nuôi (chế phẩm) và phân lập: môi trường ISP - 4 (Kuster, 1959), PDA [12] và môi trường thạch agar. Các loại chế phẩm được tuyển chọn gồm MS (Manitol Soya Flour medium) - đậu nành 2%; cám bắp 2% và cám gạo lúa xay 2%. Quy

¹ Khoa Nông nghiệp - TNTN, Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

*Email: npdung@agu.edu.vn

trình tạo chất mang nhân nuôi được thực hiện dựa theo Vidhyasekaran và Muthamilan (1995) [13].

2.2. Khảo sát mật số và khả năng đối kháng trên đĩa thạch của xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (LV-DT) trong chất mang nhân nuôi (chế phẩm) sau thời gian tồn trữ 1 tuần

Từng loại chế phẩm được tồn trữ 1 tuần, sau đó tiến hành bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 4 lần lặp lại ở điều kiện phòng thí nghiệm, gồm các bước sau:

Bước 1: Khảo sát mật số xạ khuẩn/chế phẩm:

Pha loãng chế phẩm: Cân 1 g mẫu cho vào ống nghiệm chứa 9 ml nước cất đã khử trùng và máy lắc để đồng nhất mẫu (mẫu ở độ pha loãng 10^{-1}). Mẫu được tiếp tục pha loãng thành các độ pha loãng 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} .

Trải đĩa: Hút 50 μ l huyền phù xạ khuẩn đã được pha loãng về nồng độ thích hợp vào đĩa môi trường nutrient agar (WA) và trải đều lên bề mặt môi trường bằng que tam giác, sau đó ủ đĩa ở 30°C ; sau 48 giờ, đếm số khuẩn lạc được hình thành.

Bước 2: Chuẩn bị nấm *Phytophthora* sp.:

Cấy nấm từ nguồn lên môi trường PDA. Sau 3 ngày cấy chuyển nấm sang môi trường PCA. Khi nấm được cấy ra môi trường PCA, sau 7 ngày tiến hành cắt rãnh cho 2 ml nước cất thanh trùng vào mỗi rãnh. Để đĩa nấm vào tủ với hệ thống chiếu đèn 12 giờ tối – 12 giờ sáng với nhiệt độ khoảng 25°C (nhiệt độ trong phòng cấy). Sau 7 ngày, quan sát trên kính hiển vi đến khi thấy xuất hiện động bào tử.

Bước 3: Chuẩn bị huyền phù xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (LV-DT):

Chủng xạ khuẩn được nuôi nhân mật số trong đĩa petri chứa môi trường MS trong 5 - 7 ngày, tiến hành bơm 3 ml nước cất đã được thanh trùng vào đĩa, dùng lam vô trùng để cạo và thu huyền phù, lược huyền phù thu được bằng vải lọc thanh trùng, thu được dung dịch gốc. Pha loãng và chà dung dịch gốc vào đĩa Petri chứa 10 ml môi trường MS. Dựa vào số khuẩn lạc hình thành trên đĩa ở mỗi nồng độ pha loãng sau 48 giờ, suy ra mật số bào tử sống ở huyền phù ban đầu. Thực hiện phương pháp pha loãng để thu huyền phù xạ khuẩn ở mật số 10^8 cfu/ml.

Bước 4: Khảo sát khả năng đối kháng:

Dùng dụng cụ đục lỗ đường kính 5 mm đục lấy khoanh nấm từ đĩa nguồn chuyển vào đĩa petri chứa 10 ml môi trường PDA. Đặt khoanh giấy thấm ($\phi = 5$

mm) vào huyền phù xạ khuẩn đã chuẩn bị và dùng nhíp kẹp khoanh giấy thấm đưa lên thành để ráo. Đặt khoanh giấy thấm đối chứng (nước cất) đối diện với khoanh nấm *Phytophthora* sp. và cách thành đĩa 1 cm. Đĩa Petri được đặt trong điều kiện nhiệt độ phòng. Theo dõi và đánh giá khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với nấm bằng cách đo bán kính vòng vô khuẩn trong thời gian 2, 4 và 6 ngày sau thí nghiệm.

Ghi nhận chỉ tiêu:

Mật số của xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (LV-DT)/chất mang nhân nuôi (chế phẩm): Mỗi loại chế phẩm khác nhau ở mỗi đĩa được lặp lại 4 lần. Số liệu mật số xạ khuẩn là giá trị trung bình của 4 lần lặp lại.

Đánh giá khả năng đối kháng của chủng xạ khuẩn với nấm bệnh: Bằng cách đo bán kính vòng vô khuẩn (BKVVK) trong thời gian 2, 4 và 6 ngày sau bố trí. BKVVK được đo ở mặt sau đĩa petri từ điểm ngoài cùng của bìa khuẩn lạc đến điểm lan cuối cùng của vòng vô khuẩn. Số liệu BKVVK là giá trị trung bình của 4 lần lặp lại. Tính hiệu suất đối kháng (HSDK) theo Moayeddi và Mostowfizadeh-ghalamfarsa (2009) [2]:

$$\text{HSDK \%} = \frac{\text{BKKL}_{\text{đc}} - \text{BKKL}_{\text{xk}}}{\text{BKKL}_{\text{đc}}} \times 100\%$$

Trong đó: $\text{BKKL}_{\text{đc}}$ là bán kính tán nấm phát triển về phía đối chứng; BKKL_{xk} là bán kính tán nấm phát triển về phía xạ khuẩn.

2.3. Khảo sát khả năng phòng trị bệnh cháy lá thối củ khoai môn của xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (LV-DT) trong chế phẩm sau thời gian tồn trữ 1 tuần ở điều kiện nhà lưới

Nhằm xác định khả năng làm giảm bệnh cháy lá thối củ khoai môn trong điều kiện nhà lưới của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (LV-DT) trong chế phẩm, gồm các bước sau:

Bước 1: Chuẩn bị cây khoai môn.

Giống khoai môn là giống khoai lùn, sạch bệnh, củ giống đường kính 3 - 4 cm có khối lượng 20 - 30 g không thối hoặc khô, lớp vỏ ngoài có nhiều lông. Ngâm củ giống trong thau nước ngập xâm xấp, có xử lý thuốc trừ nấm trong vòng 12 giờ, sau đó rửa cho sạch, trải bao bố nơi mát tránh bị mưa rồi trùm bao lên củ giống thời gian 1 - 3 ngày. Chuẩn bị liếp ươm, rải tro trấu, rải củ đều lên mặt liếp sau đó phủ lớp tro trấu trên mặt (tro trấu và đất đã được thanh trùng từ

trước). Sau 10 – 12 ngày lấy ra trồng vào chậu. Mỗi chậu trồng 2 cây.

Bước 2: Chuẩn bị nguồn nấm bệnh (như thí nghiệm trên).

Bước 3: Chuẩn bị huyền phù xạ khuẩn (thí nghiệm trên).

Chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (LV-DT) sau khi được tồn trữ 1 tuần trong các túi chế phẩm sẽ được đem ra pha loãng với tỉ lệ 100 ml nước cất/1 g môi trường nhân nuôi (chế phẩm) chứa xạ khuẩn.

Bước 4: Chủng bệnh nhân tạo.

Cây khoai môn trồng được 1 tháng thì tiến hành chủng bệnh nhân tạo. Đầu tiên, di chuyển tất cả các chậu cây vào phòng ủ bệnh. Tiến hành phun 10 ml huyền phù chứa bào tử nấm *Phytophthora* sp. (5×10^4 cfu/ml) đã chuẩn bị lên lá khoai môn của mỗi chậu. Các chậu được che tối hoàn toàn bằng tấm

nilon đen, ở nhiệt độ 25°C. Sau 24 giờ đem các chậu cây ra ngoài điều kiện bình thường, thực hiện tưới phun sương, tiến hành quan sát và ghi nhận triệu chứng.

Bước 5: Tiến hành thí nghiệm.

Tiến hành phun lên tán lá của các cây khoai môn ở mỗi chậu 10 ml huyền phù xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (LV-DT) 10^8 cfu/ml và 10 ml dung dịch thuốc hóa học đặc trị Niko 72WP được chọn áp dụng phòng trừ nấm *Phytophthora* sp., trong đó thời điểm phun xịt giai đoạn 1 ngày trước và sau khi chủng bệnh theo Nguyễn Phú Dũng và cs (2019) [14]. Thí nghiệm 2 được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 6 nghiệm thức (Bảng 1) và 4 lần lặp lại ở nhà lưới Trường Đại học An Giang. Mỗi chậu khoai môn được xử lý với mỗi loại chế phẩm chứa chất mang khác nhau được tính là một nghiệm thức.

Bảng 1. Các nghiệm thức xử lý ở điều kiện nhà lưới

TT	Nghiệm thức	Nồng độ	Thời điểm phun xịt (ngày)
1	MS 2%	10 ml dd (mật số 10^8 cfu/ml)/cây	Phun giai đoạn trước và sau khi chủng bệnh 1 ngày
2	Cám bắp 2%		
3	Cám gạo lúa xay 2%		
4	Thuốc Niko 72WP	50 g/25l	Chủng nấm <i>Phytophthora</i> sp., phun nước cất
5	ĐC (+) - chủng bệnh	10 ml/cây	
6	ĐC (-) - không chủng bệnh	—	

Chỉ tiêu theo dõi: Ghi nhận mức độ gây hại của nấm *Phytophthora* sp. trên cây khoai môn ở các thời điểm 4, 7, 10 và 13 NSCB theo Little và Hills (1978) [15]:

Tỷ lệ bệnh (TLB)(%) = (Số mẫu bệnh/tổng số mẫu quan sát) x 100

Chỉ số bệnh (CSB):

$$CSB (\%) = \frac{\sum \text{Số cây bệnh ở mỗi cấp} \times \text{cấp bệnh tương ứng}}{\sum \text{Tổng số cây đánh giá} \times \text{cấp bệnh cao nhất}} \times 100$$

Hiệu quả giảm bệnh (HQGB):

$$HQGB (\%) = \frac{TLB \text{ đối chứng} - TLB \text{ xử lý}}{TLB \text{ đối chứng}} \times 100$$

Diện tích dưới đường cong tiến triển bệnh (AUDPC - Area Under Disease Progress Curve): Thể hiện diễn biến bệnh theo thời gian trên mỗi nghiệm thức được tính theo công thức Jeger và Viljanen-Rollinson (2001) [16]:

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} \left(\frac{R_{i+1} + R_i}{2} \right) (t_{i+1} - t_i)$$

Trong đó: R_i, R_{i+1} là tỉ lệ trái bệnh trên cây vào thời điểm ghi nhận i và $i+1$; t_i, t_{i+1} là thời điểm ghi nhận i và thời điểm kế tiếp $i+1$ (ngày); n là tổng số lần theo dõi bệnh.

2.4. Xử lí số liệu

Số liệu khảo sát được phân tích thống kê bằng phần mềm SAS, sử dụng phân tích phương sai, kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 5% để so sánh trung bình các nghiệm thức.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

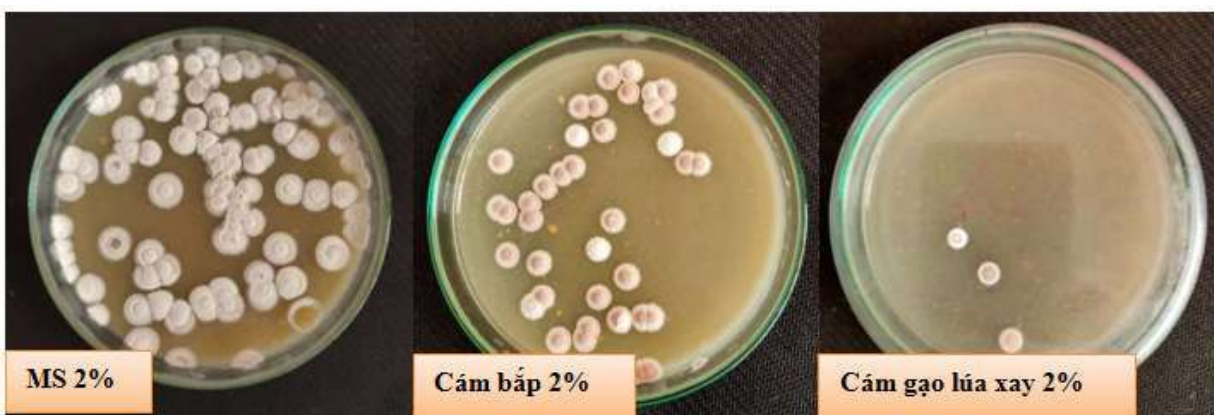
3.1. Ảnh hưởng của chất mang nhân nuôi (chế phẩm) đối với chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (LV-DT) sau thời gian tồn trữ 1 tuần ở điều kiện phòng thí nghiệm

3.1.1. Mật số của xạ khuẩn trong mỗi chế phẩm

Kết quả từ bảng 2 và hình 1 cho thấy mật số của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (LV-DT) diễn biến ở các môi trường tồn trữ sau 7 ngày (1 tuần) như sau: mật số xạ khuẩn ở nghiệm thức MS 2% đạt $1,2 \times 10^6$ cfu/ml, có khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm

thức cám bắp 2% có mật số xạ khuẩn là $0,58 \times 10^6$ cfu/ml và ở mức thấp nhất với cám gạo lúa xay 2% là $0,16 \times 10^6$ cfu/ml. Kết quả này chứng tỏ cám gạo lúa xay 2% với thành phần kém tương thích hơn cho xạ khuẩn phát triển.

Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Phạm Tuấn Vũ (2015) [17], trong các môi trường chất mang khảo sát mật số xạ khuẩn *Streptomyces helveticus* AG10 sau 1 tuần tồn trữ thì xạ khuẩn trên môi trường MS cho khả năng sinh bào tử tốt nhất, tiếp theo là đến môi trường cám. Hơn nữa, môi trường chất mang bột đậu nành (MS) cũng là nguồn dinh dưỡng rất tốt cho sự phát triển của vi khuẩn [18], [19].



Hình 1. Mật số xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (LV-DT) ở các môi trường nuôi cấy thời điểm 7 NSKC

3.1.2. Khả năng đối kháng của xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (LV-DT) trong chế phẩm trên đĩa thạch

BKVVK: Kết quả được thể hiện ở bảng 3 cho thấy, trong cả 3 chế phẩm sau 1 tuần tồn trữ đều có khả năng tạo ra BKVVK với nấm *Phytophthora* sp. nhưng có sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% so với nghiệm thức ĐC trong suốt 2 - 6 NSKC. Chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (LV-DT) ở chế phẩm MS 2% được giữ BKVVK ở mức 14,5 - 21 mm cao nhất và khác biệt với các nghiệm thức còn lại và lần lượt ở chế phẩm cám bắp 2% từ 1,41 - 17,16 mm và chế phẩm cám gạo lúa xay 2% với 2,08 - 17,34 mm. Kết quả chứng tỏ chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (LV-DT) ở chế phẩm MS 2% sau 1 tuần tồn trữ có khả năng đối kháng với nấm *Phytophthora* sp. cao hơn so với ở chế phẩm cám bắp 2% và cám gạo lúa xay 2%. Kết quả trên cũng phù hợp với nghiên cứu của Đỗ Văn Thịnh (2017) [20], các chủng xạ khuẩn đối kháng mạnh với nấm *Phytophthora* sp. có BKVVK dao động từ 17 - 22 mm.

Bảng 2. Mật số của xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (LV-DT) ở các chế phẩm khác nhau

Nghiệm thức	Mật số (cfu/ml) xạ khuẩn <i>Streptomyces</i> sp. (LV-DT)
MS 2%	$1,20^a \times 10^6$
Cám bắp 2%	$0,58^b \times 10^6$
Cám gạo lúa xay 2%	$0,16^c \times 10^6$
Mức ý nghĩa	**
CV (%)	11,1

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt qua phép kiểm định Duncan. **: khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

Bảng 3. BKVVK của chủng *Streptomyces* sp. (LV-DT) ở các nghiệm thức

Nghiệm thức	BKVVK (mm)		
	2 NSKC	4 NSKC	6 NSKC
MS 2%	21,00 ^a	18,31 ^a	14,50 ^a
Cám bắp 2%	17,16 ^b	13,63 ^b	1,41 ^{bc}
Cám gạo lúa xay 2%	17,34 ^b	11,94 ^c	2,08 ^b
ĐC	14,75 ^c	0,00 ^d	0,00 ^c
Mức ý nghĩa	**	**	**
CV (%)	5,2	6,6	13,0

Ghi chú: Các giá trị trên cùng một cột mang mẫu tự (a, b, c) giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê 1%; **: khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; NSKC: ngày sau khi cấy; ĐC: Đối chứng

Nhìn chung, khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn có khuynh hướng giảm dần theo thời gian. Trong đó, ở nghiệm thức MS 2% thể hiện khả năng đối kháng cao và ổn định so với các nghiệm thức còn lại đến thời điểm 6 ngày sau thí nghiệm. Kết quả

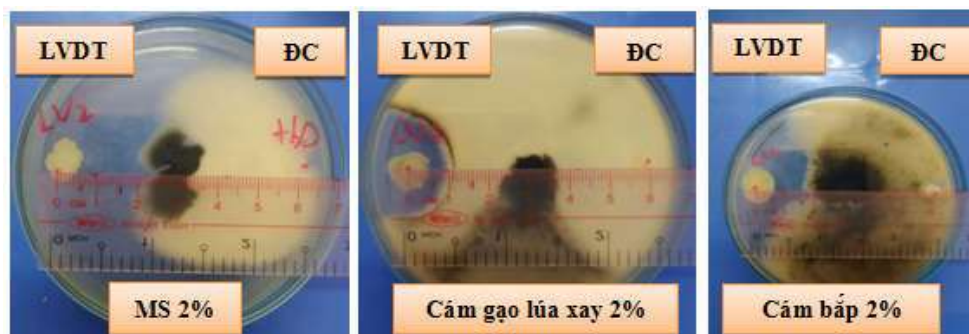
cũng phù hợp với nghiên cứu của Shimizu và cs (2001) [21] đã lựa chọn môi trường MS nuôi cấy để tạo bào tử cho xạ khuẩn *Streptomyces* sp. đối kháng với nấm *Colletotrichum orbicula*.

HSDK: Số liệu từ hình 2 và bảng 4 cho thấy, trong suốt giai đoạn 2 - 6 NSKC thì có sự khác biệt về mật độ thống kê ở mức ý nghĩa 1% giữa các nghiệm thức so với nghiệm thức ĐC về HSDK (%). Cụ thể, chủng *Streptomyces* sp. (LV-DT) ở chế phẩm MS 2% vẫn giữ được HSDK (%) ở mức 40,84 - 61,04% cao và khác biệt so với chế phẩm cám bắp 2% từ 4,71 - 45,42% và ở chế phẩm cám gạo lúa xay 2% với 6,92 - 39,79%. Đặc biệt, HSDK của chủng *Streptomyces* sp. (LV-DT) ở cả 3 chế phẩm MS 2%, cám bắp 2% và cám gạo lúa xay 2% đều đạt cao nhất ở thời điểm 4 NSKC.

Bảng 4. HSDK (%) của chủng *Streptomyces* sp. (LV-DT) ở các nghiệm thức

Nghiệm thức	BKVVK (mm)		
	2 NSKC	4 NSKC	6 NSKC
MS 2%	40,84 ^a	61,04 ^a	48,33 ^a
Cám bắp 2%	15,50 ^b	45,42 ^b	4,71 ^{bc}
Cám gạo lúa xay 2%	16,40 ^b	39,79 ^c	6,92 ^b
Mức ý nghĩa	**	**	**
CV (%)	10,5	6,6	12,3

*Ghi chú: Các giá trị trên cùng một cột mang mẫu tự (a, b, c) giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê 1%; **: khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; NSKC: ngày sau khi cấy; ĐC: Đối chứng*



Hình 2. Khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn LVDT (*Streptomyces* sp. LV-DT) trong các chất mang nhân nuôi với nấm bệnh *Phytophthora* sp. ở thời điểm 6 NSKC

Kết quả ở bảng 3 và 4 cho thấy xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (LV-DT) được nuôi trong môi trường MS 2% luôn thể hiện sự đối kháng cao với nấm *Phytophthora* sp. qua các thời điểm khảo sát và duy trì đến 6 NSKC với BKVVK và HSDK cao. Kết quả cũng đã xác định xạ khuẩn có khả năng đối kháng với nấm *Phytophthora nicotianae* gây bệnh trên mè [6]. Theo Lê Văn Tiến (2015) [7] xạ khuẩn có khả năng đối kháng với nấm *Phytophthora* sp. gây hại trên sen.

3.2. Khả năng phòng trị bệnh cháy lá thối củ khoai môn của xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (LV-DT) trong chế phẩm sau thời gian tồn trữ 1 tuần ở điều kiện nhà lưới

3.2.1. Tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh

Kết quả ở bảng 5 cho thấy, qua 13 NSCB tất cả các nghiệm thức đều khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% so với nghiệm thức ĐC (+) về tỉ lệ bệnh (TLB) và chỉ số bệnh (CSB). Ở nghiệm thức Niko 72WP vẫn duy trì TLB (25,93 - 35,28%) và CSB (3,94 - 11,06%) luôn ở mức thấp và khác biệt nhất so với

nghiệm thức cám gạo lúa xay 2% với TLB từ 26,31 - 60,28% và CSB từ 6,77 - 21,35% trong suốt 4 - 13 NSCB. Riêng cả 2 nghiệm thức MS 2% và cám bắp 2% có TLB (20,71 - 49,1%) và CSB (4,01 - 20,56%) đều không có sự khác biệt thống kê lẫn nhau trong suốt 4 - 13 NSCB, nhưng ở nghiệm thức ĐC (+) luôn có TLB từ 38,21 - 74,09% và CSB từ 10,66 - 39,93% cao và khác biệt nhất so với các nghiệm thức còn lại. Kết quả chứng tỏ nghiệm thức xử lý Niko 72WP có khả năng kiểm soát bệnh tốt nhất; kể đến ở cả 2 nghiệm thức MS 2% và cám bắp 2%; riêng ở nghiệm thức cám gạo lúa xay 2% cho hiệu quả thấp nhất trong suốt 13 NSCB. Kết quả cũng phù hợp với nghiên cứu của Trần Phương Dinh (2019) [1] cho thấy ngoài nghiệm thức xử lý thuốc hóa học thì nghiệm thức xử lý xạ khuẩn luôn có chỉ số bệnh thấp và duy trì đến 6 NSCB. Theo Nguyễn Xuân Thành và cs (2005) [22], xạ khuẩn có khả năng sinh tiết chất kháng sinh enzym ngoại bào trong quá trình phát triển có thể vì chính sản phẩm này của xạ khuẩn đã làm ức chế sự phát triển của nấm *Phytophthora* sp.

3.2.2. Hiệu quả giảm bệnh

Kết quả ở bảng 6 và hình 3 cho thấy hiệu quả giảm bệnh (HQGB) đối với bệnh cháy lá trên khoai môn ở các nghiệm thức đều có sự khác biệt về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 1% lẫn nhau trong suốt 7 - 13 NSCB. Ở nghiệm thức xử lý Niko 72WP cho HSDK thể hiện qua HQGB (%) ở mức cao từ 51,65 - 52,18% và khác biệt nhất so với các nghiệm thức còn lại từ 10 - 13 NSCB (ngoại trừ nghiệm thức MS 2% không khác biệt chỉ ở 13 NSCB). Kết quả chứng tỏ đến thời điểm này nghiệm thức Niko 72WP và MS 2% đều cho

hiệu quả quản lý bệnh cao nhất và tốt hơn cám bắp 2% và cám gạo lúa xay 2%. Theo Nguyễn Phú Dũng và cs (2019) [14], *Streptomyces* sp. CM.AG11 có khả năng quản lý bệnh tốt tương đương thuốc Mancozeb 80WP chỉ ở giai đoạn 6 NSCB. Nhưng kể từ 8 - 12 NSCB thì chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. CM.AG11 cho hiệu quả quản lý bệnh thấp hơn Mancozeb 80WP. Theo Nguyễn Thành Thủ (2017) [3], nghiệm thức được xử lý xạ khuẩn đều cho HQGB cao và quản lý bệnh tốt kể từ sau chủng bệnh.

Bảng 5. Tỷ lệ và chỉ số bệnh ở các nghiệm thức

Nghiệm thức	Mức độ bệnh (%) ở các thời điểm sau chủng bệnh							
	4 NSCB		7NSCB		10 NSCB		13 NSCB	
	TLB	CSB	TLB	CSB	TLB	CSB	TLB	CSB
MS 2%	20,71 ^{bc}	4,01 ^c	30,52 ^{bc}	6,96 ^{bc}	45,02 ^b	13,55 ^c	46,34 ^{cd}	14,70 ^c
Cám bắp 2%	20,95 ^{bc}	5,47 ^{bc}	38,99 ^b	11,88 ^{bc}	44,91 ^b	15,86 ^{bc}	49,10 ^{bc}	20,56 ^{bc}
Cám gạo lúa xay 2%	26,31 ^b	6,77 ^b	41,24 ^b	12,07 ^b	48,27 ^b	18,43 ^b	60,28 ^b	21,35 ^b
Niko 72WP	27,19 ^c	3,94 ^c	25,93 ^c	6,85 ^c	32,50 ^c	11,06 ^c	35,28 ^d	10,58 ^c
ĐC(-)	25,05 ^b	6,28 ^b	35,39 ^{bc}	10,26 ^b	45,92 ^b	13,34 ^b	47,89 ^{cd}	14,81 ^{bc}
ĐC(+)	38,21 ^a	10,66 ^a	52,73 ^a	17,64 ^a	67,35 ^a	30,78 ^a	74,09 ^a	39,93 ^a
Mức ý nghĩa	**	**	**	**	**	**	**	**
CV (%)	16,9	26,8	18,1	23,6	14,4	20,7	15,3	17,00

Ghi chú: Các giá trị trên cùng một cột mang mẫu tự (a, b, c) giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê 1%; **: khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; NSCB: ngày sau chủng bệnh; số liệu được chuyển sang arcsin trước khi xử lý thống kê.

3.2.3. Diện tích dưới đường cong tiến triển bệnh (AUDPC)

Bảng 7 cho thấy chỉ số AUDPC của các nghiệm thức đều có sự khác biệt về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 1% và dao động từ 268,99 - 528,69. Riêng nghiệm thức xử lý Niko 72WP có chỉ số AUDPC ở

mức thấp (268,99), kể đến cao hơn lần lượt ở nghiệm thức MS 2% với 327,19, cám bắp 2% với 356,78 và cám gạo lúa xay 2% với 398,42. Kết quả này cũng phù hợp với ghi nhận của Nguyễn Phú Dũng và cs (2019) [14] khi xử lý với Mancozeb có khả năng quản lý bệnh tốt với chỉ số AUDPC thấp 258,7.

Bảng 6. Hiệu quả giảm bệnh (%) ở các nghiệm thức

Nghiệm thức	HQGB (%) ở các NSCB			
	4 NSCB	7 NSCB	10 NSCB	13 NSCB
MS 2%	45,76	41,59 ^a	35,01 ^b	32,20 ^{ab}
Cám bắp 2%	45,04	32,94 ^{ab}	33,24 ^b	33,11 ^b
Cám gạo lúa xay 2%	42,36	22,59 ^b	28,38 ^b	22,87 ^b
Niko 72WP	55,85	50,75 ^a	51,65 ^a	52,18 ^a
Mức ý nghĩa	ns	*	*	*
CV (%)	23,6	20,8	16,6	18,7

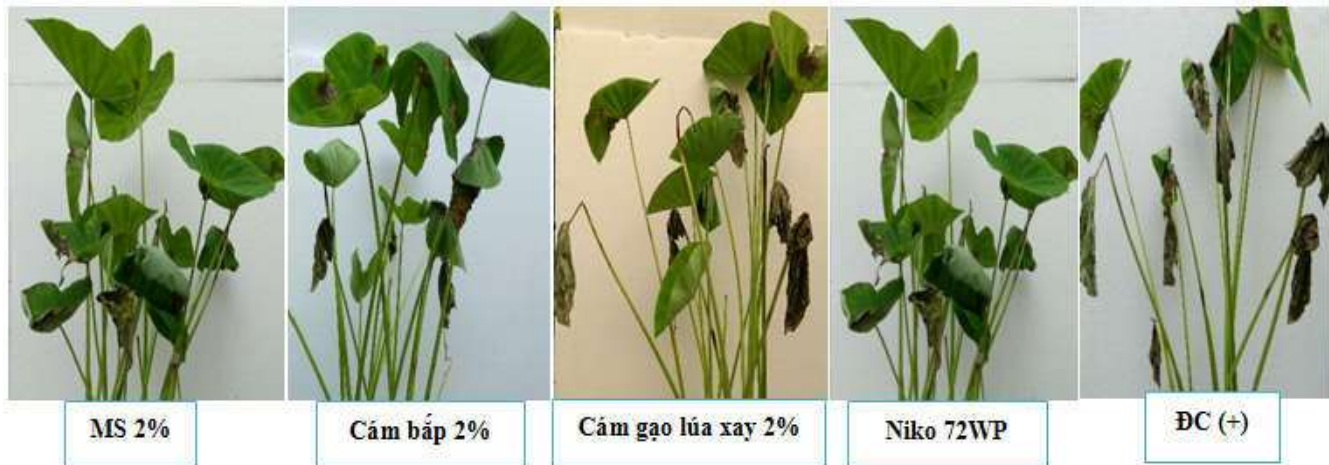
Bảng 7. AUDPC ở các nghiệm thức

Nghiệm thức	AUDPC
MS 2%	327,19 ^c
Cám bắp 2%	356,78 ^{bc}
Cám gạo lúa xay 2%	398,42 ^b
Niko 72WP	268,99 ^d
ĐC (-)	353,34 ^{bc}
ĐC (+)	528,69 ^a
Mức ý nghĩa	**
CV (%)	10,1

Ghi chú: Các giá trị trên cùng một cột mang mẫu tự (a, b, c) giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê 5%; *: khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; **: khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; ns: không có sự khác biệt; NSCB: ngày sau chủng bệnh; số liệu được chuyển sang arcsin trước khi xử lý thống kê.

Tóm lại, kết hợp phân tích dữ liệu về TLB, CSB, HQGB và AUDPC cho thấy nghiệm thức xử lý Niko 72WP vẫn cho hiệu quả quản lý bệnh tốt nhất; tiếp đến ở 2 nghiệm thức MS 2% và cám bắp 2%, nhưng thấp nhất ở nghiệm thức cám gạo lúa xay 2% trong suốt 4 - 13 NSCB so với nghiệm thức ĐC (+). Kết quả ghi nhận tương tự nghiên cứu của Nguyễn Thành

Thủ (2017) [3] là nấm *P. colocasiae* tương đối mẫn cảm với hoạt chất Mancozeb cũng cho hiệu quả ức chế với nấm *Phytophthora nicotianae* gây thối gốc mè. Ngoài ra các hoạt chất Metalaxyl, Dimethomorph, Mancozeb cũng có khả năng ức chế cao đối với nấm *P. infestans* trên khoai tây [23].



Hình 3. HQGB cháy lá khoai môn của các nghiệm thức được phun thuốc và các chế phẩm so với ĐC (+) ở 13 NSCB trong điều kiện nhà lưới

4. KẾT LUẬN VÀ KHUYẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Ở điều kiện phòng thí nghiệm chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (LV-DT) trong chế phẩm MS 2% sau 7 ngày tồn trữ có mật số $1,2 \times 10^6$ cfu/ml, BKVK 14,5 - 21 mm và HSDK 40,84 - 61,04% từ 2 - 6 NSCB cao nhất so với chế phẩm cám bắp 2% và cám gạo lúa xay 2%.

Ở điều kiện nhà lưới xử lý Niko 72WP cho hiệu quả quản lý bệnh tốt nhất; kế đến ở 2 chế phẩm MS 2% và cám bắp 2%, nhưng thấp nhất ở chế phẩm cám gạo lúa xay 2% trong suốt 4 - 13 NSCB thể hiện qua các chỉ tiêu về TLB, CSB, HQGB và diện tích dưới đường cong tiến triển bệnh sau thời gian một tuần tồn trữ.

4.2. Khuyến nghị

Tiếp tục nghiên cứu và đánh giá khả năng đối kháng của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (LV-DT) trên các loại chế phẩm nhân nuôi khác nhau ở điều kiện ngoài đồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Phương Dinh (2019). *Đánh giá khả năng phòng trị của xạ khuẩn đối với bệnh cháy lá khoai*

môn do nấm Phytophthora sp. gây ra. Luận văn Thạc sĩ nông nghiệp. Trường Đại học An Giang.

2. Moayed G. and Mostowfizadeh-ghalamfarsa R. (2009). *Antagonistic Activities of Trichoderma spp. on Phytophthora Root Rot of Sugar Beet*. Iran Agricultural Research 28 (2) 21-38.

3. Nguyễn Thành Thủ (2017). *Đánh giá hiệu quả phòng trị của xạ khuẩn đối với bệnh cháy lá khoai môn do nấm Phytophthora sp. gây ra*. Luận văn tốt nghiệp kỹ sư ngành Bảo vệ thực vật. Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng. Trường Đại học Cần Thơ

4. Trần Thị Xuân An (2009). *Bài giảng vi sinh vật*. Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế.

5. Watve, M. G., R. Tickoo, M.M. Jog and B. D. Bhole (2001). *How many antibiotics are produced by the genus Streptomyces?*. Archives of microbiology, 176(5): 386-390.

6. Phạm Công Hưởng (2013). *Đánh giá hiệu quả của xạ khuẩn và thuốc hóa học trong phòng trị bệnh thối thân (Phytophthora nicotianae) trên mè trong điều kiện nhà lưới*. Luận văn tốt nghiệp kỹ sư ngành Bảo vệ thực vật. Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng. Trường Đại học Cần Thơ.

7. Lê Văn Tiến (2015). *Khảo sát khả năng phòng trị bệnh thối thân trên sen do nấm Phytophthora sp. bằng biện pháp sinh học và hóa học trong điều kiện phòng thí nghiệm*. Luận văn tốt nghiệp kỹ sư ngành Bảo vệ thực vật. Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng. Trường Đại học Cần Thơ.
8. Nguyễn Phi Hùng (2010). *Nghiên cứu nấm Phytophthora colocasiae gây bệnh cháy lá trên một số giống khoai môn (Colocasia esculenta L.)*. Luận văn Thạc sĩ khoa học nông nghiệp. Trường Đại học Nông lâm thành phố Hồ Chí Minh.
9. Hsu, S. C., and J. L. Lockwood (1975). *Powdered chitin agar as a selective medium for enumeration of actinomycetes in water and soil*. Applied Microbiology 29: 422 - 426.
10. Shirling and Gottlie (1966). Methods for characterization of streptomyces species. *International journal of systematic bacteriology* Vol. 16, No. 3 July 1966 pp. 313-340.
11. Nguyễn Phú Dũng (2019). Phân lập, tuyển chọn và thời điểm phun chủng xạ khuẩn đối kháng bệnh cháy lá khoai môn ở điều kiện phòng thí nghiệm và nhà lưới Trường Đại học An Giang 2018 - 2019. Chuyên đề nông nghiệp đồng bằng sông Cửu Long: Ứng dụng công nghệ cao hướng đến phát triển bền vững 11/2019. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*. Trang 17 - 27.
12. Shurtleff, M. C. and Averre III, C. W. (1997). *The plant disease clinic and field diagnosis of abiotic diseases*. APS press. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesata. pp 245.
13. Vidhyasekaran, P. and Muthamilan M. (1995). *Development of Formulation of Pseudomonas fluorescens for Control of Chickpea wilt*. Plant disease. 79 (8): 782-786.
14. Nguyễn Phú Dũng, Lê Minh Tường và Trần Phương Dinh (2019). *Tuyển chọn và hiệu quả phòng trị của xạ khuẩn đối với bệnh cháy lá khoai môn do nấm Phytophthora sp. gây ra ở An Giang*. Đề tài cấp cơ sở tỉnh An Giang 2019. Khoa Nông nghiệp. Trường Đại học An Giang.
15. Little, T. M and F. J. Hills. (1978). Agricultural experimentation: Design and analysis. *John and Sons, New York*, pp 234.
16. Jeger, M. J., and Viljanen-Rollinson, S. L. H. (2001). *The use of the area under the disease-progress curve (AUDPC) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars*. Theoretical and Applied Genet. 102 (1): 32 - 40.
17. Phạm Tuấn Vũ (2015). *Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện nhân nuôi đối với một số chủng xạ khuẩn có triển vọng*. Luận văn tốt nghiệp kỹ sư ngành Bảo vệ thực vật. Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng. Trường Đại học Cần Thơ.
18. Nguyễn Thị Thu Nga (2003). *Khảo sát đặc tính sinh học, khả năng đối kháng của vi khuẩn Burkholderia cepacia TG17 đối với nấm Rhizoctonia solani Kunh và tìm môi trường nhân nuôi vi khuẩn này*. Luận văn cao học ngành Nông học, Trường Đại học Cần Thơ.
19. Dương Thị Nguyễn Quyên, Nguyễn Đức Độ và Phạm Văn Kim (2008). Tìm môi trường nhân nuôi và tồn trữ vi khuẩn Burkholderia cepacia TG17. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ* 2008. Trang 179-186.
20. Đỗ Văn Thịnh (2017). *Đánh giá khả năng gây hại của các chủng nấm Phytophthora spp. gây bệnh cháy lá trên khoai môn và bước đầu nghiên cứu biện pháp phòng trị*. Luận văn tốt nghiệp Đại học, ngành Bảo vệ thực vật, Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ.
21. Shimizu M, N. Fujita, Y. Nakagawa, T. Nishimura, T. Furumai, Y. Igarashi, H Onaka, R. Yoshida and H. Kunoh (2001). Disease resistance of tissue-cultured seedlings of rhododendron after treatment with Streptomyces sp. R-5. *J Gen Plant Pathol* 67, pp 325-332.
22. Nguyễn Xuân Thành, Nguyễn Bá Hiên, Hoàng Hải và Vũ Thị Hoan (2005). *Giáo trình vi sinh vật công nghiệp*. Nhà xuất bản Giáo dục.
23. Emil Rekanovic, Ivana Potocnik, Svetlana Milijasevic-Marcic, Milos Stepanovic, Biljana Todorovic and Milica Mihajlovic (2012). *Toxicity of metalaxyl, azoxystrobin, dimethomorph, cymoxanil, zoxamide and mancozeb to Phytophthora infestans isolates from Serbia*. Institute of Pesticides and Environmental Protection, Laboratory of Applied Phytopathology, Banatska, Serbi. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* (2012) 47, 403-409. DOI: 10.1080/03601234.2012.657043.

THE EFFECT OF BIOLOGICAL PRODUCTS *Streptomyces* sp. LV-DT AGAINST THE LEAF BLIGHT DISEASE ON TARO CAUSED BY *Phytophthora* sp.**Nguyen Phu Dung, Lam Nhut Tan, Vo Thi Huong Duong****Summary**

The objectives of study were to determine the cultural factors effect on the *Streptomyces* sp. (LV-DT) therefore establish a procedure to create biological products for management of leaf blight disease on taro caused by *Phytophthora* sp. fungus. In laboratory conditions, the results indicated that *Streptomyces* sp. (LV-DT) were againsted the best to *Phytophthora* sp. after 7 days of storage in MS 2% medium, it had a antagonistic bacteria density of 1.2×10^6 cfu/ml, inhibition zone of 14.5 – 21 mm and an antagonistic efficacy of 40.84 - 61.04% at 2 - 6 days after inoculation (dai). In the greenhouse conditions, the results showed that the ability to control leaf blight on taro disease of Niko 72WP pesticide was the best and higher than that of MS 2%, Bran Corn 2% and the lowest efficiency in Rice Bran milled 2% medium during 4 -13 days after inoculation through disease incidence, disease index, disease reduction effectiveness and area under disease progress curve.

Keywords: *Taro, Leaf blight disease, Phytophthora* sp., *Streptomyces* sp. (LV-DT), *Biological substrats*.

Người phản biện: GS.TS. Nguyễn Văn Tuất

Ngày nhận bài: 18/3/2022

Ngày thông qua phản biện: 01/4/2022

Ngày duyệt đăng: 19/8/2022