PHÂN LẬP, ĐỊNH DANH VÀ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG GÂY HẠI CỦA CÁC CHỦNG NẤM *FUSARIUM* SPP. GÂY BỆNH HÉO RŨ TRÊN MÈ (*Sesamum indicum* L.) TẠI HUYỆN CHÂU PHÚ, TỈNH AN GIANG

Cao Thị Thùy Trang[1], Lê Vĩnh Thúc[2*], Lý Ngọc Thanh Xuân[3], Trần Ngọc Hữu[2], Nguyễn Quốc Khương[2*]

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm mục tiêu: (i) tuyển chọn các chủng nấm *Fusarium* spp. gây bệnh héo rũ trên cây mè trồng trên đất phù sa trong đê; (ii) tìm ra dòng nấm gây bệnh héo rũ trên cây mè. Hai mươi mẫu thân và đất vùng rễ cây mè bị nhiễm bệnh được thu tại huyện Châu Phú, tỉnh An Giang để phân lập nấm bệnh. Thí nghiệm hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 12 nghiệm thức là 11 chủng nấm gây bệnh và nghiệm thức đối chứng, được chủng vào cây mè bằng hai cách là chủng nấm bệnh vào đất và áo trên hạt, với 4 lặp lại. Kết quả phân lập được 28 chủng *Fusarium* spp. từ mẫu thân và đất vùng rễ cây mè bị bệnh, trong đó tuyển chọn được 11 chủng nấm *Fusarium* spp. gây bệnh héo rũ trên mè, với kết quả định danh là nấm *F. falciforme* F12.1A, *F. solani* F16.3B và *F. oxysporum* F28.1A gây bệnh héo rũ trên mè khi bổ sung trực tiếp vào đất và phương pháp áo trên hạt, với tỷ lệ gây bệnh của các dòng lên đến 60 - 85%.

Từ khóa: *Cây mè, bệnh héo rũ, đất phù sa trong đê, Fusarium spp.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây mè là thực vật chứa dầu trong hạt quan trọng trên thế giới. Dầu mè chứa chất chống oxy hóa như sesamin, sesamolin và khoảng 40% axit béo, axit oleic không bão hòa (Myint *et al.*, 2020). Diện tích trồng mè trên thế giới đạt 11.743 nghìn ha vào năm 2018; tuy nhiên, năng suất trung bình 512 kg/ha dựa trên thống kê trong giai đoạn 2017 – 2019 (FAOSTAT, 2021). Tại Việt Nam, cây mè được trồng ở nhiều vùng sinh thái khác nhau vì điều kiện tự nhiên phù hợp. Tuy nhiên, diện tích và sản lượng cây mè có nhiều biến động trong những năm gần đây (FAOSTAT, 2021). Cụ thể là diện tích trồng mè giảm 8.277 ha, sản lượng giảm 6.168 tấn, năng suất chỉ tăng 17 kg/ha trong những năm 2017 – 2019. Diện tích và sản lượng giảm do nhiều nguyên nhân, trong đó nấm gây bệnh được xem là tác nhân chủ yếu (Elewa *et al.*, 2011). Theo Ara e*t al.* (2017) nấm gây bệnh là một trong những yếu tố quan trọng hạn chế năng suất cây mè trên toàn thế giới. Bệnh héo rũ và thối rễ ở cây mè do nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *sesami* gây chết cây, làm giảm năng suất (Mahmoud và Abdalla, 2018). Bệnh gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến hạt giống, chất lượng hạt và năng suất hạt, bệnh được phát hiện từ lâu ở nhiều quốc gia trên thế giới như tại Ấn Độ và Iraq (Elewa *et al.*, 2011). Theo Ara *et al.* (2017) héo rũ trên cây mè do *Fusarium* spp. là một trong những bệnh nguy hiểm gây héo mạch dẫn đến cây héo chết đột ngột và giảm năng suất 17,1 – 73,3% tại Ugranda (Ngamba *et al.*, 2020). Chính vì vậy, nhiều biện pháp cần được áp dụng để giải quyết vấn đề trên, trong đó biện pháp sinh học được xem là giải pháp triển vọng vì tính an toàn với môi trường. Do đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm mục tiêu (i) xác định loài nấm *Fusarium* spp. là tác nhân gây bệnh héo rũ cho cây mè trồng trên đất phù sa không bồi tại huyện Châu Phú, tỉnh An Giang, (ii) tuyển chọn các dòng nấm gây bệnh cao trong điều kiện nhà lưới.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu thân cây, đất vùng rễ giống mè đen Cần Thơ bị bệnh héo rũ được thu thập tại 5 xã canh tác mè thuộc huyện Châu Phú, tỉnh An Giang.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu mẫu

[1] Học viên cao học ngành Khoa học Cây trồng khóa 26, Trường Đại học Cần Thơ
[2] Bộ môn Khoa học Cây trồng, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ
[3] Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh
*Email: lvthuc@ctu.edu.vn; nqkhuong@ctu.edu.vn

Tổng cộng 20 mẫu cây mè bị bệnh có triệu chứng héo rũ và mẫu đất vùng rễ cây bị bệnh được thu từ ruộng trồng mè cho vào túi nhựa, ghi ký hiệu mẫu và bảo quản trong điều kiện lạnh đem về phòng thí nghiệm cho phân lập nấm bệnh. Cụ thể là mỗi ruộng thu cây bị bệnh và mẫu đất có triệu chứng héo rũ của 5 điểm theo đường chéo gốc và gom chung thành một mẫu. Số mẫu thu thập tại các xã: Bình Mỹ, Bình Phú, thị trấn Cái Dầu, Bình Long và Vĩnh Thạnh Trung với số lượng mẫu lần lượt như sau: 5, 6, 3, 5 và 01 vào giai đoạn 30-55 ngày sau khi gieo.

2.2.2. Phân lập mẫu bệnh:

Đối với mẫu cây:

- Bước 1: Chọn mẫu bệnh mè có mạch dẫn hoá nâu, tiến hành khử trùng bề mặt bằng cồn 70%. Kế tiếp, dùng dao cắt phần mô cây bệnh (mẫu dài 4 - 5 mm) trước khi khử trùng mẫu đã cắt bằng cồn 70% trong 30 giây. Sau đó, mẫu bệnh được rửa sạch bằng nước cất và thấm khô qua giấy thấm đã khử trùng.

- Bước 2: Đặt mẫu bệnh đã cắt vào đĩa petri chứa môi trường water agar. Tiếp theo, các đĩa mẫu được ủ khoảng 2 - 3 ngày trong tủ ủ điều kiện 32^{o}C, thường xuyên kiểm tra đĩa cho đến khi xuất hiện tơ nấm và cấy chuyển nấm sang môi trường PDA.

Đối với mẫu đất thu thập từ vùng rễ cây bị bệnh:

- Bước 1: Mẫu đất được pha với nước cất vô trùng với tỉ lệ 1 gram đất với 99 ml nước cất vô trùng, lắc đều mẫu trong 30 phút và để lắng trong 1 ngày trong điều kiện nhiệt độ (28 – 32^{o}C).

- Bước 2: Trải dịch mẫu đất trên môi trường PDA được khử trùng ở 120^{o}C trong 20 phút. Sau 2 – 3 ngày tiến hành kiểm tra mẫu thí nghiệm, quan sát chọn khuẩn lạc.

- Bước 3: Tách ròng và làm thuần mẫu nấm gây bệnh dựa vào hình dạng khuẩn ty. Quan sát các đặc tính hình thái sợi nấm (màu sắc tản nấm, dạng sợi nấm), bào tử, hạch nấm dưới kính hiển vi quang học 40X để xác định nấm *Fusarium* spp. Sau đó, mẫu thuần được trữ nguồn trong tủ lạnh có nhiệt độ 4^{o}C trong ống eppendorf và đĩa pertri chứa môi trường PDA để sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo. Trong đó, tên các chủng nấm phân lập được đặt theo chi nấm *Fusarium* (F) kết hợp vị trí thứ tự nơi thu mẫu. Các mẫu đất cũng được phân lập tương tự.

2.2.3. Mô tả phương pháp xác định hình thái nấm

Nấm *Fusarium* được định danh theo phương pháp của Burgess *et al.* (1992). Cụ thể được tóm tắt như sau: Làm thuần bằng kỹ thuật cấy đơn bào tử và nuôi nấm thuần trên môi trường PDA dưới ánh sáng. Chuẩn bị mẫu quan sát: Nhỏ giọt thạch môi trường PDA trên lam đã khử trùng đặt vào đĩa pertri. Sau đó cấy bào tử nấm vào lam môi trường đã chuẩn bị. Đậy lamen và thêm vài giọt nước thanh trùng vào đáy đĩa pertri. Ủ mẫu trong điều kiện phòng (25^{o}C) từ 2-5 ngày. Tiến hành quan sát qua hệ sợi nấm, bề mặt, màu sắc khuẩn lạc, hình dạng, kích thước bào tử trên kính soi nổi và kính hiển vi quang học 40X.

Nguồn nấm thu thập được xếp nhóm thứ tự theo vị trí thu thập mẫu đất, thân cây và phân lập dựa vào dạng khuẩn ty, quá trình phát triển, màu sắc khuẩn lạc và dạng sợi nấm. Sau đó được tách dòng và đặt tên theo ký tự A, B với hình thái khác nhau.

2.2.4. Xác định tác nhân gây bệnh chết cây con và héo rũ trên mè theo quy trình Koch

Các bước thực hiện trong xác định khả năng gây bệnh của các chủng nấm *Fusarium* spp. được thực hiện theo Li *et al.* (2012).

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm hoàn toàn ngẫu nhiên được thực hiện trong nhà lưới khu thí nghiệm và thực hành, Trường Đại học An Giang, với bốn lần lặp lại, mỗi chậu có 4 cây được xem là một lặp lại.

Xử lý đất: Đất thu từ vùng trồng mè Châu Phú, An Giang sau khi phơi khô tự nhiên và loại bỏ dư thừa thực vật. Đất được thanh trùng ướt 02 lần ở nhiệt độ 121^{o}C trong 15 phút. Mỗi chậu thí nghiệm cho 0,5 kg đất đã thanh trùng 2 lần vào chậu có kích thước 15 x 15 x 15 cm.

Xử lý hạt giống: Mè được ngâm trong nước ấm ở nhiệt độ 45 – 50^{o}C trong 01 giờ, sau đó ủ hạt nảy mầm, gieo các hạt nảy mầm ra chậu đã chủng các chủng nấm *Fusarium* spp. Theo dõi tỷ lệ gây bệnh cao nhất trên cây mè đến khi cây chết để chọn ra chủng nấm gây hại mạnh nhất.

Mức độ gây bệnh của các chủng nấm dựa trên tỷ lệ cây bệnh và cấp bệnh gây hại. Phương pháp tính tỷ lệ bệnh (TLB %) theo Ziedan *et al.* (2011).

TLB (%) = A/B*100

Trong đó: A là số lượng cây bị bệnh (cây, cơ quan bị bệnh); B Tổng số cây khảo sát.

2.2.5. Định danh các nấm Fusarium spp. *đã tuyển chọn*

Các chủng nấm *Fusarium* spp. được trích DNA từ khuẩn lạc nấm sợi. Cụ thể là cho bào tử khuẩn lạc nấm sau 7-10 ngày nuôi cấy trên môi trường PDA vào eppendorf 2,2 ml lắc đều và ủ nhiệt độ phòng 10 phút. Thực hiện ly tâm 13000 vòng trong 5 phút, lấy phần dịch trích chuyển sang eppendorf mới và thực hiện rửa phần tủa bằng 500 µl Ethanol 70%, ly tâm 13000 vòng trong 5 phút, sau đó sấy khô chân không. Tiếp theo DNA được hòa tan trong 100 µl TE 0.1X. Sau đó, phản ứng PCR được tiến hành với cặp mồi ITS1 và ITS4 (White *et al.,* 1990) có trình tự như sau: ITS 1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'; ITS 4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'. Phản ứng PCR được thực hiện với tổng thể tích 50 µl và được thực hiện qua các giai đoạn phản ứng: Biến tính (95°C trong 5 phút và 95°C trong 90 giây) x 30 chu kỳ, bắt cặp (52°C trong 60 giây) x 30 chu kỳ, kéo dài (72°C trong 90 giây và 72°C trong 5 giây) x 30 chu kỳ và dừng phản ứng ở nhiệt độ phòng. Sản phẩm PCR được tinh sạch và giải trình tự bằng hệ thống giải trình tự tự động. Kết quả này được so sánh với cơ sở dữ liệu GenBank trên NCBI bằng công cụ BLASTN.

2.2.6. Phương pháp xử lí số liệu

So sánh giá trị trung bình của các dòng nấm bởi kiểm định Ducan thông qua phân tích thống kê ANOVA bằng phần mềm SPSS 13.0.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thí nghiệm được thực hiện từ tháng 9 năm 2019 đến tháng 10 năm 2020. Tại Trường Đại học An Giang và Trường Đại học Cần Thơ.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và đặc điểm hình thái của các chủng nấm *Fusarium* spp. gây bệnh héo rũ trên cây mè tại huyện Châu Phú, tỉnh An Giang

3.1.1. Phân lập các chủng nấm Fusarium spp. *gây bệnh héo rũ trên cây mè tại huyện Châu Phú, tỉnh An Giang*

Kết quả phân lập được 28 chủng nấm *Fusarium* spp. từ 20 mẫu thân mè tại 5 xã thuộc huyện Châu Phú. Trong đó, tuyển chọn được 11 chủng nấm *Fusarium* spp. có khả năng gây bệnh héo rũ tại 3 xã gồm 5 chủng tại xã Bình Phú, 4 chủng tại xã Bình Mỹ, 2 chủng tại xã Bình Long, đạt tỷ lệ 39,3% trong tổng số các chủng được đánh giá. Dựa vào kết quả hình thái cho thấy các chủng nấm và tỷ lệ mẫu đất nhiễm bệnh ở mỗi điểm rất đa dạng. Nghĩa là sợi nấm, màu sắc, khả năng phát triển tản nấm và khả năng gây bệnh của các chủng tuyển chọn riêng biệt (Bảng 1).

Bảng 1. Đặc điểm, màu sắc tản nấm và tiểu bào tử của các chủng nấm gây bệnh héo rũ được phân lập trên mè tại huyện Châu Phú, tỉnh An Giang

Chủng nấm	Địa điểm	Nguồn gốc	Mô tả tản nấm, bào tử		
			Màu sắc	Sợi nấm	Hình dạng tiểu bào tử
F10.1A	Bình Long	Cây	Trắng - Đỏ nhạt	Nghiên, đan xen	Elip, không màu
F10.1B	Bình Long	Cây	Trắng - Tím nhạt	Nghiên, đan xen	Elip, không màu
F12.1A	Bình Phú	Cây	Trắng	Nghiên, đan xen	Elip, không màu
F12.1B	Bình Phú	Cây	Trắng	Nghiên, đan xen	Elip, không màu
F16.3A	Bình Phú	Cây	Trắng - vàng nhạt	Nghiên, đan xen	Elip, không màu
F16.3B	Bình Phú	Cây	Trắng - vàng nhạt	Nghiên, đan xen	Elip, không màu
F16.5B	Bình Phú	Cây	Trắng - vàng nhạt	Nghiên, đan xen	Elip, không màu
F28.1A	Bình Mỹ	Cây	Trắng	Nghiên, đan xen	Elip, không màu
F28.1B	Bình Mỹ	Cây	Trắng	Nghiên, đan xen	Elip, không màu
F28.2A	Bình Mỹ	Đất	Trắng - vàng nhạt	Nghiên, đan xen	Elip, không màu
F28.2B	Bình Mỹ	Đất	Trắng - vàng nhạt	Nghiên, đan xen	Elip, không màu

Ghi chú: F – ký hiệu chủng Fusarium spp.

Mặc dù số lượng mẫu đất và mẫu cây tương đương nhau, trong 11 dòng nấm bệnh được chọn có đến 9 chủng nấm bệnh được phân lập từ cây, chỉ có 2 chủng được phân lập từ đất. Đặc biệt, trong tất cả 3 chủng gây bệnh mạnh nhất đều có nguồn gốc từ cây. Điều này có thể được giải thích nấm sau khi xâm nhiễm vào cây và gây bệnh nên hoạt tính của nấm cao hơn so với các chủng nấm có nguồn gốc từ đất.

Kết quả ghi nhận tản nấm của các chủng nấm *Fusarium* spp. có màu trắng sau đó chuyển sang màu

đỏ nhạt, tím nhạt hoặc vàng nhạt tuỳ theo đặc điểm riêng của mỗi chủng; đường kính tản nấm tăng trưởng trung bình 4,3 - 5,3 cm sau 3,5 - 4,0 ngày trên môi trường PDA. Quan sát mặt dưới đĩa khác nhau giữa các chủng biểu hiện màu vàng nhạt hay tím nhạt đến tím sẫm (Hình 1A, 1B, 1C, 1D). Ngoài ra, bào tử nấm cũng được quan sát (Hình 1E).

Hình 1. Hình thái tản nấm của chủng nấm *Fusarium* spp.

Ghi chú: (A) F10.1A, (B) F28.2A, (C) F16.3B, (D) F28.1A vào 08 NSKC trên môi trường PDA và (E) bào tử nấm quan sát trên kính hiển vi quang học.

Màu sắc: Hình thái tản nấm của các chủng nấm được ghi nhận các chủng có sợi nấm trắng ngà chuyển sang vàng nhạt (45,5%), sợi nấm trắng (36,4%), 2 chủng có đặc điểm khác biệt là trắng chuyển sang tím và trắng chuyển sang đỏ nhạt chiếm tỷ lệ (18,1%) vào thời điểm 4 ngày sau khi chủng (NSKC) trên môi trường PDA. Theo Nguyễn Thị Liên (2017) phân lập nấm *Fusarium* spp. trên mè tại tỉnh Đồng Tháp cũng ghi nhận sợi nấm trắng chuyển sang hồng nhạt sau 3 NSKC. Do đó, kết quả về sự đa dạng về màu sắc và hình thái phù hợp với nghiên cứu trước đây.

Hình dạng sợi nấm: Sợi nấm có màu trắng, mịn hơi nghiêng đan xen nhau trên mặt đĩa.

Bào tử nấm: Quan sát được dạng bào tử sau 3 - 5 ngày, hình dạng elip hay hơi thẳng không màu.

Trên môi trường PDA, sợi nấm *Fusarium* spp. màu trắng có vách ngăn chuyển dần sang màu hồng (chủng F10.1A), màu tím (F10.1B), vàng nhạt (chủng F28.2A). Tuy nhiên, trong nghiên cứu này có sự phong phú hơn về hình thái. Chẳng hạn một số chủng gồm F16.3A, F16.3B, F28.2A và F28.2B, sợi nấm trắng chuyển dần sang vàng nhạt. Tiểu bào tử không màu, hình elip, đơn bào và hiện diện nhiều trên môi trường PDA. Vì vậy, kết quả ghi nhận hình thái sợi nấm tương tự trong các nghiên cứu trước đây (Li *et al.,* 2012; Đoàn Thị Kiều Tiên, 2012; Nguyễn Thị Liên, 2017).

3.1.2 Tốc độ phát triển của nấm Fusarium spp. *gây bệnh héo rũ cây mè trên môi trường PDA*

Bảng 2. Tốc độ phát triển của các chủng nấm *Fusarium* spp. gây bệnh héo rũ được phân lập trên mè tại huyện Châu Phú, tỉnh An Giang

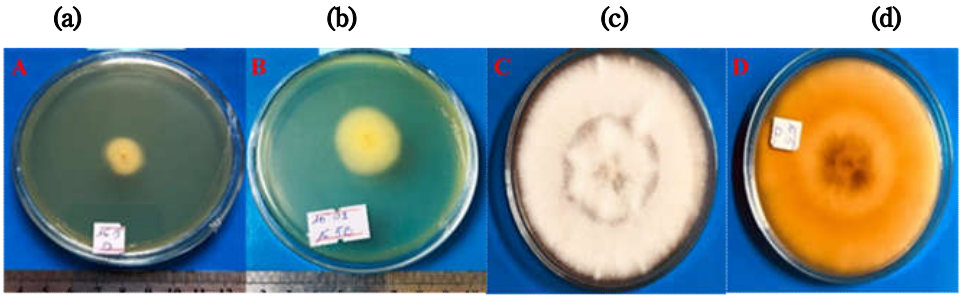
Chủng nấm	Tốc độ phát triển của tản nấm (mm/h)			
	48	72	108	144
F10.1A	0,22^{ab}	0,40^{abc}	1,36^{a}	1,43^{a}
F10.1B	0,26^{a}	0,51^{a}	1,33^{a}	1,46^{a}
F12.1A	0,16^{cd}	0,35^{abc}	1,31^{a}	1,23^{b}
F12.1B	0,20^{bc}	0,26^{bc}	1,35^{a}	1,53^{a}
F16.3A	0,15^{d}	0,23^{bc}	1,49^{a}	1,51^{a}
F16.3B	0,17^{cd}	0,24^{bc}	1,36^{a}	1,48^{a}
F16.5B	0,24^{ab}	0,49^{a}	1,36^{a}	1,53^{a}
F28.1A	0,22^{ab}	0,42^{ab}	1,11^{b}	1,47^{a}
F28.1B	0,17^{bc}	0,22^{bc}	1,49^{a}	1,48^{a}
F28.2A	0,21^{abc}	0,20^{c}	1,36^{a}	1,49^{a}
F28.2B	0,21^{abc}	0,19^{c}	1,36^{a}	1,47^{a}
F	*	*	*	*

Ghi chú: Trong cùng một cột, các có chữ theo sau giống nhau là khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan, (*) khác biệt ý nghĩa thống kê 5%.

Tốc độ tăng trưởng tản nấm của các chủng trung bình 4,78 cm vào 4 ngày nuôi cấy trên đĩa pertri cấy, đường kính tản nấm trung bình các chủng 8,28 cm giai đoạn 7 ngày sau cấy. Các chủng phát triển mạnh khắp mặt đĩa sau 8-9 ngày cấy. Tốc độ phát triển của tản nấm ghi nhận qua bảng 2. Giai đoạn 48 giờ sau khi cấy, tốc độ phát triển của các chủng nấm khác biệt có ý nghĩa thống kê 5%. Trong đó, chủng F10.1B với tốc độ sinh trưởng 0,26 mm/h, F16.5B (0,24 mm/h), F10.1A và F28.1A (0,22 mm/h). Giai đoạn 72 – 108 giờ quan sát chủng F10.1B có tốc độ phát triển 0,51 đến 1,33 mm/h, F16.5B 0,49 đến 1,36 mm/h,

được đánh giá sinh trưởng nhanh nhất trong các chủng khảo sát, tiếp đến chủng F10.1A có tốc độ sinh trưởng (1,36 mm/h). Kết quả ghi nhận các chủng nấm tăng trưởng nhanh hơn so với khảo sát của Nguyễn Thị Liên (2017) đường kính tản nấm đạt 7,5 cm sau 6 ngày nuôi cấy, sau 9 ngày nấm phát triển khắp mặt đĩa (9,0 cm). Giai đoạn 6 ngày sau khi cấy tốc độ tăng trưởng trung bình của các chủng được ghi nhận 1,41 mm/h. Trong đó, chủng F10.1B và F16.5B được đánh giá tăng trưởng nhanh nhất, với 1,46 và 1,53 mm/h, theo thứ tự. Một số chủng F16.3A ghi nhận phát triển 0,23 mm/h chậm hơn so với các chủng khác ở giai đoạn 48 - 72 giờ, tuy nhiên vào giai đoạn sau sinh trưởng rất tốt ghi nhận 1,51 mm/h vào giai đoạn 6 ngày sau khi cấy. Ví dụ về các giai đoạn phát triển của nấm F16.5B được thể hiện ở hình 2.

Tốc độ phát triển của các dòng nấm được ghi nhận rất biến động ở các dòng khác nhau (Bảng 2). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Alvarado *et al.* (2019), tốc độ tăng trưởng của nấm *F. oxysporum* trong ống nghiệm dao động 0,21 - 0,29 mm/h. Ngoài ra, chủng *F. oxysporum* tăng trưởng nhanh hơn so với những chủng *F. solani* (Alvarado *et al.*, 2019).



Hình 2. Hình thái tản nấm của chủng nấm F16.5B tại thời điểm (A) 48 giờ, (B) 72 giờ, (C) mặt trên 192 giờ và (D) mặt dưới 192 giờ quan sát trên môi trường PDA

3.2. Khả năng gây bệnh héo rũ của các chủng nấm *Fusarium* spp. trong điều kiện nhà lưới theo qui trình Koch

Bảng 3. Tỷ lệ bệnh héo rũ (%) vào các thời điểm sau khi chủng các dòng nấm *Fusarium* spp. gây bệnh trên cây mè trong điều kiện nhà lưới

STT	Chủng nấm	Ngày sau khi chủng bệnh			
		14	21	28	35
1	F.10.1A	5,0	10,0^{ab}	20,0^{b}	25,0^{b}
2	F.10.1B	0,0	5,0^{b}	30,0^{ab}	40,0^{ab}
3	F.12.1A	10,0	10,0^{ab}	30,0^{ab}	45,0^{ab}
4	F.12.1B	15,0	25,0^{ab}	35,0^{ab}	35,0^{ab}
5	F.16.3A	15,0	20,0^{ab}	35,0^{ab}	50,0^{ab}
6	F.16.3B	10,0	20,0^{ab}	30,0^{ab}	65,0^{ab}
7	F.16.5B	5,0	15,0^{ab}	30,0^{ab}	45,0^{ab}
8	F.28.1A	20,0	40,0^{a}	65,0^{a}	85,0^{a}
9	F.28.1B	10,0	15,0^{ab}	40,0^{ab}	45,0^{ab}
10	F.28.2A	15,0	25,0^{ab}	35,0^{ab}	60,0^{ab}
11	F.28.2B	0,0	5,0^{b}	5,0^{b}	20,0^{b}
12	ĐC	0,0	5,0^{b}	11,0^{b}	15,00^{b}
Mức ý nghĩa		ns	*	*	*

Ghi chú: Trong cùng một cột, các có chữ theo sau giống nhau là khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan, (*) khác biệt ý nghĩa thống kê 5%, ĐC: đối chứng.

Nấm *Fusarium* spp. được chủng vào đất ở thời điểm 7 ngày sau khi gieo cây con (15 ngày sau nảy mầm). Tỷ lệ bệnh của 11 chủng gây hại đối với cây mè được ghi nhận ở bảng 3. Giữa các chủng nấm bệnh khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với đối chứng về tỷ lệ bệnh vào 14 NSKCB. Tuy nhiên, vào thời điểm 21 NSKCB, giữa các chủng nấm bệnh *Fusarium* spp. có triệu chứng bệnh khác biệt có ý nghĩa thống kê 5%. Trong đó, tỷ lệ bệnh cao nhất được ghi nhận ở chủng nấm F.28.1A (40,0%), các chủng được ghi nhận thấp hơn gồm chủng F12.1B và F28.2A, cùng tỷ lệ bệnh 25,0%. Vào thời điểm 28 NSKCB, chủng nấm F.28.1A có biểu hiện bệnh nặng và xuất hiện cây chết khô khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% so với các chủng nấm bệnh còn lại. Triệu chứng bệnh xuất hiện rõ sau 35 NSKCB, với biểu hiện vàng, héo từ lá già lên lá ngọn, vết bệnh trên thân biểu hiện rất rõ ở các chủng F28.1A, F28.2A và F16.3B có tỷ lệ bệnh hại lên đến 60,0 - 85,0%.

Bệnh héo rũ biểu hiện đặc trưng là lá chuyển sang vàng và xuất hiện lá héo vào thời điểm 10 – 20 NSKCB. Vết bệnh xuất hiện rõ trên thân cây vào giai đoạn 30 – 40 ngày đến khi cây héo chết. Kết quả này

tương đồng với nghiên cứu của Ara (2017) cho rằng mầm bệnh xâm nhập bên trong mạch xylem trong giai đoạn đầu để hình thành vết bệnh, sau đó mầm bệnh xâm nhiễm đến các tế bào vỏ bên ngoài làm chậm quá trình vận chuyển nước và dinh dưỡng cho cây. Theo Li *et al.* (2012) bệnh gây ra do nấm *F. oxysporum* tấn công và phát triển qua mạch nhựa lan dần vào mạch gỗ vào giai đoạn cây lớn, giai đoạn nhỏ cây bị nhiễm bệnh không xuất hiện triệu chứng nâu mạch.

Giai đoạn đầu nấm gây bệnh được kích thích bởi vùng rễ cây mè do rễ cây tiết ra chất hấp dẫn nấm xâm nhập qua cổ rễ, khe hở lông hút hoặc vết thương tấn công vào cây trồng. Sợi nấm phát triển qua mạch dẫn nên giai đoạn đầu, 14 - 21 NSKCB phần rễ bên dưới hóa nâu, giai đoạn cây nhỏ rễ non bị đứt. Điều này giải thích cho quan sát giai đoạn 14 NSKCB của nghiên cứu này chưa xuất hiện vết bệnh trên thân rõ rệt.

Hình 3. Khả năng gây bệnh của chủng nấm F.18.1A làm rễ cây mè bị hóa nâu thời điểm 14 NSKCB bằng cách (A) Chủng dịch nấm trực tiếp vào đất và (B) Chủng nấm bằng phương pháp áo hạt

Tóm lại: Các chủng nấm *Fusarium* spp. đều có khả năng gây bệnh trên cây mè, nhưng chủng nấm F.28.1A có khả năng gây bệnh mạnh nhất, với tỷ lệ bệnh lên đến 85,0% vào 35 NSKCB.

Đối với phương pháp áo hạt, bệnh héo rũ trên mè xuất hiện rất sớm, vào 7 NSKCB. Trong đó, chủng nấm F.28.1A và F28.2A có tỷ lệ bệnh 20,0%, nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các chủng nấm so với đối chứng. Đến thời điểm 14 NSKCB, dấu hiệu bệnh xuất hiện rõ vết bệnh trên thân, với tỷ lệ bệnh từ 5,0 đến 60%. Cụ thể là, chủng nấm F28.1A có tỷ lệ bệnh cao nhất (60,0%), xuất hiện cây héo vàng. Kế đến, chủng nấm F.16.3B ghi nhận tỷ lệ bệnh 35,0%. Đến thời điểm 21 NSKCB xuất hiện cây chết ở các chủng nấm F.28.1A, với tỷ lệ bệnh lên đến 90,0%. Tương tự, các chủng nấm F.12.1A (65,0%), F.16.3B (55,0%), F28.1B (45,0%), cao khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% so với đối chứng (5,0%). Phương pháp chủng bệnh trên hạt trước khi gieo ghi nhận có 37,3% số dòng nấm xuất hiện với tỷ lệ bệnh trên 50% gồm các chủng nấm F.12.1A, F28.1A và F16.3B, được xem là nấm gây bệnh cao (Bảng 4).

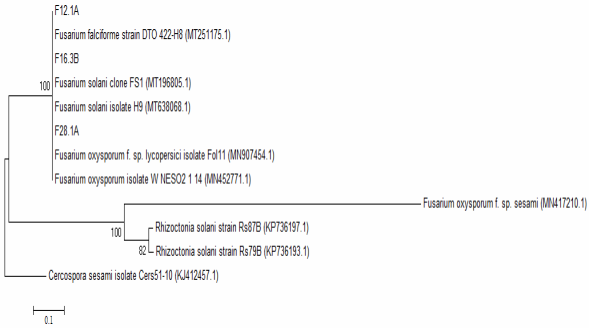
Bảng 4. Tỷ lệ bệnh héo rũ trên mè sau khi chủng nấm *Fusarium* spp. bằng phương pháp áo hạt trong điều kiện nhà lưới

STT	Chủng nấm	Ngày sau khi chủng bệnh			
		Tỷ lệ hạt mầm chết (%)	07	14	21
1	F.10.1A	0,2^{c}	0,0	10,0^{b}	40,0^{ab}
2	F.10.1B	0,3^{abc}	0,0	10,0^{b}	20,0^{b}
3	F.12.1A	0,3^{abc}	15,0	30,0^{b}	65,0^{ab}
4	F.12.1B	0,4^{ab}	5,0	5,0^{b}	25,0^{b}
5	F.16.3A	0,4^{ab}	0,0	5,0^{b}	35,0^{ab}
6	F.16.3B	0,4^{a}	15,0	35,0^{ab}	55,0^{ab}
7	F.16.5B	0,3^{bc}	5,0	15,0^{b}	15,0^{b}
8	F.28.1A	0,2^{c}	20,0	60,0^{a}	90,0^{a}
9	F.28.1B	0,4^{ab}	5,0	25,0^{ab}	45,0^{ab}
10	F.28.2A	0,01^{d}	20,0	30,0^{ab}	35,0^{ab}
11	F.28.2B	0,3^{bc}	0,0	0,0^{b}	20,0^{b}
12	ĐC	0,01^{d}	0,0	5,0^{b}	5,0^{b}
Mức ý nghĩa		*	ns	*	*

Ghi chú: Trong cùng một cột, các có chữ theo sau giống nhau là khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan, (*) khác biệt ý nghĩa thống kê 5%, ĐC: đối chứng.

3.3. Định danh nấm *Fusarium* spp. gây bệnh héo rũ trên mè được tuyển chọn

Dựa trên ba chủng nấm F.12.1A, F16.3B và F28.1A có khả năng gây bệnh cao nhất trong điều kiện nhà lưới. Các dòng nấm này được định danh bằng phương pháp PCR và giải trình tự gene vùng ITS. Kết quả định danh cho thấy chủng nấm F.12.1A, F16.3B và F28.1A được xác định là nấm *Fusarium falciforme, F. solani và F. oxysporum* (Hình 4), với mức độ tương đồng 100%.



Hình 4. Cây phả hệ của các dòng nấm *Fusarium* spp. gây bệnh mạnh trên cây mè

Theo Mahmoud & Abdalla (2018) bệnh héo rũ trên mè do nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *sesame* gây ra. Ngoài ra, tác nhân gây bệnh này cũng được xác định là do nấm *F. solani* gây ra (Alvarado *et al.*, 2019). Mặc dù nấm *F. falciforme* chưa xác định gây ra bệnh héo rũ trên cây mè, loài nấm này đã gây ra bệnh héo rũ và thối thân trên cây cà chua (Gutiérrez *et al.*, 2019) và héo rũ trên cây đậu *Phaseolus vulgaris* (Nájera *et al.*, 2020).

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Tuyển chọn được 11 dòng nấm *Fusarium* spp. có khả năng gây bệnh héo rũ trên cây mè từ 28 dòng nấm phân lập được ở mẫu thân và đất trồng mè tại huyện Châu Phú, tỉnh An Giang.

Ba dòng *F. falciforme* F12.1A*, F. solani* F16.3B *và F. oxysporum* F28.1A trong tổng số 11 dòng có khả năng gây héo rũ trên cây mè bằng phương pháp bổ sung trực tiếp và áo trên hạt, với tỷ lệ bệnh lên đến 55,0 - 90,0%.

4.2. Đề nghị

Xác định cơ chế nấm *F. falciforme* F12.1A gây bệnh héo rũ trên cây mè.

Xác định đặc điểm sinh học và xây dựng biện pháp quản lý bệnh để tìm ra biện pháp phòng trị bệnh héo rũ trên mè do nấm *Fusarium* spp. gây ra trong điều kiện nhà lưới và ngoài đồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Alvarado, G., Laurentin, H., Querales, P., Ulacio, D., Gómez, A., & Méndez, N. (2019). Phenotypic and molecular characterization of *Fusarium* spp. coming from sesame production zone in Venezuela. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. 17(1): 74-81.

2. Ara, A., Akram, A., Ajmal, M., Akhund, S., Nayyar, B. G., Seerat, W., & Chaudhry, S. M. (2017). Histopathological studies of sesame (*Sesamum indicum*) seedlings infected with *Fusarium oxysporum*. Plant Pathology & Quarantine. 7(1): 82-90.

3. Burgess, L. W., & Summerell, B. A. (1992). Mycogeography of *Fusarium*: survey of *Fusarium* species in subtropical and semi-arid grassland soils from Queensland, Australia. Mycological Research. 96(9): 780-784.

4. Đoàn Thị Kiều Tiên (2012). Đánh giá khả năng gây hại của các dòng nấm *Fusarium oxysporum* gây bệnh héo rũ trên cây mè (*Sesamum indicum* L.) và bước đầu nghiên cứu hiệu quả phòng trừ bằng biện pháp hóa học và sinh học. Luận văn Thạc sĩ. Đại học Cần Thơ. 39-42. 126 trang.

5. Elewa, I. S., Mostafa, M. H., Sahab, A. F., & Ziedan, E. H. (2011). Direct effect of biocontrol agents on wilt and root-rot diseases of sesame. Archives of Phytopathology and Plant Protection. 44(5): 493-504.

6. Gutiérrez, T. A. V., López-Urquídez, G. A., Allende-Molar, R., Amarillas-Bueno, L. A., de Jesús Romero-Gómez, S., & López-Orona, C. A. (2019). Aggressiveness and molecular characterization of *Fusarium* spp. associated with foot rot and wilt in Tomato in Sinaloa, Mexico. 3 Biotech. 9(7): 1-10.

7. Li, D. H., Wang, L. H., Zhang, Y. X., Lv, H. X., Qi, X. Q., Wei, W. L., & Zhang, X. R. (2012). Pathogenic variation and molecular characterization of *Fusarium* species isolated from wilted sesame in China. African Journal of Microbiology Research. 6(1): 149-154.

8. Mahmoud, A. F., & Abdalla, O. A. (2018). Biocontrol efficacy of *Trichoderma* spp. against sesame wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *sesami*. Archives of Phytopathology and Plant Protection. 51(5-6): 277-287.

9. Myint, D., Gilani, S. A., Kawase, M., & Watanabe, K. N. (2020). Sustainable sesame (*Sesamum indicum* L.) production through improved technology: An overview of production, challenges, and opportunities in Myanmar. Sustainability. 12(9): 3515.

10. Nájera, J. F. D., Ayvar-Serna, S., Mena-Bahena, A., Baranda-Cruz, E., Vargas-Hernández, M., Alvarado-Gómez, O. G., & Fuentes-Aragón, D. (2020). First report of *Fusarium falciforme* (FSSC 3+ 4) causing wilt disease of Phaseolus vulgaris in Mexico. Plant Disease. 105(3).

11. Ngamba, Z. S., Tusiime, G., Gibson, P., Edema, R., Biruma, M., Anyanga, W. O., & Kafiriti, E. (2020). Screening of sesame genotypes for resistance against *Fusarium* wilt pathogen. African Journal of Agricultural Research. 15(1): 102-112.

12. Nguyễn Thị Liên (2017). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn từ đất có khả năng đối kháng với nấm *Fusarium oxysporum* f.sp. sesame gây bệnh héo rũ trên cây mè: Báo cáo tổng kết đề tài Khoa học và Công nghệ. Đại học Cần Thơ. 42 - 43.

13. White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR protocols: a guide to methods and applications. 18(1): 315-322.

14. Ziedan, E. S. H., Sadek Elewa, I., Mostafa, H. M., & Sahab, A. F. (2011). Application of mycorrhizae for controlling root diseases of sesame. Journal of Plant Protection Research. 51(4): 355-361.

ISOLATION, CHARACTERIZATION AND EVALUATION OF POTENTIAL TO CAUSE THE WILD DISEASE IN SESAME (*Sesamum indicum* L.) BY *FUSARIUM* SPP. IN CHAU PHU DISTRICT, AN GIANG PROVINCE

Cao Thi Thuy Trang, Le Vinh Thuc, Ly Ngoc Thanh Xuan,

Tran Ngoc Huu, Nguyen Quoc Khuong

Summary

Objectives of this study were to (i) selection of fungi *Fusarium* spp. caused wilt disease in sesame on alluvial soil in dyke; (ii) determination of potential to cause wilt disease of selected fungi for sesame. The 20 samples of sesame stem and rhizospheric soil contaminated pathogens in An Phu district, An Giang province to isolate pathogens. The completely randomized block design was conducted on 11 pathogens as 11 treatments and control, with 4 replications. Pathogens was inoculated by two methods, in soil and in seed. The results showed that 28 pathogens *Fusarium* spp. were isolated from stem and soil samples cultivated sesame having wilt disease, in which 11 pathogens possessed the high potential to cause wilt disease, identified as *Fusarium falciforme* F12.1A, *F. solani* F16.3B and *F. oxysporum* F28.1A. Pathogen strains caused the highest damage including F12.1A, F28.1A và F16.3B via adding in soil or seed, with disease percent up to 60-85%.

Keywords: *Alluvial soil in dyke, Fusarium spp., sesame, wilt disease.*

Người phản biện: GS.TS. Nguyễn Văn Tuất

Ngày nhận bài: 9/6/2021

Ngày thông qua phản biện: 9/7/2021

Ngày duyệt đăng: 16/7/2021