

**HIỆU QUẢ PHÒNG TRỪ CỦA NẤM *Paecilomyces* sp.
ĐỐI VỚI TUYẾN TRÙNG *Meloidogyne incognita*
VÀ *Pratylenchus penetrans* TRONG ĐIỀU KIỆN PHÒNG THÍ NGHIỆM**

**Nguyễn Thị Duyên, Nguyễn Hữu Tiên,
Lê Thị Mai Linh, Trịnh Quang Pháp**

*Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật,
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
Học viện Khoa học và Công nghệ,
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*

ABSTRACT

**Effects of *Paecilomyces* sp. to *Meloidogyne incognita* and *Pratylenchus penetrans*
in laboratory conditions**

*Plant-parasitic nematodes are one of the main pathogens found in many different crops. In many agricultural regions of the world, plant-parasitic nematodes caused great harm to agricultural production, causing billions of tons of yield losses each year. Nematodes belong to the two genera *Meloidogyne* and *Pratylenchus* are one of the most dangerous groups, reducing the yield and quality of crops, indirectly causing significant economic losses. To prevent plant-parasitic nematodes while ensuring agricultural sustainable development without affecting human health as well as the environment, currently, the use of parasitic fungi to control plant-parasitic nematodes have been receiving great attention. Among the parasitic fungi, the fungus *Paecilomyces* spp. gained the most interest and attention due to its high parasitic potential and ability to control plant-parasitic nematodes. The strain *Paecilomyces* sp. in this study has a high potency in inhibiting egg hatching and high lethality to *M. incognita* and *P. penetrans*. After 120 hours, the hatching rate at 1.5×10^5 spores/ml was 22% compared to 77.2% at the control experiment. After 168 hours, the mortality rate at 4.5×10^5 spores/ml was highest (99% and 94% for *M. incognita* and *P. penetrans*, respectively), meanwhile, in the control experiment, the highest mortality rate of nematodes was 0.4 to 0.9%. Based on the above results, the fungal strain *Paecilomyces* sp. used in this study is considered to be a very potential strain in inhibiting egg hatching and killing plant-parasitic nematodes.*

Người phân biện: TS. Lê Mai Nhất.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tuyến trùng thực vật là một trong những tác nhân gây hại chính trên nhiều loại cây trồng khác nhau (Perry *et al.*, 2009). Tại nhiều vùng sản xuất nông nghiệp trên thế giới, tuyến trùng thực vật gây tác hại lớn đối với sản xuất nông nghiệp, chúng gây thiệt hại hàng tỷ tấn hoa màu hàng năm (Luc *et al.*, 2005). Tổn thất kinh tế nông nghiệp do tuyến trùng thực vật gây ra ước tính khoảng 125 tỷ USD mỗi năm trên toàn thế giới (Chitwood, 2003). Tuyến trùng thực vật có thể gây hại trên nhiều bộ phận khác nhau của cây trồng như: thân, lá, hoa, quả hoặc rễ. Trong đó, nhóm tuyến trùng nội ký sinh (*Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp.,...) gây hại trên rễ là một trong những nhóm nguy hiểm nhất, làm suy giảm năng suất và chất lượng cây trồng từ đó gián tiếp gây nhiều thiệt hại về kinh tế (Luc *et al.*, 2005).

Để phòng trừ tuyến trùng thực vật mà vẫn đảm bảo phát triển nông nghiệp bền vững và không ảnh hưởng đến sức khỏe con người cũng như môi trường, việc sử dụng thiên địch tự nhiên để hạn chế sự phát triển cũng như tiêu diệt tuyến trùng thực vật đã và đang rất được quan tâm (Vagelas *et al.*, 2007; Sharman & Pandey, 2009). Có rất nhiều sinh vật trong tự nhiên như: nấm, vi khuẩn, virus, tuyến trùng ăn thịt, côn trùng,... đã được tìm thấy ký sinh hoặc săn mồi tuyến trùng thực vật (Stirling, 1991). Trong đó, nấm ký sinh là nhóm vi sinh vật có nhiều trong đất và có tiềm năng lớn trong phòng trừ tuyến trùng thực vật (Jatala, 1986; Siddiqui & Mahmood, 1996). Trong số các loài nấm ký sinh, nấm *Paecilomyces*

spp. được quan tâm và nghiên cứu nhiều nhất, do tiềm năng ký sinh và khả năng kiểm soát quần thể tuyến trùng thực vật tốt (Khan *et al.*, 2006; Kiewnick & Sikora, 2006; Brand *et al.*, 2010). Nấm *Paecilomyces* spp. có phổ phân bố rộng, xuất hiện với tần suất cao ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới (Chen *et al.*, 1996), chúng được tìm thấy trong hầu hết hệ sinh thái đất nông nghiệp (Brand *et al.*, 2010). Cơ chế của nấm *Paecilomyces* spp. là ký sinh trực tiếp lên trứng, ấu trùng hoặc con trưởng thành bởi các sợi nấm, đồng thời sản sinh ra các hoạt chất, enzym như acid acetic, leucinotoxin, chitinase và protease có khả năng phân hủy lớp kitin bên ngoài của trứng và tuyến trùng trưởng thành (Khan *et al.*, 2004; Kiewnick & Sikora, 2006). Các enzym phân hủy lớp vỏ trứng, tạo điều kiện thuận lợi cho sợi nấm xâm nhập và phá hủy các giai đoạn phát triển ở giai đoạn sớm (Khan *et al.*, 2006; Mukhtar *et al.*, 2013).

Trên thế giới, nhiều thử nghiệm trong phòng thí nghiệm cũng như ngoài đồng ruộng, cho thấy nấm *Paecilomyces* spp. có hiệu quả cao trong việc kiểm soát mật độ tuyến trùng *Meloidogyne* spp. và *Pratylenchus* spp. (Jonathan & Rajendran, 2000; Tiyyagi & Shamim, 2004; Kiewnick & Sikora, 2006). Hiện nay, loài nấm *Paecilomyces lilacinus* được xem là một trong những tác nhân kiểm soát sinh học được thử nghiệm rộng rãi nhất trong việc quản lý tuyến trùng thực vật và đã được thương mại hóa (Atkins *et al.*, 2003; Haseeb & Kumar, 2006; Kumar *et al.*, 2009). Tuy nhiên, mỗi chủng *Paecilomyces* spp. khác nhau lại có hiệu lực phòng trừ khác nhau nhất định trên các nhóm tuyến

trùng khác nhau. Do vậy, việc phân lập các chủng nấm *Paecilomyces* bản địa từ tự nhiên và thử nghiệm hiệu quả phòng trừ của chúng trên các nhóm tuyến trùng là rất cần thiết để tìm ra đối tượng tối ưu trong phòng trừ sinh học tuyến trùng ở Việt Nam.

Trong nghiên cứu này chúng tôi thử nghiệm và báo cáo hiệu quả phòng trừ của chủng nấm *Paecilomyces* sp. phân lập ở Việt Nam đối với tuyến trùng *Meloidogyne incognita* và *Pratylenchus penetrans* trong điều kiện phòng thí nghiệm dựa trên khả năng ức chế nở trứng và tiêu diệt tuyến trùng.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Dịch bào tử của chủng nấm *Paecilomyces* sp. do Viện Thổ nhưỡng Nông hóa cung cấp.
- Trứng và ấu trùng tuyến trùng *M. incognita*.
- Tuyến trùng *P. penetrans*.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nhân nuôi nấm *Paecilomyces* sp.

Nấm *Paecilomyces* sp. được nhân nuôi trong môi trường lỏng PDB (Potato Dextrose Borth) theo phương pháp của Gao *et al.* (1998), ở nhiệt độ 25°C. Sau 7 ngày, dung dịch được lọc qua rây vải thô để loại bỏ sợi nấm, rồi ly tâm ở 5000 vòng/phút ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 20 phút. Sau đó, bào tử nấm trong phần lắng đọng ở ống ly tâm, được thu lại, đếm

và điều chỉnh nồng độ bào tử nấm là 10^6 bào tử/ml.

2.2.2. Phương pháp nhân nuôi tuyến trùng

Phương pháp nhân nuôi tuyến trùng M. incognita: Tuyến trùng *M. incognita* được nhân nuôi trên cây cà chua theo mô tả của López-Pérez *et al.* (2011) có hiệu chỉnh: Hạt cà chua được khử trùng bề mặt bằng cồn 70% trong 5 phút, vớt ra rửa sạch rồi cho vào dung dịch natri hypochlorite 1% (Na°Cl) trong 15 phút. Sau đó, hạt cà chua được rửa lại nhiều lần với nước cất để loại bỏ hết dung dịch NaOCl. Các hạt này được gieo trong khay đất đã khử trùng, khi cây được hai lá thật thì chuyển vào các chậu đất (250 cm^3 đất). Sau khi cà chua bén rễ thì tiến hành chủng tuyến trùng *M. incognita* với số lượng 200 ấu trùng/chậu. Sau 30 - 60 ngày thu tuyến trùng. Rễ cây cà chua bị nhiễm tuyến trùng *M. incognita* được rửa sạch, sau đó cắt nhỏ thành từng đoạn 1 - 2 cm và cho vào dung dịch NaOCl 1,5%. Lắc đều trong 5 phút phá vỡ cấu trúc vỏ gelatin của túi trứng. Ấu trùng được thu qua rây lọc có đường kính lỗ rây 40 μm và trứng được thu ở rây lọc có đường kính lỗ rây 25 μm .

Phương pháp nhân nuôi tuyến trùng P. penetrans: Tuyến trùng *P. penetrans* được nhân nuôi theo phương pháp của Coyne *et al.* (2014): Chọn củ cà rốt tươi, không bị bệnh, rửa sạch. Ngâm củ cà rốt vào trong cồn 95°C khoảng 1 - 2 giây rồi hơ trên ngọn lửa đèn cồn để khử trùng. Sau khi khử trùng cắt củ cà rốt thành các miếng nhỏ dày 0,5 cm. Gắp từng miếng củ cà rốt hơ qua trên ngọn lửa đèn cồn rồi cho vào đĩa petri tiệt trùng. Bảo quản các

đĩa cà rốt trong tủ môi trường ở nhiệt độ 25°C. Sau đó, dùng pipet hút 20µl dung dịch có chứa tuyến trùng *P. penetrans* đã được khử trùng, bơm lên miếng cà rốt ở vị trí mô viền ngoài của đĩa cà rốt. Các đĩa petri có chứa cà rốt được băng kín bằng parafilm rồi đặt trong tủ môi trường ở 25°C. Sau 45 - 60 ngày tiến hành thu tuyến trùng. Tuyến trùng sau khi nhân nuôi được thu từ đĩa cà rốt bằng phương pháp xay nghiền: cà rốt sau nhân nuôi được cho vào máy xay với tốc độ 12.600 vòng/phút trong 3 lần, mỗi lần 10 giây. Dung dịch cà rốt sau xay được cho qua rây lọc có kích thước lỗ 100 µm để loại bỏ các mảnh mô cà rốt rồi thu tuyến trùng qua rây lọc có kích thước lỗ 25 µm. Phần mô cà rốt được đặt trên rây lọc tinh có kích thước lỗ rây 40 µm và thu tuyến trùng trong đĩa sau 24-48 giờ.

2.2.3. Phương pháp thử nghiệm đánh giá hiệu quả của nấm *Paecilomyces* sp. đối với tuyến trùng

- Thí nghiệm đánh giá khả năng ức chế nở trứng tuyến trùng *M. incognita*: được tiến hành theo phương pháp mô tả bởi Pau *et al.* (2012), có hiệu chỉnh: Thí nghiệm được tiến hành theo 3 công thức (CT) với 3 nồng độ dịch bào từ nấm khác nhau: $1,5 \times 10^5$, 3×10^5 và $4,5 \times 10^5$ bào tử/ml. Mỗi CT gồm 3 đĩa petri đường kính 3,5 cm, mỗi đĩa có 300 trứng tuyến trùng *M. incognita*. Sau khi gây nhiễm, đặt các đĩa petri ở trong tủ định ôn ở nhiệt độ 27°C. Theo dõi tỷ lệ trứng nở sau 24, 72 và 120 giờ. Nước cất được sử dụng trong các CT đối chứng (ĐC). Thí nghiệm được nhắc lại 3 lần.

Tỷ lệ (%) trứng nở được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ (\%) trứng nở} = \frac{\text{Số lượng ấu trùng}}{\text{Số lượng trứng ban đầu}} \times 100$$

- Thí nghiệm đánh giá hiệu lực diệt ấu trùng *M. incognita*: Được tiến hành theo phương pháp mô tả bởi Pau *et al.* (2012), có hiệu chỉnh. Thí nghiệm được tiến hành theo 3 CT với 3 nồng độ dịch bào từ nấm khác nhau: $1,5 \times 10^5$, 3×10^5 và $4,5 \times 10^5$ bào tử/ml. Mỗi CT gồm 3 đĩa petri đường kính 3,5 cm, mỗi đĩa có 300

ấu trùng *M. incognita*. Sau khi gây nhiễm, đặt các đĩa petri ở trong tủ định ôn ở nhiệt độ 27°C. Theo dõi tỷ lệ ấu trùng *M. incognita* chết sau 24, 72, 120 và 168 giờ. Nước cất được sử dụng trong các CT đối chứng. Thí nghiệm được nhắc lại 3 lần.

Tỷ lệ (%) ấu trùng chết được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ (\%) ấu trùng chết} = \frac{(\text{Số lượng ấu trùng ban đầu} - \text{Số lượng ấu trùng còn sống})}{\text{Số lượng ấu trùng ban đầu}} \times 100$$

- Thí nghiệm đánh giá hiệu lực diệt tuyến trùng *P. penetrans* được tiến hành theo phương pháp mô tả bởi Pau *et al.* (2012), có hiệu chỉnh: Thí nghiệm được

tiến hành theo 3 CT với 3 nồng độ dịch bào từ nấm khác nhau: $1,5 \times 10^5$, 3×10^5 và $4,5 \times 10^5$ bào tử/ml. Mỗi CT gồm 3 đĩa petri đường kính 3,5 cm, mỗi đĩa có 300 tuyến

trùng *P. penetrans*. Sau khi gây nhiễm, đặt các đĩa petri ở trong tủ định ôn ở nhiệt độ 27°C. Theo dõi tỷ lệ tuyến trùng *P. penetrans* chết sau 24, 72, 120 và 168

giờ. Nước cất được sử dụng trong các CT đối chứng. Thí nghiệm được nhắc lại 3 lần.

Tỷ lệ (%) tuyến trùng chết được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ (\%)} \text{ tuyến trùng chết} = \frac{(\text{Số lượng tuyến trùng ban đầu} - \text{Số lượng tuyến trùng còn sống})}{\text{Số lượng tuyến trùng ban đầu}} \times 100$$

- Số liệu đánh giá sai khác giữa các công thức thí nghiệm về tỷ lệ chết và khả năng nở trứng được xử lý thống kê bằng ANOVA dựa trên phần mềm SPSS.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng dịch bào tử nấm *Paecilomyces* sp. đến tỷ lệ nở trứng của tuyến trùng *M. incognita*

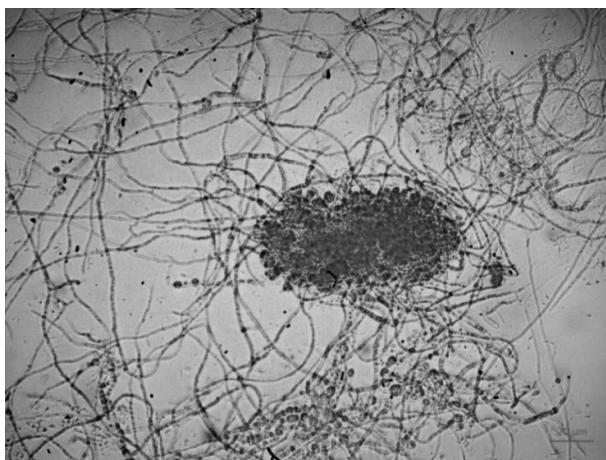
Thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng dịch bào tử nấm *Paecilomyces* sp. đến tỷ lệ nở trứng của tuyến trùng *M. incognita* được thử nghiệm ở ba nồng độ bào tử nấm khác nhau là: $1,5 \times 10^5$, 3×10^5 và $4,5 \times 10^5$ bào tử/ml. Kiểm tra tỷ lệ trứng nở sau các khoảng thời gian 24, 72 và 120 giờ được thể hiện ở bảng 3.1, sai khác có ý nghĩa thống kê ở các CT dịch bào tử nấm khác nhau.

Kết quả thử nghiệm cho thấy, sau 24 giờ tỷ lệ (%) trứng tuyến trùng *M. incognita* nở ở các CT thí nghiệm sai khác có ý nghĩa thống kê. Ở các CT1, CT2, CT3 tỷ lệ trứng nở lần lượt là 18,4, 16,4 và 15,8%, ở CT đối chứng tỷ lệ trứng nở cao nhất là 21,6%. Sau 72 giờ, tỷ lệ trứng nở đã có sự khác biệt đáng kể ở các CT thí nghiệm khác nhau, ở CT đối chứng tỷ lệ trứng nở là 54,3%, ở CT1 tỷ lệ trứng nở là 22%, 16,7% ở CT2. Sau 120 giờ, tỷ lệ trứng nở ở CT đối chứng vẫn tăng cao và đạt 77,2%, ở cả 3 CT thí nghiệm tỷ lệ trứng nở không tăng so với sau 72 giờ. Như vậy, tỷ lệ nở trứng tuyến trùng *M. incognita* có mối tương quan chặt chẽ và tỷ lệ nghịch với nồng độ bào tử nấm, khi nồng độ bào tử nấm tăng lên thì tỷ lệ trứng nở lại giảm đi.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nấm *Paecilomyces* sp. đến tỷ lệ (%) nở trứng tuyến trùng *M. incognita*

Công thức thí nghiệm	Tỷ lệ (%) nở trứng tuyến trùng <i>M. incognita</i>		
	Sau 24 giờ	Sau 72 giờ	Sau 120 giờ
ĐC (nước cất)	21,6 ± 0,7 (a) (20,8 - 22,1)	54,3 ± 5,6 (a) (47,8 - 57,6)	77,2 ± 6,4 (a) (70,4 - 83,2)
CT1 ($1,5 \times 10^5$ bào tử/ml)	18,4 ± 1,8 (ab) (16,9 - 20,3)	22 ± 2,3 (b) (20,1 - 24,4)	22 ± 2,3 (b) (20,1 - 24,4)
CT2 (3×10^5 bào tử/ml)	16,4 ± 0,6 (b) (15,7 - 17,1)	18,7 ± 1 (c) (17,9 - 19,3)	18,7 ± 1 (c) (17,9 - 19,3)
CT3 ($4,5 \times 10^5$ bào tử/ml)	15,8 ± 1,6 (b) (13,9 - 16,8)	16,7 ± 1,3 (d) (14,5 - 17,8)	16,7 ± 1,3 (d) (14,5 - 17,8)

Ghi chú: Số liệu trung bình biểu diễn trong bảng được chuyển sang hàm Asin $(x/100)^{1/2}$ trước khi xử lý. Các số trong cùng một cột có chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa với $P \leq 0,05$.



Hình 1. Ảnh chụp trứng tuyến trùng *M. incognita* bị nấm *Paecilomyces* sp. ký sinh

3.2. Ảnh hưởng dịch bào tử nấm *Paecilomyces* sp. đến tỷ lệ chết của ấu trùng *M. incognita*

Thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng dịch bào tử nấm *Paecilomyces* sp. đến tỷ lệ chết của ấu trùng *M. incognita* được tiến hành ở ba CT nồng độ bào tử nấm khác nhau $1,5 \times 10^5$, 3×10^5 và $4,5 \times 10^5$ bào tử/ml, sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các công thức thí nghiệm. Kiểm tra tỷ lệ

ấu trùng *M. incognita* chết sau các khoảng thời gian 24, 72, 120 và 168 giờ. Kết quả thử nghiệm được trình bày ở bảng 3.2 và hình 3.2 cho thấy, dịch bào tử nấm *Paecilomyces* sp. có hiệu lực gây chết đối với ấu trùng *M. incognita*. Tỷ lệ ấu trùng chết có mối tương quan chặt chẽ và tỷ lệ thuận với nồng độ bào tử nấm. Nồng độ bào tử nấm thử nghiệm càng cao thì tỷ lệ ấu trùng *M. incognita* chết càng cao.

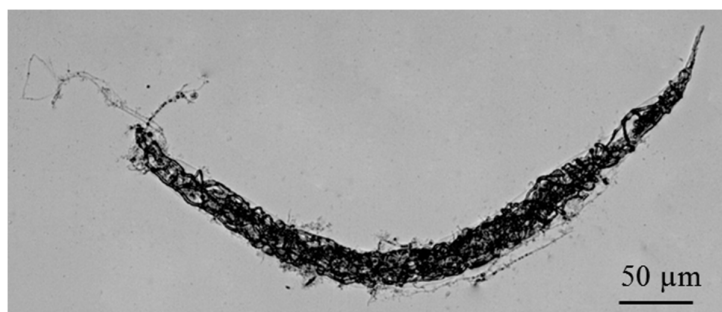
Bảng 2. Tỷ lệ (%) ấu trùng *M. incognita* chết do nấm *Paecilomyces* sp.

Công thức thí nghiệm	Tỷ lệ (%) chết của ấu trùng <i>M. incognita</i>			
	Sau 24 giờ	Sau 72 giờ	Sau 120 giờ	Sau 168 giờ
ĐC (nước cất)	0(a)	$0,3 \pm 0,1$ (a) (0,2 - 0,4)	$0,5 \pm 0,1$ (a) (0,4 - 0,7)	$0,9 \pm 0,2$ (a) (0,7 - 1,0)
CT1 ($1,5 \times 10^5$ bào tử/ml)	$13,1 \pm 0,4$ (b) (12,7 - 13,3)	$39,9 \pm 1,7$ (b) (38,6 - 41,8)	$67,1 \pm 1,7$ (b) (65,2 - 68,2)	$75,1 \pm 2,1$ (b) (73,2 - 77,4)
CT2 (3×10^5 bào tử/ml)	$15,4 \pm 1,7$ (bc) (14,2 - 17,3)	$44,2 \pm 2,5$ (cd) (42,2 - 47,0)	$93,7 \pm 1,1$ (c) (92,4 - 94,3)	$98,4 \pm 1,1$ (c) (97,2 - 99,4)
CT3 ($4,5 \times 10^5$ bào tử/ml)	$16,7 \pm 1,1$ (c) (15,7 - 17,9)	$50,7 \pm 4,7$ (d) (47,7 - 56,1)	$98,7 \pm 0,5$ (d) (98,1 - 99,0)	$99,1 \pm 0,4$ (c) (98,9 - 99,6)

Ghi chú: Số liệu trung bình biểu diễn trong bảng được chuyển sang hàm Asin $(x/100)^{1/2}$ trước khi xử lý. Các số trong cùng một cột có chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa với $P \leq 0,05$.

Sau 24 giờ tỷ lệ (%) ấu trùng chết ở các CT1, CT2 và CT3 không có sự sai khác nhiều, cụ thể ở các CT1, CT2 và CT3 tỷ lệ ấu trùng chết lần lượt là 13, 15,4 và 16,7%. Sau các khoảng thời gian 72 giờ tỷ lệ ấu trùng chết tăng lên đáng

kể. Và sau 120 giờ, tỷ lệ ấu trùng chết cả 3 CT thí nghiệm đều đạt trên 50%. Sau 168 giờ, ở CT3 tỷ lệ ấu trùng chết đạt cao nhất là 99%. Trong khi đó, tỷ lệ ấu trùng chết ở CT đối chứng là 0,9%.



Hình 2. Ảnh chụp ấu trùng *M. incognita* chết do nấm *Paecilomyces* sp. ký sinh

3.3. Ảnh hưởng dịch bào tử nấm *Paecilomyces* sp. đến tỷ lệ chết của tuyến trùng *P. penetrans*

Dịch bào tử nấm *Paecilomyces* sp. cũng có hiệu lực gây chết tuyến trùng *P. penetrans*. Kết quả thử nghiệm sai khác có ý nghĩa thống kê ở các CT thí nghiệm. Sau 24 giờ, tỷ lệ tuyến trùng *P. penetrans* chết ở các CT1, CT2 và CT3 tương ứng là 10,6; 14,8 và 16,3%. Sau 72 giờ, tỷ lệ này tăng lên là 29,1; 34,6 và

44,1%. Tỷ lệ tuyến trùng *P. penetrans* chết tiếp tục tăng lên sau các khoảng thời gian 120 và 168 giờ. Tỷ lệ tuyến trùng *P. penetrans* chết cao nhất là 94% ở CT3 sau 168 giờ. Như vậy, tỷ lệ tuyến trùng *P. penetrans* chết có mối tương quan chặt chẽ và tỷ lệ thuận với nồng độ bào tử nấm. Nồng độ bào tử nấm thử nghiệm càng cao, tỷ lệ tuyến trùng *P. penetrans* chết càng nhiều.

Bảng 3. Tỷ lệ (%) tuyến trùng *P. penetrans* chết do nấm *Paecilomyces* sp.

Công thức thí nghiệm	Tỷ lệ chết (%) tuyến trùng <i>P. penetrans</i>			
	Sau 24 giờ	Sau 72 giờ	Sau 120 giờ	Sau 168 giờ
ĐC (nước cất)	0(a)	0(a)	0,1 ± 0,2(a) (0,1 - 0,2)	0,4 ± 0,5(a) (0,2 - 0,7)
CT1 (1,5 × 10 ⁵ bào tử/ml)	10,6 ± 0,9 (b) (9,6 - 11,3)	29,1 ± 1,3 (b) (28,2 - 30,7)	43,5 ± 5,1 (b) (37,7 - 47,2)	68,6 ± 4,2 (b) (63,8 - 71,3)
CT2 (3 × 10 ⁵ bào tử/ml)	14,8 ± 1,5 (c) (13,3 - 16,3)	34,6 ± 4,0 (c) (30,0 - 37,3)	61,4 ± 4,8 (c) (56,0 - 65,0)	81,6 ± 5,6 (c) (75,3 - 86,0)
CT3 (4,5 × 10 ⁵ bào tử/ml)	16,3 ± 1,6 (c) (14,6 - 17,7)	44,1 ± 2,2 (d) (42,4 - 46,6)	78,6 ± 5,4 (d) (72,6 - 82,8)	94,5 ± 4,2 (d) (90,0 - 98,2)

Ghi chú: Số liệu trung bình biểu diễn trong bảng được chuyển sang hàm Asin (x/100))^{1/2} trước khi xử lý. Các số trong cùng một cột có chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa với P ≤ 0,05.



Hình 3. Ảnh chụp tuyến trùng *P. penetrans* bị nấm *Paecilomyces* sp. ký sinh

Một số loài nấm thuộc giống *Paecilomyces* đã được đánh giá cao về khả năng kiểm soát sinh học tuyến trùng ký sinh thực vật (Atkins *et al.*, 2003). Chúng ký sinh trực tiếp lên trứng, ấu trùng và con cái (Kiewnick & Sikora, 2006). Cơ chế gây bệnh của nấm là sau khi gây nhiễm, bào tử nấm nảy mầm và bắt đầu phát triển tạo thành sợi. Sợi nấm ngày càng phát triển tạo thành mạng lưới sợi nấm bao phủ trứng và tuyến trùng. Sau khi hình thành giác bám (appressoria), sợi nấm bám vào lớp vỏ trứng, vỏ tuyến trùng đồng thời sản sinh ra các hoạt chất và enzym như leucinotoxin, acid acetic, chitinase và protease (Khan *et al.*, 2004; Kiewnick & Sikora, 2006). Các enzym chitinase và protease có tác dụng hòa tan lớp vỏ trứng, tạo điều kiện thuận lợi cho sợi nấm thâm nhập vào trứng và phá hủy các giai đoạn phát triển phôi thai ở giai đoạn sớm (Khan *et al.*, 2006; Mukhtar *et al.*, 2013). Để xâm nhiễm vào tuyến trùng, sợi nấm *Paecilomyces* spp. cần phải xuyên qua lớp vỏ cutin của tuyến trùng. Các enzym này cũng có khả năng phân hủy lớp kitin bên ngoài của tuyến trùng (Khan *et al.*, 2004; Kiewnick &

Sikora, 2006). Khi lớp vỏ cutin bị xâm nhập bởi sợi nấm, tuyến trùng sẽ bị tế liệt, sợi nấm sẽ xâm chiếm toàn bộ cơ thể và tiêu hóa tuyến trùng để làm nguồn dinh dưỡng (Evans, 2007). Theo Jatala, kết quả thử nghiệm trong phòng thí nghiệm cho thấy nấm *Paecilomyces* spp. lây nhiễm trứng của loài *M. incognita* và phá hủy phôi trong vòng 5 ngày (Jatala, 1986).

Như vậy, sau khi chủng nấm *Paecilomyces* sp. vào đĩa petri thử nghiệm, gặp điều kiện thuận lợi, sợi nấm mới bắt đầu sinh trưởng phát triển nên sau 24 giờ nấm chưa ảnh hưởng nhiều đến khả năng ức chế nở trứng và giết chết tuyến trùng. Tuy nhiên, sau 72 giờ, nấm đã phát triển mạnh, xâm nhập vào trong phôi trứng và tuyến trùng, các enzyme, hoạt chất được sản sinh nhiều hơn nên đã giết chết tuyến trùng và ức chế đáng kể lượng trứng nở. Sau 120 giờ, toàn bộ trứng đã bị nấm ký sinh và phân hủy, sau 168 giờ tuyến trùng cũng bị ký sinh và phân hủy gần hết.

Theo kết quả nghiên cứu của Sun *et al.* (2006), khi ông tiến hành thử nghiệm trong phòng thí nghiệm hiệu lực của 186 chủng nấm *P. lilacinus* đối với tuyến

trùng *M. hapla* cho thấy tỷ lệ trứng nở trung bình là 42% và tỷ lệ ấu trùng bị chết trung bình là 16% (Sun *et al.*, 2006). Trong khi Al Kader (2008), báo cáo hiệu quả gây chết của dịch bào tử nấm *Paecilomyces* đối với ấu trùng *M. incognita* là 99% sau 2 ngày gây nhiễm (Al Kader, 2008). Tương tự, Pau *et al.* (2012), cũng công bố ba chủng nấm *P. lilacinus* có khả năng làm giảm đáng kể lượng trứng nở tuyến trùng *M. incognita*. Cụ thể là trong thời gian 7 ngày tỷ lệ trứng nở là 12 - 11%, trong khi đó ở công thức đối chứng tỷ lệ trứng nở là 74% (Pau *et al.*, 2012). Al Ajrami (2016), đã tiến hành thử nghiệm khả năng ức chế nở trứng *M. incognita* của nấm *P. lilacinus* ở các nồng độ 1500 và 3000 bào tử/ml. Kết quả, sau 72 giờ tỷ lệ trứng nở ở nồng độ bào tử nấm 1500 bào tử/ml là 18% và ở nồng độ nấm 3000 bào tử/ml là 7%, ở công thức đối chứng là 88%. Tỷ lệ ấu trùng chết là 35% ở nồng độ bào tử nấm 1500 bào tử/ml và 57% ở nồng độ bào tử nấm 3000 bào tử/ml (Al Ajrami, 2016). Nghiên cứu của Lê Thị Mai Linh và cs. (2015), cũng cho thấy nấm *P. javanicus* có khả năng ức chế nở trứng và giết chết ấu trùng *M. incognita* sau 120h, ở các công thức nấm 5, 10 và 20% tỷ lệ trứng nở lần lượt là 11,8; 8,9; 3,8% và tỷ lệ ấu trùng chết là 52; 55 và 75% (L. T. M. Linh và cs., 2015). Như vậy, so với các nghiên cứu trên thế giới cũng như ở Việt Nam, dịch bào tử nấm *Paecilomyces* sp. trong nghiên cứu này có hiệu lực cao đối với quá trình ức chế nở trứng và giết chết ấu trùng *M. incognita* và tuyến trùng *P. penetrans*.

IV. KẾT LUẬN

Trong điều kiện phòng thí nghiệm dịch bào tử nấm *Paecilomyces* sp. có hiệu lực cao trong việc ức chế trứng nở cũng như có khả năng gây chết 2 loài tuyến trùng *M. incognita* và *P. penetrans*. Ở các nồng độ dịch bào tử nấm khác nhau, tỷ lệ trứng nở và tuyến trùng chết là khác nhau. Sau 120 giờ, tỷ lệ trứng nở ở CT nồng độ bào tử nấm $1,5 \times 10^5$ bào tử/ml là 22%, ở CT đối chứng là 77,2%. Sau 168 giờ, ở CT nồng độ bào tử nấm $4,5 \times 10^5$ bào tử/ml, tỷ lệ ấu trùng *M. incognita* chết là cao nhất đạt 99% và tỷ lệ tuyến trùng *P. penetrans* chết cao nhất là 94%. Trong khi đó, ở CT đối chứng tỷ lệ tuyến trùng chết cao nhất từ 0,4 - 0,9%. Như vậy, dịch bào tử nấm *Paecilomyces* sp. trong nghiên cứu này có hiệu lực cao đối với quá trình ức chế nở trứng và giết chết ấu trùng *M. incognita* và tuyến trùng *P. penetrans*. Đây là một chủng nấm rất có tiềm năng trong ứng dụng sản xuất các chế phẩm sinh học phòng trừ tuyến trùng ký sinh thực vật. Tuy nhiên, để đánh giá chính xác tiềm năng của chủng nấm *Paecilomyces* sp. trong nghiên cứu này cần có thêm các thử nghiệm và đánh giá cụ thể hơn ở điều kiện nhà lưới và ngoài đồng ruộng.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí từ đề tài Nafosted mã số: 106.05-2019.323

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Al Ajrami, H.H.M. (2016). Master of Biological Sciences Microbiology, Evaluation the Effect of *Paecilomyces lilacinus* as a Biocontrol Agent of

- Meloidogyne javanica on Tomato in Gaza Strip. The Islamic University-Gaza Research and Postgraduate Affairs Faculty of science.
2. Al Kader, M. A. A. (2008). In vitro studies on nematode interaction with their antagonistic fungi in the rhizosphere of various plants. Ph.D. Thesis, Albert-Ludwigs-Universität, Germany.
 3. Atkins, S.D., Diaz, H. L., Kaslitz, H., Hirsch, P.R. & Kerry, B.R. (2003). Development of a new management strategy for the control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in organic vegetable production. *Pest Manage, Sci*, 59, 183 - 189.
 4. Brand, D., Socol, C.R., Sabu, A. & Roussos, S. (2010). Production of fungal biological control agents through solid state fermentation: A case study on *Paecilomyces lilacinus* against root-knot nematodes. *Micol. Aplicada Int*, 22, 31 - 48.
 5. Chen, Z.X., Dickson, D.W., McSorley, R., Mitchell, D.J. & Hewlett, T.E. (1996). Suppression of *Meloidogyne arenaria* race 1 by soil application of endospores of *Pasteuria penetrans*. *J. Nematol*, 28, 159 - 168.
 6. Chitwood, D.J. (2003). Research on plant-parasitic nematode biology conducted by the United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service. *Pest Management Science*, 59, 748 - 753.
 7. Coyne, D. L., Adewuyi, O. & Mbiru, E. (2014). Protocol for in vitro culturing of lesion nematodes: *Radopholus similis* and *Pratylenchus* spp. on carrot discs. *International Institute of Tropical Agriculture (IITA)*, Ibadan, Nigeria, 15.
 8. Evans, A. (2007). Soil dwelling free-living nematodes as pests of crops. *Scottish Agricultural College Technical Note (TN603)* ISBN, 1854828959.
 9. Gao, X., Zhou, H., Zhang, H., Chen, C. & Deng, S. (1998). Efficacy of the MCWA18 strain of *Paecilomyces lilacinus* on *Meloidogyne incognita*. *Chinese Journal of Biological Control*, 14(4), 163 - 166.
 10. Jatala, P. (1986). Biological control of plant parasitic nematodes. *Ann. Rev. Pathopathol*, 24, 453 - 489.
 11. Jonathan, E.I. & Rajendran, G. (2000). Biocontrol potential of the parasitic fungus *Paecilomyces lilacinus* against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in banana. *Journal of Biological Control*, 14, 67 - 69.
 12. Haseeb, A. & Kumar, V. (2006). Management of *Meloidogyne incognita*-*Fusarium solani* disease complex in brinjal by biological control agents and organic additives. *Annals of Plant Protection Sciences*, 14, 519 - 521.
 13. Khan, A., Williams, K. L. & Nevalainen, H.K.M. (2006). Infection of plant-parasitic nematodes by *Paecilomyces lilacinus* and *Monacrosporium lysipagum*. *Biol. Cont*, 51, 659 - 678.
 14. Khan, A., Williams, K. L. & Nevalainen, H.K.M. (2004). Effects of *Paecilomyces lilacinus* protease and chitinase on the eggshell structures and hatching of *Meloidogyne javanica* juveniles. *BioControl*, 31, 346 - 352.
 15. Kiewnick, S. & Sikora, R. (2006). Evaluation of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 for the biological control of the northern root-knot nematode *Meloidogyne hapla* Chitwood. *Nematology*, 8, 69 - 78.
 16. Kumar, V., Haseeb, A. & Sharma, A. (2009). Integrated management of *Meloidogyne incognita*-*Fusarium solani* disease complex of brinjal cv. *Pusa Kranti*. *Ann. Plant Protection Science*, 17, 192 - 194.
 17. Lê Thị Mai Linh, Nguyễn Thị Duyên, Trịnh Quang Pháp, Nguyễn Thị Phương Anh, Phạm Văn Ty (2015). Nghiên cứu khả năng ức chế tuyến trùng *Meloidogyne incognita* trên cà phê của nấm *Paecilomyces javanicus*. *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 13(4), 1025 - 1029.
 18. López Pérez, J. A., Escuer, M., Díez Rojo, M. A., Robertson, L., Piedra-Buena, A., López Cepero, J. & Bello Pérez, A. (2011). Host range of *Meloidogyne arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949 (Nematoda: Meloidogynidae) in Spain. *Nematropica*, 41, 130 - 140.

19. Luc, M., Sikora, R. & Bridge, J. (2005). Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. C. A.B International Institute of Parasitology, 629 pp.
20. Mukhtar, T., Hussain, M. A. & Kayani, M.Z. (2013). Biocontrol potential of *Pasteuria penetrans*, *Pochonia chlamydosporia*, *Paecilomyces lilacinus* and *Trichoderma harzianum* against *Meloidogyne incognita* in okra. *Phytopathologia Mediterranea*, 52, 1, 66 - 76.
21. Pau, C.G., Leong, S., Teck, C., Wong, S.K., Eng, L., Jiwan, M. & Majid, N.M. (2012). Isolation of Indigenous Strains of *Paecilomyces lilacinus* with Antagonistic Activity against *Meloidogyne incognita*. *International Journal of Agriculture & Biology*, 14(2).
22. Perry, R., Moens, M. & Starr, J. L. (2009). Root-knot nematodes. *CABI*, 480pp.
23. Sharman, P. & Pandey, R. (2009). Biological control of root- knot nematodes; *Meloidogyne incognita* in the medicinal plant; *Withania somnifera* and the effect of biocontrol agents on plant growth. *African Journal of Agricultural Research*, 4, 564 - 567.
24. Siddiqui, Z. A. & Mahmood, I. (1996). Biological control of plant parasitic nematodes by fungi: A review. *Bioresource Technology*, 58, 229 - 239.
25. Stirling, G.R. (1991). Biological Control of Plant Parasitic Nematodes. Progress, Problems and Prospects. *CAB International, Wallingford, UK*.
26. Sun, M.H., Gao, L., Shi, Y.X., Li, B.J. & Liu, X.Z. (2006). Fungi and actinomycetes associated with *Meloidogyne* spp. eggs and females in China and their biocontrol potential. *Journal of Invertebrate Pathology*, 93(1), 22 - 28.
27. Tiyaqi, S. A. & Shamim, A. (2004). Biological control of plant parasitic nematodes associated with chickpea using oil cakes and *Paecilomyces lilacinus*. *Indian J. of Nematology* 34, 44 - 48.
28. Vagelas, I.K., Pembroke, B., Gowen, S.R. & Davies, K.G. (2007). The control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) by *Pseudomonas oryzae* and its immunological detection on tomato roots. *Nematology*, 9, 363 - 370.