

XÁC ĐỊNH TÁC NHÂN VÀ HIỆU QUẢ MỘT SỐ LOẠI THUỐC TRỪ BỆNH ĐỐI VỚI TÁC NHÂN GÂY BỆNH THỐI RỄ PANAMA TRÊN CÂY CHUỐI Ở ĐIỀU KIỆN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Lê Thị Tường¹, Đặng Phan Kỳ Duyên¹, Đặng Thị Kim Uyên¹, Nguyễn Văn Hòa¹, Trần Thị Oanh Yến¹

TÓM TẮT

Chuối (*Musa sapientum* L.) là loại cây trồng rất phổ biến và mang lại nguồn thu đáng kể cho các nông hộ. Tuy nhiên, cây chuối đang nhiễm một số sâu bệnh hại ảnh hưởng lớn đến năng suất. Hiện nay, panama là một trong những bệnh hại nguy hiểm, phổ biến và gây hại nghiêm trọng đến năng suất chuối. Kết quả phân lập mẫu rễ chuối từ các tỉnh An Giang, Tiền Giang, Long An và Tây Ninh đã thu được 4 dòng nấm *Fusarium*. Qua kết quả định danh bằng hình thái học, sinh học phân tử và kiểm chứng Kock đã xác định được 2 dòng nấm gây bệnh thối rễ chuối panama là *Fusarium oxysporum* (1) và *Fusarium oxysporum* (2). Ở điều kiện phòng thí nghiệm, cả 2 dòng *F. oxysporum* đều bị ức chế hoàn toàn của hoạt chất Mancozeb. Kế đến là Cuprous Oxide cũng có khả năng ức chế nấm với hiệu lực khá cao từ (87,53%) đến (93,75 %).

Từ khóa: Cây chuối, panama, thuốc hóa học

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây chuối (*Musa sapientum* L) là loại cây ăn quả ở vùng nhiệt đới, được trồng khắp Ấn Độ, phía Nam Trung Quốc, Malaixia, các nước thuộc Đông Phi, Tây Phi, Châu Mỹ... Việc nâng cao hiệu quả sản xuất cây trồng này sẽ góp phần nâng cao thu nhập và mức sống cho người dân. Ngoài việc tiêu thụ nội địa, hiện nay chuối còn xuất khẩu sang thị trường thế giới như liên minh EU, Trung Quốc. Tuy nhiên, hiện nay tại một số khu vực trồng chuối của các tỉnh Nam Bộ, tình hình dịch bệnh trên cây chuối ngày càng gia tăng làm giảm năng suất và chất lượng nông sản. Trong đó, bệnh vàng lá thối rễ panama là một trong những bệnh hại nguy hiểm, phổ biến và gây hại nghiêm trọng đến năng suất, mất giá trị thương phẩm và những giá trị dinh dưỡng của chuối. Bệnh có thể xảy ra ở bất kỳ giai đoạn tăng trưởng nào của cây chuối, lây lan chủ yếu theo cây chuối con và đất có mang mầm bệnh. Nấm xâm nhập vào cây thông qua rễ và xâm nhiễm vào hệ thống mạch ngăn chặn hấp thu chất dinh dưỡng gây chết cây (Stover and Waite, 1960).

Trên thế giới, các nghiên cứu về bệnh Panama đã xác định tác nhân do nấm *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) gây hại (Stover, 1962; Ploetz and Pegg, 2000). Các nước như Trung Quốc đã công bố bệnh vàng lá Panama (FOC) năm 2004, Ấn độ năm 2007, Philippines năm 2015... Nấm *F. oxysporum* được phòng trừ bằng các loại thuốc hóa học như: Carbendazim, Mancozeb (Dar et al., 2013; Anita et al., 2014). Tuy nhiên, việc phòng trừ triệt để bệnh Panama trên chuối hiện nay chưa triệt để là mối đe dọa lớn nhất đối với sản xuất chuối toàn cầu (Ploetz, 2015). Chính vì vậy, đề tài “Xác định tác nhân và

hiệu quả của một số loại thuốc trừ bệnh đối với tác nhân gây bệnh Panama trên cây chuối ở điều kiện phòng thí nghiệm” được thực hiện với mong muốn tìm ra một số hoạt chất có hiệu quả góp phần hoàn thiện mô hình quản lý bệnh panama trên cây chuối ở các tỉnh Nam Bộ.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP THỰC HIỆN

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Môi trường nuôi cấy: PDA - (Potato Dextrose Agar).
- Các loại thuốc hóa học (Norshiel, Ridomin gold, Alette, Coc85, Score, Anvil, Amistar, Amistar Top và Dithane).

2.2. Phương pháp thực hiện

2.2.1. Phương pháp xác định tác nhân gây bệnh thối rễ chuối Panama

- Thu thập mẫu rễ chuối có triệu chứng thối rễ từ các vườn trồng chuối ở Tân Phước - Tiền Giang, Đức Hòa - Long An, Tây Ninh và An Giang.
- Phương pháp phân lập: Tác nhân gây bệnh được phân lập và làm thuần trên môi trường PDA theo phương pháp nuôi cấy đơn bào tử của Burgess và cộng tác viên (2009).
- Giám định nấm được thực hiện theo Bùi Xuân Đồng (1986), Barnett và Hunter (1998). Các đặc điểm cần quan sát: màu sắc, hình dạng tã nấm, bào tử, sợi nấm...
- Phương pháp chủng bệnh nhân tạo theo quy tắc Koch (Agrios, 2005): Thí nghiệm tiến hành trên chuối nuôi cấy mô được trồng trong các chậu giá thể đã khử trùng ở 121°C trong 30 phút. Bơm thẳng

¹ Viện Cây ăn quả miền Nam

dung dịch nấm vào xung quanh rễ chuối với liều lượng 30 ml/cây với mật số 10⁷ bào tử/ml. Mỗi dòng nấm chủng 10 cây và 10 cây đối chứng chủng nước cất đã khử trùng.

- Các chỉ tiêu theo dõi: Định kỳ theo dõi 7 ngày/ lần. Quan sát triệu chứng xuất hiện vết bệnh ghinhan:

+ Ngày xuất hiện triệu chứng vết bệnh.

+ Tỷ lệ rễ thối theo Nguyễn Ngọc Anh Thu (2013).

Tỷ lệ rễ thối (%) = (Phần trăm diện tích rễ bị thối / diện tích toàn bộ rễ) × 100

+ Chỉ số rễ thối theo Viện Bảo vệ thực vật (1999).

Chỉ số rễ thối (%) = $\frac{\{(n_1 \times 1) + (n_2 \times 2) + (n_3 \times 3) + (n_4 \times 4)\}}{(N \times 4)} \times 100$

Trong đó: n₁ - n₄: lần lượt là số cây có rễ thối cấp 1, 2, 3, 4. N: tổng số cây quan sát.

+ Phân loại cấp bệnh thối rễ theo Alston và cộng tác viên (2003) gồm có 5 cấp: Cấp 0: rễ không bị thối; cấp 1: 1% - 25%; cấp 2: 26% - 50%; cấp 3: 51% - 75%; cấp 4: 76% - 100% với hầu hết rễ bị thối rữa.

+ Các cây xuất hiện triệu chứng bệnh được lấy mẫu và tái phân lập trên môi trường PDA.

Giải trình tự DNA: Mẫu thu được giải trình tự bởi công ty TNHH Nam Khoa (793/58 Trần Xuân Soạn, P. Tân Hưng, Q.7, TP. Hồ Chí Minh).

2.2.2. Khảo sát hiệu lực của một số loại thuốc hóa học đối với nấm gây bệnh thối rễ chuối ở điều kiện phòng thí nghiệm

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 10 nghiệm thức. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 5 lần mỗi lần lặp lại là 2 đĩa petri.

Bảng 1. Các nghiệm thức và liều lượng sử dụng trong thí nghiệm

NT	Tên thương mại	Hoạt chất	Liều lượng (g, ml/100 ml MT)
NT1	Đối chứng	Nước cất	
NT2	Norshiel 86,2WG	Cuprous Oxide	0,0625g
NT3	Ridomingold 68WG	Metalaxyl+ Mancozeb	0,3g
NT4	Aliette 800WG	Fosetyl aluminium	0,175g
NT5	Coc 85 WP	Copper Oxychloride	0,25g
NT6	Score 250EC	Difenconazole	0,06ml
NT7	Anvil 5SC	Hexaconazol	0,08ml
NT8	Amista 250SC	Azoxystrobin	0,05ml
NT9	Amistar Top 325 SC	Azoxystrobin + Difenconazole	0,05ml
NT10	Dithane M-45 80WP	Mancozeb	0,3g

Chỉ tiêu theo dõi:

+ Đường kính tàn nấm, khả năng ức chế được tính theo công thức của Vincent (1947).

+ Hiệu lực thuốc (%) = $\frac{(C - T)}{C} \times 100$

Trong đó: C là đường kính tàn nấm của nghiệm thức đối chứng; T là đường kính tàn nấm của nghiệm thức có xử lý thuốc.

2.2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được tổng hợp xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel và trắc nghiệm bằng phần mềm SAT 9.1.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định tác nhân gây bệnh thối rễ chuối Panama

3.1.1. Phân lập tác nhân gây bệnh thối rễ chuối Panama

Kết quả phân lập từ 40 mẫu rễ chuối ở các tỉnh Tiền Giang, Long An, Tây Ninh và An Giang. Kết quả đã thu được 4 dòng nấm *Fusarium* sp., trong đó dòng *Fusarium* sp. (1) có tần suất xuất hiện cao nhất (81,20%), kế đến là dòng nấm *Fusarium* sp. (2) (63,32%). Hai dòng *Fusarium* sp. (3) và *Fusarium* sp. (4) xuất hiện với tỷ lệ thấp từ 3,20% đến 4,15%.

3.1.2. Kết quả thực hiện quy trình Koch nhằm kiểm chứng tác nhân gây bệnh

Kết quả chủng bệnh nhân tạo đến thời điểm 42 ngày sau chủng cho thấy tỷ lệ bệnh của các nghiệm thức có chủng nấm *Fusarium* sp. (1) và *Fusarium* sp. (2) là 80%, chỉ số bệnh đạt 56,68 và 31,90%. Trong khi đó, nghiệm thức *Fusarium* sp. (3), *Fusarium* sp. (4) và đối chứng là 0,0% (Bảng 2). Như vậy, nấm *Fusarium* sp. (1) và *Fusarium* sp. (2) là tác nhân gây bệnh thối rễ trên chuối.

Bảng 2. Kết quả kiểm chứng tác gây bệnh thối rữa chuỗi

Dòng nấm	TLB (%)			CSB (%)
	28 NSC	35 NSC	42 NSC	
<i>Fusarium</i> sp.(1)	40,0	60,0	80,0	26,68
<i>Fusarium</i> sp.(2)	40,0	60,0	80,0	31,90
<i>Fusarium</i> sp.(3)	0	0	0	0
<i>Fusarium</i> sp.(4)	0	0	0	0
Đối chứng	0	0	0	0

Ghi chú: NSC: ngày sau cấy.

Để xác định chính xác kết quả chủng bệnh tiến hành tái phân lập sau chủng cho thấy tác nhân gây bệnh thối rữa chuỗi con nuôi cấy mô là do nấm *Fusarium* sp.(1) và *Fusarium* sp.(2) gây hại.

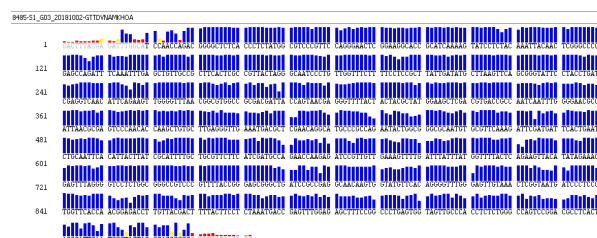
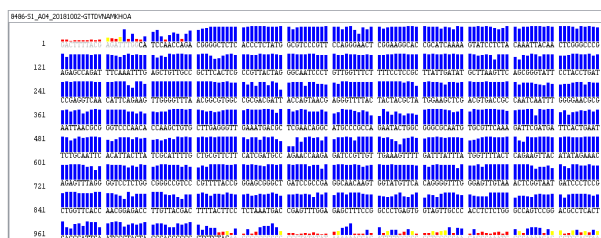
- Đặc điểm hình thái của nấm *Fusarium* sp. (1): Khuẩn lạc xếp bông, tâm đĩa có màu tím trên môi trường PDA. Hệ sợi nấm phân nhánh, có vách ngăn. Đại bào tử hình liềm có ba đến năm vách ngăn, đỉnh hơi nhọn. Tiểu bào tử có hình trứng, elíp thẳng hoặc cong không có vách ngăn. Hậu bào tử có hình tròn hoặc hình trứng, có lớp vách dày, xù xì.

- Đặc điểm hình thái của nấm *Fusarium* sp. (2): Khuẩn lạc xếp bông, tâm đĩa có màu tím nhạt đến trắng trên môi trường PDA. Hệ sợi nấm phân nhánh, có vách ngăn. Đại bào tử hình liềm có bốn đến tám tế bào, vách mỏng. Tiểu bào tử có 1 - 2 tế bào, hình bầu dục đến hình thận. Hậu bào tử có thành dày, hình tròn.

Dựa vào các đặc điểm hình thái và khóa phân loại của Bùi Xuân Đồng (1986), Stover (1962), Burgess và cộng tác viên (1994), Barnett và Hunter (1998) đã công bố có thể kết luận mẫu nấm bệnh được phân lập từ rế chuối có những đặc điểm đặc trưng của chi *Fusarium oxysporum*.

3.1.3. Xác định loài tác nhân gây bệnh thối rữa chuỗi dựa vào giải trình tự

Kết quả giải trình tự gen 28rRNA của nấm *Fusarium* sp. (1) và *Fusarium* sp. (2) như sau: gene có 866 đến 880 bp. Khi thực hiện BLAST SEARCH từ Ngân hàng gen trên NCBI cho thấy, hai chuỗi rDNA này đồng hình với nấm *Fusarium oxysporum* đến 100%, từ đó xác định mẫu nấm *Fusarium* sp. (1) thuộc loài *Fusarium oxysporum* và *Fusarium* sp. (2) cũng thuộc loài *Fusarium oxysporum*.



Hình 1. Kết quả giải trình tự chi tiết mẫu F.(1) và F.(2)

3.2. Ảnh hưởng của thuốc hóa học đối với nấm *Fusarium oxysporum* (1) ở điều kiện phòng thí nghiệm

Bảng 3. Hiệu lực thuốc hóa học đối với nấm *F. oxysporum* (1) ở điều kiện *in vitro*

STT	Nghiệm thức	Hiệu lực thuốc (%)						
		1 NSC	2 NSC	3 NSC	4 NSC	5 NSC	6 NSC	7 NSC
1	Norshield	50,68a	77,29a	84,86a	88,73a	90,85a	92,36a	93,75a
2	Ridomil glod	50,68a	77,29a	84,86a	88,73a	90,85a	92,36a	93,75a
3	Aliette	36,94b	50,61c	56,26d	60,55e	62,15e	64,25e	68,09e
4	Coc 85	50,68a	69,08b	72,85c	74,45d	72,10d	68,99d	67,94e
5	Score	50,68a	74,65a	82,06a	85,63b	86,96b	86,69b	86,50b
6	Anvil	50,68a	75,02a	78,04b	78,64c	79,70c	77,83c	78,84d
7	Amistar	21,41c	27,95d	29,67e	30,64f	32,77f	33,28f	38,06f
8	Amistar top	50,68a	77,29a	83,34a	85,35b	87,06b	87,46b	83,72c
9	Dithane	50,68a	77,29a	84,86a	88,73a	90,85a	92,36a	93,75a
	Mức ý nghĩa	**	**	**	**	**	**	**
	CV (%)	2,93	2,59	2,93	2,09	1,74	1,87	1,67

Ghi chú: Số liệu đã được chuyển sang arcsin (x)^{1/2} trước khi xử lý thống kê, các giá trị trong cùng một cột có mẫu tự theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê, **: khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ở a = 0,01.

Kết quả bảng 3 cho thấy: Các nghiệm thức thuốc có hiệu lực cao nhất là Norshield 86,2WG (Cuprous Oxide), Dithane M-45 80WP (Mancozeb) và Ridomil glod 68WG (Metalaxyl + Mancozeb) đạt 93,75%. Các nghiệm thức còn lại có hiệu lực thấp từ 38,06 đến 86,5%.

Như vậy, các loại thuốc như Dithane M-45 80WP (Mancozeb), Ridomil glod 68WG (Metalaxyl + Mancozeb) và Norshield 86,2WG (Cuprous Oxide) có khả năng ức chế hoàn toàn đường kính tản nấm đối với dòng nấm *Fusarium oxysporum* (1).

3.3. Ảnh hưởng thuốc hóa học đối với nấm *Fusarium oxysporum* (2) ở điều kiện phòng thí nghiệm

Qua kết quả bảng 4 cho thấy hiệu lực thuốc ở nghiệm thức Ridomil glod và Dithane đạt cao nhất (93,75%) và khác biệt rất có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại. Kể đến là nghiệm thức Cuprous Oxide hiệu suất đạt (87,53%). Như vậy, hoạt chất Mancozeb và Cuprous Oxide cũng có khả năng ức chế hiệu quả dòng nấm *F. oxysporum* (2) ở điều kiện phòng thí nghiệm.

Bảng 4. Hiệu lực thuốc hóa học đối với nấm *F. oxysporum* (2) ở điều kiện *in vitro*

STT	Nghiệm thức	Hiệu lực thuốc (%)						
		1 NSC	2 NSC	3 NSC	4 NSC	5 NSC	6 NSC	7 NSC
1	Norshield	63,32a	74,74ab	81,29b	83,27b	85,06b	86,59b	87,53b
2	Ridomil glod	63,32a	77,74a	86,44a	89,22a	91,26a	92,75a	93,75a
3	Aliette	51,53b	58,49c	63,72d	66,32d	66,65d	68,08d	69,75d
4	Coc 85	28,00d	23,21e	33,99f	31,27g	31,51g	34,08g	35,13g
5	Score	63,32a	70,27b	78,00bc	78,13c	78,61c	79,50c	79,78c
6	Anvil	57,64a	59,48c	63,24d	60,55e	58,99e	59,60e	59,81e
7	Amistar	41,69c	45,74d	53,28e	51,40f	51,29f	51,75f	51,97f
8	Amistar top	63,32a	71,75b	76,22c	76,53c	76,85c	76,53c	76,56c
9	Dithane	63,32a	77,84a	86,58a	89,36a	91,34a	92,78a	93,75a
	Mức ý nghĩa	**	**	**	**	**	**	**
	CV (%)	5,84	6,33	4,50	4,76	4,69	4,74	4,59

Ghi chú: Số liệu đã được chuyển sang arcsin (x)^{1/2} trước khi xử lý thống kê, các giá trị trong cùng một cột có mẫu tự theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê, **: khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ở $\alpha = 0,01$.

Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của (Dar et al., 2013; Anita et al., 2014) đã sử dụng Carbendazim và Mancozeb để phòng trừ hiệu quả nấm *F. oxysporum*. Tuy nhiên, hiện nay Carbendazim không còn trong danh mục thuốc, do đó qua kết quả thí nghiệm này hai hoạt chất Mancozeb và Cuprous Oxide được sử dụng trong việc phòng trừ bệnh Panama ở điều kiện nhà lưới và ngoài đồng.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Qua kết quả phân lập, định danh và kiểm chứng Koch cho thấy tác nhân gây bệnh thối rễ chuối Panama đã xác định được 2 dòng nấm là *F. oxysporum* được ký hiệu là *F. oxysporum* (1) và *F. oxysporum* (2).

Trong điều kiện phòng thí nghiệm, cả 2 dòng nấm *F. oxysporum* đều bị ức chế hoàn toàn của hoạt chất Mancozeb với hiệu lực cao (93,75%) kể đến là hoạt chất Cuprous Oxide cũng có khả năng ức chế nấm với hiệu lực khá cao từ (87,53%) đến (93,75%).

4.2. Đề nghị

Áp dụng hai hoạt chất Mancozeb và Cuprous Oxide ở điều kiện ngoài đồng nhằm góp phần hoàn thiện mô hình quản lý bệnh thối rễ Panama trên chuối.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bùi Xuân Đồng, 1986. *Nhóm nấm Hyphomyces ở Việt Nam*. Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật. Hà Nội. 173 trang
- Nguyễn Ngọc Anh Thư, 2013. *Nghiên cứu sử dụng vi khuẩn đối kháng trong kiểm soát bệnh thối rễ do nấm *F. solani* và *P. palmivora* trên chanh Volka*. Luận văn Thạc sĩ - ĐH Cần Thơ. Trang 26.
- Viện Bảo vệ thực vật, 1999. *Phương pháp điều tra đánh giá sâu, bệnh, cỏ dại, chuột hại cây trồng cận tập III*. NXB Nông nghiệp. Hà Nội, 80tr.
- Agrios, G., 2005. *Plant Pathology*. Elsevier. Academic Press.
- Anita Kumari, Rahul Kumar, Harsh Kumar, 2014. *Efficacy of fungicides and trichoderma viride against *Fusarium oxysporum*. sp. cubense in vitro*. Supplement on Plant Pathology.

- Alston, D.G., Sipes, B.S, Uchida, J., Schmitt, D.P, Chia, C.L.,** 2003. Interaction effects of *Rotylenchus reniformis* and *Phytophthora palmivora* on papaya (*Carica papaya* L.) survival and growth in greenhouse pots. *Nematropica*, 33:73-85.
- Barnett H. L & Barry B. Hunter,** 1998. *Illustrated genera of imperfect fungi*. Fourth Edition.
- Burgess, L.W., Summerell, B.A., Bullock, S., Gott, K.P., and Backhouse, D.,** 1994. *Laboratory Manual for Fusarium Research*. Univ. of Sydney (3rd edition), Australia. 123p.
- Burgess Lester W.; Timothy E. Knight; Len Tesoriero,** 2009. *Cẩm nang chẩn đoán bệnh cây ở Việt Nam*, Vol. 129a. Trung tâm Nghiên cứu Nông nghiệp Quốc tế Australia (ACIAR), Canberra.
- Dar, W. A., Beig, M. A., Ganie, S. A., Bhat, J. A., Shabir-u-Rehman and Razvi, S. M.,** 2013. *In vitro* study of fungicides and biocontrol agents against *Fusarium oxysporum* f. sp. pini causing root rot of Western Himalayan fir. *Academic Journals*, 8 (30): 1407-1412.
- Ploetz R., Pegg K.,** 2000. *Fusarium wilt in Diseases of Banana*. Abacá and Enset, ed Jones D., editor. Wallingford: CABIPublishing: 143-159.
- Ploetz, R.C,** 2015. Fusarium wilt of Banana. Univeersity, Tropical Researchandeducationcenter. *Phytopathology*, 105: 1512.
- Stover R. H., Waite B. H.,** 1960. *Studies on Fusarium wilt of bananas: V. Pathogenicity and distribution of Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* races 1 and 2.
- Stover R. H.,** 1962. *Studies on Fusarium wilt of bananas: VIII. Differentiation of clones by cultural interaction and volatile substances*.
- Vincent, J.M.,** 1947. Distortion of fungal hyphae in the presence of certain inhibitors. *Nature*, 159:850.

Identification of agents and efficacy of chemicals for control of Panama disease pathogens on the banana in *in vitro*

Le Thi Tuong, Dang Phan Ky Duyen, Dang Thi Kim Uyen, Nguyen van Hoa, Tran Thi Oanh Yen

Abstract

Bananas (*Musa sapientum* L.) is a very popular crop and bring a significant income for farmers. However, bananas are infected with a number of pests and diseases that affect yield seriously. Panama disease is one of the most dangerous, widespread and seriously damaging diseases of productivity at the present. The results of isolating banana root samples from An Giang, Tien Giang, Long An and Tay Ninh provinces obtained four *Fusarium* strains. By morphology, molecular biology analysis and comparison with Kock control, two fungal pathogens of panama

F. oxysporum (1) and *F. oxysporum* (2) were identified. Under laboratory conditions, both *F. oxysporum* strains were completely inhibited by the active ingredient Mancozeb. Cuprous Oxide was also able to be inhibited quite high effect from (87.53%) to (93.75%).

Key words: Banana, panama, Fungicide

Ngày nhận bài: 21/8/2019 Ngày
phản biện: 18/9/2019

Người phản biện: TS. Đào Bách Khoa Ngày
duyet đăng: 14/10/2019