

SÀNG LỌC VÀ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG CỦA MỘT SỐ CHỨNG VI NẤM ĐỐI VỚI TUYẾN TRÙNG *Meloidogyne incognita* GÂY HẠI CÂY HỒ TIÊU

SCREENING AND ASSESSING THE ANTAGONISM OF SOME MICROFUNGI ISOLATES TOWARDS THE *Meloidogyne incognita* NEMATODE ON BLACK PEPPER

Đỗ Thị Kiều An^{*1}, Hoàng Ngọc Duyên^{**2}, Nguyễn Văn Nam³

¹ Khoa Nông Lâm, Trường Đại học Tây Nguyên

² Khoa Tự nhiên - Công nghệ, Trường Đại học Tây Nguyên

³ Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Tây Nguyên

* Email: kieuando@yahoo.com

** Email: ngvannamdhtn@gmail.com

TÓM TẮT

Ba mươi sáu chủng nấm đã được phân lập từ các mẫu đất và rễ tại những vườn tiêu ở Đắk Nông có biểu hiện vàng lá, sinh trưởng chậm, rễ có u sưng nhằm sàng lọc khả năng đối kháng của chúng đối với tuyến trùng *Meloidogyne incognita*. Trong số 21 chủng nấm thử nghiệm, 66,7% chủng có khả năng kí sinh tuyến trùng (trong đó: 23,8% kí sinh mạnh, 14,3% kí sinh trung bình và 28,6% KS yếu). Bốn chủng nấm *Trichoderma* C07, C22, DY16 và T7 có khả năng kí sinh cao lên trứng tuyến trùng *Meloidogyne incognita* trong điều kiện phòng thí nghiệm được tuyển chọn để nhân nuôi tạo chế phẩm và thử nghiệm khả năng đối kháng của chúng đối với tuyến trùng *Meloidogyne incognita* gây hại cây hồ tiêu con trong điều kiện nhà lưới. Kết quả cho thấy cả 4 chủng nấm *Trichoderma* này đều có khả năng hạn chế mật số tuyến trùng *Meloidogyne incognita* trong rễ và đất trồng tiêu, do đó làm cho chiều cao cây, số lá/cây, chiều dài rễ, trọng lượng tươi và khô của cây cũng như bộ rễ đều tăng so với các công thức đối chứng không chủng tuyến trùng và công thức chỉ chủng tuyến trùng nhưng không xử lý chế phẩm nấm.

Từ khóa: vi nấm, *Trichoderma*, đối kháng, *Meloidogyne incognita*, hồ tiêu.

ABSTRACT

Thirty six microfungi isolates isolated from soil and root samples of black pepper plants showing the symptoms of yellowing leaves, stuning growth and knot roots were screened for their antagonism towards *Meloidogyne incognita* nematode. Of 21 tested isolates, only 5 showed high antagonistic activity to *Meloidogyne incognita* eggs, accounting for 23,8%. Four *Trichoderma* isolates showing high antagonistic activities were selected to produce fungi formulation, including: C07, C22, DY16 and T7. The greenhouse trial results revealed that all of four selected *Trichoderma* isolates reduced *Meloidogyne incognita* density in black pepper roots and soils, resulting in the increases plant height, leaves number/plant, root length, fresh and dry biomass of black pepper roots as compared with the controls.

Keywords: microfungi, *Trichoderma*, antagonistic, *Meloidogyne incognita*, black pepper.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Hồ tiêu (*Piper nigrum* L.) là cây công nghiệp dài ngày có giá trị kinh tế cao, được

trồng ở nhiều nơi và có giá trị xuất khẩu cao trên thế giới. Hiện nay, cả nước có khoảng 100.000 ha trồng hồ tiêu, và được trồng nhiều ở các tỉnh Bình Dương, Bình Phước, Đồng Nai, Gia Lai, Đắk Lắk và Bà Rịa - Vũng Tàu (Hiệp hội hồ tiêu Việt Nam, 2013). Tuy nhiên, sản xuất hồ tiêu tại tất cả các vùng trồng tiêu chính trong cả nước hiện đang chịu tổn thất đáng kể do bị bệnh vàng lá chết chậm mà một trong những nguyên nhân gây bệnh chủ yếu là tuyến trùng nốt sưng *Meloidogyne incognita* (Đào Thị Lan Hoa và ctv, 2003; Trinh, 2010).

Meloidogyne là nhóm tuyến trùng phân bố rộng khắp thế giới, kí sinh trên nhiều loại cây trồng ở các vùng khí hậu khác nhau và gây thiệt hại nặng về mặt kinh tế cho cây hồ tiêu (Trinh, 2010; Koshy và ctv, 2005). Biện pháp phòng trừ tuyến trùng chủ yếu hiện nay là sử dụng một số loại thuốc hóa học đặc hiệu như Marshal, Oncol, Nokaph, Tervigo và Vimoca... Hiệu quả của việc sử dụng thuốc có làm giảm mật số tuyến trùng, nhưng vườn cây vẫn bị bệnh và phải áp dụng thuốc cho các năm tiếp theo. Việc sử dụng thuốc liên tục sẽ dẫn đến hiện tượng kháng thuốc, mất cân bằng hệ sinh vật và vi sinh vật đất, dễ dẫn đến hiện tượng bộc phát các dịch bệnh khác và đặc biệt là ảnh hưởng môi trường và tồn dư thuốc trong nông sản. Đứng trước tình hình đó, việc sàng lọc và đánh giá khả năng đối kháng của các chủng vi sinh vật bản địa lên tuyến trùng *Meloidogyne incognita* hại tiêu là vấn đề cần thiết, là tiền đề cho những nghiên cứu sâu hơn nhằm góp phần giảm tỷ lệ bệnh vàng lá chết chậm theo hướng sinh học, dẫn đến giảm thiệt hại về mặt kinh tế và nâng cao năng suất cũng như chất lượng tiêu nhưng vẫn đảm bảo vấn đề môi trường.

Bài báo này chỉ trình bày kết quả sàng lọc các chủng nấm và đánh giá khả năng đối kháng của chúng với tuyến trùng *Meloidogyne incognita* hại cây hồ tiêu trong điều kiện nhà lưới.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu gồm tuyến trùng *Meloidogyne incognita* phân lập được từ rễ cây tiêu bị bệnh vàng lá chết chậm tại thị xã Gia Nghĩa, tỉnh Đắk Nông; cây tiêu con giống Vĩnh Linh 3,5 tháng tuổi và các dòng nấm kí sinh tuyến trùng *Trichoderma*, *Metarhizium* và *Beauveria*; cây dưa leo giống 3 mũi tên đỏ, được trồng trong nhà lưới để giữ và nhân nuôi tuyến trùng *Meloidogyne incognita*.

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp phân lập nấm

Thành phần nấm trong đất vùng rễ cây được phân lập theo phương pháp pha loãng trên môi trường Rose bengal. Tất cả các chủng nấm mọc trên môi trường được phân lập và làm thuần. Nấm trong rễ tiêu cũng được phân lập theo phương pháp khử trùng bề mặt và làm thuần.

Phương pháp thu thập và lưu giữ tuyến trùng

Tuyến trùng *Meloidogyne incognita* được ly trích từ rễ cây tiêu bị bệnh vàng lá chết chậm tại thị xã Gia Nghĩa, tỉnh Đắk Nông và được chủng nhiễm lại lên rễ cây dưa leo trồng trong nhà lưới của Trại thực nghiệm Khoa Nông Lâm nghiệp, Đại học Tây Nguyên để giữ giống theo phương pháp của Nguyen (2009).

Phương pháp đánh giá đặc điểm kí sinh của các chủng nấm lên tuyến trùng

Nấm đã làm thuần được cấy lên môi trường PGA trong đĩa petri để tạo khuẩn lạc đơn, sau 3 - 9 ngày, dùng que cấy đầu tròn 5 mm để khoan các thỏi thạch có chứa sợi nấm đặt

ngược vào đĩa petri có chứa môi trường 1,5% WA để đánh giá tính ký sinh. Nhỏ 30 μm dịch tuyến trùng và trứng (chứa khoảng 80 - 100 trứng) đã ly trích lên trên bề mặt mỗi thỏi nấm trên đĩa môi trường WA và đem ủ ở 25°C. Đến thời điểm đánh giá, dùng dao cắt nhẹ lớp trên của thỏi thạch nấm đã nhỏ dịch tuyến trùng, đưa lên kính hiển vi quan sát ở độ phóng đại X 10; X 40 lần và tính tỷ lệ trứng bị ký sinh sau 1, 2, 3 ngày xử lý (Nguyen 2009). Mức độ ký sinh trứng tuyến trùng của nấm được phân thành 4 cấp: (i) Ký sinh cao (+++): Tỷ lệ trứng tuyến trùng bị ký sinh trên 80%; (ii) Ký sinh trung bình (++) : Tỷ lệ trứng tuyến trùng bị ký sinh từ 50 – 80%; Ký sinh yếu (+): Tỷ lệ trứng tuyến trùng bị ký sinh dưới 50%; và Không ký sinh (-): Tỷ lệ trứng tuyến trùng bị ký sinh 0%. Xác định kiểu ký sinh của từng loại nấm lên trứng tuyến trùng.

Đánh giá ảnh hưởng của các chủng nấm tuyến chọn đến sinh trưởng tiêu và khả năng hạn chế tuyến trùng *Meloidogyne incognita* gây hại tiêu

Đất (trộn 2 phần đất + 1 phần cát + 1 phần hữu cơ sạch) được xử lý bằng cách trải mỏng, phơi nắng trong 5 ngày để tiêu diệt bớt vi sinh vật, cho vào các túi nilong PE kích thước 10cm x 10cm, mỗi bầu đất trông 1 hom tiêu. Chăm sóc và nuôi hom tiêu đến 3,5 tháng tuổi thì sử dụng làm thí nghiệm.

Bốn chủng nấm có khả năng kí sinh tuyến trùng *Meloidogyne incognita* cao nhất được nhân nuôi trên môi trường cấp 1 và cấp 2, sử dụng nấm ở môi trường nhân nuôi cấp 2 để làm thí nghiệm. Mật độ bào tử sau khi nhân nuôi chế phẩm phải đạt trên 10^9 CFU.ml⁻¹.

Thí nghiệm gồm 6 công thức (CT), được bố trí theo kiểu khối ngẫu nhiên đầy đủ. Mỗi công thức gồm 30 cây tiêu con. CT1 (đối chứng âm): không chủng tuyến trùng và xử lý nấm; CT2 (đối chứng dương): chỉ chủng *Meloidogyne incognita*; CT3: *Meloidogyne incognita* lây trước 2 tuần, sau đó chủng C07; CT4: *Meloidogyne incognita* lây trước 2 tuần, sau đó chủng C22; CT5: *Meloidogyne incognita* lây trước 2 tuần, sau đó chủng DY16; CT6: *Meloidogyne incognita* lây trước 2 tuần, sau đó chủng T7. Mật độ tuyến trùng lây nhiễm cho 1 bầu đất là 1.000 con. 5g chế phẩm từng chủng nấm được pha đều trong 200ml nước để tưới vào 1 bầu tiêu con. Theo dõi các chỉ tiêu: chiều cao cây (cm); số lá trên cây; chiều dài rễ; trọng lượng cây tươi; trọng lượng cây khô; tỷ lệ % u sưng/bộ rễ; mật độ tuyến trùng trong đất và mật độ tuyến trùng trong rễ trước xử lý nấm và sau xử lý nấm 2, 4, 6 và 8 tuần.

Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập được từ các thí nghiệm được chuyển đổi thành số liệu thống kê tương ứng và được biểu thị bằng ($X \pm CV$). Số liệu thí nghiệm còn được xử lý bằng phân tích phương sai ANOVA để xác định sự sai khác giữa các giá trị trung bình, có ý nghĩa với độ tin cậy $p < 0,05$ bằng phần mềm SAS 9.1.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Thành phần nấm ở vùng rễ và đất ở những vườn tiêu bị bệnh vàng lá chết chậm

Thu thập mẫu đất và rễ tại những vườn tiêu có biểu hiện vàng lá, rễ có u sưng tại các huyện Cư Jút, Gia Nghĩa, Đắk R'Lập và Đắk Song, tỉnh Đắk Nông, 36 chủng nấm đã được phân lập được, trong đó đã định danh được 34 chủng đến giống và 2 chủng chưa định danh. Thành phần giống và tần suất xuất hiện của các giống tại các địa điểm nghiên cứu được trình bày ở bảng 1. Kết quả cho thấy đã phân lập được 12 nhóm giống từ vùng rễ và đất tiêu bị bệnh vàng lá chết chậm, trong đó *Aspergillus*, *Metarrhizium*, *Trichoderma* và *Phytophthora* là

các giống xuất hiện nhiều và chiếm số lượng lớn. Riêng giống *Trichoderma* xuất hiện khá phổ biến, đặc biệt tại Cư Jút, tần suất xuất hiện của giống nấm này lên đến hơn 30%.

Bảng 1. Thành phần giống nấm phân lập ở vùng rễ và đất tiêu bị bệnh vàng lá chết chậm tại Đăk Nông

Nhóm giống	Tần suất xuất hiện (%)				
	Cư Jút	Gia Nghĩa	Đăk R'Lấp	Đăk Song	TB
<i>Aspergillus</i>	29,6±1,04	29,1±3,08	25,2±0,99	28,9±3,23	28,2±1,13
<i>Beauveria</i>	8,32±4,59	10,4±6,36	7,14±2,35	9,64±1,96	8,87±1,83
<i>Fusarium</i>	8,18 ±2,37	5,24±3,37	6,51±2,06	6,49±0,94	6,60±1,05
<i>Gliocladium</i>	-	-	3,17±0,16	3,14±1,60	1,58±0,59
<i>Metarrhizium</i>	-	-	4,13±0,79	5,68±3,40	2,45±1,06
<i>Mucor</i>	2,52±1,44	2,67±1,34	4,29±1,20	7,43±3,73	4,23±1,11
<i>Phytophthora</i>	7,92±2,89	12,0±2,60	11,8±2,50	6,49±0,94	9,53±1,24
<i>Pythium</i>	6,54±1,87	5,24±3,37	7,30±0,63	3,14±1,60	5,55±1,02
<i>Rhizopus</i>	1,69±0,84	1,39±1,39	2,22±1,11	4,90±3,06	2,55±0,88
<i>Rhizoctonia</i>	-	5,24±3,37	5,40±1,27	4,74±2,47	3,84±1,15
<i>Sclerotinia</i>	-	6,52±4,60	1,11±1,11	-	1,91±1,30
<i>Trichoderma</i>	30,7±3,91	17,1±3,34	15,7±1,20	13,0±1,88	19,1±2,38
Khác	4,59±2,06	5,24±3,37	9,14±4,25	6,49±0,94	6,36±1,36

Sàng lọc và tuyển chọn các chủng nấm có khả năng kí sinh tuyến trùng *Meloidogyne incognita* gây hại tiêu

Trong số các chủng nấm phân lập được, 16 chủng *Trichoderma*, 4 chủng *Metarrhizium* (M) và 1 chủng *Beauveria* (BEAU) đã được chọn để đánh giá khả năng kí sinh (KS) của chúng lên tuyến trùng *Meloidogyne incognita* gây hại vùng rễ tiêu nhằm tuyển chọn các chủng có khả năng kí sinh cao phục vụ việc nghiên cứu và ứng dụng trong phòng trừ sinh học tuyến trùng *Meloidogyne incognita*. Kết quả được thể hiện ở bảng 2.

Kết quả cho thấy, trong số 21 chủng nấm phân lập được và tuyển chọn, 66,7% chủng có khả năng kí sinh tuyến trùng (trong đó: 5 chủng kí sinh mạnh (chiếm 23,8%); 3 chủng kí sinh trung bình (14,3%) và 6 chủng kí sinh yếu (28,6%)).

Bốn chủng có khả năng kí sinh trứng *Meloidogyne incognita* cao nhất là C07, T7, DY16 và C22 đều cùng thuộc giống *Trichoderma*; trong đó, chủng C07 thể hiện khả năng kí sinh cao nhất (với tỷ lệ trứng tuyến trùng bị kí sinh đạt 92,5% ± 2,6) và khác biệt so với các chủng còn lại. Kiểu kí sinh của cả bốn chủng nấm *Trichoderma* này đối với tuyến trùng *Meloidogyne* đều là các sợi nấm bao lấy trứng tạo thành búi, làm tan hoàn toàn trứng. Chúng chủ yếu tập trung kí sinh mạnh ở các trứng còn non, các trứng đã hình thành ấu trùng (dạng IJ1 và IJ2) thì khả năng kí sinh yếu hơn hoặc hầu như không kí sinh.

Nấm *Trichoderma* được từ lâu đã được công nhận là nấm đối kháng nhiều loài nấm gây bệnh (Howell, 2003; Saldajeno và ctv, 2014), phân hủy cellulose (Meenu, 2014)... Trong nghiên cứu này, nấm *Trichoderma* spp. còn có khả năng kí sinh trứng tuyến trùng. Như vậy, ngoài đặc tính đối kháng, *Trichoderma* spp. còn có khả năng tiêu diệt tuyến trùng. Đây là kết quả hứa hẹn cho việc ứng dụng các chủng nấm này trong phòng trừ nấm bệnh, côn trùng và

tuyến trùng gây hại cây trồng. *Beauveria* cũng đã được nghiên cứu và ghi nhận là nấm kí sinh côn trùng (Güerri-Agulló, 2011) và tuyến trùng (Alvarez-Baz, 2015).

Bảng 2. Khả năng kí sinh trứng tuyến trùng *Meloidogyne inognita* của các chủng nấm

Chủng nấm	Tỷ lệ trứng tuyến trùng bị KS (%) (*)			Khả năng KS (**)	Kiểu KS (***)
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3		
ĐC	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	-	-
BEAU	55,0 ± 2,17 ^h	67,5 ± 2,60 ^{gh}	81,3 ± 2,60 ^f	+++	Ổ bào tử
C06	18,5 ± 2,67 ^{cd}	31,1 ± 2,57 ^d	41,5 ± 1,33 ^c	+	Tan
C07	45,4 ± 3,41 ^g	80,83 ± 2,54 ^j	92,5 ± 2,60 ^g	+++	Tan, tạo búi
C08	37,0 ± 2,89 ^f	48,67 ± 1,76 ^f	62,0 ± 3,46 ^d	++	Tan
C09	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	-	-
C10	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	-	-
C20	13,7 ± 2,89 ^{bc}	23,70 ± 0,98 ^c	22,2 ± 1,28 ^b	+	Tan
C22	56,7 ± 2,53 ^h	66,67 ± 1,10 ^g	85,0 ± 2,60 ^f	+++	Tạo búi, tan
C33	20,7 ± 1,61 ^d	31,85 ± 3,23 ^d	38,9 ± 2,80 ^c	+	Tan
C34	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	-	-
M1	18,0 ± 2,31 ^{cd}	29,0 ± 1,53 ^{cd}	40,0 ± 1,16 ^c	+	Tan
M2	57,5 ± 1,44 ^h	63,33 ± 4,10 ^g	71,3 ± 2,17 ^e	++	Ổ bào tử
M3	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	-	-
M4	8,52 ± 0,98 ^b	14,81 ± 0,98 ^b	21,9 ± 0,98 ^b	+	Tan
DY16	46,3 ± 2,60 ^g	74,17 ± 0,42 ⁱ	85,4 ± 1,10 ^f	+++	Tan, tạo búi
DY-19	27,4 ± 2,25 ^e	38,52 ± 3,03 ^e	63,0 ± 2,67 ^d	++	Tan
DY-59	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	-	-
T1	30,0 ± 4,02 ^e	32,50 ± 3,31 ^d	40,0 ± 1,44 ^c	+	Búi, tan
T7	32,9 ± 3,98 ^{ef}	72,50 ± 0,72 ^{hi}	86,3 ± 3,15 ^f	+++	Tan, tạo búi
YT-1	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	-	-
YT-2	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	-	-

(*) các chữ cái không giống nhau theo hàng dọc thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$

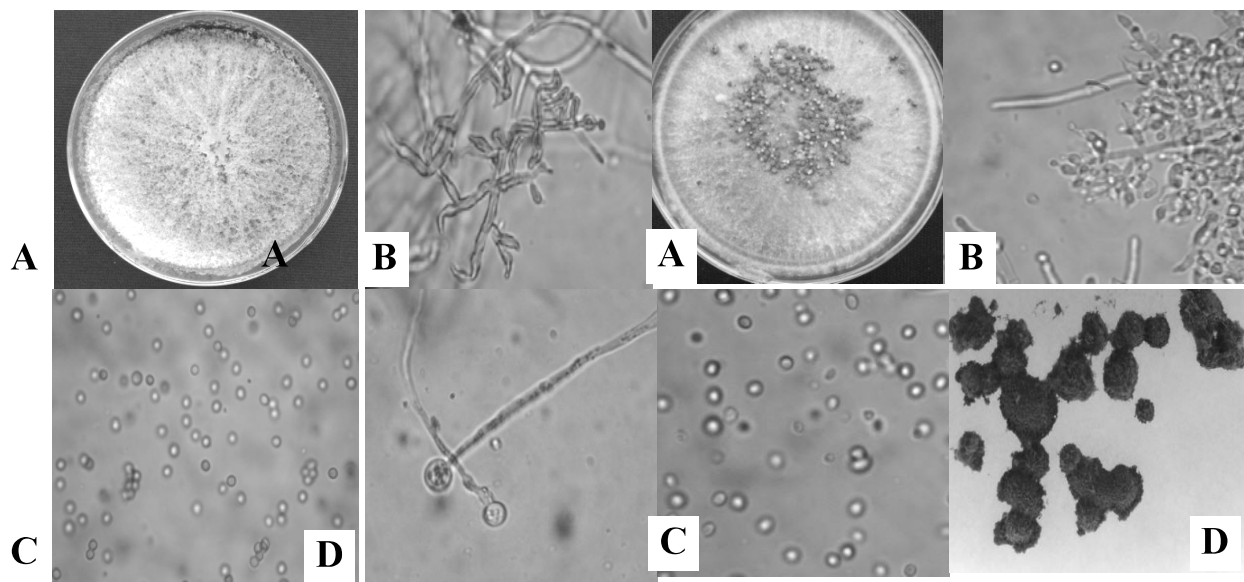
(**) Khả năng kí sinh: cao (+++), trung bình (++) , yếu (+) và không kí sinh (-).

(***) Hình thức kí sinh: Tan (Nấm phá hủy hoàn toàn trứng tuyến trùng); Tạo ổ bào tử (Nấm kí sinh trứng tạo thành ổ bào tử hình trứng); Tạo búi (Sợi nấm bao lấy trứng, tạo thành búi).

Đặc điểm hình thái và phân loại của các chủng nấm tuyển chọn

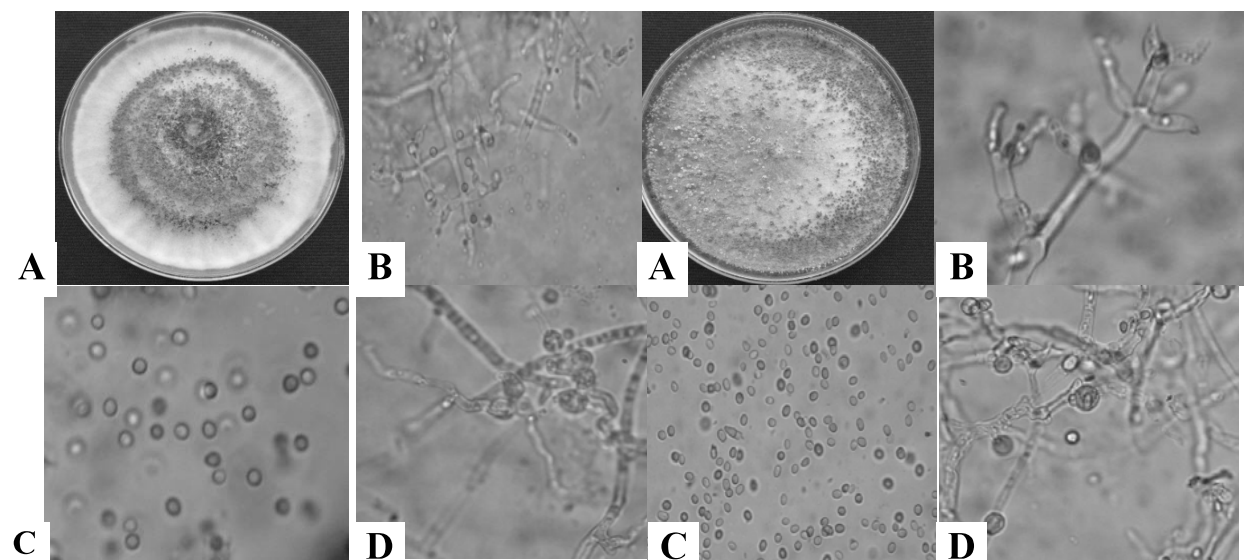
Qua các thí nghiệm thử tính ký sinh của các chủng nấm phân lập được, chúng tôi đã tuyển chọn được 4 chủng nấm có khả năng ký sinh cao trên trứng tuyến trùng *Meloidogyne incognita* gây hại cây hồ tiêu là các chủng C07, C22, DY16 và T7. Để có cơ sở định danh các chủng nấm này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đặc điểm hình thái và định danh tên 4 chủng

nấm. Chủng C07 được định danh là *Trichoderma koningii*, chủng C22 là *Trichoderma erinaceum*, chủng DY 16 là *Trichoderma hazianum* và chủng T7 là *Trichoderma astroviride*.



Hình 1. Đặc điểm hình thái chủng C07
Khuẩn lạc (A), cành sinh bào tử (B, x400), bào tử
đỉnh (C, x1000), bào tử hậu (D, x400).

Hình 2. Đặc điểm hình thái chủng C22
Khuẩn lạc (A), cành sinh bào tử (B, x400), bào
tử đỉnh (C, x1000), bào tử (D, x400).



Hình 3. Đặc điểm hình thái chủng DY16
Khuẩn lạc (A), cành sinh bào tử (B, x400), bào
tử đỉnh (C, x1000), bào tử hậu (D, x400).

Hình 4. Đặc điểm hình thái chủng T7
Khuẩn lạc (A), cành sinh bào tử (B, x400), bào
tử đỉnh (C, x1000), bào tử hậu (D, x400).

Khảo sát khả năng phòng trừ tuyến trùng *Meloidogyne incognita* gây hại cây tiêu trong điều kiện nhà lưới của các chủng nấm *Trichoderma* chọn lọc

Ảnh hưởng của các chế phẩm Trichoderma đến khả năng phòng trừ tuyến trùng Meloidogyne incognita gây hại tiêu

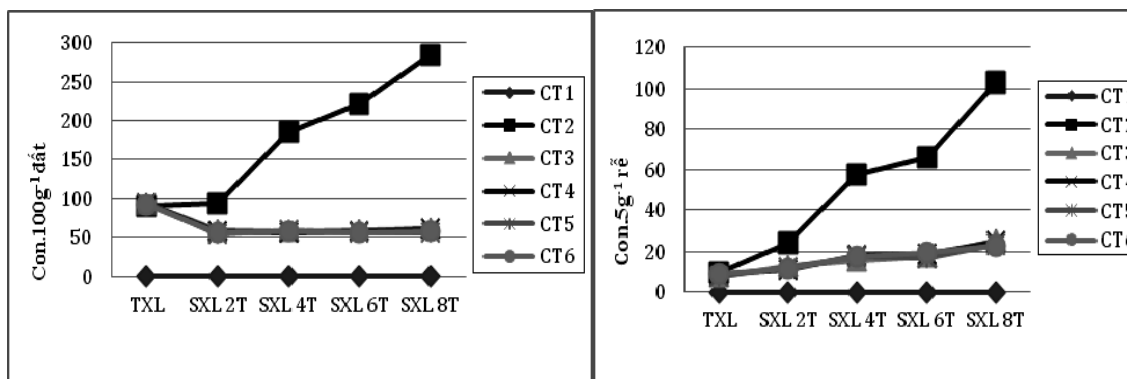
Bốn chủng có khả năng kí sinh trứng *Meloidogyne incognita* cao nhất là C07, C22, DY16 và T7 được tuyển chọn và nhân nuôi sinh khối để thử nghiệm đánh giá ảnh hưởng của chúng đến mật độ tuyến trùng *Meloidogyne incognita* và sinh trưởng của tiêu.

Kết quả theo dõi ảnh hưởng của các chủng nấm *Trichoderma* được tuyển chọn đến khả năng hạn chế tuyến trùng *Meloidogyne incognita* gây hại tiêu được ghi nhận ở bảng 3 và hình 5.

Bảng 3. Mật độ tuyến trùng trong đất và rễ tiêu và tỷ lệ u sưng trên bộ rễ tiêu ở các công thức thí nghiệm 8 tuần sau xử lý

CÔNG THỨC	CHŨNG	MĐ TT đất (con.100g ⁻¹ đất)	MĐ TT rễ (con.5g ⁻¹ rễ)	Tỷ lệ u rễ (%)
CT1	ĐC	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ^a
CT2	M.	284,0 ± 4,04 ^c	102,7 ± 3,48 ^c	25,7 ^c
CT3	C07	62,0 ± 1,16 ^b	25,00 ± 1,00 ^b	6,40 ^b
CT4	C22	61,0 ± 1,16 ^b	24,67 ± 0,88 ^b	6,20 ^b
CT5	DY16	57,0 ± 1,16 ^b	23,33 ± 1,76 ^b	5,90 ^b
CT6	T7	58,0 ± 1,53 ^b	23,00 ± 1,53 ^b	5,60 ^b

Ghi chú : ĐC: đối chứng; M.: *Meloidogyne incognita*; MĐ: mật độ; TT: tuyến trùng



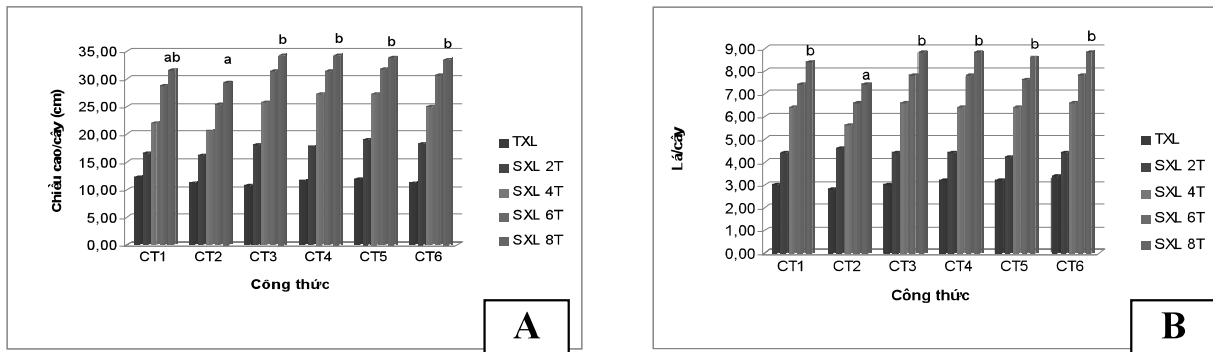
Hình 5. Diễn biến mật độ tuyến trùng trong đất và rễ tiêu

Kết quả cho thấy khi chủng nấm tuyến trùng *Meloidogyne incognita* lên cây tiêu, giữa công thức (CT) không xử lý nấm (CT2) và các công thức có xử lý nấm có sự khác biệt rõ ràng. Mật độ tuyến trùng trong đất và rễ tiêu tăng rất nhanh ở CT2 trong suốt thời gian thí nghiệm. Chỉ 8 tuần sau xử lý (SXL), mật độ tuyến trùng trong đất tăng gấp hơn 3 lần (từ 90 tăng lên 284 con.100 g⁻¹ đất) còn mật độ tuyến trùng trong rễ tăng 11 lần so với trước xử lý (từ 9,33 tăng lên 102,67 con.5 g⁻¹ rễ). Trong khi đó, ở các công thức có xử lý chế phẩm chứa các chủng *Trichoderma*, mật độ tuyến trùng trong đất giảm nhanh chỉ 2 tuần SXL, còn mật độ

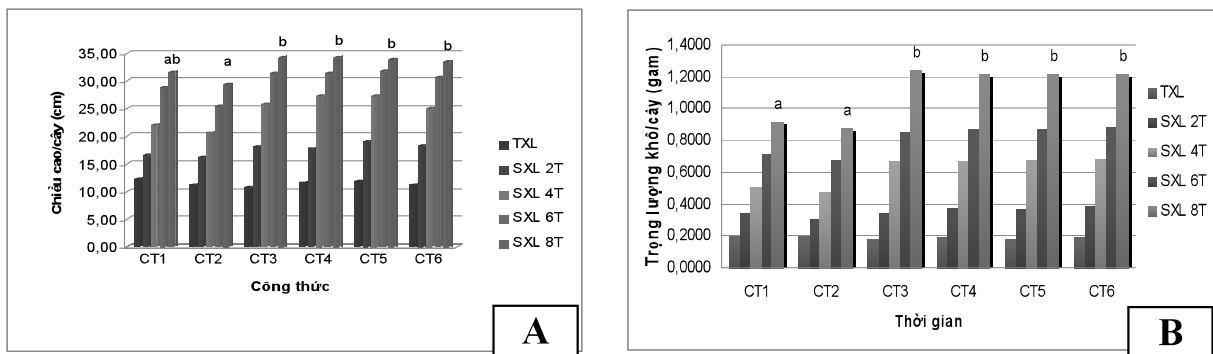
tuyến trùng trong rễ tuy có tăng hơn so với trước xử lý nhưng mức độ tăng chậm hơn rất nhiều so với CT2 (Hình 3). Do đó, tỷ lệ u sưng rễ giảm từ 4 – 4,5 lần (tùy chủng nấm) ở các công thức có xử lý chế phẩm so với CT2 (Bảng 3). Tuy nhiên, sự khác biệt về tỷ lệ u sưng rễ giữa các công thức có xử lý chế phẩm không có ý nghĩa thống kê.

Ảnh hưởng của các chủng Trichoderma đến sinh trưởng của cây tiêu con

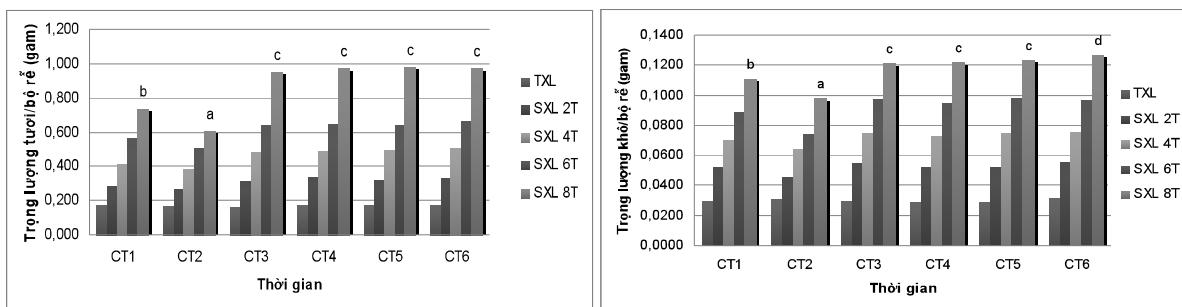
Song song với việc theo dõi ảnh hưởng của các chủng *Trichoderma* đến khả năng hạn chế tuyến trùng *Meloidogyne incognita*, chúng tôi còn theo dõi ảnh hưởng của chúng đến các chỉ tiêu sinh trưởng của cây. Kết quả được trình bày ở các hình 6, 7 và 8.



Hình 6. Diễn biến chiều cao cây (A) và số lá/cây (B) ở các công thức thí nghiệm



Hình 7. Diễn biến trọng lượng tươi/cây (A) và trọng lượng khô/cây (B)



Hình 8. Diễn biến chiều dài rễ (A) và trọng lượng tươi rễ (B)

Kết quả cho thấy chiều cao cây bắt đầu thể hiện sự khác biệt giữa các công thức xử lý từ tuần thứ 4 trở đi. Chiều cao cây ở các công thức có xử lý chế phẩm chứa bào tử các chủng nấm *Trichoderma* tăng nhẹ 1,21 đến 1,32 lần (tùy chủng) so với công thức đối chứng chỉ

chúng *Meloidogyne incognita* ở tuần thứ 4 SXL. Tuy nhiên, số lá/cây ở các công thức thí nghiệm chỉ thể hiện sự khác biệt từ tuần thứ 6 sau xử lý. Số lá mỗi cây tăng 1,15 đến 1,18 lần (tùy chủng) ở các công thức có xử lý chế phẩm chứa bào tử các chủng nấm *Trichoderma* so với đối chứng chỉ chủng tuyến trùng. Đồng thời, bộ lá cũng có sự khác nhau rõ rệt về màu sắc. Ở CT2 (chỉ chủng tuyến trùng), bộ lá có màu vàng sau 6 tuần xử lý; trong khi đó bộ lá cây tiêu con ở các công thức có xử lý chế phẩm *Trichoderma* CT3, CT4, CT5 và CT6 vẫn có màu xanh giống như tiêu ở công thức đối chứng CT1 không chủng tuyến trùng và chế phẩm nấm. Trọng lượng tươi và trọng lượng khô của cây ở các công thức có xử lý chế phẩm chứa các chủng nấm nghiên cứu tăng lần lượt khoảng 1,6 và 1,4 lần so với công thức chỉ chủng tuyến trùng *Meloidogyne incognita* ở thời điểm 8 tuần SXL (Hình 7).

Theo dõi khả năng phát triển của bộ rễ cây tiêu, chúng tôi nhận thấy có sự khác biệt rõ về chiều dài và trọng lượng bộ rễ giữa các công thức đối chứng (CT1 và CT2) với công thức xử lý bắt đầu từ tuần thứ 6 SXL. Chiều dài rễ ở các công thức CT3, CT4, CT5 và CT6, tăng 1,15 đến 1,20 lần so với công thức chỉ chủng tuyến trùng (CT2) và tăng 1,08 đến 1,13 lần so với công thức không chủng tuyến trùng và xử lý nấm (CT2) ở tuần thứ 8 SXL; trong đó tăng nhiều nhất ở 2 công thức xử lý chủng DY16 và T7. Ngoài ra, rễ của CT2 còn xuất hiện nhiều u sưng, có màu thâm đen và ít rễ tơ. Trọng lượng tươi của bộ rễ ở các công thức CT3, CT4, CT5 và CT6 tăng từ 1,59 – 1,63 lần so với CT2 và tăng 1,30 – 1,33 lần so với CT1. Sự phát triển của bộ rễ tiêu về cả chiều dài và trọng lượng giúp chúng tăng khả năng hút chất dinh dưỡng và nước cung cấp cho quá trình sinh trưởng và phát triển của cây tiêu.

Như vậy, các chủng nấm *Trichoderma* spp. tuyển chọn không chỉ có tác dụng hạn chế khả năng gây hại rễ của tuyến trùng *Meloidogyne incognita* trong điều kiện nhà lưới mà còn thúc đẩy sự sinh trưởng của cây tiêu.

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Kết luận

Bốn chủng nấm C07, C22, DY16 và T07 phân lập được từ vùng rễ và đất tiêu bị bệnh vàng lá chết chậm tại Đắk Nông có khả năng kí sinh cao và ức chế tuyến trùng *Meloidogyne incognita* gây hại cây tiêu con trong điều kiện nhà lưới. Hơn nữa, chúng còn giúp cây hồ tiêu sinh trưởng tốt hơn.

Đề nghị

Nghiên cứu sâu về sinh học phân tử và công nghệ vi sinh vật nhằm sử dụng các dòng nấm *Trichoderma* có hiệu quả ngoài đồng ruộng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Đào Thị Lan Hoa, Phan Quốc Sùng, Trần Thị Kim Loang, Tôn Nữ Tuấn Nam, Nguyễn Xuân Hoà và Tạ Thanh Nam, 2003. "Nghiên cứu bệnh vàng lá chết chậm trên cây tiêu tại Tây Nguyên và biện pháp phòng trừ". *Kỷ yếu hội thảo khoa học bảo vệ thực vật phục vụ cho chủ trương chuyển đổi cơ cấu cây trồng ở các tỉnh phía Nam và Tây Nguyên*, ngày 26-27/6/2003 tại Vũng Tàu.

Hiệp hội hồ tiêu Việt Nam, 2003. [Http://peppervietnam.com/AboutUs.aspx?subid=839](http://peppervietnam.com/AboutUs.aspx?subid=839).

Alvarez-Baz G., Fernández-Bravo M., Pajares J. and Quesada-Moraga E., 2015. Potential of native *Beauveria pseudobassiana* strain for biological control of pine wood nematode vector *Monochamus galloprovincialis*. *Journal of invertebrate pathology*. 132: 48-56.

- Barnett H.L. and Barry B.H., 1987. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*, 4th edition. Macmillan Publishing Company.
- Domsch K. H. and Gams W., 1970 – 1972. *Fungi in agricultural soils*.
- Gary J. S., 2004. *Trichoderma: a guide to identification and biology*.
- Güerri-Agulló B., López-Follana R., Asensio L., Barranco, P. and Lopez-Llorca L. V., 2011. Use of a solid formulation of *Beauveria bassiana* for biocontrol of the red palm weevil (*Rhynchophorus ferrugineus*) (Coleoptera: Dryophthoridae) under field conditions in SE Spain. *Florida Entomologist*. 94(4): 737-747.
- Howell C.R., 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Diseases*, 87: 4–10.
- Koshy P. K., Santhosh J., Eapen S. J. and Pandey R., 2005. Nematode parasites of spices, condiments and medicinal plant. In: *Plant parasitic nematode in subtropical and tropical agriculture* (Luc, M., Sikora, R.A. and Bridge, J., eds). CAB International, Wallingford, UK: 751-792.
- Meenu K., Singh G. and Vishwakarma R. A., 2014. Chapter 22 – Molecular Mechanism of Cellulase Production Systems in *Trichoderma*. In Gupta, Vijai K., *et al.*, Editors, *Biotechnology and Biology of Trichoderma*, Elsevier, Amsterdam, pp. 477-493.
- Nguyen V.N., 2009. *The role of Fungal Chitinases in Biological control of Plant root-knot nematode Meloidogyne incognita on Cucumber*. Doctor of Philosophy Dissertation, Graduate School Chonnam National University.
- Saldajeno M. G. B., Naznin H. A., Elsharkawy M. M., Shimizu M. and Hyakumachi M., 2014. Chapter 35 - Enhanced Resistance of Plants to Disease Using *Trichoderma* spp.. in Gupta, Vijai K., *et al.*, Editors. *Biotechnology and Biology of Trichoderma*. Elsevier, Amsterdam, pp. 477-493.
- Trinh T.T.T., 2010. *Incidence and effect of meloidogyne incognita (Nematode: Meloidogyninae) on black pepper in Vietnam*. Doctoral thesis, Catholic University of Leuven.