

4.2. Đề nghị

Tiếp tục đánh giá các giống dưa chuột có tính kháng cao thông qua lấy nhiễm nhân tạo để chọn ra các giống kháng bệnh phục vụ sản xuất và lai tạo giống dưa chuột.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả chân thành cảm ơn TS. Lê Xuân Vị (Viện Bảo vệ thực vật), TS. Trần Thị Thu Hoài (Trung tâm Tài nguyên thực vật) đã tham gia hỗ trợ để triển khai các thí nghiệm trong nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Trần Danh Sửu, Hồ Thị Minh, Trần Thị Thu Hoài, Hà Minh Loan, Lê Xuân Vị, Mai Văn Quân, 2017. Tình hình nhiễm bệnh của tập đoàn dưa chuột tại An Khánh, Hoài Đức, Hà Nội. *Tạp chí Khoa học Công*

nghe Nông nghiệp Việt Nam, số 8 (81): 20-26.

Viện Bảo vệ thực vật, 2003. *Kết quả điều tra bệnh cây 1967 - 1968*. NXB Nông thôn.

Elmahdy Ibrahim Metwally and Mohamed Tawfik Rakha, 2015. Evaluation of Selected Cucumis sativus Accessions for Resistance to Pseudoperonospora cubensis in Egypt. *Czech J. Genet. Plant Breed.*, 51, 2015 (2): 68-74.

Jenkins, S.F., Jr., and T.C. Wehner. 1983. A system for measurement of foliar disease in cucumbers. *Cucurbit Genet. Coop. Rpt.* 6:10-12.

Ronald J. Howard, J. Allan Garland, W. Lloyd Seaman, 1994. *Diseases and pests of vegetable crops in Canada: an illustrated compendium*. Co-published by Entomological Society of Canada. M.O.M. Printing Ltd., Ottawa.

Evaluation of Powdery mildew and Papaya ring spot virus on cucumber collection

Tran Danh Suu, Ho Thi Minh

Abstract

The Powdery mildew and Papaya ring spot virus diseases on 50 cucumber accessions were evaluated at An Khanh, Hoai Duc, Hanoi. Among 50 studied cucumber accessions, 14 acc. were very highly resistant, 23 were high resistant, 02 susceptible, 09 medium susceptible and 02 very highly susceptible to Powdery mildew. For Papaya ring spot virus disease there were 01 medium resistant acc., 22 susceptible, 24 highly susceptible and 3 medium susceptible accessions.

Keywords: Cucumber, evaluation, Powdery mildew, Papaya ring spot virus

Ngày nhận bài: 6/1/2018

Ngày phản biện: 12/1/2018

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Nhung

Ngày duyệt đăng: 12/2/2018

KHẢO SÁT KHẢ NĂNG KHÁNG BỆNH BẠC LÁ VÀ RẦY NÂU CỦA TẬP ĐOÀN LÚA ĐỊA PHƯƠNG VIỆT NAM TẠO NGUỒN VẬT LIỆU KHỞI ĐẦU

Nguyễn Thị Minh Nguyệt¹, Nguyễn Bá Ngọc¹, Nguyễn Thị Nhài¹, Chu Đức Hà¹, Nguyễn Thị Thúy Bình¹, Bùi Thị Hoi¹, Lê Hùng Linh¹

TÓM TẮT

Bệnh bạc lá do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* gây ra và rầy nâu (*Nilaparvata lugens*) là hai loại gây hại nguy hiểm và được xác định có thể gây thiệt hại rất lớn đến năng suất lúa hàng năm, đặc biệt là ở Việt Nam. Trong nghiên cứu này, tập đoàn gồm 50 giống lúa Việt Nam đã được lựa chọn để đánh giá khả năng kháng/ nhiễm bệnh bạc lá và rầy nâu. Kết quả cho thấy, phần lớn các giống lúa không có khả năng kháng bệnh bạc lá. Nanh chôn, Một bụi đỏ, Lúa Sét cách và Chết xanh được xác định là các giống thể hiện tính kháng vừa đến kháng cao với 10/10 chủng vi khuẩn bạc lá đưa vào đánh giá. Trong khi đó, đối với tính kháng rầy nâu, duy nhất có giống lúa Phka Nhây biểu hiện khả năng kháng cao (điểm 1), các giống lúa còn lại đều không có khả năng kháng rầy (điểm đánh giá từ 5 trở lên).

Từ khóa: Lúa, địa phương, đánh giá, rầy nâu, bạc lá

¹ Viện Di truyền Nông nghiệp, VAAS

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngành sản xuất lúa gạo của Việt Nam đang đứng trước thách thức rất lớn từ ảnh hưởng của tình trạng biến đổi khí hậu. Điều kiện ngoại cảnh bất lợi, đặc biệt là sự phát triển không kiểm soát của sâu bệnh hại, đã tác động rất lớn đến sinh trưởng và phát triển của cây lúa, làm sụt giảm năng suất và chất lượng gạo. Đây rõ ràng là một thách thức mà ngành sản xuất lúa gạo đang phải đối diện.

Trong số dịch bệnh gây hại trên lúa hiện nay, bạc lá (do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae*) và rầy nâu (*Nilaparvata lugens*) được xem là hai mối hiểm họa thường xuyên tác động trên đồng ruộng (Hu *et al.*, 2016; Mundt *et al.*, 1999). Bệnh bạc lá thường tấn công bộ lá và lá đòng vào giai đoạn trở nên có thể làm năng suất lúa sụt giảm rất mạnh, từ 25 ÷ 50 %, thậm chí mất trắng (Mundt *et al.*, 1999), trong khi rầy nâu được biết đến như là vector trung gian mang virus gây bệnh cũng ảnh hưởng và gây ra thiệt hại không nhỏ đến sản xuất lúa gạo (Bentur *et al.*, 1982).

Trong nghiên cứu này, tập đoàn 50 giống lúa địa phương Việt Nam đã được sử dụng để đánh giá mức độ kháng bệnh bạc lá và rầy nâu thực tế bằng những cách tiếp cận khác nhau. Kết quả của nguyên cứu này nhằm tuyển chọn và đề xuất một số giống lúa địa phương có tính kháng bệnh tốt làm nguồn vật liệu khởi đầu cho công tác chọn tạo giống.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- 50 giống lúa địa phương tại Việt Nam được cung cấp từ Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm, Viện Khoa học kỹ thuật Nông nghiệp Duyên hải Nam Trung bộ, Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long (Bảng 1).

- 10 chủng vi khuẩn bạc lá có độc tính cao và ổn định, đặc trưng cho miền Bắc và miền Trung của Việt Nam, được thu thập, phân lập và lưu trữ tại Viện Di truyền Nông nghiệp.

Bảng 1. Danh sách 50 giống lúa địa phương Việt Nam sử dụng trong nghiên cứu

Chết xanh	Lúa Nao	Neang ke	Một bụi đỏ lùn	Tép Trảng
Sét cách	Tiêu Mỡ	Lúa ngoi	Naha Pleos	On Kuok
Một bụi đỏ	Trắng tròn	On Konh	Nàng co	Pẹ Ngùng
Nanh chồn	Ba ren	Sray So	Nàng hương Thanh trà	Phka Nhây
Trắng tép chùm	Nàng keo	Lùn Cẩn Lụa	Nàng tiết	Pông a Lốc
Sa lăng	Koi tấp	Lùn trắng Kiên Giang	Ngọc nữ	Samor
Đốc trắng	Ka Tom KroHom	Mao chao	Nhỏ Hương	Sô ma ly
Khẩu mu lai	Ka Tom Sral	Mashuri Đốc	Nhỏ thước	Tàu Phước
Khẩu mu meeng	Kom Bo	Mok	Bê Léc Séc	Lúa Neang ke
Khẩu mu moong	Kro Hom Thrgonh	Móng chim lùn	Lúa On Konh	Trắng cụt

- Quần thể rầy nâu có độc tính cao và ổn định, đặc trưng cho khu vực miền Bắc của Việt Nam được nhân nuôi tại Viện Di truyền Nông nghiệp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Chuẩn bị vật liệu đánh giá: Để chuẩn bị vật liệu để đánh giá tính kháng/nhiễm bạc lá, mạ 3 - 4 lá gieo trong khay mạ bùn (kích thước 20 × 25 × 15 cm) được cấy trên ruộng. Các cây lúa 40 - 45 ngày tuổi ở trạng thái tốt và đồng đều được lựa chọn để lấy nhiễm bạc lá. Để chuẩn bị vật liệu để đánh giá tính kháng/nhiễm rầy nâu, hạt được gieo trên khay nhỏ theo tiêu chuẩn. Mạ 10 - 15 ngày tuổi (2 - 3 lá) ở trạng thái tốt và đồng đều được lựa chọn để đưa vào lồng thí nghiệm để đánh giá tính kháng rầy nâu.

- Phương pháp đánh giá khả năng kháng bệnh bạc lá: Thao tác chuẩn bị dịch khuẩn bạc lá được

tiến hành theo các bước đã mô tả gần đây (Fred *et al.*, 2016). Cụ thể, chủng khuẩn được hoạt hóa và nhân nhanh trong môi trường PSA (10 g/L peptone, 10 g/L sucrose và 1,0 g/L Na-glutamate) ở điều kiện 28°C, sau đó pha loãng nồng độ vi khuẩn đạt 10⁸ - 10⁹ CFU. Thao tác lây nhiễm khuẩn trên lá lúa được thực hiện và đánh giá theo thang đánh giá bệnh tiêu chuẩn của IRRI (2002) (Bảng 2).

Bảng 2. Thang điểm đánh giá khả năng kháng bạc lá (IRRI, 2002)

Chiều dài vết bệnh (cm)	Mô tả
0-5	Kháng (R)
> 5-10	Kháng vừa (MR)
> 10-15	Nhiễm vừa (MS)
> 15 cm	Nhiễm (S)

- Phương pháp đánh giá khả năng kháng rầy nâu: Rầy tuổi 1 - 2 được thả vào lồng thí nghiệm với mật độ 4 - 5 con/cây mạ. Thời điểm đánh giá được tiến hành khi 100% giống nhiễm chuẩn chết (khoảng 10 - 15 ngày sau khi thả rầy). Thang điểm đánh giá khả năng kháng/nhiễm rầy nâu được thực hiện dựa vào

triệu chứng bệnh theo tiêu chuẩn của IRRI (2002) (Bảng 3).

- Phương pháp phân tích số liệu: Số liệu được phân tích bằng thuật toán định dạng theo điều kiện (conditional formatting) trong công cụ Microsoft Excel. Kết quả được mô hình hóa bằng công cụ Adobe Illustrator (định dạng .eps).

Bảng 3. Thang điểm đánh giá khả năng kháng rầy nâu (IRRI, 2002)

Điểm	Triệu chứng trên lá	Mức độ kháng
0	Không có thiệt hại, cây mạ khỏe	Kháng (R)
1	Thiệt hại rất nhẹ, cây mạ khỏe	Kháng (R)
3	Lá thứ nhất và lá thứ hai của hầu hết các cây có một phần vàng	Kháng vừa (MR)
5	Màu vàng trên lá lan rộng hoặc 10 - 25 % cây héo hoặc chết, các cây còn lại còi cọc	Nhiễm vừa (MS)
7	Hơn một nửa số cây bị chết	Nhiễm (S)
9	Toàn bộ cây bị chết	Nhiễm nặng (HS)

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

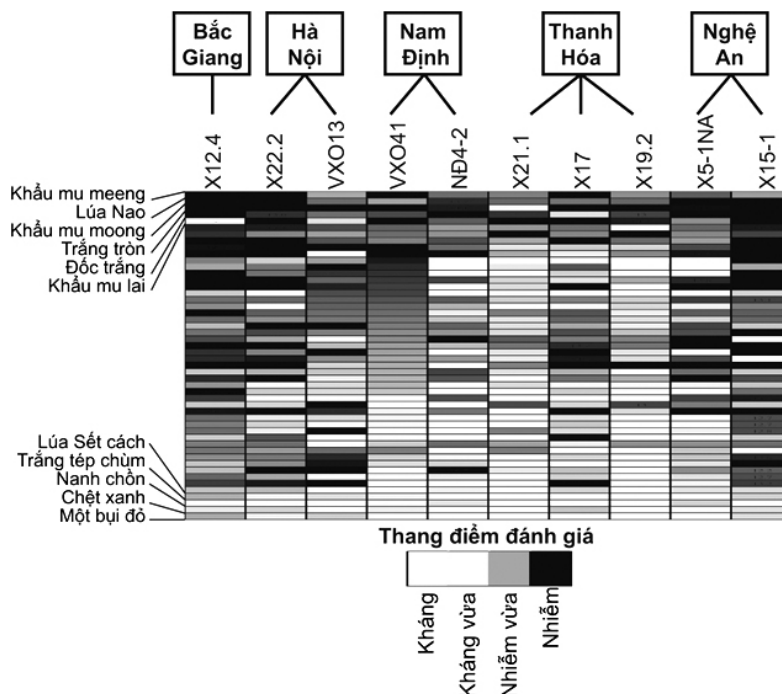
Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 10/2016 đến 6/2017 tại Bộ môn Sinh học phân tử, Viện Di truyền Nông nghiệp.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả đánh giá khả năng kháng bệnh bạc lá của tập đoàn lúa địa phương Việt Nam

Đầu tiên, 10 chủng vi khuẩn bạc lá đã được lựa

chọn từ bộ chủng khuẩn lưu giữ tại Viện Di truyền Nông nghiệp để lây nhiễm trong điều kiện nhân tạo với 50 giống lúa địa phương. Trong số đó, chủng X12.4 thu thập tại Bắc Giang, X22.2 và VXO13 được lấy tại Hà Nội, trong khi Nam Định có 2 chủng là VXO41 và NĐ4-2. Bên cạnh đó, 3 chủng vi khuẩn bạc lá đã được phát hiện tại Thanh Hóa, được đặt tên là X21.1, X17 và X19.2 trong khi X5-1NA và X15-1 được tìm thấy ở Nghệ An. Kết quả lây nhiễm trong điều kiện nhân tạo được minh họa ở hình 1.



Hình 1. Kết quả lây nhiễm bệnh bạc lá trong điều kiện nhân tạo với 50 giống lúa địa phương Việt Nam

Kết quả đánh giá cho thấy đa số các giống lúa nghiên cứu biểu hiện tính kháng với chủng X21.1 và X19.2 (Thanh Hóa), kháng vừa với NĐ4-2 (Nam Định). Cụ thể, 10 giống lúa nhiễm vừa (chiều dài vết bệnh khoảng 10 ÷ 15 cm) và 3 giống lúa nhiễm bệnh bạc lá do X19.2 (chiều dài vết bệnh > 15 cm), trong khi có 14 giống có dấu hiệu nhiễm vừa bạc lá do X21.1 (chiều dài vết bệnh > 10 cm). Ngược lại, chủng 12.4 (Bắc Giang) và X15.1 (Nghệ An) được xác định có độc tính cao nhất. Căn cứ vào chiều dài vết bệnh, chủng 12.4 có thể gây nhiễm vừa đến nhiễm nặng với 38 giống lúa (chiếm tỷ lệ 76%) trong khi chủng X15.1 có thể gây bệnh cho 36 giống lúa (chiếm tỷ lệ 72%). Có thể thấy rằng, hầu hết các giống lúa địa phương trong nghiên cứu này đều không có tính kháng hoàn toàn với 10 chủng vi khuẩn bạc lá thu thập tại các địa phương. Đặc biệt, 8 giống lúa đã được xác định bị nhiễm nặng với tất cả các chủng bạc lá thu thập trong nghiên cứu này (Hình 1).

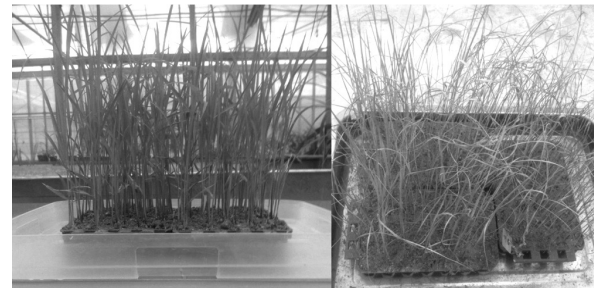
Trong số các giống lúa địa phương đưa vào đánh giá có 5 giống được xác định thể hiện tính kháng vừa đến kháng với bệnh bạc lá. Giống Nanh chồn có thể kháng với 6 chủng bạc lá, kháng vừa với X12.4, (Bắc Giang), X5.1NA (Nghệ An) và 2 chủng của Nam Định. Bốn giống còn lại, Lúa Sét cách, Trắng tép chùm, Chệt xanh, Một bụi đỏ cũng thể hiện tính kháng vừa với các chủng vi khuẩn có độc tính cao và kháng với X21.1 và X19.2 phân lập tại Thanh Hóa. Gần đây, 2 giống lúa chiêm và một số giống lúa nếp địa phương cũng đã được xác định có biểu hiện kháng với bạc lá (Lê Thị Thu Trang và *ctv.*, 2016). Những kết quả này cũng tái khẳng định rằng, không nhiều giống lúa địa phương của Việt Nam có khả năng kháng rộng với các chủng vi khuẩn bạc lá, cần thiết phải có những nghiên cứu sâu hơn trên các giống nhập nội cũng như rà soát thêm toàn bộ các giống lúa địa phương Việt Nam hiện nay.

3.2. Kết quả đánh giá khả năng kháng rầy nâu của tập đoàn lúa địa phương Việt Nam

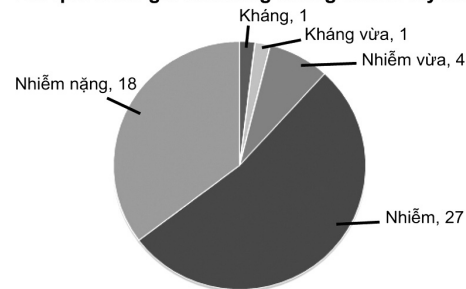
Thí nghiệm đánh giá tính kháng rầy của tập đoàn lúa địa phương được tiến hành bằng cách thả rầy tuổi 2 lây nhiễm nhân tạo vào mạ 15 ngày trong lồng. Thang đánh giá được xác định theo triệu chứng biểu hiện trên cây. Kết quả được minh họa ở hình 2.

Kết quả cho thấy đa số các giống lúa địa phương không có khả năng kháng với quần thể rầy nâu ở miền Bắc. Phka Nhây là giống duy nhất có khả

năng kháng tốt nhất với rầy nâu, cây mạ khỏe sau khi xử lý. Bên cạnh đó, giống OM8019 cũng thể hiện tính kháng vừa với rầy nâu, trong khi 4 giống lúa khác, lần lượt là Nàng tiết, Mashuri Đốc, Lúa Sray So, Đốc trắng chỉ nhiễm nhẹ với rầy nâu. Các giống còn lại hoàn toàn nhiễm và nhiễm nặng với rầy nâu (Hình 2).



Kết quả đánh giá khả năng kháng nhiễm rầy nâu



Hình 2. Kết quả đánh giá tính kháng nhiễm rầy nâu của bộ lúa địa phương Việt Nam

Gần đây, Nguyễn Huy Chung và cộng tác viên (2016) đã đánh giá 92 dòng/ giống lúa nhập nội từ IRRI cho thấy có 18 dòng/ giống kháng cao (điểm 0 - 3), 42 dòng/ giống kháng trung bình (điểm 5) với nguồn rầy nâu thu thập trên địa bàn Hà Nội. Những kết quả này cho thấy cần phối hợp giữa tập đoàn giống lúa địa phương và các dòng/ giống lúa nhập nội để sàng lọc nhằm xác định nguồn vật liệu tốt cho công tác chọn tạo giống.

Như vậy, kết quả đánh giá 50 giống lúa địa phương cho thấy khả năng biểu hiện tính kháng/ nhiễm bạc lá và rầy nâu khá đa dạng. Trong số đó, nổi bật có 5 giống, lần lượt là Phka Nhây, Nanh chồn, Một bụi đỏ, Lúa Sét cách và Chệt xanh được đánh giá có khả năng thể hiện tính kháng vừa đến kháng cao với 2 bệnh trên. Tuy nhiên, có thể thấy rõ ràng rằng các giống lúa địa phương vẫn khá mẫn cảm với rầy nâu. Như vậy, cần tiếp tục đánh giá và sàng lọc tính kháng của các giống lúa này với bệnh khác để đề xuất các giống lúa có khả năng kháng phổ rộng cũng như khả năng kháng đa tác nhân gây bệnh.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

- Đa số các giống lúa đưa vào đánh giá không có khả năng kháng được bệnh bạc lá. Bốn giống lúa là Nanh chồn, Một bụi đỏ, Lúa Sét cách và Chết xanh được xác định là các giống thể hiện tính kháng vừa đến kháng cao với 10/10 chủng vi khuẩn đưa vào đánh giá.

- Trong số 50 giống lúa địa phương đưa vào đánh giá, duy nhất có giống lúa Phka Nhây biểu hiện khả năng kháng tốt (điểm 1) với rầy nâu, các giống lúa còn lại đều không có khả năng kháng rầy (điểm đánh giá từ 5 trở lên).

4.2. Đề nghị

Cần tiếp tục nghiên cứu lập bản đồ các gen kháng mới trong nguồn giống lúa địa phương Việt Nam nhằm tìm kiếm gen kháng mới có hiệu quả cho sản xuất lúa gạo tại Việt Nam.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện với sự tài trợ từ đề tài “Tách chiết ADN và đánh giá nhân tạo khả năng chống chịu sâu bệnh hại và điều kiện bất thuận của tập đoàn công tác (bao gồm các dòng/giống lúa địa phương và nhập nội từ IRRI) phục vụ chọn tạo giống lúa chất lượng cao, chống chịu các điều kiện bất lợi” thuộc nhiệm vụ hợp tác với IRRI (NC TXTCN số 132).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Huy Chung, Phan Thị Bích Thu, Nguyễn Tiến Hưng, Nguyễn Xuân Lương, 2016. Kết quả đánh giá khả năng chống chịu rầy nâu của các dòng giống lúa nhập nội từ IRRI. *Hội thảo quốc gia về khoa học cây trồng lần thứ 2*: 924-928.
- Lê Thị Thu Trang, Đàm Thị Thu Hà, Lã Tuấn Nghĩa, 2016. Nghiên cứu khả năng kháng bệnh bạc lá của một số giống lúa địa phương ở miền Bắc Việt Nam. *Hội thảo quốc gia về khoa học cây trồng lần thứ 2*: 929-934.
- Bentur, J. S., Sain, M., Kalode, M. B., 1982. Studies on egg and nymphal parasites of rice planthoppers, *Nilaparvata lugetts* (stål) and *Sogatella furcifera* (Horvath). *Proc Ani Sci*, 91(2): 165-176.
- Fred, A. K., Kiswara, G., Yi, G., Kim, K. M., 2016. Screening rice cultivars for resistance to bacterial leaf blight. *J Microbiol Biotechnol*, 26(5): 938-945.
- Hu, J., Xiao, C., He, Y., 2016. Recent progress on the genetics and molecular breeding of brown planthopper resistance in rice. *Rice*, 9(1): 30.
- IRRI, 2002. Standard evaluation system for rice. *International Rice Research Institute*, 260 pages.
- Mundt, C. C., Ahmed, H. U., Finckh, M. R., Nieva, L. P., Alfonso, R. F., 1999. Primary disease gradients of bacterial blight of rice. *Phytopathol*, 89(1): 64-67.

Screening of Vietnamese local rice collection for resistance to bacterial blight and brown planthopper

Nguyen Thi Minh Nguyet, Nguyen Ba Ngoc, Nguyen Thi Nhai, Chu Duc Ha, Nguyen Thi Thuy Binh, Bui Thi Hoi, Le Hung Linh

Abstract

Bacterial blight caused by *Xanthomonas oryzae* and brown planthopper (*Nilaparvata lugens*) are known as two risky damages that are considered to cause critically damage to annual rice productivity, especially in Vietnam situation. In this study, a collection of 50 Vietnamese local rice accessions were used for evaluation of their resistance to bacterial blight and brown planthopper. As a result, a majority of local rice varieties has shown to be susceptible with bacterial blight. Among them, four rice accessions, ‘Nanh chon’, ‘Mot bụi đỏ’, ‘Lúa Set cach’ and ‘Chet xanh’ were identified to be medium and high resistant to all 10/10 bacterial blight isolates from the North Vietnam. For the resistance to brown planthopper, only ‘Phka Nhay’ exhibited the high resistant (scored 1 point), whereas all of the remaining rice accessions showed the susceptible to brown planthopper (scored > 5 point).

Keywords: Rice, local, evaluation, brown planthopper, bacterial blight

Ngày nhận bài: 25/11/2017

Ngày phản biện: 4/12/2017

Người phản biện: TS. Trần Danh Sừn

Ngày duyệt đăng: 11/12/2017

XÁC ĐỊNH NẤM *ARCOPILUS AUREUS* VÀ *CHAETOMIUM GLOBOSUM* BẰNG GIẢI TRÌNH TỰ VÙNG GEN β -TUBULIN

Nguyễn Đức Thành¹, Nguyễn Thế Quyết¹,
Hà Viết Cường² và Phạm Xuân Hội¹

TÓM TẮT

Các loài nấm *Chaetomium* được nghiên cứu sử dụng như một tác nhân sinh học phòng trừ tác nhân gây bệnh cây. Nghiên cứu này được tiến hành nhằm xác định nấm *Chaetomium* từ các mẫu đất thu thập, mẫu đất được thu thập từ đất trồng cây sấu riêng tại tỉnh Tiền Giang và Vĩnh Long trong năm 2017. Các loài nấm *Chaetomium* được phân lập bằng kỹ thuật bẫy đất với các mảnh giấy lọc và được định danh tên loài bằng kỹ thuật truyền thống, sinh học phân tử. Kết quả cho thấy quả thể nấm xuất hiện trên môi trường PDA sau khoảng 20 ngày nuôi cấy, hình cầu méo, màu vàng nhạt, màu xám. Phản ứng PCR đã nhận được đoạn gen β -tubulin của nấm với kích thước khoảng 700 bp. Phân tích phả hệ đã xác định được loài *Arcopilus aureus* thuộc chi *Arcopilus* và loài *Chaetomium globosum* thuộc chi *Chaetomium*. Trong đó, nấm *Ar. aureus* là loài lần đầu tiên được ghi nhận từ đất trồng trọt ở Việt Nam.

Từ khóa: *Arcopilus*, *Chaetomium*, sấu riêng, đất, gen β -tubulin

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đồng bằng sông Cửu Long là vựa trái cây của cả nước, trong đó, cây sấu riêng (*Durio zibethinus* Murr.) là một trong những loại trái cây mang lại hiệu quả kinh tế cao, được trồng quy mô lớn ở các tỉnh Tiền Giang, Vĩnh Long,... Tuy nhiên, ngành sản xuất cây sấu riêng đang gặp nhiều trở ngại, một trong những nguyên nhân là do dịch bệnh hại cây trồng gây ra, ảnh hưởng của xâm nhập mặn ngày càng diễn biến phức tạp. Hiện nay, việc nghiên cứu sử dụng vi sinh vật như một tác nhân sinh học trong sản xuất sấu riêng là điều cần thiết, giúp phục vụ canh tác theo hướng bền vững, an toàn.

Nấm thuộc chi *Chaetomium*, họ *Chaetomiaceae* là một trong những loại nấm túi hoại sinh lớn nhất với trên 400 loài đã được mô tả (von Arx *et al.*, 1986; Wang *et al.*, 2016a). Các loài nấm *Chaetomium* được nghiên cứu sử dụng như một tác nhân sinh học phòng trừ tác nhân gây bệnh cây. Vì trình tự phần đầu 5' của gen β -tubulin (tub2) đã được chứng tỏ hiệu quả hơn trình tự gen ITS (vùng liên gen) nhằm phân biệt các nấm *Chaetomium* ở mức loài (Wang *et al.*, 2016b) nên trong nghiên cứu này, cặp mồi T1/T2 (O'Donnell and Cigelnik, 1997) đã được sử dụng để nhân đoạn khoảng 700 bp đầu 5' của gen β -tubulin.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nấm đối kháng phân lập từ đất trồng cây sấu riêng. Môi trường WA (water agar), môi trường PDA (potato dextrose agar). Hóa chất dùng trong kỹ thuật PCR (polymerase chain reaction) có nguồn gốc từ Wako (Nhật Bản), Macrogen (Hàn Quốc).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thu mẫu, phân lập nấm

a) Phương pháp thu mẫu

Tổng số có 10 mẫu đất trồng cây sấu riêng được thu thập ở độ sâu tầng đất 15 - 20 cm, với lượng 500 g đất/mẫu được đựng trong hộp nhựa có nắp, dán nhãn ghi thông tin mẫu.

b) Phương pháp phân lập nấm

Các mẫu đất được phơi khô và nghiền nhỏ, sau đó đất nghiền được cho vào đĩa petri loại đường kính 90 mm với lượng khoảng 2/3 đĩa. Đất được làm ẩm bằng nước cất vô trùng. Các mảnh giấy lọc vô trùng, kích thước khoảng 1 x 1 cm được đặt trên bề mặt đất trong đĩa petri. Khi quả thể xuất hiện thì chuyển lên môi trường WA có bổ sung ampicillin (100 mg/l), sau đó tiếp tục cấy truyền lên môi trường PDA.

2.2.2. Phương pháp xác định danh tính nấm bằng kỹ thuật truyền thống

Nấm thuộc chi *Chaetomium* được phân loại dựa vào đặc điểm hình thái theo khóa phân loại của von Arx và cộng tác viên (1986), Soyton và Quimio (1989).

2.2.3. Phương pháp xác định danh tính nấm bằng PCR và giải trình tự

a) Tách chiết DNA tổng số

DNA tổng số của nấm được chiết bằng phương pháp CTAB (cetyltrimethyl ammonium bromide) theo tài liệu mô tả của Doyle & Doyle (1987). DNA tổng số được hòa trong 50 μ l đệm TE và bảo quản ở -20°C cho đến khi sử dụng.

¹ Viện Di truyền Nông nghiệp; ² Học viện Nông nghiệp Việt Nam