

Study on the antagonistic ability of isolated pathogenic bacteria from black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) against *Xanthomonas axonopodis*

Le Ngoc Giao, Nguyen Thi Cam Giang,
Dang Quoc Chuong, Phan Ha, Tran Thi My Hanh

Abstract

Xanthomonas axonopodis is the main causative agent of citrus ulcers. Currently, research and application of probiotics in the control and prevention of harmful bacteria are increasingly being interested in the strategy of sustainable agricultural development. In this study, 38 bacterial strains were isolated from black soldier fly larvae, of which RLD13 and RLD23 were evaluated for strong antagonistic ability against *Xanthomonas axonopodis*. Based on morphological characteristics and 16S rRNA sequences, the RLD13 strain was identified as *Bacillus velezensis* and the RLD23 strain was *Pseudomonas aeruginosa*. With this characteristic, the strain *Bacillus velezensis* RLD13 has the potential to be applied to the production of probiotics against the ulcer-causing bacteria *Xanthomonas axonopodis* for citrus.

Keywords: Antimicrobial, *Bacillus velezensis*, Citrus Canker, *Pseudomonas aeruginosa*, *Xanthomonas axonopodis*

Ngày nhận bài: 05/4/2024

Người phản biện: GS.TS. Nguyễn Văn Tuất

Ngày phản biện: 22/5/2024

Ngày duyệt đăng: 27/8/2024

ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA VI KHUẨN *Ralstonia solanacearum* GÂY BỆNH HÉO XANH TRÊN CÂY CÀ CHUA VÀ KHOAI TÂY TẠI LÂM ĐỒNG

Võ Thị Ngọc Hà¹, Lê Khắc Hoàng¹, Huỳnh Thanh Hùng¹

TÓM TẮT

Kiểm soát bệnh héo xanh trên cây họ Cà đang ngày càng khó khăn bởi sự thích nghi và thay đổi liên tục của tác nhân gây bệnh với biến đổi khí hậu, các giống cây trồng và các thuốc bảo vệ thực vật. Trong nghiên cứu này, mẫu bệnh héo xanh trên cây cà chua và khoai tây đã được thu thập tại các địa điểm khác nhau thuộc tỉnh Lâm Đồng. Tác nhân gây bệnh được phân lập trên môi trường TZCA và kiểm chứng trên cây ký chủ tương ứng theo quy tắc Koch. Vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* sau đó được xác định Biovar, được định danh bằng trình tự vùng gen 16S-rRNA và được đánh giá sự đa dạng di truyền bằng chỉ thị ISSR. Tổng cộng 32 chủng vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* đã được phân lập đều thuộc Biovar 3 và chia thành 4 nhóm hình thái theo đặc điểm khuẩn lạc trên môi trường TZCA. Trình tự vùng gen 16S-rRNA của 10 chủng *R. solanacearum* đại diện cho từng nhóm hình thái tương đồng với các trình tự của vi khuẩn *R. solanacearum* có sẵn trên Genbank từ 94,56% đến 98,64% với độ bao phủ đạt trên 97%. Chỉ thị phân tử ISSR chỉ ra rằng các chủng vi khuẩn phân lập được có độ đa dạng di truyền cao với hệ số tương đồng di truyền biến động từ 0,43 đến 0,92.

Từ khóa: *Ralstonia solanacearum*, héo xanh vi khuẩn, đa dạng di truyền, cây cà chua, cây khoai tây

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* là tác nhân gây bệnh héo xanh và lây nhiễm trên 200 loài thực vật thuộc 50 họ (Caldwell *et al.*, 2017), gây thiệt hại khá nghiêm trọng đến năng suất, có khi lên

đến 95% thậm chí là mất trắng cho các vùng canh tác nông nghiệp, đặc biệt là những cây họ Cà. Mặc dù nhiều tiến bộ kỹ thuật được áp dụng vào sản xuất, song bệnh héo xanh vi khuẩn vẫn luôn hiện diện, gây hại và là mối lo ngại đối với người sản

¹ Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

* Tác giả liên hệ, email: ha.vothingoc@hcmuaf.edu.vn

xuất. Các cây trồng chủ lực trong họ cà gồm cà chua, khoai tây và ớt với diện tích lần lượt khoảng 4.917.735 ha, 17.788.408 ha và 2.020.816 ha. Các loại cây trồng này thường xuyên bị ảnh hưởng bởi *R. solanacearum* (FAOSTAT, 2022).

Một trong những biện pháp có tính khả quan và ổn định là sử dụng giống kháng bệnh. Tuy nhiên, sự kháng bệnh của các giống kháng không ổn định do sự đa dạng di truyền của vi khuẩn gây bệnh và các yếu tố môi trường (Jaunet & Wang, 1999) và tính đặc hiệu của vi khuẩn theo vùng sinh thái (Truong *et al.*, 2008; Wang & Truong, 2013) gây khó khăn cho việc chọn tạo giống kháng bệnh.

Phương pháp sinh học phân tử sử dụng các chỉ thị như SSR, RAPD, AFLP trong đánh giá đa dạng di truyền được sử dụng ở hầu hết cây trồng cũng như các loài sinh vật, đem lại giá trị trong chọn tạo giống, bảo tồn và tái tạo nguồn gen (Wu *et al.*, 2011; Đinh Thị Phòng và *cs.*, 2014). Trong các loại chỉ thị thì chỉ thị ISSR đang được ứng dụng rộng rãi và có hiệu quả trong việc đánh giá đa dạng di truyền ở cả mức độ quần thể và loài (Nguyễn Đức Thành, 2015; Trần Thị Liễu và *cs.*, 2015; Đinh Thị Phong *et al.*, 2015; Tran Thi Lieu *et al.*, 2018). Chỉ thị ISSR thể hiện được ưu thế so với các chỉ thị khác như SSR, RAPD khi cho sản phẩm PCR ổn định do đoạn mỗi dài hơn và tỷ lệ phần trăm băng đa hình cao hơn (Blair *et al.*, 1999).

Lâm Đồng là tỉnh có diện tích canh tác cây cà chua và khoai tây lớn nhất khu vực phía Nam. Dưới diễn biến phức tạp của biến đổi khí hậu làm cho bệnh héo xanh trên các cây họ Cà trên địa bàn các tỉnh miền Đông Nam Bộ và Tây Nguyên, đặc biệt là tỉnh Lâm Đồng lây lan và khó kiểm soát, việc nghiên cứu mối liên hệ giữa đặc điểm hình thái, khả năng gây bệnh và đặc điểm di truyền bằng chỉ thị sinh học phân tử vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* là cần thiết. Trong nghiên cứu này, vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* được phân lập từ các khu vực trồng cây cà chua và khoai tây tại các xã thuộc các huyện của tỉnh Lâm Đồng, phân loại hình thái khuẩn lạc trên môi trường TZCA, định danh bằng trình tự vùng gen 16S-rDNA và đa dạng di truyền bằng 8 mỗi của chỉ thị phân tử ISSR.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các mẫu bệnh héo xanh trên cây cà chua và

khoai tây được thu thập tại một số địa điểm thuộc tỉnh Lâm Đồng.

Các môi trường sử dụng gồm TZCA (thành phần cho 1 lít: Peptone 10 g, casein hydrolysate 1 g, glucose 5 g, TZC: 0,05 g, agar 20 g, nước cất 1.000 mL); LB (thành phần cho 1 lít: peptone 10 g, cao nấm men 5 g, NaCl 10 g, agar 20 g, nước cất 1.000 mL); môi trường cơ sở (thành phần cho 1 lít gồm: $\text{NH}_4\text{H}_2\text{SO}_4$ 1 g, KCl 0,2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 g, Methyl red 0,08 g, nước cất 1.000 mL); 3 loại đường gồm cellobiose, lactose, maltose và 3 loại rượu gồm dulcitol, mannitol, sorbitol.

Bộ kit QIAamp DNA Micro kit, cặp mỗi cặp mỗi 27F (5'- AGAGTTTGATCCTGGCTCAG -3'); 1492R (5'- ACGGCTACCTTGTTACGACTT-3'); 8 mỗi ISSR và các hóa chất dùng cho phản ứng PCR gồm DreamTaq Red PCR MasterMix (Thermo Scientific Inc., Hoa Kỳ) và nước tinh khiết.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập vi khuẩn gây bệnh héo xanh trên cây cà chua và khoai tây tại Lâm Đồng

Thu thập và bảo quản mẫu bệnh theo phương pháp quản lý mẫu bệnh thực vật của Shivas và Beasley (2005). Thu thập các mẫu bệnh từ các ruộng có triệu chứng điển hình do vi khuẩn *R. solanacearum* gây ra trên cây cà chua, khoai tây như: các lá ngọn héo xanh rũ xuống, vỏ thân sạt gốc sần sùi, cắt ngang phần thân thấy bó mạch hóa nâu, rễ có màu nâu đen. Thu mẫu tại các vườn cà chua hoặc khoai tây có diện tích tối thiểu 1.000 m², thu mẫu bệnh theo các đường chéo góc, trên mỗi đường chéo góc thu 5 điểm. Dùng túi giấy và thùng xốp với đá khô để vận chuyển mẫu về phòng thí nghiệm và xử lý trong vòng 72 giờ.

Rửa sạch dưới vòi nước các đoạn mẫu bệnh 10 - 15 cm rồi khử trùng bằng cồn 70° và nước cất vô trùng, sau đó cắt nhỏ thành các đoạn 1 cm và đặt vào ống tuýp 5 mL chứa nước cất vô trùng để ở nhiệt độ phòng trong 10 phút để thu dịch vi khuẩn thô.

Cấy trang 100 µL dịch khuẩn thô ở trên các đĩa Petri chứa môi trường đặc hiệu TZCA và ủ ở nhiệt độ 28°C trong 48 giờ. Khi xuất hiện các khuẩn lạc riêng biệt trên đĩa, dùng que cấy để lấy các khuẩn lạc có đặc tính nhầy, màu trắng ngà, rìa mép nhẵn, ở giữa có màu phớt hồng và cấy theo đường zigzag

sang môi trường LB. Tiếp tục cấy chuyển trên môi trường LB đến khi vi khuẩn thuần (khoảng 5 - 7 lần). Tên vi khuẩn được đặt tên với chữ cái đầu là viết tắt tên cây ký chủ, phần sau là viết tắt nơi thu mẫu và cuối cùng là thứ tự mẫu vi khuẩn phân lập được. Các mẫu vi khuẩn thuần được cấy trên ống thạch nghiêng và bảo quản ở 4°C, đồng thời lưu trữ trong glycerol 50% ở -20°C và sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo. Kiểm chứng tác nhân gây bệnh héo xanh trên cà chua theo quy tắc Koch. Hạt cà chua giống F1 PN-209 của cơ sở giống Phú Nông được rửa bằng cồn 70° trong 30 giây. Ủ hạt trên giấy thấm vô trùng được làm ẩm đặt trong đĩa Petri, giữ ở nhiệt độ phòng 27 - 30°C. Các dòng vi khuẩn có đặc trưng trên môi trường TZCA đã được làm thuần và nuôi cấy trong môi trường LB lỏng sau 2 ngày và ly tâm 6.000 vòng/phút trong 15 phút, dịch vi khuẩn được pha loãng về nồng độ 10⁸ CFU/mL để sử dụng. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi dòng vi khuẩn là một nghiệm thức và một nghiệm thức đối chứng, mỗi nghiệm thức 5 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại của 1 nghiệm thức là 5 cây. Lây nhiễm theo phương pháp của Singh và cộng sự (2018) có cải tiến. Hạt nảy mầm khoảng 0,5 - 2 mm được ngâm vào dịch vi khuẩn đã chuẩn bị trong 30 phút, sau đó vớt hạt ra và làm khô nhanh trên giấy thấm vô trùng rồi cấy vào đĩa Petri chứa sẵn môi trường WA (5 hạt trên một đĩa Petri), đặt trong tối ở nhiệt độ phòng và ghi nhận triệu chứng bệnh sau 7 ngày.

Kiểm chứng tác nhân gây bệnh héo xanh trên khoai tây theo quy tắc Koch. Lây nhiễm theo phương pháp của Singh và cộng sự (2018) có cải tiến như sau: củ khoai tây giống Jelly của cơ sở giống nông sản Dũng Hà rửa sạch, khử trùng bề mặt bằng cồn 70° và ngâm trong dung dịch GA3 0,1% trong 1 giờ, củ giống sau đó được vớt ra để ráo và trồng vào các chậu kích thước 12,5 × 16 × 17 cm chứa đất sạch Tribat đã được hấp khử trùng, 1 củ/chậu. Khi khoai tây có 3 - 4 lá thật, dùng dung dịch vi khuẩn 10⁸ CFU/mL đã chuẩn bị ở trên để tưới lên khoai tây, 100 mL/chậu, mỗi chậu vi khuẩn tưới 3 chậu. Theo dõi sự hình thành triệu chứng bệnh và ghi nhận sau 21 ngày.

2.2.2. Phân loại vi khuẩn gây bệnh héo xanh trên cây cà chua và khoai tây bằng đặc điểm sinh hóa và trình tự vùng gen 16S-rRNA

Đặc điểm sinh hóa của các mẫu vi khuẩn được

xác định theo phương pháp mô tả của Schaad và cộng sự (2001) gồm phản ứng nhuộm gram, kéo sợi với KOH, enzyme catalase, nuôi cấy trong môi trường yếm khí và môi trường chứa Twin 80, phản ứng thủy phân tinh bột. Khả năng sử dụng và chuyển hóa cacbon trong môi trường nuôi cấy của vi khuẩn *R. solanacearum* được xác định theo phương pháp của French và cộng sự (1995) sử dụng môi trường cơ sở (thành phần/1L gồm: NH₄H₂SO₄ 1 g, KCl 0,2 g, MgSO₄·7H₂O 1 g, Methyl red 0,08 g, nước cất 1.000 mL), 3 loại đường gồm cellobiose, lactose, maltose và 3 loại rượu gồm dulcitol, mannitol, sorbitol. Theo dõi 3 - 5 ngày đối với môi trường rượu, 5 - 14 ngày đối với môi trường đường, nếu môi trường dịch chuyển từ màu đỏ của dung dịch ban đầu sang màu vàng thì xác định là có khả năng chuyển hóa cacbon, không chuyển màu là không có khả năng.

Các dòng vi khuẩn *R. solanacearum* được nuôi trên môi trường dinh dưỡng LB lỏng trong 48 giờ ở 28°C và chiết xuất DNA bằng bộ kit QIAamp DNA Micro. Sau đó thực hiện phản ứng PCR khuếch đại với cặp mồi 27F (5'- AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'); 1492R (5'- ACGGCTACCTTGTTACGACTT-3') với chu trình nhiệt: (1) Tiền biến tính ở 96 °C, 4 phút, (2) 30 chu kỳ gồm: biến tính ở 94 °C, 30 giây; bắt cặp 57°C, 30 giây; kéo dài 72 °C, 60 giây, (3) hậu kéo dài 72 °C, 7 phút trong Bộ 'iCycler' Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories Inc., Hoa Kỳ). Mỗi phản ứng có thể tích 25 µL, gồm 2 µL DNA tổng số (1 ng/µL), 12,5 µL 2x DreamTaq Red PCR MasterMix (Thermo Scientific Inc., Hoa Kỳ), 6,5 µL nước tinh khiết và 2 µL của mỗi mồi (10 µM/µL) (Apical Scientific, Malaysia). Sản phẩm PCR sau đó được gửi đi giải trình tự tại công ty TNHH GenLab.

Tất cả các trình tự được phân tích bằng phần mềm Bioedit, và kiểm tra mức độ tương đồng của các dòng vi khuẩn này với các chủng đã được công bố trên cơ sở dữ liệu GenBank bằng công cụ BLAST (<http://blast.st-va.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Tiếp theo điều chỉnh thủ công sử dụng thông qua chương trình căn chỉnh ClustalW. Các trình tự đã được phân tích được dùng để xây dựng cây phát sinh loài với hệ số bootstrap 1.000 theo phương pháp khoảng cách sử dụng phép nối lân cận (Neighbor-Joining) trong phần mềm MEGA 11 (Kumar *et al.*, 2021).

2.2.3. Đánh giá sự đa dạng di truyền vi khuẩn *R. solanacearum* bằng chỉ thị phân tử ISSR

Các dòng vi khuẩn *R. solanacearum* được nuôi trên môi trường dinh dưỡng LB lỏng trong 48 giờ ở 28°C và chiết xuất DNA bằng bộ kit QIAamp DNA Micro. Sau đó thực hiện phản ứng PCR với từng mỗi ISSR (Bảng 1) với chu trình nhiệt: (1) Tiền biến tính ở 95°C, 5 phút; (2) 30 chu kỳ gồm: biến tính ở 95°C, 30 giây; bắt cặp 50°C - 57°C (Phụ thuộc mỗi, bảng 1), 1 phút; kéo dài 72°C, 45 giây; (3) hậu kéo dài 72°C, 10 phút trong Bộ 'iCycler' Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories Inc., Hoa Kỳ). Mỗi phản ứng có thể tích 25 µL, gồm 2 µL DNA tổng số (1 ng/µL), 10 µL 2x DreamTaq Red PCR MasterMix (Thermo Scientific Inc., Hoa Kỳ), 11 µL nước tinh khiết và 2 µL mỗi (0,2 µM) (Apical Scientific, Malaysia). Kích thước khuếch đại mục tiêu của các primer dao động trong khoảng 100 - 2.500 bp, sản phẩm PCR sau đó được điện di trên gel agarose 1,5% dung dịch đệm TAE 1X, hiệu điện thế 90 V, cường độ dòng điện 400 mA, trong 30 - 40 phút.

Bảng 1. Danh sách các môi ISSR và nhiệt độ bắt cặp được sử dụng

Primer (Mỗi)	Trình tự (5' - 3')	Tài liệu tham khảo	Nhiệt độ bắt cặp
AF80820	(AG) ₈ T	Ratanacherdchai và cộng sự (2010)	50°C
AF80821	(AG) ₈ C		52,4°C
AF80822	(GA) ₈ T		50°C
AF80825	(GA) ₈ YG		53,8°C
UBC841	(GA) ₈ Y	Mahmodi và cộng sự (2014)	57,3°C
UBC810	(AG) ₈ T		50°C
UBC808	(AG) ₈ C		52,4°C
UBC834	(GA) ₈ (CT)C		51,6°C

Ghi chú: Y = C và T.

Số liệu ISSR được ghi nhận sử dụng UVIDod (phiên bản 99.02) bằng cách so sánh với thang chuẩn 1kb (Thermo Scientific, Hoa Kỳ). Các đoạn DNA được khuếch đại ổn định được ghi là 1 khi có mặt và 0 nếu không có dải DNA và được ghi nhận cho từng chủng vi khuẩn nhằm tạo ma trận dữ liệu để phân tích mối quan hệ di truyền. Mối quan hệ di truyền được thể hiện bằng việc phân nhóm dựa trên ma trận hệ số tương đồng và phân

tích sơ đồ hình nhánh theo phương pháp phân nhóm UPGMA bằng phần mềm NTSYSpc 2.1 (Rohlf, 2000).

2.3 Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 08/2022 đến tháng 02/2024 tại Phòng thí nghiệm Bệnh cây, Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Phân lập vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh trên cây cà chua và khoai tây tại tỉnh Lâm Đồng

Các mẫu bệnh được thu thập tại các xã Hiệp An (HA), Ka Đơn (KAD), Quảng Lập (QL), Xuân Thọ (XT), Lạc Dương (LD) và Ka Đô (KD). Các mẫu bệnh đã được sử dụng để phân lập tác nhân gây bệnh trên môi trường chọn lọc TZCA và làm thuần trên môi trường LB, kết quả thu được 32 dòng vi khuẩn. Tên của các dòng vi khuẩn được ký hiệu bắt đầu bằng tên cây ký chủ và theo sau là tên địa điểm thu mẫu và số thứ tự các mẫu được phân lập từ địa điểm đó, ví dụ CXT1 trong đó C là chua, XT là Xuân Thọ, 1 là mẫu bệnh số 1 được thu tại địa điểm này. 32 dòng vi khuẩn này được chia thành 4 nhóm với đặc trưng hình thái khuẩn lạc khác nhau. Nhóm 1 gồm 8 dòng vi khuẩn CHA1, CHA3, KKAD5, KKAD6, KQL2, KQL4, KQL1, CXT1 với khuẩn lạc hình tròn, nhầy, màu trắng ngà, rìa mép nhẵn trắng, ở giữa có màu hồng đậm và mặt lõm (Hình 1a). Nhóm 2 gồm 8 dòng vi khuẩn CHA2, CHA6, KKAD1, KKAD5, KQL5, CXT2, CXT3, CXT5 có khuẩn lạc hình tròn, nhầy, viền trắng bên ngoài đậm, ở giữa có màu hồng nhạt và mặt lõm (Hình 1b). Nhóm 3 có khuẩn lạc hình tròn nhầy, rìa mép trắng mỏng và ở giữa có màu hồng nhạt (Hình 1c) gồm 5 dòng vi khuẩn là KKAD2, KKAD3, KKAD4, KKAD6 và KKAD7. Nhóm 4 gồm 11 dòng vi khuẩn gồm CHA4, CHA5, KKAD4, KKAD1, KKAD2, KKAD3, KQL3, CXT4, CXT6, CXT7 và CXT8 với đặc trưng khuẩn lạc hình dạng tròn nhầy, màu trắng ngà, rìa mép nhẵn, ở giữa có màu hồng nhạt, mặt lõm (Hình 1d). Các đặc điểm hình thái khuẩn lạc này đều đặc trưng cho vi khuẩn *R. solanacearum* theo mô tả của Kelman (1954).



Hình 1. Đặc điểm các dòng khuẩn lạc trên môi trường TZCA

Ghi chú: a) Nhóm 1; b) Nhóm 2; c) Nhóm 3; d) Nhóm 4.

Tất cả 32 dòng vi khuẩn này đều là vi khuẩn gram âm có tế bào hình que, kích thước 0,5 - 1,5 μm , và phản ứng với KOH 3% tạo dung dịch kéo sợi, hiếu khí, âm tính với thử nghiệm enzyme catalase, không thủy phân tinh bột. Những đặc điểm sinh hóa này giống với mô tả của Schaad và cộng sự (2001) về loài vi khuẩn *R. solanacearum*. Ngoài ra, trong nghiên cứu này sử dụng nguồn cacbon

là 03 loại đường cellobiose, lactose, maltose và 03 loại rượu là dulcitol, mannitol, sorbitol để xác định Biovar của vi khuẩn. Kết quả cho thấy, cả 32 dòng vi khuẩn *R. solanacearum* đều có phản ứng chuyển hóa cacbon với môi trường có 03 loại đường và 03 loại rượu này, theo khóa phân loại của Hayward (1994) tất cả vi khuẩn thuộc Biovar 3.



Hình 2. Triệu chứng gây hại của các chủng vi khuẩn phân lập được trên cây cà chua (CHA2 và CHA6) và khoai tây (KKAD4)

Tất cả 32 dòng vi khuẩn được lây nhiễm trên ký chủ tương ứng (cây cà chua hoặc cây khoai tây) trong điều kiện phòng thí nghiệm để đánh giá khả năng gây bệnh của các dòng vi khuẩn. Kết quả cho thấy, 32 dòng vi khuẩn đều có khả năng gây bệnh, triệu chứng trên cà chua là cây bị thối lá mầm, thân mầm không phát triển và thối, rễ dần dần hóa nâu (Hình 2 mẫu CHA2 và CHA6) giống mô tả của Singh và cộng sự (2018) khi lây nhiễm vi khuẩn *R. solanacearum* lên hạt cà chua. Còn trên cây khoai tây có lá héo rũ, vỏ thân xuất hiện nốt sần sùi, cắt ngang thân cây thấy bó mạch trong cây hóa nâu (Hình 2 mẫu KKAD4). Đây là các triệu chứng điển hình của bệnh héo xanh trên cây họ cà do vi khuẩn *R. solanacearum* gây ra, từ các cây bị nhiễm bệnh tác nhân gây bệnh được tái phân lập lại trên môi trường TZCA, kết quả thu được dòng vi khuẩn có các đặc điểm hình thái và có các phản ứng sinh

hóa đặc trưng của vi khuẩn *R. Solanacearum* tương tự vi khuẩn lây nhiễm ban đầu. Điều này cho phép khẳng định các vi khuẩn phân lập được là tác nhân gây bệnh héo xanh trên cây cà chua và khoai tây.

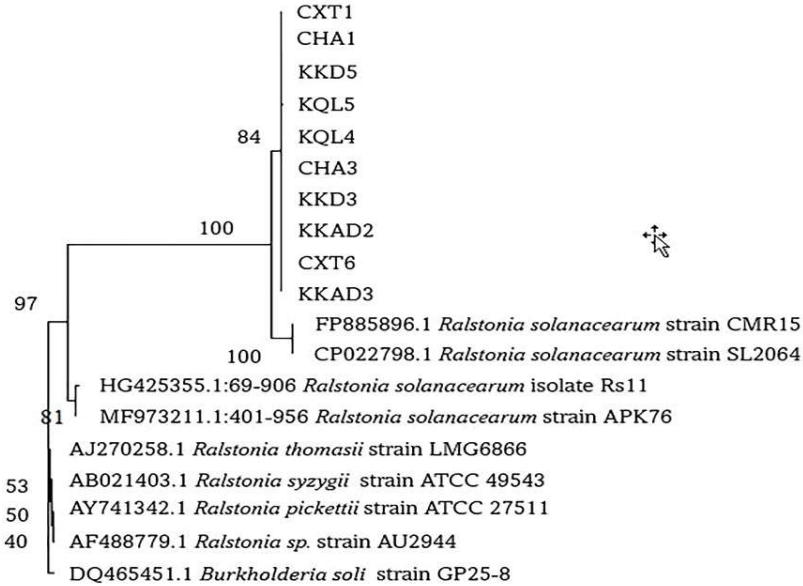
3.2. Định danh vi khuẩn gây bệnh héo xanh bằng trình tự vùng gen 16S-rRNA

10 chủng vi khuẩn đã được định danh bằng các phản ứng sinh hóa gồm CHA1, CHA3, CXT1 và KQL4 đại diện cho nhóm hình thái khuẩn lạc số 1; KQL5, KKD5 đại diện nhóm 2; KKAD2, KKAD3 đại diện nhóm 3 và KKD3, CXT6 đại diện nhóm 4 được lựa chọn để thực hiện định danh dựa trên trình tự vùng gen 16S-rRNA.

Vùng gen 16S-rRNA của các chủng vi khuẩn đã được khuếch đại thành công với cặp mồi 27F và 1492R, sản phẩm PCR có kích thước trong khoảng 1.400 bp đến 1.500 bp. So sánh trình tự vùng gen

16S-rRNA của các chủng vi khuẩn được nghiên cứu với các trình tự có sẵn trên ngân hàng gen bằng công cụ BLAST cho thấy 10 chủng vi khuẩn có mức độ tương đồng từ 94,56 - 98,64% với vi khuẩn *R. solanacearum* chủng APK76 (MF973211.1), chủng Rs11 (HG425355.1), chủng SL2064

(CP022798.1) và chủng CMR15 (FB885896.1) với độ bao phủ trên 97%. Trong đó các chủng APK76 được chứng minh là gây bệnh héo rũ trên cây lạc, Rs11 và SL2064 trên cây khoai tây và CMR15 trên cây cà chua (Remenant *et al.*, 2010).



Hình 3. Cây phát sinh loài vùng gen 16S-rRNA của các chủng vi khuẩn *R. solanacearum*. Các giá trị bootstrap thể hiện dưới dạng phần trăm

Vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* chủng APK76 (MF973211.1), chủng Rs11 (HG425355.1), chủng SL2064 (CP022798.1), chủng CMR15 (FB885896.1) được sử dụng để dựng cây phát sinh loài. Các vi khuẩn *Ralstonia thomasi* chủng LMG6866 (AJ270258.1), *Ralstonia syzygii* chủng ATCC49543 (AB021403.1), *Ralstonia pickettii* chủng ATCC 27511 (AY741342.1), *Ralstonia sp.* chủng AU2944 (AF1) và *Burkholderia soli* chủng GP25-8 (DQ465451.1) được xem như nhóm ngoài để dựng cây phát sinh loài (Hình 3). Cây phát sinh loài này có tỷ lệ bootstrap cao nhất là 100% và thấp nhất là 40%, trong đó ở các nhánh tương đồng giữa các chủng vi khuẩn được nghiên cứu và với các chủng *Ralstonia solanacearum* trên ngân hàng gen là 84 và 100%, cho phép khẳng định các vi khuẩn được nghiên cứu là *Ralstonia solanacearum*.

3.3. Đa dạng di truyền của vi khuẩn *R. solanacearum* bằng chỉ thị phân tử ISSR

Khảo sát nhiệt độ bắt cặp của 8 primer ISSR ở các khoảng nhiệt độ 50 - 54°C nhận thấy, phổ diện diện di sản phẩm PCR cho kết quả băng đa hình

sáng, rõ và ổn định ở các mức nhiệt độ bắt cặp của primer ISSR AF80820, AF80822 và UBC810 là 50°C, của AF80821 và UBC808 là 52,5°C, của AF80825 là 54°C, của UBC841 là 51°C và UBC834 51,5°C.

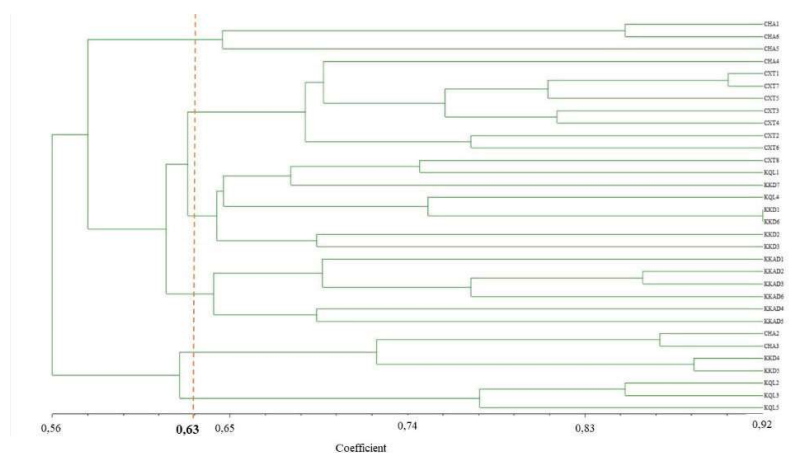
Tất cả 8 primer ISSR sử dụng trong nghiên cứu đều cho sản phẩm PCR khá tốt, số lượng băng nhiều, đồng thời các băng xuất hiện rõ nét, tỷ lệ băng đa hình cao. Tổng số sản phẩm khuếch đại của 8 primer là 97 băng DNA, đạt trung bình 12,12 băng/primer, trong đó có 90 băng đa hình (chiếm 92,9%), kích thước băng từ 100 - 2.500 bp. Trong 8 primer ISSR có 3 primer có tỷ lệ băng đa hình 100% là primer AF80821, AF8022 và UBC808. Primer UBC841 cho nhiều băng nhất (14 băng) với 12 băng đa hình, chiếm tỷ lệ 85,7%. Primer khuếch đại số băng thấp nhất là UBC810 và UBC834 (11 băng) và có tỷ lệ băng đa hình là 90,9% với 10 băng. Primer AF80825 cho khuếch đại 13 băng nhưng chỉ có 11 băng đa hình, là primer có tỷ lệ băng đa hình thấp nhất (84,6%) (Bảng 2).

Bảng 2. Số băng khuếch đại của 8 primer ISSR

Primer	Tổng số băng	Số băng đa hình	Tỷ lệ băng đa hình (%)	Kích thước băng (bp)
AF80820	12	11	91,70	200 - 2.500
AF80821	12	12	100,00	100 - 2.000
AF80822	13	13	100,00	300 - 2.500
AF80825	13	11	84,60	100 - 2.500
UBC808	11	11	100,00	200 - 2.000
UBC810	11	10	90,90	200 - 2.500
UBC834	11	10	90,90	300 - 2.000
UBC841	14	12	85,70	200 - 1.750
Tổng số	97	90	-	
Trung bình	12,12	11,25	92,97	

Sau khi ghi nhận kết quả điện di của từng chủng vi khuẩn, tiến hành mã hoá nhị phân trong phần mềm Microsoft Excel, phân tích mức độ tương đồng thông qua hệ số di truyền và tiến hành vẽ cây phân nhóm di truyền bằng phần mềm NTSYSpc 2.1. Các mẫu vi

khuẩn có hệ số di truyền gần nhau được xếp thành 1 nhóm chung, 32 chủng vi khuẩn *R. solanacearum* trong nghiên cứu này được chia thành 6 nhóm chính với hệ số đa dạng di truyền dao động từ 0,43 đến 0,92, trung bình đạt 0,63 (Hình 4).



Hình 4. Cây phân nhóm di truyền 32 chủng vi khuẩn *R. solanacearum*

Nhóm I với hệ số tương đồng di truyền là 0,645 gồm 3 chủng vi khuẩn CHA1, CHA6 và CHA5, là các vi khuẩn được phân lập từ mẫu bệnh cây cà chua thu tại Hiệp An. Nhóm II với hệ số tương đồng di truyền là 0,695 gồm 8 chủng CHA4, CXT1, CXT7, CXT5, CXT3, CXT4, CXT2 và CXT6 chủ yếu được phân lập từ mẫu bệnh cây cà chua tại Xuân Thạnh. Nhóm III với hệ số tương đồng di truyền là 0,642 có 8 chủng vi khuẩn, phần lớn được phân lập từ mẫu bệnh khoai tây gồm KQL1, KKD7, KQL4, KKD1, KKD6, KKD2 và KKD3 và 1 chủng từ mẫu bệnh cây cà chua là CXT8.

Nhóm IV có số lượng là 6 chủng vi khuẩn gồm KKAD1, KKAD2, KKAD3, KKAD6, KKAD4,

KKAD5 có hệ số tương đồng di truyền là 0,64, nhỏ nhất so với hệ số tương đồng trong 6 nhóm. Nhóm V gồm những chủng vi khuẩn là CHA2, CHA3, KKD4 và KKD5 có hệ số di truyền là 0,72 và nhóm VI gồm 3 chủng vi khuẩn là KQL2, KQL3, KQL5 có hệ số tương đồng di truyền 0,776. Nhóm IV là nhóm có các chủng vi khuẩn được phân lập từ mẫu bệnh cây khoai tây thu từ Ka Đơn, Lâm Đồng nhưng vẫn thể hiện sự đa dạng về mặt di truyền, trong khi các chủng vi khuẩn trong nhóm VI cũng được phân lập từ mẫu bệnh cây khoai tây thu tại Ka Đô, Lâm Đồng lại thể hiện sự tương đồng cao hơn.

Phân nhóm di truyền theo chỉ thị ISSR thể hiện sự phân biệt khá rõ về các liên kết với cây ký chủ thu mẫu ban đầu. Trong nhóm I và nhóm II chủ yếu các chủng vi khuẩn *R. solanacearum* được phân lập từ mẫu bệnh cây cà chua thu tại cùng một địa điểm, trong khi ở các nhóm di truyền còn lại phân lớn là các chủng vi khuẩn *R. solanacearum* được phân lập từ mẫu bệnh cây khoai tây, ngoại trừ CXT8 ở nhóm III và CHA2, CHA3 ở nhóm IV thu từ các địa điểm khác nhau. Việc phân nhóm theo ISSR không thể hiện được mối tương quan so với phân nhóm theo đặc điểm hình thái khuẩn lạc trên môi trường TZCA. Tuy nhiên, môi trường TZCA chủ yếu được sử dụng để phân biệt *R. solanacearum* giữa các vi khuẩn khác trong quá trình phân lập, đồng thời xác định độc tính của vi khuẩn này. Các vi khuẩn *R. solanacearum* có độc tính thường có khuẩn lạc tròn nhậy, màu hồng hoặc đỏ sẫm với rìa ngoài màu trắng và tâm màu hồng. Các chủng vi khuẩn *R. solanacearum* trong nghiên cứu này được kiểm chứng theo quy tắc Koch trên cây ký chủ tương ứng khẳng định mặc dù có sự khác biệt về hình thái khuẩn lạc nhưng chúng đều thể hiện độc tính với cây ký chủ tương ứng và cây cà chua trong quá trình lây nhiễm nhân tạo.

3.4. Thảo luận

Vi khuẩn *R. solanacearum* có phổ ký chủ rộng, gây thiệt hại nghiêm trọng cho sản xuất nông nghiệp trên toàn thế giới nói chung và tại Việt Nam nói riêng. Hiện nay nhiều biện pháp tiên tiến như sử dụng giống kháng bệnh, sử dụng gốc ghép có tính kháng, các thuốc bảo vệ thực vật dạng nano đã được áp dụng để kiểm soát bệnh héo xanh vi khuẩn song hiệu quả vẫn còn nhiều hạn chế (Agarwal *et al.*, 2020). Do vi khuẩn *R. solanacearum* có khả năng biến đổi nhanh và bảo tồn lâu dài trong các điều kiện khác nhau với phổ ký chủ rộng (Mohamed *et al.*, 2020). Trong nghiên cứu này, mặc dù vi khuẩn thu thập từ các vùng sinh thái tương đương nhau nhưng cũng thể hiện sự đa dạng về đặc điểm hình thái khuẩn lạc trên môi trường chọn lọc TZCA cũng như qua chỉ thị phân tử ISSR, mặc dù theo khả năng sử dụng nguồn các bon thì tất cả các vi khuẩn trong nghiên cứu này đều thuộc Biovar 3.

Quần thể vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh ở một số tỉnh miền Nam đã được Trương

Thị Hồng Hải (2015) đánh giá có độ đa dạng di truyền cao thông qua chỉ thị RADP với hệ số tương đồng di truyền giao động 0,61 - 0,81. Trong nghiên cứu này khi sử dụng chỉ thị ISSR hệ số tương đồng di truyền dao động từ 0,43 đến 0,92 cho thấy mức độ đa dạng di truyền của vi khuẩn đã tăng lên mặc dù các vi khuẩn đã được thu mẫu ở các khu vực tương tự nhau.

Sự đa dạng di truyền dựa trên 8 primer ISSR cho thấy mối tương quan giữa đa dạng về đặc điểm hình thái và vị trí địa lý nơi thu thập mẫu bệnh. Trong cùng một khu vực địa lý, các mẫu vi khuẩn có sự tương đồng về đặc điểm hình thái và đặc điểm di truyền và giữa các khu vực địa lý khác nhau, có sự khác biệt về đặc điểm di truyền giữa các chủng vi khuẩn *R. solanacearum*. Hầu hết các mầm bệnh thực vật khác nhau đáng kể về bộ gen - yếu tố quyết định tính gây bệnh. Hơn nữa, chúng thay đổi kiểu hình và biến đổi di truyền để thích nghi với môi trường. Do đó, việc nghiên cứu các chủng vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* với chỉ thị phân tử ISSR giúp hiểu được các biến thể tồn tại trong khả năng gây bệnh liên quan đến các vùng vị trí địa lý, khí hậu, từ đó cho phép nghiên cứu lựa chọn các nguồn vật liệu để chọn tạo giống kháng bệnh do vi khuẩn *R. solanacearum* gây ra.

IV. KẾT LUẬN

Tổng số 32 chủng vi khuẩn *R. solanacearum* được xác định là tác nhân gây bệnh héo xanh trên cây cà chua và khoai tây tại Lâm Đồng dựa vào đặc điểm hình thái, chủng koch và trình tự vùng gen 16S-rRNA. 32 chủng vi khuẩn *R. solanacearum* đều thuộc Biovar 3 và chia thành 4 nhóm hình thái theo đặc điểm khuẩn lạc trên môi trường TZCA. Trình tự vùng gen 16S-rRNA của 10 chủng *R. solanacearum* đại diện cho từng nhóm hình thái tương đồng với các trình tự của vi khuẩn *R. solanacearum* có sẵn trên genbank từ 94,56 - 98,64% với độ bao phủ đạt trên 97%, cây phát sinh loài đảm bảo độ tin cậy cho phép khẳng định các chủng vi khuẩn này là *R. solanacearum*. Tám primer ISSR đã được sử dụng để phân tích đa dạng di truyền của 32 chủng vi khuẩn *R. solanacearum*, dựa trên hệ số Dice, phân nhóm theo phương pháp UPGMA và biểu đồ hình cây 32 chủng vi khuẩn được chia là 6 nhóm với hệ số tương đồng di truyền biến động từ 0,43 đến 0,92.

LỜI CẢM ƠN

Công trình này là một phần kết quả trong nhiệm vụ khoa học và công nghệ thuộc Nghị định thư “Nghiên cứu sử dụng vi sinh vật có ích phòng trừ một số bệnh hại chính trên rau họ cà (Solanaceae)”, mã số NĐT/HU/22/20.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Trương Thị Hồng Hải, Phạm Thanh Bình, Nguyễn Thị Thu Thủy, 2015. Đánh giá đa dạng di truyền của các chủng vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* Smith ở một số tỉnh miền Nam bằng chỉ thị RAPD. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 271: 32-38.

Trần Thị Liễu, Lê Thị Quỳnh, Vũ Thị Thu Hiền, Đinh Thị Phòng, 2015. Thông số về tính đa dạng di truyền quần thể tự nhiên loài Bách xanh (*Calocedrus macrolepis*) ở Tây Nguyên, Việt Nam bằng chỉ thị ISSR. *Tạp chí Sinh học*, 37 (4): 463-469.

Đinh Thị Phòng, Vũ Thị Thu Hiền, Trần Thị Liễu, Nguyễn Tiến Hiệp, 2014. Đánh giá tính đa dạng di truyền quần thể tự nhiên loài Thông lá dẹt (*Pinus krempfii* Lecomte) ở Tây Nguyên, Việt Nam bằng chỉ SSR. *Tạp chí Sinh học*, 36 (2): 210-219.

Nguyễn Đức Thành, 2015. Các kỹ thuật chỉ thị DNA trong nghiên cứu và chọn lọc thực vật. *Tạp chí Sinh học*, 36 (3): 265-294.

Agarwal, H., Dowarah, B., Baruah, P.M., Bordoloi, K.S., Krishnatreya, D.B., & Agarwala, N., 2020. Endophytes from *Gnetum gnemon* L. can protect seedlings against the infection of phytopathogenic bacterium *Ralstonia solanacearum* as well as promote plant growth in tomato. *Microbiological Research*, 238: 126503.

Blair M.W., Panaud O. and McCouch S.R., 1999. Inter simple sequence repeat (ISSR) amplification for analysis of microsatellite motif frequency and finger printing in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 98: 780-792.

Caldwell D., Kim B. K., and Anjali S., 2017. *Ralstonia solanacearum* differentially colonizes Roots of Resistant and Susceptible Tomato Plants. *Phytopathology*, 9 pp. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-09-16-0353-R>.

Dinh Thi Phong, Vu Thi Thu Hien, Tran Thi Lieu, 2015. Genetic variation of *Pinus dalatensis* Ferre' (Pinaceae) populations - endemic species in Vietnam revealed by ISSR markers. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*, 5 (2): 415-425.

French, E.B., Gutarra L., Aley P., and Elphinstone J., 1995. Culture media for *Ralstonia solanacearum* isolation, identification and maintenance. *Phytopathology*, 30: 126-130.

Hayward A.C., 1994. *The hosts of Pseudomonas solanacearum*. CAB International, p. 9-24.

FAOSTAT. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>.

Jaunet, T.X., & Wang, J.F., 1999. Variation in genotype and aggressiveness of *Ralstonia solanacearum* race 1 isolated from tomato in Taiwan. *Phytopathology*, 89: 320-327.

Kelman A., 1954. The relationship of pathogenicity of *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance in Tetrazolium medium. *Phytopathology*, (51): 158-161.

Kumar S., Tamura K. and Stecher G., 2021. MEGA 11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>.

Mahmodi, F., Kadir, J.B., Puteh, A., Pourdad, S.S., Nasehi, A., and Soleimani, N., 2014. Genetic diversity and differentiation of *Colletotrichum* spp. isolates associated with leguminosae using multigene loci, RAPD and ISSR. *Pathology Journal*, 30: 10-24.

Mohamed, A.F., Oloyede, A.L., & Odeseye, A.O., 2020. Biological control of bacterial wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum* using *Pseudomonas* species isolated from the rhizosphere of tomato plants. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 53 (1-2): 1-16.

Ratanacherdchai K., Wang H.K., Lin F.C., and Soyong K., 2010. RAPD analysis of *Colletotrichum* species causing chilli anthracnose disease in Thailand. *Journal of Agricultural Technology*, 3: 211-219.

Remenant B., Coupat-Goutaland B., Guidot A., Cellier G., Wicker E., Allen C., Fegan M., Pruvost O., Elbaz M., Calteau A., Salvignol G., Mornico D., Mangenot S., Barbe V., Medigue C. and Prior P., 2010. Genomes of three tomato pathogens within the *Ralstonia solanacearum* species complex reveal significant evolutionary divergence. *BMC Genomics*, 11: 379.

Rohlf, F.J., 2000. NTSYS-pc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.1. Exeter Publishing Setauket, New York.

Schaad N.W., Jones J.B., Chun W., 2001. *Laboratory*

- guide for identification of plant Pathogenic bacteria, Third Edition. APS Press 1.
- Shivas R. and Beasley D.**, 2005. *Management of plant pathogen collections*. Australian Government Department of Agriculture, Fisheries and Forestry. <http://www.daff.gov.au/planthealth> ngày 31/12/2021.
- Tran Thi Lieu, Vu Thi Thu Hien, and Dinh Thi Phong**, 2018. Genetic diversity among natural populations of *Keteleeria evelyniana* mast. in Central Highlands of Viet Nam using SSR markers. *Vietnam Journal of Science and Technology*, 56 (3): 275-285.
- Truong H.T.H., Esch E., Wang J-F.**, 2008. Resistance to Taiwanese race 1 strains of *Ralstonia solanacearum* in wild tomato germplasm. *European Journal of Plant Pathology*, 122: 471-479.
- Wang J-F. & Truong H.T.H.**, 2013. Identification of major QTLs associated with stable resistance of tomato cultivar Hawaii 7996' to *Ralstonia solanacearum*. *Euphytica*, 190: 241-252.
- Wu Z.Y., Liu J.F., Hong W., Pan D.M., Zheng S.Q.**, 2011. Genetic diversity of natural and planted *Glyptostrobos pensilis* populations: a comparative study. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 22 (4): 873-879.
- Singh, N., Phukan, T., Sharma, P.L., Kabyashree, K., Barman, A., Kumar, R., Sonti, R.V., Genin, S. and Ray, S.K.**, 2018. An innovative root inoculation method to study *Ralstonia solanacearum* pathogenicity in tomato seedlings. *Phytopathology*, 108 (4): 436-442.

Genetic diversity of bacteria *Ralstonia solanacearum*, causing wilt disease on tomato and potato in Lam Dong province

Vo Thi Ngoc Ha, Le Khac Hoang, Huynh Thanh Hung

Abstract

Controlling bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum* in Solanum plants is becoming increasingly difficult, because of the constant adaptation and change of pathogens with changes in weather, crop varieties and pesticides. In this study, samples of bacterial wilt disease on tomato and potato plants were collected from different regions of Lam Dong province. The pathogens were isolated on TZCA medium, confirmed by Koch's rules. Then, *Ralstonia solanacearum* bacteria were identified based on biochemical reaction and 16S-rRNA sequences, and the genetic diversity of pathogens was assessed by ISSR analysis. A total of 32 strains of *Ralstonia solanacearum* bacteria were isolated, all belonged to biovar 3 and divided into four morphological groups based on colony features on TZCA media. The sequences of the 16S-rRNA region of ten *Ralstonia solanacearum* strains from each morphological group were similar to the sequences of *Ralstonia solanacearum* available on Genbank from 94.56-98.64%, with coverage levels exceeding 97%. ISSR molecular markers revealed that the *Ralstonia solanacearum* bacterial strains were highly diverse, with genetic similarity coefficient ranging from 0.43 to 0.92.

Keywords: *Ralstonia solanacearum*, bacterial wilt disease, genetic diversity, tomato, potato, potato disease, genetic diversity

Ngày nhận bài: 02/4/2024

Ngày phản biện: 27/5/2024

Người phản biện: PGS.TS. Trịnh Xuân Hoạt

Ngày duyệt đăng: 08/7/2024

ỨNG DỤNG CÔNG CỤ ADOPT TRONG DỰ ĐOÁN KHẢ NĂNG MỞ RỘNG ÁP DỤNG TIÊU CHUẨN SẢN XUẤT LÚA GẠO BỀN VỮNG SRP TẠI VÙNG ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Bùi Chúc Ly^{1,2*}, Nguyễn Hồng Tín¹,
Nguyễn Thành Tâm¹, Nguyễn Thị Kim Thoa¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu ứng dụng công cụ ADOPT để dự đoán khả năng mở rộng áp dụng tiêu chuẩn sản xuất lúa gạo bền vững SRP tại đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL). Thảo luận nhóm trên 22 câu hỏi ADOPT được thực hiện tại 4 nhóm nông dân thuộc 4 huyện sản xuất lúa 3 vụ tại An Giang và Đồng Tháp. Kết quả dự đoán cho thấy mức độ áp dụng tối đa tiêu chuẩn SRP trong cộng đồng có thể đạt được 94% trong khoảng 27 năm. Thời gian này có thể thay đổi (tăng lên hay giảm xuống) tùy theo tác động thuận lợi hay bất lợi liên quan đến 7 yếu tố bao gồm (1) Khả năng tiếp cận và học hỏi về tiêu chuẩn SRP của nông dân, (2) Cảm nhận về việc dễ áp dụng của nông dân đối với tiêu chuẩn SRP, (3) Sự hỗ trợ tư vấn từ khuyến nông, (4) Việc giảm rủi ro trong sản xuất, (5) Chi phí áp dụng, (6) Lợi ích có được khi áp dụng tiêu chuẩn SRP và (7) Việc áp dụng tiêu chuẩn SRP được thường xuyên trao đổi thảo luận. Để rút ngắn thời gian mở rộng tiêu chuẩn SRP nhằm góp phần thúc đẩy canh tác lúa gạo bền vững tại đồng bằng sông Cửu Long, một số khuyến nghị đã được đề xuất.

Từ khóa: ADOPT, sản xuất lúa bền vững, tiêu chuẩn SRP

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa gạo được xem là nguồn lương thực chủ yếu của hơn 50% dân số thế giới và 70% người dân sống ở các nước đang phát triển (Zeigler & Barclay, 2008). Dự đoán nhu cầu lúa gạo đến năm 2035 sẽ tiếp tục tăng thêm 11,9%, tương đương 59 triệu tấn (Seck *et al.*, 2012), trong khi sản xuất lúa gạo cũng đang gây ra nhiều vấn đề đáng lo ngại. Việc thâm canh lúa và sử dụng quá mức vật tư đầu vào đang làm suy thoái đất đai và gây ra nhiều vấn đề về ô nhiễm môi trường (Pingali & Rosegrant, 2001; Nguyễn Hồng Tín, 2017). Quá trình trồng lúa tiêu tốn lượng nước lớn, đe dọa nguồn nước ngọt và làm gia tăng căng thẳng tài nguyên nước ở nhiều khu vực, sản xuất lúa còn là nguồn phát thải khí nhà kính, góp phần gây ra biến đổi khí hậu (OECD, 2015). Thêm vào đó, người lao động trong ngành nông nghiệp thường phải làm việc trong điều kiện khắc nghiệt, đối mặt với nhiều rủi ro về sức khỏe và an toàn (Anh *et al.*, 2020). Những vấn đề này đòi hỏi sự quản lý bền vững và chính sách hỗ trợ hiệu quả để thúc đẩy sản xuất lúa gạo bền vững hơn.

Nhận thấy những thách thức và hạn chế trong sản xuất lúa gạo, nhằm chuyển đổi ngành lúa gạo toàn cầu để có một tương lai lành mạnh, toàn diện và bền vững hơn, năm 2011 Viện Nghiên cứu Lúa gạo quốc tế (IRRI) cùng Chương trình Môi trường Liên Hợp Quốc (UNEP) và Tổ chức Hợp tác Quốc tế Đức đã đồng sáng lập Diễn đàn lúa gạo bền vững (Sustainable Rice Platform - SRP). Năm 2015, Diễn đàn lúa gạo bền vững SRP đã công bố tiêu chuẩn sản xuất lúa gạo bền vững (tiêu chuẩn SRP), thiết lập tiêu chuẩn sản xuất lúa gạo bền vững tự nguyện toàn cầu đầu tiên cho sản xuất lúa gạo (SRP, 2020).

Tiêu chuẩn SRP đã được khuyến khích áp dụng ở nhiều quốc gia sản xuất lúa gạo trên thế giới như Ấn Độ, Thái Lan, Myanmar, Indonesia, Pakistan, Campuchia. Sản xuất theo tiêu chuẩn SRP được ghi nhận mang lại nhiều lợi ích như giúp nông dân tối ưu hóa vật tư đầu vào, tăng năng suất, tăng hiệu quả sử dụng nước giúp giảm phát thải khí nhà kính, giảm chi phí lao động và giúp thích nghi với điều kiện thời tiết bất lợi (SRP, 2021). Tiêu chuẩn SRP được Bộ Nông nghiệp và PTNT thúc đẩy áp dụng tại ĐBSCL bắt đầu từ năm 2018 thông qua dự

¹ Viện Nghiên cứu Phát triển Đồng bằng sông Cửu Long - Đại học Cần Thơ

² Trung tâm Khuyến nông tỉnh Sóc Trăng

* Tác giả liên hệ, email: lyp1221001@gstudent.ctu.edu.vn