

# TUYỂN CHỌN CHỦNG NẤM ĐỐI KHÁNG VỚI NẤM *Phytophthora capsici* GÂY BỆNH CHẾT NHANH HỒ TIÊU

Lê Thị Thanh Thủy<sup>1\*</sup>, Nguyễn Phương Huệ<sup>2</sup>, Nguyễn Hồng Tuyên<sup>3</sup>, Nguyễn Thị Bích Ngọc<sup>3</sup>, Hoa Thị Minh Tú<sup>2</sup>, Lê Như Kiều<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Thu Hằng<sup>1</sup>, Nguyễn Minh Hưng<sup>1</sup>, Đỗ Duy Phái<sup>1</sup>

## TÓM TẮT

Sản xuất hồ tiêu hiện nay ở Việt Nam đang phải đối mặt với nhiều bệnh hại, trong đó bệnh chết nhanh hồ tiêu là bệnh hại cực kỳ nguy hiểm và phổ biến ở tất cả các vùng trồng tiêu trong cả nước. Nghiên cứu đã tuyển chọn được 2 chủng nấm có khả năng đối kháng mạnh với nấm *Phytophthora capsici* gây bệnh chết nhanh ở cây hồ tiêu với đường kính vòng ức chế 22 mm và 19 mm. Hai chủng này được định danh là *Trichoderma harzianum* GL3-Tri và *Trichoderma harzianum* HB2-Tri và được xác định là an toàn sinh học cấp độ 1. Sơ bộ đánh giá hiệu quả phòng trừ nấm *Phytophthora capsici* gây bệnh chết nhanh ở cây hồ tiêu trong điều kiện nhà lưới cho thấy, sau 90 ngày được xử lý với 2 chủng nấm ở nồng độ  $10^7$  CFU/mL cây hồ tiêu có tỉ lệ bệnh (TLB) là 46,67 và 53,33%; Chỉ số bệnh (CSB) = 9,33 và 12%, trong khi đó đối chứng không xử lý, bệnh tăng nhanh (TLB = 73,33%, CSB = 26,67%). Hiệu quả phòng trừ bệnh chết nhanh hồ tiêu của chủng nấm *T. harzianum* GL3-Tri sau xử lý 90 ngày ở nồng độ  $10^7$  CFU/mL là cao nhất, đạt 70,8% cùng mức với xử lý chế phẩm PhytoM (70%). Kết quả thử nghiệm là cơ sở khoa học cho nghiên cứu ứng dụng 2 chủng nấm này trong tạo chế phẩm vi sinh để kiểm soát an toàn, hiệu quả bệnh chết nhanh cây hồ tiêu.

**Từ khóa:** Cây hồ tiêu, nấm *Phytophthora capsici*, nấm đối kháng, bệnh chết nhanh hồ tiêu

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh chết nhanh hồ tiêu là bệnh hại cực kỳ nguy hiểm, gây hại ngày càng phổ biến ở tất cả các vùng trồng tiêu trong cả nước. Kết quả nghiên cứu tại các vùng trồng hồ tiêu của Việt Nam cho biết nguyên nhân gây bệnh chết nhanh là do nấm *Phytophthora capsici* (Ngô Vĩnh Viễn và cs., 2007; Phạm Ngọc Dung, 2011). Nấm bệnh tấn công và gây hại tất cả các bộ phận của cây tiêu như lá, chùm quả, thân, rễ nhưng phổ biến nhất là ở phần thân ngầm tiếp giáp với mặt đất. Khi bệnh tấn công vào rễ và thân ngầm sẽ làm cây tiêu chết đột ngột rất nhanh nên lá vẫn còn nhiều trên cây, chưa kịp rụng. Trong những năm gần đây, tại Việt Nam đã có một số công trình nghiên cứu thành công trong sử dụng nấm đối kháng *Trichoderma* để phòng trừ một số bệnh hại cây trồng như: chế phẩm *Trichoderma* của Trường Đại học Cần Thơ, chế phẩm *Trichoderma* sử dụng trên cây rau của Trường Đại học Nông Lâm TP. HCM, chế phẩm sinh học đa chức năng SH-BV1, Phyto-M, Phyto-PP1 của

Viện Bảo vệ thực vật ứng dụng trong phòng trừ bệnh chết nhanh hồ tiêu, cao su, ca cao, cây có múi do nấm *Phytophthora* spp. Theo tác giả Phạm Ngọc Dung và cộng sự (2008), nấm *Trichoderma harzianum* có khả năng ức chế cao đối với sự phát triển của sợi nấm *Phytophthora tropicalis* trên môi trường bằng phương pháp cấy đối xứng, sợi nấm *Phytophthora* bị tiêu diệt sau 3 ngày nuôi cấy. Theo Nguyễn Minh Châu (2009), sử dụng nấm *Trichoderma* trộn với phân hữu cơ bón vào đất, tưới nước giữ ẩm để phòng trừ một số bệnh thối rễ, vàng lá, nứt gốc... cho vườn cây ăn quả khá tốt.

Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu tuyển chọn được chủng nấm *Trichoderma* có khả năng đối kháng nấm *Phytophthora capsici* gây bệnh chết nhanh ở cây hồ tiêu nhằm ứng dụng trong sản xuất chế phẩm vi sinh phục vụ canh tác hồ tiêu bền vững.

<sup>1</sup> Viện Thổ nhưỡng Nông hóa (SFRI)

<sup>2</sup> Viện Công nghệ sinh học (IBT), Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST)

<sup>3</sup> Viện Bảo vệ thực vật (PPRI)

\* Tác giả liên hệ, email: lethuysfri@gmail.com

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mười lăm (15) chủng vi nấm thuộc chi *Trichoderma* có khả năng đối kháng, ức chế nấm *Phytophthora capsici* gây bệnh chết nhanh ở cây hồ tiêu được phân lập từ đất trồng hồ tiêu tại Đắk Lắk, Gia Lai, Đồng Nai và Bình Phước (kết quả nghiên cứu của nhiệm vụ Quỹ gen Mã số: NVQG-2019/ĐT.01). Nấm *Phytophthora capsici* HT và chế phẩm Phyto-M, chứa các chủng vi sinh vật đối kháng nấm gây bệnh cây trồng, do Viện Bảo vệ Thực vật cung cấp; giống hồ tiêu Vĩnh Linh 1 tuổi.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- *Xác định hoạt tính đối kháng nấm gây bệnh chết nhanh ở cây hồ tiêu Phytophthora capsici* HT dựa trên việc xác định kích thước vòng vô khuẩn (vòng tròn trong suốt bao quanh lỗ thạch chứa dịch vi sinh vật đối kháng) (theo TCVN 8566-2010).

- *Tách chiết ADN và giải trình tự rADN vùng ITS*: sợi nấm được nuôi cấy trên môi trường khoai tây dịch thể, thu sinh khối sợi (1) Cho sinh khối nấm thu được vào nghiền trong nito lỏng (hỗn dịch). (2) Chuyển hỗn dịch sang ống sạch vô trùng và bổ sung 500  $\mu$ L Lysozyme (20 mg/mL), mix đều. (3) Ủ ở 37°C trong 30 phút. (4) Bổ sung 20  $\mu$ L SDS 10% và 20  $\mu$ L protease K. Ủ ở 55°C trong 30 phút. (5) Thêm 1 lần thể tích Phenol: Chloroform: Isoamyl alcohol (25 : 24 : 1). Ly tâm 10.000 rpm/10 phút, hút pha trên. (6) Thêm 1 lần thể tích cồn 95%. Giữ ở -20°C trong 1 giờ. (7) Ly tâm 10.000 rpm trong 10 phút thu cặn sinh khối. Rửa lại 2 lần với cồn 75% (ly tâm 5.000 rpm trong 5 phút). Để cặn khô rồi hòa lại trong 50 ÷ 100  $\mu$ L TE buffer. (8) Bổ sung 20  $\mu$ L ARNase (20  $\mu$ g/mL). Ủ ở 37°C trong 1 giờ. (9) Lặp lại các bước (5, 6, 7). (10) Sản phẩm DNA được làm khô trong không khí và hòa lại trong 50  $\mu$ L 1xTris-EDTA. Phản ứng PCR được thực hiện với master mix của hãng Thermo Fisher, ADN của chủng vi nấm và cặp mồi ITS1/ITS4 với trình tự như sau: ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3', ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'. Thành phần các chất cho phản ứng PCR (50  $\mu$ L): Master mix (2X) 25  $\mu$ L, ITS1 primer (10  $\mu$ M) 1  $\mu$ L, ITS4 primer (10  $\mu$ M) 1  $\mu$ L, ADN khuôn 3  $\mu$ L, Nước khử ion 20  $\mu$ L. Trình tự gen ITS rADN được phân tích tự động bằng máy đọc trình tự gen PRISM@3700 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific, Hoa

Kỳ), phân tích bằng phần mềm BioEdit, so sánh với dữ liệu trên NCBI bằng chương trình BLAST. Cây phát sinh chủng loại được xây dựng bằng phần mềm MEGAX (Bahuguna *et al.*, 2020).

- *Khả năng sinh Siderophore*: xác định theo phương pháp của Adriane và cộng sự (1999). Dựa trên cơ chế làm biến đổi màu xanh của blue dye - chrome azurol sulphonate (CAS) thành màu vàng cam của phức hợp *Fe-siderophore* để xác định những chủng vi khuẩn có khả năng sinh siderophore.

- *Khả năng phân giải chitin*: sinh khối các chủng vi sinh vật sau khi nuôi lắc trong bình tam giác 48 giờ được li tâm lắng gạn bỏ phần cặn lắng và nhỏ 0,1 mL vào lỗ thạch đã được chuẩn bị sẵn trên các đĩa Petri chứa môi trường đặc có chitin. Lưu giữ đĩa thạch trong tủ ẩm, sau 24h lấy ra và dùng dung dịch lugon tráng bề mặt. Hoạt tính sinh học phân giải chitin được xác định bằng kích thước vòng phân giải (vòng tròn trong suốt bao quanh lỗ thạch), bằng hiệu số giữa đường kính vòng tròn trong suốt (D) và đường kính lỗ thạch (d).

- *Sơ bộ đánh giá hiệu quả phòng trừ bệnh chết nhanh hồ tiêu trong điều kiện nhà lưới*: trồng cây giống hồ tiêu Vĩnh Linh 1 tuổi trong nhà lưới, Viện Bảo vệ thực vật. Tiến hành lây nhiễm nhân tạo 100 mL dịch bào tử nấm *Phytophthora capsici* HT với mật độ  $10^8$  bào tử/mL vào chậu đất trồng hồ tiêu (7 kg) sau khi sát thương rễ. Đất đã được khử trùng. Thử nghiệm gồm 6 công thức, phun sau khi lây bệnh nhân tạo 7 ngày, ứng với 2 chủng nấm *Trichoderma* (mỗi chủng 2 công thức, phun 200 mL/cây dung dịch nấm *Trichoderma* ở các nồng độ  $10^6$  CFU/mL và  $10^7$  CFU/mL), và 2 công thức đối chứng gồm không dùng biện pháp phòng trừ chỉ phun nước lã; phun 200 mL/cây dung dịch chế phẩm Phyto M (nồng độ  $10^7$  CFU/mL), mỗi công thức 3 lần nhắc, mỗi lần nhắc 3 chậu. Đánh giá mức độ bệnh (Tỉ lệ bệnh - TLB%, Chỉ số bệnh - CSB%) sau 30, 60 và 90 ngày và hiệu quả phòng trừ (%) sau 90 ngày. Phân cấp bệnh theo thang 5 cấp (TCVN 12561:2022).

Trong đó: n1: số nhánh bị bệnh ở cấp 1; n2: số nhánh bị bệnh ở cấp 2; n3: số nhánh bị bệnh ở cấp 3; n4: số nhánh bị bệnh ở cấp 4; n5: số nhánh bị bệnh ở cấp 5; N: Tổng số nhánh điều tra.

Tính hiệu quả phòng trừ:

HQPT (%): hiệu quả phòng trừ so với đối chứng; CT: TLB% hoặc CSB% ở công thức xử lý nấm; ĐC: TLB% hoặc CSB% ở công thức đối chứng.

- Xử lý số liệu: Các số liệu thu thập được phân tích sai khác giữa các nghiệm thức, xử lý bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2007.

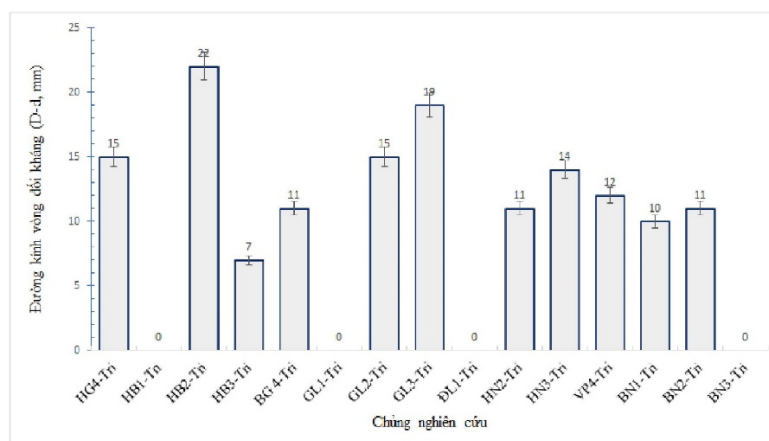
### 2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện năm 2020 - 2021 tại Viện Thổ nhưỡng Nông hóa, Viện Bảo vệ thực vật và Viện Công nghệ sinh học.

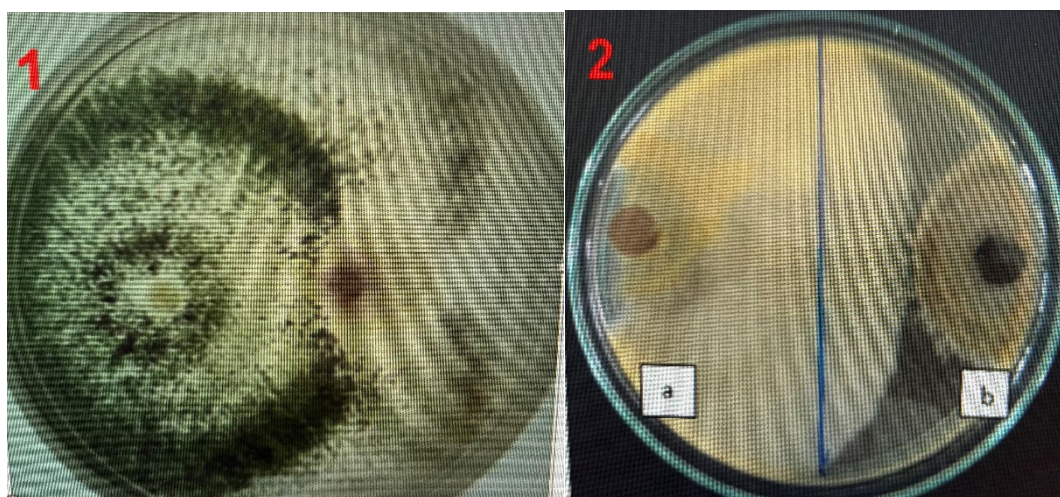
## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Tuyển chọn chủng nấm đối kháng nấm gây bệnh chết nhanh cây hồ tiêu

15 chủng nấm được đánh giá sơ bộ khả năng đối kháng với nấm gây bệnh chết nhanh ở cây hồ tiêu *Phytophthora capsici* HT (Hình 1), kết quả cho thấy 2 chủng nấm HB2-Tri và GL3-Tri có hoạt tính đối kháng mạnh nhất với đường kính vòng ức chế đạt 22 mm và 19 mm (Hình 2).



Hình 1. Khả năng đối kháng nấm *Phytophthora capsici* HT của 15 chủng nấm nghiên cứu



Hình 2. Khả năng đối kháng nấm *Phytophthora capsici* HT của chủng nấm HB2-Tri (1) và GL3-Tri (2); a: chủng GL3-Tri; b: chủng nấm *Phytophthora capsici* HT

### 3.2. Định danh 2 chủng nấm tuyển chọn

Các chủng nấm HB2-Tri, GL3-Tri được nuôi cấy trên môi trường PDA ở nhiệt độ  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , quan sát hình thái nhận thấy: Lúc đầu tản nấm có màu trắng, dày và xốp, sau 2 ngày nuôi cấy, tản nấm chuyển dần sang màu xanh, hình thành nhiều cành bào tử phân sinh, sau 4 - 5 ngày nuôi

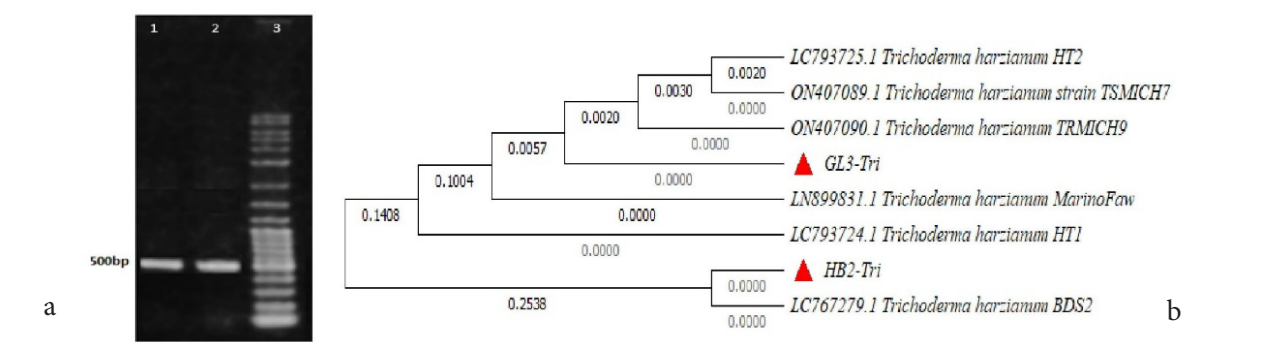
cấy, đường kính tản nấm đạt 9,0 cm và chuyển màu xanh đậm hoàn toàn; thể bình có dạng hình trụ, mọc đối xứng và thành chùm 2 - 3 thể bình trên đầu cành bào tử phân sinh. Bào tử phân sinh của nấm có dạng hình cầu hoặc hình trứng, bề mặt nhẵn, kích thước bào tử trung bình  $2,9 - 3,1 \times 2,3 - 3,3 \mu\text{m}$ . Dựa vào xác định hình thái sơ bộ so sánh

với khóa phân loại vi nấm của Bùi Xuân Đồng (1986), có thể nhận định cả 2 chủng HB2-Tri và GL3-Tri thuộc chi nấm *Trichoderma*. Với các đặc điểm phát triển nhanh và hình thành số lượng bào tử phân sinh lớn, nấm *Trichoderma* được ứng dụng để phòng trừ nhiều nấm gây bệnh cây trồng quan trọng có nguồn gốc trong đất.

Tuy nhiên, chi *Trichoderma* có rất nhiều loài và dưới loài, do vậy để phân loại chính xác hai chủng vi nấm GL3-Tri và HB2-Tri, ngoài phương pháp phân loại truyền thống, phương pháp giải trình tự gen vùng ITS được kết hợp để phân loại đến loài. Trình tự gen ITS rDNA của 2 chủng GL3-Tri và HB2-Tri có kích thước khoảng 500 bp (Hình 3). Kết quả giải trình tự đoạn gene ITS rDNA của 2 chủng GL3-Tri và HB2-Tri được phân tích bằng phần mềm BLAST trên NCBI. Kết quả chỉ ra chủng HB2-Tri có độ tương đồng cao (100%) so với loài *Trichoderma harzianum* trên GeneBank

(với accession number LC767279.1). Chủng GL3-Tri có độ tương đồng cao (100%) so với loài *Trichoderma harzianum* trên GeneBank (mã số accession number ON407090.1). Từ kết quả định danh bằng phương pháp truyền thống kết hợp với cây phát sinh loài đã định danh được 2 chủng GL3-Tri và HB2-Tri thuộc loài *Trichoderma harzianum* và đặt tên chủng là *Trichoderma harzianum* GL3-Tri và *Trichoderma harzianum* HB2-Tri (Hình 3).

Theo danh mục vi sinh vật an toàn sinh học, 2 chủng nấm lựa chọn đã được phân loại trên đều là các chủng an toàn cấp độ 1 (U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, and National Institutes of Health, 2009), có thể dùng cho nghiên cứu sản xuất chế phẩm vi sinh vật phòng trừ bệnh chết nhanh ở cây hồ tiêu.



**Hình 3.** a) Kết quả điện di sản phẩm PCR của 2 chủng nấm trên gel agarosa 1%. Giếng 1: GL3-Tri, giếng 2: Chủng HB2-Tri, giếng 3: thang ADN chuẩn (Marker Biolabs (0,1 - 10 kb); b) Cây phát sinh chủng loài của 2 chủng GL3-Tri và HB2-Tri được suy ra từ việc so sánh trình tự ITS

**3.3. Khả năng phân giải chitin và siderophore của 2 chủng nấm *Trichoderma harzianum* HB2-Tri và GL3-Tri**

Hai chủng nấm *Trichoderma harzianum* HB2-Tri

và GL3-Tri tiếp tục được nghiên cứu, đánh giá các hoạt tính sinh học (phân giải chitin và sinh Siderophore) để làm cơ sở cho việc nghiên cứu tạo chế phẩm vi sinh phòng chống bệnh cây trồng.

**Bảng 1.** Đánh giá hoạt tính sinh học của 2 chủng nấm *T. harzianum* HB2-Tri và GL3-Tri

| TT | Hoạt tính sinh học | Đơn vị đo                           | Mức hoạt tính |           |
|----|--------------------|-------------------------------------|---------------|-----------|
|    |                    |                                     | HB2-Tri       | GL3-Tri   |
| 1  | Phân giải chitin   | Đường kính vòng phân giải (D-d, mm) | 10 ± 0,28     | 12 ± 0,15 |
| 2  | Sinh Siderophore   |                                     | +             | +         |

Chú thích: +: Có hoạt tính.

Kết quả bảng 1 cho thấy, 2 chủng nấm *T. harzianum* HB2-Tri và GL3-Tri đều có khả năng sinh siderophore và phân giải chitin. Đường kính vòng phân giải chitin của chủng nấm HB2-Tri đạt

10 mm và GL3-Tri là 12 mm, đây là đặc tính rất tốt để sử dụng các chủng nấm này cho tạo chế phẩm vi sinh đối kháng bệnh cây hồ tiêu.

3.4. Sơ bộ đánh giá hiệu quả phòng trừ bệnh chết nhanh hồ tiêu do nấm *Phytophthora capsici* của 2 chủng nấm tuyển chọn trong điều kiện nhà lưới

Để đánh giá bước đầu tác dụng của 2 chủng nấm tuyển chọn *Trichoderma harzianum* GL3-Tri và *Trichoderma harzianum* HB2-Tri trong kiểm soát bệnh chết nhanh ở cây hồ tiêu do nấm

*Phytophthora capsici*, bố trí thí nghiệm gồm 6 công thức trong điều kiện nhà lưới tại Viện Bảo vệ thực vật, các chủng nấm được tưới (200 mL/cây) vào gốc sau khi đã nhiễm nấm *Phytophthora capsici* HT được 7 ngày. Kết quả theo dõi TLB% và CSB% qua các lần điều tra ở bảng 2 và bảng 3.



Hình 4. Thí nghiệm đánh giá hiệu quả phòng trừ bệnh chết nhanh hồ tiêu do nấm *Phytophthora capsici* (Thí nghiệm nhà lưới tại Viện BVTV, năm 2020)

Bảng 2. Hiệu quả của 2 chủng nấm *Trichoderma harzianum* GL3-Tri và *Trichoderma harzianum* HB2-Tri đối với chỉ số bệnh chết nhanh hồ tiêu (nhà lưới Viện BVTV, năm 2020)

| TT                  | Công thức                   | Nồng độ                 | Tỷ lệ bệnh (TLB%) qua các thời điểm điều tra |                    |                     |                     | Hiệu quả (%) SXL 90 ngày |
|---------------------|-----------------------------|-------------------------|----------------------------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------------|
|                     |                             |                         | TXL                                          | SXL 30 ngày        | SXL 60 ngày         | SXL 90 ngày         |                          |
| 1                   | Đối chứng 1                 | Nước vô trùng           | 33,33 <sup>a</sup>                           | 60,00 <sup>a</sup> | 66,67 <sup>a</sup>  | 73,33 <sup>a</sup>  | -                        |
| 2                   | Đối chứng 2 (Phyto M)       | 10 <sup>7</sup> CFU/mL  | 33,33 <sup>a</sup>                           | 33,33 <sup>c</sup> | 33,33 <sup>c</sup>  | 36,67 <sup>c</sup>  | 50,0                     |
| 3                   | Chủng nấm                   | 10 <sup>7</sup> CFU /mL | 33,33 <sup>a</sup>                           | 53,33 <sup>a</sup> | 53,33 <sup>b</sup>  | 53,33 <sup>b</sup>  | 27,3                     |
| 4                   | <i>T. harzianum</i> HB2-Tri | 10 <sup>6</sup> CFU /mL | 36,67 <sup>a</sup>                           | 46,67 <sup>b</sup> | 56,67 <sup>b</sup>  | 66,67 <sup>ab</sup> | 17,4                     |
| 5                   | Chủng nấm                   | 10 <sup>7</sup> CFU /mL | 40,00 <sup>a</sup>                           | 46,67 <sup>b</sup> | 46,67 <sup>bc</sup> | 46,67 <sup>bc</sup> | 47,0                     |
| 6                   | <i>T. harzianum</i> GL3-Tri | 10 <sup>6</sup> CFU /mL | 33,33 <sup>a</sup>                           | 40,00 <sup>b</sup> | 46,67 <sup>bc</sup> | 46,67 <sup>bc</sup> | 36,4                     |
| LSD <sub>0,05</sub> |                             |                         | 11,61                                        | 9,38               | 6,85                | 6,86                |                          |
| CV (%)              |                             |                         | 13,6                                         | 11,3               | 7,6                 | 7,1                 |                          |

Ghi chú: TXL - Trước xử lý; SXL - Sau xử lý.

Bảng 3. Hiệu quả của 2 chủng nấm *Trichoderma harzianum* GL3-Tri và *Trichoderma harzianum* HB2-Tri đối với chỉ số bệnh chết nhanh hồ tiêu (nhà lưới Viện BVTV, năm 2020)

| TT                  | Công thức                   | Nồng độ                 | Chỉ số bệnh (CSB%) qua các thời điểm điều tra |                    |                     |                     | Hiệu quả (%) SXL 90 ngày |
|---------------------|-----------------------------|-------------------------|-----------------------------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------------|
|                     |                             |                         | TXL                                           | SXL 30 ngày        | SXL 60 ngày         | SXL 90 ngày         |                          |
| 1                   | Đối chứng 1                 | Nước vô trùng           | 6,67 <sup>a</sup>                             | 13,33 <sup>a</sup> | 21,33 <sup>a</sup>  | 26,67 <sup>a</sup>  | -                        |
| 2                   | Đối chứng 2 (Phyto M)       | 10 <sup>7</sup> CFU /mL | 6,67 <sup>a</sup>                             | 6,67 <sup>b</sup>  | 6,67 <sup>c</sup>   | 8,00 <sup>c</sup>   | 70,0                     |
| 3                   | Chủng nấm                   | 10 <sup>7</sup> CFU /mL | 8,00 <sup>a</sup>                             | 9,33 <sup>ab</sup> | 10,67 <sup>bc</sup> | 12,00 <sup>bc</sup> | 62,5                     |
| 4                   | <i>T. harzianum</i> HB2-Tri | 10 <sup>6</sup> CFU /mL | 6,67 <sup>a</sup>                             | 10,67 <sup>a</sup> | 13,33 <sup>b</sup>  | 16,00 <sup>b</sup>  | 40,0                     |
| 5                   | Chủng nấm                   | 10 <sup>7</sup> CFU /mL | 8,00 <sup>a</sup>                             | 9,33 <sup>ab</sup> | 9,33 <sup>bc</sup>  | 9,33 <sup>c</sup>   | 70,8                     |
| 6                   | <i>T. harzianum</i> GL3-Tri | 10 <sup>6</sup> CFU /mL | 5,33 <sup>a</sup>                             | 6,67 <sup>b</sup>  | 8,00 <sup>c</sup>   | 9,33 <sup>c</sup>   | 56,2                     |
| LSD <sub>0,05</sub> |                             |                         | 2,69                                          | 3,56               | 4,74                | 5,63                |                          |
| CV (%)              |                             |                         | 21,6                                          | 21,4               | 23,1                | 23,3                |                          |

Ghi chú: TXL - trước xử lý; SXL - sau xử lý.

Kết quả ở bảng 2 và bảng 3 cho thấy: các công thức xử lý 2 chủng nấm đối với bệnh chết nhanh hồ tiêu tại các thời điểm điều tra sau xử lý đều có tỷ lệ bệnh, chỉ số bệnh thấp hơn so với công thức đối chứng phun nước lã. Tại thời điểm điều tra, đánh giá sau xử lý 30 ngày, công thức xử lý các chủng nấm ở nồng độ  $10^7$  CFU/mL có TLB và CSB chết nhanh hồ tiêu tăng nhẹ (TLB từ 40,0 đến 53,33%; CSB từ 6,67 đến 10,67%), công thức xử lý chế phẩm PhytoM bệnh không tăng (TLB = 33,33%; CSB = 6,67%), trong khi đó đối chứng không xử lý có bệnh tăng khá nhanh (TLB = 60,0%, CSB = 13,33%). Ở thời điểm điều tra sau xử lý 60 ngày, công thức xử lý 2 chủng nấm ở nồng độ  $10^7$  CFU/mL có TLB và CSB chết nhanh tăng chậm (TLB từ 40,0 đến 53,33%; CSB từ 8,0 đến 13,33%), chế phẩm xử lý PhytoM bệnh cũng không tăng (TLB = 33,33%; CSB = 6,67%), trong khi đó đối chứng không xử lý có bệnh tăng khá nhanh (TLB = 66,67%, CSB = 21,33%). Sau xử lý 90 ngày, công thức xử lý 2 chủng nấm ở nồng độ  $10^7$  CFU/mL có TLB và CSB hầu hết không tăng (TLB từ 40,0 đến 53,33%; CSB từ 8,0 đến 13,33%); công thức xử lý chế phẩm PhytoM bệnh vẫn không tăng (TLB = 33,33%; CSB = 6,67%), trong khi đó đối chứng không xử lý bệnh tăng nhanh (TLB = 73,33%, CSB = 26,67%). Hiệu quả phòng trừ bệnh chết nhanh hồ tiêu sau xử lý 90 ngày công thức xử lý 2 chủng nấm ở nồng độ  $10^7$  CFU/mL là cao nhất đạt 70,8% cùng mức với xử lý chế phẩm PhytoM (70%). Kết quả thử nghiệm có ý nghĩa cho nghiên cứu tiếp theo nhằm tạo chế phẩm vi sinh từ 2 chủng nấm tuyển chọn để kiểm soát an toàn, hiệu quả bệnh chết nhanh ở cây hồ tiêu. Kết quả này cũng tương ứng với kết quả nghiên cứu của Hồ Tuyên (2019) đã tuyển chọn được 6 chủng nấm *Trichoderma* có hoạt tính ức chế nấm *Phytophthora* sp. cao, đường kính vòng ức chế đạt từ 10 - 15 cm, bổ sung chế phẩm chứa các chủng nấm *Trichoderma* tuyển chọn đã hạn chế được 77 - 79% cây bị bệnh nấm vùng rễ, phục hồi được 39 - 43% số cây bị bệnh.

#### IV. KẾT LUẬN

Tuyển chọn được 2 chủng nấm có khả năng đối kháng mạnh với nấm *Phytophthora capsici* gây bệnh chết nhanh ở cây hồ tiêu với đường kính vòng ức chế 22 mm và 19 mm. Hai chủng này được định danh là *Trichoderma harzianum* GL3-Tri và *Trichoderma harzianum* HB2-Tri và là các chủng

an toàn sinh học cấp độ 1.

Sơ bộ đánh giá hiệu quả phòng trừ nấm *Phytophthora capsici* gây bệnh chết nhanh ở cây hồ tiêu ở nhà lưới, sau 90 ngày công thức cây được xử lý 2 chủng nấm ở nồng độ  $10^7$  CFU/mL có TLB từ 46,67 và 53,33%; CSB = 9,33 và 12%, trong khi đó đối chứng không xử lý bệnh tăng nhanh (TLB = 73,33%, CSB = 26,67%).

Hiệu quả phòng trừ bệnh chết nhanh hồ tiêu của chủng nấm *T. harzianum* GL3-Tri sau xử lý 90 ngày ở nồng độ  $10^7$  CFU/mL là cao nhất đạt 70,8%; tương đương với xử lý chế phẩm PhytoM (70%). Kết quả này là cơ sở khoa học cho nghiên cứu ứng dụng 2 chủng nấm này trong tạo chế phẩm vi sinh để kiểm soát an toàn, hiệu quả bệnh chết nhanh cây hồ tiêu.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Minh Châu, 2009. Sử dụng nấm *Trichoderma* để phòng trừ sâu bệnh cho vườn cây ăn quả. Viện Cây ăn quả miền Nam, nguồn tin thông tấn xã, tr.2.
- Phạm Ngọc Dung, Ngô Vinh Viễn, Nguyễn Văn Tuất, Nguyễn Thị Ly, Trần Ngọc Khánh, Hồ Gấm, Nguyễn Quang Tuấn, 2008. Một số kết quả phòng trừ bệnh chết nhanh gây hại hồ tiêu tại Đắk Nông. *Tạp chí BVTV*, (3): 17-23.
- Phạm Ngọc Dung, 2011. Báo cáo tổng kết đề tài thuộc dự án KHCN nông nghiệp vốn vay ADB “Nghiên cứu ứng dụng các giải pháp khoa học công nghệ quản lý tổng hợp bệnh hại chủ yếu trên cây hồ tiêu nhằm nâng cao hiệu quả sản xuất và thu nhập cho người dân nghèo tỉnh Quảng Trị”.
- Bùi Xuân Đồng, 1986. *Nhóm nấm Hyphomycetes ở Việt Nam*, tập 2. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
- TCVN 8566-2010. Tiêu chuẩn Việt Nam về Phân bón vi sinh vật - Phương pháp đánh giá hoạt tính đối kháng nấm gây bệnh vùng rễ cây trồng cạn.
- TCVN 12561:2022. Tiêu chuẩn Việt Nam về Thuốc bảo vệ thực vật - Khảo nghiệm hiệu lực sinh học trên đồng ruộng (Pesticides - Bio-efficacy field trials).
- Hồ Tuyên, 2019. Báo cáo tổng kết đề tài cấp Nhà nước “Ứng dụng công nghệ nano sản xuất chế phẩm sinh học dạng dịch thể từ vi sinh vật và thảo mộc phòng trừ tuyến trùng và bệnh rễ cây hồ tiêu ở Tây Nguyên”.

- Ngô Vĩnh Viễn, Phạm Ngọc Dung, Nguyễn Thị Ly, Lê Thu Hiền, 2007. Phương pháp phân lập nấm *Phytophthora* từ đất, rễ và bộ phận cây bị bệnh. Trong *Tuyển tập kết quả Khoa học và Công nghệ nông nghiệp 2006 - 2007*. Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam. Nhà xuất bản Nông nghiệp, trang 236-249.
- Adriane M.F. Milagres, Angela Machuca, Diovana Napoleao, 1999. Detection of siderophore production from several fungi and bacteria by a modification of chrome azurol S (CAS) agar plate assay. *Journal of Microbiological Methods*, 37: 1-6.
- Bahuguna, A., Joe, A.-r., Kumar, V., Lee, J.S., Kim, S. Y., Moon, J. Y., Cho, S. K., Cho, H., Kim, M., 2020. Study on the identification methods for effective Microorganisms in commercially available organic agriculture materials. *Microorganisms*, 8: 1568. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101568>.
- U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, and National Institutes of Health, 2009. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (BMBL), 5<sup>th</sup> Edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. U.S. Government Printing Office, Washington DC.

### Selection of fungal strains against *Phytophthora capsici* causing quick wilt disease in black pepper

Le Thi Thanh Thuy, Nguyen Phuong Nhue, Nguyen Hong Tuyen, Nguyen Thi Bich Ngoc, Hoa Thi Minh Tu, Le Nhu Kieu, Nguyen Thi Thu Hang, Nguyen Minh Hung, Do Duy Phai

#### Abstract

Black pepper production in Vietnam is currently facing many harmful diseases, of which pepper quick wilt disease is an extremely dangerous and common disease in all black pepper growing areas in the country. The study has selected two fungal strains that have the ability to strongly resist the fungus *Phytophthora capsici* causing quick wilt disease in black pepper plants with inhibition circle diameters of 22 mm and 19 mm. These two strains were identified as *Trichoderma harzianum* GL3-Tri and *Trichoderma harzianum* HB2-Tri and were determined to be biosafety level 1. Preliminary evaluation of the effectiveness of controlling the fungus *Phytophthora capsici* causing quick wilt in black pepper plants in nethouse showed that, after 90 days, 2 fungal strains at a concentration of  $10^7$  CFU/mL had a cumulative effect of 46.67 and 53.33% of disease incidence; and 9.33 and 12% of disease severity, while the control without treatment increased rapidly (DI= 73.33%, DS = 26.67%). The effectiveness of preventing rapid pepper death disease of *T. harzianum* GL3-Tri after 90 days of treatment at a concentration of  $10^7$  CFU/mL was the highest, reaching 70.8%, the same level as treatment with PhytoM preparation (70%). This result provides a scientific basis for further research and application of these two fungal strains in creating microbial preparations to safely and effectively control pepper diseases.

**Keywords:** Black pepper, *Phytophthora capsici*, antagonistic fungi, quick wilt disease in black pepper

Ngày nhận bài: 23/7/2024

Ngày phản biện: 12/8/2024

Người phản biện: GS.TS. Nguyễn Văn Tuất

Ngày duyệt đăng: 07/10/2024