



Original Article

The Effectivity of Bioinoculants on Suppressing *Tylenchulus semipenetrans* in Citrus Growing Soil in Cao Phong, Hoa Binh

Nguyen Thi Thao¹, Trinh Quang Phap^{2,3}, Tran Thi Tuyet Thu^{1*}

¹Faculty of Environmental Sciences, VNU University of Science, 334 Nguyen Trai, Hanoi, Vietnam

²Institute of Ecology and Biological Resources, Vietnam Academy of Science and Technology,
18 Hoang Quoc Viet, Hanoi, Vietnam

³Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology,
18 Hoang Quoc Viet, Hanoi, Vietnam

Received 15 August 2019

Revised 04 December 2019; Accepted 22 December 2019

Abstract: *Tylenchulus semipenetrans* causes serious damages related to decline on citrus in Cao Phong district, Hoa Binh province. This study evaluated the effects of EM, AMF, AT+Ketomium and Chitosan-Super in the control of nematodes. In the laboratory condition, the *T. semipenetrans* was isolated from the soil and assessed for survival in the liquid medium containing EM and Chitosan-Super. The larval mortality rate reached 98.57% after 72 hours when using Chitosan-Super at 2% concentration. For pot experiments, *T. semipenetrans* and bioinoculants were infected into Hoa Binh red grapefruit rhizospheres. The results indicated that nematode density in the soil decreased the most in CT5 (Chitosan-Super), followed by CT4 (AT+Ketomium), CT3 (AMF+EM) and CT1 (AMF), CT2 (EM); nematode density in roots was the highest at CT5 of 132±27 individuals/5g of roots, while in CT1 there was no parasitic nematode on the red grapefruit root though its density in soil was high (2.424±125 individuals/250g of soil). Citrus grew normally in all of the experience formulas. Research results are an important basis for effective use of bioinoculants in preventing nematode parasitic on citrus.

Keywords: Bioinoculants, citrus, Cao Phong orange, *Tylenchulus semipenetrans*.

* Corresponding author.

E-mail address: tranthituyetthu@hus.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1094/vnuees.4433>



Nghiên cứu hiệu quả của chế phẩm sinh học phòng trừ tuyến trùng *Tylenchulus semipenetrans* trong đất trồng cây có múi ở Cao Phong, Hòa Bình

Nguyễn Thị Thảo¹, Trịnh Quang Pháp^{2,3}, Trần Thị Tuyết Thu^{1*}

¹Khoa Môi trường, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN, 334 Nguyễn Trãi, Hà Nội, Việt Nam

²Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, Hà Nội, Việt Nam

³Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 15 tháng 8 năm 2019

Chỉnh sửa ngày 04 tháng 12 năm 2019; Chấp nhận đăng ngày 22 tháng 12 năm 2019

Tóm tắt: Tuyến trùng *Tylenchulus semipenetrans* là đối tượng gây hại nghiêm trọng liên quan đến bệnh chết chậm trên cây có múi trồng ở Cao Phong, Hòa Bình. Nghiên cứu này đã thử nghiệm hiệu quả của chế phẩm EM, AMF, AT+Ketomium và Chitosan-Super trong phòng trừ tuyến trùng. Trong phòng thí nghiệm, tuyến trùng *T. semipenetrans* được tách lọc khỏi đất và kiểm tra khả năng sống sót trong môi trường dịch thể có chứa chế phẩm sinh học EM và Chitosan-Super. Sau 72 giờ, chế phẩm Chitosan-Super ở nồng độ 2% cho hiệu quả diệt tuyến trùng tốt nhất, tỷ lệ ấu trùng chết 98.57%. Thí nghiệm nhà lưới, tuyến trùng *T. semipenetrans* và các chế phẩm sinh học được đưa vào vùng rễ cây bưởi độ Hòa Bình trồng trong chậu đất vô trùng. Kết quả chỉ rõ ở công thức đối chứng CT0 (không có tuyến trùng) cây phát triển tốt, mật độ tuyến trùng trong đất giảm mạnh nhất ở CT5 (Chitosan-Super) tiếp đến là CT4 (AT+Ketomium), CT3 (AMF+EM) và CT1 (AMF), CT2 (EM); mật độ tuyến trùng trong rễ cao nhất ở CT5 là 132 ± 27 cá thể/5g rễ, còn ở CT1 không có tuyến trùng ký sinh trên rễ mặc dù trong đất có mật độ cao (2.424 ± 25 cá thể/250g đất). Kết quả nghiên cứu là cơ sở quan trọng giúp sử dụng hiệu quả chế phẩm sinh học trong phòng trừ tuyến trùng *T. semipenetrans* ký sinh trên cây có múi.

Từ khoá: Cây có múi, cam Cao Phong, chế phẩm sinh học, *Tylenchulus semipenetrans*.

*Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: tranthituyetthu@hus.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1094/vnuces.4433>

1. Mở đầu

Tuyến trùng ký sinh thực vật được biết đến là một trong những nguyên nhân gây bệnh chết chậm trên các loại cây ăn quả, cây công nghiệp lâu năm. Ở Việt Nam, tình trạng bệnh hại ngày càng phổ biến trong đất trồng cà phê, hồ tiêu ở Tây Nguyên, trồng cam quýt bưởi ở các tỉnh miền núi phía bắc, miền trung và đồng bằng sông Cửu Long [1, 2]. Quá trình bùng phát thành dịch do tuyến trùng ký sinh tại vùng rễ gây bệnh thối rễ ở cây, tăng nguy cơ xâm lấn của các loài nấm bệnh khác, giảm hút thu dinh dưỡng làm cây vàng lá, còi cọc, chết dần hàng loạt [3]. Nguyễn Vũ Thanh (2002) đã ghi nhận có 34 loài tuyến trùng ký sinh trên cây cam ngọt [3]. Trong số các loài tuyến trùng ký sinh trên cây cam, *Tylenchulus semipenetrans* (*T. semipenetrans*) là loài gây hại phổ biến và nghiêm trọng nhất, lên đến 90% diện tích đất trồng cam ở Texas, Arizona nước Mỹ, làm giảm năng suất tới 50%, có những vùng ở California và Florida lên đến 50-60% [4]. Tại vùng trồng cam Cao Phong, Hòa Bình, dịch bệnh do tuyến trùng đã gây một làn rộng, ước tính có hàng chục ha cam đang thời kỳ kinh doanh phải chặt bỏ trong 5 năm qua. Trịnh Quang Pháp và cộng sự (2016) đã ghi nhận có 9 loài tuyến trùng ký sinh thực vật, trong đó loài *T. semipenetrans* có tần suất bắt gặp cao nhất với 74.4% và số lượng cá thể nhiều nhất chiếm 96.34% trên tổng số loài xác định được [2].

Sử dụng nhiều loại hóa chất bảo vệ thực vật trong kiểm soát tuyến trùng và các bệnh hại thực vật đã để lại nhiều hệ quả trong sản xuất và môi trường [5]. Do vậy, vấn đề nghiên cứu ứng dụng chế phẩm sinh học trong kiểm soát và phòng trừ bệnh hại đang ngày càng phát triển.

Vi sinh vật đối kháng trong đất có vai trò quan trọng trong sản sinh các enzym đặc hiệu, các chất sinh trưởng thực vật, chất kháng sinh nhằm ức chế lại sự phát triển của sinh vật gây hại [6]. Một số vi sinh vật vùng rễ được ghi nhận ức chế quần thể tuyến trùng gồm các chi như: *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* và nấm *Trichoderma*, *Paecilomyces* (Trivedi và cs, 2011; Nguyễn Thị Duyên, 2019; Lê Thị Mai Linh và cs, 2015; Sikora và Kiewnick, 2006;

Khan và cs, 2004; Trương Thanh Thảo và cs, 2019) [6-10]. Các nhóm vi sinh vật này sản sinh ra các hoạt chất và enzym như chitinaza và proteaza có khả năng phân hủy lớp chitin bên ngoài trứng và tuyến trùng trưởng thành [10]. Hiệu quả kiểm soát tuyến trùng của nấm, xạ khuẩn tiết enzym chitinaza đã được chứng minh. Theo Trương Thanh Thảo và cộng sự (2019) đã phân lập được 6 chủng xạ khuẩn trong đất trồng rau tại đồng bằng sông Cửu Long, trong đó có 3 chủng có hiệu quả trong việc giết chết tuyến trùng *Pratylenchus* sp [11]. Lê Thị Mai Linh và cộng sự (2015) chứng minh nấm *Paecilomyces javanicus* có khả năng gây chết ấu trùng *Meloidogyne incognita* lên đến 75% so với đối chứng ở nồng độ 20% dịch nuôi cấy nấm (10^6 CFU/ml) [8]. Dịch nhân nuôi nấm *Lentinus squarrosulus* có khả năng tiêu diệt tuyến trùng *Meloidogyne incognita* và *Pratylenchus penetrans* [7]. Nấm rễ nội cộng sinh AMF (Arbuscular Mycorrhizal Fungi) có thể kích thích sự phát triển vùng rễ cây chủ, tăng hấp thu nước, dinh dưỡng khoáng, đẩy lùi bệnh dịch giúp cây phát triển khỏe mạnh, nâng cao năng suất và chất lượng sản phẩm thu hoạch. Một số nghiên cứu đã chỉ rõ tầm quan trọng của AMF đối với sức khỏe của rễ cây có múi trong việc chống lại sự xâm hại của tuyến trùng [11, 12].

Trước những vấn đề đặt ra, nghiên cứu này được thực hiện để khảo sát việc ứng dụng một số chế phẩm sinh học trong phòng trừ tuyến trùng *T. semipenetrans* trong đất trồng cây có múi ở Cao Phong, Hòa Bình. Với mục đích cung cấp cơ sở khoa học và thực tiễn quan trọng nhằm sử dụng hiệu quả các loại chế phẩm góp phần cắt giảm sử dụng hóa chất bảo vệ thực vật và bảo vệ độ phì sinh học đất.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu và thời gian thí nghiệm

- Chế phẩm sinh học (CPSH) gồm:

Chế phẩm EM (Effective Microorganisms) (Viện Công nghệ Sinh học, Đại học Quốc Gia Hà Nội) có thành phần gồm *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Trichoderma harzianum* và

một số sinh vật hữu hiệu khác. Mật độ tế bào 10^9 CFU/ml chế phẩm.

Chế phẩm AMF chứa bào tử nấm rễ cộng sinh với họ cam quýt và một số vi sinh vật đặc thù, được sản xuất tại Viện Thổ nhưỡng Nông hóa, mật độ 10^9 bào tử/g chế phẩm.

Các chế phẩm được bán trên thị trường, gồm:

Chế phẩm Chitosan-Super: Công ty cổ phần Jia Non Biotech (VN). Trong chế phẩm có chứa chitosan và enzym chitinaza.

Chế phẩm AT+Ketomium (Viện Di truyền Nông nghiệp): Trong chế phẩm chứa tổ hợp của 22 chủng *Chaetomium* spp. Mật độ tế bào 1.5×10^6 CFU/ml chế phẩm.

- Tuyến trùng *Tylenchulus semipenetrans* sử dụng trong thí nghiệm được phân lập từ đất trồng cam theo phương pháp của Nguyễn Ngọc Châu và Nguyễn Vũ Thanh (1992) trên cơ sở cải biên phương pháp lọc rây của Cobb (1918).

- Đất sử dụng trong thí nghiệm là đất xám Feralit được lấy tại vườn trồng giống cam Xã Đoài 17 năm (chính là vườn lấy đất để thu mẫu tuyến trùng) trên địa bàn thị trấn Cao Phong, huyện Cao Phong, tỉnh Hòa Bình. Sau đó, đất mang về Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội để xử lý sơ bộ trước khi trồng cây thí nghiệm bằng cách hấp khử trùng ở 121°C tại áp suất 1 atm, trong 1 giờ để vô trùng đất thí nghiệm.

- Cây thí nghiệm được ươm từ hạt bưởi, giống bưởi đỏ Hòa Bình là giống cây bản địa khỏe mạnh chuyên được sử dụng làm gốc ghép các mắt cam, quýt trồng phổ biến ở Cao Phong. Hạt bưởi được ươm trong các bầu đất đã khử trùng đến khi cây phát triển bộ rễ ổn định, chiều cao cây 13 ± 1.4 cm, bề rộng lá 23 ± 5.8 mm (sau 6 tháng) thì tiến hành gây nhiễm tuyến trùng.

Thời gian thực hiện toàn bộ thí nghiệm: Từ tháng 3/2017 đến tháng 5/2018.

2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

2.2.1. Thử nghiệm trong phòng thí nghiệm

Mục đích thí nghiệm: đánh giá trực tiếp khả năng tiêu diệt tuyến trùng của chế phẩm EM và

Chitosan-Super trong điều kiện phòng thí nghiệm dựa theo phương pháp được mô tả bởi Pau và cs (2012) có hiệu chỉnh [14]. Hai loại chế phẩm thương mại AMF và AT+Ketomium không tiến hành thử nghiệm trong điều kiện phòng thí nghiệm do các chủng vi sinh vật cần được bổ sung vào đất với thời gian đủ dài mới lây nhiễm vào vùng rễ và sản sinh hoạt chất sinh học để kiểm soát tuyến trùng.

Thí nghiệm được tiến hành theo 5 công thức tương ứng với 5 nồng độ chế phẩm khác nhau [14]. Đối với chế phẩm EM, mật độ tế bào thử nghiệm là $1,5 \times 10^5$, 3×10^5 , 6×10^5 , 9×10^5 , $1,2 \times 10^6$ (CFU/ml); nồng độ Chitosan-Super là 1, 2, 4, 6 và 8 (%). Bổ sung chế phẩm ở các nồng độ khác nhau vào đĩa petri đường kính 35 mm có chứa 200 ấu trùng *T. semipenetrans*. Theo dõi tỷ lệ chết của ấu trùng sau 24, 48, 72 và 96 (giờ) bằng kính hiển vi soi nổi Carl Zeiss. Duy trì nhiệt độ của các công thức thí nghiệm (CTTN) trong tủ định ôn ở nhiệt độ 25°C . Công thức đối chứng sử dụng nước cất vô trùng, mỗi CTTN lặp lại 3 lần.

2.2.2. Thử nghiệm trong điều kiện nhà lưới

Mục đích thí nghiệm: đánh giá khả năng tiêu diệt tuyến trùng của chế phẩm EM, AMF, Chitosan-Super và AT+Ketomium trong điều kiện nhà lưới dựa theo phương pháp được mô tả bởi Calvet và cs (1995) và Kepenekc và cs (2016) có hiệu chỉnh [15, 16].

Bố trí thí nghiệm trồng cây bưởi ở giữa mỗi chậu/bầu đất (20×30 cm) có chứa 3 kg đất đã vô trùng, mỗi CTTN được lặp lại 3 lần. Thành phần dinh dưỡng NPK tổng số và dễ tiêu trong đất được xác định ở mức giàu, đảm bảo cho sự phát triển của cây non trong suốt thời gian thí nghiệm (Bảng 1). Các chậu thí nghiệm đặt trong nhà lưới có mái che, $t = 30 \pm 5^\circ\text{C}$, duy trì độ ẩm đất là 30%.

Bảng 1. Tính chất đất trước thí nghiệm

pH _{KCl}	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
	(%)			(mg/100g đất)		
5,56	0,14	0,12	0,98	12,24	104,97	47,45

Gây nhiễm tuyến trùng *T. semipenetrans* vào trong chậu với tỷ lệ 5.000 cá thể/chậu bằng cách dùng đũa thủy tinh khoan 5 cm tại 4 vị trí cách đều nhau theo phương thẳng đứng của hình chiếu tán, sau đó dùng pipet 10ml bơm tuyến trùng vào các lỗ khoan và lấp đất lại. Sau 3 tháng gây nhiễm tuyến trùng, tiến hành bổ sung chế phẩm vào các CTTN, riêng chế phẩm AMF ở CT1 được bổ sung ngay tại thời điểm trồng cây. Thí nghiệm được bố trí như bảng 2 và hình 1.

Bảng 2. Phương pháp bố trí thí nghiệm trong chậu

Ký hiệu	Công thức thí nghiệm
CT0	Không bổ sung tuyến trùng và CPSH
CT1	Tuyến trùng + chế phẩm AMF 100 g/chậu
CT2	Tuyến trùng + chế phẩm EM 100 ml/chậu
CT3	Tuyến trùng + chế phẩm EM 100 ml/chậu + chế phẩm AMF 100 g/chậu
CT4	Tuyến trùng + AT và Ketomium 100 ml/chậu
CT5	Tuyến trùng + chế phẩm Chitosan-Super

Sau 3 tháng bổ sung chế phẩm, tiến hành lấy mẫu đất và rễ phân tích mật độ tuyến trùng. Tách và đếm tuyến trùng trong đất theo phương pháp lọc tñnh của Nguyễn Ngọc Châu và Nguyễn Vũ Thanh (1992) trên cơ sở cải biên phương pháp lọc rây của Cobb (1918); quan sát tuyến trùng ký sinh trên rễ thực vật bằng phương pháp nhuộm tuyến trùng sử dụng axit fuchsin theo Nguyễn Ngọc Châu (2003).

Bảng 3. Kết quả thí nghiệm ảnh hưởng của chế phẩm EM đến tỷ lệ chết (%) của ấu trùng *T. semipenetrans*

CTTN	Tỷ lệ chết (%) ấu trùng <i>T. semipenetrans</i>			
	Sau 24 giờ	Sau 48 giờ	Sau 72 giờ	Sau 96 giờ
ĐC (nước cất)	0±0 (a)	0±0 (a)	0±0 (a)	0±0 (a)
CT1 (10%)	0±0 (a)	0±0 (a)	0±0 (a)	0±0 (a)
CT2 (20%)	0±0 (a)	0±0 (a)	0±0 (a)	0±0 (a)
CT3 (40%)	0±0 (a)	0±0 (a)	0±0 (a)	0±0 (a)
CT4 (60%)	0±0 (a)	0±0 (a)	0±0 (a)	0±0 (a)
CT5 (80%)	0±0 (a)	0±0 (a)	0±0 (a)	0±0 (a)



Hình 1. Hình ảnh thí nghiệm chế phẩm sinh học phòng trừ tuyến trùng *T. semipenetrans*.

Xử lý số liệu: Số liệu sai khác giữa các công thức thí nghiệm được so sánh ANOVA sử dụng phần mềm Microsoft Excel và SPSS 22.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Hiệu quả phòng trừ tuyến trùng của chế phẩm sinh học trong điều kiện phòng thí nghiệm

Kết quả đánh giá hiệu quả phòng trừ tuyến trùng *T. semipenetrans* của chế phẩm EM và Chitosan-Super cho thấy chỉ có chế phẩm Chitosan-Super có khả năng tiêu diệt ấu trùng *T. semipenetrans* trong điều kiện phòng thí nghiệm, trong khi đó chế phẩm EM không có hiệu quả đối với việc tiêu diệt tuyến trùng (Bảng 3 và 4). Chế phẩm Chitosan-Super có chứa chitosan và enzym chitinaza có thể phân hủy lớp kitin bên ngoài tuyến trùng (Hình 2) [10].

Bảng 4. Kết quả thử nghiệm ảnh hưởng của chế phẩm Chitosan-Super đến tỷ lệ chết (%) của ấu trùng *T. semipenetrans*

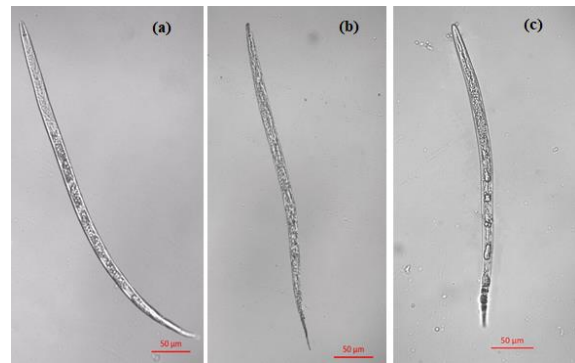
CTTN	Tỷ lệ chết (%) ấu trùng <i>T. semipenetrans</i>			
	Sau 24 giờ	Sau 48 giờ	Sau 72 giờ	Sau 96 giờ
ĐC (nước cất)	0±0 (a)	0±0 (a)	0±0 (a)	0±0 (a)
CT1 (1%)	19.05±1.76 (b)	28.75±0.94 (b)	42.34±1.34 (b)	51.98±3.97 (b)
CT2 (2%)	53.01±11.05 (c)	86.5±5.96 (c)	98.57±1.87 (c)	99.92±0.14 (c)
CT3 (4%)	99.41±0.56 (d)	100±0 (d)	100±0 (d)	100±0 (d)
CT4 (6%)	100±0 (d)	100±0 (d)	100±0 (d)	100±0 (d)
CT5 (8%)	100±0 (d)	100±0 (d)	100±0 (d)	100±0 (d)

Ghi chú: Số liệu trung bình trong bảng được chuyển sang hàm Asin $((x/100)^{1/2})$ trước khi xử lý thống kê. Các số trong cùng một cột, có chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa với $P < 0.05$.

Kết quả đánh giá hiệu quả của chế phẩm Chitosan-Super được trình bày trên bảng 4 cho thấy tỷ lệ chết của ấu trùng *T. semipenetrans* tăng tỷ lệ thuận với nồng độ chế phẩm bổ sung, sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các CTTN. Tỷ lệ chết cao nhất 100% đối với nồng độ 6% (CT4), 8% (CT5) và 99.41% ở nồng độ 4% (CT3) ngay sau 24 giờ lây nhiễm, sai khác không có ý nghĩa thống kê ở cả 3 công thức này. Ở CT1 tỷ lệ ấu trùng chết tăng dần theo thời gian thí nghiệm, sau 96 giờ tỷ lệ chết đạt trên 50%. Tỷ lệ (%) ấu trùng chết ở CT2 đạt trên 50% sau 24 giờ, sau đó tăng nhanh sau 48 giờ (86.5%) và sau 96 giờ là 99.92%. Trong môi trường nước cất (Công thức đối chứng) cho thấy ấu trùng *T. semipenetrans* không bị chết kể cả sau 96 giờ thử nghiệm. Tỷ lệ chết của ấu trùng ở các CT1, CT2 và CT3 khác biệt hoàn toàn so với đối chứng. Như vậy, ở nồng độ chế phẩm Chitosan-Super 2% cho hiệu quả cao trong việc gây chết ấu trùng *T. semipenetrans*. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Trương Thanh Thảo và cộng sự (2019), Nguyễn Thị Duyên (2019), Khan và cộng sự (2004) về tác dụng của chitosan và enzym chitinaza trong kiểm soát tuyến trùng [11, 7, 10].

3.2. Hiệu quả phòng trừ tuyến trùng của chế phẩm sinh học trong điều kiện nhà lưới

Kết quả thử nghiệm ảnh hưởng của một số chế phẩm sinh học đến mật độ tuyến trùng *T. semipenetrans* trong điều kiện nhà lưới được



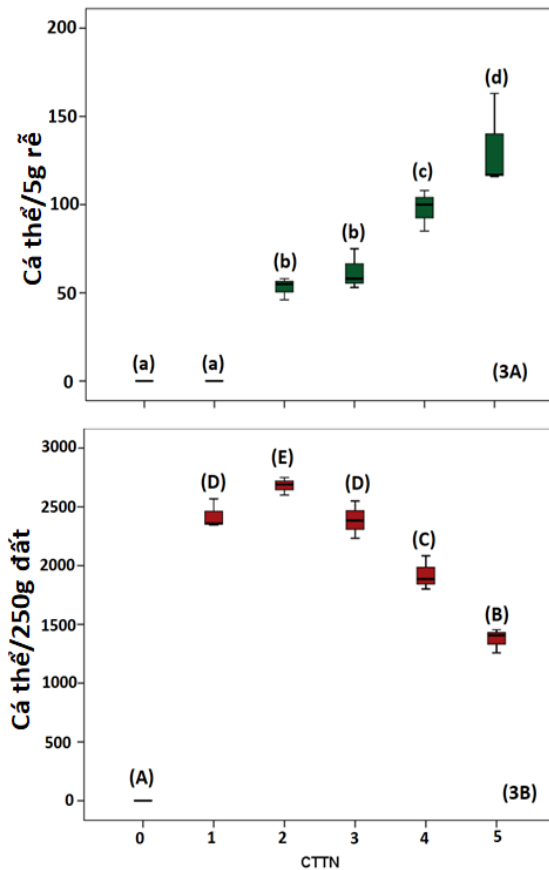
Hình 2. Ảnh chụp kính hiển vi tuyến trùng *T. semipenetrans* còn sống (a) và chết do tác động của chế phẩm Chitosan-Super sau 24h (b) và 48h (c).

trình bày tại hình 3. Mật độ tuyến trùng trong rễ tăng dần theo thứ tự $CT0 \approx CT1 < CT2 \approx CT3 < CT4 < CT5$, trong khi đó mật độ tuyến trùng trong đất tăng dần theo thứ tự $CT0 < CT5 < CT4 < CT1 \approx CT3 < CT2$, sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các CTTN.

Nhận thấy ở CT1 lây nhiễm AMF trước 6 tháng bổ sung tuyến trùng có mật độ tuyến trùng trong đất cao (2.424 ± 125 cá thể/250g đất), trong khi đó không thấy sự xuất hiện tuyến trùng ký sinh trên rễ cây. Nấm Mycorrhiza sản sinh ra các hoạt chất kháng sinh, từ đó giúp kiểm soát tuyến trùng xâm lấn vào rễ và xung quanh vùng rễ cây chủ (Dẫn theo Ortas, 2012) [13]. Như vậy, ấu trùng *T. semipenetrans* khó có thể xâm nhập và ký sinh trên rễ cây bưởi.

Ngược lại, công thức bổ sung chế phẩm Chitosan-Super có mật độ tuyến trùng trong đất

thấp nhất (1.373 ± 102 cá thể/250g đất) nhưng mật độ tuyến trùng trong rễ lại cao nhất (132 ± 27 cá thể/5g rễ) so với các công thức khác. Chế phẩm Chitosan-Super có hiệu quả trong việc tiêu diệt tuyến trùng bằng cách phân hủy trực tiếp lớp kitin của tuyến trùng [10]. Nhưng chế phẩm Chitosan-Super không có tác dụng đối với tuyến trùng đã xâm nhập vào trong rễ trái ngược với nghiên cứu của Spiegel và cs (1989) [17]. Như vậy, đối với chế phẩm Chitosan-Super nên sử dụng trước khi trồng cây hoặc gia tăng số lần sử dụng để tăng hiệu quả phòng trừ đối với chủng tuyến trùng *T. semipenetrans* ở Hòa Bình.



Hình 3. Biểu đồ về mật độ tuyến trùng *T. semipenetrans* trong rễ (3A) và trong đất (3B). Các chữ cái viết thường khác nhau là sai khác về mật độ tuyến trùng trong rễ, các chữ cái viết hoa là sai khác về mật độ tuyến trùng trong đất giữa các CTTN với $P < 0.05$.

Chế phẩm EM gồm các vi sinh vật hữu hiệu, trong đó bao gồm *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Trichoderma harzianum* có khả năng sản sinh ra hoạt chất kháng sinh và enzym thủy phân tiêu diệt tuyến trùng [6, 18, 19]. Kết quả nghiên cứu cho thấy, mật độ tuyến trùng trong đất ở công thức bổ sung chế phẩm EM cao nhất, lên đến 2.680 ± 76 cá thể/250 g đất, mật độ tuyến trùng trong rễ ở mức trung bình so với các công thức thí nghiệm khác, 53 ± 6 cá thể/5g rễ.

Chế phẩm AT+Ketomium thương mại được sử dụng phổ biến tại vùng trồng cam để phòng trừ các bệnh vùng rễ thực vật. Ở CT4 có bổ sung chế phẩm này có mật độ tuyến trùng trong đất và trong rễ ở mức trung bình so với các công thức khác. Trong chế phẩm AT+Ketomium chứa 22 chủng vi sinh vật có khả năng sản sinh hoạt chất kháng sinh Chaetoglobosin C, Chaetoviridins A và B và các enzym chitinaza và β -1,3-glucanaza làm phá hủy màng tế bào, giúp tiêu diệt tuyến trùng [20, 21].

Kết quả đánh giá mức độ phát triển của cây khi bổ sung các loại chế phẩm khác nhau được trình bày tại bảng 4 cho thấy không có sự khác biệt rõ rệt giữa các CTTN về chiều cao của cây, chiều rộng lá và khối lượng rễ.

Bảng 5. Một số chỉ tiêu của cây bưởi nghiên cứu trong điều kiện nhà lưới

CTTN	Chiều cao cây (cm)	Bề rộng lá (mm)	Khối lượng rễ (g)
CT0	23.67 (a)	31.67 (ab)	12 (a)
CT1	21.67 (a)	30 (a)	13 (ab)
CT2	20.33 (a)	31.33 (ab)	13.33 (ab)
CT3	31.33 (b)	35 (b)	16 (b)
CT4	23 (a)	31.67 (ab)	15.67 (b)
CT5	21.33 (a)	31.67 (ab)	13.33 (ab)

Ghi chú: Số liệu trình bày trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Các số trong cùng một cột có chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa với $P < 0.05$.

Từ số liệu ở bảng 5 cho thấy CT3 có chiều cao cây lên đến 31.33 ± 2.32 cm, cao hơn 1.3 lần so với công thức đối chứng (CT0-không bổ sung tuyến trùng và chế phẩm sinh học), sai khác có ý

nghĩa thống kê. CT3 có bổ sung cả chế phẩm EM và AMF là những chế phẩm có thể đóng vai trò quan trọng sản sinh ra các chất sinh trưởng, enzym đối kháng giúp thúc đẩy sự phát triển của cây, vì vậy cây bưởi phát triển tốt hơn so với CTTN khác [22]. Khi nghiên cứu trên cây lúa, Hee và cộng sự (2011), đã sử dụng chế phẩm EM giúp tăng chiều cao cây và năng suất 16% so với mức trung bình [23].

4. Kết luận

Trong điều kiện phòng thí nghiệm, nồng độ chế phẩm Chitosan-Super và thời gian sau xử lý tỷ lệ thuận với tỷ lệ chết của tuyến trùng *T. semipenetrans*. Theo thời gian, nồng độ chế phẩm tăng thì tỷ lệ chết của tuyến trùng tăng. Nồng độ sử dụng chế phẩm Chitosan-Super hiệu quả nhất với 2% đạt tỷ lệ chết 86.5; 98.57 và 99.9 (%) sau 48, 72 và 96 giờ theo dõi.

Trong điều kiện nhà lưới, chế phẩm Chitosan-Super làm giảm mật độ tuyến trùng trong đất nhưng lại tăng tuyến trùng trong rễ; AMF ngăn chặn sự xâm nhập của tuyến trùng trong rễ, không xuất hiện tuyến trùng sau lây nhiễm; Bổ sung EM và AMF tăng khả năng phát triển của cây và không tăng mật độ tuyến trùng trong đất và rễ.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được hoàn thành dưới sự tài trợ của đề tài Đại học Quốc Gia Hà Nội mã số QG 16.19.

Tài liệu tham khảo

[1] V.A. Tu, T.Q. Phap, N.V. Toan, Plant nematodes associated to replanting coffee in Basalt soil and their correlation with yellow leaf symptom in Gia Lai, Science and Technology Journal of Agricultural & Rural Development 1 (2014) 36-43. (in Vietnamese).

[2] T.Q. Phap, N.T. Thao, T.T.T. Thu, N.H. Tien, T.T.H. Anh, Distribution Characteristics of Plant Parasitic Nematodes in Citrus Growing Soil in Cao

Phong, Hoa Binh, JS: ESS 32 (2016) 1-8 (in Vietnamese).

[3] N.V. Thanh, Fruit-trees parasitic nematodes and control methods, Science and Technics Publishing House, 2002 (in Vietnamese)

[4] S.A. Subbotin, J.J. Chitambar, Chapter 5: Plant Parasitic Nematodes of New Mexico and Arizona, S. H. Thomas, C. Nischwitz, Plant Parasitic Nematodes in Sustainable Agriculture of north America, Springer (2018) 113–130. https://doi.org/10.1007/978-3-319-99585-4_5.

[5] P.V. Toan, The situation of pesticide use and several of reduced measures for improper pesticide use in rice production in the Mekong Delta, Can Tho University Journal of Science 28 (2013) 47–53 (in Vietnamese).

[6] Z. A. Siddiqui, I. Mahmood, Role of bacteria in the management of plant parasitic nematodes: A review, Bioresour. Technol. 69 (1999) 167–179. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(98\)00122-9](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00122-9).

[7] N.T. Duyen, Plant-parasitic nematodes on carrots in Vietnam and testing biological measures in controlling them, PhD thesis, Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, 2019 (in Vietnamese).

[8] L.T.M. Linh, N.T. Duyen, T.Q. Phap, N.T.P. Anh, and P.V. Ty, Biological control of *Meloidogyne incognita* on Coffee by *Paecilomyces javanicus*, Vietnam Journal of Biotechnology 13 (2015) 421–424 (in Vietnamese).

[9] R. Sikora, S. Kiewnick, Evaluation of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 for the biological control of the northern root-knot nematode *Meloidogyne hapla* Chitwood, Nematology 8 (2006) 69–78. <https://doi.org/10.1163/156854106776179926>.

[10] A. Khan, K.L. Williams, H.K.M. Nevalainen, Effects of *Paecilomyces lilacinus* protease and chitinase on the eggshell structures and hatching of *Meloidogyne javanica* juveniles, Biol. Control, 31 (2004) 346–352. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2004.07.011>.

[11] T.T. Thao, V.Q. Canh, N.T.T. Nga, Isolation and selection of promising antagonistic *Actinomyces* against nematodes *Pratylenchus* sp. in laboratory condition, Can Tho University Journal of Science 55 2B (2019) 19–27 (in Vietnamese).

[12] P.P.S. Baghel, D.S. Bhatti, and B.L. Jalali, Interaction of VA mycorrhizal and *Tylenchulus semipenetrans* on citrus. In: Jalali BL, Chand H (eds) Current trends in mycorrhizal research. Proc Natl Conf on Mycorrhiza, Hisar, India, 1990.

[13] I. Ortas, Mycorrhiza in citrus: growth and

- nutrition. In Srivastava, A.K. (Ed.), *Advances in Citrus Nutrition*. Springer Science+Business Media B.V., Berlin, Heidelberg, 2012.
- [14] S.G. Pau, S. Leong, C. Teck, S.K. Wong, L. Eng, M. Jiwan, N.M. Majid, Isolation of Indigenous Strains of *Paecilomyces lilacinus* with Antagonistic Activity against *Meloidogyne incognita*, *Int. J. Agric. Biol.* 2 (2012).
- [15] C. Calvet, J. Pinochet, A. Camprubí, C. Fernández, Increased tolerance to the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* in mycorrhizal micropropagated BA-29 quince rootstock, *Mycorrhiza* 5 (1995) 253-258. <https://doi.org/10.1007/BF00204958>.
- [16] İ.İ. Kepenekç, D.E.Ğ.U.Ş, Effects of some plant extracts on root-knot nematodes invitro and invivo conditions, *Turkish J. Entomol.*, 40 (2016) 3–14.
- [17] Y. Spiegel, E. Cohn, I. Chet, Use of Chitin for Controlling *Heterodera avenae* and *Tylenchulus semipenetrans*, *J. Nematol.*, 21 (1989) 419–41922.
- [18] M. Abd-Elgawad, N. El-Mougy, N. El-Gamal, M. Abdel-Kader, and M. Mohamed, Protective treatments against soilborne pathogens in citrus orchards, *J. Plant Prot. Res.*, 50 (2010) 477–484. <https://doi.org/10.2478/v10045-010-0079-0>.
- [19] H.H.M. Al Ajrami, Evaluation the Effect of *Paecilomyces lilacinus* as a Biocontrol Agent of *Meloidogyne javanica* on Tomato in Gaza Strip, *Islam. Univ. Res. Postgrad. Aff. Fac. Sci.*, 2016.
- [20] N.V. Thiep, N.H. La, P.H. Quang, N.T.T. Ha, Study on antifungal activities of *Chaetomium globosum* in major fungal pathogens of tea, Second National Conference on Crop Science, VAAS (2016) 1003–1007 (in Vietnamese).
- [21] W. Zhou, J.L. Starr, J.L. Krumm, G.A. Sword, The fungal endophyte *Chaetomium globosum* negatively affects both above and belowground herbivores in cotton, *FEMS Microbiol. Ecol.* 92 (2016) 1–22. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw158>.
- [22] Y. Yang, X. Han, Y. Liang, A. Gosh, J. Chen, and M. Tang, The combined effects of Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and lead (Pb) stress on Pb accumulation, plant growth parameters, photosynthesis, and antioxidant enzymes in *Robinia pseudoacacia* L., *PLoS One* 10 (2015) 12.
- [23] M.Y. Hee, L.K. Bae, K.Y. Jun, K.Y. Mo, Current Status of EM (Effective Microorganisms) Utilization, *KSBB Journal*, Korean Soc. Biotechnol. Bioengineering 26 (2011) 365–373.