

HIỆU QUẢ KIỂM SOÁT BỆNH CỦA VI KHUẨN ĐỐI KHÁNG TRIỂN VỌNG BẢN ĐỊA ĐỐI VỚI *Xanthomonas* spp. GÂY BỆNH ĐỐM LÁ TRÊN CÂY HOA HỒNG (*Rosa* spp.) TRONG ĐIỀU KIỆN NHÀ LƯỚI

Lê Uyển Thanh^{1,2,*}, Tô Lan Phương¹,

Trần Đình Giới³, Nguyễn Đức Độ²

TÓM TẮT

Xanthomonas spp. gồm ba dòng XR13, XR9, XR18 gây bệnh đốm lá trên cây hoa hồng (*Rosa* spp.) được lấy nhiễm riêng biệt trong điều kiện nhà lưới nhằm đánh giá hiệu quả kiểm soát bệnh của ba dòng vi khuẩn đối kháng triển vọng G24, X61 (*Bacillus subtilis*) và T265 (*Paenibacillus elgii*). Kết quả ghi nhận việc xử lý trước với vi khuẩn đối kháng đều đạt hiệu quả kiểm soát bệnh cao. Trong đó, dòng X61 và T265 có hiệu quả giảm bệnh tương đồng nhau, dao động tương ứng từ 63,5% đến 66,1% (khi lấy nhiễm dòng XR9) và từ 65,3% đến 65,9% (khi lấy nhiễm dòng XR18). Ngược lại, khi lấy nhiễm dòng XR13, xử lý dòng T265 đạt hiệu quả giảm bệnh (63,5%), cao hơn khi xử lý với dòng X61 (60,1%). Với hiệu quả kiểm soát bệnh cao nhất, dòng G24 đạt hiệu quả giảm bệnh lần lượt đạt 74,8%, 74,1% và 85,8%, tương ứng khi lấy nhiễm riêng biệt các dòng XR13, XR9, XR18. Kết quả phân tích mức độ bệnh qua chỉ số AUDPC cũng ghi nhận hiệu quả tương tự khi cả ba dòng vi khuẩn đối kháng đều ghi nhận chỉ số AUDPC thấp hơn từ 2,4 lần đến 4,7 lần so với đối chứng chỉ lấy nhiễm bệnh. Trong đó, dòng G24 đạt chỉ số AUDPC lần lượt là 51,6%, 36,3%, và 15,5%, tương ứng khi lấy nhiễm với dòng XR13, XR9, XR18 thấp hơn từ 1,6 lần đến 2,7 lần so với hai dòng X61 và T265. Nhìn chung, có thể sử dụng ba dòng vi khuẩn đối kháng G24, X61, T265 để kiểm soát bệnh này vì chúng có khả năng kiểm soát sự phát triển triệu chứng, mức độ bệnh qua hiệu quả giảm bệnh và chỉ số AUDPC. Trong đó, dòng G24 đạt hiệu quả kiểm soát bệnh cao nhất so với hai dòng X61, T265 và có thể được sử dụng cho các thử nghiệm ngoài đồng ruộng.

Từ khóa: Cây hoa hồng, chỉ số AUDPC, hiệu quả giảm bệnh, vi khuẩn đối kháng *Xanthomonas* spp..

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh đốm lá vi khuẩn trên cây hoa hồng do *Xanthomonas* spp. gây ra [4], [10] được ghi nhận tại làng hoa Sa Đéc, tỉnh Đồng Tháp. Chúng thường kết hợp thành các vết đốm trên lá, hình thành quầng vàng xuất hiện xung quanh vết bệnh. Những vết bệnh này dẫn đến cháy lá, hoại tử và rụng lá sớm làm giảm khả năng quang hợp, giảm giá trị cây cảnh và gây thiệt hại về kinh tế cho người nông dân [2]. Do khả năng tăng sinh nhanh chóng và các vấn đề phát sinh về sức khỏe, môi trường, phát sinh các dòng bệnh kháng thuốc khi kiểm soát bằng các hợp chất hóa học trừ bệnh, đã dẫn đến mức độ thiệt hại nghiêm trọng cho các nhà vườn, khiến bệnh này trở thành một trở ngại rất lớn cho nghề trồng hoa hồng. Một giải pháp thay thế bền vững hơn để kiểm soát

bệnh này là kiểm soát mầm bệnh bằng vi sinh vật đối kháng [3], [12]. Nghiên cứu này ghi nhận hiệu quả kiểm soát bệnh trong điều kiện nhà lưới của ba dòng vi khuẩn đối kháng triển vọng *Bacillus subtilis* G24, X61 và *Paenibacillus elgii* T265 [9] được tuyển chọn gần đây nhằm mục đích tìm ra dòng vi sinh vật có khả năng kiểm soát bệnh sinh học đối với *Xanthomonas* spp. trên cây hoa hồng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Ba dòng vi khuẩn đối kháng (*Bacillus subtilis* G24, X61 và *Paenibacillus elgii* T265) được phân lập và tuyển chọn từ mẫu đất thu thập ở ba vùng sinh thái đại diện tại tỉnh Đồng Tháp, gồm Khu du lịch sinh thái Gáo Giồng, Khu di tích lịch sử văn hóa Xẻo Quýt, Vườn Quốc gia Tràm Chim [9]. Ba dòng vi khuẩn gây bệnh *Xanthomonas* spp. (XR13, XR9 và XR18) được phân lập từ vết bệnh đốm lá cây hoa hồng (*Rosa* spp.) tại làng hoa Sa Đéc, tỉnh Đồng Tháp và được lưu giữ tại Trường Đại học Đồng Tháp. Môi trường nuôi cấy vi sinh vật như dung dịch Saline

¹ Trường Đại học Đồng Tháp

² Trường Đại học Cần Thơ

³ Viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long

*Email: uyenthanh0809@gmail.com

peptone; môi trường King's B. Cây hoa hồng lửa được trồng trong nhà lưới và cắt cành vào 7 ngày trước khi thử nghiệm.

2.2. Phương pháp

2.2.1. *Đánh giá hiệu quả kiểm soát bệnh đốm lá vi khuẩn trên cây hoa hồng của ba dòng vi khuẩn đối kháng triển vọng trong điều kiện nhà lưới*

Nhằm chọn ra được dòng vi khuẩn triển vọng có hiệu quả cao nhất trong phòng trừ bệnh đốm lá vi khuẩn trên cây hoa hồng, thí nghiệm đánh giá hiệu quả kiểm soát bệnh của ba dòng vi khuẩn đối kháng triển vọng (*Bacillus subtilis* G24, X61 và *Paenibacillus elgii* T265) đối với ba dòng *Xanthomonas* spp. (XR13, XR9, XR18) gây bệnh đốm lá trên cây hoa hồng.

Khi lây nhiễm mỗi dòng vi khuẩn gây bệnh trong điều kiện nhà lưới, thí nghiệm được bố trí với 5 nghiệm thức (NT) với 3 lần lặp lại; mỗi lần lặp lại trên 4 cây hoa hồng lửa. Gồm NT 1: Không xử lý vi khuẩn đối kháng và không lây bệnh nhân tạo; NT 2: Lây bệnh nhân tạo bằng một trong ba dòng *Xanthomonas* spp. được chọn; NT 3, 4, 5: Xử lý vi khuẩn đối kháng triển vọng lần lượt là *B. subtilis* G24, *B. subtilis* X61, *Paenibacillus elgii* T265, sau đó 2 ngày tiến hành lây nhiễm bệnh với dòng *Xanthomonas* spp. đã sử dụng ở nghiệm thức 2.

Cách thức tiến hành:

Chuẩn bị cây hoa hồng: Giá thể là rơm hoai mục được thanh trùng phân đoạn, với chậu nhựa trồng có đường kính 15 cm, tưới ẩm và trồng bầu ươm (1 cây/chậu), mỗi nghiệm thức trồng 4 chậu tương đương với 1 lần lặp lại, sau khi trồng 20 ngày thì cắt cành và sau 7 ngày bắt đầu bố trí thí nghiệm.

Chuẩn bị nguồn vi khuẩn gây bệnh: Dòng *Xanthomonas* spp. được nuôi cấy trên môi trường King's B trong 48 giờ cho khuẩn lạc phát triển, sau đó cho nước cất thanh trùng vào đĩa và thu huyền phù vi khuẩn, pha loãng để tạo huyền phù vi khuẩn đến mật độ 10^8 CFU/mL.

Chuẩn bị nguồn vi khuẩn đối kháng: 3 dòng vi khuẩn triển vọng được nhân mật số trong 24 giờ, sau đó thu hoạch huyền phù vi khuẩn, tiến hành pha loãng về mật số 10^7 CFU/mL.

Phương pháp xử lý vi khuẩn đối kháng: Phun huyền phù từng dòng vi khuẩn tương ứng với từng nghiệm thức vào lá (5 mL/cây) vào buổi chiều lúc 17 giờ.

Phương pháp lây bệnh nhân tạo: Sau khi phun vi khuẩn đối kháng 48 giờ, tiến hành lây bệnh nhân tạo bằng cách phun huyền phù vi khuẩn *Xanthomonas* spp. đã được chuẩn bị lên lá (5 mL/cây).

Chỉ tiêu ghi nhận: Theo dõi và quan sát triệu chứng bệnh. Khi triệu chứng bệnh xuất hiện, tiến hành ghi nhận tỷ lệ bệnh và cấp độ bệnh cách bốn ngày một lần, kết thúc khi tỷ lệ bệnh sau 16 ngày theo dõi. Cách tính tỷ lệ bệnh (disease incidence - DI), chỉ số bệnh (severity index - SI) như sau:

DI (%) = (Số lá bị nhiễm bệnh) / (Tổng số lá điều tra).

SI (%) = $[(N_1 \times 1) + (N_3 \times 3) + (N_5 \times 5) + \dots + (N_n \times n)] / N \times 100$.

Trong đó, cấp bệnh được đánh giá theo diện tích lá bị nhiễm bệnh với N_1 là số lá bị nhiễm bệnh ở cấp 1 tương ứng cấp bệnh thấp hơn (<) 1% diện tích lá bị nhiễm bệnh; N_3 là số lá ở cấp 3 tương ứng cấp bệnh từ 1% đến 5% diện tích lá bị nhiễm bệnh; N_5 là số lá ở cấp 5 tương ứng cấp bệnh cao hơn 5% đến 25% diện tích lá bị nhiễm bệnh; N_7 là số lá ở cấp 7 tương ứng cấp bệnh cao hơn (>) 25% đến 50% diện tích lá bị nhiễm bệnh; N_n là số lá bị bệnh ở cấp n tương ứng cấp bệnh cao hơn (>) 50% diện tích lá bị nhiễm bệnh; với n là cấp bệnh cao nhất (cấp 9) và N là tổng số lá điều tra [6], [11].

Chỉ số diện tích bên dưới đường cong tiến triển bệnh AUDPC (Area Under Disease Progressive Curve). AUDPC được tính theo công thức của Jeger và Viljanen-Rollinson (2001) [7]:

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} 0,5[(X_{i+1} + X_i)] \times (t_{i+1} - t_i)$$

Trong đó: i là lần theo dõi bệnh thứ i , n là tổng số lần theo dõi bệnh; X_i là chỉ số bệnh (%) được ghi nhận ở ngày thứ i , t_i là thời điểm đánh giá thứ i (tính bằng ngày kể từ ngày đánh giá đầu tiên).

Hiệu quả giảm bệnh được tính theo công thức của Abbott (1925) [1]: HQGB (%) = $[(C - T) : C] \times 100$.

Trong đó: C là tỷ lệ bệnh ở nghiệm thức chỉ lây nhiễm bệnh dòng *Xanthomonas* spp.; T là tỷ lệ bệnh ở nghiệm thức thí nghiệm có xử lý khuẩn đối kháng và lây nhiễm bệnh dòng *Xanthomonas* spp. tương ứng.

2.2.2. Phương pháp phân tích thống kê

Số liệu được xử lý bằng Microsoft Excel và phân tích bằng phần mềm MINITAB phiên bản 16.1. Các giá trị khác biệt có ý nghĩa được phân tích bằng phép thử Tukey's với xác suất là 5% ($P = 0,05$).