

PHÂN LẬP VÀ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG CỦA CÁC CHŨNG NẤM TỪ ĐẤT NÔNG NGHIỆP

Lê Thanh Toàn*, Phạm Văn Hương

Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ, Đường 3/2, Ninh Kiều, Cần Thơ, Việt Nam

* Tác giả liên hệ Lê Thanh Toàn <ltoan@ctu.edu.vn>
(Ngày nhận bài: 19-05-2020; Ngày chấp nhận đăng: 12-11-2020)

Tóm tắt. Các tác giả đã phân lập được 39 chủng nấm từ đất vườn trồng cây có múi, trong đó 7 chủng nấm rễ và vùng rễ có khả năng đối kháng tốt với *Fusarium solani* và 8 chủng nấm rễ và vùng rễ đối kháng tốt với *Rhizoctonia solani* và đều đạt hiệu quả đối kháng trên 60% ở ngày thứ bảy sau đặt khoanh nấm. Trong đó, chủng nấm *Penicillium citrinum* – một loại nấm rễ nội sinh trong rễ cây trồng – cho hiệu quả đối kháng 60,63% với *F. solani* và 73,13% với *R. solani*.

Từ khóa: *Fusarium solani*, nấm rễ, phân lập, *Rhizoctonia solani*

Isolation and assessment of antagonistic ability of Mycorrhizae from agricultural soil

Le Thanh Toan*, Pham Van Huong

College of Agriculture, Can Tho University, 3/2 St., Ninh Kieu, Can Tho, Vietnam

* Correspondence to Le Thanh Toan <ltoan@ctu.edu.vn>
(Received: 19 May 2020; Accepted: 12 November 2020)

Abstract. The authors isolated 39 fungal species from soil planting citrus trees. Seven fungi have high antagonistic efficacy against *Fusarium solani*, and eight fungi are effective in inhibiting the growth of *Rhizoctonia solani*. These fungi have antagonistic efficacy values of more than 60% on the 7th day after applying fungal slices. Among the effective isolates, *Penicillium citrinum* – a kind of Mycorrhizae – has an antagonistic efficacy of 60.63% toward *F. solani* and 73.13% toward *R. solani*.

Keywords: *Fusarium solani*, isolation, Mycorrhizae, *Rhizoctonia solani*

1 Đặt vấn đề

Cam, quýt, chanh, bưởi thuộc nhóm cây ăn quả chủ lực, có lịch sử phát triển lâu đời và được trồng trên khắp các vùng sinh thái của Việt Nam. Trái cây có múi là một trong những mặt hàng xuất khẩu chủ lực, cũng như có nhu cầu tiêu thụ trong

nước cũng rất lớn [1]. Tuy nhiên, việc sản xuất quả có múi ở Việt Nam còn nhiều khó khăn cần được giải quyết. Hiện tại, việc áp dụng các tiến bộ kỹ thuật trong sản xuất trái cây có múi như kỹ thuật cắt tỉa, tạo tán, kỹ thuật bón phân, kỹ thuật tưới nước và quản lý độ ẩm đất ở các vùng trồng cam quýt còn hạn chế và ít kinh nghiệm; việc quản lý

sâu, bệnh hại luôn gặp nhiều khó khăn [2]. Việc tìm kiếm các loài vi sinh vật có hiệu quả giúp thúc đẩy quá trình phát triển của rễ, hấp thu dinh dưỡng, tăng trưởng, năng suất và khả năng chống chịu sâu bệnh hại đã thúc đẩy các nhà nghiên cứu khám phá ra khả năng sử dụng nấm rễ và áp dụng trong sản xuất các loài cây trồng khác nhau. Nhóm nấm rễ đóng một vai trò cơ bản tác động lên năng suất và sự ổn định của hệ sinh thái nông nghiệp, tạo ra một tiềm năng lớn cho nông nghiệp bền vững.

Khoảng 100.000 loài nấm trong đất đã được các nhà khoa học phát hiện và mô tả, trong đó phần lớn tập trung ở tầng đất canh tác [3]. Trong tầng đất này, bên cạnh nấm gây bệnh cho cây trồng còn có mặt các loài nấm có lợi. Một số loài nấm rễ đã được nghiên cứu và cho thấy khả năng kiểm soát tốt mầm bệnh trong đất do nấm *Fusarium*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia* và *Sclerotium*, nhờ đó hạn chế thất thu năng suất cho cây trồng. Nhờ đặc tính này, nấm rễ có thể được sử dụng nhằm hạn chế lượng phân bón và thuốc hóa học trong canh tác nông nghiệp. Khade [4] đã công bố 17 loài nấm rễ từ 7 giống chuối được lấy mẫu từ ba địa điểm ở bắc Goa, Ấn Độ. Trong đó, *Glomus* chiếm ưu thế về loài (13), tiếp theo là *Acaulporpora* (3 loài) và *Gigaspora* (1 loài). Soares và cs. [5] đã xác định được 9 loài nấm rễ bản địa là *R. clarus*, *G. spurcum*, *S. fulgida*, *G. macrocarpum*, *G. invermaium*, *A. colombiana*, *S. pellucida*, *A. appendiculata* và *S. heterogama* từ một đồn điền trái cây ở Brazil, với *R. clarus* và *G. spurcum* là những loài chiếm ưu thế nhất. Tương tự, Singh và Prasad [6] đã quan sát quần thể bào tử trong các vườn vải từ Uttar Pradesh và công bố sự có mặt của các loài nấm rễ thuộc bốn chi *Glomus*, *Gigaspora*, *Rhizophagus* và *Acaulporpora*. Nấm rễ có vai trò ngày càng quan trọng trong hệ thống sản xuất nhỏ, vì nhiều vườn nhỏ nhận được ít nước và được trồng trên đất kém màu mỡ [7]. Sự cộng sinh của nấm rễ vào rễ cây nhỏ ảnh hưởng đến tăng trưởng, tăng cường hấp thu dinh dưỡng và cải thiện khả năng chịu hạn [8]. Sumorok và cs. [9] đã xác định được 8 loài nấm

gồm *G. pentatum*, *F. caledonium*, *C. claroideum*, *F. constrictum*, *R. iruutyis*, *G. macrocarpum*, *F. mosseae* và *Gi. margarita* trong đất vùng rễ của giống táo 'Gold Milenium' từ Ba Lan. Sarwade và cs. [10] đã công bố quần thể nấm *Acaulospora squamosa* từ Maharashtra, Ấn Độ, với *A. squamosa* là loài ưu thế. Sukhada [11] đã nghiên cứu sự đa dạng của nấm rễ ở rễ cây xoài và tìm thấy *Glomus* và *Acaulporpora* là chi chính trong vùng rễ, với *R. fasciculatus* và *F. mosseae* là hai loài nấm rễ chiếm ưu thế. Do đó, nghiên cứu này đã được thực hiện nhằm phân lập và xác định khả năng đối kháng với nấm bệnh của các chi nấm bản địa có trong đất vườn cây có múi tại thành phố Cần Thơ và đây có thể coi là bước đầu của nghiên cứu sử dụng nấm rễ như một chế phẩm sinh học.

2 Phương tiện và phương pháp

2.1 Phương tiện

Nấm *F. solani* gây bệnh vàng lá thối rễ và *R. solani* gây bệnh lở cổ rễ trên nhóm cây cam quýt do Phòng thí nghiệm Phòng trừ Sinh học, Bộ môn Bảo vệ Thực vật, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ cung cấp.

2.2 Phương pháp thu mẫu và phân lập

Nguồn nấm rễ và vùng rễ được phân lập từ 150 mẫu đất nông nghiệp với hai lần thu thập từ các vườn cây có múi khác nhau tại Cần Thơ. Các mẫu đất để phân lập nấm rễ và vùng rễ được thu thập ở độ sâu 5–20 cm (500 g/mẫu) xung quanh gốc cây trồng khỏe ở các vườn cây có múi nhiều năm tuổi. Các mẫu đất được đựng trong túi nilon, dán nhãn, mang về phòng thí nghiệm và được phân lập ngay. Nấm rễ và vùng rễ được phân lập theo phương pháp của Kumar và cs. [12]. Theo đó, nấm vùng rễ được thu thập bằng cách pha loãng 1 g đất ở các nồng độ 1×10^{-1} , 1×10^{-2} , 1×10^{-3} trong nước cất vô trùng. Tiếp theo, 20 μ L dung dịch đã pha loãng ở các nồng độ 1×10^{-2} và 1×10^{-3} được lấy và chà lên

đĩa môi trường. Các đĩa được giữ ở nhiệt độ phòng trong 96 giờ. Tàn nấm khác nhau về hình thái và có tính đối kháng với các nấm khác trên đĩa Petri trong quá trình phân lập được cấy chuyển sang đĩa môi trường khác. Sau đó, các mẫu nấm được tiếp tục phân lập đến khi thuần [13]. Tương tự cách phân lập nấm vùng rễ, phân lập nấm rễ chi khác ở bước đầu là phải tách 1 g rễ từ mẫu đất, rửa sạch đất, sau đó hòa vào 10 mL nước cất vô trùng. Tiến hành các bước tiếp theo tương tự như cách phân lập nấm vùng rễ. Các mẫu nấm thuần được sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo. Các nguồn nấm rễ và vùng rễ sau khi phân lập được đặt tên theo trình tự: (1) chữ viết tắt của tỉnh thu mẫu; (2) chữ viết tắt ký hiệu của phòng thí nghiệm; (3) số thứ tự mẫu được phân lập; (4) số lần lặp lại của mẫu đất.

2.3 Khảo sát khả năng đối kháng của các chủng nấm được phân lập từ đất với *F. solani* trong điều kiện *in vitro*

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, một nhân tố, mỗi nghiệm thức gồm 4 lần lặp lại, tương ứng với mỗi đĩa Petri là một lần lặp lại. Các chủng nấm đã phân lập từ hai lần thu mẫu đất được chỉ làm hai lần bố trí. Nguồn nấm bệnh *F. solani*, nguồn nấm rễ và vùng rễ thuần được nuôi cấy khoảng 7 ngày trên đĩa Petri trong môi trường Potato Dextrose Agar. Khoanh khuẩn ty nấm đường kính 5 mm được chuẩn bị bằng cách sử dụng dụng cụ đục khoanh nấm. Khoanh nấm của mỗi chủng nấm rễ (vùng rễ) được đặt đối xứng với khoanh giấy thấm chứa dung dịch nước cất thanh trùng, cách thành đĩa Petri 1,5 cm. Hai khoanh giấy thấm này được đặt trên đường thẳng đối xứng qua hạch nấm *F. solani*. Đo bán kính khoanh nấm vào các ngày thứ nhất, thứ ba, thứ năm và thứ bảy sau đặt khoanh nấm (SĐKN), và xác định hiệu quả đối kháng của các chủng nấm rễ và vùng rễ đối kháng với nấm *F. solani* theo công thức (1).

$$H = \frac{D_{dc} - D_{tt}}{D_{dc}} \times 100\% \quad (1)$$

trong đó H là hiệu quả đối kháng (%); D_{dc} là bán kính khuẩn lạc nấm bệnh trên đĩa đối chứng (mm);

D_{tt} là bán kính khuẩn lạc nấm bệnh trên đĩa thử thật (mm) [14]. Thí nghiệm được thực hiện hai lần với kết quả tương tự nhau.

2.4 Khảo sát khả năng đối kháng của các chủng nấm được phân lập từ đất với *R. solani* trong điều kiện *in vitro*

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, một nhân tố, mỗi nghiệm thức gồm 4 lần lặp lại, tương ứng với mỗi đĩa Petri là một lần lặp lại. Các chủng nấm đã phân lập từ hai lần thu mẫu đất được chia làm hai lần bố trí trong thí nghiệm này. Nấm bệnh *R. solani*, nguồn nấm rễ và vùng rễ được nuôi cấy khoảng 7 ngày trên đĩa Petri trong môi trường Potato Dextrose Agar. Thí nghiệm được bố trí, ghi nhận chỉ tiêu và xác định hiệu quả đối kháng tương tự thí nghiệm ở mục 2.3. Thí nghiệm này được thực hiện hai lần, với kết quả thí nghiệm tương tự nhau. Từ kết quả đối kháng của các chủng nấm phân lập từ đất đối với *F. solani* và *R. solani*, chủng nấm đối kháng có hiệu quả hơn được chọn để định danh.

2.5 Định danh chủng vi khuẩn vùng rễ có hiệu quả đối kháng tốt

Mẫu nấm được nuôi cấy thuần trên môi trường King'B. Sau 48 giờ, mẫu nấm được gửi đến công ty Sinh hóa Phù Sa, Tp. Cần Thơ để thực hiện PCR, giải trình tự gene và định danh tên loài nấm vùng rễ.

2.6 Phân tích số liệu

Số liệu được tổng hợp, xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel. Thống kê phân tích ANOVA và so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức bằng phần mềm MSTATC qua kiểm định Duncan.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Khả năng đối kháng của các chủng nấm được phân lập với *F. solani* trong điều kiện *in vitro*

Nhìn chung, kết quả của cả 2 lần bố trí thí nghiệm (lần 1 với 19 chủng nấm và lần 2 với 20 chủng nấm, phân lập được từ 150 mẫu đất thu về) cho thấy hầu hết các nấm đều có tính đối kháng với *F. solani* nhưng chưa cao. Bảy trong số 39 chủng, tương ứng 17,95% (ngày thứ bảy SĐKN), có mức đối kháng trên 60%.

Ở lần bố trí thứ nhất với 19 chủng nấm đối kháng với *F. solani*, bảy chủng đạt hiệu quả đối kháng cao và khác biệt có ý nghĩa so với các chủng nấm còn lại (CTND-0101: 62,87%; CTND-0501: 68,26%; CTND-0602: 62,37%; CTND-1002: 61,01%; CTND-1303: 57,14%; CTND-1403: 58,01%; CTND-1704: 56,55%; CTND-1804: 62,86%) ở ngày thứ bảy SĐKN. Duy nhất chủng CTND-0501 đạt hiệu quả đối kháng 62,05% ở ngày thứ năm SĐKN. Vào ngày thứ nhất và thứ ba SĐKN thì hiệu quả đối kháng của các chủng nấm vẫn chưa thể hiện rõ. Vì vậy, CTND-0501 là chủng nấm có hiệu quả đối kháng mạnh nhất (Bảng 1).

Bảng 1. Hiệu quả đối kháng của 19 chủng nấm với *F. solani* trong điều kiện *in vitro*

Thí nghiệm	Hiệu quả đối kháng trung bình ở sau ngày đặt khoanh nấm (%)				
	Thứ nhất	Thứ ba	Thứ năm	Thứ bảy	Trung bình
CTND-0101	0,00	29,88 ^a	51,46 ^{ab}	62,87 ^{ab}	36,05 ^{ab}
CTND-0201	12,50	7,16 ^{b-d}	3,17 ^{ij}	0,00 ^f	5,7 ^h
CTND-0301	0,00	1,32 ^d	33,0 ^{d-f}	51,37 ^{bc}	21,42 ^{e-g}
CTND-0401	8,33	13,19 ^{a-c}	36,35 ^{c-e}	53,73 ^b	27,90 ^{b-e}
CTND-0501	0,00	25,18 ^a	62,05 ^a	68,26 ^a	38,87 ^a
CTND-0602	0,00	17,96 ^{ab}	47,77 ^{bc}	62,37 ^{ab}	32,02 ^{a-c}
CTND-0702	8,33	1,67 ^d	6,01 ⁱ	7,56 ^e	5,89 ^h
CTND-0802	0,00	16,49 ^{ab}	0,00 ^k	0,00 ^f	4,12 ^{hi}
CTND-0902	0,00	4,90 ^{cd}	1,92 ^k	0,74 ^f	1,89 ⁱ
CTND-1002	0,00	5,36 ^{cd}	43,88 ^{b-d}	61,01 ^{ab}	27,56 ^{b-e}
CTND-1103	0,00	0,00 ^d	35,2 ^{de}	51,05 ^{bc}	21,56 ^{e-g}
CTND-1203	8,33	1,67 ^d	20,00 ^g	42,53 ^{cd}	18,13 ^{fg}
CTND-1303	0,00	1,79 ^d	12,00 ^h	57,14 ^{ab}	17,73 ^{fg}
CTND-1403	0,00	1,79 ^d	38,53 ^{c-e}	58,01 ^{ab}	24,58 ^{c-f}
CTND-1503	0,00	8,04 ^{b-d}	35,66 ^{de}	53,32 ^{bc}	24,25 ^{c-f}
CTND-1604	8,33	0,00 ^d	25,17 ^{fg}	42,86 ^{cd}	19,09 ^{fg}
CTND-1704	0,00	0,00 ^d	31,64 ^{ef}	56,55 ^{ab}	22,05 ^{d-g}
CTND-1804	0,00	21,43 ^{ab}	36,50 ^{de}	62,86 ^{ab}	30,20 ^{a-d}
CTND-1904	6,25	1,67 ^d	20,77 ^g	39,34 ^d	17,01 ^g
Mức ý nghĩa	ns	*	*	*	*
CV(%)	11,22	47,41	11,27	8,03	11,23

Ghi chú: Các trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi các chữ cái giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê Duncan; *: khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; ns: không khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; NSĐKN: Ngày sau đặt khoanh nấm.

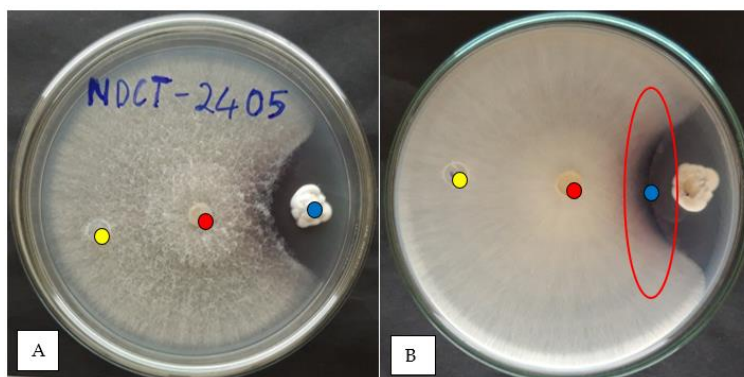
Ở lần bố trí thứ 2 với 20 chủng nấm còn lại, kết quả tương tự như lần bố trí thứ nhất. Theo đó đến ngày thứ bảy SĐKN, ba chủng đạt được hiệu quả cao và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng nấm còn lại (CTND-2405: 60,63%; CTND-3107 63,13%; CTND-3307; 58,75%). Ở các ngày thứ nhất, thứ ba và thứ năm SĐKN, hiệu quả của các

chủng nấm có mức tương đồng cao nên ít tạo ra sự khác biệt giữa các chủng nấm, nhưng vẫn có chủng nấm đạt được hiệu quả khác biệt có ý nghĩa (CTND-3307: 20,83% ở ngày thứ nhất, CTND-2405: 36,55% ở ngày thứ ba và CTND-3107: 63,13% ở ngày thứ năm). Chủng nấm có hiệu quả đối kháng cao nhất là CTND-2405 (Bảng 2).

Bảng 2. Hiệu quả đối kháng (%) của 20 chủng nấm với *F. solani* trong điều kiện *in vitro*

Nghiệm thức	Hiệu quả đối kháng trung bình ở sau ngày đặt khoanh nấm (%)				
	Thứ nhất	Thứ ba	Thứ năm	Thứ bảy	Trung bình
CTND-2005	0,00 ^b	30,21 ^{ab}	50,00 ^{a-c}	55,63 ^{cd}	33,96 ^{a-c}
CTND-2105	2,50 ^{ab}	21,88 ^{bc}	46,15 ^{c-e}	43,13 ^h	28,41 ^{c-g}
CTND-2205	0,00 ^b	27,36 ^{ab}	50,71 ^{a-c}	56,25 ^{b-d}	33,58 ^{a-c}
CTND-2305	2,50 ^{ab}	23,12 ^{bc}	42,86 ^{d-f}	50,00 ^{ef}	29,62 ^{c-f}
CTND-2405	5,00 ^{ab}	36,55 ^a	55,00 ^a	60,63 ^{ab}	39,29 ^a
CTND-2505	10,00 ^{ab}	3,13 ^{f-h}	0,00 ^h	0,00 ^j	3,28 ^j
CTND-2606	2,50 ^{ab}	24,23 ^{bc}	47,14 ^{b-d}	53,75 ^{de}	31,91 ^{b-e}
CTND-2706	7,78 ^{ab}	21,06 ^{bc}	41,83 ^{ef}	48,75 ^{fg}	29,85 ^{c-f}
CTND-2806	0,00 ^b	23,90 ^{ab}	48,57 ^{bc}	50,63 ^{ef}	30,77 ^{b-e}
CTND-2906	2,78 ^{ab}	27,00 ^{ab}	30,71 ^g	39,38 ⁱ	24,97 ^{f-h}
CTND-3006	16,67 ^{ab}	1,47 ^{gh}	38,33 ^f	53,75 ^{de}	27,56 ^{d-h}
CTND-3107	0,00 ^b	13,51 ^{de}	52,39 ^{ab}	63,13 ^a	32,26 ^{b-d}
CTND-3207	0,00 ^b	4,41 ^{fg}	45,19 ^{c-e}	56,88 ^{b-d}	26,62 ^{d-h}
CTND-3307	20,83 ^a	16,18 ^{cd}	50,00 ^{a-c}	58,75 ^{a-c}	36,44 ^{ab}
CTND-3407	0,00 ^b	0,00 ^h	29,31 ^g	44,38 ^h	18,42 ⁱ
CTND-3507	6,25 ^{ab}	1,47 ^{gh}	40,10 ^f	51,25 ^{ef}	24,77 ^{f-h}
CTND-3608	0,00 ^b	6,07 ^{ef}	38,10 ^f	51,25 ^{ef}	23,86 ^{gh}
CTND-3708	0,00 ^b	1,39 ^{gh}	39,30 ^f	49,38 ^{e-g}	22,52 ^{hi}
CTND-3808	0,00 ^b	2,94 ^{f-h}	46,16 ^{c-e}	56,25 ^{b-d}	26,34 ^{e-h}
CTND-3908	0,00 ^b	0,00 ^h	30,36 ^g	45,63 ^{gh}	19,00 ⁱ
Mức ý nghĩa	*	*	*	*	*
CV(%)	10,36	19,12	3,96	2,74	6,17

Ghi chú: Các trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi các chữ cái giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê Duncan; *: khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; NSĐKN: Ngày sau đặt khoanh nấm.



Hình 1. Hiệu quả đối kháng của CTND-2405 với *F. solani*

A: Bán kính vô khuẩn của CTND-2405; B: Màng nấm *F. solani* bị hóa đen do chất độc CTND-2405 tiết ra

● Khoanh giấy tẩm nước cất; ● Khoanh nấm *Fusarium*; ● Khoanh giấy tẩm CTND-2405

Dựa vào kết quả thu được thì hai chủng nấm CTND-0501 và CTND-2405 đạt kết quả tốt. Trong đó, chủng nấm CTND-2405 còn tiết ra độc chất làm hóa đen màng nấm *F. solani*, làm cho sợi nấm *F. solani* không còn khả năng phát triển về phía có đặt chủng nấm CTND-2405 (Hình 1).

3.2 Khả năng đối kháng của các chủng nấm được phân lập với *R. solani* trong điều kiện *in vitro*

Nhìn chung, kết quả của cả hai lần bố trí (lần thứ nhất với 19 chủng và lần hai với 20 chủng nấm phân lập được từ các mẫu đất thu về) cho thấy đa số chủng nấm có khả năng đối kháng với nấm *R. solani*. Tám chủng có tỷ lệ hiệu quả đối kháng lớn hơn 60% (20,31%, Bảng 3). Không có sự khác biệt giữa các nghiệm thức đã được bố trí về hiệu quả đối kháng của 19 chủng nấm phân lập với *R. solani* trong lần bố trí thứ nhất của thí nghiệm này. Ở ngày thứ ba SĐKN, hiệu quả đối kháng của chủng nấm CTND-0602 là cao nhất (63,33%), kế đó là của CTND-1503 (60,56%), CTND-0702, CTND-1503,

CTND-1704 (tương ứng 57,78, 56,67 và 57,22%). Ở ngày thứ năm SĐKN không có thay đổi lớn so với ở ngày thứ ba SĐKN. Theo đó, chủng đạt hiệu quả đối kháng cao nhất vẫn là CTND-0602 (65,00%), kế đến là CTND-1403 (61,11%); các chủng CTND-0702, CTND-1503 và CTND-1704 đạt hiệu quả đối kháng trong khoảng 52–60%. Ở ngày thứ bảy SĐKN vẫn ghi nhận được kết quả cao nhất của chủng nấm CTND-0602 (65,00%), còn các chủng CTND-0702, CTND-1403, CTND-1503 và CTND-1704 đạt hiệu quả đối kháng trong khoảng 50–60%. Như vậy, CTND-0602 là chủng có hiệu quả đối kháng với *R. solani* cao nhất trong lần bố trí thí nghiệm này. Các chủng nấm không được nhắc đến trong lần bố trí này là các chủng không có tính đối kháng với *R. solani* (Bảng 3).

Bảng 3. Hiệu quả đối kháng của 19 chủng nấm với *R. solani* trong điều kiện *in vitro*

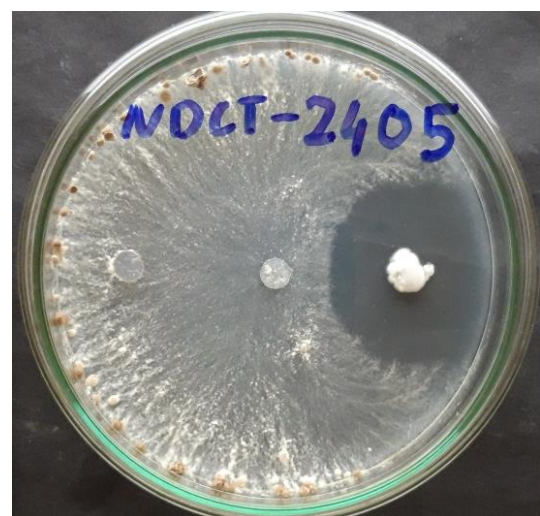
Nghiệm thức	Hiệu quả đối kháng trung bình ở sau ngày đặt khoanh nấm (%)				
	Thứ nhất	Thứ ba	Thứ năm	Thứ bảy	Trung bình
CTND-0101	29,17	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^d	7,29 ^b
CTND-0201	15,42	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^d	3,85 ^b
CTND-0301	12,66	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^d	3,17 ^b
CTND-0401	30,00	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^d	7,50 ^b

Nghiệm thức	Hiệu quả đối kháng trung bình ở sau ngày đặt khoanh nấm (%)				
	Thứ nhất	Thứ ba	Thứ năm	Thứ bảy	Trung bình
CTND-0501	25,00	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^d	6,25 ^b
CTND-0602	21,35	63,33 ^a	65,00 ^a	65,00 ^a	53,67 ^a
CTND-0702	27,78	58,89 ^b	57,78 ^b	57,78 ^b	50,56 ^a
CTND-0802	8,75	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^d	2,19 ^b
CTND-0902	0,00	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^d	0,00 ^b
CTND-1002	6,25	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^d	1,56 ^b
CTND-1103	8,33	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^d	2,08 ^b
CTND-1203	5,00	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^d	1,25 ^b
CTND-1303	0,00	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^d	0,00 ^b
CTND-1403	23,33	56,67 ^b	61,1 ^{ab}	60,00 ^b	50,28 ^a
CTND-1503	7,14	60,56 ^{ab}	60,00 ^b	60,00 ^b	46,92 ^a
CTND-1604	7,14	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^d	1,79 ^b
CTND-1704	0,00	57,22 ^b	52,78 ^c	51,11 ^c	40,28 ^a
CTND-1804	16,25	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^d	4,06 ^b
CTND-1904	6,25	0,00	0,00 ^d	0,00 ^d	1,56 ^b
Mức ý nghĩa	ns	*	*	*	*
CV(%)	10,63	7,68	7,54	7,66	37,98

Ghi chú: Các trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi các chữ cái giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê Duncan; *: khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; ns: không khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; NSĐKN: Ngày sau đặt khoanh nấm

Mười một chủng trong 20 chủng nấm còn lại đều có đối kháng với *R. solani* ở ngày thứ bảy sau đặt khoanh nấm. Ở ngày thứ nhất SĐKN, hiệu quả đối kháng của các chủng nấm đều không khác biệt lớn. Từ ngày thứ ba đến ngày thứ bảy, các chủng nấm mới thể hiện được tính kháng của mình. Theo đó, các chủng CTND-2305, CTND-2405 và CTND-3307 liên tục duy trì hiệu quả đối kháng ở mức cao và khác biệt có ý nghĩa so với các chủng nấm còn lại (ngoại trừ hiệu quả của CTND-2005, CTND-2105, CTND-2505, CTND-3107 và CTND-3908 ở cả hai ngày thứ năm và thứ bảy). Trong 3 chủng nấm này, CTND-2405 có hiệu quả đối kháng trên 70% và là chủng nấm có hiệu quả đối kháng cao nhất trong lần bố trí này. Trong các chủng nấm còn lại, tám chủng nấm có đối kháng với *R. solani* ở mức cao nhưng không đáng kể với ba chủng nấm được

đề cập ở trên. Chín chủng nấm còn lại thì không có tính đối kháng với *R. solani* (Hình 2, Bảng 4).



Hình 2. Hiệu quả đối kháng của CTND-2405 với *R. solani*

Bảng 4. Hiệu quả đối kháng của 20 chủng nấm với *R. solani* trong điều kiện *in vitro*

Nghiệm thức	Hiệu quả đối kháng trung bình ở sau ngày đặt khoanh nấm (%)				
	Thứ nhất	Thứ ba	Thứ năm	Thứ bảy	Trung bình
CTND-2005	18,79 ^{ab}	60,63 ^{b-d}	53,13 ^{ab}	53,13 ^{ab}	46,42 ^{a-c}
CTND-2105	16,66 ^{ab}	58,13 ^{b-d}	53,75 ^{ab}	52,50 ^{ab}	45,26 ^{bc}
CTND-2205	13,14 ^{ab}	0,00 ^f	0,00 ^d	0,00 ^d	3,28 ^g
CTND-2305	3,57 ^b	72,50 ^a	70,63 ^a	68,75 ^a	53,86 ^{ab}
CTND-2405	33,33 ^{ab}	72,50 ^a	73,13 ^a	73,13 ^a	63,02 ^a
CTND-2505	23,55 ^{ab}	61,88 ^{bc}	61,88 ^{ab}	61,88 ^{ab}	52,29 ^{ab}
CTND-2606	12,08 ^{ab}	0,00 ^f	0,00 ^d	0,00 ^d	3,02 ^g
CTND-2706	14,77 ^{ab}	0,00 ^f	0,00 ^d	0,00 ^d	3,69 ^g
CTND-2806	3,64 ^b	0,00 ^f	0,00 ^d	0,00 ^d	0,91 ^g
CTND-2906	26,00 ^{ab}	55,63 ^d	0,00 ^d	0,00 ^d	20,41 ^{ef}
CTND-3006	2,50 ^b	0,00 ^f	0,00 ^d	0,00 ^d	0,63 ^g
CTND-3107	4,61 ^b	62,50 ^b	61,88 ^{ab}	61,88 ^{ab}	47,71 ^{a-c}
CTND-3207	16,07 ^{ab}	49,38 ^e	23,13 ^c	23,13 ^c	27,92 ^{de}
CTND-3307	35,42 ^a	68,75 ^a	67,50 ^a	67,50 ^a	59,79 ^{ab}
CTND-3407	16,90 ^{ab}	0,00 ^f	0,00 ^d	0,00 ^d	4,23 ^g
CTND-3507	4,17 ^b	45,00 ^e	0,00 ^d	0,00 ^d	12,29 ^f
CTND-3608	7,74 ^{ab}	58,13 ^{b-d}	55,63 ^{ab}	55,63 ^{ab}	44,28 ^{bc}
CTND-3708	2,94 ^b	47,50 ^e	46,88 ^b	46,88 ^b	36,05 ^{cd}
CTND-3808	14,10 ^{ab}	0,00 ^f	0,00 ^d	0,00 ^d	3,53 ^g
CTND-3908	30,83 ^{ab}	56,25 ^{cd}	55,00 ^{ab}	52,50 ^{ab}	48,65 ^{a-c}
Mức ý nghĩa	*	*	*	*	*
CV(%)	18,61	4,76	18,33	18,39	14,57

Ghi chú: Các trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi các chữ cái giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê Duncan; *: khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; NSĐKN: Ngày sau đặt khoanh nấm

Dựa vào kết quả thống kê thì CTND-0620 và CTND-2405 được coi là hai chủng nấm có kết quả tốt trong thí nghiệm này. Từ kết quả đối kháng đối với nấm *F. solani* và *R. solani* trong các thí nghiệm, chủng nấm CTND-2405 được chọn để xác định tên loài.

3.3 Định danh chủng nấm rết CTND-2405

Vùng Internal Transcribed Spacer (ITS) của chủng nấm rết CTND-2405 có tổng số nucleotide

được giải trình tự là 577 và được so sánh với dữ liệu Genbank trên trang web NCBI bằng công cụ BLAST SEARCH. Kết quả giải trình tự gen vùng ITS và tra cứu trên Blast search cho thấy độ tương đồng 99,83% với trình tự gen vùng ITS của loài *Penicillium citrinum*, mã số truy cập MH665234.1. Vì vậy, chủng nấm rết CTND-2405 được xếp vào chi *Penicillium*, loài *Penicillium citrinum*.

Sự tích lũy nấm rết có thể làm giảm phát sinh bệnh và số lượng của một số mầm bệnh truyền qua

đất như *Rhizoctonia* [15]. Kết quả các thí nghiệm về khả năng đối kháng của các chủng nấm rễ với nấm bệnh *F. solani* và *R. solani* tương đồng với kết quả của các tác giả này [15]. Trong tổng số 39 chủng nấm rễ phân lập được thì có tới 34 chủng nấm rễ cho kết quả đối kháng với *F. solani* và 16 chủng cho kết quả đối kháng với *R. solani*. Việc định danh chủng nấm CTND-2405 cho kết quả là *P. citrinum*. Theo Khan và cs. [16] thì *P. citrinum* có khả năng sản xuất Gibberellins và sản sinh enzyme chitinase. Với khả năng này thì việc nấm *P. citrinum* tạo vành khăn vô khuẩn và có hiệu quả đối kháng cao với *R. solani* và *F. solani* là hoàn toàn hợp lý trong nghiên cứu này (Hình 1 và 2). Ngoài những khả năng trên, *P. citrinum* còn có một số khả năng khác như sinh tổng hợp phenol [17], sản sinh enzyme pectinase thủy phân cơ chất pectin [18], sản xuất các chất ức chế mới của cholesterologenesis [19].

4 Kết luận và kiến nghị

Từ 150 mẫu đất ở các vườn cây có múi tại Cần Thơ phân lập trên môi trường Potato Dextrose Agar chúng tôi thu được 39 chủng nấm rễ và vùng rễ. Hiệu quả đối kháng của các chủng nấm khác nhau đối với *F. solani* và *R. solani* biến động lớn tùy theo từng chủng. Ở ngày thứ bảy, hiệu quả đối kháng của các chủng nấm rễ và vùng rễ đã phân lập là từ 0 đến 73,13%. Trong các chủng nấm đã phân lập, hai chủng cho hiệu quả đối kháng cao với *F. solani* trong điều kiện *in vitro* (CTND-2405 và CTND-0501), trong đó chủng CTND-2405 có hiệu quả cao hơn. Chủng nấm CTND-2405 cũng có hiệu quả kháng cao hơn đối với *R. solani* trong điều kiện *in vitro*. Chủng nấm rễ CTND-2405 là *Penicillium citrinum*.

Ảnh hưởng của nấm *Penicillium citrinum* đối với sinh trưởng và tăng sự chống chịu bệnh cây trồng sẽ được tiếp tục nghiên cứu ở điều kiện nhà lưới và ngoài đồng.

Tài liệu tham khảo

1. Thuận HN. Kỹ thuật chọn tạo và trồng cây cam quýt. Hà Nội (VN): Nxb Nông nghiệp; 2004. 230 p.
2. Hưng ND. Nghiên cứu tuyển chọn và phát triển giống cam, quýt không hạt ở phía Bắc. Hà Nội (VN): Nxb Nông nghiệp; 2015.
3. Mão TV. Sử dụng vi sinh vật có ích, Tập 2. Ứng dụng nấm cộng sinh và vi sinh vật phòng trừ sâu hại. Hà Nội (VN): Nxb Nông nghiệp; 2004. 197 p.
4. Khade SW. Mycorrhizal association in different varieties of banana (*Musa* sp.) in soils of Goa [master's thesis]. Goa (India): Goa University; 1999.
5. Soares ACF, Martins MA, Mathias L, Freitas MSM. Arbuscular mycorrhizal fungi and the occurrence of flavonoids in roots of passion fruit seedlings. *Scientia Agricola*. 2005;62(4):331-336.
6. Singh RP, Prasad V. Occurrence and population dynamics of vesicular arbuscular mycorrhizae in the Indian orchards of litchi *Litchi chinensis* Sonn., aonla *Phyllanthus emblica* L. and banana *Musa paradisiaca* L. *Asian Journal of Bio Science*. 2006;1(2):154-156.
7. Schreiner RP. Mycorrhizas and Mineral Acquisition in Grapevines. In: Christensen LP, Smart DR, editors. Proceedings of the soil environment and vine mineral nutrition symposium. San Diego, CA (USA); American Society for Enology and Viticulture; 2005. pp. 49-60.
8. Schreiner RP. Effects of native and non native arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrient uptake of 'Pinot noir' (*Vitis vinifera* L.) in two soils with contrasting levels of phosphorus. *Applied Soil Ecology*. 2007;36(2-3):205-215.
9. Sumorok B, Sas-Paszt L, Gluszek S, Derkowska E, Żurawicz E. The effect of mycorrhisation and mulching of apple trees 'Gold Millennium' and blackcurrant bushes 'Tiben' on the occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*. 2011;19(1):35-49.
10. Sarwade PP, Chandanshive SS, Kanade MB, Bhale UN. Diversity of Arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in some common plants of Marathwada region. *International Multidisciplinary Research Journal*. 2011;1(12):11-12.
11. Sukhada M. Arbuscular mycorrhizal fungi benefit mango (*Mangifera indica* L.) plant growth in the field. *Scientia Horticulturae*. 2012;143:43-48.

12. Kumar V, Wingfield JC, Dawson A, Ramenofsky M, Rani S, Bartell P. Biological clocks and regulation of seasonal reproduction and migration in birds. *Physiological and Biochemical Zoology*. 2010;83(5):827-835.
13. Choi YW, Hyde KD, Ho WH. Single spore isolation of fungi. *Fungal Diversity*. 1999;3: 29-38.
14. Atlas RM. *Handbook of Microbiological Media*, 4th ed. New York (USA): CRC Press; 2010; p. 771-779.
15. Abdel-Fattah GM, El-Haddad SA, Hafez EE, Rashad YM. Induction of defense responses in common bean plants by arbuscular mycorrhizal fungi. *Microbiological Research*. 2011;166(4):268-281.
16. Khan S, Hamayun M, Yoon H, Kim H, Suh S, Hwang S, et al. Plant growth promotion and *Penicillium citrinum*. *BMC Microbiology*. 2008;8(1):231.
17. Curtis RF, Hassall CH, Nazar M. The biosynthesis of phenols. Part XV. Some metabolites of *Penicillium citrinum* related to citrinin. *Journal of the Chemical Society C: Organic*. 1968;1:85-93.
18. Lan PTN, Châu NTB, Chi NQ. Phân lập và tuyển chọn chủng nấm mốc có khả năng phân giải pectin. Hội nghị khoa học toàn quốc về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật lần thứ 7; 2017; Hà Nội. Hà Nội: Nxb Khoa học tự nhiên và Công nghệ; 2017. p. 1304-1310.
19. Endo A, Kuroda M, Tsujita Y. ML-236A, ML-236B, and ML-236C, new inhibitors of cholesterologenesis produced by *Penicillium citrinum*. *The Journal of Antibiotics*. 1976;29(12): 1346-1348.