

TUYỂN CHỌN VI NẤM NỘI SINH RỄ CÂY HỒ TIÊU TẠI GIA LAI CÓ HOẠT TÍNH KHÁNG TUYẾN TRÙNG

Trần Thị Phương Hạnh¹, Nguyễn Anh Dũng²

Ngày nhận bài: 03/10/2020; Ngày phản biện thông qua: 23/11/2020; Ngày duyệt đăng: 30/11/2020

TÓM TẮT

Tuyến trùng *Meloidogyne incognita* là một trong những đối tượng có tác hại nghiêm trọng gây nên bệnh chết nhanh và chết chậm trên cây Hồ tiêu hiện nay. Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm phân lập và tuyển chọn vi nấm nội sinh rễ cây Hồ tiêu có khả năng kháng tuyến trùng *Meloidogyne incognita* làm tiền đề nghiên cứu sản xuất chế phẩm sinh học mới, vừa phát triển và ứng dụng hệ vi sinh vật bản địa, góp phần quan trọng trong việc ứng dụng biện pháp sinh học phòng trừ bệnh có hiệu quả. Kết quả nghiên cứu đã phân lập được 21 chủng nấm nội sinh rễ cây hồ tiêu ở Gia Lai, trong đó tuyển chọn được một chủng vi nấm nội sinh EF.DC.08 có khả năng kháng tuyến trùng *Meloidogyne incognita* cao với tỉ lệ tử vong của tuyến trùng 94,67% trong điều kiện *in vitro*. Chủng nấm tiềm năng này được định danh sinh học phân tử gen 28S rRNA là *Penicillium citrinum*.

Từ khóa: Hồ tiêu, tuyến trùng, vi nấm nội sinh, *Penicillium citrinum*

1. MỞ ĐẦU

Hồ tiêu (*Piper nigrum* L.) là cây công nghiệp có giá trị kinh tế và xuất khẩu cao. Năm 2019, Việt Nam là nước dẫn đầu xuất khẩu hồ tiêu trên thế giới với giá trị kim ngạch xuất khẩu trên 01 tỷ USD. Trong những năm trở lại đây, ngành Hồ tiêu của Việt Nam đã có những bước phát triển mạnh, tăng nhanh cả về diện tích, năng suất, sản lượng (Chi cục trồng trọt, bộ NN và PTNT, 2019). Gia Lai hiện là địa phương có diện tích trồng hồ tiêu lớn thứ ba cả nước (Cục thống kê Gia Lai, 2019). Tuy nhiên, hồ tiêu ở Gia Lai cũng như cả nước đang đối mặt với nhiều thách thức và phát triển thiếu bền vững, nhất là diện tích hồ tiêu phát triển quá nhanh, vườn cây được đầu tư thâm canh cao độ, nhiều vườn tiêu bị chết do sự phá hại của sâu bệnh, đặc biệt là bệnh chết nhanh, vàng lá chết chậm gây thiệt hại nghiêm trọng đến kinh tế của người dân. Một trong những đối tượng gây hại quan trọng gây nên bệnh chết chậm ở cây hồ tiêu là tuyến trùng *Meloidogyne incognita* (Abdel-Salam và cộng sự, 2018; Wiratno và cộng sự, 2018). Biện pháp phòng trừ tuyến trùng chủ yếu hiện nay là sử dụng một số loại thuốc hóa học đặc hiệu kết hợp cùng với một số biện pháp canh tác khác. Nhưng biện pháp này chưa mang lại hiệu quả cao và dẫn đến hiện tượng kháng thuốc làm mất cân bằng hệ sinh thái, hệ vi sinh vật đất và đặc biệt là ảnh hưởng xấu tới môi trường và tồn dư thuốc trong nông sản (Jampilek và Králová, 2017; Wheeler và cộng sự, 2014). Nhiều nghiên cứu đã tập trung vào các hoạt tính sinh học của vi nấm nội sinh. Vi nấm nội sinh có mối quan hệ chặt chẽ với cây chủ, chúng sử dụng các chất dinh dưỡng trong cây để tồn tại, mang

lại nhiều lợi ích cho cây như tạo ra các sản phẩm trao đổi chất có hoạt tính sinh học như các hormone sinh trưởng, các hợp chất có khả năng bảo vệ cây khỏi các tác nhân gây bệnh (Mahiti Gupta và cộng sự, 2018; Aly và cộng sự, 2011). Do vậy, việc phân lập và tuyển chọn vi nấm nội sinh có khả năng kháng tuyến trùng *Meloidogyne incognita* trên cây hồ tiêu là một vấn đề đáng quan tâm trong việc phòng trừ tuyến trùng bằng phương pháp sinh học. Trong bài báo này, một số kết quả nghiên cứu phân lập và tuyển chọn vi nấm nội sinh rễ cây Hồ tiêu có hoạt tính kháng tuyến trùng *Meloidogyne incognita* tại tỉnh Gia Lai được trình bày. Kết quả nghiên cứu vừa là tiền đề tạo ra các chế phẩm sinh học mới, góp phần quan trọng trong ứng dụng biện pháp sinh học phòng trừ bệnh có hiệu quả.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

Phân lập vi nấm nội sinh rễ cây Hồ tiêu trồng ở Gia Lai.

Tuyển chọn vi nấm nội sinh kháng tuyến trùng *Meloidogyne incognita* trong điều kiện *in vitro*.

Định danh phân tử chủng vi nấm nội sinh tiềm năng có hoạt tính đối kháng cao với tuyến trùng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thu thập, phân lập các chủng vi nấm nội sinh rễ cây hồ tiêu

Mẫu rễ được thu ở các vườn hồ tiêu sinh trưởng khỏe, năng suất cao, ổn định, ít bị bệnh rễ hoặc tại các cây tiêu khỏe mạnh trên vườn tiêu bệnh. Thu rễ ở cây hồ tiêu 3 đến 10 năm tuổi. Chọn mẫu rễ non

¹Khoa Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, Trường Đại học Tây Nguyên;

²Viện Công nghệ SH&MT Trường Đại học Tây Nguyên;

Tác giả liên hệ: Trần Thị Phương Hạnh; ĐT: (+84) 988861311; Email: ttphanh@ttn.edu.vn

và rễ tơ vì đây là nơi có nhiều vi sinh vật tập trung. Thu rễ phân rìa ngoài cách trụ tiêu bán kính khoảng 1,0 - 1,5m; độ sâu rễ từ 10 - 20 cm, lấy khoảng 10cm từ đầu nút của rễ vào. Mẫu rễ sau đó sẽ được giữ trong túi polyetylen vô trùng, chuyển về phòng thí nghiệm để phân lập ngay. Các mẫu rễ khi lấy được ghi nhận nơi thu, ngày thu và tên của người thu mẫu. Mẫu rễ sau khi thu được đem tới phòng thí nghiệm, rửa thật sạch đất bám ở rễ dưới vòi nước chảy, để ráo tự nhiên, để riêng từng mẫu rồi tiến hành phân lập. Nếu chưa kịp xử lý, cần bảo quản trong tủ lạnh ở 5°C cho đến khi tiến hành phân lập. Thu thập mẫu rễ ở cây hồ tiêu 3 đến 10 năm tuổi.

Phương pháp phân lập vi nấm nội sinh theo Aravind (2008) có cải tiến: Rễ được cắt thành những khúc nhỏ khoảng 2 - 3cm. Các mẫu rễ được để riêng trong các bình tam giác và tiến hành khử trùng bề mặt bằng cách ngâm, lắc nhẹ trong nước cất vô trùng để loại bỏ các vi khuẩn đất lớn. Sau đó các mẫu rễ được đưa vào các ống falcon 25mL có chứa 15mL dung dịch PBST (đệm phosphate + muối sinh lý + stween 20) siêu âm trong 60 giây, rễ được chuyển sang ống falcon mới chứa 15mL PBST, siêu âm tiếp 60 giây lần 2 và lần 3 trong 10 phút. Mẫu rễ được nhúng vào cồn 90°, đốt dưới ngọn lửa đèn cồn, sau đó cắt bỏ hai đầu rễ tiêu, cắt từng đoạn nhỏ khoảng 0,5-1 cm, cắm ngang vào môi trường PDA, ủ ở nhiệt độ 2-30°C trong vòng 4-5 ngày để phân lập nấm nội sinh.

Mô tả các đặc điểm hình thái khuẩn lạc của các chủng nấm và làm tiêu bản tế bào. Các khuẩn lạc được quan sát bằng mắt thường và bằng kính hiển vi 10X, 40X.

Chỉ tiêu theo dõi:

- Khuẩn lạc: hình dạng, màu sắc.
- Hệ sợi: đặc điểm sợi (có vách ngăn hay không có vách ngăn), cuống bào tử.
- Bào tử: dạng bào tử, cuống sinh bào tử

2.2.2. Phương pháp xác định hoạt tính kháng tuyến trùng của vi nấm trong điều kiện in vitro

Hoạt tính kháng tuyến trùng của các chủng vi nấm nội sinh được thực hiện theo phương pháp của Aravind (2010). Sau khi nhân nuôi vi nấm phân lập được trong môi trường lỏng, ly tâm, lấy dịch nổi để sử dụng đánh giá khả năng kháng tuyến trùng. Cho vào mỗi giếng được bổ sung nước cất khử trùng chứa 30 tuyến trùng. Đã được ủ ở nhiệt độ 27°C trong 72h, sau đó sẽ đếm số tuyến trùng chết trong mỗi giếng bằng kính hiển vi soi nổi. Tỷ lệ tử vong được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ tử vong \%} = \frac{\text{Số tuyến trùng chết}}{\text{Tổng số tuyến trùng}} \times 100$$

Hiệu quả ức chế tiêu diệt tuyến trùng của vi sinh vật được hiệu chỉnh theo công thức Henderson-Tilton (1955).

$$HL (\%) = \left(1 - \frac{(Ta \times Cb)}{(Tb \times Ca)} \right) \times 100$$

Trong đó:

Ta: Số lượng tuyến trùng sống ở công thức xử lý sau xử lý

Tb: Số lượng tuyến trùng sống ở công thức xử lý trước thí nghiệm

Ca: Số lượng tuyến trùng sống ở công thức đối chứng sau xử lý

Cb: Số lượng tuyến trùng sống ở công thức đối chứng trước thí nghiệm

2.2.3. Phương pháp định danh vi nấm

Mẫu vi nấm có hoạt tính đối kháng cao với tuyến trùng *Meiloidogyne incognita* được gửi định danh theo phương pháp sinh học phân tử giải trình tự gen 28 S (thực hiện bởi Trung tâm Khoa học và Công nghệ sinh học – Trường ĐH KHTN TP. HCM).

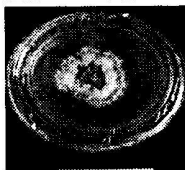
Các số liệu được xử lý thống kê bằng chương trình Statiscal Program Scientific System (SPSS) phiên bản 20.0 dùng cho Windows. Sự khác biệt có ý nghĩa ở mức 0,05 của giá trị được biểu hiện bằng các mẫu tự khác nhau.

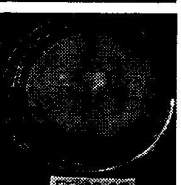
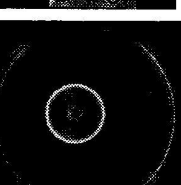
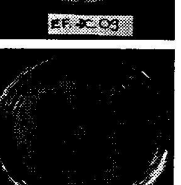
3. KẾT QUẢ - THẢO LUẬN

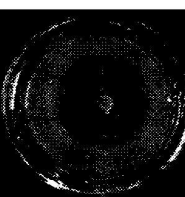
3.1. Kết quả phân lập các chủng vi nấm nội sinh rễ cây hồ tiêu tỉnh Gia Lai

Kết quả đã phân lập được 21 chủng nấm nội sinh rễ hồ tiêu trồng tại Gia Lai. Trong đó, ở huyện Chư Sê đã phân lập được 08 chủng nấm (EF.CS.01, EF.CS.05, EF.CS.06, EF.CS.07, EF.CS.10, EF.CS.11, EF.CS.13, EF.CS.14). Ở huyện Đức Cơ 08 chủng được phân lập (EF.DC.01, EF.DC.02, EF.DC.04, EF.DC.07, EF.DC.08, EF.DC.09, EF.DC.10, EF.DC.12) và 05 chủng vi nấm (EF.CP.01, EF.CP.06, EF.CP.07, EF.CP.09, EF.CP.10) được phân lập ở huyện Chư Prông (Bảng 1).

Bảng 1. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc của nấm nội sinh rễ hồ tiêu (*Piper nigrum* L.) tại Gia Lai

STT	Tên chủng	Đặc điểm hình thái						
		Khuẩn lạc				Hệ sợi	Cành bào tử	Bào tử
		Hình dạng	Màu sắc	Độ nổi	Rìa khuẩn lạc			
1		Hơi tròn	Trắng đục	Lồi, cong	Dạng nhung mịn	Phân nhánh, không vách ngăn ngang	Thẳng, có bào tử đính thành cụm	Bào tử đính, hình cầu, trắng đục
2		Tròn đều	Trắng xám	Bằng phẳng, nhô lên ở giữa	Dạng hạt	Không phân nhánh, có vách ngăn	Thẳng, có bào tử dính xung quanh	Bào tử đính, hình cầu, trắng xám
3		Tròn không đều	Nâu trắng	Lồi, cong	Dạng cơm cháo	Không phân nhánh, không vách ngăn	Phân nhánh, không có vách ngăn	Bào tử đính, hình cầu, nâu trắng
4		Tròn không đều	Trắng xám	Lồi cong	Dạng nhung	Phân nhánh, không vách ngăn	Thẳng, không có vách ngăn	Bào tử đính, hình cầu, trắng xám
5		Tròn	Trắng xám	Lồi	Dạng nhung	Không phân nhánh, không vách ngăn	Phân nhánh, không vách ngăn	Bào tử đính, hình cầu, trắng xám
6		Tròn không đều, mép dạng rế					Phân nhánh nhiều sợi nhỏ	Bào tử đính, hình cầu, nâu vàng
7		Tròn	Nâu trắng	Hơi lồi	Dạng bột	Phân nhánh, không vách ngăn	Phân nhánh, không vách ngăn ngang	Bào tử đính, hình cầu, nâu trắng
8		Tròn không đều. Mép dạng rế	Xám vàng	Phẳng	Dạng lỏng	Phân nhánh, không vách ngăn	Phân nhánh, không vách ngăn ngang	Bào tử đính, hình cầu, xám vàng

STT	Tên chủng	Đặc điểm hình thái						
		Khuẩn lạc				Hệ sợi	Cảnh bào tử	Bào tử
		Hình dạng	Màu sắc	Độ nổi	Rìa khuẩn lạc			
9		Tròn	Trắng đục	Phẳng	Dạng nhung và hạt	Phân nhánh, không vách ngăn	Dạng thẳng	Bào tử đính, hình cầu, trắng đục
10		Tròn	Trắng xám	Phẳng	Dạng hạt	Không phân nhánh, không vách ngăn	Thẳng, có bào tử đính xung quanh	Bào tử đính, hình cầu, trắng xám
11		Tròn	Xám nâu	Lồi, cong	Dạng nhung	Không phân nhánh, không vách ngăn	Phân nhánh, không có vách ngăn	Bào tử đính, hình cầu, xám nâu
12		Tròn, mép dạng rề	xám ghi	Lồi cong	Dạng nhung	Không phân nhánh, không vách ngăn	Thẳng, không có vách ngăn	Bào tử đính, hình cầu, xám ghi
13		Tròn, có vành mép trung tâm lõm	Viền trắng xám đen	Lồi	Dạng nhung	Phân nhánh, không vách ngăn	Không phân nhánh, không vách ngăn	Bào tử túi, hình bầu dục
14		Tròn không đều, mép dạng rề	Trắng xám	Lồi cong	Dạng lông	Không phân nhánh, có vách ngăn	Phân nhánh nhiều sợi nhỏ	Bào tử đính, hình cầu, trắng xám
15		Tròn	Nâu đậm	Phẳng	Dạng bột	Phân nhánh, không vách ngăn	Phân nhánh, không vách ngăn ngang	Bào tử đính, hình cầu, nâu đậm
16		Tròn đều	Xám ghi	Phẳng	Dạng nhung	Không phân nhánh, có vách ngăn	Thẳng, có bào tử đính xung quanh	Bào tử đính, hình cầu, xám ghi

STT	Tên chủng	Đặc điểm hình thái						
		Khuẩn lạc				Hệ sợi	Cành bào tử	Bào tử
		Hình dạng	Màu sắc	Độ nổi	Rìa khuẩn lạc			
17		Tròn	Trắng xám	Phẳng	Dạng nhung	Không phân nhánh, có vách ngăn	Thẳng, không có vách ngăn	Bào tử đính, hình cầu, trắng xám
18		Tròn	Xám trắng		Dạng nhung	Phân nhánh, có vách ngăn	Phân nhánh, không vách ngăn ngang	Bào tử đính, hình cầu, trắng xám
19		Tròn không đều	Nâu đỏ	Hơi lồi	Dạng nhung	Phân nhánh, có vách ngăn	Thẳng, có bào tử đính xung quanh	Bào tử đính, hình cầu, nâu đỏ
20		Tròn, mép dạng rế	Xanh rêu	Phẳng	Dạng nhung	Phân nhánh, không vách ngăn	Phân nhánh, không có vách ngăn	Bào tử đính, hình cầu, xanh rêu
21		Tròn, mép dạng rế	Nâu trắng	Phẳng	Dạng nhung	Không phân nhánh, không vách ngăn	Thẳng, không có vách ngăn	Bào tử đính, hình cầu, nâu trắng

Trong 21 chủng vi nấm nội sinh được phân lập, các khuẩn lạc có màu sắc khá phong phú: vàng, trắng, xanh, xám. Hình thái khuẩn lạc chủ yếu tròn không đều, tròn, mép dạng rế. Bào tử của các chủng nấm phân lập chủ yếu thuộc dạng bào tử đính, hình tròn. Đặc điểm hệ sợi phân nhánh hoặc không phân nhánh, có vách ngăn hoặc không có vách ngăn. Cuống bào tử đa số là một bông, một số chủng không quan sát rõ cuống bào tử có thể thấy các loài nấm vùng rễ hồ tiêu phân lập được từ mẫu rễ thu thập được tại Gia Lai cũng rất đa dạng (Bảng 1).

3.2. Khả năng đối kháng tuyến trùng *Meloidogyne incognita* của vi nấm nội sinh trong điều kiện in vitro

Khảo sát khả năng đối kháng tuyến trùng cho thấy, các chủng vi nấm đều có hoạt tính kháng tuyến trùng với tỉ lệ từ vong của tuyến trùng từ 32,22 - 94,67%. Sáu chủng có hoạt tính kháng tuyến trùng mạnh (tỉ lệ từ vong cao >80%): EF.CS.06, EF.CS.10, EF.DC.08, EF.DC.09, EF.DC.10 và EF.CP.10, trong đó chủng EF.DC.08 cho tỉ lệ từ vong cao nhất (94,67%). Bốn chủng vi nấm nội sinh có khả năng kháng tuyến trùng *Meloidogyne incognita* trung bình (60% < tỉ lệ từ vong < 80%): EF.CS.13, EF.CS.14, EF.DC.04, EF.CP.01. Mười một chủng vi nấm nội sinh còn lại có khả năng kháng tuyến trùng *Meloidogyne incognita* yếu (<60%) sau 72 giờ theo dõi (Bảng 2).

Bảng 2. Hoạt tính kháng tuyến trùng *Meloidogyne incognita* của các chủng vi nấm nội sinh trong điều kiện in vitro

STT	Chủng nấm	Tỉ lệ tử vong (%)	Hiệu lực kháng tuyến trùng (%)
1	EF.CS.01	43,33 ^b ± 3,34	40,70 ^a ± 3,49
2	EF.CS.05	46,67 ^{bc} ± 3,34	44,19 ^a ± 3,49
3	EF.CS.06	88,89 ^c ± 5,09	88,37 ^d ± 5,33
4	EF.CS.07	55,56 ^{cd} ± 5,09	53,49 ^b ± 5,33
5	EF.CS.10	83,33 ^c ± 3,34	82,56 ^d ± 3,49
6	EF.CS.11	45,56 ^{bc} ± 5,09	43,02 ^a ± 5,33
7	EF.CS.13	56,67 ^{cd} ± 5,28	63,95 ^c ± 5,33
8	EF.CS.14	61,11 ^d ± 5,09	59,30 ^{bc} ± 5,33
9	EF.DC.01	33,22 ^b ± 5,09	29,07 ^a ± 5,33
10	EF.DC.02	33,22 ^b ± 5,09	29,07 ^a ± 5,33
11	EF.DC.04	68,89 ^d ± 5,09	67,44 ^c ± 5,33
12	EF.DC.07	33,33 ^b ± 3,34	30,23 ^a ± 3,49
13	EF.DC.08	94,67 ^f ± 4,81	96,51 ^f ± 3,49
14	EF.DC.09	82,22 ^e ± 1,92	81,40 ^d ± 2,01
15	EF.DC.10	88,89 ^f ± 1,92	88,37 ^e ± 2,01
16	EF.DC.12	54,45 ^c ± 3,85	52,32 ^b ± 4,03
17	EF.CP.01	65,55 ^d ± 6,94	63,95 ^b ± 7,26
18	EF.CP.06	47,78 ^b ± 5,09	43,35 ^a ± 5,33
19	EF.CP.07	50,00 ^{bc} ± 6,67	47,67 ^a ± 6,96
20	EF.CP.09	57,78 ^{cd} ± 3,85	55,81 ^{ab} ± 4,03
21	EF.CP.10	82,22 ^c ± 5,09	81,40 ^c ± 5,33
22	ĐC	13,33 ^a ± 1,93	

Ghi chú: Các trị số có các chữ cái giống nhau trong cùng một cột không có sự khác biệt về mặt thống kê theo trắc nghiệm phân hạng Duncan's Multiple Range test ($P < 0,05$)

Kết quả hiệu quả ức chế tuyến trùng tương tự tỷ lệ tử vong của tuyến trùng. Hiệu lực kháng tuyến trùng của các chủng vi nấm từ 40,70% - 96,51%. Sáu chủng có hiệu lực kháng tuyến trùng mạnh (>80%) chiếm 28,57%: EF.CS.06, EF.CS.10, EF.DC.08, EF.DC.09, EF.DC.10 và EF.CP.10, trong đó chủng EF.DC.08 có hiệu lực kháng tuyến trùng cao nhất (96,51%). Bốn chủng EF.CS.13, EF.CS.14, EF.DC.04, EF.CP.01 có hiệu lực kháng tuyến trùng trung bình chiếm 19,05% và 11 chủng vi nấm nội sinh còn lại có hiệu lực kháng tuyến trùng yếu chiếm 52,38% (Bảng 2).

Một số kết quả nghiên cứu về hoạt tính kháng tuyến trùng đã ghi nhận: Siddiqui và cộng sự (2009) ghi nhận nấm *Aspergillus niger* CA và *Penicillium chrysogenum* CA1 vừa kích thích sinh trưởng vừa có khả năng kháng tuyến trùng ở cây cà chua. Satyandra và cộng sự (2010) nghiên cứu khả năng kháng tuyến trùng của nấm đối kháng cho thấy, các chủng nấm *Cremonium strictum*, *As-*

pergillus terreus, *A. nidulans*, *A. niger*, *Chetomium aubense*, *Chladosporium oxysporum*, *Fusarium chlamydosporium*, *F. dimarum*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *Paecilomyces lilacinus*, *Pochonia chlamydosporia*, *Trichoderma viride* và *T. harzianum* đều có khả năng kháng tuyến trùng *Meloidogyne incognita* với tỉ lệ ức chế trứng nở 86% và tỉ lệ tử vong của tuyến trùng 68% trong điều kiện in vitro. Aravild và cộng sự (2009) đã phân lập 71 chủng vi khuẩn nội sinh trong rễ và thân cây hồ tiêu và đã tuyển chọn được các chủng có hoạt tính kháng tuyến trùng (31,03%) trong điều kiện in vitro. Nghiên cứu vi khuẩn nội sinh cây cà phê kháng tuyến trùng *Meloidogyne incognita* trong điều kiện in vitro của Mekete và cộng sự (2009) ghi nhận, trong 43 chủng vi khuẩn được thử nghiệm có 14 chủng có tỉ lệ tiêu diệt tuyến trùng *M. incognita* từ 38 - 98%, trong đó 3 chủng vi khuẩn *Bacillus megaterium*, *Agrobacterium radiobacter* và *Cedecea davisae* có tỉ lệ tiêu diệt

tuyến trùng cao nhất lần lượt là 98,3%, 97,3% và 94,6% sau 03 ngày. Ở Thái Lan đã phân lập được 67 chủng nấm của một số loại cây trồng bị nhiễm tuyến trùng nốt sừng *Meloidogyne incognita*. Trong số đó, có 10 dòng nấm và 83 dòng xạ khuẩn có khả năng giảm tỉ lệ trứng tuyến trùng nở và diệt ấu trùng *Meloidogyne incognita* sau 7 ngày ủ. Chủng *Fusarium* CMU-JT007 có hiệu quả cao trong việc làm giảm tỉ lệ nở của trứng xuống còn dưới 25% và gia tăng tỉ lệ tử vong của ấu trùng lên đến 70%. Chủng *Streptomyces* sp. CMU-MH021 được coi là tác nhân kiểm soát sinh học tiềm năng, làm giảm tỉ lệ nở của trứng *Meloidogyne incognita* còn 33,1% và tăng tỉ lệ chết của tuyến trùng 82% (Ruanpanun và cộng sự, 2010).

Như vậy, chủng EF.DC.08 với tỉ lệ tử vong

của tuyến trùng 94,67% và hiệu lực kháng tuyến trùng 96,51% so với các kết quả ghi nhận, chủng EF.DC.08 có khả năng kháng tuyến trùng mạnh.

3.3. Kết quả định danh vi nấm đối kháng cao với tuyến trùng *Meloidogyne incognita*

Chủng EF.DC.08 có khả năng kháng tuyến trùng cao được định danh sinh học phân tử gen 28S rRNA là *Penicillium citrinum*.

4. KẾT LUẬN

Phân lập được 21 chủng vi nấm nội sinh rễ cây Hồ tiêu ở Gia Lai.

Tuyển chọn được một chủng vi nấm EF.DC.08 có khả năng kháng tuyến trùng *Meloidogyne incognita* trong điều kiện *in vitro* mạnh và được định danh phân tử gen 28s rRNA là *Penicillium citrinum*

SELECTION OF ENDOPHYTIC FUNGI IN THE BLACK PEPPER ROOTS POSSESSING ANTI-NEMATODE ACTIVITY IN GIA LAI

Thi Phuong Hanh Tran³, Anh Dung Nguyen⁴

Received Date: 03/10/2020; Revised Date: 23/11/2020; Accepted for Publication: 30/11/2020

SUMMARY

One of the main causes of black pepper death is the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). This study is a basis for the research and production of bioproducts for *Meloidogyne incognita* control. The results showed that there were 21 endophytic fungal strains isolated from root samples of black pepper in Gia Lai province. After screening, EF.DC.08 fungal strain was selected to be a potent anti-nematode strain with 94.67% mortality of nematodes. The potent strain was identified to be *Penicillium citrinum* based on 28s rRNA sequencing.

Keywords: Black pepper, endophytic fungi, *Meloidogyne incognita*, *Penicillium citrinum*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng nước ngoài

- Abdel-Salam, M. S., & et al. (2018). Improving the nematicidal potential of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Lysinibacillus sphaericus* against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* using protoplast fusion technique. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28:31.
- Aly, A. H., & et al. (2011). Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. *Appl Microbiol Biotechnol* 90(6):1829–1845.
- Aravind, R., & et al (2008). Endophytic bacterial flora in root and stem tissues of black pepper (*Piper nigrum* L.) genotype: isolation, identification and evaluation against *Phytophthora capsici*. *Letters in Applied Microbiology*, 48(1), 58-64.
- Aravind, R., & et al. (2009). Isolation and evaluation of endophytic bacteria against plant parasitic nematodes infesting black pepper (*Piper nigrum* L.). *Indian journal of Nematology* 39(2), 211-217.

³Faculty of Natural Science and Technology, Tay Nguyen University;

⁴Institute of Biotechnology and Environment, Tay Nguyen University;

Corresponding author: Tran Thi Phuong Hanh; Tel: (+84) 988861311, Email: tphanh@ttn.edu.vn

- Mahiti, G., Vineet, M. (2018). The Biological Promises of Endophytic *Muscodor* Species. *Fungi and their Role in Sustainable Development: Current Perspectives* pp 51-74.
- Mekete, M., & et al. (2009). Endophytic bacteria from Ethiopian coffee plants and their potential to antagonise *Meloidogyne incognita*. *Institute for Crop Sciences and Resource Conservation. INRES, Department of Plant Pathology*, 11(1), 117-127.
- Jampilek, J., and Král'ová, K. (2017). Nanopesticides: preparation, targeting, and controlled release. *New Pesticides and Soil Sensors*, 81-127.
- Ruanpamun, R. D., & Loof, P. A. A. (2010). Nematodes in the rhizosphere of pepper (*Piper nigrum* L.) and clove (*Eugenia caryophyllata* Thumb.). *Revista Theobroma (Brazil)*, v 4, p. 26-32.
- Satyandra, S., & Nita, M. (2010) In vitro studies of antagonistic fungi against the root-knot nematode. *Meloidogyne incognita*, *Biocontrol Science and Technology*, 20(3): 275-282. DOI: 10.1080/09583150903484318.
- Siddiqui, Z., Sayeed, A. M. (2009). Effects of antagonistic fungi, plant growth-promoting rhizobacteria, and arbuscular mycorrhizal fungi alone and in combination on the reproduction of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. *Journal of General Plant Pathology*. DOI:10.1007/s10327-009-0154-4.
- Wiratno, S. M., Pradana, A. P., Yousif, A. I. A. (2018). Biological control of root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) in pepper plants utilizing endophytic bacteria *Pseudomonas* sp. and *Micrococcus* sp. *Journal of the Pepper industry*, 9,2. ISSN: 1829-6868.