



XÁC ĐỊNH MÀM BỆNH HIỆN DIỆN TRÊN HẠT LÚA GIỐNG IR 50404 TẠI HẬU GIANG

Nguyễn Thị Ngọc Ngân¹, Trần Quốc Tuấn² và Nguyễn Đắc Khoa^{2*}

¹Học viên Cao học Công nghệ Sinh học khóa 22, Trường Đại học Cần Thơ

²Viện Nghiên cứu & Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Đắc Khoa (ndkhoa@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 06/06/2017

Ngày nhận bài sửa: 14/11/2017

Ngày duyệt đăng: 27/02/2018

Title:

Identification of seed-borne pathogens on rice cv. IR 50404 in Hau Giang

Từ khóa:

Hạt lúa giống, Hậu Giang, IR 50404, phương pháp giấy thấm, xác định mầm bệnh

Keywords:

Blotter method, Hau Giang, IR 50404, pathogen identification, seed-borne pathogens

ABSTRACT

This study aimed at identifying pathogens contaminating seeds of rice cv. IR 50404 to serve as a basis for effective control of seed-transmitted diseases in Hậu Giang Province. A total of 28 seed samples were collected from seven main rice-cultivation areas of Hậu Giang, i.e., Chau Thanh A, Phung Hiep, Vi Thuy, Long My, Nga Bay, Long My Town and Vi Thanh. Seven fungal pathogens were identified based on their morphological characterization using the blotter method. They included *Sarocladium oryzae*, *Fusarium moniliforme*, *Alternaria padwickii*, *Bipolaris oryzae*, *Curvularia* spp., *Aspergillus* sp. and *Mucor* sp.. However, the bacterial pathogens from IR 50404 seeds specimens were not detected.

TÓM TẮT

Đề tài được thực hiện với mục tiêu xác định mầm bệnh hiện diện trên hạt lúa giống IR 50404 tại Hậu Giang nhằm tạo tiền đề cho các nghiên cứu phòng trị bệnh trên hạt. Tổng số 28 mẫu hạt được thu thập từ các đại lý cung cấp lúa giống thuộc 7 địa điểm trồng lúa trọng điểm của tỉnh Hậu Giang gồm: huyện Châu Thành A, huyện Phụng Hiệp, huyện Vị Thủy, huyện Long Mỹ, thị xã Ngã Bảy, thị xã Long Mỹ và thành phố Vị Thanh. Kết hợp phương pháp đặt hạt trên giấy thấm và khảo sát hình thái, 7 mầm bệnh nấm được xác định gồm: *Sarocladium oryzae*, *Fusarium moniliforme*, *Alternaria padwickii*, *Bipolaris oryzae*, *Curvularia* spp., *Aspergillus* sp. và *Mucor* sp.. Tuy nhiên, không ghi nhận sự hiện diện của mầm bệnh vi khuẩn từ các mẫu hạt lúa giống IR 50404.

Trích dẫn: Nguyễn Thị Ngọc Ngân, Trần Quốc Tuấn và Nguyễn Đắc Khoa, 2018. Xác định mầm bệnh hiện diện trên hạt lúa giống IR 50404 tại Hậu Giang. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 54(1B): 61-68.

1 GIỚI THIỆU

Lúa (*Oryza sativa* L.) là một trong những cây lương thực chính của thế giới, có hơn 90% sản lượng lúa của thế giới được trồng và tiêu thụ ở châu Á (Screenivasaprasad *et al.*, 2003; Khush, 2005). Ở Việt Nam, nền nông nghiệp lúa nước đóng vai trò chủ đạo trong sản xuất nông nghiệp và

Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) là khu vực sản xuất lúa lớn nhất nước ta hiện nay (Nguyễn Thị Trúc Phương, 2016). Trong đó, Hậu Giang có diện tích gieo trồng lúa cả năm khoảng 210.000 ha, chiếm phần lớn trong tổng diện tích đất nông nghiệp của tỉnh và một trong số các giống lúa chủ lực được trồng là IR 50404 (Sở Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn Hậu Giang, 2016).

Quá trình canh tác lúa luôn chịu ảnh hưởng bởi rất nhiều yếu tố như khí hậu, dịch hại, côn trùng, đặc biệt là sự gây hại của các mầm bệnh như nấm và vi khuẩn trên hạt lúa làm ảnh hưởng đến sức khỏe của hạt (Ou, 1972). Hạt giống nhiễm nấm có tỉ lệ nảy mầm thấp (khoảng 20-70%) và làm giảm năng suất lúa từ 1-10% (Imolehin, 1983; Savary *et al.*, 2000). Mầm bệnh kí sinh trên hạt lúa giống gây hại trong suốt thời kì sinh trưởng, phát triển của cây lúa và còn liên quan mật thiết đến tình hình dịch bệnh sau khi gieo trồng (Fakir, 1983; Kato *et al.*, 1988; Cottyn *et al.*, 2001).

Theo các nghiên cứu, có nhiều bệnh trên lúa có nguồn gốc phát sinh từ hạt giống như bệnh cháy bìa lá lúa gây ra bởi vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, vi khuẩn *Pseudomonas avenae* gây bệnh sọc nâu (Mew and Misra, 1994; Javaid *et al.*, 2006) và nấm *Fusarium moniliforme* gây bệnh lúa von từng gây hại nghiêm trọng đối với việc trồng lúa ở Châu Á trong đó có Việt Nam, cụ thể là ở các tỉnh ĐBSCL giai đoạn 2002-2008 (Singh and Sunder, 2012; Phạm Văn Kim, 2015).

Do đó, đề tài được thực hiện nhằm xác định mầm bệnh nhiễm trên hạt lúa giống IR 50404 để làm tiền đề hỗ trợ cho các nghiên cứu phòng trị mầm bệnh trên hạt trước khi gieo trồng.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Hạt giống

Mẫu hạt được thu thập và phân tích dựa theo TCVN 8548:2011 (Hạt giống cây trồng-Phương pháp kiểm nghiệm, 2011). Cụ thể, hạt lúa giống IR 50404 được lấy tại các đại lý cung cấp lúa giống thuộc 7 địa điểm trồng lúa trọng điểm của tỉnh Hậu Giang gồm: huyện Châu Thành A, huyện Phụng Hiệp, huyện Vị Thủy, huyện Long Mỹ, thị xã Ngã Bảy, thị xã Long Mỹ và thành phố Vị Thanh. Tất cả mẫu hạt đều là giống xác nhận cung cấp cho vụ Đông Xuân 2016. Tại mỗi điểm, mẫu lúa được lấy ngẫu nhiên, xác suất có mặt của các thành phần trong mẫu là đại diện cho lô hạt giống. Mẫu được phân loại theo từng địa điểm, chia đôi liên tiếp để lấy ra các phần nhỏ ngẫu nhiên, gộp các phần này lại để được khối lượng mẫu theo quy định (tối thiểu là 100 g). Khối lượng mẫu được điều chỉnh chính xác bằng cách thêm hay bớt một lượng rất nhỏ hạt giống bằng thìa đến khi đủ số lượng hạt phân tích.

2.2 Phương pháp

2.2.1 Xác định mầm bệnh nấm nhiễm trên hạt lúa giống

Thí nghiệm kiểm tra sự hiện diện của nấm bệnh lưu tồn trên hạt được thực hiện theo phương pháp giấy thấm (blotter method) của ISTA (International

Seed Testing Association, 1993). Đĩa petri, giấy thấm và nước cất được khử trùng; thấm ướt hoàn toàn 2-3 tờ giấy thấm với nước cất và đặt vào đĩa petri; đặt 25 hạt cách đều nhau lên bề mặt giấy thấm, lặp lại 3 lần trên 3 đĩa khác nhau; ủ ở nhiệt độ 22°C với chu kỳ 12 giờ sáng xen kẽ 12 giờ tối dưới ánh sáng đèn cận cực tím bước sóng 320-400 nm (Near Ultra Violet, NUV). Sau 6-8 ngày, hạt được quan sát dưới kính hiển vi nhìn nổi để xác định những hạt bị nhiễm nấm. Sau đó, nấm bệnh được phân lập và tách rông trên môi trường PDA (200 g khoai tây, 20 g dextrose, 20 g agar, nước cất 1000 mL) (Atlas, 2010) bằng phương pháp cấy đơn bào tử hoặc đỉnh sinh trưởng (Burgess *et al.*, 2008). Hình thái tản nấm trên môi trường PDA được quan sát kết hợp với quan sát hình thái sợi nấm, màu sắc của sợi nấm, dạng bào tử, kích thước của bào tử dưới kính hiển vi quang học để xác định thành phần nấm bệnh dựa trên mô tả của Mew and Misra (1994), Mew and Gozales (2002).

2.2.2 Xác định mầm bệnh vi khuẩn nhiễm trên hạt lúa giống

Phương pháp xác định vi khuẩn trên hạt được thực hiện theo mô tả của Cottyn *et al.* (1994). Mẫu hạt được rửa dưới vòi nước khoảng 30 phút để loại bỏ hạt lép và các mảnh vụn bám trên bề mặt hạt. Nghiền 100 hạt và cho vào ống Falcon có chứa 50 mL dung dịch Phosphate-buffered saline (PBS) (1,15 g Na₂HPO₄, 0,2 g KCl, 0,2 g K₂HPO₄ và 8 g NaCl, thêm nước cất đến 1000 mL) (Mew and Misra, 1994), lắc đều trong 5 phút và để yên trong 2 giờ ở nhiệt độ 25-28°C; hút phần trong phía trên và pha loãng ở mức 10, 100 và 1000 lần.

Vi khuẩn *P. fuscovaginae* gây bệnh thối nâu bẹ được xác định bằng cách trải 40 µL dung dịch trên môi trường Miyajima's (450 mg penicillin G, 45 mg novobiocin, 75 mg cycloheximide, 3 mL ethanol 75%, 940 mL môi trường King's B, 50 mL nước cất) (Miyajima *et al.*, 1983) và ủ ở nhiệt độ 28°C. Sau 5 ngày, các khuẩn lạc có đặc điểm tròn, trơn, lồi, trong suốt, màu kem và tạo sắc tố xanh lá cây ở giữa khuẩn lạc thì mẫu hạt được xác định đã nhiễm vi khuẩn *P. fuscovaginae*.

Vi khuẩn *P. glumae* gây bệnh thối đen hạt và *P. avenae* gây bệnh sọc nâu được xác định bằng cách trải 40 µL dung dịch trên môi trường chuyên biệt S-PG (1,3 g KH₂PO₄, 1,2 g Na₂HPO₄, 5 g (NH₄)₂SO₄, 0,25 g MgSO₄.7H₂O, 24 mg Na₂MoO₄.2H₂O, 10 mg EDTA-Fe, 10 µg L-cystine, 10 g D-sorbitol, 50 mg pheneticillin potassium, 10 mg ampicillin sodium, 10 mg cetrimide, 1 mg methyl violet, 20 mg phenol red, 15 g agar và thêm nước cất đến 1000 mL) (Tsushima *et al.*, 1986) và ủ ở nhiệt độ 28°C. Sau

3-5 ngày nuôi cấy, nếu trên môi trường xuất hiện khuẩn lạc dạng A sẽ có màu nâu đỏ, tròn, trơn và bề mặt cong lồi thì mẫu được xác định đã nhiễm vi khuẩn *P. glumae*. Nếu môi trường xuất hiện khuẩn lạc dạng B có màu tím, tròn, trơn và bề mặt cong lồi thì mẫu hạt có thể bị nhiễm vi khuẩn *P. glumae* hoặc vi khuẩn *P. avenae*. Để phân biệt hai loài vi khuẩn này, khuẩn lạc dạng B được tiếp tục nuôi trên môi trường muối khoáng Ayers (0,2 g KCl, 0,2 g MgSO₄.7H₂O, 1 g NH₄H₂PO₄, 12 g agar, thêm nước cất đến 1000 mL) (Mew and Misra, 1994) có bổ sung đường inositol và ù ở nhiệt độ 28°C. Sau 3 ngày nuôi cấy, nếu khuẩn lạc phát triển được trên môi trường chúng tỏ mẫu hạt bị nhiễm vi khuẩn *P. glumae* và ngược lại là vi khuẩn *P. avenae* (Cottyn *et al.*, 1994).

Vi khuẩn *P. syringae* pv. *syringae* gây bệnh thối bẹ được xác định bằng cách trải 40 µL dung dịch trên môi trường Nutrient Agar (NA) (5 g peptone, 3 g beef extract, 5 g NaCl, 15 g nutrient agar, nước cất 1000 mL, pH 6.8) (Shivaji *et al.*, 2006) và ù ở nhiệt độ 28°C. Sau 3-5 ngày, các khuẩn lạc có đặc điểm tròn, nhỏ, trơn, lồi có màu trắng mờ được chọn và cấy lên môi trường King's B (20 g peptone, 1,5 g K₂HPO₄, 1,5 g MgSO₄, 20 g agar, 15 mL glycerol, 1000 mL nước cất) (King *et al.*, 1954; trích dẫn bởi Mew and Misra, 1994). Sau 3-5 ngày, đĩa vi khuẩn được đặt dưới ánh sáng tia UV, nếu khuẩn lạc có khả năng phát quang chứng tỏ mẫu hạt bị nhiễm vi khuẩn *P. syringae* pv. *syringae*. Sau đó, các chủng vi khuẩn được xác định bằng phương pháp chủng bệnh (pathogenicity test), hạt được gieo vào hộp nhựa có đường kính 30 cm trong 3 tuần, sau đó huyền phù các chủng vi khuẩn được pha loãng ở mật số 10⁹ CFU/ml và chủng bệnh bằng phương pháp cắt lá. Trước khi chủng bệnh khử trùng kéo bằng ethanol 70% sau đó nhúng vào huyền phù vi khuẩn. Lá được quan sát ở thời điểm 14 ngày sau khi chủng bệnh. Các chủng vi khuẩn là *P. syringae* pv. *syringae* sẽ gây ra triệu chứng chết chồi (bud rot) và thối bẹ (leaf sheath rots) (Backer, 2002).

Vi khuẩn thuộc chi *Xanthomonas* được xác định bằng cách trải 40 µL dung dịch trên môi trường Wakimoto cải tiến (0,5 g Ca(NO₃)₂.4H₂O, 0,82 g Na₂HPO₄, 5 g pepton, 20 g sucrose, 0,05 g FeSO₄.7H₂O, 15 g agar, nước cất 1000 mL, pH 7.0) (Karganilla *et al.*, 1973). Sau 3-5 ngày nuôi cấy, dựa vào đặc điểm hình thái khuẩn lạc đặc trưng của vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) gây bệnh cháy bìa lá và *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (*Xcola*) gây bệnh sọc trên môi trường Wakimoto cải tiến có dạng tròn, trơn, viền rõ và có màu vàng chanh chọn các khuẩn lạc có các đặc điểm trên để phân lập và tách rông. Sau đó, các

chủng vi khuẩn này được chủng lên cây lúa tại thời điểm 45 ngày sau khi gieo bằng phương pháp cắt chóp lá để xác định vi khuẩn *Xoo* và phun lên lá để xác định vi khuẩn *Xcola* với mật số 10⁹ CFU/mL (Khoa, 2005). Sau 14 ngày chủng bệnh, quan sát triệu chứng với triệu chứng điển hình của bệnh cháy bìa lá và bệnh sọc trong để từ đó xác định vi khuẩn *Xoo* và *Xcola*. Kết quả này được tái khẳng định bằng kỹ thuật sinh học phân tử PCR với cặp môi chuyên biệt XOO290F/R theo mô tả của Cho *et al.* (2011).

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Thành phần mầm bệnh nhiễm trên hạt lúa giống tại Hậu Giang

Kết quả sau khi phân lập và xác định mầm bệnh của tổng số 28 mẫu hạt được thu tại các địa điểm thuộc tỉnh Hậu Giang cho thấy hạt lúa giống IR 50404 có sự hiện diện 7 mầm bệnh nấm gồm *Sarocladium oryzae*, *Fusarium moniliforme*, *Alternaria padwickii*, *Bipolaris oryzae*, *Curvularia* spp., *Aspergillus* sp. và *Mucor* sp..

Nấm *Sarocladium oryzae*: trên hạt, tản nấm có màu trắng, sợi nấm ít phân nhánh, mọc sát bề mặt hạt lúa, nấm mọc một phần đôi khi bao phủ toàn bộ hạt lúa (Hình 1A1). Trên môi trường PDA, có thể thấy những khoan màu trắng bằng phẳng, sợi nấm ở mép mọc rất mượt và tản nấm có màu cam nhạt (Hình 1A2). Mặt dưới tản nấm có màu vàng cam ở trung tâm và nhạt dần về phía mép của tản nấm (Hình 1A3). Dưới kính hiển vi ở vật kính 40X, sợi nấm có màu trắng, bào tử nhẵn, đơn bào, hình trụ với đầu tròn, dạng thẳng và hình thành đơn lẻ, kích thước bào tử 2,5-8,5 µm × 1,5-3,5 µm (Hình 1A4).

Nấm *Fusarium moniliforme*: trên hạt, sợi nấm phát triển dày đặc như bông gòn, màu trắng, toi xộp bao quanh một phần hoặc toàn bộ hạt lúa và đến thời điểm 7 ngày sợi nấm bắt đầu chuyển sang màu vàng (Hình 1B1). Trên môi trường PDA, tản nấm phát triển khá nhanh, lúc đầu tản nấm có màu trắng, sau đó ở mặt dưới tản nấm chuyển sang màu vàng nhạt từ tâm và lan ra xung quanh. Đến thời điểm 7 ngày sau cấy, mặt trên và mặt dưới đều xuất hiện màu vàng và sợi nấm toi xộp (Hình 1B2,3). Dưới kính hiển vi ở vật kính 40X, bào tử có 2 dạng là tiểu bào tử và đại bào tử. Tiểu bào tử không màu, trong suốt, không có vách ngăn, hình trứng, kích thước 5,0-7,5 µm x 2,5-4,5 µm. Đại bào tử không màu, hơi cong ở hai đầu và có từ 3-5 vách ngăn, kích thước 30,0-40,5 µm x 2,5-4,0 µm (Hình 1B4).

Nấm *Alternaria padwickii*: trên hạt, sợi nấm mịn, bện chặt, màu nâu nhạt sau đó chuyển sang màu trắng với chấm đen ở trung tâm (Hình 1C1).

Tân nấm trên môi trường PDA mọc đều sau đó phát triển thành những khoanh tròn đồng tâm có màu xám trắng, sợi nấm mịn và hơi nhô lên khỏi môi trường (Hình 1C2). Mặt dưới tân nấm có màu đen, phía rìa ngoài có màu trắng mọc đều (Hình 1C3). Dưới kính hiển vi ở vật kính 40X, sợi nấm phân nhánh và có nhiều vách ngăn, bào tử nấm thẳng, có dạng hình chùy một đầu to và thon nhỏ dần về đầu kia. Bào tử có vách dày, có 3-5 vách ngăn và thắt eo lại tại vách ngăn, tế bào thứ 2 và thứ 3 thường phình to hơn các tế bào còn lại, kích thước 110,0-190,0 μm x 12,5-17,5 μm (Hình 1C4).

Nấm *Bipolaris oryzae*: trên hạt, sợi nấm mọc khí sinh, có màu nâu đen, đỉnh bào đài thường ngắn, nhỏ, mọc thẳng đứng riêng lẻ hoặc thành từng cụm trên bề mặt hạt (Hình 1D1). Trên môi trường PDA, sợi nấm mọc to lên nhiều trung tâm và cuộn chặt vào nhau, khi phát triển đến mép thì có màu nâu đen, ở mặt dưới đĩa tân nấm có màu đen (Hình 1D2,3). Dưới kính hiển vi ở vật kính 40X, bào tử có màu nâu tối hoặc nâu oliu, hình thùy hơi cong thon dần về phía hai đầu, mỗi bào tử có 5-9 vách ngăn, kích thước 60-112,5 μm x 12,5-23 μm (Hình 1D4).

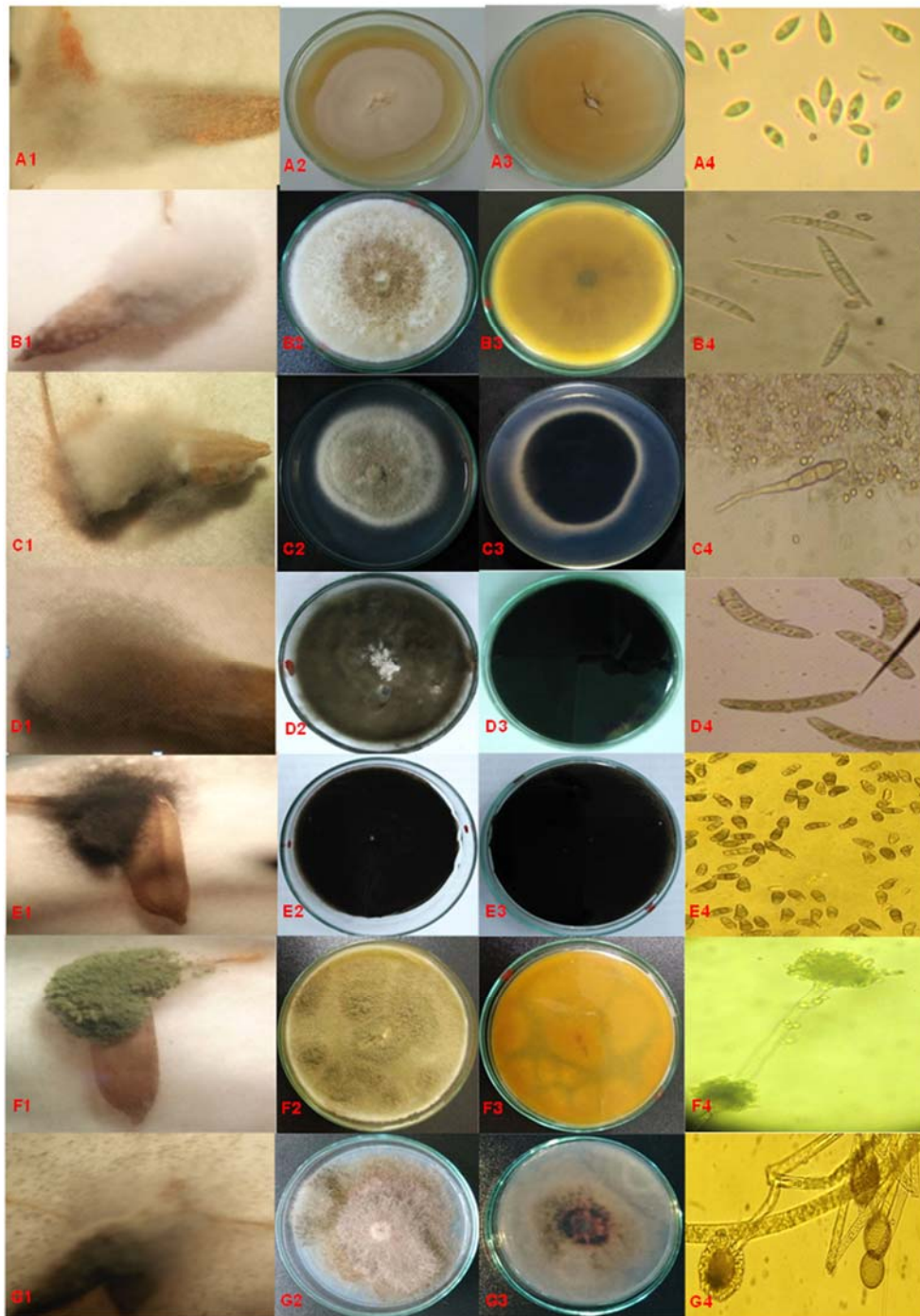
Nấm *Curvularia* spp.: trên hạt, tân nấm có màu đen bao quanh một phần hay toàn bộ hạt và khi phát triển lâu ngày làm cho hạt bị biến đổi màu (Hình 1E1). Trên môi trường PDA, tân nấm phát triển nhanh, ở mặt trên và mặt dưới đĩa đều có màu đen (Hình 1E2,3). Dưới kính hiển vi ở vật kính 40X, bào tử màu nâu sẫm, hình thùy, tròn ở đầu, hơi thắt lại ở đế cuống, thành trơn, nâu nhạt tới đậm gồm 3 vách ngăn, tế bào thứ 2 lớn hơn tế bào 1, 3, 4 và uốn lại ở tế bào thứ 2, kích thước 18,5-24,0 μm x 7,5-13,0 μm (Hình 1E4).

Nấm *Aspergillus* sp.: trên hạt, nấm mọc thành từng cụm trên bề mặt, khi phát triển tân nấm có màu xám xanh và thường được tìm thấy ở phần đầu và đuôi hạt (Hình 1F1). Trên môi trường PDA, tân nấm phát triển và tạo thành những cụm trên bề mặt hạt, mặt dưới tân nấm có màu vàng (Hình 1F2,3). Dưới kính hiển vi ở vật kính 40X, cuống bào tử

mang thể bình không có vách ngăn, không màu, phía trên đỉnh có một túi phình to, trên thể bình là các bào tử đỉnh xếp thành chuỗi, không màu, có hình dạng tròn với kích thước trung bình 4,5 μm (Hình 1F4).

Nấm *Mucor* sp.: trên hạt, sợi nấm phát triển bao phủ toàn bộ bề mặt hạt (Hình 1G1), trên môi trường PDA, sợi nấm có dạng như sợi bông vải khi còn non và sau đó có màu sậm hơn do hình thành lập thể mang bọc bào tử vách dày (Hình 1G2,3). Dưới kính hiển vi ở vật kính 40X, sợi nấm không phân nhánh, mỗi bọc bào tử phát triển ở ngọn, thể mang bọc bào tử phát triển riêng biệt, không cùng nhóm, bọc bào tử đổi sang màu nâu khi bào tử trưởng thành, kích thước trung bình của bào tử 3,5 μm (Hình 1G4).

Kết quả phân lập không ghi nhận sự hiện diện của mầm bệnh vi khuẩn trên hạt lúa giống IR 50404. Nguyên nhân có thể do thời gian lưu tồn của vi khuẩn trên hạt ngắn hơn so với nấm bệnh. Cụ thể, vi khuẩn *P. glumae* ở điều kiện tồn trữ chỉ tồn tại trên hạt được 2 tháng (Bradbury, 1984). Nghiên cứu của Kauffman and Reddy (1975) cũng cho rằng hạt lúa giống khi được tồn trữ trên 2 tháng không phải là nơi lưu tồn của mầm bệnh vi khuẩn. Tuy nhiên, đối với một số loài nấm thì thời gian lưu tồn trên hạt rất lâu, như nấm *B. oryzae* bào tử nấm có thể tồn tại trên hạt trung bình là 2 năm, nấm *F. moniliforme* ở điều kiện ngoài đồng hay ở nhiệt độ phòng nấm có thể tồn tại trên hạt sau 4-10 tháng và hơn 3 năm trong điều kiện bảo quản lạnh 7°C (Ou, 1985). Do đó, kết quả nghiên cứu không ghi nhận sự hiện diện của mầm bệnh vi khuẩn trên hạt có thể do mẫu hạt đã được tồn trữ quá lâu (trên 2 tháng). Ngoài ra, nếu hạt lúa giống được phơi trong điều kiện thời tiết khô nóng thì các phản ứng hóa học trong tế bào vi khuẩn bị phá vỡ bởi bức xạ mặt trời làm cho một số vi sinh vật bị tiêu diệt hoặc hạt được sấy khô hay nhiệt độ tồn trữ cao hơn 30°C cũng làm hạn chế sức sống của mầm bệnh vi khuẩn (Ou, 1985; Vũ Triều Mân, 2007).



Hình 1: Hình thái 7 loài nấm được phân lập trên mẫu lúa giống IR 50404 thu thập tại Hậu Giang. Hình thái sợi nấm phát triển trên hạt, tản nấm trên môi trường PDA ở mặt trên, tản nấm trên môi trường PDA ở mặt dưới và bào tử nấm dưới kính hiển vi quang học của nấm *Sarocladium oryzae* (A1, A2, A3, A4), *Fusarium moniliforme* (B1, B2, B3, B4), *Alternaria padwickii* (C1, C2, C3, C4), *Bipolaris oryzae* (D1, D2, D3, D4), *Curvularia* spp. (E1, E2, E3, E4), *Aspergillus* sp. (F1, F2, F3, F4) và *Mucor* sp. (G1, G2, G3, G4)

3.2 Sự hiện diện của nấm bệnh trên các mẫu hạt lúa giống tại các địa điểm thu mẫu ở Hậu Giang

Trong số 7 loài nấm hiện diện trên hạt lúa giống thì tại huyện Phụng Hiệp có 6 loài, kể đến là huyện Châu Thành A, huyện Long Mỹ và thành phố Vị Thanh có 5 loài, huyện Vị Thủy và thị xã

Long Mỹ có 4 loài và cuối cùng là thị xã Ngã Bảy có 3 loài (Bảng 1). Qua đó cho thấy ở Ngã Bảy có thành phần nấm bệnh ít nhất so với các địa điểm còn lại. Nguyên nhân có thể do hạt giống cung cấp cho thị xã Ngã Bảy được sản xuất ở những ruộng sạch bệnh và công tác kiểm dịch được quản lý một cách nghiêm ngặt nên có nấm bệnh ít phát triển.

Bảng 1: Sự hiện diện của nấm bệnh trên các mẫu hạt lúa được thu tại các địa điểm thu mẫu ở Hậu Giang

Địa điểm	Mẫu hạt	Nấm bệnh						
		<i>Saro</i>	<i>Fusa</i>	<i>Alte</i>	<i>Bipo</i>	<i>Curv</i>	<i>Aspe</i>	<i>Muco</i>
Châu Thành A	Mẫu 1	+	+	+	-	+	+	-
Châu Thành A	Mẫu 2	+	+	+	-	+	-	-
Châu Thành A	Mẫu 3	-	+	+	-	+	+	-
Châu Thành A	Mẫu 4	-	+	+	-	-	+	-
Phụng Hiệp	Mẫu 5	+	-	+	+	-	+	+
Phụng Hiệp	Mẫu 6	+	+	+	+	-	+	+
Phụng Hiệp	Mẫu 7	+	+	-	-	-	+	-
Phụng Hiệp	Mẫu 8	+	+	+	+	-	+	-
Ngã Bảy	Mẫu 9	+	-	+	+	-	-	-
Ngã Bảy	Mẫu 10	+	-	+	+	-	-	-
Ngã Bảy	Mẫu 11	-	-	+	+	-	-	-
Ngã Bảy	Mẫu 12	+	-	+	+	-	-	-
Vị Thủy	Mẫu 13	+	+	-	-	-	+	+
Vị Thủy	Mẫu 14	+	+	-	-	-	+	+
Vị Thủy	Mẫu 15	+	+	-	-	-	+	+
Vị Thủy	Mẫu 16	+	+	-	-	-	+	+
Long Mỹ	Mẫu 17	-	-	+	-	+	-	+
Long Mỹ	Mẫu 18	-	+	+	-	+	+	+
Long Mỹ	Mẫu 19	-	+	+	-	-	+	-
Long Mỹ	Mẫu 20	-	+	+	-	+	+	-
Thị xã Long Mỹ	Mẫu 21	-	+	-	+	-	+	-
Thị xã Long Mỹ	Mẫu 22	+	+	-	+	-	+	-
Thị xã Long Mỹ	Mẫu 23	+	+	-	-	-	+	-
Thị xã Long Mỹ	Mẫu 24	+	+	-	+	-	-	-
Vị Thanh	Mẫu 25	+	-	+	-	+	+	-
Vị Thanh	Mẫu 26	+	-	+	+	+	+	-
Vị Thanh	Mẫu 27	+	-	+	+	+	+	-
Vị Thanh	Mẫu 28	+	-	+	+	+	-	-
Tổng		20	19	19	13	10	20	8

(+): có hiện diện (-): không hiện diện

Saro: *Sarocladium oryzae*; *Fusa*: *Fusarium moniliforme*; *Alte*: *Alternaria padwickii*; *Bipo*: *Bipolaris oryzae*; *Curv*: *Curvularia spp.*; *Aspe*: *Aspergillus sp.*; *Muco*: *Mucor sp.*

Từ Bảng 1 cho thấy tần số xuất hiện của nấm bệnh trên tổng mẫu hạt có sự chênh lệch nhau. Cụ thể, nấm *S. oryzae* và *Aspergillus sp.* có tần số cao nhất là 71,43%, kể đến là nấm *F. moniliforme* và *A. padwickii* với tần số 67,86%, nấm *B. oryzae* 46,43%, nấm *Curvularia spp.* 35,71% và thấp nhất là nấm *Mucor sp.* 28,57%. Kết quả nghiên cứu tương đồng với kết quả của Mew and Misra (1994), Mew and Gonzales (2002) khi xác định các mầm bệnh trên hạt lúa thu từ nhiều vùng khác nhau trên thế giới. Trong đó, tần số xuất hiện của các loài nấm *S. oryzae*, *F. moniliforme*, *A. padwickii* tại

Nam Á và Đông Nam Á là rất cao. Nấm *S. oryzae* phát triển thuận lợi trong điều kiện thời tiết nóng ẩm, nhiệt độ thích hợp từ 20-30°C và độ ẩm tương đối 65-85% đây là tác nhân gây bệnh thối bẹ làm ảnh hưởng nghiêm trọng đến sự sinh trưởng và phát triển của cây lúa (Sakthivel, 2001). Hạt giống nhiễm nấm *S. oryzae* có tỉ lệ nảy mầm thấp và nguy cơ lây nhiễm bệnh là rất cao (Vũ Triệu Mân, 2007). Đối với nấm *F. moniliforme* gây bệnh lúa von, chủ yếu lây lan bằng hạt và lúc lúa phơi màu là thời điểm thích hợp để nấm phát triển lây vào hạt. Kết quả nghiên cứu tương đồng với các nghiên cứu của Ora et al. (2011) khi phân lập mẫu hạt

bằng phương pháp giấy thấm, Butt *et al.* (2011) phân lập nấm trên hạt giống tồn trữ, Trần Thị Thu Thủy và Nguyễn Văn Lực (2014) phân lập nấm bệnh trên hạt ở Sóc Trăng đều ghi nhận sự hiện diện của nấm *F. moniliforme*. Nấm *A. padwickii* là tác nhân gây bệnh đốm vòng trên lúa. Nấm có khả năng sinh ra hạch nấm trong nội nhũ của hạt nên có thể tồn tại trên hạt trong thời gian dài làm giảm chất lượng hạt lúa, nấm tồn trữ trong rom rạ và gây hại cho lúa qua các mùa vụ (Ou, 1985; Kato, 1988; Mew and Misra, 1994; Mew and Gonzales, 2002).

Đối với nhóm nấm mốc, *Aspergillus* sp. hiện diện ở các địa điểm thu mẫu nhiều hơn nấm *Mucor* sp.. Kết quả phân lập tương đồng với nghiên cứu của nhiều tác giả khi phân lập nấm trên hạt ở nhiều quốc gia trong đó có Việt Nam và kết quả cho thấy phần lớn các mẫu hạt đều có sự hiện diện của nấm *Aspergillus* sp. (Ora *et al.*, 2011; Trần Thị Thu Thủy và Nguyễn Văn Lực, 2014; Zafar *et al.*, 2014). Theo ghi nhận của Macedo *et al.* (2002), nếu hạt bảo quản trong thời gian lâu dài thì khả năng nhiễm nấm *Aspergillus* sp. là rất cao, đặc biệt là giai đoạn từ 6-12 tháng. Nấm mốc phân bố rộng trong tự nhiên, dưới điều kiện tồn trữ thích hợp làm nấm phát triển rất nhanh. Bên cạnh đó, nấm mốc không có diệp lục tố, không tự tổng hợp được chất hữu cơ, cần lấy chất dinh dưỡng từ bên ngoài môi trường mà phần nội nhũ của hạt lúa chứa chủ yếu là chất đường bột, protein, chất béo,... là những chất cần thiết cho quá trình sinh trưởng và phát triển của nấm mốc (McCance and Widdowson, 1960; Nguyễn Ngọc Đệ, 2008). Nhóm nấm này chủ yếu nhiễm vào hạt lúa trong quá trình tồn trữ làm thay đổi màu hạt, ảnh hưởng đến sức nảy mầm và làm giảm chất lượng hạt đáng kể (Koirala *et al.*, 2005).

Từ kết quả nghiên cứu cho thấy việc xác định mầm bệnh trên hạt lúa giống IR 50404 là cần thiết để ứng dụng các biện pháp xử lý hạt giống trước khi gieo trồng nhằm loại bỏ những mầm bệnh không mong muốn bằng các biện pháp sinh học như sử dụng vi khuẩn đối kháng hay dịch trích thực vật để phòng trị mầm bệnh trên hạt.

4 KẾT LUẬN

Thí nghiệm đã xác định được 7 loài nấm nhiễm trên hạt lúa giống IR 50404 tại Hậu Giang gồm *Sarocladium oryzae*, *Fusarium moniliforme*, *Alternaria padwickii*, *Bipolaris oryzae*, *Curvularia* spp., *Aspergillus* sp., và *Mucor* sp.. Trong đó, nấm *Sarocladium oryzae* và *Aspergillus* sp. hiện diện nhiều nhất ở các địa điểm thu mẫu. Tuy nhiên, không ghi nhận được sự hiện diện của mầm bệnh vi khuẩn trên hạt lúa giống IR 50404.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Atlas, R.M., 2010. Handbook of microbiological media, fourth edition. CRC Press. Washington, D.C, USA, 2040 pages.
- Backer, D., 2002. Method for inoculating rice with *Xanthomonas*. Plant Pathology Laboratory, Iowa State University Dr. Adam Bogdanove.
- Bradbury, J.F., 1984. Genus II. *Xanthomonas* Dowson 1939. Bergey's manual of systematic Bacteriology. 1: 199-210.
- Burgess, L.W., Knight, T.E., Tesoriero, L. and Phan, H.T., 2008. Diagnostic manual for plant diseases in Vietnam. ACIAR Monograph 129. Australian Centre for International Agricultural Research: Canberra. Australia, 210 pages.
- Butt, A.R., Yaseen, S.I. and Javaid, A., 2011. Seed-borne mycoflora of stored rice grains and its chemical control. The journal of animal and plant sciences. 21(2): 193-196.
- Cho, M.S., Kang, M.J., Kim, C.K., Seo, Y.J., Hahn, J.H., Park, S.C., Hwang, D.J., Ahn, T.Y., Park, D.H., Lim, C.K. and Park, D.S., 2011. Sensitive and specific detection of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* by real-time bio-PCR using pathovar-specific primers based on an rhs family gene. Plant disease. 95(5): 589-594.
- Cottyn, B., Cerez, M.T. and Mew, T.W., 1994. Chapter 7 bacteria. In: Mew, T.W., Misra, J.K. (Eds.). A manual of rice seed health testing. IRRI. Philippines, pp. 30-42.
- Cottyn, B., Regalado, E., Lanoot, B., De Cleene, M., Mew, T.W. and Swings, J., 2001. Bacterial populations associated with rice seed in the tropical environment. Phytopathology. 91(3): 282-292.
- Fakir, G.A., 1983. Teaching, research and training activities on seed pathology in Bangladesh. Seed sciences and technology. 11: 1345-1352.
- Hạt giống cây trồng - Phương pháp kiểm nghiệm, 2011. TCVN 8548:2011, 110 trang.
- Imolehin, E.D., 1983. Rice seedborne fungi and their effect on seed germination. Plant disease. 67(12): 1334-1336.
- International Seed Testing Association, 1993. International rules for seed testing. Seed science and technology. 21(Suppl.): 288 pages.
- Javaid, M.S., Wahid, A., Idrees, M., Gill, M.A. and Saleem, A., 2006. Seed mycoflora studies in rice. Pakistan Journal Phytopathology. 14: 132-134.
- Karganilla, A., Paris-Natural, M. and Ou, S.H., 1973. A comparative study of culture media for *Xanthomonas oryzae*. Philippine Agriculture. 57: 141-152.
- Kato, H., Ohata, K., Kauraw, L.P. and Lee, Y.H., 1988. Fungal diseases of rice seed. Rice seed health. IRRI. Philippines, pp. 151-162.

- Kauffman, H.E. and Reddy, A.P.K., 1975. Seed transmission studies of *Xanthomonas oryzae* in rice. *Phytopathology*. 65(6): 663-666.
- Khoa, N.Đ., 2005. Effect of single resistance genes and their pyramid on the diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* population under field conditions as revealed by insertion sequence-polymerase chain reaction (IS-PCR). MSc thesis. College of Arts and Sciences, University of the Philippines Los Banos, Philippines. 105 pages.
- Khush, G.S., 2005. What it will take to feed 5.0 billion rice consumers in 2030. *Plant Molecular Biology*. 59(1): 1-6.
- Koirala, P., Kumar, S., Yadar, B.K. and Premarajan, K.C., 2005. Occurrence of aflatoxin in some of the food and feed in Nepal. *Indian journal of medical sciences*. 59(8): 331-336.
- Macedo, E.D.C., Groth, D. and Soave, J., 2002. Influence of bag types on health quality of stored rice seeds. *Revista brasileira de sementes*. 24(1): 42-50.
- McCance, R.A. and Widdowson, E.M., 1960. The composition of foods. MRC Special Report Series No. 297. London: HM Stationery Office.
- Mew, T.W. and Gonzales, P., 2002. A Handbook of rice seedborne fungi. IRRI. Philippines, 83 pages.
- Mew, T.W. and Misra, J.K., 1994. A manual of rice seed health testing. IRRI. Philippines, 113 pages.
- Miyajima, K., Tanii, A. and Akita, T., 1983. *Pseudomonas fuscovaginae* sp. nov., nom. rev. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 33(3): 656-657.
- Nguyễn Ngọc Đệ, 2008. Giáo trình cây lúa. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ. 243 trang.
- Nguyễn Thị Trúc Phương, 2016. Giải pháp tài chính thúc đẩy xuất khẩu gạo vùng Đồng bằng sông Cửu Long. *Tài chính*. 1: 79-81.
- Ora, N., Faruq, A.N., Islam, M.T., Akhtar, N. and Rahman, M.M., 2011. Detection and identification of seed borne pathogens from some cultivated hybrid rice varieties in Bangladesh. *Middle-East journal of scientific research*. 10(4): 482-488.
- Ou, S.H., 1972. Rice disease. Commonwealth mycological institute. England, 368 pages.
- Ou, S.H., 1985. Rice diseases. Commonwealth mycological institute. England, 380 pages.
- Phạm Văn Kim, 2015. Các bệnh hại lúa quan trọng ở Đồng bằng sông Cửu Long. Nhà xuất bản Nông nghiệp, 132 trang.
- Sakthivel, N., 2001. Sheath rot disease of rice: current status and control strategies. In: Sreenivasaprasad, S., Johnson, R. (Eds.). *Major fungal diseases of rice: Recent advances*. Springer. Dordrecht, pp. 271- 283.
- Savary, S., Willocquet, L., Elazegui, F.A., Castilla, N.P. and Teng, P.S., 2000. Rice pest constraints in tropical Asia: Quantification of yield losses due to rice pests in a range of production situations. *Plant disease*. 84(3): 357-369.
- Screenivasaprasad, S., Chipili, J., Muthumeenakshi, S., Séré, Y., Kamelan, Z., Akator, K., Nutsugah, S.K., Dogbe, W., Twumasi, J., Dartey, K., Talbot, N.J. and Brown, A.E., 2003. Diversity of blast pathogen populations in four west africa countries and strategies for resistance management. In: Y. Séré, S. Screenivasaprasad and S.K. Nutsugah. *Rice blast in West Africa: Characterisation of pathogen diversity, key screening sites and host resistance*. The Africa rice center (WARDA). Bouaké, Côte d'Ivoire, pp. 72-102.
- Shivaji, S., Chaturvedi, P., Suresh, K., Reddy, G.S.N., Dutt, C.B.S., Wainwright, M., Narlikar J.V. and Bhargava, P.M., 2006. *Bacillus aerophilus* sp. nov., *Bacillus stratosphericus* sp. nov. and *Bacillus altitudinis* sp. nov., isolated from cryogenic tubes used for collecting air samples from high altitudes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 56(7): 1465-1473.
- Singh, R. and Sunder, S., 2012. Foot rot and bakanae of rice: an overview. *Rev. Plant pathol*. 5: 565-604.
- Sở Nông Nghiệp và Phát Triển Nông Thôn Hậu Giang, 2016. Cơ cấu giống lúa Hậu Giang.
- Trần Thị Thu Thủy và Nguyễn Văn Lực, 2014. Xác định nấm gây bệnh trên hạt lúa tại Tỉnh Sóc Trăng. Hội thảo quốc gia bệnh hại thực vật Việt Nam, trang 134-140.
- Tsushima, S., Wakimoto, S. and Mogi, S., 1986. Selective medium for detecting *Pseudomonas glumae* Kurita et Tabei, the causal bacterium of grain rot of rice. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*. 52(2): 253-259.
- Vũ Triệu Mân, 2007. Giáo trình bệnh cây chuyên khoa. NXB Nông Nghiệp, 227 trang.
- Zafar, M., Jamal, A., Tahira, R., Zakria, M. and Naeemullah, M., 2014. Incidence of seed-borne mycoflora in wheat and rice germplasm. *International journal of agriculture innovations and research*. 2(5): 720-722.