

P., 2014a. Artificial and factitious foods support the development and reproduction of the predatory mite *Amblyseius swirskii*. Experimental and applied acarology. 62(2): 181-194.

10. Nguyen, D. T., Vangansbeke, D. và De

Clercq, P., 2014b. Solid artificial diets for the phytoseiid predator *Amblyseius swirskii*. BioControl. 59(6): 719-727.

**Phản biện:** PGS.TS. Nguyễn Đức Tùng

## ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ PHÒNG TRỪ BỆNH VÀNG LÁ THỐI RỄ CÂY CÀ PHÊ Ở VIỆT NAM CỦA CÁC CHẾ PHẨM SINH HỌC MỚI TRONG ĐIỀU KIỆN NHÀ LƯỚI

### Assessment of The Effectiveness of Newly Experiment Biological Products in Nethouse Conditions in Prevention Yellow Leaf and Root Rot Disease of Coffee Plant in Vietnam

Lê Thị Thanh Tâm<sup>1\*</sup>, Phạm Thị Lương<sup>1</sup>, Lê Thị Phương Thảo<sup>1</sup>, Hà Minh Thanh<sup>1</sup>, Lê Mai Nhật<sup>1</sup>, Trịnh Xuân Hoạt<sup>1</sup>, Nguyễn Văn Liêm<sup>1</sup>, Phạm Công Hoạt<sup>2</sup>, Đoàn Thị Thanh<sup>3</sup>, Jennifer Jähne<sup>4</sup>, Peter Lasch & Rainer Borriss<sup>5</sup>

Ngày nhận bài: 02.12.2022

Ngày chấp nhận: 22.12.2022

#### Abstract

Coffee is an important industrial plant in Vietnam, bringing a great source of income for the country. However, in recent years, coffee plants have been seriously damaged by yellow leaf and rot root (YLRR) disease of coffee plant, mainly caused by the fungus *Fusarium oxysporum* and the knot root nematode *Meloidogyne* sp. causing a decrease in exports. Currently, in Vietnam, there are not many biological products (BPs) to prevent disease safely and effectively. This study was conducted in order to contribute to finding the experimental BPs that are effective in preventing YLRR disease of coffee plant in Vietnam under net house conditions. The results of the study showed that BP ENDOBICA from endogenous bacterium (EB) *Bacillus velezensis* TL7 transformed with *cry6A* gene had the highest efficiency in reducing YLRR disease of coffee plant by 85,05% while BPs including ENDOBICA1 from EB *B. velezensis* TL7, BIORHIZO1 from plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) *B. velezensis* S1, BIONA2 from plantazolicin biological compound (BC) with nematocide activity were all effective in reducing YLRR disease of coffee plant to the same extent high 72,58%-75,91%. Simultaneous processing of the two BPs including BIONA1&BIONA2 also gives similar high efficiency. Meanwhile, BP BIONA1 from the biological compound fengycin has fungicidal activity, effectively reducing YLRR disease of coffee plant by 63,43%.

**Keywords:** *Fusarium oxysporum*, *Meloidogyne* sp., endogenous bacterium, *cry6A*, *Bacillus velezensis*, plantazolicin, fengycin, bioproducts, coffee plant

#### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cà phê là cây công nghiệp quan trọng ở Việt Nam được xuất khẩu đứng thứ 2 trên thế giới chỉ sau Brazil. Tuy nhiên theo số liệu của Tổng Cục

Thống kê, mặc dù tháng 5 năm 2015 sản xuất cà phê đạt 1.600.000 tấn thu về 2.6 tỷ đô la Mỹ nhưng thực chất đã bị sụt giảm 20% sản lượng tương đương với sụt giảm giá trị kim ngạch xuất khẩu 13 % so với 2014. Thiệt hại gây ra chủ yếu bởi nấm bệnh *Fusarium oxysporum* và tuyến trùng nốt sưng *Meloidogyne* sp. khiến cây bị vàng lá thối rễ (VL-TR) mất năng suất. Bộ Nông nghiệp và PTNT đã ban hành quy trình tái canh cây cà phê với năm 2010, 2013 [1]. và 2016 phục vụ sản xuất cà phê ở vùng Tây nguyên. Quy trình phòng chống bệnh vàng lá, thối rễ cà phê và quy trình sản xuất cây giống cà phê sạch bệnh đã được công nhận cấp cơ sở của Viện Khoa học Nông nghiệp Việt nam. Quy trình bao gồm nhiều biện pháp tổng hợp được đưa ra góp phần

1. Viện Bảo vệ thực vật, Đức Thắng, Bắc Từ Liêm, Hà Nội, Việt Nam.

2. Bộ Khoa học và Công nghệ. Số 113 Trần Duy Hưng, Trung Hòa, Cầu Giấy, Hà Nội

3. Hội Khoa học Kỹ thuật Bảo vệ thực vật Việt Nam. Số 149 Hồ Đắc Di, Đống Đa, Hà Nội

4. Proteomics and Spectroscopy Unit (ZBS6), Centre for Biological Threats and Special Pathogens, Robert Koch Institute, Berlin, Germany

5. Institute of Marine Biotechnology e.V., Greifswald, Germany.

\*Tác giả liên hệ:

Email: Lethithanhtam.bvtv@gmail.com

phòng chống hiệu quả bệnh VL-TR ở vùng Tây nguyên. Tuy nhiên biện pháp sinh học vẫn được ưu tiên trong phòng chống bệnh này và hiện tại vẫn chưa có nhiều chế phẩm sinh học (CPSH) có khả năng phòng chống hiệu quả cao ở Việt Nam.

Trên thế giới việc sử dụng các chế phẩm sinh học (CPSH) làm từ các chủng vi khuẩn *Bacillus* nội sinh hoặc vùng rễ có khả năng kích thích sinh trưởng (KTST-(Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)) cây trồng và diệt trừ nguồn nấm bệnh tuyến trùng gây hại thay thế cho các hóa chất nông nghiệp như phân bón, thuốc hóa học BVTV đang là xu hướng phát triển [2-3]. Các vi khuẩn này thường tác động thông qua việc tiết ra các hợp chất có khả năng KTST như indole-3-acetic acid (IAA), cùng các hoạt chất sinh học tự nhiên có tác dụng kháng nấm bệnh như fengycin hay plantazolicin trừ tuyến trùng [4]. Gần đây, tiềm năng nghiên cứu sử dụng CPSH phòng trừ tuyến trùng từ tinh thể độc CryA cũng được nghiên cứu, ứng dụng [5-7].

Ở Việt Nam đã bắt đầu có một số nghiên cứu và sử dụng các CPSH từ vi khuẩn PGPR làm giảm việc sử dụng phân hóa học an toàn với môi trường và giảm chi phí sản xuất [8]. Tuy nhiên, so với thế giới, đến nay các CPSH ở Việt Nam chưa có nhiều, chưa đa dạng về chủng loại để có thể vừa phòng trừ dịch bệnh nông nghiệp một cách an toàn, hiệu quả và bền vững trong môi trường tự nhiên đặc biệt trong hoàn cảnh Việt Nam là một trong năm quốc gia trên thế giới chịu ảnh hưởng lớn nhất của biến đổi khí hậu.

Vì vậy, nhằm góp phần tạo đa dạng các CPSH cho các lựa chọn phòng trừ nấm *F. oxysporum* và tuyến trùng *Meloidogyne* sp. gây bệnh VL-TR cây cà phê phục vụ sản xuất cà phê theo hướng tạo sản phẩm hữu cơ sạch, chất lượng cao không chỉ cho thị trường nội địa mà còn đem lại nguồn kim ngạch xuất khẩu lớn về cho đất nước, nghiên cứu này đã tiến hành thử nghiệm trong nhà lưới Viện Bảo vệ thực vật (BVTV) hiệu quả phòng trừ bệnh VL-TR cây cà phê của 5 CPSH thử nghiệm khác nhau gồm ENDOBICA-1, ENDOBICA1, BIORHIZO1, BIO-NA1 và BIO-NA2.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Vật liệu

**Nguồn nấm:** Chủng nấm *F. oxysporum* gây bệnh VL-TR đã được phân lập từ các mẫu đất vùng rễ cây cà phê và rễ cây cà phê bị bệnh thu tại Đà Lạt - Lâm Đồng, Buôn Ma Thuật - Đắk Lắk, được làm thuần, lưu giữ tại Bộ môn Bệnh cây và Miễn dịch thực vật - Viện Bảo vệ thực vật (BVTV) theo phương pháp của Tạ Hồng Lĩnh và cs. (2018) [9].

**Nguồn tuyến trùng:** Tuyến trùng nốt sừng *Meloidogyne* sp. gây bệnh VL-TR cây cà phê cũng được thu thập tại Đà Lạt - Lâm Đồng, Buôn Ma Thuật - Đắk Lắk. Hạt giống cây cà chua hè chịu nhiệt được mua ở Công ty giống cây trồng Hà Nội phục vụ cho gieo hạt trồng cây cà chua giống lưu giữ và nhân nguồn tại nhà lưới Bộ môn Bệnh cây và Miễn dịch thực vật, Viện BVTV. Chuẩn bị tuyến trùng gây bệnh cây *Meloidogyne* sp. được tách biệt từ rễ cây cà phê theo phương pháp của Hooper và cs (2005) [10] và sau đó nhân lên bằng các cây cà chua sạch bệnh. Thu thập tuyến trùng J2 bằng các trứng được thu lại trong các rây lưới lọc 500 µm, được rửa nhẹ bằng nước vòi trong 5 phút để loại bỏ tất cả dư lượng thuốc tẩy.

**Nguồn CPSH:** gồm 5 CPSH thử nghiệm: ENDOBICA-1, ENDOBICA1, BIORHIZO1, BIO-NA1 và BIO-NA2 là sản phẩm khoa học của đề tài nghiên cứu cơ bản do Quỹ Phát triển Khoa học Quốc gia mã số 106.03-2017.28 cấp kinh phí, đề tài Nghị định thư hợp tác với Đức mã số NDT.40.GER/18 do Bộ Khoa học và Công nghệ (KH-CN) Việt Nam tài trợ kinh phí nghiên cứu phía Việt Nam và dự án hợp tác quốc tế ENDOBICA mã số 031B0582A do Bộ KH-CN Đức cấp kinh phí nghiên cứu phía Đức.

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

#### Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm nhà kính được bố trí ngẫu nhiên, với 3 lần lặp, 7 công thức, mỗi công thức 10 cây cà phê tuổi 2 được trồng trong đất đã được hấp khử trùng ở điều kiện 121°C, 1 atm, 30 phút. Kích thước chậu 40×40 cm chứa 2 kg đất.

CTTN	
CT1 (ENDOBICA-1)	CPSH thử nghiệm ENDOBICA-1 chứa bào tử vi khuẩn nội sinh <i>Bacillus velezensis</i> TL7 được biến nạp thêm gen <i>cry6A</i> mã hóa protein Cry6A độc với tuyến trùng có mật độ $3,6 \times 10^8$ cfu/ml được pha loãng 5% để phun lên thân lá cây cà phê có sát thương lá nhẹ 1 tháng trước khi lây bệnh nhân tạo (LBNT).
CT2 (ENDOBICA1)	CPSH thử nghiệm ENDOBICA1 chứa bào tử vi khuẩn nội sinh <i>B. velezensis</i> TL7 có hoạt tính diệt trừ nấm bệnh và tuyến trùng, có mật độ $3,6 \times 10^8$ cfu/ml được pha loãng 5% để phun lên thân lá cây cà phê có sát thương lá nhẹ 1 tháng trước khi lây bệnh nhân tạo (LBNT).

CT3 (BIORHIZO1)	CPSH thử nghiệm BIORHIZO1 chứa bào tử vi khuẩn PGPR vùng đất rẫy <i>B. velezensis</i> S1 có hoạt tính diệt trừ nấm bệnh và tuyến trùng, có mật độ $3,6 \times 10^3$ cfu/ml được pha loãng 5% để tưới vào đất vùng rẫy cây cà phê 2 tuần trước khi lây bệnh nhân tạo (LBNT).
CT4 (BIO-NA1)	CPSH thử nghiệm BIO-NA1 chứa hợp chất sinh học Fengycin có hoạt tính diệt trừ nấm bệnh có nồng độ $10^3$ ppm, được pha loãng 5% và được tưới vào đất vùng rẫy cây cà phê sau khi LBNT 1 tuần
CT 5 (BIO-NA2)	CPSH thử nghiệm BIO-NA2 chứa hợp chất sinh học Plantazolicin có hoạt tính diệt trừ tuyến trùng có nồng độ $10^3$ ppm, được pha loãng 5% và được tưới vào đất vùng rẫy cây cà phê sau khi LBNT 1 tuần.
CT 6 (BIO-NA1&BIO-NA2)	xử lý đồng thời cả 2 CPSH thử nghiệm BIO-NA1&BIO-NA2 có nồng độ gốc của Fengycin và Plantazolicin đều là $10^3$ ppm, được pha loãng 5% mỗi loại và được tưới vào đất vùng rẫy cây cà phê sau khi LBNT 1 tuần.
CT7 (Đối chứng)	không xử lý bất kỳ một CPSH thử nghiệm nào

**Lây bệnh nhân tạo:** Lây đồng thời cả nấm bệnh *F. oxysporum* và tuyến trùng nốt sừng *Meloidogyne sp.* vào trong đất ở các chậu trồng cây cà phê ở tất cả các công thức xử lý các CPSH thử nghiệm và công thức đối chứng không xử lý các CPSH thử nghiệm. Cụ thể, 400 ml dung dịch bào tử nấm *F. oxysporum* ở nồng độ  $3,65 \times 10^6$  được tưới vào trong các chậu đất trồng cây cà phê và sấp xỉ 5000 con *Meloidogyne sp.* J2 được chủng nhiễm vào trong mỗi chậu trồng cây cà phê.

Thí nghiệm thử hiệu quả phòng trừ bệnh VL-TR cây cà phê của các CPSH thử nghiệm được thực hiện trong nhà lưới Bộ môn Bệnh cây và Miễn dịch thực vật, được theo dõi và thu hoạch kết quả sau 6 tháng xử lý các CPSH thử nghiệm.

**Các chỉ tiêu theo dõi**

Các mẫu đất vùng rẫy và rẫy cây cà phê được thu lại

- + Phân lập và tính mật độ nấm *F. oxysporum* trong đất (cfu/g)

- + Ly trích và tính các mật độ tuyến trùng nốt sừng *Meloidogyne sp.* trong 100g đất vùng rẫy và trong 5g rẫy cây cà phê theo phương pháp của Hooper và cs (2005) [10]

- + Chỉ số bệnh (CSB) (%) được tính theo phương pháp thường quy của Viện Bảo vệ thực vật, trong đó bệnh VL-TR cây cà phê được phân thành các cấp bệnh từ 0 đến 4 như nghiên cứu của Nguyễn Xuân Hòa và cs. (2016) [1].

- + Hiệu quả (%) trong Công thức so sánh với Đối chứng:

$$\text{Hiệu quả (\%)} = \frac{(\text{Đối chứng} - \text{Công thức})}{\text{Đối chứng}} \times 100$$

Trong đó:

Hiệu quả (%): Hiệu quả của việc xử lý các CPSH thử nghiệm làm giảm mật độ nấm *F. oxysporum* trong đất vùng rẫy cây cà phê/ làm

giảm số lượng tuyến trùng *Meloidogyne sp.* trong 100g đất vùng rẫy cây cà phê/ làm giảm số lượng tuyến trùng *Meloidogyne sp.* trong 5g rẫy cây cà phê/ làm giảm bệnh (CSB) VL-TR cây cà phê ở các công thức xử lý các CPSH thử nghiệm so với ở công thức đối chứng không xử lý.

**Công thức:** Mật độ nấm *F. oxysporum* trong đất vùng rẫy cây cà phê/ số lượng tuyến trùng *Meloidogyne sp.* trong 100g đất vùng rẫy cây cà phê/ số lượng tuyến trùng *Meloidogyne sp.* trong 5g rẫy cây cà phê/ CSB VL-TR cây cà phê ở các công thức xử lý các CPSH thử nghiệm.

**Đối chứng:** Mật độ nấm *F. oxysporum* trong đất vùng rẫy cây cà phê/ số lượng tuyến trùng *Meloidogyne sp.* trong 100g đất vùng rẫy cây cà phê/ số lượng tuyến trùng *Meloidogyne sp.* trong 5g rẫy cây cà phê/ CSB VL-TR cây cà phê ở công thức đối chứng không xử lý CPSH thử nghiệm.

**2.3 Xử lý số liệu**

Các số liệu thí nghiệm nhắc lại 3 lần độc lập với việc bố trí thí nghiệm theo khối ngẫu nhiên một yếu tố được xử lý bằng Excel và SAS, 1999. Nhóm Duncan được thực hiện trong quy trình ANOVA với t Tests (LSD = 5%) trong đó các giá trị trung bình được phân lớp có cùng chữ (a-z) giống nhau thì không khác nhau về mặt ý nghĩa.

**3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN**

**3.1 Hiệu quả của việc xử lý các CPSH thử nghiệm đối với phòng trừ nấm bệnh *F. oxysporum* gây bệnh VL-TR cây cà phê**

Kết quả xử lý các CPSH thử nghiệm đối với phòng trừ nấm bệnh *F. oxysporum* gây bệnh VL-TR cây cà phê được minh họa ở bảng 1 cho thấy việc xử lý các CPSH gồm BIORHIZO1, BIO-NA1 và đồng thời 2 CPSH gồm BIO-NA1 & BIO-NA2 cho đều cho hiệu quả cao trên 70% cùng phân

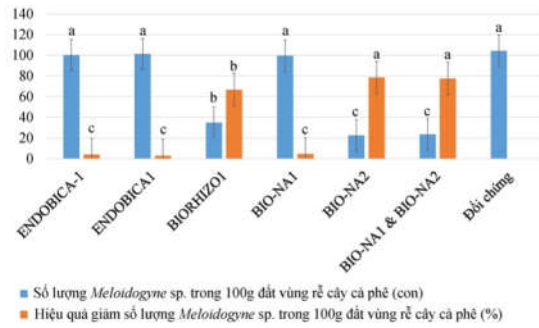
mức b trong việc làm giảm mật độ nấm bệnh trong đất vùng rễ cây cà phê lần lượt xuống CFU =  $12,30 \times 10^4$ , CFU =  $9,37 \times 10^4$ , CFU =  $10,00 \times 10^4$ , đặc biệt xử lý BIO-NA1 và xử lý đồng thời BIO-NA1&BIO-NA2 cho hiệu quả cao nhất cùng phân mức a lần lượt là 77,68 và 76,20% trong việc làm giảm mật độ nấm bệnh tương ứng CFU=  $9,37 \times 10^4$  và CFU =  $10,00 \times 10^4$ . Trong khi các CPSH thử nghiệm gồm ENDOBICA-1, ENDOBICA1 và BIO-NA2 không có hiệu quả trong việc làm giảm mật độ nấm bệnh *F. oxysporum* trong đất khi mật độ nấm *F. oxysporum* trong đất ở các công thức này sau xử lý CPSH vẫn cao cùng phân mức a tương ứng lần lượt là CFU =  $39,97 \times 10^4$ , CFU =  $40,30 \times 10^4$  và CFU =  $41,00 \times 10^4$  so với mật độ nấm bệnh trong công thức đối chứng không xử lý CPSH có CFU=  $42,27 \times 10^4$ .

**Bảng 1. Hiệu quả phòng trừ nấm bệnh *F. oxysporum* của các CPSH thử nghiệm thông qua việc làm giảm mật độ nấm *F. oxysporum* trong đất**

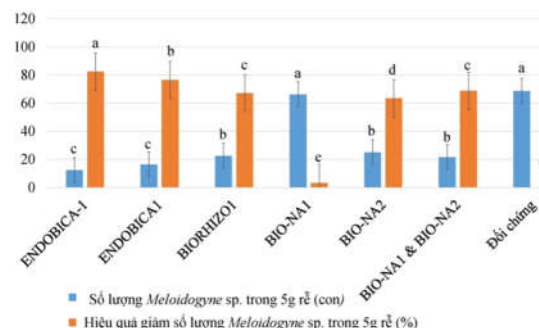
Công thức thí nghiệm	Mật độ nấm <i>F. oxysporum</i> trong đất (CFU/1 g đất $\times 10^4$ )	Hiệu quả giảm mật độ nấm (%)
ENDOBICA-1	39,97 <sup>a</sup>	5,38 <sup>c</sup>
ENDOBICA1	40,30 <sup>a</sup>	4,64 <sup>cd</sup>
BIORHIZO1	12,30 <sup>b</sup>	70,76 <sup>b</sup>
BIO-NA1	9,37 <sup>b</sup>	77,68 <sup>a</sup>
BIO-NA2	41,00 <sup>a</sup>	2,97 <sup>d</sup>
BIO-NA1 & BIO-NA2	10,00 <sup>b</sup>	76,20 <sup>a</sup>
Đối chứng	42,27 <sup>a</sup>	0,00 <sup>e</sup>
LSD 5%	3,35	2,37
CV %	6,75	3,92

**3.2 Hiệu quả của việc xử lý các CPSH thử nghiệm trong phòng trừ tuyến trùng *Meloidogyne* sp. gây bệnh VL-TR cây cà phê**

Hiệu quả của việc xử lý các CPSH thử nghiệm trong phòng trừ tuyến trùng *Meloidogyne* sp. gây bệnh VL-TR cây cà phê được xem xét qua việc xử lý các CPSH làm giảm các mật độ tuyến trùng *Meloidogyne* sp. trong 100 g đất vùng rễ và đặc biệt trong 5 g rễ cây cà phê như được minh họa ở các hình 1 và hình 2 dưới đây.



**Hình 1. Hiệu quả phòng trừ tuyến trùng nốt sừng *Meloidogyne* sp. của các CPSH thử nghiệm thông qua việc làm giảm mật độ tuyến trùng trong 100 g đất vùng rễ**



**Hình 2. Hiệu quả phòng trừ tuyến trùng nốt sừng *Meloidogyne* sp. của các CPSH thử nghiệm thông qua việc làm giảm mật độ tuyến trùng trong 5 gram rễ**

Kết quả được minh họa từ hình 2 cho thấy xử lý các CPSH ENDOBICA-1 và ENDOBICA1 từ vi khuẩn nội sinh *B. velezensis* TL7 đều không làm giảm trung bình mật độ tuyến trùng *Meloidogyne* sp. trong 100 g đất vùng rễ so với ở công thức đối chứng không xử lý CPSH, tương ứng với trung bình mật độ tuyến trùng ở hai công thức trên lần lượt là 100,27 con/ 100 g rễ và 101,4 con/ 100 g rễ so với ở đối chứng là 104,4 con/ 100 g rễ. Trong khi kết quả từ hình 3 cho thấy xử lý ENDOBICA-1 lại cho hiệu quả cao nhất 84,44% sau đó là ENDOBICA1 6,53% trong việc làm giảm trung bình mật độ tuyến trùng *Meloidogyne* sp. trong 5 g rễ cà phê lần lượt xuống 12,33 con/ 5g rễ và 16,37 con/ 5 g rễ so với trung bình mật độ tuyến trùng 68,70 con/ 5 g rễ ở công thức đối chứng không xử lý CPSH. Xử lý CPSH BIORHIZO1 làm từ vi khuẩn PGPR *B. velezensis* S1 đều cho hiệu quả cao, ổn định 66,65% và 67,22% trong việc làm giảm trung

bình mật độ tuyến trùng xuống còn 34,93 con/ 100g đất và 22,60 con/ 5g rễ so với 104,4 con/ 100 g đất và 68,70 con/ 5g rễ ở các công thức đối chứng tương ứng không được xử lý CPSH. Trong khi đó, kết quả được minh họa từ các hình 2 và 3 đều cho thấy CPSH BIO-NA1 không có hiệu quả trong việc làm giảm mật độ tuyến trùng *Meloidogyne* sp. trong cả 100 g đất vùng rễ hay trong 5 g rễ cà phê. Ngược lại, việc xử lý các CPSH BIO-NA2 và đồng thời BIO-NA1& BIO-NA2 cho hiệu quả giảm số lượng tuyến trùng trong 100 g đất cao nhất ở cùng phân mức a lần lượt là 78,52% và 77,54% tương ứng với trung bình mật độ tuyến trùng giảm xuống còn 22,57 con/ 100 g đất và 23,63 con/ 100 g đất cũng như cho hiệu quả cao trong việc giảm số lượng tuyến trùng trong 5g rễ lần lượt là 63,49% và 68,83% tương ứng với trung bình mật độ tuyến trùng giảm xuống còn 25,13 con/ 5 g rễ và 21,57 con/ 5 g rễ so với 104,4 con/ 100 g rễ và 68,70 con/ 5 g rễ ở các công thức đối chứng tương ứng không xử lý CPSH.

**3.3 Hiệu quả của việc xử lý các CPSH thử nghiệm trong phòng trừ bệnh VL-TR cây cà phê ở nhà lưới Viện BTVT**

Hiệu quả của việc xử lý các CPSH thử nghiệm trong phòng trừ bệnh VL-TR cây cà phê ở nhà lưới Viện BTVT được tính như hiệu quả làm giảm CSB VL-TR cây cà phê được minh họa ở bảng 2 và hình 3 dưới đây.

**Bảng 2. Hiệu quả phòng trừ bệnh VL-TR cây cà phê của các CPSH thử nghiệm ở nhà lưới Viện BTVT**

Công thức thí nghiệm	Chỉ số bệnh (CSB) (%)	Hiệu quả giảm CSB
ENDOBICA-1	2,50 <sup>f</sup>	90,00 <sup>a</sup>
ENDOBICA1	5,83 <sup>bc</sup>	76,67 <sup>ed</sup>
BIORHIZO1	6,67 <sup>b</sup>	73,33 <sup>e</sup>
BIO-NA1	5,00 <sup>cd</sup>	80,00 <sup>cd</sup>
BIO-NA2	4,17 <sup>de</sup>	83,33 <sup>bc</sup>
BIO-NA1 & BIO-NA2	3,33 <sup>ef</sup>	86,67 <sup>ab</sup>
Đối chứng	25,00 <sup>a</sup>	
LSD 5%	1,59	6,64
CV %	11,88	4,47

Kết quả bảng 2 cho thấy hiệu quả giảm CSB VL-TR cây cà phê đạt cao nhất ở mức a (90,00%) khi xử lý bởi CPSH ENDOBICA-1, tiếp đến là mức ab (86,67%) và mức bc (83,33%) khi

xử lý lần lượt bởi các CPSH BIO-NA1&BIO-NA2, BIO-NA2 và đạt mức cd (80,00%) khi được xử lý bởi BIO-NA1 trong khi các CPSH ENDOBICA1 và BIORHIZO1 lần lượt đạt mức ed (76,67%) và e (73,33%) so với ở công thức đối chứng không được xử lý các CPSH. Như vậy, mặc dù thành phần tác nhân/ hoạt chất phòng trừ ở cả 5 CPSH: ENDOBICA-1, ENDOBICA1, BIORHIZO1, BIO-NA1 và BIO-NA2 khác nhau nhưng các CPSH này đều có hiệu quả cao trên 70% trong việc phòng trừ bệnh VL-TR cây cà phê tại thử nghiệm trong nhà lưới của Viện BTVT.



**Hình 3. Ảnh thí nghiệm thử hiệu quả của các CPSH thử nghiệm trong phòng trừ bệnh VL-TR cây cà phê tại nhà lưới Viện BTVT**

Đối chiếu ngược lại với các hiệu quả phòng trừ nấm *F. oxysporum* trong đất được minh họa ở bảng 1 và hiệu quả phòng trừ tuyến trùng *Meloidogyne* sp. trong đất được minh họa ở hình 1 cũng như trong rễ được minh họa ở hình 2 cho thấy: (i) CPSH ENDOBICA-1 và ENDOBICA1 đều có nguồn gốc từ vi khuẩn nội sinh *B. velezensis* TL7 được phân lập từ thân lá cây cà phê và được biến nạp thêm gen *cry6A* ở CPSH ENDOBICA-1 nên cho hiệu quả phòng trừ bệnh cao nhất trên 70% mặc dù các CPSH này không có hiệu quả trực tiếp trong phòng trừ nấm *F. oxysporum* và tuyến trùng *Meloidogyne* sp. gây bệnh vùng rễ tồn tại ở trong đất. Cơ chế tác động trong phòng trừ bệnh của các vi khuẩn *B. velezensis* nội sinh có thể có ưu điểm vượt trội do vị trí sinh học tồn tại ngay bên trong cây trồng khiến vi khuẩn được bảo vệ tránh khỏi việc hoạt tính bị giảm sút như khi các vi khuẩn PGPR phải tiếp xúc trực tiếp với các tác động bất lợi từ môi

trường đất, nước, UV mặt trời... Có nhiều kết quả nghiên cứu, báo cáo về các vi khuẩn PGPR *B. velezensis* vùng đất rẫy [4] nhưng chưa có nhiều kết quả nghiên cứu nổi bật về vi khuẩn *B. velezensis* nội sinh. Đây là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam cho thấy CPSH làm từ *B. velezensis* nội sinh cho hiệu quả cao trong việc phòng trừ bệnh VL-TR cây cà phê; (ii) CPSH BIORHIZO1 tạo ra từ vi khuẩn PGPR *B. velezensis* S1 cho hiệu quả phòng trừ nấm và tuyến trùng gây bệnh trong đất trên 60% cũng như hiệu quả giảm bệnh VL-TR cây cà phê trên 70% chứng tỏ với bệnh VL-TR cây cà phê có tác nhân gây hại nằm trong đất vùng rẫy thì việc sử dụng các CPSH từ vi khuẩn PGPR có hoạt tính đối kháng cao là một lựa chọn tốt; (iii) các CPSH BIO-NA1 và BIO-NA2 lần lượt được làm từ các hợp chất sinh học có hoạt tính diệt trừ nấm bệnh (fengycin) và tuyến trùng (plantazolicin) cho hiệu quả cao trong phòng trừ cả nấm và tuyến trùng gây bệnh cũng như hiệu quả trong việc giảm bệnh (CSB) lần lượt là 80,00% và 83,33% khi được xử lý riêng và 86,68% khi được phối hợp cùng xử lý bệnh.

#### 4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

CPSH ENDOBICA-1 được tạo ra từ vi khuẩn nội sinh *B. velezensis* TL7 được biến nạp thêm gen *cry6A* có hiệu quả giảm bệnh VL-TR cao nhất 90,00% trong điều kiện nhà lưới.

Xử lý CPSH BIO-NA2 và đồng thời 2 CPSH gồm BIO-NA1 & BIO-NA2 cũng cho hiệu quả cao 83,33%-86,67%. Xử lý CPSH BIO-NA1 có thành phần hợp chất chính là fengycin có hoạt tính diệt trừ nấm bệnh, hiệu quả giảm bệnh VL-TR cà phê 80,00%.

Các CPSH gồm ENDOBICA1 được tạo ra từ vi khuẩn nội sinh *B. velezensis* TL7, BIORHIZO1 được tạo ra từ vi khuẩn PGPR *B. velezensis* S1 đều có hiệu quả giảm bệnh VL-TR khá cao 73,33%-76,67% trong điều kiện nhà lưới.

Đề nghị đánh giá hiệu quả phòng trừ bệnh VL-TR cà phê của 4 CPSH thử nghiệm gồm ENDOBICA1, BIORHIZO1, BIO-NA1 và BIO-NA2 ở điều kiện ngoài đồng ruộng.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Xuân Hòa, Nguyễn Hồng Phong, Cù Thị Dàn, Trần Ngô Tuyết Vân, Nguyễn Thị Thiên Trang, Lê Văn Phi, 2016. Ảnh hưởng của tuyến trùng đến mức

độ bị nhiễm bệnh vàng lá thối rễ trên cây cà phê vối tái canh. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam* - Số 2(63)/2016.

2. Chu Nguyên Thanh và cộng sự, 2018. "Đánh giá khả năng kích thích tăng trưởng thực vật của hai chủng *Pseudomonas* phân lập từ vùng rẫy cây bắp". *Tạp chí phát triển Khoa học & Công nghệ: Chuyên san khoa học tự nhiên*, tập 2, số 2, 2018.

3. Tạ Hồng Lĩnh, Nguyễn Văn Tuất, Nguyễn Văn Việt, Trương Hồng, Nguyễn Xuân Hòa, 2018. Ảnh hưởng của nấm và tuyến trùng đến bệnh vàng lá, thối rễ ở cây cà phê vối trên các nền luân canh khác nhau tại Tây Nguyên.

4. Lugtenberg B, Kamilova F, 2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Ann Rev Microbiol* 63: 541–556.

5. Borriss R, 2011. Use of plant-associated *Bacillus* strains as biofertilizers and biocontrol agents in agriculture. In: D. K. Maheshwari (ed.) *Bacteria in Agrobiolgy: Plant growth responses*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

6. Fan B, Wang C, Song X, Ding X, Wu L, Wu H, Gao X and Borriss R, 2018. *Bacillus velezensis* FBZ42 in 2018: The Gram-Positive Model Strain for Plant Growth Promotion and Biocontrol. *Front. Microbiol.* 9:2491.

7. Z Yu, J Xiong, Q Zhou, H Luo, S Hu, L Xia, M Sun, L Li, Z Yu, 2014. The diverse nematicidal properties and biocontrol efficacy of *Bacillus thuringiensis* Cry6A against the root-knot nematode *Meloidogyne hapla*. *J. Inverteb Pathol.* 2015 Feb;125:73-80.

8. Kotze AC, O'Grady J, Gough JM, Pearson R, Bagnall NH, Kemp DH, Akhurst RJ, 2005. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* to parasitic and free-living life-stages of nematode parasites of livestock. *Int J Parasitol.* 2005 Aug; 35(9):1013-22.

9. Dimock M, Turner J, Lampel J, 1993. Endophytic microorganisms for delivery of genetically engineered microbial pesticides in plants. In: *Advanced engineered pesticides*, L. Kim (Ed.), Chapter 5, Marcel Dekker: New York 1993, p. 85-98; NSBN 0-8247-8990

10. Hooper, D. J., Hallmann, J., & Subbotin, S. A., 2005. Methods for extraction, processing and detection of plant and soil nematodes. In M. Luc, R. A. Sikora, & J. Bridge (Eds.), *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. Wallingford, UK: CAB International.

**Phản biện: GS.TS. Nguyễn Văn Tuất**