

Evaluation of the control potential to root - knot nematode *Meloidogyne incognita* of *Purpureocillium lilacinum* 11BB strain

Oanh T. K. Tran, Hanh T. Mai, Tuyen T. T. Doan, Thanh T. L. Bien, & Phong V. Nguyen*
Faculty of Biological Sciences, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: July 21, 2021

Revised: November 07, 2021

Accepted: November 16, 2021

Keywords

Bitter melon (Biological control)

Chitinase

Meloidogyne incognita

Protease

Purpureocillium lilacinum
11BB

*Corresponding author

Nguyen Vu Phong

Email:

nvphong@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

Parasitic fungi are considered effective biological agents to control plant - parasitic nematodes. Based on morphology and ITS sequence, seven *Purpureocillium lilacinum* strains were isolated from 144 soil samples collected from Chau Duc district, Ba Ria - Vung Tau province, and Dinh Quan district, Dong Nai province. After 96 h of culture in medium supplemented with casein, chitin, and tween 20, seven strains showed protease, chitinase, and lipase activity. In laboratory conditions, both 11BB and 11SN strains parasitized 31 - 34% eggs and 58 - 62% eggmass, respectively. In greenhouse conditions, the 11BB strain decreased 79.0 - 80.3% of juveniles (J2s) and 77.4 - 79.7% of egg numbers on tomato plants as compared with the control. Results showed that the 11BB fungal strain could be used in control of root - knot nematodes.

Cited as: Nguyen, O. T. K., Mai, H. T., Doan, T. T. T., Bien, T. T. L., & Nguyen, P. V. (2022). Evaluation of the control potential to root - knot nematode *Meloidogyne incognita* of *Purpureocillium lilacinum* 11BB strain. *The Journal of Agriculture and Development* 21(1), 1-8.

Đánh giá khả năng kiểm soát tuyến trùng sùng rễ *Meloidogyne incognita* của dòng nấm *Purpureocillium lilacinum* 11BB

Trần Thị Kiều Oanh, Mai Thị Hạnh, Đoàn Thị Thanh Tuyền, Biện Thị Lan Thanh & Nguyễn Vũ Phong*

Khoa Khoa Học Sinh Học, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 21/07/2021

Ngày chỉnh sửa: 07/11/2021

Ngày chấp nhận: 16/11/2021

Từ khóa

Chitinase

Kiểm soát sinh học

Meloidogyne incognita

Protease

Purpureocillium lilacinum

11BB

*Tác giả liên hệ

Nguyễn Vũ Phong

Email:

nvphong@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Nấm ký sinh được đánh giá là tác nhân sinh học tiềm năng phòng trừ tuyến trùng hiệu quả. Từ 144 mẫu đất nông nghiệp thuộc huyện Châu Đức, Bà Rịa - Vũng Tàu và huyện Định Quán tỉnh Đồng Nai đã phân lập được 7 dòng nấm *Purpureocillium lilacinum* dựa vào hình thái và trình tự ITS. Sau 96 giờ nhân nuôi trên môi trường bổ sung casein, chitinase, tween 20, 7 dòng nấm cho thấy có khả năng tạo protease, chitinase và lipase. Ở điều kiện phòng thí nghiệm, 2 dòng nấm 11BB và 11SN ký sinh 31 - 34% trứng và 58 - 62% túi trứng. Ở điều kiện nhà lưới, dòng nấm 11BB có khả năng làm giảm từ 79,0 - 80,3% số tuyến trùng tuổi 2 (J2) và 77,4 - 79,7% số trứng tuyến trùng trên cây cà chua so với đối chứng. Các kết quả thực nghiệm cho thấy dòng nấm 11BB có tiềm năng ứng dụng trong phòng trừ tuyến trùng sùng rễ.

1. Đặt Vấn Đề

Thiệt hại do tuyến trùng ký sinh đối với cây trồng nông nghiệp mỗi năm ước tính lên đến hàng trăm tỷ USD (Nicol & ctv., 2011). Tuyến trùng sùng rễ *Meloidogyne* là tác nhân gây hại chính trên hầu hết các loại cây trồng. Tuyến trùng ký sinh làm cho rễ cây sùng lên, thối đen rồi chết hoặc làm giảm khả năng hút nước và hấp thụ dinh dưỡng làm cây sinh trưởng kém, còi cọc, lá úa vàng. Chẳng những gây hại rễ mà tuyến trùng còn mở đường cho các tác nhân gây hại khác như nấm bệnh, vi khuẩn, virus tấn công rễ làm cho năng suất và chất lượng nông sản giảm đi nghiêm trọng.

Sử dụng thuốc bảo vệ thực vật trong nông nghiệp là một biện pháp có hiệu quả nhanh và đang được sử dụng rất phổ biến tại Việt Nam.

Tuy nhiên phương pháp sử dụng thuốc bảo vệ thực vật có thể để lại dư lượng trên nông sản, gây ảnh hưởng đến sức khỏe cộng đồng cũng như môi trường sinh thái. Do vậy, xu hướng quay trở lại nền nông nghiệp hữu cơ với việc tăng cường sử dụng các loại chế phẩm sinh học đang là xu hướng chung và lâu dài của toàn cầu. Các vi nấm có hệ enzyme gồm chitinase, protease, lipase được đánh giá là có hiệu quả trong việc phòng trừ tuyến trùng gây hại. *Purpureocillium lilacinum* là một loài đại diện của chi nấm *Paecilomyces*, nấm phát triển tốt trong khoảng nhiệt độ 15 - 30°C, thích nghi với khoảng pH rộng nên có khả năng cạnh tranh với các vi sinh vật trong đất nông nghiệp (Atkins & ctv., 2005). Với hệ enzyme ngoại bào đa dạng, *P. Lilacinum* được quan tâm nghiên cứu và ứng dụng trong phòng trừ tuyến trùng, đặc biệt là tuyến trùng sùng rễ *Meloidogyne*.

Nghiên cứu này trình bày kết quả phân lập và chọn dòng nấm *Purpureocillium lilacinum* có khả năng ký sinh tuyến trùng sừng rế *Meloidogyne* làm cơ sở phát triển chế phẩm sinh học phòng trừ tuyến trùng gây hại cây trồng.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Phân lập và định danh nấm

Mẫu đất được thu ở các vườn trồng hồ tiêu ở Châu Đức, Bà Rịa - Vũng Tàu và Định Quán - Đồng Nai. Lấy 100 g đất bên dưới lớp xác bã thực vật mục nát khoảng 10 cm cho vào túi nhựa, dán nhãn kí hiệu. Phân lập nấm theo phương pháp pha loãng mẫu (Pau & ctv., 2012): Hút 0,1 mL từ mỗi ống pha loãng 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} cho vào đĩa petri có chứa môi trường Rose Bengal chitin agar, mỗi nồng độ trên 3 đĩa, dùng que cấy trang đều, ủ ở 30°C. Sau 7 ngày, chọn các tản nấm có màu trắng, tơ nấm mọc dày, đồng nhất, đường kính khoảng 2 mm cấy làm thuần trên môi trường thạch khoai tây (PDA). Quan sát đặc điểm hình thái tản nấm và chuẩn bị tiêu bản để quan sát hình dạng vi thể của nấm. Dựa vào hình thái tản nấm, đặc điểm hiển vi theo khóa phân loại Samson (1974), Luangsa - Ard & ctv. (2011) để chọn ra dòng nấm nghi ngờ là *P. Lilacinum*.

Tách DNA của dòng nấm chọn lọc được dựa trên phương pháp của Izumitsu & ctv. (2012) có cải tiến: 1 µg sợi nấm được cho vào 100 µL TE trong eppendorf 1,5 mL; gia nhiệt bằng microwave trong 2 phút, để ở nhiệt độ phòng trong 30 giây, tiếp tục gia nhiệt bằng microwave 2 phút, sau đó để ở - 20°C trong 10 phút. Sử dụng cặp primer PaeF (5' - CTC AGT TGC CTC GGC GGG AA - 3') và PaeR (5' - GTG CAA CTC AGA GAA GAA ATT CCG - 3') (Atkins & ctv., 2005) khuếch đại vùng ITS trong rRNA. Sản phẩm khuếch đại được giải trình tự và so sánh với trình tự sẵn có trên ngân hàng gen để xác định tên loài.

2.2. Khảo sát hệ enzyme ngoại bào của dòng nấm *Purpureocillium lilacinum*

Khảo sát khả năng sinh enzyme protease và chitinase của các dòng nấm phân lập được thực hiện trên môi trường Gause I với các cơ chất casein và chitin, thuốc thử lần lượt là TCA và lugol, enzyme lipase sử dụng môi trường có chứa tween 20 (Gopinath & ctv., 2013). Nấm *P. Lilacinum* được nuôi cấy trên môi trường PDA trong 7 ngày,

sau đó dùng khoan cắt thạch, chọn vùng nấm có màu tím đồng đều, cắt một khoan tròn đường kính 4 mm đặt úp vào các môi trường bổ sung casein, chitin và tween 20, ủ ở nhiệt độ phòng. Theo dõi và ghi nhận đường kính tản nấm, đường kính vòng phân giải qua 4 mốc thời gian là 24; 48; 96; 120 giờ. Tính hiệu số D - d, với D là đường kính vòng phân giải, d là đường kính tản nấm. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, với 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 5 đĩa. Phân cấp hoạt tính enzyme theo Mustafa & ctv. (2010).

2.3. Đánh giá khả năng ký sinh trứng tuyến trùng

Thực hiện theo Khan & ctv. (2006), trộn 100 µL dịch trứng tuyến trùng *Meloidogyne incognita* (500 trứng/mL) với 900 µL dịch nấm có mật độ 10^8 CFU/mL vào eppendorf 1,5 mL, đặt ở nhiệt độ phòng (Nguyen, 2018). Sau 7, 14 ngày nhuộm hỗn hợp này với trypan blue trong 5 phút, ly tâm thu phần trứng tuyến trùng và nấm và quan sát, đếm số trứng bị ký sinh dưới kính hiển vi phóng đại 400 lần.

Thực hiện trên môi trường bán rắn: Cấy nấm vào giữa đĩa petri chứa môi trường water agar 20g/L(WA), bổ sung chloramphenicol nồng độ 0,1 g/L. Sau 5 ngày hút 200 µL dịch chứa 100 trứng tuyến trùng, nhỏ đều xung quanh tản nấm. Sau 5 ngày, đo đường kính tản nấm. Nhuộm đĩa nấm bằng lactophenol cotton blue trong 5 phút. Dùng nước cất rửa kỹ đĩa cấy, ly tâm thu dịch nấm và đếm số lượng trứng bị ký sinh, so sánh đường kính tản nấm so với các đĩa đối chứng gồm đĩa nuôi trứng và đĩa cấy nấm.

2.4. Đánh giá khả năng ký sinh túi trứng tuyến trùng

Nấm được nuôi trên đĩa petri chứa môi trường WA bổ sung kháng sinh chloramphenicol. Tách các túi trứng từ nốt sừng rế cây cà chua ngâm trong dung dịch sodium hypochloride 0,7% trong 5 phút và dung dịch streptomycin 1 g/L trong 5 phút. Đặt 8 túi trứng đã xử lý xung quanh mép tản nấm 5 ngày nuôi, đặt đĩa ở nhiệt độ phòng. Sau 7 ngày, thu lấy các túi trứng nhuộm trong lactophenol cotton blue 5 phút, tiếp đến rửa sạch với nước cất. Quan sát các túi trứng dưới kính hiển vi có độ phóng đại 40 lần. Thí nghiệm được bố trí 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 3 đĩa. So sánh kết quả với đối chứng gồm đĩa đặt túi trứng và đĩa nuôi cấy nấm.

2.5. Đánh giá khả năng ký sinh tuyến trùng của nấm điều kiện nhà lưới

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên đơn yếu tố gồm 4 nghiệm thức gồm (NT1) xử lý nấm 7 ngày trước lây nhiễm tuyến trùng; (NT2) xử lý nấm 7 ngày sau lây nhiễm tuyến trùng; (NT3) xử lý nấm 14 ngày sau lây nhiễm tuyến trùng (NT4): lây nhiễm tuyến trùng (đối chứng). Mỗi nghiệm thức gồm 15 chậu nhựa kích thước 10 x 16 cm, chứa 3 kg giá thể bao gồm đất: cát: phân chuồng hoai (1:1:1) đã hấp khử trùng. Cây cà chua 15 ngày tuổi được trồng vào trong chậu. Sau 15 ngày, tiến hành lây nhiễm 1.000 tuyến trùng tuổi 2 (J2)/chậu. Ba gram sinh khối nấm *P. Lilacinum* với mật số 1.10^8 bào tử/g được hòa trong 100 mL nước tươi vào chậu theo các nghiệm thức. Chiều cao của cây cà chua được đo sau xử lý nấm và tuyến trùng 2, 4, 6 tuần. Đo chiều dài bộ rễ cà chua sau xử lý nấm và tuyến trùng 6 tuần. Đánh giá chỉ số bệnh của cây cà chua thông qua các thông số như nốt sùng trên bộ rễ, số lượng tuyến trùng/100 g đất, số lượng trứng tuyến trùng/5 g rễ cây cà chua. Hiệu quả kiểm soát tuyến trùng được xác định nhờ vào hệ số sinh sản (R_f) (Zhang & Schmitt, 1994) là tỉ số của số lượng tuyến trùng sau 6 tuần và số lượng tuyến trùng sử dụng lây nhiễm.

2.6. Phân tích số liệu

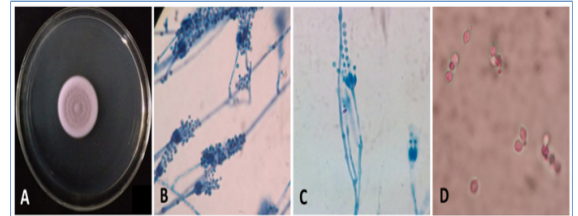
Các số liệu được phân tích phương sai (ANOVA) và trắc nghiệm phân hạng bằng Tukey HSD Test.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Phân lập mẫu nấm nghi ngờ *Purpureocillium lilacinum*

Từ 114 mẫu đất thu thập tại các vườn tiêu ở huyện Châu Đức, tỉnh Bà Rịa – Vũng Tàu và huyện Định Quán, tỉnh Đồng Nai đã phân lập được 7 dòng nấm nghi ngờ là *P. Lilacinum* (Bảng 1). Các dòng nấm được tìm thấy trong đất ở các vườn hồ tiêu khác nhau với mật số dao động từ 6.10^3 bào tử/g (11SN) đến $1,2.10^4$ bào tử/g (11BB). Cả 7 dòng đều được phân lập từ các vườn có hiện tượng cây bị vàng lá, chết chậm. Các dòng nấm đều có đặc điểm đại thể và hiển vi tương tự *P. Lilacinum* theo Samson (1974), Luangsa - Ard & ctv. (2011). Tán nấm nhỏ xuất hiện sau 5 - 7 ngày nuôi cấy trên môi trường Rose Bengal chitin

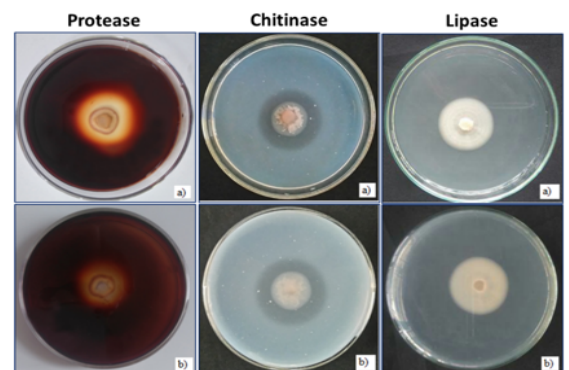
agar, tán nấm có màu tím hồng, nhẵn mịn. Sau khi được cấy sang môi trường PDA tán nấm phát triển nhanh trong 7 ngày, màu sắc tán nấm từ màu trắng trở nên vàng, vàng nâu, và cuối cùng chuyển sang màu tím hồng. Cuống sinh bào tử phân nhánh thẳng đứng, thể bình phình ở phần gốc dần dần hẹp kéo dài thành cổ. Bào tử có hình elip, sắp xếp thành chuỗi dài và không phân nhánh từ đầu mút của thể bình (Hình 1).



Hình 1. Hình thái của mẫu nấm phân lập 11BB. (A) Tán nấm trên môi trường thạch khoai tây; (B, C) Cuống sinh bào tử; (D) Bào tử nấm.

Để định danh các dòng nấm phân lập, sản phẩm PCR vùng ITS được giải trình tự hai chiều, kiểm tra, hiệu đính và so sánh bằng công cụ BLAST. Kết quả cho thấy các mẫu nấm phân lập tương đồng 92% với dòng *Purpureocillium lilacinum* (Genbank: MW113416).

3.2. Hệ enzyme ngoại bào của các dòng nấm phân lập



Hình 2. Hoạt tính enzyme protease, chitinase, lipase của dòng nấm *Purpureocillium lilacinum* 11BB. (a) mặt trên; (b) mặt dưới.

Kết quả theo dõi qua 4 mốc thời gian 24; 48; 96; 120 giờ cho thấy ở 96 giờ kích thước vòng

Bảng 1. Khả năng phân giải cơ chất của các dòng nấm sau 96 giờ

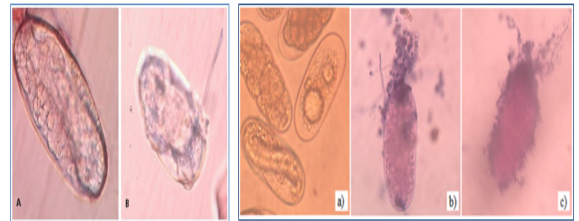
Tên dòng	Protease			Chitinase			Lipase		
	D (cm)	d (cm)	D - d (cm)	D (cm)	d (cm)	D - d (cm)	D (cm)	d (cm)	D - d (cm)
11BB	2,81 ± 0,03	1,41 ± 0,04	1,40 ± 0,03	3,01 ± 0,03	1,20 ± 0,03	1,81 ± 0,01	2,99 ± 0,07	1,24 ± 0,01	1,70 ± 0,06
31SN	2,45 ± 0,04	1,39 ± 0,25	1,06 ± 0,02	2,89 ± 0,03	1,19 ± 0,01	1,73 ± 0,02	2,94 ± 0,03	1,20 ± 0,01	1,68 ± 0,02
11SN	2,83 ± 0,03	1,46 ± 0,01	1,37 ± 0,03	2,90 ± 0,02	1,17 ± 0,02	1,70 ± 0,02	2,83 ± 0,08	1,17 ± 0,02	1,82 ± 0,07
31DB	2,51 ± 0,02	1,47 ± 0,02	1,04 ± 0,01	2,83 ± 0,03	1,17 ± 0,01	1,74 ± 0,02	2,62 ± 0,03	1,17 ± 0,01	1,35 ± 0,02
12SN	2,42 ± 0,02	1,45 ± 0,02	0,98 ± 0,02	2,61 ± 0,03	1,15 ± 0,00	1,47 ± 0,03	1,47 ± 0,03	1,15 ± 0,01	1,25 ± 0,01
13BB	2,22 ± 0,03	1,36 ± 0,01	0,86 ± 0,02	2,73 ± 0,04	1,13 ± 0,02	1,54 ± 0,03	2,41 ± 0,02	1,15 ± 0,01	1,47 ± 0,01
02PT	3,88 ± 0,05	2,50 ± 0,02	2,50 ± 0,02	2,74 ± 0,15	1,40 ± 0,17	1,34 ± 0,12	-	1,98 ± 0,13	-

(-): giá trị không xác định.

phân giải ổn định, màu sắc đồng đều, tản nấm phát triển tốt (Hình 2). Bầy dòng nấm đều có khả năng tiết enzyme phân giải chitin, protein và lipid (ngoại trừ dòng 02PT) (Bảng 1). Theo phân cấp của Mustafa & ctv. (2010), các dòng nấm có hoạt tính protease từ thấp (12SN, 13BB) đến trung bình; hoạt tính chitinase và lipase trung bình. Trong đó hai dòng nấm 11BB và 11SN có hoạt tính chitinase, protease, lipase cao nhất được đánh giá khả năng kỹ sinh tuyến trùng.

3.3. Khả năng kỹ sinh trứng và túi trứng tuyến trùng của các dòng nấm được chọn lọc

Sau 7 ngày ủ trứng và túi trứng tuyến trùng với nấm, có 31 - 34% trứng và 58 - 62% túi trứng bị nấm ký sinh. Bên cạnh đó, số trứng nở cũng bị giảm đáng kể từ 57 - 65% so với đối chứng (Bảng 2). Ban đầu, tơ nấm bám vào và quấn xung quanh trứng, sau đó sợi nấm phân nhánh, mọc vắt ngang bề mặt trứng và đi vào bên trong vỏ trứng. Thời gian đầu trứng bị nhiễm sưng lên, sau đó biến dạng, teo tóp lại. Có trường hợp sau khi lấp đầy trứng, sợi nấm trồi lên bề mặt trứng tiếp tục sinh trưởng và phát triển (Hình 3).



Hình 3. Khả năng kỹ sinh trứng tuyến trùng của nấm *Purpureocillium lilacinum*.

(A) Trứng tuyến trùng; (B) Trứng tuyến trùng bị ký sinh bởi nấm 11SN; (a) Trứng tuyến trùng; (b) Trứng tuyến trùng sau lây nhiễm nấm 11BB 5 ngày; (c) Trứng tuyến trùng sau lây nhiễm nấm 11BB 14 ngày.

3.4. Đánh giá khả năng kỹ sinh tuyến trùng của nấm 11BB trong điều kiện nhà lưới

Chiều cao cây cà chua sau xử lý nấm và tuyến trùng từ tuần thứ 6 có sự khác biệt giữa các nghiệm thức. Ở nghiệm thức có xử lý nấm, sinh trưởng của cây tốt hơn với chiều cao cây tăng từ 132% so với đối chứng. Giữa các nghiệm thức có xử lý nấm không có sự khác biệt. Tương tự, có

Bảng 2. Khả năng ký sinh tuyến trùng của hai dòng nấm

Nghiệm thức	Trứng bị ký sinh (%)	Số trứng nở (%)	Số trứng không bị ký sinh (%)	Túi trứng bị ký sinh (%)	Số túi trứng không bị ký sinh (%)
11BB	34,6 ^b	36,2 ^b	7,3 ^b	58,3 ^b	41,7 ^b
11SN	31,1 ^b	29,6 ^b	6,5 ^b	62,5 ^b	37,5 ^b
Đối chứng	0,0 ^a	85,3 ^a	3,3 ^a	0,0 ^a	100 ^a

Các ký tự khác nhau theo sau số liệu biểu thị sự khác biệt ở mức độ $P \leq 0,01$ bằng trắc nghiệm LSD.

sự khác biệt về chiều dài bộ rễ giữa các nghiệm thức có xử lý nấm với nghiệm thức đối chứng. Ở nghiệm thức đối chứng, bộ rễ phát triển chậm, xuất hiện u sưng, khả năng ra rễ tơ kém hơn các nghiệm thức có xử lý nấm. Giữa các nghiệm thức có xử lý chế phẩm nấm không có sự khác biệt (Bảng 3).



Hình 4. Thân và rễ cà chua các nghiệm thức ở 6 tuần sau lây nhiễm tuyến trùng.

NT1: xử lý nấm 7 ngày trước lây nhiễm tuyến trùng; NT2: xử lý nấm 7 ngày sau lây nhiễm tuyến trùng; NT3: xử lý nấm 14 ngày sau lây nhiễm tuyến trùng; NT4: lây nhiễm tuyến trùng (đối chứng).

Số nốt sưng trên rễ, số lượng tuyến trùng/100 g đất và trứng/5 g rễ ở 6 tuần sau xử lý giữa các nghiệm thức có xử lý nấm và nghiệm thức đối chứng khác nhau rất rõ rệt. Số nốt sưng trên rễ, số lượng tuyến trùng/100 g đất và trứng/5 g trong nghiệm thức có bổ sung nấm giảm hơn 75% (Bảng 4, Hình 4).

Vi nấm được đánh giá là tác nhân đóng vai trò rất quan trọng trong kiểm soát sinh học tuyến trùng. Nấm kiểm soát tuyến trùng được chia làm ba loại gồm nấm bẫy tuyến trùng, nấm nội ký sinh, nấm ký sinh con cái và trứng. Nhóm nấm ký sinh một số giai đoạn của tuyến trùng ngay khi có cơ hội tiếp xúc (Trivedi, 2012), khả năng kiểm soát sinh học cao, sống hoại sinh trong đất khi không có ký chủ và dễ dàng nhân sinh khối trong môi trường nuôi cấy nhân tạo (Moosavi &

Zare, 2012). Bầy dòng nấm được phân lập chủ yếu từ mẫu đất đổ vườn trồng hồ tiêu bị vàng lá thu nhận vào tháng 11 năm 2016, có mật số từ 10^3 đến 10^4 CFU/g, tương tự nghiên cứu của Le & ctv. (2016). Điều này cho thấy mặc dù có sự hiện diện của nấm ký sinh trong đất nhưng cây trồng vẫn bị tuyến trùng tấn công, cần có thêm nhiều thông tin liên quan để có thể lý giải tình trạng này nhằm tìm hướng kiểm soát tuyến trùng phù hợp.

Vỏ trứng và lớp biểu bì của tuyến trùng là nơi xâm nhiễm của các tác nhân kiểm soát sinh học. Do đó, các vi nấm có hệ enzyme gồm chitinase, protease, lipase được coi là lựa chọn hiệu quả trong việc phòng trừ tuyến trùng gây hại. Nấm *P. lilacinum* tiết các enzyme thuộc hệ enzyme serine protease và chitinase, được chứng minh là phá hủy cấu trúc của vỏ trứng và ức chế sự nở ấu trùng *Meloidogyne javanica* (Khan & ctv., 2004). Theo kết quả của Morton & ctv. (2004), enzyme protease và chitinase đóng vai trò chính trong việc phá hủy lớp vỏ trứng, tạo điều kiện cho nấm xâm nhiễm vào trứng. Trong nghiên cứu này hoạt tính chitinase, protease và lipase của 7 dòng nấm đã được xác định ở mức trung bình khi cây nấm trên môi trường bổ sung cơ chất tương ứng. Cần đánh giá thêm về thành phần và hoạt tính của hệ enzyme để xác định cơ sở và khả năng ký sinh của các dòng nấm thu nhận được.

Nấm *P. lilacinum* phát triển tốt trong khoảng nhiệt độ 15 - 30°C, nhiệt độ từ 25 - 30°C, thích nghi với khoảng pH rộng nên có khả năng cạnh tranh với các vi sinh vật trong đất nông nghiệp (Siddiqui & Mahmood, 1996). Theo Le và cộng tác viên, nấm phát triển tốt nhất ở pH 4 - 5 (Le & ctv., 2016). Trong nghiên cứu này, nấm đạt sinh khối và số bào tử cao nhất ở pH 6. Điều này càng củng cố nhận định sự thích nghi với khoảng rộng pH của loài nấm này tạo thuận lợi cho ứng dụng chúng trong thực tế canh tác. Cho đến nay có khá nhiều nghiên cứu chọn lọc và sử dụng *P. lilacinum* trong kiểm soát tuyến trùng sưng rễ *Meloidogyne* và *Pratylenchus* (Le & ctv., 2016;

Bảng 3. Tăng trưởng của cây cà chua ở các nghiệm thức sau 6 tuần

Nghiệm thức	Chiều cao trung bình			Tỷ lệ tăng chiều cao (%)	Chiều dài rễ trung bình (cm)	Tỷ lệ tăng chiều dài bộ rễ (%)
	2 tuần	4 tuần	6 tuần			
NT1	28,8 ± 2,51	59,6 ^a ± 4,36	81,2 ^a ± 4,77	134	26,2 ^a ± 2,76	192
NT2	29,0 ± 2,71	59,0 ^a ± 3,31	80,0 ^a ± 4,64	132	26,6 ^a ± 2,23	195
NT3	29,0 ± 2,78	59,3 ^a ± 4,85	81,5 ^a ± 3,56	135	27,0 ^a ± 1,91	198
NT4 (ĐC)	28,7 ± 1,91	40,1 ^b ± 3,64	60,2 ^b ± 4,08	-	13,6 ^b ± 3,25	-

Các ký tự khác nhau theo sau số liệu biểu thị sự khác biệt ở mức độ $P \leq 0,01$ bằng trắc nghiệm LSD; ĐC: Đối chứng.

Bảng 4. Khả năng hạn chế tuyến trùng của nấm 11 BB sau 6 tuần xử lý

Nghiệm thức	Số nốt sưng	Tỷ lệ nốt sưng giảm (%)	Tuyến trùng/100 g đất	Tỷ lệ tuyến trùng giảm (%)	Trứng/5 g rễ	Tỷ lệ trứng giảm (%)
NT1	8,80 ^a ± 4,59	83,1	53,6 ^a ± 5,03	79,4	24,0 ^a ± 3,61	77,4
NT2	11,1 ^a ± 4,73	78,7	51,3 ^a ± 5,69	80,3	22,3 ^a ± 3,51	79,0
NT3	9,87 ^a ± 4,56	81,1	54,6 ^a ± 4,73	79,0	21,6 ^a ± 7,02	79,7
NT4 (ĐC)	52,0 ^b ± 11,5	-	260 ^b ± 23,7	-	106 ^b ± 4,04	-

Các ký tự khác nhau theo sau số liệu biểu thị sự khác biệt ở mức độ $P \leq 0,01$ bằng trắc nghiệm LSD; ĐC: Đối chứng.

Nguyen & ctv., 2020a; Nguyen & ctv., 2020b). Kết quả thực nghiệm cho thấy dòng nấm 11BB làm giảm rõ rệt mức độ ký sinh của tuyến trùng trên cà chua (> 75%). Điều này hứa hẹn khả năng sử dụng dòng nấm này trong kiểm soát tuyến trùng sùng rễ. Các nghiên cứu về điều kiện tăng sinh, khả năng kiểm soát tuyến trùng điều kiện đồng ruộng và nghiên cứu tạo chế phẩm sinh học đang được tiếp tục thực hiện.

4. Kết Luận

Từ 144 mẫu đất đã phân lập được 7 dòng nấm, dựa vào hình thái và vùng ITS xác định là loài *Purpureocillium lilacinum*. Khả năng tiết enzyme ngoại bào, ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng và pH đến tăng sinh các dòng nấm cũng đã được đánh giá. Hai dòng nấm 11BB và 11SN có khả năng ký sinh, ức chế sự phát triển của trứng, túi trứng tuyến trùng *Meloidogyne* điều kiện in vitro. Thí nghiệm ở điều kiện nhà lưới cho thấy dòng nấm 11BB có hiệu quả giảm hơn 75% mức độ ký sinh của tuyến trùng trên cây cà chua.

Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa các tác giả.

Lời Cảm Ơn

Một phần nghiên cứu này được tài trợ kinh phí bởi đề tài nghiên cứu khoa học mã số CS - SV16 - CNSH - 06, Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

Atkins, S. D., Clark, I. M., Pande, S., Hirsch, P. R., & Kerry, B. R. (2005). The use of real - time PCR and species - specific primers for the identification and monitoring of *Paecilomyces lilacinus*. *FEMS Microbiology Ecology* 51(2), 257-264. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2004.09.002>.

Gopinath, S. C., Anbu, P., LakshmiPriya, T., & Hilda, A. (2013). Strategies to characterize fungal lipases for applications in medicine and dairy industry. *BioMed research international*, 2013, ID154549. <https://doi.org/10.1155/2013/154549>.

Izumitsu, K., Hatoh, K., Sumita, T., Kitade, Y., Morita, A., Gafur, A., Ohta, A., Kawai, M., Yamanaka, T., Neda, H., Ota, Y., & Tanaka, C. (2012). Rapid and simple preparation of mushroom DNA directly from colonies and fruiting bodies for PCR. *Mycoscience* 53(5), 396-401. <https://doi.org/10.1007/S10267-012-0182-3>.

Khan, A., Williams, K. L., & Nevalainen, H. K. (2006). Infection of plant - parasitic nematodes by *Paecilomyces lilacinus* and *Monacrosporium lysipagum*. *Biological Control* 51(5), 659-678. <https://doi.org/10.1007/s10526-005-4242-x>.

Khan, A., Williams, K. L., & Nevalainen, H. K. (2004). Effects of *Paecilomyces lilacinus*

- protease and chitinase on the eggshell structures and hatching of *Meloidogyne javanica* juveniles. *Biological Control* 31(3), 346-352. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2004.07.011>.
- Le, C. T. M., Le, N. T. T., Vu, D. T., Nguyen, D. T. T., Pham, H. N. D., & Pham, N. H. (2016). Selection of indigenous strains of *Purpureocillium lilacinum* able to parasitize root - knot nematode meloidogyne spp. *Journal of Plant Protection* 2, 24-29.
- Le, P. H. (2009). *Isolation and selection of media for three insect parasitic fungi Metarhizium anisopliae (Metsch.) Sorok, Beauveria bassiana (Bals.) Vuill and P. lilacinum on leaf vegetables in the Mekong Delta* (Research report). An Giang University, An Giang, Vietnam.
- Luangsa - Ard, J., Houbraken, J., van Doorn, T., Hong, S. B., Borman, A. M., Hywel - Jones, N. L., & Samson, R. A. (2011). *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. *FEMS microbiology letters* 321(2), 141-149. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02322.x>.
- Moosavi, M. R., & Zare, R. (2012). Fungi as biological control agents of plant - parasitic nematodes. In Mérillon, J. M., & Ramawat, K. G. (Eds.). *Plant defence: Biological Control* (2nd ed., 67-107). Dordrecht, Netherlands: Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-1933-0_4.
- Morton, O., Hirsch, P., & Kerry, B. (2004). Infection of plant - parasitic nematodes by nematophagous fungi—a review of the application of molecular biology to understand infection processes and to improve biological control. *Nematology* 6(2), 161-170. <https://doi.org/10.1163/1568541041218004>.
- Mustafa, U., & Kaur, G. (2010). Studies on extracellular enzyme production in *Beauveria bassiana* isolates. *International Journal of Biotechnology and Biochemistry* 6(5), 701-714.
- Ngo, X. T. (2000). *Study on biological characteristics and the ability to prevent root - knot nematode Meloidogyne incognita (Kofoid et White, 1919/Chitwood) on some crops in Hanoi and surrounding areas* (Unpublished master's thesis). Ha Noi University of Agriculture I, Ha Noi, Vietnam.
- Nguyen, M. T. H., Dao, H. T. T., Nguyen, T. D., Nguyen, Q. T., Dao, H. H., Ho, H., Tran, N. K., Nguyen, H. T., Vo, N. T., & Pham, T. V. (2020a). Selection to determining the consortium of microorganisms antagonistic to coffee pathogen fungi and parasitic nematode. *The Journal of Agriculture and Rural Development* 397, 3-10.
- Nguyen, D. T., Nguyen, T. H., Le, L. T. M., & Trinh, P. Q. (2020b). Effects of *Paecilomyces* sp. to *Meloidogyne incognita* and *Pratylenchus penetrans* in laboratory conditions. In *The 19th National Conference of Plant Protection* (190-200). Ha Noi, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Nguyen, P. V. (2018). Construction of an artificial microRNA expression vector for silencing a gene of *Meloidogyne incognita*. *The Journal of Agriculture and Development* 17(2), 48-54.
- Nicol, J. M., Turner, S. J., Coyne, D. L., den Nijs, L. J. M. F., Hockland, S., & Maafi, Z. T. (2011). Current nematode threats to world agriculture. In Jones, L., Gheysen, G., & Fenoll, C. (Eds.). *Genomics and molecular genetics of plant - nematode interactions* (21 - 43). Dordrecht, Netherlands: Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0434-3_2.
- Pau, C. G., Leong, C. T. S., Wong, S. K., Eng, L., Jiwana, M., Kundat, F. R., Zakry Fitri, A. A., Osumanu Haruna, A., & Majid, N. M. (2012). Isolation of indigenous strains of *Paecilomyces lilacinus* with antagonistic activity against *Meloidogyne incognita*. *International Journal of Agriculture and Biology* 14(2), 197-203.
- Samson, R. A. (1974). *Paecilomyces and some allied hyphomycetes*. Utrecht, Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures.
- Siddiqui, Z. A., & Mahmood, I. (1996). Biological control of plant parasitic nematodes by fungi: a review. *Bioresource Technology* 58(3), 229-239.
- Tran, T. D. (2009). *Beauveriolide I, a cyclopeptide from the insect parasitic fungus (Paecilomyces lilacinus (Thom) Samson) in Nghe An* (Unpublished master's thesis). Vinh University, Nghe An, Vietnam.
- Trivedi, P. C. (2012). Plant parasitic nematodes and their management by bioagents. In *Proceedings of the 99th Indian Science Congress*. Bhubaneswar, India: KIIT University.
- Zhang, F., & Schmitt, D. P. (1994). Host status of 32 plant species to *Meloidogyne konaensis*. *Journal of Nematology* 26(4S), 744-748.