

ẢNH HƯỞNG CỦA MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY VÀ THUỐC Metalaxyl ĐẾN SỰ SINH TRƯỞNG, PHÁT TRIỂN CỦA NẤM *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary TRÊN MỘT SỐ GIỐNG CÀ CHUA, KHOAI TÂY

Effects of culture media and Metalaxyl chemical treatment on growth and development of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary on tomato and potato

Ngô Hải Xuyên¹, Hoàng Văn Thọ²

SUMMARY

388 isolates of the late blight fungus were collected from potato and tomato grown in Ha Noi, Hung Yen, Ha Tay, Bac Giang, Bac Ninh, Lao Cai and Da Lat. 320 isolates were successfully tested for A1 mating type (82,5%). The pea-agar and pea-selective culture media were optimal for mycelium development of *Phytophthora infestans*, while V-8 medium was good for sporangia formation. Four tomato cultivars (TS-33, Wva-7 00, L-3708, LA-3708) and one potato cultivar (Diamant) showed resistant reaction. 11 isolates cultured on the pea-agar showed moderate resistance to Metalaxyl.

Keywords: *Phytophthora infestans*, isolates, pea-agar media, tomato and potato, Metalaxyl.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh mốc sương cà chua, khoai tây đã được nghiên cứu từ rất lâu nhưng đến nay bệnh vẫn gây hại phổ biến ở nước ta và ảnh hưởng lớn tới năng suất (giảm 60-100%), phẩm chất cà chua, khoai tây. Diện tích trồng cà chua, khoai tây hàng năm không ngừng tăng, tập trung chủ yếu trong vụ đông và vụ đông xuân, là thời điểm thích hợp nhất cho bệnh mốc sương phát sinh và phát triển. Ở các tỉnh Hà Nội, Hưng Yên, Bắc Ninh và Hải Phòng bệnh mốc sương cà chua xuất hiện cả vụ đông và đông xuân (Vũ Hoan, 1973; Nguyễn Văn Viên, 1995-1998). Việc sử dụng các tập đoàn giống mới trồng và khảo nghiệm ở nhiều tỉnh thành trong cả nước cũng chưa hạn chế được tác hại của bệnh, thậm chí bệnh còn gia tăng và gây hại nghiêm trọng hơn ở

những vùng đã nhiễm bệnh này trong nhiều năm như: Hà Nội, Lào Cai, Đà Lạt, Bắc Giang, Bắc Ninh. Những công bố về sự phân bố của nấm *Phytophthora infestans* trên cà chua, khoai tây ở 7 nước Châu Á (1992-1997): Hàn Quốc, Ấn Độ, Đài Loan, Indonesia, Thái Lan, Nepal và Trung Quốc, đã xác định 336 isolate có khả năng miễn cảm với thuốc Metalaxyl. Kiểu hữu tính A1 chỉ xuất hiện ở Ấn Độ và Đài Loan, còn kiểu hữu tính A2 tìm được ở Hàn Quốc và Indonesia. Cả 2 kiểu hữu tính (type) A1 và A2 đều xuất hiện ở 3 nước Thái Lan, Nepal và Trung Quốc (Nishimura và ctv, 1999).

Kết quả nghiên cứu 130 isolate nấm *Phytophthora infestans* trên cà chua và khoai tây thu thập từ các tỉnh phía Bắc đều thể hiện là các isolate thuộc kiểu hữu tính A1 (Mating type). Kết quả nghiên cứu 2001-2002 của Bộ môn Bệnh cây và Trung tâm Bảo vệ thực vật thuộc Viện Nghiên cứu Cây trồng Nauy cho

¹ Bộ môn Bệnh cây, Khoa Nông học

² Sinh viên Khoa Nông học

ẢNH HƯỞNG CỦA MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY VÀ THUỐC Metalaxyl...

thấy phần lớn các isolate này đều có tính miễn cảm với thuốc Metalaxyl, 4% trong các isolate trên cà chua được xếp vào loại có tính kháng thuốc Metalaxyl (Lê Hồng Vĩnh và ctv, 2002). Nghiên cứu này làm tiền đề để xác định chủng nào có tính độc và chủng nào không có tính độc, từ đó xác định được giống cà chua hoặc khoai tây nào nhiễm chủng nấm sinh học này nhưng chống được chủng nấm khác, từ đó mở ra hướng lai tạo và chọn lọc các giống có các chủng nấm chống chịu bệnh mốc sương ở nước ta. Trong nghiên cứu này, chúng tôi xác định khả năng phát sinh phát triển, sự hình thành bào tử của nấm gây bệnh mốc sương trên các môi trường khác nhau và đánh giá tính kháng thuốc Metalaxyl của nấm *Phytophthora infestans* trên một số giống cà chua, khoai tây khảo nghiệm có hoặc không có gen kháng.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- *Phân lập mẫu lá bệnh*: Mẫu lá, thân, củ quả bị bệnh cho vào túi ni lông, điền nhãn và đưa về phân lập ngay hoặc bảo quản trong tủ lạnh, cắt mẫu lá bệnh đặt lên lát cắt củ khoai tây và giữ ở 18°C, sau 5-7 ngày kiểm tra nấm mọc, sau đó cấy truyền sang các môi trường nhân tạo, tiếp tục kiểm tra nấm phát triển sau 5-7 ngày rồi chuyển sang các môi trường một lần nữa để tạo mẫu nấm thuần (Caten and Jinks, 1968) và xác định các isolate thuộc kiểu A1 (Sekhon & Sokhi, 1998). Các loại môi trường để nuôi cấy nấm *Phytophthora infestans*: Pea-agar (đậu Hà Lan), môi trường chọn lọc PeaSA, RyeB-agar (lúa mì), V-8 juice, PDA, 1/2PDA và Vegood điều chế và hấp khử trùng ở 121°C trong 15 phút. Phân lập mẫu thuần từ 388 mẫu bệnh thu thập từ các tỉnh Bắc Ninh, Lào Cai và Đà Lạt.

- *Lây bệnh nhân tạo*: lây bằng bào tử (10^5 /

1ml) trên các miếng lá cắt thành hình tròn đường kính 6mm của các giống cà chua, khoai tây sạch bệnh. Xác định những gen kháng bệnh, một giống lây với 15 mẫu thuần khác nhau. Sử dụng các giống cà chua có nguồn từ Genetic Resources and seed Unit, AVRDC, Taiwan: TS-19 không chứa gen kháng (Ph+)(công thức đối chứng), TS-33 chứa 1 gen kháng (Ph-1), Wva-700 chứa 2 gen kháng (Ph-1,2), L-3708 chứa 3 gen kháng (Ph-1,2,3), LA-1033 chứa 4 gen kháng (Ph-1,2,3,4) và giống khoai tây Diamant không chứa nhiều gen kháng. Sau 10 ngày kiểm tra khả năng nhiễm nấm trên các mẫu lá đã lây. Tính tỷ lệ (%) nhiễm bệnh.

- *Phương pháp thử thuốc*: thí nghiệm phòng trừ bệnh mốc sương được thực hiện trên môi trường nhân tạo Pea-A, dùng dung dịch Metalaxyl (nồng độ 10ppm) + Dimethyl sunfoxidae 1% (nồng độ 0,1%) là công thức thí nghiệm, còn môi trường Pea-A+DMSO1% (nồng độ 0,1%) là công thức đối chứng; Giữ ở 18°C trong bóng tối; Kiểm tra sự tăng trưởng của tản nấm lần thứ nhất sau 4 ngày thử thuốc và kiểm tra lần thứ 2 sau 9 ngày thử, đánh dấu và đo đường kính tản nấm phát triển trên môi trường. Tính tỷ lệ bệnh (%) (Griffith & Shaw, 1998).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Đã phân lập được 320 mẫu thuần, đạt tỷ lệ 82,5%. Trong số các vùng điều tra tình hình nhiễm bệnh mốc sương thì chỉ riêng vùng trồng khoai tây của Hà Nội, Thường Tín (Hà Tây) không thu được mẫu trong cả 2 năm điều tra ở vụ đông chính vụ và vụ muộn. Tỷ lệ bệnh mốc sương cà chua của Hải Phòng năm 2001-2002 chiếm 60-100% trên tất cả các mẫu thu thập, nhưng ở vùng An Hải trong vụ đông 2002-2003 thì bệnh xuất hiện ở mức nhẹ, còn

Bảng 1. Khả năng sinh trưởng và phát triển của nấm *Phytophthora infestans* trên các môi trường nuôi cấy khác nhau (mẫu V-298, V-287)

Mẫu số	Môi trường dinh dưỡng	Đường kính tản nấm (mm) sau lần quan sát		
		5 ngày	9 ngày	13 ngày
V-298	Rye B	24,0 ± 1,97	47,0 ± 5,95	63,0 ± 7,05
	Pea-agar	30,8 ± 3,52	60,5 ± 2,05	83,0 ± 2,05
	Pea-selective	22,5 ± 2,05	55,3 ± 6,00	81,0 ± 0,00
	PDA	13,5 ± 2,05	26,0 ± 3,89	32,5 ± 7,04
	1/2 PDA	11,8 ± 0,76	16,8 ± 3,97	25,0 ± 6,75
	V-8	11,3 ± 0,79	21,3 ± 7,20	48,8 ± 7,72
	Vegood	14,8 ± 4,39	29,3 ± 2,71	39,3 ± 3,50
V-287	Rye B	12,5 ± 2,75	32,3 ± 4,73	47,5 ± 4,58
	Pea	18,5 ± 5,87	47,8 ± 4,34	79,3 ± 3,52
	Pea-selective	11,5 ± 2,05	37,8 ± 5,25	71,3 ± 4,37
	PDA	9,0 ± 1,29	13,5 ± 3,04	19,5 ± 3,78
	1/2 PDA	8,0 ± 4,30	14,5 ± 0,91	19,5 ± 1,59
	V ₈	10,3 ± 2,00	17,5 ± 5,58	36,3 ± 4,80
	Vegood	8,8 ± 1,52	19,5 ± 2,05	37,8 ± 4,56

ở Tiên Lãng bệnh không xuất hiện trên khoai tây. Tỷ lệ nhiễm bệnh nặng nhất trên cả cà chua và khoai tây là ở Đông Anh, Hà Nội, Cam Đường, thị xã Lào Cai; Di Linh, Đức Trọng, Đà Lạt. Mức nhiễm bệnh trung bình 20,5-34,7% là ở các tỉnh Hưng Yên, Hà Tây, Bắc Giang, Bắc Ninh.

Kết quả nuôi cấy trên 7 loại môi trường dinh dưỡng: Pea-A, Pea-S, Rye B, PDA, 1/2 PDA (giảm 1/2 lượng đường), V-8, Vegood ở 18°C cho thấy nấm *Phytophthora infestans* đều phát triển tốt, môi trường Pea-agar là thích hợp nhất, đường kính tản nấm sau 13 ngày đạt 82,5mm mẫu V-298 và 81,0mm trên mẫu V-287. Môi trường Pea-S cũng cho kết quả là môi trường thuận lợi cho nấm *Phytophthora infestans* phát triển nhưng kém hơn môi trường Pea-A, đường kính tản nấm sau 13 ngày đạt 81,00mm với mẫu V-298 và đạt 71,25mm với mẫu V-287, ngoài ra môi trường

chọn lọc Pea-S còn được sử dụng như một môi trường đặc hiệu cho việc phân lập, nuôi cấy làm thuần nấm. Hai môi trường PDA, và 1/2 PDA nấm *Phytophthora infestans* có mọc nhưng rất chậm sau 13 ngày chỉ đạt 25,0mm ở mẫu V-298 và 19,5mm với mẫu V-287, có thể dùng hai loại môi trường này để lưu trữ các isolate trong thời gian dài, giảm thiểu việc cấy truyền nấm trong nhiều lần (bảng 1).

Sau 16 ngày nuôi cấy, số lượng bào tử hình thành trên môi trường V-8 đạt nhiều nhất (đạt $51,33 \times 10^5$ /1ml dịch chiết), tiếp đó là môi trường Pea-A số lượng bào tử thu được $23,17 \times 10^5$ bào tử/1ml. Nấm *Phytophthora infestans* không hình thành bào tử trên môi trường PDA, môi trường Rye-B hình thành bào tử rất ít, với mẫu 287 chỉ đạt $4,5 \times 10^5$ bào tử/1ml và mẫu 298 là $0,67 \times 10^5$ bào tử/ml dịch chiết (bảng 2).

Khác với những nghiên cứu của các công

ẢNH HƯỞNG CỦA MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY VÀ THUỐC Metalaxyl...

Bảng 2. Ảnh hưởng của các môi trường dinh dưỡng khác nhau đến sự hình thành bào tử của nấm *Phytophthora infestans*

Mẫu	Số lượng bào tử (10^5 /ml dung dịch chiết/môi trường dinh dưỡng)				
	Rye B	Pea-A	Pea-S	V-8	PDA
287	4,50 ± 1,96	4,83 ± 0,79	8,80 ± 3,18	51,33 ± 9,72	0,00 ± 0,00
280	0,67 ± 0,85	23,17 ± 5,65	6,67 ± 2,54	19,00 ± 2,84	0,00 ± 0,00
298	0,67 ± 0,83	16,00 ± 4,96	4,2 ± 8,79	3,83 ± 1,54	0,00 ± 0,00
296	1,33 ± 1,58	7,67 ± 2,70	7,33 ± 3,16	39,00 ± 9,10	0,00 ± 0,00
105	0,83 ± 0,79	10,16 ± 3,07	9,50 ± 3,23	34,16 ± 9,04	0,00 ± 0,00
284	2,67 ± 1,08	16,00 ± 2,96	16,60 ± 3,57	30,16 ± 14,7	0,00 ± 0,00
204	2,17 ± 1,54	13,83 ± 3,47	16,50 ± 3,80	30,00 ± 4,40	0,00 ± 0,00

bổ ở nhiều nước thì Rye B là môi trường cho bào tử nhiều nhất được sử dụng để nuôi cấy và thử khả năng hình thành bào tử hữu tính, kết quả nuôi cấy của chúng tôi trong điều kiện ở Việt Nam và thử bào tử hữu tính trên môi trường Rye-B đã không cho kết quả với kiểu hữu tính A2 (nguồn từ Thụy Điển, mẫu đã cũ không còn khả năng thử). Có thể tiếp tục thử tạo bào tử hữu tính trên môi trường Rye B và V-8 trong những nghiên cứu tiếp

theo trên các kiểu hữu tính A2 khác.

Kết quả lây bệnh nhân tạo dùng 15 isolates nấm *Phytophthora infestans* trên 5 giống cà chua và 1 giống khoai tây đã xác định được tính kháng bệnh của các giống này (bảng 3). Nhìn chung các giống có chứa các gen kháng như TS-33, Wva-700, L-3708, LA-3708, Diamant bị nhiễm bệnh rất nhẹ, còn giống TS-19 không chứa gen kháng là giống mẫn cảm với hầu hết các mẫu thử. Với thí nghiệm này

Bảng 3. Tỷ lệ nhiễm bệnh khi lây bệnh nhân tạo trên một số giống cà chua và khoai tây có và không chứa gen kháng nấm *Phytophthora infestans*

Mẫu	Tỷ lệ nhiễm bệnh (%) trên cà chua và khoai tây					
	TS-19	TS-33	Wva-700	L-3708	LA-1033	Diamant*
HN1	0,83	0,17	1,00	0,00	0,00	0,60
HN2	0,67	0,67	1,00	0,50	0,33	KT
HN3	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00	1,00
HN4	0,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
LC	1,00	0,00	0,00	KT	KT	KT
HP1	0,33	0,17	KT	KT	KT	KT
HP2	0,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
HP3	1,00	0,00	0,00	0,83	0,17	0,33
HP4	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,20
HP5	1,00	0,00	0,00	0,50	0,83	0,83
ĐL1	1,00	0,00	0,00	1,00	0,60	0,80
ĐL2	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,17
ĐL3	1,00	0,00	0,00	0,83	0,17	0,00
ĐL4	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ĐL5	1,00	0,00	0,20	0,80	0,00	1,00

Ghi chú: * giống khoai tây Diamant, còn 5 giống kia là cà chua KT-không thử

Bảng 4. Ảnh hưởng của thuốc Metalaxyl đến sự phát triển của nấm *Phytophthora infestans*

Mẫu số	Đường kính tản nấm (mm) sau các ngày theo dõi			
	Công thức đối chứng		Công thức thí nghiệm	
	5 ngày	9 ngày	5 ngày	9 ngày
105	47,00±2,90	84,00±1,29	17,25±2,71	25,00±2,25
109	34,50±6,68	66,50±4,00	9,75±1,52	20,00±2,75
107	35,25±2,38	67,75±3,25	11,00±1,23	23,00±3,34
120	46,25±4,74	75,75±14,30	11,25±1,25	23,50±0,04
160	39,00±2,25	83,00±2,25	9,75±1,52	19,25±0,79
168	39,00±2,25	70,00±1,29	13,5±1,59	19,00±2,59
153	40,00±1,29	81,00±5,03	5,50±2,05	11,50±0,91
167	40,00±1,29	74,75±2,00	8,75±2,05	21,15±1,52
149	20,00±1,83	52,00±1,53	15,00±3,34	20,25±1,52
132	39,50±1,59	73,75±1,52	13,00±5,02	18,25±3,52
133	40,00±1,29	80,50±2,05	10,50±2,05	21,25±3,27

chúng tôi thấy vấn đề nghiên cứu phát hiện các giống cà chua, khoai tây có chứa các gen kháng nấm *Phytophthora infestans* ở nước ta là rất cần thiết, mở đường cho những nghiên cứu tiếp theo trong việc lai tạo và sử dụng các giống chống chịu bệnh mốc sương.

Kết quả trong bảng 4 cho thấy việc phòng trừ bệnh mốc sương cà chua, khoai tây bằng thuốc Metalaxyl là có hiệu quả: sau 5 ngày thử đường kính tản nấm đạt 9,75mm (isolate 109) ở công thức thí nghiệm, còn ở công thức đối chứng thì đạt 34,50mm. Sau 9 ngày thì công thức đối chứng đạt 66,5mm, ở công thức thí nghiệm chỉ đạt 20,0mm. Các isolate khác cũng cho kết quả tương tự giữa công thức thử thuốc và công thức đối chứng.

4. KẾT LUẬN

Bước đầu đã xác định được môi trường đậu Hà Lan (Pea-Agar) và môi trường chọn lọc (Pea-Selective) là thích hợp nhất cho sự sinh trưởng và phát triển của nấm *Phytophthora infestans*. Môi trường V-8-juice là môi trường thích hợp nhất cho sự hình thành bào tử của nấm này.

Khả năng phòng trừ bệnh mốc sương cà chua, khoai tây bằng thuốc Metalaxyl đạt hiệu quả cao và có thể dùng thuốc này để phòng trừ bệnh trên ruộng đại trà. Kết quả cũng cho thấy các giống cà chua có khả năng kháng bệnh mốc sương, đó là các giống: TS-33, Wva-700, LA-1033, L-3708 và giống khoai tây Diamant. Có thể đưa các giống này trồng khảo nghiệm trên diện hẹp đến diện rộng ở ruộng sản xuất đại trà nhằm xác định khả năng hạn chế sự phát triển của bệnh trên đồng ruộng.

Đã góp phần tạo những bước mở đầu cho những nghiên cứu tiếp theo về mức độ phổ biến của bệnh mốc sương trên diện rộng tại nhiều vùng trồng cà chua, khoai tây trong cả nước. Cần đi sâu nghiên cứu đặc điểm sinh học của nấm *P. infestans* trên các giống cà chua, khoai tây mới trồng ở Việt Nam, những đề xuất về các giống có khả năng kháng nấm này cũng là tiền đề để nghiên cứu tính kháng bệnh nhằm tạo ra các giống có thể ứng dụng trong sản xuất đại trà, giảm thiểu thiệt hại về năng suất cũng như phẩm chất cà chua, khoai tây ở nhiều vùng trong cả nước.

ẢNH HƯỞNG CỦA MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY VÀ THUỐC Metalaxyl...

Tài liệu tham khảo

- Caten C.E. and Jinks. (1968), "Spontaneous variability of single isolates of *Phytophthora infestans*. ", *Culture variation Canadian Journal of Botany* 46: 329-348.
- Vũ Hoan (1973), "Biện pháp phòng trừ bệnh mốc sương cà chua", *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp*, số 137: 808-813.
- Nishimura, R. và ctv. (1999), "Ditribution of *Phytophthora infestans* populations in seven asian countries", *Ann Phytopathology. Soc. Jpn.* 65: 163-170.
- Sekhon P.S. and S.S. Sokhi. (1998), "Identity of mating type of *Phytophthora infestans* in cultures from potato and tomato", *Indian Phytopathology* 51 (3): 237-239.
- Lê Hồng Vĩnh (2002). Characterization of *Phytophthora infestans* populations in the North of Vietnam. Master thesis. NORAD