

HIỆU QUẢ PHÒNG TRỊ CỦA MỘT SỐ NHÓM HOẠT CHẤT KHÁNG SINH VÀ HÓA HỌC ĐỐI VỚI VI KHUẨN *Ralstonia solanacearum* GÂY BỆNH HÉO XANH TRÊN CÂY HOA VẠN THỌ (*Tagetes papula* L.)

Huỳnh Ngọc Tâm^{1,2}, Tô Lan Phương³ và Lê Uyển Thanh^{1,4*}

¹Nghiên cứu sinh, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam

²Trường Trung học phổ thông Tràm Chim, Đồng Tháp, Việt Nam

³Trung tâm Học liệu Lê Vũ Hùng, Trường Đại học Đồng Tháp, Việt Nam

⁴Khoa Sư phạm Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Đồng Tháp, Việt Nam

*Tác giả liên hệ: Lê Uyển Thanh, Email: uyenthanh0809@gmail.com

Lịch sử bài báo

Ngày nhận: 19/11/2021; Ngày nhận chỉnh sửa: 24/02/2022; Ngày duyệt đăng: 07/3/2022

Tóm tắt

Hiệu quả kiểm soát của ba nhóm hoạt chất kháng sinh và hóa học đối với các dòng *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh trên cây hoa Vạn thọ được đánh giá trong điều kiện *in vitro* và nhà lưới. Thử nghiệm *in vitro* trên 10 dòng *R. solanacearum* sau 72 giờ, kết quả cho thấy nhóm hoạt chất Streptomycin + Oxytetracycline có tác dụng ức chế cao đối với mầm bệnh so với hai nhóm còn lại là Oxytetracycline hydrochloride + Gentamicin sulphate, và Oxolinic acid. Sau đó, nhóm Streptomycin + Oxytetracycline và hai dòng *R. solanacearum* RM3 và RM4 với đặc điểm ít nhạy cảm nhất với nhóm hoạt chất này được thử nghiệm đánh giá hiệu quả kiểm soát bệnh trong điều kiện nhà lưới. Ở các thời điểm 6, 10, 14, 18 ngày sau khi lây nhiễm bệnh, cả hai nghiệm thức có xử lý nhóm hoạt chất Streptomycin + Oxytetracycline kết hợp lây nhiễm bệnh riêng biệt với RM3 hoặc RM4, đều ghi nhận đạt hiệu quả giảm bệnh tương đối cao, dao động từ 46,7% đến 57,2%. Đồng thời, chỉ số tích lũy bệnh theo thời gian (AUDPC) cũng giảm so với các nghiệm thức chỉ lây nhiễm bệnh với dòng RM3 hoặc RM4. Bên cạnh đó, chỉ số bệnh được ghi nhận giảm so với các nghiệm thức chỉ lây nhiễm bệnh với dòng RM3 hoặc RM4. Nhìn chung, nhóm hoạt chất Streptomycin + Oxytetracycline đã thể hiện được hiệu quả giảm bệnh trong phòng trị bệnh héo xanh do *R. solanacearum* gây ra trên cây hoa Vạn thọ, và có thể được lựa chọn như một trong những biện pháp phòng trị bệnh này.

Từ khóa: AUDPC, cây hoa Vạn thọ, chỉ số bệnh, oxytetracycline, *Ralstonia solanacearum*, Streptomycin.

DOI: <https://doi.org/10.52714/dthu.11.2.2022.942>

Trích dẫn: Huỳnh, N. T., Tô, L. P., & Lê, U. T. (2022). Hiệu quả phòng trị của một số nhóm hoạt chất kháng sinh và hóa học đối với vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* gây bệnh héo xanh trên cây hoa Vạn thọ (*Tagetes papula* L.). *Tạp chí Khoa học Đại học Đồng Tháp*, 11(2), 80-87. <https://doi.org/10.52714/dthu.11.2.2022.942>.

THE EFFECTIVENESS OF SOME ANTIBIOTIC AND CHEMICAL COMPOUNDS FOR CONTROLLING BACTERIAL WILT CAUSED BY *Ralstonia solanacearum* FROM MARIGOLD (*Tagetes papula* L.)

Huynh Ngoc Tam^{1,2}, To Lan Phuong³, and Le Uyen Thanh^{1,4*}

¹Post-graduate, Can Tho University, Vietnam

²Tram Chim high school, Dong Thap province, Vietnam

³Le Vu Hung Resources Center, Dong Thap University, Vietnam

⁴Faculty of Natural Sciences Teacher Education, Dong Thap University, Vietnam

*Corresponding author: Le Uyen Thanh, Email: uyenthanh0809@gmail.com

Article history

Received: 19/11/2021; Received in revised form: 24/02/2022; Accepted: 07/3/2022

Abstract

The effectiveness of three antibiotic and chemical compounds in controlling wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum* from *Tagetes papula* L. in vitro and in net-house conditions are evaluated. In vitro, these compounds were tested on 10 strains of *R. solanacearum* to find bacterial inhibiting effect at 72 hours after inoculation. From there, the compound of Streptomycin + Oxytetracycline has higher effect in inhibiting *R. solanacearum* strains than the other two compounds as Oxytetracycline hydrochloride + Gentamicin sulphate, or Oxolinic acid. Under net-house condition, the compound of Streptomycin + Oxytetracycline and two strains of *R. solanacearum* RM3 and RM4 with the least sensitive characteristic to this compound are tested to evaluate the effectiveness of disease controlling on marigold plants. Through 6, 10, 14, 18 days after infection, both treatments infected with separate strains of RM3 or RM4 after applied the Streptomycin + Oxytetracycline compound have showed satisfactory effect. The effectiveness of reducing bacterial wilt disease is high ranging from 46.7% to 57.2%. At the same time, when these results are compared with the treatments that only infected with RM3 or RM4, their AUDPC index is also decreased. In addition, their severity index is reduced while they compared with treatments only infected with RM3 or RM4. The compound of Streptomycin + Oxytetracycline has shown effective disease reduction in the prevention and treatment of bacterial wilt caused by *R. solanacearum* on marigold, and it can be selected as one of the preventive measures this disease.

Keywords: AUDPC, marigold, severity index, oxytetracycline, *Ralstonia solanacearum*, Streptomycin.

1. Giới thiệu

Bệnh héo xanh do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* gây ra trên cây hoa Vạn thọ (*Tagetes papula* L.) là loại bệnh gây thiệt hại rất lớn về kinh tế cho người nông dân ở các vùng trồng hoa quan trọng tại Đồng bằng sông Cửu Long, vì mầm bệnh có phổ kí chủ rất rộng, lưu tồn lâu trong đất do đó bệnh rất khó trị triệt để (Nguyen & Tran, 2014, tr. 62).

Hiện nay, trên thị trường chưa có thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) đặc trị vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh trên cây hoa cúc (Nguyen & Tran, 2014, tr. 62). Các loại thuốc BVTV đặc trị vi khuẩn trên thị trường chỉ làm giảm tác hại của bệnh ở một mức độ nào đó. Số lượng các loại thuốc BVTV trừ bệnh từ 587 hoạt chất với 1282 tên thương phẩm được cho phép sử dụng (Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2020, tr. 1-268). Do đó việc nghiên cứu chọn ra hoạt chất hiệu quả để kiểm soát vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh trên cây hoa cúc là rất cần thiết, nhằm hạn chế sử dụng các loại thuốc BVTV tràn lan, góp phần giảm ô nhiễm môi trường và mang lại hiệu quả kinh tế cao. Nghiên cứu này nhằm đánh giá hiệu quả phòng trị của một số hoạt chất kháng sinh và hóa học (gọi chung là hoạt chất) cho việc kiểm soát bệnh héo xanh trên cây hoa Vạn thọ.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu và địa điểm nghiên cứu

10 dòng *Ralstonia solanacearum* gây bệnh héo xanh trên cây hoa Vạn thọ được cung cấp từ nhóm nghiên cứu Công nghệ sinh học trong nông nghiệp, Trường Đại học Đồng Tháp. Hạt giống Vạn thọ Pháp của Công ty Rồng Vàng, được xử lý trong nước được pha khoảng 55°C.

Các thí nghiệm được thực hiện tại Trường Đại học Đồng Tháp, và Trung tâm Dịch vụ nông nghiệp thành phố Sa Đéc, tỉnh Đồng Tháp.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Đánh giá hiệu quả ức chế *Ralstonia solanacearum* trên cây hoa Vạn thọ của ba nhóm hoạt chất kháng sinh và hóa học trong điều kiện *in vitro*

Nhằm tuyển chọn được nhóm hoạt chất có hiệu quả ức chế *R. solanacearum* cao nhất, và hai dòng *R. solanacearum* có khả năng ít nhạy cảm với nhóm hoạt chất được tuyển chọn phục vụ nghiên cứu trong nhà lưới, thí nghiệm được bố trí với 3 lần lặp lại,

trong đó gồm có 3 nhóm hoạt chất *Streptomycin* + *Oxytetracycline*, *Oxolinic acid*, *Oxytetracycline Hydrochloride* + *Gentamicin sulphate* đang lưu hành trên thị trường thử nghiệm trên 10 dòng vi khuẩn gây bệnh hại.

Cách tiến hành: Các dòng vi khuẩn gây bệnh được nuôi cấy trên đĩa petri chứa môi trường King's B trong 24 giờ, khuẩn lạc đơn được dùng làm nguồn để thực hiện thí nghiệm. Rút 100 µl huyền phù *R. solanacearum* ($OD_{600nm} = 0,3$) cho vào đĩa petri (đường kính 100 mm) chứa 15 mL môi trường King's B ở khoảng 40°C, được lắc nhẹ hòa đều với nhau. Đối với 3 loại thuốc hóa học pha theo khuyến cáo của từng loại thuốc vào từng ống falcon 50 mL với nước cất vô trùng tương ứng *Streptomycin* + *Oxytetracycline* (với nồng độ 2%, pha 0,125 g trong 50 mL nước), *Oxolinic acid* (nồng độ 20%, pha 0,0625 g trong 50 mL nước), *Oxytetracycline Hydrochloride* + *Gentamicin sulphate* (nồng độ hoạt chất tương ứng lần lượt là 6% và 2%, pha 0,078 g trong 50 mL nước).

Thử khả năng kháng thuốc trừ bệnh bằng cách sử dụng giấy thấm vô trùng dạng khoan tròn với đường kính $d = 5$ mm, được ngâm trong từng nhóm hoạt chất trong 15 phút. Sau đó, vớt từng khoan giấy thấm đã ngâm đặt vào đĩa petri chứa mầm bệnh ở những vị trí xác định. Đối chứng là mẫu giấy ngâm với nước cất vô trùng đã sử dụng để pha thuốc (Huỳnh & cs., 2019, tr. 95-100).

Chỉ tiêu ghi nhận: Ghi nhận đường kính vùng ức chế của từng nhóm hoạt chất ở thời điểm 72 giờ sau khi tiến hành thí nghiệm. Nhóm hoạt chất được chọn cho thí nghiệm tiếp theo dựa vào đường kính vùng ức chế cao nhất. Đồng thời, dòng vi khuẩn gây bệnh ít nhạy cảm nhất là dòng có đường kính vùng ức chế thấp nhất đối với hoạt chất được chọn.

2.2.2. Đánh giá hiệu quả kiểm soát bệnh héo xanh do *R. solanacearum* trên cây hoa Vạn thọ của nhóm hoạt chất *Streptomycin* + *Oxytetracycline* trong điều kiện nhà lưới

Nhằm đánh giá được hiệu quả kiểm soát bệnh của nhóm hoạt chất được chọn.

Bố trí thí nghiệm: thí nghiệm được tiến hành với nhóm hoạt chất hiệu quả nhất, và trên hai dòng RM3, RM4 được tuyển chọn từ thí nghiệm 2.1, bố trí với 4 lần lặp lại, với 10 cây/1 lặp lại. Bố trí gồm 6 nghiệm thức (NT) là: NT 1 hay ĐC₀ (không phun

thuốc và không lây bệnh); NT 2 hay ĐCT (Chỉ phun thuốc); NT 3 hay RM3 (chỉ lây nhiễm bệnh nhân tạo với RM3); NT 4 hay RM4 (chỉ lây nhiễm bệnh nhân tạo với RM4); NT 5 hay RM3+ Hoạt chất (xử lý thuốc hóa học phun 3 ngày trước khi lây bệnh với dòng RM3); NT 6 hay RM4+ Hoạt chất (xử lý thuốc hóa học phun 3 ngày trước khi lây bệnh với dòng RM4).

Cách thức tiến hành: Cây con được trồng trên giá thể vô trùng, với 10 cây/chậu, mỗi NT trồng 4 chậu tương đương với 4 lần lặp lại, sau khi trồng 20 ngày thì bắt đầu bố trí thí nghiệm. Hai dòng RM3, RM4 được nuôi cấy trên môi trường King's B trong 24 giờ cho khuẩn lạc phát triển. Sau đó, thu huyền phù vi khuẩn và pha loãng để tạo huyền phù vi khuẩn có OD_{600nm} = 0,3. Tiến hành lây bệnh nhân tạo bằng cách tưới huyền phù vi khuẩn đã được chuẩn bị vào cơ chất xung quanh gốc cây (5 mL/cây). Đồng thời, hoạt chất thử nghiệm được pha theo hướng dẫn của nhà sản xuất như mục 2.2.1. Phun thuốc như bố trí NT và với 5 mL/cây, phun vào cơ chất vùng rễ vào buổi chiều sau 17 giờ.

Chỉ tiêu ghi nhận: Tiến hành ghi nhận tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh sau 6 ngày kể từ ngày lây nhiễm bệnh, cách bốn ngày một lần, kết thúc khi tỷ lệ bệnh ở NT đối chứng đạt 65% hoặc sau 18 ngày theo dõi. Đánh giá hiệu quả kiểm soát bệnh thông qua các chỉ tiêu như tỷ lệ bệnh, AUDPC, chỉ số bệnh với cách tính như sau:

$$\text{Tỷ lệ bệnh (\%)} = \frac{\text{Số cây bị bệnh}}{\text{Tổng số cây quan sát}} \times 100$$

Chỉ số bệnh: được đánh giá theo công thức (Winstead và Kelman, 1952, tr. 628-634)

$$\text{Chỉ số bệnh (\%)} = [\sum (ni \times vi) \div (V \times N)] \times 100.$$

Trong đó: ni = số cây có mức độ bệnh tương ứng; vi = cấp bệnh; V = cấp bệnh cao nhất (5); và N = tổng số cây quan sát. Với đánh giá cấp bệnh được tính theo thang đánh giá của Ateka gồm các cấp bệnh như sau: Cấp 0 = cây không bệnh; Cấp 1= có 1 lá héo; Cấp 2= có 2-3 lá héo; Cấp 3= tất cả các lá của cây đều héo ngoại trừ 2-3 lá trên cây; Cấp 4= tất cả các lá của cây đều héo; Cấp 5= Cây chết (Ateka & cs., 2001, tr. 251-256).

Chỉ số tích lũy bệnh theo thời gian (AUDPC - Area Under Disease Progressive Curve). AUDPC được tính theo công thức sau (Jeger & cs., 2001, tr. 32-40).

$$\text{AUDPC} = \sum_{i=1}^n [(Y_{i+1} + Y_i) \div 2] \times (t_{i+1} - t_i)$$

Trong đó: i là lần theo dõi bệnh thứ i ; n là tổng số lần theo dõi bệnh; Y là tỷ lệ bệnh (%), t là số ngày đánh giá bệnh (ngày).

Hiệu quả giảm bệnh được tính theo công thức sau (Abbott, 1925, tr. 265-269):

$$\text{HQGB (\%)} = [(C-T):C] \times 100.$$

Trong đó: C là tỷ lệ bệnh ở NT chỉ lây nhiễm bệnh dòng RM3 hoặc RM4; T là tỷ lệ bệnh ở NT thí nghiệm (có xử lý hoạt chất và lây nhiễm bệnh dòng *R.solanacearum* tương ứng).

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng Microsoft Excel, và phân tích thống kê bằng phần mềm Minitab 16.1 với phép thử Tukey's, và mức ý nghĩa 5% ($P < 0,05$).

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Đánh giá hiệu quả ức chế vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* trên cây hoa Vạn thọ của ba nhóm hoạt chất kháng sinh và hóa học trong điều kiện *in vitro*

Nhằm tìm ra nhóm hoạt chất có khả năng ức chế các dòng *Ralstonia solanacearum* gây bệnh héo xanh trên cây hoa Vạn thọ và tìm ra hai dòng *R. solanacearum* ít bị nhạy cảm đối với nhóm hoạt chất này cung cấp cho thử nghiệm hiệu quả ngoài nhà lưới, khảo sát thử nghiệm hiệu quả của 3 nhóm hoạt chất (Bảng 1) đối với 10 dòng *Ralstonia solanacearum* gây bệnh đã được tiến hành. Kết quả ghi nhận nhóm hoạt chất *Streptomycin* + *Oxytetracycline* đạt hiệu quả ức chế cao nhất với trung bình đường kính vùng ức chế là 18,2 mm, trong khi hoạt chất *Oxolinic acid* thấp hơn với 9,7 mm, và thấp nhất là hoạt chất *Oxytetracycline Hydrochloride* + *Gentamicin sulphate* với 5,8 mm.

Phân tích khả năng nhạy cảm đối với 3 nhóm hoạt chất cho thấy 2 dòng *Ralstonia solanacearum* RM3 và RM4 ít nhạy cảm nhất khi có đường kính vòng ức chế tạo ra là nhỏ nhất, và khác biệt ý nghĩa thống kê với các dòng vi khuẩn còn lại, đối với nhóm hoạt chất *Streptomycin* + *Oxytetracycline* là 8,5 mm (RM3) và 11,2 mm (RM4). Trong khi trên nhóm hoạt chất *Oxolinic acid* là 5,7 mm (RM3) và 9 mm (RM4), và nhóm hoạt chất *Oxytetracycline Hydrochloride* + *Gentamicin sulphate* là 5,7 mm (RM3) và 6 mm (RM4). Riêng dòng vi khuẩn RM6 không bị ức chế

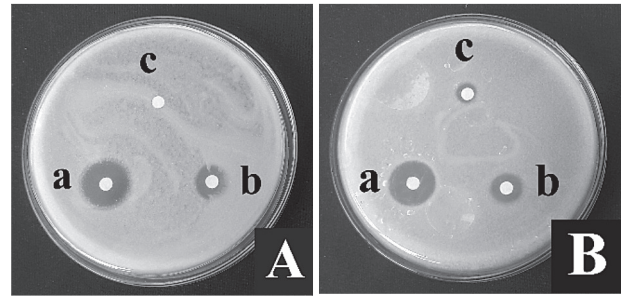
với nhóm hoạt chất *Oxytetracycline Hydrochloride* + *Gentamicin sulphate*, nhưng đối với 2 nhóm hoạt chất còn lại thì RM6 có đường kính vòng ức chế của thuốc trừ bệnh hóa học tạo ra khá lớn (dao động từ 10,2 đến 17,7 mm) chứng tỏ RM6 không có khả năng kháng 2 nhóm hoạt chất còn lại. Nhìn chung, 2 dòng vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* gây bệnh héo xanh trên cây hoa Vụn thọ là RM3 và RM4 ít nhạy cảm với hoạt chất được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo của nghiên cứu hiệu quả trong điều kiện nhà lưới (Hình 1).

Nhìn chung, những hoạt chất này thể hiện hiệu quả khá cao trong việc kiểm soát vi khuẩn. Điều này cũng được ghi nhận trong một nghiên cứu khác của Shtienberg & cs. về đánh giá hiệu quả của *Oxolinic acid* và các hoạt chất khác trong việc ức chế vi khuẩn *Erwinia amylovora* trên cây Lê ở Israel với bốn hoạt chất như *Oxolinic acid*, *Streptomycin sulphate*, *Kasugarnycin* và *Gentamicin sulphate* đều có khả năng ức chế vi khuẩn *Erwinia amylovora* gây bệnh cháy lá ở cây Lê (Shtienberg & cs., 2001, tr. 143-154).

Bảng 1. Đường kính vùng ức chế của các nhóm hoạt chất trên các dòng *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh trên cây hoa Vụn thọ

Thí nghiệm (Vi khuẩn)	Đường kính vùng ức chế theo nhóm hoạt chất (mm)		
	<i>Streptomycin</i> + <i>Oxytetracycline</i>	<i>Oxolinic acid</i>	<i>Oxytetracycline Hydrochloride</i> + <i>Gentamicin sulphate</i>
RM1	18,5 ^{bc}	11 ^b	7,5 ^a
RM2	19,7 ^{bc}	10,5 ^b	5,7 ^c
RM3	8,5 ^e	5,7 ^e	5,7 ^c
RM4	11,2 ^{de}	9 ^{cd}	6 ^{bc}
RM5	22,8 ^{ab}	10,5 ^b	6,2 ^{bc}
RM6	17,7 ^{bc}	10,2 ^{bc}	0 ^d
RM7	16,7 ^{cd}	8,5 ^d	6,5 ^{bc}
RM8	27,2 ^a	13 ^a	7,7 ^a
RM9	18,3 ^{bc}	10,2 ^{bc}	6,2 ^{bc}
RM10	21 ^{bc}	8,7 ^d	6,8 ^{ab}
TB	18,2 ^A	9,7 ^B	5,8 ^C
CV%	29,94	19,61	36,08

Ghi chú: Các số trung bình trong một cột hoặc hàng được theo sau bởi một hoặc những chữ giống nhau in thường hoặc in hoa thì không khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey's; TB: Trung bình.



Hình 1. Khả năng ức chế của ba nhóm hoạt chất đối với dòng *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh trên cây hoa Vụn thọ. (A: Dòng *R. solanacearum* RM3; B: Dòng *R. solanacearum* RM4; a: hoạt chất Streptomycin + Oxytetracycline; b: Oxolinic acid; c: Oxytetracycline Hydrochloride + Gentamicin sulphate)

3.2. Đánh giá hiệu quả kiểm soát bệnh héo xanh do *R. solanacearum* trên cây hoa Vụn thọ của nhóm hoạt chất (*Streptomycin* + *Oxytetracycline*) trong điều kiện nhà lưới

Nhằm đánh giá hiệu quả phòng trị bệnh của hoạt chất *Streptomycin* + *Oxytetracycline*, hai dòng *R. solanacearum* (RM3, RM4) được ghi nhận ít nhạy cảm nhất đối với dòng hoạt chất có hiệu quả nhất (*Streptomycin* + *Oxytetracycline*) được thử nghiệm khả năng kháng thuốc trong điều kiện nhà lưới. Kết quả ghi nhận, nhóm hoạt chất đều đạt hiệu quả giảm bệnh trên cả hai dòng RM3 và RM4, với dòng RM3 đạt hiệu quả giảm bệnh là 46,7%, trong khi đối với RM4 là 57,2% (Bảng 2 và 4).

Kết quả (bảng 2) ghi nhận ở tất cả các thời điểm 10, 14, 16, 18 ngày sau khi lây bệnh (NSKLB), hai NT có xử lý nhóm hoạt chất kết hợp lây nhiễm dòng RM3 (RM3 + Thuốc) và RM4 (RM4 + Thuốc) có tỷ lệ bệnh khác biệt có ý nghĩa thống kê với các NT còn lại, có tỷ lệ bệnh thấp hơn hai NT chỉ lây nhiễm vi khuẩn gây bệnh (RM3, RM4). Tuy nhiên, hai dòng RM3 và RM4 vẫn có khả năng gây hại trong điều kiện có xử lý nhóm hoạt chất, khi tỷ lệ bệnh chiếm 20% (xử lý với RM3) và 22,5% (RM4), có thể do mầm bệnh có khả năng xâm nhập và định vị bên trong mạch dẫn của cây nên hạn chế hiệu quả của hoạt chất đối với việc giảm bệnh. Nhìn chung, nhóm hoạt chất vẫn đạt hiệu quả giảm bệnh tương đối cao, dao động từ 46,7% đến 57,2% (Bảng 2) đối với dòng *R. solanacearum* được thử nghiệm (Hình 2).

Phân tích chỉ số tích lũy bệnh theo thời gian (AUDPC) (bảng 2), kết quả ghi nhận hai NT xử lý nhóm hoạt chất đều đạt AUDPC trong khoảng 220%

đến 230%, không khác biệt về ý nghĩa thống kê với nhau, nhưng thấp hơn và khác biệt so với NT xử lý RM3 (410%) và RM4 (570%). Như vậy, chỉ số AUDPC đạt được khi xử lý nhóm hoạt chất đã giảm so với các NT chỉ lây nhiễm bệnh với dòng RM3, hoặc RM4.

Bảng 2. Tỷ lệ bệnh héo xanh trên cây hoa Vạn thọ sau khi xử lý nhóm hoạt chất và lây nhiễm hai dòng *Ralstonia solanacearum* (RM3, RM4) trong điều kiện nhà lưới

Nghiệm thức	Tỷ lệ bệnh ở các thời điểm khảo sát (%)				AUDPC (%)	HQGB (%)
	6 NSKLB	10 NSKLB	14 NSKLB	18 NSKLB		
ĐC _o	0 ^d	0 ^c	0 ^d	0 ^d	0 ^D	-
ĐCT	0 ^d	0 ^c	0 ^d	0 ^d	0 ^D	-
RM3	22,5 ^b	35 ^a	37,5 ^b	37,5 ^b	410 ^B	-
RM4	32,5 ^a	47,5 ^a	52,5 ^a	52,5 ^a	570 ^A	-
RM3+ Hoạt chất	15 ^{bc}	17,5 ^b	20 ^c	20 ^c	230 ^C	46,7
RM4+ Hoạt chất	7,5 ^{cd}	20 ^b	22,5 ^c	22,5 ^c	220 ^C	57,2
CV%	98,14	92,08	90,55	98,14		

Ghi chú: Các số trung bình trong một cột hoặc hàng được theo sau bởi một hoặc những chữ giống nhau in thường hoặc in hoa thì không khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey's. ĐC_o: Đối chứng không xử lý hoạt chất hoặc lây nhiễm bệnh, ĐC_T: Đối chứng chỉ phun hoạt chất; AUDPC: chỉ số tích lũy bệnh theo thời gian; HQGB: Hiệu quả giảm bệnh.

Bên cạnh đó, kết quả khảo sát có trung bình chỉ số bệnh có sự tăng dần theo các thời điểm 6, 10 NSKLB tương ứng 6,1%, 13,5% (Bảng 3). Nhưng ở thời điểm 14, 18 NSKLB, trung bình chỉ số bệnh không khác biệt có ý nghĩa thống kê với nhau dao động từ 18,2% đến 20%. Sau 18 NSKLB, chỉ số bệnh của hai NT có xử lý nhóm hoạt chất và kết hợp lây nhiễm bệnh (RM3 + Hoạt chất) và (RM4 + Hoạt chất) không khác biệt có ý nghĩa với nhau, nhưng lại thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa với các NT còn lại, thể hiện với chỉ số bệnh dao động (từ 18% đến 20%), thấp hơn và khác biệt so với nghiệm thức chỉ lây bệnh RM3 (27%) và RM4 (45%). Do đó, chỉ số bệnh đạt được khi xử lý nhóm hoạt chất đã giảm so với các NT chỉ lây nhiễm bệnh dòng RM3, hoặc dòng RM4.

Nhìn chung, từ tỷ lệ bệnh, chỉ số AUDPC, và chỉ số bệnh, nhóm hoạt chất *Streptomycin* + *Oxytetracycline* đã thể hiện được hiệu quả giảm bệnh trong phòng trị bệnh héo xanh do *R. solanacearum* gây ra trên cây hoa Vạn thọ, và có thể được lựa chọn làm hoạt chất tham gia vào hoạt động phòng trị này.

Bảng 3. Chỉ số bệnh héo xanh trên cây hoa Vạn thọ sau khi xử lý nhóm hoạt chất và lây nhiễm hai dòng *Ralstonia solanacearum* (RM3, RM4) trong điều kiện nhà lưới

Nghiệm thức	Chỉ số bệnh ở các thời điểm khảo sát (%)			
	6 NSKLB	10 NSKLB	14 NSKLB	18 NSKLB
ĐC _o	0 ^d	0 ^c	0 ^d	0 ^c
ĐCT	0 ^d	0 ^c	0 ^d	0 ^c
RM3	11 ^{ab}	23,5 ^a	30 ^b	27 ^a
RM4	13 ^a	29 ^a	43 ^a	45 ^a
RM3+ Hoạt chất	8 ^{bc}	15,5 ^b	19 ^c	20 ^b
RM4+ Hoạt chất	4,5 ^c	13 ^b	17 ^c	18 ^b
TB	6,1 ^B	13,5 ^{AB}	18,2 ^A	20 ^A
CV%	88,58	85,19	89,38	89,39

Ghi chú: Các số trung bình trong một cột hoặc hàng được theo sau bởi một hoặc những chữ giống nhau in thường hoặc in hoa thì không khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey's. ĐC_o: Đối chứng không xử lý hoạt chất hoặc lây nhiễm bệnh, ĐC_T: Đối chứng chỉ phun hoạt chất, TB: Trung bình.



Hình 2. Khả năng kháng thuốc của *Ralstonia solanacearum* trên cây hoa Vạn thọ trong điều kiện nhà lưới (A: Đối chứng; B: dòng RM3, C: lây nhiễm dòng RM3 và có phun thuốc)

Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Huỳnh Ngọc Tâm (2019) đối với ba nhóm hoạt chất ở thí nghiệm đánh giá hiệu quả của việc kiểm soát bệnh héo xanh do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* gây ra trên hoa cúc trong điều kiện nhà lưới. Ở các thời điểm: 6, 10, 14, 18 NSKLB, tất cả các nghiệm thức có áp dụng hoạt chất đều có tác dụng giảm bệnh héo xanh do vi khuẩn với NT xử lý *Streptomycin* + *Oxytetracycline* cao nhất, sau đó là *Oxytetracycline hydrochloride* + *Gentamicin sulphate* và NT xử lý Oxolinic acid (Huỳnh & cs., 2019, tr. 95-100). Bên cạnh đó, một nghiên cứu khác đã được tiến hành nhằm đánh giá ảnh hưởng của hoạt chất *Streptomycin*, *Oxytetracycline* đối với bệnh cháy lá do vi khuẩn *Erwinia amylovora* trên nhụy hoa Táo trong ba vụ tại Brazil. Thời gian áp dụng các hoạt chất này trên các nhụy hoa đã giúp giảm đáng kể mật số vi khuẩn sau 4 đến 5 ngày (Maia & cs., 2009, tr. 11-16).

4. Kết luận

Ba nhóm hoạt chất *in vitro* được thử nghiệm trên 10 dòng *R. solanacearum* và được ghi nhận hiệu quả ức chế vi khuẩn sau 72 giờ, kết quả ghi nhận nhóm hoạt chất *Streptomycin* + *Oxytetracycline* đạt hiệu quả ức chế cao nhất với trung bình đường kính vùng ức chế là 18,2 mm, trong khi nhóm hoạt chất Oxolinic acid thấp hơn với 9,7 mm, và thấp nhất là hoạt chất *Oxytetracycline Hydrochloride* + *Gentamicin sulphate* với 5,8 mm. Do đó, nhóm hoạt chất *Streptomycin* + *Oxytetracycline* đã được chọn cho thử nghiệm đánh giá hiệu quả kiểm soát bệnh ở điều kiện nhà lưới. Bên cạnh đó, dòng *R. solanacearum* RM3 và RM4 được ghi nhận ít nhạy

cảm nhất khi có đường kính vòng ức chế tạo ra là nhỏ nhất với nhóm hoạt chất *Streptomycin* + *Oxytetracycline* cũng được chọn cho thử nghiệm tiếp theo. Kết quả đánh giá hiệu quả kiểm soát bệnh của hoạt chất *Streptomycin* + *Oxytetracycline* trên cây hoa Vạn thọ trong điều kiện nhà lưới ghi nhận ở các thời điểm 6, 10, 14, 18 ngày sau khi lây nhiễm bệnh, cả hai NT có xử lý nhóm *Streptomycin* + *Oxytetracycline* kết hợp lây nhiễm bệnh riêng biệt với RM3 và RM4, đều ghi nhận đạt hiệu quả giảm bệnh héo xanh do vi khuẩn tương đối cao, dao động từ 46,7% đến 57,2%. Sau 18 NSKLB, tỷ lệ bệnh của hai NT có xử lý nhóm hoạt chất kết hợp lây nhiễm dòng RM3 (RM3 + Thuốc) là 20% và RM4 (RM4 + Thuốc) là 22,5% thấp hơn hai NT chỉ lây nhiễm vi khuẩn gây bệnh RM3, RM4 (37,5% và 52,5%). Đồng thời, chỉ số AUDPC, chỉ số bệnh cũng được ghi nhận giảm so với các NT chỉ lây nhiễm bệnh. Nhìn chung, nhóm hoạt chất *Streptomycin* + *Oxytetracycline* đã thể hiện được hiệu quả giảm bệnh trong phòng trị bệnh héo xanh do *R. solanacearum* gây ra trên cây hoa Vạn thọ.

Tài liệu tham khảo

- Abbott, W. S. (1925). A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of economic entomology*, 18, 265-269.
- Ateka, E. M., Mwang'Ombe A. W., & Kimenju J. W. (2001). Reaction of Potato Cultivars to *Ralstonia solanacearum* in Kenya. *African Crop Science Journal*, 9(1), 251-256.
- Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. (2020).

- Thông tư ban hành danh mục thuốc bảo vệ thực vật được phép sử dụng, cấm sử dụng tại Việt Nam. Hà Nội: Thông tư của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.
- Huỳnh, N. T., Lê, U. T., Trần, T. T., Nguyễn, M. Đ., Lưu, T. D., & Nguyễn, T. T. N. (2019). Đánh giá hiệu quả phòng trị của thực khuẩn thể và thuốc trừ vi khuẩn đối với bệnh héo xanh do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* trên cây hoa cúc (*Chrysanthemum* sp.) ở điều kiện ngoài đồng. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, Chuyên đề Công nghệ sinh học trong nông nghiệp, 95-100.
- Jeger, M. J., & Viljanen-Rollinson, S. L. H. (2001). The use of the area under the disease-progress curve (AUDPC) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars. *Theoretical and Applied Genetic*, 102(1), 32-40.
- Maia, P. P., Silva, E. C., Rath, S., & Reyes, F. G. R. (2009). Residue content of oxytetracycline applied on tomatoes grown in open field and greenhouse. *Food Control*, 20, 11-16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.01.007>.
- Nguyễn, T. T. C., & Trần, T. T. T. (2014). *Dịch hại trên hoa hồng, Cúc, mai, Vạn thọ*. Cần Thơ: NXB Đại học Cần Thơ.
- Shtienberg, D., Zilberstaine, M., Oppenheim, D., Herzog, Z., Manulis, S., Shwartz, H., & Kritzman, G. (2001). Efficacy of Oxolinic Acid and Other Bactericides in Suppression of *Erwinia amylovora* in Pear Orchards in Israel. *Phytoparasitica*, 29(2), 143-154.
- Winstead, N. N., & Kelman, A. (1952). Inoculation techniques for evaluating resistance to *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology*, 42, 628-634.