

PHÂN LẬP VÀ NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM MỘT SỐ MẪU NẤM MAGNAPORTHE ORYZAE GÂY BỆNH ĐẠO ÔN TRÊN LÚA TẠI THANH HÓA

Lê Thị Phụng¹, Nghiêm Thị Hương¹, Trần Thị Mai¹, Hoàng Thị Lan Thương¹

TÓM TẮT

Bệnh đạo ôn hại lúa do nấm *Magnaporthe oryzae* là một trong những bệnh có ảnh hưởng lớn và thường xuyên tới năng suất, sản lượng ở tất cả các vùng trồng lúa tại Việt Nam và trên thế giới. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tiến hành điều tra, thu thập 9 mẫu lúa nhiễm bệnh và phân lập được 3 mẫu nấm đạo ôn *M. oryzae* 1Y, 4Y và 5Y trên một số giống lúa trồng vụ Xuân 2020 tại 3 huyện của tỉnh Thanh Hóa. Các mẫu phân lập nấm *M. oryzae* khi được nuôi cấy trên các loại môi trường dinh dưỡng nhân tạo khác nhau thể hiện các đặc điểm về hình thái tản nấm tương đối đa dạng về màu sắc và mức độ phát triển sợi nấm trên bề mặt môi trường. Các loại môi trường nuôi cấy khác nhau cũng ảnh hưởng rõ ràng tới khả năng phát triển sợi nấm, khả năng sinh bào tử và khả năng nảy mầm của bào tử. Trong khi môi trường PSA và PGA giúp sợi nấm *M. oryzae* phát triển mạnh nhất thì môi trường OMA và Cám agar lại tạo điều kiện để nấm sinh bào tử nhiều nhất. Bào tử thu hoạch trên môi trường Cám, Bột gạo và Bột mì có tỷ lệ nảy mầm cao rõ rệt hơn so với các môi trường khác.

Từ khóa: Bệnh đạo ôn, *Magnaporthe oryzae*, môi trường, phân lập, bào tử.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh đạo ôn do nấm *Magnaporthe oryzae* (anamorph, *Pyricularia oryzae*) là một trong những bệnh gây thiệt hại lớn nhất đến năng suất và chất lượng lúa gạo ở tất cả các khu vực trồng lúa trên thế giới [2]. Thiệt hại do nấm bệnh đạo ôn ước tính có thể lên tới 10% - 30% sản lượng lúa toàn cầu. Đặc biệt, đạo ôn cổ bông có thể gây hại nặng, lên đến 80% năng suất trong các vụ dịch nặng. Do tác động lớn trong sản xuất nông nghiệp và mức độ lây lan, nấm bệnh *M. oryzae* được nghiên cứu rộng rãi như là mô hình về tương tác giữa tác nhân gây bệnh và ký chủ, ở cả cấp độ sinh học tế bào và phân tử [4].

Trong điều kiện sản xuất tại Việt Nam, bệnh xuất hiện ở hầu hết các vụ trong năm, tuy nhiên phát triển nặng nhất ở vụ Xuân hay vụ Đông Xuân khi trời nhiều mây, ẩm u, ít nắng, thời tiết mát, ẩm độ cao, kết hợp đêm có sương mù. Bệnh cũng thường gây hại nặng trên những ruộng sử dụng giống lúa nhiễm bệnh, gieo sạ dày, bón phân thừa đạm... Bệnh đạo ôn gây hại ở tất cả các giai đoạn phát triển của cây lúa từ giai đoạn lúa tới trổ bông, và có thể tấn công trên lá, thân, cổ bông, cổ gié hoặc hạt lúa [1]. Nấm *Magnaporthe oryzae* có khả năng biến dị cao, tạo ra nhiều chủng, nhóm nội sinh học, nhanh chóng vượt qua tính kháng bệnh của các giống lúa mang gen kháng bệnh đạo ôn trong vòng 2 - 3 năm và dẫn đến những khó khăn trong công tác phòng trừ bệnh và chọn tạo giống kháng [2].

¹ Khoa Nông - Lâm - Ngư nghiệp, Trường Đại học Hồng Đức; Email: lephuong@hdu.edu.vn

Để nghiên cứu các khía cạnh khác nhau của bệnh đạo ôn hại lúa, việc phân lập các mẫu nấm bệnh đạo ôn, xác định môi trường dinh dưỡng phù hợp cho sự sinh trưởng và hình bào tử của nấm *M. oryzae* là hết sức cần thiết để thiết lập điều kiện cơ bản cho việc thực hiện các nghiên cứu chuyên sâu về bệnh đạo ôn tại các vùng, khu vực địa lý cụ thể. Từ lý do trên chúng tôi thực hiện đề tài nghiên cứu nhằm xác định đặc điểm sinh trưởng, phát triển một số mẫu phân lập nấm *M. oryzae* gây bệnh đạo ôn trên lúa tại Thanh Hóa để xác định môi trường tối ưu phục vụ nuôi cấy các mẫu phân lập nấm *M. oryzae* nhằm phục vụ các nghiên cứu chuyên sâu tiếp theo.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Điều tra và thu thập mẫu nấm bệnh đạo ôn

Thời gian điều tra, thu thập mẫu bệnh: Điều tra và thu thập mẫu bệnh được thực hiện từ tháng 3 đến tháng 4 năm 2020 (vụ lúa Xuân 2020).

Địa điểm thu mẫu: 3 huyện trên địa bàn tỉnh Thanh Hóa là Quảng Xương, Đông Sơn và Quan Hóa.

Phương pháp thu thập: Tiến hành thăm ruộng lúa, kiểm tra cây lúa có triệu chứng bệnh đạo ôn trên các giống lúa trồng tại địa phương, nhổ hoặc cắt lá/ cây lúa có vết bệnh đạo ôn và đặt trong túi nhựa chứa giấy ẩm, ghi chú rõ thông tin (thời gian, đại điểm, giống lúa...), mang về phòng thí nghiệm bảo quản trong điều kiện mát để thực hiện phân lập.

2.2. Phương pháp phân lập nấm đạo ôn

Quy trình phân lập nấm đạo ôn trong phòng thí nghiệm để thực hiện theo các bước sau đây:

- 1) Phần lá lúa có vết bệnh được khử trùng bề mặt bằng ethanol 70% trong 30 giây (lặp lại 2 - 3 lần).
- 2) Rửa mẫu lá bằng nước cất vô trùng từ 2 đến 3 lần, thấm khô bề mặt bằng giấy thấm vô trùng.
- 3) Mẫu lá bệnh được cắt thành các miếng nhỏ (0,5 cm) và đặt trên bề mặt môi trường PDA hoặc WA, để trong tủ định ôn 26 - 28°C để nấm phát triển từ 2 - 5 ngày.
- 4) Khi sợi nấm mọc từ mẫu lá trên môi trường nhân tạo, tiến hành cấy chuyển nấm theo phương pháp cấy đỉnh sinh trưởng sợi nấm để được mẫu nấm thuần.

2.3. Nghiên cứu đặc điểm sinh trưởng, phát triển của nấm bệnh đạo ôn

Các mẫu phân lập sau khi được làm thuần và đặt mã (tên) để phân biệt sẽ được dùng để nghiên cứu về đặc điểm sinh trưởng và phát triển trên các môi trường nuôi cấy nhân tạo khác nhau. Mỗi mẫu nấm được cấy trên 3 đĩa môi trường giống nhau với 3 lần lặp lại. Các bước tiến hành như sau:

- 1) Chuẩn bị đĩa nguồn: Cấy nấm vào đĩa petri môi trường PSA, ủ ở nhiệt độ 26-28°C trong 4 - 5 ngày, lúc này đường kính tán nấm khoảng 5 cm được sử dụng là nguồn.
- 2) Chuẩn bị môi trường nghiên cứu với công thức pha 6 loại môi trường:

PSA: 200g khoai tây + 20g đường sucrose + 20g agar + 1L nước cất.

PGA: 200g khoai tây + 20g đường glucose + 20g agar + 1L nước cất.

OMA: 50g bột mạch + 20g đường sucrose + 20g agar + 1L nước cất.

Bột mì agar: 50g bột mì + 20g đường sucrose + 20g agar + 1L nước cất.

Bột gạo agar: 20g bột gạo + 20g đường sucrose + 20g agar + 1L nước cất.

Cám agar: 20g cám + 20g đường sucrose + 20g agar + 1L nước cất.

3) Cấy nấm: Sử dụng bột kim loại (đường kính 5mm) để lấy các khoan nấm từ đĩa nấm nguồn tại vị trí rìa của tản nấm (phần nấm đang sinh trưởng), cấy 1 khoan nấm vào vị trí tâm của các đĩa môi trường, ủ trong tủ định ôn 26-28°C.

4) Theo dõi sinh trưởng của tản nấm bằng đo đường kính tản nấm: Tiến hành đo đường kính tản nấm tại các thời điểm: 2, 4, 6, 8, 10 ngày sau khi cấy nấm. Đo tản nấm từ phía đáy của đĩa petri, mỗi đĩa đo 2 lần theo hai đường xuyên tâm vuông góc (hình dấu +).

5) Xác định khả năng sinh bào tử và sự nảy mầm của bào tử trên các loại môi trường nuôi cấy khác nhau: Sau khi cấy nấm 14 ngày, sử dụng bút lông mềm rửa sợi nấm bề mặt đĩa petri bằng nước cất vô trùng. Đặt đĩa nấm dưới ánh sáng đèn neon (20w) (12 giờ sáng/ 12 giờ tối) trong 3 ngày để nấm sinh bào tử. Sử dụng 20 mL nước cất chứa Tween 20 (v/v : 1/10.000) để rửa bề mặt đĩa nấm và thu bào tử. Lấy 1 giọt dung dịch bào tử (10 μ L) nhỏ lên buồng đếm bào tử để xác định nồng độ bào tử dưới kính hiển vi.

6) Đánh giá khả năng nảy mầm của bào tử: Lấy 1 giọt dung dịch bào tử (10 μ L) nhỏ lên lam kính, đặt lamén và quan sát sự nảy mầm của bào tử (quan sát 3 quan trường/ 1 lam kính) tại các thời điểm: 1, 2, 4, 6 và 8 giờ sau khi làm mẫu. Tỷ lệ nảy mầm được tính bằng cách đếm số bào tử nảy mầm trong tổng số bào tử trên 1 quan trường.

2.4. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Các số liệu theo dõi được xử lý bằng phần mềm thống kê Kyplot 5.0, sử dụng công cụ đa so sánh Tukey's test và Dunnet's test với ý nghĩa thống kê $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập các mẫu nấm đạo ôn thu thập tại Thanh Hóa

Trong vụ lúa Xuân 2020, chúng tôi đã tiến hành điều tra và thu thập 9 mẫu bệnh đạo ôn tại 3 huyện của tỉnh Thanh Hóa, phân lập được 3 mẫu nấm đạo ôn *M. oryzae* (Bảng 1).

Bảng 1. Nguồn gốc các mẫu phân lập nấm đạo ôn tại Thanh Hóa

Mã (tên) mẫu phân lập	Giống lúa	Địa điểm thu thập
1Y	C. ưu đa hệ số 1	Đông Ninh, Đông Sơn, Thanh Hóa
4Y	Nếp thơm	Quảng Xương, Thanh Hóa
5Y	TBR225	Quan Hóa, Thanh Hóa



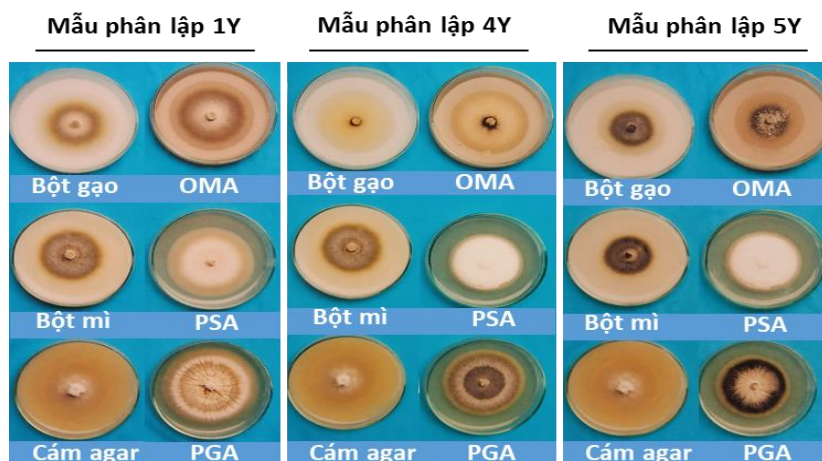
C. Ưu đa hệ (1Y) Nếp thơm (4Y) TBR225 (5Y)

Hình 1. Triệu chứng bệnh đạo ôn trên các giống lúa thu thập tại Thanh Hóa

Ba mẫu phân lập 1Y, 4Y, và 5Y biểu hiện các triệu chứng bệnh điển hình ở mức độ khác nhau trong tự nhiên trên các giống lúa tại thời điểm mà chúng tôi đã tiến hành lấy mẫu (Hình 1). Mẫu phân lập 1Y và 4Y gây bệnh nặng trên các giống tương ứng là C, ưu đa hệ số 1 và Nếp thơm, với các triệu chứng bệnh là vết bệnh hình thoi hoặc liên kết tạo thành các đám hoại tử lớn trên lá lúa. Mẫu phân lập 5Y gây bệnh nhẹ trên giống TBR225 với triệu chứng là các vết bệnh ít, dạng giọt dầu.

3.2. Đặc điểm hình thái của các mẫu phân lập nấm *M. oryzae* trên các môi trường

Các mẫu phân lập nấm đạo ôn 1Y, 4Y, và 5Y được nuôi cấy trên 6 loại môi trường nhân tạo khác nhau, bao gồm: PSA, PGA, OMA, Cám agar, Bột mì, và Bột gạo. Qua theo dõi chúng tôi nhận thấy sau 4 ngày nuôi cấy, hình thái tản nấm ở các chỉ tiêu như màu sắc và độ xốp chưa thể hiện sự khác biệt lớn giữa các mẫu phân lập và giữa các môi trường nuôi cấy khác nhau. Lúc này sợi nấm còn non, chưa biến màu, mọc sát bề mặt môi trường. Sau 6 ngày nuôi cấy, sợi nấm phát triển từ yếu đến mạnh trên bề mặt môi trường, chuyển màu và tạo nên hình thái tản nấm khác biệt giữa các mẫu phân lập và môi trường nuôi cấy. Đặc biệt sau 8 ngày nuôi cấy, sự khác biệt về hình thái được thể hiện rất rõ ràng (Hình 2; Bảng 2).



Hình 2. Đặc điểm hình thái tản nấm của các mẫu phân lập *M. oryzae* trên các môi trường nuôi cấy khác nhau (quan sát 8 ngày sau cấy)

Trên môi trường PSA, 2 mẫu phân lập 4Y và 5Y phát triển rất mạnh trên bề mặt môi trường, tạo thành một lớp dày sợi bông xốp có màu trắng. Mẫu 2Y phát triển sợi kém hơn, có màu xám và hơi xốp phần tâm tản nấm (Hình 2). Trên môi trường PGA, 3 mẫu phân lập ít phát triển trên bề mặt, môi trường bị nhăn theo hướng tâm ra ngoài. Trên môi trường OMA, sợi nấm phát triển mạnh bên trong môi trường, rất yếu trên bề mặt, sợi nấm biến màu nâu tới nâu đen. Trên các môi trường Cám, Bột mì, và Bột gạo, sợi nấm phát triển yếu trên bề mặt, hình thái tản nấm không có sự khác biệt lớn giữa các mẫu phân lập. Những khác biệt về hình thái tản nấm của các mẫu phân lập nuôi cấy trên các môi trường nhân tạo khác nhau được mô tả cụ thể trong Bảng 2 và quan sát trực quan qua Hình 2.

Bảng 2. Đặc điểm hình thái tản nấm của các mẫu phân lập nấm *M. oryzae* trên các loại môi trường khác nhau

TT	Môi trường	Mẫu phân lập <i>M. oryzae</i>		
		1Y	4Y	5Y
1	PSA	Xám, mịn	Trắng, xốp	Trắng, xốp
2	PGA	Xám, rìa mịn, tâm nhăn	Đen, rìa mịn, tâm nhăn	Đen, rìa mịn, tâm nhăn
3	OMA	Nâu đen, tâm xốp trắng	Vàng nhạt, mịn	Đen, tâm hơi xốp trắng
4	Cám	Nâu đen, tâm xốp trắng	Vàng nhạt, tâm hơi xốp	Đen, mịn
5	Bột gạo	Nâu, tâm xốp	Vàng nhạt, mịn	Đen, mịn
6	Bột mì	Nâu, mịn	Nâu nhạt, mịn	Đen, mịn

3.3. Khả năng sinh trưởng các mẫu phân lập nấm *M. oryzae* trên các môi trường

Để xác định môi trường nuôi cấy phù hợp nhất cho sự phát triển sợi nấm *M. oryzae*, đường kính tản nấm của 3 mẫu phân lập được đo ở các thời điểm 2, 4, 6, 8, và 10 ngày sau cấy (Bảng 3).

Bảng 3. Đường kính tản nấm của các mẫu phân lập nấm *M. oryzae* trên các loại môi trường khác nhau

Mẫu phân lập	Môi trường	Đường kính tản nấm <i>M. oryzae</i> sau các ngày cấy (cm)					
		2 ngày	4 ngày	6 ngày	8 ngày	10 ngày	
1Y	PSA	1,60	2,95	4,90	6,75	8,10 ±	0,14 ^b
	PGA	1,65	3,63	5,05	6,70	8,20 ±	0,00 ^b
	OMA	1,33	2,56	3,55	5,00	6,50 ±	0,10 ^c
	Cám	1,43	2,83	3,85	4,90	5,90 ±	0,00 ^c
	Bột gạo	1,50	2,60	4,05	5,10	7,00 ±	0,14 ^{bc}
	Bột mì	1,40	2,43	3,66	4,60	6,46 ±	0,25 ^{bc}
4Y	PSA	1,95	3,50	5,13	6,60	9,00 ±	0,00 ^a
	PGA	1,70	3,63	4,95	6,45	8,50 ±	0,26 ^b
	OMA	1,40	2,50	3,55	5,05	6,30 ±	0,22 ^c
	Cám	1,60	2,85	4,10	4,95	6,25 ±	0,06 ^c
	Bột gạo	1,55	3,15	4,35	5,65	7,25 ±	0,05 ^{bc}
	Bột mì	1,45	2,05	3,10	4,55	6,05 ±	0,07 ^c

5Y	PSA	1,90	2,85	5,90	6,80	8,10 ±	0,14 ^b
	PGA	1,80	3,15	4,49	6,60	8,15 ±	0,10 ^b
	OMA	1,50	2,05	5,95	5,50	6,50 ±	0,10 ^c
	Cám	1,66	3,50	4,10	5,23	6,23 ±	0,26 ^c
	Bột gạo	1,45	3,46	4,15	5,20	7,00 ±	0,14 ^{bc}
	Bột mì	1,30	2,83	3,70	5,05	6,90 ±	0,13 ^{bc}

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$); ± SE

Sau 2 ngày nuôi cấy, đường kính tản của các mẫu phân lập 1Y, 4Y, và 5Y dao động trong khoảng lần lượt là: 1,33 cm - 1,65 cm, 1,40 cm - 1,95 cm, và 1,30 cm - 1,90 cm, trên các môi trường nuôi cấy khác nhau. Qua theo dõi thí nghiệm chúng tôi nhận thấy, cứ sau 2 ngày, đường kính tản nấm tăng trung bình khoảng 2 cm. Đến ngày thứ 10 sau cấy, mẫu phân lập 1Y phát triển mạnh trên môi trường PSA và PGA, với đường kính đạt trên 8,00 cm; sợi nấm phát triển yếu hơn trên môi trường OMA, bột mì; 1Y phát triển yếu nhất trên môi trường Cám agar (5,90 cm), khác biệt có ý nghĩa so với hai môi trường PSA và PGA. Tương tự như vậy, hai mẫu phân 4Y và 5Y cũng phát triển mạnh nhất trên hai môi trường PSA và PGA, phát triển yếu trên ba môi trường nuôi cấy còn lại. Đặc biệt, mẫu phân lập 4Y biểu hiện khả năng sinh trưởng mạnh nhất trên môi trường PSA so với 1Y và 5Y, với đường kính tản nấm đạt trung bình 9cm (kín đĩa petri) (Bảng 3). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với một số nghiên cứu trước đây trong đó có kết quả của Hossain (2000) chỉ ra rằng môi trường PDA hỗ trợ tăng trưởng hướng tâm tối đa (85,00 mm), tiếp theo là môi trường chứa dịch chiết kí chủ bổ sung 0,2% sacaroza (80,33 mm) tiếp theo là môi trường bột yến mạch (75,00 mm). Căn cứ vào đặc điểm phát triển tản nấm trên các môi trường khác nhau, hai môi trường PSA và PGA được sử dụng cho mục đích để cấy truyền tạo nguồn và lưu giữ nấm.

3.4. Khả năng sinh bào tử của các mẫu phân lập nấm *M. oryzae* trên các môi trường

Ba mẫu phân lập 1Y, 4Y, và 5Y được nuôi cấy trên 6 loại môi trường nhân tạo để xác định loại môi trường tốt nhất cho sự hình thành bào tử của nấm *M. oryzae* (Bảng 4).

Bảng 4. Khả năng sinh bào tử của các mẫu phân lập nấm *M. oryzae* trên các loại môi trường khác nhau

TT	Môi trường	Các mẫu phân lập nấm <i>M. oryzae</i> (Bt x 10 ⁴ /mL)		
		1Y	4Y	5Y
1	PSA	1,90 ^c	2,40 ^c	5,60 ^c
2	PGA	3,76 ^c	1,80 ^c	4,00 ^c
3	OMA	12,28 ^a	14,05 ^a	14,64 ^a
4	Cám	11,63 ^a	13,20 ^a	15,40 ^a
5	Bột gạo	2,24 ^c	4,32 ^c	6,23 ^c
6	Bột mì	9,20 ^{ab}	11,28 ^{ab}	12,80 ^a

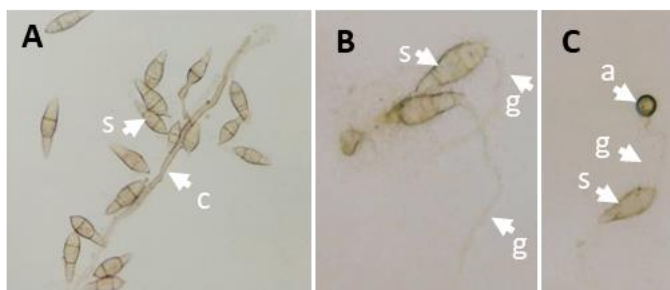
Ghi chú: Trong cùng cột, chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Mẫu phân lập 1Y sinh bào tử nhiều nhất trên môi trường OMA và Cám agar, đạt số bào tử lần lượt là $12,28 \times 10^4$ (Bt/1mL) và $11,63 \times 10^4$ (Bt/1mL). 1Y sinh bào tử ít hơn trên môi trường Bột mì ($9,20 \times 10^4$ (Bt/1mL)) và đạt số lượng bào tử thấp nhất trên PSA và PGA. Tương tự, hai mẫu phân lập 4Y và 5Y cũng đạt số lượng bào tử cao nhất trên hai môi trường OMA và Cám agar, tiếp đến là môi trường Bột mì, và đạt số lượng bào tử thấp ở ba môi trường còn lại: PSA, PGA và Bột gạo. Như vậy, rõ ràng môi trường nuôi cấy khác nhau đã ảnh hưởng lớn đến khả năng sinh bào tử của nấm *M. oryzae*. Mẫu phân lập 5Y đạt số bào tử ở các môi trường khác nhau cao hơn hai mẫu phân lập 1Y và 4Y, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (Bảng 4).

Nghiên cứu trước đây bởi Xinfu và cộng sự (1995) cho biết, nấm đạo ôn phân lập từ ký chủ bao gồm lúa và cỏ dại thông thường trên ruộng lúa sinh bào tử mạnh trên hạt lúa mạch hoặc lúa miến đã khử trùng. Như vậy, để kích thích khả năng sinh bào tử của nấm *M. oryzae* thì việc bổ sung thêm thành phần cây ký chủ vào môi trường nuôi cấy rất có ý nghĩa. Từ kết quả nghiên cứu này, môi trường OMA và Cám agar được xác định là phù hợp để sử dụng nuôi cấy nấm *M. oryzae* cho mục đích sản xuất bào tử, phục vụ các nghiên cứu về lây nhiễm bệnh nhân tạo.

3.5. Khả năng nảy mầm của bào tử nấm *M. oryzae* trên các môi trường

Để thực hiện quá trình xâm nhiễm, phát tán và gây hại cây lúa, bào tử nấm đạo ôn nảy mầm tạo ống mầm trong điều kiện ẩm độ cao, từ ống mầm sẽ hình thành thể áp màu đen (appressoria) áp sát bề mặt lá lúa, tạo áp lực turgor lớn giúp nấm xâm nhập vào bên trong tế bào cây lúa thông qua vòi hút để hấp thu dinh dưỡng, và mở rộng xâm nhiễm ra các tế bào xung quanh (Hình 3).



Hình 3. Bào tử nấm *M. oryzae* quan sát dưới kính hiển vi điện tử

- A.** Bào tử (s-spore/conidium) và cành bào tử (c-conidia); **B.** Bào tử nảy mầm tạo ống mầm (g-germtube); **C.** Bào tử hình thành thể áp (a-appressorium) từ ống mầm

Trong nghiên cứu này chúng tôi theo dõi sự nảy mầm của bào tử các mẫu phân lập nấm *M. oryzae* thu được trên các đĩa môi trường nuôi cấy khác nhau, qua đó đánh giá được tiềm năng gây bệnh của chúng. Tỷ lệ nảy mầm của bào tử các mẫu phân lập được kiểm tra tại các thời điểm 1, 2, và 6 giờ sau khi bào tử được thu hoạch từ đĩa petri nuôi và nhỏ trên lam kính để quán sát dưới kính hiển vi (Bảng 5).

Bảng 5. Khả năng bào tử nảy mầm của các mẫu phân lập nấm *M. oryzae* trên các loại môi trường khác nhau

Môi trường	Tỷ lệ bào tử nảy mầm sau các giờ quan sát (%)								
	1 giờ			2 giờ			6 giờ		
	1Y	4Y	5Y	1Y	4Y	5Y	1Y	4Y	5Y
PSA	5,82	2,94	3,42	18,80	9,06	8,29	32,14±3,53 ^{bc}	49,23±6,04 ^{ab}	61,77±5,04 ^a
PGA	2,45	3,89	3,03	17,45	15,55	5,35	55,23±5,45 ^{ab}	54,11±3,99 ^{ab}	30,23±6,40 ^c
OMA	8,77	2,20	1,88	14,56	18,52	8,04	48,40±4,45 ^{ab}	52,90±4,87 ^{ab}	37,23±3,09 ^{bc}
Cám	5,10	1,60	7,81	16,56	10,68	12,34	55,49±5,87 ^{ab}	69,26±5,83 ^{ab}	70,34±9,11 ^a
Bột gạo	9,50	10,30	3,32	21,45	15,34	11,08	60,08±6,33 ^a	75,05±6,01 ^a	65,87±8,54 ^a
Bột mì	5,43	1,63	6,08	10,14	13,27	10,27	36,50±5,65 ^{ab}	85,45±7,23 ^a	56,38±5,02 ^{ab}

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$); $\pm SE$

Sau 1 giờ, tỷ lệ nảy mầm của 3 mẫu phân lập nuôi dao động từ 2% - 10% tùy vào môi trường nuôi cấy khác nhau, trong đó 1Y và 4Y có tỷ lệ nảy mầm cao nhất 9,50% và 10,30% trên môi trường Bột gạo, 5Y đạt tỷ lệ cao nhất 7,81% trên môi trường PGA. Sau 2 giờ, tỷ lệ nảy mầm trung bình dao động trong khoảng 5% - 20% tùy thuộc vào các môi trường khác nhau. Sau 6 giờ, mẫu phân lập 1Y đạt tỷ lệ nảy mầm trung bình dao động từ 30% - 60%, với tỷ lệ nảy mầm cao nhất trên môi trường Bột gạo, 60,08%. Mẫu phân lập 4Y có tỷ lệ nảy mầm trung bình dao động từ 50-85%, cao nhất trên môi trường Bột mì, 85,45%. Mẫu phân lập 5Y có tỷ lệ nảy mầm trung bình dao động từ 30% - 70%, cao nhất trên môi trường Cám và Bột mì với tỷ lệ lần lượt là 65,87% và 70,34%. Nhìn chung, tỷ lệ nảy mầm có xu hướng cao rõ rệt trên ba loại môi trường Cám, Bột gạo và Bột mì đối với cả 3 mẫu phân lập (Bảng 5).

4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tiến hành điều tra và thu thập được 9 mẫu bệnh đạo ôn trong vụ lúa Xuân 2020 tại 3 huyện của tỉnh Thanh Hóa. Kết quả bước đầu phân lập và làm thuần đã xác định được 3 mẫu phân lập nấm đạo ôn *M. oryzae* 1Y, 4Y và 5Y từ các mẫu bệnh trên 3 giống lúa tương ứng là C.uu đa hệ số 1, Nếp thơm và TBR225.

Các mẫu phân lập nấm đạo ôn 1Y, 4Y và 5Y khi được nuôi cấy trên các loại môi trường dinh dưỡng nhân tạo khác nhau thể hiện các đặc điểm về hình thái tản nấm tương đối đa dạng về màu sắc và mức độ phát triển sợi nấm trên bề mặt môi trường. Các loại môi trường nuôi cấy khác nhau cũng ảnh hưởng rõ ràng tới khả năng phát triển sợi nấm, khả năng sinh bào tử và khả năng nảy mầm của bào tử. Trong khi môi trường PSA và PGA giúp sợi nấm *M. oryzae* phát triển mạnh nhất thì môi trường OMA và Cám agar lại tạo điều kiện để nấm sinh bào tử nhiều nhất. Bào tử thu hoạch trên môi trường Cám, Bột gạo và Bột mì có tỷ lệ nảy mầm cao rõ rệt hơn so với các môi trường khác.

Từ các kết quả nghiên cứu, chúng tôi khuyến cáo sử dụng hai môi trường PSA và PGA để nuôi cấy tạo nguồn và lưu giữ nấm. Môi trường OMA và Cám agar dùng cho mục đích sản xuất bào tử nấm, phục vụ lây nhiễm bệnh nhân tạo và các nghiên cứu chuyên sâu khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Vũ Triệu Mân-chủ biên (2007), *Giáo trình Bệnh cây chuyên khoa*, Nxb. Nông nghiệp, Hà Nội.
- [2] Dean R, Van Kan JA, Pretorius ZA, Hammond-Kosack KE, Di Pietro A, Spanu PD, Rudd JJ, Dickman M, Kahmann R, Ellis J, Foster GD (2012), The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology, *Mol Plant Pathol*, 13(4): 414-30.
- [3] Hossain, M. (2000), *Studies on blast disease of rice caused by Pyricularia grisea (Cooke) Sacc. in upland areas*, M.Sc. Thesis, University of Agricultural Sciences, Dharwad.
- [4] Lynne Boddy (2016), *Pathogens of Autotrophs*, In the book *The Fungi* (Third Edition).
- [5] Xinfu, D.U., S. Shuyan, Z. Zhong and T.R. Xiang (1995), Evaluation of culture techniques for stimulating sporulation of *Pyricularia*, *Acta Agricultural Zhejiangensis*, 7: 408-472.

ISOLATION AND STUDYING THE CHARACTERISTICS OF *MAGNAPORTHE ORYZAE* FROM RICE IN THANH HOA PROVINCE

Le Thi Phuong, Nghiem Thi Huong, Tran Thi Mai, Hoang Thi Lan Thuong

ABSTRACT

Rice blast disease, caused by Magnaporthe oryzae, is one of the most destructive disease of rice worldwide. In this study, 9 rice samples infected with blast pathogens were collected in the Spring season 2020 in 3 districts of Thanh Hoa province. Three isolates of the rice blast fungi 1Y, 4Y, and 5Y cultured on 6 different media showed the corresponding morphological characteristics varied in color and aerial mycelium growth. The different culture media are also well defined for the growth of mycelium, the spore-producing ability and spore germination. While PSA and PGA helped the mycelium of M. oryzae thrive, the OMA and rice bran medium created the better conditions of sporulation. The spores harvested from culture media of rice bran, rice flour and wheat flour performed the higher germination rates as compared to the other culture media.

Keywords: Rice blast, *Magnaporthe oryzae*, media, isolation, spore.

* Ngày nộp bài: 12/10/2020; Ngày gửi phản biện: 23/10/2020; Ngày duyệt đăng: 12/7/2021

* Bài báo này là kết quả nghiên cứu từ đề tài cấp cơ sở mã số ĐT-2019-11 của Trường Đại học Hồng Đức