

BƯỚC ĐẦU XÁC ĐỊNH NGƯỠNG CHỐNG CHỊU CỦA CÂY CÀ PHÊ CHÈ ĐỐI VỚI LOÀI TUYẾN TRÙNG *PRATYLENCHUS COFFEA* TRONG ĐIỀU KIỆN NHÀ KÍNH

TRỊNH QUANG PHÁP, NGUYỄN NGỌC CHÂU

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Các loài tuyến trùng *Pratylenchus* spp. thuộc nhóm tuyến trùng nội ký sinh phổ biến và gây hại lớn cho cây trồng, chỉ sau nhóm tuyến trùng sắn rễ *Meloidogyne* spp. [13]. Khi ký sinh, các loài tuyến trùng này thường gây ra các vết thương nên chúng còn được gọi là tuyến trùng gây tổn thương rễ (root lesion nematodes), tạo điều kiện cho các tác nhân gây bệnh khác như nấm, vi khuẩn xâm nhập, dẫn đến hoại tử rễ. Cây trồng bị tuyến trùng ký sinh trở nên còi cọc, lá bị úa vàng và năng suất cũng như chất lượng của sản phẩm bị giảm.

Một số nghiên cứu về sâu bệnh hại cây cà phê gần đây ở Việt Nam cho thấy: một trong những đối tượng gây hại quan trọng nhất đối với các vùng trồng cà phê hiện nay là tuyến trùng ký sinh, trong đó loài *Pratylenchus coffeae* Filijev & Schuurmans Stekhoven, 1941 (Goodey, 1951) được coi là loài ký sinh gây hại phổ biến và quan trọng nhất [6, 9]. Tuy nhiên, ngoài các nghiên cứu điều tra, phân loại tuyến trùng và đánh giá sơ bộ căn cứ vào mật độ gây hại của tuyến trùng và triệu chứng do chúng gây ra trên cây cà phê, chưa có nghiên cứu nào xác định ngưỡng gây hại của tuyến trùng này đối với cây cà phê. Công trình này bước đầu đánh giá tác hại của loài tuyến trùng *P. coffeae* thông qua ngưỡng chống chịu của cây cà phê chè đối với loài tuyến trùng này.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguồn tuyến trùng

Loài tuyến trùng *P. coffeae* dùng cho thí nghiệm được phân lập từ rễ của cây cà phê chè (*Coffea arabica* cv. catimor) ở Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk theo phương pháp tách lọc tĩnh [5]. Sau khi tách lọc, tuyến trùng được nhặt riêng

vào đĩa thủy tinh lõm trong nước cất để sử dụng cho việc nhân nuôi, tạo nguồn cho thí nghiệm.

Tuyến trùng được nhân nuôi trên lát cà rốt theo quy trình của Moody et al. (1973) [4] và được cải tiến theo Pinochet et al. (1995) [10] với những bước chính như sau: a) Khử trùng bề mặt tuyến trùng bằng streptomycin sunphát (4000 ppm) trong 24 giờ; b) Chuẩn bị các đĩa cà rốt được khử trùng bằng đèn cồn và tủ cấy vô trùng. Sau 40 ngày, những đĩa cà rốt không bị nhiễm khuẩn mới được sử dụng để nhân nuôi tuyến trùng; c) Chủng 20-25 tuyến trùng cho mỗi đĩa cà rốt (trong buồng khử trùng) và ủ cho tuyến trùng phát triển ở nhiệt độ 26-28°C trong thời gian 55-60 ngày; d) Thu hoạch tuyến trùng từ đĩa cà rốt bằng phễu baermann.

2. Chuẩn bị cây cà phê con và gây nhiễm tuyến trùng

Hạt giống cà phê chè (*C. arabica* cv. catimor) được nhận từ Viện Nghiên cứu Nông Lâm nghiệp Tây Nguyên. Trước khi gieo, hạt cà phê được khử trùng bề mặt bằng NaOCl, gieo trên khay cát đã khử trùng. Sau 2 tháng, khi cây có hai lá thì chuyển sang trồng ở chậu vại (250 cm³ đất) đặt trong nhà kính với các điều kiện: chiếu sáng 12 giờ mỗi ngày, duy trì ở nhiệt độ 25-30°C (ban ngày) và 22-25°C (ban đêm), tưới nước hàng ngày và tưới phân (NPK, 7-4-6) hai tuần 1 lần. Sau 2 tuần, tiến hành nhiễm tuyến trùng vào chậu đất. Mật độ tuyến trùng được lấy nhiễm như sau: 0; 250; 500; 1000; 2000; 4000; 8000 tuyến trùng/chậu thí nghiệm. Mỗi công thức mật độ được nhắc lại 5 lần và tiến hành đánh giá các chỉ tiêu: trọng lượng của cả cây, trọng lượng của rễ, trọng lượng của thân và mật độ của tuyến trùng trong đất và rễ sau 30, 60 và 90 ngày lây nhiễm, phân bố ngẫu nhiên.

3. Xử lý số liệu

Số liệu thí nghiệm liên quan đến ngưỡng chống chịu của tuyến trùng được xử lý theo Seinhorst (1965, 1998) và Peng & Moens (2002) [8]. Mối tương quan giữa mật độ ban đầu của tuyến trùng và trọng lượng của cây theo phương trình Seinhorst:

$$y = y_m \text{ với } Pi \leq T; y = y_m \cdot m + y_m(1 - m)^{(Pi-T)}$$

Trong đó: y = trọng lượng tươi của cây (g); Pi = mật độ ban đầu của quần thể tuyến trùng; T = ngưỡng chống chịu; y_m = năng suất trung bình đạt được dưới ngưỡng gây hại; m = hằng số; $y_m \cdot m$ = năng suất có thể đạt được ứng với mật độ cao nhất của quần thể tuyến trùng; z = chỉ số xác định của đường cong.

Chỉ số sinh sản được xác định theo công thức $Rf = Pf/Pi$, trong đó: Pf = mật độ cuối cùng của quần thể tuyến trùng; Pi = mật độ ban đầu quần thể tuyến trùng. Tuyến trùng từ đất và rễ được tách lọc theo phương pháp của Hendrick (1995). Ảnh hưởng của mật độ lây nhiễm ban đầu được xác định bằng chương trình Seinfit (Viaene et al, 1997) trên cơ sở đường cong Seinhorst (1965).

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Theo Seinhorst (1965), các chỉ số sinh trưởng cũng như năng suất của cây trồng có liên quan chặt chẽ với mật độ của tuyến trùng. Như vậy, tuyến trùng, cây chủ và môi trường là ba yếu tố ảnh hưởng lẫn nhau, vì vậy có thể dự đoán sự

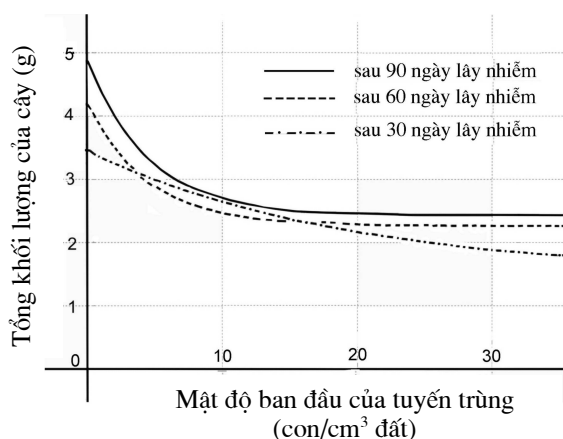
thiệt hại của mùa màng khi biết mật độ ban đầu của quần thể tuyến trùng ký sinh, tức là mật độ của tuyến trùng trước khi trồng (Pi). Mặt khác, trên cơ sở xác lập phương trình của mối tương quan giữa mật độ của tuyến trùng và các chỉ số sinh trưởng của cây trồng, có thể tìm ra ngưỡng chống chịu hay ngưỡng gây hại của tuyến trùng (T). Từ phương trình của Seinhorst (1965) [13], Viaene et al. (1997) đã xây dựng phần mềm Seinfit để xác định ngưỡng chống chịu của cây trồng với tuyến trùng ký sinh [15]. Việc xác định ngưỡng gây hại không những giúp chỉ ra thời điểm phòng trừ thích hợp mà còn là cơ sở để đánh giá khả năng chống chịu của các giống kháng tuyến trùng.

Ảnh hưởng của tuyến trùng đối với cây cà phê chè thông qua các chỉ số tương quan Seinhorst được thể hiện ở bảng 1 cho thấy: sau 30 ngày lây nhiễm, ngưỡng chống chịu (T) của cây là 0,2 tuyến trùng/ 1cm^3 đất, nhưng sau 60 ngày và 90 ngày thì ngưỡng chống chịu bằng 0. Điều này chứng tỏ sau 60 ngày và 90 ngày thì chỉ cần số lượng nhỏ tuyến trùng cũng có thể ảnh hưởng đến chỉ tiêu tổng khối lượng của cây, tức là có thể gây hại cho cây. Năng suất tối thiểu đạt được ($y_m \cdot m$) ứng với mật độ cao nhất của quần thể tuyến trùng sau 30 ngày là 1,549g, và tăng dần sau 60 ngày (2,307) và 90 ngày (2,432) so với năng suất của cây không bị nhiễm tuyến trùng là rất khác biệt. Chỉ số m sau 30 ngày (0,45) lây nhiễm nhỏ hơn sau 60 ngày và 90 ngày (0,55 và 0,50) thể hiện sự gây hại của tuyến trùng sau 60 ngày và 90 ngày mạnh hơn so với sau 30 ngày.

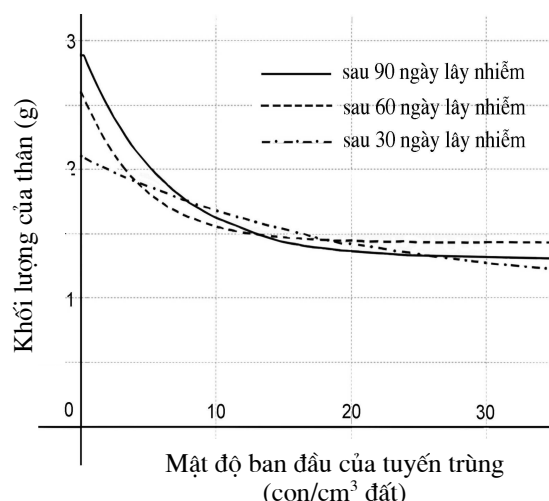
Bảng 1

Các chỉ số theo dõi liên quan với trọng lượng tươi của cây cà phê chè sau khi bị lây nhiễm tuyến trùng

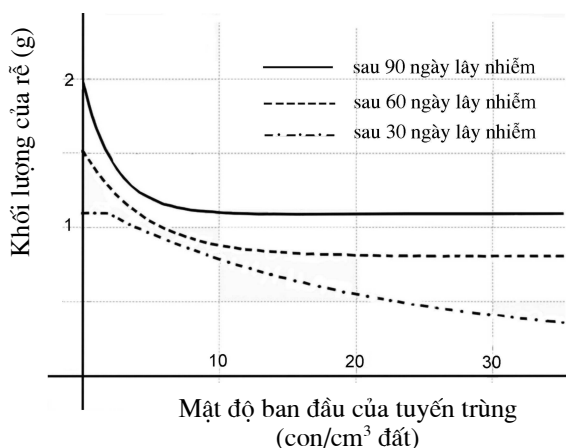
Thời gian (ngày)	Chỉ tiêu theo dõi của cây	Chỉ tiêu theo dõi theo phương trình Seinhorst ¹					R ²
		m	T	Z	y _m	y _m ·m	
30	Tổng trọng lượng của cây (g)	0,45	0,2	0,95	3,442	1,549	0,88
	Trọng lượng của rễ (g)	0,35	1,66	0,95	1,243	0,435	0,64
	Trọng lượng của thân (g)	0,50	0	0,95	2,188	1,090	0,83
60	Tổng trọng lượng của cây	0,55	0	0,8	4,194	2,307	0,91
	Trọng lượng của rễ	0,55	0	0,8	1,592	0,876	0,72
	Trọng lượng của thân	0,55	0	0,8	2,602	1,431	0,83
90	Tổng trọng lượng của cây	0,50	0	0,8	4,864	2,432	0,94
	Trọng lượng của rễ	0,55	0	0,65	1,978	1,088	0,76
	Trọng lượng thân	0,45	0,18	0,85	2,886	1,299	0,94



Hình 1. Đồ thị chỉ mối tương quan giữa mật độ của tuyến trùng và khối lượng của cây



Hình 3. Đồ thị chỉ tương quan giữa mật độ của tuyến trùng và khối lượng của thân



Hình 2. Đồ thị chỉ mối tương quan giữa mật độ của tuyến trùng và khối lượng của rễ

Tương tự như kết quả trên trong mối tương quan giữa mật độ của quần thể tuyến trùng với khối lượng của rễ. Ngưỡng chống chịu của rễ sau 30 ngày lây bị nhiễm tuyến trùng thể hiện rõ ($T = 1,66$) nhưng sau 60 ngày và 90 ngày giảm xuống còn 0, do mật độ của tuyến trùng ảnh hưởng mạnh đến khối lượng của rễ. Chỉ số m không những chỉ ra sự khác biệt khá lớn về hệ số tương quan giữa mật độ của tuyến trùng và khối lượng của rễ mà còn cho thấy sự khác biệt của mối tương quan này tăng dần theo thời gian. Điều này cũng có nghĩa là sau 60 ngày và 90 ngày, khả năng gây hại của tuyến trùng cao hơn so với 30 ngày đầu.

54

Bảng 2
Khả năng sinh sản của *P. coffeae* trên cây cà phê chè

Mật độ lây nhiễm (con/chậu)	Khả năng sinh sản Rf (ngày sau lây nhiễm)		
	30	60	90
0	0	0	0
250	0,45	0,57	1,27
500	0,37	0,44	0,64
1000	0,28	0,33	0,40
2000	0,21	0,28	0,25
4000	0,18	0,21	0,09
8000	0,07	0,08	0,05

Mật độ thấp nhất của tuyến trùng cũng gây ảnh hưởng tới chỉ số khối lượng thân của cây. Nhưng sau 90 ngày bị lây nhiễm, ngưỡng chống chịu của cây ($T = 0,18$) cao hơn so với 30 ngày và 60 ngày, chứng tỏ chỉ số khối lượng của thân có khả năng hồi phục sau 90 ngày bị lây nhiễm.

Các kết quả trên đây cho thấy mật độ của tuyến trùng có ảnh hưởng đến toàn bộ các chỉ tiêu sinh trưởng phát triển của cây cà phê chè, trong đó bộ rễ của cây bị ảnh hưởng nhiều nhất và chi phối đến tổng trọng lượng của cây. Khả năng kháng tuyến trùng của cây cà phê chè thấp. Kết quả này khá phù hợp với kết quả thí nghiệm

của Oliveira et al. (1999) [7] khi chỉ ra rằng giá trị T bằng 0 của cây cà phê *C. arabica* cv. Mondo Novo E đối với *P. brachyurus* và cây cà phê ở đây cũng rất mẫn cảm và không có khả năng chống chịu với *P. brachyurus* sau 90 ngày. Cũng tương tự như vậy, kết quả thí nghiệm của Roberto et al. (2002) [11] khi lây nhiễm *P. coffeae* trên *C. arabica* cv. Mundo Novo cũng chứng minh rằng *C. arabica* cv. Mundo Novo với T = 0 thể hiện sự mẫn cảm với tuyến trùng *P. coffeae* và là cây ký chủ của loài này ở Braxin.

Khả năng sinh sản của tuyến trùng *P. coffeae* trên cây cà phê con cũng được coi là chỉ tiêu quan trọng để đánh giá khả năng kháng của cây với tuyến trùng ký sinh. Hệ số sinh sản của *P. coffeae* trên cây cà phê chè ứng với mật độ gây nhiễm khác nhau được thể hiện tại bảng 2, cho thấy: sau 30 ngày và 60 ngày lây nhiễm tuyến trùng, khả năng sinh sản của *P. coffeae* chưa cao ($R_f < 1$), thậm chí số lượng tuyến trùng được sinh ra nhỏ hơn số lượng tuyến trùng bị chết đi. Nhưng sau 90 ngày, tuyến trùng đã được phục hồi và phát triển, thể hiện ở mật độ lây nhiễm nhỏ nhất 250 tuyến trùng/chậu thí nghiệm còn ở các mật độ lây nhiễm khác, chỉ số thể hiện khả năng sinh sản (R_f) vẫn nhỏ hơn 1. Điều này có thể lý giải bởi 2 lý do: khối lượng rễ (như là môi trường sống và ký sinh của tuyến trùng) nhỏ sẽ không thể đáp ứng được cho mật độ lớn của quần thể tuyến trùng; hơn nữa, một khi hệ rễ bị phá hại nặng, quần thể tuyến trùng trong rễ mất đi môi trường sống thích hợp, sẽ giảm xuống sau khi đạt tới mật độ lớn nhất [1]. Quần thể tuyến trùng chỉ có thể tăng trưởng, nghĩa là $R_f > 1$, với 3 điều kiện sau: mật độ của tuyến trùng thích hợp, cây chủ mẫn cảm với tuyến trùng (hay còn gọi là cây chủ thích hợp-trên đó tuyến trùng có thể sinh sản) và thời gian cần thiết cho sự tăng trưởng. Trong hàng loạt thí nghiệm trên đây, chỉ có một thí nghiệm gây nhiễm 250 tuyến trùng/chậu và qua thời gian 90 ngày cho kết quả dương tính ($R_f = 127$) là đáp ứng với những điều kiện trên đây.

III. KẾT LUẬN

1. Ngưỡng gây hại của loài tuyến trùng *P. coffeae*, trong điều kiện thí nghiệm chậu vại trong nhà kính, từ 0-1,66 tuyến trùng/cm³ đất là

tương đối nhỏ, cho thấy cây cà phê chè (*C. arabica* cv) rất mẫn cảm với loài tuyến trùng này và tiềm năng gây hại của loài tuyến trùng này cho cây cà phê chè là khá lớn.

2. Chỉ số tương quan giữa trọng lượng của cây và mật độ ban đầu của tuyến trùng từ 0,64-0,94 cho thấy có mối quan hệ khá chặt chẽ giữa mật độ của tuyến trùng gây hại với sản lượng thu hoạch của cây cà phê chè.

3. Ngoài yếu tố cây chủ mẫn cảm, mật độ của tuyến trùng và thời gian cũng quyết định sự tăng trưởng của quần thể tuyến trùng gây hại. Trong điều kiện thí nghiệm chậu vại, mật độ 250 tuyến trùng/chậu và thời gian 90 ngày sau lây nhiễm được coi là các yếu tố thích hợp để quần thể tuyến trùng tăng trưởng. Điều này cũng có nghĩa là độ mẫn cảm của cây cà phê chè *C. arabica* cv. catimor với tuyến trùng thể hiện sau 90 ngày bị nhiễm tuyến trùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Amsing J. J., Scharama P. M. M & Staapel H. M. L.**, 2002: Journal of Nematology, 4(3): 421-427.
2. **Bernard E. C. & Laughlin W. C.**, 1976: Journal of Nematology, 8: 239-242.
3. **Campos V. P., Sivapalan P., Gnana-pragasam N. C.**, 1990: Plant Parasitic Nematodes of the Subtropical and Tropical Agriculture: 387-430. CAB International, Wallingford.
4. **Moody E. H., Lownsberry B. F. & Ahmed J. M.**, 1973: Journal of Nematology, 19: 125-134.
5. **Nguyễn Ngọc Châu & Nguyễn Vũ Thanh**, 1993: Những thành tựu khoa học và kỹ thuật đưa vào sản xuất, 1: 41-45, TT KHTN & CNQG, Hà Nội.
6. **Nguyễn Ngọc Châu & Nguyễn Vũ Thanh**, 2001: Tuyển tập các công trình nghiên cứu sinh thái và tài nguyên sinh vật (1996-2000): 188-195, Nxb. Nông nghiệp, Hà Nội.
7. **Oliveira C. M. G. et al.**, 1999: Nematologica, 29: 215-221.
8. **Peng Y. & Moens M.**, 2002: Nematology, 4:387-394.

9. **Pham T. B., Ryss A. Yu.**, 1989: Proceedings of the Zoological Institute, 194: 60-64. Leningrad.
10. **Pinochet J., Fernaderz C. & Sarah J. L.**, 1995: Fundamental and Applied Nematology, 18: 391-392.
11. **Roberto K. Kubo et al.**, 2002: Nematology, 4(2): 2-11.
12. **Sasser J. N. & Freckman D. W.**, 1987: A world perspective on nematology: the role of the society. In J. A. Veech & D. W. Dickson, eds. Vistas on nematology: 7-14.
13. **Seinhorst J. W.**, 1965: Nematologica, 11: 137-154.
14. **Seinhorst J. W.**, 1998: Fundamental and Applied Nematology, 21: 459-468.
15. **Viaene N. M., Simoens P. & Abawi G. S.**, 1997: Journal of Nematology, 29 : 474-477.

**PRELIMINARY ESTIMATION OF THE TOLERANCE LIMIT OF
COFFEA ARABICA TO THE LESION OF PRATYLENCHUS COFFEA
IN GREEN-HOUSE CONDITION**

TRINH QUANG PHAP, NGUYEN NGOC CHAU

SUMMARY

Based on the Seinhorst model $y = y_m$ for $P_i \leq T$, and $y = y_m \cdot m + y_m (1-m)z^{(P_i-T)}$, the tolerance limit, viz. economic threshold of *Coffea arabica* cv. catimor to the lesion of *Pratylenchus coffeae* was preliminary identified in the green-house conditions.

The tolerance limit of *C. arabica* cv. catimor to the lesion of *P. coffeae* in 30, 60 and 90 days after incubation were estimated a range from 0-1.66 nematodes/cm³ soils. The correlation value with R² from 0,64 to 0,94 was shown the close relation between initial population densities of *P. coffeae* with the coffee yielded possibilities. This was also shown the seedlings of *C. arabica* cv. catimor were susceptible with *P. coffeae*.

The reproduction capacity of *P. coffeae* after 30 and 60 days inoculated with densities between 250 and 8000 nematodes/pot were resulted below 1 that were also meaning negative growth of those populations. It's only positive population growth with inoculated density of 250 nematode/pot and 90 days after inoculation. This result has shown that the size of the initial population was closely related with the root weight of seedlings. For recovery and development of the nematode populations, it needed to be in small size of incubation density (as about 250/pot) and reasonable duration (as 90 days after inoculation) in this experiment.

Ngày nhận bài: 5-7-2004