

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PTNT
VIỆN KHOA HỌC LÂM NGHIỆP VIỆT NAM



VŨ VĂN ĐỊNH

**NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG VI SINH VẬT NỘI SINH ĐỂ TĂNG
CƯỜNG TÍNH KHÁNG ĐỐI VỚI BỆNH KHÔ CÀNH NGỌN
KEO TẠI TƯỢNG TẠI MỘT SỐ VÙNG SINH THÁI CHÍNH Ở
MIỀN BẮC VIỆT NAM**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ LÂM NGHIỆP

HÀ NỘI - NĂM 2014

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PTNT

VIỆN KHOA HỌC LÂM NGHIỆP VIỆT NAM



VỮ VĂN ĐỊNH

**NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG VI SINH VẬT NỘI SINH ĐỂ TĂNG
CƯỜNG TÍNH KHÁNG ĐỐI VỚI BỆNH KHÔ CÀNH NGỌN
KEO TAI TƯỖNG TẠI MỘT SỐ VÙNG SINH THÁI CHÍNH Ở
MIỀN BẮC VIỆT NAM**

Chuyên ngành đào tạo : Quản lý Bảo vệ Tài nguyên rừng
Mã số : 62 62 02 11
NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC : PGS. TS. PHẠM QUANG THU

HÀ NỘI - NĂM 2014

LỜI CAM ĐOAN

Luận án được hoàn thành trong Chương trình đào tạo tiến sĩ khóa 21 (2009-2014) tại Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam. Tôi xin cam đoan công trình nghiên cứu này là của bản thân tôi. Các kết quả trình bày trong luận án là trung thực. Nếu có gì sai sót, tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm.

Hà Nội ngày 2 tháng 07 năm 2014

Tác giả

Vũ Văn Định

LỜI CẢM ƠN

Luận án này được hoàn thành trong Chương trình đào tạo nghiên cứu sinh khóa 21 giai đoạn 2009 - 2014 tại Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam. Trong quá trình thực hiện và hoàn thành luận án, tác giả nhận được sự quan tâm, giúp đỡ của Lãnh đạo Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam, Ban Đào tạo sau Đại học, Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng và thầy giáo hướng dẫn.

Trước hết, tác giả xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến PGS.TS. Phạm Quang Thu với tư cách là người hướng dẫn khoa học đã dành nhiều thời gian và công sức giúp đỡ nghiên cứu sinh hoàn thành luận án này.

Xin chân thành cảm ơn Lãnh đạo Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng, Ban Đào tạo và hợp tác quốc tế, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam.

Trân trọng cảm ơn GS.TS. Trần Văn Mão Trưởng khoa Công nghệ Nông lâm thực phẩm trường Đại học Thành Tây, GS.TS. Phạm Văn Lâm, PGS.TS. Lê Văn Trịnh, TS. Hà Minh Thanh Viện Bảo vệ thực vật, GS.TS. Nguyễn Thế Nhã nguyên Trưởng khoa Quản lý tài nguyên rừng và môi trường, trường Đại học Lâm nghiệp Việt Nam, TS. Phạm Văn Mạch nguyên Phó vụ trưởng Vụ Khoa học Công nghệ - Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, PGS.TS. Lê Lương Tề giảng viên trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội, TS. Nguyễn Như Kiều phó viện trưởng viện Nông hóa Thổ nhưỡng đã đóng góp những ý kiến quý báu cho việc hoàn thành luận án.

Tác giả xin trân trọng cảm ơn Chi cục Lâm nghiệp tỉnh Tuyên Quang, Chi cục Lâm nghiệp tỉnh Lào Cai, Chi cục Lâm nghiệp tỉnh Phú Thọ, các Hạt Kiểm lâm, các Công ty Lâm nghiệp, UBND các xã của các huyện thuộc vùng nghiên cứu đã tạo mọi điều kiện thuận lợi và giúp đỡ tác giả trong việc thu thập mẫu, thu thập số liệu tại hiện trường.

Xin cảm ơn sự giúp đỡ của các đồng nghiệp thuộc Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng đã tham gia, hỗ trợ trong việc thực hiện một số thí nghiệm và đã có những ý kiến đóng góp quý báu giúp tác giả hoàn thành tốt luận án tiến sĩ.

Tác giả xin chân trọng cảm ơn tất cả những người thân bên nội, bên ngoại, bạn bè và đồng nghiệp đã tạo điều kiện thuận lợi về thời gian, kinh phí giúp tác giả hoàn thành luận án này.

MỤC LỤC

	Trang
DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT VÀ CÁC KÝ HIỆU	vi
DANH MỤC CÁC BẢNG	viii
DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ	x
PHẦN MỞ ĐẦU	1
Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU NGHIÊN CỨU.....	6
1.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới.....	6
1.1.1. Nghiên cứu về Keo tai tượng.....	6
1.1.2. Nghiên cứu về bệnh hại keo	9
1.1.3. Nghiên cứu biện pháp phòng trừ bệnh hại keo	10
1.1.4. Nghiên cứu tính kích kháng bệnh của cây trồng	11
1.1.5. Nghiên cứu về vi sinh vật nội sinh	13
1.2. Tình hình nghiên cứu ở trong nước.....	16
1.2.1 . Nghiên cứu về Keo tai tượng.....	16
1.2.2. Nghiên cứu về bệnh hại keo	18
1.2.3. Nghiên cứu biện pháp phòng trừ bệnh hại keo	22
1.2.4. Nghiên cứu tính kích kháng bệnh của cây trồng	25
1.2.5. Nghiên cứu về vi sinh vật nội sinh	26
1.3. Đặc điểm tự nhiên khu vực nghiên cứu.....	28
1.3.1. Đặc điểm tự nhiên của huyện Thanh Sơn, Phú Thọ.....	28
1.3.2. Đặc điểm tự nhiên của huyện Hàm Yên, Tuyên Quang	28
1.3.3. Đặc điểm tự nhiên huyện Văn Bàn, Lào Cai.....	30
1.3.4. Đặc điểm tự nhiên huyện Bảo Thắng, Lào Cai.....	31
Chương 2: ĐỐI TƯỢNG - ĐỊA ĐIỂM - NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	32
2.1. Đối tượng và địa điểm nghiên cứu.....	32
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu	32
2.1.2. Địa điểm nghiên cứu	32

2.2. Nội dung nghiên cứu.....	32
2.2.1. Nghiên cứu bệnh khô cành ngọn Keo tai tượng.....	32
2.2.2. Nghiên cứu vi khuẩn nội sinh và khả năng kích kháng nấm gây bệnh.....	33
2.2.3. Nghiên cứu tạo chế phẩm vi khuẩn nội sinh.....	33
2.2.4. Nghiên cứu ứng dụng chế phẩm vi khuẩn nội sinh để kích kháng bệnh khô cành ngọn Keo tai tượng.....	33
2.3. Phương pháp nghiên cứu.....	34
2.3.1. Phương pháp nghiên cứu bệnh khô cành ngọn Keo tai tượng.....	34
2.3.2. Phương pháp nghiên cứu vi khuẩn nội sinh và khả năng đối kháng với nấm gây bệnh.....	42
2.3.3. Phương pháp nghiên cứu sản xuất chế phẩm vi khuẩn nội sinh.....	48
2.3.4. Phương pháp nghiên cứu ứng dụng chế phẩm vi khuẩn nội sinh để kích kháng bệnh khô cành ngọn Keo tai tượng.....	51
Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN.....	54
3.1. Bệnh khô cành ngọn Keo tai tượng.....	54
3.1.1. Xác định nguyên nhân gây bệnh.....	54
3.1.2. Đặc điểm sinh học của nấm gây bệnh.....	62
3.1.3. Điều tra bệnh khô cành ngọn Keo tai tượng.....	66
3.2. Vi khuẩn nội sinh và khả năng đối kháng nấm gây bệnh.....	67
3.2.1. Phân lập vi khuẩn nội sinh và đánh giá khả năng đối kháng nấm gây bệnh.....	67
3.2.2. Đặc điểm, hình thái và định danh vi khuẩn nội sinh có hoạt tính đối kháng cao.....	73
3.2.3. Vi khuẩn nội sinh kích kháng bệnh khô cành ngọn Keo tai tượng.....	77
3.2.4. Một số đặc điểm sinh học khác của vi khuẩn nội sinh có hoạt tính kháng bệnh cao.....	80
3.3. Tạo chế phẩm vi khuẩn nội sinh.....	82
3.3.1. Điều kiện nhân sinh khối.....	82
3.3.2. Tạo chế phẩm và đánh giá chất lượng chế phẩm theo thời gian bảo quản.....	84
3.4. Ứng dụng chế phẩm vi khuẩn nội sinh để kích kháng bệnh khô cành ngọn Keo tai tượng.....	86

<i>3.4.1. Ảnh hưởng của chế phẩm vi khuẩn nội sinh đến sự nảy mầm của hạt</i>	<i>86</i>
<i>3.4.2. Ảnh hưởng của chế phẩm vi khuẩn nội sinh đến kích kháng bệnh khô cành ngọn Keo tai tượng trong giai đoạn vườn ươm</i>	<i>88</i>
<i>3.4.3. Ảnh hưởng của chế phẩm vi khuẩn nội sinh đến kích kháng bệnh khô cành ngọn Keo tai tượng ở giai đoạn cây 1 năm tuổi.....</i>	<i>92</i>
KẾT LUẬN - TỒN TẠI VÀ KIẾN NGHỊ	96
TÀI LIỆU THAM KHẢO	98
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN	110

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT VÀ CÁC KÝ HIỆU

Chữ viết tắt/ký hiệu	Giải nghĩa đầy đủ
ADN	Acid Deoxyribo Nucleic
BNN	Bộ Nông nghiệp và phát triển nông thôn
CFU	Đơn vị khuẩn lạc trong 1 ml mẫu
CHLB	Cộng hòa liên bang
CSIRO	Tổ chức nghiên cứu khoa học và công nghiệp
CT	Công thức
D _{1.3}	Đường kính ngang ngực
ĐC	Đối chứng
Do	Đường kính gốc
D _{TB}	Đường kính trung bình
DNA	Deoxyribonucleic acid
F _{pr}	Xác xuất kiểm tra của F
Hdc	Chiều cao dưới cành
Hvn	Chiều cao vút ngọn
HXVK	Héo xanh vi khuẩn
IAA	Indole-3-acetic acid
KV	Khu vực
LC	Lào Cai
LSD	Khoảng sai dị
M	Trọng lượng
MĐ	Mật độ
NIAST	Viện Khoa học công nghệ nông nghiệp Hàn quốc
NIRA	Viện nghiên cứu Nông nghiệp Pháp
P%	Tỷ lệ bị bệnh
PCR	Polymerase Chain Reaction
PDA	Potato Dextrose Agar

PNG	Papua New Guinea
PT	Phú Thọ
RAPD	Random Amplified Polymorphism DNA
R	Cấp bị bệnh
R %	Mức độ bị bệnh
RNA	Ribonucleic acid
Sd	Sai tiêu chuẩn
TCLN	Tổng cục Lâm nghiệp
TB	Trung bình
TQ	Tuyên Quang
V%	Hệ số biến động %
VK	Vi khuẩn
VKNS	Vi khuẩn nội sinh
VSV	Vi sinh vật
VSVNS	Vi sinh vật nội sinh
-	Không có hiệu lực
+	Hiệu lực kháng yếu
++	Hiệu lực kháng trung bình
+++	Hiệu lực kháng mạnh
++++	Hiệu lực kháng rất mạnh

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng	Tên bảng	Trang
Bảng 1.1:	Tài liệu khí tượng thủy văn của huyện Thanh Sơn, Phú Thọ	28
Bảng 3.1:	Khả năng gây bệnh của các chủng nấm <i>C. gloeosporioides</i> trong phòng thí nghiệm.....	60
Bảng 3.2:	Khả năng gây bệnh của các chủng nấm <i>C. gloeosporioides</i> đối với Keo tai tượng trong giai đoạn vườn ươm	61
Bảng 3.3:	Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sinh trưởng của hệ sợi nấm	62
Bảng 3.4:	Ảnh hưởng của ẩm độ đến sinh trưởng của hệ sợi nấm.....	64
Bảng 3.5:	Ảnh hưởng pH môi trường đến sinh trưởng của nấm bệnh	65
Bảng 3.6:	Tỷ lệ bị bệnh và cấp bị bệnh khô cành ngọn Keo tai tượng tại một số khu vực ở miền Bắc Việt Nam.....	66
Bảng 3.7:	Số lượng các chủng VK nội sinh trong cây Keo tai tượng ở các khu vực nghiên cứu theo cấp bệnh.....	69
Bảng 3.8:	Hiệu lực đối kháng với nấm gây bệnh và mật độ của VK nội sinh	70
Bảng 3.9:	Số lượng các chủng VK nội sinh có hiệu lực kháng nấm gây bệnh từ mức trung bình đến rất mạnh theo cấp bệnh	72
Bảng 3. 10.	Kết quả định danh VK nội sinh có hoạt tính đối kháng nấm gây bệnh cao .	76
Bảng 3.11:	Khả năng kích kháng của vi khuẩn nội sinh với nấm <i>C. gloeosporioides</i>	77
Bảng 3.12:	Thí nghiệm kích kháng với cành, lá non Keo tai tượng	79
Bảng 3.13:	Khả năng phân giải lân của 5 chủng VK nội sinh có hoạt tính cao.....	81
Bảng 3.14:	Ảnh hưởng của môi trường nhân sinh khối đến mật độ tế bào VK nội sinh	82
Bảng 3.15:	Ảnh hưởng của tốc độ lắc đến mật độ tế bào của VK nội sinh	82
Bảng 3.16:	Thời gian nhân sinh khối ảnh hưởng đến mật độ tế bào của vi khuẩn nội sinh	83
Bảng 3.17:	Nhiệt độ nhân sinh khối ảnh hưởng đến mật độ tế bào của vi khuẩn nội sinh	83