

Số 2269/QĐ-BVTV

Hà nội, ngày 30 tháng 12 năm 2011

### QUYẾT ĐỊNH

Công nhận " Quy trình đánh giá tính kháng bệnh gỉ sắt đậu tương *Phankopsora pachyrhizi* Sydow" là tiên bộ kỹ thuật mới

### CỤC TRƯỞNG CỤC BẢO VỆ THỰC VẬT

- Căn cứ Quyết định số 17/2008/QĐ-BNN ngày 28/01/2008 của Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn qui định chức năng, nhiệm vụ quyền hạn và tổ chức bộ máy của Cục Bảo vệ thực vật;

- Căn cứ Quyết định số 86/2008/QĐ-BNN ngày 11/8/2008 của Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn về việc ban hành qui chế công nhận tiên bộ kỹ thuật và công nghệ mới của ngành nông nghiệp và phát triển nông thôn;

- Căn cứ vào biên bản của Hội đồng khoa học công nghệ công nhận tiên bộ kỹ thuật công nghệ mới (QĐ số 382/QĐ-BVTV ngày 15/3/2011) ngày 29/3/2011 về việc đánh giá tiên bộ kỹ thuật, công nghệ mới "Quy trình đánh giá tính kháng bệnh gỉ sắt đậu tương *Phankopsora pachyrhizi* Sydow";

- Theo đề nghị của Ban công nhận tiên bộ khoa học kỹ thuật mới Cục Bảo vệ thực vật.

### QUYẾT ĐỊNH

**Điều 1:** Nay công nhận "Quy trình đánh giá tính kháng bệnh gỉ sắt đậu tương *Phankopsora pachyrhizi* Sydow" là tiên bộ kỹ thuật (TBKT), có bản tóm tắt kèm theo.

**Điều 2:** Viện Bảo vệ thực vật - Viện Khoa học Nông nghiệp; các tác giả Nguyễn Thị Bình, Nguyễn Xuân Hồng, Nguyễn Văn Viết, Nguyễn Thị Thanh Tuyết, Lưu Thị Châm, Vũ Văn Ba, Vũ Thanh Tra; các đơn vị liên quan hướng dẫn, phổ biến TBKT trên áp dụng trong sản xuất.

**Điều 3:** Cục Bảo vệ thực vật, Viện Bảo vệ thực vật - Viện Khoa học Nông nghiệp, Trung tâm Khuyến nông quốc gia, Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, Chi cục Bảo vệ thực vật các tỉnh, thành phố trực thuộc Trung ương và Thủ trưởng các đơn vị có liên quan chịu trách nhiệm thi hành quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như điều 3;4
- VụKHCN&MT-Bộ NN&PTNT(b/cáo)
- Lưu VT-KH.



CỤC TRƯỞNG

Nguyễn Xuân Hồng



## QUY TRÌNH ĐÁNH GIÁ TÍNH KHÁNG BỆNH GI SẮT ĐẬU TƯƠNG (*PHAKOPSORA PACHYHIZI* SYDOW)

### 1. Chuẩn bị vật liệu đậu tương và nguồn bệnh

#### 1.1. Chuẩn bị vật liệu đậu tương :

Đánh giá tính kháng bệnh gỉ sắt của các giống đậu tương có thể tiến hành trên 3 loại vật liệu khác nhau: Lá cắt rời, cây non trồng trong nhà lưới và cây non trồng trong điều kiện đồng ruộng. Mỗi loại vật liệu có phương pháp chuẩn bị khác nhau.

##### Chuẩn bị lá đậu tương cắt rời

- Các giống đậu tương được trồng theo “Quy trình khảo nghiệm giống đậu tương” do ngành NN ban hành và cần trồng trong khu vực cách ly để tránh nhiễm bệnh tự nhiên.

- Giống đối chứng kháng bệnh : Các giống đậu tương: ĐT 2000, DT95, Nhật tiến Hữu Lũng Lạng Sơn, Cao bằng U 8352, GC 84058-18-4

- Giống đối chứng nhiễm bệnh: Giống ĐT 12 là giống chuẩn nhiễm cho nhóm giống ngắn ngày. V 74 là giống chuẩn nhiễm cho giống trung và dài ngày.

Cứ 20 giống thí nghiệm trồng lặp lại 1 đối chứng kháng và 1 đối chứng nhiễm.

- Lấy các lá non, lá bánh tẻ của cây ở giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng (1/4 thân trên) để tiến hành thí nghiệm. Cắt lá đậu tương cần nhiễm có cuống dài 5-10 cm cắm ngay vào ống nghiệm có nước cất để giữ cho lá được tươi. Mỗi giống lấy 15 lá, cho 3 lần nhắc lại.

##### Chuẩn bị vật liệu cây non trồng trong nhà lưới

- Trồng và chăm sóc đậu tương theo “Quy trình khảo nghiệm giống đậu tương”, bổ sung mục lên luống và khoảng cách trồng: luống cần rộng 1m, không kê rãnh, mỗi hàng trồng 4 giống (5 cây/giống) ; khoảng cách 5cm x 5cm x 20 cm, mỗi giống nhắc lại 3 lần.

- Giống đối chứng kháng và giống đối chứng nhiễm bệnh : Tương tự như chuẩn bị NBNT cho lá cắt rời

##### Chuẩn bị vật liệu đậu tương trồng trong điều kiện đồng ruộng

- Trồng và chăm sóc đậu tương theo “Quy trình khảo nghiệm giống đậu tương”. Chỉ bổ sung mục lên luống và khoảng cách trồng: luống cần rộng 1m, không kê rãnh, mỗi giống trồng 1-3 hàng nhắc lại 3 lần tùy thuộc và kích thước thí nghiệm và lượng hạt giống; khoảng cách 5cm x 5cm x 20 cm (vụ đông), 25cm (vụ xuân).

- Giống đối chứng kháng và giống đối chứng nhiễm bệnh : Tương tự như chuẩn bị NBNT cho lá cắt rời

#### 1.2. Chuẩn bị nguồn bệnh :

- Để chủ động nhiễm bệnh nhân tạo vào những thời điểm theo yêu cầu của công tác nghiên cứu, nguồn bệnh gỉ sắt đậu tương cần được lưu giữ quanh năm trên cây đậu tương nhiễm bệnh tại một khu vực có đầy đủ điều kiện cho bệnh phát triển và cách ly với khu thí nghiệm.

- Lá bị nhiễm bệnh nặng, còn nguyên vẹn được thu hái, rửa sạch, để ráo tự nhiên mặt lá còn ẩm, cho vào túi nilon để vào tối trong điều kiện nhiệt độ thích hợp nhất 20-25°C thời gian từ 12h- 24h cho bào tử nảy mầm với những bào tử mới rất đồng đều.



- Tạo dịch vẩn bào tử có mật độ  $5.10^4$  bào tử/ ml (xác định bào tử bằng các thiết bị đếm bào tử thông dụng), dịch vẩn bào tử này được sử dụng cho NBNT đánh giá tính kháng bệnh gỉ sắt cho các giống đậu tương.

- Trước khi NBNT có thể cho thêm các chất bám dính để tăng cường độ bám của bào tử lên bề mặt lá.

## 2.2. Nhiễm bệnh nhân tạo

### Nhiễm bệnh nhân tạo lên lá cắt rời :

- Phun dịch bào tử lên lá cắt rời đã cắm vào ống nghiệm với liều lượng 1 ml/1 dm<sup>2</sup> lá hoặc nhúng lá vào dung dịch bệnh, dùng bông quét cho dịch thấm đều 2 mặt lá.

- Cắt lại cuống lá chỉ để dài 1-1,5 cm, dùng bông thấm nước đã tẩm dung dịch Bendimidazole 2ppm (hoặc các dung dịch nuôi lá khác) bọc lấy cuống lá rồi đặt vào đĩa petri hoặc hộp nhựa đã khử trùng.

Để đảm bảo ẩm độ cao trong 24 h đầu cần lót giấy thấm ẩm hoặc bông thấm nước vào đáy đĩa petri (hộp nhựa).

- Các đĩa petri (hộp nhựa) được đặt trong tối với nhiệt độ 20 – 25°C trong 24 giờ đầu.

- Sau 24 giờ đầu, hàng ngày các đĩa petri (hộp nhựa) được chiếu sáng từ 6 – 8 giờ với cường độ chiếu sáng từ 5.000 – 7.000 lux.

- Hàng ngày phải kiểm tra các hộp nuôi lá để bổ sung đầy đủ dịch nuôi lá, lau khô các giọt nước đọng trên nắp hộp đựng, đảm bảo đầy đủ dịch nuôi và ẩm độ cao.

### Nhiễm bệnh nhân tạo lên cây non trồng trong nhà lưới :

- Tiến hành NBNT lên cây có 1 lá kép đầu tiên phát triển đầy đủ (V2)

- Liều lượng phun dịch bào tử : 100 ml/m<sup>2</sup>

- Tạo điều kiện môi trường thuận lợi cho bệnh phát triển bằng các biện pháp :

+ Tưới nước trước khi nhiễm bệnh và NBNT lúc chiều muộn.

+ Che phủ ny lông từ 12h – 14h đầu sau khi nhiễm bệnh.

+ Sau NBNT cần tưới nước thường xuyên để đảm bảo độ ẩm cao,

- NBNT vào thời gian mà môi trường tự nhiên có nền nhiệt độ từ 10- 25°C, nếu không đảm bảo được nhiệt độ của khu vực thí nghiệm bằng các thiết bị kỹ thuật.

### Nhiễm bệnh nhân tạo lên cây non trồng ngoài đồng ruộng :

- Nhiễm bệnh nhân tạo lên cây đậu tương vào các giai đoạn sinh trưởng V2 – R1

- Phun dịch bào tử với liều lượng 100 ml/ m<sup>2</sup> đối với giai đoạn cây con, hoặc 4 lít/sào đối với cây ở giai đoạn V5 – R1. Cần phun vào tầng lá dưới.

- Tạo điều kiện thuận lợi cho bệnh phát triển bằng các biện pháp như đối với cây non trồng trong nhà lưới.

## 2.3. Đánh giá mức độ nhiễm bệnh của các giống đậu tương.

Mức độ nhiễm bệnh của các giống đậu tương được đánh giá bằng 4 chỉ tiêu sau :

**Thời kỳ ủ bệnh (thời kỳ tiềm dục):** Được tính từ khi cây đậu tương được nhiễm bệnh nhân tạo đến khi trên một cây bất kỳ của giống xuất hiện triệu chứng bệnh tính bằng đơn vị ngày.

### Mức độ nhiễm bệnh của các giống :

Bước 1: Đánh giá mức độ nhiễm bệnh của các giống theo thang điểm sau :

Cấp hại	Mức độ hại (%)	Đánh giá
Cấp 0	0	Miễn dịch
Cấp 1	0,1 -10	Kháng cao

Cấp 2	10,1 -20	Kháng
Cấp 3	20,1 -50	Nhiễm
Cấp 4	50,1-75	Nhiễm vừa
Cấp 5	>75	Nhiễm nặng

Việc đánh giá mức độ nhiễm bệnh của các giống tiến hành lần thứ nhất vào ngày đầu tiên khi một giống bắt kỳ xuất hiện bệnh. Đánh giá từ 3 – 4 lần, mỗi lần cách nhau từ 7 – 10 ngày cho đến khi giống đối chứng nhiễm bệnh đạt cấp bệnh > 75%.

Phương pháp lấy mẫu đánh giá

Mỗi lần nhắc của mỗi giống đánh dấu 5 cây. Khi đánh giá chia cây thành 3 tầng lá, mỗi tầng lá chọn lá bệnh bị bệnh nặng nhất của tầng lá đó để cho điểm.

Bước 2: Các số liệu về mức độ kháng nhiễm bệnh đánh giá theo thang điểm trên được sử dụng để tính chỉ số AUDPC trung bình của các giống (mức độ nhiễm bệnh tích lũy theo thời gian) theo công thức:

Công thức tính chỉ số AUDPC :

$$\text{AUDPC trung bình} = \frac{\sum_{k=1}^n \left\{ \sum_{j=1}^k \left[ \sum_{i=1}^j (0,5 \cdot T_i \cdot |R_{i+1} - R_i|) + R_i \cdot T_i \right] \right\}}{n}$$

Trong đó:

$T_i$  : Khoảng thời gian giữa lần đánh giá thứ  $i$  và  $i + 1$ .

$R_i$  : Chỉ số bệnh của cây (lá) của lần đánh giá thứ  $i$ .

$R_{i+1}$  : Chỉ số bệnh của cây (lá) ở lần đánh giá thứ  $i+1$ .

$j$  : Tổng số lần đánh giá.

$k$  : Tổng số tầng của cây được đánh giá (đối với PP nhiễm bệnh trên lá cắt rời  $k=1$ ).

$n$  : Tổng số cây (lá) thực tế trong một giống đánh giá.

Xử lý số liệu : Hệ thống SAS 9.1 (Statistical Analysis Software) SAS Institute, Cary NY (Chương trình Irristat)

Màu sắc ổ bệnh :

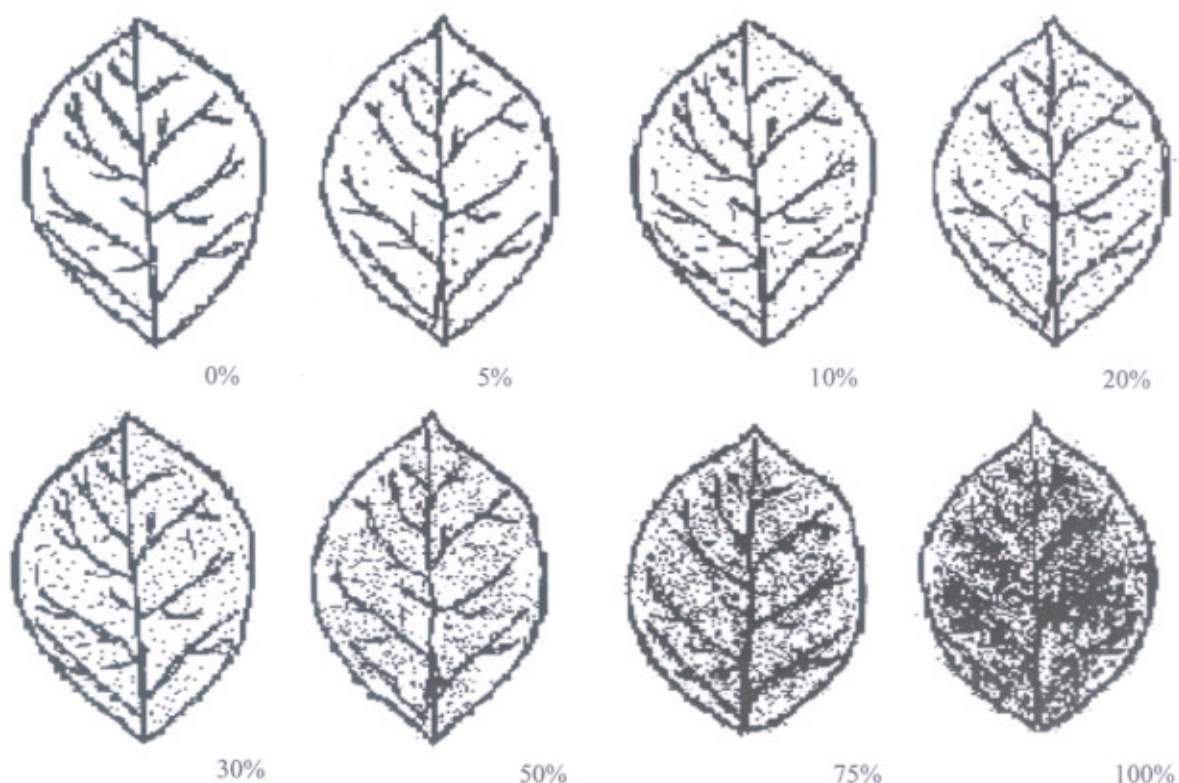
- Ổ bệnh có màu nâu đỏ hoặc nâu đậm : đặc trưng cho giống kháng ký hiệu RB.

- Ổ bệnh có màu nâu vàng : đặc trưng cho giống nhiễm ký hiệu là TAN.

-Trên lá có cả 2 loại vết bệnh RB và TAN gọi là giống có phản ứng trung gian ký hiệu là MIX.

*Ảnh minh họa cho thang điểm đánh giá bệnh gỉ sắt đậu tương*





**Hình 1 : Thang điểm đánh giá bệnh gỉ sắt đậu tương theo % vết bệnh trên lá.**

**Mức độ hình thành bào tử :**

Mức độ hình thành bào tử của các giống được đánh giá theo thang điểm :

Điểm 1 : Không hình thành bào tử

Điểm 2 : 1 – 25% vết bệnh có bào tử trên tổng số vết bệnh trong 1 đơn vị diện tích

Điểm 3 : 25,1 – 50% vết bệnh có bào tử trên tổng số vết bệnh trong 1 đơn vị diện tích

Điểm 4: 51,1 – 75% vết bệnh có bào tử trên tổng số vết bệnh trong 1 đơn vị diện tích

Điểm 5 : 75,1 – 100% vết bệnh có bào tử trên tổng số vết bệnh trong 1 đơn vị diện tích

1 đơn vị diện tích: Là 1 khung sắt mỏng, rộng hình vuông có diện tích 1cm<sup>2</sup>.

- Lấy 5 lá bị bệnh nặng nhất của 5 cây trong 1 lần nhấc (15 lá cho 3 lần nhấc).

-Trải phẳng lá, ấn khung sắt lên mặt lá để đánh dấu diện tích 1 cm<sup>2</sup> sẽ tiến hành đánh giá mức độ hình thành bào tử theo thang điểm trên.

-Vị trí đánh dấu 1 cm<sup>2</sup> phải giống nhau đối với tất cả các lá cần nghiên cứu.

**4.2.4. Xác định các giống đậu tương kháng, nhiễm với bệnh gỉ sắt:**

*Các giống đậu tương kháng bệnh:*

- Có thời kỳ tiềm dục bằng hoặc ít hơn giống chuẩn kháng

- Có vết bệnh kiểu : RB.

- Chi số AUDPC bằng hoặc ít hơn so với giống chuẩn kháng.

- Bào tử hình thành đạt điểm từ 1 – 3.

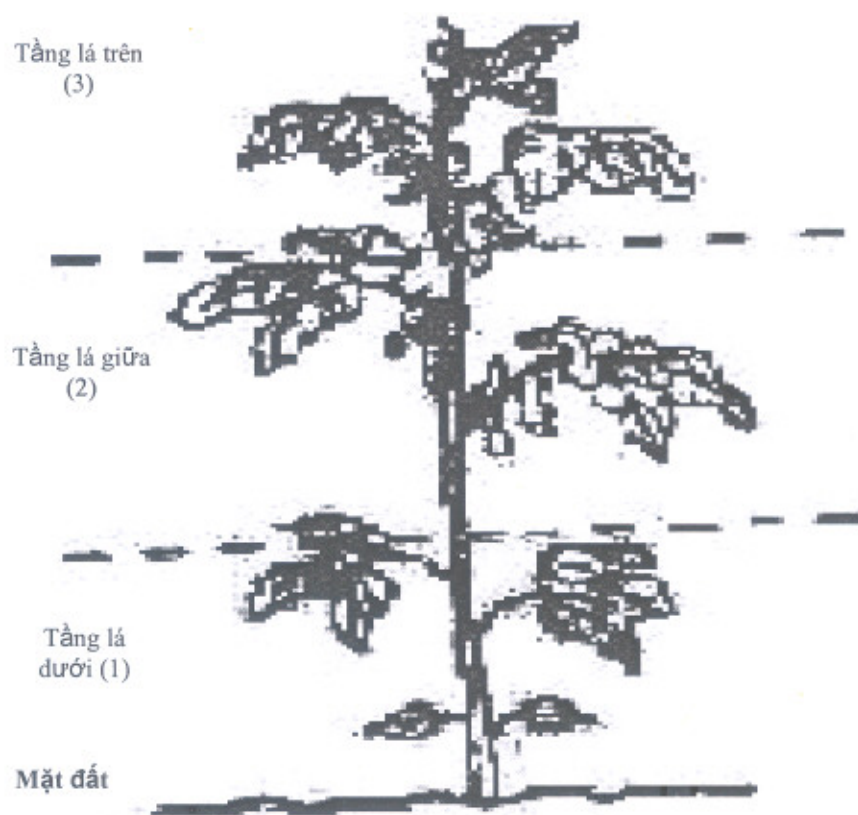
*Giống nhiễm bệnh:*

-Màu sắc ổ bệnh: TAN

-Mức độ nhiễm bệnh: cao hơn giống chuẩn kháng

-Mức độ hình thành bào tử: điểm 4-5

Hình 2. Ảnh minh họa cách chia tầng lá cây đậu tương để đánh giá bệnh gỉ sắt



Vị trí các tầng lá

Tóm tắt quy trình đánh giá tính kháng bệnh gỉ sắt đậu tương  
(*Phakopsora pachyrhizi* Sydow)

