

ĐÁNH GIÁ SINH TRƯỞNG, HẠN CHẾ BỆNH HẠI CỦA BAO HẠT GIỐNG ĐẬU XANH BẰNG NANOCHITOSAN VÀ DỊCH CHIẾT VI KHUẨN ĐỐI KHÁNG *PSEUDOMONAS PUTIDA* TRONG ĐIỀU KIỆN IN VIVO

**Võ Thị Thương Thương¹, Võ Thị Mai Hương¹,
Nguyễn Hiền Trang², Nguyễn Cao Cường², Trần Thị Thu Hà²**
¹Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế;
²Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

Liên hệ email: tranha@huaf.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu ảnh hưởng của bao hạt giống đậu xanh bằng nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn *Pseudomonas putida* (*P. putida*) đến sinh trưởng, hạn chế bệnh hại trong điều kiện in vivo. Các thí nghiệm được bố trí một nhân và kết hợp. Kết quả nghiên cứu cho thấy bao hạt giống đậu xanh bằng hỗn hợp nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn đối kháng *P. putida* làm cho tỷ lệ nảy mầm đạt 100%; tốc độ ra lá trung bình nhanh hơn đối chứng 1,17 lá và làm tăng chiều cao (đạt 25,96 cm sau 20 ngày gieo), cao hơn so với đối chứng 3,18 cm. Khả năng hạn chế bệnh của các cây đậu xanh bao hạt bằng hỗn hợp nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn *P. putida* cao hơn so với bao hạt giống bằng từng yếu tố tác nhân sinh học và đối chứng, hạt giống đậu xanh bao hỗn hợp nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn đối kháng *P. putida* có chỉ số AUDPC bệnh héo rũ gốc mốc đen và bệnh mốc vàng (28,89 và 28,89; 88,89 và 116,67) thấp hơn so với đối chứng (82,22 và 84,45; 216,67 và 216,66). Cần áp dụng kết quả nghiên cứu trên vào thực tiễn sản xuất đậu xanh nhằm mang lại hiệu quả cao cho người sản xuất.

Từ khóa: bao hạt, nanochitosan, *Pseudomonas putida*.

Nhận bài: 13/08/2017 *Hoàn thành phản biện:* 31/08/2017

Chấp nhận bài: 15/09/2017

1. MỞ ĐẦU

Chất lượng hạt giống là yếu tố quan trọng trong quá trình nảy mầm, sinh trưởng của cây. Các loại hạt giống dễ bị nhiều loài nấm gây bệnh tấn công, đặc biệt là các loài nấm có nguồn bệnh trong đất (như *Sclerotium rolfisii*) và truyền qua hạt giống như *Aspergillus* sp. ... trong điều kiện bảo quản không tốt. Để phòng trừ những bệnh này, cho đến nay thì biện pháp hóa học vẫn là phổ biến được sử dụng để xử lý hạt giống. Phương pháp tạo bao hạt giống (seed coating) bằng các tác nhân sinh học được ứng dụng trên thế giới nhưng ở Việt Nam chưa được quan tâm nhiều và áp dụng còn hạn chế.

Phương pháp tạo bao hạt giống là phương pháp sử dụng hoá chất để tạo lớp màng bao phủ hạt giống giúp hạt không bị sâu bệnh hại tấn công trong quá trình bảo quản, làm tăng tỷ lệ nảy mầm, mọc đều ngay cả trong điều kiện bất lợi như thiếu hoặc thừa nước (Ahmed và cs., 2001). Tuy nhiên, biện pháp xử lý bằng hóa chất có một số hạn chế như làm giảm khả năng tự đề kháng bệnh của hạt giống, ảnh hưởng đến chất lượng của nông sản; ngoài ra, biện pháp này còn gây ô nhiễm môi trường và để lại dư lượng trên hạt ngũ cốc (Honglu và Guomei, 2008). Xu thế mới hiện nay là hướng đến sử dụng các hợp chất tự nhiên thân thiện với môi trường hoặc các chủng vi sinh vật đối kháng cũng như dịch chiết của

chúng để tạo bao hạt giống bởi màng bao sinh học mở ra nhiều triển vọng mới như tăng cường tính kích kháng vi sinh vật gây bệnh, tăng cường khả năng chống chịu với điều kiện bất lợi của môi trường. (Zeng và cs., 2012; Chookhongkha và cs., 2013).

Nanochitosan là dẫn xuất của chitosan, có kích thước siêu nhỏ (từ 10 đến 100 nm) nên dễ dàng đi qua màng tế bào, có diện tích và điện tích bề mặt cực lớn nên có thể ức chế các loại vi khuẩn, nấm bệnh (Chookhongkha và cs., 2013). Ngoài ra các nhà khoa học cũng đã tìm ra nhiều chủng vi khuẩn có khả năng kháng nấm như *Bacillus subtilis*, *P. putida*. Trong đó vi khuẩn *P. putida* có khả năng đối kháng với nhiều loại vi sinh vật gây bệnh thực vật (Trần Thị Thu Hà và cs., 2010).

Các nghiên cứu tạo bao hạt giống hiện nay trên thế giới chủ yếu sử dụng các tác nhân sinh học đơn lẻ, nghiên cứu của chúng tôi gồm các thí nghiệm đơn lẻ và kết hợp giữa nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn đối kháng *P. putida* nhằm đánh giá ảnh hưởng của bao hạt giống đậu xanh bằng nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn đối kháng *P. putida* đến sinh trưởng kháng bệnh.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Hạt giống đậu xanh DX208 được mua tại Công ty giống cây trồng Quảng Trị; Dung dịch nanochitosan được điều chế theo phương pháp tạo gel ion (Nguyễn Cao Cường và cs., 2014) và dịch chiết vi khuẩn đối kháng *P. putida* được thu theo phương pháp sắc ký lỏng ngược dòng áp suất cao (RP-HPLC) (Souza và cs., 2003).

Chủng nấm mốc *Aspergillus niger* N3 (*A. niger*) được phân lập từ hạt đậu xanh bị bệnh (Nguyễn Hiền Trang và Hà Anh Đức, 2017). Chủng nấm mốc *Aspergillus flavus* T1 (*A. flavus*) được phân lập từ các mẫu ngô nếp NK66 nhiễm nấm mốc (Nguyễn Thy Đan Huyền và cs., 2017).

Các hạt giống được tạo bao hạt như ở bảng 1, sau bảo quản 5 tháng được sử dụng làm thí nghiệm.

Bảng 1. Các công thức thí nghiệm bao hạt giống đậu xanh

Công thức	Tác nhân sinh học bao hạt giống	Viết tắt
I	Không bao hạt	Đối chứng
II	Nanochitosan 0,18%	Nanochitosan
III	Dịch chiết vi khuẩn <i>P. putida</i> 18%	DC <i>P. putida</i>
IV	Hỗn hợp nanochitosan 0,18% + dịch chiết vi khuẩn <i>P. putida</i> 18%	Nanochitosan + DC <i>P. putida</i>

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 12/2016 đến 4/2017 tại nhà lưới khoa Nông học, trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế. Nghiên cứu được tiến hành trong chậu.

Sử dụng đất phù sa và cát sạch phơi khô và sàng mịn, trộn đều với nhau theo tỉ lệ 3 : 2. Sau đó đóng vào bì nilong và hấp vô trùng (121°C trong 20 phút). Sử dụng chậu nhựa, đường kính chậu 15 cm và chiều cao 8 cm, mỗi chậu có 300 g hỗn hợp đất : cát (3 : 2) để bố trí thí nghiệm.

Thí nghiệm ảnh hưởng của bao hạt giống đậu xanh bằng nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn *P. putida* đến khả năng sinh trưởng.

Gieo các hạt giống được bao hạt vào chậu đã được chuẩn bị, mỗi chậu 15 hạt, mỗi chậu là 1 lần lặp lại và 3 lần lặp lại.

Thí nghiệm ảnh hưởng của bao hạt giống đậu xanh bằng nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn *P. putida* đến khả năng giảm bệnh do nấm gây ra trong điều kiện lây bệnh nhân tạo sử dụng chủng nấm *A. niger* N3 và *A. flavus* T1.

Trộn đều thạch nấm *A. niger* và *A. flavus* vào hỗn hợp đất-cát đã được hấp vô trùng (30 gram thạch nấm/3000 g đất - cát) (trộn hai loại nấm độc lập nhau). Cho hỗn hợp vào các chậu thí nghiệm đã chuẩn bị, gieo các hạt giống đậu xanh ở bảng 1.

Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ nảy mầm (%), chiều cao cây (cm), số lá/cây (lá), tỷ lệ bệnh trước nảy mầm (%), tỷ lệ bệnh sau nảy mầm (%), AUDPC (Đường cong tiến triển bệnh - Area Under Disease Progress Curve) (Campell và Madden, 1990)

Số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm thống kê chuyên dụng Statistix 10.0, phân tích phương sai ANOVA một nhân tố để xác định sự sai khác giữa các giá trị trung bình.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của bao hạt giống đậu xanh bằng nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn *P. putida* đến khả năng nảy mầm và sinh trưởng

Tỷ lệ nảy mầm ở các công thức tăng dần theo thời gian và đạt cực đại vào ngày thứ 6, đặc biệt là công thức nanochitosan + DC *P. putida* và công thức DC *P. putida* có tỷ lệ nảy mầm cao nhất (đạt 100%), tăng 8,89 % so với công thức đối chứng (91,11%). Công thức nanochitosan (đạt 95,55%) có tỷ lệ nảy mầm cao hơn so với công thức đối chứng (Bảng 2 và Hình 1).

Bảng 2. Ảnh hưởng của bao hạt giống đậu xanh bằng nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn *P. putida* đến tỷ lệ nảy mầm

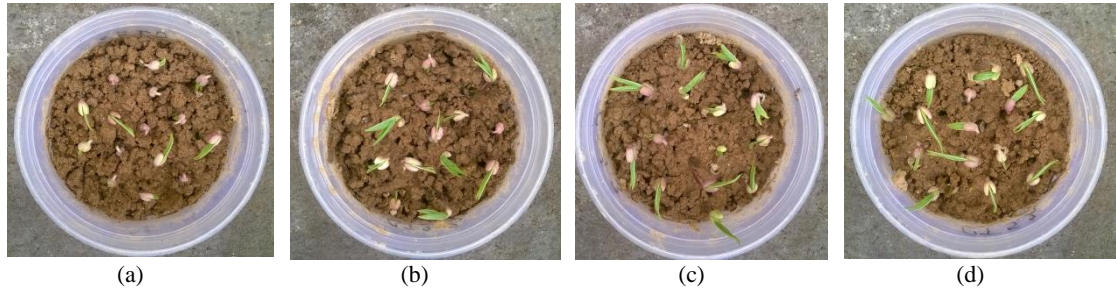
Công thức	Tỷ lệ nảy mầm %			
	3NSG	4NSG	5NSG	6NSG
Đối chứng	73,33 ^a	82,22 ^b	88,88 ^b	91,11 ^b
Nanochitosan	80,00 ^a	86,66 ^{ab}	95,55 ^{ab}	95,55 ^{ab}
DC <i>P. putida</i>	84,44 ^a	91,11 ^{ab}	97,77 ^a	100 ^a
Nanochitosan + DC <i>P. putida</i>	84,44 ^a	95,55 ^a	97,77 ^a	100 ^a

Ghi chú: NSG: ngày sau gieo

Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (LSD test)

Chúng tôi nhận thấy có sự ảnh hưởng của bao hạt nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn *P. putida* lên sự nảy mầm của hạt đậu xanh. Đặc biệt đối với hạt được bao DC *P. putida*; hỗn hợp nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn *P. putida* có tỷ lệ nảy mầm vượt trội hơn hẳn so với hạt không được bao. Kết quả của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của một số tác giả trên thế giới, khi hạt giống bao bằng chitosan có thể làm tăng tốc độ nảy mầm và cải thiện khả năng chống chịu stress của cây lúa lai (Ruan và Xue, 2002); hạt ngâm chitosan làm tăng năng lượng nảy mầm, tỷ lệ nảy mầm, hoạt tính của lipase, acid gibberellic (GA3) và

acid indole acetic (IAA) trong đậu phộng (Zhou và cs., 2002); các Rhizobacteria tăng trưởng thúc đẩy sự nảy mầm, tăng sinh khối và năng suất ở ngô (Kotchoni và Moussa, 2013).



Hình 1. Ti lệ nảy mầm ở các công thức thí nghiệm.

(a: Đối chứng; b: Nanochitosan; c: DC *P. putida*; d: Nanochitosan + DC *P. putida*)

Sau 5 ngày đầu tiên, số lá ở các công thức không có sự khác nhau. Sau 20 ngày theo dõi, số lá biến động từ 3,00 – 4,17 lá; sự sai khác có ý nghĩa đối với công thức nanochitosan + DC *P. putida* (4,17 lá) và công thức đối chứng (3,00 lá); công thức nanochitosan (3,27 lá) và công thức DC *P. putida* (3,20 lá) đều có số lá nhiều hơn so với công thức đối chứng (Bảng 3).

Có thể kết luận rằng cây đậu xanh từ hạt được bao hạt bằng nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn *P. putida* có tốc độ ra lá nhanh hơn so với cây đậu xanh từ hạt không được bao. Đặc biệt đối với hạt được bao hỗn hợp nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn *P. putida*, cây đậu xanh có tốc độ ra lá nhanh nhất.

Bảng 3. Ảnh hưởng của bao hạt giống đậu xanh bằng nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn *P. putida* đến tốc độ ra lá

Công thức	Tốc độ ra lá (lá)			
	5 NSG	10 NSG	15 NSG	20 NSG
Đối chứng	2,00 ^a	2,37 ^a	2,77 ^b	3,00 ^c
Nanochitosan	2,00 ^a	2,70 ^a	3,00 ^{ab}	3,27 ^b
DC <i>P. putida</i>	2,00 ^a	2,73 ^a	3,00 ^{ab}	3,20 ^{bc}
Nanochitosan + DC <i>P. putida</i>	2,00 ^a	2,83 ^a	3,17 ^a	4,17 ^a

Ghi chú: NSG: ngày sau gieo

Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (LSD test)

Sau 5 ngày gieo, có sự chênh lệch về chiều cao cây đậu xanh ở các công thức (8,52 – 9,83 cm). Sau 10 ngày gieo, cây đậu xanh tăng trưởng mạnh về chiều cao; các công thức nanochitosan (17,62 cm), công thức DC *P. putida* (17,73 cm), công thức nanochitosan + DC *P. putida* (18,05 cm) đều có chiều cao vượt trội hơn so với công thức đối chứng (16,47 cm) (Bảng 4). Sau 15 ngày sau gieo, chiều cao cây biến động từ 20,93 – 23,45 cm; trong đó chiều cao cây ở công thức nanochitosan + DC *P. putida* (23,45 cm) vượt trội hơn hẳn so với công thức đối chứng (20,93 cm). Ở lần đo sau 20 ngày, chiều cao cây ở các công thức có sự khác nhau, cao nhất là công thức nanochitosan + DC *P. putida* (25,96 cm), thấp nhất là công thức đối chứng (22,79 cm), các công thức còn lại đều có chiều cao vượt trội hơn công thức đối chứng.

Bảng 4. Ảnh hưởng của bao hạt giống đậu xanh bằng nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn *P. putida* đến chiều cao cây

Công thức	Chiều cao cây (cm)			
	5NSG	10NSG	15NSG	20NSG
Đối chứng	8,5200 ^b	16,4733 ^b	20,9267 ^b	22,7933 ^c
Nanochitosan	9,1867 ^{ab}	17,6200 ^a	22,4170 ^{ab}	24,2000 ^b
DC <i>P. putida</i>	9,6467 ^a	17,7267 ^a	23,0000 ^a	24,8000 ^b
Nanochitosan + DC <i>P. putida</i>	9,8267 ^a	18,0533 ^a	23,7467 ^a	25,9600 ^a

Ghi chú: NSG: ngày sau gieo

Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (LSD test)

Cây đậu xanh từ hạt giống được bao nanochitosan và dịch chiết *P. putida* có khả năng nảy mầm, sinh trưởng, phát triển tốt hơn so với cây đậu xanh từ hạt giống không được bao, đặc biệt là hạt được bao hỗn hợp nanochitosan và dịch chiết *P. putida* cho kết quả nảy mầm, chiều cao, số lá tốt nhất. Kết quả này cũng phù hợp trên một số nghiên cứu khác. Sự kết hợp của chitosan và vi khuẩn thuộc nhóm rhizobacteria (*A. lipoferum*, *P. fluorescens*, và *P. putida*) thúc đẩy sự nảy mầm, tăng trưởng ở cây ngô; sự kết hợp này có hiệu quả hơn so với chitosan và vi khuẩn riêng biệt (Agbodjato và cs., 2016). Hoạt tính peroxidase và acid indole acetic (IAA) tăng đã được phát hiện trên bề mặt rễ của hạt cây đậu (*Phaseolus vulgaris*) được cấy với một vi khuẩn đất, *P. putida* (Albert và Anderson, 1987). Hạt ngâm chitosan làm tăng năng lượng nảy mầm, tỷ lệ nảy mầm, hoạt tính của lipase, acid gibberellic (GA3) và acid indole acetic (IAA) trong đậu phộng (Zho và cs, 2002).

Chính vì vậy sự kết hợp của nanochitosan và vi khuẩn *P. putida* làm tăng tỷ lệ nảy mầm, kích thích sinh trưởng tốt hơn so với sử dụng từng tác nhân đơn lẻ.

3.2. Ảnh hưởng của bao hạt giống đậu xanh bằng nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn *Pseudomonas putida* đến khả năng giảm bệnh do nấm *Aspergillus niger* và *Aspergillus flavus*

Bảng 5. Ảnh hưởng của bao hạt giống đậu xanh bằng nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn *P. putida* đến tỉ lệ bệnh trước nảy mầm

Nấm bệnh lây nhiễm	Công thức	Tỉ lệ bệnh (%)				AUDPC
		3NSG	5NSG	7NSG	9NSG	
<i>A. niger</i>	Đối chứng	20,00	15,56	11,11	8,89	82,22 ^a
	Nanochitosan	13,33	6,67	4,44	4,44	40,00 ^{ab}
	DC <i>P. putida</i>	8,89	4,44	4,44	2,22	33,33 ^b
	Nanochitosan + DC <i>P. putida</i>	8,89	6,67	4,44	2,22	28,89 ^b
<i>A. flavus</i>	Đối chứng	17,78	15,56	13,33	8,89	84,45 ^A
	Nanochitosan	11,11	8,89	6,67	6,67	48,89 ^{AB}
	DC <i>P. putida</i>	8,89	6,67	4,44	2,22	33,33 ^B
	Nanochitosan + DC <i>P. putida</i>	6,67	4,44	4,44	4,4	28,89 ^B

Ghi chú: NSG: ngày sau gieo

Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (LSD test)

Sau 3 ngày gieo thì cây bắt đầu nảy mầm và có dấu hiệu nấm bệnh xuất hiện gây hại ở hạt đậu xanh tại các vị trí gieo hạt, dấu hiệu xuất hiện bệnh giảm dần từ ngày thứ 3 cho đến hết ngày thứ 9. Đường cong biến thiên tỉ lệ bệnh (AUDPC) biểu thị sự tích lũy cường độ bệnh qua các thời kỳ điều tra. Trong các công thức, công thức đối chứng có chỉ số AUDPC cao nhất (82,22 và 84,45) và sai khác có ý nghĩa thống kê với công thức nanochitosan + DC *P. putida* (28,89) (Bảng 5).

Sau 9 ngày kết thúc nảy mầm, bắt đầu xuất hiện triệu chứng bệnh, tỉ lệ bệnh tăng dần qua các ngày, nấm bệnh xuất hiện làm cho cây còi cọc, thối gốc, vàng lá không phát triển. Công thức đối chứng có chỉ số AUDPC cao nhất (216,67 và 216,66), sự sai khác giữa công thức đối chứng và công thức nanochitosan + DC *P. putida* có ý nghĩa thống kê (Bảng 6).

Bảng 6. Ảnh hưởng của bao hạt giống đậu xanh bằng nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn *P. putida* đến tỉ lệ bệnh sau nảy mầm

Nấm bệnh lây nhiễm	Công thức	Tỉ lệ bệnh (%)				AUDPC
		8 NSG	13 NSG	18 NSG	23 NSG	
<i>A. niger</i>	Đối chứng	11,11	13,33	15,56	17,78	216,67 ^a
	Nanochitosan	6,67	6,67	13,33	15,56	155,56 ^{ab}
	DC <i>P. putida</i>	4,44	4,44	8,89	8,89	100,00 ^b
	Nanochitosan + DC <i>P. putida</i>	4,44	4,44	6,67	8,89	88,89 ^b
<i>A. flavus</i>	Đối chứng	11,11	13,33	15,56	17,78	216,66 ^A
	Nanochitosan	8,89	8,89	11,11	11,11	150,00 ^{AB}
	DC <i>P. putida</i>	6,67	6,67	11,11	13,33	138,89 ^B
	Nanochitosan + DC <i>P. putida</i>	4,44	6,67	8,89	11,11	116,67 ^{AB}

Ghi chú: NSG: ngày sau gieo

Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (LSD test)

Từ kết quả trên cho thấy hạt giống đậu xanh được bao hạt bằng hỗn hợp nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn *P. putida* là công thức có khả năng làm giảm bệnh tốt nhất so với bao hạt đơn lẻ. Kết quả này phù hợp với một số nghiên cứu về khả năng kháng bệnh của nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn *P. putida* trên thế giới, Manikandan và cs., (2016) đã chứng minh hạt nanochitosan có khả năng ngăn chặn sự xâm nhiễm bệnh đạo ôn của lúa do nấm *Pyricularia grisea*; Các chất sinh học được sản xuất bởi *P. putida* 267 cần thiết trong việc hình thành màng sinh học và có khả năng diệt khuẩn, kháng nấm (Kruijt và cs, 2009); một số chủng thuộc loài *P. putida* sản xuất enzyme, phytohormone auxin và là chất đối kháng với nấm gây bệnh thực vật (Egamberdiyeva, 2005).

4. KẾT LUẬN

Bao hạt giống đậu xanh bằng hỗn hợp nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn đối kháng *P. putida* làm cho tỷ lệ nảy mầm đạt 100,00% cao hơn so với đối chứng (91,11%), tốc độ ra lá trung bình nhanh hơn đối chứng 1,17 lá và làm tăng chiều cao (đạt 25,96 cm sau 20 ngày gieo) cao hơn so với đối chứng 3,18cm.

Khả năng giảm bệnh hại của các cây đậu xanh bao hạt bằng hỗn hợp nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn *P. putida* cao hơn so với bao hạt giống bằng tác nhân sinh học đơn lẻ và đối chứng, hạt giống đậu xanh bao hỗn hợp nanochitosan và dịch chiết vi khuẩn đối kháng *P. putida* có chỉ số AUDPC (28,89 và 28,89; 88,89 và 116,67) thấp hơn so với đối chứng (82,22 và 84,45; 216,67 và 216,66).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu tiếng Việt

- Nguyễn Cao Cường, Lê Thanh Long, Nguyễn Thị Thủy Tiên, Trần Bích Lam, (2014). Nghiên cứu ứng dụng nanochitosan trong phòng trừ bệnh thán thư hại ớt sau thu hoạch. *Tạp chí khoa học và công nghệ*, 52(5C): 222-228.
- Trần Thị Thu Hà, Đinh Thị Phương, Đào Thị Hằng, Nguyễn Vĩnh Trường, Phạm Lê Hoàng, (2010). Ảnh hưởng của vi khuẩn đối kháng *Pseudomonas* đến bệnh héo rũ gốc mốc đen (*Aspergillus niger* Van Tiegh) trên cây lạc và khả năng tồn tại của chúng. *Tạp chí công nghệ sinh học*, 8(3B): 1299-1304.
- Nguyễn Thy Đan Huyền, Lê Thanh Long, Trần Thị Thu Hà, Nguyễn Cao Cường, Nguyễn Hiền Trang, (2017). Nghiên cứu sử dụng màng bao sinh học từ dịch chiết vi khuẩn *Pseudomonas putida* 199B đến kháng nấm *Aspergillus flavus* T1 trong quá trình bảo quản hạt giống ngô. *Tạp chí khoa học – Đại học Huế*, 126(3C): 97-108.
- Nguyễn Hiền Trang và Hà Anh Đức, (2017). Nghiên cứu khả năng kháng nấm mốc *Aspergillus niger* N3 gây bệnh trên hạt giống đậu xanh bằng dịch chiết vi khuẩn *Pseudomonas putida*. *Tạp chí khoa học và công nghệ nông nghiệp*. Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, 1(1).

2. Tài liệu tiếng nước ngoài

- Agbodjato, A.N., Noumavo, A.P., Adjanohoun, A., Agbessi, L., and Lamine, B.M., (2016). Synergistic Effects of Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Chitosan on In Vitro Seeds Germination, Greenhouse Growth, and Nutrient Uptake of Maize (*Zea mays* L.), *Biotechnol Res Int*, 11p.
- Ahmed, M.M., Hag, F.M., Wahab, F.S., Salih, S.F., (2001). Feeding strategies during dry summer for lactating desert goats in a rainfed area under tropical conditions. *Small Rumin*, 39: 161-166.
- Albert, F. and Anderson, A., (1987). The Effect of *Pseudomonas putida* Colonization on Root Surface Peroxidas. *Plant Physiol*, 85(2): 537-541.
- Campbell, C.L. and Madden, L.V., (1990). *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. John Wiley & Sons, New York, 532 p
- Chookhongkha, N., Sopodilok, T., and Photchanachai, S., (2013). Effect of chitosan and chitosan nanoparticles on fungal growth and chilli seed quality. *International Society for Horticultural Science, Acta Horticulturae*, 973: 231-238.
- Egamberdiyeva, D., (2005). Characterization of *Pseudomonas* Species Isolated from the Rhizosphere of Plants Grown in Serozem Soil, Semi-Arid Region of Uzbekistan. *The Scientific World Journal*, 5: 501- 509.
- Honglu, X., and Guomei, X., (2008). Suspension property of Gemini surfactant in seed coating agent. *J. Disp. Sci. Technol*, 29(4): 496 – 501.
- Kotchoni, O.S., and Moussa, L.B., (2013). Effect of Different Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Maize Seed Germination and Seedling Development. *American Journal of Plant Sciences*, 4 (5).

- Kruijt, M., Ha Tran, and J. M. Raaijmakers (2009). Functional, genetic and chemical characterization of biosurfactants produced by plant growth-promoting *Pseudomonas putida* 26. *Journal of Applied Microbiology*, 107(2): 546 - 556.
- Manikandan, A., and Sathiyabama, M., (2016). Preparation of Chitosan nanoparticles and its effect on detached rice leaves infected with *Pyricularia grisea*. *Int J Biol Macromol*, 84: 58-61.
- Ruan, S.L., and Xue, Q.Z., (2002). Effects of chitosan coating on seed germination and salt-tolerance of seedlings in hybrid rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Agron Sinica*, 28: 803–808.
- Souza de J. T., De Boer M., De Waard P., Van Beek T.A., and Raaijmakers, J.M., (2003). Biochemical, genetic and zoosporicidal properties of cyclic lipopeptide surfactants produced by *Pseudomonas fluorescens*. *Applied and Environmental Microbiology*.
- Zeng, D., Luo, X., and Tu, R., (2012). Application of bioactive coatings based on chitosan for soybean seed protection. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, 104565.
- Zhou, Y.G., Yang, Y.D., Qi, Y.G., Zhang, Z.M., Wang, X.J., and Hu, X.J., (2002). Effects of chitosan on some physiological activity in germinating seed of peanut. *J Peanut Sci*, 31: 22–25.

EVALUATION OF GROWTH AND DISEASE SUPPRESSION OF THE GREEN BEANS SEED COATING WITH CHITOSAN NANOPARTICLES AND THE EXTRACT OF ANTAGONISTIC BACTERIA AT IN VIVO CONDITION

Vo Thi Thuong Thuong¹, Vo Thi Mai Huong¹,
Nguyen Hien Trang², Nguyen Cao Cuong², Tran Thi Thu Ha²

¹University of Sciences, Hue University;

²University of Agriculture and Forestry, Hue University

Contact email: tranha@huaf.edu.vn

ABSTRACT

The study investigated the effect of the green beans seed coat with chitosan nanoparticles and the extract of antagonistic bacteria *Pseudomonas putida* on growth and disease suppression in vivo. The experiments were conducted with single and combination of biological agents (chitosan nanoparticles and the extract of *P. putida*). Results of the study show that green beans seed coating with chitosan nanoparticles and *P. putida* extract give 100% germination rate compared to 91.11% (Control); Average leaf speed is faster than 0.11 leaves and increases height (25.96 cm after 20 days sowing) which is higher than the control at 3.18 cm; Disease suppression of green beans seed coats with chitosan nanoparticles and *P. putida* extracts is higher than that of the control, green beans seeds coats with chitosan nanoparticles and *P. putida* extract had the AUDPC (28.89 và 28.89, 88.89 and 116.67) lower than the control (82.22 and 84.45, 216.67 and 216.66). More coordinated formulas and field production practices should be investigated to further assess the growth and disease resistance of green bean seed coat.

Key words: Chitosan nanoparticles, extract of *Pseudomonas putida*, growth, seed coating

Received: 13th August 2017

Reviewed: 31st August 2017

Accepted: 15th September 2017