

under field condition. Based on the evaluation in the nethouse and on field, 5 promising rice lines (L102-5, L118-5, L12-6, L33-6 and L55-2) with good morphological traits, high yield and resistance to blast disease were selected. It is necessary to continue testing the selected rice lines and registering for production.

Keywords: Rice, promising rice lines, resistant ability, blast disease

Ngày nhận bài: 20/7/2021
Ngày phản biện: 17/8/2021

Người phản biện: TS. Hà Minh Thanh
Ngày duyệt đăng: 30/8/2021

NẤM *Phytophthora* GÂY BỆNH TRÊN CÂY CAM TẠI MỘT SỐ VÙNG TRỒNG CHÍNH CỦA VIỆT NAM

Phạm Hồng Hiến¹, Nguyễn Thị Chúc Quỳnh²,
Phùng Quang Tùng², Bạch Thị Điệp², Nguyễn Xuân Cảnh³

TÓM TẮT

Bệnh vàng lá, thối rễ và chảy gôm trên cây cam đang gây hại rất nghiêm trọng và phổ biến tại các vùng trồng cam của Việt Nam. Kết quả điều tra, thu thập, phân tích 422 mẫu tại Hòa Bình, Tiền Giang đã xác định được nấm *Phytophthora citrophthora*, là tác nhân chính gây bệnh. Nấm *Phytophthora* spp. có mật độ thấp và ít gây hại trong mùa khô, chúng phát sinh gây hại ở đầu mùa mưa và hại nặng trong mùa mưa. Sau 3 ngày lây nhiễm nhân tạo nấm *Phytophthora citrophthora*, lá bị tái, chuyển màu nâu; sau 5 ngày, bắt đầu có hệ sợi trắng phát triển trên bề mặt lá bị nhiễm. Lây nhiễm nấm *Phytophthora citrophthora* trên cây cam V2, cam lòng vàng, cam sành Hà Giang, cam sành Tiền Giang cho thấy sau 17 ngày cam lòng vàng, cam V2, cam sành Hà Giang có hiện tượng héo; sau 30 ngày héo toàn bộ cây. Phân tích trên lá cây sau lây nhiễm đã ghi nhận sự có mặt của nấm *P. citrophthora* trên lá cây cam lòng vàng bị héo sau 18 ngày lây nhiễm.

Từ khóa: Cây cam, *Phytophthora citrophthora*, *Phytophthora palmivora* bệnh vàng lá, thối rễ, chảy gôm

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây cam là cây trồng quan trọng, chủ lực của Việt Nam, với diện tích khoảng gần 100 nghìn ha, sản lượng khoảng 1,1 triệu tấn tính đến năm 2020, cam là cây thích ứng rộng hiện đang được trồng ở nhiều tỉnh thành của cả nước, trải dài từ Bắc tới Nam (Tổng cục Thống kê, 2020). Những năm gần đây, bệnh vàng lá, thối rễ, chảy gôm gây hại khá phổ biến trên cây cam (Dang Vu Thi Thanh *et al.*, 2004). Các vườn cam bị bệnh vàng lá thối rễ ảnh hưởng nặng nề đến năng suất, chất lượng cam, cây suy thoái nhanh, phổ biến như cam Cao Phong - Hòa Bình, cam sành - Hà Giang, Tiền Giang, Hậu Giang, Sóc Trăng (Dang Vu Thi Thanh *et al.*, 2004).

Nguyên nhân chính gây bệnh vàng lá, thối rễ là do tập đoàn nấm bệnh trong đất: *Phytophthora* spp., *Fusarium* spp., *Pythium* spp. gây ra, trong đó,

nấm *Phytophthora* là đối tượng gây hại rất nguy hiểm và là tác nhân chính gây bệnh chảy gôm. Nấm *Phytophthora* gây hại trên rễ, thân, lá, quả, làm giảm năng suất 20 - 25%, chất lượng quả cũng như gây suy thoái dẫn đến chết cây (Dang Vu Thi Thanh *et al.*, 2004). Trong những năm gần đây, hiện tượng cây bị rụng quả, bệnh vàng lá, thối rễ và chảy gôm diễn ra rất phổ biến tại các vùng trồng cam trên cả nước. Tại Hòa Bình và Tiền Giang dịch bệnh gây hại nặng làm cho người dân phải mất rất nhiều chi phí cho việc phòng chống, thậm chí một số vườn phải hủy bỏ để trồng cây trồng khác mặc dù cây cam mới trồng được 3 - 4 năm. Vì vậy, việc nghiên cứu sự gây hại của nấm *Phytophthora* trên cây cam tại một số tỉnh trọng điểm, làm cơ sở phòng chống một cách hiệu quả, bền vững là rất cần thiết cho sản xuất cam trong giai đoạn hiện nay.

¹ Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

² Viện Bảo vệ thực vật

³ Học viện Nông nghiệp Việt Nam

* Tác giả chính: E-mail: hienphamhong@gmail.com

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cây cam (cam V2, cam lòng vàng, cam sành Hà Giang, cam sành Tiên Giang), nấm *Phytophthora* spp. Môi trường phân lập, nuôi cấy nấm bệnh: PSM, PDA.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp điều tra thu thập mẫu

- Điều tra bệnh vàng lá thối rễ, chảy gôm, trên các cây có triệu chứng điển hình ở các giai đoạn sinh trưởng, phát triển theo phương pháp của Đặng Vũ Thị Thanh và Hà Minh Trung (1997). Mỗi vùng điều tra 3 tiểu vùng sinh thái đại diện cho giai đoạn sinh trưởng, địa hình, tính chất đất.

- Mẫu đất và rễ được lấy ở 3 điểm của từng cây theo hình tam giác đều mà gốc cây làm trung tâm, sau đó trộn đều thành 01 mẫu (01 mẫu/cây). Mẫu đất, rễ lấy tại nơi có rễ tơ phát triển và theo chiều sâu của rễ, cách mặt đất từ 10 - 20 cm. Mỗi vườn lấy 5 mẫu theo đường chéo góc. Mẫu thu thập được ghi rõ các thông tin, gồm: ngày, địa điểm, tên chủ ruộng, giống, tuổi cây, bộ phận bị hại, điều kiện đất đai.

2.2.2. Phương pháp phân lập

- Đánh giá sự có mặt và gây hại của nấm *Phytophthora* trong đất dựa trên phương pháp của Erwin và Riberrio (1996), André và Sendall (2001). Mẫu đất được cho vào 1/3 thể tích cốc, thêm nước cất vô trùng vào tới khi đạt ¾ cốc. Khuấy nhẹ đất trong cốc bằng đũa thủy tinh, để đất lắng xuống (qua đêm); cắt cánh hoa có màu sắc 0,5 × 0,5 cm (1 mỗi bẫy) thả vào cốc nước trên. Mỗi cốc thả 50 mỗi. Để cốc bẫy bào tử ở nhiệt độ 20 - 25°C và theo dõi sau 1 đến 2 ngày. Khi thấy cánh hoa bị mất màu đem lên soi trên kính hiển vi quang học, quan sát thấy bào tử nấm *Phytophthora*. Đếm số mỗi bẫy mất màu.

- Phân lập: Chuyển cánh hoa bẫy mất màu sang môi trường PDA, PSM. Quan sát các đặc điểm hình thái sợi nấm, hình dạng túi bào tử, nhú gai và kích thước túi bào tử điển hình của nấm *Phytophthora* spp. để phân lập và làm thuần *Phytophthora* spp.

2.2.3. Định danh mẫu nấm gây bệnh

- Mẫu nấm gây bệnh phân lập được nuôi cấy trên môi trường PDA, sau 7 ngày nuôi cấy, DNA

của mẫu nấm gây bệnh được tách theo phương pháp của Doyle & Doyle (1987), hoà tan DNA trong 50 µL đệm TE và bảo quản ở -20°C. Phản ứng PCR được thực hiện với cặp mồi ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') và ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') theo chu trình: 95°C - 5 phút, 29 chu kỳ (95°C - 30 giây, 56°C - 30 giây, 72°C - 1 phút), 72°C trong 10 phút, giữ mẫu ở 4°C. Mẫu nấm được giải trình tự theo phương pháp Sanger, sau đó so sánh trình tự thu được với trình tự trên ngân hàng gene NCBI để xác định loài của mẫu nấm khảo sát. Từ trình tự gen vùng ITS của các mẫu nấm, sử dụng phần mềm MEGA X để xây dựng cây xác định mối quan hệ di truyền, với độ tin cậy được tính bằng thuật toán Bootstrap với 1.000 lần lặp lại. Dựa vào cây phân loại và giá trị Bootstrap để xác định mối quan hệ di truyền của các mẫu nấm nghiên cứu.

2.2.4. Phương pháp lây bệnh nhân tạo

- Lây nhiễm nấm bệnh trên lá: Nấm bệnh *Phytophthora* sau khi làm thuần được cấy trên môi trường thạch PSM 7 ngày, sau đó lấy thoi thạch có đường kính 5 mm chứa nấm bệnh đặt trên mẫu lá khỏe không bị bệnh (lá được rửa sạch và cuộn bông giữ ẩm ở cuống). Quan sát lá lây nhiễm sau 1,3,5 ngày.

- Lây nhiễm nấm bệnh trên cây con:

Bước 1: Trồng cây con 6 tháng tuổi sạch bệnh; Bước 2: Nhân sinh khối nấm bệnh *Phytophthora*; Bước 3: Hòa nấm *Phytophthora* dạng dịch và tưới gốc; Bước 4: Quan sát, triệu chứng bệnh hàng ngày sau lây nhiễm; Bước 5: Kiểm tra sự có mặt của nấm bệnh trên lá (thân) cây bệnh sau lây nhiễm.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ năm 2018 đến năm 2020 tại một số vùng trồng cam ở Hòa Bình và Tiên Giang.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thống kê số mẫu điều tra, thu thập và phân tích bệnh vàng lá thối rễ, chảy gôm trên cây cam.

Trong hai năm 2018 - 2019, 422 mẫu đã được thu thập để phân tích, đánh giá bệnh vàng lá thối rễ, chảy gôm trên cam. Trong đó, 327 mẫu trên cam Hòa Bình, 95 mẫu trên cam Tiên Giang. Mỗi mẫu thu thập đều được phân lập và đánh giá nấm *Phytophthora* spp. xuất hiện trong đất và rễ (Bảng 1).

Bảng 1. Thống kê mẫu điều tra, thu thập tại các vùng trồng cam tại Hòa Bình và Tiền Giang năm 2018-2019

Thời gian	Số mẫu điều tra thu thập và phân tích trên cây cam tại các tỉnh (mẫu)	
	Hòa Bình	Tiền Giang
Tháng 11/2018	48	-
Tháng 01/2019	-	20
Tháng 02/ 2019	115	-
Tháng 3/2019	-	30
Tháng 4/2019	81	-
Tháng 5-6/2019	-	23
Tháng 8/2019	83	-
Tháng 9/2019	-	22
Tổng	327	95

3.2. Kết quả nghiên cứu xác định tác nhân chính gây bệnh vàng lá thối rễ, chảy gôm trên cây cam

Kết quả điều tra tỷ lệ nấm trong rễ và đất trồng cam ở Hòa Bình cho thấy ở thời điểm tháng 11/2018, tỷ lệ cánh hoa hồng nhiễm nấm *Phytophthora* spp. trong đất cam ở mức trung bình là 10,06%; mức độ nặng đến rất nặng chỉ có 3,33% đến 1,11%. Tỷ lệ

này trong rễ cam cao hơn 16,67% mẫu nhiễm nấm ở mức trung bình; mức nặng 10,71% và rất nặng là 6,11%. Đến tháng 02/2019, tỷ lệ cánh hoa hồng nhiễm nấm *Phytophthora* spp. trong đất trồng cam biến động từ mức trung bình là 17,41%; ở mức nặng đến rất nặng là 13,20% và 11,46%. Phân tích trong rễ thời điểm tháng 02/2019 cho thấy tỷ lệ cánh hoa hồng nhiễm nấm *Phytophthora* spp. ở mức trung bình là 21,51%; mức nặng 3,93% và 0% ở mức rất nặng. Tháng 4/2019, tỷ lệ cánh hoa hồng nhiễm nấm *Phytophthora* spp. trong đất ở mức trung bình là 13,75%, ở mức nặng đến rất nặng là 6,25% và 8,54%. Thời điểm tháng 4/2019 trong rễ chỉ 2,50% mẫu có tỷ lệ cánh hoa mất màu do nấm *Phytophthora* spp. ở mức nặng. Thời điểm 4/2019, nấm *Phytophthora* spp. đã gây hại nhưng ở mức độ thấp. Tháng 8/2019, tỷ lệ cánh hoa hồng nhiễm nấm *Phytophthora* spp. trong đất trồng cam ở mức trung bình là 19,68%, ở mức nặng đến rất nặng là 16,27% và 37,76%. Trong rễ cam tỷ lệ này cũng cao nhất trong các thời điểm điều tra với mức trung bình chiếm 18,50%; mức nặng 13,50% và rất nặng là 12,50%. Như vậy, thời điểm 8/2019, nấm *Phytophthora* spp. gây hại nặng nhất trong năm (Bảng 2).

Bảng 2 Mức độ nhiễm nấm *Phytophthora* spp. trong đất và rễ cam tại Hòa Bình (năm 2018 - 2019)

Thời gian	Tỷ lệ (%) cánh hoa hồng nhiễm nấm <i>Phytophthora</i> spp. trong đất					Tỷ lệ (%) cánh hoa hồng nhiễm nấm <i>Phytophthora</i> spp. trong rễ				
	0%	≤ 25%	>25% - ≤ 50%	>50% - ≤ 75%	≥ 75%	0%	≤ 25%	>25% - ≤ 50%	> 50% - ≤ 75%	> 75%
Tháng 11/2018	31,02	53,94	10,60	3,33	1,11	29,92	36,59	16,67	10,71	6,11
Tháng 02/2019	22,30	35,63	17,41	13,20	11,46	22,09	52,47	21,51	3,93	0
Tháng 4/2019	50,63	20,83	13,75	6,25	8,54	96,25	1,25	0	2,50	0
Tháng 8/2019	24,47	1,82	19,68	16,27	37,76	50,50	5,00	18,50	13,50	12,50

Ghi chú: Trung bình tỷ lệ (%) cánh hoa hồng nhiễm nấm *Phytophthora* spp. (0%: không nhiễm bệnh; ≤ 25%: bệnh nhẹ; > 25% - ≤ 50%: bệnh trung bình; > 50% - ≤ 75%: bệnh nặng; > 75%: bệnh rất nặng.

Kết quả điều tra tại Tiền Giang cho thấy, ở thời điểm tháng 01/2019, trung bình 33,33% cánh hoa hồng nhiễm nấm *Phytophthora* spp. trong đất ở mức bệnh nhẹ. Đến tháng 3/2019, có 8% tổng số mẫu nhiễm nấm *Phytophthora* spp. trong đất ở mức gây hại trung bình, 4% tổng số mẫu nhiễm nấm *Phytophthora* spp. trong đất ở mức nặng, chưa ghi nhận nấm *Phytophthora* spp. xuất hiện trong rễ cam. Tháng 6/2019, có 3,57% tổng số mẫu nhiễm nấm *Phytophthora* spp. trong đất ở mức nặng, 38,10% mẫu nhiễm nấm *Phytophthora* spp. trong đất ở mức rất nặng, có 4,76% tổng số mẫu nhiễm

nấm *Phytophthora* spp. trong rễ ở mức rất nặng (> 75%). Đến tháng 9/2019, có 20,83% tổng số mẫu nhiễm nấm *Phytophthora* spp. trong đất ở mức nặng và 8,33% mẫu nhiễm nấm *Phytophthora* spp. trong đất ở mức rất nặng, chưa ghi nhận mẫu nhiễm nấm *Phytophthora* spp. trong rễ ở mức nặng đến rất nặng (Bảng 3). Từ các kết quả nghiên cứu cho thấy, nấm *Phytophthora* spp. bắt đầu phát triển và gây hại ở đầu mùa mưa tại tất cả các vùng nghiên cứu, mật độ bào tử nấm xuất hiện và gây hại mạnh ở giữa mùa mưa đến cuối mùa mưa.

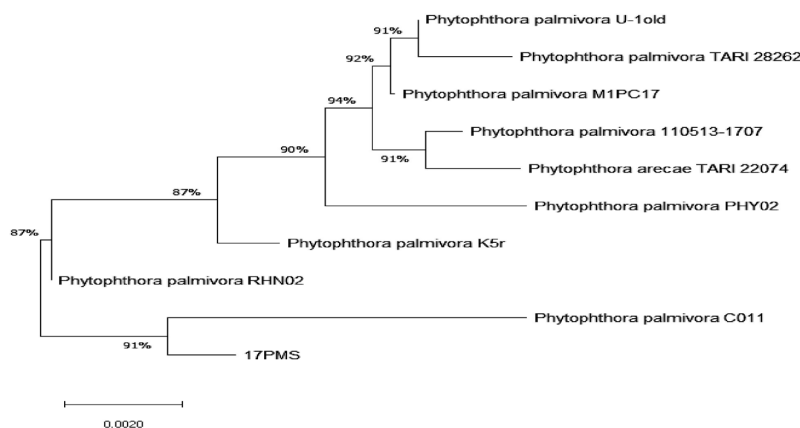
Bảng 3. Mức độ nhiễm nấm *Phytophthora* spp. trong đất và rễ cam tại Tiền Giang năm 2019

Thời gian điều tra	Tỷ lệ (%) cánh hoa hồng nhiễm nấm <i>Phytophthora</i> spp. trong đất					Tỷ lệ (%) cánh hoa hồng nhiễm nấm <i>Phytophthora</i> spp. trong rễ				
	0%	≤ 25%	> 25% - ≤ 50%	> 50% - ≤ 75%	≥ 75%	0%	≤ 25%	> 25% - ≤ 50%	> 50% - ≤ 75%	> 75%
Tháng 01/2019	61,67	33,33	5,00	0	0	64,17	30,83	5,00	0	0
Tháng 3/2019	78,28	9,71	8,00	4,00	0	100	0	0	0	0
Tháng 6/2019	46,43	0,00	11,90	3,57	38,10	85,72	0,00	9,52	0,00	4,76
Tháng 9/2019	54,17	8,33	8,33	20,83	8,33	85,00	0,00	15,00	0,00	0,00

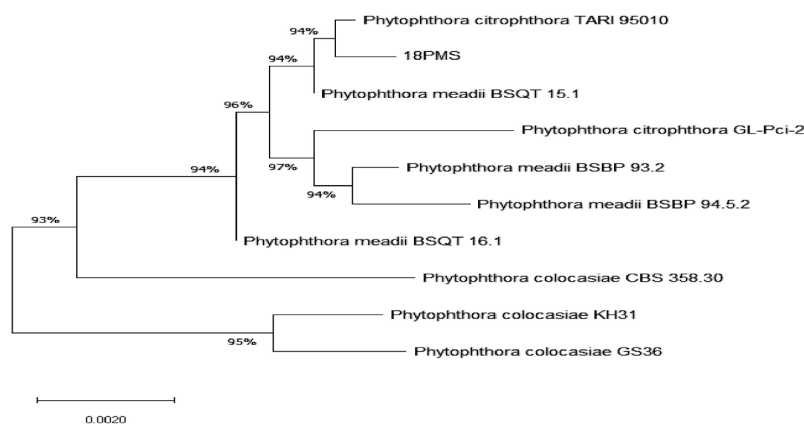
3.3. Định danh mẫu nấm gây bệnh phân lập

Kết quả giải trình tự vùng gen ITS của hai mẫu nấm (17PMS và 18PMS) phân lập từ đất, rễ trồng cam lòng vàng tại Hoà Bình, được so sánh với dữ liệu có trên ngân hàng gene NCBI bằng công cụ BLAST. Kết quả thể hiện trên cây phân loại cho thấy isolate 17PMS nằm cùng nhánh với isolate *Phytophthora*

palmivora C001 với giá trị Bootstrap 91%, kết quả căn trình tự nucleotide sử dụng công cụ BLAST cho thấy mẫu 17PMS và *Phytophthora palmivora* có độ tương đồng là 100% (Hình 1). Isolate 18PMS nằm cùng nhánh với isolate *Phytophthora citrophthora* TARI 95010 với giá trị Bootstrap 94%, mức độ tương đồng của isolate 18PMS với *Phytophthora citrophthora* 98,41% (Hình 2).



Hình 1. Cây phân loại nấm *Phytophthora palmivora* dựa trên kết quả phân tích trình tự ITS của isolate 17PMS (Học viện Nông nghiệp Việt Nam, 2019)



Hình 2. Cây phân loại nấm *Phytophthora citrophthora* dựa trên kết quả phân tích trình tự ITS của isolate 18PMS (Học viện Nông nghiệp Việt Nam, 2019)

Kết quả phân lập và định danh các isolate nấm gây bệnh cho thấy, trên giống cam lòng vàng và giống cam V2 tại Hòa Bình thu được isolate 18PMS và đã xác định được loài nấm *P. citrophthora* xuất hiện rất phổ biến trong đất, rễ ở mức độ (+++).

Trên giống cam lòng vàng tại Hòa Bình đã thu được isolate 17PMS và xác định là loài nấm *P. palmivora* ở mức độ phổ biến (++). Trên cam sành, cam xoàn tại Tiền Giang đã xác định nấm *Phytophthora* sp. trong đất ở mức độ phổ biến (++) (Bảng 4).

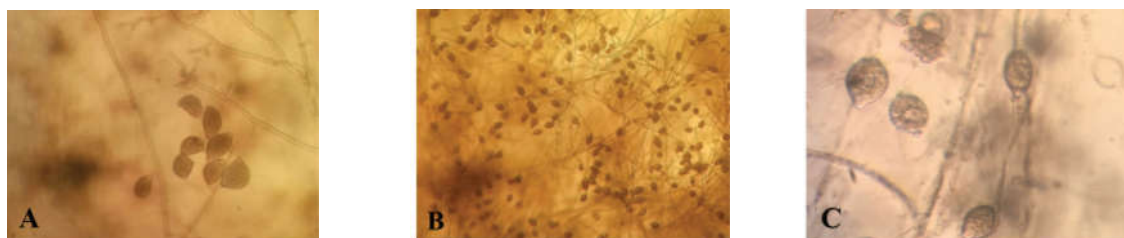
Bảng 4. Thành phần nấm *Phytophthora* gây bệnh phân lập được trên một số giống cam tại Hòa Bình và Tiền Giang (2019 - 2020)

TT	Tên khoa học	Tên giống cam	Vị trí phân lập	Tần suất	Địa điểm
1	<i>Phytophthora citrophthora</i>	Cam lòng vàng, cam V2	Đất, rễ	+++	Hòa Bình
2	<i>Phytophthora palmivora</i>	Cam lòng vàng	Đất	++	Hòa Bình
3	<i>Phytophthora</i> sp.	Cam sành, cam xoàn	Đất	++	Tiền Giang

Ghi chú: +++ Tần suất bắt gặp > 60%; ++ Tần suất bắt gặp 30 - 60%; + Tần suất bắt gặp < 30%.

Quan sát dưới kính hiển vi, sợi nấm *P. citrophthora* không màu, không vách ngăn, kích thước không đều. Túi bào tử có hình trứng và hình

quả chanh, có một nhú gai hoặc tạo hai chóp nhú không màu, trong suốt. Bào tử có hình cầu hoặc hình thận, di chuyển nhanh trong nước (Hình 3).



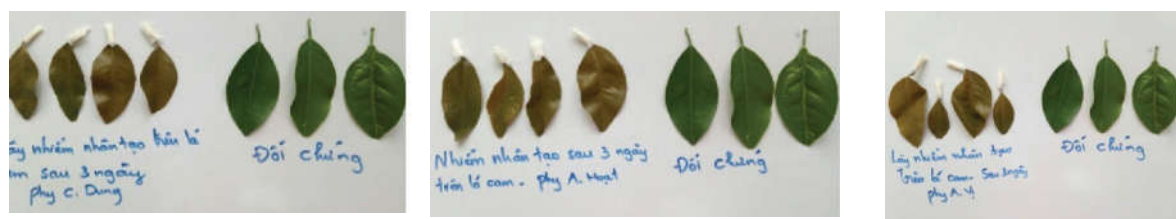
Hình 3. Túi du động bào tử nấm *Phytophthora* phân lập trong đất, rễ gây bệnh vàng lá, thối rễ, chầy gôm trên cây cam năm 2019- 2020

Ghi chú: A-Túi du động bào tử nấm *P. citrophthora* gây hại cam V2 tại Hòa Bình; B-Túi du động bào tử nấm *P. palmivora* gây hại cam lòng vàng tại Hòa Bình; C-Túi du động bào tử nấm *Phytophthora* sp. gây hại trên cam sành, cam xoàn tại Tiền Giang.

Sợi nấm *P. palmivora* có kích thước không đều, túi bào tử hình quả chanh, nhú gai rõ ràng, bào tử hình cầu hoặc hình thận di chuyển nhanh trong nước. Ở điều kiện bất thuận có thể sinh hậu bào tử hình tròn, vách dày.

3.4. Lây nhiễm nhân tạo nấm bệnh *Phytophthora* gây hại trên cam

3.4.1. Lây nhiễm các nguồn nấm bệnh *Phytophthora* trên lá cam



P. palmivora
(Cam lòng vàng Hòa Bình)

P. citrophthora
(Cam lòng vàng Hòa Bình)

P. palmivora
(Bưởi chua Hòa Bình)

Hình 4. Ảnh chụp lá cam sau 3 ngày lây nhiễm các mẫu nấm *Phytophthora* spp. (Viện BVTV năm 2019)

Các isolate nấm bệnh *P.palmivora* - Cam lòng vàng, *P. citrophthora* - cam lòng vàng, *P.palmivora*

- bưởi chua đã được tiến hành lây nhiễm nhân tạo. Sau 3 ngày lây nhiễm, các sợi nấm phát triển trên

mặt lá và làm lá đổi màu. Sau 5 ngày lây nhiễm, bắt đầu có hệ sợi trắng phát triển trên bề mặt lá bị nhiễm. Đối chứng lá không bị mất màu (Hình 4).

3.4.2. Lây nhiễm nấm *Phytophthora citrophthora* trên cây cam 6 tháng tuổi

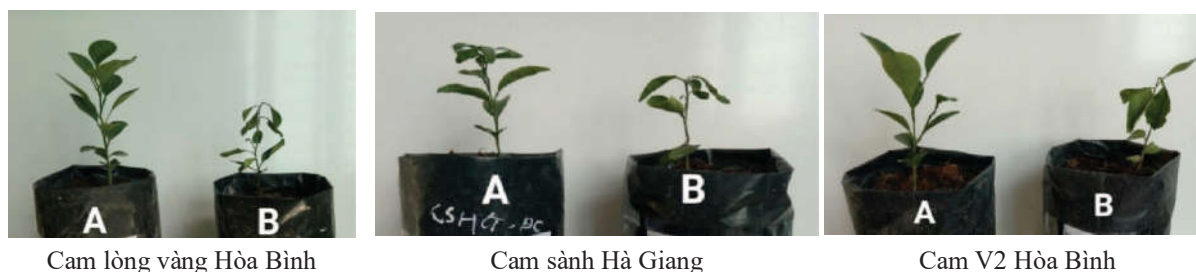
Kết quả lây nhiễm cho thấy giống cam lòng vàng có hiện tượng héo sau 17 ngày, giống cam V2 sau 22 ngày và cam sành Hà Giang sau 23 ngày có hiện tượng héo (héo 3 lá từ dưới gốc lên). Sau 30 ngày các cây nhiễm nấm bị chết héo, tuy nhiên cây cam sành Tiền Giang vẫn phát triển bình thường (Bảng 5).

Khi cây trong các thí nghiệm có triệu chứng héo, cây cam lòng vàng có biểu hiện triệu chứng rõ và sớm nhất trong các giống thí nghiệm. Kết quả phân lập lại tác nhân gây bệnh trên môi trường PSM cho thấy xuất hiện tản nấm và túi du động bào tử đặc trưng của nấm *Phytophthora citrophthora*, giống với nấm lây nhiễm ban đầu. Từ kết quả trên cho thấy, sau khi xâm nhập vào cây, nấm *P. citrophthora* có thể xuất hiện và gây hại sớm hơn trên các bộ phận của cây (Hình 5 và Hình 6).

Bảng 5. Biểu hiện của cây các ngày sau lây nhiễm nấm bệnh *P. citrophthora* trên một số giống cam (Viện Bảo vệ thực vật, tháng 10/2019)

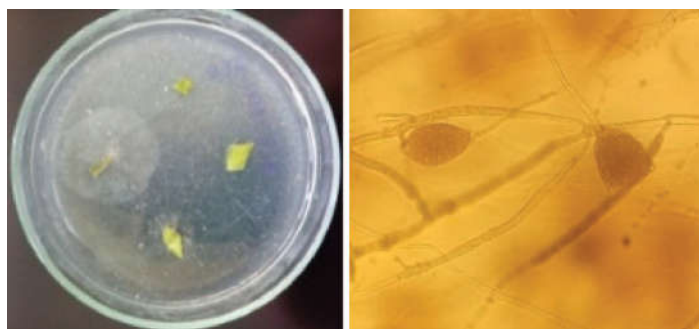
Tên giống	Triệu chứng biểu hiện sau lây nhiễm <i>P. citrophthora</i>		
	Héo 3 lá từ gốc	Toàn bộ lá bị héo	Chảy gôm trên thân
Cam lòng vàng Hòa Bình	17 ngày	30 ngày	-
Cam V2 Hòa Bình	22 - 23 ngày	30 ngày	-
Cam sành Hà Giang	22 - 23 ngày	30 ngày	-
Cam sành Tiền Giang	-	-	-

Ghi chú: (-) là không ghi nhận thấy triệu chứng biểu hiện của cây.



Hình 5. Triệu chứng cây bị héo toàn bộ sau 30 ngày lây nhiễm nhân tạo nấm *P. citrophthora* trên một số giống cam (Viện Bảo vệ thực vật năm 2019)

Ghi chú: A: cây đối chứng, B: cây nhiễm nấm *P. citrophthora*.



Tản nấm *P. citrophthora* trên môi trường PSM sau 3 ngày phân lập

Hình 6. Kiểm tra sự có mặt của nấm bệnh *P. citrophthora* trên lá giống cam lòng vàng bị héo sau 18 ngày lây nhiễm nhân tạo

IV. KẾT LUẬN

Kết quả điều tra, thu thập và phân lập 422 mẫu đất và rễ cây cam tại Hòa Bình và Tiền Giang bằng phương pháp quan sát hình thái và giải trình tự gen vùng ITS đã xác định được nấm *P. citrophthora* là tác nhân chính gây bệnh vàng lá thối rễ, chầy gôm trên cam. Mật độ bào tử nấm *Phytophthora* spp. bắt đầu gia tăng ở đầu mùa mưa và gây hại nặng ở cuối mùa mưa tại Hòa Bình và Tiền Giang.

Bằng phương pháp lây nhiễm nhân tạo nấm *P. citrophthora*, *P. palmivora* trên lá cam cho kết quả sau 3 ngày lá bị tái và chuyển màu nâu. Sau 5 ngày, bắt đầu có hệ sợi nấm trắng phát triển trên bề mặt lá bị nhiễm. Lây nhiễm nhân tạo nấm bệnh *Phytophthora citrophthora* trên cây cam V2, cam lòng vàng, cam sành Hà Giang, sau 30 ngày cây bị héo và chết. Cam sành Tiền Giang vẫn phát triển bình thường. Kết quả phân lập lại đã phát hiện được nấm *P. citrophthora* trên lá của cây cam lòng vàng bị héo ở thời điểm 18 ngày sau lây nhiễm.

***Phytophthora* disease of oranges in some main growing regions of Vietnam**

Pham Hong Hien, Nguyen Thi Chuc Quynh,
Phung Quang Tung, Bach Thi Diep, Nguyen Xuan Canh

Abstract

Citrus yellow wilt, root rot, and gum disease on orange trees are very serious and widespread in orange growing areas of Vietnam. The results of the investigation, collection and analysis of 422 samples in Hoa Binh, Tien Giang identified that *Phytophthora citrophthora*, are the major causal pathogens. *Phytophthora* spp. have low density and cause little damage in the dry season, but cause damage at the beginning of the rainy season and serious damage in the rainy season. After 3 days of artificial infection with *P. citrophthora*, *P. palmivora*, leaves turned wither, then brown; after 5 days, *Phytophthora* mycelia were observed to be spread on the leaf surface. Artificial inoculation with *P. citrophthora* fungus on young trees of different citrus varieties, including V2, yellow oranges, Ha Giang king mandarin and Tien Giang orange varieties showed that V2 and Ha Giang king mandarin varieties had wilting phenomenon after 17 days; the whole trees were withered after 30 days. Analysis on post-infection leaves showed the presence of *P. citrophthora* on the leaves of yellow orange wilted after 18 days of infection.

Keywords: Orange, *Phytophthora citrophthora*, *Phytophthora palmivora*, yellow wilt, root rot, gum disease

Ngày nhận bài: 20/7/2021
Ngày phản biện: 08/8/2021

Người phản biện: PGS.TS. Ngô Bích Hào
Ngày duyệt đăng: 30/8/2021

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đặng Vũ Thị Thanh và Hà Minh Trung**, 1997. Phương pháp điều tra bệnh hại cây trồng nông nghiệp. Trong: Phương pháp nghiên cứu bảo vệ thực vật, Tập I: *Phương pháp điều tra cơ bản Dịch hại nông nghiệp và thiên địch của chúng*. NXB Nông nghiệp Hà Nội: 62-78.
- Tổng cục Thống kê**, 2020. Thông cáo báo chí về tình hình kinh tế - xã hội quý IV và cả năm 2020. Ngày 27/12/2020: 16 trang.
- André Drenth and Barbara Sendall**, 2001. *Practical guide to detection and identification of Phytophthora*. Version 1.0. CRC for Tropical Plant Protection, Brisbane Australia, 1: 32-33
- Dang Vu Thi Thanh, Ngo Vinh Vien and André Drenth**. 2004. *Phytophthora diseases in Vietnam*. In (eds. Drenth A. and Guest D.I.) *Diversity and Management of Phytophthora in Southeast Asia*. ACIAR monograph, 114: 83-89.
- Doyle J.J. and Doyle J.L.**, 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical bulletin*, 19: 11-15.
- Erwin, D.C. and O.K. Riberrio**, 1996. *Phytophthora diseases worldwide*. St. Paul, Minnesota: APS Press.

TUYỂN CHỌN CHỦNG VI SINH VẬT ĐỐI KHÁNG VI KHUẨN VÀ NẤM GÂY BỆNH ĐỐM LÁ TRÊN CÂY HOA HỒNG

Hoa Thị Minh Tú¹, Đặng Thị Thùy Dương¹, Trịnh Thị Hoa¹,
Bạch Thị Mai Hoa^{1,2}, Phạm Thanh Huyền¹, Lê Thị Minh Thành^{1,2},
Hồ Tuyên^{1,2}, Nguyễn Phương Nhuệ^{1,2*}

TÓM TẮT

Mục đích nghiên cứu này là tuyển chọn các chủng vi sinh vật đối kháng mạnh với tác nhân gây bệnh đốm lá trên cây hoa hồng. Từ bộ sưu tập 183 chủng vi sinh vật, 3 chủng đối kháng mạnh nhất được xác định gồm BST, HD-V22, HD-N12 với đường kính vòng đối kháng chủng kiểm định *Pseudomonas* sp. HDB-V11 lần lượt là 17,4; 17,9 và 18,1 mm và hiệu lực đối kháng chủng kiểm định *Colletotrichum* sp. HDT-N28 lần lượt là 79,6; 77,7 và 75,85%. Ba chủng này không đối kháng lẫn nhau và có tiềm năng ứng dụng cao. Dựa trên đặc điểm hình thái và phân tích trình tự gen 16S rDNA và ITS, 2 chủng vi khuẩn HD-V22 và BTS và chủng vi nấm HD-N12 lần lượt được định danh là *Pseudomonas fluorescens* HD-V22, *Bacillus subtilis* BST và *Metarhizium anisopliae* HD-N12. Kết quả nghiên cứu là cơ sở khoa học để tạo chế phẩm vi sinh vật đối kháng ứng dụng kiểm soát sinh học hiệu quả bệnh trên cây hoa hồng.

Từ khóa: *Colletotrichum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Metarhizium*, đốm lá hoa hồng, đối kháng

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoa hồng (*Rosa* sp.) là loại cây vườn phổ biến nhất trên thế giới với giá trị ước tính của thị trường hoa hồng trên thế giới là 11,7 tỷ đô la mỗi năm (Debener and Byrne, 2014). Theo số liệu điều tra năm 2020, Việt Nam có khoảng 45.000 hecta hoa, cây cảnh, trong đó hoa hồng chiếm tỉ lệ 15% hoa cung cấp ra thị trường (Đặng Văn Đông và Nguyễn Văn Tĩnh, 2020).

Cây hoa hồng thường dễ bị tổn thương bởi nhiều tác nhân gây bệnh như nấm, vi khuẩn, vi rút, tuyến trùng (Gudin, 2000). Các tác nhân này gây ra một số loại bệnh trên cây như đốm lá, gỉ sắt, đốm đen, phấn trắng... Bệnh đốm lá do vi khuẩn *Xanthomonas* sp., *Pseudomonas syringae* hoặc nấm *Cercospora puderi* Davis, *Alternaria alternate*, *Colletotrichum capsici* (Syd.) Butl Bisby. gây ra. Bệnh gây hại chủ yếu trên lá hồng, từ lá non đến lá trưởng thành, vết bệnh ban đầu chỉ là một vết nhỏ, màu nâu nhạt, sau đó vết bệnh phát triển theo các gân lá thành dạng đốm có góc cạnh (Nguyễn Kim Vân, 2006). Mầm bệnh làm giảm sự phát triển, gây chết hoặc giảm giá trị thẩm mỹ của cây, dẫn đến thiệt hại lớn về kinh tế. Cho đến nay, tại Việt Nam chưa có thuốc đặc trị bệnh đốm lá hoa hồng mà chỉ có thể hạn chế bệnh bằng cách cắt tỉa cành, tiêu hủy cây bệnh, kết hợp với các loại thuốc bảo vệ thực vật hóa học như Amistar

Top 325C, Anvil 250SC, Marshal... Đây chỉ là giải pháp tình thế và giảm thiểu chứ không trị triệt để bệnh. Để quản lý hiệu quả bệnh đốm lá theo hướng an toàn, bền vững với môi trường và sức khỏe con người thì lựa chọn tốt nhất là áp dụng biện pháp sinh học, dùng vi sinh vật để phòng ngừa và kiểm soát mầm bệnh.

Trong tự nhiên có nhiều nhóm vi sinh vật (VSV) đối kháng với các tác nhân gây bệnh trên các cây trồng khác nhau, gồm vi khuẩn, xạ khuẩn và nấm mốc, trong đó nhiều nghiên cứu cho thấy các chi *Bacillus* và *Pseudomonas*, vi nấm có hiệu quả đáng kể trong phòng trừ bệnh đốm lá. Các VSV đối kháng chủng gây bệnh cây trồng nhờ khả năng sinh tổng hợp một số chất như siderophore, enzyme, kháng sinh... (Han *et al.*, 2015). Ở Việt Nam có rất ít nghiên cứu về VSV đối kháng bệnh hoa hồng. Do vậy, chúng tôi tiến hành sàng lọc VSV bản địa từ các vùng đất trồng cây hoa hồng kết hợp với một số chủng tiềm năng có sẵn trong phòng thí nghiệm, tuyển chọn chủng đối kháng với các chủng gây bệnh đốm lá phân lập từ cây hoa hồng bị bệnh. Kết quả này nhằm định hướng tạo chế phẩm VSV đối kháng kiểm soát hiệu quả bệnh đốm lá cây hoa hồng.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

¹ Viện Công nghệ sinh học (IBT), Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST)

² Học viện Khoa học và Công nghệ (GUST), Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

* Tác giả chính: E-mail: npnhue@ibt.ac.vn