

BỆNH THỐI RỄ QUẾ Ở GIAI ĐOẠN VƯỜN ƯƠM VÀ ĐỀ XUẤT BIỆN PHÁP QUẢN LÝ DỊCH BỆNH Ở TỈNH LÀO CAI

Vũ Văn Định, Đặng Như Quỳnh, Lê Thị Xuân, Nguyễn Thị Loan,
Phạm Văn Nhật và Trần Nhật Tân

Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng - Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

TÓM TẮT

Cây quế (*Cinnamomum cassia*) thuộc họ Long não (Lauraceae) là cây đa tác dụng. Trước đây, cây quế chỉ bán được vỏ, hiện nay, thân, cành, lá đều bán được với giá cao. Thân Quế sau khi bóc vỏ bán cho các cơ sở chế biến gỗ làm ván ghép thanh, ván sàn, đồ gia dụng hoặc làm cột chống... Các sản phẩm từ Quế có giá trị xuất khẩu đem lại nguồn lợi kinh tế to lớn. Ngoài lợi ích về mặt kinh tế, cây quế còn đóng góp vào việc bảo vệ môi trường sinh thái, bảo tồn và phát triển sự đa dạng các nguồn gen quý cây bản địa. Hiện nay diện tích rừng trồng Quế ở nước ta khoảng 40.000ha, ở miền Bắc Việt Nam, Quế phân bố chủ yếu ở các tỉnh Yên Bái, Lào Cai và Quảng Ninh. Trong những năm tới vùng trồng Quế tiếp tục được mở rộng trên cả phương diện quy mô và diện tích. Trước sự gia tăng nhanh về mặt diện tích nên nhiều vườn ươm và rừng trồng Quế của một số địa phương đang đứng trước nguy cơ bị sâu bệnh hại. Nguyên nhân gây bệnh chết héo Quế ở giai đoạn vườn ươm của huyện Bảo Thắng, huyện Bảo Yên, huyện Bắc Hà và huyện Văn Bàn của tỉnh Lào Cai do nấm gây bệnh vùng rễ (*Phytophthora cinnamomi*; *Pythium vexans*) gây hại. Để phòng trừ cây bị bệnh trong giai đoạn vườn ươm cần áp dụng biện pháp phòng trừ tổng hợp như: tiêu hủy những cây bị bệnh nặng, sử dụng thuốc hóa học (Ridomil 72WP nồng độ 0,5-1%; Thuốc Agrifos 400 nồng độ 0,5-1% với liều lượng 4 lít/100m²) phun từ 2 đến 3 lần mỗi lần cách nhau từ 10 đến 15 ngày. Khi đóng bầu gieo ươm cây con có thể sử dụng một số chế phẩm sinh học: *Trichoderma* hoặc chế phẩm sinh học khác có khả năng đối kháng với nấm gây bệnh vùng rễ để hạn chế bệnh hại. Trước khi gieo ươm cần dọn vệ sinh vườn ươm, lên luống thoát nước, tránh để luống bầu bị ngập úng, khử trùng bằng thuốc hóa học hoặc vôi bột. Trong quá trình chăm sóc cây phải sử dụng nguồn nước tưới sạch không có mầm mống của bệnh hại.

Từ khóa: Cây Quế (*Cinnamomum cassia*), chỉ số bệnh, tính gây bệnh, tỷ lệ bị bệnh

Wilt disease of *Cinnamomum cassia* in nurseries and control measures for diseases management in Lao Cai province

Keywords: *Cinnamomum cassia*, disease index, pathogenicity, disease incidence

Cinnamomum cassia belonging to the family Lauraceae is a multi-purpose tree. Previously, only the barks of Cinnamon trees were consumed. Currently, the stem, branches, leaves are sold at high prices. Cinnamon stalks are sold to wood processing factories for boards, flooring, furniture or pillars. The products from cinnamon can be processed into large quantities of valuable commodities. In addition, Cinnamon also contributes to the protection of the ecological environment, preserving and developing the variety of indigenous precious tree species. Currently, the Cinnamon plantation in our country reached 40,000ha, in Northern Vietnam, Cinnamon mainly distributed in the provinces of Yen Bai, Lao Cai and Quang Ninh. In the coming years, Cinnamon growing area will be expanded in both size and area. With the rapid

increase, many Cinnamon nurseries and plantations in some localities are facing the risk of pests and diseases. The death of Cinnamon in the nurseries of Bao Thang district, Bao Yen district, Bac Ha district and Van Ban district of Lao Cai province was identified by *Phytophthora cinnamomi* and *Pythium vexans*. For control measures of diseased plants during the nursery period, it is necessary to apply integrated management such as eliminating infected plants, using fungicides (Ridomil 72WP with the concentration of 0.5-1%; Agrifos 400 with the concentration of 0.5-1% in 4 liters/100m²) were sprayed 2 to 3 times at intervals of 10 to 15 days. When preparing seedlings, we can use some biological products *Trichoderma* or other bio-preparations that are resistant to pathogenic fungi to control the disease. Before nursing seedlings, the nurseries need to be cleaned, drainage, avoid the flooded beds, disinfected with fungicides calcium carbonate powder. In the process of watering trees, clean water must be used.

I. MỞ ĐẦU

Cây quế (*Cinnamomum cassia*) thuộc họ Long não (Lauraceae) là cây đa tác dụng, chiều cao 18 - 20m, đường kính đạt 10 - 45cm. Quế là cây phân bố rộng, có thể sinh trưởng tốt cả ở miền Nam và miền Bắc Việt Nam. Quế thích hợp với vùng núi cao, độ cao địa hình ở đai cao từ 300 - 700m so với mặt biển. Vùng có khí hậu mát ẩm, nhiệt độ bình quân năm từ 22 - 24°C, lượng mưa bình quân năm trên 2000mm, độ ẩm không khí trên 80%. Quế có thể trồng trên nhiều loại đất có thành phần cơ giới thịt nhẹ đến thịt trung bình, tầng đất dày, ẩm độ đất cao thoát nước tốt (Hoàng Cầu, 1993). Tinh dầu Quế được sử dụng nhiều trong công nghiệp y dược, chế biến thực phẩm, hương liệu và chăn nuôi. Trước đây, cây quế chỉ bán được vỏ, hiện nay, thân, cành, lá đều bán được với giá cao. Thân Quế sau khi bóc vỏ được bán cho các cơ sở chế biến gỗ làm ván ghép thanh, ván sàn, đồ gia dụng hoặc làm cột chống... Từ cây Quế có thể sản xuất thành nhiều mặt hàng có giá trị xuất khẩu, đem lại nguồn thu nhập chính cho người dân. Vì vậy hiện nay cây Quế là một trong những cây trồng gắn liền với đời sống của nhân dân các dân tộc ít người như Dao, Tày... ở các khu vực trồng Quế trên cả nước. Bên cạnh lợi ích về

mặt kinh tế, cây Quế còn đóng góp vào việc bảo vệ môi trường sinh thái, làm tăng độ che phủ rừng, giữ đất, giữ nước ở các vùng đất đồi núi dốc, bảo tồn và phát triển sự đa dạng các nguồn gen quý cây bản địa. Hiện nay thu nhập từ cây Quế thường ít bấp bênh so với các cây trồng khác, vỏ quế lại bảo quản được lâu nên không lo bị tư thương ép giá. Cây Quế đã khẳng định là một trong những cây trồng mũi nhọn, góp phần xóa đói, giảm nghèo và làm giàu cho đồng bào vùng cao. Hiện nay diện tích rừng Quế trong của cả nước khoảng 40.000ha. Ở miền Bắc Việt Nam Quế phân bố chủ yếu ở các tỉnh Yên Bái, Lào Cai và Quảng Ninh song vùng trồng Quế tiếp tục được mở rộng trên cả phương diện quy mô và diện tích.

Theo thông tin của chi cục Kiểm Lâm tỉnh Lào Cai, tính đến 31/10/2017 diện tích trồng Quế của toàn tỉnh 24.385,1ha trong đó có 4 huyện có diện tích trồng Quế lớn nhất như: huyện Bảo Thắng 4.122,2ha, huyện Văn Bàn 4.606,2ha, huyện Bảo Yên 8.901,3ha, huyện Bắc Hà 5.614,0ha. Ủy ban Nhân dân tỉnh Lào Cai đã có quy hoạch mở rộng vùng trồng Quế lên 25.000ha từ nay đến năm 2025 trong đó huyện Bảo Thắng 5500ha, huyện Văn Bàn lên tới 4400ha, huyện Bảo Yên lên tới 7800ha, huyện Bắc Hà 7300ha.

Nấm *Phytophthora* spp và *Pythium* spp là những loài nấm gây thiệt hại nhất cho nhiều loài cây trồng trên phạm vi toàn thế giới. Hiện nay có hơn 80 loài *Phytophthora* và hơn 120 loài *Pythium* đã được mô tả và phần lớn là những tác nhân gây bệnh. Nấm *Phytophthora cinnamomi* đã gây hại phổ biến trên cây bơ và lần đầu tiên được ghi nhận gây hại trên cây Quế (*C. verum*) (Rands, 1922). Triệu chứng của bệnh đầu tiên xuất hiện một vạch đen xám theo chiều thân cây. Bệnh được ghi nhận là nghiêm trọng với mức độ gây hại lên đến 42%. Nấm *P. cinnamomi* cũng được ghi nhận gây hại trên *Cinnamomum camphora*, *C. culitlawan* và *C. sintok* (Ciferri và Frago, 1927). *P. cinnamomi* cũng gây hại nhiều loài Quế khác nhau ở Đài Loan và Malaysia được xác định là nguyên nhân thối rễ và chết hàng loạt rừng trồng Quế (Anandaraj và Devasahayam, 2004). Đối với cây lâm nghiệp ở Việt Nam, lần đầu tiên *Phytophthora* sp. được phát hiện ở vườn ươm cây con Lim xanh tại Quảng Bình (Phạm Quang Thu *et al.*, 2010). Keo tai tượng ở Yên Sơn, Tuyên Quang chết hàng loạt do nấm *Phytophthora cinnamomi* (Phạm Quang Thu *et al.*, 2013). Nấm *Phytophthora* spp. và *Pythium* spp. được phát hiện từ đất của rừng trồng và vườn ươm Keo tai tượng và keo lai ở miền Bắc Việt Nam trong đó có chủng nấm VTN04, VTN06 của loài *Pythium helicoides*, chủng VTN15 (*Pythium dissotocum*) và chủng VTN24 (*Phytophythium helicoides*) có khả năng gây bệnh rất mạnh cho cả Keo tai tượng và keo lai (Phạm Quang Thu, 2016).

Trước sự gia tăng nhanh về mặt diện tích và sự biến đổi khí hậu trong những năm gần đây nên nhiều vườn ươm Quế của tỉnh Lào Cai đang đứng trước nguy cơ bị bệnh gây hại. Để phục vụ gieo ươm, trồng rừng Quế đạt hiệu quả cao và hạn chế bệnh hại rễ nhóm nghiên cứu tiến hành phân lập, xác định nguyên nhân gây bệnh và bước đầu đề xuất biện pháp phòng trừ.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu các mẫu cây Quế bị bệnh chết héo từ một số vườn ươm của tỉnh Lào Cai.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp điều tra tỷ lệ bị bệnh và mức độ bị bệnh ở các khu vực trồng Quế của tỉnh Lào Cai

Ở 4 huyện có diện tích trồng Quế lớn của tỉnh Lào Cai (huyện Bảo Thắng, huyện Bảo Yên, huyện Bắc Hà, huyện Văn Bàn). Mỗi huyện chọn 5 vườn ươm điển hình, mỗi vườn ươm chọn 3-5 luống ngẫu nhiên, mỗi luống lập 3 ô tiêu chuẩn (1m²) ở 3 vị trí đầu luống, giữa luống và cuối luống. Tiến hành phân cấp bị bệnh cho các cây trong ô tiêu chuẩn theo TCVN 8928: 2013 phân thành 5 cấp (0-4) được trình bày ở bảng sau:

Cấp bệnh	Mức độ hại	Mức độ hại quy định tương ứng
0	Không	Cây khỏe, rễ không bị hại
1	Hại nhẹ	Cây bị hại nhưng sinh trưởng bình thường
2	Hại vừa	Một số lá khô héo
3	Hại nặng	Cây bị khô dần
4	Hại rất nặng	Cây bị chết khô

Tỷ lệ bị bệnh được tính theo công thức như sau:

$$P_{otc} = \frac{n}{N} \times 100$$

Trong đó: P_{otc} là tỷ lệ cây bị bệnh trung bình trên ô tiêu chuẩn; n là số cây bị bệnh trong ô tiêu chuẩn; N là tổng số cây điều tra trong ô tiêu chuẩn.

$$P_{kv} = \frac{\sum_{i=1}^n P_{otci}}{N}$$

Trong đó: P_{kv} là tỷ lệ cây bị bệnh trung bình cho khu vực điều tra, P_{otci} là tỷ lệ bị bệnh bình

quân trong ô tiêu chuẩn thứ i , N là tổng số ô tiêu chuẩn.

Cấp bệnh bình quân của một ô tiêu chuẩn được tính theo phương pháp bình quân gia quyền, sau đó tính bình quân cho toàn bộ khu vực điều tra với các công thức sau :

$$R_{otc} = \frac{\sum_{i=1}^4 n_i \cdot v_i}{N}$$

Trong đó R_{otc} cấp bệnh bình quân trong ô tiêu chuẩn, n_i là số cây bệnh ứng với cấp bệnh i , v_i là chỉ số của cấp bệnh i , N là tổng số cây điều tra

$$R_{kv} = \frac{\sum_{i=1}^n R_{otci}}{N}$$

Trong đó R_{kv} cấp bệnh bình quân của khu vực điều tra, R_{otci} là cấp bệnh bình quân ở ô tiêu chuẩn thứ i , N là tổng số ô tiêu chuẩn điều tra.

Mức độ bị bệnh dựa trên cấp bệnh bình quân: cấp 0 cây khỏe (không bị bệnh), $0 \leq R < 1$, cây bị bệnh rất nhẹ; $1 \leq R < 2$, cây bị bệnh nhẹ; $2 \leq R < 3$, cây bị bệnh trung bình; $3 \leq R \leq 4$, cây bị bệnh mạnh.

Mô tả triệu chứng, đặc điểm của nấm gây bệnh và xác định nguyên nhân gây bệnh

Quan sát triệu chứng bằng mắt thường, kính lúp hoặc kính soi nổi, mô tả các đặc điểm bên ngoài của ngọn, thân, lá, rễ bị bệnh như biến đổi về màu sắc, bệnh trạng, sự phân bố bệnh trạng trên ngọn, thân, lá, rễ. Mô tả và chụp ảnh cây bị bệnh, phân lập nấm gây bệnh theo phương pháp của Agros G.N. (2005); Burgess *et al.* (2009); Phạm Quang Thu *et al.*, (2010); Phạm Quang Thu *et al.*, (2013). Giám định nấm thông qua chuyên khảo về *Phytophthora* spp. của Hamm B.P. and Hansen M.E. (1987).

Giám định nấm gây bệnh bằng sinh học phân tử: Từ các đĩa hệ sợi nấm nuôi cấy trên môi trường CMA tách riêng phần hệ sợi nấm non để tiến hành tách ADN, rồi lần lượt tiến hành khuếch đại PCR, điện ly, tách dòng nấm từ sản

phẩm PCR, phân tích biến động chuỗi, xác định trình tự chuỗi phân tử... (Reader và Broda, 1985); (Gardes và Bruns, 1993); (Thompson *et al.*, 1994); (Pearson và Lipman, 1998); (ANGIS, 2005); (Felsenstein, 1998).

Phương pháp đánh giá tính gây bệnh của các chủng nấm

Đánh giá tính gây bệnh của các chủng nấm phân lập được thông qua gây bệnh nhân tạo trong phòng thí nghiệm trên cành và lá tách rời. Thí nghiệm được tiến hành trên lá Quế và cành Quế. Mỗi loại lá và cành làm 5 công thức thí nghiệm lần lượt là hệ sợi của các chủng nấm (BH, VB, BT, BY1, BY2) và 1 công thức đối chứng là môi trường PDA không chứa nấm.

Mỗi công thức 10 lá và 10 cành bánh tẻ. Dùng dao cắt lớp vỏ ở vị trí giữa cành quế khoảng 1cm (chú ý vẫn giữ nguyên lớp vỏ trên cành, sau đó úp miếng thạch chứa hệ sợi nấm bệnh vào rồi đập lớp vỏ lại) quấn bông ẩm. Với lá Quế để cả lá cuống lá quấn bông giữ ẩm để cho lá tươi sau đó úp miếng thạch có chứa hệ sợi nấm lên lá rồi đặt lá vào túi nilon gấp mép, để ở tủ định ôn ở nhiệt độ 25°C theo dõi trong 10 ngày, sau đó đánh giá tỷ lệ bị bệnh và mức độ bị bệnh ở các công thức. Công thức đối chứng cũng tiến hành tương tự nhưng không có hệ sợi nấm theo phương pháp của Phạm Quang Thu (2016).

Phương pháp xác định thuốc hóa học trong phòng trừ nấm gây bệnh:

Đề xuất biện pháp phòng trừ bằng thuốc hóa học trên cơ sở thử nghiệm 4 loại thuốc hóa học trong phòng thí nghiệm (Agrifos 400; Ridomil 72WP; Anvil 5SC và Phos-inject 200) ở 2 loại nồng độ 1% và 0,5% theo khuyến cáo của nhà sản xuất. Thí nghiệm được tiến hành với 9 công thức (4 loại thuốc × 2 nồng độ và 1 đối chứng), lần lượt là CT1: Agrifos 400 1%; CT2: Agrifos 400 0,5%; CT3: Ridomil 72WP 1%; CT4: Ridomil 72WP 0,5%; CT5: Anvil 5SC 1%; CT6: Anvil

5SC 0,5%; CT7: Phos-inject 200 1%; CT8: Phos-inject 200 0,5%; CT9: Đối chứng (nước cất). Mỗi công thức thí nghiệm được tiến hành với 10 đĩa Petri, lặp lại 3 lần. Đục một giếng ở chính giữa có đường kính 1cm, cấy nấm ở 3 điểm tạo thành hình tam giác đều. Dùng pipet hút 1ml dung dịch thuốc đã pha cho vào các giếng, băng kín và để ở tủ định ôn ở nhiệt độ 25°C. Sau 24 và 48 giờ kiểm tra và đo vòng kháng nấm của thuốc so với đối chứng. Xử lý số liệu bằng phần mềm excel 9.0.

Đề xuất biện pháp quản lý bệnh hại: Biện pháp quản lý bệnh được thực hiện trên kết quả nghiên cứu về hiệu lực thuốc hóa học trong phòng thí nghiệm. Các biện pháp khác dựa vào chuyên khảo quy trình phòng trừ bệnh hại do nấm *Phytophthora* đối với một số loài cây trồng khác (*Phytophthora* Technical Group, 2006).

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đánh giá ảnh hưởng của bệnh ở các khu vực nghiên cứu

Ở tỉnh Lào Cai tiến hành điều tra 4 huyện có diện tích vườn ươm và rừng trồng Quế lớn (huyện Bảo Thắng, huyện Bảo Yên, huyện Bắc Hà và xã huyện Văn Bàn). Kết quả về tỷ lệ bị bệnh, cấp bị bệnh trung bình được trình bày ở bảng 1.



Hình 1. Rễ cây bị bệnh

Bảng 1. Tỷ lệ và cấp bị bệnh chết héo Quế tại Lào Cai

TT	Địa điểm điều tra	Tỷ lệ bị bệnh trung bình		Cấp bệnh trung bình	
		P _{kv} (%)	Sai số	R _{kv}	Sai số
1	Huyện Bảo Thắng	18,5	1,35	1,15	0,33
2	Huyện Bảo Yên	16,7	1,26	0,95	0,36
3	Huyện Bắc Hà	13,4	1,50	0,89	0,31
4	Huyện Văn Bàn	15,5	1,45	1,28	0,30

Kết quả trên cho thấy cả 4 khu vực đã điều tra Quế ở giai đoạn vườn ươm đều bị bệnh chết héo. Tỷ lệ bị bệnh và cấp bệnh ở các khu vực điều tra là khác nhau, tỷ lệ bị bệnh trung bình ở các khu vực điều tra từ 13,4 đến 18,5% cấp bị bệnh trung bình từ 0,89 đến 1,28. Cây bị bệnh sinh trưởng kém, một số cây bị chết. Cây bị bệnh nhiều vào mùa mưa khi độ ẩm lớn. Đây là mùa có điều kiện nhiệt độ và ẩm độ thích hợp cho nấm bệnh phát triển.

3.2. Đặc điểm của vật gây bệnh và xác định nguyên nhân gây bệnh

Triệu chứng của bệnh: Nấm gây bệnh xâm nhiễm và gây tổn thương hệ rễ cây, rễ cắm bị thối, vỏ rễ bong ra thành từng mảng (Hình 1). Lá cây chuyển sang màu vàng sau đó xuất hiện các chấm đen, lá bị héo, khô và rụng. Khi cây bị bệnh nặng vỏ cây héo, khô dần, lá và ngọn non bị héo (Hình 2).

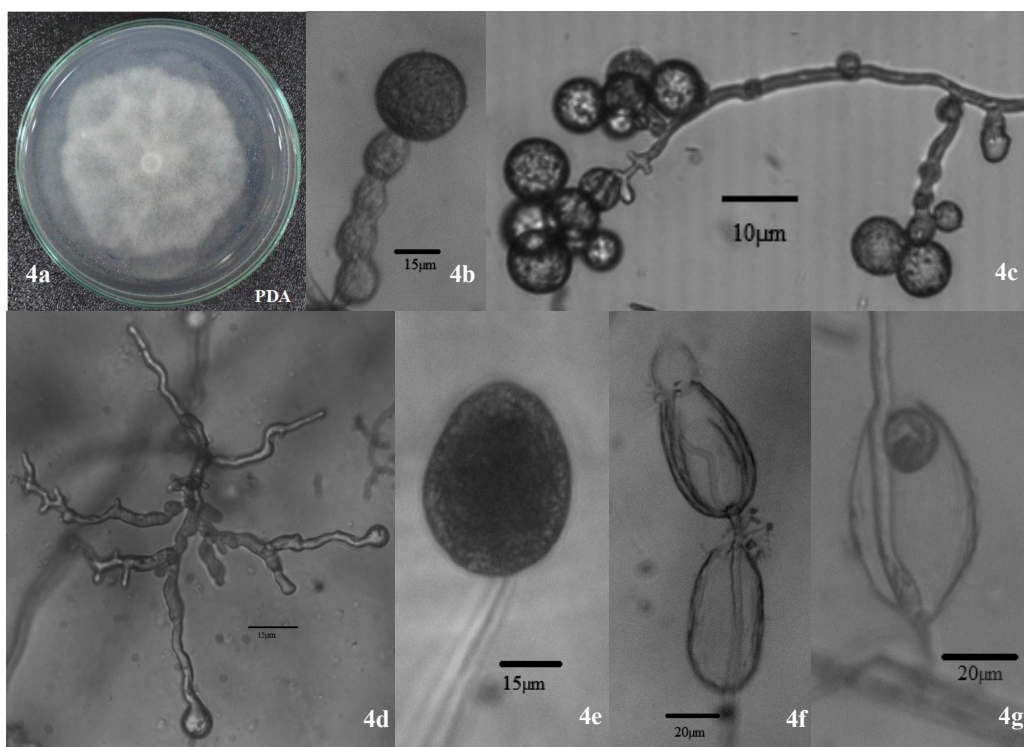


Hình 2. Cây Quế bị bệnh chết héo

Kết quả phân lập nấm gây bệnh: Kết quả phân lập trực tiếp từ rễ và phương pháp bẫy đất thu được 5 chủng nấm BH, VB, BT, BY1 và BY2.

Đặc điểm của chủng BT và BY1 giống nhau về mặt hình thái sợi nấm mọc thưa trên môi trường CMA ít phân nhánh và không có vách ngăn, hệ sợi nấm hình thành nhiều u nhỏ, độ dày lên đến 8µm, hệ sợi nổi lên thành các bó cụm, điển hình là hình cầu, với đường kính trung bình từ 42µm. Nét đặc trưng của hệ sợi là có dạng san hô, không có vách ngăn (hình

3c, 3d). Bào tử áo Chlamydospora hình cầu có kích thước từ 28-35µm (hình 3b). Túi bào tử động (sporangia) hình elip đến hình trứng, có kích thước 57 × 33µm (nhiều lúc kích thước lên tới 100 × 40µm), không có núp (non-papilate) (hình 3e, 3f, 3g). Bào tử noãn (oogonia) không xuất hiện trên cùng một loại hệ sợi chứng tỏ nấm thuộc nhóm dị tản (heterothallic). Nấm gây bệnh được xác định thuộc loài *Phytophthora cinnamomi*. Nấm thuộc họ Pythiaceae, bộ Pythiales, ngành phụ Oomycota.

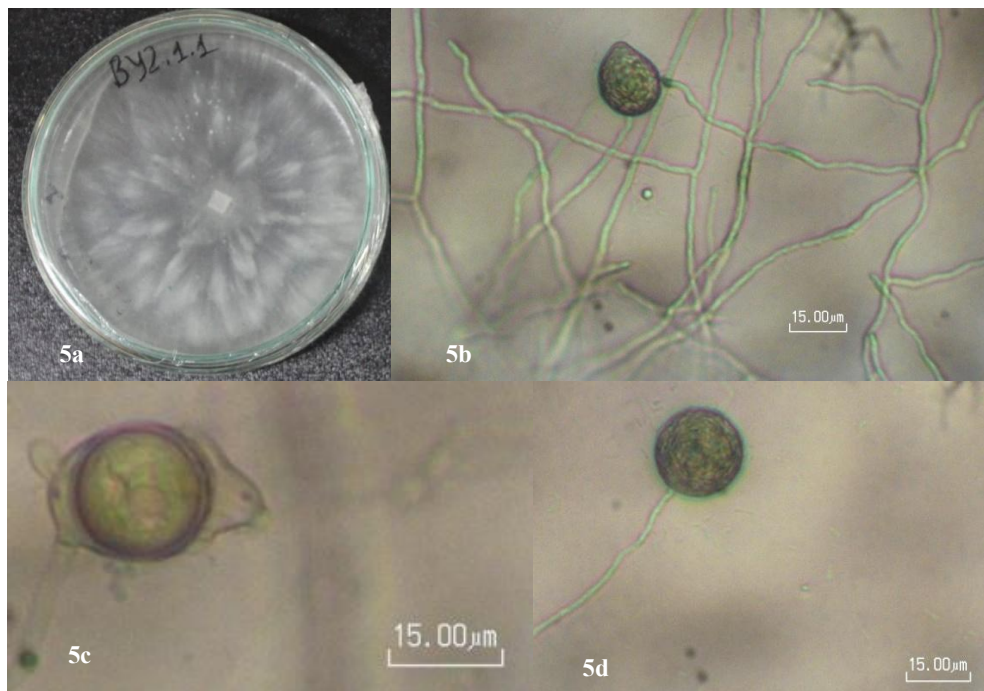


Hình 3. Chủng BY1 - *Phytophthora cinnamomi*

3a. hệ sợi nấm trên môi trường PDA; 3b. bào tử áo (Chlamydospore);
3c, 3d hệ sợi nấm đặc trưng dạng san hô; 3e. túi bào tử động (sporangia);
3f, 3g. vỏ túi bào tử động

Đặc điểm của chủng nấm BH, VB và BY2 sợi nấm mọc thưa không có vách ngăn (hình 4b) hệ sợi mọc hình cánh hoa trên môi trường PDA (hình 4a). Quan sát hệ sợi nấm trên môi trường CMA thấy xuất hiện bào tử áo (chlamydospore). Bào tử áo có dạng hình cầu, vách dày, kích thước từ 11,7µm đến 16,38µm (hình 4d). Ngâm

hệ sợi nấm với nước chiết đất sau 24 giờ thấy xuất hiện túi bào tử động (hình 4b) và túi bào tử noãn. Túi bào tử noãn oospore có kích thước từ 18,72µm đến 23,4µm (Hình 4c). Thê đực và thê cái được hình thành trên cùng một sợi nấm (amphigynous). Như vậy nấm gây bệnh cây thuộc nhóm đồng tản (homothallic).



Hình 4. Chủng BY2 - *Pythium vexans*

4a. hệ sợi trên môi trường PDA; 4b. sợi nấm trên môi trường CMA và túi bào tử động (sporangia);
4c. bào tử noãn; 4d. bào tử áo (Chlamydospora)

Giám định nấm gây bệnh bằng sinh học phân tử: Giám định nấm gây bệnh theo phương pháp sinh học phân tử bằng cách so sánh trình tự ITS trong 28 rRNA: So sánh trình tự đoạn ITS của chủng BY1 với trình tự của nấm *Phytophthora cinnamomi* đã công bố cho thấy có độ tương đồng 478/478 (100%); So sánh trình tự đoạn ITS của chủng BY2 với trình tự của nấm *Pythium vexans* đã công bố cho thấy có độ tương đồng 449/453 (99%).

3.3. Đánh giá tính gây bệnh của các chủng nấm

Kết quả phân lập nấm từ rễ và đất của cây Quế ở giai đoạn vườn ươm tại 4 khu vực nghiên cứu huyện Bảo Thắng phân lập được 1 chủng ký hiệu BT, huyện Bảo Yên phân lập được 2 chủng ký hiệu BY1 và BY2, huyện Bắc Hà phân lập được 1 chủng ký hiệu BH, huyện Văn Bàn phân lập được 1 chủng nấm ký hiệu VB. Tiến hành gây bệnh nhân tạo trong phòng thí nghiệm kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Tính gây bệnh của các chủng nấm

TT	Công thức (chủng nấm)	Gây bệnh trên lá		Gây bệnh trên cành	
		P1(%)	R1	P2(%)	R2
1	CT1: Chủng BH	67,4	2,8	66,3	2,7
2	CT2: Chủng VB	61,3	2,6	61,4	2,4
3	CT3: Chủng BT	85,5	3,2	82,8	2,9
4	CT4: Chủng BY1	89,8	3,3	87,6	3,1
5	CT5: Chủng BY2	66,8	2,7	65,5	2,5
6	CT6: Đối chứng	0	0	0	0

Kết quả thí nghiệm cho thấy cả 5 chủng nấm phân lập được đều có khả năng gây bệnh chết héo trên lá và cành đối với thí nghiệm gây bệnh nhân tạo trong phòng thí nghiệm. Thí nghiệm gây bệnh trên lá và cành có 2 chủng nấm gây bệnh bị hại ở mức trung bình (chủng BH, chủng VB và chủng BY2) và hai chủng nấm gây bệnh ở mức mạnh (chủng BT và BY1), thí nghiệm đối chứng, không có lá nào bị bệnh, công thức đối chứng không bị bệnh. Các triệu chứng biểu hiện khi gây bệnh nhân tạo trong phòng thí nghiệm giống với các triệu chứng bệnh ban đầu ngoài tự nhiên. Lấy phần bị bệnh phân lập lại thấy kết quả giống với nấm bệnh đã phân lập ban đầu. Từ kết quả trên cho thấy chủng nấm BY1 (*Phytophthora cinnamomi*) gây bệnh mạnh đây là kết quả tương đồng với nghiên cứu của Phạm Quang Thu và đồng tác giả (2013) gây bệnh thối rễ Keo tai tượng (*Acacia mangium*) ở Yên Sơn

Tuyên Quang. Chủng BY2 (*Pythium vexans*) gây bệnh ở mức độ mạnh đây là kết quả tương tự so với kết quả gây bệnh nhân tạo của chủng nấm VTN17 (*Pythium vexans*) của Phạm Quang Thu và đồng tác giả (2016) trên Keo tai tượng và keo lai. Từ các nghiên cứu này cho thấy nấm *Phytophthora cinnamomi* và *Pythium vexans* gây bệnh trên nhiều đối tượng cây lâm nghiệp khác nhau và cả những loài cây có tinh dầu.

3.4. Xác định thuốc hóa học trong phòng trừ nấm gây bệnh và đề xuất biện pháp quản lý dịch bệnh

Để xác định loại thuốc có hiệu lực cao đề tài đã tiến hành thử nghiệm hiệu lực với 3 loại thuốc Agrifos 400, Ridomil 72WP và Anvil 5SC với nồng độ 1% và 0,5% để phòng trừ nấm gây bệnh *Phytophthora cinnamomi*. Kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Hiệu lực thuốc hóa học đối với sự ức chế sinh trưởng của hệ sợi nấm

Công thức	Loại thuốc hóa học	Sau 24 giờ		Sau 48 giờ	
		Đường kính vòng kháng nấm (cm)	Sai tiêu chuẩn (SE)	Đường kính vòng kháng nấm (cm)	Sai tiêu chuẩn (SE)
CT1	Agrifos 400 nồng độ 1%	3,00	0,17	2,75	0,18
CT2	Agrifos 400 nồng độ 0,5%	2,95	0,18	2,63	0,17
CT3	Ridomil 72WP nồng độ 1%	3,26	0,16	2,86	0,16
CT4	Ridomil 72WP nồng độ 0,5%	3,14	0,18	2,80	0,18
CT5	Anvil 5SC nồng độ 1%	2,58	0,15	2,32	0,14
CT6	Anvil 5SC nồng độ 0,5%	2,43	0,14	2,12	0,13
CT7	Phos-inject 200 nồng độ 1%	2,85	0,16	2,65	0,15
CT8	Phos-inject 200 nồng độ 0,5%	2,43	0,15	2,16	0,14
CT9	Đối chứng	2,15	0,22	0,0	00

Kết quả ở bảng 4 cho thấy sau 24 và 48 giờ có sự khác biệt rất rõ giữa các công thức so với đối chứng, trong đó thuốc Ridomil 72WP ở nồng độ 0,5 - 1% có hiệu lực tốt nhất đường kính vòng kháng nấm cao nhất 3,14 - 3,26cm. Thuốc Agrifos 400 nồng độ 0,5 - 1% là thuốc có hiệu

lực mạnh thứ 2 đường kính vòng kháng nấm đạt 2,95 - 3,00cm. Từ 24 giờ ở các công thức so với đối chứng càng được thể hiện rõ, ở các đĩa Petri có thuốc sợi nấm mọc chậm di chuyển về phía trung tâm lỗ khoan. Sợi nấm mọc tản dần sang hai bên và không có khả

năng mọc lan về phía lỗ khoan chứa thuốc. Ở công thức 9 đối chứng hệ sợi nấm đã mọc gần kín vào giữa hộp lồng. Điều đó cho thấy khả năng kháng nấm của thuốc là rất cao đặc biệt là thuốc Ridomil 72WP và thuốc Agri-Fos 400. Từ kết quả trên cho thấy có thể sử dụng thuốc Ridomil 72WP và thuốc Agri-Fos 400 nồng độ 0,5 - 1% để phòng trừ nấm *Phytophthora cinnamomi*.

3.5. Đề xuất biện pháp quản lý dịch bệnh

Để quản lý dịch bệnh chết héo Quế ở giai đoạn vườn ươm có hiệu quả ta nên kết hợp nhiều phương pháp như sau: Loại bỏ những cây bị bệnh nặng hoặc bị chết đem tiêu hủy để tránh lây lan sang các cây khác. Thường xuyên kiểm tra sâu bệnh hại, khi cây có hiện tượng bị bệnh có thể phun thuốc hoá học để tiêu diệt và tránh lây lan: thuốc hoá học được sử dụng Ridomil 72WP nồng độ 0,5 - 1%; Thuốc Agrifos 400 nồng độ 0,5 - 1% với liều lượng 4 lít/100m² phun từ 2 đến 3 lần mỗi lần cách nhau từ 10 đến 15 ngày.

Vườn ươm nên đào rãnh xung quanh để thoát nước tốt và không cho nước mưa chảy từ nơi khác qua vườn ươm tránh lây nhiễm mầm bệnh từ cây nông nghiệp. Không sử dụng các dụng cụ như cuốc xẻng dùng chăm sóc cây nông nghiệp bị nhiễm nấm bệnh *Phytophthora* và *Pythium* để chăm sóc và làm đất ở vườn ươm cây. Bón nhiều phân hữu cơ vi sinh để tăng cường và phát triển quần thể vi sinh vật đất nhằm ức chế sự phát triển của nấm bệnh. Sử dụng các chế phẩm chứa nấm *Trichoderma* phối hợp với phân hữu cơ để bón cho cây (Phạm Quang Thu *et al.*, 2010; Phạm Quang Thu, 2013).

Ngoài ra vườn ươm trước khi gieo cần dọn vệ sinh, khử trùng bằng thuốc hóa học hoặc vôi bột. Sử dụng nguồn nước tưới sạch không có mầm mống của bệnh hại.

V. KẾT LUẬN

Tỷ lệ bị bệnh và cấp bệnh ở các khu vực điều tra là khác nhau, tỷ lệ bị bệnh trung bình ở các khu vực điều tra từ 13,4 đến 18,5%, cấp bị bệnh trung bình từ 0,89 đến 1,28 tương đương với mức độ bị bệnh nhẹ đến trung bình. Cây bị bệnh sinh trưởng kém, một số cây bị chết. Cây bị bệnh nhiều vào mùa mưa khi độ ẩm lớn. Đây là mùa có điều kiện nhiệt độ và ẩm độ thích hợp cho nấm bệnh phát triển.

Bệnh chết héo Quế ở giai đoạn vườn ươm tại tỉnh Lào Cai với triệu chứng điển hình Nấm gây bệnh xâm nhiễm và gây tổn thương hệ rễ cây, rễ cắm bị thối, vỏ rễ bong ra thành từng mảng. Lá cây chuyển sang màu vàng sau đó xuất hiện các chấm đen, lá bị héo, khô và rụng được xác định do nấm *Phytophthora cinnamomi* và nấm *Pythium vexans* gây hại.

Các chủng nấm phân lập được có khả năng gây bệnh rất cao. Thí nghiệm gây bệnh nhân tạo đối với lá cho thấy tỷ lệ bị bệnh trung bình từ 61,3 - 89,8% và cấp bệnh từ 2,6 - 3,3. Thí nghiệm đối với cành tỷ lệ bị bệnh trung bình từ 61,4 - 87,2 tương đương với cấp bị bệnh từ nặng đến rất nặng 2,4 đến 3,1. Chủng nấm BY1 (*Phytophthora cinnamomi*) có khả năng gây bệnh nặng đối với lá và cành non Quế.

Khi cây bị bệnh trong giai đoạn vườn ươm loại bỏ phần bị nhiễm bệnh và tiêu hủy. Sử dụng thuốc hóa học như: Thuốc ridomil 72WP nồng độ 0,5 - 1%; Thuốc Agrifos 400 nồng độ 0,5 - 1% với liều lượng 4 lít/100m² phun từ 2 đến 3 lần mỗi lần cách nhau từ 10 đến 15 ngày. Khi đóng bầu gieo ươm cây con có thể dùng thêm một số chế phẩm sinh học *Trichoderma* hoặc các chế phẩm sinh học khác có khả năng đối kháng với nấm gây bệnh vùng rễ để hạn chế bệnh hại. Ngoài ra vườn ươm trước khi gieo cần dọn vệ sinh, khử trùng bằng thuốc hóa học hoặc vôi bột. Trong quá trình chăm sóc cây phải sử dụng nguồn nước tưới sạch không có mầm mống của bệnh hại.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Agrios G.N., 2005. Plant pathology, 5th edition. Elsevier Academic Press: San Diego, California.
2. ANGIS, 2005. BioManager by ANGIS: Australian National Genome Information Services, <http://www.angis.org.au>.
3. Burgess L.W., Knight T.E., Tesoriero L. và Phan H.T., 2009. Cẩm nang chuẩn đoán bệnh cây ở Việt Nam. Chuyên khảo ACIAR số 129a, 210pp. ACIAR: Canberra.
4. Gardes, M. and Bruns, T. D., 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - Application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* 2: 113-118.
5. Hamm B.P. and Hansen M.E., 1987. Identification of *Phytophthora* spp. known to Attack Conifers in the Pacific Northwest. Northwest Science Vol 61 No 2, p103-109.
6. Hoàng Cầu, 1993. “Phân vùng sinh thái và mở rộng vùng trồng Quế ở nước ta”. Tạp chí Lâm nghiệp số 4, trang 12.
7. Felsenstein, J., 1989. PHYLIP - Phylogeny Inference Package (Version 3.2). *Cladistics* 5: 164-166.
8. Pearson, W. R. and Lipman, D. J., 1998. Improved Tools for Biological Sequence Analysis. *Proceedings of the National Academy of Science, USA* 85: 2444-2448.
9. Phạm Quang Thu, Đặng Như Quỳnh, Lê Thị Xuân, Nguyễn Hoài Thu, 2010. “Bệnh héo rũ cây Lim xanh ở giai đoạn vườn ươm và biện pháp quản lý bệnh” Tạp chí Nông nghiệp & PTNT số 18, Tr. 75 - 79.
10. Phạm Quang Nam, Nguyễn Minh Chí, Phạm Quang Thu, 2015. “Đánh giá ảnh hưởng của phân vi sinh MF1 đến sinh trưởng và kháng bệnh hại Keo tai tượng và Keo lá tràm trong giai đoạn vườn ươm” Tạp chí Nông nghiệp & PTNT số 17, Tr. 119 - 126.
11. Phạm Quang Thu, Đặng Như Quỳnh, Bernard Dell, 2013. “Nấm *Phytophthora cinnamomi* gây bệnh thối rễ Keo tai tượng (*Acacia mangium*) ở Yên Sơn Tuyên Quang” Tạp chí Bảo vệ thực vật số 3, Tr.3- 9.
12. Phạm Quang Thu, 2016. “Điều tra thành phần loài nấm gây bệnh thối rễ thuộc họ Pythiaceae gây hại Keo tai tượng và keo lai ở các tỉnh miền Bắc Việt Nam” Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam số 1 Tr.4251-4256.
13. Phytophthora Technical Group, 2006. *Phytophthora Management Guideline. (Second Edition)*, Government of South Australia.
14. Raeder, U. and Broda, P., 1985. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. *Letters in Applied Microbiology* 1: 17-20.
15. Thompson, J. D., Higgins, D. G and Gibson, T. J., 1994. CLUSTALW: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nuc. Acids Res.* 22: 4673-4680.
16. Vũ Văn Định và Phạm Quang Thu, 2011. Bệnh khô cành ngọn Keo tai tượng ở miền Bắc Việt Nam và biện pháp quản lý bệnh. Tạp chí Nông nghiệp & PTNT số 23, Tr. 99 - 105.

Email tác giả chính: vudinhfsiv@gmail.com

Ngày nhận bài: 9/11/2017

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 30/11/2017

Ngày duyệt đăng: 02/01/2018