

NGHIÊN CỨU ĐỊNH DANH VÀ ĐẶC ĐIỂM CỦA NẤM *Phytophthora cucurbitacearum* LIÊN QUAN TỚI BỆNH THỐI RỄ CÂY CAM TẠI HÀ GIANG

Cao Văn Chí^{1*}, Nguyễn Đức Huy³, Bùi Quang Đăng²,
Phạm Hồng Hiến², Lương Thị Huyền¹, Giang Đức Hiệp⁴, Nguyễn Văn Trọng¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu định danh và đặc điểm của nấm *Phytophthora cucurbitacearum* có liên quan đến bệnh thối rễ cây cam, một trong những nguyên nhân gây suy thoái vùng cam tại Hà Giang, các mẫu đất trồng và rễ cam tại 3 huyện trồng cam của tỉnh Hà Giang (Vị Xuyên, Quang Bình và Bắc Quang) được thu thập. Kết quả cho thấy, 2 mẫu đất và rễ tại vùng rễ cây cam bị thối được xác định là *Phytophthora cucurbitacearum* dựa trên đặc điểm hình thái và trình tự vùng rDNA-ITS. Nghiên cứu đặc điểm hình thái cho thấy, bào tử dạng hình cầu, trứng, ellip, bất định hình, bào tử có núm rõ rệt, chiều dài 21,2 - 68,5 µm và chiều rộng 18,6 - 37,25 µm, kích thước lỗ giải phóng bào tử 3,2 - 5,6 µm, du động bào tử được hình thành trong bọc giả sau đó mới giải phóng. *P. cucurbitacearum* cấy trên môi trường CA phát triển tốt nhất, sau 7 ngày nuôi cấy trên đĩa petri đều đạt kính thước là 90,00 mm; sau đó đến môi trường V8, kích thước đạt 75,67 mm; môi trường PA và CMA đạt kích thước tản nấm đạt lần lượt là 65,50 và 67,33 mm; môi trường PDA có kích thước tản nấm mọc chậm nhất với kích thước 43,33 mm. Nhiệt độ thích hợp nhất cho sự phát triển của nấm *P. cucurbitacearum* là từ 20°C - 30°C; sau 3 ngày thì sợi nấm đã mọc kín đĩa có đường kính 90 mm ở nhiệt độ 30°C; ở ngưỡng nhiệt độ 20°C và 25°C trong ngày thứ 3 đạt kích thước lần lượt là 67,33 và 81,50 mm và mọc kín đĩa trong ngày thứ tư; ngưỡng nhiệt độ từ 20 - 30°C là điều kiện thích hợp nhất cho sự phát triển của nấm *P. cucurbitacearum* gây thối rễ trên cây có múi.

Từ khóa: Cam, nấm *Phytophthora cucurbitacearum*, bệnh thối rễ, Hà Giang.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Một trong các bệnh nguy hiểm trên cây có múi là bệnh tàn lụi do Citrus Tristeza Virus (CTV) gây ra. Bệnh tàn lụi làm giảm sinh trưởng cây cam, giảm năng suất, chất lượng quả, gây thoái hóa giống, đặc biệt có những giống có nguy cơ bị hủy bỏ. CTV từng được ghi nhận là 1 trong 10 virus thực vật nguy hiểm nhất trên thế giới. Gần đây nhất, CTV cũng đã được phát hiện ở nhiều mẫu lá cam của Hà Giang [1].

Bệnh vàng lá gân xanh (*Huanglongbing* hay *Greening*) (HLB) do vi khuẩn biệt dưỡng *Ca.Las*

gây ra, là bệnh nguy hiểm nhất trên cây ăn quả có múi tại châu Á, đặc biệt trên cây cam. Tương tự, tại Việt Nam, bệnh là một trong các nguyên nhân chính cản trở việc phát triển sản xuất cây ăn quả có múi trên phạm vi cả nước. Tương tự, CTV, HLB cũng đã được phát hiện trên các mẫu lá cam thu thập tại Hà Giang [1].

Trong sản xuất cây cam tại Hà Giang, ngoài hai bệnh hại phần trên của cây quan trọng như HLB và CTV thì các bệnh hại vùng rễ mà chủ yếu là bệnh vàng lá thối rễ do nhóm nấm đất gây ra cũng làm suy giảm nghiêm trọng diện tích trồng cam. Cây bị bệnh vàng lá thối rễ sinh trưởng rất còi cọc; bộ lá, đặc biệt là lá non bị biến vàng; quả nhỏ, không có giá trị sử dụng. Tác nhân gây bệnh là nhóm nấm *Phytophthora*, *Fusarium*, *Pythium* và *Phytophthora*. Do tầm quan trọng của cây cam tại Hà Giang, mục tiêu của nghiên cứu này nhằm phát

¹ Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển cây có múi

² Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

³ Học Viện Nông nghiệp Việt Nam

⁴ Chi cục Trồng trọt và Bảo vệ thực vật tỉnh Hà Giang

* Email: caovanchicitrus@gmail.com

hiện sự có mặt và mức độ nhiễm của tác nhân gây bệnh vàng lá thối rễ trên cây cam tại một số vùng trồng cam chính của tỉnh Hà Giang. Ở Việt Nam, một trong các tác nhân có liên quan tới bệnh thối rễ, chảy gôm cây có múi (cây cam, cây bưởi) đã được xác định là *Phytophthora citrophora* và *Phytophthora nicotiana* [2]. Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định và nghiên cứu đặc điểm hình thái, sinh học của *P. cucurbitacearum* thu thập từ mẫu đất của vùng rễ bị thối của cây cam tại Hà Giang.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Bệnh vàng lá thối rễ cây cam tại Hà Giang.
- Các mẫu đất và mẫu rễ thu thập trên cây cam ở 3 huyện: Bắc Quang, Quang Bình và Vị Xuyên của tỉnh Hà Giang.
- Tác nhân gây bệnh vùng rễ: Các mẫu *Phytophthora cucurbitacearum* phân lập được từ 4 mẫu đất và rễ tại Phòng thí nghiệm của Bộ môn Bệnh cây, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Các môi trường nuôi cấy nấm

Trong nghiên cứu này, các môi trường WA (Water Agar) được sử dụng để phân lập nấm từ vết bệnh hoặc vết bệnh trên cánh hoa hồng (sau khi bẫy nấm và xuất hiện triệu chứng), PDA (Potato Dextrose Agar), CMA (Corn meal agar), CA (Carrot Agar), PA (Pea Agar) và môi trường V8 - Juice được sử dụng để nhân nấm thuần (PDA) và nghiên cứu sự sinh trưởng, phát triển của nấm gây bệnh.

2.2.2. Nghiên cứu khả năng phát triển của tác nhân gây bệnh vùng rễ cây cam trên một số môi trường nhân tạo

- Phương pháp tiến hành: Lấy đĩa nguồn nấm đã có, dùng ống rỗng đường kính 5 mm đột khoanh nấm *Phytophthora cucurbitacearum* theo vòng tròn trên tản nấm *P. cucurbitacearum* dùng que cấy cấy 1 khoanh vào giữa đĩa môi trường. Thí nghiệm gồm 5 công thức (CT), mỗi công thức với 3 lần nhắc lại, quán băng chống nhện, để ở nhiệt độ phòng.

Công thức 1: Môi trường PDA.

Công thức 2: Môi trường V8.

Công thức 3: Môi trường PA.

Công thức 4: Môi trường CMA.

Công thức 5: Môi trường CA.

- Chỉ tiêu theo dõi: Đo kích thước tản nấm *P. cucurbitacearum* ở các ngày sau khi cấy 1, 2, 3, 4, 5, 6 và 7 ngày.

2.2.3. Phương pháp đánh giá các chỉ tiêu hình thái của tác nhân gây bệnh vùng rễ cây cam

Các chỉ tiêu hình thái của nấm được đánh giá gồm: Tản, sợi, bọc bào tử, hậu bào tử, sợi phồng và du động bào tử.

2.2.4. Phương pháp kích thích sinh bọc bào tử

- Môi trường kích thích sinh học bào tử: Nước vô trùng, dung dịch đất 10% đã hấp khử trùng, dung dịch đất 10%, nước mưa, nước hồ.
- Thí nghiệm gồm 4 công thức (CT) trên các mẫu nấm *P. cucurbitacearum* khác nhau.

+ Công thức 1: Hà Giang 5.

+ Công thức 2: Hà Giang 22.

+ Công thức 3: Hà Giang 11.

+ Công thức 4: Hà Giang 31.

- Phương pháp kích thích sinh học động bào tử:

+ Cấy nấm *P. cucurbitacearum* trên môi trường V8 trong khoảng 6 - 8 ngày (Thời điểm: Tản nấm mọc kín đĩa Petri và bào tử nhiều trên bề mặt thạch), dùng que cấy đã khử trùng cắt đĩa nấm *P. cucurbitacearum* thành những mẫu nhỏ khoảng 1 cm và chuyển sang đĩa Petri mới đã hấp khử trùng.

+ Đổ nước vô trùng, dung dịch đất 10% đã hấp khử trùng, dung dịch đất 10%, nước mưa, nước hồ vào đĩa (10 ml/đĩa). Nuôi cấy dưới ánh đèn huỳnh quang liên tục trong 24 - 48 giờ. Các đĩa được đặt trong điều kiện nhiệt độ phòng để hình thành bọc bào tử. Theo dõi sự hình thành bọc động bào tử ở các đĩa.

+ Để giải phóng động bào tử, các đĩa Petri được để trong tủ lạnh 30 phút ở 5°C. Việc thay đổi đột ngột nhiệt độ sẽ giúp cho các bào tử động dễ dàng được phóng thích ra bên ngoài.

Chiết ADN của *P. cucurbitacearum*. Sau khi đã được nguồn thuần, ADN của *P. cucurbitacearum* được chiết tách theo phương pháp CTAB của Doyle và Doyle (1987) [3]. Phản ứng PCR được thực hiện với cặp mồi ITS4 và ITS5 [4]. Sau đó, sản phẩm PCR được tinh sạch bằng KIT chiết thương mại theo hướng dẫn của nhà sản xuất và được giải trình tự hai chiều tại 1st BASE [5]. Trình tự thu được so sánh với chuỗi gần gũi nhất bằng BLAST sẵn có trên GenBank [6].

2.2.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng phát triển của nấm

- Phương pháp tiến hành: Lấy đĩa nguồn nấm đã có, dùng ống rỗng đường kính 5 mm đột khoanh nấm *P. cucurbitacearum* theo vòng tròn trên tán nấm *P. cucurbitacearum*, dùng que cấy cây 1 khoanh vào giữa đĩa môi trường PDA. Thí nghiệm gồm 5 công thức (CT), mỗi công thức với 3 lần nhắc lại, quán băng chống nện, để ở nhiệt độ phòng. Nguồn *P. cucurbitacearum* sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo là HG22.

Công thức 1: Nhiệt độ 15°C.

Công thức 2: Nhiệt độ 20°C.

Công thức 3: Nhiệt độ 25°C.

Công thức 4: Nhiệt độ 30°C.

Trình tự mẫu HG5:

AAATGAGATGTATTGAATCGAGACTCAAAACATTAAATTCCCAAATGGCGACGACAACCGCAAC
GCACTCCATGAAAAACGACACGCAACAAACGCATCCACCGACCATCCAGCTCACCCCATACAGCA
ACAGCCAAGCGAACACACCCAATAAGCTGCATTGTCAAAGCCGAAGCCTAACATACCGCAAATCGA
GCAATCCACTCTCATGCCATCGCCAAAGGTCACCGGACCCGCCAGCAGACACGGCCGCAGCCGCA
CCCCCATCAAGCACAAAACGGAAAAACACGCGTCCGACTTTTAAAGGGACTCGCAACCTATCCAT
CCAAAAGAAGTGGTTCGACTGCGAGACAACCTCACATCTGCAATCAAAACAACCGACGACTACACGA
CGGAAGAGACGCAAGTTTAGTGTACGGACACTGATACAGACATACTTCCAGGCGTAACCCGAAAGT
GCAATATGCGTTCAAAAGTTCGATGACTCACTGAATCCTGCAATTTCGCATTACGTATCGCAGTTTCG
AGCGTTCTTCATCGATGTGCGAGCCTAGACATCCACTGCTGAAAGTTGTTATCTAGTTT

Trình tự mẫu HG22:

GAGATGTATTGAATCGAGACTCAAAACATTAAATTCCCAAATGGCGACGACAACCGCAACGCAC
TCCATGAAAAACGACACGCAACAAACGCATCCACCGACCATCCAGCTCACCCCATACAGCAACAG
CCAAGCGAACACACCCAATAAGCTGCATTGTCAAAGCCGAAGCCTAACATACCGCAAATCGAGCAA
TCCACTCTCATGCCATCGCCAAAGGTCACCGGACCCGCCAGCAGACACGGCCGCAGCCGCACCCC
CATCAAGCACAAAACGGAAAAACACGCGTCCGACTTTTAAAGGGACTCGCAACCTATCCATCCAA
AAGAAGTGGTCGACTGCGAGACAACCTCACATCTGCAATCAAAACAACCGACGACTACACGACGGA
AGAGACGCAAGTTTAGTGTACGGACACTGATACAGACATACTTCCAGGCGTAACCCGAAAGTGCAA
TATGCGTTCAAAAGTTCGATGACTCACTGAATCCTGCAATTTCGCATTACGTATCGCAGTTTCGAGC
GTTCTTCATCGATGTGCGAGCCTAGACATCCACTGCTGAAAGTTGTCATC

Công thức 5: Nhiệt độ 35°C.

- Chỉ tiêu theo dõi: Đo kích thước tán nấm *P. cucurbitacearum* ở các ngày sau khi cấy 1, 2, 3, 4, 5, 6 và 7 ngày.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu từ tháng 3 năm 2021 đến tháng 3 năm 2022.

Địa điểm nghiên cứu: Vùng cam trồng tại huyện Vị Xuyên, Quang Bình và Bắc Quang của tỉnh Hà Giang.

2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý thống kê sinh học theo phần mềm IRRISTART 5.0 và chương trình Excel.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập và xác định *P. cucurbitacearum*

Hai mẫu đất và rễ, HG5 và HG22 trong tổng số mẫu được thu thập từ vùng đất và rễ bị thối của cây cam có biểu hiện vàng lá. Tác nhân gây bệnh được phân lập từ bẫy cánh hoa hồng từ các mẫu đất, rễ thối. Tác nhân gây bệnh được xác định là *Phytophthora cucurbitacearum* dựa trên trình tự vùng gen ITS và đặc điểm hình thái.

3.2. Đặc điểm hình thái nấm *Phytophthium cucurbitacearum*

Đặc điểm hình thái nấm *P. cucurbitacearum* được trình bày ở bảng 1 và hình 1.

Bảng 1. Đặc điểm hình thái của các mẫu nấm *Phytophthium cucurbitacearum*

Đặc điểm hình thái								
Cảnh mang bọc bào tử	Hình dạng bọc bào tử	Kích thước của bọc bào tử (μm)		Kích thước lỗ giải phóng du động bào tử (μm)	Độ dài trung bình cuống bọc bào tử rụng (μm)	Đường kính hậu bào tử (μm)		Sợi nấm phổ
		Dài	Rộng			Đường kính trung bình (μm)	Vị trí hình thành	
Không phân nhánh	Cầu, trứng, elip, 1 núm	23,9 - 66,5	18,6 - 35,4	3,2 - 5,1	Không rụng	11,25 - 40,5	Đầu sợi	Có



a)



b)



c)



d)

Hình 1. Đặc điểm hình thái của *Phytophthium cucurbitacearum*

Ghi chú: a. bọc bào tử, b. hình thành bọc giả từ bọc bào tử, c. dồn vật chất sang bọc giả, hình thành các du động bào tử, d. giải phóng du động bào tử từ bọc giả.

Các mẫu thu được có đặc điểm hình thái chung là: Bọc bào tử có dạng hình cầu, trứng, ellip, bất định hình, bọc bào tử có núm rõ rệt, chiều dài 23,9 - 66,5 μm và chiều rộng 18,6 - 35,4 μm , kích thước lỗ giải phóng du động bào tử 3,2 - 5,1 μm , nhiều mẫu quan sát thấy hai núm hình thành trên cùng một bọc bào tử và bọc bào tử không rụng. Cành sinh bào tử không phân nhánh. Hậu bào tử hình thành ở đầu sợi, đường kính hậu bào tử 11,25 - 40,5 μm . Sợi *Pythium cucurbitacearum* phồng.

Đặc điểm của *Phytophythium cucurbitacearum* là hình dạng bọc giống với *Phytophthora*, sinh sản thì giống với *Pythium*.

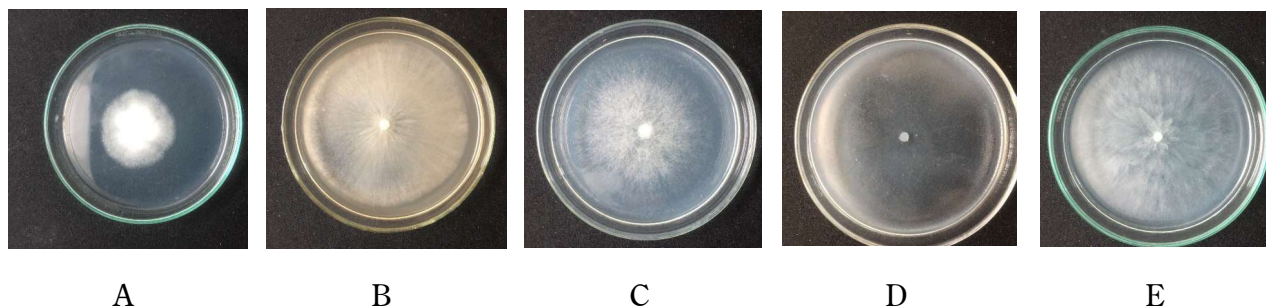
3.3. Nghiên cứu đặc điểm sinh học của nấm *P. cucurbitacearum*

3.3.1. Đặc điểm của một số môi trường nhân tạo lên khả năng phát triển của nấm *P. cucurbitacearum*

Môi trường dinh dưỡng ảnh hưởng rất lớn đến sự sinh trưởng và phát triển của nấm, xác định môi trường dinh dưỡng nhân tạo nhằm đánh giá tốc độ phát triển của nấm *P. cucurbitacearum* trên từng môi trường. Từ đó, xác định được môi trường nào là thích hợp nhất cho sự phát triển và sinh trưởng của nấm gây bệnh trên cây ăn quả có múi. Kết quả được trình bày ở bảng 2 và hình 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của môi trường tới sự phát triển của nấm *P. cucurbitacearum*

Công thức	Kích thước tản sau các ngày nuôi cấy (mm)						
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5	Ngày 6	Ngày 7
CT1 (Môi trường PDA)	5,83 ^d	10,17 ^d	15,33 ^e	23,83 ^e	30,83 ^d	37,17 ^d	43,33 ^d
CT 2 (Môi trường V8)	7,50 ^b	18,83 ^b	34,17 ^b	47,83 ^b	58,67 ^b	67,67 ^b	75,67 ^b
CT 3 (Môi trường PA)	5,00 ^d	15,00 ^c	26,83 ^d	39,50 ^d	48,33 ^c	59,33 ^c	65,50 ^c
CT4 (Môi trường CMA)	6,00 ^c	18,67 ^b	29,17 ^c	43,00 ^c	49,17 ^c	58,33 ^c	67,33 ^c
CT5 (Môi trường CA)	10,17 ^a	26,00 ^a	45,00 ^a	57,67 ^a	70,17 ^a	80,17 ^a	90,00 ^a
LSD _{0,05}	0,08	0,23	0,42	0,49	0,57	0,62	0,67



Hình 2. Ảnh hưởng của môi trường tới sự phát triển của nấm *P. cucurbitacearum*

Ghi chú: A. Môi trường PDA, B. Môi trường V8, C. Môi trường PA, D. Môi trường CMA, D. Môi trường CA.

Kết quả bảng 2 và hình 2 cho thấy, khi nuôi cấy trên 5 loại môi trường khác nhau, nấm *P. cucurbitacearum* đều có khả năng phát triển, tản có sợi mọc trắng mịn. Tuy nhiên, ở trên các môi trường khác nhau thì hình thái tản và tốc độ phát triển là khác nhau. Nuôi cấy trên môi trường CA đã tạo điều kiện kích thích sợi nấm *P. cucurbitacearum* phát triển tốt nhất, sau 7 ngày nuôi cấy trên đĩa petri đều đạt kính thước là 90,00 mm. Nấm *P. cucurbitacearum* mọc tốt trên môi trường V8, kích thước đạt 75,67 mm; môi trường PA và CMA ghi nhận kích thước tản nấm mọc khá tương đồng, lần lượt là 65,50 mm và 67,33 mm. Tuy nhiên, sợi nấm trên môi trường CMA mọc thưa thớt và mỏng hơn, môi trường PDA có kích thước tản nấm mọc chậm nhất với kích thước 43,33 mm,

nhưng sợi nấm trên môi trường này lại mọc dày và xốp nhất trong số các môi trường.

Hình thái hệ sợi nấm trên các môi trường được quan sát như sau: Môi trường PDA hình hoa sợi dày và xốp, môi trường V8 hình hoa cúc, môi trường PA hình sợi thưa, môi trường CMA hình sợi thưa và thưa hơn môi trường PA, môi trường CA hình sao sợi nấm mọc thưa.

Kết quả thí nghiệm ghi nhận, môi trường PA là môi trường thuận lợi nhất cho sự sinh trưởng và phát triển của *P. cucurbitacearum*, vì trên môi trường này đường kính tản phát triển khá nhanh, đồng thời hệ sợi phát triển dày. Kết quả này tương tự với những nghiên cứu trước đây [7].

3.3.2. Đánh giá khả năng hình thành bọc bào tử của *P. cucurbitacearum* với các môi trường nước khác nhau

Bảng 3. Khả năng hình thành bọc bào tử của *P. cucurbitacearum* với các môi trường nước khác nhau

Công thức	Nước vô trùng		Dung dịch đất 10% đã hấp khử trùng		Dung dịch đất 10%		Nước mưa		Nước hồ	
	Bọc bào tử	Du động bào tử	Bọc bào tử	Du động bào tử	Bọc bào tử	Du động bào tử	Bọc bào tử	Du động bào tử	Bọc bào tử	Du động bào tử
CT1 (HG5)	+	-	+	+	+	-	++	+	+	+
CT2 (HG22)	++	+	+	-	+	-	-	-	++	+
CT3 (HG11)	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
CT4 (HG31)	+	+	++	++	+	+	++	+	++	++

Bảng 3 cho thấy, *P. cucurbitacearum* khi được kích thích bọc bào tử với các nguồn nước khác nhau có sự khác biệt về lượng bọc bào tử hình thành và du động bào tử được giải phóng. Trong đó, nguồn nước hồ và dung dịch đất 10% đã hấp khử trùng tạo điều kiện cho sự hình thành bọc bào tử và giải phóng du động bào tử tốt, hình thành bọc trên mọi nguồn nấm *P. cucurbitacearum*. Nguồn nước từ dung dịch đất 10% tuy có hình

thành bọc bào tử nhưng lượng du động bào tử được giải phóng lại không được quan sát thấy. Nguồn nước vô trùng và nước mưa kích thích được hình thành bào tử và chỉ không xuất hiện du động bào tử ở 1 số nguồn nấm.

Kết quả ghi nhận rằng, nguồn nước hồ và dung dịch đất 10% đã hấp khử trùng là thích hợp nhất cho sự hình thành bọc bào tử và giải phóng du động bào tử của nấm *P. cucurbitacearum* do

bọc bảo tử hình thành trên hai nguồn nước này nhiều hơn so với các môi trường khác.

3.3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng phát triển của nấm *P. cucurbitacearum*

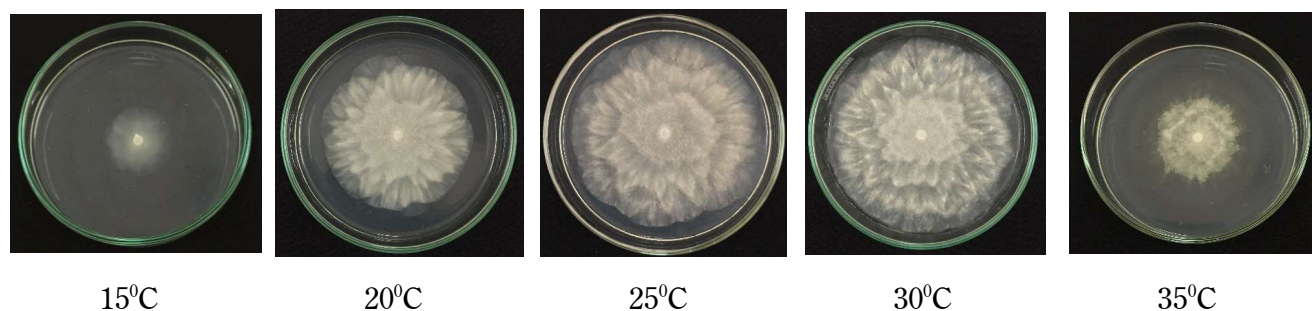
Nhiệt độ là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng tới khả năng sinh trưởng, phát triển của các vi sinh vật, tác nhân gây bệnh cho cây trồng. Mỗi

loài khác nhau sẽ có ngưỡng nhiệt độ nhất định để phát triển tốt nhất. Việc nghiên cứu ảnh hưởng của các mức nhiệt độ khác nhau nhằm tìm ra ngưỡng nhiệt độ mà nấm *P. cucurbitacearum* gây hại trên cây cam có khả năng phát triển tốt nhất, để từ đó đưa ra được các biện pháp phòng trừ phù hợp. Kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 4 và hình 3.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng phát triển của nấm *P. cucurbitacearum*

Công thức	Kính thước tản sau các ngày nuôi cấy (mm)						
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5	Ngày 6	Ngày 7
CT1 (Nhiệt độ 15°C)	9,67 ^e	20,50 ^e	31,00 ^e	42,67 ^c	53,33 ^c	62,50 ^c	72,33 ^c
CT2 (Nhiệt độ 20°C)	29,83 ^d	52,00 ^c	67,33 ^c	90,00 ^a	90,00 ^a	90,00 ^a	90,00 ^a
CT3 (Nhiệt độ 25°C)	35,00 ^b	62,50 ^b	81,50 ^b	90,00 ^a	90,00 ^a	90,00 ^a	90,00 ^a
CT4 (Nhiệt độ 30°C)	36,83 ^a	66,17 ^a	90,00 ^a	90,00 ^a	90,00 ^a	90,00 ^a	90,00 ^a
CT5 (Nhiệt độ 35°C)	32,00 ^c	47,50 ^d	53,83 ^d	58,33 ^b	66,00 ^b	74,00 ^b	82,00 ^b
LSD _{0,05}	0,43	0,71	0,92	0,88	0,67	0,49	0,31

Ghi chú: Đường kính đĩa petri d=90 mm; a, b, c, d, e và f là chỉ số dùng để so sánh sự sai khác giữa các công thức sau các ngày nuôi cấy.



Hình 3. Sự phát triển của nấm *P. cucurbitacearum* trên các mức nhiệt độ khác nhau

Một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sự phát triển, khả năng gây hại của tác nhân gây bệnh là nhiệt độ. Việc nắm bắt được nhiệt độ phát triển của nấm gây bệnh giúp xác định được thời điểm phát sinh, phát triển của tác

nhân gây bệnh trên đồng ruộng, qua đó giúp quản lý phòng chống bệnh một cách tốt hơn.

Từ kết quả theo dõi ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự phát triển của nấm *Pythium cucurbitacearum* có thể thấy, nấm *P.*

cucurbitacearum gây bệnh trên cây ăn quả có múi có thể phát triển trong khoảng nhiệt độ từ 15 - 35°C.

Tuy nhiên, khoảng nhiệt độ thích hợp nhất cho sự phát triển của nấm *Pythium cucurbitacearum* là từ 20 - 30°C. Sau 3 ngày thì sợi nấm đã mọc kín đĩa có đường kính 90 mm ở nhiệt độ 30°C. Sợi nấm ở ngưỡng nhiệt độ 20°C và 25°C trong ngày thứ ba đạt kích thước lần lượt là 67,33 mm và 81,50 mm và mọc kín đĩa trong ngày thứ tư. Ở mức nhiệt độ 15°C và 35°C nấm phát triển chậm hơn, kích thước tán nấm đạt lần lượt là 31,00 mm và 53,83 mm ở ngày thứ ba. Kích thước của tán nấm sau 7 ngày ở hai mức nhiệt độ này là 72,33 mm (ở mức 15°C) và 82,00 mm (ở mức 35°C). Do vậy, ngưỡng nhiệt độ từ 20 - 30°C là điều kiện thích hợp nhất cho sự phát triển của nấm *Pythium cucurbitacearum* gây thối rễ trên cây có múi. Kết quả này cũng tương tự với nghiên cứu của Krystel và cs (2021) [8].

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Tác nhân liên quan đến bệnh thối rễ cây cam được xác định là *Phytophythium curcubitaceae*.

Trong 5 môi trường nuôi cấy khác nhau (PDA, V8, PA, CMA và CA) thì *P. cucurbitacearum* cấy trên môi trường CA phát triển tốt nhất, sau 7 ngày nuôi cấy trên đĩa petri đều đạt kích thước là 90,00 mm; sau đó đến môi trường V8, kích thước đạt 75,67 mm; môi trường PA và CMA ghi nhận kích thước tán nấm mọc khá tương đồng, lần lượt là 65,50 mm và 67,33 mm; môi trường PDA có kích thước tán nấm mọc chậm nhất với kích thước 43,33 mm.

Nhiệt độ ảnh hưởng đến sự phát triển của *P. cucurbitacearum*. Sau 3 ngày nuôi cấy sợi nấm đã mọc kín đĩa có đường kính 90 mm ở nhiệt độ 30°C; ở ngưỡng nhiệt độ 20°C và 25°C trong ngày thứ 3 đạt kích thước lần lượt là 67,33 mm và 81,50 mm và mọc kín đĩa trong ngày thứ tư. Ở mức nhiệt độ 15°C và 35°C nấm phát triển chậm hơn (31,00 mm và 53,83 mm) ở ngày thứ ba. Do vậy, ngưỡng nhiệt độ từ 20 - 30°C là điều kiện thích hợp nhất cho sự phát triển của nấm *P. cucurbitacearum* gây thối rễ trên cây ăn quả có múi.

4.2. Kiến nghị

Nghiên cứu này cung cấp thêm thông tin về tác nhân *P. cucurbitacearum* liên quan tới bệnh bệnh thối rễ cây cam tại Hà Giang. Tiếp tục thực hiện các nghiên cứu về phòng chống tác nhân gây bệnh này trong các nghiên cứu tiếp theo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cao Văn Chí, Hà Viết Cường, Nguyễn Đức Huy, Bùi Quang Đăng, Phạm Hồng Hiên, Lương Thị Huyền, Nguyễn Văn Trọng, Nguyễn Thị Bích Lan, Giang Đức Hiệp (2023). Nghiên cứu đặc điểm virus, vi khuẩn gây suy thoái vùng cam Hà Giang. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, số 462, tr. 42 - 50.
2. Quang Van Tran, Cuong Viet Ha, Valentin Valentinovich Vvedensky and Viet Cuong Han (2020). Current status and characterization of *Phytophthora* species associated with gummosis of citrus in Northern Vietnam. *Journal of Phytopathology*. Vol. 171 (9), p. 477 - 488.
3. Doyle, J. J. and Doyle J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, Vol. 19 (1), p. 11 - 15.
4. White, T. J., T. D. Bruns, S. B. Lee and J. W. Taylor (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA Genes for phylogenetics. PCR Protocols, Publisher: Academic Press, Inc, p. 315 - 322.
5. 1st Base Contract Manufacturing. <https://base-asia.com/>. Ngày truy cập 10/8/2023.
6. Basic Local Alignment Search Tool. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. Ngày truy cập 10/08/2023.
7. Milosz Tkaczyk (2020). *Phytophythium*: origin, differences and meaning in modern plant pathology. *Folia Forestalia Polonica, Series A - Forestry*, Vol. 62 (3), p. 227 - 232.
8. Krystel A. Navarro, Saranga Wijeratne, Steve W. Culman, Maria-Soledad Benitez and Anne E. Dorrance (2021). The Effect of Incubation Temperature on the Species Composition of *Phytophthora*, *Phytophythium* and *Pythium* Communities Associated with Soybean. *Phytobiomes*, Vol. 5 (2), p. 1 - 37.

RESEARCH ON IDENTIFICATION AND THE CHARACTERISTICS OF FUNGUS *Phytophthium cucurbitacearum* CAUSING ROOT ROT DISEASE OF ORANGE TREE IN HA GIANG

Cao Van Chi¹, Nguyen Duc Huy³, Bui Quang Dang²,
Pham Hong Hien², Luong Thi Huyen¹, Giang Duc Hiep⁴, Nguyen Van Trong¹

¹*Citrus Research and Development Centre*

²*Vietnam Academy of Agricultural Sciences*

³*Vietnam National University of Agriculture*

⁴*Department of Crop Production and Plant Protection of Ha Giang province*

Summary

This research identification and the characteristics of fungus *Phytophthium cucurbitacearum* causing the root rot disease and degradation of orange in Ha Giang, where soil and orange root samples were collected from 3 orange-growing districts in Ha Giang province (Vi Xuyen, Quang Binh and Bac Quang). Research results showed that *P. cucurbitacearum* has a spherical, ovate, elliptical, amorphous spore capsule with a distinct knob, 21.2 - 68.5 µm in length and 18.6 - 37.25 µm in width, with a pore size of 3.2 - 5.6 µm. *P. cucurbitacearum* grown on CA medium showed the best growth, after 7 days of culture on petri dishes, the diameter of 90.00 mm was achieved; the next one is the V8 environment, the size of 75.67 mm was reached; PA and CMA medium yielded the size of the fungus of 65.50 and 67.33 mm, respectively; PDA medium had the slowest growth of the fungus with a size of 43.33 mm. The most favorable temperature for the growth of *P. cucurbitacearum* is from 20°C - 30°C; after 3 days, the mycelium had grown covering the plates with a diameter of 90 mm at 30°C; at temperature thresholds of 20°C and 25°C on the third day, the sizes were 67.33 and 81.50 mm, respectively, and the plates were fully grown on the fourth day; The temperature range of 20°C - 30°C provides the most suitable condition for the growth of *P. cucurbitacearum* causing root rot on citrus.

Keywords: *Orange, Phytophthium cucurbitacearum, root rot disease, Ha Giang.*

Người phản biện: GS.TS. Nguyễn Văn Tuất

Ngày nhận bài: 18/8/2023

Ngày thông qua phản biện: 01/9/2023

Ngày duyệt đăng: 30/01/2024