

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM SINH VẬT HỌC CỦA BỆNH KHÔ LÁ CẨM LAI VÚ

Bùi Mai Hương¹

TÓM TẮT

Kết quả nghiên cứu cho thấy nấm gây bệnh khô lá Cẩm lai vú đã xác định là: Loài nấm Đĩa gai (*Colletotrichum gloeosporioides*, (Penz.) Penz and Sacc), chi nấm bào tử Đĩa gai (*Colletotrichum*), họ nấm Đĩa (Melanconiaceae), bộ nấm Đĩa (Melanconiales), ngành phụ nấm Bất toàn (Deuteromycetes), ngành nấm Thật (Eumycota). Đây là loài nấm ưa độ ẩm cao (80–100%), sinh trưởng và phát triển tốt trên môi trường a xít nhẹ, nhiệt độ thích hợp của bào tử nấm nảy mầm mạnh nhất ở nhiệt độ 25°C đặc biệt trong thời gian 9 giờ đầu, đến sau 32 giờ hầu như bào tử nấm đã nảy mầm gần hết ở các mẫu nghiên cứu. Nấm *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc sinh trưởng và phát triển tốt trong môi trường dinh dưỡng PDA. Nấm phát triển nhanh nhất trong thời gian 5 ngày đầu thí nghiệm nuôi cấy. Nấm kị khí sinh, sống ở mô chết lẫn mô sống. Thử nghiệm một số loại thuốc phòng trừ bệnh khô lá Cẩm lai vú, thuốc Belate 0.2% có hiệu lực ức chế nảy mầm của nấm *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc cao hơn thuốc Bordo 1% và hợp chất lưu huỳnh - vôi 0,5%.

Từ khóa: Bào tử, Cẩm lai vú, nấm bệnh, sợi nấm, vật gây bệnh.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cẩm lai vú (*Dalbergia oliver* Pierre) là loài cây thuộc họ đậu, một loài cây gỗ quý, được xếp vào nhóm gỗ loại I, thường phân bố nhiều ở các tỉnh Gia Lai, Kon Tum, Đắk Lắk, Đồng Nai, Tây Ninh..., là một trong số những loài cây đa tác dụng, gỗ không bị mối mọt, ít biến dạng, dùng để đóng đồ cao cấp, đồ mỹ nghệ... gỗ có giá trị xuất khẩu cao. Do giá trị sử dụng và xuất khẩu của loài cây này nên thực tế cây Cẩm lai vú đã bị khai thác mạnh dẫn đến sản lượng cá thể còn rất ít. Để bảo tồn và phát triển loài cần phải tăng diện tích, bằng nhiều hình thức gieo ươm và trồng mới.

Hiện nay bệnh khô lá Cẩm lai vú đang xuất hiện và lây lan rất nhanh đối với cây con ở vườn ươm, rừng trồng. Bệnh nặng thường làm cho cây bị khô lá và chết hàng loạt, đặc biệt là đối với cây con ở vườn ươm. Do đó làm ảnh hưởng đến nguồn cung cấp giống cây con về số lượng và chất lượng. Vì vậy, tìm hiểu đặc điểm sinh vật học của vật gây bệnh là việc làm cần thiết, trên cơ sở đó đưa ra những biện pháp quản lý dịch bệnh kịp thời có hiệu quả, ngăn ngừa dịch bệnh xuất hiện.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

- Xác định vật gây bệnh
- Phân lập vật gây bệnh
- Nghiên cứu đặc điểm sinh vật học của vật gây bệnh.
- Thử nghiệm một số loại thuốc hóa học tới khả năng nảy mầm của bào tử nấm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Xác định vật gây bệnh

Thu thập mẫu lá bị bệnh cho cây con 1 tuổi tại vườn ươm (thuộc Viện Sinh thái rừng và Môi trường, Đại học Lâm nghiệp), mô tả triệu chứng xuất hiện trên lá. Dùng dao lấy thể quả, cắt ngang đốm bệnh thành các lát cắt mỏng, cho vào lam kính có chứa giọt nước cất đầy la men, đưa lên kính hiển vi quan sát bào tử, đĩa bào tử. Tiến hành mô tả hình thái, đo kích thước, chụp ảnh bào tử và đĩa bào tử; dựa vào tài liệu phân loại nấm của Zao Liping (1983), F.G Browne (1968) để xác định.

- Phân lập vật gây bệnh

Cắt đốm bệnh thành các miếng nhỏ, diện tích khoảng 2-3 mm², rửa bằng nước cất sau đó

¹ThS. Trường Đại học Lâm nghiệp

ngâm mẫu vật trong dung dịch còn 70 độ khoảng 10 phút. Vớt các mẫu ra rửa lại 3 - 4 lần, đặt các mẫu bệnh rửa sạch trên các đĩa petri có chứa môi trường PDA đã được khử trùng. Sau khi nấm mọc tiến hành phân lập cấy truyền sang hộp lồng mới có môi trường PDA đã được khử trùng. Khi thấy nấm mọc tốt, thuần không bị lẫn tạp với các loại nấm mốc khác thì dừng lại.

- Nghiên cứu đặc điểm sinh vật học của vật gây bệnh

NaCl (g%)	0	8	16	24	32
RH%	100	95	90	85	80

Dung dịch pha xong đổ vào bình hút ẩm loại lớn, đậy nắp lại. Sau 48 giờ trong các bình hút ẩm khác nhau sẽ có độ ẩm không khí khác nhau, phụ thuộc vào nồng độ của NaCl. Đặt các hộp lồng cấy giống nấm đã được phân lập vào các bình hút ẩm có độ ẩm không khí khác nhau.

+ Ảnh hưởng của pH môi trường đến sinh trưởng và phát triển của khuẩn lạc.

Môi trường lồng nước khoai tây đã đun sôi, lọc và để nguội + 3,5g thạch + 4g đường D-glucosa. Mỗi phần 200 ml đựng trong bình tam giác. Đo pH để xác định trị số pH của môi trường, dùng HCl 10%, NaOH để điều chỉnh các mức pH của môi trường. Đồ môi trường đã được hấp khử trùng có các mức pH khác nhau vào hộp lồng dày 2-3 mm. Sau 2 giờ để mặt thạch khô, cấy nấm vào hộp lồng.

- Thử nghiệm một số loại thuốc hóa học tới khả năng nảy mầm của bào tử nấm.

Sử dụng thuốc Bordo 1%, Benlate 0.2%, hợp chất lưu huỳnh - vôi 0,5% và nước cất để làm công thức đối chứng. Nhỏ riêng biệt 1-2 giọt mỗi loại thuốc trên lên lam kính, mỗi loại thuốc thực hiện trên 10 mẫu lam kính, lấy bào tử nấm cho vào các lam kính. Đưa lam kính lên

+ Ảnh hưởng của nhiệt độ đến tỷ lệ nảy mầm của bào tử

Đặt các lam kính có chứa bào tử vào hộp lồng để vào tủ định ôn có mức nhiệt độ khác nhau: 15°C, 20°C, 25°C. Sau 9h, 24h, 32h kiểm tra tỷ lệ nảy mầm, đo tốc độ nảy mầm của bào tử trên một hiển vi trường.

+ Ảnh hưởng của độ ẩm không khí đến sinh trưởng và phát triển của khuẩn lạc.

Pha NaCl với nồng độ như sau:

kính hiển vi để kiểm tra sự có mặt của bào tử nấm, đặt lam kính vào hộp lồng có giữ ẩm. Kiểm tra tỷ lệ nảy mầm của bào tử.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định vật gây bệnh khô lá Cẩm lai vú

+ Triệu chứng của bệnh

Triệu chứng ban đầu trên lá xuất hiện các đốm tròn và gần tròn màu nâu thẫm, sau lan rộng ra có màu vàng hoặc nâu nhạt, tạo thành những đám khô lớn ở mép lá, xung quanh vết bệnh đường viền màu nâu thẫm, bệnh lan rộng làm cho cả lá khô hoàn toàn, bệnh thường khô từ ngọn lá khô vào. Trong điều kiện ẩm những phần lá bị bệnh xuất hiện các chấm nhỏ màu đen, đó là cơ quan sinh sản của nấm. Bệnh chủ yếu xuất hiện và gây hại ở những lá già.

+ Đặc điểm của nấm bệnh

Sau khi quan sát trên kính hiển vi có độ phóng đại từ 400-1.000 lần chúng tôi thấy: Bào tử phân sinh đơn bào, không màu, bào tử trong suốt, tế bào có dạng hình hạt gạo dài, hai đầu tù, bên trong có 2-4 giọt dầu hình tròn, không màu, ở hai đầu bào tử; bào tử có kích thước 12.48-15.02 x 3.26-5.68 μm ; Đĩa bào tử màu nâu nhạt, mọc chìm dưới biểu bì của lá,

sau đó lộ ra bên ngoài màu đen, khi già nứt ra và bào tử bay ra ngoài gặp điều kiện thuận lợi nảy mầm, thực hiện quá trình xâm nhiễm mới trong mùa sinh trưởng; Đĩa bào tử có kích thước 105-205.2 x 41.6–68.3 μm . Từ đặc điểm hình thái vật gây bệnh, đối chiếu với các tài liệu phân loại nấm của tác giả ZaoLiping (1983), F.G.Brown (1968), nấm gây bệnh khô lá Cẩm lai vú chúng tôi xác định như sau: Loài nấm Đĩa gai (*Colletotrichum gloeosporioides* – tác giả: enz, Sacc), chi nấm bào tử Đĩa gai (*Colletotrichum*), họ nấm Đĩa (Melanconiaceae), bộ nấm Đĩa (Melanconiales), ngành phụ nấm Bất toàn (Deuteromycetes), ngành nấm Thật (Eumycota).

3.2. Phân lập vật gây bệnh

Khi nuôi cấy nấm *Colletotrichum gloeosporioides* trong môi trường PDA, khuẩn lạc thu được thuần khiết màu trắng, không có khía, mọc ngắn, độ dày tương đối đồng đều, khuẩn lạc mọc nhanh, sinh trưởng và phát triển đều về các hướng.

3.3. Nghiên cứu đặc điểm sinh vật học của vật gây bệnh

+ Ảnh hưởng của nhiệt độ đến tỷ lệ nảy mầm của bào tử

Trong thí nghiệm theo dõi tỷ lệ nảy mầm của bào tử ở các nhiệt độ không khí khác nhau, kết quả được thể hiện ở biểu sau:

Biểu 01. Tỷ lệ nảy mầm của bào tử ở các nhiệt độ khác nhau

Nhiệt độ (°C)	Tỷ lệ nảy mầm của bào tử (%)		
	Sau 9 giờ	Sau 24 giờ	Sau 32 giờ
15°C	5,82	23,77	71,64
20°C	20,95	41,78	82,56
25°C	54,71	84,76	98,02

Qua biểu trên cho biết bào tử nảy mầm trong khoảng nhiệt độ từ 15–25°C, nhiệt độ thích hợp của bào tử nảy mầm mạnh nhất ở nhiệt độ 25°C đặc biệt trong 9 giờ đầu. Tỷ lệ nảy mầm của bào tử ở nhiệt độ khác nhau theo thời gian cho thấy ở điều kiện nhiệt độ 15°C tỷ lệ nảy mầm của bào tử thấp trong 9 giờ đầu là 5,82% lúc này bào tử ít nảy mầm. Nhiệt độ 25°C hầu như bào tử đã nảy mầm gần hết đạt 98,02% sau 32 giờ.

Kết quả thí nghiệm cho thấy khi gặp điều kiện nhiệt độ thích hợp bào tử nảy mầm tập trung trong khoảng 9 giờ đầu đến 32 giờ hầu như bào tử đã nảy mầm gần hết.

Kết quả nghiên cứu thí nghiệm theo dõi tốc độ nảy mầm của bào tử ở điều kiện môi trường có nhiệt độ không khí thích hợp là 25°C, được thể hiện ở biểu sau:

Biểu 02. Tốc độ nảy mầm của bào tử nấm ở nhiệt độ không khí 25°C

Thời gian	Sau 9 giờ	Sau 24 giờ	Sau 32 giờ
Tốc độ nảy mầm(μm)	3,40	2,98	2,54

Từ biểu trên cho thấy: Tốc độ nảy mầm của bào tử ở nhiệt độ không khí 25°C đạt trị số cao

trong khoảng sau 9–32 giờ, lớn nhất sau 9 giờ đạt 3,40 μm và giảm dần sau 24 giờ. Thời gian

sau 32 giờ xuất hiện một số bào tử ngừng sinh trưởng. Vì vậy bào tử nảy mầm được là do có chất dinh dưỡng chứa sẵn trong bào tử và điều kiện môi trường thuận lợi, thời gian sau đó chất dinh dưỡng chứa sẵn trong bào tử giảm dần và hết làm cho bào tử ngừng sinh trưởng, ống mầm teo đi. Do trong điều kiện để ẩm khi làm thí nghiệm, nấm không lập quan hệ ký sinh trên cây chủ nên chúng không thể hút chất dinh dưỡng từ môi trường bên ngoài, vì vậy khi chất dinh dưỡng có trong bào tử hết thì bào tử ngừng sinh trưởng và chết.

+ Đặc điểm nảy mầm của bào tử

Thời gian chuẩn bị nảy mầm bào tử có hiện

tượng mập, bào tử bắt đầu phình to ở một đầu của bào tử sợi mầm nhú lên và mọc dài ra, đoạn sợi nấm gần bào tử rất to, sau nhỏ dần. Sợi mầm không màu, trong suốt, thường được mọc từ một đầu của bào tử, đôi khi xuất hiện bào tử vô tính nảy mầm cả hai đầu của bào tử. Sau 24 giờ sợi nấm mọc dài ra bắt đầu có sự phân nhánh bên, tại chỗ phân nhánh kích thước lớn hơn, của sợi nấm phân nhánh thường vát gần nhọn.

+ Ảnh hưởng của độ ẩm không khí đến sinh trưởng và phát triển của khuẩn lạc

Kết quả thí nghiệm được tổng hợp trong biểu sau:

Biểu 03. Ảnh hưởng của độ ẩm đến sinh trưởng và phát triển của khuẩn lạc

Độ ẩm (W%)	Đường kính khuẩn lạc (Dmm)					
	1 ngày	2 ngày	3 ngày	4 ngày	5 ngày	6 ngày
80%	9,80	11,29	11,02	23,39	7,44	7,24
85%	10,45	12,43	9,13	18,12	10,90	9,03
90%	12,01	11,49	10,85	25,12	16,43	13,40
95%	10,73	12,21	9,74	15,64	12,30	9,39
100%	9,61	10,58	11,69	18,75	11,87	7,2

Kết quả thí nghiệm ở biểu 03 cho thấy khuẩn lạc sinh trưởng, phát triển tốt độ ẩm 80–100%, độ ẩm không khí 90% khuẩn lạc sinh trưởng và phát triển mạnh nhất, ở độ ẩm 80%, 100% khuẩn lạc phát triển chậm. Tốc độ sinh trưởng, phát triển của khuẩn lạc nhanh nhất trong thời gian 5 ngày đầu.

Trong các loại độ ẩm không khí trên sự biến đổi màu sắc của khuẩn lạc, không có sự khác biệt, gần như là đồng nhất khuẩn lạc bông màu có màu trắng, mọc ngắn và nhô cao ở giữa. Với kết quả trên cho thấy đây là loài nấm ưa

độ ẩm rất cao. Ở điều kiện môi trường có độ ẩm không khí thích hợp cùng với nhiệt độ, đã tạo thuận lợi cho bào tử nấm nảy mầm, xâm nhiễm vào cây chủ và lây lan rất nhanh.

+ Nghiên cứu ảnh hưởng của pH môi trường đến sinh trưởng và phát triển của khuẩn lạc

Độ pH của môi trường là yếu tố ảnh hưởng đến sự phát triển của nấm bệnh, ở các môi trường có độ pH khác nhau: trung tính, a xít hay kiềm thì sự phát triển của nấm bệnh cũng khác nhau.

Biểu 04. Ảnh hưởng của pH đến sinh trưởng và phát triển của khuẩn lạc

pH	Đường kính khuẩn lạc (Dmm)						
	1 ngày	2 ngày	3 ngày	4 ngày	5 ngày	6 ngày	7 ngày
4,0	11,57	12,07	10,04	9,87	11,46	4,59	3,8
5,0	8,64	12,41	10,67	9,96	10,17	10,58	14,30
6,0	6,59	10,82	10,17	9,62	9,68	8,49	11,27
7,0	4,01	5,74	6,50	15,12	10,00	8,93	11,15
8,0	3,12	4,81	4,19	8,63	8,60	8,15	6,37

Kết quả trên cho thấy: khuẩn lạc sinh trưởng và phát triển được trong môi trường có pH từ 4,0–8,0 thích hợp nhất với môi trường pH = 5. Ở các môi trường pH tiến hành thí nghiệm có sự chênh lệch khác biệt nhau về sinh trưởng phát triển đường kính khuẩn lạc được thấy rõ ở 3 ngày đầu. Trong 5 ngày đầu tốc độ sinh trưởng, phát triển đường kính khuẩn lạc ở môi trường pH = 4 nhanh và mạnh hơn so với các môi trường pH khác, những ngày về sau tốc độ sinh trưởng giảm và chậm dần, môi trường pH = 5 tăng lên. Môi trường pH = 8 khuẩn lạc sinh trưởng, phát triển kém

nhất. Như vậy kết quả nghiên cứu cho thấy nấm *Colletotrichum gloeosporioides* sinh trưởng, phát triển tốt trong môi trường a xít nhẹ, còn ở môi trường kiềm sợi nấm sinh trưởng và phát triển kém. Màu sắc của khuẩn lạc đều có sự đồng nhất, không có sự khác biệt nhau về màu sắc.

4.4. Ảnh hưởng của một số loại thuốc hóa học tới khả năng nảy mầm của bào tử nấm.

Thử nghiệm thuốc hóa học được tiến hành có kết quả như sau:

Biểu 05. Hiệu lực ức chế nảy mầm của một số loại thuốc hóa học

Loại thuốc	Tỷ lệ nảy mầm(%)	Hiệu lực ức chế nảy mầm (%)
Bordô 1%	12,89	87,11
Lưu huỳnh vôi 5°Be	41,07	58,93
Belate 0,2%	0,00	100,00
Nước cất	96,01	3,99

Từ biểu trên cho thấy các loại thuốc khác nhau có hiệu lực diệt nấm khác nhau. Khả năng ức chế nảy mầm bào tử nấm *Colletotrichum gloeosporioides* của dung dịch Belate 0,2% là tốt nhất (100%), sau đó đến dung dịch nước bordô (87%), hợp hợp chất lưu huỳnh vôi 5°Be (58,93%), cuối cùng là công thức đối chứng (3,99%).

4.5. Đề xuất một số biện pháp phòng trừ

- Bào tử nấm nảy mầm thích hợp trong điều kiện nhiệt độ và ẩm độ cao nhất là vào mùa hè nóng ẩm. Vì vậy ngay từ cuối mùa xuân, đầu

mùa hè cần theo dõi thường xuyên để có biện pháp phòng trừ kịp thời không cho bệnh lây lan và phát triển.

- Khi điều kiện thời tiết thuận lợi mưa nhiều và nhiệt độ cao, thích hợp cho nấm bệnh phát triển mạnh, do đây là vật gây bệnh truyền nhiễm, nên việc diệt nguồn bệnh là rất quan trọng. Vì vậy cần phải làm tốt công tác vệ sinh vườn ươm, diệt nguồn bệnh như: nhặt sạch cỏ, túi bầu vương vãi, lá bệnh đã rụng mang đi đổ thật xa vườn ươm, đem đốt hoặc chôn sâu dưới đất.

- Đối với những cây mới xuất hiện bệnh, có thể dùng biện pháp thủ công cắt bỏ lá bệnh, khi

cây con bị nhiễm bệnh nặng dùng thuốc Benlat 0,2% để phun hạn chế sự sinh trưởng và phát triển của nấm bệnh.

- Do bệnh thường phát sinh nhiều trên những lá già vì vậy cần phải thường xuyên bón lân và kali để tăng độ dày tầng cu tin của lá, nâng cao sức chống chịu bệnh của cây Cẩm lai vú hạn chế sự xâm nhập của vật gây bệnh.

- Không nên sử dụng đất đóng bầu, gieo ươm có tính a xít nhẹ, đây là loại đất thích hợp cho nấm bệnh sinh trưởng và phát triển mạnh, khi có vật gây bệnh xuất hiện.

IV. KẾT LUẬN

+ Nấm gây bệnh khô lá Cẩm lai vú thuộc:

- Loài nấm Đĩa gai: (*Colletotrichum gloeosporioides*, (Penz.), Sacc), chi nấm bào tử Đĩa gai (*Colletotrichum*), họ nấm Đĩa (Melanconiaceae), bộ nấm Đĩa (Melanconiales), ngành phụ nấm Bất toàn (Deuteromycetes), ngành nấm Thật (Eumycota).

+ Bào tử nảy mầm được trong khoảng nhiệt độ từ 15–25°C, thích hợp nhất là nhiệt độ 25°C. Ở nhiệt độ 25°C sau 9 giờ tỷ lệ bào tử nảy mầm 54,71%, đến 32 giờ đạt 98,02%. Tốc độ bào tử nảy mầm lớn nhất sau 9 giờ đạt 3,40 µm.

+ Nấm *Colletotrichum gloeosporioides* sinh

trưởng, phát triển tốt trong môi trường PDA. Độ ẩm từ 80-100%, thích hợp nhất ở độ ẩm không khí 90%. Đây là loài nấm ưa độ ẩm cao.

+ Khuẩn lạc sinh trưởng và phát triển trong môi trường dinh dưỡng pH = 4,0-8,0, thích hợp nhất với môi trường có pH=5,0.

+ Thuốc Belate 0,2% có hiệu lực ức chế nảy mầm của nấm cao hơn các loại thuốc khác.

+ Nấm *Colletotrichum gloeosporioides* kiễm ký sinh, sống ở mô chết lẫn mô sống.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Văn Mão (1997). *Bệnh cây rừng*. Nxb Nông nghiệp, Hà Nội.
2. Phạm Văn Mạch (1991). *Góp phần nghiên cứu bệnh thối nhũn (Damping - off) cây con Thông nhựa và Thông Caribe tại một số vùng ở miền Bắc Việt Nam*. Luận án PTS KHLN, Hà Nội.
3. PGS.TS. Nguyễn Xuân Thành (2007). *Giáo trình thực tập vi sinh vật chuyên ngành*. Nxb Nông nghiệp.
4. Vũ Thu Phương (2009). *Nghiên cứu một số đặc điểm sinh thái cây Cẩm lai vú (Dalbergia oliver Pierre)*. Luận văn Thạc sỹ, Trường Đại học Lâm nghiệp.
5. F.G.Browne (1968). *Pest and diseases of foest plantation trees*. Clarendon Press Oxford.
6. Zhao Liping (1983). *Phân loại nấm*. NXB Lâm nghiệp (Trung văn)
7. <http://www.extendo.hawaii.edu>

BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF LEAF DRY DISEASE ON *DALBERGIA OLIVER PIERRE*

Bui Mai Huong

SUMMARY

We studied fungal leaf infections in the tree *Dalbergia oliver* Pierre, an economically important Vietnamese species of agarwood. Our results indicate that the disease causal agent is *Colletotrichum gloeosporioides* (PenZ.), belonging to the family Melanconiaceae, order Melanconiales, subphylum: Deuteromycetes. *C. gloeosporioides* favors high humidity (80 – 100%) and develops well on weakly acidic environments. The favorable temperature for the spores germinate is 25⁰ C, particularly in the first 9 hours of germination process and almost spores in our samples completed their germination after 32 hours. Moreover, *C. gloeosporioides* also develops well in a PDA environment, and a high development rate of fungus in the environment was recorded in the first 5 days of the experiments. Our results show that the fungus is hemi-biotrophic, obtaining nutrients from both living and dead host cells. In a comparison of different fungicides (Belate 0.2%, Bordeaux 1% and lim sulphur mix), belate showed the highest capacity for inhibiting spore germination.

Key words: *Dalbergia oliver* Pierre, disease causal agent, fungi, hyphae, Spores .

Người phản biện: TS. Lê Bảo Thanh