

# PHÂN LẬP NẤM *Phytophthora* GÂY BỆNH TRÊN CÂY SẦU RIÊNG VÀ XÁC ĐỊNH CÁC ĐIỀU KIỆN SINH TRƯỞNG TỐI ƯU CỦA NẤM GÂY BỆNH

Trần Thị Hà Trang, Ngô Văn Anh\*, Nguyễn Văn Bốn, Nguyễn Anh Dũng

Viện Công nghệ sinh học và Môi trường, Trường Đại học Tây Nguyên

## TÓM TẮT

Sầu riêng (*Durio zibethinus*) được mệnh danh là “Vua của các loại quả nhiệt đới”, hiện nay, cây sầu riêng trở thành loại cây ăn quả chủ lực của tỉnh Đắk Lắk. Tuy nhiên, sự phát triển tự phát và không theo quy hoạch dẫn đến sự thiếu bền vững trong phát triển cây sầu riêng tại tỉnh Đắk Lắk. Bệnh hại do *Phytophthora palmivora* là bệnh hại vi sinh vật duy nhất gây chết cây sầu riêng được ghi nhận tại Việt Nam và trên thế giới. Mục tiêu của nghiên cứu này là phân lập, tuyển chọn và định danh chủng nấm bệnh *Phytophthora palmivora* làm cơ sở cho các nghiên cứu ứng dụng trong quản lý bệnh hại sầu riêng tại địa phương. Trong nghiên cứu này, sử dụng phương pháp tách đỉnh sợi nấm đơn đã phân lập được ba chủng *Phytophthora* sp. gây bệnh vàng lá thối vỏ cây sầu riêng từ mẫu bệnh tại tỉnh Đắk Lắk. Tuyển chọn được *Phytophthora* sp. DL1 gây bệnh nghiêm trọng (72,22% gây chết cây) trên cây sầu riêng trong điều kiện vườn ươm. Định danh sinh học phân tử dựa trên trình tự gen 28S rRNA xác định được chủng nấm bệnh này là *Phytophthora palmivora* DL1. Kết quả nghiên cứu điều kiện nhân nuôi thích hợp cho thấy chủng nấm *P. palmivora* DL1 sinh trưởng tốt ở pH 6,5, nhiệt độ nuôi cấy 30°C và chiếu sáng liên tục trên môi trường PDA. Kết quả thu được trong nghiên cứu là tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo về kiểm soát bệnh hại do nấm *Phytophthora palmivora* gây ra trên cây sầu riêng, góp phần sản xuất sầu riêng hiệu quả và bền vững.

**Từ khóa:** Đắk Lắk, Sầu riêng, *Phytophthora palmivora*.

## MỞ ĐẦU

Cây sầu riêng (*Durio zibethinus*) là loại cây ăn quả chủ lực của tỉnh Đắk Lắk với diện tích lớn nhất trong khu vực Tây Nguyên (chiếm 43,91%). Năng suất đạt 16,7 tấn/ha, sản lượng đạt 86,8 nghìn tấn với giá trị khoảng 4 nghìn tỉ đồng (Sở NN&PTNT tỉnh Đắk Lắk, 2021).

Tuy nhiên, sự phát triển tự phát và không theo quy hoạch đã dẫn đến sự thiếu bền vững trong phát triển cây sầu riêng tại tỉnh Đắk Lắk. Sầu riêng được sản xuất tập trung với mật độ cao hoặc được trồng xen với các loại cây trồng khác như cây cà phê, hồ tiêu hoặc trồng trên nền đất cũ hồ tiêu và cà phê mà chưa được xử lý nấm bệnh tốt nên gây thiệt hại lớn cho người dân (Chi cục trồng trọt và BVTV tỉnh Đắk Lắk, 2017; Nguyễn Văn Minh và Đỗ Thị Nga, 2021). Các nghiên cứu trong nước cũng như trên thế giới đã ghi nhận sự xuất hiện của nấm bệnh gây ảnh hưởng lớn đến năng suất và chất lượng sầu riêng (Ngô Văn Anh *et al.*, 2024). Ngoài ra, bệnh hại do nấm *Phytophthora* là bệnh hại vi sinh vật gây chết cây sầu riêng được ghi nhận tại Việt Nam và trên thế giới (Nguyễn Đức Huy *et al.*, 2021; Bruno Scanu *et al.*, 2021; Pomprapa Kongtragoul *et al.*, 2021; Phạm Hồng Hiến *et al.*, 2021).

Do đó, việc nghiên cứu đặc điểm sinh học là một trong những chỉ tiêu quan trọng trong việc phân loại và giám định tác nhân gây bệnh, làm cơ sở định hướng trong phòng ngừa và kiểm soát dịch hại do nấm *Phytophthora* gây ra. Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định được loài *Phytophthora* gây bệnh vàng lá thối vỏ nghiêm trọng trên cây sầu riêng, góp phần sản xuất sầu riêng hiệu quả và bền vững tại tỉnh Đắk Lắk.

## NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### Nguyên liệu

Môi trường: PDA (Sigma Aldrich).

### Thu mẫu và phân lập các chủng nấm *Phytophthora* trong rễ và vỏ cây sầu riêng bị bệnh

Phương pháp thu thập mẫu: Thu thập mẫu rễ, mẫu vỏ cây sầu riêng từ các cây sầu riêng đang bị bệnh vàng lá thối vỏ tại 3 huyện: huyện EaHleo, huyện Krông Năng và huyện Cư Kuin, tỉnh Đắk Lắk. Người thu mẫu tại các vườn nấm bệnh cần thay bao tay y tế khi thu mẫu bệnh xong ở các vườn khác nhau để không bị nhiễm chéo mẫu và ngăn ngừa nấm bệnh lây lan sang các khu vực khác trong vườn và giữa các vườn với nhau. Mẫu thu được ở các vườn được đựng trong túi zip nilon đã khử trùng để tránh nhiễm chéo giữa các mẫu. Mẫu được mang tới phòng thí nghiệm và tiến hành phân lập, làm thuần các chủng nấm bệnh *Phytophthora*.

**Lưu ý:** Thời gian từ khi lấy mẫu đến khi phân lập không quá 15 ngày và giữ ở tủ lạnh 4°C để đảm bảo phân lập được các chủng nấm bệnh.

Phương pháp phân lập: Mẫu nấm bệnh được cấy trên môi trường PDA và đem ủ ở nhiệt độ 30°C trong vòng 3-5 ngày. Các chủng nấm được làm thuần bằng phương pháp tách cấy đỉnh sợi nấm đơn (Suksiri *et al.*, 2018).

### **Tuyển chọn chủng nấm *Phytophthora* có khả năng gây bệnh cao trên cây sầu riêng trong vườn ươm**

Địa điểm thí nghiệm: Trại thực nghiệm của Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Tây Nguyên.

Đối tượng nghiên cứu: 03 chủng nấm bệnh *Phytophthora* được phân lập từ thí nghiệm trước; giống sầu riêng ghép Monthong (Dona) 2 năm tuổi.

Các chủng nấm *Phytophthora* được nuôi cấy trên môi trường PDA trong 7 ngày, ở 30°C. Chuyển sợi nấm sang bình tam giác 250 ml chứa 100 ml môi trường PD lỏng, nuôi trong máy lắc với tốc độ 150 rpm trong 7 ngày ở 30°C. Mật độ bào tử đạt  $10^7$  CFU/ml được sử dụng cho thí nghiệm lây bệnh nhân tạo.

Phương pháp lây bệnh nhân tạo: Thí nghiệm được thiết kế theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên với 3 lần nhắc lại. Mỗi nghiệm thức có 12 cây, mỗi cây sầu riêng sẽ được tạo 03 vết thương trên thân cây sầu riêng (thực hiện: dùng dao mổ số 11 rạch 3 vết thương trên cây sầu riêng con với chiều sâu 0,2cm, dài 1cm). Tưới nấm bệnh *Phytophthora* vào gốc 10ml/bầu và phun lên thân cây 10ml/cây. Sau khi lây nhiễm nấm bệnh, giữ trong bầu đất và xịt phun sương ẩm lên cây sầu riêng con 1 ngày 1 lần.

Trong đó, Control (mẫu đối chứng, không tưới nấm bệnh), CT1 (nghiệm thức sử dụng chủng nhiễm chủng *Phytophthora* sp. DL1), CT2 (nghiệm thức sử dụng chủng nhiễm chủng *Phytophthora* sp. DL2) và CT3 (nghiệm thức sử dụng chủng nhiễm chủng *Phytophthora* sp. DL3).

### **Phân lập lại chủng nấm *Phytophthora* có khả năng gây bệnh cao trên cây sầu riêng trong vườn ươm**

Để khẳng định đúng tác nhân gây bệnh, tiến hành thu thập mô bệnh của các cây sầu riêng trong nghiệm thức sử dụng chủng nấm *Phytophthora* sp. DL1 (CT1). Tiến hành phân lập lại chủng nấm bệnh *Phytophthora* tương tự như cách phân lập nấm từ mẫu bệnh ở thí nghiệm trước. Chủng nấm được làm thuần bằng phương pháp tách cấy đỉnh sợi nấm đơn và so sánh hình thái chủng nấm *Phytophthora* phân lập được với chủng *Phytophthora* sp. DL1 ban đầu. Nếu tương đồng thì tiến hành định danh sinh học phân tử chủng nấm này.

### **Định danh sinh học phân tử chủng nấm *Phytophthora* có khả năng gây bệnh cao trên cây sầu riêng.**

Chủng nấm *Phytophthora* DL1 có khả năng gây bệnh cao trên cây sầu riêng trong vườn ươm được làm thuần, gửi mẫu và định danh bằng sinh học phân tử bằng phương pháp giải trình tự Sanger tại Công ty TNHH Dịch vụ và Thương mại Nam Khoa.

### **Xác định điều kiện nuôi cấy của nấm *Phytophthora palmivora* gây bệnh vàng lá thối vỏ cây sầu riêng**

Thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến sự sinh trưởng và phát triển của nấm *P. palmivora* với các loại môi trường khác nhau: CA, PCA, PDA, CMA và V8 Juice (khử trùng ở nhiệt độ 121°C, 1atm trong 15 phút) (Nguyễn Hồng Tuyên *et al.*, 2015).

Từ kết quả nghiên cứu nguồn dinh dưỡng, môi trường nuôi cấy thích hợp sẽ được lựa chọn để khảo sát các điều kiện nuôi cấy khác: pH nuôi cấy, nhiệt độ nuôi cấy và điều kiện ánh sáng (Nguyễn Hồng Tuyên *et al.*, 2015).

Khảo sát nhiệt độ nuôi cấy thích hợp: 25°C; 28°C; 30°C; 32°C và 34°C.

Khảo sát pH thích hợp của môi trường nuôi cấy: 6,0; 6,25; 6,5; 6,75 và 7,0.

Khảo sát điều kiện ánh sáng thích hợp: tối liên tục, sáng liên tục, 12 giờ sáng xen kẽ 12 giờ tối liên tục.

Cách tiến hành: được thực hiện trên đĩa petri PDA.

Chỉ tiêu chung cho 4 thí nghiệm trên: Mỗi công thức thí nghiệm lặp lại 3 lần. Theo dõi tốc độ phát triển của tán nấm sau 7 ngày nuôi cấy bằng cách đo đường kính tán nấm (cm).

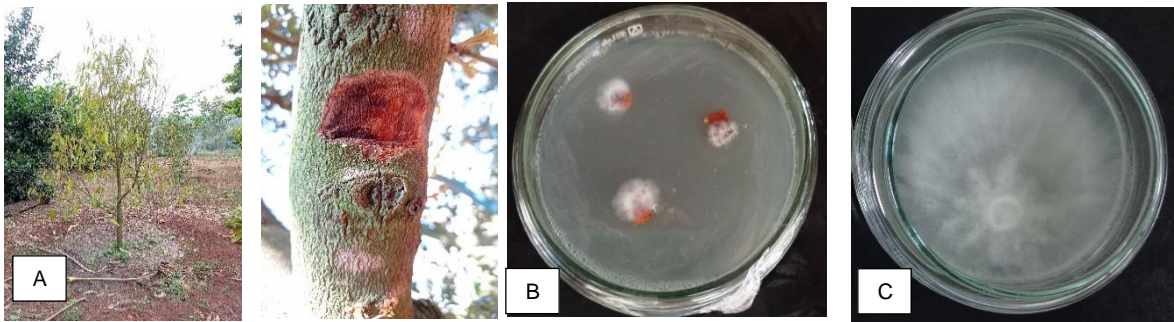
### **Phương pháp xử lý số liệu**

Số liệu sau khi ghi nhận được xử lý bằng phần mềm Microsoft Office Excel, phân tích ANOVA bằng phần mềm Statiscal Program Scientific System (SPSS) phiên bản 20.0.

## **KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

### **Kết quả phân lập các chủng nấm *Phytophthora* trong rễ và vỏ cây sầu riêng**

Thu thập được 27 mẫu sầu riêng bị bệnh vàng lá thối vỏ tại tỉnh Đắk Lắk, tiến hành phân lập được 10 chủng nấm bệnh. Sau khi nhận dạng dựa vào đặc điểm hình thái trên đĩa petri, chọn lọc được 3 chủng *Phytophthora* ký hiệu lần lượt là *Phytophthora* sp. DL1; *Phytophthora* sp. DL2 và *Phytophthora* sp. DL3.



1A. Thu thập mẫu rễ và vỏ cây sầu riêng bị bệnh

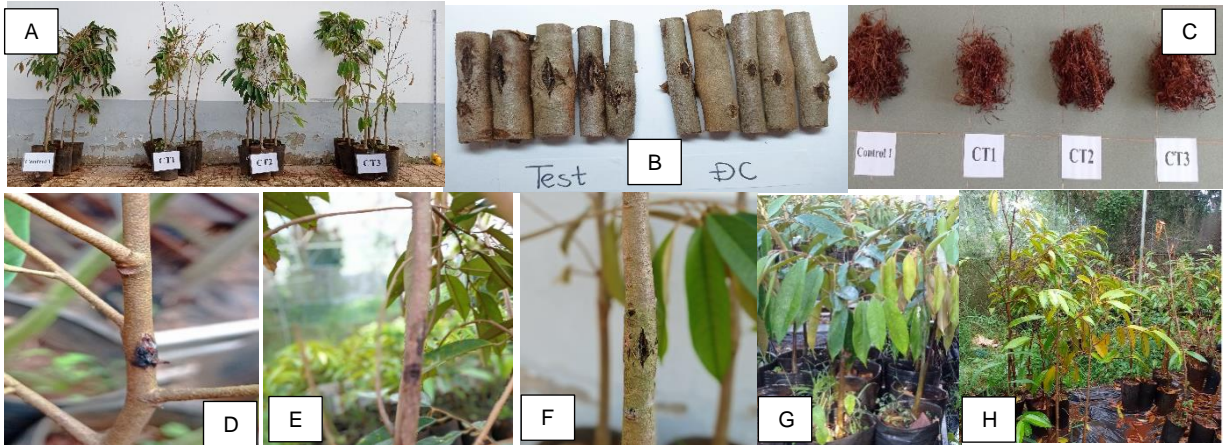
1B. Phân lập nấm *Phytophthora* sp.

1C. Làm thuần nấm *Phytophthora* sp.

Hình 1. Thu thập mẫu bệnh và phân lập chủng nấm bệnh *Phytophthora* sp.

Tiến hành dòng hoá và giữ giống 3 chủng *Phytophthora* sp. để sử dụng trong các thí nghiệm tiếp theo.

**Kết quả tuyển chọn chủng nấm *Phytophthora* có khả năng gây bệnh cao trên cây sầu riêng trong vườn ươm**



Hình 2. Kết quả kiểm tra tính gây bệnh của các chủng nấm *Phytophthora* gây bệnh cao trên cây sầu riêng trong giai đoạn vườn ươm

2A. Hình ảnh cây sầu riêng vườn ươm; 2B. Hình ảnh đoạn thân cây sầu riêng ở CT1 và Control. 2C. Hình ảnh rễ sầu riêng vườn ươm; 2D, 2E. Vết bệnh trên thân sầu riêng bị sũng nước sau 21 ngày chủng nhiễm; 2F. Vết bệnh trên thân sầu riêng khô lại sau 2 tháng; 2G. Hình ảnh cây sầu riêng bị vàng lá, rụng lá, héo nhẹ; 2H. Hình ảnh cây sầu riêng bị trợ cành, chết ngọn, chết cây.

Triệu chứng của bệnh xuất hiện sau 21 ngày lây bệnh với vết bệnh thối nhỏ, sũng nước trên vỏ thân, nhựa cây tiết ra đông lại màu nâu đen (Hình 2D và 2E). Sau 2 tháng lây nhiễm, vết bệnh khô lại, một số cành phía trên vết bệnh có lá héo nhẹ, chuyển sang màu vàng và rụng sớm (Hình 2F và 2G). Sau đó, cây có dấu hiệu trợ cành và chết vài cành nhỏ, sau 2,5 tháng gây chết cả cây (Hình 2H). Tỷ lệ cây bị bệnh ở CT1 là cao nhất với tỉ lệ nhiễm trên thân 75%, nhiễm bệnh ở rễ 66,67%, khô cành tới 83,33% và 72,22% gây chết cây (Bảng 1).

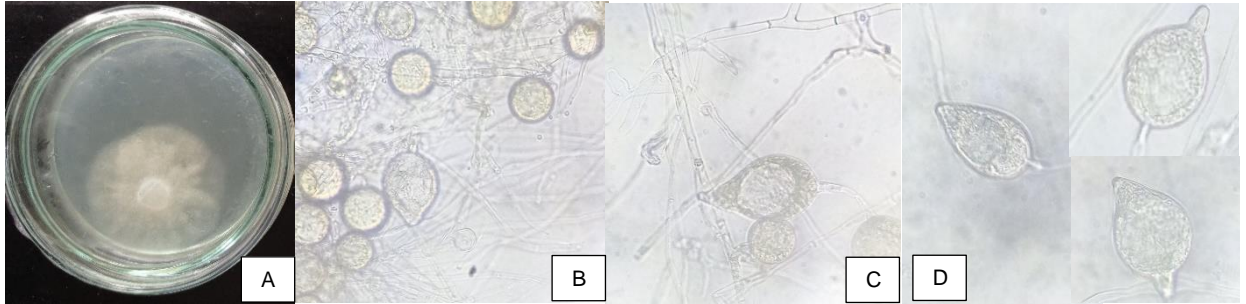
**Bảng 1. Đánh giá tính gây bệnh của chủng nấm *Phytophthora* có khả năng gây bệnh cao trên cây sầu riêng trong vườn ươm**

STT	Công thức	Tỉ lệ nhiễm bệnh trên thân (%)	Tỉ lệ nhiễm bệnh ở rễ (%)	Tỉ lệ khô cành (%)	Tỉ lệ cây chết (%)
1	Control	7,41	8,89	11,11	0,00
2	<i>Phytophthora</i> sp. DL1	75,00	66,67	83,33	72,22
3	<i>Phytophthora</i> sp. DL2	31,48	24,44	27,78	13,89
4	<i>Phytophthora</i> sp. DL3	52,78	55,56	50,00	41,67

Do đó, mẫu bệnh nhiễm nấm *Phytophthora* sp.DL1 được sử dụng cho thí nghiệm phân lập lại chủng nấm bệnh.

**Kết quả phân lập lại chủng nấm *Phytophthora* có khả năng gây bệnh cao trên cây sầu riêng trong vườn ươm**

Phân lập mô bệnh thu được từ CT1 trên môi trường PDA, chủng nấm *Phytophthora* sp. sau phân lập tương đồng 100% về hình thái với chủng nấm *Phytophthora* sp. DL1 (Hình 3A).



**Hình 3. Hình ảnh chủng nấm *Phytophthora* DL1 sau khi phân lập lại, trong đó:**

**3A.** Chủng nấm *Phytophthora* sp. DL1 trên môi trường PDA; Hình ảnh các loại bào tử của nấm *Phytophthora* sp. DL1 dưới kính hiển vi điện tử với độ phóng đại 100X: **3B-C.** Hình ảnh hỗn hợp bào tử hậu hình cầu và bào tử nhú hình trứng có cuống ngắn và hệ sợi nấm, **3D.** Hình ảnh bào tử hình trứng có cuống ngắn và bào tử dị dạng.

Đặc điểm hình thái trên môi trường PDA, chủng nấm *Phytophthora* sp. DL1 có dạng hình sao, màu trắng sáng với mặt dưới đĩa petri pha lẫn màu cam nhạt, sợi nấm toả đều ra từ trung tâm, hệ sợi lan mạnh, đan xen vào nhau. Hình dạng bào tử đa dạng từ hình elip, hình trứng, hình cầu, hình dị dạng với bào tử hậu và bào tử nhú có cuống ngắn.

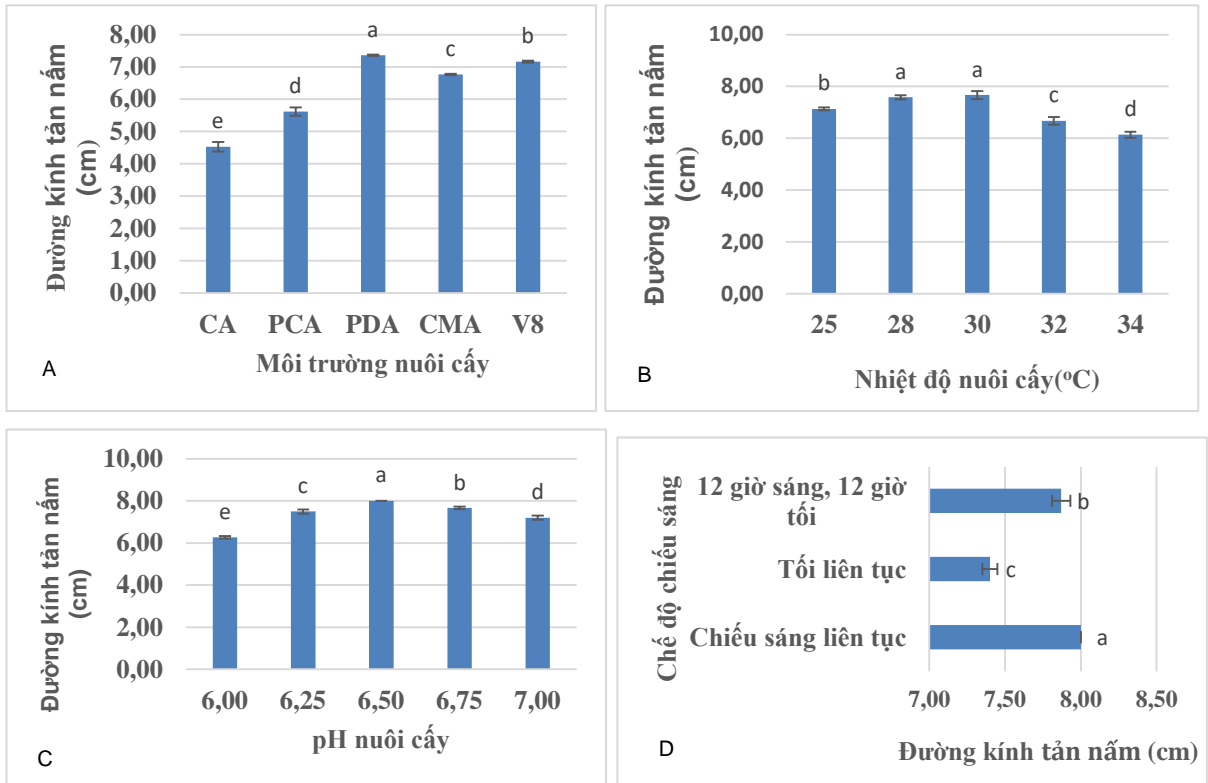
**Kết quả định danh sinh học phân tử chủng nấm *Phytophthora* có khả năng gây bệnh cao trên cây sầu riêng**

Tiến hành định danh theo phương pháp sinh học phân tử dựa vào trình tự gen 28S rRNA chủng *Phytophthora* sp. DL1. Sau khi tách chiết ADN từ chủng nấm, tiến hành PCR gen 28S (trình tự 28S rRNA được sử dụng phổ biến trong nghiên cứu phân loại nấm). Trình tự của chủng nấm *Phytophthora* sp. DL1 được so sánh với trình tự gen có sẵn trên ngân hàng gen (NCBI); xác định được chủng nấm *Phytophthora* sp. DL1 là chủng *Phytophthora palmivora* với độ tương đồng 100% (Bảng 2) với trình tự nucleotic: "TCGGTGA AAAATTGGGACCGTGAGTCCGTTTGCTTCATTGCGAGTGGATTGATGGGA ACTT TTTAAACCTCGCCATTTAGAGGAAGGTGAAGTGCCTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCA TTACCACACCTAAAACTTTCCACGTGAACCGTATCAAACCTTAGTTGGGGTCTCTTTCCGGCGGCGGCTGC TGGCTTCATTTGCTGGCGGCTGCTGTTGGGAGAGCTCTATCATGCGGAGCGTTTGGGCTTCGGTCTGAACTA GTAGCTTTTTAAACCCATTCTTTATAACTGATTATACTGTAGGGACGAAAGTCTCTGCTTTAACTAGATAGC AACTTTCAGCAGTGGATGCTAGGCTCGCACATCGATGAAGAACGCTGCGAACTGCGATACGTAATGCGAAT TGCAGGATTCAGTGAGTCATCGAAATTTGAACGCATATTGCACTTCCGGGTTAGTCCTGGGAGTATGCCTGT ATCAGTGTCGTACATCAAACCTGGTTTTCTTCCCTCCGTGTAGTCGGTGGTGGATGTGCCAGATGTGAAGTG TCTTGGCGGCTGGTCTTCGGATCGGCTGTGAGTCCTTTGAAATGTA CTG AACTGTACTTCTCTTTGCTCCAAAAGCGTGGCGTTGCTGATTGTGGAGGCTGCTTGCGTAGCCAGTCTGGCG ACCAGTTTGCTGCTGTGGCATAATGGAGGAGTGTTCGATTCCGGTATGGTTGGCTTCGGCTGAACAGAC GCTTATTAATATTTCTTCAGCTGTGGTGGTATGAGTTGGTGAACCGTAGCTATGTGAGCTTGGCTTTTGAATT GGCTTTGCTGTTGCGAAGTAGAGTGGCGGCTTCGGCTGTGAGGGTTCGATCCATTTGGGAACCTTGATG CTTCCGGCATGCATCTCAATTGGACCTGATATCAGGCAAGATTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGG AGGAAAAGAACTAACAAGGATTCCCCTAGTAACGGCGAGTGAAGCGGGAAGAGCTCAAGCTTAAAATCTCC GTGCAAGTTTTCGCGGCGAATTGTAGTCTATAGAGGCGTGGTCAAGCTGAGCACTTGGGGCAAGTTCCTT GGAAGAGGACAGCATGGAGGGTGATACTCCCGTTC".

**Bảng 2. Kết quả định danh bằng sinh học phân tử đối với mẫu nấm *Phytophthora* sp. DL1**

KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM (RESULTS)		
STT (N.º)	Tên loài (Organism)	Độ tương đồng (Identity)
1	<i>Phytophthora palmivora</i>	100 %
2	<i>Phytophthora palmivora</i>	100 %
3	<i>Phytophthora palmivora</i>	100 %
<b>Ghi chú (Note):</b>	Kết quả thể hiện tên loài có độ tương đồng cao nhất với trình tự của mẫu thử/ Results describe organisms with highest percent identity with sample sequence.	

Kết quả điều kiện nuôi cấy của nấm *Phytophthora palmivora* DL1 gây bệnh vàng lá thối vỏ cây sầu riêng



Hình 4. Kết quả ảnh hưởng của điều kiện nhân nuôi nhân tạo lên sự phát triển của nấm *P. palmivora* DL1.

Hướng tới sự tối ưu hoá điều kiện nuôi cấy nhân tạo của chủng *P. palmivora* DL1 làm tiền đề cho các nghiên cứu kiểm soát sinh học nấm *P. palmivora* DL1. Kết quả thực nghiệm thấy rằng môi trường dinh dưỡng có ảnh hưởng đến sự phát triển của tản nấm *P. palmivora* DL1 gây thối bệnh vàng lá, thối vỏ cây sầu riêng (Hình 4A). Nấm *P. palmivora* DL1 có khả năng sinh trưởng, phát triển tốt nhất trên môi trường PDA với đường kính khuẩn lạc nấm đạt 7.4 cm sau 7 ngày nuôi cấy. Sợi nấm màu trắng sáng, mọc dày, đan vào nhau với hệ sợi phát triển mạnh. Trên các môi trường PCA, CMA và V8 Juice nấm phát triển chậm hơn, sợi nấm mảnh, mọc thưa hơn với hệ sợi phát triển yếu hơn, đường kính khuẩn lạc nấm khoảng 5.6 – 6.8 cm sau 7 ngày. Khi mọc sợi nấm nổi rõ lên phía trên bề mặt môi trường V8 juice và không nổi lên trên bề mặt thạch ở môi trường CMA và PCA. Kết quả có sự khác biệt với các công bố trước đây: nấm *P. palmivora* gây bệnh thối đen quả cao sinh trưởng tốt trên môi trường PCA (Nguyễn Hồng Tuyên *et al.*, 2015); *P. palmivora* PHY02 gây bệnh thối rễ bưởi có khuẩn lạc nấm kiểu hình sao với sợi nấm phát triển tốt trên hai môi trường V8A và PDA trong khi hầu như không có sợi nấm trên môi trường CMA (Phung Manh Hung *et al.*, 2015); chủng *P. palmivora* CHP25-S08 gây bệnh trên sầu riêng tại Thái Lan có dạng hình sao sau 10 ngày trên PDA (Suksiri *et al.*, 2018); nấm *P. palmivora* được nuôi cấy trên môi trường nhân tạo PSM và PDA (Phạm Hồng Hiền *et al.*, 2021).

Nhiệt độ là yếu tố sinh thái quan trọng ảnh hưởng đến sự sinh trưởng, phát triển của nấm *Phytophthora*. Giữa các loài *Phytophthora* khác nhau có sự mẫn cảm khác nhau với nhiệt độ (Nguyễn Hồng Tuyên *et al.*, 2015). Kết quả thí nghiệm cho thấy nấm *P. palmivora* DL1 có khả năng phát triển trong dải nhiệt độ từ 25-34°C và tối ưu ở 30°C với đường kính tản nấm đạt 7.9-8.0 cm (Hình 4B). Nhiệt độ thích hợp nhất cho nấm *P. palmivora* gây bệnh thối đen quả cao sinh trưởng trong phạm vi từ 20-35°C và nấm không phát triển ở 15°C và 40°C (Nguyễn Hồng Tuyên *et al.*, 2015).

Một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của nấm *P. palmivora* là điều kiện pH. *P. palmivora* gây bệnh thối đen quả cao có khả năng phát triển trong phạm vi pH rộng từ 4.5 đến 8; nấm phát triển thích hợp nhất ở độ pH từ 6 - 7, sau 8 ngày nuôi cấy đường kính tản nấm đạt 6.6-6.8 cm. Mức pH thấp 4.5; 5 và 8 nấm *P. palmivora* phát triển chậm hơn (Nguyễn Hồng Tuyên và cs, 2015). Tương đồng với nghiên cứu trên, *P. palmivora* DL1 phát triển tốt ở độ pH 6-7 và sinh trưởng nhanh nhất ở điều kiện pH 6.5 (Hình 4C). Nấm *P. palmivora* khá nhạy cảm với ánh sáng, *P. palmivora* DL1 phát triển mạnh khi được chiếu sáng liên tục (Hình 4D).

## KẾT LUẬN

Phân lập được ba chủng *Phytophthora* sp. gây bệnh vàng lá thối vỏ, kiểm tra tính gây bệnh chủng *Phytophthora* sp. DL1 gây bệnh cao (72.22% gây chết cây) trên cây sầu riêng trong điều kiện vườn ươm. Định danh sinh học phân tử dựa trên trình tự gen 28S rRNA xác định được *Phytophthora* sp. DL1 là *Phytophthora palmivora* DL1. Xác định được nấm *P. palmivora* DL1 sinh trưởng tốt trên môi trường PDA với pH 6.5, 30°C trong điều kiện chiếu sáng liên tục là tối ưu. Nghiên cứu là tiền đề cho các nghiên cứu về kiểm soát bệnh hại, góp phần sản xuất sầu riêng hiệu quả và bền vững.

**Lời cảm ơn:** Ngô Văn Anh được tài trợ bởi Chương trình học bổng đào tạo thạc sĩ, tiến sĩ trong nước của Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VINIF), mã số: VINIF.2023.TS.02. Nghiên cứu này được hỗ trợ kinh phí từ Bộ Khoa học và Công nghệ Việt Nam, mã số đề tài: B2023-TTN-02.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

Sở NN&PTNT tỉnh Đắk Lắk, 2021.

Chi cục Trồng trọt và BVTV tỉnh Đắk Lắk, 2017.

Nguyễn Văn Minh và Đỗ Thị Nga, (2021). Thực trạng sản xuất và một số giải pháp phát triển bền vững cây sầu riêng ở tỉnh Đắk Lắk, *Kỹ yếu hội thảo sầu riêng năm 2021*, p: 144-151;

Ngô Văn Anh, Trần Thị Hà Trang, Vũ Thị Thu Lê, Nguyễn Văn Bốn, Nguyễn Anh Dũng (2024). Tuyến chọn và nhân nuôi vi khuẩn nội sinh cây sầu riêng kháng nấm *Phytophthora palmivora* tại huyện Cư Kuin tỉnh Đắk Lắk, *TNU Journal of Science and Technology* 229(09): 430 – 437.

Nguyễn Đức Huy, Hà Viêt Cường, Nguyễn Văn Viên, Thiều Thị Thu Trang, Trần Nguyễn Hà và Đỗ Tấn Dũng, (2021). Nghiên cứu về bệnh xỉ mù/ chảy trôm (*Phytophthora palmivora*) hại cây sầu riêng. *Kỹ yếu hội thảo khoa học: Ứng dụng Khoa học Công nghệ nâng cao giá trị và phát triển bền vững cây sầu riêng theo chuỗi liên kết tại Việt Nam*, Hà Nội, Tr 125-135.

Scanu B, Jung T, Masigol H, Linaldeddu B T, Jung M H, Brandano A, Mostowfizadeh-Ghalamfarsa R, Janoušek J, Riolo M, Cacciola S O (2021). *Phytophthora heterospora* sp. nov., a New Pseudoconidia-Producing Sister Species of *P. palmivora*, *J. Fungi* 2021, 7(10): 870.

Kongtragoul P, Ishikawa K, Ishii H (2021). Metalaxyl Resistance of *Phytophthora palmivora* Causing Durian Diseases in Thailand, *Horticulturae*, 7: 375.

Phạm Hồng Hiển, Nguyễn Thị Chúc Quỳnh, Phùng Quang Tùng, Bạch Thị Điệp, Vũ Thị Hiền, Phạm Thị Minh Thắng, Nguyễn Xuân Cảnh, (2021). Nấm *Phytophthora* gây bệnh trên cây sầu riêng tại tỉnh Đắk Lắk và Tiền Giang, *Tạp chí Bảo vệ Thực vật*, Số 1/2021:10-14.

Suksiri S, Laipasu P, Soyotong K, Poeaim S (2018). Isolation and Identification of *Phytophthora* sp. and *Pythium* sp. from Durian Orchard in Chumphon Province, Thailand, *International Journal of Agricultural Technology* 2018, Vol.14(3): 389-402.

Nguyễn Hồng Tuyên, Phạm Ngọc Dung, Lê Đình Thao, Nguyễn Thúy Hạnh (2015). Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học của nấm *Phytophthora palmivora* gây bệnh thối đen quả ca cao ở Việt Nam, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 46-52.

Phung Manh Hung, Pongnak Wattanachai, Soyotong Kasem, and Supatta Poaim (2015). Biological Control of *Phytophthora palmivora* Causing Root Rot of Pomelo Using *Chaetomium* spp., *Mycobiology*,(1): 63–70.

## ISOLATION OF *Phytophthora* FUNGI CAUSING DISEASES ON DURIAN PLANTS AND DETERMINATION OF OPTIMAL GROWTH CONDITIONS FOR THE FUNGI

Tran Thi Ha Trang, Ngo Van Anh\*, Nguyen Van Bon, Nguyen Anh Dung

*Institute of Biotechnology and Environment, Tay Nguyen University, Dak Lak, Vietnam*

### SUMMARY

Durian (*Durio zibethinus*) is known as the "King of tropical fruits". Currently, durian trees have become the main fruit tree of Dak Lak province. However, spontaneous and unplanned development leads to unsustainability in the development of durian trees in Dak Lak province. The disease caused by *Phytophthora palmivora* is the only microbial disease that causes death of durian trees recorded in Vietnam and the world. The study aims to isolate, select, and identify the pathogen *Phytophthora palmivora* for further studies concerning durian disease management in this locality. Using the single mycelium tip separation method, three *Phytophthora* strains causing yellow leaf rot disease on durian trees were isolated from disease samples in Dak Lak province. *Phytophthora* sp. DL1 was selected with high efficiency on nursery durian trees (72.22% tree mortality). Then, *Phytophthora* sp. DL1 was identified as *Phytophthora palmivora* DL1 by molecular biology identification based on gene sequence 28S rRNA. Further experiments indicated that *Phytophthora palmivora* DL1 strain growth well in cultivation conditions with pH 6.5, at 30<sup>0</sup>C and continuous lighting on PDA medium. The results of this work is a premise for futher research on disease control caused by the fungus *Phytophthora palmivora* on durian trees, contributing to effective and sustainable durian production.

*Keywords:* Dak Lak, Durians, *Phytophthora palmivora*.

---

\* Author for correspondence: Tel: +84-374559085; Email: nvanh@ttn.edu.vn