

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ NÔNG NGHIỆP & PTNT

VIỆN KHOA HỌC LÂM NGHIỆP VIỆT NAM

=====

NGUYỄN MINH CHÍ

**NGHIÊN CỨU BỆNH CHẾT HÉO (*CERATOCYSTIS SP.*)
PHỤC VỤ CHỌN GIỐNG KEO LÁ TRÀM SINH TRƯỞNG
NHANH, KHÁNG BỆNH TẠI MIỀN TRUNG
VÀ ĐÔNG NAM BỘ**

Chuyên ngành đào tạo: Quản lý tài nguyên rừng

Mã số: 62 62 02 11

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ LÂM NGHIỆP

Hà Nội - 2017

Công trình được hoàn thành tại Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

Người hướng dẫn khoa học: **GS.TS. Phạm Quang Thu**

Chủ tịch hội đồng:.....

Phản biện 1:.....

Phản biện 2:.....

Phản biện 3:.....

Luận án được bảo vệ trước hội đồng chấm luận án cấp Viện họp tại
Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

Vào hồi giờ, ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu luận án tại: Thư viện Quốc gia và Thư viện Viện Khoa
học Lâm nghiệp Việt Nam

NHỮNG CÔNG TRÌNH LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN ĐÃ CÔNG BỐ

1. Phạm Quang Thu, **Nguyễn Minh Chí** và Trần Thị Thanh Tâm (2016), “Bệnh chết héo Keo lá trà, keo lai và Keo tai tượng tại Việt Nam”, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, (8), trang 134-140.
2. **Nguyễn Minh Chí** và Phạm Quang Thu (2016), “Nghiên cứu mật độ bào tử nấm *Ceratocystis manginecans* phát tán trong rừng Keo lá trà, keo lai và Keo tai tượng tại Việt Nam”, *Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp*, (1), trang 4225-4230.
3. **Nguyễn Minh Chí**, Đặng Như Quỳnh, Trần Xuân Hinh và Phạm Quang Thu (2016), “Nghiên cứu tính kháng bệnh chết héo do nấm *Ceratocystis manginecans* của các dòng Keo lá trà thông qua vi sinh vật nội sinh”, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, số chuyên đề giống cây trồng, vật nuôi, tập 1, trang 283-291.
4. **Nguyễn Minh Chí** và Phạm Quang Thu (2016), “Nghiên cứu định loại vi sinh vật nội sinh trong các dòng Keo lá trà đối kháng nấm *Ceratocystis manginecans* gây bệnh chết héo”, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, (16), trang 127-131.
5. **Nguyễn Minh Chí**, Nguyễn Văn Nam và Phạm Quang Thu (2016), “Sử dụng dịch chiết từ lá Keo lá trà để xác định tính kháng bệnh chết héo do nấm *Ceratocystis manginecans*”, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, (20), trang 122-130.
6. **Nguyễn Minh Chí** và Phạm Quang Thu (2016), “Nghiên cứu tính chống chịu bệnh chết héo do nấm *Ceratocystis manginecans* gây ra của các dòng Keo lá trà bằng lây bệnh nhân tạo”, *Tạp chí Bảo vệ thực vật*, (6), trang 27-32.

MỞ ĐẦU

1.1. Tính cấp thiết của đề tài

Nhóm loài keo là các loài cây trồng rừng chính và đóng vai trò quan trọng trong việc phát triển kinh tế. Diện tích rừng trồng các loài keo ở Việt Nam đến năm 2015 đạt khoảng 1,3 triệu ha (Phạm Quang Thu, 2016). Tuy nhiên, bệnh chết héo do nấm *Ceratocystis* sp. gây hại rừng trồng keo đang có xu hướng lan nhanh (Cục Bảo vệ thực vật, 2015).

Tính đến năm 2015, có hơn 100 giống keo được công nhận giống. Tuy nhiên, chỉ có 6 giống keo lai và 2 giống Keo lá tràm được đưa vào sản xuất đại trà. Nguyên nhân là mới quan tâm chỉ tiêu sinh trưởng mà chưa quan tâm đến các tiêu chuẩn khác, đặc biệt là chưa quan tâm nhiều đến tính chống chịu bệnh (Nguyễn Xuân Quát, 2013).

Để giải quyết vấn đề trên, chọn giống kháng bệnh đang được đánh giá là giải pháp hiệu quả và bền vững nhất. Do vậy, đề tài “**Nghiên cứu bệnh chết héo (*Ceratocystis* sp.) phục vụ chọn giống Keo lá tràm sinh trưởng nhanh, kháng bệnh tại miền Trung và Đông Nam Bộ**” là rất cần thiết, có ý nghĩa về khoa học cũng như có ý nghĩa thực tiễn trong sản xuất.

1.2. Mục tiêu nghiên cứu

Mục tiêu chung: Xác định được một số đặc điểm của nấm gây bệnh và một số cơ sở khoa học phục vụ chọn giống Keo lá tràm sinh trưởng nhanh và kháng bệnh chết héo do nấm *Ceratocystis* sp.

Mục tiêu cụ thể

Định danh được loài nấm gây bệnh chết héo và xác định được đặc điểm, tình hình gây hại của nấm *Ceratocystis* sp. trên rừng trồng Keo lá tràm.

Xác định được một số đặc điểm sinh học, sinh thái cơ bản ảnh hưởng đến sự phát sinh, phát triển của nấm gây bệnh chết héo trên Keo lá tràm.

Xác định được một số cơ sở khoa học làm cơ sở cho chọn giống kháng bệnh chết héo do nấm *Ceratocystis* sp. trên các dòng Keo lá tràm.

Xác định được đặc điểm sinh trưởng và tính kháng bệnh chết héo của các dòng Keo lá tràm khảo nghiệm ở miền Trung và Đông Nam Bộ.

1.3. Đối tượng nghiên cứu

- * Keo lá trà (*Acacia auriculiformis* A. Cunn. ex Benth).
- * Nấm *Ceratocystis* sp. gây bệnh chết héo.

1.4. Phạm vi nghiên cứu

Về nội dung: Trong đề tài này, tác giả chỉ nghiên cứu tính kháng thông qua các vấn đề gồm: (1) Vi sinh vật nội sinh có khả năng sinh kháng sinh đối kháng nấm gây bệnh, (2) Dịch chiết từ lá cây bằng dung môi methanol và methylene chloride, (3) Gây bệnh nhân tạo trên cành cắt rời và (4) Gây tổn thương trên thân cây.

Về địa điểm: Điều tra tình hình bệnh chết héo Keo lá trà tại 61 địa điểm thuộc 18 tỉnh gồm: Yên Bái, Hòa Bình, Tuyên Quang, Vĩnh Phúc, Hà Nội, Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Tĩnh, Quảng Trị, Thừa Thiên Huế, Quảng Nam, Quảng Ngãi, Bình Định, Phú Yên, Đồng Nai, Bình Dương, Bình Phước và Cà Mau.

Nghiên cứu sinh trưởng, hình thái, phân cấp bệnh, nghiên cứu tính kháng bệnh, thu mẫu cành và mẫu bệnh được tiến hành trên 4 khảo nghiệm đã xây dựng tại Quảng Trị, Phú Yên và Đồng Nai.

1.5. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn

Ý nghĩa khoa học: Kết quả của luận án là cơ sở khoa học phục vụ nghiên cứu cải thiện giống Keo lá trà theo hướng nâng cao năng suất và kháng bệnh chết héo.

Ý nghĩa thực tiễn: Kết quả của luận án giúp chẩn đoán tính kháng bệnh phục vụ chọn giống Keo lá trà kháng bệnh chết héo thông qua bốn yếu tố sau: (1) thông qua vi sinh vật nội sinh, (2) thông qua dịch chiết từ lá, (3) thông qua gây bệnh trên cành cắt rời và (4) thông qua gây tổn thương trên thân cây.

1.6. Những điểm mới của luận án

(1) Cung cấp một số dẫn liệu khoa học về tình hình gây hại, đặc điểm gây hại của nấm *Ceratocystis manginecans* gây bệnh chết héo trên cây Keo lá trà ở Việt Nam.

(2) Xác định được một số cơ chế kháng nấm *Ceratocystis manginecans* gây bệnh chết héo trên cây Keo lá tràm góp phần phục vụ chọn giống kháng bệnh.

(3) Đã xác định được phương pháp đánh giá tính kháng bệnh chết héo của các dòng Keo lá tràm phù hợp với điều kiện sản xuất đại trà.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU

1.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới

1.1.1. Nghiên cứu cải thiện giống và phát triển Keo lá tràm

Các nghiên cứu về Keo lá tràm ở khu vực Đông Nam Á cho thấy: tại Malaysia, rừng trồng ở giai đoạn 8 năm tuổi đạt 17 - 20 m³/ha/năm (dẫn theo Lê Đình Khả, 1993). Tại Indonesia, năng suất đạt 15 - 20 m³/ha/năm (dẫn theo Nguyễn Hoàng Nghĩa, 2003). Tăng thu di truyền về sinh trưởng có thể đạt từ 15 - 45% so với nguồn giống đại trà (Hardiyanto, 2014).

Ở giai đoạn 7 - 8 năm tuổi, trồng tại Việt Nam, Thái Lan và Ấn Độ có năng suất trung bình 7 - 20 m³/ha/năm, thông qua cải thiện giống có thể đạt 25 m³/ha/năm (Hardiyanto, 2014).

1.1.2. Nghiên cứu về bệnh hại và phòng trừ bệnh hại

Nghiên cứu về bệnh chết héo do nấm Ceratocystis spp.

Bệnh chết héo do nấm *C. acaciivora* gây ra dịch bệnh rất nghiêm trọng tại Malaysia (Brawner *et al.*, 2015; Brawner *et al.*, 2016). Những năm qua, rừng trồng keo tại Indonesia bị bệnh chết héo gây hại nghiêm trọng với hàng nghìn ha rừng bị chết (Yong *et al.*, 2014).

Nghiên cứu phân loại sinh vật gây bệnh chết héo

Kết quả giám định đã khẳng định các mẫu nấm gây bệnh chết héo keo thu tại Việt Nam là *C. manginecans*, đồng thời cũng chính là loài nấm gây bệnh chết héo Keo tai tượng tại Indonesia, gây hại Xoài tại Oman và Pakistan (Fourie *et al.*, 2016).

Đặc điểm sinh học và sinh thái của nấm Ceratocystis spp.

Các loại bào tử của nấm *Ceratocystis* spp. đã được mô tả chi tiết.

Điều kiện nuôi cấy thích hợp với nấm gây bệnh chết héo ở 25-30°C, độ ẩm 80-90% (Barnes *et al.*, 2005; Tarigan *et al.*, 2010).

Nghiên cứu về phòng trừ

Sử dụng thuốc hóa học có thể diệt nấm nhưng khó khả thi khi triển khai diện rộng và tốn kém (Blaedow *et al.*, 2010). Biện pháp hiệu quả là tránh gây tổn thương cây, việc chăm sóc, tía cành cần tránh thực hiện trong mùa mưa và khi thời tiết ẩm ướt (Haugen *et al.*, 2009).

1.1.3. Nghiên cứu về tính kháng của cây trồng

Tính kháng bệnh của thực vật được chia thành hai nhóm: (1) tính kháng bệnh do bản chất di truyền (Genetic resistance) của cây (Agrios, 2005; Van der Plank, 1968) và (2) tính kháng bệnh do các yếu tố bên ngoài (Induced disease resistance) (Agrios, 2005).

Agrios (2005) và Cheremisinov (1973) đã tổng hợp các nghiên cứu và cho rằng thực vật có thể kháng bệnh thông qua 6 cơ chế, cụ thể gồm: (1) Cơ chế giải phẫu - hình thái, (2) Cơ chế chức năng - sinh lý, (3) Cơ chế hóa học, (4) Cơ chế hoại tử, (5) Cơ chế kháng độc tố và hoạt hóa men, (6) Cơ chế kháng thực bào.

Hệ thống miễn dịch thực vật là các hợp chất hóa học ức chế vi sinh vật gây bệnh với hai nhóm chính gồm (1) hợp chất đối kháng vi sinh vật có sẵn trong cây và (2) hợp chất đối kháng vi sinh vật tổng hợp (VanEtten *et al.*, 1994). Các sản phẩm của quá trình trao đổi chất thứ cấp trong cơ thể thực vật là các hợp chất hóa học có hoạt tính đặc biệt, có tác dụng kích thích sinh trưởng hoặc kích kháng đối với sâu, bệnh hại cho cây.

1.1.4. Nghiên cứu chọn giống kháng bệnh

Nghiên cứu chọn giống Keo tai tượng kháng bệnh chết héo do nấm *C. acaciivora* đang được thực hiện ở Malaysia. Tuy nhiên, kết quả bước đầu cho thấy khả năng chống chịu bệnh chết héo trong hai khảo nghiệm hậu thế rất thấp (Brawner *et al.*, 2015).

Tại Indonesia, cây con Keo tai tượng và keo lai bắt đầu bị chết héo sau khi gây bệnh nhân tạo 2 tuần, trong khi đó Keo lá tràm và Keo lá liềm thể hiện khả năng chống chịu tốt (Tarigan *et al.*, 2016).

1.2. Tình hình nghiên cứu ở Việt Nam

1.2.1. Nghiên cứu cải thiện giống và phát triển Keo lá tràm

Keo lá tràm sinh trưởng khá trên các dạng đất thấp, có thể gây trồng trên nhiều lập địa, kể cả các lập địa xấu đến rất xấu, đất nhiễm mặn và đất ngập úng theo mùa (Lê Đình Khả, 1993; Nguyễn Hoàng Nghĩa, 2003).

Nghiên cứu cải thiện giống

Ở giai đoạn 8 năm tuổi, nhóm 20 gia đình tốt nhất có thể tích thân cây dao động từ 92,0 - 140,4 dm³/cây, vượt từ 21,9 - 64,8% so với trung bình của vườn giống (Hà Huy Thịnh *et al.*, 2011).

Đến năm 2010 có 1 vườn giống Keo lá tràm được công nhận là vườn giống quốc gia, 3 xuất xứ được công nhận là giống tiến bộ kỹ thuật (Bộ NN&PTNT, 2000) và 18 dòng Keo lá tràm có sinh trưởng nhanh được công nhận là giống quốc gia và giống tiến bộ kỹ thuật với năng suất đạt từ 10 - 20 m³/ha/năm (Bộ NN&PTNT, 2006; 2009; 2010).

Tình hình phát triển rừng trồng Keo lá tràm

Keo lá tràm được xác định là có triển vọng ở miền Bắc (Nguyễn Hoàng Nghĩa, 1992), Bắc Trung Bộ (Lê Đình Khả, 2004), Đông Nam Bộ (Nguyễn Huy Sơn và Đặng Thịnh Triều, 2004) và đang được trồng rộng rãi ở nhiều nơi trên toàn quốc với mục đích phòng hộ, nguyên liệu giấy, gỗ xây dựng và đồ mộc với chất lượng cao (Hà Huy Thịnh *et al.*, 2011).

1.2.2. Nghiên cứu về bệnh hại và phòng trừ bệnh hại

Nghiên cứu về bệnh chết héo do nấm *Ceratocystis* sp.

Năm 2009, lần đầu ghi nhận hiện tượng rừng trồng keo bị bệnh chết héo (Phạm Quang Thu *et al.*, 2012) và bệnh chết héo do nấm *Ceratocystis* sp. đang được đánh giá là dịch bệnh nguy hiểm đối với rừng trồng keo ở nước ta (Phạm Quang Thu, 2016).

Đến cuối năm 2015 đã có 17 tỉnh ghi nhận xuất hiện bệnh chết héo gây hại rừng trồng các loài keo với tổng diện tích nhiễm bệnh gần 2.000ha (Cục Bảo vệ thực vật, 2015).

Nghiên cứu phân loại sinh vật gây bệnh chết héo keo

Kết quả nghiên cứu dựa trên việc so sánh trình tự chuỗi ADN cũng khẳng định *C. manginecans* là loài nấm gây bệnh chết héo rừng trồng Keo lá tràm, keo lai và Keo tai tượng tại Việt Nam (Fourie *et al.*, 2016; Thu *et al.*, 2014).

Đặc điểm sinh học và sinh thái của nấm Ceratocystis sp.

Các nghiên cứu về đặc điểm hình thái của nấm *Ceratocystis* sp. đã được một số tác giả thực hiện. Môi trường nuôi cấy thích hợp với nấm gây bệnh chết héo ở 25-28°C, độ ẩm 80-90% (Phạm Quang Thu *et al.*, 2012).

Nghiên cứu phòng trừ bệnh hại

Phòng trừ bệnh hại cây trồng Lâm nghiệp được nghiên cứu từ những năm 1960 nhưng chưa có giải pháp hạn chế cũng như chưa có biện pháp phòng trừ tổng hợp bệnh chết héo rừng trồng các loài keo.

1.2.3. Nghiên cứu về tính kháng của cây trồng

Nghiên cứu khả năng ức chế nấm gây bệnh bằng cặn dịch chiết từ lá của các dòng Keo tai tượng và các gia đình Keo lá tràm đã xác định được một số giống có cặn dịch chiết ức chế nấm *Ceratocystis* sp. mạnh đến rất mạnh (Phạm Quang Thu *et al.*, 2011, 2012).

Thí nghiệm gây bệnh nhân tạo các dòng Keo lá tràm cho thấy dòng 1, 12, 22, 26 chống chịu tốt với bệnh chết héo do nấm *Ceratocystis* sp. (Nguyễn Hoàng Nghĩa, 2015).

1.2.4. Nghiên cứu chọn giống kháng bệnh

Đến hết năm 2010, đã công nhận được 2 giống quốc gia và 5 giống tiến bộ kỹ thuật với năng suất đều đạt trên 19 m³/ha/năm và có khả năng chống chịu bệnh phân hồng do nấm *Corticium salmonicolor* (Nguyễn Hoàng Nghĩa và Nguyễn Văn Chiến, 2007).

Giai đoạn 2011 - 2015, chín dòng Keo lá trà được công nhận tiến bộ kỹ thuật. Các giống này đều có khả năng sinh trưởng nhanh và chống chịu bệnh phấn hồng do nấm *C. salmonicolor* (Nguyễn Hoàng Nghĩa, 2015).

1.3. Nhận xét chung

Các nghiên cứu đều khẳng định sự nguy hiểm của nấm *Ceratocystis* spp. đối với nhiều loài cây trồng, trong đó có Keo lá trà.

Nghiên cứu chọn giống keo kháng bệnh đã được thực hiện nhưng mới chỉ chọn giống kháng bệnh phấn hồng mà chưa có nghiên cứu chọn giống kháng bệnh chết héo do nấm *Ceratocystis* sp. Vì vậy, việc **nghiên cứu bệnh chết héo (*Ceratocystis* sp.) phục vụ chọn giống Keo lá trà sinh trưởng nhanh, kháng bệnh tại miền Trung và Đông Nam Bộ** là rất cần thiết, đặc biệt là tại các vùng trồng Keo lá trà tập trung như ở miền Trung và Đông Nam Bộ của nước ta.

CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Rừng trồng Keo lá trà ở Việt Nam.

Vi sinh vật nội sinh (VSVNS) ở trong cây Keo lá trà.

Bốn khảo nghiệm Keo lá trà tại miền Trung và Đông Nam Bộ.

2.2. Nội dung nghiên cứu

2.2.1. Xác định nguyên nhân gây bệnh và đánh giá tình hình bệnh chết héo gây hại rừng trồng Keo lá trà

Xác định nguyên nhân gây bệnh chết héo Keo lá trà.

Đánh giá tình hình bệnh chết héo gây hại rừng trồng Keo lá trà.

2.2.2. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học và sinh thái của nấm gây bệnh

Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học của nấm gây bệnh.

Nghiên cứu một số đặc điểm sinh thái của nấm gây bệnh.

2.2.3. Nghiên cứu tính kháng bệnh chết héo của Keo lá trà

Nghiên cứu tính kháng bệnh thông qua vi sinh vật nội sinh.

Nghiên cứu tính kháng bệnh thông qua dịch căn chiết từ lá.

Nghiên cứu tính kháng bệnh thông qua gây bệnh nhân tạo và gây tổn thương trên thân cây.

2.2.4. Nghiên cứu đặc điểm sinh trưởng, tính kháng bệnh và chất lượng hình thân của Keo lá trà

Nghiên cứu tại Quảng Trị, Phú Yên và Đồng Nai.

2.3. Đặc điểm khí hậu, đất đai khu vực khảo nghiệm

2.3.1. Điều kiện tự nhiên của các địa điểm khảo nghiệm

Các địa điểm khảo nghiệm đều có độ cao tuyệt đối dưới 200 m, địa hình tương đối bằng phẳng, tổng số giờ nắng 1.850-2.700 giờ/năm, nhiệt độ trung bình 24,8-26,0°C và lượng mưa 1.700-2.380 mm/năm và không có sương giá, đảm bảo thích hợp với Keo lá trà.

2.3.2. Tính chất hóa học và vật lý của đất tại các điểm khảo nghiệm

Đất ở các địa điểm xây dựng khảo nghiệm là đất feralit vàng đỏ, tầng mỏng, đất chua, hàm lượng mùn thấp và nghèo dinh dưỡng.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Phương pháp kế thừa

Kế thừa các khảo nghiệm giống của đề tài “Nghiên cứu chọn các dòng keo và bạch đàn chống chịu bệnh có năng suất cao phục vụ trồng rừng kinh tế” do PGS.TS. Nguyễn Hoàng Nghĩa chủ trì.

2.4.2. PP xác định nguyên nhân gây bệnh và tình hình bệnh chết héo

2.4.2.1. Xác định nguyên nhân gây bệnh chết héo Keo lá trà

- Phân lập nấm gây bệnh theo phương pháp của Moller và De Vay (1968). Thuần khiết bằng cách cấy đỉnh sợi nấm sang môi trường mới.

- Định danh sinh vật gây bệnh chết héo bằng phương pháp sinh học phân tử, thực hiện tại Nam Phi.

- Xác định triệu chứng: Mô tả vết loét, sự đổi màu của vỏ và gỗ, đặc điểm chảy nhựa, mức độ tổn thương và đặc điểm tán lá ở các cây bị bệnh.

- Nghiên cứu đặc điểm: Nuôi cây nấm trên môi trường PDA ở nhiệt độ 25-28°C, theo dõi và mô tả các giai đoạn phát triển của nấm.

2.4.2.2. Đánh giá tình hình bệnh chết héo theo TCVN 8928:2013. Phân cấp bệnh theo phương pháp của Phạm Quang Thu (2012).

2.4.3. Phương pháp nghiên cứu một số đặc điểm sinh học và sinh thái

Đánh giá tính gây bệnh theo phương pháp gây bệnh nhân tạo trên cành của O'Gara và đồng tác giả (1996).

Nghiên cứu mật độ phát tán bào tử nấm gây bệnh chết héo trong rừng Keo lá tràm theo phương pháp của Eskalen và Gubler (2001).

Nghiên cứu ảnh hưởng của tuổi cây đến khả năng bị nhiễm bệnh của rừng trồng Keo lá tràm với 3 cấp tuổi: < 3 tuổi, 3 - 5 tuổi và > 5 tuổi.

Nghiên cứu ảnh hưởng của thời điểm tỉa cành đến khả năng bị nhiễm bệnh: giữa mùa khô (tháng 1) và giữa mùa mưa (tháng 8).

Nghiên cứu ảnh hưởng của kỹ thuật tỉa cành đến khả năng bị nhiễm bệnh với 4 công thức gồm cắt sát thân, chừa lại 10 cm, 20 cm và một công thức đối chứng (dùng dao phát như cách người dân tỉa cành).

Nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố địa hình đến khả năng bị nhiễm bệnh, các dạng địa hình gồm: độ cao (< 300 m và 300 - 500 m); độ dốc (< 15°, 15 - 25°, > 25°) và vị trí (chân, sườn, đỉnh).

2.4.4. Phương pháp nghiên cứu tính kháng bệnh chết héo

Nghiên cứu tính kháng bệnh thông qua vi sinh vật nội sinh: Phân lập VSVNS được thực hiện theo phương pháp của Onkar và James (1995). Đánh giá hiệu lực ức chế nấm gây bệnh của các chủng VSVNS theo phương pháp của Singh và Tripathi (1999). Giám định vi sinh vật nội sinh bằng phương pháp sinh học phân tử tại Viện Công nghiệp thực phẩm.

Nghiên cứu tính kháng bệnh thông qua cận dịch chiết từ lá: Tách chiết các lớp chất hóa học với dung môi methanol (ME) và methylene chloride (MC). Đánh giá hiệu lực ức chế nấm gây bệnh theo phương pháp của Singh và Tripathi (1999).

Đánh giá tính kháng bệnh thông qua việc gây bệnh nhân tạo trên cành theo phương pháp của O'Gara và đồng tác giả (1996).

Đánh giá tính kháng bệnh thông qua việc gây bệnh nhân tạo trên cây 1 tuổi theo phương pháp của Phạm Quang Thu và đồng tác giả (2012).

Đánh giá tính kháng bệnh thông qua gây tổn thương trên thân cây theo phương pháp của Barnes và đồng tác giả (2003).

2.4.5. Phương pháp nghiên cứu đặc điểm sinh trưởng, bệnh hại và chất lượng hình thân của các dòng Keo lá tràm

Điều tra toàn bộ các cây trong các khảo nghiệm để đánh giá đặc điểm sinh trưởng, bệnh hại và chất lượng hình thân của từng dòng.

2.4.6. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

Phân cấp bệnh cho toàn bộ khảo nghiệm các dòng Keo lá tràm vào chính giữa mùa mưa ẩm theo phương pháp của Phạm Quang Thu (2012).

Điều tra các chỉ tiêu sinh trưởng của tất cả các cây trong khảo nghiệm theo phương pháp được trình bày trong giáo trình Điều tra rừng (Vũ Tiến Hinh và Phạm Ngọc Giao, 1997).

Độ thẳng thân và độ nhỏ cành được xác định bằng mục trắc và cho điểm theo 5 cấp (Lê Đình Khả và Dương Mộng Hùng, 2003).

Số liệu được xử lý theo phương pháp của William và Matheson (1994) bằng phần mềm Dataplus & Genstat 5.0. Kết hợp với các phương pháp xử lý số liệu thông dụng bằng phần mềm Excel và SPSS 18.0.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nguyên nhân gây bệnh và tình hình gây hại của nấm bệnh chết héo trên rừng trồng Keo lá tràm

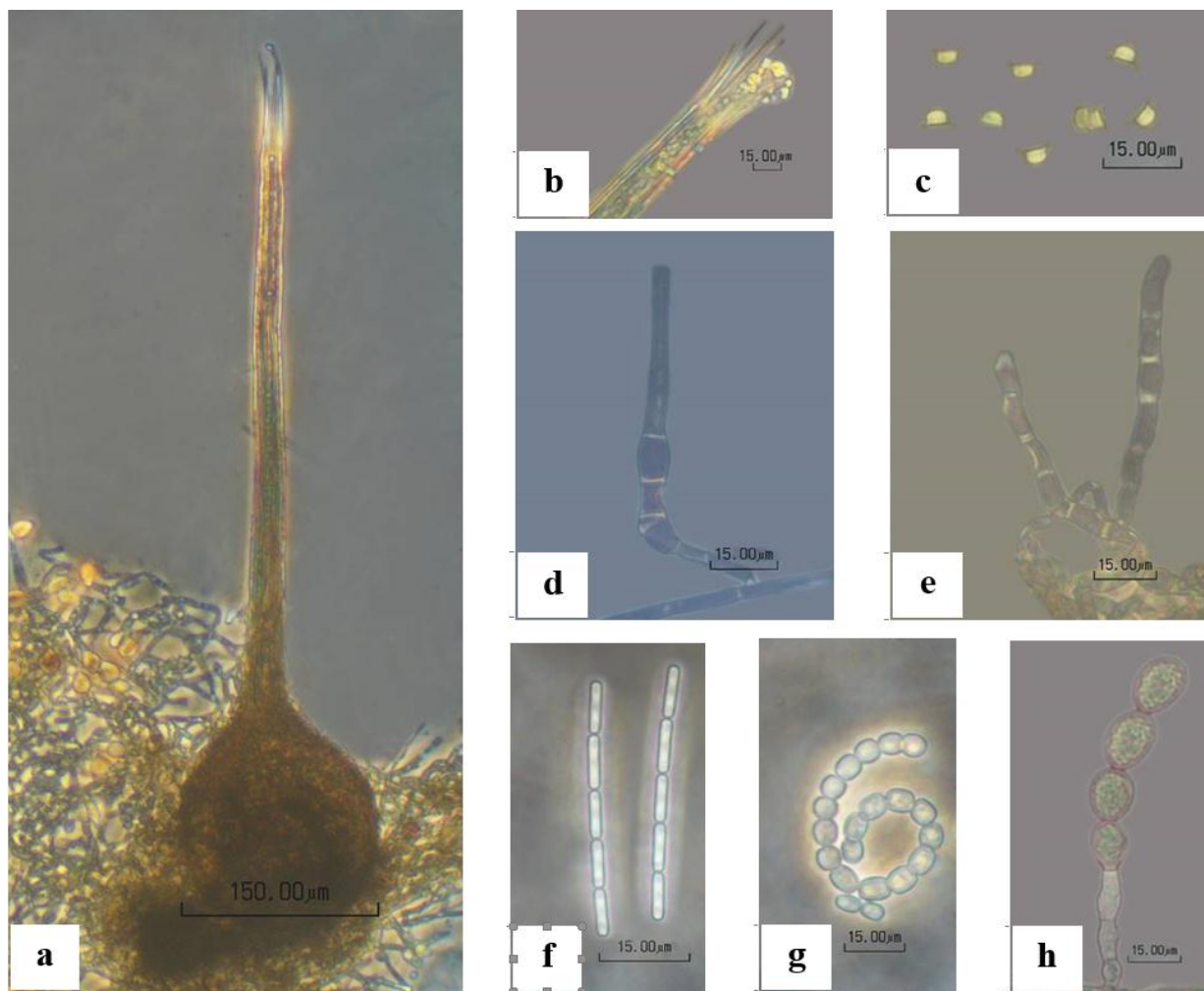
3.1.1. Nguyên nhân gây bệnh chết héo Keo lá tràm

Khi sử dụng cặp mồi ITS1 và ITS4, các chủng nấm gây bệnh chết héo keo đã được xác định thuộc 3 loài là *Ceratocystis manginecans*, *C. eucalypticola* và *C. acacivora* nhưng khi sử dụng cặp mồi β T1 và EF1- α , các chủng nấm được xác định thuộc loài *C. manginecans* và có sự trùng

lập với loài *C. acacivora*. Hai loài này cũng đã được xác định là đồng nghĩa (Fourie *et al.*, 2014).

Sử dụng cặp mồi $\beta T1$ và $EF1-\alpha$ để đọc trình tự đoạn gene đã xác định các chủng nấm gây bệnh chết héo keo tại Việt Nam đều là nấm *Ceratocystis manginecans* M. van Wyk, Al. Adawi & M.J. Wingf.

Triệu chứng điển hình của bệnh chết héo gây hại Keo lá tràm do nấm *C. manginecans* là trên thân hoặc cành cây bị bệnh có những vết loét, thâm hoặc vết lõm ở phần vỏ cây. Vỏ và gỗ xung quanh vị trí vết bệnh bị đổi màu, có thể chảy nhựa hoặc sùi bọt, gỗ thường bị chuyển sang màu nâu đen hoặc màu xanh đen.



Hình 3.1: Đặc điểm hình thái của nấm *C. manginecans*

a. thể hình cầu với chiếc cổ dài; **b.** phía đầu sợi cổ nấm; **c.** bào tử hình mũ; **d.** sợi sơ sinh; **e.** sợi thứ sinh; **f.** bào tử vô tính hình trụ; **g.** bào tử vô tính hình tròn; **h.** bào tử áo (Chlamydospores)

Cấu trúc chứa bào tử túi hình cầu hoặc gần cầu có màu nâu đen đến đen với chiếc cổ dài (Hình 3.1a), phía đầu cổ, xung quanh miệng có những sợi tua ra là nơi phát tán bào tử hữu tính (Hình 3.1b). Bào tử hữu tính có hình mũ chiều dài từ 4,2 μm đến 8,8 μm chiều rộng từ 2,1 μm đến 4,8 μm (Hình 3.1c). Bào tử vô tính được sản sinh từ sợi sơ sinh có hình trụ chiều dài từ 11,5 μm đến 18,6 μm chiều rộng từ 1,6 μm đến 4,8 μm (Hình 3.1f), bào tử vô tính được sản sinh từ sợi thứ sinh có hình trứng chiều dài từ 4,5 μm đến 9,6 μm chiều rộng từ 2,7 μm đến 6,1 μm (Hình 3.1g). Bào tử áo dài từ 20,5 μm đến 24,5 μm , rộng từ 10,1 μm đến 13,5 μm (Hình 3.1h).

Tốc độ phát triển trung bình của hệ sợi trên môi trường PDA là 72,5 $\mu\text{m}/\text{h}$; nấm sinh trưởng tốt nhất ở thang nhiệt độ từ 25 - 30°C.

3.1.2. Tình hình bệnh chết héo gây hại rừng trồng Keo lá tràm

Kết quả điều tra bệnh chết héo do nấm *C. manginecans* gây hại rừng trồng Keo lá tràm trên 18 tỉnh thuộc các vùng sinh thái chính của Việt Nam được tổng hợp trong bảng 3.1.

Bảng 3.1: Kết quả điều tra bệnh chết héo hại Keo lá tràm
(Thời gian điều tra từ tháng 1 đến tháng 12 năm 2015)

TT	Địa điểm điều tra	Vùng sinh thái	Tỷ lệ bị bệnh trung bình (P%)	Cấp bệnh trung bình (\bar{D})
1	Yên Bái	Tây Bắc	10,0	0,16
2	Hòa Bình	Tây Bắc	8,8	0,18
3	Tuyên Quang	Đông Bắc	10,0	0,28
4	Vĩnh Phúc	Đông Bắc	7,9	0,15
5	Hà Nội	ĐB Sông hồng	8,3	0,16
6	Thanh Hóa	Bắc Trung Bộ	11,3	0,24
7	Nghệ An	Bắc Trung Bộ	10,8	0,23
8	Hà Tĩnh	Bắc Trung Bộ	10,0	0,20
9	Quảng Trị	Bắc Trung Bộ	9,3	0,20
10	Thừa Thiên Huế	Bắc Trung Bộ	11,8	0,27

TT	Địa điểm điều tra	Vùng sinh thái	Tỷ lệ bị bệnh trung bình (P%)	Cấp bệnh trung bình (\bar{D})
11	Quảng Nam	Nam Trung Bộ	10,2	0,23
12	Quảng Ngãi	Nam Trung Bộ	11,5	0,23
13	Bình Định	Nam Trung Bộ	9,5	0,16
14	Phú Yên	Nam Trung Bộ	11,2	0,24
15	Đồng Nai	Đông Nam Bộ	12,5	0,29
16	Bình Dương	Đông Nam Bộ	11,5	0,23
17	Bình Phước	Đông Nam Bộ	11,7	0,25
18	Cà Mau	Tây Nam Bộ	7,1	0,16
	Trung bình		10,2	0,21

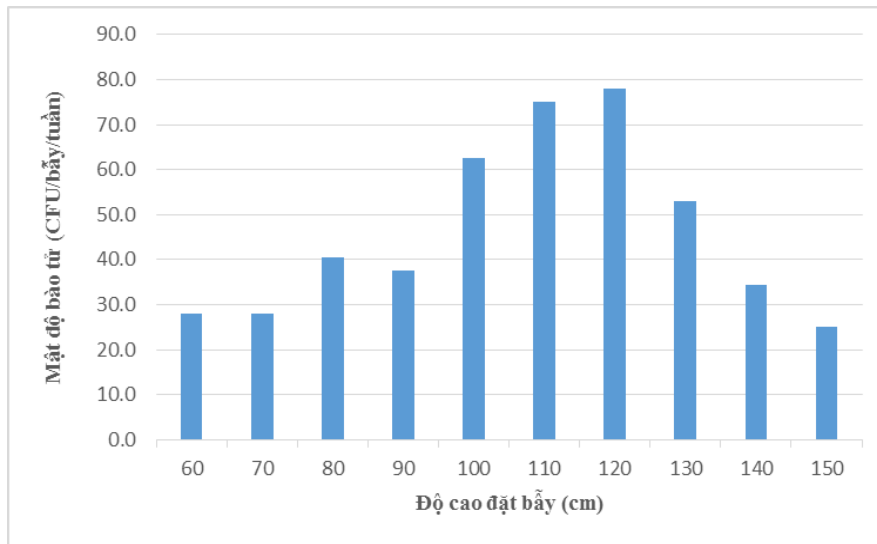
Việc điều tra bệnh chết héo do nấm *C. manginecans* gây hại rừng trồng Keo lá tràm được tiến hành tại 61 địa điểm thuộc 18 tỉnh. Kết quả tổng hợp ở bảng 3.1 cho thấy bệnh chết héo gây hại trên diện rộng từ miền Bắc vào miền Nam Việt Nam. Bệnh chết héo gây hại Keo lá tràm tại các địa phương có khác nhau nhưng mức độ bị bệnh đều ở mức nhẹ, tỷ lệ bị bệnh dao động từ 7,1% - 12,5%.

3.2. Một số đặc điểm sinh học và sinh thái của nấm gây bệnh chết héo

3.2.1. Một số đặc điểm sinh học của nấm gây bệnh chết héo

Tính gây bệnh của 55 chủng nấm và đối chứng (PDA) được chia thành 4 nhóm gồm: gây bệnh mạnh (9 chủng), gây bệnh trung bình (45 chủng), gây bệnh yếu (1 chủng) và công thức đối chứng không gây bệnh. Trong số 9 chủng gây bệnh mạnh có 3 chủng (A113, A260 và A279) thu từ rừng trồng Keo lá tràm tại Phú Yên và Đồng Nai.

Kết quả bẫy bào tử trong rừng trồng Keo lá tràm cho thấy ở cả 10 thang độ cao từ 60 cm đến 150 cm so với mặt đất đều xuất hiện bào tử nấm *C. manginecans*. Mật độ bào tử tập trung nhiều ở hai độ cao 110 cm và 120 cm so với mặt đất (Hình 3.2).



Hình 3.2: Biểu đồ mật độ bào tử nấm *C. manginecans* ở các độ cao đặt bã

3.2.2. Một số đặc điểm sinh thái của nấm gây bệnh chết héo

Các yếu tố tuổi cây, thời điểm tỉa cành, kỹ thuật tỉa cành và độ cao so với mực nước biển có ảnh hưởng rõ đến khả năng bị nhiễm bệnh của rừng Keo lá trà. Rừng trồng Keo lá trà ở cấp tuổi dưới 3 năm tuổi bị bệnh nặng hơn ở các cấp tuổi trên 3 năm tuổi; rừng trồng bị bệnh nặng hơn khi tỉa cành vào giữa mùa mưa; các công thức tỉa cành đúng kỹ thuật đều ít bị bệnh hơn so với đối chứng; rừng trồng ở độ cao dưới 300 m có xu hướng bị bệnh nặng hơn khi trồng ở độ cao từ 300-500 m so với mực nước biển. Các yếu tố độ dốc và vị trí (chân, sườn, đỉnh) không ảnh hưởng.

3.3. Tính kháng bệnh chết héo của các dòng Keo lá trà

3.3.1. Kết quả đánh giá tính kháng bệnh chết héo của Keo lá trà thông qua VSVNS

Dựa vào các đặc điểm trên môi trường nuôi cấy nhân tạo bao gồm: màu sắc, cách mọc và hình dạng tế bào/bào tử khi soi bằng kính hiển vi; từ các mẫu cành của 57 dòng Keo lá trà đã phân lập và tách thành công 16 chủng vi khuẩn nội sinh và 31 chủng nấm nội sinh.

Đường kính vòng ức chế nấm gây bệnh trung bình của 16 chủng vi khuẩn nội sinh và 31 chủng nấm nội sinh đều có sai khác rõ về thống kê. Trong đó 2 chủng vi khuẩn B1, B15 (Hình 3.3) và một chủng nấm F5 có khả năng ức chế rất mạnh đối với nấm *C. manginecans*.

Các dòng Keo lá trà được xác định là không bị bệnh chết héo tại hiện trường đều tập trung hai chủng vi khuẩn nội sinh B1 và B15 có khả năng ức chế rất mạnh đối với nấm *C. manginecans* gây bệnh chết héo với mật độ cao. Mật độ hai chủng vi khuẩn này ở các dòng bị bệnh nhẹ thấp hơn đáng kể và hoàn toàn không thấy ở các dòng có tỷ lệ bị bệnh cao. Chủng nấm nội sinh F5 chỉ ghi nhận nó có ở 6 dòng Keo lá trà gồm AA119, AA123, AA124, AA164, AA174 và AA188, các dòng này cũng hoàn toàn không bị bệnh chết héo.



Hình 3.3: Vòng ức chế nấm gây bệnh chết héo của vi khuẩn nội sinh
a. Chủng B1 (rất mạnh); **b.** Chủng B15 (rất mạnh); **c.** Chủng B16 (mạnh);
d. Chủng B2 (không ức chế)

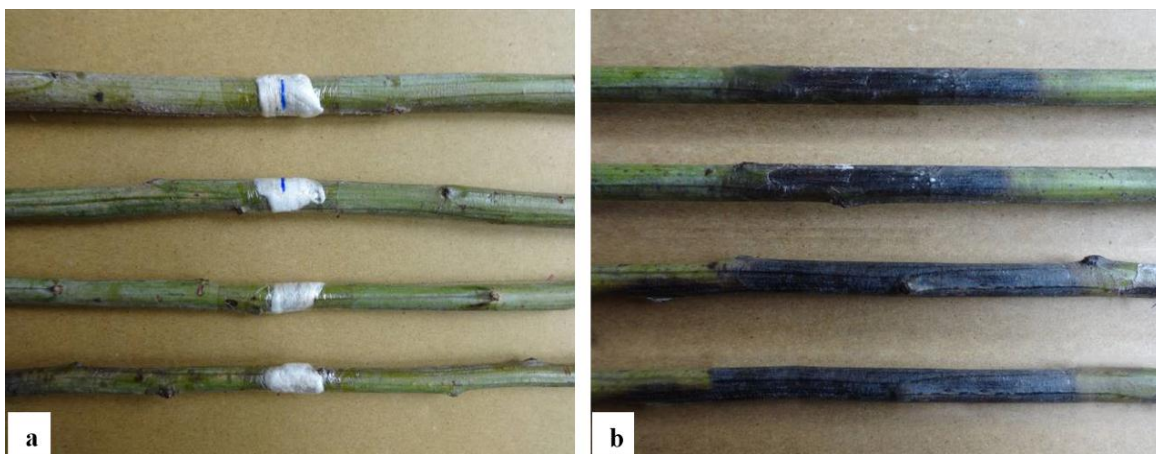
Kết quả giải mã trình tự gene và so sánh với ngân hàng gene cho thấy hai chủng vi khuẩn nội sinh B1 và B15 có độ tương đồng tương ứng là 100% và 99,9% với loài phụ *Bacillus subtilis subtilis*. Chủng nấm nội sinh F5 có độ tương đồng đạt 99,5% với loài *Blakeslea trispora*.

3.3.2. Kết quả đánh giá tính kháng bệnh chết héo của Keo lá trà thông qua cận dịch chiết từ lá

Trong tổng số 57 dòng Keo lá trà 2 tuổi khảo nghiệm ở Sông Mây, Đồng Nai đã xác định được 27 dòng có dịch chiết tách chiết từ lá bằng hai loại dung môi ME, MC có khả năng ức chế mạnh và rất mạnh đối với nấm gây bệnh; 21 dòng có dịch cận chiết ME và 12 dòng có cận dịch chiết MC ức chế trung bình; 4 dòng có dịch cận chiết ME và 13 dòng có cận dịch chiết MC ức chế yếu; 5 dòng (AA115, AA121, AA147, AA183 và giống đối chứng) và hai công thức đối chứng bằng nước cất, bằng dung môi ME, MC không có khả năng ức chế nấm gây bệnh. 27 dòng Keo lá trà có cận dịch chiết từ lá có khả năng ức chế mạnh và rất mạnh đối với nấm gây bệnh đều có vi khuẩn *B. subtilis subtilis* nội sinh với mật độ cao.

Giữa các chỉ tiêu kháng bệnh dựa trên thí nghiệm tính kháng bằng cận dịch chiết ME, MC, với kết quả đánh giá bệnh tại hiện trường đều có tương quan chặt, hệ số tương quan từ -0,72 đến -0,75.

3.3.3. Kết quả đánh giá tính kháng bệnh chết héo của Keo lá trà thông qua gây bệnh nhân tạo và gây tổn thương trên thân cây

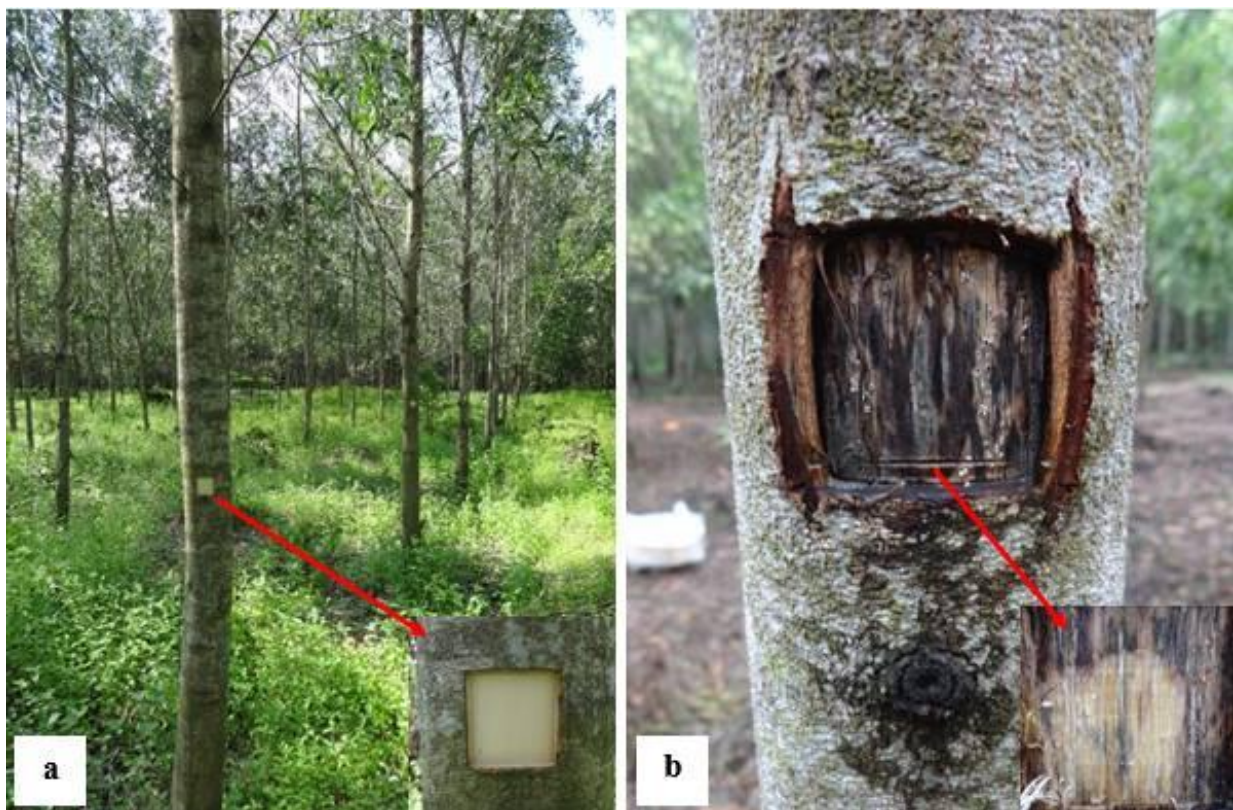


Hình 3.4: Cành Keo lá trà sau khi gây bệnh nhân tạo

a. Kháng bệnh rất mạnh (AA123); **b.** Mẫn cảm với bệnh (AA147)

Trong tổng số 57 dòng Keo lá tràm 2 tuổi khảo nghiệm ở Sông Mỹ, Đồng Nai đã xác định được 27 dòng có tính kháng bệnh mạnh và rất mạnh thông qua thí nghiệm gây bệnh nhân tạo (Hình 3.4). Các dòng này đều được xác định có tính kháng bệnh mạnh và rất mạnh thông qua cận dịch chiết từ lá và đều có vi khuẩn *B. subtilis subtilis* nội sinh với mật độ cao.

Trong số 16 dòng Keo lá tràm đã được gây bệnh nhân tạo trên cây 1 năm tuổi đã xác định được 2 dòng gồm AA123 và AA164 có tính kháng bệnh rất mạnh, cây vẫn sinh trưởng bình thường sau khi bị nhiễm bệnh, 6 dòng có tính kháng bệnh mạnh, 4 dòng kháng bệnh trung bình, 2 dòng kháng bệnh yếu và 2 dòng mẫn cảm gồm AA115 và AA147. Tính kháng bệnh của các dòng trong thí nghiệm này có sự tương đồng rất cao với các thí nghiệm tính kháng thông qua vi sinh vật nội sinh, dịch chiết từ lá và gây bệnh nhân tạo trên cành cắt rời.



Hình 3.5: Vết thương nhân tạo trên thân cây Keo lá tràm

a. Ngay sau khi gây tổn thương; **b.** Sau khi gây tổn thương 30 ngày

Trong số 45 dòng Keo lá tràm 3 tuổi khảo nghiệm ở Sông Mỹ, Đồng Nai đã xác định 7 dòng (AA78, AA83, AA89, AA92, AA93, AA95 và

AA103) có tính kháng bệnh rất mạnh khi gây bệnh nhân tạo trên cành cắt rời. 7 dòng này cũng hoàn toàn không bị bệnh tại hiện trường cũng như không bị nấm *C. manginecans* xâm nhiễm vào vết thương trên thân.

Giữa các chỉ tiêu chiều dài vết bệnh khi gây bệnh nhân tạo trên cành, gây tổn thương nhân tạo trên thân với kết quả đánh giá bệnh tại hiện trường đều có tương quan chặt, hệ số tương quan từ 0,78 đến 0,82.

3.3.4. Tổng hợp kết quả nghiên cứu tính kháng bệnh chết héo

Kết quả nghiên cứu đánh giá tính kháng bệnh thông qua các yếu tố bao gồm (1) thông qua vi sinh vật nội sinh, (2) thông qua cặn dịch chiết từ lá cây, (3) thông qua gây bệnh trên cành cắt rời và (4) thông qua gây tổn thương trên thân cây cho thấy tính kháng bệnh chết héo do nấm *C. manginecans* của các dòng Keo lá tràm ở giai đoạn 2 và 3 năm tuổi đều thể hiện rõ qua 4 yếu tố nêu trên. Đặc biệt, khi đánh giá tính kháng bệnh chết héo thông qua cặn dịch chiết từ lá cây, gây bệnh trên cành và gây tổn thương trên thân đã lập được các phương trình lý thuyết giữa các chỉ tiêu bệnh hại với các chỉ tiêu đánh giá tính kháng với tương quan chặt. Kết quả kiểm tra sự tồn tại của các tham số trong các phương trình tương quan cho thấy các tham số có tồn tại với *P value* đều nhỏ hơn 0,05. Từ các kết quả đó là cơ sở xây dựng các phương trình lý thuyết làm cơ sở đánh giá nhanh tính kháng bệnh, các phương trình được tổng hợp trong bảng 3.2.

Bảng 3.2: Tương quan giữa bệnh hại và các chỉ tiêu đánh giá tính kháng bệnh chết héo của các dòng Keo lá tràm

TT	Phương trình lý thuyết	Hệ số tương quan (r)	Tuổi cây
1	$\overline{D\bar{I}} = 0,337 - 0,026.D_{ME}$	-0,73	2
2	$\overline{D\bar{I}} = 0,336 - 0,029.D_{MC}$	-0,75	2
3	$\overline{D\bar{I}} = 0,366 - 0,011.D_{ME} - 0,020.D_{MC}$	-0,72	2
4	$P\% = 15,661 - 1,165.D_{ME}$	-0,72	2
5	$P\% = 15,726 - 1,321.D_{MC}$	-0,74	2
6	$P\% = 16,679 - 0,167.D_{ME} - 1,195.D_{MC}$	-0,74	2
7	$\overline{D\bar{I}} = -0,132 + 0,034.L_{GBNT}$	0,82	2

TT	Phương trình lý thuyết	Hệ số tương quan (r)	Tuổi cây
8	$P\% = -5,408 + 1,517.L_{GBNT}$	0,83	2
9	$\overline{DI} = -0,101 + 0,002.D_{ME} - 0,003.D_{MC} + 0,031.L_{GBNT}$	0,79	2
10	$P\% = -3,352 + 0,371.D_{ME} - 0,473.D_{MC} + 1,338.L_{GBNT}$	0,84	2
11	$\overline{DI} = -0,035 + 0,009.L_{GBNT}$	0,78	3
12	$P\% = -2,918 + 0,788.L_{GBNT}$	0,82	3
13	$P\% = -1,137 + 0,181.TL_{TTNT}$	0,82	3

Ghi chú:

\overline{DI} : Cấp bệnh trung bình của các dòng Keo lá trà điều tra tại hiện trường.

$P\%$: Tỷ lệ bị bệnh của các dòng Keo lá trà được điều tra tại hiện trường.

D_{ME} : Đường kính trung bình vòng ức chế nấm gây bệnh của cặn dịch chiết từ lá bằng dung môi methanol.

D_{MC} : Đường kính trung bình vòng ức chế nấm gây bệnh của cặn dịch chiết từ lá bằng dung môi methylene chloride.

L_{GBNT} : Chiều dài vết bệnh trung bình trên cành cắt rời của các dòng Keo lá trà được tính bằng cm sau 10 ngày gây bệnh nhân tạo.

TL_{TTNT} : Tỷ lệ cây bị nhiễm bệnh sau khi gây tổn thương nhân tạo 30 ngày.

Ngoài ra, tính kháng bệnh của 16 dòng trong thí nghiệm gây bệnh trên cây hom 1 năm tuổi đã cho thấy có sự tương đồng rất cao với các thí nghiệm tính kháng thông qua vi sinh vật nội sinh, dịch chiết từ lá và gây bệnh nhân tạo trên cành cắt rời. Qua đó góp phần kiểm chứng mức độ chính xác của các phương pháp đánh giá tính kháng và hoàn toàn có thể áp dụng các phương pháp nêu trên khi đánh giá tính kháng bệnh chết héo của các dòng Keo lá trà với các vật liệu rất sẵn từ các mô hình, các khảo nghiệm và an toàn hơn.

Đánh giá tính kháng bệnh của các dòng Keo lá trà khảo nghiệm tại Quảng Trị, Phú Yên và Đồng Nai, trong đó khảo nghiệm tại Đồng Nai đã tiến hành đánh giá tính kháng thông qua ba yếu tố gồm (1) VSVNS, (2) cặn dịch chiết từ lá, (3) gây bệnh nhân tạo. Khảo nghiệm tại Quảng Trị và

Phú Yên chỉ tiến hành đánh giá thông qua gây bệnh nhân tạo trên cành. Kết quả tổng hợp về tỷ lệ cây bị bệnh và tính kháng bệnh của 23 dòng đã khảo nghiệm lặp lại tại hai hoặc cả ba địa điểm được tổng hợp ở bảng 3.3.

Bảng 3.3: Tỷ lệ bị bệnh và tính kháng của một số dòng Keo lá tràm khảo nghiệm tại Quảng Trị, Phú Yên và Đồng Nai

Dòng	Quảng Trị		Phú Yên		Đồng Nai	
	P%	Tính kháng	P%	Tính kháng	P%	Tính kháng
AA1**	0,0	Rất mạnh	0,0	Rất mạnh		
AA56*	0,0	Rất mạnh	0,0	Rất mạnh		
AA115			14,3	Mẫn cảm	16,7	Mẫn cảm
AA116	28,1	Trung bình	0,0	Mạnh	6,7	Trung bình
AA119	0,0	Rất mạnh	0,0	Mạnh	0,0	Mạnh
AA121	5,9	Trung bình	6,7	Yếu	10,0	Mẫn cảm
AA123	0,0	Rất mạnh	0,0	Rất mạnh	0,0	Rất mạnh
AA124	5,0	Trung bình	0,0	Mạnh	0,0	Mạnh
AA126	6,3	Yếu	4,5	Trung bình	6,7	Trung bình
AA127	3,6	Trung bình	6,5	Trung bình	3,3	Yếu
AA128	7,1	Trung bình	0,0	Rất mạnh	0,0	Mạnh
AA132	0,0	Mạnh	0,0	Mạnh	3,3	Trung bình
AA134	3,3	Mạnh	3,1	Trung bình	3,3	Trung bình
AA135	0,0	Rất mạnh	0,0	Mạnh	0,0	Mạnh
AA138	0,0	Rất mạnh	0,0	Mạnh	0,0	Mạnh
AA147	20,0	Mẫn cảm	9,1	Mẫn cảm	33,3	Mẫn cảm
AA149	2,9	Trung bình	6,3	Trung bình	23,3	Yếu
AA153	0,0	Mạnh	0,0	Mạnh	0,0	Mạnh
AA154	0,0	Rất mạnh	0,0	Rất mạnh	0,0	Mạnh
AA157	5,7	Trung bình	0,0	Mạnh	3,3	Trung bình
AA162	0,0	Mạnh	3,0	Trung bình	3,3	Trung bình
AA164			0,0	Rất mạnh	0,0	Rất mạnh
AA171	0,0	Mạnh	0,0	Mạnh	10,0	Trung bình

* Giống tiên bộ kỹ thuật; ** Giống Quốc gia

Kết quả tổng hợp ở bảng 3.3 cho thấy có thể chia 23 dòng đã được khảo nghiệm lặp lại ở miền Trung và Đông Nam Bộ thành 4 nhóm căn cứ theo tính kháng bệnh, cụ thể như sau:

(1) Kháng bệnh mạnh đến rất mạnh: 10 dòng, trong đó 7 dòng (AA119, AA123, AA135, AA138, AA153, AA154, AA171) thể hiện tính kháng bệnh mạnh và rất mạnh ở cả ba địa điểm khảo nghiệm, dòng AA164 và hai giống đối chứng là giống tiến bộ kỹ thuật AA56 và giống quốc gia AA1 đều thể hiện khả năng chống chịu bệnh rất mạnh khi trồng tại Quảng Trị và Phú Yên.

(2) Kháng bệnh yếu đến trung bình: 3 dòng (AA126, AA127, AA147).

(3) Mẫn cảm với bệnh: 2 dòng (AA115 và AA147).

(4) Thể hiện tính kháng bệnh khác nhau tại các địa điểm khảo nghiệm khác nhau: 8 dòng.

3.4. Đặc điểm sinh trưởng, tính kháng bệnh và chất lượng hình thân của các dòng Keo lá trà

3.4.1. Đặc điểm sinh trưởng, tính kháng bệnh và chất lượng hình thân của các dòng Keo lá trà tại Quảng Trị

Kết quả phân tích số liệu cho thấy 60 dòng Keo lá trà được khảo nghiệm tại Cam Lộ, Quảng Trị có sai khác rõ về sinh trưởng, độ thẳng thân, bệnh hại và tính kháng bệnh thông qua gây bệnh nhân tạo.

Đánh giá tổng hợp các tiêu chí sinh trưởng, độ thẳng thân, bệnh hại và tính kháng bệnh để chọn giống với mục tiêu sinh trưởng nhanh (chiều cao lớn hơn trung bình của khảo nghiệm), hình thân đẹp (độ thẳng thân > 3 điểm) và chống chịu bệnh (không bị bệnh tại hiện trường và thể hiện tính kháng bệnh rất mạnh khi gây bệnh nhân tạo) thì ngoài hai giống tiến bộ kỹ thuật (AA56) và giống quốc gia (AA1), trong khảo nghiệm này xác định được 6 dòng AA72, AA96, AA118, AA135, AA142 và AA154 đáp ứng các tiêu chí trên, có triển vọng để có thể phát triển vào sản xuất.

3.4.2. Đặc điểm sinh trưởng, tính kháng bệnh và chất lượng hình thân của các dòng Keo lá trà tại Phú Yên

Với điều kiện khô hạn hơn so với ở Quảng Trị, các dòng Keo lá trà trong khảo nghiệm tại Tuy An, Phú Yên bị bệnh nhẹ hơn. Kết quả phân cấp bệnh cho thấy có 47 dòng không bị bệnh, trong đó có 23 dòng có tính

kháng bệnh rất mạnh khi gây bệnh nhân tạo trên cành cắt rời. Hai giống AA1 và AA56 vẫn có sinh trưởng tốt và kháng bệnh mạnh trong khảo nghiệm này; 19 dòng còn lại được ghi nhận có bị bệnh chết héo hại nhẹ, tỷ lệ bị bệnh đều dưới 15%. Ngoài hai giống AA1 và AA56 đã được công nhận giống tiên bộ kỹ thuật và giống quốc gia, trong khảo nghiệm này đã xác định được 7 dòng AA118, AA129, AA133, AA137, AA151, AA152 và AA158 đáp ứng các tiêu chí, có triển vọng để phát triển.

3.4.3. Đặc điểm sinh trưởng, tính kháng bệnh và chất lượng hình thân của các dòng Keo lá tràm 2 tuổi tại Đồng Nai

Kết quả gây bệnh nhân tạo đã xác định được 27 dòng Keo lá tràm có tính kháng bệnh mạnh và rất mạnh thông qua gây bệnh nhân tạo trên cành. 27 dòng Keo lá tràm này đều được xác định là không bị bệnh tại hiện trường và cũng được đánh giá có tính kháng bệnh mạnh và rất mạnh thông qua cấy dịch chiết từ lá. Đồng thời, các dòng này đều có vi khuẩn *Bacillus subtilis subtilis* nội sinh. Đặc biệt, trong số các dòng có tính kháng bệnh mạnh nêu trên, đã chọn được 3 dòng có tính kháng bệnh chết héo rất mạnh gồm AA123, AA164, AA174 và cũng có sinh trưởng triển vọng.

3.4.4. Đặc điểm sinh trưởng, tính kháng bệnh và chất lượng hình thân của các dòng Keo lá tràm 3 tuổi tại Đồng Nai

Sinh trưởng thể tích thân cây trung bình của khảo nghiệm đạt 38,48 dm³/cây và năng suất trung bình đạt 17,65 m³/ha/năm ở giai đoạn 3 năm tuổi. Trong tổng số 45 dòng, có 23 dòng có năng suất cao hơn năng suất trung bình của khảo nghiệm, trong đó đã xác định được 13 dòng đạt năng suất trên 20 m³/ha/năm.

Chỉ tiêu độ thẳng thân và độ nhỏ cành của các dòng Keo lá tràm có sai khác rõ, trong đó có 19 dòng có độ thẳng thân và 21 dòng có độ nhỏ cành tốt hơn so với trung bình của khảo nghiệm. Tuy nhiên chỉ có 15 dòng hội tụ cả hai chỉ tiêu này với điểm trung bình của cả hai chỉ tiêu đều cao hơn trung bình khảo nghiệm.

Kết quả thí nghiệm gây bệnh nhân tạo trên cành cắt rời đã xác định có 7 dòng (AA78, AA83, AA89, AA92, AA93, AA95 và AA103) có tính kháng bệnh rất mạnh. Trong 38 dòng còn lại có 14 dòng kháng bệnh mạnh; 14 dòng kháng trung bình; 4 dòng kháng yếu và 6 dòng không kháng. Bảy dòng Keo lá trà kháng bệnh rất mạnh khi gây bệnh nhân tạo trên cành cắt rời cũng hoàn toàn không bị bệnh tại hiện trường cũng như không bị nấm gây bệnh chết héo xâm nhiễm vào vết thương trên thân.

KẾT LUẬN, TỒN TẠI VÀ KIẾN NGHỊ

1.1. Kết luận

1. Nguyên nhân gây bệnh chết héo Keo lá trà tại Việt Nam được xác định do *Ceratocystis manginecans* M. van Wyk, Al. Adawi & M.J. Wingf, tỷ lệ bị bệnh dao động từ 7,1% - 12,5%.

2. Tính gây bệnh của 55 chủng nấm *C. manginecans* được chia thành 3 nhóm gồm: 9 chủng gây bệnh mạnh, 45 chủng gây bệnh trung bình, 1 chủng gây bệnh yếu.

Bào tử nấm *C. manginecans* phát tán trong rừng Keo lá trà và tập trung nhiều nhất ở độ cao từ 110-120 cm.

Các yếu tố tuổi cây, thời điểm tỉa cành, kỹ thuật tỉa cành và độ cao so với mực nước biển có ảnh hưởng rõ đến khả năng bị nhiễm bệnh của rừng trồng Keo lá trà. Rừng trồng dưới 3 năm tuổi bị bệnh nặng hơn ở các cấp tuổi trên 3 năm tuổi; rừng trồng bị bệnh nặng hơn khi tỉa cành vào giữa mùa mưa; các công thức tỉa cành đúng kỹ thuật đều ít bị bệnh hơn so với đối chứng; rừng trồng Keo lá trà ở độ cao dưới 300 m có xu hướng bị bệnh nặng hơn khi trồng ở độ cao từ 300-500 m so với mực nước biển. Các yếu tố độ dốc và vị trí (chân, sườn, đỉnh) không ảnh hưởng.

3. Đề tài đã xác định được phương pháp chẩn đoán tính kháng bệnh phục vụ chọn giống Keo lá trà kháng bệnh chết héo thông qua bốn yếu tố sau: (1) thông qua vi sinh vật nội sinh, (2) thông qua cấy dịch chiết từ lá,

(3) thông qua gây bệnh trên cành cắt rời và (4) thông qua gây tổn thương trên thân cây.

4. Từ bốn khảo nghiệm dòng vô tính Keo lá tràm tại miền Trung và Đông Nam Bộ, các dòng Keo lá tràm sinh trưởng nhanh và có cấp bệnh trung bình thấp hoặc không bị bệnh đều thể hiện có tính kháng bệnh thông qua một trong bốn yếu tố: vi sinh vật nội sinh, cặn dịch chiết từ lá, gây bệnh nhân tạo trên cành cắt rời và gây tổn thương trên thân cây.

1.2. Tồn tại

- Nghiên cứu tính kháng bệnh thông qua cặn dịch chiết mới chỉ thực hiện trên lá mà chưa thí nghiệm với vỏ trên thân, cành.

- Nghiên cứu tính kháng bệnh thông qua VSVNS mới chỉ thực hiện ở tuổi 2 mà chưa chưa khẳng định được VSVNS có tồn tại và duy trì hiệu lực ức chế nấm gây bệnh ở các tuổi lớn hơn hay không.

- Thí nghiệm gây tổn thương trên thân mới chỉ xác định được tỷ lệ cây bị nấm xâm nhiễm mà chưa xác định được mức độ bị bệnh trên thân.

1.3. Kiến nghị

+ Khi tiến hành chăm sóc rừng phải tỉa cành theo phương pháp cắt cành sát thân để hạn chế vết sẹo nhưng cần tiến hành vào mùa khô để hạn chế sự xâm nhiễm của bệnh hại.

+ Sử dụng các kết quả nghiên cứu tính kháng bệnh chết héo của Keo lá tràm thông qua vi sinh vật nội sinh, thông qua dịch chiết từ lá, thông qua gây bệnh nhân tạo trên cành cắt rời và gây tổn thương trên thân cây để đánh giá sớm tính kháng bệnh chết héo cho các dòng Keo lá tràm.