

Bệnh thối gốc trên cây đan sâm tại Việt Nam

Đặng Thị Hà, Phan Thúy Hiền

Trung tâm Nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội, Viện Dược liệu

Bệnh thối gốc đã gây hại nặng trên cây đan sâm (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) trồng tại Thanh Trì, Hà Nội qua vụ trồng đông xuân 2013-2014. Nấm gây bệnh, *Rhizoctonia solani* đã được phân lập từ mẫu bệnh và được khẳng định qua kết quả lây bệnh nhân tạo. Nấm *R. solani* gây bệnh thối gốc đan sâm sinh trưởng tốt nhất ở 25°C và pH 5-6. Trong vụ trồng năm 2013-2014 tại Hà Nội, bệnh thối gốc đan sâm xuất hiện vào cuối tháng 11, sau đó tăng dần và gây hại nặng nhất vào đầu tháng 4 năm sau. Tỷ lệ bệnh có xu hướng giảm dần từ giữa tháng 4 đến thời điểm thu hoạch. Đây là công bố đầu tiên về bệnh thối gốc đan sâm tại Việt Nam.

Từ khóa: đan sâm, lây bệnh nhân tạo, *Rhizoctonia solani*, thối gốc.

Chỉ số phân loại 4.1

DANSHEN BASAL ROT CAUSED BY RHIZOCTONIA SOLANI IN VIETNAM

Summary

Basal rot significantly damaged danshen cultivation in Thanh Tri, Hanoi in 2013-2014. The pathogen, *Rhizoctonia solani*, was consistently isolated from the disease samples. The identification was confirmed by pathogenicity test following Koch's postulate. The optimum conditions for the development of *R. solani* causing danshen basal rot were 25°C and pH 5-6. In the 2013-2014 danshen crop, the disease appeared at the end of November, then gradually increased and was most severe in early April of the next year. The disease incidence decreased from mid April to harvest time when the temperature increased. This is the first report of the disease in Vietnam.

Keywords: basal rot, danshen, pathogenicity test, *Rhizoctonia solani*.

Classification number 4.1

Đặt vấn đề

Đan sâm là cây bản địa của Trung Quốc và Nhật Bản, được di thực và phát triển tại Việt Nam từ những năm 60 của thế kỷ trước. Rễ củ đan sâm là một trong những vị thuốc quý, được sử dụng từ rất lâu đời trong y học cổ truyền để phòng và chữa trị các bệnh về tim mạch (Võ Văn Chi, 2012; Viện Dược liệu, 1976; Viện Dược liệu, 2003). Hiện tại, do nhu cầu dược liệu đan sâm trong nước ngày một tăng, đan sâm đang được đầu tư nghiên cứu và xây dựng vùng trồng ở các tỉnh Lào Cai, Lai Châu, Sơn La, Phú Thọ, Vĩnh Phúc và Hà Nội thông qua nguồn đầu tư từ các đề tài, dự án (đề tài “Nghiên cứu nhân giống và trồng di thực cây đan sâm có nguồn gốc Tứ Xuyên - Trung Quốc tại Việt Nam”, dự án “Hoàn thiện quy trình nhân giống cây đan sâm và cây húng chanh Ấn Độ - *Coleus forskohlii* L.”) và các doanh nghiệp phát triển dược liệu. Tuy nhiên, việc mở rộng quy mô sản xuất đan sâm đang gặp phải khó khăn vì vấn đề sâu bệnh, đặc biệt là bệnh thối gốc.

Bệnh thối gốc đan sâm được phát hiện trên diện tích trồng đan sâm tại Thanh Trì, Hà Nội qua hai vụ trồng từ năm 2012 đến năm 2014. Bệnh gây thiệt hại đáng kể đến năng suất rễ củ đan sâm, tỷ lệ bệnh lên đến 62% trên một số ruộng trồng. Các nghiên cứu về bệnh hại đan sâm trước đây chủ yếu tập trung tại Trung Quốc, nước có diện tích trồng đan sâm lớn nhất trên thế giới. Bệnh thối rễ do nấm *Fusarium solani*, bệnh héo do nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* là những bệnh gây hại nặng trên cây đan sâm ở Trung Quốc (Ding và cs, 2003; Zeng và cs, 2003; Yang và cs, 2013). Tuy nhiên, chưa thấy nghiên cứu nào đề cập đến bệnh thối gốc đan sâm. Bài báo này công bố kết quả nghiên cứu xác định tác nhân gây bệnh thối gốc trên cây đan sâm tại Việt Nam, ảnh hưởng của

một số điều kiện sinh thái như nhiệt độ, pH đến sự phát triển của nấm gây bệnh trên đan sâm và quy luật phát sinh, phát triển của bệnh trên đồng ruộng trong vụ trồng năm 2013-2014 tại Trung tâm Nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội, Viện Dược liệu.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành trên cây đan sâm và các mẫu nấm *R. solani solani* phân lập được từ mẫu bệnh thối gốc đan sâm.

Các vật liệu khác sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: nguyên liệu sử dụng cho môi trường phân lập, làm thuần và nuôi cấy nấm *R. solani* [môi trường khoai tây - đường - agar cải tiến (mPDA), thạch - nước cất (WA), khoai tây - đường - agar (PDA)] và nguyên liệu sử dụng cho môi trường nhân sinh khối nấm *R. solani* (Burgess và cs, 2008).

Phương pháp nghiên cứu

Phân lập và giám định nấm gây bệnh: mẫu bệnh thối gốc đan sâm điển hình sau khi thu thập từ đồng ruộng về được loại bỏ phần lá và rửa sạch dưới vòi nước. Cắt bộ phận gốc thân bị bệnh thành những miếng nhỏ sao cho miếng cắt nằm ở ranh giới giữa mô bệnh và mô khỏe. Khử trùng miếng cắt bằng ethanol 70% trong 5 giây, sau đó rửa sạch bằng nước cất vô trùng. Thấm khô miếng cắt bằng giấy thấm vô trùng, dùng dao cấy đã khử trùng cắt vết bệnh thành các miếng nhỏ 5x5 mm và cấy lên môi trường mPDA. Khi nấm đã phát triển với kích thước đường kính tản nấm 1-2 cm, cấy truyền sang môi trường WA. Nấm được làm thuần bằng cách cấy đỉnh sinh trưởng của sợi nấm từ môi trường WA sang môi trường PDA (Burgess và cs, 2008) và được nuôi trong phòng thí nghiệm ở điều kiện 25°C với 12 h chiếu sáng xen kẽ 12 h tối. Sau 7 ngày, nấm được giám định dựa vào hình thái quan sát dưới kính hiển vi (Banett và Hunter, 1998).

Lây bệnh nhân tạo: phương pháp lây bệnh qua đất được tiến hành theo Burgess và cs (2008). Cây đan sâm sử dụng cho thí nghiệm lây bệnh được lấy từ vườn ươm. Chọn các cây khỏe mạnh, không có biểu hiện bị bệnh trồng trong các chậu thí nghiệm chứa giá thể đất đã khử trùng. 15 cây đan sâm được sử dụng trong thí nghiệm lây bệnh. Nguồn nấm lây bệnh được nhân sinh khối trên giá thể hạt kê - trấu trong phòng thí nghiệm.

Trộn hạt kê và vỏ trấu theo tỷ lệ 1:1 về thể tích rồi ngâm nước và để qua đêm trong tủ lạnh, sau đó vắt bỏ phần nước. Cho 150 ml hỗn hợp giá thể vào một bình tam giác dung tích 250 ml, nút chặt và hấp khử trùng. Để bình nguội, sau đó cấy các miếng thạch có sợi nấm vào giá thể trong bình tam giác. Lắc bình tam giác 2-3 ngày sau khi cấy để đảm bảo nguồn bệnh được phân bố đều trong giá thể. Nấm nhân nuôi trong bình tam giác khoảng 15 ngày, lấy ra trộn với đất xung quanh gốc cây cần lây bệnh. Theo dõi sự hình thành triệu chứng trên cây được lây bệnh. Mẫu bệnh có triệu chứng điển hình từ thí nghiệm lây bệnh được tái phân lập theo phương pháp đã trình bày ở trên.

Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ và pH đến sự phát triển của *R. solani*: đối với thí nghiệm về ảnh hưởng của nhiệt độ, nấm *R. solani* đã làm thuần được cấy lên môi trường PDA có pH = 6 và nuôi trong tủ định ôn ở các điều kiện nhiệt độ 20, 25 và 30°C. Đối với thí nghiệm về ảnh hưởng của pH, *R. solani* được nuôi trên môi trường PDA có điều chỉnh pH ở mức 5, 6, 7, 8 trong điều kiện nhiệt độ 25°C. Các công thức thí nghiệm về nhiệt độ và pH đều được nhắc lại 3 lần, mỗi lần 3 hộp đĩa petri có đường kính 9 cm. Đường kính tản nấm được đo hàng ngày đến khi tản nấm mọc quá mép đĩa.

Điều tra diễn biến: diễn biến của bệnh thối gốc đan sâm trên đồng ruộng được điều tra định kỳ 7 ngày/lần theo 5 điểm chéo góc, mỗi điểm 100 cây (Viện Bảo vệ thực vật, 1999) trên ruộng trồng đan sâm tại Trung tâm Nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội. Tỷ lệ bệnh được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ bệnh (\%)} = \frac{\text{Số cây bị bệnh}}{\text{Số cây điều tra}} \times 100$$

Kết quả nghiên cứu và thảo luận

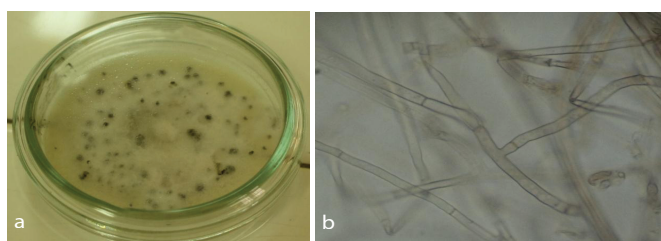
Kết quả giám định bệnh thối gốc đan sâm

Triệu chứng bệnh: bệnh thường xuất hiện trên cây đan sâm đã trưởng thành, bắt đầu sinh trưởng mạnh thân lá. Vết bệnh ban đầu là các đốm nâu xuất hiện ở phần gốc thân tiếp giáp với mặt đất, sau đó lan dần ra xung quanh gốc cây. Cây bị héo và lụi dần, khi nhổ lên thường bị đứt ở gốc thân. Bệnh nặng, toàn bộ phần gốc thân bị thối và xuất hiện các hạch nấm màu nâu đậm, dẹt, đường kính khoảng 3 mm và có hình thù không xác định. Khi thời tiết ẩm, phần gốc thân xuất hiện các sợi nấm màu trắng xám (hình 1).



Hình 1: triệu chứng bệnh thối gốc đan sâm:
a. Gốc thân bị thối; b. Hạch nấm hình thành ở gốc thân bị bệnh

Tác nhân gây bệnh: nấm *R. solani* là tác nhân chính được phân lập từ các mẫu bệnh và hạch nấm thu được từ các cây đan sâm bị thối gốc trên ruộng (hình 2). Sau khi lây bệnh 5 ngày, 12 trong số 15 cây đan sâm lây bệnh đều biểu hiện triệu chứng điển hình của bệnh thối gốc, trong khi các cây đối chứng đều không biểu hiện triệu chứng bệnh. Kết quả tái phân lập mẫu bệnh chỉ thu được một loài nấm duy nhất là *R. solani*. Kết quả này khẳng định, nấm *R. solani* chính là tác nhân gây bệnh thối gốc cây đan sâm.



Hình 2: nấm *R. solani* gây bệnh thối gốc đan sâm:
a. Hạch nấm hình thành trên môi trường PDA; b. Sợi nấm

Ảnh hưởng của điều kiện nhiệt độ và pH tới sự phát triển của nấm *R. solani* gây bệnh thối gốc đan sâm

Để tìm hiểu quy luật phát sinh, phát triển của bệnh thối gốc đan sâm trong các điều kiện sinh thái khác nhau, thí nghiệm về ảnh hưởng của nhiệt độ và pH đến khả năng phát triển của nấm *R. solani* đã được tiến hành tại Phòng thí nghiệm bệnh cây thuộc Trung tâm Nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội.

Nấm *R. solani* gây thối gốc đan sâm phát triển tốt trong phạm vi 20-25°C. Trong các ngưỡng nhiệt độ thử nghiệm, nấm *R. solani* phát triển mạnh nhất ở 25°C. Sau 5 ngày nuôi cấy, đường kính tản nấm đạt trung bình 8,76 cm ở 25°C và 7,86 cm ở 20°C. Ở nhiệt độ 30°C nấm *R. solani* phát triển chậm hơn hẳn, sau 5 ngày nuôi cấy đường kính tản nấm chỉ đạt trung bình 3,63 cm (bảng 1).

Bảng 1: ảnh hưởng của điều kiện nhiệt độ tới sự phát triển của nấm *R. solani* gây bệnh thối gốc đan sâm

Nhiệt độ (°C)	Đường kính tản nấm trung bình (cm)			
	2 ngày	3 ngày	4 ngày	5 ngày
20	1,96	4,13	6,23	7,86
25	2,26	5,43	7,10	8,76
30	0,80	1,26	2,83	3,63
LSD	0,29	0,23	0,27	0,39
CV (%)	8,90	3,20	2,60	3,00

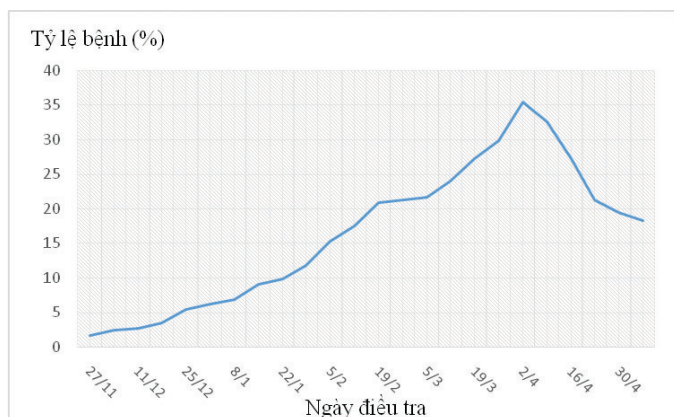
Ở nhiệt độ 25°C trên các môi trường có điều chỉnh pH 5-8, nấm *R. solani* phát triển khá tốt. Sau 5 ngày, đường kính tản nấm trung bình đạt cao nhất ở pH = 6 (8,76 cm) và thấp nhất ở pH = 8 (6,93 cm) (bảng 2). Nấm *R. solani* gây bệnh thối gốc đan sâm có khả năng phát triển bình thường trong phạm vi pH khá rộng (5-8) và thích hợp nhất ở điều kiện pH = 6. Như vậy, nấm *R. solani* có thể phát triển và gây hại mạnh nhất cho cây đan sâm trồng trên đất có độ pH 5-7 trong khoảng nhiệt độ 20-25°C.

Bảng 2: ảnh hưởng của độ pH đến sự phát triển của nấm *R. solani* gây bệnh thối gốc đan sâm

pH	Đường kính tản nấm (cm)			
	2 ngày	3 ngày	4 ngày	5 ngày
5	1,53	3,46	6,26	8,06
6	2,26	4,53	6,93	8,76
7	1,23	2,86	5,46	7,56
8	1,03	1,86	4,36	6,93
LSD	0,25	0,34	0,47	0,25
CV(%)	8,90	5,70	4,40	1,70

Diễn biến bệnh thối gốc đan sâm tại Thanh Trì, Hà Nội (năm 2013-2014)

Để tìm hiểu quy luật phát sinh, phát triển của bệnh thối gốc trên cây đan sâm, diễn biến bệnh đã được điều tra trên đồng ruộng trong suốt một vụ trồng đan sâm từ khi trồng vào tháng 10.2013 đến khi thu hoạch vào tháng 5.2014, kết hợp với theo dõi diễn biến nhiệt độ, ẩm độ qua các tháng điều tra tại Hà Nội (hình 3). Bệnh bắt đầu xuất hiện vào khoảng cuối tháng 11, đầu tháng 12 và duy trì ở mức gây hại nhẹ dưới 15% cho đến cuối tháng 2 năm sau, bệnh bắt đầu tăng mạnh và đạt cao điểm vào đầu tháng 4 với tỷ lệ bệnh trên 35%. Lúc này, điều kiện nhiệt độ môi trường vào khoảng 20-25°C và ẩm độ khoảng 80-85%. Từ giữa tháng 4 trở đi, bệnh có xu hướng giảm nhanh khi nhiệt độ tăng cao. Đến đầu tháng 5 là lúc chuẩn bị thu hoạch thì tỷ lệ bệnh giảm xuống dưới 20%.



Hình 3: diễn biến bệnh thối gốc cây đan sâm tại Hà Nội vụ đông xuân 2013-2014

Kết quả điều tra diễn biến bệnh trên đồng ruộng cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu trong phòng về ảnh hưởng của nhiệt độ tới sự phát triển của nấm *R. solani* gây hại đan sâm. Kết quả này chứng tỏ, nhiệt độ có tác động vô cùng quan trọng tới sự phát sinh và gây hại của nấm *R. solani* gây bệnh thối gốc đan sâm. Bệnh gây hại nặng nhất vào tháng 3 và tháng 4 khi nhiệt độ đạt khoảng 20-25°C. Thời điểm tháng 3 cũng là lúc ẩm độ đạt cao nhất trong năm, tạo điều kiện thuận lợi cho các hạch nấm nảy mầm thành sợi nấm xâm nhập vào mô cây. Lúc này đan sâm đang ở giai đoạn hình thành củ. Nếu không có biện pháp quản lý bệnh ngay từ đầu thì toàn bộ các cây nhiễm bệnh sẽ không thể cho thu hoạch.

Kết luận

1. Kết quả giám định cho thấy, bệnh thối gốc đan sâm là do nấm *R. solani* gây hại.
2. Nấm *R. solani* gây bệnh thối gốc đan sâm sinh trưởng tốt ở điều kiện nhiệt độ 20-25°C, thích hợp nhất ở nhiệt độ 25°C và pH 5-6.
3. Trong vụ trồng năm 2013-2014 tại Hà Nội,

bệnh thối gốc đan sâm xuất hiện vào cuối tháng 11, sau đó tăng dần và gây hại nặng nhất vào đầu tháng 4 năm sau với tỷ lệ bệnh trên 35%. Tỷ lệ bệnh có xu hướng giảm dần từ giữa tháng 4 đến thời điểm thu hoạch, khi nhiệt độ tăng cao.

Kết quả nêu ra trong bài báo này mới chỉ đề cập đến những nghiên cứu đầu tiên về bệnh thối gốc đan sâm tại Việt Nam. Cần có những nghiên cứu sâu hơn về đặc điểm sinh học của nấm gây bệnh, ảnh hưởng của điều kiện sinh thái tới sự hình thành hạch nấm và khả năng bảo tồn của chúng trong tự nhiên.

Tài liệu tham khảo

1. Banett H.L and Hunter B.B (1998), "Illustrated genera of imperfect fungi", *The American Phytopathological Society*, St. Paul, Minnesota, pp.218.
2. Burgess L.W, Knight T.E, Tesoriero L and Phan H.T (2008), "Diagnostic manual for plant diseases in Vietnam", *ACIAR Monograph*, **No.129**, pp.210. ACIAR: Canberra.
3. Võ Văn Chi (2012), *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, NXB Y học, **tập 1**, trang 869.
4. Ding W.L, Cheng H.Z and Chen J (2003), "Research on preventing the medicinal plant diseases with *Trichoderma harzianum* preparation", *China Journal of Chinese Materia Medica*, **28**, pp.24-27.
5. Viện Bảo vệ thực vật (1999), *Phương pháp nghiên cứu bảo vệ thực vật*, NXB Nông nghiệp, **tập 3**.
6. Viện Dược liệu (1976), *Kỹ thuật trồng cây thuốc*, NXB Y học, trang 75.
7. Viện Dược liệu (2003), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, **tập 1**, trang 732-738.
8. Yang L, Miao Z.Q, Yang G, Shao A.J, Huang L.Q, Shen Y, Wang X and Chen M.L (2013), "Research on wilt disease of *Salvia miltiorrhiza* and its pathogen", *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, **38(23)**, pp.4040-4043.
9. Zeng H.L, Ye P.S, Li Q.F and Jiang H.Z (2003), "Study on Danshen root rot disease and its control by *Trichoderma* spp", *Journal of Sichuan Agricultural University*, **21**, pp.142-144.