

NGHIÊN CỨU VÀ PHÂN LẬP NẤM GÂY BỆNH TRÊN THANH LONG (*HYLOCEREUSUNDATUS HAW*) SAU THU HOẠCH Ở HUYỆN CHỢ GẠO, TỈNH TIỀN GIANG

● TRẦN THỤY ÁI TÂM

TÓM TẮT:

Từ mẫu thanh long thu thập tại các vườn huyện Chợ Gạo, tỉnh Tiền Giang đã phân lập đến mức độ thuần, chọn lọc được 5 dòng nấm gây bệnh với 2 triệu chứng đặc trưng trên quả thanh long sau thu hoạch, ký hiệu dòng thối nhũn (TN1, TN2) và thối không nhũn (TKN1, TKN2, TKN3). Phân tích trình tự gen đến mức độ loài của 1 dòng nấm bệnh có tỷ lệ gây bệnh cao, trong khi thí nghiệm khảo sát đó là: *Fusarium equiseti*. Thử nghiệm thành công khả năng đối kháng của các dòng vi khuẩn đối kháng được phân lập là lưu trữ tại Trường Đại học Tiền Giang, với các dòng nấm gây bệnh trong điều kiện invitro.

Từ khóa: nấm bệnh trên thanh long, thanh long sau thu hoạch, vi khuẩn đối kháng, ức chế nấm bệnh, huyện Chợ Gạo.

1. Đặt vấn đề

Thanh long có tên khoa học là *Hylocereus undatus haw*, chứa hàm lượng chất dinh dưỡng cao, đồng thời đây cũng là loại trái cây giúp duy trì vóc dáng cho cơ thể. Thanh long còn có tác dụng trong việc bảo vệ tóc, tốt cho hệ tiêu hóa, giảm cholesterol, chống oxy hóa, ngăn ngừa táo bón, ổn định đường áp, cải thiện thị lực. Thanh long được trồng ở hầu hết các tỉnh của Việt Nam, nhưng diện tích tập trung lớn ở tỉnh Bình Thuận, Bến Tre, Tiền Giang, Long An. Trong đó, Tiền

Giang là tỉnh đứng thứ 3 về diện tích trồng và sản lượng thanh long.

Với các tiến bộ của khoa học công nghệ, thanh long cho trái quanh năm, nên sẽ thuận lợi cho hoạt động xuất khẩu đi các nước khác. Vì vậy, cây thanh long thực sự là loại cây trồng đem lại hiệu quả kinh tế cao. Tuy nhiên, trong quá trình thu hoạch và vận chuyển, có nhiều tác nhân gây ảnh hưởng đến chất lượng của thanh long sau thu hoạch, làm giảm năng suất, trong đó nguyên nhân chủ yếu là “nấm” bệnh. Hiện nay, các nghiên cứu

trong nước liên quan đến bệnh trên thanh long mới chỉ tập trung xác định nguyên nhân gây bệnh trước thu hoạch và bảo quản quả tươi sau thu hoạch, chưa có nhiều nghiên cứu chuyên sâu về tác nhân gây bệnh trên quả thanh long sau thu hoạch. Vì vậy, đề tài đã được triển khai thực hiện.

2. Nguyên liệu và phương pháp

2.1. Nguyên liệu

Trái thanh long được thu hoạch ở độ chín thương mại từ các vườn ở huyện Chợ Gạo, tỉnh Tiền Giang.

Các hóa chất dùng cho phân lập và xác định các chủng nấm gây bệnh trên quả thanh long: môi trường PDA (potato dextrose agar), cồn, acid HCl, NaOH.

Các dụng cụ nuôi cấy: que cấy, đèn cồn, đĩa petri, dao, ống nghiệm, ống đong, thước đo kỹ thuật, cân kỹ thuật, nồi Auto clave, tủ sấy, máy xử lý nước nóng, tủ cấy, bếp điện,... khay nhựa chuyên dùng để nuôi cấy kiểm chứng tác nhân gây bệnh theo nguyên lý Koch.

2.2. Phương pháp

Phương pháp thu và xử lý mẫu: Tại mỗi địa điểm lấy mẫu, lấy ngẫu nhiên 1kg trái thanh long, bao gói trong túi plastic, giữ ở nhiệt độ thường (30 - 32°C). Khi triệu chứng bệnh xuất hiện rõ ràng, tiến hành phân loại bệnh. Mỗi nhóm chọn ra 2 trái mới nhiễm bệnh để đem đi phân lập. Sau 2 - 3 ngày, nấm từ mô bệnh phát triển trên môi trường nhân tạo. Sau đó, chúng được cấy truyền sang đĩa môi trường PDA để thu nấm thuần. (Hà Viết Cường ctv, 2016).

Phương pháp phân lập xác định tác nhân gây bệnh thối sau thu hoạch trên trái thanh long:

Xác định triệu chứng và thu thập mẫu bệnh xuất hiện sau thu hoạch trên quả thanh long: mẫu thanh long thu hoạch từ các vườn được đưa về phòng thí nghiệm trữ ở nhiệt độ phòng. Thanh long có triệu chứng bệnh đặc trưng (như thối đen, nấm phát triển trên bề mặt thối, đốm vàng, sau đó lớn dần chuyển sang màu nâu đen...) được lấy đi phân lập.

Phương pháp kiểm chứng tác nhân gây bệnh thối trái thanh long theo quy trình Koch:

Thanh long được rửa trong nước cất, sau đó xử lý với cồn để khử trùng trước khi chủng nấm. Các dụng cụ đựng mẫu đều được tiệt trùng, thao tác thí nghiệm được thực hiện trong tủ cấy vô trùng. Nấm phân lập được kiểm chứng có độ tuổi sinh trưởng 7 ngày trong môi trường nuôi cấy. Mẫu lây nhiễm (thanh long) sau đó được đặt trong hộp nhựa có độ ẩm cao 90-95% và ủ ở nhiệt độ phòng. Nấm bệnh phát triển trên thanh long được quan sát định kỳ, triệu chứng xuất hiện được so sánh với triệu chứng bệnh được ghi nhận trước đó trên trái.

Thử khả năng ức chế của dòng vi khuẩn với sự sinh trưởng và phát triển nấm bệnh trong điều kiện invitro:

Thí nghiệm: Với phương pháp khuếch tán qua lỗ thạch, khả năng đối kháng sau 3-5 ngày thử nghiệm được đánh giá thông qua kích thước vòng đối kháng (vòng tròn trong suốt bao quanh khuẩn lạc), tính bằng mm theo công thức:

Kích thước vòng đối kháng = $D - d$.

Trong đó: D (mm) là đường kính vòng đối kháng; d (mm) là đường kính khuẩn lạc.

Thí nghiệm được lặp lại 4 lần đối với mỗi chủng vi khuẩn.

Phân tích số liệu:

Các số liệu khảo sát thu thập được xử lý bằng phần mềm SPSS 20.0. Phân tích phương sai (ANOVA) để phát hiện sự khác biệt giữa các nghiệm thức và dùng kiểm định Tukey ở mức ý nghĩa 1% để so sánh các giá trị trung bình.

3. Kết quả và thảo luận

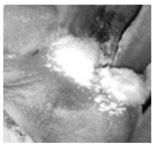
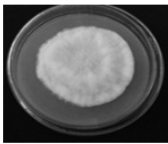
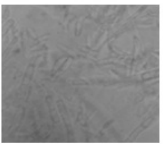
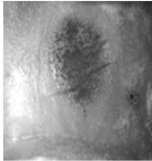
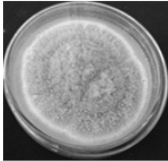
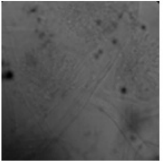
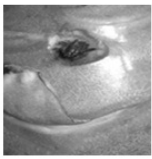
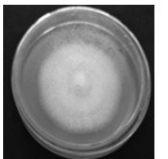
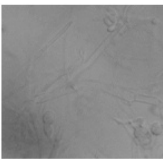
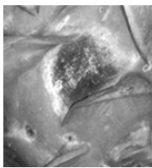
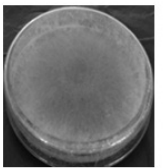
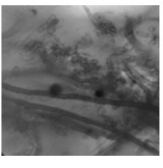
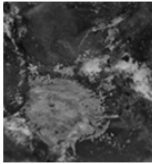
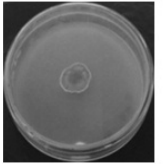
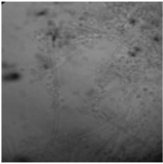
Xác định tỷ lệ bệnh và phân lập các nấm gây bệnh chủ yếu trên thanh long sau thu hoạch

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy thanh long sau khi được thu mẫu từ các vườn khác nhau, được phân khu và bảo quản ở nhiệt độ phòng. Sau 9 ngày, các nấm bệnh xuất hiện trên trái thanh long. Trong đó, có 2 khuẩn lạc gây thối nhũn (TN) ký

Bảng 1. Tỷ lệ nấm bệnh trên quả thanh long sau 13 ngày thu hoạch và bảo quản ở nhiệt độ phòng(%)

Vườn	Số quả thanh long quan sát	Tỷ lệ quả thanh long suất hiện nấm(%)				
		TN1	TN2	TKN1	TKN2	TKN3
V1	20	80	20	40	25	15
V2	20	60	30	20	55	10
V3	20	55	35	15	20	45
V4	20	45	50	35	30	20
V5	20	55	40	45	35	35

Bảng 2. Triệu chứng bệnh thối trên trái, hình dạng khuẩn lạc, hình dạng tế bào của các dòng nấm gây bệnh thối sau thu hoạch trên thanh long

STT	Mô tả triệu chứng bệnh	Triệu chứng trên trái	Khuẩn lạc nấm	Hình dạng tế bào
01	TN1: Vỏ quả bị thối quầng nhũn nước sau đó các tơ nấm trắng mọc lên thành vùng.			
02	TN2: Vỏ thanh long bị bong nước lên sau đó nứt ra, các bào tử nấm màu xanh xuất hiện trên đó gây thối quả chảy nước			
03	TKN1: Từ những đốm nhỏ màu vàng sau đó lớn dần lên và chuyển sang màu nâu đen có vòng tròn đồng tâm.			
04	TKN2: Từ những đốm vàng sau đó chuyển sau đó chuyển sang màu đen xung quanh có vết trắng.			
05	TKN3: Từ những đốm vàng, chuyển sang màu vàng đậm hơn sau đó thối thành những đốm mốc màu xanh không gây thối quả.			

hiệu là TN1, TN2 và 3 khuẩn lạc gây thối không nhũn (TKN) ký hiệu là TKN1, TKN2, TKN3.

Tính tỷ lệ gây bệnh:

$TLB(\%) = \frac{\text{Số quả bệnh}}{\text{tổng số quả}} \times 100.$

Nấm TN1 suất hiện ở hầu hết mẫu ở tất cả các vườn,có tốc độ phát triển và làm thối trái thanh long nhanh nhất. Chỉ sau 13 ngày quả thanh long hoàn toàn thối nhũn nước.

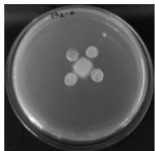
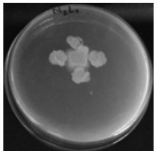
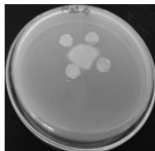
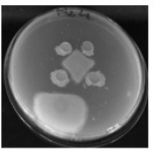
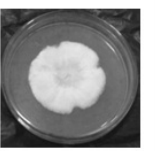
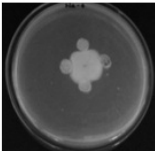
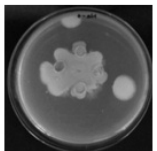
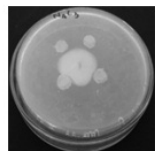
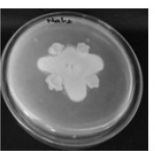
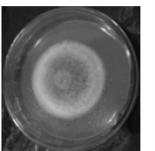
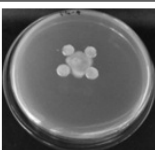
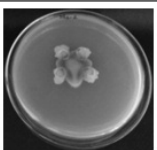
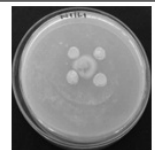
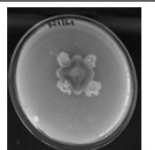
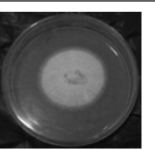
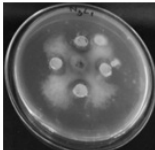
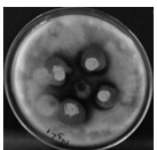
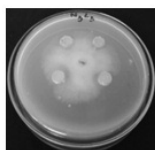
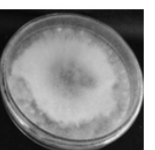
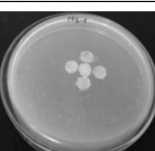
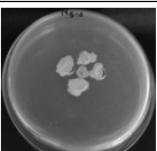
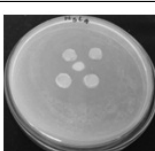
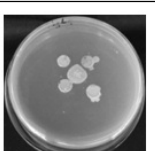
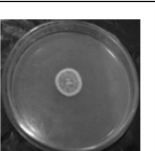
Sau khi xác định bệnh do nấm gây ra trên thanh long sau thu hoạch, tiến hành phân lập, thu được 5 chủng nấm mốc gây bệnh thối trên thanh long được mô tả tóm tắt trong Bảng 2.

Từ những đặc điểm về khuẩn lạc, hình dạng bào tử quan sát dưới kính hiển vi cùng, có sự so

sánh với các tài liệu đã tham khảo trước đó của các nghiên cứu khoa học về nấm bệnh trên trái thanh long cho thấy, bước đầu các dòng nấm có thể là TN1: Fusariumsp. Dòng TN2 có thể là dòng Aspergillus sp. Dòng TKN1 có thể là dòng Colletotrichum sp. Dòng TKN2 có thể là dòng Scytalidium sp. Dòng TKN3 có thể là dòng Penicilium sp. Và việc khẳng định này là có căn cứ. Trong đó, TN1 có tỷ lệ bệnh cao nhất và phổ biến nhất nên tiến hành định danh và xác định được là Fusarium equiseti.

Khả năng ức chế của các vi khuẩn đã được phân lập và thử giống tại Trường ĐH Tiền Giang lên sự phát triển của các dòng nấm gây bệnh thối trên trái thanh long trong điều kiện invitro.

Bảng 3. Khả năng ức chế của các dòng vi khuẩn lên sự phát triển của nấm gây thối trên chôm chôm sau thu hoạch

Chủng nấm	Vi khuẩn <i>Bacillus subtilis</i> DG133		Vi khuẩn Lactic trên khóm		Đối chứng
	24h	72h	24h	72h	
TN1.					
TN2					
TKN1					
TKN2					
TKN3					

Kết quả quá trình khảo sát sự ức chế của vi khuẩn đối kháng ở Bảng 3 cho thấy, trong cùng một điều kiện nuôi cấy, môi trường nuôi cấy như nhau, sau 24 giờ nuôi cấy, những dòng nấm gây bệnh trên thanh long phát triển rất mạnh trên môi trường PDA. Khi cấy bổ sung vi khuẩn *Bacillus subtilis* DG133 và vi khuẩn Lactic được phân lập từ khóm các khuân ty nấm bị ức chế rõ rệt (bảng 3). Sau 72 giờ nuôi cấy, đây là thời điểm các dòng nấm bệnh phát triển vừa và mạnh trên môi trường PDA, tuy nhiên các nghiệm thức có chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* DG133 và vi khuẩn Lactic đều cho thấy nấm bệnh kém phát triển và tạo nên vòng kháng khuẩn. Mặc dù khả năng đối kháng chưa được khảo sát chi tiết nhưng dựa trên những ghi nhận trong thí nghiệm này có thể làm cơ sở cho các thí nghiệm tiếp theo.

Qua kết quả thí nghiệm cho thấy cả 2 nhóm *Bacillus subtilis* DG133 và vi khuẩn Lactic trên khóm đều có khả năng ức chế các dòng nấm gây bệnh trên thanh long sau thu hoạch, đây là cơ sở

để khảo sát sâu hơn sự đối kháng của vi khuẩn và nấm gây bệnh trên thanh long sau thu hoạch.

4. Kết luận

Từ mẫu quả thanh long thực tại các vườn ở Chợ Gạo, tỉnh Tiền Giang đã phân lập và tuyển chọn được 5 dòng nấm gây bệnh thối trên quả thanh long sau thu hoạch dựa trên đặc điểm về hình thái đại thể và vi thể nấm. Trong đó đã tuyển chọn được 1 dòng nấm gây bệnh thối cho thí nghiệm và định danh đến mức độ loài. Các dòng nấm thí nghiệm đều có khả năng gây bệnh thối trên trái thanh long trong quá trình bảo quản.

Kết quả định danh 1 dòng nấm gây bệnh đã phân lập bằng phương pháp giải trình tự gen với cặp môi đặc hiệu đã xác định được các dòng: dòng nấm TN1 thuộc loài *Fusarium equiseti*. Từ kết quả thí nghiệm trên cho thấy có thể ứng dụng dòng vi khuẩn đối kháng vào việc bảo quản quả thanh long sau khi thu hoạch để hạn chế tối đa các nấm bệnh gây thối trên quả thanh long trong quá trình vận chuyển và bảo quản ■

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Đặng Thị Kim Uyên, Trần Vũ Phấn và Nguyễn Văn Hòa (2018). Xác định nấm *colletotrichum truncatum* gây bệnh thán thư trên thanh long và hiệu quả của dịch trích thảo mộc lên sự phát triển của nấm. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Việt Nam*, 1, 83-89.
2. He PF 1, 2, Ho H3, Wu XX1, Hou MS2, He YQ1* (2012). *Bipolaris cactivora* causing fruit rot of dragon fruit imported from Vietnam. *Plant Pathology & Quarantine* 2(1), 31-35, doi 10.5943/ppq/2/1/5/.
3. Masanto Masyahit, 1Kamaruzaman Sijam, 2Yahya Awang and 3Mohd Ghazali Mohd Satar (2009). The First Report of the Occurrence of Anthracnose Disease Caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. on Dragon Fruit (*Hylocereus* spp.) in Peninsular Malaysia. *American Journal of Applied Sciences* 6 (5), 902-912.
4. Nguyen Khanh Ngoc, Nguyễn Văn Phong và Nguyễn Thanh Tùng (2017). Postharvest Diseases and Effect of Hot Water Treatments on White Fleshed Dragon Fruit [*Hylocereus undatus* (Haw.). *Britton & Rose*], *Int. J. Curr. Res. Biosci. Plant Biol.*, 4(5), 30-37.
5. Nguyễn Thị Tuyền (2013). *Giám định bệnh sau thu hoạch do nấm trên trái thanh long*. Luận văn tốt nghiệp kỹ sư, Trường Đại học Cần Thơ.
6. Samoul Oeurn1, Wuttiwat Jitjak2 and Niwat Sanoamuang1, 3* (2015). Fungi on Dragon Fruit in Loei Province, Thailand and the Ability of *Bipolaris cactivora* to Cause Post-harvest Fruit Rot. *KKU Res.j.*, 20 (4), 405-418.

Ngày nhận bài: 22/2/2023

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 12/3/2023

Ngày chấp nhận đăng bài: 25/3/2023

Thông tin tác giả:

ThS. TRẦN THUY ÁI TÂM

Trường Đại học Tiền Giang

**ANALYZING AND ISOLATING PATHOGENIC FUNGI
ON DRAGON FRUIT GROWN IN CHO GAO DISTRICT,
TIEN GIANG PROVINCE (*HYLOCEREUSUNDATUS HAW*)
AFTER HARVEST**

● Master. **TRAN THUY AI TAM**
Tien Giang University

ABSTRACT:

In this study, five strains of pathogenic fungi are selected from dragon fruit samples collected from orchards in Cho Gao district, Tien Giang province. These strains have two specific symptoms on dragon fruit after harvest, including mushy rot (TN1 and TN2) and non-mushy rot (TKN1, TKN2, and TKN3). The study analyzes the gene sequences to the species level of *Fusarium equiseti* - a fungal strain with a high pathogenicity rate during the study's experiments. The study also successfully tests the antagonistic ability of antagonistic bacterial strains isolated and stored at Tien Giang University with pathogenic fungal strains under in vitro conditions.

Keywords: fungi on dragon fruit, dragon fruit after harvest, antagonistic bacteria, inhibiting fungal diseases, Cho Gao district.