

Biological characteristics of antagonistic bacteria against *Neoscytalidium dimidiatum* causing spot disease on dragon fruits

Nguyen Van Giang, Phung Thi Le Quyen, Nguyen Van Thanh

Abstract

This study aims to isolate and select antagonistic bacteria against *Neoscytalidium dimidiatum* causing brown spot disease on dragon fruits. 3 bacterial strains with high antagonism to *N.dimidiatum* were selected from soil samples growing dragon fruits in Bac Giang, Tien Giang and Long An provinces. The strain YMĐ1 showed the highest antagonism among 3 selected strains. Antagonistic activity of this strain ranged from 60 - 67.5% after 7 days of inoculations, and from 58.9 - 64.4% after 12 days of inoculations. The bacterial strain YMĐ1 can synthesize different extracellular enzymes such as cellulase, amylase, protease, chitinase and can produce siderophore, IAA phytohormone and solubilize phosphate. The nucleotide sequences of 16S rRNA of YMĐ1 bacterial strain with gene database on NCBI indicates that YMĐ1 strain were closely related to that of *Bacillus velezensis*.

Keywords: Dragon fruit, diseases on dragon fruit, *Neoscytalidium dimidiatum*, *Bacillus* sp.

Ngày nhận bài: 8/7/2018

Người phản biện: TS. Trần Danh Sửu

Ngày phản biện: 12/7/2018

Ngày duyệt đăng: 15/10/2018

NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH CÁC LOẠI NẤM GÂY THỐI HỒNG VÀ ĐỀ XUẤT HƯỚNG BẢO QUẢN KHOAI TẮNG VÀNG TẠI HUYỆN THANH SƠN, TỈNH PHÚ THỌ

Đỗ Thị Kim Ngọc¹, Nguyễn Thị Thanh Thùy², Nguyễn Thị Bích Ngọc¹, Phạm Thanh Bình¹, Lê Trung Hiếu¹, Vũ Ngọc Tú¹

TÓM TẮT

Khoai tây vàng thuộc nhóm khoai sọ [*Colocasia esculenta* (L.) Schott], là một trong những nguyên liệu đặc sản bản địa của huyện Thanh Sơn, tỉnh Phú Thọ. Loại khoai này giàu dinh dưỡng và có giá trị cảm quan cao. Tuy nhiên, khoai bị hỏng rất nhanh, bắt đầu từ phần đáy củ rồi tiến dần lên. Nghiên cứu tổng quan và những thí nghiệm thăm dò cho thấy, nấm mốc là nguyên nhân chính gây nên hiện tượng thối củ. Đề tài nghiên cứu triệu chứng bệnh trên củ khoai tây vàng sau thu hoạch, phân lập nấm trên mẫu khoai tây vàng bị bệnh và xác định tốc độ phát triển của nấm, sau đó tiến hành lây nhiễm nhân tạo nấm lên củ khoai khỏe và định tên nấm bằng phương pháp giải trình tự gen. Kết quả phân lập đã thu được 3 chủng nấm kí hiệu là N1, N2, N3, trong đó, chủng nấm N2 xuất hiện với tần suất cao nhất và là nguyên nhân chính gây bệnh cho củ khoai tây vàng sau thu hoạch. Định tên bằng giải trình tự gen cho thấy chủng nấm N2 là *Athelia rolfsii*. Từ đây, bước đầu đề xuất một số giải pháp kỹ thuật để có thể trồng, thu hoạch và bảo quản củ với thời gian dài hơn.

Từ khóa: Khoai tây vàng, *Colocasia esculenta*, nấm *Athelia rolfsii*, bệnh thối hồng, tỉnh Phú Thọ

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Khoai tây vàng là loại cây ăn củ, có tiềm năng gây trồng để phục vụ cho chương trình phát triển kinh tế - xã hội của tỉnh Phú Thọ nhưng lại rất dễ thối hỏng. Người dân sản xuất khoai tây vàng Thanh Sơn nói riêng đang gặp khó khăn trong khâu bảo quản. Trong điều kiện thường chỉ khoảng 1 tuần đến 10 ngày sau khi thu hoạch, khoai bắt đầu có hiện tượng các sợi nấm màu trắng mọc bên ngoài vỏ, đầu dưới củ dần mềm nhũn sau đó lan rộng ra toàn củ, ruột củ bị biến màu. Bệnh sau thu hoạch thường

được phân loại theo cách thức lây nhiễm của các tác nhân gây bệnh. Các tác nhân gây bệnh tiềm ẩn thường tồn tại trên củ từ trước khi thu hoạch nhưng ở trạng thái không hoạt động cho đến khi có sự thay đổi sinh lí của củ tạo điều kiện cho bệnh phát sinh. Tác nhân gây bệnh cho củ còn là các loại nấm tồn tại sẵn có trong đất. Một số loại nấm gây bệnh phổ biến tồn tại trong đất trồng Việt Nam là *Pythium speciesa*, *Phytophthora palmivora*, *Phytophthora capsicia*, *Phytophthora nicotianae*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii* (Lester

¹ Viện Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp miền núi phía Bắc; ² Học viện Nông nghiệp Việt Nam

et al., 2009). Nhóm nghiên cứu đã tiến hành nghiên cứu xác định các loại nấm gây thối hỏng và đề xuất hướng bảo quản khoai tăng vàng tại huyện Thanh Sơn, tỉnh Phú Thọ nhằm đề xuất phương pháp trồng, chăm sóc, thu hoạch và bảo quản khoai tăng vàng thích hợp.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Mẫu khoai

Khoai tăng vàng được thu hoạch tại khu Bồ Xô, xã Yên Lương, huyện Thanh Sơn, tỉnh Phú Thọ.

2.1.2. Môi trường phân lập và nuôi cấy nấm

- Môi trường WA (Water Agar) dùng để phân lập nấm bệnh từ mô bệnh (g/l): agar (20), nước cất vừa đủ.

- Môi trường PDA (Potato Dextrose Agar) dùng để nhân nuôi, tạo nấm thuần (g/l): dịch chiết khoai tây (200), agar (20), glucose (20), nước cất vừa đủ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân lập nấm

Sử dụng phương pháp phân lập bào tử đơn độc theo phương pháp được mô tả bởi Nevalainen và cộng tác viên (2014).

2.2.2. Phương pháp xác định đặc điểm, hình thái của nấm

Đặc điểm hình thái của nấm được xác định bằng cách soi tiêu bản dưới kính hiển vi điện tử theo phương pháp được mô tả bởi Lester và cộng tác viên (2009).

2.2.3. Phương pháp tái lây nhiễm nấm trên củ khoai khô

Chọn những củ khoai khô, tươi đem rửa sạch dưới vòi nước để loại bỏ bớt bụi bẩn và nguồn bệnh nếu có. Sau đó khoai được làm khô nhờ không khí. Khử trùng vỏ khoai bằng cồn 70%, rửa lại bằng nước cất vô trùng rồi thấm khô bằng giấy thấm. Sau khi thấm khô vỏ củ, tiến hành tái lây nhiễm nấm theo công thức thí nghiệm được bố trí theo phương pháp của Lester và cộng tác viên (2009), cụ thể như sau:

Lây nhiễm nhân tạo: Đặt viên thạch chứa nấm thuần (3 × 3 mm) lên củ khoai khô, không gây tổn thương.

Đối chứng: Đặt viên thạch PDA vô trùng (3 × 3 mm) lên củ khoai khô, không gây tổn thương.

Thí nghiệm được lặp lại 3 lần độc lập, mỗi củ đặt 3 viên thạch tại 3 vị trí khác nhau, sau khi triệu chứng nấm xuất hiện tại vị trí đặt nấm, tiến hành tái

phân lập vết bệnh nhằm xác định chính xác loại nấm gây bệnh trên củ khoai.

2.2.4. Định tên loài nấm gây bệnh bằng phương pháp sinh học phân tử

Theo phương pháp của Marc và cộng tác viên (2003) và Filipe và cộng tác viên (2008).

a) Tách chiết ADN tổng số

ADN tổng số được tách chiết theo phương pháp được mô tả ngắn gọn như sau: Lấy hệ sợi nấm mốc, trộn trong 0,5 ml đệm (Tris-HCl, EDTA, NaCl, SDS). Ủ phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 10 phút, siêu âm 50% năng lượng 1 phút on/1 phút off. Bổ sung protease K 20 µg/ml, ủ ở nhiệt độ 37°C trong 1 giờ, bổ sung 0,15 ml CH₃COOK. Ly tâm 10.000 xg, thu dịch trong, rửa ADN bằng isopropanol tỉ lệ 1:1; Ly tâm ở 13000 xg trong 10 phút ở 4°C thu rửa. Rửa rửa bằng EtOH 70%. Làm khô rửa, hòa tan lại ADN với 50 µl H₂O PCR. Bảo quản ADN ở -20°C giúp ADN không bị biến tính.

b) Khuếch đại gen mã hóa 16S rADN

Sử dụng cặp mồi đặc hiệu đã được sử dụng quốc tế: ITS1/ITS4, với trình tự:

ITS1: 5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3'

ITS4: 5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'

Thành phần PCR: 5 mM dNTPs: 1,5; 10X Taq Buffer: 2,5; 5 µM ITS1: 1; 5 µM ITS4: 1; ADN template:1; Taq ADN pol: 0,3; H₂O: 17,5. Tổng thể tích phản ứng: 25 µl.

Chu trình nhiệt: (1) 95°C: 5 min; (2) 95°C: 45 sec; (3) 59°C: 1 min; (4) 72°C: 45 min, lặp lại từ bước 2 đến 4: 35 chu kỳ; (5) 72°C: 5 min.

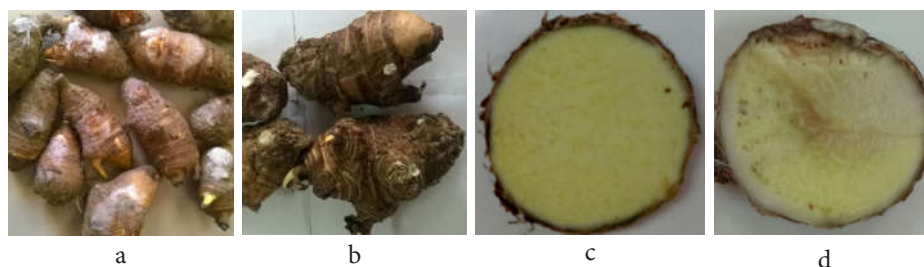
2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 10 năm 2016 đến tháng 10 năm 2017 tại Viện Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp miền núi phía Bắc và Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Triệu chứng bệnh trên củ khoai tăng vàng sau thu hoạch

Sau khi thu hoạch, củ khoai tăng vàng nguyên vẹn được bảo quản ở nhiệt độ thường trong điều kiện khô, thoáng. Từ 7 đến 10 ngày, trên vỏ củ khoai bắt đầu xuất hiện các tàn nấm màu trắng sữa lan trên bề mặt vỏ củ. Sau 13 - 15 ngày, phần thịt củ bắt đầu có hiện tượng thối nhũn, biến màu. Từ triệu chứng cho thấy loại bệnh điển hình gây ra thối hỏng cho khoai tăng vàng là thối có nấm trên vỏ củ. Loại bệnh này không những gây hư hỏng cho thịt củ mà còn ảnh hưởng đến chất lượng cảm quan bên ngoài củ.



Hình 1. Triệu chứng bệnh trên củ khoai tây vàng sau thu hoạch

Ghi chú: a: củ khoai tây vàng sau khi bảo quản 1 tuần; b: củ khoai tây vàng sau khi bảo quản 15 ngày; c: ruột củ khoai lúc chưa hư hỏng; d: ruột củ khoai lúc bắt đầu có dấu hiệu hư hỏng sau 15 ngày bảo quản.

3.2. Phân lập nấm trên mẫu khoai tây vàng bị bệnh

Mục tiêu của việc phân lập các loại nấm gây bệnh trên củ khoai tây vàng sau thu hoạch dựa trên đánh giá triệu chứng nhằm tạo cơ sở cho việc xác định chính xác tác nhân gây bệnh. Tiến hành chọn 10 củ khoai tây vàng bị bệnh đem phân lập xác định các

loại nấm có trên vết bệnh. Sau khi quan sát sự phát triển, đặc điểm hình thái của các tàn nấm đã phân lập được kết hợp với soi tiêu bản dưới kính hiển vi đã phát hiện ra 3 chủng nấm khác nhau. Đặc điểm hình thái của các chủng nấm phân lập được từ mẫu bệnh được mô tả ở bảng 1 và hình 2.

Bảng 1. Đặc điểm hình thái 03 chủng nấm phân lập được trên củ khoai tây vàng bị bệnh

Chủng nấm	Hình thái tàn nấm	Đặc điểm sợi nấm, bào tử
N1	Khi còn non (sau 1 - 2 ngày) sợi nấm màu trắng, bề mặt tàn nấm mịn, mọc đều thành vòng tròn. Từ ngày thứ 3 tâm tàn nấm hơi chuyển thành màu nâu đen. Khi già, vòng ngoài tàn nấm màu trắng, mọc lên bông xốp, vòng trong tàn nấm hóa màu nâu đen. Tốc độ phát triển nhanh, không mùi.	Sợi nấm phân nhánh, có vách ngăn. Bào tử hình trụ, 2 đỉnh tròn.
N2	Sau 1 - 2 ngày bề mặt tàn nấm mịn, trắng sữa. Từ ngày thứ 3 bề mặt tàn nấm bắt đầu bông xốp, tàn nấm mọc đều tạo thành vòng tròn. Từ 4 đến 5 ngày, sợi nấm hình thành các hạch nấm có hình cầu, màu trắng, về sau chuyển thành nâu.	Sợi nấm dài phân nhánh, có vách ngăn, sinh bào tử. Bào tử hình elip.
N3	Tàn nấm màu trắng sữa, tạo thành vòng tròn. Bề mặt tàn nấm mịn nhưng khi còn non màu sắc tàn nấm không đồng đều.	Sợi nấm phân nhánh không vách ngăn, sinh bào tử. Bào tử hình cầu.

Bảng 2. Hình thái tàn nấm phân lập được từ củ khoai tây vàng bị bệnh

Chủng nấm	Sau 1 ngày	Sau 3 ngày	Sau 5 ngày
N1			
N2			
N3			

3.3. Tốc độ phát triển của tản nấm

Các chủng nấm ngoài sự khác biệt về hình thái, chúng còn khác nhau về tốc độ sinh trưởng và phát triển trên môi trường nuôi cấy. Nhằm tìm hiểu tốc độ sinh trưởng của nấm đã phân lập được, để tài tiến hành theo dõi kích thước tản nấm trên đĩa môi trường PDA 90 mm ở 30°C trong 3 ngày. Kết quả theo dõi tốc độ phát triển của nấm được thể hiện trong bảng 3.

Kết quả từ bảng 2 cho thấy, chủng nấm N1 có tốc độ phát triển nhanh nhất, đường kính tản nấm đạt $56,3 \pm 0,05$ mm chỉ sau 1 ngày, đến ngày thứ 2 chủng nấm N1 đã mọc kín đĩa (90 mm). Chủng nấm N2 có tốc độ phát triển chậm hơn chủng nấm N3, sau 3 ngày đường kính các tản nấm đều đạt 90 mm, phủ kín lòng trong đĩa petri.

Bảng 3. Tốc độ phát triển của tản nấm trên môi trường PDA ở 30°C

Chủng nấm	Đường kính khuẩn lạc (mm)		
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3
N1	$56,3^a \pm 0,50$	$90,0^a \pm 0$	$90,0^a \pm 0$
N2	$19,8^c \pm 1,71$	$56,8^c \pm 1,50$	$90,0^a \pm 0$
N3	$37,3^b \pm 1,36$	$85,8^b \pm 0,50$	$90,0^a \pm 0$

Ghi chú: Trong cùng một cột số liệu có cùng chữ cái thì không có sự khác biệt ở độ tin cậy 95% trong phép so sánh Tukey một chiều.



Nấm N3 - Không gây tổn thương



Nấm N3 - Gây tổn thương

Hình 2. Kết quả tái lây nhiễm nấm N3

- Nấm N1 gây bệnh ở công thức tạo tổn thương vỏ củ, tỷ lệ gây bệnh đạt 60%. Tuy nhiên ở công thức không gây tổn thương vỏ củ nấm N1 lại không gây

bệnh cho khoai tắng vàng. Kết quả lây nhiễm nấm N1 được thể hiện ở hình 3.



Nấm N1 - Không gây tổn thương



Nấm N1 - Gây tổn thương

Hình 3. Kết quả tái lây nhiễm nấm N1

3.4. Lây nhiễm nhân tạo nấm lên củ khoai khô

Dựa vào tần suất xuất hiện của nấm phân lập được chưa thể kết luận chính xác chủng nấm nào gây bệnh cho khoai tắng vàng. Kết quả tái phân lập dựa trên sự so sánh chủng nấm sau khi phân lập với chủng nấm được lây nhiễm trên củ. Tỷ lệ nhiễm bệnh sau khi lây nhiễm nhân tạo được mô tả trong bảng 4.

Từ kết quả trong bảng 4 cho thấy:

- Chủng nấm N3 không gây bệnh cho củ khoai ở cả 2 phương pháp tái lây nhiễm. Kết quả lây nhiễm nấm N3 được thể hiện ở hình 2.

Bảng 4. Kết quả lây nhiễm nhân tạo nấm

Mẫu lây nhiễm	Tạo tổn thương vỏ củ		Không tạo tổn thương vỏ củ	
	Tỷ lệ bệnh sau lây nhiễm (%)	Kết quả tái phân lập vết bệnh	Tỷ lệ bệnh sau lây nhiễm (%)	Kết quả tái phân lập vết bệnh
N1	60	+	0	-
N2	100	+	100	+
N3	0	-	0	-
ĐC	0	-	0	-

Ghi chú: + Kết quả tái phân lập nấm trên vết bệnh trùng khớp với nấm lây nhiễm; - Không xuất hiện vết bệnh nên không tiến hành tái phân lập

- Nấm N2 gây bệnh cho củ khoai tắng vàng ở cả 2 phương pháp tái lây nhiễm, tỷ lệ gây bệnh ở 2

phương pháp đều đạt 100%. Kết quả lây nhiễm nấm N2 được thể hiện ở hình 4.



Nấm N2 - Không gây tổn thương

Nấm N2 - Gây tổn thương

Hình 4. Kết quả tái lây nhiễm nấm N2

Nấm N2 gây ra vết bệnh cho củ khoai ở vị trí đặt thạch, phần thịt củ bị thối nhũn, biến màu, nấm N2 không những làm ảnh hưởng nghiêm trọng đến chất lượng cảm quan bên ngoài củ mà còn ảnh hưởng nghiêm trọng đến chất lượng thịt củ. Từ kết quả này khẳng định nấm N2 là tác nhân chính gây bệnh trên khoai tắng vàng.

3.5. Định tên nấm bằng phương pháp giải trình tự gen

Tiến hành định danh nấm N2 bằng phương pháp sinh học phân tử. Kết quả giải trình tự gen ITS của chủng nấm sau khi phân tích được so sánh với các trình tự nucleotide tương đồng trên Genbank bằng chương trình BLAST SEARCH (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Kết quả được thể hiện trên bảng 5.

Bảng 5. Mức độ tương đồng của các trình tự nucleotide trên Genbank bằng chương trình BLAST SEARCH

TT	Tên chủng vi khuẩn	Quốc gia	Mã số Genbank	Mức độ tương đồng (%)
1	<i>Athelia rolfsii</i> , strain SR1USVL	Mỹ	KU128903.1	100
2	<i>Athelia rolfsii</i> , strain A8.2	Tây Ban Nha	GU080230.1	100
3	<i>Athelia rolfsii</i> , strain SR1	Italia	KF724852.1	100
4	<i>Athelia rolfsii</i> , strain 09-044	Hàn Quốc	JN017199.1	99
5	<i>Athelia rolfsii</i> , strain ATCC 201126	Argentina	AF499018.1	99

Có thể nhận thấy rằng chủng nấm N2 là *Athelia rolfsii* với mức độ tương đồng gen là 99 - 100% so với các chủng *Athelia rolfsii* có nguồn gốc phân lập từ khắp nơi trên thế giới (Mỹ, Tây Ban Nha, Hàn Quốc,...). Theo CABI datasheet (2018), chủng nấm này thuộc ngành Basidiomycota, lớp Agaricomycetes, bộ Polyporales, họ Atheliaceae, chi *Athelia*, loài *Athelia rolfsii*.

Nấm *Athelia rolfsii* là một nấm đa thực có nguồn gốc trong đất. Nấm có thể sinh trưởng trong pH có phạm vi rộng, nhất là trong đất chua. Nấm sinh trưởng thuận lợi nhất trong pH từ 3 - 5, nhiệt độ thích hợp nhất từ 25 - 30°C, ít hoặc ngừng phát triển ở nhiệt độ dưới 10°C hoặc trên 40°C. Cũng chính bởi khả năng thích nghi khá tốt trong các điều kiện sống khác nhau nên *Athelia rolfsii* là nguyên nhân

gây bệnh cho rất nhiều các loại rau, củ quả như: cà chua, cà rốt, đậu, khoai sọ... Việc phát hiện nấm *Athelia rolfsii* trên khoai sọ đã được công bố từ nhiều năm trước đây, tuy nhiên trên khoai tắng vàng của Thanh Sơn, Phú Thọ lại là phát hiện khá mới mẻ. Đây cũng là một lợi thế cho việc nghiên cứu quy trình bảo quản khoai tắng vàng sau này.

3.6. Bước đầu để xuất giải pháp kỹ thuật bảo quản khoai tắng vàng

Để có củ khoai tắng vàng sạch, đảm bảo chất lượng đến tay người tiêu dùng thì các nông hộ, nhà sản xuất cần phải chú trọng vào 3 yếu tố chính sau: đất sạch bệnh, giống sạch bệnh, bảo quản sạch nấm. Việc đầu tiên cần quan tâm chính là việc xử lý đất trồng sao cho sạch, ngăn ngừa các tác nhân gây bệnh nhất là *Athelia rolfsii*. Bagwan (2011), Chandrasehar

và cộng tác viên (2005) đã khẳng định để ngăn ngừa sự phát triển của *Athelia rolfsii* có thể xử lý đất bằng các chế phẩm từ *Trichoderma*, *Pseudomonas* hoặc *Bacillus subtilis*. Bên cạnh đó, xử lý củ giống sạch bệnh cũng là một phương pháp hiệu quả góp phần hạn chế sự thối hỏng do *Athelia rolfsii* gây ra. Gupta và cộng tác viên (2005) đã chỉ ra rằng xử lý hạt giống với thiram + carbendazim (2:1) ở 3 g/kg và xử lý đất với phân chuồng trại, bùn biogas... đã góp phần làm giảm tỷ lệ hư hỏng do *Athelia rolfsii* gây ra. Akgul và cộng tác viên (2011) cũng đã cho thấy việc xử lý hạt giống với các chất ức chế nấm như Tolclofos-methyl 200 g/kg + thiram, 200 g/kg, carboxin 200 g/L + thiram 200 g/L, fludioxonil, 100 g/L và azoxystrobin 75 g/L + fludioxonil 12.5 g/L + metalaxyl-M 37,5 g/L cũng làm giảm mức độ nghiêm trọng của mầm bệnh. Ngoài ra, bảo quản ở nhiệt độ thấp cũng là một phương pháp phù hợp cho việc ngăn chặn sự phát triển của nấm *Athelia rolfsii*.

IV. KẾT LUẬN

Kết quả phân lập nấm gây bệnh trên khoai tây vàng đã thu được 03 chủng nấm được kí hiệu là N1, N2, N3. Trong đó chủng nấm N2 xuất hiện với tần suất cao nhất và là nguyên nhân chính gây bệnh cho củ. Trình tự gen ITS của chủng nấm N2 tương đồng 100% với nấm *Athelia rolfsii*. Bước đầu cũng đã đề xuất được một số giải pháp kỹ thuật để xử lý nấm mốc này từ công đoạn đất trồng, củ giống cũng như điều kiện bảo quản củ sau thu hoạch.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Akgul D.S., Ozgonen H. and Erkilic A., 2011. The effects of seed treatments with fungicides on stem

rot caused by *Sclerotium rolfsii* Sacc., in peanut. *Pakistan Journal of Botany*, 43 (6): 2991-2996.

Bagwan N.B., 2011. Evaluation of biocontrol potential of *Trichoderma* species against *Sclerotium rolfsii*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus*. *International Journal of Plant Protection*, 4(1):107-111.

CABI, 2018. *Athelia rolfsii* (*Sclerotium rot*). Truy cập ngày 15/7/2018; địa chỉ: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/49155>.

Chandrasehar G., Ayyappan S. and Eswaran A., 2005. Management of tomato collar rot caused by *Sclerotium rolfsii* by antagonistic micro organisms. *Journal of Ecobiology*, 17(3): 261-264.

Filipe P., João C. and António A., 2008. Identification of species with DNA- Based technology: Current progress and challenges, 2, 187-200.

Gupta G. K., Verma M. M. and Sharma S. K., 2005. Effect of nutrients, pH and temperature on the growth and sclerotium formation in *Sclerotium rolfsii* and amendments on collar rot in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. ISSN 0973-1830. *Soybean Research*, Volume 3: 29-35.

Lester W. Burgess, Timothy E. Knight, Len Tesoriero and Phan Thúy Hiền, 2009. Cẩm nang chẩn đoán bệnh cây ở Việt Nam. *Chuyên khảo ACIAR*, số 129a, 210 pp.

Marc J., Christophe L., Véronique V.B. and Monique E., 2003. Direct sequencing method for species identification of canned sardine and sardine-type products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 7326-7332.

Nevalainen H., Kautto L, Te'o J., 2014. Methods for isolation and cultivation of filamentous fungi. *Methods Molecular Biology*, 1096: 3-16. doi: 10.1007/978-1-62703-712-9_1.

Identification of fungus causing rot disease in yellow taro variety and taro preservation technique in collected in Thanh Son district, Phu Tho province

Do Thi Kim Ngoc, Nguyen Thi Thanh Thuy, Nguyen Thi Bich Ngoc, Pham Thanh Binh, Le Trung Hieu and Vu Ngoc Tu

Abstract

Yellow taro belongs to *Colocasia esculenta*, which is one of the local special products of Thanh Son district, Phu Tho province. This taro is rich in nutrients and has high organoleptic quality. However, the tuber is rotten very quickly, starting from the bottom of the tuber and then gradually goes up. The literature and primary experiments have shown that fungus is the main cause of tuber rot. This study aimed to identify disease symptom after harvesting; isolation of fungus; growth rate of the colonies; artificial infection on healthy tubers and clarification of the fungus by gene sequencing method. The result obtained three isolates of N1, N2 and N3. Among them, N2 strain was found at the highest frequency and was the main cause of rot disease in yellow taro after harvesting. After comparing the genetic sequencing, the nucleotides of N2 were 100% homologous with fungi *Athelia rolfsii*. As a result, some technical solutions were proposed for soil and tuber treatment.

Keywords: *Colocasia esculenta*, yellow taro variety, rot disease, *Athelia rolfsii*, Phu Tho province

Ngày nhận bài: 18/9/2018

Ngày phản biện: 23/9/2018

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Lâm Hải

Ngày duyệt đăng: 15/10/2018

NGHIÊN CỨU BIỆN PHÁP SINH HỌC VÀ HÓA HỌC TRONG PHÒNG TRỪ TÁC NHÂN GÂY CHẾT CÀ PHÊ VỚI SAU TÁI CANH TẠI TÂY NGUYÊN

Tạ Hồng Linh¹, Nguyễn Văn Tuất¹,
Bùi Quang Đăng¹, Nguyễn Xuân Hòa²

TÓM TẮT

Ứng dụng một số biện pháp sinh học và hóa học trong phòng trừ tác nhân gây chết cà phê với sau tái canh chỉ ra rằng: Trồng xen cây muồng hoa vàng và xử lý bột cây dã quỳ với lượng từ 20 - 40 g/hố sau 30 tháng trồng không có tác dụng hạn chế được nguồn nấm *Fusarium* spp. trong đất. Sử dụng chế phẩm sinh học: Tervigo 20 SC + Trico - VTN cho hiệu lực phòng trừ tuyến trùng từ 30,8% - 41,18% và chế phẩm TKS - NEMA phòng trừ nấm từ 42,94% - 43,29%. Sử dụng biện pháp sinh học kết hợp với hóa học (Vimoca 10 G (20 g/cây) kết hợp TKS - NEMA (10 g/cây) hoặc NoKaph 10 GR + SH-BV1) cho hiệu lực phòng trừ tuyến trùng đạt trên 50%, đồng thời có khả năng hạn chế tỷ lệ bệnh vàng lá, chỉ số bệnh và tỷ lệ rễ bị u sưng thối của cây cà phê với sau tái canh khoảng 30%.

Từ khóa: Sinh học, hóa học, tuyến trùng, nấm, vàng lá, thối rễ

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong lĩnh vực trồng trọt, thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) có vai trò rất quan trọng trong việc giữ vững năng suất, sản lượng và chất lượng cây trồng. Tuy nhiên, hiện nay người dân thường có kiến thức hạn chế về các loại hoạt chất trong thuốc BVTV dẫn tới tình trạng sử dụng thuốc BVTV thiếu hiệu quả và chưa an toàn không những làm tăng chi phí sản xuất và gây nguy cơ mất an toàn thực phẩm, ảnh hưởng xấu đến sức khỏe con người và môi trường... mà còn không hiệu quả trong công tác phòng trừ sâu bệnh hại nói chung (Nguyễn Ngọc Châu, 2003).

Theo số liệu điều tra của Nguyễn Văn Tuất và cộng tác viên (2015), phần lớn diện tích cà phê tái canh tại Tây Nguyên đều không tuân thủ đúng theo quy trình kỹ thuật, trong đó có việc sử dụng thuốc BVTV chưa đúng thời điểm, chủng loại thuốc và phương pháp xử lý đất trước khi trồng là một trong những nguyên nhân dẫn đến tái canh cà phê chưa thành công.

Thực tế cho thấy phần lớn người dân trồng cà phê tại Tây Nguyên hiện nay vẫn dựa vào thuốc BVTV hóa học là chính, tỷ lệ sử dụng thuốc sinh học đạt rất thấp. Trong khi đó, một số mô hình ứng dụng tiến bộ kỹ thuật an toàn, hiệu quả trong phòng trừ các tác nhân gây hại cà phê trước và sau tái canh chậm được nhân rộng... Do đó, việc nghiên cứu một số biện pháp sinh học và hóa học trong phòng trừ tác nhân gây chết cây cà phê với sau tái canh tại Tây Nguyên là việc làm rất cần thiết nhằm khuyến cáo người trồng cà phê sử dụng thuốc bảo vệ thực vật một cách có hiệu quả, an toàn. Bài báo này giới thiệu cho bạn đọc một số kết quả nghiên cứu sử dụng các biện pháp sinh học và hóa học trong phòng trừ các tác nhân gây chết cây cà phê với sau tái canh tại Đắk Lắk trong năm 2016 - 2017.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Cây cà phê thực sinh trồng từ hạt lai đa dòng TRS1 6 tháng tuổi, cây muồng hoa vàng (*Cassia splendida* Vogel).

- Chế phẩm sinh học: Bột cây dã quỳ (*Tithonia diversifolia*), Sumargrow (NPK, các chủng vi sinh vật), Tervigo 20 SC (*Abamectin* 20 g/l), Trico - VTN (*Trichoderma*), A-H no.2 (NPK, vi lượng, nano Ag); SH-BV1 (*Mertarhizium*, *Trichoderma*, *Bacillus subtilis*...).

- Thuốc hóa học: Marshal 5G (*Carbosulfan* 200 g/l), Map Logic 90WP (*Clinoptilolite*), Vimoca 10 G (*Ethoprophos* 10%), NoKaph 10 GR (*Ethoprophos* 100 g/kg).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

- Thí nghiệm sử dụng cây muồng hoa vàng và bột cây dã quỳ được bố trí theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên gồm 4 công thức, 3 lần lặp lại, mỗi ô cơ sở 40 cây, mỗi công thức 120 cây, tổng số cây thí nghiệm là 480 cây.

- Thí nghiệm sử dụng chế phẩm sinh học được bố trí theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên gồm 5 công thức, lặp lại 3 lần, mỗi ô cơ sở 15 cây, số cây thí nghiệm là 225 cây/thí nghiệm.

- Thí nghiệm sử dụng sinh học kết hợp với hóa học: Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên (RCBD) gồm 5 công thức, lặp lại 3 lần, mỗi ô cơ sở 15 cây, số cây thí nghiệm là 225 cây/thí nghiệm.

¹ Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam; ² Viện Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp Tây Nguyên