

Improving production technology of ometar *Metarhizium anisopliae* preparation for brown backed rice plant hopper prevention

Tran Van Huy, Pham Van Nha, Nguyen Thi Nga,
Nguyen Manh Cuong, Vu Xuan Trung, Pham Viet Hong,
Le Thi Thu Hien, Nguyen Truong Phi

Abstract

Bioproduct of *Metarhizium anisopliae* shows its great potential in controlling the brown plant hopper. However, the characteristic of the final product is still need to be improved for the better commercialization. A number of pure spores was obtained based on the spore splitting technique by using screen with mesh size of 200 μm . The preparation pervious powder included pure spores with more than 10^{10} bt/g and PG1 addition agent, and the powder dose used was low by 500 g/ha. The preparation pervious powder can be directly dissolved inside the sprayer without any addition refinement. The 72.8% preventing effect of the preparation was achieved, furthermore, the new form of the product offered a great extension in preservation time which made the preparation keeping use within a year.

Key words: Brown planthopper, *Metarhizium anisopliae*, spore, PG1 addition agent

Ngày nhận bài: 1/7/2017

Người phản biện: TS. Trịnh Xuân Hoạt

Ngày phản biện: 6/7/2017

Ngày duyệt đăng: 27/7/2017

KẾT QUẢ GIÁM ĐỊNH VÀ MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM CỦA NẤM *Botrytis cinerea* Pers. GÂY BỆNH THỐI XÁM TRÊN HOA THUỘC DƯỠC (*Dahlia pinnata* Cav.) TẠI VIỆT NAM

Mai Văn Quân¹, Dương Thị Nguyễn²

TÓM TẮT

Botrytis cinerea là tác nhân gây bệnh thối xám trên nhiều loại cây trồng khác nhau tại Việt Nam. Trong nghiên cứu này, 15 mẫu nấm phân lập từ cây hoa thuộc dүợc (*Dahlia pinnata* Cav.) bị bệnh thối xám trồng tại Đồng bằng sông Hồng và Trung du miền núi phía Bắc. Kết quả phân loại dựa vào đặc điểm và kích thước bào tử đã ghi nhận tất cả 15 nguồn nấm đều thuộc nấm *Botrytis cinerea*. Phản ứng PCR với cặp primer đặc hiệu C729+/C729- đã khuếch đại sản phẩm PCR với kích thước khoảng 730 bp từ tất cả các nguồn nấm. Kết quả giải trình tự gen và phân tích cây phả hệ đã khẳng định nấm *B. cinerea* Pers. là tác nhân gây bệnh thối xám trên hoa thuộc dүợc. Kết quả nghiên cứu đặc điểm sinh học của nấm *B. cinerea* Pers. trên các loại môi trường, điều kiện nhiệt độ và thời gian chiếu sáng khác nhau cho thấy có sự khác nhau về khả năng phát triển của sợi nấm, sản sinh bào tử và hình thành hạch nấm. Trong 4 loại môi trường, nấm phát triển mạnh nhất trên môi trường BĐ; tuy nhiên, nấm hình thành nhiều loại hạch nấm lớn sau 3 ngày trên môi trường Czapek. Trên môi trường PDA nấm chỉ hình thành bào tử ở nhiệt độ 15°C sau 8 ngày nuôi cấy. Nấm phát triển tốt ở điều kiện tối hoàn toàn và 12 giờ sáng xen kẽ 12 giờ tối. Nấm chỉ sản sinh bào tử trong điều kiện sáng hoàn toàn.

Từ khóa: *Botrytis cinerea*, bệnh thối xám, *Dahlia pinnata* Cav.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm *Botrytis cinerea* Pers. là một trong những loài nấm gây hại trên nhiều loại hoa, rau, cây ăn quả ôn đới, cây dүợc liệu ở các vùng khác nhau trên thế giới và Việt Nam. Tại Việt Nam, nấm *B. cinerea* đã phát sinh và gây hại nghiêm trọng tại các vùng trồng hoa, cây ăn quả ôn đới và cây thực phẩm tại vùng Trung du miền núi phía Bắc, Đồng bằng sông Hồng và Đà Lạt - Lâm Đồng. Bệnh chủ yếu gây hại trên quả, cuống quả, đài hoa, cánh hoa và lá làm cho các bộ phận này bị thối và xuất hiện lớp mốc màu xám bao phủ trên bề mặt. Nấm *B. cinerea* là một đối

tượng gây hại quan trọng trên các loài hoa, nấm gây thối hoa, lá làm giảm năng suất, chất lượng của các loài hoa hồng, cúc, thuộc dүợc (Đặng Vũ Thị Thanh và *ctv.*, 2007, 2010; Mai Văn Quân và *ctv.*, 2016).

Trong thời gian gần đây, các nghiên cứu về phổ ký chủ, đặc điểm sinh học, quy luật phát sinh gây hại và biện pháp phòng trừ bệnh thối xám do nấm *B. cinerea* gây ra đã được Viện Bảo vệ thực vật tiến hành. Bài báo này phản ánh một số kết quả nghiên cứu về nấm *B. cinerea* gây bệnh thối xám hại hoa thuộc dүợc (*Dahlia pinnata* Cav.) tại vùng Đồng bằng sông Hồng và Trung du miền núi phía Bắc.

¹ Viện Bảo vệ thực vật, ² Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Mẫu hoa thực được có biểu hiện triệu chứng bệnh thối xám được thu thập trong năm 2017 tại một số vùng Đồng bằng sông Hồng và Trung du miền núi phía Bắc.

- Môi trường phân lập thông thường bao gồm: môi trường Water Agar (WA), Bột Đậu (BĐ), PDA, Cà rốt (CR) và Czapek. Các loại hóa chất phục vụ chiết suất ADN, chạy PCR và giải trình tự gen.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Điều tra, thu thập và phân lập tác nhân gây bệnh thối xám trên thực được theo phương pháp điều tra phát hiện bệnh cây của Viện Bảo vệ thực vật (1997).

- Chiết suất ADN tổng số bằng phương pháp CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) theo mô tả của Doyle & Doyle (1990). Phản ứng PCR để xác định nấm *B. cinerea* theo Rigotti và cộng tác viên (2002) với cặp primer C729+(5'-AGCTCGAGAGAGATCTCTGA-3')/C729-(5'-CTGCAATGTTCTGCGTGAA-3').

Sản phẩm PCR được tinh sạch từ agarose gel sử dụng QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen, Đức) và được giải trình tự gen trực tiếp cả hai chiều bằng máy ABI3100 tại Hàn Quốc sử dụng BigDye Terminator 3.1 Kit (Applied Biotech). Trình tự các mẫu được so sánh với Ngân hàng Gen bằng phần mềm trực tuyến <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>; Cây phả hệ xây dựng theo phương pháp Neighbor-joining với khoảng cách di truyền giữa các chuỗi được xác định dựa trên mô hình thay thế Kimura hai tham số, giá trị thống kê bootstrap (%) với 1000 lần lặp lại trong phần mềm MEGA 6.0 (Tamura *et al.*, 2013).

- Nghiên cứu khả năng phát triển của nấm *B. cinerea* (1) trên môi trường PDA, Cà rốt, Bột đậu, Czapek; (2) các mức nhiệt độ 10, 15, 20, 25 và 30°C trên môi trường PDA; (3) các điều kiện chiếu sáng hoàn toàn, tối hoàn toàn, 12 giờ sáng 12 giờ tối ở nhiệt độ 20°C trên môi trường PDA. Các nguồn nấm *B. cinerea* trong nghiên cứu được làm thuần bằng đơn bào tử. Theo dõi hình thái và màu sắc tản nấm, thời gian hình thành bào tử và hạch nấm trên môi trường.

- Phương pháp xử lý số liệu: Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excell 2007, Statistics 9.0.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thí nghiệm được tiến hành tại phòng thí nghiệm của Viện Bảo vệ thực vật trong năm 2017.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Triệu chứng bệnh trên cây hoa thực được

Nấm gây hại trên các bộ phận của cây, đặc biệt là phần non như cánh hoa, nụ hoa, lá non. Trên hoa, bệnh hại trên cánh hoa làm cho cánh hoa khô lại, trên bề mặt có lớp nấm màu xám (Hình 1). Nấm xâm nhập vào nụ hoa làm cho nụ hoa bị thối không hình thành được hoa. Gặp điều kiện mưa phùn và ẩm độ cao bộ phận bị bệnh phủ lớp mốc màu xám tro. Cành bào tử mọc đơn lẻ, thẳng, đa bào, cành phân nhánh ngắn, trên đỉnh cành hơi phình to thành hình cầu, có đỉnh các nướm nhỏ. Cành không màu hoặc có màu nâu nhạt. Bào tử dính trên các nướm nhỏ, hình trứng hay hình bầu dục, đơn bào, không màu kích thước bào tử nấm trên môi trường PDA 9,86 × 5,92 μm (Hình 1).



Hình 1. Triệu chứng điển hình của bệnh thối xám trên cây hoa thực được tại Hà Nội

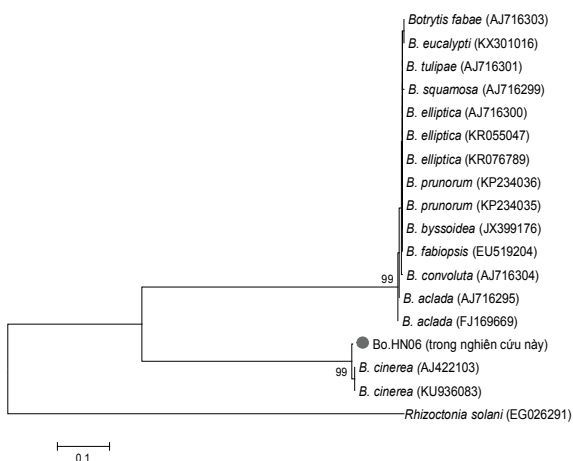
- (A). Bông hoa bị nhiễm bệnh thối xám (hình bên trái); bông hoa không bị nhiễm bệnh (hình bên phải).
(B). Cành bào tử phân sinh và bào tử nấm gây bệnh thối xám (độ phóng đại 40 lần).

3.2. Xác định nấm *B. cinerea* gây bệnh thối xám trên hoa thực được bằng phương pháp PCR

DNA tổng số của các mẫu nấm gây bệnh thối xám trên cây hoa thực được được chiết suất phục vụ phản ứng PCR sử dụng cặp primer C729+/C729-. Kích thước sản phẩm PCR của tất cả các mẫu nấm có kích thước khoảng 730 bp. Tất cả các sản phẩm PCR đều được giải trình tự gen trực tiếp cả hai chiều bằng primer C729+/C729-. Trình tự gen của tất cả các mẫu thu được đều đồng nhất. So sánh với Ngân hàng Gen, trình tự DNA của sản phẩm PCR trùng với các gen mã hóa của nấm *Botrytis cinerea* gây bệnh.

Cây phả hệ được xây dựng dựa trên 16 trình tự đoạn gen của 11 loài nấm *Botrytis* sp. (bao gồm *B. fabae*, *B. eucalypti*, *B. tulipae*, *B. squamosa*, *B. elliptica*, *B. prunorum*, *B. byssoidea*, *B. fabiopsis*, *B. convoluta*, *B. aclada* và *B. cinerea*) khác nhau từ Ngân hàng Gen.

Chủng nấm Bo.HN06 thu trên cây hoa thực được tại vùng Hà Nội đã cùng với 2 đại diện của loài nấm *B. cinerea* có mã số Ngân hàng Gen AJ422103 (gây bệnh thối xám trên cây dâu tây tại Thụy Sĩ) và KU936083 (từ Ấn Độ) tạo thành một nhánh riêng biệt so với các loài *Botrytis* khác trên cây phả hệ (Hình 2).



Hình 2. Cây phả hệ được xây dựng theo phương pháp Neighbor-Joining (Viện Bảo vệ thực vật, 2017)

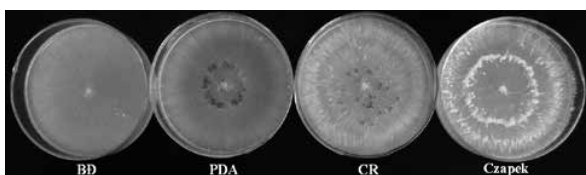
So sánh 16 trình tự đoạn gen của 11 loài nấm khác nhau từ Ngân hàng Gen, mã số Ngân hàng Gen được đặt trong dấu ngoặc đơn. Mẫu nấm gây bệnh thối xám phân lập trên thực vật tại Việt Nam có ký hiệu Bo.HN06. Gốc nhánh là giá trị thống kê bootstrap với 1.000 lần lặp (chỉ ghi những giá trị lớn hơn 80%). *Rhizoctonia solani* là loài khác với *Botrytis*.

3.3. Ảnh hưởng của các loại môi trường khác nhau đến sự phát triển của nấm

Các loại môi trường dinh dưỡng khác nhau có ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của nấm. Trong 4 loại môi trường, nấm phát triển mạnh nhất trên môi trường Bột đậu (BĐ) sau đó đến môi trường PDA, Cà rốt (CR) và Czapek với kích thước tản nấm trung bình lần lượt là $8,50 \pm 0,00$; $8,13 \pm 0,03$; $7,53 \pm 0,03$ và $6,57 \pm 0,07$ cm sau 4 ngày nuôi cấy (Bảng 1).

Bảng 1. Sự phát triển của nấm *B. cinerea* trên các loại môi trường khác nhau (Viện Bảo vệ thực vật, 2017)

Môi trường	Kích thước tản nấm sau 4 ngày (cm)	Thời gian hình thành hạch (ngày)		Kích thước hạch lớn trung bình (mm)		Số lượng hạch	Màu sắc	Phân bố của hạch lớn
		Hạch lớn	Hạch nhỏ	Dài	Rộng			
BĐ	$8,50^a \pm 0,00$	5	-	2,53	1,86	72	Đen	Rải rác
PDA	$8,13^b \pm 0,03$	4	-	1,97	1,9	61	Đen	Đồng tâm
CR	$7,53^c \pm 0,03$	7	7	2,56	2,2	16	Đen	Rải rác
Czapek	$6,57^d \pm 0,07$	3	8	5,25	2,58	187	Đen	Đồng tâm



Hình 3. Sự phát triển của nấm trên môi trường dinh dưỡng khác nhau sau 7 ngày nuôi cấy (Viện Bảo vệ thực vật, 2017)

Trên môi trường dinh dưỡng, nấm có thể hình thành các hạch nhỏ li ti màu đen hay các hạch lớn cứng, màu đen có kích thước khác nhau, khả năng hình thành hạch của nấm khác nhau trên các loại môi trường. Nấm hình thành hạch lớn sau 3 ngày trên môi trường Czapek và sau 7 ngày trên môi trường Cà rốt. Sau 7 đến 8 ngày nấm hình thành hạch nhỏ trên hai môi trường này, nấm không hình thành hạch nhỏ trên môi trường BĐ và PDA. Trên môi trường Czapek, nấm nhanh hình thành hạch lớn với kích thước lớn nhất $5,25 \times 2,58$ mm và số lượng hạch lớn cũng cao nhất 187 hạch. Nấm hình thành hạch ít nhất trên môi trường CR, tuy nhiên kích thước hạch lớn nhỏ nhất trên môi trường PDA $1,97 \times 1,9$ mm. Sự phân bố của hạch nấm trên đĩa

môi trường chủ yếu ở hai dạng là rải rác trên môi trường BĐ và CR và tạo thành hình tròn đồng tâm trên môi trường PDA và Czapek (Bảng 1, Hình 3).

3.4. Ảnh hưởng của các điều kiện nhiệt độ đến sự phát triển của nấm

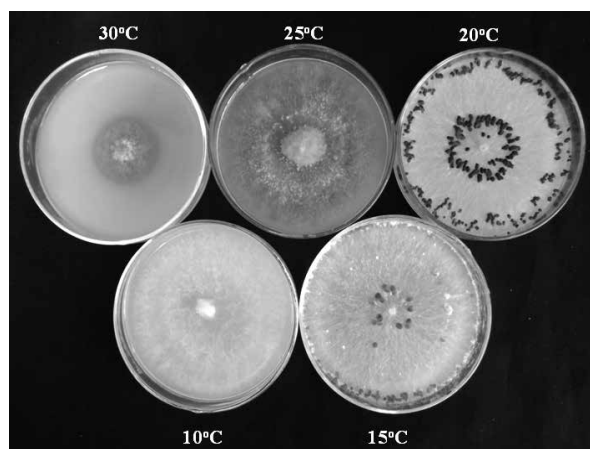
Nhiệt độ khác nhau có ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của nấm. Khoảng nhiệt độ từ $15 - 20^\circ\text{C}$ tối ưu cho sợi nấm phát triển với đường kính tản nấm trung bình tương ứng từ $5,37 \pm 0,03$ đến $7,10 \pm 0,00$ cm sau 4 ngày nuôi cấy. Tản nấm mọc nhanh nhất ở điều kiện nhiệt độ 20°C với đường kính cao nhất sau 4 ngày nuôi cấy là $7,10 \pm 0,00$ cm (Bảng 2).

Nhiệt độ cũng có ảnh hưởng đến sự hình thành bào tử và hạch nấm. Nấm chỉ hình thành bào tử sau 8 ngày nuôi cấy ở nhiệt độ 15°C và hạch nấm sau 6 ngày nuôi cấy ở ngưỡng nhiệt độ $15 - 20^\circ\text{C}$; không ghi nhận được sự hình thành bào tử và hạch nấm trong các điều kiện nhiệt độ $10, 25$ và 30°C . Ở điều kiện nhiệt độ 15°C , tuy số lượng hạch nấm ít hơn chỉ có 93 hạch so với 122 hạch ở điều kiện nhiệt độ 20°C nhưng kích thước hạch lớn hơn. Ở cả 2 điều kiện nhiệt độ, hạch nấm tạo thành đường tròn đồng tâm nhưng màu sắc hạch khác nhau, màu nâu ở nhiệt độ 15°C và màu đen ở nhiệt độ 20°C (Bảng 2, Hình 4).

Bảng 2. Sự phát triển của nấm *B. cinerea* ở các điều kiện nhiệt độ khác nhau (Viện Bảo vệ thực vật, 2017)

Nhiệt độ (°C)	Kích thước tán nấm sau 4 ngày (cm)	Thời gian hình thành BT (ngày)	Thời gian hình thành hạch (ngày)		Kích thước hạch lớn trung bình (mm)		Số lượng hạch	Màu sắc	Phân bố hạch lớn
			Hạch lớn	Hạch nhỏ	Dài	Rộng			
10	1,67 ^a ±0,03	-	-	-	-	-	-	-	-
15	5,37 ^b ±0,03	8	6	-	3,70	2,53	93	Nâu	Đồng tâm
20	7,10 ^a ±0,00	-	6	-	3,17	1,77	122	Đen	Đồng tâm
25	3,53 ^c ±0,03	-	-	-	-	-	-	-	-
30	1,97 ^d ±0,03	-	-	-	-	-	-	-	-

Ghi chú: BT: bào tử



Hình 4. Sự phát triển của nấm ở các điều kiện nhiệt độ khác nhau sau 14 ngày nuôi cấy (Viện Bảo vệ thực vật, 2017)

3.5. Ảnh hưởng của các điều kiện chiếu sáng đến sự phát triển của nấm

Thời gian chiếu sáng khác nhau có ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của nấm. Kích thước tán nấm đạt $6,87 \pm 0,03$; $7,27 \pm 0,03$ và $7,63 \pm 0,03$ cm tương ứng với các điều kiện chiếu sáng hoàn toàn, tối hoàn toàn và 12 giờ sáng xen kẽ 12 giờ tối sau 4 ngày nuôi cấy. Đặc biệt ở điều kiện chiếu sáng 12 giờ sáng xen kẽ 12 giờ tối, nấm phát triển theo nhịp điệu sinh trưởng. Trong ba điều kiện chiếu sáng, nấm chỉ hình thành bào tử nấm trong điều kiện chiếu sáng hoàn toàn. Nấm sản sinh ra hạch lớn sau 6 - 8 ngày nuôi cấy với kích thước hạch khác nhau lần lượt $3,4 \times 3,02$; $2,45 \times 1,50$ và $2,80 \times 1,48$ mm, nấm không hình thành hạch nhỏ. Số lượng hạch lớn cao nhất ở điều kiện tối hoàn toàn, tiếp đến là sáng hoàn toàn và cuối cùng là 12 giờ sáng xen kẽ 12 giờ tối. Hạch nấm đều có màu đen nhưng sự phân bố của hạch nấm trên bề mặt đĩa môi trường khác nhau gồm 2

dạng là hình thành rải rác ở điều kiện 12 giờ chiếu sáng, và tạo thành hình tròn đồng tâm ở 2 điều kiện còn lại (Bảng 3, Hình 5).



Hình 5. Sự phát triển của nấm trong các điều kiện chiếu sáng khác nhau (Viện Bảo vệ thực vật, 2017)

IV. KẾT LUẬN

- Bệnh thối xám trên cây hoa thực được do nấm *Botrytis cinerea* gây ra, nấm gây hại trên các bộ phận non như cánh hoa, nụ hoa trong vụ Đông Xuân và xuân tại các vùng Trung du miền núi phía Bắc, Đồng bằng sông Hồng.

- Trong 4 loại môi trường, nấm phát triển mạnh nhất trên môi trường bột đậu. Tuy nhiên nấm hình thành hạch lớn sau 3 ngày trên môi trường Czapek và có kích thước và số lượng hạch lớn nhất, nấm không hình thành hạch nhỏ trên môi trường BĐ và PDA.

- Trên môi trường PDA nấm chỉ hình thành bào tử ở nhiệt độ 15°C sau 8 ngày nuôi cấy. Nấm hình thành hạch lớn ở mức nhiệt độ 15 - 20°C sau 6 ngày nuôi cấy và hạch phân bố dạng đồng tâm.

- Nấm phát triển tốt ở điều kiện tối hoàn toàn và 12 giờ sáng xen kẽ 12 giờ tối. Nấm phát triển theo nhịp điệu sinh trưởng ở điều kiện 12 giờ sáng xen kẽ 12 giờ tối. Nấm chỉ hình thành bào tử trong điều kiện sáng hoàn toàn. Hạch nấm hình thành sau 6 ngày nuôi cấy ở tất cả các điều kiện chiếu sáng.

Bảng 3. Sự phát triển của nấm *B. cinerea* trong các điều kiện chiếu sáng khác nhau (Viện Bảo vệ thực vật, 2017)

Điều kiện chiếu sáng	Kích thước tán nấm sau 4 ngày (cm)	Nhịp điệu sinh trưởng	Thời gian hình thành thành BT (ngày)	Thời gian hình thành hạch (ngày)		Kích thước hạch lớn (cm)		Số lượng hạch	Màu sắc	Phân bố hạch lớn
				Hạch lớn	Hạch nhỏ	Dài	Rộng			
12 giờ sáng xen kẽ 12 giờ tối	7,63 ^a ±0,03	Có	-	8	-	2,80	1,48	32	Đen	Đồng tâm
Sáng hoàn toàn	6,87 ^c ±0,03	Không	8	7	-	3,40	3,02	55	Đen	Rải rác
Tối hoàn toàn	7,27 ^b ±0,03	Không	-	6	-	2,45	1,50	212	Đen	Đồng tâm

Ghi chú: BT: bào tử

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Mai Văn Quân, Trịnh Xuân Hoạt, Đặng Vũ Thị Thanh, Trần Thị Chi, Hà Văn Dũng, Lê Thị Thanh Thủy, Nguyễn Công Thành, 2016. Một số kết quả nghiên cứu về nấm *Botrytis cinerea* Pers. gây bệnh thối xám trên cây trồng. *Tạp chí Bảo vệ thực vật*, 6: 37-41.
- Đặng Vũ Thị Thanh, Vũ Duy Hiện, Mai Văn Quân, 2007. Nghiên cứu đặc điểm sinh học của nấm *Botrytis cinerea* gây bệnh thối xám trên đào, hoa hồng, hoa lily ở vùng Sa Pa, Lào Cai. *Những nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống*. NXB Nông nghiệp. Hà Nội, tr 370-380.
- Đặng Vũ Thị Thanh, Vũ Duy Hiện, Mai Văn Quân, 2010. Nghiên cứu phổ ký chủ của nấm *Botrytis cinerea* Pers. gây bệnh thối xám trên cây trồng. *Tạp chí Bảo vệ thực vật*, 1: 8-9.
- Viện Bảo vệ thực vật, 1997. *Phương pháp nghiên cứu bảo vệ thực vật tập 1*. NXB Nông nghiệp. Hà Nội, tr 46-57.
- Rigotti S., Gindro K., Richter H., Viret, O., 2002. Characterization of molecular markers for specific and sensitive detection of *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. in strawberry (*Fragaria x ananass* Duch.) using PCR. *FEMS Microbiology Letters*, 209 (2): 169-174.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S., 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30: 2725-2729.

Identification and biological characteristics of *Botrytis cinerea* Pers. causing gray mold on dahlia (*Dahlia pinnata* Cav.) in Vietnam

Mai Van Quan, Duong Thi Nguyen

Abstract

Botrytis cinerea is an important pathogen that causes gray mold different crops in Vietnam. In present study, a total of 15 isolates were isolated from dahlia (*Dahlia pinnata* Cav.) in Northern midland mountainous and the Red River delta. The morphological characterization was based on conidiophore and conidial length; and the results indicated that all isolates belonged to morph species *Botrytis cinerea* Pers. PCR with specific primer pair C729+/C729- amplified DNA fragments of about 730 bp from all isolates. The DNA sequencing and phylogenetic analysis confirmed that *B. cinerea* was the causal agent of gray mold disease on dahlia. Using medium plate culture method, the effect of various culture conditions on mycelium growth, sporulation, sclerotia formation of dahlia *B. cinerea* was detected. Among 4 media, the mycelium cultured on BĐ medium grew fastest with the production of gray mycelium and dense colonies; however, the highest number of big sclerotia was formed on Czapek 3 days after incubation. The optimum temperature for mycelium growth and sporulation of dahlia *B. cinerea* was 15°C on PDA medium. The optimum lighting conditions for mycelium growth was fluorescent light with alternating cycles of 12 hours light and 12 hours darkness; and the continuous light was optimum condition for sporulation of the fungus.

Key words: *Botrytis cinerea*, gray mold, biological characteristics, *Dahlia pinnata* Cav.

Ngày nhận bài: 9/7/2017
 Ngày phản biện: 13/7/2017

Người phản biện: TS. Hà Minh Thanh
 Ngày duyệt đăng: 27/7/2017

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA CHẾ ĐỘ SẤY (NHIỆT ĐỘ, THỜI GIAN) BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẤY BƠM NHIỆT ĐẾN SẢN PHẨM TINH BỘT NGHỆ

Nguyễn Văn Toàn¹, Nguyễn Văn Huế¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu tiến hành xác định ảnh hưởng của chế độ sấy (nhiệt độ, thời gian) bằng phương pháp sấy bơm nhiệt đến chất lượng sản phẩm tinh bột nghệ nhằm tạo ra sản phẩm có chất lượng cao từ củ nghệ tươi. Khảo sát chế độ sấy được tiến hành ở các nhiệt độ: 45°C; 50°C; 55°C; 60°C và thời gian: 2; 4; 6; 8; 10 và 12 giờ cho các mẫu dịch tinh bột nghệ có hàm lượng nước 40 ÷ 45%, diện tích khay sấy 540 × 740 × 20 mm, bề dày vật liệu 0,5 cm. Kết quả nghiên cứu cho thấy với chế độ sấy ở nhiệt độ 55°C trong thời gian 10 giờ cho sản phẩm tinh bột nghệ có chất lượng cao nhất, tương ứng với hàm lượng curcumin 1,02%, độ ẩm 8,46% cùng với các chỉ tiêu cảm quan là tốt nhất.

Từ khóa: Củ nghệ, tinh bột nghệ, thời gian sấy, nhiệt độ sấy, hàm lượng curcumin, độ ẩm, chất lượng cảm quan

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây nghệ có tên khoa học là *Curcuma longa* L. thuộc họ gừng (Zingiberaceae), là cây trồng lấy củ có điều kiện sinh trưởng và phát triển rất phù hợp ở những vùng khí hậu nóng ẩm như các nước thuộc khu vực châu Á và Thái Bình Dương. Trong đó, Việt Nam có nguồn sản xuất nghệ phong phú, phân bố ở nhiều tỉnh thành như Vĩnh Phúc, Hải Dương, Đắk Lắk, Nghệ An, Quảng Trị, Quảng Nam... Về giá trị sử dụng, củ nghệ từ lâu đã được sử dụng rộng rãi làm gia vị, chất bảo quản và chất tạo màu trong thực phẩm (Đào Hùng Cường và *ctv.*, 2008). Ngoài ra, trong y học, do hoạt tính sinh học của curcumin, nghệ có tác dụng kim hãm sự phát triển của tế bào ung thư và điều trị nhiều căn bệnh viêm khớp, giải độc gan, loét dạ dày, tá tràng... (Anand *et al.*, 2007). Sản phẩm tinh bột nghệ được tiêu thụ phần lớn trên thị trường hiện nay được sản xuất theo phương pháp truyền thống thô sơ, lạc hậu. Đặc biệt, công đoạn sấy thường phơi tinh bột trực tiếp bằng ánh nắng mặt trời hay sử dụng khói lò, than, củi đốt để làm khô dẫn đến khó khăn trong kiểm soát độ ẩm, tổn thất curcumin, không đảm bảo chất lượng vệ sinh an toàn thực phẩm (Lê Văn Hoàng và *ctv.*, 2007). Hiện nay, đã có một số công trình nghiên cứu về ảnh hưởng của yếu tố kỹ thuật sấy bơm nhiệt trên một số sản phẩm có giá trị dinh dưỡng. Nghiên cứu khảo sát ảnh hưởng yếu tố kỹ thuật sấy bơm nhiệt trên ớt đã đưa ra kết luận: Sấy ớt ở nhiệt độ 55°C, độ ẩm giảm từ 87,6% xuống còn 8% trong 22 giờ (Vũ Minh Tâm và Nguyễn Đình Kiên, 2009). Kết quả công bố sấy bơm nhiệt kiểu thùng quay đối với cà rốt ở nhiệt độ 45°C, vận tốc tác nhân sấy 2,5 m/s, thì độ ẩm còn 10% trong thời gian sấy 6 giờ (Võ Duy Mạnh và Lê Chí Hùng, 2011). Tuy nhiên, các công bố hiện nay về tác động của sấy bơm nhiệt đối với chất lượng sản phẩm tinh bột nghệ còn hạn chế.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Củ nghệ tươi được thu mua tại thôn Bản Sơn (làng Cù), xã Cam Nghĩa, huyện Cam Lộ, tỉnh Quảng Trị. Nghệ được thu hoạch sau 8 - 9 tháng kể từ khi ngày gieo trồng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Từ nguyên liệu nghệ tươi để thu được bột nghệ ướt phục vụ thí nghiệm, thực hiện theo quy trình sau: Nghệ tươi → rửa sạch → nghiền → ly tâm tách bã → ly tâm tách nước → bột nghệ ướt.

Mẫu thí nghiệm được bố trí sấy ở các nhiệt độ 45°C; 50°C; 55°C và 60°C cố định trong thời gian 11 giờ. Sau khi chọn được nhiệt độ sấy thích hợp, tiến hành khảo sát ảnh hưởng của thời gian sấy. Mẫu được sấy ở các thời gian lần lượt là 2; 4; 6; 8; 10 và 12 giờ. Dịch tinh bột nghệ ướt trước khi sấy có hàm lượng nước 40 ÷ 45%, diện tích khay sấy 540 × 740 × 20 mm, bề dày vật liệu 0,5 cm. Sản phẩm tinh bột nghệ, sau khi sấy được tiến hành xác định các chỉ tiêu chất lượng như: độ ẩm, hàm lượng curcumin, đánh giá chất lượng cảm quan (màu sắc, mùi, vị).

2.2.2. Phương pháp phân tích

Độ ẩm được xác định bằng phương pháp sấy đến khối lượng không đổi theo TCVN 4415:1987 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 1987). Hàm lượng tinh bột được xác định theo TCVN 9936:2013 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 2013). Hàm lượng cellulose được xác định theo TCVN 4590:1988 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 1988). Hàm lượng protein được xác định bằng phương pháp Kjeldahl theo TCVN 9936:2013 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 2013). Hàm lượng lipid tổng số được xác định theo TCVN 8137:2009

¹ Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế