

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM CỦA NẤM *Bipolaris cactivora* GÂY BỆNH THỐI TRÁI THANH LONG (*Hylocereus* spp.) TẠI BÌNH THUẬN

Mai Thị Thúy Kiều¹, Nguyễn Văn¹, Lê Đình Đôn²

¹Chi Cục Bảo Vệ Thực Vật Tỉnh Bình Thuận,

²Trường Đại học Nông Lâm Thành Phố Hồ Chí Minh

MỞ ĐẦU

Bệnh hại là một trong những nguyên nhân hạn chế sự phát triển của cây thanh long tại Việt Nam. Cùng với việc đầu tư thâm canh ngày càng cao, sử dụng thuốc bảo vệ thực vật không hợp lý đã làm cho diễn biến bệnh hại trên cây thanh long ngày càng phức tạp. Bệnh thối trái thanh long do nấm *Bipolaris cactivora* là một trong những bệnh mới bùng phát từ những năm 2011 trở lại đây. Bệnh gây hại quanh năm trên cả những vườn ở giai đoạn kiến thiết cơ bản đến những vườn đã cho trái ổn định, gây thiệt hại năng suất khoảng 5 – 20 %, thậm chí 70 – 80 % nếu vườn thanh long không được quản lý bệnh tốt, đặc biệt là vào giai đoạn cuối mùa mưa đầu mùa nắng. Nghiên cứu bệnh thối trái thanh long tại Bình Thuận nhằm tìm hiểu một số đặc điểm về hình thái và sinh học của tác nhân *Bipolaris cactivora*, qua đó tạo cơ sở cho việc xây dựng các biện pháp phòng trị bệnh hiệu quả hơn.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thu mẫu bệnh có triệu chứng thối trên hoa và trái thanh long tại 4 huyện, thành phố thuộc tỉnh Bình Thuận là Hàm Thuận Nam, Hàm Thuận Bắc, La Gi và Phan Thiết trong năm 2012. Mẫu hoa, trái bệnh sau khi được rửa, vô trùng, cắt thành những mảnh có kích thước 0,3 – 0,5 cm cấy lên môi trường WA (15 g agar và nước cất đến 1 lít). Đặt tên mẫu phân lập theo giống thanh long, địa điểm lấy mẫu và bộ phận gây hại. Theo dõi hình dạng và kích thước bào tử, cành bào tử và kiểu đính của bào tử trên cành, hình dạng màu sắc tản nấm phát triển trên môi trường PGA (200 g khoai tây, 20 g agar, 20 g glucose và nước cất đến 1 lít).

Xác định tỷ lệ nảy mầm của bào tử bằng cách nhỏ dịch bào tử lên lam lõm có đặt sẵn 1 lớp biểu bì củ hành tây. Giữ ẩm lam bằng cách đặt vào trong đĩa petri có giấy thấm nước cất vô trùng. Quan sát tỷ lệ nảy mầm của 40 bào tử sau 2, 4, 6 và 8 giờ trong điều kiện nhiệt độ phòng thí nghiệm (28 – 30°C) dưới kính hiển vi có độ phóng đại 400 lần. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Theo dõi tỷ lệ bào tử nảy mầm (%) và tỷ lệ bào tử hình thành giác bám (%).

Khảo sát sự phát triển của các mẫu phân *B. cactivora* ở các mức nhiệt độ được thực hiện trên đĩa petri (đường kính 90 mm) chứa môi trường PGA, mỗi mẫu được nuôi ủ trong 3 đĩa petri ở 20°C, 25°C, 30°C và 35°C. Theo dõi sự sinh trưởng và đo đường kính tản nấm từ ngày thứ 2 cho đến khi tản nấm phát triển chạm thành đĩa.

Khảo sát sự phát triển của các mẫu *B. cactivora* trên 3 loại môi trường PGA (200 g khoai tây, 20 g agar, 20 g glucose và nước cất vừa đủ 1 lít), DRA (200 g vỏ trái thanh long, 20 g agar, 20 g glucose và nước cất vừa đủ 1 lít) và PCA (100 g khoai tây, 100 g cà rốt, 20 g agar, 20 g glucose và nước cất vừa đủ 1 lít) được thực hiện trên đĩa petri (đường kính 90 mm). Mỗi mẫu được nuôi ủ trong 3 đĩa petri với mỗi loại một loại môi trường khảo nghiệm, ở điều kiện nhiệt độ phòng thí nghiệm (28 – 30°C). Theo dõi sự sinh trưởng và đo đường kính tản nấm từ ngày thứ 2 cho đến khi tản nấm phát triển chạm thành đĩa.

Khảo sát tác động của thuốc Benomyl (Benomyl 50% WP của Công ty Cổ phần thuốc Sắt trùng Việt Nam) đối với các mẫu *B. cactivora* bằng cách quan sát sự phát triển của tản nấm nuôi cấy trên đĩa petri (đường kính 90 mm) chứa môi trường PGA có pha Benomyl với nồng độ 0,2% (Richard, 1992). Mỗi mẫu được nuôi ủ trong 3 đĩa petri và được đặt ở điều kiện nhiệt độ phòng thí nghiệm (28 – 30°C). Theo dõi sự sinh trưởng và đo đường kính tản nấm từ ngày thứ 2 cho đến khi tản nấm phát triển chạm thành đĩa.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

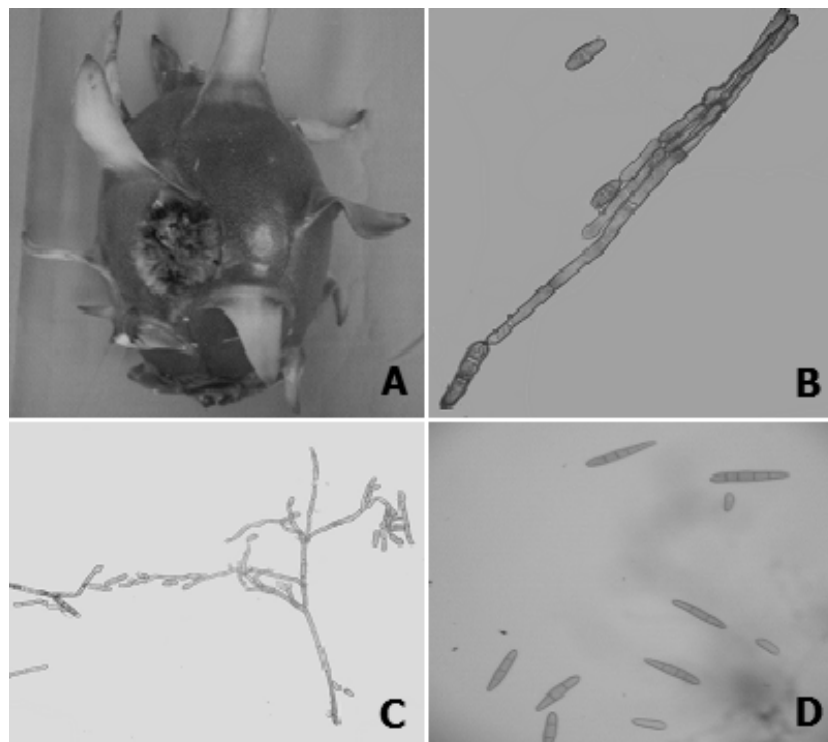
Kết quả phân lập và đặc điểm của nấm *Bipolaris cactivora* gây bệnh thối trái thanh long

Có nhiều tác nhân cùng gây ra triệu chứng thối trái trên thanh long, nên việc xác định chính xác loại tác nhân gây triệu chứng thối trái trên thanh long gặp nhiều khó khăn. Trong nghiên cứu, tiến hành thu thập và phân lập 20 mẫu bệnh thối hoa và trái thanh long tại tỉnh Bình Thuận. Kết quả có 12 mẫu *B. cactivora* phân lập được từ 20 mẫu bệnh thu thập. Triệu chứng thối trái do nấm *B. cactivora* gây hại trên thanh long với bệnh ban đầu nhỏ và hơi lõm trên bề mặt trái, màu nâu sáng, hình tròn hay elip, vết bệnh phát triển lớn thường có màu đen, trên bề mặt vết bệnh có lớp bột mịn màu đen. Quan sát bột mịn màu đen dưới kính hiển vi (độ phóng đại 400 lần) thấy những bào tử hình que màu xám hay nâu với 1 đầu bằng và 1 đầu tròn, có từ 1 – 4 vách ngăn, rất ít bào tử không có vách ngăn (hình 1). Những đặc điểm trên phù hợp với nghiên cứu của TREC năm 2010 mô tả triệu chứng bệnh thối trái thanh long ở Florida và bệnh đốm lá trên cây hàng niên, đặc biệt là trên nhiều loại cỏ do *Bipolaris cactivora* gây ra.

Bảng 1. Ký hiệu các mẫu phân lập bệnh thối trái trên thanh long của tỉnh Bình Thuận.

Mẫu phân lập	Bộ phận gây hại	Địa điểm lấy mẫu
HuTBH1	Hoa thanh long ruột trắng	Hàm Hiệp – Hàm Thuận Bắc
HuTBT2	Trái thanh long ruột trắng	Hàm Hiệp – Hàm Thuận Bắc
HuTBT3	Trái thanh long ruột trắng	Hàm Hiệp – Hàm Thuận Bắc
HuTBT4	Trái thanh long ruột trắng	Hàm Chính – Hàm Thuận Bắc
HuTBH5	Hoa thanh long ruột trắng	Hàm Liêm – Hàm Thuận Bắc
HuTNT1	Trái thanh long ruột trắng	Hàm Minh – Hàm Thuận Nam
HuTNT2	Trái thanh long ruột trắng	Hàm Cường – Hàm Thuận Nam
HpTNH3	Hoa thanh long ruột đỏ	Hàm Kiệm – Hàm Thuận Nam
HuTNT4	Trái thanh long ruột trắng	Hàm Mỹ – Hàm Thuận Nam
HpTNT5	Trái thanh long ruột đỏ	Hàm Kiệm – Hàm Thuận Nam
HuLGT1	Trái thanh long ruột trắng	Tân Hải – La Gi
HuPTT1	Trái thanh long ruột trắng	Phong Nẫm – Phan Thiết

Trên môi trường dinh dưỡng PGA, các mẫu phân lập có chung đặc điểm là tản nấm màu nâu đỏ, sợi nấm già màu nâu, có vách ngăn. Cành bào tử phân nhánh, bào tử đính trên cành theo kiểu zíc zắc. Bào tử non màu xanh xám không có vách ngăn, bào tử già màu tối, thường có màu nâu và có nhiều vách ngăn (từ 1 – 4 vách ngăn), bào tử có dạng hình que, kích thước 24,73 x 7,48 µm, với một khoang giữa của bào tử mở rộng và nhỏ dần về hai đầu. Các đặc điểm hình thái này của các mẫu phân lập hoàn toàn khớp với mô tả hình thái nấm *Bipolaris cactivora* của Barnett và Hunter năm 1998.



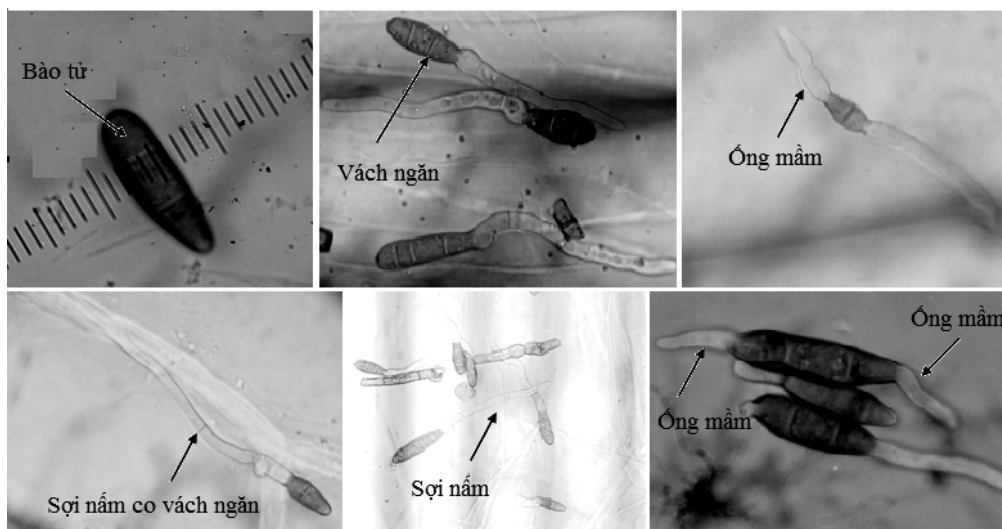
Hình 1. Triệu chứng bệnh, cành bào tử, bào tử.

A: Triệu chứng bệnh; B: Cành bào tử quan sát dưới độ phóng đại 400 lần; C: Cành bào tử quan sát dưới độ phóng đại 100 lần; D: Bào tử nấm quan sát dưới độ phóng đại 400 lần.

Khả năng nảy mầm và hình thành giác bám của bào tử đóng vai trò quan trọng đối với sự tồn tại, phát triển và gây hại của nấm trên cây ký chủ. Kết quả khảo sát khả năng nảy mầm của nấm *B. cactivora* cho thấy, ở thời điểm 8 tiếng sau khi ủ mẫu trong điều kiện nhiệt độ phòng thí nghiệm, các mẫu phân lập có tỷ lệ nảy mầm từ 55% (mẫu HpTNT5) cho tới 89,17% (mẫu HuTBT3 và mẫu HpTNH3). Bên cạnh đó, thí nghiệm cũng cho thấy không có sự hình thành giác bám của bào tử ở tất cả 12 mẫu phân lập (Hình 2).

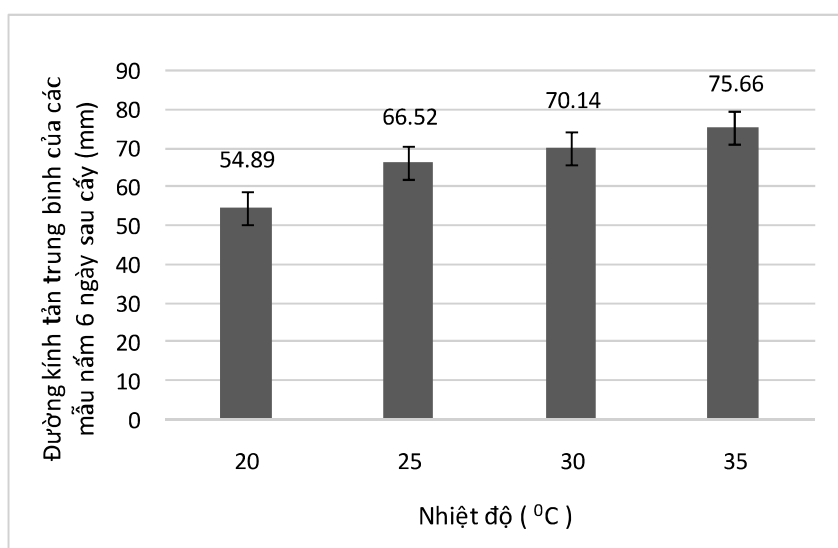
Bảng 2. Tỷ lệ bào tử nảy mầm của 12 mẫu phân lập *B. cactivora* ở nhiệt độ phòng

Mẫu nấm	Tỷ lệ bào tử nảy mầm (%)			
	2 giờ	4 giờ	6 giờ	8 giờ
HuTBH1	47,50	59,17	70,83	77,50
HuTBT2	11,67	58,33	71,67	81,67
HuTBT3	19,17	55,00	72,50	89,17
HuTBT4	20,83	38,33	57,50	70,83
HuTBH5	3,33	47,50	70,83	80,00
HuTNT1	32,50	39,17	52,50	59,17
HuTNT2	21,67	43,33	57,50	63,33
HpTNH3	29,17	56,67	81,67	89,17
HuTNT4	24,17	33,33	49,17	55,00
HpTNT5	10,00	43,33	49,17	55,83
HuLGT1	40,00	43,33	51,67	66,67
HuPTT1	38,33	68,33	69,17	83,33



Hình 2. Bào tử và ống mầm của *Bipolaris cactivora*
(hình ảnh được chụp dưới kính hiển vi độ phóng đại 400 lần)

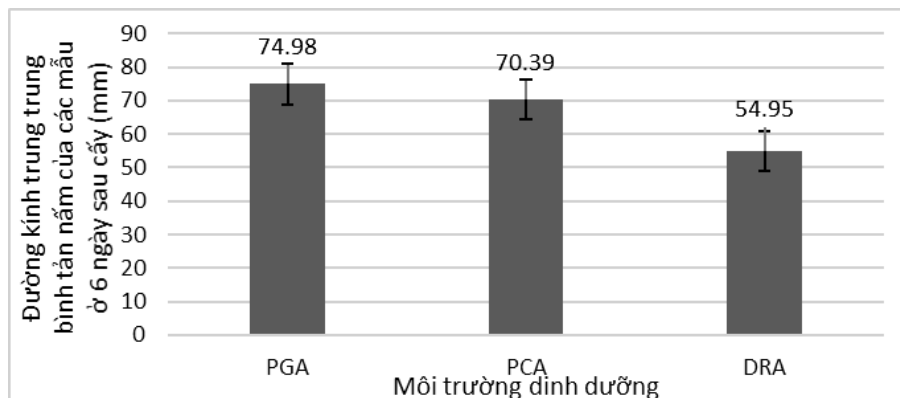
Nhiệt độ và ẩm độ là một trong những yếu tố môi trường quan trọng cho sự phát triển và phân bố nguồn nấm bệnh trong các vùng địa lý khác nhau, ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng gây bệnh của nấm bệnh trên các cây ký chủ. Theo TREC (2010), nấm *B. cactivora* phát triển trong khoảng nhiệt độ từ 24 – 33⁰C. Qua khảo sát các mẫu phân lập *B. cactivora* trong nghiên cứu này cho thấy các mẫu đều có khả năng phát triển trong khoảng nhiệt độ từ 20 – 35⁰C. Trong đó, khả năng phát triển của tản nấm tăng dần theo nhiệt độ thí nghiệm (Hình 3) phù hợp với điều kiện thời tiết, khí hậu nắng nóng của các vùng trồng thanh long tại địa bàn tỉnh Bình Thuận.



Hình 3. Đường kính tản nấm *B. cactivora* trên môi trường PGA tại 6 ngày sau cấy ở các mức nhiệt độ

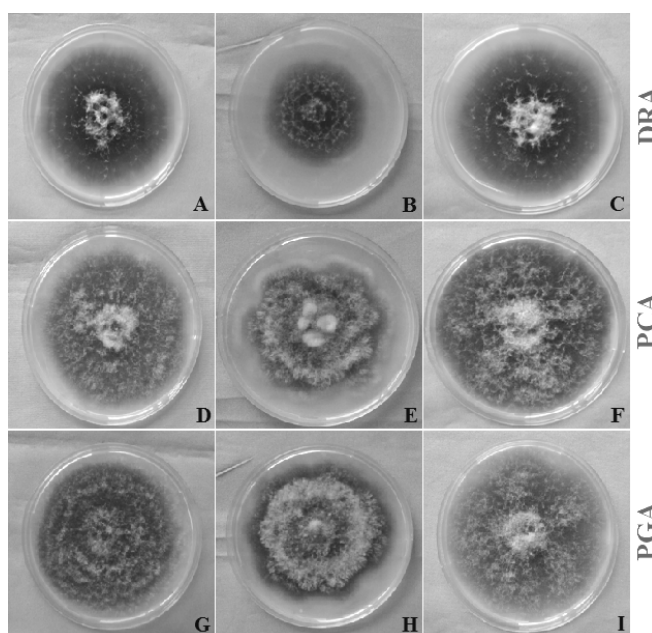
Ngoài yếu tố nhiệt độ, thì dinh dưỡng cũng là một yếu tố quan trọng cho sự tồn tại, sự sinh trưởng và phát triển của các nguồn nấm gây hại trên cây trồng. Kết quả khảo sát sự phát triển của các mẫu phân lập nấm *B. cactivora* trên 3 loại môi trường cho thấy, các mẫu phát

triển tốt nhất trên môi trường PGA với đường kính tản nấm trung bình đạt 74,98 mm; trên môi trường DRA, các mẫu phát triển thấp nhất với đường kính trung bình tản nấm là 54,95 mm (Hình 4).



Hình 4. Đường kính tản nấm *B. cactivora* trên các loại môi trường trong điều kiện nhiệt độ phòng ở thời điểm 6 ngày sau cấy

Dinh dưỡng không chỉ ảnh hưởng đến sự phát triển của tản nấm mà còn ảnh hưởng đến màu sắc và cách mọc của tản nấm trên môi trường dinh dưỡng. Trên môi trường PGA và PCA, màu sắc sợi nấm của các mẫu tương đối giống nhau, các mẫu đều có sợi nấm màu trắng xám mọc nổi trên mặt thạch. Trên môi trường DRA, các mẫu nấm đều có sợi nấm màu xám xanh, sợi nấm mảnh, mọc sát thạch (Hình 5).

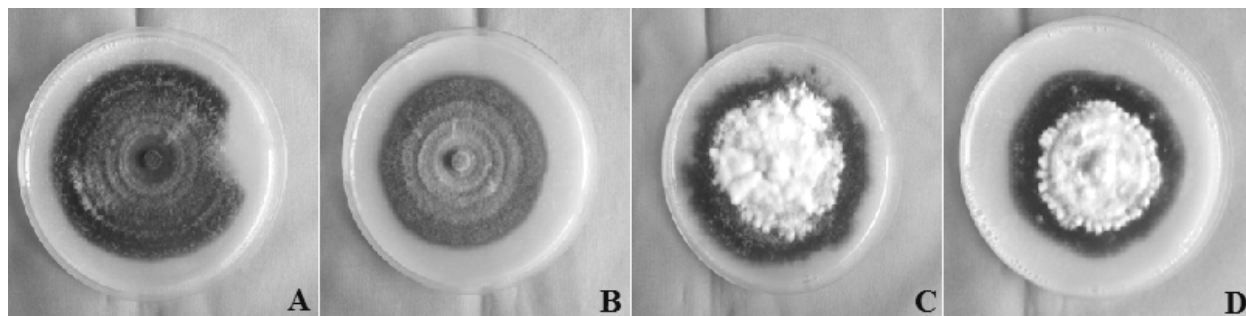


Hình 5. Hình thái tản nấm của các mẫu *B. cactivora* trên các môi trường dinh dưỡng

A, B và C lần lượt là các mẫu *HuTBT4*, *HuTBH5* và *HuPTT1* trên môi trường DRA
D, E và F lần lượt là các mẫu *HuTBT4*, *HuTBH5* và *HuPTT1* trên môi trường PCA
G, H và I lần lượt là các mẫu *HuTBT4*, *HuTBH5* và *HuPTT1* trên môi trường PGA

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thuốc Benomyl ở nồng độ 0,2% đối với 12 mẫu phân lập cho thấy, có sự hiện diện của 2 nhóm *B. cactivora* gây hại trên thanh long tại tỉnh Bình

Thuận. Nhóm thứ nhất gồm các mẫu HuTBH1 và HuTBH5, sợi nấm có màu xám đen, mọc sát mặt thạch thành các vòng tròn đồng tâm. Nhóm thứ 2 gồm các mẫu HuTNT1, HuTNT2, HpTNH3, HuTNT4, HpTNT5, HuLGT1, HuTBT2, HuTBT3, HuTBT4 và HuPTT1 với sợi nấm ở phần mép tán nấm có màu đen nhưng, mọc sát mặt thạch, bên trong sợi nấm có màu trắng mọc nổi trên mặt thạch. Kết quả thí nghiệm cũng cho thấy các mẫu đều có khả năng phát triển trên môi trường PGA có bổ sung thuốc Benomyl ở nồng độ 0,2%. Trong đó, mẫu HuLGT1, đường kính tán nấm lớn nhất (đạt 80,00 mm), mẫu HuTNT5 đường kính tán nấm nhỏ nhất (đạt 41,00 mm) ở thời điểm 20 ngày sau cấy.



Hình 6. Hình thái tán nấm của các mẫu trên môi trường PGA có bổ sung thuốc Benomyl ở nồng độ 0,2% trong điều kiện nhiệt độ phòng tại 20 ngày sau cấy

A và B lần lượt là các mẫu HuTBH1 và HuTBH5

C và D lần lượt là các mẫu HuTBT2 và HuPTT1

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Kết luận

1. Dựa vào đặc điểm hình thái của 12 mẫu phân lập từ hoa và trái thanh long tại Bình Thuận, đã ghi nhận *Bipolaris cactivora* là tác nhân gây bệnh thối trái trên thanh long. Trong điều kiện ẩm độ thích hợp, bào tử các mẫu phân lập có tỷ lệ nảy mầm từ 55 – 89,17%.

2. Các mẫu phân lập *Bipolaris cactivora* sinh trưởng phát triển tốt trên môi trường PGA. Nhiệt độ thích hợp cho nấm phát triển là từ 25⁰C đến 35⁰C, ở nhiệt độ 20⁰ C, *Bipolaris* sinh trưởng phát triển chậm.

3. Qua khảo sát ảnh hưởng của thuốc Benomyl với các mẫu *B. cactivora* cho thấy có 2 nhóm *B. cactivora* gây hại trên thanh long tại Bình Thuận. Các mẫu đều có khả năng phát triển trên môi trường dinh dưỡng có bổ sung Benomyl ở nồng độ 0,2%.

Đề nghị

1. Thu thập thêm mẫu bệnh thối trái trên thanh long ở nhiều vùng địa lý khác nhau để có thể phát hiện thêm loài *Bipolaris* mới.

2. Nghiên cứu thêm về độc tính của loài *Bipolaris cactivora*.

3. Tiến hành nghiên cứu các biện pháp phòng chống nhằm kiểm soát hiệu quả bệnh thối trái.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Barnett L. and Hunter B., 1998. *Illustrated genera of imperfect fungi*. The American Phytopathological society Publication, 218 pages.
- Richard C. S., 1992. The Benomyl test as a fundamental diagnostic method for medical mycology. *Journal Of Clinical Microbiology* 31(3): 572 - 577.
- Tropical Research and Education Center, “Disease of the month: Two new Bipolaris diseases in South Florida”, The Tropical Research and Education Center of the Institute of Food and Agricultural Sciences (IFAS), University of Florida, 12/2011. URL: <http://trecclinic.blogspot.com/2010/05/disease-of-month-two-new-bipolaris.html>