

## XÁC ĐỊNH KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG CỦA LOÀI *Chaetomium* spp. VỚI NẤM *Neoscytalidium dimidiatum* GÂY BỆNH ĐỐM NÂU THANH LONG

Nguyễn Thế Quyết<sup>1</sup>, Nguyễn Đức Thành<sup>1</sup>, Trịnh Quốc Bình<sup>1</sup>,  
Bùi Thị Lan Hương<sup>2</sup>, Nguyễn Đức Huy<sup>3</sup> và Phạm Xuân Hội<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

Bệnh đốm nâu thanh long do nấm *Neoscytalidium dimidiatum* gây ra là một trong những bệnh hại nghiêm trọng nhất trên cây thanh long *Hylocereus undatus*, gây thiệt hại kinh tế rất lớn cho người trồng thanh long. Nghiên cứu này được tiến hành nhằm xác định khả năng đối kháng của loài nấm *Chaetomium* spp. đối với nấm *N. dimidiatum* gây bệnh đốm nâu thanh long bằng phương pháp đồng nuôi cấy trên môi trường thạch-dextrose-khoai tây (PDA). Kết quả nghiên cứu cho thấy, các chủng nấm *Chaetomium* spp. đều có hiệu lực ức chế đường kính tán nấm và sinh bào tử của nấm *N. dimidiatum* gây bệnh đốm nâu thanh long. Trong đó, loài *Arcopilus cupreus* có hiệu lực ức chế đường kính tán nấm bệnh cao nhất (77,67%) và loài *C. globosum* có hiệu lực ức chế sinh bào tử của nấm *N. dimidiatum* (79,75%) sau 14 ngày nuôi cấy.

**Từ khóa:** Bệnh đốm nâu, *Chaetomium*, đồng nuôi cấy, đối kháng, thanh long

<sup>1</sup> Viện Di truyền Nông nghiệp; <sup>2</sup> Viện Môi trường Nông nghiệp; <sup>3</sup> Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam, cây thanh long (*Hydrocereus undatus*) được người Pháp đưa vào trồng đã trên 100 năm (Luders and McMahan, 2006), cây thanh long đã góp phần to lớn trong việc chuyển đổi cơ cấu kinh tế, nâng cao thu nhập, phát triển nông nghiệp nông thôn với giá trị hàng hóa cao. Những năm gần đây, bệnh đốm nâu trên cây thanh long do nấm *Neoscytalidium dimidiatum* thuộc họ Botryosphaeriaceae, chi *Neoscytalidium* đã gây thiệt hại nghiêm trọng và có xu hướng ngày càng lan rộng. Bệnh này đã được ghi nhận xuất hiện rải rác đầu tiên vào năm 2008 tại Bình Thuận và Tiền Giang và đến năm 2011 trở lại đây thì bệnh tấn công mạnh và lây lan nhanh hơn. Mức độ bệnh ở các vườn, địa phương khác nhau, dao động từ 30-70%, có những vườn mất trắng năng suất do quả bị nhiễm bệnh không thể thu hoạch được, thiệt hại rất lớn cho nhà vườn trồng thanh long (Nguyễn Thành Hiếu và ctv., 2014).

Hiện nay, sử dụng các vi sinh vật đối kháng đang là một biện pháp đầy tiềm năng nhằm kiểm soát nhóm tác nhân nấm gây bệnh cây. Đã có một số nghiên cứu sử dụng vi sinh vật đối kháng với nấm *Neoscytalidium dimidiatum* gây bệnh cây thanh long, lan ngọc điểm (Hà Thị Thúy và ctv., 2016; Hien et al., 2017; Đỗ Thị Huỳnh Mai và Nguyễn Thị Liên, 2018). Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu công bố sử dụng nấm *Chaetomium* spp. kiểm soát nấm *N. dimidiatum* gây bệnh đốm nâu trên thanh long.

Nấm *Chaetomium* spp. là một trong những loại nấm túi lớn nhất với trên 300 loài đã được mô tả (von Arx et al., 1986), đã được chứng minh sản sinh nhiều loại hợp chất có hoạt tính sinh học, có ít nhất hơn 200 loại hoạt chất được tách chiết từ các loài nấm *Chaetomium* spp. Các hoạt chất này có hiệu lực phòng trừ nhiều loại tác nhân gây bệnh cây (Zhang et al., 2012). Việc nghiên cứu các chủng vi sinh vật có lợi, có khả năng kiểm soát phòng ngừa bệnh đốm nâu trên cây thanh long, phục vụ canh tác thanh long theo hướng bền vững là điều cần thiết.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nấm *Neoscytalidium dimidiatum* gây bệnh đốm nâu trên cây thanh long từ nguồn lưu trữ của Bộ môn Công nghệ vi sinh, Viện Di truyền Nông nghiệp.

Nấm đối kháng *Chaetomium* spp. (gồm các loài *Arcopilus aureus*, *Arcopilus cupreus*, *Chaetomium cochliodes* và *Chaetomium globosum*) được phân

lập trên đất trồng cây thanh long thu thập tại huyện Châu Thành, tỉnh Long An và huyện Chợ Gạo, tỉnh Tiền Giang.

Môi trường PDA (potato dextrose agar): Khoai tây (200 g), dextrose (20 g), agar (20 g) và nước cất (1.000 ml). Môi trường đều được hấp vô trùng ở điều kiện áp suất 1,4 atm ở điều kiện nhiệt độ 121°C trong thời gian 30 phút.

Hóa chất dùng trong thí nghiệm có nguồn gốc từ Việt Nam, Trung Quốc như agar, dextrose, NaOH,...

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Đánh giá khả năng đối kháng của 4 loài nấm nghiên cứu đối với nấm *N. dimidiatum* bằng phương pháp đồng nuôi cấy

Khả năng đối kháng của 4 loài nấm *Arcopilus aureus*, *Arcopilus cupreus*, *Chaetomium cochliodes* và *Chaetomium globosum* với nấm *N. dimidiatum* được đánh giá trên môi trường PDA trong đĩa petri (loại 9 cm) theo phương pháp của Soyong (2009), các công thức thí nghiệm gồm: Công thức 1: Đối chứng nấm đối kháng; Công thức 2: Cây nấm đối kháng + *N. dimidiatum*; Công thức 3: Đối chứng nấm gây bệnh. Mỗi công thức lặp lại 3 lần, mỗi lần 3 đĩa petri/lần nhắc lại.

Mỗi một đĩa cấy 2 điểm ở vị trí cách mép đĩa petri 1 cm. Hàng ngày theo dõi tốc độ phát triển của nấm đối kháng và nấm gây bệnh.

Chỉ tiêu theo dõi: Tính hiệu lực (%) ức chế phát triển (percent inhibition of radical growth, PIRG) của nấm đối kháng đối với nấm gây bệnh về đường kính tán nấm (cm) và mật số bào tử (CFU/ml) theo tài liệu của Soyong (2009).

Cách xác định số lượng bào tử: Được áp dụng phương pháp đếm bào tử trên thước đếm hồng cầu.

Cách thực hiện như sau: Cắt lấy tán nấm có kích thước 1 □ 1 cm<sup>2</sup> cho vào tuýp nhựa trắng đã hấp khử trùng (loại 1,5 ml; eppendorf) có chứa 1,0 ml nước cất vô trùng và để trong thời gian 60 phút ở điều kiện nhiệt độ phòng. Sau đó, lắc nhẹ bằng tay để bào tử rời khỏi tán nấm và phát tán đều vào trong nước. Tiến hành đếm nồng độ bào tử trên buồng đếm hồng cầu, mỗi tán nấm đếm 3 lần và lấy giá trị trung bình. Nồng độ bào tử/ml chính là lượng bào tử sinh ra từ tán nấm thu được trên môi trường nuôi cấy.

#### 2.2.2. Phương pháp tính và xử lý số liệu

Hiệu lực ức chế phát triển nấm (PIRG) của nấm đối kháng đối với nấm gây bệnh được tính theo công thức:

$$PIRG (\%) = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100$$

Trong đó:  $R_1$ : Đường kính/số bào tử nấm *N. dimidiatum*;  
 $R_2$ : Đường kính/số bào tử nấm *Chaetomium* spp.

Số liệu phần trăm (%) được chuyển đổi sang dạng arcsin (x)½ trước khi xử lý thống kê. Các số liệu được phân tích thống kê dùng phần mềm IRRISTAT 4.0.

### 2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trong năm 2017 tại Bộ môn Công nghệ vi sinh, Viện Di truyền Nông nghiệp.

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Khả năng đối kháng của 4 loài nấm nghiên cứu đối với *N. dimidiatum* bằng phương pháp đồng nuôi cấy

Nấm *Arcopilus aureus*, *Arcopilus cupreus*, *Chaetomium cochliodes* và *Chaetomium globosum* đã xác định trước đó (Quyết *et al.*, 2018) được đánh giá khả năng đối kháng với nấm *N. dimidiatum* trong điều kiện *in vitro* (Bảng 1).

**Bảng 1.** Hiệu lực ức chế đường kính tán nấm *N. dimidiatum* của nấm đối kháng *Chaetomium* spp. bằng phương pháp đồng nuôi cấy

TT	Công thức	Sau cấy 14 ngày	
		Đường kính tán nấm gây bệnh (cm)	Giá trị PIRG (%)
1	<i>N. dimidiatum</i> + <i>A. aureus</i>	4,40	51,11 <sup>c</sup>
2	<i>N. dimidiatum</i> + <i>A. cupreus</i>	2,01	77,67 <sup>a</sup>
3	<i>N. dimidiatum</i> + <i>C. globosum</i>	2,13	76,33 <sup>a</sup>
4	<i>N. dimidiatum</i> + <i>C. cochliodes</i>	3,11	65,44 <sup>b</sup>
5	Đối chứng nấm bệnh	9,00	-
	<i>LSD</i> <sub>0,05</sub>		4,53

Ghi chú: Giá trị trung bình trong cùng một cột mang chữ cái khác nhau thì sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức  $\alpha = 0,05$  với mức xác suất  $p < 0,05$ .

Kết quả thí nghiệm cho thấy, các loài nấm *Chaetomium* spp. đều có hiệu lực ức chế đường kính tán nấm *N. dimidiatum* từ 51,11% (mẫu nấm *A. aureus*) đến 77,67% (mẫu nấm *A. cupreus*) sau 14 ngày nuôi cấy. So sánh với kết quả nghiên cứu của một số tác giả khác cho thấy rằng, Hà Thị Thúy và cộng tác viên (2016) đã xác định được chủng B7 là loài *Bacillus polyfermenticus* và chủng A3 là loài *Streptomyces fradiae* có đường kính ức chế nấm *N. dimidiatum* gây bệnh đốm nâu thanh long đạt cao nhất, lần lượt là  $2,10 \pm 3$  cm (74,44%) và  $2,30 \pm 3$  cm (76,67%).

Hiệu lực ức chế mật số bào tử nấm *N. dimidiatum* của 4 loài nấm đối kháng *Chaetomium* spp. được trình bày ở bảng 2.

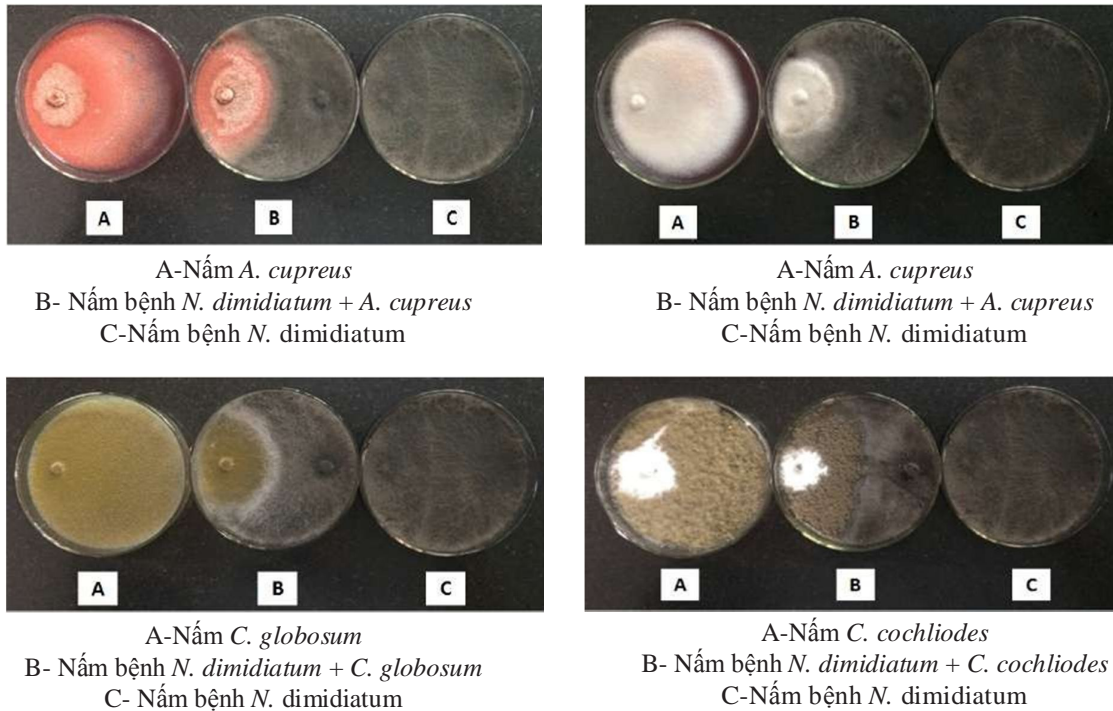
**Bảng 2.** Hiệu lực ức chế bào tử nấm *N. dimidiatum* của các dòng nấm đối kháng *Chaetomium* spp. bằng phương pháp đồng nuôi cấy

TT	Công thức	Sau cấy 14 ngày	
		Số lượng bào tử nấm gây bệnh ( $\times 10^7$ CFU/ml)	Giá trị PIRG (%)
1	<i>N. dimidiatum</i> + <i>A. aureus</i>	19,33	64,22 <sup>b</sup>
2	<i>N. dimidiatum</i> + <i>A. cupreus</i>	11,60	78,53 <sup>a</sup>
3	<i>N. dimidiatum</i> + <i>C. globosum</i>	10,94	79,75 <sup>a</sup>
4	<i>N. dimidiatum</i> + <i>C. cochliodes</i>	21,51	60,19 <sup>c</sup>
5	<i>N. dimidiatum</i>	54,03	-
	<i>LSD</i> <sub>0,05</sub>		4,10

Ghi chú: Giá trị trung bình trong cùng một cột mang chữ cái khác nhau thì sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức  $\alpha = 0,05$  với mức xác suất  $p < 0,05$ .

Kết quả thí nghiệm cho thấy, các loài nấm *Chaetomium* spp. có hiệu lực ức chế khả năng sinh bào tử nấm gây bệnh *N. dimidiatum* từ 44,30% (mẫu nấm *C. cochliodes*) đến 79,75% (mẫu nấm *C. globosum*) sau 14 ngày nuôi cấy. So sánh với kết quả nghiên cứu của một số tác giả khác cho thấy rằng, nghiên cứu của tác giả Đỗ Thị Huỳnh Mai và Nguyễn Thị Liên (2018) đã xác định loài *Bacillus amyloliquefaciens* có hiệu lực đối kháng với nấm *Neoscytalidium* sp. là cao nhất (79,2%). Tác giả Hien và cộng tác viên (2017) về các dòng vi khuẩn *Bacillus* sp. được phân lập từ đất vùng rẫy trồng thanh long có khả năng đối kháng với nấm *N. dimidiatum* gây bệnh đốm nâu cho kết quả cao hơn với khả năng sản sinh siderophore từ 1,83 - 0,06 cm.

Các loài nấm *Chaetomium* spp. đã được chứng minh là có hiệu lực ức chế đường kính tán nấm và sinh bào tử của nhiều loài nấm gây bệnh cây như *Phytophthora palmivora*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. lunata*, *R. microporus*, *Fusarium* sp.,... gây hại trên nho, chè, cà phê, cà chua, khoai tây, lúa bằng phương pháp đồng nuôi cấy trong điều kiện *in vitro* (Lê Thị Ánh Hồng và *ctv.*, 2005; Soyong, 2009; Tathan *et al.*, 2012; Thiep and Soyong, 2015; Phong *et al.*, 2016). Tuy nhiên, chưa có bất kỳ công bố nào trên thế giới hay ở Việt Nam sử dụng nấm *Chaetomium* spp. phòng chống nấm *N. dimidiatum* gây bệnh đốm nâu hại cây thanh long.



**Hình 1.** Đánh giá hiệu lực đối kháng của nấm *Chaetomium* spp. đối với nấm *N. dimidiatum* bằng phương pháp đồng nuôi cấy

#### IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

##### 4.1. Kết luận

Các dòng nấm đối kháng *Chaetomium* spp. đều có hiệu lực ức chế đường kính tán nấm và sinh bào tử của nấm *N. dimidiatum* gây bệnh đốm nâu thanh long. Trong đó, loài *A. cupreus* có hiệu lực ức chế đường kính tán nấm bệnh cao nhất (77,67%) và loài *C. globosum* có hiệu lực ức chế sinh bào tử của nấm (79,75%) sau 14 ngày nuôi cấy.

##### 4.2. Đề nghị

Đánh giá các đặc điểm sinh học và nghiên cứu tách chiết các hoạt tính sinh học từ các loài nấm đối kháng *Chaetomium* spp. trong các thí nghiệm tiếp theo.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Thành Hiếu, Nguyễn Ngọc Anh Thu và Nguyễn Văn Hòa, 2014. Nghiên cứu xác định tác nhân, đặc điểm hình thái và sinh học của nấm *Neoscytalidium dimidiatum* gây bệnh đốm trắng trên thanh long (*Hylocereus undatus*). Trong *Hội thảo Quốc gia bệnh hại thực vật Việt Nam lần thứ 13*, tổ chức tại Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh, tr. 114-120.
- Lê Thị Ánh Hồng, Nguyễn Thanh Hà, Nguyễn Thị Hằng Phương, Nguyễn Thị Thanh Nga, Nguyễn Thế Quyết, Nhữ Việt Cường, Nguyễn Thuý Mùi và Kasem Soyong, 2005. Nghiên cứu ứng dụng nấm

*Chaetomium* spp. trong sản xuất các chế phẩm vi sinh bảo vệ thực vật phòng chống các bệnh nấm hại. Trong *Báo cáo tổng kết khoa học kỹ thuật* - Đề tài cấp Nhà nước, 111 tr.

- Đỗ Thị Huỳnh Mai và Nguyễn Thị Liên, 2018. Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn đối kháng nấm *Neoscytalidium* sp. gây bệnh đốm trắng trên cây lan Ngọc điểm. *Tạp chí Khoa học & Công nghệ Nông nghiệp*, 2(1): 499-508.
- Hà Thị Thúy, Lương Hữu Thành, Vũ Thúy Nga, Hứa Thị Sơn và Tống Hải Vân, 2016. Tuyển chọn chủng vi sinh vật có khả năng ức chế nấm *Neoscytalidium dimidiatum* gây bệnh đốm nâu thanh long. Trong *Hội thảo Quốc gia về khoa học cây trồng lần thứ hai*, tổ chức tại TP. Cần Thơ, ngày 11-12/8/2016, tr. 1167-1172.
- Hien, O.T.M., Huyen, N.T.M., Anh, T.D., and Lien, N.T., 2017. Isolation and identification of antagonistic bacteria against the causative fungus of white spot disease (*Neoscytalidium dimidiatum* (Penz.) on dragon fruits. *Journal of Science*, 49: 28-41.
- Luders, L. and McMahon, G., 2006. The pitaya or dragon fruit. Department of Primary Industries and Fisheries. Northern Territory, Australia, Agnote D, 42.
- Quyet, N.T., Thanh, N.D., Cuong, H.V., Huong, B.T.L. and Soyong, K., 2018. Molecular identification of *Chaetomium* species from soil in Vietnam. *International Journal of Agricultural Technology*, 14(2): 225-232.

- Phong, N.H., Wattanachai, P., Kasem, S. and Luu, N.T.**, 2014. Antimicrobial substances from *Chaetomium* spp. against *Pestalotia* spp. causing grey blight disease of tea. *Journal of Agricultural Technology*, 10(4): 863-874.
- Soytong, K.**, 2009. Evaluation of *Chaetomium* biological fungicide to control *Phytophthora* stem and root rot of durian. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*, 3(2): 115-124.
- Tathan, S., Sibounnavong, P., Soytong, K. and Toanun C.**, 2012. Biological metabolites from *Chaetomium* spp. to inhibit *Drechslera oryzae* causing leaf spot of rice. *Journal of Agricultural Technology*, 8(4): 1691-1701.
- Thiep, N.V. and Soytong, K.**, 2015. *Chaetomium* spp. as biocontrol potential to control tea and coffee pathogens in Vietnam. *International Journal of Agricultural Technology*, 11(6): 1381-1392.
- Von Arx J.A., Guarro, J. and Figueras, M.J.**, 1986. Ascomycete genus *Chaetomium*. *Beih. Nova Hedwigia*, 84: 1-162.

### **Identification of *Chaetomium* spp. antagonistic activity against *Neoscytalidium dimidiatum* causing brown spot disease of dragon fruit in Vietnam**

Nguyen The Quyet, Nguyen Duc Thanh, Trinh Quoc Binh, Bui Thi Lan Huong, Nguyen Duc Huy and Pham Xuan Hoi

#### **Abstract**

The brown spot disease caused by *Neoscytalidium dimidiatum* is one of the most serious diseases of *Hylocereus undatus* in Vietnam, causing great economic losses for dragon fruit growers. This study was conducted to determine the antagonistic activity of *Chaetomium* species against *N. dimidiatum* causing brown spot disease on dragon fruit by using bi-culture technique on potato dextrose agar medium. The results showed that *Chaetomium* species had the effect of inhibiting diameter and spore formation of *N. dimidiatum* fungus. Among them, *Arcopilus cupreus* had the highest inhibition of colony growth (77.67%) and *C. globosum* had the highest inhibition of spore formation (79.75%) after 14 days of culture.

**Keywords:** Antagonistic, bi-culture, brown spot, *Chaetomium*, dragon fruit

Ngày nhận bài: 18/9/2018

Ngày phản biện: 27/9/2018

Người phản biện: TS. Trần Thị Mỹ Hạnh

Ngày duyệt đăng: 15/10/2018