

XÁC ĐỊNH TÁC NHÂN GÂY BỆNH THỐI CHUA QUẢ TRÊN QUÝT TRÀ LĨNH TẠI CAO BẰNG

Ngô Thị Thanh Hương¹, Nguyễn Thị Bích Ngọc¹, Hà Việt Cường², Phạm Thị Dung¹, Nguyễn Nam Dương¹, Đỗ Duy Hưng¹, Nguyễn Tiến Bình¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu này đã xác định nguyên nhân gây bệnh thối chua trên quả quýt Trà Lĩnh tại Cao Bằng do nấm *Geotrichum candidum* gây ra. Triệu chứng chính của bệnh là gây thối dạng ủng nước, có mùi chua và thu hút ruồi đục quả, gây hại nặng trong giai đoạn quả chín và bảo quản sau thu hoạch. Trên môi trường PDA nấm mọc mỏng, mịn màu trắng, sợi nấm phân nhánh kép, bào tử phân sinh được hình thành bởi sự phân đoạn từ sợi nấm (bào tử đốt) kích thước 3,01 - 6,5 × 4,25 - 9,25 µm. Nhiệt độ 25 - 30°C và pH 6,5 - 7,0 thích hợp cho nấm phát triển.

Từ khóa: Thối chua, quýt Trà Lĩnh, *Geotrichum candidum*, bào tử đốt

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Quýt Trà Lĩnh (*Citrus reticulata*) có màu vàng, mùi thơm hấp dẫn, hàm lượng đường và dinh dưỡng cao, là loại cây ăn quả đặc sản có giá trị kinh tế cao, được trồng phổ biến tại huyện Trà Lĩnh, tỉnh Cao Bằng (Nguyễn Thị Bích Ngọc và ctv., 2016).

Trong những năm gần đây, bệnh thối quả là một trong những nguyên nhân làm giảm năng suất và chất lượng quả tại các vùng trồng quýt Trà Lĩnh. Triệu chứng của bệnh là quả bị thối mềm, ủng chảy nước, có mùi chua, gây hại ở giai đoạn quả chín và sau thu hoạch được ghi nhận ở một số nước trồng cây có múi như Mỹ, Cuba, Israel, Thổ Nhĩ Kỳ, Ấn Độ, Úc (Snowdon, 1990). Bệnh gây hại chủ yếu trên quả vào giai đoạn chín và trong bảo quản, quả bị thối toàn bộ trong thời gian ngắn (5 - 7 ngày) khi đã nhiễm bệnh trên đồng ruộng. Vì vậy, việc xác định nguyên nhân gây bệnh là cần thiết để từ đó đưa ra biện pháp phòng trừ hiệu quả.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Các mẫu quả bị bệnh và quả không bị bệnh thu tại các vùng trồng quýt Trà Lĩnh tại Cao Bằng.

- Các loại môi trường nghiên cứu: PDA, WA và môi trường nước ép chanh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định nguyên nhân gây bệnh

a) Phương pháp phân lập tác nhân

Các mẫu quả có vết bệnh mới, chọn phần có mô khỏe và mô bệnh. Các mẫu được khử trùng bằng cồn 70°, rửa lại 2 lần bằng nước cất vô trùng và để khô trên giấy thấm tiệt trùng, cắt nhỏ và đặt trên đĩa môi trường PDA bổ sung kháng sinh. Sau 2 - 3 ngày nấm phát triển, làm thuần bằng phương pháp

cắt đỉnh sinh trưởng nấm theo phương pháp Burgess (2008).

b) Phương pháp định danh nấm

Xác định tác nhân gây bệnh (tên chi) dựa trên đặc điểm hình thái theo mô tả De Hoog và Smith (2004).

Xác định loài nấm gây bệnh thối chua dựa trên sự phát triển của nấm trong dịch nước cốt chanh theo phương pháp của McKay và cộng tác viên (2012). Chuẩn bị dịch bào tử nấm trong nước ép chanh (pH 2,2) vô trùng trên. Cho 100 ml dịch bào tử vào bình tam giác định mức 250 ml vô trùng. Ủ dịch bào tử trong máy lắc ở 150 rpm/48 giờ.

Kiểm tra bằng soi kính hiển vi: *G. citri-aurantii* (Nhiều tế bào dài sau đó phân đoạn thành bào tử, không có cụm sợi nấm) *G. candidum* (nhiều cụm sợi nấm, hình thành rất ít bào tử).

c) Phương pháp lây bệnh nhân tạo (quy trình Koch)

Nấm nuôi cấy 5 - 6 ngày trên môi trường PDA, sau đó tạo dung dịch bào tử nấm đạt mật độ 10⁶ bào tử/ml được phun trên quả xanh (vỏ quả chưa chuyển vàng) và quả chín không bị sâu bệnh được khử trùng bề mặt, quả được gây vết thương và quả không gây vết thương 15 quả/công thức. Đặt quả vào trong hộp nhựa và tạo độ ẩm 85 - 90 %. Theo dõi biểu hiện triệu chứng bệnh và phân lập trở lại tác nhân gây bệnh.

2.2.2. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh thái của tác nhân gây bệnh thối chua

a) Thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ

Các ngưỡng nhiệt độ trong thí nghiệm: 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C và 40°C. Thí nghiệm được thực hiện trên môi trường PDA, các ngưỡng nhiệt độ này được bố trí ổn định trong tủ định ôn.

¹ Viện Bảo vệ thực vật, ² Học viện Nông nghiệp Việt Nam

b) Thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của các độ pH môi trường

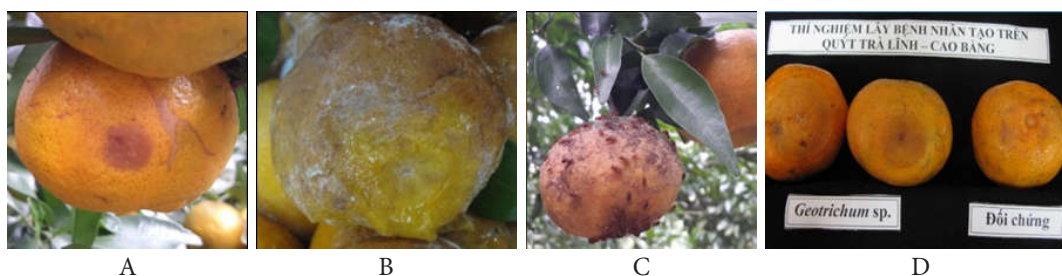
Các ngưỡng pH làm thí nghiệm: 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5; 7; 7,5; 8,0.

Thí nghiệm được thực hiện trên môi trường PDA, các ngưỡng pH môi trường được điều chỉnh bằng dung dịch HCl và NaOH đến ngưỡng cần thiết.

* Cách tiến hành cho thí nghiệm a) và b): Môi trường PDA được đổ vào các đĩa petri, nấm được cấy truyền vào giữa và đặt vào tủ định ôn. Mỗi công thức làm 3 lần nhắc lại, 2 đĩa trên một lần nhắc lại.

2.2.3. Chỉ tiêu theo dõi

Đường kính tản nấm sau 3, 5 và 7 ngày sau cấy.



Hình 1. Triệu chứng bệnh thối chua trên quýt Trà Linh - Cao Bằng

Ghi chú: (A) Triệu chứng mới (B, C) Thối toàn bộ quả và thu hút ruồi đục quả (D) Lây bệnh nhân tạo bệnh thối chua.

Triệu chứng đầu tiên là xuất hiện đốm ủng nước không màu hay màu nâu nhạt, về sau vết bệnh lan rộng, hơi lõm màu nâu nhạt. Sau 3 - 4 ngày quả bị thối hoàn toàn, trên bề mặt vết bệnh có lớp nấm mỏng, nhầy màu trắng, quả mềm nhũn, có mùi chua đặc trưng, chảy dịch nước và mang theo rất nhiều bào tử lây lan khi tiếp xúc với quả khác, dịch này cũng thu hút côn trùng đặc biệt là ruồi đục quả. Bệnh bắt đầu xuất hiện trong giai đoạn quả chín và gây hại nặng trong bảo quản sau thu hoạch (Hình 1).

3.2. Xác định tác nhân gây bệnh thối chua

Trên môi trường PDA, tản nấm có màu trắng mịn, sợi nấm không màu, có vách ngăn, đỉnh phân nhánh kép. Bào tử vô tính được tạo nên bởi sự phân đoạn từ sợi nấm sinh dưỡng thành những đoạn ngắn (bào tử đốt), trong suốt, có hình trụ, tròn hai đầu có khi dạng gần như hình cầu, có kích thước 3,01 - 6,5 x 4,25 - 9,25 μm. Chuỗi bào tử mọc khí sinh thẳng đứng hoặc sát trên bề mặt môi trường. Trên môi trường WA, bào tử này mầm hình thành ống mầm ở một đầu, hình thành sợi nấm, phân nhánh và phân đoạn hình thành bào tử. Trong môi trường nước ép chanh (pH 2,2) bào tử nấm nảy mầm hình thành ống mầm và kéo dài hình thành dạng sợi nấm sau 24 giờ ủ. Sau 48 giờ nhiều cụm sợi nấm hình thành, hầu

2.2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Phân tích số liệu trên phần mềm Excel 2013 và IRRISTAT 5.0.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 9/2016 đến tháng 7/2017 tại Bộ môn Bệnh cây - Viện Bảo vệ thực vật.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Triệu chứng bệnh thối chua trên quýt Trà Linh

Bệnh phát sinh và gây hại hầu hết các vùng trồng quýt Trà Linh tập trung tại các xã Quang Hán, Cao Chương và Hùng Quốc.

như không xuất hiện bào tử nấm.

Dựa trên kết quả nghiên cứu của De Hoog (2004) và McKay (2012) xác định nấm gây bệnh thối chua trên quýt Trà Linh - Cao Bằng là loài *Geotrichum candidum* (Hình 2).

3.3. Kết quả thí nghiệm lây bệnh nhân tạo nấm *G. candidum*

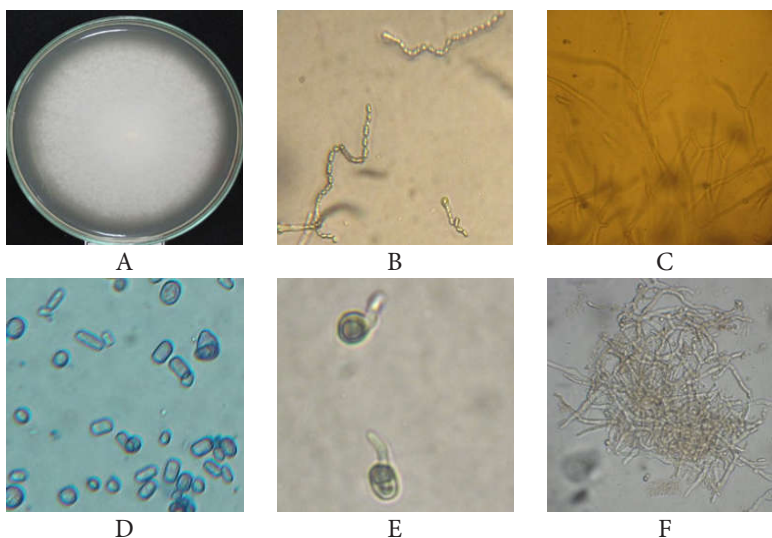
Lây bệnh nhân tạo nấm *G. candidum* trên quả quýt Trà Linh: lây có sát thương và không có vết thương. Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả lây bệnh nhân tạo nấm *G. candidum* trên quýt Trà Linh

Công thức	Tỷ lệ bệnh (%)		Thời gian xuất hiện triệu chứng bệnh đầu tiên (ngày)	
	LB có vết thương	LB không vết thương	LB có vết thương	LB không vết thương
Quả xanh	40,0	0,0	1-2	-
Quả chín	93,3	26,7	1 ngày	3-4
Đối chứng	0,0	0,0	-	-

Ghi chú: LB: lây bệnh.

(Nguồn: Viện Bảo vệ thực vật, 2016).



Hình 2. Đặc điểm hình thái nấm *Geotrichum* sp. gây bệnh thối chua quả quýt Trà Linh

Ghi chú: (A) Tàn nấm trên môi trường PDA; (B) Chuỗi bào tử; (C) Sợi nấm; (D) Bào tử phân sinh; (E) Bào tử mầm (sau 4 tiếng); (F) Sự phát triển của nấm trên môi trường nước ép chanh pH 2,2 (sau 48 giờ).

Kết quả lây bệnh khẳng định nấm *G. candidum* là tác nhân gây bệnh thối chua, triệu chứng bệnh tương tự như triệu chứng trên đồng ruộng. Tuy nhiên, quả có sạt thương bị nhiễm bệnh nặng hơn (93,3% với quả chín và 40,0% với quả xanh) và thời kỳ tiềm dục ngắn 1 - 2 ngày. Quả không gây vết thương TLB thấp chỉ 26,7% với quả chín và quả xanh hoàn toàn không nhiễm bệnh. Kết quả này phù hợp với thực tế, bệnh hầu như không xuất hiện trên quả xanh và bệnh lây nhiễm qua vết thương cơ học.

3.4. Nghiên cứu đặc điểm sinh thái tối sinh trưởng, phát triển nấm *G. candidum*

3.4.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Nhiệt độ là yếu tố sinh thái quan trọng ảnh hưởng đến sự phát sinh, phát triển của hầu hết các loại nấm gây hại trên cây trồng. Thí nghiệm cho thấy, nấm *G. candidum* thích hợp phát triển trong ngưỡng nhiệt độ từ 25 - 30°C, sau 7 ngày nuôi cấy đường kính tán nấm đạt 67,33 - 83,17 mm, dưới 15°C và trên 35°C nấm phát triển kém và trên 40°C nấm hoàn toàn không phát triển (Bảng 2, hình 4).

3.4.2. Ảnh hưởng của pH môi trường

Nấm *G. candidum* có khả năng phát triển trong phạm vi pH rộng từ 4,5 - 8,0, phát triển thích hợp nhất ở mức pH từ 6,5 - 7,0 sau 6 ngày nuôi cấy đường kính tán nấm đạt 86,17 - 86,83 mm, môi trường axit (pH = 4,5) nấm phát triển kém hơn và ưa môi trường trung bình hoặc kiềm nhẹ (Bảng 3, hình 5).

Bảng 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự phát triển của nấm *G. candidum* gây hại trên quýt Trà Linh

STT	Điều kiện nhiệt độ (°C)	Đường kính tán nấm sau cấy (mm)		
		3 ngày	5 ngày	7 ngày
1	15	0,00	5,83	10,33 ^d
2	20	14,33	39,17	51,00 ^c
3	25	25,33	55,67	67,33 ^b
4	30	22,33	57,00	83,17 ^a
5	35	6,00	8,17	9,83 ^d
6	40	0,00	0,00	0,00 ^e
	CV (%)	-	-	1,6

Ghi chú: Các công thức có chữ khác nhau thì khác nhau với mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

(Nguồn: Viện Bảo vệ thực vật, 2017).



Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy đến sinh trưởng, phát triển nấm *G. candidum*

Bảng 3. Ảnh hưởng của độ pH đến sự phát triển của nấm *G. candidum* gây hại trên quýt Trà Linh

STT	pH	Đường kính tán nấm sau nuôi cấy(mm)		
		3 ngày	5 ngày	7 ngày
1	4,5	28,83	64,67	79,67 ^f
2	5,0	30,17	70,33	81,83 ^e
3	5,5	31,67	71,67	83,17 ^d
4	6,0	32,17	74,00	83,50 ^c
5	6,5	32,67	77,00	86,17 ^{ab}
6	7,0	33,00	77,33	86,83 ^a
7	7,5	32,30	74,83	85,50 ^b
8	8,0	32,50	74,17	85,00 ^{bc}
	CV (%)	-	-	0,9

Ghi chú: Các công thức có chữ khác nhau thì khác nhau với mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

(Nguồn: Viện Bảo vệ thực vật, 2017).



Hình 5. Ảnh hưởng pH đến sinh trưởng, phát triển nấm *G. candidum*

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Nấm *G. candidum* là tác nhân gây bệnh thối chua

trên quýt Trà Linh - Cao Bằng. Quả bị bệnh với triệu chứng thối mềm, không màu hay có màu nâu nhạt, ủng chảy nước, có mùi chua đặc trưng thu hút côn trùng đặc biệt là ruồi đục quả. Bệnh gây hại nặng trong giai đoạn quả chín và bảo quản sau thu hoạch. Trên môi trường PDA tán nấm trắng, mịn dạng kem và sợi nấm phân nhánh kép, phân đoạn hình thành bào tử phân sinh hay bào tử đốt. Nhiệt độ 25 - 30°C và pH 6,5 - 7,0 thích hợp cho nấm phát triển.

4.2. Đề nghị

Cần tiếp tục nghiên cứu thử nghiệm các biện pháp phòng trừ trong phòng cũng như trên đồng ruộng, từ đó làm cơ sở để xuất biện pháp phòng trừ hiệu quả.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Thị Bích Ngọc, Nguyễn Nam Dương, Phạm Thị Dung, Lê Mai Nhất, Đỗ Duy Hưng, Ngô Thị Thanh Hương, 2016. Quản lý bệnh thối gốc, thối rễ cây quýt Trà Linh tại Cao Bằng. *Tạp chí Bảo vệ thực vật*, (1): 39 - 45.
- De Hoog G. S., Smith M. TH., 2004. Ribosomal gene phylogeny and species delimitation in *Geotrichum* and its teleomorphs. *Studies in Mycology*, (50) 2: 489 - 515.
- Burgess L. W., Knight T. E., Tesoriero L. and Phan T.H., 2008. *Diagnostic manual for plant disease in Vietnam*. ACIAR Monograph, 74-79.
- McKay A. H., Forster H., and Adaskaveg J. E., 2012. Distinguishing *Galactomyces citri-aurantii* from *G. geotrichum* and characterizing population structure of the two postharvest sour rot pathogens of fruit crops in California. *Phytopathology*, 102(5): 528-538.
- Snowdon A. L., 1990. *A colour atlas of post-harvest diseases & disorders of fruits & vegetables*, 1: 54-81.

Determination of causal agent of sour rot disease on Tra Linh mandarin in Cao Bang province

Ngo Thi Thanh Huong, Nguyen Thi Bich Ngoc, Ha Viet Cuong, Pham Thi Dung, Nguyen Nam Duong, Do Duy Hung, Nguyen Tien Binh

Abstract

Sour rot caused by *Geotrichum candidum* is the major disease on Tra Linh mandarin in Cao Bang province. The typical symptoms are water-soaked lesions on fruits, smell of fermentation. The fungus damages seriously in the stage of ripe fruit and post-harvest. On PDA media, fungal colonies are thin, white and short, hyphae are dichotomous branching, spores are formed by the fragmentation of the hyphae (arthrospore), 3.01 - 6.5 × 4.25 - 9.25 μm. *Geotrichum Candidum* develop rapidly in a range of temperature from 25°C to 30°C and pH 6.5 - 7.0.

Keywords: Sour rot, Tra Linh mandarin, *Geotrichum candidum*, arthrospore

Ngày nhận bài: 15/4/2018
Ngày phản biện: 21/4/2018

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Nhung
Ngày duyệt đăng: 10/5/2018

ĐÁNH GIÁ VÀ XÁC ĐỊNH CÁC GIỐNG, DÒNG TẦM LƯƠNG HỆ LÀM NGUYÊN LIỆU LAI TẠO

Nguyễn Thị Nhài¹, Trương Hải Hường¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện để đánh giá các chỉ tiêu sinh học, kinh tế và chỉ tiêu công nghệ tơ kén của 13 giống tầm lương hệ nguyên và 6 dòng tầm đang chọn tạo. Kết quả đã xác định được 3 giống tầm A2xt, 7532, Y6 và các dòng L2, C2, GQ73, GQ93, QĐ9 có các chỉ tiêu sinh học, kinh tế tốt ở cả 2 vụ Xuân và Thu, thể hiện ở chỉ số đánh giá trung bình các tính trạng EI > 50. Xác định được các dòng, giống có chất lượng tơ kén khá tốt như tỷ lệ lên tơ cao, tiêu hao nguyên liệu thấp là QĐ7 (44%; 9,72 kg), 75xin (42%; 9,88 kg), C2 (41%; 9,46 kg) và A1 tb (38%; 8,85 kg). Các dòng, giống này có thể sử dụng làm nguyên liệu lai tạo giống mới.

Từ khóa: Giống tầm, giống tầm lương hệ, chỉ số đánh giá, nguyên liệu lai

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Để đánh giá nguồn nguyên liệu giống tầm phục vụ cho công tác chọn tạo giống mới ở các nước như Trung Quốc, Ấn Độ, Iran, Pakistan... chủ yếu sử dụng phương pháp đánh giá bằng chỉ số đánh giá nhiều tính trạng, chỉ số điểm, chỉ số chọn lọc và ưu thế lai, đánh giá khả năng phối hợp chung, khả năng phối hợp riêng. Dayananda và cộng tác viên (2014) đã sử dụng phương pháp đánh giá bằng chỉ số đánh giá nhiều tính trạng (EI) và chỉ số điểm để đánh giá 30 giống tầm đa hệ và đã xác định được các giống chống chịu tương đối với nhiệt độ cao. Những giống được xác định này có thể sử dụng làm nguyên liệu lai tạo giống đa hệ có khả năng chống chịu nhiệt độ cao. Cũng sử dụng chỉ số đánh giá, Mubashar Hussain và cộng tác viên (2010) đã đánh giá tiềm năng di truyền của 11 dòng tầm thuần và xác định được 5 dòng có triển vọng về các tính trạng kinh tế quan trọng. Kalidas Mandal và cộng tác viên (2016) đã sử dụng chỉ số chọn lọc để đánh giá các tính trạng số lượng và tính trạng chất lượng của 56 giống tầm lương hệ. Kết quả đã xác định được 10 giống tầm có các chỉ số chọn lọc cao nhất để giới thiệu sử dụng trong các chương trình chọn tạo giống. Nghiên cứu phương pháp lựa chọn bố mẹ để phối hợp cặp lai, Song Xin Hua và cộng tác viên (2004) đã đưa ra ba phương pháp như: Phương pháp lấy giá trị trung bình của bố mẹ, ưu thế lai và khả năng phối hợp làm tham số di truyền; Phương pháp lấy khoảng cách di truyền làm tham số di truyền chủ yếu; Phương pháp lấy một số chỉ tiêu sinh lý làm tham số.

Ở Việt Nam, việc đánh giá nguyên liệu lai tạo chủ yếu dựa trên các chỉ tiêu sinh học, kinh tế và công nghệ tơ kén của các giống thông qua công tác bồi dục giống. Bên cạnh đó, một số nhà chọn giống sử dụng ưu thế lai và khả năng kết hợp giữa các

giống để đánh giá và xác định giống bố mẹ. Nguyễn Thị Đàm (1999) sử dụng ưu thế lai và ưu thế lai thực để đánh giá một số cặp lai đa hệ x lương hệ, từ đó chọn ra cặp lai ĐSK x 09 thích hợp với điều kiện vụ Hè. Năm 2014, Nguyễn Thị Nhài và cộng tác viên đã đánh giá ưu thế lai các giống tầm đa hệ. Kết quả cho thấy, ưu thế lai giữa giống nhập nội và giống trong nước cao hơn so với ưu thế lai giữa các giống trong nước.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Gồm 13 giống tầm nguyên và 6 dòng tầm đang chọn tạo.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thí nghiệm được bố trí nuôi 2 lứa: tháng 3 và tháng 9 năm 2017. Qui trình nuôi tầm và nhân giống theo tiêu chuẩn của ngành (số 104/2003/QĐ-BNN, ngày 7/10/2003).

- Mỗi giống nuôi 5 - 6 ổ đơn, đến dậy tuổi 4 ăn đầu được 2 bữa tiến hành đếm tầm cố định mỗi giống 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại 300 tầm. Điều kiện nuôi, kỹ thuật nuôi, chất lượng thức ăn... đảm bảo đồng đều giữa các giống. Khi tầm chín lên né để ở phòng có ẩm độ cao (> 90%) cho tầm nhả tơ. Sau khi tầm hoá nhộng 2 ngày thì gỡ kén để kiểm tra chất lượng tơ.

- Sử dụng phương pháp chỉ số đánh giá theo Mano và cộng tác viên (1993):

$$\text{Chỉ số đánh giá} = (A - B)/C \times 10 + 50$$

Trong đó, A là giá trị của một tính trạng của một giống; B: giá trị trung bình của một tính trạng của tất cả các giống; C: độ lệch chuẩn; 10: đơn vị tiêu chuẩn; 50: giá trị cố định.

¹Trung tâm Nghiên cứu Dâu tầm tơ Trung ương