

three medicinal species by tissue culture. The results indicated that the medium composition affected the shoot regeneration. The fast or slow process of shoot regeneration depended on the cultural medium and supplemented plant growth regulators as: *Dendrobium officinale* reached 9.7 shoots/sample on average; 3.26 cm of shoot length in medium of MS+ 20 g/l saccharose + 10% coconut water + 60 g/l banana + 0.75 mg/l BA + 0.5 mg/l α -NAA (CT3) which gave the best shoot regeneration. For *Anoectochilus roxburghii*, an average shoot per sample and height were 8.74 and 3.7 cm, respectively, in the medium of MS + 30 g/l saccharose + 10% of coconut water + 1.5 mg/l Kinetin (CT5) while *Coleus forskohlii* was cultured in MS media and supplemented with 30 g/l Sacarose + 0.25 mg/l BA (CT8); the best number of average shoots per sample reached 7.8 and the height was 2.8 cm. These results suggested that the growth regulators and various additives need to be appropriately supplemented depending on shoot regeneration of each plant species in invitro condition. The study result can be used as a basis to maintain and propagate the medical plants under temperature and light conditions of the laboratory.

Keywords: Genetic conservation, propagation, shoot regeneration, light condition, *in vitro*

Ngày nhận bài: 17/7/2018

Ngày phản biện: 24/7/2018

Người phản biện: TS. Trần Thị Thu Hoài

Ngày duyệt đăng: 18/9/2018

ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA CHỦNG VI KHUẨN ĐỐI KHÁNG NẤM *Neoscytalidium dimidiatum* GÂY BỆNH ĐỐM NÂU TRÊN CÂY THANH LONG

Nguyễn Văn Giang¹, Phùng Thị Lệ Quyên¹, Nguyễn Văn Thành²

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện với mục đích phân lập và tuyển chọn chủng vi khuẩn có khả năng đối kháng nấm *Neoscytalidium dimidiatum* gây bệnh trên cây Thanh long. Từ các mẫu đất vùng rễ cây Thanh long thu từ tỉnh Lạng Giang, Tiên Giang và Long An, 3 chủng vi khuẩn đối kháng mạnh với nấm *N. dimidiatum* được tuyển chọn. Chủng YMĐ1 có khả năng đối kháng mạnh nhất trong ba chủng, hiệu lực đối kháng dao động từ 60 - 67,5% sau 7 ngày và từ 58,9 - 64,4% sau 12 ngày đồng nuôi cấy. Chủng YMĐ1 có khả năng sinh tổng hợp các enzyme cellulase, amylase, protease, chitinase, tổng hợp siderophoes, IAA và phân giải phosphate khó tan. Kết quả so sánh trình tự nucleotide 16S rRNA của chủng YMĐ1 với dữ liệu trên ngân hàng NCBI cho thấy chủng này có quan hệ gần gũi với loài *Bacillus vezenensis*.

Từ khóa: Thanh long, bệnh trên cây thanh long, *Neoscytalidium dimidiatum*, *Bacillus* sp.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây thanh long (*Hylocereus undulatus* Haw.) thuộc họ Xương rồng, đây là cây ăn quả nhiệt đới, thích hợp khí hậu nắng nóng, chịu hạn tốt, không chịu được úng; sau khi trồng một năm cây bắt đầu cho quả. Việt Nam là nước nhiệt đới, có khí hậu nóng ẩm, thích hợp với sự phát triển và sinh trưởng của cây thanh long. Tuy nhiên, nhiệt độ cao, lượng mưa lớn cũng là điều kiện thuận lợi cho vi sinh vật phát triển và gây hại. Vi nấm là một trong những tác nhân gây nhiều bệnh trên thanh long như bệnh đốm nâu (do nấm *Neoscytalidium dimidiatum*), bệnh thán thư (do nấm *Coletotrichum gloeosporioides*), bệnh thối đầu cành (do nấm *Alternaria* sp.). Các bệnh này ảnh hưởng đến sinh trưởng phát triển của cây, giảm năng suất, chất lượng quả, giá trị thương phẩm, gây thiệt hại lớn cho người trồng thanh long.

Bệnh đốm nâu do nấm *Neoscytalidium dimidiatum* gây ra là một trong những bệnh hại nghiêm trọng nhất. Bệnh gây hại làm cho cành thanh long bị sần sùi, gây thối khô từng mảng. Trên quả, những đốm làm cho vỏ quả trở nên sần sùi, thối khô làm giảm giá trị thương phẩm nghiêm trọng.

Các biện pháp canh tác, biện pháp hóa học đã được đưa vào áp dụng để phòng trừ các bệnh nấm gây ra trên thanh long, tuy nhiên các biện pháp này vẫn còn những hạn chế như chưa tiêu diệt triệt để nguồn bệnh, việc sử dụng các loại thuốc hóa học, thuốc bảo vệ thực vật gây tác động xấu đến môi trường, ảnh hưởng đến sức khỏe con người. Biện pháp sinh học sử dụng các vi sinh vật đối kháng được xem là biện pháp hiệu quả, thân thiện, an toàn với môi trường. Hiện nay, các nghiên cứu về vi sinh vật đối kháng nấm gây bệnh trên thanh long chưa

¹ Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Viện Di truyền Nông nghiệp

hiều. Xuất phát từ thực trạng trên, việc nghiên cứu về các chủng vi sinh vật có khả năng ức chế nấm bệnh là vấn đề rất quan trọng được các nhà chuyên môn, tổ chức trong nước và quốc tế quan tâm.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các mẫu đất được lấy ở vùng rễ của cây thanh long khỏe tại xã Yên Mỹ, huyện Lạng Giang, tỉnh Bắc Giang, Long An và Tiền Giang.

Chủng nấm *Neoscytalidium dimidiatum* (BT02) gây bệnh đốm nâu trên cây thanh long tại Bình Thuận do Viện Di truyền Nông nghiệp cung cấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập vi khuẩn từ đất vùng rễ cây thanh long

Mẫu đất được nghiền nhỏ, lấy 1 g pha với 10 ml nước vô trùng, lắc đều, tiến hành pha loãng mẫu tới khi đạt nồng độ 10^{-6} . Cấy trang 0,1 ml mẫu ở nồng độ 10^{-6} trên các đĩa petri chứa môi trường LB (Luria- Bertani) gồm peptone 10 g/l; cao nấm men 5 g/l; NaCl 10 g/l; agar 18 g/l; nước cất 1 l; pH 7.0. Các đĩa petri được đặt ở nhiệt độ 30°C và quan sát khả năng hình thành các khuẩn lạc riêng rẽ (Ramkumar et al., 2015).

2.2.2. Khảo sát khả năng đối kháng nấm *N. dimidiatum* của các chủng vi khuẩn mới phân lập

Khả năng đối kháng nấm *N. dimidiatum* của các chủng vi khuẩn mới phân lập được tiến hành theo mô tả của Dhanasekaran và cộng tác viên (2012). Các chủng vi khuẩn và chủng nấm gây bệnh được đồng nuôi cấy trên môi trường Potato Dextrose Agar (thành phần gồm potato extract 4 g/l; dextrose 20 g/l; agar 15 g/l; nước cất 1 l; pH $5,6 \pm 0,2$). Nấm bệnh được cấy ở trung tâm đĩa petri; chủng vi khuẩn được cấy vạch trên môi trường PDA cách nấm bệnh 3 cm. Đường kính vòng ức chế sinh trưởng nấm bệnh được xác định sau 7 ngày nuôi cấy ở 30°C. Hiệu lực đối kháng của các chủng vi khuẩn với nấm *N. dimidiatum* được xác định bằng công thức của Ramesh và cộng tác viên (2002): % Đối kháng = $[1 - (A/B)] \times 100\%$, trong đó A = khoảng cách giữa nấm tại trung tâm đĩa petri tới chủng vi khuẩn; B = khoảng cách giữa nấm bệnh ở trung tâm đĩa petri tới thành đĩa không có vi khuẩn.

2.2.3. Khảo sát khả năng sinh một số enzyme ngoại bào: cellulase, protease và chitinase

Được tiến hành theo mô tả của Phạm Văn Ty (2006). Vi khuẩn được nuôi trong môi trường LB lỏng trong điều kiện lắc ở 200 vòng/phút, ở 30°C;

sau 2 ngày, dịch nuôi được nhỏ vào các giếng thạch đã chuẩn bị sẵn trên đĩa petri thạch chứa 1% cơ chất tương ứng là CMC, tinh bột, casein và chitin và được ủ qua đêm ở 30°C. Sau khi ủ, các đĩa thử hoạt tính được nhuộm với thuốc thử Lugol. Vùng không màu xung quanh giếng thạch cho thấy hoạt tính enzyme ngoại bào.

2.2.4. Khảo sát khả năng phân giải phosphate khó tan

Hoạt độ phân giải phosphate khó hòa tan của các chủng vi khuẩn phân lập được được xác định dựa trên nồng độ PO_4^{3-} có trong dịch nuôi cấy. Nồng độ PO_4^{3-} càng cao chứng tỏ lượng phosphate khó tan bị phân giải càng nhiều. Chủng vi khuẩn phân lập được được nuôi trong bình 100 ml chứa 25 ml môi trường NBRIP lỏng, ở 30°C, 4 ngày, tốc độ lắc 200 vòng/phút. Dịch nuôi được ly tâm 10.000 vòng/phút, 10 phút, 4°C. Phần dịch nổi được thu và xác định hàm lượng PO_4^{3-} bằng cách đo độ hấp thụ ánh sáng ở $\lambda = 820$ nm và so sánh giá trị thu được với phương trình đường chuẩn độ PO_4^{3-} $y = 0,1588x - 0,0204$, $R^2 = 0,9933$ được dựng lên với chất chuẩn là KH_2PO_4 theo phương pháp Xanh molipdate (Maiti, 2004). Môi trường NBRIP: (g/l) glucose 10; $Ca_3(PO_4)_2$ 5 ; $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 5 ; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,25; KCl 0,2; $(NH_4)_2SO_4$ 0,1 pH 7.0; nước cất 1.000 ml.

2.2.5. Khả năng tổng hợp IAA

Vi khuẩn được nuôi trong môi trường LB lỏng có bổ sung L-tryptophan (100 mg/l), tốc độ lắc 200 vòng/phút. Dịch nuôi cấy sau 48 h được thu và ly tâm ở tốc độ 10.000 vòng/phút trong 10 phút, 4°C. Chuyển 1 ml dịch nổi sau khi ly tâm vào ống nghiệm và bổ sung thêm 2 ml thuốc thử Salkowski, lắc đều, để trong bóng tối trong 20 phút ở nhiệt độ phòng. Nếu có IAA, dung dịch sẽ có màu hồng nhạt đến đỏ phụ thuộc hàm lượng IAA được sinh ra. Hàm lượng IAA của mỗi mẫu được xác định bằng cách đo mức độ hấp thụ ánh sáng ở bước sóng 530 nm và tính toán nồng độ IAA dựa trên phương trình đường chuẩn độ $y = 0,0079x + 0,0046$, $R^2 = 0,9976$ với nồng độ IAA lần lượt là 0 μ g/ml, 10 μ g/ml, 20 μ g/ml, 30 μ g/ml, 40 μ g/ml, 50 μ g/ml, 60 μ g/ml, 70 μ g/ml, 80 μ g/ml (Patten and Glick, 2002).

2.2.6. Khả năng tổng hợp siderophore

Vi khuẩn được cấy trên môi trường Chrome Azurol S (CAS) đặc và được ủ ở 37°C trong 48 giờ. Khi vi khuẩn sử dụng sắt trong môi trường thì CAS xung quang khuẩn lạc xuất hiện vòng sáng màu cam, đó là sự hiện diện của siderophore (Schwyn and Neilands, 1987).

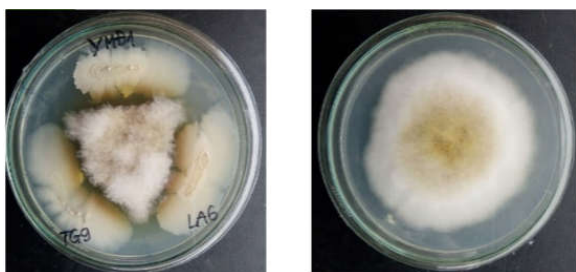
2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại phòng thí nghiệm Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam từ 10/2017 đến 6/2018.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và tuyển chọn chủng vi khuẩn kháng nấm *Neoscytalidium dimidiatum*

Từ các mẫu đất thu thập được ở 3 tỉnh Bắc Giang, Long An và Tiền Giang, bằng phương pháp pha loãng và cấy trải trên môi trường LB, 21 chủng vi khuẩn đã được phân lập và làm thuần. Khả năng đối kháng của các chủng vi khuẩn phân lập được với nấm *Neoscytalidium dimidiatum* gây bệnh đốm nâu trên cây thanh long được đánh giá bằng phương pháp đồng nuôi cấy trên môi trường PDA. Kết quả thu được 3 chủng, có khả năng đối kháng tương đối mạnh là YMĐ1, LA6 và TG9. Ba chủng này tiếp tục được khảo sát khả năng ức chế nấm bệnh *N.dimidiatum* để tìm ra chủng vi khuẩn có khả năng ức chế nấm bệnh mạnh nhất (Hình 1).



Hình 1. Sự phát triển của nấm *Neoscytalidium dimidiatum* khi đồng nuôi cấy với 3 chủng vi khuẩn YMĐ1, LA6 và TG9 trên đĩa thạch (A) và đĩa thạch đối chứng (B)

Sau 7 ngày thí nghiệm trên đĩa thạch đối chứng (Hình 1B), nấm bệnh phát triển bình thường, bị ức chế khi đồng nuôi cấy với ba chủng vi khuẩn YMĐ 1, LA6 và TG9 (Hình 1A). Hoạt lực đối kháng của các chủng vi khuẩn khá là cao, dao động từ 60 - 67,5% sau 7 ngày và từ 58,9 - 64,4% sau 12 ngày đồng nuôi cấy, chủng YMĐ1 có khả năng đối kháng tốt nhất, hoạt lực đối kháng đạt 64,4% - 67,5% (Bảng 1). Hiệu lực đối kháng của các chủng này không cao bằng của chủng vi khuẩn SH8, nhưng cao hơn của chủng HL7 được Đỗ Thị Huỳnh Mai và Nguyễn Thị Liên (2018) công bố. Luong Huu Thanh và cộng tác viên (2016) cũng đã công bố kết quả tuyển chọn được một chủng xạ khuẩn *Streptomyces fradiae* và một chủng *Bacillus polyfermenticus* kháng mạnh với nấm *N.dimidiatum*. Nguyễn Thị Hồng và Phạm Đức Ngọc (2017) công

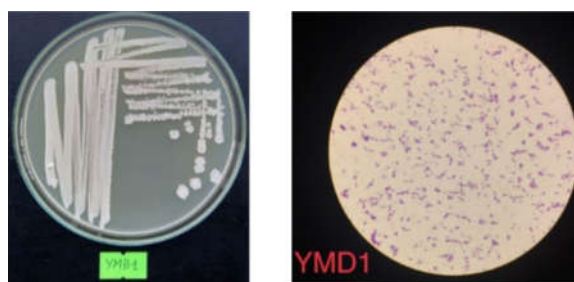
bố đã phân lập và tuyển chọn được chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* và *Burkholderia vietnamiensis* đối kháng khá mạnh với nấm *N. dimidiatum*. Chủng YMĐ 1 được chọn và một số đặc điểm sinh học của chủng này đã được khảo sát.

Bảng 1. Hoạt lực đối kháng của các chủng vi khuẩn với nấm bệnh

Thời gian / Chủng vi khuẩn	7 ngày			12 ngày		
	YMĐ1	LA6	TG9	YMĐ1	LA6	TG9
Bán kính nấm bệnh (R) trên đĩa đối chứng (mm)	40	40	40	45	45	45
Bán kính nấm bệnh (r) trên đĩa thí nghiệm (mm)	13	16	15	16	18,5	18
Hoạt lực ĐK (%)	67,5	60	62,5	64,4	58,9	60

3.2. Đặc điểm sinh học của chủng vi khuẩn YMĐ1

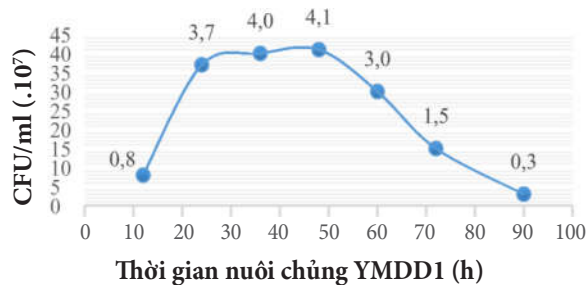
Chủng vi khuẩn YMĐ 1 có khuẩn lạc màu trắng đục, bề mặt khô, xù xì, viền mép dày, tế bào dạng que, bắt màu tím khi nhuộm Gram (Hình 2).



Hình 2. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc và tế bào chủng YMĐ1

Chủng YMĐ1 được nuôi trong môi trường LB lỏng. Sau mỗi 12 h nuôi, dịch nuôi vi khuẩn YMĐ1 được pha loãng tới nồng độ 10^{-7} , cấy trang trên đĩa petri chứa môi trường LB đặc để đếm khuẩn lạc. Đường cong biểu diễn sinh trưởng của chủng vi khuẩn YMĐ 1 được biểu thị tại hình 3. Chủng YM1 phát triển mạnh trong khoảng thời gian 24 - 48 h sau nuôi cấy, sau đó mật độ vi khuẩn giảm dần, đặc biệt giảm mạnh sau 60 h nuôi. Tốc độ sinh trưởng của chủng YMĐ 1 chậm hơn tốc độ sinh trưởng

của chủng *Bacillus polyfermenticus* và *Streptomyces fradiae* được công bố bởi Luong Huu Than và cộng tác viên (2016). Vì các enzyme cần thiết cho các phản ứng trao đổi chất thường được vi sinh vật tổng hợp tại các phase đầu của quá trình sinh trưởng, do đó để kiểm tra hoạt tính một số enzyme như cellulase, protease và chitinase, cần thu dịch nuôi sau khoảng 48 h nuôi cấy.



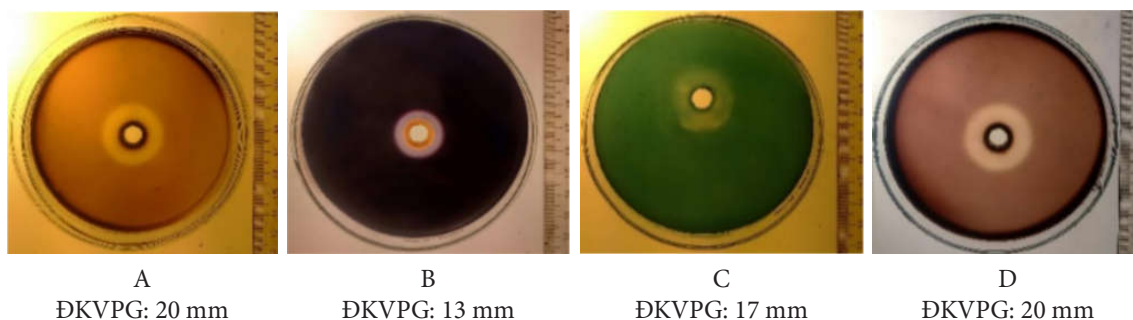
Thời gian nuôi chủng YMDD1 (h)

Hình 3. Đường cong sinh trưởng của chủng vi khuẩn YMĐ 1

3.3. Khảo sát khả năng tổng hợp một số enzyme ngoại bào của chủng YMĐ1

Các enzyme ngoại bào được vi sinh vật tổng hợp và tiết vào môi trường có vai trò quan trọng việc phân hủy các hợp chất hữu cơ trong tự nhiên để thu nhận nguồn dinh dưỡng cho chính vi sinh vật và còn cung cấp dinh dưỡng cho cây trồng. Chính vì vậy khả năng phân giải nhiều cơ chất khác nhau là tiêu chí quan trọng khi chọn lọc các chủng vi sinh vật. Chủng YMĐ1 có khả năng phân hủy cellulose, tinh bột, protease và chitin (Hình 4).

Các chủng vi sinh vật kháng nấm *N.dimidiatum* được công bố bởi Nguyễn Thị Hồng và Phạm Đức Ngọc (2017); Đỗ Thị Huỳnh Mai và Nguyễn Thị Liên (2018) cũng biểu hiện hoạt tính phân hủy mạnh cellulose, tinh bột, protein và chitin. Khả năng phân hủy chitin là tiêu chí quan trọng khi tuyển chọn chủng vi sinh vật kháng vi nấm gây bệnh hại cây trồng vì chitin tham gia cấu trúc thành tế bào vi nấm.



A ĐKVPG: 20 mm

B ĐKVPG: 13 mm

C ĐKVPG: 17 mm

D ĐKVPG: 20 mm

Hình 4. Khả năng phân hủy cơ chất CMC (A), tinh bột (B), casein (C) và chitin (D) của chủng YMĐ 1

Ghi chú: ĐKVPG: đường kính vòng phân giải

3.3. Khảo sát khả năng sinh Siderophore, IAA và phân giải phosphate khó tan của chủng YMĐ 1

Siderophore là một trong các cơ chế kiểm soát sinh học của các chủng vi khuẩn kích thích sinh trưởng từ vùng rễ trong điều kiện thiếu sắt. Các vi sinh vật này tổng hợp nhiều Siderophore có ái lực rất mạnh với ions sắt trong môi trường, dẫn đến thiếu sắt trong môi trường và ức chế sự phát triển của nấm bệnh (Whipps, 2001). Chủng vi khuẩn YMĐ1 được cấy trên môi trường Chrome Azurol S (CAS) đặc và được ủ ở 37°C trong 48 giờ. Xung quanh khuẩn lạc xuất hiện vòng sáng màu vàng cam, chứng tỏ trong môi trường đã có siderophore. Trong nghiên cứu của Đỗ Thị Huỳnh Mai và Nguyễn Thị Liên (2018) cũng như của Hien và cộng tác viên (2017) các chủng vi khuẩn kháng nấm *N. dimidiatum* đều có khả năng sinh Siderophore.

IAA là phytohormone kích thích sinh trưởng thực vật. Nồng độ IAA thấp có thể kích thích kéo dài rễ, ngược lại nồng độ IAA cao kích thích hình thành các rễ bên và rễ bất định. Chủng YMĐ1 tổng hợp được 6,51 $\mu\text{g/ml}$ IAA khi được nuôi trong môi trường LB lỏng có bổ sung L-tryptophan. Các chủng vi sinh vật kích thích sinh trưởng thực vật ngoài khả năng đối kháng tác nhân gây bệnh, sinh tổng hợp nhiều loại enzyme, tổng hợp IAA còn có khả năng phân giải phosphate khó tan trong môi trường, đặc biệt trong đất để cung cấp phospho cho cây trồng. Trong thí nghiệm này, chủng vi khuẩn YMĐ1 khi được nuôi trong môi trường NBRIP lỏng đã giải phóng vào môi trường lượng PO_4^{3-} là 2,087 mg/ml.

3.4. Định danh chủng vi khuẩn YMĐ1

Chủng vi khuẩn YMĐ1 được gửi tới Công ty TNHH MTV Sinh hóa Phú Sa để tách chiết và giải trình tự 16S rRNA. Trình tự nucleotide của chủng YMĐ1 được so sánh với dữ liệu trên ngân hàng dữ

liệu của NCBI (National Center for Biotechnology Information). Kết quả chủng YMĐ1 có mức độ tương đồng 99% với chủng *Bacillus velezensis* (Hình 5).



Hình 5. Kết quả so sánh trình tự nucleotide 16S rRNA của chủng YMĐ 1 trên NCBI

IV. KẾT LUẬN

Từ các mẫu đất thu tại vùng rễ cây thanh long ở tỉnh Bắc Giang, Tiên Giang và Long An đã tuyển chọn được chủng YMĐ1 đối kháng mạnh với nấm *N.dimidiatum*, chủng này có khả năng sinh các enzyme cellulase, amylase, protease và chitinase. Chủng YMĐ1 có thể tăng tính kháng nấm bệnh bằng cách tổng hợp Siderophore, tổng hợp IAA, phân giải phosphate khó tan.

Kết quả so sánh trình tự nucleotide 16S rRNA của chủng YMĐ1 với các trình tự 16S rRNA trên ngân hàng dữ liệu NCBI cho thấy chủng vi khuẩn YMĐ1 có quan hệ chặt với chủng *Bacillus velezensis*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Thị Hồng, Phạm Đức Ngọc, 2017. Phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn từ vùng rễ cây trồng có khả năng kháng phổ rộng các nấm gây bệnh thực vật. *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học tự nhiên và Công nghệ*, tập 33, số 1S, 231-236.

Đỗ Thị Huỳnh Mai, 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*, tập 2 (1), 499-508.

Phạm Văn Ty, 2006. *Công nghệ sinh học - Công nghệ vi sinh và môi trường*. NXB Giáo dục, TP. HCM.

Dhanasekaran D., Thajuddin N., Panneerselvam A., 2012. Applications of Actinobacterial Fungicides in Agriculture and Medicine. *Fungicides for Plant and Animal Diseases*, pp. 1-27.

Hien, O. T. M., Huyen N. T. M., Anh, T. D., & 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*, Hanoi Pedagogical University 2, 49, 28-41.

Luong Huu Thanh, Nguyen Kieu Bang Tam, Vu Thuy Nga, Ha Thi Thuy, Tong Hai Van, Hua Thi Son, Nguyen Ngoc Quynh, Nguyen Thi Hang Nga, 2016. Study on the possibility of using microorganisms as biological agents to control fungal pathogens *Neoscytalidium dimidiatum* causing disease of brown spots on the dragon fruit. *J. Viet. Env*, Vol. 8, No. 1, pp. 41-44.

Maiti SK., 2004. Water and waste water analysis. In *Handbook of methods in environmental studies*. India: ABD Publishers.pp 139-141.

Patten, C.L. and Glick, B.R., 2002. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system, *Appl Environ Microbiol*, 68(8): 3795-3801.

Ramkumar, B.N., Nampoothiri, K.M, Sheeba, U., Jayachandran, P., Sreeshma, N.S, Sneha, S.M, Meenakumari, K.S and Sivaprasad, P., 2015. Exploring Western Ghats microbial diversity for antagonistic microorganisms against fungal phytopathogens of pepper and chickpea. *J. BioSci. Biotrchnol*, 4(2): 207-218.

Schwyn, B. and Neilands, J.B., 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores, *Analytical Biochemistry*, 160, 47-56.

Whipps, J. M., 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.*, 52: 487-511.

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 hồng 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 hồng. 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