

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abhilash B. and Sudharma K., 2003. Effect of pesticides on *Amblyseius longispinosus*, a predator of red spider mite *Tetranychus ludeni* Zacher. *Entomol* 28(2): 165-167.
2. Henderson R. C., 2001. Technique for positional slide-mounting of Acari. *Systematic & Applied Acarology Special Publications* 7: 1-4.
3. Mai Văn Hào, Hoàng Thị Mỹ Lệ và Nguyễn Việt Tùng, 2007. Ảnh hưởng của một số thuốc trừ nhện đỏ hại bông đến loài nhện nhỏ bắt mồi *Neoseiulus longispinosus* Evans (Mesostigmata, Phytoseiidae). *Tạp chí BTVTV* 5, trang 10 -14
4. Meyer M.K.P.S., 1981. Mite pest of crop in southern Africa. *Science Bulletin* N° 397, 92 pp.
5. Nguyễn Đức Tùng, 2009. Nghiên cứu đặc điểm sinh học và khả năng khống chế nhện hại chăm *Tetranychus urticae* Koch (Acarina - Tetranychidae) của nhện bắt mồi *Neoseiulus longispinosus* Evans (Acarina - Phytoseiidae). *Hội nghị khoa học toàn quốc về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật lần thứ 3*, 3: 1745-1750.
6. Nguyễn Thị Phương Thảo và Nguyễn Thị Hồng Vân, 2013. Nghiên cứu ảnh hưởng các ngưỡng nhiệt

độ khác nhau đến một số đặc điểm sinh học của loài bét bắt mồi *Amblyseius longispinosus* (Acar: Phytoseiidae). *Tạp chí sinh học* 2013, 35(2): 169-177

7. Nguyễn Văn Đình, Phạm Thị Hiếu, Phạm Văn Khánh, Nguyễn Đức Tùng, Lê Ngọc Anh và Hoàng Thị Kim Thoa, 2006. Khả năng phát triển quần thể của nhện bắt mồi *Amblyseius victoricensis* Womersley, một loài thiên địch quan trọng của nhện đỏ son *Tetranychus cinnabarinus* Koch và bộ trĩ *Thrips palmi* Karny. *Tạp chí KHK T Nông nghiệp*, Tập IV, Số 6: 3-10.
8. Nusartlert N.N., Vichitbandha P., Baker G.T. and Chandrapatya A., 2010. Pesticide-induced mortality and prey-dependent life history of the predatory mite *Neoseiulus longispinosus* (Acar: Phytoseiidae). *Trends in Acarology* pp 495-498
9. Schicha E and Corpuz-Raros L.A., 1992. *Phytoseiidae of the Philippines*. West Bloomfield, Michigan Indira Publishing House. 190 pp.
10. Shinkaji N. and Adachi T., 1978. The effect of certain pesticides on the predaceous mite *Amblyseius longispinosus* (Evans) (Acarina: Phytoseiidae) [in Japanese]. *Bull. Fruit Tree Res. Stn. Ser. E (Akitsu)* (2): 99-108.

Phân biên: TS. Lê Thị Kim Oanh

XÁC ĐỊNH CHỦ CHỦ CỦA NẤM *Neoscytalidium dimidiatum* (Penz.) Crous & Slippers GÂY BỆNH Đốm NẤU TRÊN CÂY THANH LONG

Determining Host of *Neoscytalidium dimidiatum* (Penz.) Crous & Slippers Fungus Causing Dragon Fruit Brown Spot Disease

Võ Thị Thu Oanh¹, Lê Đình Đôn¹ và Phan Thị Thu Hiền²

Ngày nhận bài: 12.7.2015

Ngày chấp nhận đăng: 24.8.2015

Abstract

Disease samples were collected on Gramineaceous plants (Poaceae), animal feed grass (*Parisetum purpurcum*), spreading dayflower (*Commelina diffusa*), waterhyacinth (*Eichhornia crassipes*), Acerola (*Malpighia glabra*), Candle-nut oil tree (*Aleurites moluccana*), ornamental cactus, and wild cactus in the vicinity of Dragon fruit plantations. These samples were isolated to identify the fungus *Neoscytalidium dimidiatum*. Experimental results indicated that there was no *Neoscytalidium dimidiatum* fungus from isolate samples, except sample from ornamental cactus, based on the morphologically comparable spots caused by *Neoscytalidium dimidiatum*.

1. Trường Đại Học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh;
2. Trung Tâm Kiểm Dịch Thực Vật Sau Nhập Khẩu II

agent causal of Dragon fruit brown spot with 100% frequency. Pathogenicity verification of the isolates from ornamental cactus was conducted by Koch's rules again at 10^7 spore dilution, and the methods of inoculations were made with and without injury initiation. The ornamental cactus samples appeared yielded whitish spots in 5 days inoculation, orange and brown spots in 10 – 15 days inoculation, and then rotting of dragon fruit branches after 30 days inoculation. Therefore, the ornamental cactus is the main host of fungus *Neoscytalidium dimidiatum*.

Keywords: *Neoscytalidium dimidiatum*, Brown spot disease, *Hylocereus undatus*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thanh long là loại cây ăn quả dễ trồng mang lại hiệu quả kinh tế cao hơn so với các loại cây trồng khác. Thanh long được trồng tập trung chủ yếu ở 3 tỉnh Bình Thuận, Long An và Tiền Giang với tổng diện tích gần 30.000 ha, trong đó chủ yếu ở Bình Thuận hơn 24.000 ha, Long An 3.200 ha, Tiền Giang 3.000 ha và rải rác ở một số tỉnh khác. Ngoài việc góp phần giải quyết việc làm và tạo thu nhập cho nông dân, thanh long còn góp phần khẳng định vị thế cho nông sản xuất khẩu của Việt Nam. Hiện nay, thanh long là loại trái cây xuất khẩu chủ lực của Việt Nam đang từng bước thâm nhập vào các thị trường khó tính như Mỹ, Nhật, Hàn Quốc.

Do nhu cầu phát triển của ngành trồng thanh long, diện tích trồng thanh long tăng nhanh chóng trong một thời gian ngắn và ngày càng được mở rộng. Cùng với việc tăng diện tích, đầu tư thâm canh cao mà không áp dụng các biện pháp quản lý dịch hại tổng hợp theo hướng bền vững đã tạo điều kiện cho nhiều loại sâu bệnh phát triển gây hại. Một số loại bệnh trước kia là thứ yếu, gây hại không nhiều như bệnh thán thư, bệnh vàng bẹ, râm cành, bệnh thối quả... nay trở thành đối tượng gây hại nghiêm trọng cần phải được phòng trừ thường xuyên. Từ năm 2009 đến nay, trên thanh long xuất hiện một loại bệnh mới gọi là bệnh đốm trắng, đốm nâu, đốm vàng, hay bệnh ghẻ, bệnh loét, bệnh tắc kè phát sinh gây hại nghiêm trọng và có xu hướng gia tăng cả về phân bố và mức độ gây hại. Đây là một bệnh hai mới nhưng gây rất nhiều khó khăn cho sản xuất thanh long vì cho đến nay mặc dù đã có

nhiều giải pháp được áp dụng để hạn chế bệnh nhưng do ảnh hưởng của nhiều nguyên nhân khách quan lẫn chủ quan, bệnh đốm nâu vẫn chưa thể kiểm soát được. Trong đó, chủ yếu là biện pháp hóa học, với rất nhiều loại thuốc đã được sử dụng, liều lượng cao gấp 5-7 lần so với khuyến cáo, phối hợp nhiều loại thuốc khác nhau, kể cả những loại hóa chất khác chưa được kiểm chứng. Trong khi đó, các biện pháp như vệ sinh vườn, tiêu hủy nguồn bệnh, sự lưu tồn và phát tán của nguồn bệnh chưa được quan tâm thực hiện một cách triệt để, từ đó dẫn đến hiệu quả phòng trị của thuốc hóa học không cao.

Do vậy, việc tìm hiểu các yếu tố ảnh hưởng đến sự phát sinh phát triển của bệnh như xác định phổ ký chủ của nấm gây bệnh đốm nâu trên cây thanh long từ những loại cây cỏ trong vườn hoặc xung quanh vườn thanh long để làm cơ sở đề xuất, khuyến cáo biện pháp phòng trừ hợp lý và đạt hiệu quả cao là rất cần thiết.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Các mẫu bệnh thu thập từ các loại cây cỏ trong vườn thanh long ở huyện Hàm Thuận Nam, Hàm Thuận Bắc và Bắc Bình (Bình Thuận) được đưa về phòng thí nghiệm của Trung Tâm Kiểm Dịch Thực vật Sau nhập khẩu II để tiến hành phân lập, xác định tác nhân (bảng 1). Tổng số mẫu phân lập 96 (mỗi loại thực vật 12 mẫu).

Cây thanh long cây mô; Môi trường phân lập: WA (agar, nước), PGA (potato, glucose, agar)

Bảng 1. Các loại cây trong vườn và xung quanh vườn thanh long

STT	Thành phần cây ký chủ	Tên khoa học
1	Cỏ họ hòa thảo	Poaceae
2	Cỏ rau trai	<i>Commelina diffusa</i>
3	Cỏ thức ăn gia súc	<i>Pennisetum purpurum</i>
4	Lục bình	<i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms
5	Sơ ri	<i>Malpighia glabra</i> L.
6	Cây dầu lai	<i>Aleurites moluccana</i>
7	Xương rồng cảnh	Cactaceae
8	Xương rồng đại	Cactaceae

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân lập nấm

Chọn vị trí có vết bệnh còn mới, rửa mẫu bệnh dưới vòi nước để loại bỏ đất và bụi bẩn. Khử trùng bề mặt trong dung dịch natri hypochlorite 1% khoảng 1 – 3 phút, rửa lại bằng nước cất vô trùng 3 – 4 lần. Đặt mẫu bệnh lên môi trường WA và để ngược đĩa petri ở điều kiện nhiệt độ phòng. Khi nấm phát triển, cắt khoanh nấm đường kính 4mm cấy chuyển sang môi trường PGA. Lưu nguồn nấm để sử dụng cho thí nghiệm tiếp theo.

Định danh tác nhân gây bệnh dựa trên các đặc điểm về hình thái, cấu trúc cơ quan sinh sản, hình dạng bào tử, đặc điểm tản nấm trên môi trường nuôi cấy theo mô tả của Chuang và ctv, 2012, Farr và ctv, 2005, Lan và He, 2012, Khan và ctv, 2009; Lacaz và ctv, 1999; Masratu và ctv, 2013; Yi và ctv, 2013, CABI (2007) và CABI (2013).

2.2.2. Chứng bệnh nhân tạo theo quy trình Koch's kiểm chứng tác nhân gây bệnh

Tác nhân sau khi phân lập được xác định về mặt hình thái là do nấm *Neoscytalidium dimidiatum* được nhân sinh khối trên môi trường PGA và chủng nhân tạo trở lại lên cành thanh long cây mô để kiểm chứng tác nhân gây bệnh theo quy trình Koch's. Thí nghiệm được tiến hành tại nhà lưới Bộ môn BVTV Trường Đại học Nông Lâm TP HCM.

Chuẩn bị cành thanh long sạch bệnh và giá thể giám canh

Vật liệu chủng bệnh: cành thanh long nuôi cấy mô.

Chuẩn bị giá thể để giám canh: trộn xơ dừa, tro trấu và đất với tỉ lệ 0,5: 0,5: 1. Dùng kéo cắt các đoạn cành dài 20 cm, gọt phần thịt có độ dài khoảng 2 cm ở góc cành để lại phần lõi, nhúng phần lõi vào dung dịch kích thích ra rễ khoảng 30 phút. Sau đó dựng cành vào hộp xốp đã có sẵn giá thể. Giữ hộp xốp ở nơi có bóng râm, tránh nắng và tưới nước để giữ ẩm. Sau 15 ngày, khi cành giám bắt đầu ra rễ, tiến hành chuyển cây sang chậu thí nghiệm.

Tạo nguồn nấm và dịch bào tử

Nguồn nấm *Neoscytalidium dimidiatum* được nuôi cấy trên môi trường PGA, sau 5 ngày tiến hành thu bào tử. Cho 10ml nước cất đã hấp vào mỗi đĩa nấm, dùng bông tăm đã khử trùng chà nhẹ trên bề mặt thạch cho bào tử rơi ra, lọc thu lấy dịch bào tử. Dùng pipette hút 20µl dịch bào tử và pha loãng đến nồng độ theo mục đích thí nghiệm.

2.2.3. Phương pháp chứng bệnh

Chứng bệnh theo 2 phương pháp: có tạo vết thương và không tạo vết thương. Nồng độ bào tử thí nghiệm 10^7 bào tử/ml. Mỗi cành gây vết thương tại 9 điểm, mỗi mặt của cành là 3 điểm. Phun dung dịch bào tử ướt đều cành thanh long đã tạo vết thương và không tạo vết thương, dùng túi nilon bao cành chủng lại để giữ ẩm. Tổng số cành thí nghiệm là 15. Sau 3 ngày bắt đầu quan sát bệnh qua các vết chủng và cách ngày quan sát một lần cho đến 30 ngày sau chủng.

$$\text{Các tiêu theo dõi} \quad \text{Tỷ lệ bệnh (\%)} = \frac{\text{Số cành bị bệnh}}{\text{Tổng số cành điều tra}} \times 100$$

3. KẾT QUẢ THẢO LUẬN

3.1. Xác định ký chủ của nấm *Neoscytalidium dimidiatum* từ các loại cây có xung quanh vườn thanh long

Kết quả thu thập, phân lập các mẫu bệnh từ các loại cây có trong vườn thanh long bị bệnh đốm nâu như cỏ ho hòa thảo, cỏ thực ăn gia súc, cỏ rau trai, lục bình, cây sơ ri, cây xương rồng cảnh và cây dầu lai (bảng 1) nhằm xác định ký chủ phụ của nấm *Neoscytalidium dimidiatum* để có cơ sở khuyến cáo phòng trừ

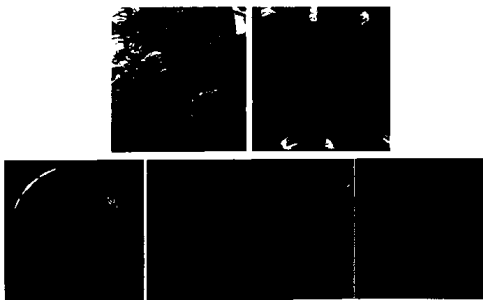
hợp lý. Kết quả cho thấy, các mẫu cây cỏ thu thập trong các vườn thanh long không có sự xuất hiện của nấm *Neoscytalidium dimidiatum*. Kết quả chỉ ghi nhận sự hiện diện của các nấm *Nigrospora* sp., *Alternaria* sp., *Botryodiplodia* sp., *Gladosporium* sp., *Nigrospora* sp., *Helminthosporium* sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani* và *Curvularia* sp. Trong đó, nấm *Fusarium*, *Botryodiplodia* và *Curvularia* sp. là những nấm có tần suất xuất hiện khá cao, từ 50,00 - 100 % (bảng 2).

Bảng 2. Thành phần và tần suất xuất hiện (%) của vi sinh vật gây bệnh trên các loại cây cỏ xung quanh vườn thanh long

STT	Thành phần nấm bệnh	Cây ký chủ	Tần suất xuất hiện (%)
1	<i>Nigrospora</i> sp.	Cỏ hòa thảo, cỏ thức ăn gia súc	20,83
2	<i>Helminthosporium</i> sp.	Cỏ hòa thảo, cỏ rau trai, Sơ ri	16,67
3	<i>Fusarium</i> sp.	Cỏ hòa thảo, cỏ thức ăn gia súc	50,00
4	<i>Curvularia</i> sp.	Cỏ hòa thảo, cỏ rau trai	75,00
6	<i>Alternaria</i> sp.	Cỏ hòa thảo	16,67
7	<i>Botryodiplodia</i> sp.	Dầu lai	50,00
8	<i>Cladosporium</i> sp.	Cỏ hòa thảo	16,67
9	<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	Xương rồng cảnh	100
10	<i>Rhizoctonia solani</i>	Lục bình	100
11	<i>Curvularia</i> sp.	Xương rồng đại	100

Trong các loại cây cỏ xung quanh vườn thanh long chỉ duy nhất có cây xương rồng cảnh, có triệu chứng bị đốm nâu giống như triệu chứng bệnh trên cây thanh long. Kết quả phân lập cho thấy tác nhân gây bệnh đốm nâu trên cây xương rồng cảnh là do nấm *Neoscytalidium dimidiatum*,

cùng tác nhân gây bệnh trên cây thanh long với tần suất xuất hiện 100% (hình 1). Kết quả nghiên cứu cũng chưa ghi nhận có sự hiện diện của nấm *Neoscytalidium dimidiatum* trên cây xương rồng đại gần vườn thanh long



Hình 1. Triệu chứng bệnh đốm nâu và tác nhân gây bệnh trên cây xương rồng
 A. Triệu chứng bệnh trên cây xương rồng; B. Tán nấm trên môi trường PGA;
 C. Bảo tử nấm *Neoscytalidium dimidiatum*

3.2. Kiểm chứng tác nhân gây bệnh sau phân lập theo qui trình Koch's

Kết quả bảng 3 cho thấy, 5 ngày sau khi

chúng nấm đã xuất hiện đốm bệnh màu trắng với tỷ lệ bệnh là 33,33% (không gây vết thương) và 66,67% (có gây vết thương). Đến 10 ngày sau

chúng, vết bệnh có màu cam với tỷ lệ bệnh ở cả hai phương pháp chủng là 77,78% và 100%, ở 15 ngày sau chủng, vết bệnh có màu nâu đỏ, tâm vết bệnh màu vàng cam. Ở 25 ngày sau chủng (có gây vết thương) và 30 ngày sau chủng (không gây vết thương) tất cả các cánh thì nghiêm đều bị thối do nhiều vết bệnh liên kết với nhau tạo thành mảng lớn sâu hoặc lõm lên (hình 2, hình 3). Điều này cho thấy, trong điều kiện có gây

vết thương quá trình gây thối cánh xảy ra nhanh hơn và kiểu chủng bệnh không ảnh hưởng đến khả năng gây bệnh của nấm *Neoscytalidium dimidiatum*. Như vậy, kết quả chủng bệnh từ mẫu nấm phân lập từ cây xương rồng kiểng cho thấy đây chính là cây ký chủ của nấm *Neoscytalidium dimidiatum* gây bệnh đốm nâu trên cây thanh long. Do vậy, cần phải lưu ý khi trồng những cây này xung quanh vườn thanh long.

Bảng 3. Tỷ lệ bệnh (%) do nấm *Neoscytalidium dimidiatum* gây ra trên cành thanh long khi chủng trong điều kiện không gây vết thương và có gây vết thương

STT	Kiểu chủng bệnh	Tỷ lệ bệnh (%)					
		5 NSC	10 NSC	15 NSC	20 NSC	25 NSC	30 NSC
1	Không gây vết thương	33,33	77,78	100	100	100	100
2	Có gây vết thương	66,67	77,78	100	100	100	100
3	Đối chứng	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Ghi chú NSC ngày sau chủng



Hình 2. Triệu chứng bệnh trong điều kiện chủng không gây vết thương

A. 5 ngày sau chủng; B. 15 ngày sau chủng; C. 25 ngày sau chủng; D. 30 ngày sau chủng



Hình 3. Triệu chứng bệnh trong điều kiện chủng có gây vết thương

A. 5 ngày sau chủng; B. 10 ngày sau chủng; C. 15 ngày sau chủng; D. 25 ngày sau chủng

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Kết quả phân lập mẫu bệnh từ các loại cây cổ xung quanh vườn thanh long có triệu chứng bệnh tương tự như bệnh đốm nâu nhưng không có sự xuất hiện của nấm *Neoscytalidium dimidiatum*, ngoại trừ cây xương rồng cảnh bị bệnh đốm nâu, cho kết quả phân lập là do nấm *Neoscytalidium dimidiatum* gây ra với tần suất xuất hiện là 100%. Kết quả kiểm chứng theo qui trình Koch's sau phân lập ở cả hai phương pháp chứng bệnh có gây vết thương và không gây vết thương cho thấy triệu chứng đốm bệnh có màu trắng, vết bệnh lõm xuất hiện ở 5 ngày sau khi chủng, ở 10 ngày sau chủng vết bệnh có màu cam và màu nâu ở 15 ngày sau chủng. Ở 30 ngày sau chủng, vết bệnh gây thối từng mảng giống như triệu chứng bệnh đốm nâu trên cây thanh long ở ngoài đồng. Do vậy có thể kết luận, cây xương rồng cảnh chính là ký chủ phụ của nấm *Neoscytalidium dimidiatum*. Chưa phát hiện nấm *Neoscytalidium dimidiatum* xuất hiện trên mẫu phân lập từ cây xương rồng dai.

4.2. Đề nghị

Tiếp tục thu thập thêm các loại cây trồng xung quanh vườn thanh long để xác định thêm phổ ký chủ của nấm *Neoscytalidium dimidiatum*. Cần chú ý không trồng loại cây xương rồng cảnh xung quanh hoặc gần các vườn thanh long để tránh nguồn bệnh tồn lưu và lây lan.

Lời cảm ơn

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Sở KH-CN tỉnh Bình Thuận đã tài trợ kinh phí cho chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chuang M. F., Ni H. F., Yang H. R., Shu S. L., and Lai S. Y., 2012. First Report of Stem Canker

Disease of Pitaya (*Hylocereus undatus* and *H. polyrhizus*) Caused by *Neoscytalidium dimidiatum* in Taiwan, *Plant disease* 96 (6):906.

2. Farr D. F., Elliott M., Rossman A. Y., Edmonds R. L., 2005. *Fusicoccum arbuti* causing cankers on pacific madrone in western North America with notes on *Fusicoccum dimidiatum*, the correct name for *Scytalidium dimidiatum* and *Nattrassia mangiferae*. *Mycologia*; 97(3):730 - 741.

3. Lan G. B., and He Z.-F., 2012. First Report of Brown Spot Disease Caused by *Neoscytalidium dimidiatum* on *Hylocereus undatus* in Guangdong, Chinese Mainland, *The American Phytopathological Society* 96 (11). 1.702.

4. Khan Z. U., Ahmad S., Joseph L., Chandy R., 2009. Cutaneous phaeoconchyliomycosis due to *Neoscytalidium dimidiatum*: first case report from Kuwait, *Journal of Medical Mycology*, Volume 19, Issue 2, Pages 138-142

5. Lacaz C. S., Pereira A. D., Heins-Vaccari E M., Cuce L. C., Benatti R. C., Nunes S., 1999. Onychomycosis caused by *Scytalidium dimidiatum* Report of two cases, Review of taxonomy of the synanamorph and anamorph forms of the coelomycete, *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*; 41. 319 - 323.

6. Masratu Hawa M., Salleh B. and Latiffah Z., 2013. Identification and molecular characterizations of *Neoscytalidium dimidiatum* causing stem canker of red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia, *Journal Phytopathol* 161 (11-12). 841-849.

7. Xavier A. P., Oliveira J. C., Ribeiro V. L., Souza M. A., 2010. Epidemiological aspects of patients with ungual and cutaneous lesions caused by *Scytalidium* spp. *An Bras Dermatol* 85:805-810.

8. Yi R.H., Gan L.J., Yan D.h., Wu Z.J., Tong Y.T. and Wu F.F., 2013. Identification and biological characteristics of *Neoscytalidium dimidiatum* causing pitaya canker disease, *Zhi Wu Bao Hu Xue Bao* 40 (2): 102-108.

Phản biện: GS.TS. Vũ Triệu Mân