

# KHẢO SÁT THÀNH PHẦN NẤM GÂY BỆNH THỐI TRÁI NHÂN TẠI TỈNH BÀ RỊA - VŨNG TÀU

Chu Trung Kiên<sup>1, 2</sup>, Lê Phước Thạnh<sup>2</sup>, Nguyễn Đắc Khoa<sup>2, \*</sup>

<sup>1</sup>Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Cần Thơ

\*Email: ndkhoa@ctu.edu.vn

## TÓM TẮT

Thành phần nấm gây bệnh thối trái trên 3 giống nhãn trồng tại tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu gồm: Xuồng com vàng, edor và tiêu da bò được khảo sát trong các vườn nhãn ở giai đoạn kinh doanh. Khi bệnh chớm xuất hiện, ở giai đoạn 12 - 16 ngày và 1 - 3 ngày trước khi thu hoạch, 90 mẫu trái bệnh được thu thập cho mỗi giống nhãn trồng tại 3 vườn. Các mẫu nấm bệnh được phân lập và thực hiện quy trình Koch để xác định mầm bệnh. Dựa vào hình thái nấm, 5 chi nấm được xác định tương ứng với 5 nhóm triệu chứng bệnh thối trái gồm: *Lasiodiplodia*, *Diaporthe*, *Calonectria*, *Pestalotiopsis* và *Fusarium*. Trong đó, thối nâu vỏ trái do chi *Lasiodiplodia* gây ra là triệu chứng phổ biến nhất trên cả 3 giống nhãn. Chi *Lasiodiplodia* là phổ biến nhất, chiếm 62,96% tổng số mẫu nấm phân lập. Mức độ phổ biến của các chi nấm gây bệnh thối trái nhãn còn lại lần lượt là *Diaporthe* 26,30%, *Calonectria* 18,52%, *Pestalotiopsis* 4,81% và *Fusarium* 1,85%. Đây là nghiên cứu đầu tiên về thành phần nấm gây bệnh thối trái nhãn trong giai đoạn trước khi thu hoạch tại Việt Nam, trong đó chi *Calonectria* lần đầu được ghi nhận là tác nhân gây bệnh.

**Từ khóa:** Edor, *Lasiodiplodia*, nhãn, thối trái, tiêu da bò, xuồng com vàng.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thối trái nhãn là bệnh hại phổ biến nhất ở Thái Lan, Trung Quốc, quốc đảo Puerto-Rico (Hoa Kỳ) và là trở ngại lớn nhất đối với việc xuất khẩu trái nhãn tươi của Thái Lan [1]. Ở Việt Nam, bệnh thối trái được đánh giá là bệnh hại quan trọng thứ 2 trên cây nhãn ở các tỉnh phía Nam, sau bệnh chổi rồng. Mặc dù vậy, các số liệu thống kê về diện tích và năng suất nhãn bị thiệt hại do bệnh này gây ra ở trong và ngoài nước cho đến nay còn chưa được nghiên cứu cụ thể.

Nguyên nhân gây bệnh thối trái nhãn ở giai đoạn trước thu hoạch tại Thái Lan trước đây được ghi nhận là do *Phytophthora* spp.. Sau đó, 7 chi nấm khác gây bệnh thối cuống và thối trái nhãn tại quốc gia này cũng được xác định. Phổ biến hơn cả là các chi *Lasiodiplodia*, *Pestalotiopsis*, *Diaporthe*, *Fusarium*. Trong đó, chi *Lasiodiplodia* được đánh giá là nguyên nhân gây thối nhãn chính [2].

Ở nước ta, *P. palmivora* và *Colletotrichum gloeosporioides* được ghi nhận có liên quan đến

bệnh thối trái nhãn ở các tỉnh phía Nam trước năm 2003. Trong khi đó, loài *C. fructicola* gần đây được đề cập là nguyên nhân gây thối trái nhãn tại tỉnh Tây Ninh [3]. Nghiên cứu này cung cấp những thông tin cơ bản về các chi nấm mới gây bệnh thối trái nhãn tại tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu và các triệu chứng bệnh tương ứng làm tiền đề cho việc nghiên cứu các giải pháp quản lý bệnh hiệu quả.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

#### 2.1.1. Giống nhãn

Nhãn xuồng com vàng tại huyện Đất Đỏ, nhãn edor và tiêu da bò tại huyện Xuyên Mộc ở thời kỳ kinh doanh, 6 – 10 năm tuổi.

#### 2.1.2. Vật liệu nghiên cứu

Tủ ủ FOC 120E (Italia), tủ cấy sinh học cấp II (Vương quốc Anh), kính hiển vi Olympus BX41 (Nhật Bản), PDA M096 Himedia (Ấn Độ), đĩa petri 9 cm (Đức).

## **2.2. Phương pháp nghiên cứu**

### **2.2.1. Thu thập mẫu bệnh**

Áp dụng phù hợp TCVN 13268-4:2021 về phương pháp điều tra sinh vật gây hại trên cây ăn trái thân gỗ [4]. Chọn khu vực trồng nhãn có diện tích tối thiểu 5 ha/giống, mỗi giống chọn ngẫu nhiên 3 vườn ở độ tuổi kinh doanh, mỗi vườn thu 30 mẫu trái bệnh của 10 cây điều tra phân bố đều theo 2 đường chéo góc. Các trái bệnh được thu thập ở 3 thời điểm (bệnh mới xuất hiện, 12 - 16 và 1 - 3 ngày trước thu hoạch). Mẫu trái thu thập có đốm nâu hoặc nâu sẫm không úng nước, thường bao quanh cuống trái, hoặc ở một bên trái, có khi gần cuống trái. Vỏ còn nguyên vẹn, đôi khi bị nứt xuất phát từ đốm bệnh hoặc vết bệnh ở giữa vết nứt. Các vết bệnh trên mẫu trái thường mới xuất hiện hoặc chiếm dưới 30% diện tích bề mặt trái. Ghi nhận hình ảnh mẫu trước khi thu thập.

### **2.2.2. Bảo quản và lưu trữ**

Mỗi mẫu trái bệnh được bọc kín trong một miếng giấy kraft khô tiệt trùng trước khi cho vào túi ziplock sạch, bịt kín miệng, dán nhãn thông tin mẫu (chủ vườn, giống nhãn, năm trồng và địa điểm) trước khi bảo quản trong thùng xốp kín, sạch với 1 lớp đá khô bao phủ ở mặt dưới và trên túi mẫu. Các mẫu trái được phân lập ngay trong ngày thu mẫu hoặc lưu trữ trong tủ mát ở nhiệt độ 4°C trước khi phân lập, nhưng không quá 2 ngày sau khi thu mẫu [5].

### **2.2.3. Phân lập tác nhân gây bệnh**

Mẫu trái bệnh được rửa sạch dưới vòi nước chảy trước khi các miếng mẫu bệnh có kích thước 2 - 3 x 2 - 3 mm ở vùng tiếp giáp giữa mô khỏe và mô bệnh được cắt ra và được tiệt trùng bằng cồn 70% trong 1 phút [5]. Sau đó, loại bỏ cồn trên các miếng mẫu bằng nước cất tiệt trùng trước khi cấy trên đĩa môi trường PDA đặc nguội đã được chuẩn bị và duy trì ở nhiệt độ  $28 \pm 3^\circ\text{C}$ . Các bước thực hiện từ cắt miếng mẫu bệnh đến hoàn thành việc cấy mẫu được thực hiện trong tủ cấy sinh học cấp II.

### **2.2.4. Phân nhóm chi nấm bệnh và triệu chứng**

Hệ sợi nấm phát sinh từ các miếng mẫu bệnh được xếp theo nhóm sơ bộ dựa trên sự tương đồng về tốc độ phát triển và hình thái hệ sợi. Các mẫu

nấm tương đồng được xếp thành các nhóm riêng và cấy truyền, làm thuần. Mỗi nhóm cấy truyền từ 2 - 5 mẫu trên môi trường PDA (phụ thuộc vào sự hiện diện của nhóm) và được duy trì ở nhiệt độ  $28 \pm 3^\circ\text{C}$ . Quan sát, ghi nhận các đặc điểm hình thái và sự phát triển của hệ sợi các nhóm nấm trước khi định danh hình thái bào tử để nhóm chi chính thức theo từng giống nhãn thu thập.

### **2.2.5. Định danh hình thái chi nấm**

Chi *Fusarium*, *Pestalotiopsis*, *Diaporthe*, *Calonectria* và *Lasiodiplodia* tương ứng được định danh hình thái [6 - 10].

### **2.2.6. Kiểm chứng tác nhân gây bệnh thoái trái nhãn theo quy trình Koch**

Mỗi chi nấm đại diện cho mỗi nhóm triệu chứng đã được xác định ở trên được tái lây nhiễm trên trái nhãn xuống com vàng, edor để kiểm chứng theo quy trình Koch với các bước như sau:

Chuẩn bị hộp đựng trái nhãn: Các trái nhãn khỏe ở thời điểm 1 ngày trước thu hoạch có tương đồng về kích thước, màu sắc được rửa sạch dưới vòi nước chảy trước khi loại bỏ cuống trái. Sau đó, ngâm các trái nhãn này bằng cồn 70% trong 1 phút trước khi chuyển sang ngâm với dung dịch NaClO 1,5% trong 2 phút để loại bỏ nguồn nấm nội sinh (nếu có). Các trái nhãn được rửa sạch oxy già bằng nước cất tiệt trùng và chuyển sang 5 hộp bằng nhựa đã được tiệt trùng có kích thước 20 x 15 x 10 cm, tương ứng với 5 chi nấm. Mỗi hộp được đặt trong 1 khay nhựa có các khung để cố định trái nhãn trước khi đặt 10 trái nhãn thành cặp đối diện theo chiều dọc ở 2 bên cạnh hộp [1]. Các bước thực hiện từ khử trùng trái đến chuẩn bị hộp nhãn được thực hiện trong tủ cấy sinh học cấp II với sự hỗ trợ của quạt đối lưu.

Chuẩn bị dung dịch bào tử: Nguồn bào tử *Pestalotiopsis*, *Diaporthe* và *Lasiodiplodia* với mật số khoảng  $1,1 - 1,5 \times 10^4$  bào tử/mL được chuẩn bị từ các quả thể ở thời điểm 20 - 21 ngày sau khi cấy truyền nguồn nấm thuần trên môi trường PDA. Nguồn bào tử *Fusarium* và *Calonectria* với mật số tương ứng  $1,3 \times 10^6$  bào tử/mL và  $1,2 \times 10^3$  bào tử/mL được chuẩn bị từ đĩa nấm thuần ở thời điểm 14 ngày sau cấy trên môi trường PDA. Các dung dịch bào tử được lọc qua 2 hoặc 3 lớp vải không dệt tiệt trùng để loại bỏ phần tạp sợi và vỏ quả thể

của nấm. Sau đó thêm Tween 80 để được dung dịch bào tử 1% Tween 80 và xác định mật số bằng buồng đếm hồng cầu Neubauer (Đức).

Nhiễm nấm trên vỏ trái nhãn: Mỗi trái nhãn được nhỏ 100  $\mu$ L vào hốc cuống trái (*Lasiodiplodia*) hoặc mặt bên của trái (*Pestalotiopsis*, *Diaporthe*, *Fusarium* và *Calonectria*). Sau đó, để 2 miếng bông gòn tiết trùng bảo hoà nước được đặt tại điểm giữa ở 2 đầu hộp theo chiều rộng. Một máy đo ẩm độ điện tử mini cũng được đặt trong hộp trước khi đóng kín nắp để theo dõi ẩm độ. Các hộp nhãn sau nhiễm nấm được duy trì ở nhiệt độ  $28 \pm 3^\circ\text{C}$  và ẩm độ  $92 \pm 2\%$  cho đến khi tái phân lập nguồn bệnh.

#### 2.2.7. Mô tả triệu chứng và tái định danh hình thái chi nấm

Mô tả triệu chứng vết bệnh: Vết bệnh trên trái nhãn đã nhiễm với *Lasiodiplodia* được mô tả ở thời điểm 48 và 60 giờ sau nhiễm. Các vết bệnh nhiễm với các chi nấm khác được mô tả ở thời điểm khoảng 2 - 5 ngày sau nhiễm. Sau đó, việc tái phân lập và định danh chi nấm được thực hiện tương tự như ở phần mẫu trái bệnh thu thập trên vườn nhãn.

#### 2.2.8. Các chỉ tiêu ghi nhận

Triệu chứng bệnh, thành phần chi và tần suất xuất hiện (%) của chi nấm gây bệnh thối trái nhãn từ các mẫu thu thập trên thực địa cũng như triệu

chứng vết bệnh và hình thái chi nấm từ mẫu ở quy trình Koch.

### 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Phân nhóm triệu chứng bệnh thối trái nhãn và tác nhân

Kết quả định danh hình thái bào tử nấm đã xác định được 5 chi nấm có ở 270 mẫu trái bệnh của 3 giống nhãn (90 mẫu/giống) tương ứng với 5 nhóm triệu chứng.

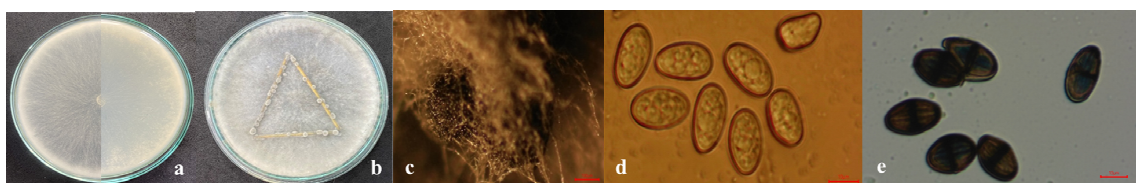
Nhóm 1: Triệu chứng thối nâu vỏ trái nhãn do chi *Lasiodiplodia* gây ra

Triệu chứng thối nâu vỏ trái rất phổ biến trên các vườn nhãn tại tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu. Bệnh bắt đầu xuất hiện khi trái nhãn bước vào giai đoạn chín sinh lý đến kết thúc thu hoạch. Triệu chứng bệnh điển hình là vỏ trái bị hóa nâu và bắt đầu từ cuống xuống phía đỉnh (Hình 1d - f). Sau đó, vết bệnh lan rất nhanh ra toàn bộ trái trong khoảng 2 ngày sau khi triệu chứng xuất hiện (Hình 1a - c). Triệu chứng hóa nâu vỏ cũng xảy ra ở mặt bên trái (Hình 1h) hoặc ở một bên cuống trái (Hình 1g và 1i), hoặc do nứt trái tự nhiên (Hình 1k - l). Vết bệnh hình thành từ vết thương gây ra bởi ruồi *Bactrocera dosalis* (Hình 1i) hoặc vỏ trái bị nứt từ cuống sau khi vết bệnh xuất hiện (Hình 1m) thường có màu nâu đen, úng nước do phần thịt trái bị ấu trùng *Bactrocera dosalis* phân hủy hoặc do mưa ẩm. Các triệu chứng thối nâu vỏ trái này rất tương đồng trên các giống nhãn điều tra.



Hình 1. Các triệu chứng bệnh thối nâu vỏ trái nhãn do *Lasiodiplodia* gây ra tại tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu

Ghi chú: Các triệu chứng bệnh thối nâu vỏ trái (a - c) và triệu chứng điển hình (d - f) trên giống xoài vàng, edor và tiêu da bò tương ứng. Hình g - i, j - l và m là các triệu chứng bệnh có liên quan đến sự kết hợp của tác nhân gây bệnh khác hoặc sự tổn thương của vỏ trái nhãn.

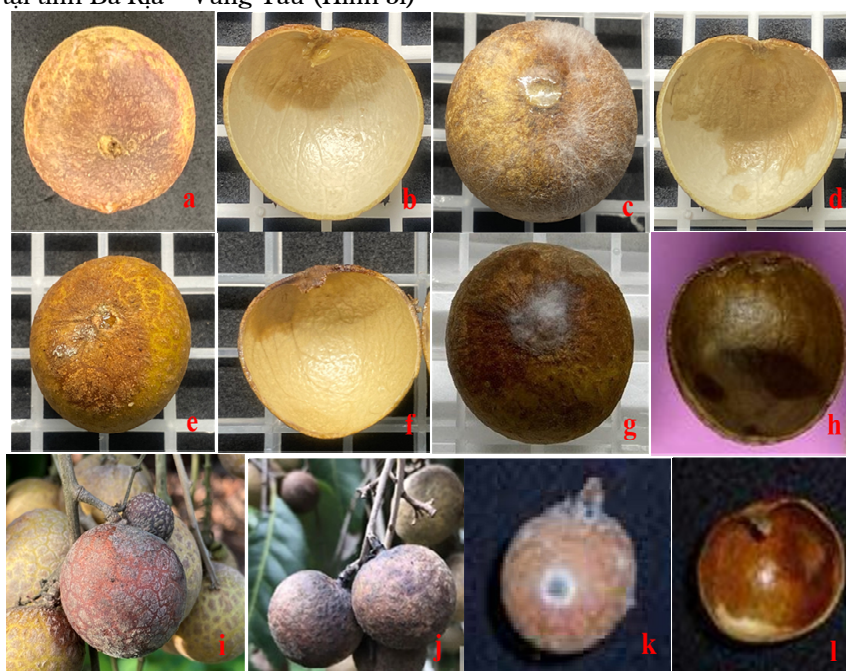


**Hình 2. Đặc điểm hình thái chính của nấm *Lasiodiplodia* trên môi trường PDA**

*Ghi chú: Hình a là hệ sợi nấm ở mặt trước và sau trên PDA tại thời điểm 2 ngày sau cấy. Hình b là các quả thể hình thành sau cấy nấm 10 ngày. Hình c – e lần lượt là quả thể già, bào tử non và trưởng thành ở 21 ngày sau cấy. Thước ở hình c là 100 μm, d và e là 10 μm.*

Triệu chứng bệnh thối nâu vỏ trái nhãn do *Lasiodiplodia* gây ra khi nguồn bệnh được tái nhiễm theo quy trình Koch (Hình 3c, 3d, 3g, 3h) cũng rất tương đồng với triệu chứng bệnh điển hình ghi nhận được trên vườn (Hình 3a, 3b, 3e, 3f). Kết quả tái phân lập và định danh hình thái các mẫu bệnh theo quy trình Koch cũng cho thấy, những đặc điểm tương tự với nguồn bệnh ban đầu. Kết quả này tương đồng với triệu chứng thối nâu vỏ trái nhãn edor do *L. theobromae* gây ra [1] (Hình 3k và 3l). Hơn nữa, triệu chứng bệnh thối trái nhãn edor tại tỉnh Bà Rịa – Vũng Tàu (Hình 3i)

cũng tương tự như triệu chứng thối trái nhãn edor ở Thái Lan do *L. pseudothebromae* gây ra trên vườn [11] (Hình 3j). Bằng kết quả định danh hình thái và kỹ thuật sinh học phân tử, đã xác định các loài *Lasiodiplodia* spp. là nguyên nhân gây ra bệnh thối nâu vỏ trái nhãn edor tại Thái Lan. Những tương đồng về triệu chứng và hình thái bào tử nấm gây bệnh thối nâu vỏ trái nhãn ở Thái Lan là những minh chứng xác thực để kết luận rằng, *Lasiodiplodia* chính là tác nhân gây ra bệnh thối nâu vỏ trái nhãn ở tỉnh Bà Rịa – Vũng Tàu.



**Hình 3. Triệu chứng điển hình của bệnh thối nâu vỏ trái nhãn do nấm *Lasiodiplodia* gây ra**

*Ghi chú: Hình a, b, e, f tương ứng là triệu chứng bệnh trên trái nhãn xuống com vàng và edor tại tỉnh Bà Rịa – Vũng Tàu ở thời điểm 1 ngày sau xuất hiện. Hình c, d và g, h tương ứng là triệu chứng bệnh trên trái nhãn xuống ở 48 giờ và edor ở 60 giờ sau nhiễm nấm theo quy trình Koch. Hình i và j là bệnh thối nâu vỏ trái nhãn edor tại tỉnh Bà Rịa – Vũng Tàu và Thái Lan [11]. Hình k và l là triệu chứng bệnh theo quy trình Koch của Suwanakood và cs (2007) [1] ở 48 giờ sau nhiễm nấm *L. theobromae*.*



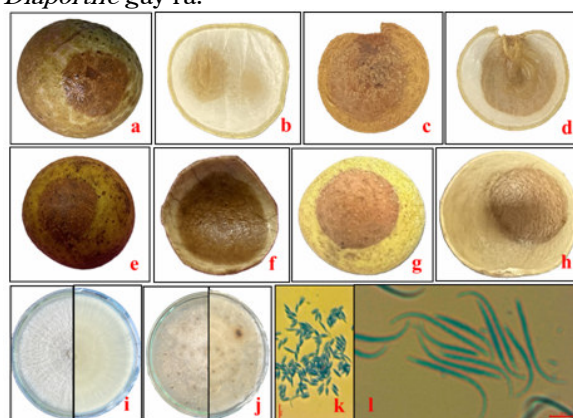
Nhóm 2: Triệu chứng bệnh thối vỏ trái nhãn do chi *Diaporthe* gây ra

Triệu chứng thối vỏ trái nhãn là phổ biến thứ 2, điển hình là các đốm tròn được hình thành chủ yếu ở mặt bên của trái, màu nâu đến nâu sẫm và khá tương đồng về hình thái ở cả 2 mặt vỏ. Rìa vết bệnh mịn, phân biệt với phần mô khỏe ở cả hai mặt vỏ trái trên cả giống nhãn xoàng cơm vàng (Hình 4a và 4b) và nhãn edor (Hình 4e và 4f). Ngoài ra, sự phát triển của vết bệnh này cũng khá chậm, đó là những khác biệt khá rõ ràng so với vết bệnh của *Lasiodiplodia* với cùng khởi điểm. Triệu chứng bệnh hình thành trên trái nhãn xoàng cơm vàng (Hình 4c và 4d) và edor (Hình 4g và 4h) theo quy trình Koch cũng khá tương đồng với triệu chứng trên trái nhãn của cùng giống đã thu thập trên vườn.

Trên môi trường PDA, tản nấm phát triển thành các quầng ở cả hai mặt thạch, màu xám, dày, xốp và mịn. Hệ khuẩn ty phát triển phủ kín mặt thạch có đường kính 90 mm ở thời điểm 10 ngày sau cấy ở nhiệt độ  $28 \pm 3^\circ\text{C}$  (Hình 4i). Các quả thể già màu nâu đen, hình thành khá nhiều và mọc gần như chìm dưới mặt thạch (Hình 4j). Những đặc điểm này cho thấy, sự khác biệt rất rõ ràng với hệ sợi của *Lasiodiplodia* trong cùng điều kiện nuôi cấy. Nhưng lại rất tương đồng với những đặc điểm hình thái tản nấm của chi *Diaporthe* gây thối trái trên cây bòn bon ở Thái Lan [12].

Ở hình thức sinh sản vô tính, cả hai dạng bào tử alpha và beta cùng hiện diện. Bào tử alpha có hình thoi, màu trong suốt, chiều dài và rộng từ  $7,90 - 8,16 \mu\text{m}$  và  $2,0 - 2,3 \mu\text{m}$  (Hình 4k). Bào tử beta có dạng hình sợi, trong suốt, kích thước dài và rộng là  $20,73 - 22,57 \mu\text{m} \times 1,16 - 1,57 \mu\text{m}$  (Hình 4l). Những đặc điểm hình thái nấm bệnh được tái phân lập từ các mẫu bệnh theo quy trình Koch cũng cho thấy những đặc điểm tương tự với nguồn bệnh ban đầu. Các kết quả này rất tương đồng với chi *Diaporthe* gây bệnh thối trái me, ổi và bòn bon ở Thái Lan [12], gây bệnh trên cây rừng tại Trung Quốc [8]. *Diaporthe* cũng đã được báo cáo là một trong nhiều tác nhân thứ yếu gây ra triệu chứng thối trái nhãn tại Thái Lan, nhưng triệu chứng bệnh và hình thái nấm không được mô tả [1]. Cho đến nay, sự xuất hiện và gây hại trên trái nhãn của

chi *Diaporthe* được ghi nhận trên thế giới còn rất hạn chế, trong khi những nghiên cứu tương tự ở trong nước còn chưa được công bố. Điều này cho thấy, sự gây hại ít phổ biến của chi nấm này trên trái nhãn trước thu hoạch ở trên thế giới. Tuy nhiên, sự tương đồng về hình thái bào tử của nguồn bệnh thối trái nhãn tại tỉnh Bà Rịa – Vũng Tàu với chi *Diaporthe* gây bệnh thối trái trên các cây ăn trái khác và cây rừng ở các nước lân cận đã xác nhận triệu chứng bệnh ở nhóm 2 là do chi *Diaporthe* gây ra.



Hình 4. Triệu chứng bệnh thối trái nhãn do *Diaporthe* gây ra

Ghi chú: Hình a, b và e, f tương ứng là triệu chứng bệnh trên trái nhãn xoàng cơm vàng và edor trên vườn ở thời điểm 2 ngày sau xuất hiện. Hình c, d và g, h là triệu chứng bệnh theo quy trình Koch ở thời điểm 60 giờ sau nhiễm nấm. Hình i và j là tản nấm trên PDA ở mặt trước và sau tại thời điểm 10 và 20 ngày sau cấy. Hình k và l là bào tử alpha và beta. Thước ở hình k và l là  $10 \mu\text{m}$ .

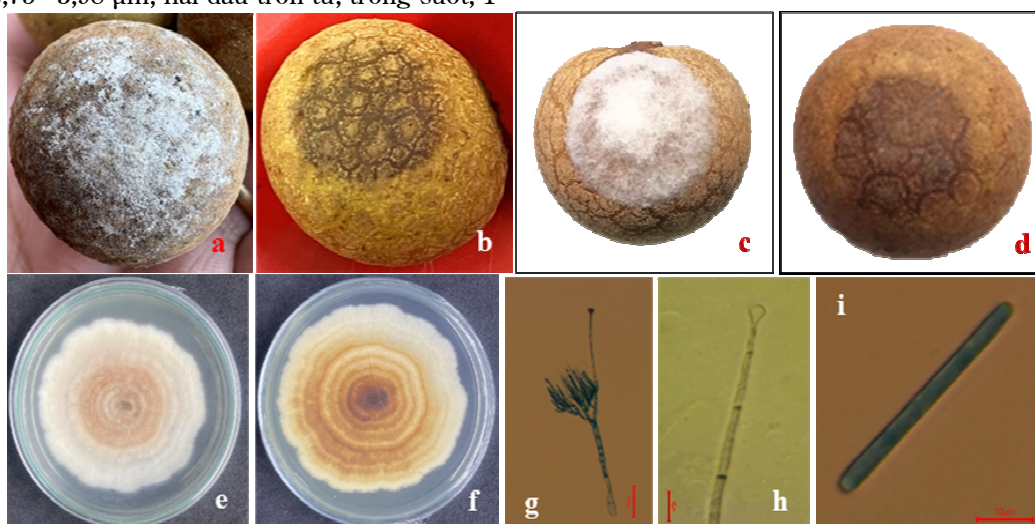
Nhóm 3: Triệu chứng thối vỏ trái nhãn do chi *Calonectria* gây ra

Triệu chứng này xuất hiện trên cây nhãn edor ở huyện Xuyên Mộc. Vết bệnh có hình tròn, màu nâu đen, rìa vết bệnh gồ ghề (Hình 5b) và thường có các sợi nấm bao phủ lên vết bệnh khi gặp điều kiện ẩm độ cao liên tục trong 3 – 5 ngày (Hình 5a), là những đặc điểm cơ bản để phân biệt với triệu chứng bệnh ở nhóm 2. Vết bệnh được hình thành trên trái nhãn edor theo quy trình Koch (Hình 5c - d) cũng tương tự như ở điều kiện ngoài vườn. Ngoài ra, những đặc điểm hình thái hệ sợi của nguồn bệnh này trên cùng môi trường PDA cũng cho thấy, sự khác biệt rất rõ ràng giữa 2 nhóm này.

Ở nhóm 3, nguồn bệnh đặc trưng bởi tản nấm ở mặt trên thạch mọc rất dày, bông, màu kem ở phần đỉnh sợi và màu nâu sẫm ở phần gốc sợi, mặt dưới thạch có màu rỉ sắt rất đặc trưng. Các sợi nấm phát triển theo các vòng tròn đồng tâm với phần tâm đĩa thạch có màu nâu sẫm giảm dần đến màu kem theo hướng từ tâm ra ngoài. Ở mặt dưới thạch có màu nâu sẫm hơn ở mặt trên. Tốc độ phát triển hệ sợi của nhóm này cũng chậm hơn so với nhóm 2, với 12 ngày để phủ kín mặt thạch (Hình 5e – f).

Ở dạng sinh sản vô tính, đại bào tử và tiểu bào tử sinh ra trên cùng một cành bào tử phân sinh. Sau đó, phân nhánh thành cuống cành đại bào tử với các cụm thể bình dạng thùng hoặc quả thận. Các đại bào tử sinh ra từ cụm thể bình. Tiểu bào tử sinh ra từ đỉnh của đơn cành bào tử xuất phát từ điểm phân nhánh với cụm cành đại bào tử (Hình 5g). Đại bào tử hình trụ, dài 31,87 - 47,51  $\mu\text{m}$  và rộng 2,75 - 3,98  $\mu\text{m}$ , hai đầu tròn tù, trong suốt, 1 -

3 vách ngăn (Hình i). Tiểu bào tử hình elip, trong suốt, không có vách ngăn (Hình 5h). Những đặc điểm hình thái nấm bệnh được tái phân lập từ các mẫu bệnh theo quy trình Koch cũng cho thấy những đặc điểm tương tự với nguồn bệnh ban đầu. Những đặc điểm hình thái của các mẫu nấm này rất tương đồng với chi *Calonectria* gây bệnh thối trái chôm chôm ở Puerto-Rico [13], trên cây lâm sinh ở Việt Nam, Indonesia [14] và Trung Quốc [8] đã được mô tả hình thái và xác nhận bằng kỹ thuật sinh học phân tử. Mặc dù, sự hiện diện và gây hại của chi *Calonectria* trên trái nhãn trên thế giới và trong nước cho đến nay còn chưa được nghiên cứu, nhưng sự tương đồng về hình thái giữa chi *Calonectria* đã được ghi nhận ở trong và ngoài nước với tác nhân gây bệnh thối trái nhãn tại tỉnh Bà Rịa – Vũng Tàu đã xác nhận nấm này là nguồn bệnh thối nâu đen trái nhãn ở nhóm 3.



**Hình 5. Triệu chứng bệnh thối nâu đen trái nhãn edor do *Calonectria* gây ra**

*Ghi chú: Hình a và b tương ứng là hệ sợi nấm bao phủ trên vết bệnh ở 5 ngày và vết bệnh ở 3 ngày sau khi triệu chứng xuất hiện. Hình c và d tương ứng là triệu chứng theo quy trình Koch ở 120 và 72 giờ sau nhiễm Calonectria. Hình e và f là hệ sợi nấm trên PDA ở mặt trước và sau tại thời điểm 9 ngày sau cấy. Hình g là cành bào tử vô tính. Hình h là cành và tiểu bào tử. Hình i là đại bào tử. Thước ở hình g, h, i là 10  $\mu\text{m}$ .*

Nhóm 4: Triệu chứng bệnh thối vỏ trái nhãn do chi *Pestalotiopsis* gây ra

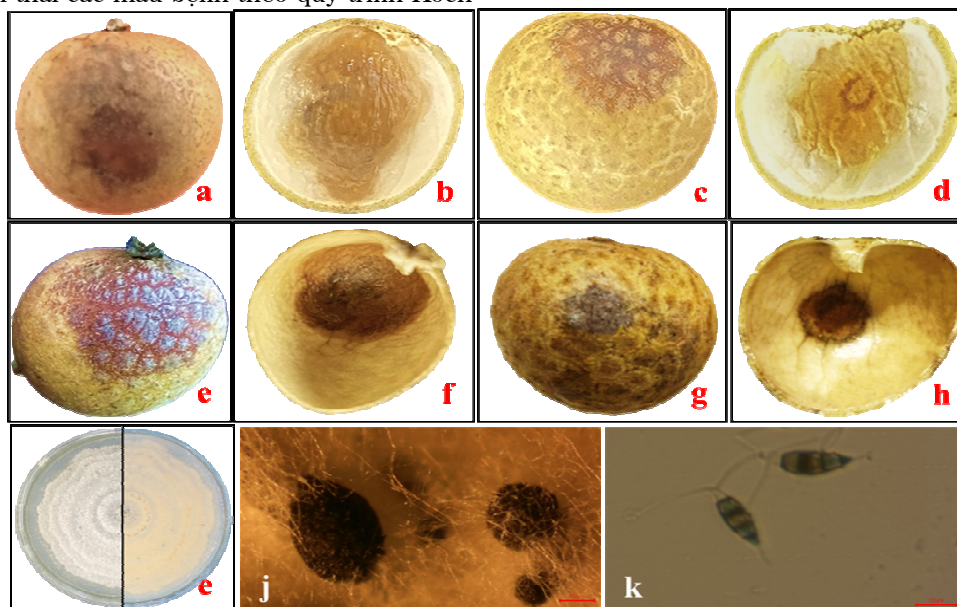
Các triệu chứng thối trái nhãn ở nhóm 4 rất ít phổ biến và thường phát triển từ vùng cuống hoặc phía bên trái, vết bệnh có màu nâu đến nâu sẫm ở cả 2 mặt vỏ trái trên cả giống nhãn xoàng com

vàng (Hình 6a – b) và edor (6e – f). Vết bệnh hình thành khi tái nhiễm nguồn bệnh theo quy trình Koch (Hình 6 c – d và 6 g – h) cũng tương tự như vết bệnh ghi nhận trên vườn của cùng giống tương ứng. Không giống như triệu chứng bệnh của 3 nhóm trước đó, tốc độ phát triển của vết bệnh ở

nhóm 4 rất chậm so với nhóm 1 và chậm hơn so với nhóm 2, rìa vết bệnh cũng không mịn và phân biệt rõ ràng như ở nhóm 2. Hơn nữa, vết bệnh cũng không tròn điển hình như nhóm 2 và nhóm 3.

Hệ sợi nhóm 4 có đặc trưng bởi các quảng nhấp nhô liên tục trên mặt thạch PDA như những cánh hoa cúc. Hệ sợi màu trắng xám, mọc bông và mịn, rìa tản nấm hình răng cưa (hình 6e). Các quả thể trưởng thành có màu đen đậm (hình 6j). Bào tử có 4 vách ngăn, dạng hình thoi, hơi thắt lại chỗ vách ngăn, rộng ở giữa và thuôn nhọn ở hai đầu, thẳng hoặc hơi cong. Bào tử có chiều dài và rộng từ 19,04 - 23,66  $\mu\text{m}$  x 5,10 - 7,90  $\mu\text{m}$ . Đỉnh và đế bào tử có màu trong suốt, 3 ngăn lớn ở giữa bào tử có màu nâu đến nâu đen. Phần đỉnh bào tử có 2 - 3 lông gai (Hình 6k). Kết quả tái phân lập và định danh hình thái các mẫu bệnh theo quy trình Koch

cũng cho thấy những đặc điểm tương tự với nguồn bệnh ban đầu. Những đặc điểm hình thái này rất tương đồng với chi *Pestalotiopsis* gây bệnh thối trái chôm chôm ở đồng bằng sông Cửu Long [15], thối trái mận *S. samarangense* tại Thái Lan [7]. *Pestalotiopsis* cũng được xác nhận là nguyên nhân gây ra triệu chứng thối nâu trên trái nhãn ở Thái Lan [2]. Ở nước ta, sự gây hại của *Pestalotiopsis* trên trái nhãn đến nay chưa được đề cập. Gần đây, bệnh thối trái chôm chôm do *Pestalotiopsis* gây ra ở phía Nam nước ta cũng đã được ghi nhận. Do đó, sự tương đồng về hình thái cũng như khả năng gây bệnh thối trái trên nhiều cây trồng khác được ghi nhận ở trong và ngoài nước đã xác nhận nguồn bệnh gây thối trái nhãn ở nhóm 4 là chi *Pestalotiopsis*.



**Hình 6. Triệu chứng bệnh thối trái nhãn xoàng com vàng và odor do *Pestalotiopsis* gây ra**

*Ghi chú: Hình a, b và e, f tương ứng là triệu chứng bệnh trên trái nhãn xoàng và odor tại tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu ở thời điểm 4 ngày sau khi xuất hiện. Hình c, d và g, h tương ứng là triệu chứng bệnh theo quy trình Koch ở thời điểm 72 và 48 giờ sau khi nhiễm bào tử nấm. Hình e là hệ sợi nấm trên PDA ở mặt trước và sau tại thời điểm 10 ngày sau cấy. Hình j và k là quả thể và bào tử ở thời điểm 15 ngày sau cấy. Thước ở hình j là 100  $\mu\text{m}$  và k là 10  $\mu\text{m}$ .*

Nhóm 5: Triệu chứng bệnh thối vỏ trái nhãn do chi *Fusarium* gây ra

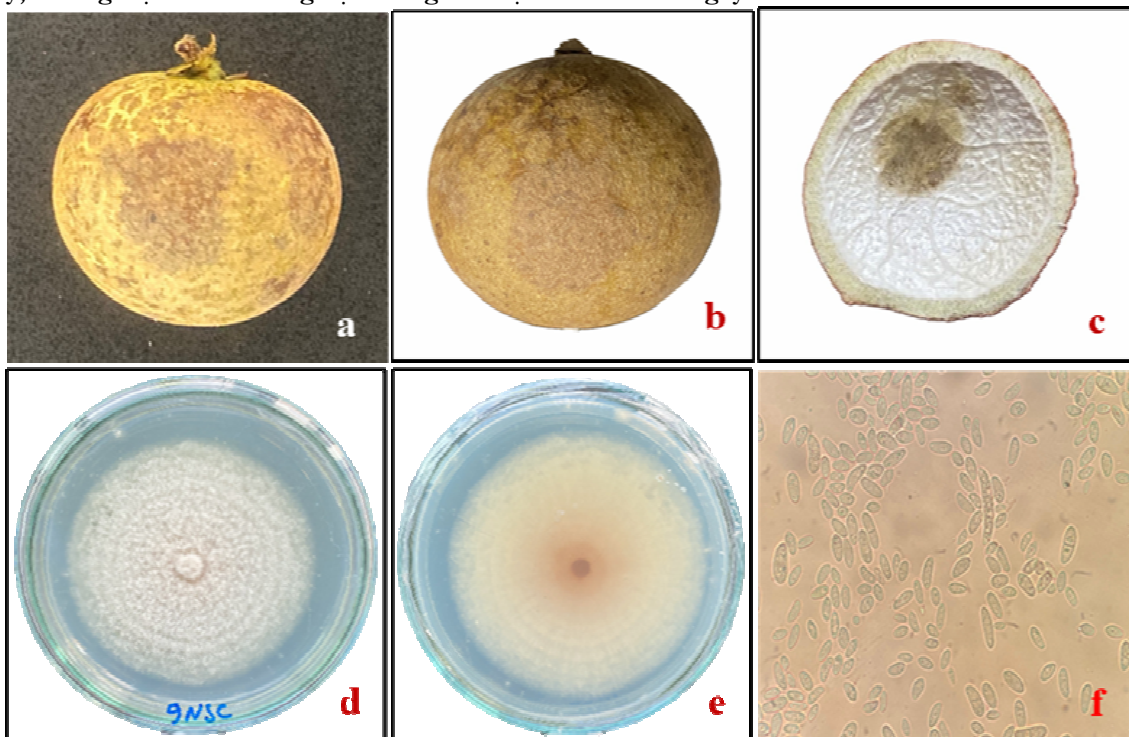
Nhóm này ít phổ biến trên cây nhãn xoàng com vàng, vết bệnh có hình dạng bất định, màu nâu đen, ban đầu chỉ phát triển ở mặt vỏ ngoài (Hình 7a). Triệu chứng bệnh xuất hiện khi tái lây

nh nhiễm nguồn bệnh theo quy trình Koch cũng tương tự như vết bệnh trên trái nhãn thu thập ngoài thực địa, nhưng vết bệnh đã hiện diện ở mặt vỏ trong của trái ở thời điểm 3 ngày sau nhiễm nấm (Hình 7b - c).



Trên môi trường PDA, hệ sợi nấm mọc bông, màu xám ở mặt trên và màu nâu ở mặt dưới, tâm đĩa thạch có màu nâu tím ở 9 ngày sau cấy. Tảo nấm phát triển theo dạng vòng tròn đồng tâm, vùng giữa thường có màu đậm hơn vùng ngoài ở cả hai mặt (Hình 7d – e). Tiểu bào tử màu trong suốt với nhiều kích thước và hình dạng khác nhau, từ elip đến hơi hình trứng ngược, có một vách ngăn hoặc không. Đại bào tử hơi cong hình lưỡi liềm, màu trong suốt và thường có 3 - 5 vách ngăn (Hình 7f). Kết quả tái phân lập và định danh hình thái các mẫu bệnh theo quy trình Koch cũng cho thấy, những đặc điểm tương tự với nguồn bệnh

ban đầu. Những đặc điểm này tương đồng với những mô tả về chi *Fusarium* trên thế giới [6]. Ở Thái Lan, *Fusarium* đã được ghi nhận là một trong những tác nhân gây ra triệu chứng thối nâu trái nhãn [1, 2]. Các triệu chứng phổ biến là thối nâu và thâm đen. Những triệu chứng này có nhiều sự tương đồng với triệu chứng của nhóm 5 trong nghiên cứu này. Ngoài ra, những tương đồng về hình thái bào tử giữa chi nấm gây bệnh thối trái nhãn tại tỉnh Bà Rịa – Vũng Tàu với những mô tả về chi *Fusarium* trên thế giới là minh chứng xác thực để xác định nguồn bệnh ở nhóm 5 là do *Fusarium* gây ra.



Hình 7. Triệu chứng bệnh thối trái nhãn xoòng com vàng do nấm *Fusarium* gây ra

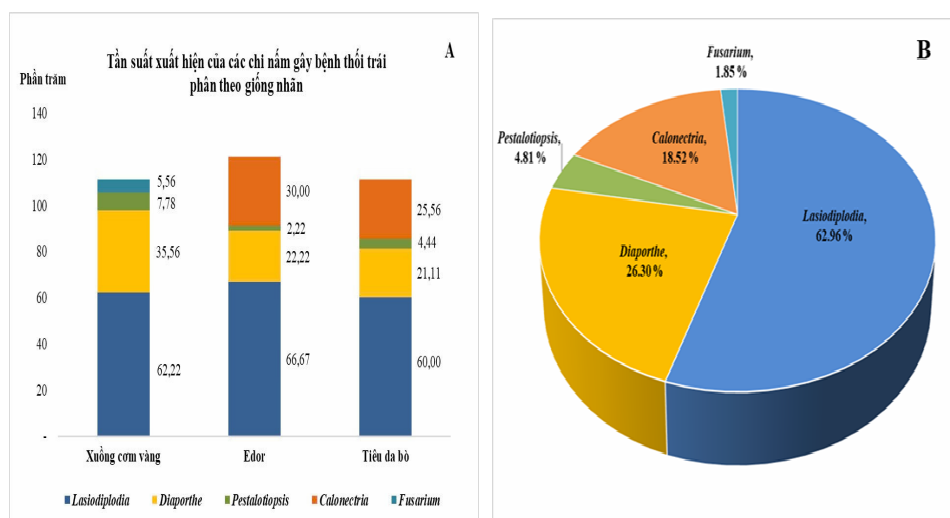
Ghi chú: Hình a là triệu chứng bệnh tại tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu. Hình b và c là triệu chứng theo quy trình Koch ở 72 giờ sau nhiễm bào tử nấm. Hình d và e là hệ sợi nấm trên PDA ở mặt trước và sau tại thời điểm 9 ngày sau cấy truyền. Hình f là tiểu và đại bào tử ở độ phóng đại 1.000 lần.

### 3.2. Thành phần và sự phổ biến của chi nấm gây bệnh thối trái nhãn

Kết quả giám định hình thái 270 mẫu trái nhãn bệnh tại tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu đã xác định được 5 chi nấm thuộc 4 họ và 4 bộ gồm: *Lasiodiplodia* (Botryosphaeriaceae, Botryosphaeriales), *Diaporthe* (Diaporthaceae, Diaporthales), *Fusarium* và *Calonectria* (Nectriaceae,

Hypocreales) và *Pestalotiopsis* (Sporocadaceae, Amphisphaeriales) (Hình 8B). Trong đó, *Lasiodiplodia*, *Diaporthe* và *Pestalotiopsis* là các chi gây hại trên cả 3 giống nhãn chủ lực của địa phương. Trong khi đó, chi *Calonectria* gây hại trên giống nhãn edor và tiêu da bò tại huyện Xuyên Mộc và *Fusarium* gây hại trên trái nhãn xoòng com vàng ở huyện Đất Đỏ (Hình 8A).





**Hình 8. Thành phần và tần suất xuất hiện của các chi nấm gây bệnh thối trái trên các giống nhãn trong vụ mùa mưa năm 2022**

Ghi chú: Theo TCVN 13268-4: 2021 [4]: <10% là rất ít phổ biến, 10 - 20 % là ít phổ biến, >20 - 30% là phổ biến trung bình, >30 - 40% là phổ biến và >40% là rất phổ biến. Số mẫu trái bệnh của 3 giống là 270 và 90 mẫu/giống.

Trong các mầm bệnh thối trái nhãn đã xác định, *Lasiodiplodia* hiện diện rất phổ biến với 62,96%, tiếp đến là chi *Diaporthe* hiện diện ở mức phổ biến trung bình với 26,30%. *Calonectria* là chi hiện diện ở mức ít phổ biến với 18,52% và hiện diện ở mức rất ít phổ biến lần lượt là chi *Pestalotiopsis* và *Fusarium* với 4,81% và 1,85% tương ứng (hình 8B). *Lasiodiplodia* cũng là chi ghi nhận rất phổ biến trên cả 3 giống nhãn điều tra (Hình 8A).

Trên thế giới, bệnh thối trái nhãn do các chi nấm *Lasiodiplodia*, *Pestalotiopsis*, *Diaporthe*, *Fusarium* đã được báo cáo ở Thái Lan [2, 11]. Ở Puerto-Rico, sự gây hại trên trái nhãn của *Lasiodiplodia*, *Pestalotiopsis*, và *Diaporthe* cũng đã được ghi nhận [5]. Điều này cho thấy, thành phần nấm bệnh thối trái nhãn trên thế giới là rất phong phú và rất tương đồng với các chi nấm gây bệnh thối trái nhãn trong vụ mùa năm 2022 tại tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu. Các kết quả định danh cũng xác định, *Lasiodiplodia* là mầm bệnh chính gây thối trái nhãn tại địa phương. Điều này cũng tương tự như các kết quả nghiên cứu trên thế giới đã ghi nhận trong những năm gần đây. Các chi *Fusarium*, *Pestalotiopsis* và *Diaporthe* cũng được ghi nhận, nhưng ít phổ biến hơn ở Thái Lan. Trong nghiên cứu này, sự gây hại của chi *Calonectria* trên trái

nhãn tại tỉnh Bà Rịa – Vũng Tàu lần đầu tiên được đề cập ở trong và ngoài nước.

#### 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

5 nhóm triệu chứng bệnh thối trái nhãn trong vụ mùa năm 2022 tại tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu đã được xác định và mô tả. Trong đó, triệu chứng thối nâu vỏ trái nhãn (nhóm 1) rất phổ biến trên giống nhãn xoài cơm vàng, edor và tiêu da bò.

5 chi nấm gây ra triệu chứng thối trái nhãn gồm: *Lasiodiplodia*, *Diaporthe*, *Calonectria*, *Pestalotiopsis* và *Fusarium* cũng được xác định, trong đó *Lasiodiplodia* xuất hiện phổ biến nhất. *Lasiodiplodia* là chi nấm gây bệnh thối nâu vỏ trái nhãn phổ biến nhất trên các giống nhãn chính của tỉnh Bà Rịa – Vũng Tàu. *Calonectria* lần đầu tiên được báo cáo là nguyên nhân gây thối trái nhãn tại Việt Nam và trên thế giới.

Cần nghiên cứu giải pháp quản lý bệnh thối trái nhãn hiệu quả, an toàn và thân thiện với môi trường.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Suwanakood, P., Sardsud, V., Sangchote, S., and Sardsud, U. (2007). Microscopic observation and pathogenicity determination of common molds on postharvest longan fruit cv.

- Daw. *Asian Journal of Biology Education* Vol, 3, 47.
2. Chang-ngern, P., Sardud, U., Pathomaree, W., Chantrasri, P., and Chukeatirote, E. (2010). Diversity of molds in fresh longan. *Agric Sci J*, 41(1), 322 - 324.
3. Huyen, P. T. and Huong, V. T. X. (2021). Isolation and potential biocontrol of the fungus causing anthracnose in longan in Vietnam. *VNUHCM Journal of Science and Technology Development*, 24(1), 894 - 901.
4. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 13268-4:2021: Bảo vệ thực vật - Phương pháp điều tra sinh vật gây hại - Phần 4: Nhóm cây ăn quả.
5. Serrato-Diaz, L. M., Aviles-Noriega, A., Soto-Bauzo, A., Rivera-Vargas, L. I., Goenaga, R., & Bayman, P. (2020). Botryosphaeriaceae Fungi as causal agents of dieback and corky bark in rambutan and longan. *Plant Dis*, 104(1), 105 - 115. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-19-0295-RE>.
6. Ismail, M. A., Abdel-Hafez, S. I. I., Hussein, N. A., and Abdel-Hameed, N. A. (2015). *Contributions to the genus Fusarium in Egypt tmkarpinski*.
7. Maharachchikumbura, S. S., Guo, L.-D., Chukeatirote, E., McKenzie, E. H. and Hyde, K. D. (2013). A destructive new disease of *Syzygium samarangense* in Thailand caused by the new species *Pestalotiopsis samarangensis*. *Tropical Plant Pathology*, 38, 227 - 235.
8. Sun, W., Huang, S., Xia, J., Zhang, X., and Li, Z. (2021). Morphological and molecular identification of *Diaporthe* species in south-western China, with description of eight new species. *MycoKeys*, 77, 65.
9. Zhang Y., Chen C., Chen C., Chen J., Xiang M., Wanasinghe N. D., Hsiang T., Hyde D. K., and Manawasinghe S. I. (2022). Identification and Characterization of *Calonectria* Species Associated with Plant Diseases in Southern China. *J. Fungi* 8(7), 719; <https://doi.org/10.3390/jof8070719>.
10. Phillips, A. J., Alves, A., Abdollahzadeh, J., Slippers, B., Wingfield, M. J., Groenewald, J. Z., and Crous, P. W. (2013). The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. *Stud Mycol*, 76(1), 51 - 167. <https://doi.org/10.3114/sim0021>.
11. Pipattanapuckdee, A., Boonyakait, D., Tiyyon, C., Seehanam, P., and Ruangwong, O.-U. (2019). *Lasiodiplodia pseudotheobromae* causes postharvest fruit rot of longan in Thailand. *Australasian Plant Disease Notes*, 14(1). <https://doi.org/10.1007/s13314-019-0350-9>.
12. Danggomen, A., Visarathanonth, N., Manoch, L., and Piasai, O. (2013). Morphological studies of endophytic and plant pathogenic *Phomopsis liquidambaris* and *Diaporthe phaseolorum* (*P. phaseoli anamorph*) from healthy plants and diseased fruits. *Thai Journal of Agricultural Science*, 46(3), 157 - 164.
13. Serrato-Diaz, L., Latoni-Brailowsky, E., Rivera-Vargas, L., Goenaga, R., Crous, P., and French-Monar, R. (2013). First report of *Calonectria hongkongensis* causing fruit rot of rambutan (*Nephelium lappaceum*). *Plant Disease*, 97(8), 1117 - 1117.
14. Pham, N. Q., Barnes, I., Chen, S., Liu, F., Dang, Q. N., Pham, T. Q., Lombard, L., Crous, P. W. and Wingfield, M. J. (2019). Ten new species of *Calonectria* from Indonesia and Vietnam. *Mycologia*, 111(1), 78 - 102.
15. Thạch Thị Ngọc Yến và Nguyễn Văn Phong (2016). Nghiên cứu tác nhân gây bệnh thối quả chôm chôm (*Nephelium lappaceum* L.) sau thu hoạch ở đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 14(12), 1868 - 1873.

COMPOSITIONS OF FUNGAL PATHOGENS CAUSING  
LONGAN FRUIT ROT IN BA RIA - VUNG TAU PROVINCE

Chu Trung Kien<sup>1,2</sup>, Le Phuoc Thanh<sup>2</sup> and Nguyen Đac Khoa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Agricultural Science for Southern Viet Nam*

<sup>2</sup>*Can Tho University*

Summary

Compositions of fungal pathogens causing fruit rot were investigated on three major longan varieties cultivated in Ba Ria - Vung Tau province in their commercial stages, *i.e.*, *xuong com vang*, *edor* and *tiêu da bo*. Ninety diseased fruit samples with newly emerged symptoms during 12 - 16 days and 1 - 3 days before harvest were collected in three different orchards of each variety. Fungal pathogens were isolated to perform the Koch's postulates for pathogen identification. Using morphological characteristics, five fungal genera corresponding to five typical fruit rot symptoms were identified from the collected samples including: *Lasiodiplodia*, *Diaporthe*, *Calonectria*, *Pestalotiopsis* and *Fusarium*. Pericarp brown rot symptoms caused by *Lasiodiplodia* spp. were found to be predominant on all three longan varieties. The *Lasiodiplodia* genus appeared in the highest frequency (62.96%) among the samples isolated. Appearance frequencies of the other four fungal genera *Diaporthe*, *Calonectria*, *Pestalotiopsis* and *Fusarium* were 26.30%, 18.52%, 4.81% and 1.85%, respectively. This is the first report on compositions of fungal pathogens causing longan fruit rot before harvest in Vietnam where the *Calonectria* genus was firstly reported as a causal agent of the disease.

**Keywords:** *Edor*, *fruit rot*, *lasiodiplodia*, *longan*, *tiêu da bo*, *xuong com vang*.

Ngày nhận bài: 2/4/2024

Ngày gửi phản biện: 9/5/2024

Ngày thông qua phản biện: 30/5/2024

Ngày duyệt đăng: 17/9/2024