

# BỆNH THỐI QUẢ TÁO MÈO TẠI VIỆT NAM

Phạm Quang Thu, Lê Văn Bình, Nguyễn Minh Chí

Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

**Từ khóa:** Bệnh thối quả,  
*Colletotrichum siamense*,  
Táo mèo, tính gây bệnh

## TÓM TẮT

Táo mèo là một loài cây đặc sản và đã được gây trồng phổ biến ở vùng Tây Bắc Việt Nam. Tổng diện tích trồng Táo mèo đạt khoảng 3.200 ha, sản lượng quả đạt khoảng 6.500 tấn mỗi năm. Tuy nhiên, hiện tượng thối quả khá phổ biến, gây thiệt hại đáng kể cho người dân. Nghiên cứu này nhằm mô tả triệu chứng, thử tính gây bệnh và xác định loài nấm gây thối quả Táo mèo. Kết quả phân lập đã thu được 21 chủng nấm từ các mẫu quả thối, tính gây bệnh của các chủng được chia thành năm nhóm gồm: gây bệnh rất mạnh (5 chủng), gây bệnh mạnh (4 chủng), gây bệnh trung bình (5 chủng), gây bệnh yếu (4 chủng) và không gây bệnh (3 chủng). Trong đó chủng TM2 gây bệnh mạnh nhất và gây ra vết bệnh tương tự như những quả bị thối tự nhiên. Kết quả giải trình tự đoạn gen ITS1 và ITS2 bằng cặp mồi ITS1F và ITS4 đã xác định nấm gây bệnh thối quả Táo mèo là loài *Colletotrichum siamense*. Nghiên cứu này lần đầu ghi nhận nấm *C. siamense* gây thối quả Táo mèo ở Việt Nam và gây bệnh phổ biến trên nhiều loài cây trồng và rất cần được nghiên cứu phòng trừ để hạn chế thiệt hại cho người dân.

**Keywords:**  
*Colletotrichum siamense*,  
*Docynia indica*,  
pathogenicity, rot disease

## Rot disease on *Docynia indica* fruit in Vietnam

*Docynia indica*, a special tree, has been cultivated widely in the Northwest of Vietnam. The area of *D. indica* plantations is about 3,200 hectares, commercial harvesting yielded 6,500 tonnes of fruit per year. However, rot disease on *D. indica* fruit is quite common, causing significant damage and losses. This study aims to describe the symptoms, pathogenicity and identify the pathogen that causes rot disease on *D. indica* fruit. The twenty-one isolates of fungi associated with rotten fruits were isolated and the pathogenicity of those 21 isolates was divided into five groups including: very strong (5 isolates), strong (4 isolates), average (5 isolates), weak (4 isolates) and nil (3 isolates). In which isolate TM2 has the strongest pathogenicity and causes lesions similar to those of natural rotten fruit. *Colletotrichum siamense* was identified as the fungus causing rot disease on *D. indica* fruit by sequencing of ITS1 and ITS2 using primer pair ITS1F and ITS4. This is the first report of *C. siamense* causing rot disease on *D. indica* fruit in Vietnam, but they are recorded as pathogen in many plant species, so further research is needed to manage the disease.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Táo mèo (*Docynia indica* (Wall) Decne) là một loài cây đặc sản của vùng Tây Bắc Việt Nam, quả Táo mèo đã được xác định là một trong những vị thuốc nam (Đỗ Thị Hà *et al.*, 2013). Táo mèo đã được gây trồng phổ biến ở các tỉnh Sơn La, Yên Bái và Điện Biên, chúng sinh trưởng và phát triển tốt ở độ cao trên 800 m. Tổng diện tích trồng Táo mèo của ba tỉnh khoảng 3.200 ha, sản lượng quả đạt khoảng 6.500 tấn mỗi năm (Lua *et al.*, 2013, Tjep *et al.*, 2018). Tuy nhiên, trên các diện tích trồng Táo mèo đang xuất hiện tình trạng thối quả, gây thiệt hại đáng kể cho người dân.

Những bệnh hại chủ yếu thường gặp trên chi Táo nói chung và Táo mèo nói riêng là bệnh nấm vẩy ở lá, hoa, quả và bệnh cháy lá... Các loại bệnh như cháy lá, rụng hoa, quả và loét thân cành trên một số loài cây chủ trong đó có chi *Docynia* là do vi khuẩn *Erwinia amylovora* (Adkins *et al.*, 2009).

Ở Ấn Độ, Táo lê thường lại bị bệnh nấm vẩy gây hại quả và đã xác định nguyên nhân do nấm *Venturia inaequalis* gây ra. Loài nấm này không những ảnh hưởng nghiêm trọng đến khả năng sinh trưởng của cây mà còn ảnh hưởng đến năng suất sản lượng quả (Pecknold, 2016). Trong một cuộc khảo sát đã tiến hành tại chợ trái cây Jammu, thấy những quả Táo mèo bị thối do mốc xanh và được xác định là do nấm *Penicillium expansum* gây ra (Singh và Sumbali, 2012).

Tám loài nấm gồm *Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia seriata*, *Neofusicoccum parvum*, *D. intermedia*, *N. luteum*, *D. pseudoseriata*, *N. australe* và *Lasiodiplodia theobromae*. đã được phân lập từ cả thân và quả táo đều có khả năng gây ra các triệu chứng bệnh điển hình trên quả khi gây bệnh nhân tạo và phân lập lại, nhưng những triệu chứng bệnh nghiêm trọng nhất bị gây ra bởi *L. theobromae*, *N. parvum* và *N. luteum* (Delgado *et al.*, 2016).

Nghiên cứu bảo quản quả Táo mèo sau khi thu hoạch đã được thực hiện, qua đó chọn được nước sát khuẩn và loại bao bì phù hợp (Hoàng Thị Lệ Hằng, 2016) nhưng chưa có nghiên cứu xác định nguyên nhân gây thối quả, đặc biệt là quả chưa thu hoạch. Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu xác định nguyên nhân gây bệnh thối quả Táo mèo ở Tây Bắc, Việt Nam.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Mẫu quả Táo mèo bị bệnh thu ở vùng Tây Bắc.
- Các mẫu nấm gây bệnh được phân lập từ các quả nêu trên.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- *Phương pháp điều tra xác định triệu chứng:*

Mô tả triệu chứng thối quả trên các rừng trồng Táo mèo, quan sát và mô tả vết bệnh trên quả, mô tả màu sắc vết bệnh, các biểu hiện chảy nước, chảy nhựa...

Thu mẫu quả bị bệnh: Chọn các cây có quả bị thối để thu mẫu, các mẫu quả bị bệnh được thu mẫu riêng rẽ. Tại mỗi địa điểm tiến hành thu 5 mẫu quả. Thu mẫu quả tại huyện Bắc Yên, Thuận Châu, tỉnh Sơn La; huyện Mù Cang Chải, tỉnh Yên Bái, huyện Bắc Hà, Bát Xát, tỉnh Lào Cai; huyện Tam Đường, tỉnh Lai Châu và huyện Tuần Giáo, tỉnh Điện Biên.

- *Phương pháp phân lập nấm:*

Phân lập nấm gây bệnh từ các mẫu quả bằng cách cắt các miếng quả bị chuyển màu thâm đen cấy trên môi trường PDA có bổ sung các loại kháng sinh (Ampicilin, streptomycin). Trong vòng 24 - 48 giờ sau khi phân lập, tiến hành cấy định sinh trưởng sợi nấm sang môi trường PDA mới.

- *Phương pháp nghiên cứu tính gây bệnh:*

Đánh giá tính gây bệnh thông qua gây bệnh nhân tạo trên quả, thực hiện tại phòng thí nghiệm thuộc Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ

rừng, cụ thể như sau: đục một lỗ để bỏ vỏ có đường kính 0,5 cm trên quả, đục một miếng môi trường đường kính tương ứng có chứa sợi nấm úp vào trong, đặt bông ẩm phía ngoài và dùng parafin bọc kín. Công thức đối chứng sử dụng PDA không chứa sợi nấm. Thí nghiệm với 10 quả/công thức/lặp và lặp lại 3 lần. Thí nghiệm được thực hiện cho 21 chủng nấm. Theo dõi hàng ngày, sau 15 ngày tiến hành đo diện tích vết bệnh trên quả. Phân cấp khả năng gây bệnh dựa trên các tiêu chí cụ thể như sau: (0): Không có vết bệnh trên quả, quả còn tươi; (1): Diện tích vết bệnh < 1 cm<sup>2</sup>; (2): Diện tích vết bệnh ≥ 1 đến < 2 cm<sup>2</sup>; (3): Diện tích vết bệnh ≥ 2 đến < 3 cm<sup>2</sup>; (4): Diện tích vết bệnh > 3 cm<sup>2</sup> hoặc quả bị thối hết.

+ Cấp bệnh trung bình (DI) được xác định theo công thức:

$$DI = \sum ni.vi/N$$

*Trong đó:* ni: Số quả bị bệnh với cấp hại i (i từ cấp 0 đến cấp 4), vi: Trị số của cấp bị hại thứ i, N: Tổng số cây điều tra.

*- Phương pháp giám định các chủng nấm phân lập được bằng chỉ thị phân tử thực hiện tại phòng thí nghiệm thuộc Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng:*

Tách ADN: Sinh khối sợi nấm được chia nhỏ và đưa vào ống eppendorf 1,5 ml đã bổ sung 500 µl 2×SSC. Lắc đều và ủ ở 99°C trong 10 phút. Ly tâm 13.000 vòng/phút trong 2 phút. Hút bỏ phần dịch và tiến hành rửa ADN 1 lần bằng nước cất vô trùng. Thêm khoảng 100 µl hạt thủy tinh có đường kính 0,2 - 0,5 mm (Roth, Đức), 100 µl dung dịch phenol/chloroform (tỷ lệ 1:1) và 100 µl nước cất vô trùng. Lắc ở 1.400 vòng/phút trong 10 phút trên máy Thermocomfort (Eppendorf, Đức) sau đó ly tâm 13.000 vòng/phút trong 10 phút. Lấy phần dịch trong phía trên có chứa ADN làm khuôn cho phản ứng PCR. ADN sau khi tách chiết được giữ ở - 20°C.

Phân đoạn rADN (đoạn gen ITS1 và ITS2) của các chủng nấm được khuếch đại bằng các mồi ITS1F (5' - TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') và ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (reference), trên thiết bị C1000 Touch<sup>TM</sup> Thermal Cycler (Bio - Rad, Mỹ) với chương trình nhiệt được thiết lập với pha biến tính ở 94°C trong 3 phút kế tiếp là 30 chu kỳ nhiệt (94°C trong 30 giây, 52°C trong 30 giây và 72°C trong 1 phút). Quá trình khuếch đại được hoàn tất ở 72°C trong 10 phút và sau đó sản phẩm PCR được bảo quản ở 10°C.

Sản phẩm PCR sau khi khuếch đại được giải trình tự tại hãng 1st BASE (Malaysia). Các chuỗi ADN được so sánh với cơ sở dữ liệu của GenBank thông qua giao diện tìm kiếm BLAST search trên ngân hàng Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) đặt tại National Center for Biotechnology Information, Bethesda, Mỹ. Các chuỗi liên quan được chuyển tải về sau đó xử lý bằng phần mềm BioEdit (Hall, 1999).

*- Phương pháp nghiên cứu đặc điểm hình thái*

Tiếp tục nuôi nấm, làm thuần các mẫu nấm bằng cách cấy đỉnh sợi nấm trên môi trường PDA mới và theo dõi thời gian các giai đoạn phát triển của nấm. Mô tả đặc điểm hình thái các giai đoạn phát triển của nấm, đo kích thước và chụp ảnh hệ sợi và các dạng bào tử, mô tả hình thái màu sắc, đo tốc độ phát triển của hệ sợi bằng kính hiển vi quang học BX50.

- Xử lý số liệu bằng phần mềm Genstat 12.0 để phân tích sự sai khác thống kê của thí nghiệm gây bệnh nhân tạo trên quả.

### III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Triệu chứng của bệnh thối quả

Quả Táo mèo bị thối có các vết bệnh màu thâm vàng sau đó chuyển màu vàng đậm và thâm đen (hình 1). Hiện tượng thối quả xuất hiện trên cả quả xanh và quả chín. Sau khi quả bị nhiễm bệnh, vết bệnh lan rộng và làm rụng quả.



**Hình 1.** Quả Táo mèo bị bệnh ở Yên Bái

### 3.2. Tính gây bệnh của các chủng nấm

Kết quả phân lập đã thu được 21 chủng nấm từ các mẫu quả Táo mèo bị thối, qua đó đã tiến

hành gây bệnh nhân tạo trên quả để xác định các chủng gây bệnh mạnh và rất mạnh.

**Bảng 1.** Tính gây bệnh của các chủng nấm gây thối quả Táo mèo sau bao 15 ngày

TT	Ký hiệu chủng nấm	Diện tích vết bệnh trung bình trên quả (cm <sup>2</sup> )	Tính gây bệnh
1	TM1	3,51	Rất mạnh
2	TM2	3,73	Rất mạnh
3	TM3	0,73	Yếu
4	TM4	1,98	Trung bình
5	TM5	3,68	Rất mạnh
6	TM6	3,62	Rất mạnh
7	TM7	0,00	Không gây bệnh
8	TM8	3,46	Rất mạnh
9	TM9	1,21	Trung bình
10	TM10	2,26	Mạnh
11	TM11	1,36	Trung bình
12	TM12	0,00	Không gây bệnh
13	TM13	0,68	Yếu
14	TM14	0,97	Yếu
15	TM15	1,05	Trung bình
16	TM16	2,22	Mạnh
17	TM17	1,14	Trung bình
18	TM18	2,39	Mạnh
19	TM19	0,46	Yếu
20	TM20	0,00	Không gây bệnh
21	TM21	2,52	Mạnh
22	Đối chứng	0,00	Không gây bệnh
	<i>Lsd</i>	0,58	
	<i>Fpr</i>	<0,001	

Kết quả gây bệnh nhân tạo đã xác định được 5 chủng có khả năng gây bệnh rất mạnh, 4 chủng gây bệnh mạnh, 5 chủng gây bệnh trung bình, 4 chủng gây bệnh yếu và 3 chủng không gây bệnh (bảng 1).



**Hình 2.** Tính gây bệnh của các chủng nấm trên quả Táo mèo:

a. Gây bệnh rất mạnh (chủng TM2); b. Gây bệnh mạnh (chủng TM10); c. Gây bệnh trung bình (chủng TM9); d. Gây bệnh yếu (chủng TM14); e. Không gây bệnh (chủng TM20); f. Đối chứng

Chủng TM2 có khả năng gây bệnh rất mạnh và vết bệnh trên quả sau khi gây bệnh rất giống với triệu chứng bệnh thối quả trên thực địa (hình 1). Các chủng nấm khác tuy có gây thối nhưng vết bệnh không giống với triệu chứng quả thối ngoài hiện trường.

**3.3. Kết quả giám định**

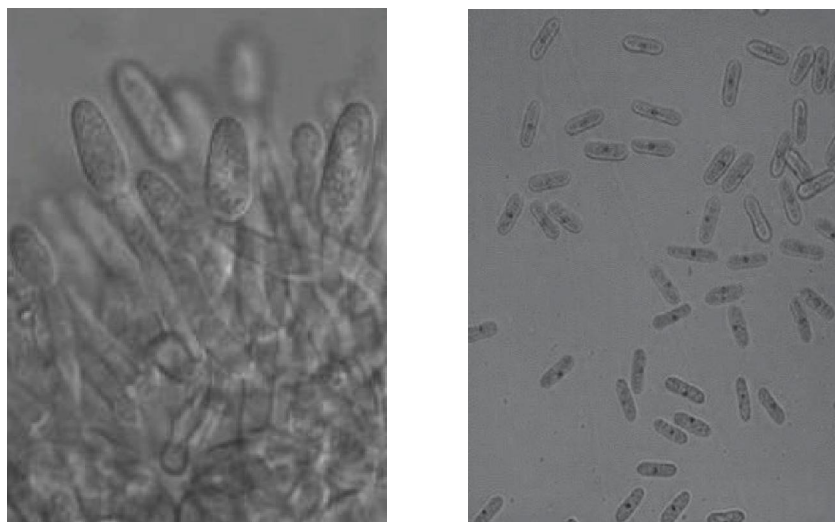
Từ kết quả gây bệnh nhân tạo, tiến hành giải trình tự đoạn gen ITS1 và ITS2 của các chủng gây bệnh mạnh và rất mạnh. Trình tự gen của 5 chủng được so sánh với các trình tự tham chiếu trên ngân hàng gen và được tổng hợp trong bảng 2.

**Bảng 2.** Kết quả định danh các chủng nấm gây thối quả Táo mèo

Ký hiệu chủng	Tên khoa học	Mã tham chiếu trên Genbank	Độ tương đồng (%)
TM1	<i>Calonectria</i> sp.	KY543514	99,5
TM2	<i>Colletotrichum siamense</i>	CM43751	99,6
TM5	<i>Hyphopichia burtonii</i>	SG347215	99,8
TM6	<i>Diaporthe eugeniae</i>	MF040718	99,8
TM8	<i>Gliocephalotrichum bulbilium</i>	KW721465	99,9

Kết quả nghiên cứu trên thế giới cho thấy trong số năm loài nấm nêu trên, nấm *Colletotrichum siamense* đã được xác định là nguyên nhân gây thối quả *Pongamia pinnata* ở Ấn Độ (Dwarka *et al.*, 2016). Bệnh thối quả trên các loài táo rất phổ biến và nguyên nhân chủ yếu được xác định do các loài nấm thuộc chi *Colletotrichum*, trong đó nấm *C. siamense* đã được xác định là nguyên nhân gây thối quả táo ở Mỹ (Munir *et al.*, 2016) và ở Hàn Quốc (Park *et al.*, 2018). Các nghiên cứu trên thế giới đều ghi nhận bốn loài còn lại ít gây bệnh hoặc không gây bệnh trên quả và có thể chúng chỉ là sinh vật hoại sinh.

Ở Ấn Độ, Táo (*Docynia indica*) thường lại bị bệnh nấm vẩy gây hại quả và đã xác định nguyên nhân do nấm *Venturia inaequalis* gây ra (Pecknold, 2016). Quả Táo mèo bị thối do mốc xanh và được xác định là do nấm *Penicillium expansum* gây ra (Singh và Sumbali, 2012). Nấm *Neofusicoccum parvum*, *Lasiodiplodia theobromae* và *N. luteum* được xác định có khả năng mạnh trên quả táo (Delgado, 2016). Kết quả nghiên cứu này đã xác định *C. siamense* là sinh vật gây bệnh thối quả Táo mèo ở Việt Nam, đây là sinh vật gây bệnh phổ biến và rất cần được nghiên cứu phòng trừ để hạn chế thiệt hại cho người dân.



**Hình 3.** Bào tử của nấm *Colletotrichum siamense*

Nấm *Colletotrichum siamense* có hệ sợi màu trắng đục hoặc vàng nhạt, khi già có màu xám nhạt. Bào tử hình trụ, đôi khi một đầu hẹp lại, kích thước:  $1,5 - 14,5 \times 5,5 - 1,2 \mu\text{m}$ . Đĩa áp hình dạng không đều, màu nâu và hình trứng, kích thước  $0,5 - 6,3 \times 3,5 - 0,4 \mu\text{m}$ .

Nấm *C. siamense* cũng đã được ghi nhận gây bệnh trên một số loài cây trồng như các loài cây trồng nhiệt đới ở miền Bắc Úc (James *et al.*, 2014), gây bệnh trên lá và quả Đậu dầu (*Pongamia pinnata*) tại Ấn Độ (Dwarka *et al.*, 2016).

#### IV. KẾT LUẬN

Nấm *Colletotrichum siamense* được xác định là nguyên nhân gây bệnh thối quả Táo mèo. Tính gây bệnh của 21 mẫu nấm có sự khác nhau và được chia thành 5 nhóm gồm: gây bệnh rất mạnh (5 chủng), gây bệnh mạnh (4 chủng), gây bệnh trung bình (5 chủng), gây bệnh yếu (4 chủng), không gây bệnh (3 chủng).

Từ kết quả nghiên cứu này, rất cần tiếp tục nghiên cứu giải pháp quản lý hiệu quả bệnh thối quả Táo mèo do nấm *C. siamense* gây ra.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Adkins C., Armel G., Chappell M., Chong J.C., Frank S.... and Windham A., 2009. Pest Management Strategic Plan for Container and Field - Produced Nursery Crops. North Carolina Research and Education Center, Mills River, Nc.
2. James, R. S., Ray, J., Tan, Y. P., & Shivas, R. G., 2014. *Colletotrichum siamense*, *C. theobromicola* and *C. queenslandicum* from several plant species and the identification of *C. asianum* in the Northern Territory, Australia. Australasian plant disease notes, 9(1), 138.
3. Đỗ Thị Hà, Nguyễn Thị Ngọc Loan, Trần Thị Lệ Hằng, Nguyễn Thị Bích Thu và Nguyễn Minh Khởi, 2013. Thành phần hóa học phân đoạn n - hexan quả Táo mèo. Tạp chí Dược liệu, 2:102 - 108.
4. Dwarka, D. J., Sharma, G., & Rajasab, A. H., 2016. *Colletotrichum siamense* causes anthracnose on the fruits of *Pongamia pinnata* in India. Mycosphere, 7(4), 492 - 498.
5. Hoàng Thị Lệ Hằng, 2016. Nghiên cứu ảnh hưởng của biện pháp xử lý và bao bì đến thời gian bảo quản quả Táo mèo. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 9: 46 - 51.
6. Delgado - Cerrone L., Mondino - Hintz P. & Alaniz - Ferro S., 2016. Botryosphaeriaceae species associated with stem canker, die - back and fruit rot on apple in Uruguay. Eur J Plant Pathol 146:637-655 DOI 10.1007/s10658 - 016 - 0949 - z Letters, 13: 331 - 332.
7. Lua, H. T., Degrande, A., Catacutan, D., Hoa, N. T., & Cuong, V. K., 2013. Sơn tra (*Docynia indica*) value chain and market analysis. AFLI Technical Report No. 9.
8. Munir, M., Amsden, B., Dixon, E., Vaillancourt, L., & Gauthier, N. W., 2016. Characterization of *Colletotrichum* species causing bitter rot of apple in Kentucky orchards. Plant disease, 100(11), 2194 - 2203.
9. Park, M. S., Kim, B. R., Park, I. H., & Hahm, S. S., 2018. First report of two *Colletotrichum* species associated with bitter rot on apple fruit in Korea - *C. fructicola* and *C. siamense*. Mycobiology, 46(2), 154 - 158.
10. Paul C. Pecknold, 2016. Apple scab of flowering crabapples. Historical Documents of the Purdue Cooperative Extension Service. Paper 1102.
11. Tiep, H. V., Thuong, P. H., Nguyen, L., Lua, H. T., Thuan, V. V., Kieu, L. T.,... & Harwood, C., 2018. Domestication of *Docynia indica* in Vietnam. Forests, Trees and Livelihoods, 27(4), 230 - 242.
12. Yash Paul Singh and Geeta Sumbali, 2012. *Penicillium* toxins associated with post - harvest fruit rot of crab apples (*Docynia indica* Dcne). Journal of Biosphere, 1: 4 - 6.

**Email tác giả liên hệ:** [nguyenminhchi@vafs.gov.vn](mailto:nguyenminhchi@vafs.gov.vn)

**Ngày nhận bài:** 10/03/2020

**Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa:** 26/03/2020

**Ngày duyệt đăng:** 28/03/2020