

ĐIỀU TRA BỆNH HẠI SAU THU HOẠCH TRÊN GIỐNG CHUỐI TIÊU HỒNG (*Musa acuminata*) VÀ CHUỐI NAM MỸ (*Musa paradisiaca*) Ở VIỆT NAM

PHAN HỒ BẢO LINH ⁽¹⁾, NGUYỄN DUY TỎI ⁽¹⁾, NGUYỄN THỊ HẢI ⁽¹⁾,
LẠI TIẾN DŨNG ⁽²⁾, ĐINH THUY HÀNG ⁽²⁾, NGUYỄN THỊ HIỆU THU ⁽¹⁾

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chuối là loại quả được tiêu thụ rộng rãi trên thế giới, ước tính khoảng trên 20 triệu tấn mỗi năm. Các khu vực sản xuất chuối chủ yếu là Trung và Nam Mỹ, Philippins, xuất khẩu tới các thị trường lớn nhất là EU, Mỹ, Trung Quốc, Nga và Nhật [1]. Tại Việt Nam, cây chuối được trồng ở tất cả các tỉnh/thành phố, có tổng diện tích canh tác lớn nhất trong số các loại cây ăn quả. Từ năm 2002, sản xuất chuối tăng cả về diện tích và sản lượng, với mức tăng bình quân hàng năm 3% về diện tích, 6% về sản lượng. Năm 2019, diện tích chuối của cả nước đạt xấp xỉ 150 000 ha (chiếm hơn 19% tổng diện tích cây trồng ăn quả của cả nước); sản lượng đạt 2,14 triệu tấn. Các địa phương có diện tích canh tác chuối lớn nhất trong cả nước là Sóc Trăng, Đồng Nai (mỗi tỉnh trên dưới 10 000 ha), Thanh Hóa, Cà Mau (trên 5000 ha) [2]. Các tỉnh phía Bắc có trên 67 000 ha, chiếm 46% tổng diện tích trồng chuối của cả nước, sản lượng đạt 1,13 triệu tấn. Trong đó chuối Tiêu hồng bản địa (*Musa acuminata*) có thị trường tiêu thụ lớn trong và ngoài nước, được trồng nhiều nhất tại tỉnh Hưng Yên và Phú Thọ. Các tỉnh khu vực Nam Trung Bộ và Tây Nguyên chủ yếu trồng giống chuối Nam Mỹ nhập nội (*Musa paradisiaca*) (trồng nhiều ở Đắk Lắk và Gia Lai), là một trong những giống chuối được xuất khẩu chính của Việt Nam [3].

Bệnh hại do vi sinh vật làm giảm chất lượng quả chuối sau thu hoạch, dẫn đến thiệt hại lớn về kinh tế đã được báo cáo tại nhiều quốc gia trồng chuối, phổ biến nhất là bệnh thán thư, thối cuống, thối xỉ gà, thối quả, đốm quả... Các mầm bệnh thường có mặt trong không khí, phát triển trong điều kiện độ ẩm cao và nhiệt độ biến động [4]. Nấm là tác nhân gây bệnh chủ yếu trên quả chuối sau thu hoạch, các nhóm nấm gây bệnh phổ biến như *Fusarium*, *Aspergillus*, *Microdochium* (gây bệnh thối quả), *Corynespora torulosa* (gây bệnh đốm quả), *Colletotrichum*, *Fusarium*... (gây bệnh thán thư, thối cuống quả) [5-7]. Bên cạnh đó, một số vi khuẩn cũng được ghi nhận là tác nhân gây bệnh trên quả chuối sau thu hoạch với tần suất và mức biểu hiện bệnh thấp hơn, như bệnh thối đầu quả do vi khuẩn *Ralstonia* spp., *Burkholderia* spp. [8, 9].

Ở Việt Nam, bệnh do vi sinh vật gây hại trên cây chuối mới chỉ tập trung vào bệnh thối thân (còn gọi là bệnh héo vàng Panama) do nấm *Fusarium* gây ra [10]. Bệnh trên quả chuối trong quá trình canh tác và sau thu hoạch còn ít được quan tâm, mặc dù thiệt hại về kinh tế cũng đã được ghi nhận. Các biện pháp phòng trị được khuyến cáo chủ yếu là vệ sinh nhà xưởng sản xuất, không để tích lũy quả chuối bị bệnh trong khu vực xử lý đóng gói. Áp dụng xử lý vật lý, hóa học là cách tiếp cận chủ yếu hiện nay để bảo quản chuối sau thu hoạch, nhưng thực tế tổn thất sau thu hoạch của chuối ở nước ta vẫn còn cao, ở mức 25 - 30% [11].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi trình bày kết quả điều tra về hiện trạng các bệnh hại do vi sinh vật gây ra trên quả chuối trong quá trình bảo quản sau thu hoạch đối với hai giống chuối xuất khẩu chính của Việt Nam là chuối Tiêu hồng và chuối Nam Mỹ. Các kết quả sẽ là cơ sở khoa học cho định hướng phát triển các giải pháp bảo quản sau thu hoạch để kiểm soát và giảm thiểu tổn thất từ các bệnh hại này.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Đối tượng

Các bệnh hại do vi sinh vật gây ảnh hưởng đến quả chuối trong quá trình bảo quản sau thu hoạch đối với hai giống chuối xuất khẩu chính của Việt Nam là chuối Tiêu hồng (*Musa acuminata*) và chuối Nam Mỹ (*Musa paradisiaca*).

Địa điểm điều tra là các vườn trồng chuối Tiêu hồng ở Phú Thọ, Hưng Yên và vườn trồng chuối Nam Mỹ ở Gia Lai. Điều tra được tiến hành vào thời gian thu hoạch tại các vườn chuối, cụ thể đối với giống chuối Tiêu hồng tại Phú Thọ và Hưng Yên vào tháng 12 năm 2021, đối với giống chuối Nam Mỹ ở Gia Lai vào tháng 3 năm 2022.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Điều tra hiện trạng bệnh hại tại nông hộ và cơ sở thu mua chuối

Những nông hộ có diện tích trồng chuối trên 5.000 m² và cơ sở thu mua chuối tập trung được chọn để khảo sát. Phiếu điều tra bao gồm các thông tin liên quan đến chủng loại giống chuối, diện tích canh tác, các loại bệnh hại, kỹ thuật canh tác, năng suất, hiệu quả... Quy trình điều tra được thực hiện sử dụng phương pháp điều tra nhanh nông thôn (RRA - Rapid Rural Appraisal), đánh giá nhanh nông thôn có sự tham gia của người dân (PRA - Participatory Rural Appraisal), nhóm cung cấp thông tin chủ lực (KIP - Key Information Panel) để phỏng vấn và thu thập các thông tin [12].

Tiêu chí xác định bệnh tại điểm điều tra dựa trên biểu hiện bệnh đã được mô tả trong sổ tay hướng dẫn và các nghiên cứu đã công bố, kết hợp với ý kiến chuyên gia trong lĩnh vực bảo vệ thực vật.

Tỷ lệ bệnh tại các vườn được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ bệnh (\%)} = \frac{\text{Số vườn có ghi nhận bệnh}}{\text{Tổng cộng số vườn điều tra}}$$

2.2.2. Phân tích tác nhân gây bệnh

Các vườn điều tra thực hiện quy trình sản xuất chuối theo tiêu chuẩn VietGap (hoặc tương đương) để xuất khẩu. Buồng chuối được bao kín bằng túi nylon từ khi trổ, cắt thu hoạch ở thời điểm đạt khối lượng theo yêu cầu (đối với chuối Tiêu hồng 12 - 16 tuần tuổi, đối với chuối Nam Mỹ 8 - 12 tuần tuổi). Sau đó, chuối được xử lý bằng thuốc kháng nấm (nhúng trong dung dịch Topsin 0,1%), để khô rồi bao giấy và đóng thùng. Chuối xuất khẩu được thu hoạch sớm hơn (độ chín 75 - 80%) và bảo quản lạnh (13 - 15°C). Chuối tiêu thụ trong nước thu hoạch muộn hơn (độ chín 90%) và chuyển đi luân, không bảo quản lạnh.

Quả chuối bị bệnh được thu thập ở thời điểm thu hoạch từ các buồng chuối mới được cắt xuống tại vườn và buồng chuối sau khi xử lý thuốc kháng nấm 1 - 2 ngày chưa được chuyển đi mà không được bảo quản lạnh. Các mẫu quả chuối bị bệnh được bảo quản trong túi zip có hạt chống ẩm và đưa về phòng thí nghiệm để phân lập các tác nhân vi sinh vật gây bệnh.

Phân lập nấm gây bệnh: Mẫu bệnh được cắt thành các mảnh 2×2 mm, đặt trên môi trường thạch LCA (glucose 1 g/l, KH_2PO_4 1 g/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2 g/l, KCl 0,2 g/l, NaNO_3 2 g/l, yeast extract 0,2 g/l, agar 16 g/l, pH=7) và ủ ở 25°C trong 7 ngày. Sợi nấm sau đó được cấy truyền vào môi trường thạch PDA (dextrose 20 g/l, bột chiết khoai tây 4 g/l, agar 15 g/l) cho đến khi thu được chủng thuần khiết [13].

Phân lập vi khuẩn gây bệnh: Mẫu bệnh được cắt thành các mảnh 2×2 mm, nghiền trong 2 ml dung dịch đệm PBS 1× sử dụng cối và chày sứ vô trùng. Thực hiện dãy pha loãng trong dung dịch NaCl 0,9%, và cấy trải 0,1 ml dịch ở nồng độ 10^{-3} - 10^{-5} trên đĩa thạch TSA 1/5 (tryptone 3,4 g/l, soya peptone 0,6 g/l, NaCl 1 g/l, dextrose 0,5 g/l, K_2HPO_4 0,5 g/l, agar 15 g/l), ủ đĩa ở 28°C trong 24 - 48 giờ. Các khuẩn lạc vi khuẩn đơn lẻ được cấy chuyển sang các đĩa thạch TSA 1/5 mới cho đến khi thu được chủng thuần khiết [14].

Đánh giá khả năng gây bệnh của các chủng phân lập thông qua lây nhiễm nhân tạo: Thử nghiệm được thực hiện trên quả chuối tươi, lành lặn, không có vết bệnh. Khử trùng toàn bộ bề mặt quả chuối bằng ethanol 70%, rửa lại bằng nước cất vô trùng và để khô. Để hạn chế quá trình chín, cuống chuối được bọc kín bằng giấy parafilm.

- Đối với các chủng nấm nghi ngờ gây bệnh: chủng được nuôi hoạt hóa trên môi trường thạch PDA, 25°C trong thời gian 7 ngày. Tạo 2 vết thương trên vỏ quả chuối bằng dao vô trùng và đặt thỏi thạch (đường kính 5 mm) chứa bào tử nấm được lấy từ đĩa hoạt hóa.

- Đối với các chủng vi khuẩn nghi ngờ gây bệnh: chủng được nuôi hoạt hóa trong môi trường dịch thể TSB 1/5 (thành phần giống môi trường TSA 1/5 nhưng không có agar), lắc ở 180 vòng/phút, 28°C trong 24 h, mật độ tế bào đạt $\geq 10^7$ CFU/ml. Tạo 2 vết thương dài 4 - 5 mm trên vỏ quả chuối bằng kim tiêm vô trùng, sau đó dùng tăm bông vô trùng thấm dịch huyền phù tế bào và bôi lên các vết thương.

- Đối với mẫu đối chứng: thực hiện các bước tương tự nhưng thay mẫu chứa vi sinh vật bằng môi trường vô trùng, cụ thể là thỏi thạch PDA trong thí nghiệm đối với nấm và môi trường TSB 1/5 trong thí nghiệm đối với vi khuẩn.

Thực hiện thí nghiệm lặp lại trên 3 quả chuối đối với mỗi chủng vi sinh vật thử nghiệm. Quả chuối sau đó được bọc bằng màng bọc thực phẩm, ủ ở 25°C. Mẫu đối chứng và mẫu thí nghiệm của mỗi chủng vi sinh vật được tách riêng để tránh lây nhiễm chéo. Theo dõi sự phát triển của bệnh và mô tả triệu chứng bệnh trong 1 - 2 tuần [6]. Các chủng vi sinh vật được ghi nhận là tác nhân gây bệnh khi (i) tạo ra vết thương tổn lớn hơn rõ rệt so với đối chứng và (ii) có biểu hiện bệnh tương tự so với mẫu bệnh ban đầu.

2.2.3. Định danh các chủng nấm bệnh

Tên khoa học của các chủng nấm bệnh được xác định dựa trên đặc điểm hình thái (khuẩn lạc và bào tử) và so sánh trình tự vùng ITS của gen 18S rDNA với các loài đã công bố.

Mô tả đặc điểm hình thái: các chủng nấm được cấy trên đĩa thạch PDA, ủ ở 28°C trong 5 - 7 ngày. Quan sát màu sắc, cấu trúc khuẩn lạc dưới kính lúp Stemi 2000 C (Zeiss). Dùng que cấy vô trùng tách và đưa khuẩn lạc nấm lên lam kính có sẵn dung dịch nhuộm bào tử LPCB, đẩy lamén và dùng tay ấn nhẹ vào giữa lam kính. Quan sát và chụp ảnh bào tử dưới kính hiển vi soi nổi (Zeiss).

So sánh trình tự vùng ITS của gen 18S rDNA: DNA tổng số của các chủng nấm được tách chiết sử dụng bộ kit EZ-10 Spin Column Fungal Genomic DNA (Biobasic, Canada). Vùng ITS của gen 18S rDNA được khuếch đại sử dụng cặp mồi ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') và ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') [15]. Thành phần cho phản ứng PCR với tổng thể tích 50 µl bao gồm: 10 µl đệm 5×, MgCl₂ 1,25 mM, deoxynucleoside triphosphate dNTP 0,25 mM mỗi loại, mồi xuôi và mồi ngược 40 pmol mỗi loại, *Taq* DNA polymerase (Promega) 1,25 U, template DNA (10 ng/µl) 2 µl. Chu trình nhiệt như sau: 94°C 5 phút, (35 chu kỳ: 94°C 30 giây, 55°C 30 giây, 72°C 1 phút), 72°C 4 phút. Sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel agarose 1,5%, tinh sạch bằng bộ kit *AccuPrep*® PCR/Gel Purification Kit (Bioneer, Korea), và giải trình tự. Trình tự gen sau đó được phân tích, so sánh với trình tự ITS-18S rDNA của các loài có liên quan hiện đã công bố trên GenBank sử dụng công cụ BLAST Search. Các trình tự sau đó được đăng ký trên GenBank.

2.2.4. Xử lý số liệu

Số liệu điều tra và dữ liệu thí nghiệm thu thập được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel và biểu đồ được vẽ bằng Sigma Plot.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hiện trạng sản xuất chuối ở Phú Thọ, Hưng Yên và Gia Lai

Khảo sát được thực hiện trên 47 vườn chuối với tổng diện tích là 142 360 m². Theo kết quả điều tra, quy mô canh tác chuối ở Phú Thọ và Hưng Yên rất đa dạng, phụ thuộc vào quỹ đất và định hướng canh tác của từng hộ gia đình. Ở tỉnh Phú Thọ, quy mô canh tác ở mức trên 3,0 ha/hộ không cao, chiếm 16,7%. Số hộ có quy mô canh tác từ 1,0 đến dưới 2,0 ha/hộ và từ 2,0 đến 3,0 ha/hộ tương đương nhau (chiếm tỷ lệ tương ứng là 29,2% và 25,0%). Như vậy, quy mô canh tác chuối ở Phú Thọ chủ yếu là sản xuất tập trung, chỉ có khoảng 1/3 là theo phương thức nhỏ lẻ. Trong khi ở tỉnh Hưng Yên, tất cả các hộ được điều tra đều sản xuất mang tính nhỏ lẻ với quy mô canh tác dưới 1,0 ha/hộ (Bảng 1). Giống chuối Tiêu hồng được trồng chủ yếu ở cả hai tỉnh, chiếm 70,8% diện tích canh tác được điều tra ở Phú Thọ và 100% diện tích canh tác được điều tra ở Hưng Yên, năng suất trung bình đạt 36 - 39 tấn/ha.

Tại Gia Lai, chuối được canh tác theo mô hình trang trại với diện tích lớn, từ 46 - 200 ha. Đây là vùng chuyên canh chuối Nam Mỹ phục vụ xuất khẩu, chủ yếu xuất sang thị trường Trung Quốc và Hàn Quốc. Cây chuối được trồng trên đất đỏ bazan cho thu hoạch quanh năm với năng suất trung bình 40 - 45 tấn/ha.

Bảng 1. Hiện trạng canh tác chuối ở các tỉnh Phú Thọ, Hưng Yên và Gia Lai

Thông tin điều tra		Phú Thọ	Hưng Yên	Gia Lai
Quy mô canh tác	< 1,0 ha	29,2%	100%	
	Từ 1,0 - 2,0 ha	25,0%		
	Từ 2,0 - 3,0 ha	29,2%		
	> 3,0 ha	16,7%		100%
Phương thức canh tác	Chuyên canh	100%	100%	100%
	Đan xen			
Giống chuối	Tiêu xanh	25,0%		
	Tiêu hồng	70,8%	100%	
	Tiêu tây thái	41,6%		
	Chuối Nam Mỹ			100%
Mật độ (cây/ha)	Tiêu xanh	2300 - 2500		
	Tiêu hồng	2100 - 2500	2.500	
	Tiêu tây thái	1600 - 1800		
	Chuối Nam Mỹ			1800
Năng suất trung bình (tấn/ha)		36,3	39,8	41,6
Xử lý sau thu hoạch	Bao nylon	100%	100%	100%
	Bảo quản lạnh			100%
Tỷ lệ chuối bị loại		15,6%	14,8%	20,0%

Tại các vườn chuối được điều tra ở Hưng Yên và Phú Thọ, tỷ lệ chuối bán cho thương lái tương ứng là 100% và 74%. Một số hộ thực hiện canh tác và thu hoạch theo tiêu chuẩn VietGAP, bao gồm bọc buồng, xử lý thuốc chống nấm và bảo quản lạnh để xuất khẩu. Tuy nhiên, phần lớn các hộ chỉ áp dụng bọc buồng chuối trong bao nylon và đưa đến địa điểm tập kết, khó thống kê chính xác tỷ lệ chuối bị hỏng do dập nát khi vận chuyển hay do vi sinh vật gây bệnh. Trái lại, quy trình canh tác và thu hoạch chuối ở Gia Lai được thực hiện theo quy trình VietGAP (và tương đương), tỷ lệ chuối loại 1 đạt tiêu chuẩn xuất khẩu đạt khoảng 80%.

3.2. Các bệnh hại sau thu hoạch trên giống chuối Tiêu hồng và chuối Nam Mỹ ở Việt Nam

Đối với giống chuối Tiêu hồng trồng ở hai tỉnh Phú Thọ và Hưng Yên, bệnh thối quả (fruit rot) là bệnh phổ biến nhất, sau đó là bệnh đốm quả (fruit spot), với tỷ lệ lần lượt là 79,1% và 75,5%. Hai bệnh này thường phát triển ở giai đoạn chuối

trưởng thành và đang trong quá trình thu hoạch. Một số ít nông hộ có ghi nhận bệnh nứt vỏ và bệnh thối xì gà (dưới 5%) trên quả chuối. Các bệnh hại do nấm gây ra được ghi nhận nhiều nhất gồm bệnh thối quả với biểu hiện là các tổn thương màu nâu đen, lõm sâu, kích thước 2 - 20 mm trên vỏ (Hình 1A) và bệnh đốm quả với biểu hiện là các đốm nhỏ lan rộng trên bề mặt quả (Hình 1B).

Tại tỉnh Gia Lai, giống chuối Nam Mỹ được sản xuất tập trung trong các trang trại với diện tích có nơi lên tới 200 ha. Bệnh đốm quả được phát hiện ở tất cả các trang trại điều tra với mức độ khác nhau, nặng nhất là vào mùa mưa, làm thất thu 5-20% sản lượng. Bệnh xuất hiện vào thời điểm sau khi cắt hoa và râu chuối khoảng 15 ngày. Ngoài ra, thối hỏng do bọ vẽ cũng là một trong những nguyên nhân ảnh hưởng đến năng suất chuối, tỷ lệ xuất hiện trong các trang trại lên tới 66,6%. Đốm quả trên giống chuối Tiêu hồng (Hình 1B) có kích thước lớn hơn so với trên giống chuối Nam Mỹ (Hình 1C).



Hình 1. Các bệnh do vi sinh vật được ghi nhận trên hai giống chuối Tiêu hồng và Nam Mỹ tại các địa phương được điều tra: Bệnh thối quả (A); bệnh đốm quả (B, C); bệnh nứt vỏ (D); bệnh thối xì gà (E)

Chuối bị bệnh thối quả hay đốm quả có thể vẫn tiêu thụ được ở thị trường trong nước với giá thấp, nhưng hoàn toàn không thể xuất khẩu. Nhiều trang trại thực hiện việc loại riêng chuối bệnh và sử dụng làm thức ăn chăn nuôi hoặc ủ làm phân bón. Tuy nhiên, việc sử dụng quả chuối bệnh làm phân bón có thể dẫn đến việc mầm bệnh lưu cữu trong đất và nguồn nước.

Chuối từ vườn tại Phú Thọ và Hưng Yên được thương lái thu mua và mang đi tiêu thụ, thông tin được thu thập một cách không hệ thống ở một số địa điểm tập kết chưa chỉ ra các bệnh sau thu hoạch. Ngược lại, ở Gia Lai chuối được canh tác chuyên canh trong các trang trại lớn, có dây chuyền thu hoạch và xử lý chuối thương phẩm. Kết quả điều tra cho thấy, hầu như không ghi nhận bệnh hại trong quá trình bảo quản tại kho lạnh, chứng tỏ quy trình xử lý chuối thương phẩm có hiệu quả tốt.

Nghiên cứu khảo sát đã cho thấy giống chuối Nam Mỹ ở Gia Lai ít bị bệnh do vi sinh vật hơn so với giống chuối Tiêu hồng trồng ở các tỉnh Phú Thọ và Hưng Yên. Nguyên nhân được cho là đa yếu tố, gồm (i) tính nhạy cảm bệnh khác nhau của hai giống cây trồng, (ii) các yếu tố về khí hậu (nhiệt độ và độ ẩm), và (iii) các yếu tố công nghệ như canh tác, thu hoạch và bảo quản sau thu hoạch.

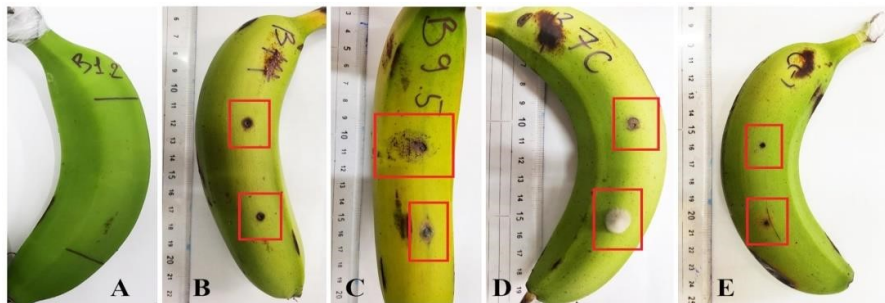
3.3. Xác định các tác nhân vi sinh vật gây bệnh

Từ 14 mẫu chuối bệnh thu thập tại các khu vực được điều tra đã phân lập được tổng số 24 chủng nấm và 37 chủng vi khuẩn. Số chủng nấm và vi khuẩn phân lập được từ mẫu bệnh đốm quả tương ứng là 6 và 8 chủng ở giống chuối Tiêu hồng, 9 và 3 chủng ở giống chuối Nam Mỹ. Trong khi đó, từ mẫu bệnh nứt vỏ của giống chuối Tiêu hồng, đã phân lập được 6 chủng nấm và 20 chủng vi khuẩn. Số lượng chủng nấm và vi khuẩn được phân lập từ các mẫu bệnh thối xì gà và bệnh thối quả thấp hơn rõ rệt so với mẫu bệnh đốm quả và bệnh nứt vỏ (Bảng 2).

Bảng 2. Kết quả phân lập nấm và vi khuẩn từ các mẫu chuối bệnh đã thu thập

Mẫu chuối bệnh	Số chủng nấm phân lập		Số chủng vi khuẩn phân lập	
	Giống chuối Tiêu hồng	Giống chuối Nam Mỹ	Giống chuối Tiêu hồng	Giống chuối Nam Mỹ
Đốm quả	6	9	8	3
Nứt vỏ	6		20	
Thối xì gà	2		5	
Thối quả	1		1	
Tổng số	15	9	34	3

Các chủng vi sinh vật phân lập từ các mẫu chuối bệnh có thể là các tác nhân gây bệnh, do đó cần đánh giá khả năng gây bệnh của chúng trên quả chuối lành lặn (theo định đề Koch). Kết quả sau 10 ngày lây nhiễm nhân tạo cho thấy, chưa phát hiện chủng vi khuẩn nào thực sự gây bệnh, trong khi 17/24 chủng nấm (chiếm tỷ lệ 70,8% tổng số chủng nấm) gây các vết tổn thương cho vỏ quả chuối với mức độ khác nhau, kích thước vùng tổn thương dao động từ 3 mm đến 14 mm (Hình 2).



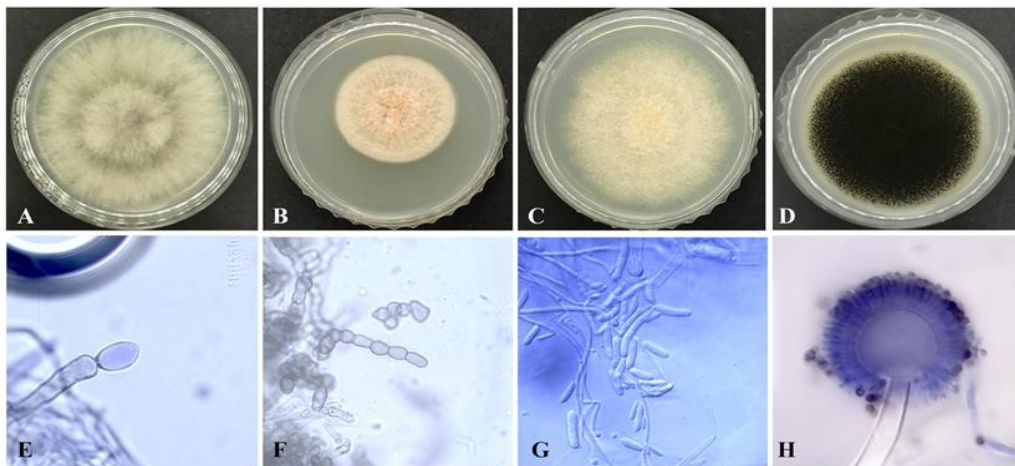
Hình 2. Lây nhiễm nhân tạo các chủng nấm trên quả chuối: Quả chuối chưa lây nhiễm (A); Các vết thương tổn sau 10 ngày lây nhiễm (B, C, D); Đối chứng (E)

Bốn chủng nấm có ký hiệu B2B, B6, B13F và GL2.1 gây bệnh thối quả với biểu hiện bệnh rõ ràng nhất trên quả chuối so với đối chứng và mẫu bệnh ban đầu. Các chủng nấm này được tập trung phân tích trình tự vùng ITS của gen 18S rDNA cũng như đặc điểm hình thái khuẩn lạc và bào tử để định danh khoa học. Kết quả giải trình tự gen 18S rDNA (kích thước 500 - 600 bp) của 4 chủng và so sánh với

các trình tự đã có trên GenBank cho thấy, chủng B2B có trình tự gen 18S rDNA tương đồng 99,64% với loài *Corynespora torulosa*, chủng B6 tương đồng 99,80% với loài *Microdochium colombiense*, chủng B13F tương đồng 99,62% với loài *Fusarium circinatum* và chủng GL2.1 tương đồng 100% với loài *Aspergillus niger*. So sánh hình thái khuẩn lạc và bào tử của 4 chủng nấm (B2B, B6, B13F và GL2.1) cho thấy 4 chủng này có đặc điểm tương tự như 4 loài tương ứng đã được so sánh trình tự gen 18S rDNA trên GenBank (Bảng 3, Hình 3).

Bảng 3. Đặc điểm hình thái của 4 chủng nấm gây bệnh thối quả

Ký hiệu chủng	Hình thái khuẩn lạc	Hình thái bào tử
B2B	Khuẩn lạc hình tròn hoặc hơi đa giác, kết cấu dày với mép nhẵn, bề mặt có màu xám và mặt sau có màu nâu sẫm (Hình 3A)	Bào tử dài, đơn, hình trụ thuôn dài nhọn về phía đỉnh, thẳng hoặc hơi cong, màu nâu nhạt, nhẵn, có vách ngăn và không phân nhánh (Hình 3E)
B6	Khuẩn lạc hình tròn, mép đều và nhẵn, kết cấu dày, bề mặt có màu hồng nhạt ở trung tâm, xung quanh màu nhạt dần (Hình 3B)	Bào tử dạng chuỗi, hình cầu hoặc hình trụ, không vách ngăn, phân nhánh (Hình 3F)
B13F	Khuẩn lạc có sợi trắng, bề mặt mỏng, mép không đều (Hình 3C)	Bào tử thẳng hoặc hơi cong, đầu tù, có vách ngăn dày (Hình 3G)
GL2.1	Khuẩn lạc tròn, viền xung quanh là sợi nấm màu xanh đen, mỏng, càng vào tâm bề mặt càng dày và có màu đen (Hình 3D)	Bào tử thẳng hoặc hơi cong, đầu tù, có vách ngăn dày (Hình 3H)



Hình 3. Hình thái khuẩn lạc và bào tử của 4 chủng nấm gây bệnh thối quả trên đĩa thạch PDA sau 7 ngày nuôi cấy ở 28°C, quan sát dưới kính hiển vi soi nổi (độ phóng đại 100×): *Corynespora torulosa* B2B (A, E); *Microdochium colombiense* B6 (B, F); *Fusarium circinatum* B13F (C, G); *Aspergillus niger* GL2.1 (D, H)

Dựa trên kết quả phân tích đặc điểm hình thái và so sánh trình tự ITS của gen 18S rDNA, 4 chủng nấm gây bệnh thối quả này được đặt tên là *Corynespora torulosa* B2B, *Microdochium colombiense* B6, *Fusarium circinatum* B13F và *Aspergillus niger* GL2.1. Trình tự ITS gen 18S rDNA của 4 chủng nấm này đã được đăng ký trên GenBank với các mã số lần lượt là OP855524, OP855525, OP855526 và OP855527.

Bệnh thối quả và các tác nhân gây bệnh chưa được quan tâm nghiên cứu ở Việt Nam. Đây là công bố đầu tiên ghi nhận các chủng nấm gây bệnh thối quả trên chuối ở nước ta. Liên quan đến giống chuối Tiêu hồng, ba loại nấm bệnh đã được xác định là tác nhân gây bệnh thối quả, gồm *Fusarium circinatum* B13F, *Corynespora torulosa* B2B, và *Microdochium colombiense* B6. *Fusarium* spp. được phát hiện là mầm bệnh chủ đạo trên quả chuối sau thu hoạch, điển hình là *F. verticillioideus* [7, 16]. Loài *F. circinatum* thường được biết đến là tác nhân gây bệnh thối rễ trên cây thông và một số loài cỏ, nhưng gần đây đã được ghi nhận gây ra triệu chứng thối quả trên chuối do sản sinh các độc tố khác nhau như fumonisin, zearalenone và deoxynivalenol [17]. Loài *Corynespora torulosa* cũng đã được báo cáo gây bệnh thối quả trên chuối [5]. Các loài thuộc chi *Microdochium* chủ yếu được báo cáo là tác nhân gây bệnh cháy lá cây và hạt ngũ cốc [18]. *M. colombiense* phân lập trong nghiên cứu này là trường hợp đầu tiên được ghi nhận về tác hại gây bệnh thối quả trên chuối.

Liên quan đến giống chuối Nam Mỹ, chỉ có một loại nấm gây bệnh *Aspergillus niger* GL2.1 được xác định. *Aspergillus* spp. được phát hiện với tỷ lệ thấp trong số các chủng nấm bệnh gây bệnh sau thu hoạch trên quả chuối và chưa thu hút được sự quan tâm của các nhà khoa học [7]. Gần đây, Zakaria đã xác định *A. tamarii* là tác nhân gây ra các triệu chứng thối nặng trên quả chuối khi đã có vết thương [19]. Chủng nấm *Aspergillus niger* GL2.1 gây bệnh thối quả trong nghiên cứu này là báo cáo tiếp theo sau các tác giả Sani và Kasim liên quan đến *Aspergillus* spp. gây bệnh sau thu hoạch trên chuối [20].

Các chủng nấm gây bệnh đã được xác định về phân loại, có thể sử dụng làm chủng chuẩn phục vụ công tác kiểm định, sàng lọc các tác nhân sinh học (bao gồm cả vi sinh vật) có hoạt tính đối kháng để phát triển chế phẩm sinh học bảo quản chuối sau thu hoạch. Trong nghiên cứu này, các tác nhân gây các bệnh khác đã được ghi nhận trong điều tra như bệnh đốm quả, bệnh thối đầu quả chưa được phân lập thành công. Tuy nhiên, khảo sát mới chỉ được thực hiện trong một vụ chuối nên có thể chưa đánh giá được các bệnh một cách chính xác. Mặc dù vậy, thông tin khảo sát và các thí nghiệm thực hiện trong nghiên cứu này là những kết quả bước đầu về bệnh sau thu hoạch trên hai giống chuối xuất khẩu chính ở Việt Nam, có ý nghĩa quan trọng đối với việc phát triển giải pháp phòng trị bệnh bằng biện pháp sinh học.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

- Khảo sát thực hiện trên hai giống chuối xuất khẩu chính của Việt Nam là chuối Tiêu hồng (*Musa acuminata*) và chuối Nam Mỹ (*Musa paradisiaca*) cho thấy bệnh sau thu hoạch do vi sinh vật gây ra đa dạng và có ảnh hưởng nặng hơn trên giống Tiêu hồng. Bệnh đốm quả ghi nhận trên cả hai giống chuối. Bệnh thối quả, nứt vỏ và thối xì gà chỉ ghi nhận trên giống chuối Tiêu hồng.

- Đã phân lập được 24 chủng nấm và 37 chủng vi khuẩn từ các mẫu chuối bị bệnh thu thập được. Thí nghiệm lây nhiễm nhân tạo đã xác định được 17 chủng nấm gây tổn thương trên quả chuối lành lặn, trong đó có 4 chủng nấm gây các vết tổn thương rõ rệt tương đồng với biểu hiện bệnh thối quả ban đầu. Không có chủng vi khuẩn phân lập nào gây tổn thương và có biểu hiện bệnh trên quả chuối. Kết quả nghiên cứu bước đầu cho thấy nấm là tác nhân chính gây các bệnh sau thu hoạch ở chuối.

- So sánh đặc điểm hình thái khuẩn lạc, bào tử và trình tự ITS của gen 18S rDNA đã xác định được 4 chủng nấm gây bệnh thối quả chuối và được định danh là *Corynespora torulosa* B2B, *Microdochium colombiense* B6, *Fusarium circinatum* B13F và *Aspergillus niger* GL2.1. Trình tự ITS gen 18S rDNA của 4 chủng nấm này đã được đăng ký trên GenBank với các mã số lần lượt là OP855524, OP855525, OP855526 và OP855527.

Đề nghị

Tiến hành sàng lọc tìm kiếm các vi sinh vật đối kháng với các chủng nấm gây bệnh đã xác định, hướng tới phát triển chế phẩm sinh học phòng bệnh thối quả.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được hỗ trợ từ nhiệm vụ Điều tra cơ bản năm 2021, Đại học Quốc gia Hà Nội, mã số SNKT 2021.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. FAO, *Markets and Trade: Bananas*, 2019, <https://www.fao.org/markets-andtrade/commodities/bananas/en/>.
2. Cục Trồng trọt, *Báo cáo thống kê*, Bộ NN&PTNT, 2019.
3. Valmayor R. V., Jamaluddin S. H., Silayoi B., Kusumo S., Danh L. D., Pascua O. C., Espino R. R. C., *Banana cultivar names and synonyms in Southeast Asia*, In (eds.), *Advancing Banana and Plantain R and D in Asia and the Pacific*, Los Banos, Laguna, Philippines, 2000, pp. 55.
4. Ploetz R., *Banana diseases in the subtropics: a review of their importance, distribution and management*, Acta Hort., 1998, **490**:263-276.
5. Almenares M., Perez-Vicente L., *Speckle by Corynespora torulosa (Syd.) Crous: a pre-harvest fruit disease of Musa spp. in Cuba*, Revista de Protección Vegetal, 2019, **34**:e06.
6. Ara I., Rizwana H., Al-Othman M. R., Bakir M. A., *Studies of actinomycetes for biological control of Colletotrichum musae pathogen during post-harvest anthracnose of banana*, Afr. J. Microbiol. Res., 2012, **6**:3879-3886.
7. Alvindia D. G., *An integrated approach with hot water treatment and salt in the control of crown rot disease and preservation of quality in banana*, Int. J. Pest. Manag., 2013, **59**:271-278.
8. Blomme G., Dita M., Jacobsen K. S., Vicente L. P., Molina A., Ocimati W., Poussier S., *Bacterial diseases of bananas and enset: Current state of knowledge and integrated approaches toward sustainable management*, Front. Plant. Sci., 2017, **8**, <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01290>.

9. Zhang Y., Liu F., Wang B., Qiu D., Liu J., Wu H., Cheng C., Bei X., Lü P., *First report of Burkholderia cepacia causing finger-tip rot on banana fruit in the Guangxi province of China*, Plant. Dis., 2022.
10. Le Thi Loan, Mertens A., Vu D. T., Vu T. D., Pham L. A. M., Nguyen D. H., de Backer S., Swennen R., Vandeloock F., Panis B., Amalfi M., Decock C., Gomes S. I. F., Merckx V. S. F. T., Jassens S. B., *Diversity of Fusarium associated banana wilt in Northern Vietnam*, Mycokeys, 2022, **87**:53-76.
11. Kitinoya L., Kader A. A., *Measuring postharvest losses of fresh fruits and vegetables in developing countries*, The Postharvest Education Foundation, 2015, **15**:26.
12. Feudenberger K. S., *Rapid Rural Appraisal (RRA) and Participatory Rural Appraisal (PRA) - A manual for CRS field workers and partners*, www.crs.org.
13. Grahovac J., Grahovac M., Dodić J., Bajić B., Balaž J., *Optimization of cultivation medium for enhanced production of antifungal metabolites by Streptomyces hygroscopicus*, Crop. Protec., 2014, **65**:143-152.
14. Rombouts S., Van Vaerenbergh J., Volckaert A., Baeyen S., De Langhe T., Declercq B., *Isolation and characterization of Pseudomonas syringae pv. porri from Leek in Flanders*, Eur. J. Plant. Pathol., 2015, **144**:185-198.
15. White T. J., Bruns T. D., Lee S. B., Taylor J. W., *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics*, In Innis M. A. G. D. H., Sninsky J. J., White T. J., (eds.), *PCR Protocols: A Guide to methods and applications*, Academic Press, New York, 1990, pp. 315-322.
16. Salem N. M., Almomany A. M., Tahat M. M., Aldaki H., *First report of Fusarium verticilloides causing banana fruit rot in Jordan*, Plant Dis, 2020, **104**:12.
17. Alghuthaymi M., Alshehri W. A., Al-Maary K. S., Bahkali N. A., AlKahtani M. D. F., Alarfa A. A., Alnadhari S., Ameen F., *Mycotoxigenicity of Fusarium isolated from banana fruits: Combining phytopathological assays with toxin concentrations*, J. King. Saud. Univ. Sci., 2020, **32**:1482-1485.
18. Gagkaeva T. Y., Orina A. S., Gavrilova O. P., Gogina N. N., *Evidence of Microdochium fungi associated with cereal grains in Russia*, Microorganisms, 2020, **8**(3):340.
19. Zakaria L., *Diversity of Colletotrichum species associated with anthracnose disease in tropical fruit crops - A review*, Agriculture, 2021, **11**(4):297,
20. Sani M. A., Kasim M., *Isolation and identification of fungi associated with postharvest deterioration of banana (Musa paradisiaca L.)*, Pharmacologyonline, 2019, **2**:347-354.

SUMMARY

SURVEYING POSTHARVEST DISEASES ON THE Tieu hong (*Musa acuminata*) AND THE SOUTH-AMERICAN (*Musa paradisiaca*) BANANA CULTIVARS IN VIETNAM

The survey implemented in the 2021 winter season on the Tieu hong banana cultivar (*Musa acuminata*) grown in Phu Tho and Hung Yen provinces showed that the most severe diseases were fruit rot and fruit spot with infection rates of 79.1% and 75.5%, respectively. Peel cracking and end rot (cigar rot) were also recorded at less than 5.0%. Fruit spot was the main disease that affected the South-American banana cultivar (*Musa paradisiaca*) during the 2022 spring-summer season in Gia Lai province.

Of the 24 fungal and 37 bacterial strains isolated from the disease samples collected during the investigation and tested for their pathogenicity via artificial infection on healthy bananas, only 17 fungal strains showed the ability of lesion formation of which 4 strains caused typical symptoms of the fruit rot disease. There was not a single bacterial strain ascertained as phytopathogen indicating that fungi were the primary agents of post-harvest diseases on bananas. These four fungal strains were taxonomically characterized based on their morphology (colony and spore), comparative analysis of the ITS sequences of the 18S rDNA gene, and were then identified as *Corynespora torulosa* B2B, *Microdochium colombiense* B6, *Fusarium circinatum* B13F, and *Aspergillus niger* GL2.1. The ITS sequences of these strains were deposited to GenBank under the accession numbers OP855524, OP855525, OP855526, and OP855527, respectively.

Keywords: *Banana, fruit rot, fruit spot, postharvest diseases, pathogenic bacteria and fungi, chuối, bệnh thối quả, bệnh đốm quả, bệnh hại sau thu hoạch, vi khuẩn và nấm gây bệnh.*

Nhận bài ngày 15 tháng 10 năm 2022

Phản biện xong ngày 22 tháng 11 năm 2022

Hoàn thiện ngày 01 tháng 12 năm 2022

⁽¹⁾ Viện Vi sinh vật và Công nghệ sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội

⁽²⁾ Viện Bảo vệ thực vật, Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn

Liên hệ: **Nguyễn Thị Hiếu Thu**

Viện Vi sinh vật và Công nghệ sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội

Điện thoại: 0934579181; Email: hieuthu5106@gmail.com