

XÁC ĐỊNH HỆ NẤM MỐC TRÊN MỘT SỐ TRÁI CÂY Ở VIỆT NAM

ĐẶNG VŨ HỒNG MIỀN,
CHÂU NGỌC HẢI, LÊ THỊ BẢO TRÚC

Phân viện Công nghệ sau Thu hoạch, Tp. Hồ Chí Minh

Việt Nam ta có nhiều loại trái cây, thường gọi là “trái cây nhiệt đới” rất được ưa chuộng vì mùi vị đặc sắc như: xoài, nhãn, vải thiều, dứa, dưa, thanh long, măng cụt, sầu riêng, chôm chôm....

Những năm gần đây, ta đã xuất khẩu một số trái cây đặc sản của Việt Nam như: xoài, nhãn, vải thiều và mới đây là trái thanh long.

Khí hậu nước ta là khí hậu nhiệt đới nóng ẩm, quanh năm nhiệt độ trên 20°C đến 35°C (hoặc hơn) (trừ vài tháng mùa lạnh và khô ở miền Bắc) và độ ẩm tương đối không khí (RH%) thường xuyên trên 80%, nhiều khi trên 90%. Điều kiện nóng ẩm như vậy rất thích hợp cho nấm mốc phát triển. Do đó, trái cây dù để tiêu thụ trong nước hay xuất khẩu, dù ở dạng tươi hay dạng đã chế biến, thường bị các vi sinh vật, đặc biệt là nấm mốc, làm hư hỏng thối rữa, ảnh hưởng xấu đến chất lượng và giá trị thương phẩm của trái cây.

Vấn đề đặt ra là cần phải biết các nấm mốc nào đã phát sinh trên trái cây và gây hỏng trái cây, đặc tính sinh học của chúng ra sao, có sinh độc tố hay không, để trên cơ sở đó nghiên cứu các biện pháp xử lý thích hợp cho từng giai đoạn trước và sau thu hoạch.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Mục đích và yêu cầu

Là phải xác định được hệ nấm mốc trên từng loại trái cây, định được tên khoa học các loại nấm ủaon loài (species), có bảng mô tả kỹ càng để lưu trữ, theo dõi, tra cứu và phải bảo quản chúng trong điều kiện thích hợp để hoạt tính của chúng giữ nguyên trong thời gian dài, để các nhà khoa học và công nghệ học khi cần thiết có thể nghiên cứu sâu hơn về các đặc tính sinh học của chúng, như có sinh độc tố hay không, sinh độc tố nào, có những hoạt chất gì (enzim, axit

hữu cơ, kháng sinh...), các hoạt chất đó có lợi hoặc bất lợi, cũng như điều kiện sinh thái của chúng như nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, sự hô hấp, dạng sống ký sinh, hoại sinh hay cộng sinh... từ đó có những biện pháp sử dụng hoặc phòng chống thích hợp.

2. Đối tượng

Căn cứ điều kiện thực tế của phòng thí nghiệm, chúng tôi hạn chế phạm vi nghiên cứu trong 4 loại trái cây có giá trị kinh tế và tiềm năng xuất khẩu tương đối lớn, đó là các loại trái cây thanh long (*Hylocereus undatus* (Haw.) Britt & Rose), xoài (*Mangifera indica* L.), nhãn (*Dimocarpus longan* Lour.) và vải thiều (*Litchi chinensis* Sonn.)

3. Tình hình nghiên cứu vấn đề trong và ngoài nước

Theo những tài liệu mà chúng tôi thu thập được, trước đây vấn đề hệ nấm mốc trên trái cây chưa được chú ý lắm. Chừng vài chục năm trở lại đây, cùng với sự phát triển của môn học về độc tố nấm, người ta đã chú ý đến các hệ nấm mốc trên hệ trái cây hơn.

Tuy nhiên chúng tôi chưa có được tư liệu về kết quả nghiên cứu trong nước, còn ở nước ngoài, số tài liệu được công bố, ít ra là về 4 loại quả đối tượng nghiên cứu của chúng tôi cũng rất ít ỏi.

Dưới đây chúng tôi xin lược lại những kết quả đã công bố đó.

Ở nước ngoài:

- *Trên cây xoài* (*Mangifera indica* L.): một loài nấm được nhiều tác giả nêu lên là *Colletotrichum gloeosporioides* (Daykin et Milholland (1984); Lise Korsten và cs., (1993); Johnson G. I. và cs., 1994; Farungsang và cs., 1994).

Tiếp đó là giống (genus) *Dothiorella* sp. và một số loài và giống khác: *Anastrophia distincta*, *A. fraterculus*, *A. ludens*, *A. obliqua*, *A. serpentine*, *A. suspensa* (Heather N. W. 1993), *Pestaliopsis* sp., *Ladiodiphodia theobromae*, *Phomopsis mangiferae*, *Cytopharia mangiferae* (Johnson G. I. và cs., 1994).

- **Trên cây vải** (*Litchi chinensis* Sonn): ở Bengan, các tác giả Úc và Thái Lan đã phân lập từ quả vải: *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. acutatum*, *Curvularia* sp., *Dothiorella dominicana*, *D. mangeriferae*, *Fusarium* sp., *Ladiodiplodia* sp., *Pestaliopsis* sp., *Phoma* sp., *Stemphylium* sp. (Sittigul C. et al., 1994). Ở Ấn Độ: đã gặp *Aspergillus* spp., *Botryodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Cylindrocarpum tonkinense*, *Fusarium* spp., *Penicillium lilacinum*, *Pestaliopsis* sp., *Stemphylium* sp. (Prasad S. S. et Bilgrami R. S., 1973), *Phomopsis* sp., *Penicillium* sp., *Pestaliopsis* sp., *Colletotrichum gloeosporioides* (Tandon et Tandon 1975); *Botryodiplodia* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., *Pestalotia* sp. (Sittigul và cs., 1994)

- **Trên cây nhãn** (*Dimocarpus longan* Lour): Bruce Peacock (1998) đã nêu *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *A. nidulans*, *A. niger*, *A. varicolor*, *Botryodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium* spp., *Penicillium lilacinum*, *Pestalotiopsis paucisetata*.

- **Trên thanh long** (*Hylocereus undatus* (Haw) Britt et Rose): vì chỉ có ở nước ta (gần đây lan sang vài nước lân cận) và mới được chú ý nên chưa có kết quả công bố.

Ở trong nước:

Chúng tôi chưa thấy có tài liệu công bố trên 4 loại trái cây ta nghiên cứu.

4. Phương pháp

a. Hệ thống phân loại

Để phân loại nấm mốc, có nhiều phương pháp như: phương pháp hình thái học (thực hiện từ nhiều thập niên), phương pháp sinh lý sinh hóa (Roquebert, 1964), phương pháp phân tử học dựa trên cấu trúc DNA để sắp xếp các nhóm nấm, tìm các quan hệ họ hàng giữa chúng.

Tuy nhiên cho đến nay, phương pháp hình thái học vẫn được các cơ sở nghiên cứu lớn ở khắp nơi, như Trung tâm CBS (Centraal Bureau Voor Schimmelcultures) ở Hà Lan, hay viện Nấm học Quốc tế (International mycological Institut, IMI) ở nước Anh, cũng như ở Australia, Tiệp Khắc (cũ), Trung Quốc và Nhật Bản....

Trên thực tế những sách viết về phân loại nấm xuất bản khoảng mấy năm gần đây vẫn dùng phương pháp này và người ta cho rằng các phương pháp sinh lý sinh hóa, phân tử học chỉ cần khi làm với phương pháp hình thái còn có chỗ không rõ ràng, cần nghiên cứu kỹ hơn về những đặc điểm sinh lý sinh hoá hoặc cấu trúc DNA. Các phương pháp này không thay thế mà bổ sung cho phương pháp hình thái.

Vì vậy, chúng tôi vẫn dùng phương pháp hình thái với các đề tài nghiên cứu hệ nấm mốc ở Việt Nam.

Về hệ thống phân loại, sắp xếp các loài vào các nhóm, chúng tôi sử dụng các khóa phân loại trong Ainsworth and Bisby's Dictionary of the fungi (Hawsworth D. L. và cs., 1995) và CBS Course of Mycology (W. Gams và cs., 1987).

Để định tên cụ thể đến loài (species) thì sử dụng các chuyên khảo hoặc tư liệu lẻ công bố trên các tạp chí chuyên ngành về nấm học (Tạp chí Mycologia (Mỹ), Bulletin trimestriel de la Société mycologique de France (Pháp), Bulletin of the British mycological Society, Mycological Papers (Anh), Revue de mycologie (Pháp)....

b. Môi trường nuôi nấm

Môi trường Czapek: cho các *Aspergillus* và *Penicillium*:

Đường saccharoza:	30 g,
NaNO ₃ :	3 g
K ₂ HPO ₄ :	1 g
KCl:	0,5 g
MgSO ₄ .7H ₂ O:	0,05 g
FeSO ₄ .7H ₂ O:	0,01 g
Nước cất vừa đủ:	1000 ml
Thạch:	15 g
pH =	6,2 ± 2

Môi trường PDA: cho các Fungi imperfecti nói chung.

Khoai tây gọt vỏ cắt mỏng 200 g, đun sôi 1 giờ, lọc qua vải thưa.

Dextroza: 20 g (đun cho tan và lọc).

Nước cất vừa đủ: 1000 ml

Thạch: 15 g

Môi trường SMA: cho họ Mucoraceae

Asparagin: 2 g

Dextroza: 40 g

KH₂PO₄: 0,5 g

MgSO₄.7H₂O: 0,25 g

Thiamin clorua: 0,005 g

Thạch: 20 g

Nước cất vừa đủ: 1000 ml

Các môi trường khi chế biến thêm chút kháng sinh để ngăn chặn sự phát triển của vi khuẩn: chloranephenicol 50 ppm (50 mg/l).

Môi trường được hấp khử trùng theo phương pháp thông thường trong nồi hấp ở 1 atm trong 20 - 30 phút (tương đương 121°C).

Ngoài ba môi trường chính trên cũng có khi dùng môi trường CYA tức là môi trường Czapek thêm cao nấm men (30 g/l) để kích thích sinh bào tử trên môi trường Czapek.

c. *Thuốc nhuộm nấm để làm tiêu bản xem trên kính hiển vi*

Xanh cotton: 0,05 g

Axit phenic: 20 g

(phenol tinh thể đun chảy)

Axit lactic: 20 g

Glyxerin: 40 g

Nước cất: 100 ml

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Từ 4 loại thanh long, xoài, nhãn, vải thiều đã phân lập được 142 chủng nấm thuần, đã định tên 130 chủng sau khi trừ các chủng trùng lặp tên, đã ra được 63 tên loài (species). Để dễ tra cứu chúng tôi kê thành 1 bảng theo thứ tự chữ cái, mỗi lần gặp đánh 1 dấu (+).

Kết quả trình bày trên bảng danh mục nấm mốc dưới đây, xếp theo thứ tự chữ cái. Chúng tôi cũng tham khảo các tài liệu về độc tố nấm và ghi chú thêm về tiềm năng sinh độc tố của các loài đã thấy. (Moreau C. 1978; Kozakiewicz Z., 1996; Renata Clark, 2000).

Bảng

Danh mục nấm mốc hay gặp trên 4 loài trái cây

STT	Tên loài nấm	Thanh long	Xoài	Nhãn	Vải thiều	Độc tố có thể có
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
1	<i>Alternaria alternata</i> (Fr) Keissler	++	+			Axit tenuazonic
2	<i>A. cheiranthi</i> (Lib) Boll	+			++	
3	<i>A. plurisepta</i> (Kark & Har) Jortad	+				
4	<i>Aspergillus amstelodami</i> (Mangin) Thom & Church				++	Antraquinon, physion
5	<i>A. awamori</i> Nakazawa	+	+++	++	++	
6	<i>A. carbonarius</i> (Bainier) Thom	+				
7	<i>A. clavato-nanica</i> Batista, Maia & Alcrem				+	
8	<i>A. clavatus</i> Desmazieres			+		Clavaxin, patulin xyclohalasin
9	<i>A. crustosus</i> Raper & Fennell		+			
10	<i>A. ficuum</i> (Reich.) Hennings	++	++			
11	<i>A. flavus</i> Link ex Fr.	+++++	++	+++++	++++	Aflatoxin B ₁ , B ₂ , G ₂ , axit aspergillic, axit kojic, maltorizin, aflatrem
12	<i>A. flavus</i> Link var. <i>columnaris</i> Raper et Fennell	+				
13	<i>A. foetidus</i> (Naka.) Thom et Raper		+		+	
14	<i>A. foetidus</i> var. <i>pallidus</i> Naka. Simo & Watanabe			+		

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
15	<i>A. fumigatus</i> Fresenius		+			Fumagilin, axit helvolic, fumagatan, fumitramorgin
16	<i>A. japonicus</i> Saito		+			
17	<i>A. niger</i> van Tiegh.	++		+	+	Axit oxalic
18	<i>A. oryzae</i> (Ahlburg) Cohn var. <i>effusus</i> Tiraboshi Ohara		+			Axit kojic, oryzaxidin
19	<i>A. parasiticus</i> Speare			++		Cauc aflatoxin
20	<i>A. phoenicis</i> Thom			++		Axit kojic
21	<i>A. tamaritii</i> Kita	++				Axit kojic
22	<i>A. tubingensis</i> (Shober) Mosseray	++				
23	<i>A. zonatus</i> Kwon & Fennell			+		
24	<i>A. wentii</i> Wehmer				++++	Axit kojic, aflatoxin
25	<i>Bhusakala cookei</i> M. Bellis	+				
26	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.) de Wries	+	+			
27	<i>C. curcumerinum</i> Ellis & Arth		+			
28	<i>C. oxysporum</i> Berk & Curt	++	+	+		
29	<i>C. tenuissimum</i> Cooks	+				
30	<i>Curvularia lunata</i> (Walker) Boedjijn	+				
31	<i>C. oryzae</i> Bugnicourt	+				
32	<i>Cylindrocarpon destructans</i> (Zenssm) Sholten				+	
33	<i>C. lichenicola</i> (C. Marhal) D. Hawksw				+	
34	<i>Fusarium avenaceum</i> (Corda. Fr.) Sacc.			+		
35	<i>F. equiseti</i> (Corda) Sacc.		+		+	Trichothexen, zearalenon, diacetoxiecpenol
36	<i>F. lateritium</i> Nees	++++	+	+	+	
37	<i>F. moniliforme</i> Sheldon		+			Fumonizin, axit fusaric, moniliformin, fuzarin
38	<i>F. oxysporum</i> Schleht			++		Axit fuzaric, naphthoquinon, nectriaefuron,
39	<i>F. semitectum</i> Berk & Raw	++				Equizetin, zearalenon
40	<i>F. solani</i> (Mart.) Sacc.	+	+			
41	<i>Haplariopsis fagicola</i> Oudem.	++	++++ +	+	+++	
42	<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer f. <i>hiemalis</i>	+				
43	<i>M. inaequisporus</i> Dade		++			
44	<i>M. mucedo</i> Fres. Emend Bref.		+			
45	<i>Mycelia sterilia</i>	+	+	+		
46	<i>Paecylomyces varioti</i> Bainier			+		
47	<i>Penicillium albicans</i> Bainier			+		
48	<i>P. canescens</i> Sopp.			++		
49	<i>P. charlesii</i> Smith	+			+	
50	<i>P. citrinum</i> Thom		+++	+	+	Aflatoxin, xtrinin
51	<i>P. crustosum</i> Thom			+	+	

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
52	<i>P. decumbens</i> Thom				+	Decumbin
53	<i>P. frequentanis</i> Westling			+		
54	<i>P. funiculosum</i> Thom	+		+		
55	<i>P. nigricans</i> Thom			+		
56	<i>P. oxalium</i> Currie et Thom	+		+		Axit secalonic D, axit oxalic, oxalin, roquefortin
57	<i>P. purpurogenum</i> Stoll		++			Axit glauconic, axit glaucanic
58	<i>P. rubrum</i> Stoll		+			Rubratoxin, phenixin, axit glauconic
59	<i>P. waksmani</i> Zaleski			++		
60	<i>Rhizopus oryzae</i> Went et P. Geerlings			+		
61	<i>Rhizoctonia solani</i> Kuhn.			+		
62	<i>Stemphiliomma terricola</i> Manohara Chari & Ramarao		+			
63	<i>Syncephalastrum racemiosum</i> Manohara Chari & Ramarao	+				

Kết quả so sánh tài liệu nước ngoài, chỉ nêu 47 tên trong đó có 21 tên giống (45% số tên) và 26 tên loài (55%) với danh mục của chúng tôi gồm 16 giống với 63 tên loài thì có thể nói hệ thống nấm mốc trên 4 loại trái cây ở nước ta rất phong phú và khác biệt.

Những giống chiếm ưu thế là *Aspergillus* 22 loài (35% tổng số loài) và *Penicillium* 13 loài (20,6% tổng số loài). Riêng 2 giống này đã chiếm 55,6% tổng số loài, còn 15 giống khác chiếm 44,4%. Đặc biệt hai loài gặp phổ biến nhất là: *Aspergillus flavus* Link gặp 16/142 lần = 11,2%; *Aspergillus awamori* Nakazawa 8/142 lần = 5,6%; riêng 2 loài *Fusarium lateritium* và *Haplariopsis faricola* tuy gặp nhiều, lần lượt 8 lần và 11 lần, nhưng đây có thể là những loài ký sinh trên thực vật mà bào tử còn sót lại trên trái, chứ không phải hoại sinh trên trái.

III. KẾT LUẬN

Kết quả điều tra trên 4 loại trái cây, tuy còn ít, nhưng đã cho ra 1 danh sách loài, góp phần điều tra hệ nấm mốc ở Việt Nam, một việc mà cho đến nay chúng ta còn làm được quá ít.

Các loài nấm đã được định tên, chúng tôi sẽ gửi vào Bộ sưu tập giống vi sinh vật Quốc gia để các nhà khoa học và công nghệ học khi cần có thể sử dụng để nghiên cứu thêm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Barnett H. L., Hunter B. B., 1972: Illustrated genera of imperfect fungi. 3rd ed. Burgess publ. Co.
2. Booth C., 1971: The genus fusarium. Cmi.
3. Gams et al., 1987: Cbs course of mycology 3rd ed. Academy of arts, and sciences. The netherlands.
4. Hawks Worth D. L. et al., 1995: Dictionary of the fungi. 8th ed. Imi.cab: ainsworth and bisby's dictionary of the fungi.
5. Kendrick B. Ed., 1971: Taxonomy of fungi imperfecti. Univ. Toronto pr.
6. Moreau C. (Đặng Vũ Hồng Miên dịch), 1978: Moisissures toxiques dans l'alimentation. Masson et Cie. "Nấm mốc độc trong thực phẩm". Nxb. Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
7. Pitt J. I. & Hocking A. D., 1997: Fungi and food spoilage. University Press, Cambridge.
8. Raper K. B. & Thom C., 1965: A manual of the *Penicillia*. Hafner publ. Co.
9. Raper K. B. & D. I. Fennell, 1965: The genus *Aspergillus*. The williams and wilkins. Co.
10. Samson R., 1979: Modern concepts in *Penicillium* and *Aspergillus* classification. Study in mycology.

STUDY ON THE MYCOFLORA OF SOME FRUITS IN VIETNAM

DANG VU HONG MIEN, CHAU NGOC HAL,
LE THI BAO TRUC

SUMMARY

Four fruit-species destined for exportation from Viet Nam have been examined about the mycoflora: mango (*Mangifera indica* L.), litchi (*Litchi chinensis* Sonn.), longan (*Dimocarpus longan* Lour.) and dragon fruit (*Hylocereus undatus* (Haw.) Britt & Rose). The classification method was morphological. 142 samples of these fruits with moldgrowth on the rind were first time examined about their characteristics and then isolated on Czapek or PDA medium for identification. Description, drawing, macro and microphotograph of each sample were made and must be similar to the first examination. From these 142 samples, 136 myco-strains were identified and belonged to 63 species (of 12 genera). The predominant genera were *Aspergillus* and *Penicillium*, respectively 35% and 20.6% of the total number of species. Especially, *A. flavus* Link ex Fr. was well-known for the frequent aflatoxins producer and *A. awamori* for the amylaza producer and more rarely aflatoxins one. Among these 63 species, 20 species have been noted as producers of diverse mycotoxins by many authors in worldwide mycological papers. Another remark is: the species we met were very different from those found in other countries.

Ngày nhận bài: 18-5-2007