

NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH MỘT SỐ CHỦNG NẤM GÂY BỆNH ĐÓM LÁ DÂU TÂY ĐÀ LẠT

HỨA HUỖNH MINH THẢO¹, DƯƠNG THẢO VI¹, NGUYỄN MỘC TẤN¹, DƯƠNG THỊ THÙY TRANG¹, MÃ THỊ ANH THU², HUỖNH XUÂN VŨ³, HUỖNH PHƯƠNG ANH³, NGUYỄN THỊ DIỆU HẠNH^{1*}

¹Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh.

²Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu.

³Viện Công nghệ Sinh học Ứng dụng.

*Tác giả liên hệ: nguyenthidieuhanh@iuh.edu.vn

DOIs: <https://doi.org/10.46242/jstiuh.v68i02.5073>

Tóm tắt: Bệnh đốm lá do vi nấm trên thực vật, đặc biệt là cây dâu tây gây ra nhiều thiệt hại kinh tế ở Việt Nam và trên khắp thế giới. Do đó, việc phân lập và xác định đặc điểm các chủng gây bệnh đốm lá là yêu cầu thiết yếu để bảo vệ mùa màng và nền nông nghiệp ở nước ta vì điều kiện khí hậu rất thích hợp cho sự phát triển của vi nấm. Trong nghiên cứu này, 4 chủng nấm mốc đã được phân lập từ mẫu dâu tây bị bệnh đốm lá ở Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng. Kết quả khảo sát các đặc điểm đại thể, vi thể cũng như phân tích trình tự ITS cho thấy chủng mốc MD1 có quan hệ rất gần với loài *Pilidium concavum*, MD4 với *Pilidium lythri*, MD7 với *Mucor circinelloides*, và MD11 với *Nigrospora sphaerica*. Đặc biệt, kết quả gây bệnh đốm lá bởi 4 chủng vi nấm này đã được khẳng định theo nguyên tắc của Koch. Đây cũng là báo cáo đầu tiên về *Mucor circinelloides* và *Nigrospora sphaerica* gây bệnh đốm lá trên dâu tây, làm tiền đề cho biện pháp quản lý, kiểm soát phòng chống, dịch bệnh một cách hiệu quả trong thời gian tới.

Từ khóa: dâu tây, bệnh đốm lá, nấm mốc, *Nigrospora*, *Mucor*, *Pilidium*

1. GIỚI THIỆU

Dâu tây (*Fragaria ananassa*) là một trong những loại cây ăn quả phổ biến nhất thế giới vì có hương vị thơm ngon và giá trị dinh dưỡng cao. Tổng diện tích trồng dâu trên thế giới trong năm 2021 đã đạt xấp xỉ 390 nghìn hecta với sản lượng hơn 9 triệu tấn [1]. Các khu vực có tổng sản lượng dâu tây lớn lần lượt là châu Á (đại diện là Trung Quốc), châu Mỹ (đại diện là Mỹ), châu Âu (đại diện là Tây Ban Nha), châu Phi và cuối cùng là châu Đại Dương [1]. Ở Việt Nam, dâu tây được trồng chủ yếu ở Đà Lạt với khoảng 130 hecta - sản lượng 1500 tấn/năm [2] và Sơn La (Mai Sơn, Mộc Châu, Yên Châu) với 243 hecta - sản lượng khoảng 2332 tấn/năm [3]. Tuy mang lại giá trị kinh tế cao, việc canh tác dâu tây lại gặp phải nhiều thiệt hại nặng lên đến vài trăm triệu USD/Euro mỗi năm vì tất cả các bộ phận bao gồm quả, lá, thân, rễ đều có thể bị tấn công bởi các loài côn trùng, tuyến trùng, virus, vi khuẩn, và đặc biệt là vi nấm với 4 chi chủ yếu là *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Verticillium* và *Phytophthora* [4, 5]. Cho đến nay, ngày càng có nhiều phát hiện về các loài nấm mới gây bệnh trên dâu tây trên khắp thế giới như bệnh thối rễ dâu ở Mexico do *Fusarium keratoplasticum* [6], ở Mỹ do *Globisporangium sylvaticum* [7]; bệnh đốm lá dâu ở Trung Quốc do *Exserohilum rostratum* [8], ở Đài Loan do *Corynespora cassiicola* [9]. Thêm vào đó các loài thuộc *Neopestalotiopsis* cũng đã được báo cáo gây tàn rụi hoa, lá, thân dâu tây ở Trung Quốc, Đài Loan và Mỹ [10-12] và loài *Cercospora cf. maloti* cũng đã được chứng minh gây triệu chứng giống bệnh đốm mắt cua trên lá dâu ở Brazil [13]. Bệnh đốm lá thường có biểu hiện như các vết màu nâu đến nâu sẫm, có hình tròn từ 2-5 mm xuất hiện trên phiến lá. Mức độ biểu hiện bệnh mạnh sẽ có hiện tượng khô, bạc màu ở vị trí trung tâm và lan dần sang các mô lá xung quanh với các màu từ vàng đến nâu sẫm [14]. Qua đó, có thể thấy được việc xác định nấm bệnh trên dâu tây là cấp thiết, tuy nhiên, ở Việt Nam, các nghiên cứu này còn khá hạn chế. Vì vậy, nghiên cứu này đã được thực hiện với mục đích xác định các đối tượng nấm bệnh trên dâu tây làm tiền đề cho việc khảo sát sự xuất hiện và phân bố các loài nấm bệnh trên dâu tây ở Việt Nam, từ đó có các biện pháp kiểm soát thích hợp để giảm thiểu thiệt hại cũng như nâng cao sản lượng loại cây trồng có giá trị này.

2. VẬT LIỆU & PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Phân lập nấm mốc gây bệnh đốm lá dâu

Những mẫu lá dâu có triệu chứng đặc trưng của bệnh đốm lá đã được thu nhận (Hình 1) tại các vườn dâu Đà Lạt và được bảo quản trong túi vô trùng để vận chuyển về phòng thí nghiệm. Các mẫu lá dâu được vệ sinh bề mặt bằng nước cất vô trùng và ngâm trong 1,0% sodium hypochlorite trong thời gian 1-2 phút, sau đó rửa lại bằng nước cất vô trùng và thấm khô bằng bông gòn vô trùng. Các phần mẫu lá bệnh sẽ được tách ra và đặt lên đĩa môi trường PGA (Potato glucose agar) trong thời gian 5 ngày tại nhiệt độ phòng. Các chủng nấm mốc phát triển từ các mẫu lá bệnh được cấy chuyển và làm thuần trên môi trường PGA. Các chủng nấm mốc sau làm thuần được lưu trữ trên môi trường thạch nghiêng PGA ở 4°C để sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo [15].



Hình 1: Mẫu lá dâu bị bệnh đốm lá

2.2. Tái nhiễm và tái phân lập nấm mốc gây bệnh đốm lá dâu tây

Các chủng nấm mốc sẽ được kiểm tra khả năng gây bệnh trên lá dâu bằng thí nghiệm tái nhiễm theo phương pháp Koch. Các lá dâu sạch, không có biểu hiện bệnh được tạo vết thương bằng kim tiêm. Tơ nấm mốc 6 ngày tuổi trên môi trường PGA được đặt lên vết thương của lá dâu tây. Các mẫu lá dâu được giữ trong các đĩa Petri vô trùng theo nguyên tắc phòng ẩm, ủ ở nhiệt độ phòng. Các biểu hiện bệnh trên lá dâu tây được quan sát mỗi ngày. Các lá dâu tây có biểu hiện bệnh đốm lá như các mẫu lá bệnh thu tại vườn được ghi nhận và chủng nấm mốc gây bệnh được tái phân lập. Các đặc điểm đại thể và vi thể của chủng nấm mốc gây bệnh được quan sát và đối chiếu với chủng thử nghiệm tái nhiễm trước đó. Mẫu đối chứng được thực hiện tương tự với mẫu thạch PGA vô trùng. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần và xác định chính xác các chủng nấm mốc có khả năng gây bệnh đốm lá trên dâu tây [16].

2.3. Khảo sát đặc điểm hình thái của các nấm mốc trên các môi trường dinh dưỡng khác nhau

Các chủng nấm mốc gây bệnh đốm lá mạnh trên dâu tây được kiểm tra đặc điểm hình thái khuẩn lạc trên các môi trường nuôi cấy nấm mốc thông dụng khác nhau như Czapek-Dox, PGA, MEA (Malt Extract Agar), SDA (Sabouraud Dextrose Agar). Các đĩa môi trường được cấy tơ nấm 6 ngày tuổi với mảnh thạch có chứa tơ nấm bằng nhau. Các đĩa môi trường được ủ tại nhiệt độ phòng và quan sát sau từng ngày. Bên cạnh đó, đặc điểm hình thái vi thể của các chủng nấm mốc được quan sát trên tiêu bản phòng ẩm dưới kính hiển vi quang học ở độ phóng đại 1000 lần [15].

Bảng 1. Thành phần môi trường nuôi cấy nấm mốc

Tên môi trường	Thành phần môi trường
Czapex-Dox	Sucrose: 30,0g; NaNO ₃ : 2,0g; KH ₂ PO ₄ 1,0g; MgSO ₄ : 0,5g; KCl: 0,5g; FeSO ₄ : 0,01g; agar: 20,0g; nước cất đủ 1,0L; pH 5,5 ± 0,2
PGA (Potato glucose agar)	Khoai tây: 200,0g; glucose: 20,0g; agar: 20,0g; nước cất đủ 1,0L; pH 5,6 ± 0,2
MEA (Malt Extract Agar)	Malt extract: 20,0g; agar 15,0g; nước cất đủ 1,0L; pH 5,5 ± 0,2
SDA (Sabouraud Dextrose Agar)	Dextrose: 40,0g; peptone: 10,0g; agar 15,0g; nước cất đủ 1L, pH 5,6 ± 0,2

2.4. Định danh nấm mốc

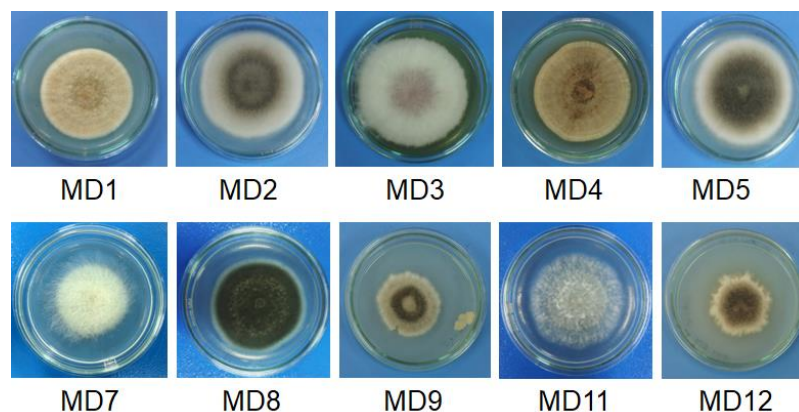
Việc định danh các chủng nấm mốc gây bệnh được thực hiện thông qua việc quan sát đặc điểm đại thể và vi thể của nấm mốc, đồng thời vùng gene ITS cũng được giải trình tự để đối chiếu với các chủng nấm mốc trên ngân hàng gene. Vùng gene ITS của các chủng nấm mốc được khuếch đại bằng cặp mồi: V9D: 5'-TTAAGTCCCTGCCCTTGTA-3' và LS266: 5'-GCATTCCCAAACAACACTCGACTC-3' bằng phương

pháp PCR (polymerase chain reaction). Chu trình nhiệt cho phản ứng PCR gồm: 94°C trong 10 phút, 30 chu kì gồm, biến tính (94°C – 30 giây), bắt cặp (55°C – 45 giây) và kéo dài (72°C – 1 phút 30 giây), sau cùng kéo dài ở 72°C trong 10 phút. Sản phẩm PCR được tinh sạch và giải trình tự tại công ty TNHH Dịch Vụ và Thương Mại Nam Khoa. Trình tự gene được so sánh với dữ liệu tại Genbank (NCBI, [http://www.ncbi.nlm.nih.gov] và truy xuất các trình tự tương đồng. Các trình tự tương đồng được sắp giống bằng Clustal X2.1 và cây phát sinh loài được xây dựng dựa trên thuật toán Neighbor-Joining với bootstrap 1000 lần lập bằng phần mềm Mega 5 [17].

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập nấm mốc

Từ các mẫu lá dâu bệnh, 10 chủng nấm mốc có hình thái đại thể khác nhau đã được phân lập và kiểm tra trên môi trường PGA và được đặt tên là MD1, MD2, MD3, MD4, MD5, MD7, MD8, MD9, MD11, MD12. Mười chủng nấm mốc phân lập được có hình thái đại thể khác nhau trên môi trường nuôi cấy PGA sau 6 ngày nuôi cấy (Hình 2), hệ sợi tơ nấm của chủng MD1 và MD4 có kết cấu chặt, tơ nấm bám sát mặt thạch, phát triển theo các vòng đồng tâm, tiết sắc tố vàng nhạt, màu sắc từ trắng chuyển sang vàng nâu khi già và hình thành bào tử màu nâu nhạt. Chủng MD2 và MD5 có sự tương đồng nhau về màu sắc của hệ sợi tơ với màu trắng khi non và chuyển màu xám đen khi già, bào tử có màu xám đen, không quan sát thấy sự tiết sắc tố vào môi trường nuôi cấy, hệ sợi tơ lan đều trên bề mặt khuôn lặc. Hệ sợi tơ của chủng MD3 có màu trắng và chuyển hồng nhạt khi già, hệ sợi tơ dạng bông, bung trên bề mặt thạch, trong khi chủng MD7 có hệ sợi tơ trắng, lan nhanh trên bề mặt thạch và bung cao, phủ đầy đĩa Petri môi trường nuôi cấy. Khuẩn lặc chủng MD8 với hệ sợi tơ bám sát trên bề mặt thạch, bào tử màu xanh đen, không tiết sắc tố ra môi trường. Hai chủng nấm mốc MD9 và MD12 có hệ sợi tơ phát triển chậm hơn so với các chủng nấm mốc khác, hệ sợi tơ có màu trắng, vàng và chuyển sang nâu xám khi già, chủng MD9 hình thành các vòng đồng tâm trên bề mặt khuôn lặc, trong khi chủng MD12 không thể hiện đặc tính này. Hệ sợi tơ của chủng MD11 có màu trắng, dạng bông, phát triển nhanh trên bề mặt môi trường, và chuyển dần sang màu xám đen khi già. Với các đặc điểm đại thể của các chủng nấm mốc phân lập được, chúng tôi khẳng định các chủng nấm mốc này là các nấm mốc khác nhau.

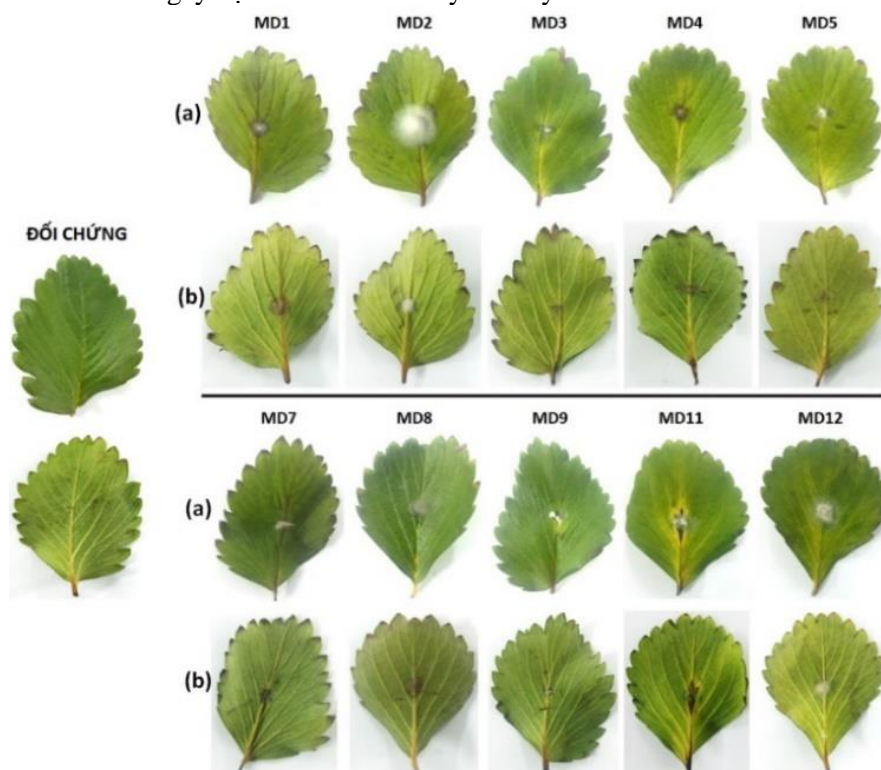


Hình 2: Hình thái đại thể của các chủng nấm mốc được phân lập từ mẫu bệnh đốm lá dâu trên môi trường PGA

3.2. Khả năng gây bệnh của các chủng nấm mốc phân lập được và tái phân lập nấm mốc gây bệnh

Khả năng gây bệnh đốm lá dâu của các chủng nấm mốc trên được xác định bằng phương pháp Koch. Biểu hiện bệnh trên lá dâu được quan sát hằng ngày sau thời gian gây nhiễm và so sánh với mẫu đối chứng. Sau 4 ngày lây nhiễm, các lá dâu được gây nhiễm với các chủng nấm mốc MD3, MD5, MD9 không có biểu hiện bệnh hoặc biểu hiện bệnh không rõ rệt. Bên cạnh đó, vị trí lây nhiễm chủng MD2 và MD12 thì có hiện tượng tơ nấm lan trên vị trí tiêm nhiễm, tuy nhiên, biểu hiện bệnh đốm lá lại không được quan sát thấy. Khi quan sát vị trí lây nhiễm trên lá dâu của các chủng nấm mốc MD1, MD4, MD7, MD8, MD11, kết quả cho thấy các biểu hiện bệnh đốm lá đã được thể hiện. Mô lá xung quanh vị trí gây nhiễm nấm mốc chuyển sang sậm màu, sự hoại tử mô thịt lá lan rộng dần theo thời gian và biểu hiện rõ trên cả 2 bề mặt của lá. Các biểu hiện trên mô thịt lá là các dấu hiệu điển hình của bệnh đốm lá, đồng thời, các chủng nấm mốc nghi

ngờ là tác nhân gây bệnh đốm lá được tái phân lập từ các mẫu lá bệnh trên. Kết quả tái phân lập trên môi trường PGA cho thấy các chủng nấm mốc này có đặc điểm hình thái đại thể tương đồng với các chủng nghiên cứu MD1, MD4, MD7, MD8, MD11 ban đầu. Như vậy, các chủng nấm mốc MD1, MD4, MD7, MD8, MD11 là các tác nhân gây bệnh đốm lá trên cây dâu tây.

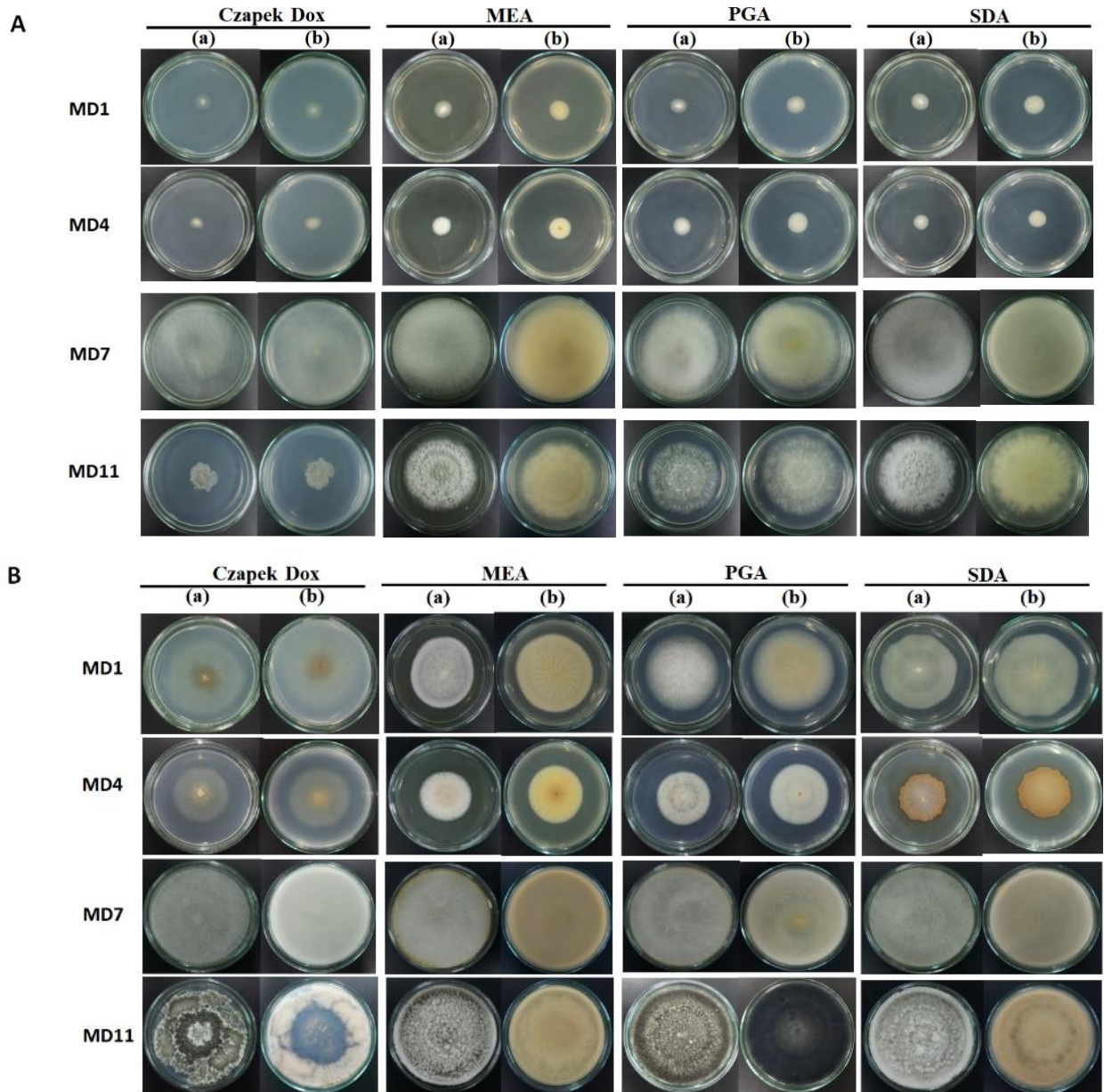


Hình 3. Khả năng gây bệnh đốm lá dâu tây của các chủng nấm mốc phân lập được sau 4 ngày gây nhiễm. (a) mặt trên của lá, (b) mặt dưới của lá.

3.3. Đặc điểm hình thái của các chủng nấm mốc gây bệnh đốm lá dâu tây

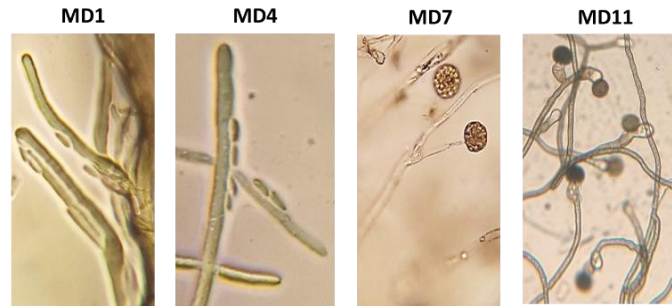
Các đặc điểm hình thái khuẩn lạc của bốn chủng nấm mốc gây bệnh đốm lá trên dâu tây MD1, MD4, MD7, MD11 được kiểm tra trên các môi trường nuôi cấy nấm mốc thông dụng như Czapek-Dox, PGA, MEA, SDA. Sau 4 ngày nuôi ủ, các chủng nấm mốc đều phát triển trên cả 4 loại môi trường khảo sát với các tốc độ phát triển khác nhau. Chủng MD7 phát triển nhanh nhất với hệ sợi tơ bao phủ cả đĩa Petri trên môi trường MEA và SDA, với mật độ hệ sợi tơ dày, trong khi trên môi trường PGA và Czapek-Dox thì tốc độ phát triển của hệ sợi tơ MD7 chậm hơn. Khi quan sát sự phát triển của ba chủng nấm còn lại MD1, MD4 và MD11, môi trường Czapek-Dox không thích hợp cho sự phát triển hệ sợi tơ nấm của ba loại nấm này với hệ sợi tơ mỏng, kích thước khuẩn lạc nhỏ. Trong khi trên môi trường MEA và SDA, hệ sợi tơ của cả 3 loại nấm đều phát triển mạnh với hệ sợi tơ nấm phân bố đều, mật độ dày. Ngoài ra, môi trường PGA cũng là môi trường thích hợp để nuôi cấy cả 4 loại nấm mốc gây bệnh phân lập được tuy mật độ hệ sợi tơ không dày như khi nuôi trên môi trường MEA và SDA nhưng đường kính khuẩn lạc là tương tự nhau trên cả 3 môi trường (Hình 4A).

Khi quan sát hệ sợi tơ nấm sau thời gian nuôi ủ 8 ngày, hệ sợi tơ nấm dần hình thành bào tử và thay đổi màu sắc trên môi trường nuôi cấy khác nhau. Hệ sợi tơ của chủng MD1 và MD4 thay đổi từ màu trắng, trắng ngà sang các màu vàng nhạt, vàng đậm, nâu đỏ và trên môi trường SDA, chủng MD4 đã tiết sắc tố màu nâu đỏ vào môi trường. Tơ nấm MD7 có màu trắng trên môi trường Czapek-Dox, màu vàng khi nuôi trên môi trường khác và không hình thành sắc tố nhưng bào tử đều màu xám trên cả 4 môi trường. Hệ sợi tơ nấm của MD11 khi già chuyển sang màu đen khi nuôi cấy trên môi trường PGA và Czapek-Dox, trong khi hiện tượng này không quan sát thấy trên môi trường MEA và SDA, bào tử có màu trắng khi non và chuyển sang màu xám đen khi già (Hình 4B).



Hình 4. Hình thái của các chủng nấm mốc gây bệnh đốm lá dâu tây trên các môi trường dinh dưỡng khác nhau sau 4 ngày (A), 8 ngày (B). (a) mặt trên khuẩn lạc, (b) mặt dưới khuẩn lạc

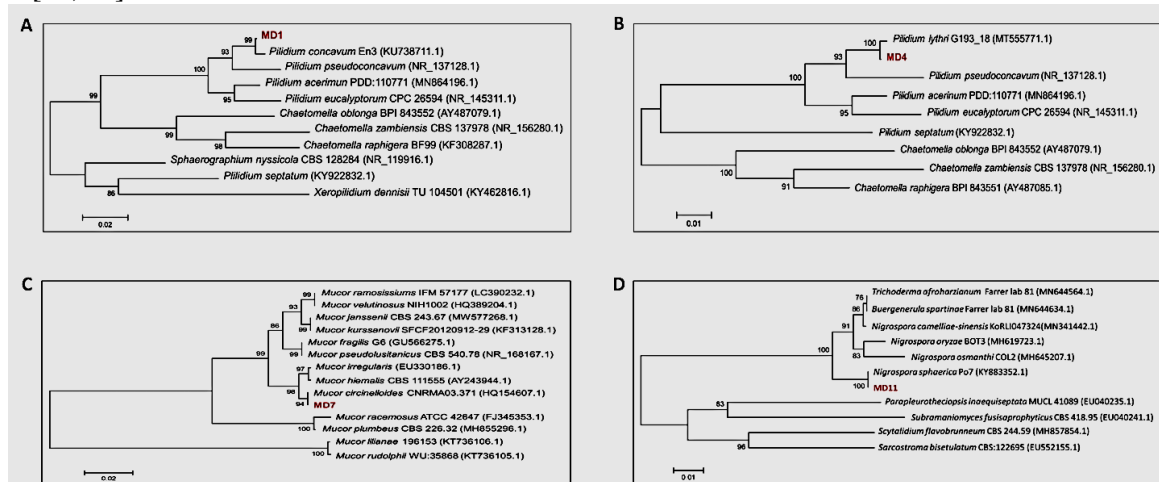
Đặc điểm vi thể của các chủng nấm mốc cũng được quan sát, hệ sợi tơ của các chủng nấm mốc MD1, MD4 trong suốt, phân nhánh, không có vách ngăn, hệ sợi tơ nấm hình thành thể bình mang bào tử trần, bào tử có dạng đơn bào, thuôn nhọn ở hai đầu. Hệ sợi tơ của MD7 phân nhánh mạnh, không có vách ngăn, đầu hệ sợi khuẩn ty hình thành các túi bào tử, bào tử được giải phóng sau khi trưởng thành. Chủng MD11 có hệ sợi tơ phân nhánh, có vách ngăn. Cuống sinh bào tử uốn cong hoặc thẳng, gồm thể bình và tế bào đệm, màu nâu nhạt, có vách ngăn. Mỗi cuống sinh bào tử hình thành một bào tử trần duy nhất, bào tử trần khi mới hình thành dạng tròn, dẹt dần về 2 đầu. Chúng chuyển từ trong suốt đến đen nhẵn theo độ tuổi, tồn tại dạng đơn lẻ (Hình 5).



Hình 5. Hình thái vi thể 4 chủng nấm mốc gây bệnh đốm lá dâu tây quan sát dưới kính hiển vi với độ phóng đại 1000 lần

3.4. Định danh các chủng nấm mốc gây bệnh

Vùng gene ITS của các chủng nấm mốc MD1, MD4, MD7, MD11 được khuếch đại và giải trình tự để tiến hành định danh theo phương pháp sinh học phân tử. Trình tự của đoạn gene được so sánh với các trình tự được công bố trên Ngân hàng dữ liệu Genbank (NCBI). Kết quả phân tích bằng công cụ BLAST cho thấy chủng nấm mốc MD1 và MD4 thuộc chi *Pilidium*, trong đó chủng MD1 tương đồng với chủng *Pilidium concavum* En3 với hệ số bootstrap 99% và chủng MD4 tương đồng với chủng *Pilidium lythri* G198_18 với hệ số bootstrap 100%. Cây phát sinh loài của hai chủng nấm mốc dựa trên vùng gene ITS được xây dựng bằng phần mềm Mega 5 với phương pháp Neighbor-joining với hệ số bootstrap 1000 lần lặp cũng xếp 2 chủng nấm này vào chi *Pilidium* (Hình 6A-B). Điều này cũng được xác định lại khi so sánh với kết quả phân tích hình thái và phân tích di truyền bằng các kỹ thuật sinh học phân tử của loài thuộc chi *Pilidium*, các kết quả tương tự về hình thái đại thể, vi thể của hai chủng nấm mốc MD1 và MD4 với các loài nấm mốc thuộc chi *Pilidium* đã được xác định [18, 19]. Ngoài ra, các dấu hiệu bệnh đốm lá của chủng MD1 và MD4 cũng có sự tương đồng với nghiên cứu về *Pilidium* gây bệnh đốm lá dâu tây tại Trung Quốc và Hàn Quốc [20, 21].



Hình 6. Cây phát sinh loài của 4 chủng nấm mốc gây bệnh đốm lá dâu tây

Kết quả phân tích tương tự vùng gene ITS của chủng MD7 và MD11 đã xác định chủng MD7 thuộc chi *Mucor* và có sự tương đồng với *Mucor circinelloides* CNRMA03.371 (hệ số bootstrap 94%) và chủng MD11 thì thuộc chi *Nigrospora*, tương đồng *Nigrospora sphaerica* Po7 với hệ số bootstrap là 100% (Hình 6C-D). Các đặc điểm đại thể và vi thể đặc trưng của các loài thuộc chi *Mucor* và *Nigrospora* cũng được quan sát thấy ở các chủng nấm mốc MD7 và MD11 [22, 23]. Các nghiên cứu về chi nấm *Mucor* gây bệnh trên dâu tây thường được công bố trong các nghiên cứu về quả, chưa có ghi nhận về việc gây bệnh đốm lá [14, 24]. Trong khi đó, tác nhân gây bệnh thuộc chi *Nigrospora* trên dâu tây chưa được báo cáo ở bất kỳ nghiên cứu nào. Chi nấm này có khả năng gây bệnh trên 40 loài thực vật với các bệnh trên lá là chủ yếu, trong đó bệnh đốm lá chiếm khoảng 50% [25, 26]. Các đối tượng gây bệnh của những chủng này hầu hết đều được phát hiện mới gần đây như cây trà (*Camellia sinensis*), việt quất (*Vaccinium corymbosum*), tử đằng (*Wisteria*

sinensis), dưa hấu (*Citrullus lanatus* L.) [27-30]. Đây là báo cáo đầu tiên về nấm mốc thuộc chi *Nigrospora* gây bệnh đốm lá trên dâu tây.

4 KẾT LUẬN

Việc xác định các tác nhân gây bệnh trên các cây trồng sẽ góp phần cho việc điều tra dịch bệnh ảnh hưởng đến năng suất cây trồng, xác định sự phân bố của các tác nhân gây bệnh, các vật chủ tương ứng, nhằm đưa ra các biện pháp xử lý, phòng ngừa các tác nhân gây bệnh trên cây trồng. Trong nghiên cứu này, các chủng nấm mốc gây bệnh đốm lá trên cây dâu tây được phân lập, xác định các đặc điểm đại thể, vi thể, phân tích trình tự ITS, bốn chủng nấm mốc MD1, MD4, MD7, MD11 đã được xác định là tác nhân gây bệnh đốm lá dâu. Kết quả định danh cho thấy MD1, MD4 thuộc chi *Pilidium*, trong khi chủng MD7 và MD11 tương ứng thuộc chi *Mucor* và *Nigrospora*. Đây là báo cáo đầu tiên ghi nhận chi nấm *Mucor* và *Nigrospora* gây bệnh đốm lá trên cây dâu tây, giúp bổ sung thêm thông tin về các tác nhân gây bệnh trên loại cây trồng này.

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi chân thành cảm ơn Trường Đại học Công nghiệp Tp. Hồ Chí Minh đã cấp kinh phí để thực hiện đề tài nghiên cứu có mã số 21.2 SHTPSV06. Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Ban giám hiệu và Ban lãnh đạo Viện Công nghệ sinh học và Thực phẩm đã tạo điều kiện thuận lợi cho chúng tôi thực hiện đề tài này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] FAOSTAT: Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division, "FAO stat 2021", 2023. Available: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QV>
- [2] A. Vũ, "Trồng dâu tây ở Lâm Đồng", 31/12/2020. Địa chỉ: <https://khuyennong.lamdong.gov.vn/thong-tin-nong-nghiep/trong-trot/2975-trong-dau-tay-oi-lam-dong>
- [3] N. Hạnh, "Cơ hội thương thức Dâu tây Mọc Châu da dạng kích cỡ, giá siêu rẻ," 14/3/2023. Địa chỉ: <https://congthuong.vn/co-hoi-thuong-thuc-dau-tay-moc-chau-da-dang-kich-co-gia-sieu-re-246235.html>.
- [4] C. Garrido, M. Carbú, F.J.F.F. Acero, V.E.G. Rodríguez and J.M. Cantoral, "New insights in the study of strawberry fungal pathogens", *Genes Genomes Genomics*, 5, 1, 24-39, 2011.
- [5] T.T. Cúc, "Bệnh thối trái dâu tây tại Đà Lạt và biện pháp phòng trừ", 2013. Địa chỉ: <http://ttbvtv.lamdong.gov.vn/du-tinh-du-bao-dich-hai/sau-benh-hai-quan-tam-trong-ky/484-benh-thoi-trai-dau-tay-tai-da-lat-va-bien-phap-phong-tru>
- [6] T.A.V. Gutiérrez, C.A.L. Orona, L. Molina-Cárdenas, G.A.L. Urquidez, M.A. P. Arzapalo, M.A.T. Ramírez, "First report of *Fusarium keratoplasticum* causing strawberry root rot in Sinaloa, Mexico", *Plant disease*.
- [7] U. Shrestha, M.M. Dee, B.H. Ownley, and D.M. Butler, "First Report of Strawberry Black Root Rot Caused by *Globisporangium sylvaticum* in Tennessee, USA", *Plant Disease*, 107(9), 2890, 2023.
- [8] Z. Tang, J. Lou, J. Mo, L. He, Y. Chen, H. Wu, W. Zeng, Y. Shen, C. Wu, Z. Wang, L. Zhang, "First worldwide report of *Exserohilum rostratum* causing leaf spot on strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.)", *Plant Disease*, 107(8), 2532, 2023.
- [9] P.H. Lo, Y.T. Lai, Y.T. Ko, C.C. Kuo and W.H. Chung, "First report of target spot disease of strawberry caused by *Corynespora cassiicola* in Taiwan", *Plant Disease*, 107(8), 2535, 2023.
- [10] J. Shi, X. Zhang, Y. Liu, Z. Zhang, Z. Wang, C. Xue, Y. Ma, F. Wang, "First Report of *Neopestalotiopsis clavispora* Causing Calyx and Receptacle Blight on Strawberry in China", *Plant disease*, 106(4), 1307-1307, 2022.
- [11] F. Rotondo, T.L. Klass, K. Scott, M. McCartney, J.M. Jacobs, M.L. L. Ivey, "First Report of *Neopestalotiopsis* Disease in Ohio caused by an emerging and novel species of *Neopestalotiopsis* on Strawberry", *Plant Disease*, 107(3), 940, 2023.
- [12] H.Y. Wu, C.Y. Tsai, Y.M. Wu, H.A. Ariyawansa, C.L. Chung, and P.C. Chung, "First Report of *Neopestalotiopsis rosae* Causing Leaf Blight and Crown Rot on Strawberry in Taiwan," *Plant disease*, 105(2), 487-487, 2021.
- [13] Krahn, J. R. Tomm, M.F.B.Muniz, T. Poletto, V.S. Fantinel, A.C. Quevedo, M.A. Strahl, L.F.S.C. Couto, J.E. Rabuske, and J.C.P. Silva, "First report of *Cercospora* cf. *malloti* causing brown eyespot on strawberry in Brazil", *Plant Disease*, 106(9), 2530, 2022.
- [14] J.S. Baggio, J.C. Mertely, and N.A. Peres, "Leaf Spot Diseases of Strawberry", *UF/IFAS Extension*, 6, 2020.
- [15] L.X. Ran, C.Y. Liu, G.J. Wu, L.C. van Loon and P.A.H.M. Bakker, "Suppression of bacterial wilt in *Eucalyptus urophylla* by fluorescent *Pseudomonas* spp. in China", *Biological Control*, 32(1), 111-120, 2005.
- [16] R. Scheper, P. Wood and B. Fisher, "Isolation spore production and Kochs postulates of *Elsinoe pyri*", *New Zealand Plant Protection*, 66, 308-316, 2013.

- [17] M.T.V. Hoang, L. Irinyi, S.C.A. Chen, T.C. Sorrell, the ISHAM Barcoding of Medical Fungi Working Group, and W. Meyer, "Dual DNA barcoding for the molecular identification of the agents of invasive fungal infections", *Frontiers in microbiology*, 10, 1647, 2019.
- [18] M.E Palm, "Taxonomy and morphology of the synanamorphs *Pilidium concavum* and *Hainesia lythri* (coelomycetes)", *Mycologia*, 83(6), 787-796, 1991.
- [19] A.Y. Rossman, M.C. Aime, D.F. Farr, L.A. Castlebury, K.R. Peterson, R. Leahy, "The coelomycetous genera *Chaetomella* and *Pilidium* represent a newly discovered lineage of inoperculate discomycetes", *Mycological Progress*, 3(4), 275-290, 2004.
- [20] W.L. Geng, P. Hu, Z. Ma, X. Y. Zhao, and Y. M. Wei, "First report of *Pilidium concavum* causing tan-brown leaf spot on strawberry in China", *Plant disease*, 96(9), 1377-1377, 2012.
- [21] M.J. Park, C.G. Back, J.H. Park, K.S. Han, "Occurrence of Tan-brown Leaf Spot Caused by *Pilidium concavum* on *Fragaria ananassa* in Korea", *The Korean Journal of Mycology*, 45(4), 377-380, 2017.
- [22] Đ.V.H. Miên, "*Hệ nấm mốc ở Việt Nam*", Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, 2015.
- [23] N.P. Money, "*Fungal cell biology and development*", *The fungi*, Academic Press, 37-66, 2016.
- [24] C. Garrido, V.E. González-Rodríguez, M. Carbú, A.M. Husaini and J.M. Cantoral, "10 Fungal diseases of strawberry and their diagnosis", in *Strawberry: Growth, development and diseases*, 157-195, 2016.
- [25] M. Wang, F. Liu, P.W. Crous and L. Cai, "Phylogenetic reassessment of *Nigrospora*: ubiquitous endophytes, plant and human pathogens", *Persoonia*, 39(1), 118-142, 2017.
- [26] Y. Hao, J.V.S. Aluthmuhandiram, K.W.T.Chethana, I.S. Manawasinghe, X.Li, M. Liu, K.D. Hyde, A.J. L. Phillips, and W. Zhang, "*Nigrospora* species associated with various hosts from Shandong Peninsula, China", *Mycobiology*, 48(3), 169-183, 2020.
- [27] J. Dutta, S. Gupta, D. Thakur and P.J. Handique, "First report of *Nigrospora* leaf blight on tea caused by *Nigrospora sphaerica* in India", *Plant Disease*, 99(3), 417-417, 2015.
- [28] E.R. Wright, M. Folgado, M.C. Rivera, A. Crelier, P. Vasquez, S.E. Lopez, "*Nigrospora sphaerica* causing leaf spot and twig and shoot blight on blueberry: a new host of the pathogen", *Plant Disease*, 92(1), 171-171, 2008.
- [29] S. Soyulu, S. Dervis and E.M. Soyulu, "First report of *Nigrospora sphaerica* causing leaf spots on Chinese wisteria: A new host of the pathogen", *Plant disease*, 95(2), 219-219, 2011.
- [30] S.I. Ismailand and N.F.A. Razak, "First report of *Nigrospora sphaerica* causing leaf spot on watermelon (*Citrullus lanatus*) in Malaysia", *Plant disease*, 105(2), 488-488, 2021.

IDENTIFICATION OF FUNGAL PATHOGENS CAUSING LEAF SPOT DISEASE ON STRAWBERRY IN DA LAT

MINH THAO HUYNH HUA¹, THAO VI DUONG¹, MOC TAN NGUYEN¹, TRANG THI THUY DUONG¹, THU THI ANH MA², XUAN VU HUYNH³, PHUONG ANH HUYNH³, HANH THI DIEU NGUYEN^{1*}.

¹*Institute of Biotechnology and Food technology, Industrial University of Ho Chi Minh City*

²*Department of Science and Technology Ba Ria-Vung Tau Province*

³*Applied Biotechnology Institute*

**Corresponding author: nguyenthidieuhanh@iuh.edu.vn*

Abstract: Leaf spot disease caused by mold on plants, especially strawberry, causes mass economic losses in Vietnam and around the world. Therefore, isolating, and characterizing strains causing leaf spot disease is essential in order to protect our crops and agriculture because the country's climatic conditions are very suitable for the development of fungal pathogens. In this study, four fungal strains were isolated from strawberry samples with leaf spot in Da Lat, Lam Dong province, Vietnam. Macroscopic and microscopic characterization in combination with ITS sequence analysis, showed that the mold strains MD1, MD4, MD7, MD11 are closely related to *Pilidium concavum*, *Pilidium lythri*, *Mucor circinelloides*, and *Nigrospora sphaerica*, respectively. Additionally, the pathogenicity of all these 4 fungal strains have been confirmed according to Koch's postulate. This is the first report of *Mucor circinelloides* and *Nigrospora sphaerica* causing leaf spot on strawberries, and this could provide the basis for effective management, prevention, and control measures in the future.

Keywords: fungal pathogen, leaf spot disease, *Nigrospora*, *Mucor*, *Pilidium*, strawberry

Ngày gửi bài: 13/05/2023

Ngày chấp nhận đăng: 26/07/2023