

# Nghiên cứu tác nhân gây bệnh thối gốc cây măng tây xanh (*Asparagus officinalis* L.) Ninh Thuận

Nguyễn Thị Nhã\*, Hồ Thị Cẩm Nguyên, Phạm Thị Hồng Gấm

Khoa Công nghệ Sinh học, Đại học Nguyễn Tất Thành

\*ntnha@ntt.edu.vn

## Tóm tắt

Thối gốc (root rot) là một bệnh hại gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến năng suất, chất lượng măng tây xanh (*Asparagus officinalis* L.) trên thế giới và ở Việt Nam. Kết quả phân lập và làm thuần mẫu bệnh thối gốc từ vùng trồng măng tây xanh Ninh Thuận thu được 2 nhóm tác nhân gây bệnh dựa trên đặc điểm hình thái của khuẩn lạc và bào tử; và đều được xác định chính là tác nhân gây bệnh thối gốc măng tây xanh Ninh Thuận sau khi kiểm chứng theo quy tắc Koch. Vùng trình tự ITS được sử dụng để định danh phân tử 2 tác nhân gây bệnh nhờ cặp mồi ITS1 và ITS4. Kết quả giải trình tự sau khi hiệu chỉnh, so sánh trình tự tương đồng, và xây dựng cây phát sinh loài đã được xác nhận có khả năng cao là trình tự của *Fusarium equiseti* và *Fusarium proliferatum*. Kết quả này sẽ làm cơ sở cho những nghiên cứu tiếp theo về quản lý bệnh hại tổng hợp trên cây măng tây xanh Ninh Thuận.

Nhận 20.04.2021

Được duyệt 02.06.2021

Công bố 15.07.2021

Từ khóa  
thối gốc,  
măng tây xanh,  
*Asparagus officinalis*,  
Ninh Thuận

© 2021 Journal of Science and Technology - NTTU

## 1 Đặt vấn đề

Măng tây xanh (*Asparagus officinalis* L.) là một loại rau cao cấp có giá trị dinh dưỡng lớn, mang lại lợi ích kinh tế đáng kể, không chỉ là nguyên liệu cho công nghiệp đồ hộp mà còn là một mặt hàng xuất khẩu có giá trị, được trồng ở rất nhiều nước trên thế giới thuộc châu Âu, châu Á và châu Mỹ. Măng tây xanh còn được biết đến như một loại dược liệu quý chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học như axit ferulic, kaempferol, quercetin, rutin, isorhamnetin, axit caffeic, apigenin, baicalein, saponin với các khả năng kháng oxy hóa, điều hòa miễn dịch, ức chế sự phát triển và di căn khối u, có tiềm năng sử dụng làm chất điều hòa miễn dịch và chống viêm trong thực phẩm chức năng, và vẫn đang được nghiên cứu nhiều trong sản xuất mỹ phẩm và dược phẩm [1-4].

Ở Việt Nam, măng tây xanh được mệnh danh là vua của các loại rau, ngày càng được mở rộng diện tích canh tác trên rất nhiều tỉnh thành. Tỉnh Ninh Thuận là nơi có có điều kiện thổ nhưỡng, khí hậu thích hợp cho việc trồng và phát triển măng tây xanh quy mô lớn. Đất cát pha có

khả năng thoát nước tốt, kết hợp với điều kiện tự nhiên nhiều gió, nhiều nắng, mật độ mưa thấp của tỉnh rất thích hợp với loài cây có khả năng chịu hạn như măng tây xanh [5]. Đây là một trong những cây trồng tạo ra đột phá kinh tế và thích ứng với điều kiện khí hậu khô hạn nhiều của Ninh Thuận, do đó từ năm 2019 măng tây xanh đã trở thành một trong 6 sản phẩm nông nghiệp chủ lực của Ninh Thuận [6].

Tuy nhiên, khi canh tác loại cây lâu năm như măng tây xanh trong điều kiện nóng ẩm của Việt Nam đã làm cho một số bệnh hại xuất hiện như đốm tím, khô thân cành, thối gốc, thán thư, gỉ sắt, ... làm giảm năng suất, chất lượng và hiệu quả kinh tế của loại cây này. Trong đó, bệnh thối gốc thường gặp với các vết bệnh hình bầu dục, màu nâu đỏ trên rễ và thân dưới, phát triển dần làm thối mô, cây còi cọc, phát triển kém, lá dần chuyển sang vàng và cây chết [7]. Các cây măng tây xanh bị thối gốc lây nhiễm cho nhau, có thể lây lan theo cấp số nhân và gây thiệt hại lớn cho nông dân. *Fusarium* sp. được cho là tác nhân gây ra bệnh



thối gốc măng tây xanh ở nhiều nơi trên thế giới, bao gồm một số loài *F. proliferatum*, *F. oxysporum*, *F. redolens*, *F. solani*, *F. acuminatum* và *F. redolens* [8-10], tuy nhiên thành phần loài gây bệnh khác nhau ở những vùng khác nhau. Điều đáng lưu ý là cho đến nay, vẫn chưa có công bố về tác nhân gây bệnh thối gốc trên cây măng tây xanh ở Việt Nam, trong khi việc chẩn đoán chính xác tác nhân gây bệnh là yếu tố quan trọng quyết định thành công của các biện pháp phòng trừ và quản lý bệnh hại.

## 2 Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1 Vật liệu nghiên cứu

Mẫu măng tây xanh (*Asparagus officinalis* L.) có triệu chứng điển hình của bệnh thối gốc dựa theo mô tả bởi Koike, S.T. và cộng sự (2006) [7] tại vùng trồng măng tây xanh xã An Hải, huyện Ninh Phước, tỉnh Ninh Thuận được thu vào tháng 4, và trữ trong các túi giấy vô trùng kín, bảo quản trong tủ mát 4 °C.

### 2.2 Phân lập, làm thuần tác nhân gây bệnh

Quy trình phân lập và làm thuần nấm bệnh được thực hiện theo Burgess, L. W. và cộng sự (2009) [11]. Các mẫu gốc măng tây xanh bị bệnh được rửa sạch dưới vòi nước chảy, rửa lại bằng nước vô trùng, cắt bỏ phần rễ, chỉ giữ lại phần rễ chính sát gốc cùng thân dưới; khử trùng bề mặt mẫu bằng cồn 70 % trong 10 giây, rửa lại bằng nước cất vô trùng và để khô trên giấy thấm vô trùng.

Trong tủ cấy, những mẫu cây nhỏ (khoảng 2 mm x 2 mm) ở phần ranh giới giữa mô khỏe và mô bệnh được cắt từ mẫu bệnh, cấy trên môi trường thạch Water agar (WA) và để ở nhiệt độ phòng (25 ± 2) °C.

Mẫu phân lập được theo dõi liên tục, khi các sợi nấm sinh ra từ mẫu cấy đạt khoảng 5 mm, được cấy truyền sang môi trường Potato glucose agar (PGA) để làm thuần mẫu nấm bệnh.

Tất cả môi trường nuôi cấy dùng trong nghiên cứu được hấp khử trùng ở 121 °C trong 15 phút.

### 2.3 Phương pháp lây nhiễm nhân tạo

Thí nghiệm lây nhiễm nhân tạo được thực hiện đảm bảo quy tắc Koch. Cây măng tây xanh được dùng để lây nhiễm là cây 5 tháng tuổi, được chăm sóc một tháng trong nhà màng để đảm bảo cây khỏe mạnh, không bị bất cứ sâu bệnh hại gì trước khi tiến hành lây nhiễm. Các loại nấm thu được sau phân lập, làm thuần được nhân sinh khối trong bình tam giác, trên giá thể hạt kê - trấu (1:1, v/v) trong 15 ngày, rồi trộn với đất

quanh gốc cây cần lây bệnh với lượng 30 g giá thể/gốc măng.

Thí nghiệm lây nhiễm được lặp 3 lần, 1 lần 3 cây/loại nấm, thời gian theo dõi trong vòng 30 ngày. Sau đó, những cây có triệu chứng bệnh thối gốc được tái phân lập để xác định tác nhân gây bệnh.

Các nghiệm thức được ngăn cách và phân ô rõ ràng, nghiệm thức đối chứng được đảm bảo không nằm trong khu vực lây nhiễm.

### 2.4 Phản ứng PCR khuếch đại gen vùng ITS

DNA nấm được thu bằng cách nghiền hệ sợi nấm trong nitor lỏng, sau đó tinh sạch bằng TopPURE® Plant DNA Extraction Kit (HI-122 -ABT, Việt Nam) theo quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất. DNA nấm được khuếch đại với cặp mồi ITS1-F (5' - CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA - 3' [12]) và ITS4-R (5' - TCCTCCGCTTATTGATATGC - 3' [13]) bằng phản ứng Polymerase chain reaction (PCR). Phản ứng PCR được thực hiện theo chu trình: biến tính ở 95 °C trong 5 phút, 35 chu kỳ (biến tính ở 95 °C trong 1 phút, gắn mồi trong 1 phút ở 56 °C, kéo dài ở 72 °C trong 1 phút), tổng hợp sợi ở 72 °C trong 10 phút, trữ ở 4 °C, sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1 %.

### 2.5 Giải trình tự và phân tích trình tự

Sản phẩm PCR được giải trình tự theo phương pháp Sanger sequencing tại Công ty 1st Base, Malaysia. Kết quả giải trình tự được phân tích bằng phần mềm BioEdit, so sánh trình tự với cơ sở dữ liệu GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) để thu các trình tự tương đồng cao. Các trình tự tương đồng sau khi được xử lý bằng chương trình ClustalX [14], được sử dụng làm dữ liệu để tạo cây phát sinh loài nhờ phần mềm MEGA 6.0 [15], dùng công cụ Neighbor – Joining với Bootstrap re – sampling 1 000 lần.

### 2.6 Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ và pH đến sinh trưởng và phát triển của nấm bệnh

Nấm bệnh được nuôi cấy trên môi trường thạch PGA ở các điều kiện nhiệt độ và pH môi trường khác nhau: nhiệt độ khảo sát từ 20 °C đến 40 °C và pH môi trường từ 4 đến 8.

Kích thước và đặc điểm khuẩn lạc được ghi nhận sau 2, 4 và 6 ngày nuôi cấy.

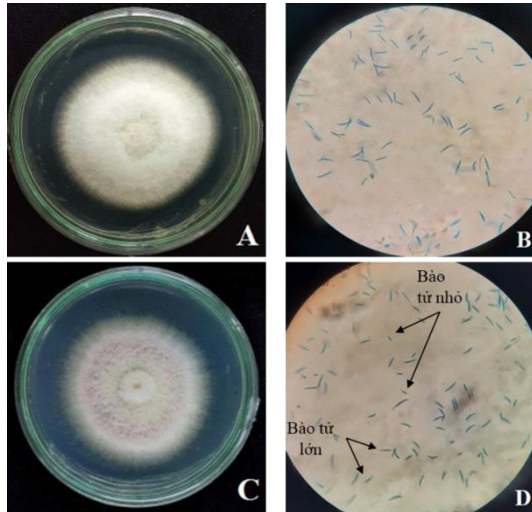
### 2.7 Xử lý số liệu

Số liệu thí nghiệm được thu thập và tổng hợp bằng phần mềm Microsoft Office Excel, phân tích thống kê theo ANOVA và trắc nghiệm phân hạng Least

Significant Difference (LSD) Test bằng phần mềm SAS 9.1.

### 3 Kết quả và thảo luận

#### 3.1 Kết quả phân lập và làm thuần tác nhân gây bệnh thối gốc măng tây xanh



**Hình 1** Hình thái khuẩn lạc nấm sau 4 ngày nuôi cấy và hình dạng bào tử của chúng dưới kính hiển vi vật kính 40x (XSZ 207, Novel, Trung Quốc)  
A, B – nấm nhóm 1; C, D – nấm nhóm 2

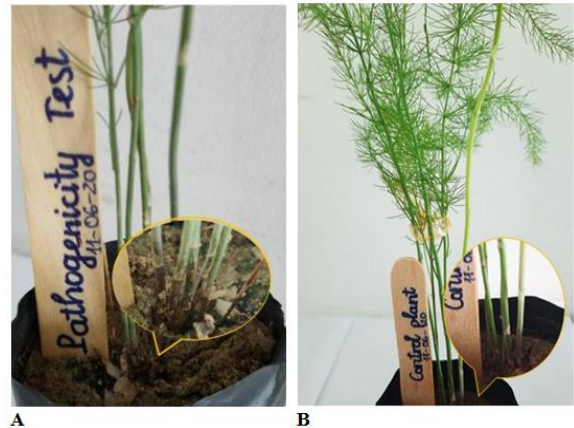
Các mẫu nấm thu được sau khi phân lập và làm thuần được chia thành 2 nhóm hình thái khuẩn lạc trên môi trường PGA. Nhóm thứ nhất, khuẩn lạc có hệ sợi màu trắng, phồng xốp (Hình 1A), chuyển dần sang màu vàng sau 6 ngày nuôi cấy. Đường kính của khuẩn lạc khoảng (4 - 4,2) cm sau 4 ngày phân lập, sau đó, sợi nấm nhanh chóng lan ra toàn bộ đĩa. Dưới kính hiển vi, bào tử của nấm nhóm 1 có độ cong mạnh, dạng lưỡi liềm, có (5 - 7) vách ngăn (Hình 1B).

Nhóm thứ hai, khuẩn lạc có hệ sợi nấm mịn màu trắng, khuẩn lạc chỉ phồng lên ở giữa, sợi nấm phẳng và phát triển sát bề mặt thạch (Hình 1C). Đường kính khuẩn lạc lên đến 7 cm và khuẩn ti chuyển màu tím nhạt sau 6 ngày. Dưới kính hiển vi, bào tử của nấm nhóm 2 có hai loại: bào tử đỉnh lớn khá giống với bào tử ở nhóm 1 với đường cong lưỡi liềm và (3 - 5) vách ngăn; bào tử đỉnh nhỏ có hình bầu dục, không có vách ngăn (Hình 1D).

Dựa vào đặc điểm hình thái khuẩn lạc trên đĩa thạch cũng như hình dạng bào tử hình lưỡi liềm đặc trưng, có thể thấy nấm phân lập được có nhiều đặc điểm giống với mô tả về *Fusarium* sp. của Leslie, J. và Summerell, B. (2007) [16] cũng như Barnett, H. L.

và Hunter, B. B. (1972) [17]. Do đó, có thể dự đoán nấm phân lập từ mẫu măng tây xanh bị bệnh thối gốc trong nghiên cứu này thuộc *Fusarium* sp.

#### 3.2 Xác định tác nhân gây bệnh thông qua lây nhiễm nhân tạo

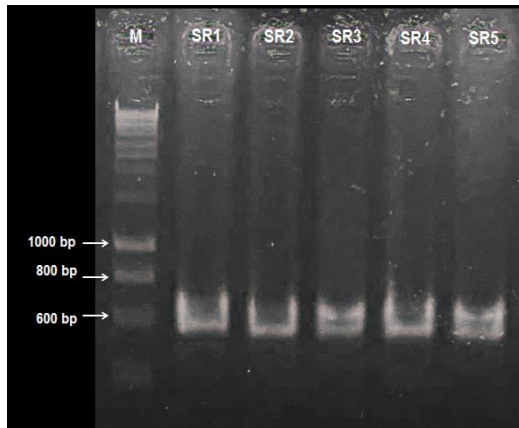


**Hình 2** Lây nhiễm nhân tạo xác định nấm gây bệnh thối gốc măng tây xanh. A – Cây được lây nhiễm có biểu hiện bệnh; B – Cây đối chứng

Để xác định chính xác tác nhân gây bệnh thì việc tái tạo bệnh thông qua lây nhiễm nhân tạo là rất quan trọng, giúp khẳng định nấm phân lập được có phải là tác nhân gây bệnh hay không. Sau 20 ngày, các triệu chứng bệnh thối gốc bắt đầu xuất hiện với các đốm nâu nhỏ ở phần thân ngay phía trên mặt đất ở cả 2 nhóm nấm, với tỉ lệ 100 % cây lây nhiễm có dấu hiệu bệnh trong khi cây đối chứng không biểu hiện bệnh.

Kết quả tái phân lập từ những cây măng tây xanh bị bệnh cũng thu được các khuẩn lạc thuần có đặc điểm hình thái và đặc điểm bào tử giống với nấm phân lập được từ mẫu ban đầu. Điều này chứng tỏ 2 nhóm nấm thu được chính là tác nhân gây nên bệnh thối gốc măng tây xanh Ninh Thuận.

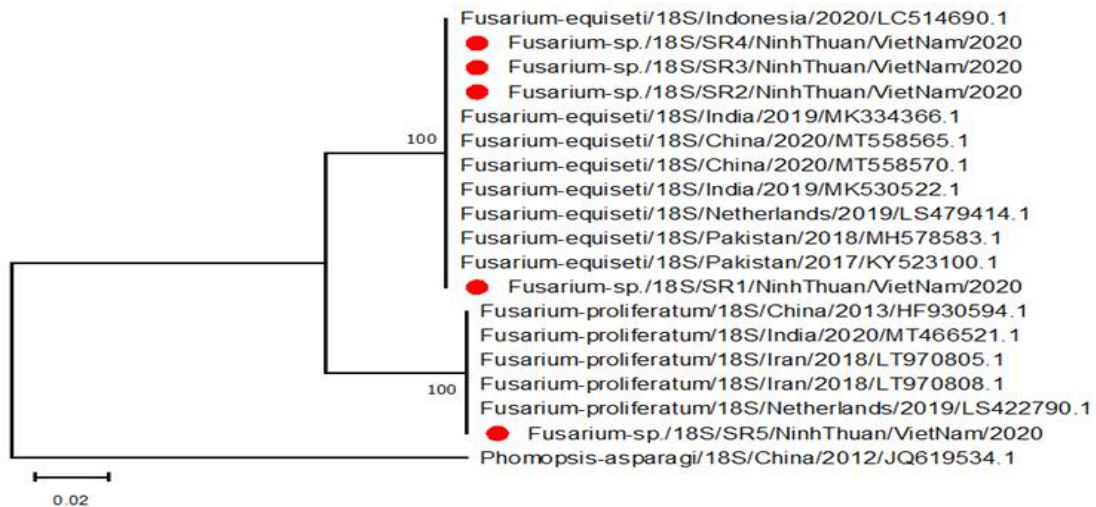
#### 3.3 Định danh tác nhân gây bệnh thối gốc măng tây xanh



**Hình 3** Sản phẩm PCR khuếch đại gen vùng ITS trên gel agarose 1 %

Trình tự ITS được sử dụng phổ biến cho các nghiên cứu ở mức độ phân tử ở thực vật và nấm để phân biệt các loài có quan hệ gần gũi với nhau. Trong nghiên cứu này, phản ứng PCR sử dụng cặp mồi ITS1 và

ITS4 đã khuếch đại thành công vùng trình tự ITS, cho những băng với độ dài khoảng 600 bp trên gel agarose 1 % ở tất cả 5 mẫu thuộc 2 nhóm nấm (Hình 3), phù hợp với kích thước vùng gen đã khuếch đại [18]. Kết quả giải trình tự thu được độ dài trình tự vùng ITS nhóm nấm 1 là 526 bp và nhóm 2 là 538 bp. Các trình tự (4 trình tự thuộc nhóm nấm 1, 1 trình tự thuộc nhóm nấm 2) khi phân loại trên cây phát sinh loài thuộc 2 nhóm lớn: nhóm 1 phân bố cùng nhóm với các chủng *Fusarium equiseti* phân lập trên cây nhót tây *Eriobotrya japonica* (Pakistan), nhân sâm *Panax ginseng* (Trung Quốc), quýt hồng *Citrus reticulata* (Pakistan); nhóm 2 phân bố cùng nhóm với các chủng *Fusarium proliferatum* phân lập từ *Trachycarpus princeps* (Hà Lan) với độ tương đồng 100 %.



**Hình 4** Cây phát sinh loài của nấm gây bệnh thối gốc măng tây xanh

Như vậy, nấm gây bệnh thối gốc măng tây xanh được trồng ở Ninh Phước, Ninh Thuận là *F. equiseti* và *F. proliferatum*, trong đó, *F. proliferatum* cũng đã được công bố là một trong hai tác nhân phổ biến nhất gây bệnh thối gốc trên măng tây xanh ở nhiều nước cùng với *F. oxysporum* [8-10]. Nghiên cứu này cho thấy *F. equiseti* cũng có khả năng gây bệnh thối gốc trên măng tây xanh giống như 2 loài ở trên.

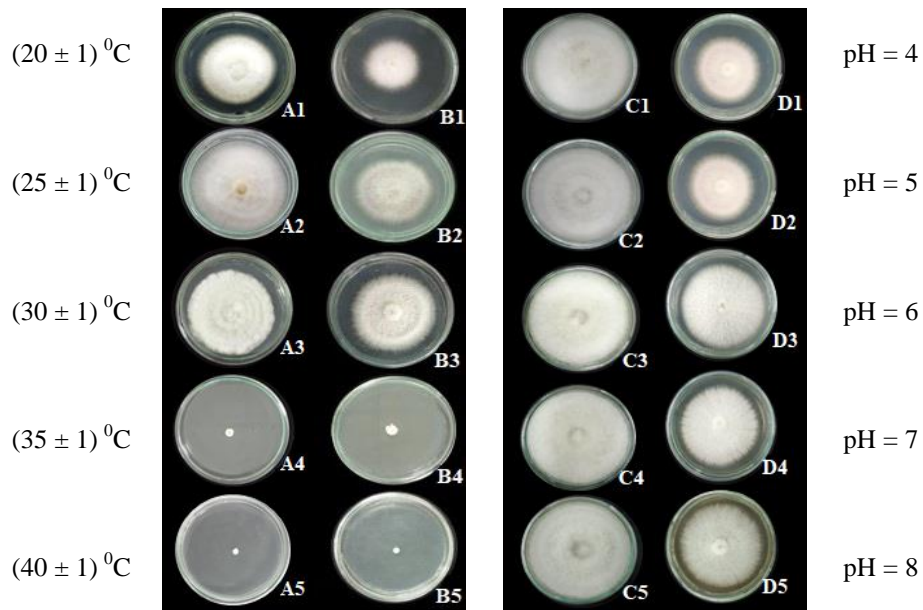
Chi *Fusarium* hiện diện phổ biến trong vùng trồng măng tây xanh ở Tây Ban Nha; trong đó, tùy theo vùng trồng, *F. equiseti* là loài chiếm ưu thế cao nhất (23 - 61) % trong mẫu đất trong khi *F. proliferatum* chỉ chiếm (1 - 4) %; tuy nhiên, khi phân lập từ rễ cây,

*F. proliferatum* chiếm từ (2 - 31) % trong khi *F. equiseti* chỉ chiếm (5 - 9) %; nhưng nhìn chung, đây là 2 loài xuất hiện hầu như ở tất cả các vùng trồng măng tây xanh trong nghiên cứu [19]. Có thể thấy *Fusarium* sp. là một tác nhân gây bệnh khá phổ biến ở các vùng trồng măng tây xanh. *F. equiseti* cũng là loại nấm có phổ kí chủ rộng, được công bố là tác nhân gây bệnh héo rũ trên cà chua ở Indonesia [20] và bệnh cháy lá trên một loại cỏ dại *Cyperus iria* ở Ấn Độ [21]. Do đó, một vùng đất chuyên trồng rất nhiều loại nông sản như Ninh Thuận là điều kiện thuận lợi cho *F. equiseti* dễ dàng phát triển và lây lan, gây bệnh cho nhiều loại

cây trồng, tổn thất cho nông nghiệp, đặc biệt là cây trồng có giá trị kinh tế cao như măng tây xanh.

3.4 Ảnh hưởng của nhiệt độ và pH môi trường đến sinh trưởng, phát triển của tác nhân gây bệnh  
Nhiệt độ có ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát

triển của cả 2 nhóm nấm gây bệnh thối gốc măng tây xanh, khi nhiệt độ trong khoảng  $(20 - 30) ^\circ\text{C}$ , khuẩn lạc *Fusarium* sp. nhanh chóng tăng kích thước, trong khi ở nhiệt độ  $(35 - 40) ^\circ\text{C}$ , nấm bị ức chế hoàn toàn (Hình 5).



**Hình 5** Ảnh hưởng của nhiệt độ và pH đến sinh trưởng, phát triển của nấm bệnh sau 6 ngày nuôi cấy trên thạch PGA. A1 đến A5 – Khảo sát nhiệt độ *F. equiseti*; B1 đến B5 – Khảo sát nhiệt độ *F. proliferatum*; C1 đến C5 – Khảo sát pH *F. equiseti*; D1 đến D5 – Khảo sát pH *F. proliferatum*

Như vậy, nhiệt độ trung bình hàng năm ở Ninh Thuận dao động từ  $(26 - 27) ^\circ\text{C}$ , sẽ rất thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của các loài nấm *Fusarium* sp. gây bệnh thối gốc cho cánh đồng măng tây xanh. Vào mùa hè, nhiệt độ trên  $35 ^\circ\text{C}$  kèm nắng kéo dài sẽ ức chế sự phát triển nấm bệnh một cách tự nhiên. Tuy nhiên, ở các mùa còn lại khi nhiệt độ thấp hơn, người trồng cần chuẩn bị sẵn sàng các biện pháp phòng trừ bệnh hiệu quả để ngăn chặn mầm bệnh xuất hiện và lây lan.

Ngược lại với yếu tố nhiệt độ, pH môi trường hầu như ít ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của *Fusarium* sp. trong phạm vi nghiên cứu. Nhìn chung, dựa vào đường kính khuẩn lạc, pH = (6 - 7) thích hợp nhất cho sự phát triển của 2 nhóm nấm. Nhiệt độ và pH môi trường trong nghiên cứu này cũng phù hợp với công bố của Mohsen, L. Y. và cộng sự (2016) khi nghiên cứu về chi *Fusarium* [22].

#### 4 Kết luận

Tác nhân gây bệnh thối gốc măng tây xanh (*Asparagus officinalis* L.) trồng ở Ninh Thuận, Việt Nam được xác định là do 2 loài nấm *Fusarium equiseti* và *Fusarium proliferatum* gây ra.

Cả 2 loài *Fusarium* đều thích hợp sinh trưởng, phát triển ở nhiệt độ  $(20 - 30) ^\circ\text{C}$  và pH = (6 - 7). Dựa vào đặc điểm này kết hợp với hiểu biết về điều kiện tự nhiên tại vùng trồng măng tây xanh, người nông dân có thể chủ động đưa ra các biện pháp phòng ngừa bệnh hợp lý để hạn chế thiệt hại do bệnh thối gốc măng tây xanh gây ra.

**Lời cảm ơn** Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ - Đại học Nguyễn Tất Thành, đề tài mã số 2020.01.56/HĐ-NCKH.

## Tài liệu tham khảo

1. Fan R., Yuan F., Wang N., Gao Y., Huang Y. (2015). Extraction and analysis of antioxidant compounds from the residues of *Asparagus officinalis* L. *Journal of Food Science and Technology*. 52(5): 2690-2700.
2. Wang J., Liu Y., Zhao J., Zhang W., Pang X. (2013). Saponins extracted from by-product of *Asparagus officinalis* L. suppress tumour cell migration and invasion through targeting Rho GTPase signalling pathway. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 93(6): 1492-1498.
3. Wang N., Zhang X., Wang S., Guo Q., Li Z., Liu H., Wang C. (2020). Structural characterisation and immunomodulatory activity of polysaccharides from white asparagus skin. *Carbohydrate Polymers*. 227: 115314.
4. Zhang H., Birch J., Pei J., Ahmed I.A.M., Yang H., Dias G., El-Aty A.M.A., Bekhit A.E.-D. (2019). Identification of six phytochemical compounds from *Asparagus officinalis* L. root cultivars from New Zealand and China using UAE-SPE-UPLC-MS/MS: Effects of extracts on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Induced oxidative stress. *Nutrients*. 11(1): 107.
5. Lư Cẩm, Lê Hồng Triều (2008). Kỹ thuật trồng và chăm sóc cây măng tây xanh. Nhà xuất bản Mĩ thuật.
6. Ủy ban nhân dân tỉnh Ninh Thuận (2019). Quyết định số 740/QĐ-UBND - Công nhận Bộ tiêu chí đánh giá, lựa chọn và phê duyệt Danh mục các sản phẩm nông nghiệp chủ lực tỉnh Ninh Thuận. Ninh Thuận, Việt Nam.
7. Koike S.T., Gladders P., Paulus A. (2006). *Vegetable Diseases: A Colour Handbook*. CRC Press.
8. Mulè G., Susca A., Stea G., Moretti A. (2004). Specific detection of the toxigenic species *Fusarium proliferatum* and *F. oxysporum* from asparagus plants using primers based on calmodulin gene sequences. *FEMS Microbiol Lett*. 230(2): 235-40.
9. Jeffries P., Wong J.Y. (2006). Diversity of pathogenic *Fusarium* populations associated with asparagus roots in decline soils in Spain and the UK. *Plant Pathology*. 55(3): 331-342.
10. Abbasi P.A., Borrego-Benjumea A., Basallote-Ureba M.J., Melero-Vara J.M. (2014). Characterization of *Fusarium* isolates from asparagus fields in southwestern Ontario and influence of soil organic amendments on *Fusarium* crown and root rot. *Phytopathology*. 104(4): 403-415.
11. Burgess L.W., Knight T.E., Tesoriero L., Phan Thúy Hiền (2009). Cẩm nang chẩn đoán bệnh cây ở Việt Nam. Trung tâm Nghiên cứu Nông nghiệp Quốc tế Australia ACIAR.
12. Gardes M., Bruns T.D. (1993). ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes--application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol Ecol*. 2(2): 113-118.
13. White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J., Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J. (1990). Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics, in *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J., White T.J., Editors., Academic Press: San Diego, CA, USA. 315-322.
14. Larkin M.A., Blackshields G., Brown N.P., Chenna R., McGettigan P.A., McWilliam H., Valentin F., Wallace I.M., Wilm A., Lopez R., Thompson J.D., Gibson T.J., Higgins D.G. (2007). Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*. 23(21): 2947-2948.
15. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipinski A., Kumar S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol Biol Evol*. 30(12): 2725-2729.
16. Leslie J., Summerell B. (2007). *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing. 388.
17. Barnett H.L., Hunter B.B. (1972). *Illustrated genera of imperfect fungi*. Minneapolis: Burgess Pub. Co.
18. Embong Z., Wan Hitam W.H., Yean C.Y., Rashid N.H., Kamarudin B., Abidin S.K., Osman S., Zainuddin Z.F., Ravichandran M. (2008). Specific detection of fungal pathogens by 18S rRNA gene PCR in microbial keratitis. *BMC Ophthalmol*. 8: 7.
19. Brizuela A.M., De la Lastra E., Marín-Guirao J.I., Gálvez L., Cara-García M.d., Capote N., Palmero D. (2020). *Fusarium* consortium populations associated with Asparagus crop in Spain and their role on field decline syndrome. *Journal of Fungi*. 6(4): 336.
20. Darmadi A.A.K., Suriani N.L., Sudirga S.K., Khalimi K. (2019). First study on *Fusarium equiseti*: cause *Fusarium* wilt in tomato crop in Bali, Indonesia. *SABRAO Journal of Breeding & Genetics*. 51(4): 442-450.

21. Gupta V., Razdan V.K., John D., Sharma B.C. (2013). First report of leaf blight of *Cyperus iria* caused by *Fusarium equiseti* in India. *Plant Dis.* 97(6): 838.
22. Mohsen L.Y., Al-Janabi J.K.A., Jebor M.A. (2016). The effect of some environmental conditions on the growth and activity of the external enzymes for five sp. of *Fusarium*. *Journal of Babylon University.* 24: 630-646.

### **Identification of phytopathogenic fungi causing crown root rot on *Asparagus officinalis* L. in Ninh Thuan**

Nguyen Thi Nha<sup>\*</sup>, Ho Thi Cam Nguyen, Pham Thi Hong Gam

Faculty of Biotechnology, Nguyen Tat Thanh University

\*ntnha@ntt.edu.vn

**Abstract** Root rot is a disease on *Asparagus officinalis* L. that seriously affected on the yield and quality of *Asparagus officinalis* L.. Fungi were isolated from asparagus with diseased rot collected from Ninh Thuan province. Koch's postulate was applied to confirm the pathogens of the disease. The isolated fungal species were identified based on molecular phylogenetic analyses including nucleotide sequences of the ITS region. Based on observation of macroscopic, microscopic, and 18S rDNA characteristics, it could be identified that the pathogens of crown root rot in *Asparagus officinalis* L. in Ninh Thuan were *Fusarium equiseti* and *Fusarium proliferatum*. This result will be the basis for further research on integrated pests management of asparagus.

**Keywords** crown rot, root rot, *Asparagus officinalis*, Ninh Thuan