

Xác định vi nấm gây thối củ hành tím (*Allium ascalonicum*) trồng tại Ninh Thuận trong quá trình bảo quản

Hồ Thị Cẩm Nguyên, Nguyễn Thị Nhã, Trần Tuấn Kiệt, Võ Thị Tú Bình, Nguyễn Thị Thư Nhã

Viện Kỹ thuật Công nghệ cao NTT, Đại học Nguyễn Tất Thành
htcnguyen@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Bệnh thối củ hành tím do vi nấm gây thiệt hại lớn về sản lượng và chất lượng củ hành trong quá trình bảo quản. Nghiên cứu được tiến hành nhằm định danh vi nấm gây thối củ hành tím sau thu hoạch. Bằng phương pháp xác định dựa trên hình thái vi nấm, nguyên tắc Koch và định danh phân tử, hai tác nhân gây thối củ hành tím đã được chứng minh là *Fusarium oxysporum* và *Aspergillus* spp.. Bệnh thường bắt đầu từ phần rễ hoặc phần vỏ gần gốc rồi sau đó lan rộng vào thịt củ làm cho củ hành chuyển màu nâu, mềm và mọng nước. Đặc điểm hình thái của tác nhân gây bệnh đã được xác định tương đồng giữa mẫu phân lập ban đầu và mẫu tái phân lập khi lây nhiễm nhân tạo; và triệu chứng bệnh khi lây nhiễm nhân tạo cũng giống với mẫu bệnh ban đầu. Phân tích trình tự DNA mã hóa vùng 18S rRNA của chủng 2 loại vi nấm cho thấy sự tương đồng trên 99 % với cùng vùng trình tự của *F. oxysporum* và *Aspergillus* spp. trên GenBank. Kết quả đề tài là cơ sở để thực hiện các nghiên cứu về biện pháp phòng trừ bệnh hại, nâng cao hiệu quả bảo quản củ hành tím.

Nhận 23/11/2022
Được duyệt 10/04/2023
Công bố 25/06/2023

Từ khóa

Fusarium oxysporum,
Aspergillus sp., *Allium ascalonicum*,
bệnh thối củ hành tím

© 2023 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Giới thiệu

Hành tím (HT) có tên khoa học là *Allium ascalonicum*, một loài thuộc chi *Allium*, có nguồn gốc từ châu Á. Hiện nay, HT được trồng rộng rãi ở nhiều quốc gia và vùng khí hậu khác nhau [1], đồng thời là gia vị rất phổ biến trong ẩm thực của người Việt Nam cũng như nhiều quốc gia khác. Về hình thái, cây HT cao từ (20-30) cm, lá hình trụ, một cây có khoảng (2-3) củ thường được bao bởi lớp vỏ bên ngoài, hình thái củ có thể thon dài hoặc tròn, trọng lượng mỗi củ từ (5-25) g, màu sắc có thể tím, vàng, trắng, nâu đỏ, ..., mùi hăng nhẹ tùy vào vùng trồng [2]. Tuy nhiên, HT trồng tại châu Á thường có màu đỏ hoặc đỏ tía, dễ trồng, sinh trưởng nhanh, thích hợp trồng ở vị trí nhiều nắng và chịu được hầu hết các loại đất thoát nước tốt. Theo thống kê của FAO năm 2019, tổng diện tích trồng hành trên thế giới chiếm khoảng 5,2 triệu ha, sản lượng trung bình 99,7 triệu tấn,

năng suất đạt khoảng 19,17 tấn/ha [3]. Củ HT cung cấp nhiều hoạt chất đã xác định như saponin, hàm lượng lớn quercetin, isorhamnetin và glycoside [4]. Đồng thời, nhiều nghiên cứu chỉ ra củ HT có tác dụng trong việc chống ung thư [5] chống oxy hóa [4] ngăn ngừa và điều trị dị ứng [6], ...

HT được canh tác với diện tích lớn tại nhiều tỉnh ở Việt Nam: Ninh Thuận, Sóc Trăng, Lâm Đồng, Vĩnh Phúc, Hải Dương, ..., giá củ HT liên tục tăng từ sau đại dịch COVID đem lại nguồn thu nhập ổn định cho nông dân. Tỉnh Ninh Thuận có 600 ha diện tích trồng HT, năng suất bình quân từ (1,8 đến 2) tấn/sào Trung Bộ. Trồng HT là một trong những nghề truyền thống của nông dân huyện Ninh Hải, Ninh Phước và TP. Phan Rang – Tháp Chàm; HT Ninh Thuận có củ to, chắc, màu sắc đẹp, hương thơm đặc trưng, thời gian bảo quản lâu nên rất được người tiêu dùng ưa chuộng.

Khoảng (35-40) % thực vật thuộc chi *Allium* bị thiệt hại về sản lượng do bệnh trên đồng ruộng và trong bảo quản gây ra, trong đó bệnh thối củ do nấm gây tổn thất có thể lên đến (15-30) % về sản lượng, trong quá trình lưu trữ ở các giống khác nhau [7, 8]. Thối củ do vi nấm gây ra thường có thể xảy ra ở tất cả các giai đoạn phát triển của HT [9]. Bệnh tấn công từ rễ lên bộ phận củ làm cho củ hành bị thối có màu nâu, mọng nước và mềm. Khi các triệu chứng trở nên nghiêm trọng, củ bị thối rữa toàn bộ, và có thể dễ dàng quan sát sự phát triển của tơ nấm bệnh trên bề mặt củ [10, 11]. Nhiều loại nấm gây bệnh trên HT đã được xác định như *Alternaria porri*, *Aspergillus niger*, *Botrytis allii*, *Colletotrichum circinans*, *Fusarium oxysporum*, ..., tuy nhiên, tùy điều kiện địa lý và thời tiết khác nhau, đặc điểm của tác nhân gây bệnh cũng thay đổi đáng kể [8].

Chi *Fusarium* tồn tại phổ biến trong đất canh tác nông nghiệp, trong đó *F. oxysporum* đã được ghi nhận có phổ kí chủ rất rộng, gây hại cho nhiều loại cây trồng khác nhau với bệnh hại đa dạng. *F. oxysporum* có khả năng gây thối gốc hành tây và măng tây, gây bệnh thối khô ở tỏi, đốm lá trên nha đam và gây héo rũ cho cây cà chua [12-16]. *F. oxysporum* có thể gây hại trên HT ở nhiều giai đoạn khác nhau đồng thời cũng là tác nhân chính gây thiệt hại nặng cho củ HT [8, 17-21]. Ngoài ra, khi HT bị nhiễm bệnh từ chi *Fusarium* dẫn đến phát sinh nhiều độc tố như trichothecenes, zearalenones và fumonisin trên củ, gây ảnh hưởng đến sức khỏe người tiêu dùng [22].

Chi *Aspergillus* có phổ kí chủ khá rộng, là tác nhân gây bệnh trên nhiều loại cây trồng, các loài thuộc chi này khi gây bệnh sẽ tiết ra nhiều độc tố như aflatoxin, ochratoxin A, fumonisin, sterigmatocystin, patulin, ..., gây hại cho sức khỏe [23]. *A. niger* là một trong những loài phổ biến nhất trong chi *Aspergillus*. Đây là tác nhân chính gây ra hư hại cho nông sản, đặc biệt là bệnh thối rữa sau thu hoạch trên trái cây tươi và các loại rau củ [24]. Các nghiên cứu đã chỉ ra *A. niger* chủ yếu gây bệnh thối cho thực vật như thối củ khoai mỡ, thối rễ cây đậu phộng, và gây thối mềm trên cây lười hồ [25-27]. Riêng với HT, *A. niger* thường gây bệnh mốc đen, làm mất thẩm mỹ cho củ, và ở điều kiện thích hợp có thể gây thối củ [17]. *A. welwitschiae* thường được báo cáo gây bệnh ở giai đoạn sau thu hoạch, gây thối hạt cải dưa, mốc trên hành tây và ngô [28-30].

Bệnh thối củ HT do vi nấm gây tổn thất lớn về sản lượng trong quá trình lưu kho và vận chuyển, tuy nhiên

những nghiên cứu về nguyên nhân cũng như phương pháp phòng trừ bệnh hại còn rất hạn chế. Do đó, nghiên cứu được tiến hành nhằm mục tiêu xác định và định danh vi nấm gây bệnh thối củ HT sau thu hoạch, từ đó làm cơ sở cho những nghiên cứu về biện pháp phòng trừ hiệu quả.

2 Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Phương pháp thu mẫu

Củ HT trồng tại Ninh Thuận trong quá trình bảo quản có triệu chứng thối bao gồm củ có màu vàng đến nâu, mô mềm, có tơ nấm trắng trên bề mặt vết bệnh, được thu tại 3 hộ ở xã Vĩnh Hải, huyện Ninh Hải, tỉnh Ninh Thuận vào tháng 6, sau khi đã bảo quản 1 tháng. Mẫu bệnh được cất giữ trong túi giấy thoáng khí và được bảo quản trong thùng lạnh, vận chuyển và phân lập mẫu trong 24 giờ.

2.2 Phương pháp phân lập và làm thuần tác nhân gây bệnh thối

Mẫu thối củ HT sau khi thu được xử lí bề mặt bằng cách lau cồn 70 %, sau đó được cắt thành miếng nhỏ, và đặt vào đĩa petri có chứa môi trường WA (water agar), đặt ở nhiệt độ $(25 \pm 2) ^\circ\text{C}$. Khi tơ nấm xuất hiện trên bề mặt thạch, cấy chuyển tơ nấm sang môi trường PDA (potato dextrose agar) cho đến khi thu được khuẩn lạc thuần. Vi nấm được nhuộm với dung dịch lactophenol cotton blue, quan sát dưới kính hiển vi vật kính 100X (XSZ 207, Novel, China).

2.3 Phương pháp lây nhiễm nhân tạo xác định tác nhân gây bệnh

Việc xác định tác nhân gây bệnh cho đối tượng nghiên cứu được thực hiện theo nguyên tắc Koch. Củ HT khỏe mạnh được lột vỏ và khử trùng bề mặt trong dung dịch NaClO 0,5 % trong (2-3) phút, rửa 4 lần với nước cất vô trùng. Củ được tạo vết thương rộng 2 mm, sâu 2 mm trên bề mặt bằng dao vô trùng, sau đó cấy tác nhân gây bệnh vào vết thương. Mẫu củ hành đối chứng âm cũng được tạo vết thương tương tự nhưng không cấy nấm bệnh.

Bố trí thí nghiệm: mỗi nghiệm thức dùng 3 củ/1 hộp lặp lại 3 lần, mỗi củ có trọng lượng từ (2-3) g. Mẫu lây nhiễm được ủ ở nhiệt độ $(25 \pm 2) ^\circ\text{C}$ trong (30-40) ngày.

2.4 Phương pháp định danh phân tử tác nhân gây bệnh thối

DNA tổng số được tách chiết bằng TopPURE® Genomic DNA extraction kit của Công ty TNHH Giải pháp Y sinh ABT Việt Nam, mã số HI-112 theo quy



trình hướng dẫn của nhà sản xuất. Vi nấm được định danh dựa trên vùng trình tự 18S rRNA. Cụ thể, vùng trình tự 18S rRNA được khuếch đại bằng phương pháp PCR (Polymerase chain reaction) với cặp mồi ITS1 và ITS4 [31].

ITS1-F:5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'
ITS4-R:5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'

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 52 °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 quan sát và xác định kích thước trên gel agarose 1 % trong thiết bị Gel Doc 2000; sau đó gửi giải trình tự bằng phương pháp Sanger sequencing tại Công ty 1st Base, Malaysia.

Các trình tự thô được tập hợp và đánh giá chất lượng nucleotide bằng chương trình FinchTV 1.4 [32]. Các đoạn trình tự có chất lượng thấp ở 2 đầu trình tự được hiệu chỉnh bằng chương trình Seaview 4.0 [33]. Các trình tự sau đó được so sánh tương đồng với cơ sở dữ liệu trên ngân hàng gene NCBI (National Center for Biotechnology Information) bằng công cụ BLAST, thông qua các giá trị E-value và Percent identify.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Triệu chứng của bệnh thối củ HT

Triệu chứng điển hình của bệnh thối gồm vỏ ngoài củ HT chuyển màu từ tím sang vàng nâu, phần thịt củ bị thối nhũn có màu nâu nhạt. Một số mẫu còn quan sát thấy hệ sợi nấm màu trắng bao phủ từ gốc lên thân, ăn sâu vào trong phần thịt (Hình 1). Đến giai đoạn thối rữa hoàn toàn, củ HT có màu nâu, mọng nước, mềm, có mùi thối, mất kết cấu ban đầu.

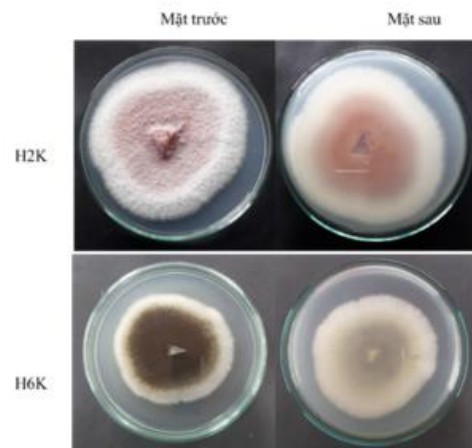


Hình 1 Triệu chứng bệnh trên củ HT

3.2 Phân lập và làm thuần tác nhân gây bệnh thối

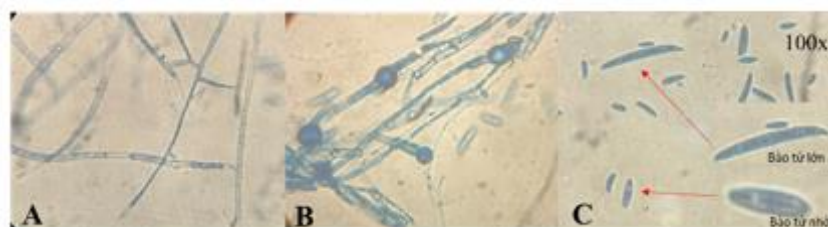
Kết quả phân lập và làm thuần cho thấy có 4 chủng vi nấm có hình thái đặc trưng, trong đó 2 chủng H2K và H6K có khả năng gây bệnh thối củ HT khi xác định theo nguyên tắc Koch.

Khuẩn lạc nấm H2K có bán kính 3,5 cm sau 6 ngày nuôi cấy, mặt trước tản nấm có dạng phồng xốp, sắc tố hồng tím, mặt sau có màu đỏ sậm ở tâm và vòng tròn đồng tâm màu trắng hồng ở phía ngoài. Chủng nấm H6K có tốc độ lan tỏa nhanh, ở ngày thứ 6 bán kính tản nấm đạt 4 cm và mặt trước xuất hiện bào tử màu đen lan ra toàn đĩa, mặt sau màu trắng đục (Hình 2).



Hình 2 Hình thái khuẩn lạc chủng nấm gây bệnh trên môi trường PDA sau 7 ngày nuôi cấy trên đĩa Φ 9 cm

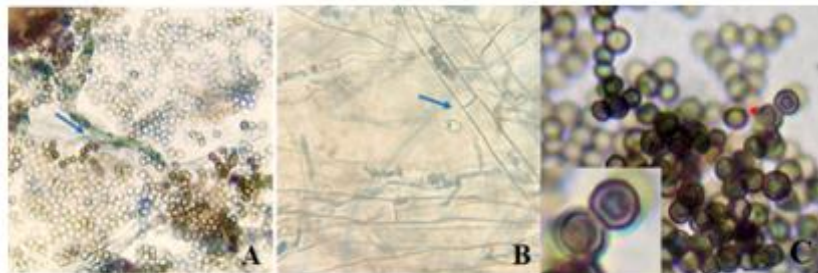
Bào tử lớn của chủng H2K hình lưỡi liềm, dài, nhọn ở hai đầu, có (3-4) vách ngăn, còn bào tử nhỏ có dạng hình oval, không có vách ngăn. Bào tử vách dày trên môi trường PDA có hình tròn, phát triển đơn lẻ (Hình 3).



Hình 3 Hình thái sợi nấm và bào tử của H2K với vật kính 100X
(A sợi nấm phân nhánh; B vách ngăn và cấu trúc hậu bào tử; C bào tử lớn và bào tử nhỏ)

Chủng H6K có sợi nấm phân nhánh, có vách ngăn, bắt màu nhạt với thuốc nhuộm. Bào tử nhỏ hình thành trên

cuống bào tử, hình tròn, màu nâu, mật độ dày đặc (Hình 4).



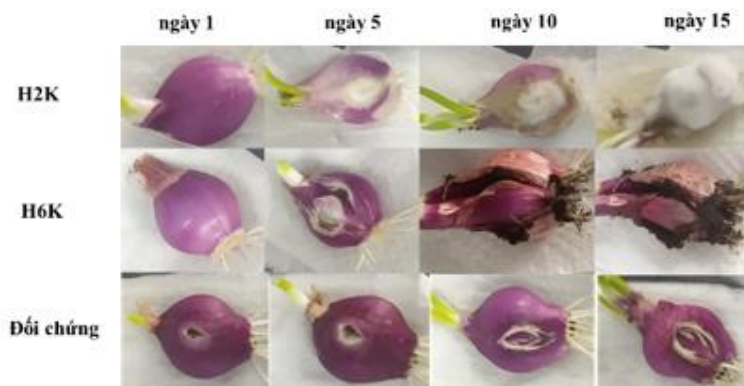
Hình 4 Hình thái sợi nấm và bào tử của H6K ở vật kính 100X
(A sợi nấm phân nhánh; B sợi nấm có vách ngăn; C bào tử)

3.3 Xác định tác nhân gây bệnh

Thí nghiệm lây nhiễm nhân tạo được theo dõi ghi nhận ở các mốc thời gian (5, 10 và 15) ngày song song với mẫu đối chứng. Kết quả cho thấy xuất hiện triệu chứng bệnh thối củ ở 2 nghiệm thức lây nhiễm chủng nấm H2K và H6K tương tự như triệu chứng ở mẫu thối củ HT thu thập ban đầu. Sợi nấm phát triển mạnh trên bề mặt vết thương; vết bệnh lan rộng ra theo thời gian sau đó khiến

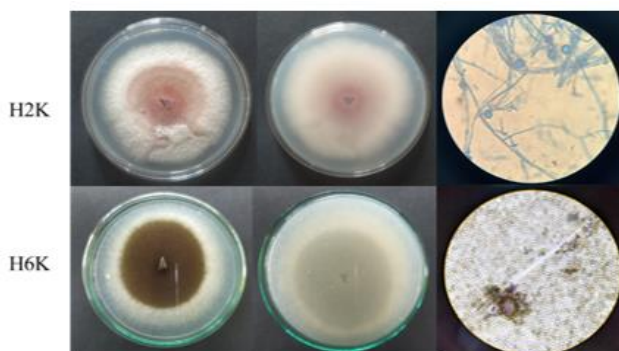
củ hành bị nhũn, thối rữa, và có mùi hôi (Hình 5). Đồng thời, mẫu đối chứng không có dấu hiệu thối.

Đối với chủng H2K, sợi nấm màu trắng phát triển mạnh bao phủ lấy vết bệnh, rồi dần lan rộng khắp thân củ gây thối. Riêng chủng H6K, ban đầu sợi nấm màu trắng phát triển trên vết bệnh, sau đó hình thành lớp bào tử màu nâu đen phủ lên bên ngoài, bên trong thối mềm (Hình 5).

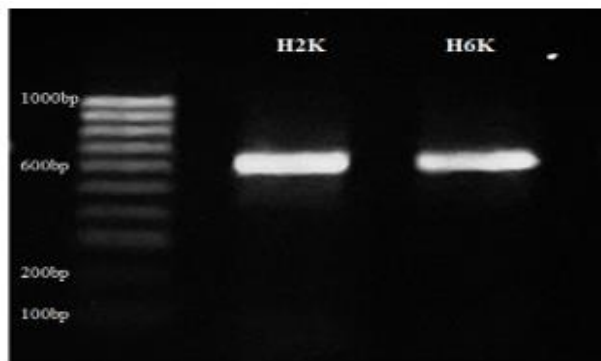


Hình 5 Kết quả lây nhiễm nhân tạo các chủng H2K, H6K gây thối trên củ HT

Các vết bệnh trong quá trình lây nhiễm nhân tạo được tái phân lập, thu được 2 chủng vi nấm có hình thái tương tự với hình thái của H2K và H6K phân lập ban đầu (Hình 6).



Hình 6 Hình thái tản nấm và vi thể nấm sau khi tái phân lập ở vật kính 100X



Hình 7 Sản phẩm PCR khuếch đại vùng trình tự 18S rRNA của nấm bệnh trên gel agarose 1 %

3.4 Định danh tác nhân gây bệnh bằng phương pháp sinh học phân tử

Kết quả sản phẩm PCR khuếch đại vùng trình tự 18S rRNA với cặp mồi ITS1 và ITS4 của 2 chủng H2K và H6K trên gel agarose 1 % hiển thị dải sáng rõ, kích thước khoảng 600 bp, phù hợp với kích thước vùng trình tự 18S rRNA [2] (Hình 7).

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc. Len	Accession
✓ <i>Fusarium oxysporum</i> small subunit	<i>Fusarium oxysporum</i>	987	987	99%	0.0	99.81%	596	MF435919.1
✓ <i>Fusarium oxysporum</i> strain GY-KG-18	<i>Fusarium oxysporum</i>	987	987	99%	0.0	99.81%	582	GU445363.1
✓ <i>Fusarium oxysporum</i> strain LZ51 sm	<i>Fusarium oxysporum</i>	981	981	99%	0.0	99.63%	560	MN533762.1
✓ <i>Fusarium oxysporum</i> strain MF11 sm	<i>Fusarium oxysporum</i>	981	981	99%	0.0	99.63%	560	MH911375.1
✓ <i>Fusarium oxysporum</i> isolate JSHJ2 st	<i>Fusarium oxysporum</i>	981	981	99%	0.0	99.63%	558	MK385594.1
✓ <i>Fusarium oxysporum</i> strain CS65 sm	<i>Fusarium oxysporum</i>	981	981	99%	0.0	99.63%	558	MK377350.1
✓ <i>Fusarium oxysporum</i> isolate TH9B9c	<i>Fusarium oxysporum</i>	981	981	99%	0.0	99.63%	558	MH725595.1

Hình 8 Kết quả BLAST chủng vi nấm H2K trên ngân hàng gen

Vùng trình tự 18S rRNA của chủng H2K tương đồng trên 99 % với vùng trình tự tham chiếu trên GenBank của chủng *F. oxysporum* (Hình 8). Tại Việt Nam, *F. oxysporum* cũng đã được báo cáo gây bệnh thối củ HT trồng tại tỉnh Sóc Trăng [17]. Trên thế giới, *F. oxysporum* cũng là tác nhân gây thối gốc HT tại Ethiopia, Indonesia, đồng thời chúng cũng có khả năng gây bệnh trên nhiều loại cây trồng tại nhiều quốc gia khác nhau trên thế giới [19, 21].

Vùng trình tự 18S rRNA của chủng H6K tương đồng 99,67 % với cùng vùng trình tự của *A. niger* và *A. welwitschiae* trên ngân hàng GenBank. Tuy nhiên, trong công bố của Von Hertwig và cộng sự, *A. niger* và *A. welwitschiae* được gộp tên chung trong cùng 1 nhánh của cây phát sinh loài thành nhánh *A. niger/welwitschiae* vì chúng khác biệt không đáng kể về mặt di truyền [34]. Tương tự trong cây phát sinh loài ở công bố của Silva và cộng sự, section Nigri gồm 7 nhánh *A. tubingensis*, *A. niger*, *A. brasiliensis*, *A. carbonarius*, *A. heteromorphus*, *A. homomorphus* và *A. aculeatu*; trong đó, nhánh *A. niger* gồm 2 loài *A. niger* và *A. welwitschiae* [35]. Các loài thuộc *Aspergillus* section Nigri hầu như không thể phân biệt được bằng đặc điểm hình thái cũng như đặc điểm vùng trình tự ITS, và chỉ có thể được phân biệt chính xác thông qua giải trình tự gen calmodulin (CaM) [36]. Những nghiên cứu trên cho thấy *A. niger* và *A. welwitschiae* rất khó phân biệt về mặt di truyền, do đó có thể kết luận mẫu H6K trong nghiên cứu này thuộc *Aspergillus* spp. đây là loài gây bệnh phổ biến nhất trong chi *Aspergillus*, cũng là tác nhân chính gây bệnh cho nông sản sau thu hoạch [24]. Trong nghiên cứu này, *A. niger* đã được chứng minh còn có khả năng gây bệnh thối củ HT trong quá trình bảo quản.

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
✓ <i>Aspergillus niger</i> isolate AP-2 small subunit	<i>Aspergillus niger</i>	1114	1114	99%	0.0	99.67%	613	MN100313.1
✓ <i>Aspergillus niger</i> strain DTD 398-17 small s	<i>Aspergillus niger</i>	1112	1112	99%	0.0	99.67%	861	MT316340.1
✓ <i>Aspergillus welwitschiae</i> strain CMV00GH0	<i>Aspergillus welwitschiae</i>	1112	1112	99%	0.0	99.67%	864	MK450668.1
✓ <i>Aspergillus welwitschiae</i> strain CMV005B1	<i>Aspergillus welwitschiae</i>	1112	1112	99%	0.0	99.67%	867	MK450665.1
✓ <i>Aspergillus welwitschiae</i> strain CMV004H1	<i>Aspergillus welwitschiae</i>	1112	1112	99%	0.0	99.67%	874	MK450664.1
✓ <i>Aspergillus welwitschiae</i> strain CMV004H5	<i>Aspergillus welwitschiae</i>	1112	1112	99%	0.0	99.67%	869	MK450663.1

Hình 9 Kết quả BLAST chủng nấm H6K trên ngân hàng gen

F. oxysporum có thể gây bệnh trên nha đam, măng tây và tỏi [12, 13, 15], là những loại trồng đang được canh tác với diện tích lớn tại Ninh Thuận. Tương tự, *Aspergillus* spp. cũng là loài có phổ kí chủ rộng trên nhiều loại đối tượng cây trồng, gây bệnh cả trước và sau khi thu hoạch, đồng thời, rất nhiều kí chủ của *Aspergillus* spp. đều là những cây trồng phổ biến tại Ninh Thuận như nha đam, tỏi và đậu phộng [15, 26, 37]; do đó, trong điều kiện thuận lợi như mưa kéo dài, vi nấm có thể lây truyền và gây bệnh trên những cánh đồng gần nhau, dẫn đến tổn thất lớn cho nông dân.

Việc xác định được tác nhân gây bệnh thối củ HT trồng tại Ninh Thuận là *F. oxysporum* và *Aspergillus* spp. là một trong những bước quan trọng ban đầu để tiến hành các nghiên cứu phương pháp phòng trừ bệnh, góp phần nâng cao hiệu quả bảo quản và giá trị thương phẩm củ HT.

4 Kết luận

Fusarium oxysporum và *Aspergillus* spp. là tác nhân gây bệnh thối củ HT trồng tại Ninh Thuận trong quá trình bảo quản, gây tổn thất nghiêm trọng trong quá trình bảo quản sau thu hoạch. Hai loài này có phổ kí chủ thực vật rộng và phổ biến tại nhiều nước châu Á. Kết quả nghiên cứu cung cấp dữ liệu quan trọng cho các nghiên cứu dịch tễ, bệnh thực vật của *F. oxysporum* và *Aspergillus* spp. tại Việt Nam và thế giới.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ phát triển Khoa học và Công nghệ – Đại học Nguyễn Tất Thành, mã đề tài 2022.01.134/HĐ-NCKH.

Tài liệu tham khảo

1. Marrelli, M., et al. (2019). Biological Properties and Bioactive Components of *Allium cepa* L.: Focus on Potential Benefits in the Treatment of Obesity and Related Comorbidities. *Molecules*, 24(1), 119.
2. Moldovan, C., et al. (2022). Therapeutic Uses and Pharmacological Properties of Shallot (*Allium ascalonicum*): A Systematic Review. *Front Nutr*, 9, 903686.
3. FAO. (2020, 03/06/2022). Retrieved from <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
4. Fattorusso, E., et al. (2002). Chemical composition of shallot (*Allium ascalonicum* Hort.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(20), 5686-5690.
5. Pobłocka-Olech, L., et al. (2016). TLC determination of flavonoids from different cultivars of *Allium cepa* and *Allium ascalonicum*. *Acta Pharmaceutica*, 66(4), 543-554.
6. Lee, Y.M., et al. (2009). Induction of cell cycle arrest in prostate cancer cells by the dietary compound isoliquiritigenin. *Journal of Medicinal Food*, 12(1), 8-14.
7. Mân, V.T. (2007). Giáo trình Bệnh cây đại cương. Đại học Nông nghiệp I Hà Nội
8. Parthasarathy, S., S. Rajamanickam, and M. Muthamilan. (2021). *Allium* Diseases: A Global Perspective, *Innovative Farming*, 1(4 (Spl.)), 171-178.
9. Taylor, A., et al. (2019). Assembly and characterisation of a unique onion diversity set identifies resistance to *Fusarium* basal rot and improved seedling vigour. *Theoretical and Applied Genetics*, 132(12), 3245-3264.
10. Cramer, C.S. (2000). Breeding and genetics of *Fusarium* basal rot resistance in onion. *Euphytica*, 115(3), 159-166.
11. Lee, J.H., et al. (2012). Determination of flavonoid level variation in onion (*Allium cepa* L.) infected by *Fusarium oxysporum* using liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 133(4), 1653-1657.
12. Shaker, G.A. (2016). Isolation and identification of fungi infecting Aloe vera plant. *Bulletin of the Iraq Natural History Museum*, 14(1), 91-97.
13. Borrego-Benjumea, A., et al. (2014). Characterization of *Fusarium* isolates from asparagus fields in Southwestern Ontario and influence of soil organic amendments on *Fusarium* crown and root rot. *The American Phytopathological Society (APS)* 104(4), 403-415.
14. Haapalainen, M., et al. (2016). *Fusarium oxysporum*, *F. proliferatum* and *F. redolens* associated with basal rot of onion in Finland. *Plant Pathology*, 65(8), 1310-1320.
15. Ghangaonkar, N.M. (2013). Incidence of mycoflora on garlic (*Allium sativum* L.) bulbs. *International Research Journal of Biological Sciences*, 2(7), 64-66.
16. Srinivas, C., et al. (2019). *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causal agent of vascular wilt disease of tomato: Biology to diversity– A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7), 1315-1324.
17. Bui, T.T., D.K. Nguyen, and Q.T. Tran. (2019). Identification of shallot pathogens in Vĩnh Châu town of Sóc Trăng province. *Can Tho University Journal of Science*, 11(3), 11-18.
18. Prakoso, E.B., S. Wiyatingsih, and H. Nirwanto. (2017). Uji ketahanan berbagai kultivar bawang merah (*Allium ascalonicum*) terhadap infeksi penyakit moler (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*). *Berkala Ilmiah Agroteknologi-PLUMULA*, 5(1).
19. Sari, W. and S.A. Inayah. (2020). Inventarisasi penyakit pada dua varietas lokal bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) bima brebes dan trisula. *Pro-STek*, 2(2), 64-71.
20. Syarifudin, R., A.M. Kalay, and C. Urulil. (2021). Effect of biological fertilizer and chemical fungicide on *Fusarium* wilt disease, growth and yield on onion (*Allium ascalonicum* L). *Agrologia*, 10(2).
21. Sintayehu, A., et al. (2014). Evaluation of green manure amendments for the management of *Fusarium* basal rot (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*) on shallot. *International Journal of Agronomy*, 2014.
22. Ferrigo, D., A. Raiola, and R. Causin. (2016). *Fusarium* toxins in cereals: occurrence, legislation, factors promoting the appearance and their management. *Molecules* 21(5), 627.
23. Ráduly, Z., et al. (2020). Toxicological and medical aspects of *Aspergillus*-derived mycotoxins entering the feed and food chain. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2908.



24. Plascencia-Jatomea, M., et al. (2014). *Chapter 8 - Aspergillus spp. (Black Mold) (S. Bautista-Baños Ed.)*. San Diego: Academic Press.
25. Huang, S., et al. (2020). First report of soft rot caused by *Aspergillus niger* sensu lato on mother-in-law's Tongue in China. *Plant Disease*, 105(3), 703-703.
26. Kishore, G.K., S. Pande, and A.R. Podile. (2006). *Pseudomonas aeruginosa* GSE 18 inhibits the cell wall degrading enzymes of *Aspergillus niger* and activates defence-related enzymes of groundnut in control of collar rot disease. *Australasian Plant Pathology*, 35(2), 259-263.
27. Dania, V.O., et al. (2020). Distribution and virulence of fungal species isolated from yam (*Dioscorea* spp.) tubers in three agroecological zones of Nigeria. *International Journal of Pest Management*, 66(3), 252-261.
28. Hanif, K., N. Akhtar, and R. Hafeez. (2016). First report of *Aspergillus welwitschiae* as a postharvest pathogen of *Brassica campestris* seeds in Pakistan. *Journal of Plant Pathology*, 98(1).
29. Massi, F.P., et al. (2021). Molecular analysis of *Aspergillus* section *Nigri* isolated from onion samples reveals the prevalence of *A. welwitschiae*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52(1), 387-392.
30. Susca, A., et al. (2014). Comparison of species composition and fumonisin production in *Aspergillus* section *Nigri* populations in maize kernels from USA and Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 188, 75-82.
31. White, T.J., et al. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics (M.A. Innis, et al. Eds. Vol. 31). *San Diego, CA, USA: Academic Press*.
32. Geospiza, I.S., WA, USA. (2012). FinchTV Version 1.4.0 Retrieved from <https://digitalworldbiology.com>.
33. Gouy, M., S. Guindon, and O. Gascuel. (2010). SeaView Version 4: A Multiplatform Graphical User Interface for Sequence Alignment and Phylogenetic Tree Building. *Molecular Biology and Evolution*, 27(2), 221-224.
34. Von Hertwig, A.M., et al. (2018). Real-time PCR-based method for rapid detection of *Aspergillus niger* and *Aspergillus welwitschiae* isolated from coffee. *Journal of Microbiological Methods*, 148, 87-92.
35. Silva, J.J.d., et al. (2020). Diversity within *Aspergillus niger* Clade and Description of a New Species: *Aspergillus vinaceus* sp. nov. *Journal of Fungi*, 6(4), 371.
36. Duarte, E.A.A., et al. (2018). Putting the mess in order: *Aspergillus welwitschiae* (and Not *A. niger*) Is the etiological agent of sisal bole rot disease in Brazil. *Frontiers in Microbiology* 9.
37. Vakalounakis, D.J., N. Kavroulakis, and K. Lamprou. (2015). First report of *Fusarium oxysporum* causing root and crown rot on barbados aloe in Greece. *Plant Disease*, 99(11), 1649-1649.

Identification of phytopathogenic fungus causing rot on shallot bulbs (*Allium ascalonicum*) grown in Ninh Thuan during storage

Ho Thi Cam Nguyen, Nguyen Thi Nha, Tran Tuan Kiet, Vo Thi Tu Binh, Nguyen Thi Thu Nha
Hitech Institute, Nguyen Tat Thanh University
htcnguyen@ntt.edu.vn

Abstract Bulb rot causes serious losses in yield and quality of shallot during storage. The research aims at identifying the fungus causing post-harvested shallot rot. In this study, based on Koch's postulates, morphological characterization and molecular identification, two isolations of phytopathogenic fungus that caused bulb rot of shallots grown in Ninh Thuan were identified as *Fusarium oxysporum* and *Aspergillus* spp.. The disease starts from the roots or the scales near the base of shallot bulbs and spreads to the inside. The shallot rot shows symptoms of gradually turning brown, soft, and succulent. The results of pathogenic test showed that there were two strains of fungi that are capable of causing shallot rot. Analysis of the DNA sequences encoding the 18S rRNA region of those two fungal strains showed a similarity of over 99 % with *F. oxysporum* and *Aspergillus* spp. on Gen Bank. The results are the base for further research in preventing and tackling the disease, thus improving shallot preserving efficiency.

Keywords *Aspergillus* spp., *Allium ascalonicum*, shallot bulb rot, *Fusarium oxysporum*

