

TÍNH GÂY BỆNH CỦA NẤM *Corynespora cassiicola* VÀ ĐỘC TỐ CASSIICOLIN

Nguyễn Đôn Hiệu^{1,2}, Nguyễn Anh Nghĩa¹, Nguyễn Bảo Quốc²

TÓM TẮT

Tính gây bệnh của nấm *Corynespora cassiicola* rất phức tạp vì phụ thuộc vào mức độ chuyên tính của mỗi mẫu phân lập nấm và liên quan đến nhiều gen khác nhau. Có sự biến thiên lớn về độc lực của các mẫu phân lập nấm khác nhau, một số mẫu phân lập có khả năng gây bệnh cho vai loài ký chủ này nhưng không gây bệnh cho các ký chủ khác. Trong quá trình xâm nhiễm gây bệnh nấm tiết ra độc tố cassiicolin, hợp chất này rất độc với cây cao su, chỉ với một vài vết bệnh nhỏ trên gân lá cũng đủ gây rụng lá. Độc tố cassiicolin có vai trò chọn lọc ký chủ và đặc biệt quan trọng trong giai đoạn đầu của quá trình xâm nhiễm của nấm. Cấu trúc của cassiicolin là một glycoprotein, là chuỗi peptide gồm 27 amino acid, với một N-acid pyroglutamic và 6 cysteine. Lượng độc tố cassiicolin do các mẫu phân lập nấm khác nhau tiết ra có mối tương quan thuận với khả năng gây bệnh của chúng. Gen mã hóa độc tố cassiicolin (gen Cas) là một trong những yếu tố có vai trò quan trọng liên quan với sự đa dạng di truyền và tính gây bệnh của nấm *C. cassiicola*, 06 nhóm gen Cas đã được phát hiện và có sự khác biệt về mức độ gây bệnh của các mẫu nấm mang gen Cas khác nhau.

Từ khóa: *Corynespora cassiicola*, cây cao su, mẫu phân lập, tính gây bệnh.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm *Corynespora cassiicola* có phổ ký chủ rộng với hơn 404 loài thực vật phân bố trên toàn thế giới (Farr và Rossman, 2019), loài nấm này là tác nhân gây bệnh rụng lá *Corynespora* trên cây cao su (*Hevea brasiliensis*), là một trong những đối tượng quan trọng được quan tâm ở hầu hết các nước trồng cao su.

Sự phát sinh và phát triển của bệnh rụng lá *Corynespora* phụ thuộc vào sự tương tác giữa tính gây bệnh của quần thể nấm *C. cassiicola* đang hiện diện, mức độ miễn dịch của ký chủ và yếu tố môi trường thuận lợi. Trong đó, tính gây bệnh của loài nấm này là rất phức tạp, khó lý giải vì phụ thuộc vào mức độ chuyên tính của mỗi mẫu phân lập và có liên quan đến nhiều gen khác nhau. Các kết quả nghiên cứu về tính gây bệnh của nấm đều chứng tỏ có sự biến thiên lớn về độc lực của các mẫu phân lập nấm khác nhau, một số mẫu phân lập có khả năng gây bệnh cho vai loài ký chủ này nhưng không gây bệnh cho các ký chủ khác (Pernezny và Simone, 1993; Suwanto và *ctv*, 2000; Cutrim và Silva, 2003;

Poltronieri và *ctv*, 2003; Oliveira và *ctv* 2007; Nguyen Don Hieu và *ctv* 2014).

Trong quá trình xâm nhiễm gây bệnh nấm tiết ra độc tố cassiicolin, hợp chất này rất độc với cây cao su, chỉ với một vài vết bệnh nhỏ trên gân lá cũng đủ gây rụng lá. Cassiicolin là một dạng protein độc với thực vật (phytotoxin protein) tiết ra trong quá trình gây bệnh trên lá cao su (Breton và *ctv*, 2000). Gen mã hóa độc tố cassiicolin là một trong những yếu tố có vai trò quan trọng liên quan với sự đa dạng di truyền và tính gây bệnh của nấm *C. cassiicola*, có ít nhất 6 nhóm gen Cas đã được phát hiện và có sự khác biệt về mức độ gây bệnh của các mẫu nấm mang gen Cas khác nhau (Déon và *ctv*, 2013).

Cho đến nay, nghiên cứu về tính gây bệnh của nấm *C. cassiicola* tại Việt Nam đã chứng minh có sự lây nhiễm chéo giữa mẫu nấm có nguồn gốc từ cây cao su sang cây đu đủ, bí đao và ngược lại (Nguyễn Đôn Hiệu và *ctv*, 2014). Sự đa dạng về đặc tính gây bệnh (tính độc hay không độc, tính xâm nhiễm, chuyên tính ký chủ) của các mẫu phân lập nấm *C. cassiicola* có thể được làm sáng tỏ bởi nhiều yếu tố liên quan, trong đó phải kể đến gen mã hóa độc tố cassiicolin. Bài viết được thực hiện nhằm tổng hợp những hiểu biết hiện thời về tính gây bệnh của nấm *C. cassiicola* và độc tố cassiicolin, làm cơ sở cho

¹ Viện Nghiên cứu Cao su Việt Nam

² Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

Email: donhieu@vni.com

những nghiên cứu về đặc điểm dịch tễ của loài nấm này

2. TINH GÂY BỆNH CỦA NẤM *C. cassiicola*

Nấm xâm nhập chủ yếu ở mặt dưới lá qua biểu bì và khí khổng, bên cạnh đó nấm còn tiết ra men cellulase giúp phân hủy màng tế bào. Trong quá trình sinh trưởng nấm thường tiết ra độc tố cassicolin, hợp chất này gây độc cho lá cây cao su nên chỉ vón một vài vết bệnh nhỏ trên gân chính của lá cùng độ già rụng lá (Phan Thành Dũng, 2004; Pawrosomardjo va ctv, 2009). Theo Nugawela va ctv (1989), cassicolin làm giảm tỉ lệ đóng hoa CO_2 ở mô khỏe, từ đó làm thay đổi cơ chế quang hợp ở lá bị nhiễm bệnh.

Bào tử có khả năng nảy mầm và tấn công vào các mô lá già lẫn lá non, cũng như chồi non, cuống lá. Bào tử nảy mầm tốt nhất khi nhiệt độ môi trường xung quanh là 28 - 30°C, bào tử được phong thích vào ban ngày, bắt đầu từ 6 giờ sáng và thường đạt cao điểm vào lúc 10 - 11 giờ trưa, sau đó số lượng bào tử được phong thích giảm xuống rất thấp và hầu như không xảy ra vào ban đêm. Bào tử được lấy lại nhờ gió và mưa, kích thước và trọng lượng của bào tử tương đối lớn so với nhiều loài nấm khác. Bào tử có khả năng tồn tại trên vết bệnh cũng như trong đất với thời gian dài. Trên lá cao su khô, nấm vẫn tồn tại và giữ nguyên khả năng gây bệnh trong khoảng thời gian hơn 3 tháng (Phan Thành Dũng, 2004). Theo Pernezny và Simone (1993), thời gian tồn tại của bào tử nấm *C. cassiicola* trên xác bã thực vật có thể lên đến 2 năm, sự có mặt của các loại cỏ trên vườn cao su giúp tăng sự sống của mầm bệnh và khả năng lan truyền. Nấm tồn tại tiềm ẩn trong thời gian dài trên tất cả các bộ phận của cây cao su bị nhiễm bệnh, xác bã thực vật trên vườn cao su và đây chính là một trong những nguồn để phát sinh dịch bệnh.

Nấm gây bệnh trên tất cả các giai đoạn sinh trưởng của cây cao su từ vườn ươm, vườn nhân, vườn cây kiến thiết cơ bản và cả cao su kinh doanh. Mặc dù nấm có khả năng gây bệnh cho mọi giai đoạn tuổi lá nhưng lá non dưới 4 tuần tuổi là giai đoạn mẫn cảm nhất đối với nấm và bệnh xuất hiện trên cây cao su khai thác trong suốt thời kỳ ra lá mới (Situmorang va ctv, 1996). Điều kiện môi trường có liên quan chặt chẽ đến sự phát triển của bệnh. Các yếu tố môi trường tác động đến bệnh chủ yếu là lượng mưa, ẩm độ và nhiệt độ không khí. Situmorang va ctv (1996) nhận thấy rằng điều kiện môi trường thích hợp cho

sự phát triển của bệnh là ẩm độ cao, nhiệt độ 28 - 30°C, không khí ẩm ướt và trời nhiều mây. Ẩm độ không khí cao hoặc bề mặt lá ẩm ướt ảnh hưởng đến quá trình hình thành và nảy mầm của bào tử, sự phát triển, khả năng xâm nhiễm và sự phát tán của mầm bệnh. Theo Pawrosomardjo va ctv (1987), khi nhiệt độ thấp hơn 20°C hoặc cao hơn 35°C thì sự phát triển của mầm bệnh sẽ bị ức chế. Sailajadevi va ctv (2006) cho biết bệnh xuất hiện và gây hại nặng khi thời gian chiếu sáng nhiều hơn 8 giờ/ngày, kết quả này phù hợp với ghi nhận của Rajalekshmy va ctv (1996), cây cao su ở vườn ương được che bóng thì bệnh ít xảy ra hoặc chỉ xảy ra ở mức độ nhẹ. Theo Radziah va ctv (1996), bào tử tồn tại trong không khí có tương quan nghịch với lượng mưa, bào tử được phong thích nhiều hơn ở thời kỳ có ẩm độ không khí thấp. Theo ghi nhận của Phan Thành Dũng (2004), sau một thời gian mưa nhiều và tiếp theo có nắng ráo thì số lượng bào tử được phong thích nhiều nhất. Ở Việt Nam, bệnh rụng lá *Corynespora* xảy ra trong điều kiện nhiệt độ 19,7 - 27,8°C, ẩm độ 79 - 90%, lượng mưa 4,2 - 572,9 mm/tháng và có 2 - 28 ngày mưa/tháng (Nguyễn Thái Hoan va ctv, 2007). Theo Jayasinghe (2000), cây cao su trồng ở vùng cao trình trên 300 m thì ít bị bệnh rụng lá *Corynespora* hơn so với những vùng vì độ thấp hơn, có lẽ do yếu tố nhiệt độ thấp làm kìm hãm sự phát triển của nấm bệnh.

Trên cây cao su, nhiều dòng vô tính ban đầu được cho là kháng bệnh nhưng chỉ sau một thời gian thì đã nhiễm bệnh từ mức nhẹ đến trung bình hoặc mẫn cảm. Theo Tan va ctv (1992), các dòng vô tính PB 235, PB 260, PB 28/59, PB 280, PB 330, PM 10, RRM 701, RRM 908 và RRM 926 nhiễm bệnh từ nhẹ đến trung bình, trong khi trước đó được xem là kháng bệnh. Theo Jayasinghe va Silva (1996), RRM 110 ban đầu được xem là kháng bệnh nhưng sau đó lại mẫn cảm. Bên cạnh đó, theo Sinulingga va ctv (1996): Breton va ctv (1996), mức độ nhiễm bệnh của hai dòng vô tính PB 260 và GT 1 thay đổi theo vùng địa lý. PB 260 là dòng vô tính kháng bệnh tại châu Á nhưng lại bị nhiễm bệnh nặng tại châu Phi, GT 1 là dòng vô tính mẫn cảm tại Malaysia và Indonesia nhưng lại kháng bệnh tại châu Phi. Điều này chứng tỏ rằng trong quần thể nấm *C. cassiicola* hoặc là đã có những biến dị về di truyền để thích nghi với điều kiện sống mới hoặc là đang có những nơi nấm *C.*

cassicola với đặc tính gây bệnh khác nhau đang tồn tại.

Theo Nguyen Anh Nghia (2009), có ít nhất hai nòi sinh lý của nấm *C. cassicola* gây hại trên cây cao su tại Malaysia, nòi 1 tấn công các DVT như RRIM 600, GT 1 và LAN 873 nhưng không xâm nhiễm trên các DVT mới như RRIM 2020 và PB 260, trong khi đó nòi 2 thì có thể tấn công và gây bệnh trên hai DVT mới này.

Đến nay, các nòi (dòng) nấm *C. cassicola* từ các ký chủ khác nhau đã được phát hiện. Tuy nhiên, không phải nòi nấm nào cũng có khả năng lây nhiễm chéo cho toàn bộ phổ ký chủ của các nòi khác (Pernezny và Simone, 1993). Có sự tương đồng về đặc điểm hình thái của nhiều mẫu nấm được phân lập từ nhiều cây ký chủ khác nhau nhưng sự lây nhiễm chéo giữa các ký chủ là không được rõ.

Onesirosan và *ctv* (1974) nhận thấy rằng những mẫu nấm phân lập từ cây dưa leo, đậu nành và cà chua là rất độc đối với cây cà chua và cà tím nhưng chỉ gây độc trung bình trên cây mè và cây bông vải. Tại Malaysia, Chee (1988) nhận thấy phổ ký chủ của nấm *C. cassicola* rất rộng nhưng sự lây nhiễm chéo vẫn còn hoài nghi; Phan Thanh Dung (1995) cho rằng nấm *C. cassicola* gây bệnh trên cây cao su thì không xâm nhiễm trên cây ớt, đu đủ, cà chua và các mẫu nấm *C. cassicola* gây bệnh trên cây cao su là nấm ký sinh chuyên biệt.

Kingsland (1985) ghi nhận sự hiện diện của nấm *C. cassicola* lần đầu tiên tại nước Cộng hòa Seychelles, nấm là nguyên nhân gây bệnh đốm lá trên cây cà chua và cây dưa leo. Tuy nhiên, những mẫu nấm này khi được chủng lên cây đu đủ thì không ghi nhận được sự xuất hiện của bệnh. Tại Indonesia, Suwato và *ctv* (2000) ghi nhận những mẫu nấm phân lập từ cây đu đủ có thể gây bệnh trên một số dòng vô tính cao su nhưng những mẫu nấm từ cao su thì không gây bệnh trên đậu nành và khoai mì.

Cutrim và Silva (2003) đánh giá tính gây bệnh của hai mẫu nấm *C. cassicola* được phân lập từ cây cà chua trên một số cây ký chủ khác. Kết quả cho thấy, có sự đáp ứng khác nhau của các cây ký chủ nhưng nhìn chung hầu hết đều mẫn cảm với hai mẫu phân lập nói trên ngoại trừ cây anh đào và cây đu đủ. Poltronieri và *ctv* (2003) chủng bệnh trên lá cây sơ ri (*Malpighia glabra*) bằng các mẫu nấm *C.*

cassicola phân lập từ một số cây ký chủ khác nhau. Những mẫu nấm từ *Rhododendrum* sp., cà chua, bí rợ và sơ ri đều cho thấy triệu chứng bệnh trên lá sơ ri ngoại trừ những mẫu phân lập từ cây tiêu và đu đủ. Một nghiên cứu khác với 15 mẫu phân lập từ các ký chủ khác nhau được chủng trên 12 loài cây, kết quả cho thấy mức độ gây bệnh của mỗi mẫu nấm trên các ký chủ là khác nhau và mức mẫn cảm của các ký chủ là không đồng nhất đối với mỗi mẫu nấm (Olivera và *ctv*, 2007).

Tại Việt Nam, Nguyễn Đôn Hiệu và *ctv* (2014), nghiên cứu khả năng gây bệnh của 4 mẫu phân lập nấm đại diện cho 2 phân nhóm di truyền và nguồn gốc ký chủ khác nhau (2 mẫu phân lập từ cây cao su, 1 mẫu phân lập từ đu đủ và 1 mẫu phân lập từ bí đao). Kết quả ghi nhận 2 mẫu phân lập từ cây cao su là CoryLK02 (thuộc phân nhóm di truyền 1) và CoryPK01 (thuộc phân nhóm di truyền 2) gây bệnh trên 7 dòng vô tính cao su ở mức độ khác nhau tùy thuộc vào mức độ mẫn cảm của giống. Điều đáng ghi nhận là mẫu nấm CoryLK02 có khả năng xâm nhiễm và gây bệnh trên cây đu đủ và bí đao ở cả 2 điều kiện thí nghiệm chủng bệnh *in vivo* trong phòng và chủng bệnh nhà lưới. Trong khi CoryPK01 thì không xâm nhiễm và gây bệnh trên 2 loại ký chủ kể trên. Trong khi đó, 2 mẫu phân lập nấm đại diện cho cây trồng ký chủ khác là CoryLK26 (từ cây đu đủ) và CoryLK38 (từ cây bí đao), thuộc phân nhóm di truyền 2, đều gây bệnh cho 7 dòng vô tính cao su ở mức độ khác nhau và mẫu nấm từ cây đu đủ không có khả năng gây bệnh trên cây bí đao nhưng mẫu nấm từ cây bí đao có khả năng gây bệnh trên cây đu đủ.

3. VAI TRÒ CỦA ĐỘC TỐ CASSICOLIN

Cassicolin là một độc tố thực vật được sản sinh bởi nấm *C. cassicola*. Độc tố cassicolin có vai trò chọn lọc ký chủ trong quá trình xâm nhiễm và gây bệnh của nấm vì độc tố này chỉ được ghi nhận tại vết bệnh trên cây ký chủ mẫn cảm và không tạo ra bất kỳ triệu chứng nào trên những loại cây trồng không phải là ký chủ. Đồng thời, cassicolin là tác nhân làm phân hủy tế bào và gây ra các dạng triệu chứng bệnh trên cây ký chủ. Điều này đã được chứng minh bằng việc thêm độc tố cassicolin vào dung dịch bảo tử của mẫu phân lập nấm không có tính độc (BGA3) để chủng bệnh trên lá cao su thì kết quả làm tăng mức độ và triệu chứng bệnh trên lá. Tương tự, khi chủng trên lá cao su bằng dung dịch bảo tử của nguồn nấm

có tính độc mạnh (CCP) cung với kháng thể kháng cassicolin thì mức độ bệnh giảm so với cách chủng bình thường. Kháng thể kháng cassicolin và độc tố thô đã được chứng minh là không ảnh hưởng đến tốc độ nảy mầm của bào tử. Sự di chuyển của độc tố độc theo gần là đã làm cho gần là mất màu và tạo ra triệu chứng đặc trưng là đàng "xương cá". Cùng với quá trình xâm nhiễm của nấm, độc tố cassicolin nhanh chóng lan truyền qua nội bào, gây độc và phá hủy tế bào, làm chết phần diện tích mô là xung quanh vị trí xâm nhiễm của sợi nấm, tạo ra các dạng triệu chứng bệnh trên phần lá. Nếu nhỏ một giọt độc tố này lên trên mô lá đã được gây vết thương thì nó cũng tạo ra những triệu chứng bệnh giống như phương pháp lây bệnh bằng bào tử (Breton và *ctv*, 2000).

Khi quan sát sự xâm nhiễm của nấm diễn ra trong nội bào lá cao su, không có sự đóng nhát về màu sắc vàng nâu của chất tích lũy trong vùng hoại tử của dòng vô tính kháng và dòng vô tính mẫn cảm. Chất này không đóng vai trò quan trọng tính kháng của cây cao su đối với nấm *C. cassicola*. Sự xâm nhiễm của nấm trong dòng vô tính kháng bị hạn chế bởi một vài vách ngăn của tế bào và sự phát triển của nấm dường như bị ngưng lại, xung quanh khu vực này xuất hiện nhân tế bào và sự có mặt của tinh bột biểu lộ sự nhiễm độc. Ngược lại, trong các dòng vô tính cao su mẫn cảm sự xâm nhiễm của nấm được tăng lên do sự phân hủy của tế bào biểu bì, đa số tế bào trong khu vực bị nấm xâm nhiễm đều bị thoái hóa. Vùng mô bị hoại tử cách xa vị trí sợi nấm chủng độc tố cassicolin do nấm tiết ra đã hiện diện, khuếch tán và phân hủy tế bào (Breton và *ctv*, 2000).

Theo Deon và *ctv* (2012a), cassicolin có vai trò đặc biệt quan trọng trong giai đoạn đầu của quá trình xâm nhiễm của nấm, ở thời điểm 1 hoặc 2 ngày sau chủng, độc tố của mẫu phân lập CCP (độc lực cao) và CCAM1 (độc lực trung bình) đã biểu hiện. Trong điều kiện đồng ruộng, độc tố cassicolin gây độc cho lá cây cao su nên chỉ với một vài vết bệnh nhỏ trên gân chính của lá cũng đủ gây rụng lá (Phan Thanh Dũng, 2004, Pawrosoemardjo và *ctv*, 2009). Theo Nugawela và *ctv* (1989), cassicolin làm giảm tỉ lệ đóng hoa CO₂ ở mô khô, từ đó làm thay đổi cơ chế quang hợp ở lá bị nhiễm bệnh.

4. CẤU TRÚC VÀ BẠC TÍNH CỦA ĐỘC TỐ CASSICOLIN

Cấu trúc của Cassicolin là một glycoprotein, là chuỗi peptide gồm 27 amino acid, với một N-acid pyroglutamic và 6 cysteine (Cysteine là 1 α -amino

acid với công thức hóa học là HO₂CCH(NH₂)CH₂SH). Khối lượng phân tử ước tính là 2885 Da. Trình tự axit amin đầy đủ của cassicolin như sau: PyroGlu-T⁺-C⁺V⁺S⁺C⁺V⁺N⁺F⁺G⁺N⁺G⁺F⁺C⁺G⁺D⁺N⁺C⁺G⁺N⁺S⁺W⁺A⁺C⁺S⁺G⁺C⁺. T⁺ là glycosylated threonine (Lamotte và *ctv*, 2007).

Barthe và *ctv* (2007), sử dụng kỹ thuật quang phổ NMR để phân tích mô phỏng cấu trúc không gian 3D (không gian ba chiều) của cassicolin có dạng hình elip, khung bao bọc bởi 3 sợi antiparallel β -sheet sắp xếp theo hướng xoắn phải và được liên kết bởi 3 cầu nối disulfide. Cassicolin dễ tan trong nước và một số dung môi khác. Độc tố này khá bền với khả năng chịu nhiệt cao (nóng độ độc tố không thay đổi trong điều kiện hấp khử trùng ở nhiệt độ lên đến 120°C trong 30 phút), ổn định trong môi trường pH từ 4 - 8 và điểm đẳng điện từ 2,4 - 2,8 (Lamotte và *ctv*, 2007).

5. MỐI LIÊN HỆ GIỮA CASSICOLIN, TÍNH GÂY BỆNH CỦA NẤM *C. cassicola* VÀ TÍNH KHÁNG CỦA KỸ CHU

Nghiên cứu mối liên hệ giữa cassicolin và tính gây bệnh của 11 mẫu phân lập nấm *C. cassicola* trên 22 dòng vô tính cao su bằng phương pháp chủng bệnh trên lá cat rô, Breton và *ctv* (2000) đi đến kết luận: có mối tương quan thuận giữa lượng độc tố cassicolin do mỗi mẫu phân lập nấm tiết ra với khả năng gây bệnh của nấm. Những mẫu phân lập có tính gây bệnh mạnh như SRI5, CCP, BCA5 và BCA3 thì sản sinh lượng độc tố cao nhất. Cassicolin có thể được xem là tác nhân quy định tính gây bệnh của nấm *C. cassicola*. Tính kháng bệnh của các dòng vô tính cao su không phải là bất biến và có vẻ như còn có mối liên hệ chặt chẽ với nồng độ độc tố được thử nghiệm, bằng chứng là khi sử dụng nồng độ độc tố cao thì có thể vượt qua tính kháng của GT1, là dòng vô tính cao su biểu hiện tính kháng bệnh ở nồng độ độc tố thấp.

Trong một nghiên cứu khác, dung dịch độc tố của 2 mẫu phân lập CCP và CCAM3 được chủng bệnh ở các mức nồng độ tăng dần từ 0,1, 1, 10, 25 và 50 μ g/ml trên lá cao su PB 260 (dòng vô tính mẫn cảm) và RRJM 600 (dòng vô tính kháng). Kết quả cho thấy triệu chứng nhiễm độc trên lá ở cả 2 dòng vô tính đều tăng dần tương ứng với các mức tăng nồng độ. Triệu chứng nhiễm độc biểu hiện rõ rệt ngay cả khi sử dụng nồng độ độc tố thấp nhất (0,1 μ g/ml) trên dòng vô tính PB 260 với bề mặt mô lá bị hoại tử khô héo, trong khi đối với dòng vô tính RRJM

600 thí nghiệm triệu chứng nhiễm độc chủ được ghi nhận từ mức nồng độ 1 µg/ml trở lên. Trong cùng một mức nồng độ nhưng biểu hiện nhiễm độc khác nhau giữa các dòng vô tính chứng tỏ rằng độ nhạy với độc tố là tùy thuộc vào ký chủ, nghĩa là tùy thuộc vào tính kháng của mỗi dòng vô tính cao su (Déon và *ctv*, 2012a).

6. GEN MÃ HÓA ĐỘC TỐ CASSIICOLIN

Năm 2012, gen mã hóa độc tố cassiicolin (gen Cas) lần đầu tiên được phát hiện và mô tả bởi Déon và *ctv* trong một nghiên cứu về đặc điểm gen mã hóa độc tố cassiicolin của 03 mẫu phân lập đại diện cho mức độ gây bệnh khác nhau. Gen Cas đã được phát hiện trên mẫu phân lập có tính gây bệnh mạnh (CCP) và gây bệnh trung bình (CCAM3) nhưng không phát hiện trên mẫu nấm gây bệnh yếu (CCAM1). Trình tự gen Cas đã được giải mã và đăng ký trên ngân hàng dữ liệu Genbank (Déon và *ctv*, 2012a).

Trong một nghiên cứu khác, bốn (4) mẫu nấm *C. cassiicola* nội sinh trên lá cây cao su không có triệu chứng bệnh thu thập tại Nam Mỹ, được xác định mang gen mã hóa cassiicolin thuộc nhóm Cas3 và Cas4. Trong đó, ba (3) mẫu phân lập có thể gây ra các triệu chứng bệnh trên lá cao su bằng phương pháp lây bệnh nhân tạo trên lá cắt rời với mức độ khác nhau. Một (01) mẫu phân lập có đặc tính và mức độ gây bệnh gần giống với mẫu nấm CCP (gây bệnh nặng, thuộc nhóm Cas1), hai (02) mẫu phân lập còn lại có biểu hiện triệu chứng chậm hơn trong quá trình lây nhiễm nên có thể chúng thuộc nhóm hoại sinh. Nghiên cứu biểu hiện gen gây độc không phát hiện được nhóm gen Cas3 và Cas4 trong khi nhóm gen Cas1 được phát hiện tại mẫu nấm CCP, đã chứng minh *C. cassiicola* có mặt ở Nam Mỹ ở dạng nội sinh và rằng nó có thể phát triển tiến hóa thành nhóm nấm hoại sinh hoặc thậm chí có khả năng gây bệnh (Déon và *ctv*, 2012b).

Nghiên cứu về sự đa dạng di truyền gen Cas của 70 MPL nấm *C. cassiicola* có nguồn gốc từ nhiều cây ký chủ và vùng địa lý khác nhau. Kết quả phát hiện 33 mẫu phân lập có sự hiện diện ít nhất một dạng gen Cas, trong đó 30 mẫu phân lập có 01 gen Cas và 3 mẫu phân lập cùng tồn tại 02 dạng gen Cas trong cùng mẫu nấm. Cây phân nhóm di truyền dựa vào vị trí loci và các dạng gen Cas đã phân chia 33 mẫu nấm thành 6 nhóm gen Cas riêng biệt. Nghiên cứu tính gây bệnh của các mẫu nấm đại diện cho các nhóm

gen Cas khác nhau chỉ rõ nhóm gen Cas1 có tính gây bệnh mạnh nhất và có vai trò trong giai đoạn mới xâm nhiễm. Một số mẫu nấm chưa phát hiện gen Cas (ký hiệu là Cas0) có khả năng gây bệnh ở mức trung bình, có lẽ còn tồn tại những nhóm gen Cas khác mà chưa được rõ (Déon và *ctv*, 2013).

Liu và *ctv* (2015) đã phân tích sự đa dạng của gen mã hóa cassiicolin trên 49 mẫu phân lập nấm *C. cassiicola* được thu thập từ nhiều ký chủ ở nhiều vùng địa lý khác nhau của Trung Quốc. Gen cassiicolin đã được phát hiện trong 40/49 mẫu nấm nghiên cứu, mã hóa thành 02 nhóm protein đồng dạng khác nhau (Cas2 và Cas5). Những mẫu phân lập mang gen Cas5 (độc tố thuộc nhóm Cas5) được tìm thấy trên phần lớn ký chủ cao su, và chỉ được tìm thấy trên các mẫu phân lập từ cây cao su. Những mẫu phân lập đại diện cho nhóm độc tố Cas2 được thu thập từ cây cao su và các ký chủ khác. Các gen Cas khác không được tìm thấy ở một số mẫu phân lập. Trong nghiên cứu này, gen mã hóa cassiicolin thuộc các nhóm Cas1, Cas3, Cas4 và Cas6 không được tìm thấy ở bất kỳ mẫu phân lập nào.

Trong một nghiên cứu khác, hai mươi sáu (26) mẫu phân lập nấm *C. cassiicola* trên cây cao su tại Malaysia đã được phân tích gen mã hóa cassiicolin, kết quả phát hiện được 13/26 mẫu nấm có sự hiện diện của gen Cas, trong đó có 12 mẫu mang gen Cas5 và có duy nhất mẫu KKT05D mang gen Cas4. Tính gây bệnh của bốn (4) mẫu phân lập đại diện cho các nhóm đã được khảo sát bằng phương pháp chủng bệnh trên lá cắt rời của 6 dòng vô tính cao su. Kết quả thu được là mẫu nấm KKT05D mang gen Cas4 có khả năng gây bệnh mạnh nhất, mức độ bệnh trên lá của 6 dòng vô tính đều ở mức nặng. Đây là lần đầu tiên phát hiện mẫu nấm *C. cassiicola* mang gen Cas4 ký sinh và gây bệnh nặng trên cây cao su (Shuib và *ctv*, 2015).

Hiện nay, độc tố cassiicolin đã được ứng dụng để tuyển chọn dòng vô tính kháng bệnh *Corynespora* tại nhiều nước vì việc sử dụng độc tố có nhiều ưu điểm so với sử dụng bào tử *C. cassiicola* bởi những yếu tố sau: (1) Phản ứng sau khi lây nhiễm nấm thường nhạy cảm với môi trường hơn là các phản ứng với độc tố; (2) Kết quả phân tích bằng độc tố có thể có ngay trong vòng 24 giờ do đó có thể tiến hành đối với nhiều dòng vô tính trong thời gian ngắn; (3) Các nước chưa bị bệnh *Corynespora* vẫn có thể tuyển chọn các dòng vô tính kháng bệnh mà không cần

có tính độc mạnh (CCP) cùng với kháng thể kháng cassicolin thì mức độ bệnh giảm so với cách chủng bình thường. Kháng thể kháng cassicolin và độc tố thô đã được chứng minh là không ảnh hưởng đến tốc độ nảy mầm của bào tử. Sự di chuyển của độc tố độc theo gân lá đã làm cho gân lá mất màu và tạo ra triệu chứng đặc trưng là dang "xương cá". Cùng với quá trình xâm nhiễm của nấm, độc tố cassicolin nhanh chóng lan truyền qua nõi bao, gây độc và phá hủy tế bào, làm chết phần diện tích mô lá xung quanh vị trí xâm nhiễm của sợi nấm, tạo ra các dạng triệu chứng bệnh trên phiến lá. Nếu nhỏ một giọt độc tố này lên trên mô lá đã được gây vết thương thì nó cũng tạo ra những triệu chứng bệnh giống như phương pháp lây bệnh bằng bào tử (Breton và *ctv*; 2000).

Khi quan sát sự xâm nhiễm của nấm diễn ra trong nội bào lá cao su, không có sự đồng nhất về màu sắc vàng nâu của chất tích lũy trong vùng hoại tử của dòng vô tính kháng và dòng vô tính mẫn cảm. Chất này không đóng vai trò quan trọng trong tính kháng của cây cao su đối với nấm *C. cassicola*. Sự xâm chiếm của nấm trong dòng vô tính kháng bị hạn chế bởi một vài vách ngăn của tế bào và sự phát triển của nấm dường như bị ngưng lại, xung quanh khu vực này xuất hiện nhân tế bào và sự co lại của tinh bột biểu lộ sự nhiễm độc. Ngược lại, trong các dòng vô tính cao su mẫn cảm sự xâm chiếm của nấm được tăng lên do sự phân hủy của tế bào biểu bì, đã số tế bào trong khu vực bị nấm xâm nhiễm đều bị thoái hóa. Vùng mô bị hoại tử cách xa vị trí sợi nấm chung độc tố cassicolin do nấm tiết ra đã hiện diện, khuếch tán và phá hủy tế bào (Breton và *ctv*; 2000).

Theo Deon và *ctv* (2012a), cassicolin có vai trò đặc biệt quan trọng trong giai đoạn đầu của quá trình xâm nhiễm của nấm, ở thời điểm 1 hoặc 2 ngày sau chủng, độc tố của mẫu phân lập CCP (độc lực cao) và CCAM1 (độc lực trung bình) đã biểu hiện. Trong điều kiện đồng ruộng, độc tố cassicolin gây độc cho lá cây cao su nên chỉ với một vài vết bệnh nhỏ trên gân chính của lá cũng đủ gây rụng lá (Phan Thanh Dũng, 2004, Pawirosoemardjo và *ctv*; 2009). Theo Nugawati và *ctv* (1989), cassicolin làm giảm tỉ lệ đồng hoa CO₂ ở mô khoc, từ đó làm thay đổi cơ chế quang hợp ở lá bị nhiễm bệnh.

4. CẤU TRÚC VÀ ĐẶC TÍNH CỦA ĐỘC TỐ CASSICOLIN

Cấu trúc của Cassicolin là một glycoprotein, là chuỗi peptide gồm 27 amino acid, với một N-acid pyroglutamic và 6 cysteine (Cysteine là 1 α-amino

acid với công thức hóa học là HO₂CCH(NH₂)CH₂SH). Khối lượng phân tử ước tính là 2885 Da. Trình tự axit amin đầy đủ của cassicolin như sau: PyroGlu-T⁺-C⁺V⁺S⁺V⁺N⁺F⁺G⁺N⁺G⁺F⁺C⁺G⁺D⁺N⁺C⁺G⁺N⁺S⁺W⁺A⁺C⁺S⁺G⁺C⁺, T⁺ là glycosylated threonine (Lamotte và *ctv*; 2007).

Barthe và *ctv* (2007), sử dụng kỹ thuật quang phổ NMR để phân tích mô phỏng cấu trúc không gian 3D (không gian ba chiều) của cassicolin có dạng hình elip, khung bao bọc bởi 3 sợi antiparallel β-sheet sắp xếp theo hướng xoắn phải và được liên kết bởi 3 cầu nối disulfide. Cassicolin dễ tan trong nước và một số dung môi khác. Độc tố này khá bền với khả năng chịu nhiệt cao (nồng độ độc tố không thay đổi trong điều kiện hấp khử trùng ở nhiệt độ lên đến 120°C trong 30 phút), ổn định trong môi trường pH từ 4 - 8 và điểm đẳng điện từ 2,4 - 2,8 (Lamotte và *ctv*; 2007).

5. MỐI LIÊN HỆ GIỮA CASSICOLIN, TÍNH GÂY BỆNH CỦA NẤM *C. cassicola* VÀ TÍNH KHÁNG CỦA KỸ CHU

Nghiên cứu mối liên hệ giữa cassicolin và tính gây bệnh của 11 mẫu phân lập nấm *C. cassicola* trên 22 dòng vô tính cao su bằng phương pháp chủng bệnh trên lá cắt rời, Breton và *ctv* (2000) đã kết luận: có mối tương quan thuận giữa lượng độc tố cassicolin do mỗi mẫu phân lập nấm tiết ra với khả năng gây bệnh của nấm. Những mẫu phân lập có tính gây bệnh mạnh như SR15, CCP, BCA5 và BCA3 thu sản sinh lượng độc tố cao nhất. Cassicolin có thể được xem là tác nhân quy định tính gây bệnh của nấm *C. cassicola*. Tính kháng bệnh của các dòng vô tính cao su không phải là bất biến và có vẻ như còn có mối liên hệ chặt chẽ với nồng độ độc tố được thử nghiệm, bằng chứng là khi sử dụng nồng độ độc tố cao thì có thể vượt qua tính kháng của GT1, là dòng vô tính cao su biểu hiện tính kháng bệnh ở nồng độ độc tố thấp.

Trong một nghiên cứu khác, dung dịch độc tố của 2 mẫu phân lập CCP và CCAM3 được chủng bệnh ở các mức nồng độ tăng dần từ 0,1, 1, 10, 25 và 50 µg/ml trên lá cao su PB 260 (dòng vô tính mẫn cảm) và RRJM 600 (dòng vô tính kháng). Kết quả cho thấy triệu chứng nhiễm độc trên lá ở cả 2 dòng vô tính đều tăng dần tương ứng với các mức tăng nồng độ. Triệu chứng nhiễm độc biểu hiện rõ rệt ngay cả khi sử dụng nồng độ độc tố thấp nhất (0,1 µg/ml) trên dòng vô tính PB 260 với bề mặt mô lá bị hoại tử khô héo, trong khi đối với dòng vô tính RRJM

600 thí nghiệm triệu chứng nhiễm độc chỉ được ghi nhận từ mức nồng độ 1 µg/ml trở lên. Trong cùng một mức nồng độ nhưng biểu hiện nhiễm độc khác nhau giữa các dòng vô tính chứng tỏ rằng độ nhạy với độc tố là tùy thuộc vào ký chủ, nghĩa là tùy thuộc vào tính kháng của mỗi dòng vô tính cao su (Đéon và *ctv*, 2012a).

6. GEN MÃ HOA ĐỘC TỐ CASSIICOLIN

Năm 2012, gen mã hóa độc tố cassiicolin (gen Cas) lần đầu tiên được phát hiện và mô tả bởi Đéon và *ctv* trong một nghiên cứu về đặc điểm gen mã hóa độc tố cassiicolin của 03 mẫu phân lập đại diện cho mức độ gây bệnh khác nhau. Gen Cas đã được phát hiện trên mẫu phân lập có tính gây bệnh mạnh (CCP) và gây bệnh trung bình (CCAM3) nhưng không phát hiện trên mẫu nấm gây bệnh yếu (CCAM1). Trình tự gen Cas đã được giải mã và đăng ký trên ngân hàng dữ liệu Genbank (Đéon và *ctv*, 2012a).

Trong một nghiên cứu khác, bốn (4) mẫu nấm *C. cassiicola* nội sinh trên lá cây cao su không có triệu chứng bệnh thu thập tại Nam Mỹ, được xác định mang gen mã hóa cassiicolin thuộc nhóm Cas3 và Cas4. Trong đó, ba (3) mẫu phân lập có thể gây ra các triệu chứng bệnh trên lá cao su bằng phương pháp lây bệnh nhân tạo trên lá cắt rời với mức độ khác nhau. Một (01) mẫu phân lập có đặc tính và mức độ gây bệnh gần giống với mẫu nấm CCP (gây bệnh mạnh, thuộc nhóm Cas1), hai (02) mẫu phân lập còn lại có biểu hiện triệu chứng chậm hơn trong quá trình lây nhiễm nên có thể chúng thuộc nhóm hoại sinh. Nghiên cứu biểu hiện gen gây độc không phát hiện được nhóm gen Cas3 và Cas4 trong khi nhóm gen Cas1 được phát hiện tại mẫu nấm CCP, đã chứng minh *C. cassiicola* có mặt ở Nam Mỹ ở dạng nội sinh và rằng nó có thể phát triển tiến hóa thành nhóm nấm hoại sinh hoặc thậm chí có khả năng gây bệnh (Đéon và *ctv*, 2012b).

Nghiên cứu về sự đa dạng di truyền gen Cas của 70 MPL nấm *C. cassiicola* có nguồn gốc từ nhiều cây ký chủ và vùng địa lý khác nhau. Kết quả phát hiện 33 mẫu phân lập có sự hiện diện ít nhất một dạng gen Cas, trong đó 30 mẫu phân lập có 01 gen Cas và 3 mẫu phân lập cùng tồn tại 02 dạng gen Cas trong cùng mẫu nấm. Cây phân nhóm di truyền dựa vào vị trí loci và các dạng gen Cas đã phân chia 33 mẫu nấm thành 6 nhóm gen Cas riêng biệt. Nghiên cứu tính gây bệnh của các mẫu nấm đại diện cho các nhóm

gen Cas khác nhau chỉ rõ nhóm gen Cas1 có tính gây bệnh mạnh nhất và có vai trò trong giai đoạn mới xâm nhiễm. Một số mẫu nấm chưa phát hiện gen Cas (ký hiệu là Cas0) có khả năng gây bệnh ở mức trung bình, có lẽ còn tồn tại những nhóm gen Cas khác mà chưa được rõ (Đéon và *ctv*, 2013).

Liu và *ctv* (2015) đã phân tích sự đa dạng của gen mã hóa cassiicolin trên 49 mẫu phân lập nấm *C. cassiicola* được thu thập từ nhiều ký chủ ở nhiều vùng địa lý khác nhau của Trung Quốc. Gen cassiicolin đã được phát hiện trong 40/49 mẫu nấm nghiên cứu, mã hóa thành 02 nhóm protein đồng dạng khác nhau (Cas2 và Cas5). Những mẫu phân lập mang gen Cas5 (độc tố thuộc nhóm Cas5) được tìm thấy trên phần lớn ký chủ cao su, và chỉ được tìm thấy trên các mẫu phân lập từ cây cao su. Những mẫu phân lập đại diện cho nhóm độc tố Cas2 được thu thập từ cây cao su và các ký chủ khác. Các gen Cas khác không được tìm thấy ở một số mẫu phân lập. Trong nghiên cứu này, gen mã hóa cassiicolin thuộc các nhóm Cas1, Cas3, Cas4 và Cas6 không được tìm thấy ở bất kỳ mẫu phân lập nào.

Trong một nghiên cứu khác, hai mươi sáu (26) mẫu phân lập nấm *C. cassiicola* trên cây cao su tại Malaysia đã được phân tích gen mã hóa cassiicolin, kết quả phát hiện được 13/26 mẫu nấm có sự hiện diện của gen Cas, trong đó có 12 mẫu mang gen Cas5 và có duy nhất mẫu CKT05D mang gen Cas4. Tính gây bệnh của bốn (4) mẫu phân lập đại diện cho các nhóm đã được khảo sát bằng phương pháp chủng bệnh trên lá cắt rời của 6 dòng vô tính cao su. Kết quả thu được là mẫu nấm CKT05D mang gen Cas4 có khả năng gây bệnh mạnh nhất, mức độ bệnh trên lá của 6 dòng vô tính đều ở mức nặng. Đây là lần đầu tiên phát hiện mẫu nấm *C. cassiicola* mang gen Cas4 ký sinh và gây bệnh nặng trên cây cao su (Shuib và *ctv*, 2015).

Hiện nay, độc tố cassiicolin đã được ứng dụng để tuyển chọn dòng vô tính kháng bệnh *Corynespora* tại nhiều nước vì việc sử dụng độc tố có nhiều ưu điểm so với sử dụng bào tử *C. cassiicola* bởi những yếu tố sau: (1) Phản ứng sau khi lây nhiễm nấm thường nhạy cảm với môi trường hơn là các phản ứng với độc tố; (2) Kết quả phân tích bằng độc tố có thể có ngay trong vòng 24 giờ do đó có thể tiến hành đối với nhiều dòng vô tính trong thời gian ngắn; (3) Các nước chưa bị bệnh *Corynespora* vẫn có thể tuyển chọn các dòng vô tính kháng bệnh mà không cần

phải có nguồn nấm; (4) Sự khác biệt giữa các nguồn nấm có thể được nghiên cứu thông qua trao đổi độc tố đã tinh sạch và tạo kháng thể chống lại cassicolin bằng cách này hạn chế nguy cơ du nhập nơi *C. cassicola* mới.



Hình 1. Cây phân nhóm di truyền dựa trên kết hợp so sánh trình tự vùng rDNA-ITS, ga4, caa5, act1 của 26 mẫu phân lập nấm *C. cassicola* thuộc các nhóm gen Cas khác nhau tại Malaysia (Shuib và ctv, 2015)

Các kết quả nghiên cứu về tình gây bệnh của *C. cassicola* và độc tố cassicolin ở Việt Nam còn rất ít, có lẽ chủ yếu phản ánh được một phần rất nhỏ về mức độ phức tạp và đa dạng trong các quần thể của loài nấm này. Việc tiếp tục và thường xuyên thực hiện các nghiên cứu về tình gây bệnh của nấm *C. cassicola* và độc tố cassicolin là rất cần thiết cho công tác quản lý dịch hại do loài nấm này gây ra.

7. KẾT LUẬN

Nấm *C. cassicola* vừa là loài ký sinh, hoại sinh, đồng thời là nấm nội sinh nên có tình gây bệnh rất phức tạp. Có sự biến thiên lớn về độc lực của các mẫu phân lập nấm khác nhau, một số mẫu phân lập có khả năng gây bệnh cho vài loại ký chủ này nhưng không gây bệnh cho các ký chủ khác. Độc tố cassicolin do nấm tiết ra có vai trò chọn lọc ký chủ và đặc biệt quan trọng trong giai đoạn đầu của quá trình xâm nhiễm của nấm. Cấu trúc của Cassicolin là một glycoprotein, là chuỗi peptide gồm 27 amino acid, với một N-acid pyroglutamic và 6 cysteine. Có mối tương quan thuận giữa lượng độc tố cassicolin do mỗi mẫu phân lập nấm tiết ra với khả năng gây bệnh của nấm. Gen mã hóa độc tố cassicolin là một trong những yếu tố có vai trò quan trọng liên quan với sự đa dạng di truyền và tình gây bệnh của nấm *C. cassicola*, có 6 nhóm gen Cas đã được phát hiện và

có sự khác biệt về mức độ gây bệnh của các mẫu nấm mang gen Cas khác nhau.

TAI LIỆU THAM KHẢO

1. Barthe P., Pujade-Renaud V., Breton F., Gargam D., Thai R., Roumestand C. and de Lamotte F., 2007. Structural analysis of cassicolin, a host-selective protein toxin from *Corynespora cassicola*. *Journal molecular biology*, 367: 89 - 101.
2. Breton F., D'Auzac J., Garcia D., Sanier C., Eschbach J.B., 1996. Recent research on *Corynespora cassicola* Hevea brasiliensis interaction. *Proceeding workshop on Corynespora leaf fall disease of Hevea Rubber*, Medan, Indonesia. Indonesia Rubber Research Institute; pp.49-78
3. Breton F., Sanier C. and d'Auzac C. J., 2000. Role of Cassicolin, a Host-selective toxin, in pathogenicity of *Corynespora cassicola*, causal agent of a leaf fall disease of *Hevea*. *Journal of Rubber Research* 3: 115 - 128.
4. Chee K. H., 1988. Studies on sporulation, pathogenicity and epidemiology of *Corynespora*. *Journal of Natural Rubber Research* 1: 21 - 29.
5. Chanruang N., 2000. Status of *Corynespora* leaf fall in Thailand. In: *Paper presented at IRRDB Workshop on Corynespora Leaf Fall of Rubber*. Selangor, Malaysia, 2000.
6. Cutrim F. A. and Silva G. S., 2003. Pathogenicity of *Corynespora cassicola* to different plant species. *Fitopatologia Brasileira* 28: 193 - 194.
7. Déon M., Bourre Y., Gimenez S., Berger A., Bieysse D., de Lamotte F., Poncet J., Roussel V., Bonnot F., Oliver G., Franchel J., Seguin M., Leroy T., Roeckel-Drevet P and Pujade-Renaud V., 2012a. Characterization of a cassicolin-encoding gene from *Corynespora cassicola*, pathogen of rubber tree (*Hevea brasiliensis*). *Plant Science* 185-186: 227 - 237.
8. Déon M., Scomparin A., Tixier A., Mattos C., Leroy T., Seguin M., Roeckel-Drevet P and Pujade-Renaud V., 2012b. First characterization of endophytic *Corynespora cassicola* isolates with variant cassicolin genes recovered from rubber trees in Brazil. *Fungal Diversity* 54: 87 - 99.
9. Déon M., Fumanal B., Gimenez S., Bieysse D., Olivera R. R., Shuib S. S., Breton F., Elumalai S., Váda J. B., Seguin M., Leroy T., Roeckel-Drevet and

- Pujade-Renaud V., 2013. Diversity of the cassiicolin gene in *Corynespora cassiicola* and relation with the pathogenicity in *Hevea brasiliensis*. *Fungal Biology*: 16, <http://dx.doi.org/10.1016/j.funbio.2013.10.011>.
10. Farr, D. F., Rossman, A. Y., 2019. Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Retrieved May 4, 2019, from <https://nt.ars-grn.gov/fungalDATABASES/>.
11. Jayasinghe CK and Silva W. P. K. (1996). Current status of *Corynespora* leaf fall in Sri Lanka. In: *Proceeding workshop on Corynespora leaf fall disease of Hevea rubber*: Indonesia, 15 - 19.
12. Jayasinghe C. K. (2000). *Corynespora* leaf fall of rubber in Sri Lanka: Diversity of the pathogen and pathogenesis. *IRRDB Workshop on Corynespora Leaf fall disease*. Kuala Lumpur and Medan.
13. Kingsland G. C., 1985. Pathogenicity and epidemiology of *Corynespora cassiicola* in the Republic of Seychelles. *Acta Horticulturae* 153: 229 - 230.
14. Lamotte F. D. Duviau M. P., Sanier C., Thai R., Poncet J., Bieysse D., Breton F. and Pujade-Renaud V., 2007. Purification and characterization of cassiicolin, the toxin produced by *Corynespora cassiicola*, causal agent of the leaf fall disease of rubber tree. *Journal of Chromatography* 849: 357 - 362.
15. Liu X., Li B., Cai J, Li C. and Huang G., 2015. Diversity of the cassiicolin gene in *corynespora cassiicola* of rubber tree in china. In *Proceeding of Internation rubber conference*. Ho Chi Minh city, Viet Nam. 176 - 181.
16. Nguyen Anh Nghia, 2009. *Diversity of Corynespora cassiicola isolates and changes in rubber (Hevea brasiliensis) leaf protein profiles in response to pathogen inoculation*. PhD. Thesis, Universiti Putra Malaysia.
17. Nguyen Don Hieu, Nguyen Anh Nghia, Vu Thi Quynh Chi and Phan Thanh Dung, 2014. *Genetic diversity and pathogenicity of Corynespora cassiicola isolates from rubber tree and other hosts in Vietnam*. *Journal of rubber research*, 73 (3): 187 - 203.
18. Nguyễn Thái Hoàn, Phan Thành Dũng và Trần Minh, 2007. Nghiên cứu phân vùng các bệnh hại chính trên cây cao su tại Việt Nam. *Báo cáo tổng kết đề tài*. Viện Nghiên cứu Cao su Việt Nam.
19. Nugalewa A., Liyanage N. I. S. Liyanage A. S. and Aluthewage R. K., 1989. Influence of infection by *Corynespora cassiicola* on carbon dioxide assimilation rate in *Hevea* leaves. *Journal of Natural Rubber Research* 4 (4): 233 - 238.
20. Olivera R. R., Vida J. B., Tessman D. J., Aguiar B. M., Caixeta M. P. and Barboza A. A. L., 2007. Pathogenicity of *Corynespora cassiicola* isolates on different host plant. *Summa Phytopathologica* 33: 297 - 299.
21. Onesirosan P. T., Army D. C., Durbin R. D., 1974. Host specificity of Nigerian and North American isolates of *Corynespora cassiicola*. *Phytopathology* 64: 1365 - 1367.
22. Pawirosoemardjo S. and Purwantara D. A., 1987. Sporulation and spore germination of *Corynespora cassiicola*. In *proceeding of IRRDB symposium on pathology of Hevea brasiliensis*. Chiang Mai, Thailand. *The International Rubber Research and Development Board*, 24 - 33.
23. Pernezny K and Litz R. E., 1999. Some common diseases of papaya in Florida. University of Florida. Plant Pathology Fact Sheet PP 35. 1999. <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/FILES/VH/VH05000.pdf>.
24. Pernezny K. and Simone G. W., 1993. Target spot of several vegetable crops. University of Florida. Plant Pathology Fact Sheet, July 12th 2009. <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/FILES/VH/VH05200.pdf>.
25. Phan Thanh Dung., 1995. *Studies on C.cassiicola (Berk. & Curt) Wei on rubber*. MSc. thesis. University Pertanian Malaysia.
26. Phan Thành Dũng, 2004. *Kỹ thuật bảo vệ thực vật cây cao su*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, 123 trang.
27. Poltronieri L. S., Duarte M. L. R., Alfenas A. C., Tridade D. R. and Albuquerque F. C., 2003. Three new pathogens infecting Antilles cherry in the State of para. *Fitopatologia Brasileira* 28: 424 - 426.
28. Rajalakshmy V. K. and Kothandaraman R. (1996). Current status of *Corynespora* leaf fall in India: the occurrence and management. In: *Proceeding workshop on Corynespora leaf fall disease of Hevea Rubber*. Medan, Indonesia. Indonesian Rubber Research Institute; pp. 37-46.

29. Radziad N. Z., Sulong S. H. and Hidir S. (1996). The epidemiology of *Corynespora* leaf fall of Rubber in Malaysia - Conidia dispersal pattern. In: *Proceedings of the Workshop on Corynespora Leaf fall Disease of Hevea Rubber*. Medan, Indonesia PP 37-43.
30. Situmorang A., Suryaningtyas H., Pawrosoemardjo S. and Sinaga M.S., 2000. Virulence of isolates of *Corynespora cassicola* originated from various rubber clones and provinces in Indonesia on differential rubber clones. In *Proceeding of Indonesia Rubber Conference and IRRDB Symposium*. Bogor, Indonesia. Indonesia Rubber Research institute, pp. 225 - 234
31. Shuib S. S., Deon M., Mahyuddin M.M., Izhar A., Fumanal B., Sunderasin E., and Pujade Renaud V., 2015. Cassicolin gene among *Corynespora cassicola* isolates from rubber plantations from Malaysia. *Journal of rubber research*, 18 (2): 109 - 126.
32. Suwanto, Pawrosoemardjo S., Darussanin A., Sinaga M.S., 2000. Assay of isolates of *Corynespora cassicola* originated from papaw and differential rubber clones. In *Proceedings of Indonesian Rubber Conference and IRRDB Symposium*, Bogor, Indonesia. Indonesia Rubber Research Institute, pp. 203 - 224.
33. Tan A. M., Lo T. P., Vadiwel G., Bachik M. S. and Yoon K. P. (1992) Survey of major leaf disease of rubber in Peninsular Malaysia. *RRIM*.

PATHOGENICITY OF *Corynespora cassicola* AND CASSICOLIN TOXIN

Nguyen Don Hieu, Nguyen Anh Nghia, Nguyen Bao Quoc

Summary

The pathogenicity of *Corynespora cassicola* fungus is very complex because it depends on the specificity of each isolate and involves many different genes. There is a large variability in the virulence of different fungal isolates, some isolates that are capable of causing disease to some host plants but do not cause disease to other hosts. In the course of infection, this fungus releases cassicolin toxin which is very toxic to the rubber tree, only a few small lesions on the main vein can cause leaf fall. Cassicolin is a host-selective toxin and plays important role in the early phase of infection. The structure of this toxin is a glycoprotein which composed of 27 amino acids with a N-terminal pyroglutamic acid and 6 cysteines involved in disulfide bonds. The amount of cassicolin toxin production by different fungal isolates are positively correlated to their pathogenicity. The cassicolin encoding gene is one of the important factors which are involved in the genetic diversity and pathogenicity of *C. cassicola*, six groups of Cas genes were detected and differentiated in the virulence among the Cas genes.

Keywords: *Corynespora cassicola*, rubber tree, isolate, pathogenicity.

Người phân biên: GS.TS. Nguyễn Văn Tuất

Ngày nhận bài: 6/5/2019

Ngày thông qua phân biên: 7/6/2019

Ngày duyệt đăng: 14/6/2019