

KHẢ NĂNG ỨC CHẾ NẤM *LASIODIPLODIA THEOBROMAE* GÂY BỆNH THỐI CUỐNG TRÊN XOÀI CỦA NANO BẠC VÀ ĐỒNG

Nguyễn Vũ Mai Linh¹, Phan Thị Hồng Thảo^{1,✉}, Nguyễn Thị Hồng Liên¹, Đào Thị Hồng Vân², Nguyễn Văn Hiếu¹, Nguyễn Tường Vân¹, Nguyễn Hoài Châu³

¹Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Trường Đại học Mở Hà Nội

³Viện Công nghệ môi trường, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

✉Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: pthongthao@ibt.ac.vn

Ngày nhận bài: 23.10.2020

Ngày nhận đăng: 09.4.2021

TÓM TẮT

Lasiodiplodia theobromae - một thành viên của họ nấm Botryosphaeriaceae, là tác nhân có ảnh hưởng nghiêm trọng đến sản lượng và chất lượng trái xoài trên thế giới, trong đó có Việt Nam. Trong nghiên cứu này, chủng nấm XB1 được phân lập từ trái xoài bị thối cuống. Nghiên cứu phân loại dựa vào đặc điểm hình thái và trình tự gen vùng 5,8S RNA cho kết quả chủng nấm XB1 có độ tương đồng cao (99%) với loài *Lasiodiplodia theobromae*. Sử dụng chế phẩm nano kim loại Ag và Cu ở các nồng độ khác nhau trong việc đánh giá khả năng ức chế sự phát triển của nấm *L. theobromae* XB1 trên đĩa thạch. Sau 7 ngày, chế phẩm nano Cu ở nồng độ 2000 ppm và 4000 ppm ức chế được 17,9% và 52,4% sự phát triển của nấm. Nano Ag ở nồng độ 400 ppm cho kết quả ức chế sự phát triển của nấm *L. theobromae* XB1 cao nhất sau 4 ngày (80%). Chế phẩm Nano AgH ở nồng độ 20 ppm ức chế nấm tương đương với hiệu quả của carbendazim 400 ppm và hexanconazole 400 ppm (~90%). Từ 25 ppm, nano AgH có khả năng tiêu diệt hoàn toàn nấm *L. theobromae* XB1.

Từ khóa: *Lasiodiplodia theobromae*, nano Ag, nano Cu, quả xoài.

MỞ ĐẦU

Xoài là một loại trái cây có giá trị dinh dưỡng cao và giá trị kinh tế cao, được trồng trên 100 quốc gia trong đó có Việt Nam. Tuy nhiên, quả xoài rất dễ bị nấm bệnh gây hư hỏng trong quá trình bảo quản sau thu hoạch, làm giảm chất lượng và tăng tổn thất kinh tế. Trong các nấm gây bệnh trên quả xoài, nấm *Lasiodiplodia theobromae* được xác định là mầm bệnh nấm nghiêm trọng nhất về hình thức, chất lượng của quả (Ni *et al.*, 2012).

L. theobromae là loài phổ biến có nguồn gốc từ đất hoặc ký sinh vào vết thương trên quả, chúng phân bố khắp các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới. Nấm này có thể gây bệnh trên hơn 500 loại cây chủ khác nhau như cam quýt, quả bơ, xoài, đu đủ, chuối và ổi ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới trên thế giới, với các biểu hiện bệnh trên thực vật rất đa dạng như chết mầm cây, thối rễ, thối trái cây và đốm lá. Các bào tử nấm thường lây nhiễm vào quả thông qua cuống, chúng có thể tồn tại tiềm tàng, không gây ra bất kỳ tác động trên

trái cây trước khi thu hoạch. Trong quá trình thu hoạch, những trái có nhiễm bào tử, khi gặp điều kiện nhiệt độ và độ ẩm thích hợp, các bào tử này nảy mầm và phát triển tạo ra các tổn thương màu nâu đến màu đen và lan rộng rất nhanh, toàn bộ trái chuyển sang màu đen và quả bị nhũn chỉ trong vòng 2÷3 ngày (Serrato *et al.*, 2013). Shelar và đồng tác giả (1997) công bố kết quả diệt nấm *L. theobromae* trong điều kiện *in vitro* của 7 loại thuốc, kết quả là benomyl (0,1%), captan (0,2%), carbendazim (0,1%), mancozeb (0,25%) và thiophanate-methyl (0,1%) có hiệu quả trên 90% đối với nấm trong môi trường rắn và lỏng.

Xu hướng hiện nay trên thế giới là nghiên cứu các biện pháp thay thế sử dụng các hợp chất không phải là kháng sinh để kiểm soát các bệnh trên trái cây sau thu hoạch có thể ngăn chặn sự thối hỏng quả, ít ảnh hưởng lên sức khỏe con người và môi trường. Một trong các giải pháp là sử dụng các vật liệu kim loại có kích thước nano có hiệu quả ức chế các vi sinh vật gây bệnh như bạc, bạc zeolite hạt, đồng, đây là các kim

loại được chấp thuận làm phụ gia trong sản xuất polyme bao gói thực phẩm ở Mỹ và Nhật Bản (Nobile, 2013). Trong nghiên cứu này, sẽ trình bày kết quả về phân lập chủng nấm gây bệnh thối cuống trên xoài và đánh giá khả năng ức chế của nano kim loại Ag và Cu đến sự phát triển của chủng nấm.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Vật liệu nano Ag và Cu nhận từ Viện Công nghệ môi trường, có các đặc điểm được mô tả trong Bảng 1. Các mẫu xoài bệnh được thu nhận tại các chợ đầu mối.

Bảng 1. Tính chất của các nano Ag và Cu sử dụng trong nghiên cứu.

Vật liệu	Hình dạng	Kích thước hạt nano trung bình, nm	Phương pháp chế tạo
Cu	Hình cầu	30	Khử CuSO ₄ với NaBH ₄
Ag	Hình cầu	< 20	Khử AgNO ₃ với NaBH ₄
AgH	Hình cầu	~7	H ₂ O ₂ 30% + nano Ag với tỷ lệ 1:1

Phân lập nấm *L. theobromae* gây bệnh thối cuống

Trái xoài bị bệnh với các triệu chứng có các vết bệnh nhỏ, mềm, màu nâu ở xung quanh phần cuống, các vết lõm chảy nước và lan dần vào phía trong thịt quả. Để phân lập các chủng nấm gây bệnh thối cuống được thực hiện theo phương pháp của Xie và cộng sự (2010). Các trái cây này được rửa sạch bằng nước, khử trùng bề mặt bằng natri hypochlorite (NaClO) 1% và sau đó rửa lại 3 lần trong nước cất vô trùng. Mẫu vỏ quả được cắt bằng dụng cụ tiệt trùng từ ranh giới giữa mô khỏe và mô bệnh (3-5 mm) và đặt trên môi trường phân lập PDA(g/L) (dịch khoai tây thu nhận từ 200 g; dextrose 20; agar 15, pH 5 ÷ 6) và ủ ở 25 ± 1°C trong 5 ngày. Các dòng nấm sau khi thuần khiết giữ trên môi trường PDA để nghiên cứu sâu hơn.

Phân loại chủng XB1 bằng đặc điểm hình thái và phân tích trình tự vùng ITS

Xác định đặc điểm sinh học bao gồm hình dạng khuẩn lạc nấm, đặc điểm cơ quan sinh sản và bào tử phân sinh. Tách chiết DNA tổng số của chủng XB1 theo phương pháp của Sambrook, Russell (2001). Vùng ITS – rDNA được khuếch đại bằng phản ứng PCR sử dụng cặp mồi ITS1 (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') và ITS4 (5'-

CAGGAGACTTGTACACGGTCC AG-3') (Gardes, Bruns, 1993) với chu trình nhiệt như sau: 95°C/5't, 35x (95°C/90", 55°C/90", 72°C/2'); 72°C/10'. Sản phẩm PCR được giải trình tự trên máy ABI PRISM 3100 và phần mềm BioEdit 7.24 để xử lý. Sử dụng chương trình BLAST đánh giá mức độ tương đồng gen vùng 5,8s rDNA của chủng XB1 với các trình tự gen trong GenBank.

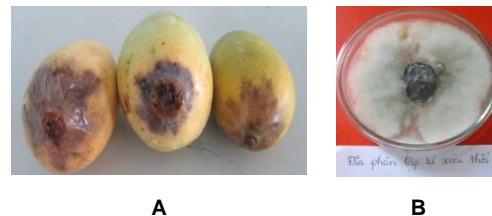
Xác định khả năng ức chế nấm

Đánh giá khả năng ức chế sự phát triển của nấm XB1 bởi các nano kim loại trên môi trường đĩa thạch với các nồng độ thử nghiệm phù hợp cho từng loại hạt nano kim loại. Môi trường PDA được bổ sung nano kim loại để thu được nồng độ cuối cùng trên đĩa như sau: nano Cu 100, 250, 500, 1000, 1500 ppm; nano Ag 10, 30, 50, 100, 200, 300, 400 ppm; nano AgH 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 50 ppm. Hai hóa chất carbendazim và hexaconazol được sử dụng làm đối chứng dương khi so sánh hiệu quả của nano kim loại. Nấm XB1 được nuôi trên môi trường PDA trong 5 ngày ở 25°C được sử dụng làm chủng giống. Các khoanh thạch nấm đường kính 6 mm được đặt vào trung tâm đĩa thạch nano. Ủ đĩa ở 25°C và theo dõi đường kính sinh trưởng của nấm theo thời gian. Hiệu quả ức chế của nano kim loại đến sự phát triển của nấm XB1 được tính toán theo công thức sau: Tỷ lệ ức chế (%) = (R-r)/R x 100, trong đó R là đường kính khuẩn lạc nấm XB1 trên đĩa môi trường PDA (đối chứng âm) và r là đường kính khuẩn lạc nấm XB1 trên đĩa thí nghiệm có bổ sung nano kim loại, hóa chất (Kim *et al.*, 2012). Kết quả thu được sẽ được xử lý thống kê bởi phần mềm Excel 2010.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

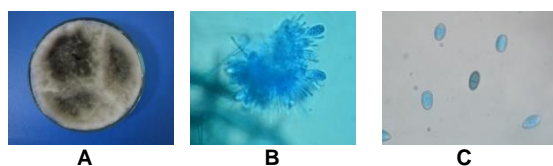
Đặc điểm phân loại của chủng nấm phân lập từ xoài nhiễm bệnh

Khi phân lập nấm từ nhiều mẫu quả bị bệnh, chúng tôi thu được các chủng nấm có hình thái giống nhau, và tương đồng với mô tả của Serrato-Diaz và đồng tác giả (2013), được đặt tên là XB1.



Hình 1. Mẫu xoài bị bệnh (A) và hình ảnh khuẩn lạc chủng nấm XB1 trên môi trường phân lập (B).

Chủng XB1 trên môi trường PDA phát triển nhanh, đạt 7- 8 cm/7 ngày ở nhiệt độ 25°C, với hệ sợi khí sinh có màu nâu đen; đĩa giá được sinh ra tạo thành khối trên đệm nấm, có màu đen, cứng, kích thước 400-1500 μm , hình đĩa đến gần cầu hoặc thon dài. Cuống sinh bào tử hình trụ, 5,0-15 x 2,0-5,0 μm , xen lẫn với các sợi sinh dưỡng. Bào tử hình elip, không màu khi còn non, sau chuyển thành màu nâu với 1 vách ngăn ngang khi già, 7-9 khía dọc, hầu hết có kích thước 20-26 x 10-15 μm . Bào tử trưởng thành rất chậm, khi già màu nâu và có một vách ngăn.



Hình 2. Khuẩn lạc (A); cuống sinh bào tử và bào tử (B, C) của nấm XB1 (độ phóng đại x 400).

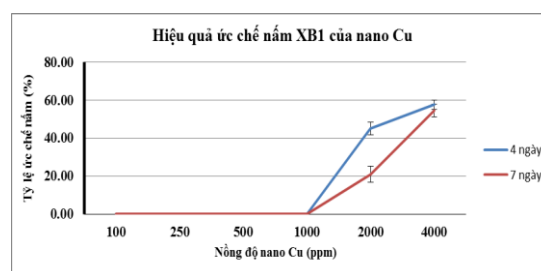
Sản phẩm PCR khuếch đại gen vùng ITS của nấm XB1 thu được có chất lượng tốt với một băng rõ duy nhất trên gel điện di, có kích thước khoảng 500 bp. Trình tự gen vùng ITS1-5,8S-ITS2 rDNA của chủng nấm XB1 được so sánh trên ngân hàng dữ liệu cơ sở GenBank bằng công cụ BLAST cho thấy: gen vùng 5,8S rDNA của chủng nấm nghiên cứu có độ tương đồng cao (99%) so với gen tương ứng của các chủng *Lasiodiplodia theobromae* TJXHS1S1 (JX275790.1) 99%, *Lasiodiplodia theobromae* D111 99%. Kết hợp với các đặc điểm về hình thái có thể xếp chủng XB1 thuộc vào loài *Lasiodiplodia theobromae* nên chủng nấm này được đặt tên là *Lasiodiplodia theobromae* XB1.

Ảnh hưởng của chế phẩm nano Cu lên sự phát triển của nấm

Ở các nồng độ ≤ 1000 ppm nano Cu không có khả năng ức chế sự phát triển của nấm *L. theobromae* XB1. Tại thời điểm 4 ngày, khuẩn ty khí sinh nấm *L. theobromae* XB1 trên các nồng độ 100, 250, 500 và 1000 ppm đã mọc kín bề mặt đĩa tương tự trên đĩa đối chứng. Khi tăng lên 2000 và 4000 ppm, tản nấm không có sự lan rộng, với mức độ ức chế so với đối chứng lần lượt là 47,6% và 59,5%. Sau 7 ngày, hiệu quả ức chế của nano Cu giảm dần còn 17,9 % và 52,4 % (Hình 3 và 4). Như vậy, khả năng kháng nấm của nano Cu tăng dần khi nồng độ tăng, kết quả này tương tự với các công bố trên thế giới (Cioffi *et al.*, 2004; Kalatehjari *et al.*, 2015).

Nano Cu ở nồng độ 4000 ppm không ức chế hoàn toàn sự phát triển của nấm *L. theobromae* XB1, tuy nhiên kết quả tương tự với nghiên cứu của Johari và

đồng tác giả (2014). Ở các nồng độ thấp hơn, sợi nấm mọc thưa, mảnh và phát triển yếu hơn là do hoạt động kháng nấm của nano Cu đến màu sắc, hình thái, cấu trúc và mật độ của sợi nấm (Nguyen *et al.*, 2020). Các đặc tính kháng khuẩn và kháng nấm của một số hạt nano như Ag, TiO₂ và ZnO cũng đã được thừa nhận. Hạt nano có thể làm biến dạng và làm hỏng sợi nấm, chúng bám lên thành tế bào gây tổn thương thành tế bào và màng, tăng tính thấm của màng, ngăn chặn các kênh vận chuyển nước hoặc làm tế bào nấm chết do sự xâm nhập các hạt nano trong tế bào; các hạt nano có thể cắt cấu trúc sợi và thành tế bào nấm do các cấu trúc của các hạt nano; ức chế sự nảy mầm của bào tử... (Tian *et al.*, 2019).



Hình 3. Hiệu quả ức chế nấm *L. theobromae* XB1 của nano Cu ở các nồng độ khác nhau ở thời gian 4 và 7 ngày.



Hình 4. Khả năng ức chế sự phát triển của nấm XB1 bởi nano Cu ở nồng độ khác nhau sau 7 ngày.

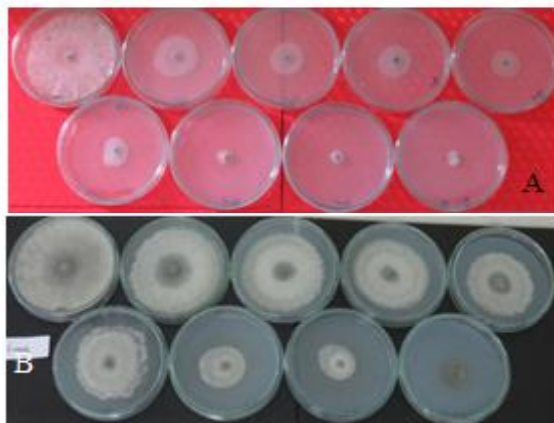
Ảnh hưởng của chế phẩm nano AgH lên sự phát triển nấm *L. theobromae* XB1

Kết quả nghiên cứu cho thấy, hiệu quả ức chế tỉ lệ thuận với sự gia tăng nồng độ nano AgH. Ở nồng độ dưới 5 ppm, sau 4 ngày AgH ức chế sự phát triển khuẩn ty của nấm *L. theobromae* XB1 > 60% so với mẫu đối chứng. Khi nồng độ AgH ở 10 ppm, khả năng ức chế sự phát triển các khuẩn ty khí sinh của nấm là 80% sau 4 ngày, và mức độ ức chế tăng lên đến > 80% khi nồng độ nano AgH là 15 và 20 ppm. Ở nồng độ nano AgH là 25 ppm và 50 ppm, nấm *L. theobromae* XB1 bị ức chế sự phát triển là 100% so với đối chứng sau 4 ngày. Tuy nhiên, khi theo dõi tại thời điểm 7 ngày, khả năng ức chế sự phát triển của nấm *L. theobromae* XB1 của AgH ở tất cả các nồng độ thử nghiệm cho thấy có sự giảm xuống theo các nồng độ nhỏ như: nồng độ dưới 5 ppm hiệu quả ức chế chỉ còn < 40%, và nồng độ 10 ppm ức chế chỉ có đạt 60%, tuy

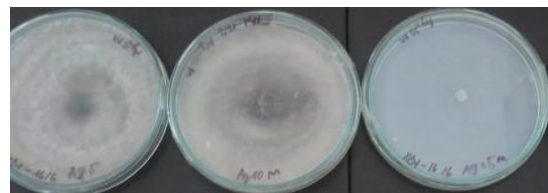
nhiên ở nồng độ 25 ppm và 50 ppm vẫn cho kết quả ức chế sự phát triển của nấm là 100%.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ nano AgH đến sự phát triển của nấm *L. theobromae* XB1 trên đĩa thạch ở thời điểm 4 và 7 ngày.

Nồng độ nano AgH (ppm)	4 ngày	7 ngày
1	67,26 ± 2,67	11,31 ± 0,84
2	75,60 ± 2,32	22,62 ± 1,68
3	76,79 ± 2,53	29,17 ± 0,98
4	79,17 ± 2,54	36,90 ± 1,53
5	80,36 ± 2,83	80,36 ± 1,46
10	93,45 ± 2,38	73,21 ± 2,53
15	96,43 ± 1,68	82,74 ± 0,82
20	97,02 ± 2,65	89,88 ± 0,68
25	100 ± 0,00	99,4 ± 0,84
50	100 ± 0,00	100 ± 0,00



Hình 5. Khả năng ức chế của nano AgH ở các nồng độ (từ trái sang phải nồng độ 1, 2, 3, 4 và 5, 10, 15 và 20 ppm) đối với sự phát triển của nấm *L. theobromae* XB1 tại thời điểm 4 ngày (A) và 7 ngày (B).



Hình 6. Khả năng ức chế của nano AgH đối với sự phát triển của nấm *L. theobromae* XB1 tại thời điểm 14 ngày.

Hai hóa chất là hexanconazol và carbendazim có trong chế phẩm thị trường anvil và carbendazim được sử dụng làm đối chứng dương khi đánh giá hiệu quả kháng nấm của hai nano Ag và nano Cu. Đây là những

sản phẩm đã được thương mại hóa sử dụng trong bảo quản hoa quả khỏi sự tấn công của các loại nấm thực vật, tuy nhiên đã bị cấm lưu hành do những tác động đến sức khỏe con người.

Bảng 3. Mức độ ức chế khả năng phát triển của chủng nấm *L. theobromae* XB1 của các hóa chất hexanconazol (anvil) và carbendazim

Hóa chất	Nồng độ (ppm)	Khả năng ức chế sự phát triển của nấm XB1 (%)	
		7 ngày	10 ngày
Hexanconazol	400	88,89	88,89
Carbendazim	400	100	93,33

Đối với hexanconazol ở nồng độ 400 ppm (nồng độ khuyến cáo), hiệu quả ức chế sự phát triển của nấm *L. theobromae* XB1 là 88,89% tương đương với AgH ở nồng độ 20 ppm, với carbendazim ở nồng độ 400 ppm hiệu quả ức chế sự phát triển của nấm là 100% tương đương với AgH ở nồng độ 25 ppm. Với nồng độ thấp hơn nhiều lần, nano AgH vẫn làm chậm sự phát triển của sợi nấm *L. theobromae* XB1 tương đương với hai chất ở nồng độ cao.

Nghiên cứu kết hợp nano Ag với nystatin và chlorhexidine digluconate, hoạt động kháng hai nấm *Candida albicans* và *Candida glabrata* đã được tăng cường (Zhi *et al.*, 2016). Sự phối trộn giữa nano Ag và H₂O₂ đã làm tăng mức độ ức chế. Nano Ag đơn chất chỉ kháng nấm *Penicillium*, *Alternaria* ở nồng độ 100 ppm (Abde *et al.*, 2016; Kim *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2012). Mahdizadeh và đồng tác giả (2015) đã cho biết, dung dịch nano Ag nồng độ 35 ppm ức chế được *Aspergillus*, *Penicillium* và *Trichoderma*. Sự khác nhau này, có thể do đặc tính của các chế phẩm nano khác nhau về kích thước hạt và chủng nấm kiểm định (Mahdizadeh *et al.*, 2015). Kanhed và đồng tác giả (2014) đã nghiên cứu khả năng ức chế của nano Cu với các nấm gây bệnh ở thực vật như *Phoma destructiva*, *Curvularia lunata*, *Alternaria alternata* và *Fusarium oxysporum* cũng cho thấy hiệu quả. Một số các nghiên cứu đã chỉ ra cơ chế tác động ức chế ion bạc trên vi sinh vật là do ion Ag⁺ đã liên kết vào cấu trúc DNA, làm chúng mất khả năng nhân lên. Một số nghiên cứu cho biết ion Ag⁺ chủ yếu ảnh hưởng đến chức năng của enzyme gắn màng trong chuỗi hô hấp (Kim *et al.*, 2012). Đối với tác động đến sức khỏe người tiêu dùng, nano Ag đã được chứng minh không có độc tính tế bào đối với tế bào người ở nồng độ thấp, nhưng liều lượng tăng lên có thể gây độc tế bào (Zhi *et al.*, 2016).

KẾT LUẬN

Định danh được chủng nấm gây bệnh thối cuống trên quả xoài ở Việt Nam là *Lasiodiplodia*

theobromae XB1. Sử dụng chế phẩm nano kim loại Ag, AgH và Cu kiểm tra khả năng ức chế với chủng nấm *L. theobromae* XB1 cho kết quả, chủng nhạy cảm nhất khi xử lý với nano AgH. Ở nồng độ 25 ppm trở lên, AgH có khả năng ức chế 100% sự phát triển sau 14 ngày. Khi so sánh với hai loại hóa chất được sử dụng trong bảo quản cho thấy, khả năng ức chế nấm *L. theobromae* XB1 tốt hơn so với hexanconazol ở nồng độ 400 ppm (mức độ ức chế 88,89%) và tương đương với carbendazim ở nồng độ 400 ppm. Như vậy, AgH có triển vọng tốt trong kiểm soát nấm *L. theobromae* XB1, để có thể ứng dụng của nano AgH trong phòng và chống nấm bệnh trên cây xoài ở trước và sau thu hoạch.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này nhận được sự hỗ trợ kinh phí từ nhánh số 7 thuộc hợp phần II “Nghiên cứu ứng dụng các chế phẩm nano trong trồng trọt”, MS: VAST.TĐ.NANO.02/15-18 thuộc Dự án trọng điểm cấp Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam và trang thiết bị của Phòng Thí nghiệm Trọng điểm Công nghệ gen, Viện Công nghệ Sinh học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abdel-Hafez SI, Nafady NA, Abdel-Rahim IR, Shaltout AM, Daròs JA, Mohamed MA (2016) Assessment of protein silver nanoparticles toxicity against pathogenic *Alternaria solani*. *Biotech* 6(2): 1-12.

Gardes M, Bruns TD (1993) ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes – application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol Ecol* 2: 113–118.

Johari SA, Kalbasi MR, Yu IJ (2014) Inhibitory effects of silver zeolite on in vitro growth of fish egg pathogen, *Saprolegnia* sp. *J. Coastal Life Med* 2 (5): 357–361.

Kalatehjari P, Yousefian M, Khalilzadeh MA (2015) Assessment of antifungal effects of copper nanoparticles on the growth of the fungus *Saprolegnia* sp. on white fish (*Rutilus frisii kutum*) eggs. *Egypt J Aqua Res* 41(4): 303-306.

Kanhed P, Birla S, Gaikwad SC, Gade AK, Seabra AB, Rubilar O, Duran N, Rai M (2014) *In vitro* antifungal efficacy of copper nanoparticles against selected crop pathogenic fungi. *Mat Lett* 115: 13-17.

Kim KJ, Sung WS, Moon SK, Choi JS, Kim JG, Lee DG (2008) Antifungal effect of silver nanoparticles on dermatophytes. *J. Microbiol. Biotechnol* 18(8): 1482-1484.

Kim SW, Jung JH, Lamsal K, Kim KS, Min JS, Lee YS (2012) Antifungal effects of silver nanoparticles (AgNPs) against various plant pathogenic fungi. *Mycobiology* 40 (1): 53-58.

Mahdizadeh V, Safaie N, Khelghatibana F (2015) Evaluation of antifungal activity of silver nanoparticles against some phytopathogenic fungi and *Trichoderma harzianum*. *J Crop Prot* 4 (3): 291-300.

Nguyen VT, Dang TMS, Trinh KS (2020) Antifungal activity of gelatin-tapioca starch film and coating containing copper nanoparticles against *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose. *J Chem*: 1-11.

Ni HF, Yang HR, Chen RS, Liou RF, Hung TH (2012) New Botryosphaeriaceae fruit rot of mango in Taiwan: identification and pathogenicity. *Botanic Stud* 53: 467-478.

Sambrook J, Russell DW (2001) Molecular cloning. A laboratory manual, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY.

Serrato-Diaz LM, Perez CM, Rivera VL I, French-Monar RD (2013) First report of *Lasiodiplodia theobromae* causing inflorescence blight of mango. *Plant Dis* 97(10): 1380.

Tian H, Kah M, Kariman K (2019) Are nanoparticles a threat to *Mycorrhizal* and *Rhizobial* Symbioses? A critical review. *Front Microbiol* 10: 1660.

ANTIFUNGAL POTENTIAL OF SILVER AND COPPER NANOPARTICLES AGAINST *LASIODIPLODIA THEOBROMAE* CAUSING STEM-END ROT OF MANGO

Nguyen Vu Mai Linh¹, Phan Thi Hong Thao¹, Nguyen Thi Hong Lien¹, Dao Thi Hong Van², Nguyen Van Hieu¹, Nguyen Tuong Van¹, Nguyen Hoai Chau³

¹Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology

²Hanoi Open University

³Institute of Environmental Technology, Vietnam Academy of Science and Technology

SUMMARY

Fungal species *Lasiodiplodia theobromae* of family *Botryosphaeriaceae* is a pathogen causing significant loss of production and quality of mango crop in Vietnam and worldwide. In this study, a fungal strain designed as XB1 was isolated from stem-end rot mango fruits, identified and tested its susceptibility to silver and copper nanoparticles. Strain identification based on biological characteristics and sequence analysis of 5.8S RNA

indicated that the isolate XB1 was highly close (99%) to *Lasiodiplodia theobromae*, therefore named as *Lasiodiplodia theobromae* XB1. The inhibiting effects of Ag and Cu nanoparticles on the growth of *L. theobromae* XB1 were investigated at various concentrations. After seven days of plate cultivation, nano-Cu at 2000 ppm and 4000 ppm inhibited the fungal growth by 17.9 % and 52.4 %, respectively. With silver nanoparticles of about 20 nm in size, the effect seemed rather limited. At 400 ppm, the highest inhibition of 80% was observed after 4 days, then the growth fully resumed. However, another preparation, i.e. nano silver AgH of about 7 nm in size, showed significantly stronger inhibition against the fungus. At 20 ppm, AgH inhibited 90% of growth, comparable to 400 ppm of either carbendazim or hexaconazole. At 25 ppm, no growth was observed. The results suggested high potential of copper and silver nanoparticles AgH to replace toxic chemicals in controlling fungal pathogens of mango and other fruits.

Keywords: copper nanoparticles, *Lasiodiplodia theobromae*, mango fruit, silver nanoparticles, stem-end rot