

BỆNH ĐỐM LÁ, LOÉT THÂN BẠCH ĐÀN Ở GIAI ĐOẠN VƯỜN ƯƠM

Nông Phương Nhung¹, Đặng Thị Kim Anh², Trần Xuân Hình³, Nguyễn Minh Chí³

¹ Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

² Trung tâm Vi sinh vật công nghiệp, Viện Công nghiệp thực phẩm

³ Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

TÓM TẮT

Các loài bạch đàn đang được sử dụng làm cây trồng rừng chính tại nhiều tỉnh, tổng diện tích rừng trồng bạch đàn ở Việt Nam hiện đạt khoảng 170.000ha. Nghiên cứu này nhằm xác định đặc điểm hình thái, triệu chứng và nguyên nhân gây bệnh đốm lá, loét thân cây bạch đàn ở giai đoạn vườn ươm ở tỉnh Phú Thọ, Việt Nam. Triệu chứng điển hình là trên thân cây bị bệnh có những vết loét, thâm hoặc vết lõm ở phần vỏ cây, lá cây bị bệnh xuất hiện các đốm nâu và lan rộng nhanh. Các chủng nấm có khả năng gây bệnh rất khác nhau và được chia thành 4 nhóm gồm: gây bệnh yếu (1 chủng), gây bệnh trung bình (4 chủng), gây bệnh mạnh (3 chủng) và gây bệnh rất mạnh (2 chủng). Nghiên cứu định loại nấm gây bệnh bằng kỹ thuật sinh học phân tử, trong đó sử dụng cặp mồi ITS1 và ITS4. Kết quả giải trình tự đoạn gen ITS của hai chủng gây bệnh rất mạnh và so sánh với các trình tự tham chiếu GU973522 (Cheewangkoon *et al.*, 2010) và GU973519 (Lueangpraplut *et al.*, 2013) đã xác định nấm gây bệnh đốm lá, loét thân cây bạch đàn ở giai đoạn vườn ươm thuộc loài *Pseudoplagiostoma eucalypti*. Đây là loài nấm gây bệnh nghiêm trọng rừng trồng bạch đàn ở Thái Lan, do vậy cần nghiên cứu giải pháp quản lý hiệu quả loài nấm gây bệnh này nhằm hạn chế sự lây lan trên diện rộng ở Việt Nam.

Từ khóa: Bệnh đốm lá, bệnh loét thân, bạch đàn lai, bạch đàn ươm, *Pseudoplagiostoma eucalypti*

Leaf spot and canker disease of *Eucalyptus* in nursery stage

In Vietnam, several *Eucalyptus* species have been planted in large scale under about 170,000 hectares in 2015. The aim of this study is to evaluate morphological characteristics, symptoms, pathogenicity and to identify the cause of leaf spot and canker of *Eucalyptus* spp. in nursery stage in Phu Tho province, Vietnam. The disease symptoms including staining of the vascular tissue, cankers and wilting on infected parts of the trees, or spots exuding in the leaves. The infected trees showed to be wilting symptom and died after ward. Pathogenicity of 10 isolates was varied and divided into 4 groups: weak (1 isolate), average (4 isolates), strong (3 isolates) and very strong (2 isolates). Fungal pathogen was identified by using molecular biology technique using ITS1 and ITS4 primers. The ITS sequence analysis of the two highly pathogenic isolates were compared with the reference sequence GU973522 (Cheewangkoon *et al.*, 2010) and GU973519 (Lueangpraplut *et al.*, 2013). Two isolates (**PN3 and PN4**) were indicated as *Pseudoplagiostoma eucalypti*, a serious pathogenic in eucalyptus plantation in Thailand. Therefore, it is necessary to study the effective management of this fungus in order to limit the spread of the disease in Vietnam.

Key words: Canker disease, leaf spot, *Pseudoplagiostoma eucalypti*, *Eucalyptus hybrid*, *Eucalyptus urophylla*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Những năm gần đây, dịch sâu, bệnh hại cây trồng lâm nghiệp thường xuyên xảy ra, gây tổn thất không nhỏ cho sản xuất. Việt Nam hiện có khoảng 170.000ha rừng trồng các loài bạch đàn, trên các diện tích này thường bị bệnh khô cành ngọn, ong gây u bướu (Phạm Quang Thu, 2016), năm 2016 đã ghi nhận bệnh chết héo Bạch đàn urô và Bạch đàn camal ở Việt Nam do nấm *Ceratocystis* sp. (Nguyễn Minh Chí và Phạm Quang Thu, 2016). Nấm *Ceratocystis fimbriata* gây chết héo hàng loạt rừng trồng bạch đàn ở Brazil, Uruguay và các nước vùng Trung Phi (Roux *et al.*, 2000). *C. sublaevis* gây bệnh chết héo bạch đàn *deglupta* ở Ecuador (Van Wyk *et al.*, 2011). *C. Chinaeucensis* và *C. cercfabiensis* gây bệnh chết héo rừng trồng bạch đàn tại Trung Quốc (Liu *et al.*, 2015).

Bệnh đốm lá, khô cành ngọn bạch đàn ở Việt Nam được xác định do nấm *Cylindrocladium quinquesepatum* và *Cryptosporiopsis eucalypti*, là một trong những nguyên nhân gây suy giảm nghiêm trọng năng suất và chất lượng rừng trồng các loài bạch đàn ở Việt Nam (Phạm Quang Thu, 2016). Tại Thái Lan, bệnh đốm lá, khô cành ngọn bạch đàn ngoài nguyên nhân do nấm *C. eucalypti* (Cheewangkoon *et al.*, 2010), chúng còn được xác định do nấm *Pseudoplagiostoma eucalypti* và *P. oldii* gây ra (Cheewangkoon *et al.*, 2010; Lueangpraplut *et al.*, 2013). Nấm *P. eucalypti* cũng là tác nhân gây bệnh đốm lá bạch đàn *robusta* ở Đài Loan (Wang *et al.*, 2016).

Trong thời gian qua, bệnh đốm lá, loét thân gây hại đối với cây con bạch đàn tại các vườn ươm ở Phú Thọ khá phổ biến, tỷ lệ cây bị bệnh ở các vườn ươm tại Phú Thọ và Tam Thanh từ 15 - 20%. Dưới đây trình bày kết quả nghiên cứu triệu chứng, tính gây bệnh và giám định nấm gây bệnh đốm lá, loét thân cây con bạch đàn ở Phú Thọ, Việt Nam.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cây con Bạch đàn urô, bạch đàn lai trong các vườn ươm tại Phú Thọ.

Các mẫu bệnh đốm lá, loét thân thu được từ vườn ươm bạch đàn.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- *Phương pháp xác định triệu chứng của bệnh đốm lá, loét thân cây con bạch đàn*

Quan sát trên thân, lá cây để xác định vết loét, đốm và đặc điểm của các vết loét. Mô tả sự đổi màu của vỏ cây, của lá ở vết loét và xung quanh vết loét, mức độ tổn thương của vỏ ở vết loét và mô tả đặc điểm tán lá của những cây bị bệnh.

- *Phương pháp gây bệnh nhân tạo*

Gây bệnh nhân tạo trên cây con: chọn các cây khỏe của dòng CT3, dùng dao vạt lớp vỏ dài 0,8cm ở giữa thân, đục một miếng môi trường đường kính 0,5cm có chứa sợi nấm úp vào vết thương, đặt bông ẩm phía ngoài và dùng parafin bọc kín. Mỗi mẫu nấm thí nghiệm gây bệnh cho 30 cây. Nuôi cây đã nhiễm bệnh trong lồng có phủ nilon cách ly, chăm sóc hàng ngày và tưới đủ ẩm. Sau 20 ngày, tiến hành kiểm tra và đo chiều dài vết bệnh. Phân cấp khả năng gây bệnh dựa vào chiều dài của vết bệnh (L) với 5 cấp, cụ thể như sau: L = 0cm (không gây bệnh), L ≤ 5cm (gây bệnh yếu), 5cm < L ≤ 10cm (gây bệnh trung bình), 10cm < L ≤ 15cm (gây bệnh mạnh), L > 15cm (gây bệnh rất mạnh).

Gây bệnh nhân tạo trên lá: đục một miếng môi trường đường kính 0,5cm có chứa sợi nấm đặt vào một điểm ở giữa lá. Thí nghiệm gây bệnh cho 30 lá/mẫu nấm, để các lá đã nhiễm bệnh vào túi nilon, bảo quản ở 25°C. Sau 15 ngày đo diện tích vết bệnh trên lá. Phân cấp khả năng gây

bệnh thông qua diện tích vết bệnh trung bình (S) với 5 cấp, cụ thể như sau: $S = 0\text{cm}^2$ (không gây bệnh), $S \leq 5\text{cm}^2$ (gây bệnh yếu), $5\text{cm}^2 < S \leq 10\text{cm}^2$ (gây bệnh trung bình), $10\text{cm}^2 < S \leq 15\text{cm}^2$ (gây bệnh mạnh), $S > 15\text{cm}^2$ (gây bệnh rất mạnh).

- Phương pháp định loại nấm gây bệnh

Để tách chiết ADN, dùng que cấy chuyên 100mg sinh khối tế bào vào các ống Eppendorf chứa 1ml dung dịch SSC 2× (15mM sodium citrate, 150mM NaCl, pH 7,0) và đun ở 99°C trong 10 phút sử dụng máy gia nhiệt Eppendorf Thermomixer Comfort. Sau đó, dịch tế bào được ly tâm loại bỏ dịch, thêm vào Eppendorf khoảng 100µl hạt thủy tinh (đường kính 0,2 - 0,5mm), 100µl phenol/chloroform và 100µl nước. Sử dụng máy phá tế bào Mini-Beadbeater-8 (Biospec) để phá vỡ tế bào, trong 1 phút. Rồi ly tâm ở tốc độ 14.000 vòng/phút trong 10 phút, phần dịch trong phía trên được chuyển sang ống eppendorf mới. Dịch chứa ADN được tinh chế tiếp bằng cách sử dụng Silica Bead DNA Gel Extraction kit (Thermo scientific) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Phân đoạn rADN được khuếch đại bằng cặp mồi ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') và ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'), trên thiết bị C1000 Touch™ Thermal Cycler (Bio-Rad, Mỹ) với chương trình nhiệt được thiết lập với pha biến tính ở 94°C trong 3 phút, kế tiếp là 30 chu kỳ nhiệt (94°C trong 30 giây, 52°C trong 30 giây và 72°C trong 1 phút). Quá trình khuếch đại được hoàn tất ở 72°C trong 10 phút, sau đó sản phẩm PCR được bảo quản ở 10°C. Sản phẩm PCR sau khi khuếch đại được phân tích trình tự gen tại hãng 1st BASE

(Malaysia). Để phân tích phá hệ, trình tự DNA được so sánh với các trình tự đã có trong GenBank sử dụng giao diện tìm kiếm nucleotide-nucleotide BLAST của National Center for Biotechnology Information, Bethesda, USA (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) (Altschul *et al.*, 1997). Những trình tự gần nhất được xử lý bằng BioEdit (Hall, 1999) và sử dụng Muscle (Edgar, 2004) có trong chương trình MEGA (Tamura *et al.*, 2011) để so sánh sắp xếp. Cây phát sinh chủng loại được xây dựng dựa trên sự biến đổi về khoảng cách sai khác trình tự theo Kimura (1980), sử dụng phương pháp neighbour-joining (Saitou & Nei, 1987) trong MEGA. Chương trình phân tích được thực hiện từ 1.000 dữ liệu lấy ngẫu nhiên (Felsenstein, 1985).

- Phương pháp xử lý số liệu: Số liệu được xử lý bằng phần mềm GenStat 12.1 để phân tích sự sai khác về các chỉ tiêu thống kê.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Triệu chứng của bệnh đốm lá, loét thân cây con bạch đàn

Triệu chứng điển hình của bệnh đốm lá, loét thân trên cây bạch đàn ở giai đoạn vườn ươm là trên thân cây bị bệnh có những vết loét, vết lõm ở phần vỏ cây. Vỏ cây ở xung quanh vị trí vết bệnh thường bị đổi sang màu nâu đen (Hình 1b). Những cây bị bệnh thường có hiện tượng héo lá từ trên ngọn xuống, sau đó làm cây chết. Ngoài ra, các lá của cây bị bệnh có các đốm nâu và lan rộng nhanh. Bệnh đốm lá, loét thân gây hại cây bạch đàn trong suốt giai đoạn gieo ươm nhưng khi cây còn non rất dễ nhầm với bệnh thối cổ rễ hoặc thối nhũn (Hình 1a), bệnh biểu hiện rõ khi cây từ giai đoạn 3 tháng tuổi đến khi xuất vườn.



Hình 1. Cây con bạch đàn bị bệnh: **a.** luống cây bị bệnh; **b.** cây con 3 tháng tuổi bị bệnh

(Nguồn: Trần Xuân Hình, 2017)

3.2. Mức độ gây bệnh của các chủng nấm

Từ các mẫu cây con bị bệnh đã phân lập và thuần khiết được 10 chủng nấm, kết quả kiểm tra tính gây bệnh thông qua gây bệnh nhân tạo

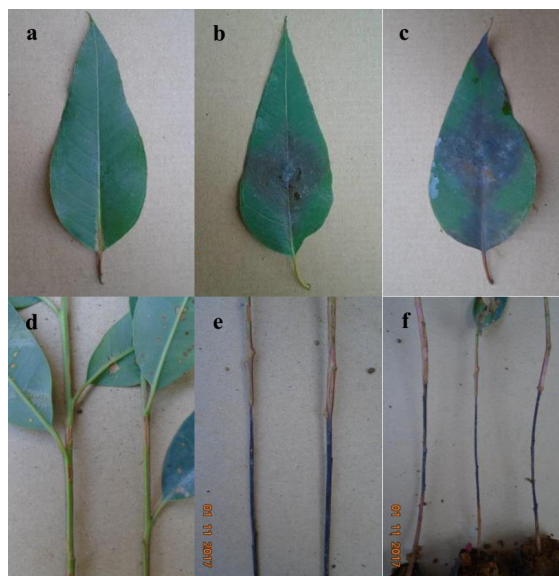
trên cây con và trên lá tương đồng. Kết quả đánh giá mức độ gây bệnh của các chủng nấm được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Mức độ gây bệnh của các chủng nấm
(Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng, tháng 8 - 11/2017)

TT	Chủng nấm	Chiều dài vết bệnh trên cây (cm)	Diện tích vết bệnh trên lá (cm ²)	Mức độ gây bệnh
1	TN1	5,75 ^b	5,75 ^b	Trung bình
2	TN2	5,18 ^b	5,21 ^b	Trung bình
3	TN3	10,27 ^c	10,90 ^c	Mạnh
4	PN1	6,81 ^b	6,96 ^b	Trung bình
5	PN2	5,12 ^b	5,09 ^b	Trung bình
6	PN3	16,18 ^d	16,29 ^d	Rất mạnh
7	PN4	15,02 ^d	15,12 ^d	Rất mạnh
8	PN5	10,33 ^c	10,41 ^c	Mạnh
9	PN6	11,41 ^c	11,48 ^c	Mạnh
10	PN7	4,12 ^a	4,16 ^a	Yếu
11	ĐC (PDA)	0,00 ^a	0,00 ^a	Không gây bệnh
	Lsd	1,85	1,86	
	Fpr	< 0,001	< 0,001	

Kết quả nêu ở bảng 1 cho thấy mức độ gây bệnh của từng chủng nấm khi gây bệnh nhân tạo trên cây con và trên lá tương đồng nhau. Tuy nhiên, 10 chủng nấm có khả năng gây bệnh rất khác nhau và được chia thành 4 nhóm, bao gồm: gây bệnh yếu (1 chủng),

gây bệnh trung bình (4 chủng), gây bệnh mạnh (3 chủng) và gây bệnh rất mạnh (2 chủng). Trong số này có hai chủng gây bệnh rất mạnh là PN3 và PN4 khi gây bệnh nhân tạo cả ở trên cây và trên lá.



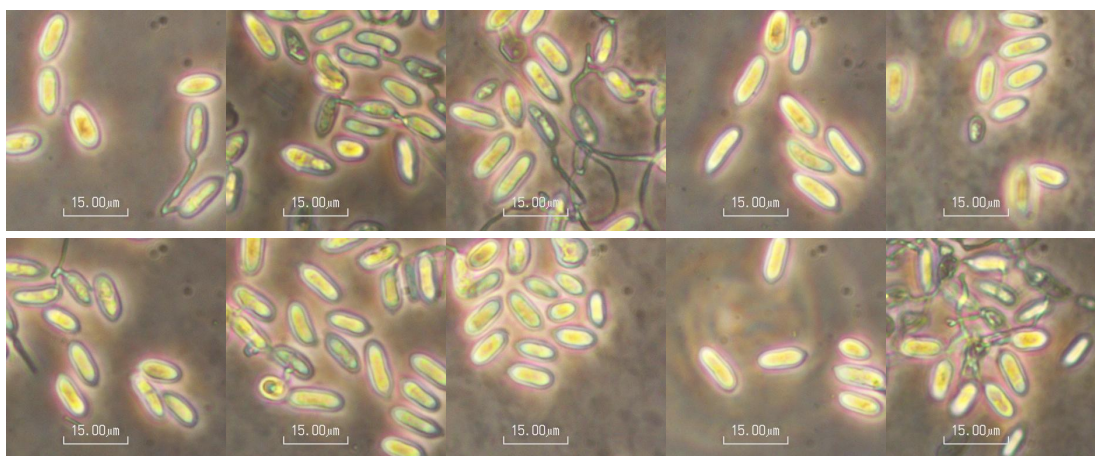
Hình 2. Vết bệnh trên lá và trên thân cây sau khi gây bệnh nhân tạo:
a. lá đối chứng; **b.** gây bệnh mạnh trên lá (PN6); **c.** gây bệnh rất mạnh trên lá (PN3);
d. gây bệnh yếu trên thân cây (PN7); **e.** gây bệnh mạnh trên thân cây (PN6);
f. gây bệnh rất mạnh trên thân cây (PN4)

(Nguồn: Nông Phương Nhung, 2017)

3.3. Kết quả định danh nấm gây bệnh

Qua theo dõi đặc điểm của các chủng nấm gây bệnh cho thấy chúng có thể quả hình cầu hoặc gần cầu, màu nâu đen và xuất hiện nhiều trên các vết bệnh, thể quả chủ yếu nằm sâu trong phần mô của vỏ hoặc lá, có trường hợp thể quả nổi ngay trên bề mặt, rất dễ quan sát được

bằng kính lúp ngay tại hiện trường. Quan sát trên kính hiển vi quang học, bào tử vô tính hình hạt gạo không màu hoặc màu vàng nhạt (Hình 3), có một đầu tròn và một đầu hơi nhọn. Bào tử vô tính có chiều dài từ 10 đến 25 μ m, chiều rộng từ 5 đến 9 μ m.



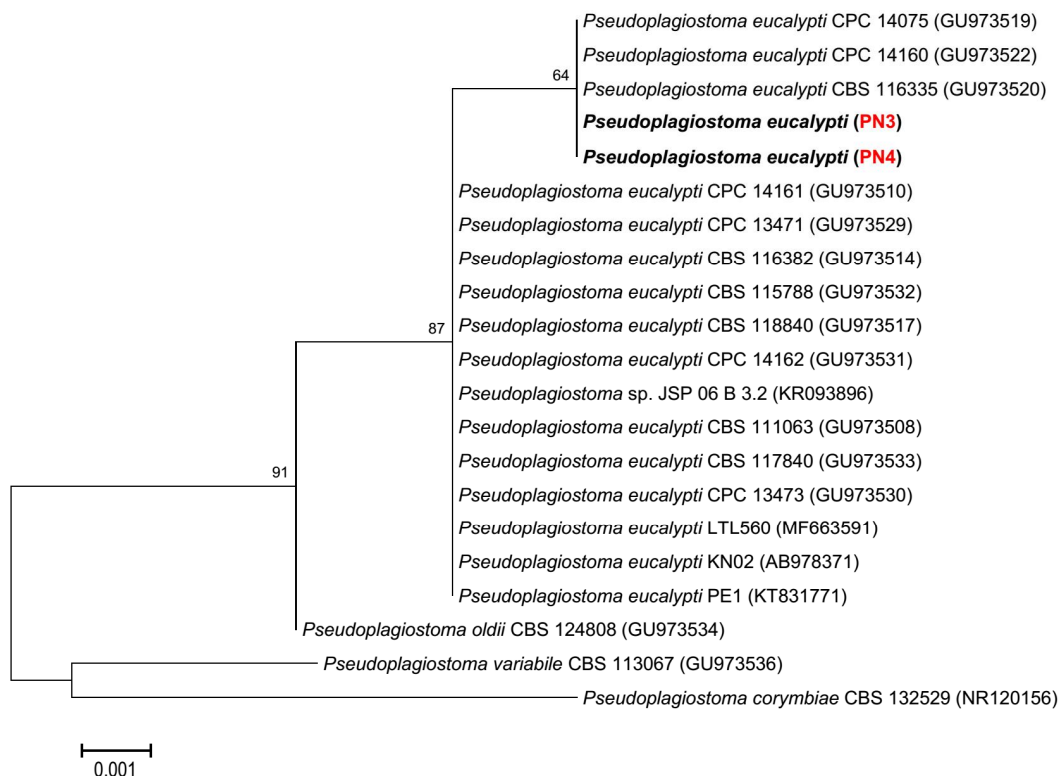
Hình 3. Bào tử nấm gây bệnh: thứ tự tương ứng từ trái qua phải và từ trên xuống dưới gồm các chủng TN1, TN2, TN3, PN1, PN2, PN3, PN4, PN5, PN6 và PN7

(Nguồn: Nguyễn Minh Chí, 2017)

Trình tự đoạn gen ITS của 2 chủng nấm gây bệnh rất mạnh PN3 và PN4 được so sánh với các trình tự tham chiếu thuộc loài *Pseudoplagiostoma eucalypti* được tải về từ cơ sở dữ liệu ngân hàng gen (NCBI GenBank). Cây phả hệ được xây dựng dựa trên sự khác biệt trong trình tự ITS sử dụng phần mềm MEGA 7 (Hình 4). Giá trị bootstrap bằng hoặc lớn hơn 50% thu nhận từ 1.000 lần gieo được thể hiện. Mã số

GenBank của các trình tự được đưa ra sau tên loài và chủng. Thanh chèn tương ứng 0,1% khác biệt trình tự tương ứng.

Đoạn gen ITS của các chủng nấm gây bệnh được so sánh với các trình tự tham chiếu từ ngân hàng gen đã xác định 2 chủng nấm PN3 và PN4 tương đồng 99,5% với loài *Pseudoplagiostoma eucalypti* (Hình 4).



Hình 4. Cây phả hệ thể hiện mối quan hệ của nhóm *Pseudoplagiostoma* dựa trên sự khác biệt trong trình tự ITS

IV. THẢO LUẬN

Mỗi ITS đã được dùng để giải mã trình tự đoạn gen rDNA-ITS của các chủng nấm *Pseudoplagiostoma eucalypti* gây bệnh bệnh đốm lá, khô cành ngọn bạch đàn ở Thái Lan, Australia, Malaysia, Trung Quốc, Đài Loan... (Cheewangkoon *et al.*, 2010; Lueangpraplut *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2016). So sánh trình tự đoạn gen ITS của hai chủng PN3 và PN4 với các trình tự tham chiếu GU973522 (Cheewangkoon *et al.*, 2010) và GU973519

(Lueangpraplut *et al.*, 2013) đã xác định chúng thuộc loài *Pseudoplagiostoma eucalypti*.

Nấm *P. eucalypti* gây bệnh bệnh đốm lá, khô cành ngọn bạch đàn rất phổ biến ở Thái Lan (Cheewangkoon *et al.*, 2010; Lueangpraplut *et al.*, 2013), chúng cũng gây bệnh đốm lá bạch đàn robusta ở Đài Loan (Wang *et al.*, 2016). Các chủng nấm gây bệnh đốm lá, loét thân cây con bạch đàn trong nghiên cứu này cũng có đặc điểm và kích thước bào tử tương tự như các chủng nấm *P. eucalypti* gây bệnh

đốm lá, khô cành ngọn bạch đàn ở Thái Lan, Australia, Malaysia, Trung Quốc, Đài Loan đã được Cheewangkoon và đồng tác giả (2010), Lueangpraplut và đồng tác giả (2013), Wang và đồng tác giả (2016) mô tả. Nghiên cứu này đã xác định nấm *P. eucalypti* gây bệnh trên cây con ở giai đoạn vườn ươm. Triệu chứng điển hình của bệnh do nấm *P. eucalypti* trên cây bạch đàn ở giai đoạn vườn ươm là trên thân cây bị bệnh có những vết loét, thâm hoặc vết lõm ở phần vỏ cây. Lá cây bị bệnh có các đốm nâu và lan rộng nhanh. Cây bị bệnh thường có hiện tượng héo lá từ trên ngọn xuống và gây hại cây bạch đàn trong suốt giai đoạn gieo ươm. Các nghiên cứu trước đây đã ghi nhận bệnh đốm lá, khô ngọn rừng trồng các loài bạch đàn phổ biến ở Việt Nam nhưng nguyên nhân gây bệnh được xác định do nấm *Cylindrocladium quinquesepatum* và *Cryptosporiopsis eucalypti* (Phạm Quang Thu, 2016).

Kết quả gây bệnh nhân tạo đã xác định *P. eucalypti* có gây bệnh trên lá và trên cây bạch đàn dòng CT3. Loài nấm này đã được xác định là nguyên nhân gây bệnh đốm lá bạch đàn ở Thái Lan (Cheewangkoon *et al.*, 2010), ở Đài Loan (Wang *et al.*, 2016) và gây bệnh đốm lá, khô ngọn rừng trồng bạch đàn ở Thái Lan

(Lueangpraplut *et al.*, 2013). Nghiên cứu này lần đầu ghi nhận nấm *P. eucalypti* gây bệnh loét thân và đốm lá cây bạch đàn ở giai đoạn vườn ươm ở Phú Thọ, Việt Nam. Đây cũng chính là tác nhân gây bệnh nghiêm trọng rừng trồng bạch đàn ở Thái Lan, do vậy rất cần nghiên cứu giải pháp quản lý hiệu quả loài nấm gây bệnh này, hạn chế sự lây lan trên diện rộng, đặc biệt là trên rừng trồng ở Việt Nam.

V. KẾT LUẬN

Lần đầu tiên ghi nhận và thu thập các mẫu nấm *Pseudoplagiostoma eucalypti* gây bệnh đốm lá, loét thân cây bạch đàn ở giai đoạn vườn ươm tại Phú Thọ, Việt Nam.

Triệu chứng của bệnh là trên thân cây bị bệnh có những vết loét, thâm hoặc vết lõm ở phần vỏ cây. Lá cây bị bệnh có các đốm nâu và lan rộng nhanh. Những cây bị bệnh thường có hiện tượng héo lá từ trên ngọn xuống, có thể làm cây chết.

Mức độ gây bệnh của các chủng nấm rất khác nhau theo **4 nhóm, gồm: gây bệnh yếu (1 chủng), gây bệnh trung bình (4 chủng), gây bệnh mạnh (3 chủng) và hai chủng (PN3, PN4) gây bệnh rất mạnh.**

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Altschul, S.F., Madden, T.L., Schaffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. & Lipman, D.J., 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, (25), pp. 3389 - 3402.
2. Cheewangkoon, R., Groenewald, J.Z., Verkley, G.J.M., Hyde, K.D., Wingfield, M.J., Gryzenhout, M... & Crous, P.W., 2010. Re-evaluation of *Cryptosporiopsis eucalypti* and *Cryptosporiopsis*-like species occurring on *Eucalyptus* leaves. *Fungal Diversity*, 44(1), 89 - 105.
3. Nguyễn Minh Chí và Phạm Quang Thu, 2016. Bệnh chết héo bạch đàn tại Việt Nam, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, (6), tr. 119 - 123.
4. Edgar, R.C., 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res*, (32), pp. 1792 - 1797.
5. Felsenstein, J., 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, (39), pp. 783 - 791.
6. Hall, T.A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.*, (41), pp. 95 - 98.

7. Kimura, M., 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol*, (16), pp. 111 - 120.
8. Liu, F.F., Mbenoun, M., Barnes, I., Roux, J., Wingfield, M.J., Li, G.Q., Li, J.Q. & Chen, S.F., 2015. New *Ceratocystis* species from *Eucalyptus* and *Cunninghamia* in South China. *Antonie van Leeuwenhoek*, 107(6), pp. 1451 - 1473.
9. Lueangpraplut, S., Unartngam, A. & Unartngam, J., 2013. Molecular identification of *Pseudoplagiostoma eucalypti* causing leaf spot and shoot blight diseases on eucalyptus in Thailand based on ITS rDNA sequence. *Journal of Agricultural Technology*, 9(1), 165 - 175.
10. Roux, J., Wingfield, M.J., Bouillett, J.P., Wingfield, B.D. & Alfenas, A.C., 2000. A serious new disease of *Eucalyptus* caused by *Ceratocystis fimbriata* in Central Africa, *Forest Pathology*, (30), pp. 175 - 184.
11. Saitou, N. and Nei M., 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, (4), pp. 406 - 425.
12. Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. & Kumar, S., 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol*, (28), pp. 2731 - 2739.
13. Phạm Quang Thu, 2016. Kết quả nghiên cứu thành phần sâu, bệnh hại một số loài cây trồng rừng chính tại Việt Nam, *Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp*, (1), tr. 4257 - 4264.
14. Van Wyk, M., Wingfield, B.D. & Wingfield, M.J., 2011. Four new *Ceratocystis* spp. associated with wounds on *Eucalyptus*, *Schizolobium* and *Terminalia* trees in Ecuador. *Fungal Diversity*, 46, pp. 111 - 131.
15. Wang, C.L., Yang, S.W. & Chiang, C.Y., 2016. The First Report of Leaf Spot of *Eucalyptus robusta* Caused by *Pseudoplagiostoma eucalypti* in Taiwan. *Plant Disease*, 100(7), 1504 - 1504.

Email của tác giả chính: nhung.np@vafs.gov.vn

Ngày nhận bài: 19/01/2018

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 22/01/2018

Ngày duyệt đăng: 25/01/2018