

# NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN NẤM *Colletotrichum* spp. GÂY BỆNH THÁN THƯ ỚT TẠI MỘT SỐ TỈNH ĐÔNG NAM BỘ VÀ TÂY NGUYÊN

Võ Thị Ngọc Hà\*, Huỳnh Thường Vương, Huỳnh Thanh Hùng

Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh

\*Tác giả liên hệ: ha.vothingoc@hcmuaf.edu.vn

Nhận bài: 30/06/2025 Hoàn thành phản biện: 03/08/2025 Chấp nhận bài: 15/08/2025

## TÓM TẮT

Trong các bệnh hại nghiêm trọng trên cây ớt, bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum* spp. gây ra được xem là bệnh hại phổ biến có giá trị kinh tế quan trọng. Trong nghiên cứu này 32 mẫu nấm *Colletotrichum* spp. được khôi phục sau quá trình lưu trữ, sau đó đánh giá độc lực thông qua khả năng gây bệnh trên ớt chỉ thiên F1 Santa nhằm xác định các mẫu nấm vẫn có khả năng gây bệnh trong quá trình lưu trữ, và khảo sát đa dạng hình thái và di truyền dựa trên trình tự ISSR. Kết quả cho thấy 32 mẫu nấm *Colletotrichum* spp. giữ nguyên độc lực sau thời gian lưu trữ, gây bệnh trên ớt chỉ thiên F1 Santa với tỷ lệ bệnh dao động từ 11,1% đến 94,4% và chỉ số bệnh từ 3,7% đến 47,5%. Các mẫu nấm *Colletotrichum* spp. được chia thành ba nhóm đa dạng hình thái dựa trên đặc điểm khuẩn lạc, hình thái bào tử và hình thái giác bám. Dựa trên 8 môi trường ISSR các mẫu nấm này được chia làm 5 nhóm với hệ số tương đồng di truyền biến động từ 0,49 đến 0,87, có sự đa dạng tương đối lớn, có tương quan với đặc điểm hình thái và vị trí địa lý nơi thu thập mẫu bệnh.

**Từ khóa:** Bệnh thán thư ớt, *Colletotrichum* spp., Đa dạng di truyền, Hình thái, ISSR

## GENETIC DIVERSITY OF *Colletotrichum* spp. CAUSING CHILI ANTHRACNOSE IN THE SOUTHERN PROVINCES AND CENTRAL HIGHLANDS

Võ Thị Ngọc Hà\*, Huỳnh Thường Vương, Huỳnh Thanh Hùng

Nong Lam University of Ho Chi Minh City

\*Corresponding author: ha.vothingoc@hcmuaf.edu.vn

Received: 30/06/2025

Revised: 03/08/2025

Accepted: 15/08/2025

## ABSTRACT

Among the serious plant diseases affecting chili plants, anthracnose disease, caused by *Colletotrichum*, is one of the most economically important diseases. In this study, 32 *Colletotrichum* spp. isolates were revived and subsequently evaluated for virulence on F1 Santa chili plants to confirm the pathogenicity of the fungi after the storage period. Morphological and genetic diversity were assessed based on colony characteristics, spore and appressoria morphology, and ISSR molecular markers. The results showed that all 32 *Colletotrichum* spp. isolates retained their virulence after storage, causing disease incidence on F1 Santa chili, ranging from 11.1% to 94.4%, and disease severity indices from 3.7% to 47.5%. The isolates were classified into three morphological groups based on colony traits, spore shape, and appressoria morphology. Using eight ISSR primers, the isolates were further divided into five genetic groups, with genetic similarity coefficients ranging from 0.49 to 0.87, indicating a relatively high level of genetic diversity. This diversity showed correlations with both the morphological characteristics and the geographical origin of the isolates.

**Keywords:** Chili anthracnose, *Colletotrichum* spp., Genetic diversity, Morphology, ISSR

## 1. MỞ ĐẦU

Trong số các bệnh hại nghiêm trọng trên cây ớt, bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum* gây ra được xem là phổ biến và gây giảm năng suất thương mại từ 10% đến 80% ở các nước trồng ớt, ảnh hưởng đến giá trị kinh tế của cây ớt (Zhang và cs., 2024; Than và cs., 2008). Đến nay, nguyên nhân gây bệnh thán thư trên ớt được chứng minh có liên quan ít nhất đến 13 loài *Colletotrichum*, trong khi đó tại Việt Nam đã có ít nhất 7 loài là *C. acutatum*, *C. capsici*, *C. gloeosporioides sensu stricto*, *C. nigrum*, *C. fructicola*, *C. siamense*, *C. aescnomenes* được ghi nhận gây bệnh thán thư ở các vùng trồng ớt trên toàn quốc (Nguyễn Duy Hưng và cs., 2018). Các nghiên cứu chỉ ra rằng, *C. gloeosporioides* và *C. acutatum* thực chất là phức hợp loài, trong đó *C. gloeosporioides* gồm ít nhất 22 loài khác nhau và *C. acutatum* gồm ít nhất 31 loài khác nhau (Weir và cs., 2012).

Các chỉ thị phân tử như SSR, RAPD, AFLP, ISSR được sử dụng rộng rãi trong đánh giá đa dạng di truyền nấm gây bệnh thán thư trên ớt (Prittesh và cs., 2018; Farshid và cs., 2013), cũng như chọn tạo các dòng ớt có tính kháng với tác nhân gây bệnh (Ly và cs., 2020). Trong các loại chỉ thị, ISSR đang được ứng dụng rộng rãi hơn nhờ ưu thế cho sản phẩm PCR ổn định do đoạn mồi dài hơn và tỷ lệ phần trăm băng đa hình cao hơn so với các chỉ thị khác như SSR, RAPD (Blair và cs., 1999). Dựa trên chỉ thị ISSR, nấm *C. falcatum* gây bệnh thán thư trên ớt được xác định có mức độ đa dạng di truyền tương đối cao với hệ số tương đồng từ 0,73 đến 0,93 (Prittesh và cs., 2018), tương tự *C. truncatum* cũng có mức độ đa dạng cao (Farshid và cs., 2013).

Trong khi đó, tại Việt Nam các nghiên cứu về đa dạng di truyền nấm gây bệnh thán thư trên ớt còn hạn chế, các nghiên cứu chủ yếu dừng lại ở mức xác định

loài (Nguyễn Duy Hưng và cs., 2018). Hơn nữa, sự đa dạng di truyền trong quần thể nấm gây bệnh có thể dẫn đến sự khác biệt về độc lực và mức độ kháng thuốc, từ đó làm giảm hiệu quả của các biện pháp quản lý bệnh, đặc biệt là sử dụng thuốc hóa học. Trong bối cảnh dịch hại ngày càng phức tạp do biến đổi khí hậu và canh tác thâm canh, việc nghiên cứu đa dạng di truyền của tác nhân gây bệnh trở nên đặc biệt cấp thiết. Nghiên cứu này đã đánh giá sự đa dạng di truyền quần thể nấm *Colletotrichum* spp. gây bệnh thán thư ớt tại khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên dựa trên chỉ thị ISSR nhằm có những đánh giá ban đầu về tác nhân gây bệnh thán thư ớt và khuyến cáo trong quản lý bệnh.

## 2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Tổng số 33 nấm *Colletotrichum* spp. gây bệnh thán thư ớt đã được phân lập năm 2022, định danh và lưu trữ trong glycerin 50% ở âm 40°C tại phòng thí nghiệm bộ môn Bảo vệ Thực Vật, khoa Nông học, trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh, gồm 17 mẫu từ Lâm Đồng (ớt sừng) LD01, LD02, LD03, LD04, LD05, LD06, LD07, LD08, LD09, LD10, LD11, LD12, LD13, LD14, LD15, LD16, LD17; 10 mẫu từ Tây Ninh (ớt chỉ thiên) TN01, TN02, TN03, TN04, TN05, TN09, TN10, TN11, TN13; 6 mẫu từ Bà Rịa – Vũng Tàu (ớt chỉ thiên) BR01, BR02, BR03, BR04, BR05 và BR06. Theo dữ liệu chưa công bố, tất cả các mẫu nấm đều thuộc loài *Colletotrichum scovillei*.

Các trang thiết bị gồm: cân điện tử, bếp điện, đĩa petri, tủ cấy vi sinh, kính hiển vi, máy hấp khử trùng, lò vi sóng, máy lắc Vortex, máy ly tâm, máy PCR, hệ thống chụp gel UV, tủ âm 20 °C, máy điện di, eppendorf 1,5 mL; 0,2 mL, đầu tuýp, micropipet, lam kính, lame.

Hóa chất thí nghiệm: Bộ kit ly trích DNA của công ty Trách nhiệm hữu hạn ABT, Mytaq Mix 2 X, nước cất, DNA, primer ISSR, Agarose 1,5%, TAE 1 X, 6 X Gelred DNA Loading buffer tricolor, Ladder 1 Kb. Môi trường PDA có thành phần cho 1 L gồm khoai tây (200 g), agar (20 g), đường D-glucose (20 g), nước cất (1000 mL).

## 2.2. Khảo sát độc lực của các mẫu nấm *Colletotrichum* spp. với ớt chỉ thiên

Các mẫu nấm *Colletotrichum* spp. được khôi phục sau quá trình lưu trữ và đánh giá độc lực trên ớt chỉ thiên F1 Santa, là giống trồng phổ biến tại khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên theo phương pháp của (Montri và cs., 2009). Sử dụng các trái ớt không có triệu chứng bị bệnh bên ngoài, không bị côn trùng chích hút và vết thương cơ giới, đồng đều với nhau về kích thước, hình dạng, màu sắc được xử lý bằng cồn 70° và rửa bằng nước sạch, để khô tự nhiên. Các mẫu nấm *Colletotrichum* spp. được nuôi cấy trên môi trường PDA 10 ngày, cạo bào tử và đưa về mật số  $10^6$  bào tử/mL, nhỏ trực tiếp 20  $\mu$ L lên bông gòn và đặt trên bề mặt quả ớt ở điều kiện gây vết thương (1 vết thương trên 1 quả) và không gây vết thương và đặt vào các hộp nhựa, sau 24 giờ, gỡ bông gòn ra và duy trì hộp ở điều kiện nhiệt độ  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ . Quả ớt đối chứng được xử lý bằng nước cất vô trùng. Mỗi mẫu nấm được lây nhiễm 5 lần lặp lại, với mỗi lần lặp lại là 10 quả ớt, tổng số quả ớt của 1 mẫu nấm là 50 quả ớt. Quan sát biểu hiện triệu chứng sau khi lây bệnh. Thời gian xuất hiện triệu chứng được tính từ khi lây nhiễm đến khi có triệu chứng xuất hiện trên quả. Tính tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh sau 6 ngày gây bệnh theo QCVN 01-160:2014/BNNPTNT.

Tỉ lệ bệnh (%) = (Số quả bị bệnh/Tổng số quả thí nghiệm ở cả hai điều kiện có và không gây vết thương)  $\times$  100, Chỉ số bệnh (%) =  $((9n_9 + 7n_7 + 5n_5 + 3n_3 + n_1)/9N) \times 100$ , Trong đó:  $n_1$  là số quả bị bệnh ở cấp 1 với  $\leq 5\%$  diện tích quả bị bệnh,  $n_3$  là số quả bị bệnh ở cấp 3 với  $> 5 - 15\%$  diện tích quả bị bệnh,  $n_5$  là số quả bị bệnh ở cấp 5 với  $> 15 - 25\%$  diện tích quả bị bệnh,  $n_7$  là số quả bị bệnh ở cấp 7 với  $> 25 - 50\%$  diện tích quả bị bệnh,  $n_9$  là số quả bị bệnh ở cấp 9 với  $> 50\%$  diện tích quả bị bệnh, N: tổng số quả điều tra theo.

## 2.3. Phân tích đa dạng di truyền nấm *Colletotrichum* spp.

Các mẫu nấm *Colletotrichum* spp. được nuôi trên môi trường dinh dưỡng PDA trong 10 ngày và tách chiết DNA bằng bộ kit QIAamp DNA Micro kit (Qiagen, Đức) và kiểm tra chất lượng DNA đảm bảo OD<sub>260/280</sub> từ 1,7 đến 2 trên máy NanoVue plus (Bichochrom, USA). Sau đó thực hiện phản ứng PCR với từng mẫu ISSR (Bảng 2.1) với chu trình nhiệt: (1) Tiền biến tính ở  $95^\circ\text{C}$ , 5 phút, (2) 30 chu kỳ gồm: biến tính ở  $95^\circ\text{C}$ , 30 giây; bắt cặp  $50 - 57^\circ\text{C}$  (tùy thuộc các mẫu sử dụng tại bảng 2.1), 1 phút; kéo dài  $72^\circ\text{C}$ , 45 giây, (3) hậu kéo dài  $72^\circ\text{C}$ , 10 phút trong Bộ 'iCycler' Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories Inc., Hoa Kỳ). Mỗi phản ứng có thể tích 25  $\mu$ L, gồm 11  $\mu$ L nước tinh khiết, 2  $\mu$ L DNA tổng số (1 ng/ $\mu$ L), 2  $\mu$ L môi (0,2  $\mu$ M) (Apical Scientific, Malaysia), và 10  $\mu$ L DreamTaq Red PCR MasterMix (2 X) (Thermo Scientific Inc., Hoa Kỳ). Sản phẩm PCR sau đó được điện di trên gel agarose 1,5% trong dung dịch đệm TAE 1 X, cường độ dòng điện 400 mA, hiệu điện thế 90 V, thời gian 40 phút, kích thước các đoạn khuếch đại mục tiêu của các mẫu từ 100 - 2500 bp.

**Bảng 1.** Danh sách các môi ISSR và nhiệt độ bắt cặp được sử dụng

Môi	Trình tự (5' – 3')	Tài liệu tham khảo	Nhiệt độ bắt cặp (°C)
AF80820	(AG) <sub>8</sub> T		50,0
AF80821	(AG) <sub>8</sub> C	Ratanacherdchai và cs. (2010)	52,5
AF80822	(GA) <sub>8</sub> T		50,0
AF80823	(TG) <sub>8</sub> A		50,0
AF80825	(GT) <sub>8</sub> YC		54,0
UBC808	(AG) <sub>8</sub> C	Mahmodi và cs. (2013)	52,5
UBC810	(GA) <sub>8</sub> (CT)C		50,0
UBC834	(AG) <sub>8</sub> TT		51,5

Kích thước của các đoạn DNA khuếch đại được đo bằng cách sử dụng UVIDod (phiên bản 99.02), so sánh với thang chuẩn 1 kb (Thermo Scientific, Hoa Kỳ). Các đoạn DNA được khuếch đại ổn định được cho điểm là 1 khi có mặt và 0 nếu không có dải DNA, và ghi nhận cho từng mẫu nấm để ma trận dữ liệu nhằm phân tích mối quan hệ di truyền bằng việc phân nhóm dựa trên các thuộc tính hay mối quan hệ chung của cá thể thông qua việc sử dụng hệ số tương đồng. Hệ số tương đồng di truyền và khoảng cách di truyền được tính theo công thức hệ số Dice và hệ số Jaccard (Rohlf, 2000). Sơ đồ hình cây được thiết lập dựa trên phương pháp phân nhóm UPGMA theo tương đồng di truyền (Jaccards/Dice), sử dụng phần mềm NTSYSpc 2.1 (Rohlf, 2000).

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Khả năng gây bệnh của nấm *Colletotrichum* spp. trên ớt chỉ thiên

Các mẫu *Colletotrichum* spp. sau khi khô phục từ điều kiện bảo quản vẫn giữ độc tính, gây ra các triệu chứng điển hình của bệnh thán thư trên quả ớt, trong đó tỷ lệ bệnh khi lây nhiễm không gây vết thương thấp hơn khi lây nhiễm có gây vết thương, điều này khẳng định đặc tính bán ký sinh điển hình của *Colletotrichum*.

Các mẫu *Colletotrichum* spp. thể hiện khả năng gây bệnh khác nhau với tỷ lệ bệnh dao động từ 11,1 đến 94,4% và chỉ số bệnh từ 3,7 đến 47,5% (Bảng 2). Điều kiện bảo quản có thể ảnh hưởng, làm giảm độc lực của một số chủng nấm *Colletotrichum*, làm giảm khả năng gây bệnh, do vậy tỷ lệ bệnh giữa một số chủng có sự khác biệt rất rõ rệt TN03 rất mạnh (94,4%) và TN09 rất yếu (11,1%). Sau 6 ngày lây bệnh, ghi nhận trên vị trí lây nhiễm có 2 dạng vết loét điển hình màu đen (Hình 1A) và màu vàng nâu (Hình 1B). Dạng vết loét màu đen xuất hiện từ các đốm đen nhỏ, theo thời gian lan rộng ra thành các vết bệnh lớn, mô bệnh không có ranh giới rõ rệt với mô khỏe, vùng bị bệnh biểu bì chuyển dần sang màu nâu đen, thịt quả nhăn lại, khô và hóp xuống (Hình 1A), trên vết bệnh có nhiều chấm nhỏ li ti màu đen với kích thước không đều nhau xếp thành vòng tròn đồng tâm hoặc xếp lộn xộn. Dạng vết loét màu vàng nâu bắt đầu từ các chấm nhỏ màu nâu nhạt, sau chuyển sang màu nâu cam hoặc vàng nâu, có nhiều khối bào tử ẩm ướt màu vàng xin, xung quanh vết bệnh lõm xuống và thường có đường viền màu đen lan rộng và không đều nhau (Hình 1B).



**Hình 1.** Triệu chứng bệnh do nấm *Colletotrichum* spp. trên quả ớt chỉ thiên.

A) triệu chứng vết bệnh màu nâu đen, B) triệu chứng vết bệnh màu vàng nâu

Theo Than và cs. (2008) các triệu chứng điển hình của quả là các vết bệnh thường có hình tròn hoặc hơi tròn lõm xuống xuất hiện những chấm nhỏ màu đen xếp thành những vòng tròn đồng tâm bên trong màu vàng cam hoặc nâu đen. Khi

bệnh nặng, các vết bệnh liên kết với nhau. Khối bào tử cũng có thể xuất hiện rải rác hoặc thành vòng tròn đồng tâm trên vết bệnh. Như vậy các mẫu nấm *Colletotrichum* spp. vẫn duy trì độc lực trên ớt chỉ thiên sau quá trình lưu trữ.

**Bảng 2.** Tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh của nấm *Colletotrichum* spp. trên quả ớt ở 6 ngày sau chủng

Chủng nấm	Nguồn gốc phân lập	Chỉ tiêu theo dõi	
		Tỷ lệ bệnh (%)	Chỉ số bệnh (%)
TN03	Tây Ninh	94,4 <sup>a</sup>	47,5 <sup>a</sup>
LD07	Lâm Đồng	77,8 <sup>b-e</sup>	33,3 <sup>b</sup>
LD17	Lâm Đồng	88,9 <sup>ab</sup>	29,0 <sup>bc</sup>
TN13	Tây Ninh	83,3 <sup>abc</sup>	29,0 <sup>bc</sup>
TN11	Tây Ninh	55,6 <sup>c-g</sup>	27,8 <sup>bcd</sup>
BR04	Bà Rịa – Vũng Tàu	72,2 <sup>b-f</sup>	27,2 <sup>bcd</sup>
LD06	Lâm Đồng	72,2 <sup>b-f</sup>	26,5 <sup>bcd</sup>
TN04	Tây Ninh	72,2 <sup>b-f</sup>	26,5 <sup>bcd</sup>
TN10	Tây Ninh	77,8 <sup>b-e</sup>	23,5 <sup>b-e</sup>
LD09	Lâm Đồng	61,1 <sup>c-g</sup>	22,2 <sup>b-f</sup>
LD05	Lâm Đồng	77,8 <sup>b-e</sup>	21,6 <sup>b-f</sup>
BR01	Bà Rịa – Vũng Tàu	72,2 <sup>b-f</sup>	21,6 <sup>b-f</sup>
LD08	Lâm Đồng	61,1 <sup>c-g</sup>	21,0 <sup>b-f</sup>
LD16	Lâm Đồng	55,6 <sup>c-g</sup>	19,8 <sup>c-g</sup>
LD10	Lâm Đồng	72,2 <sup>b-e</sup>	19,1 <sup>c-g</sup>
TN02	Tây Ninh	44,4 <sup>d-g</sup>	19,1 <sup>c-g</sup>
TN05	Tây Ninh	33,3 <sup>f-h</sup>	19,1 <sup>c-h</sup>
LD01	Lâm Đồng	55,6 <sup>c-g</sup>	18,5 <sup>c-h</sup>
BR03	Bà Rịa – Vũng Tàu	77,8 <sup>b-e</sup>	17,9 <sup>c-h</sup>
TN01	Tây Ninh	55,6 <sup>c-g</sup>	17,3 <sup>c-h</sup>
LD11	Lâm Đồng	44,4 <sup>d-g</sup>	17,3 <sup>d-h</sup>
BR02	Bà Rịa – Vũng Tàu	61,1 <sup>c-g</sup>	16,7 <sup>c-h</sup>
LD04	Lâm Đồng	38,9 <sup>e-h</sup>	16,7 <sup>c-h</sup>
LD13	Lâm Đồng	27,8 <sup>gh</sup>	15,4 <sup>d-i</sup>
LD03	Lâm Đồng	38,9 <sup>e-h</sup>	13,0 <sup>e-i</sup>
BR06	Bà Rịa – Vũng Tàu	27,8 <sup>gh</sup>	11,7 <sup>f-i</sup>

LD02	Lâm Đồng	44,4 <sup>d-g</sup>	11,1 <sup>f-i</sup>
LD12	Lâm Đồng	44,4 <sup>d-g</sup>	9,9 <sup>f-i</sup>
BR05	Bà Rịa – Vũng Tàu	22,2 <sup>h</sup>	9,9 <sup>ghi</sup>
LD15	Lâm Đồng	22,2 <sup>h</sup>	8,6 <sup>hi</sup>
LD14	Lâm Đồng	22,2 <sup>h</sup>	7,4 <sup>ij</sup>
TN09	Tây Ninh	11,1 <sup>hi</sup>	3,7 <sup>j</sup>
Đối chứng		0 <sup>i</sup>	0 <sup>k</sup>
CV (%)		20,0	13,6

Trong cùng một cột, các giá trị có cùng kí tự theo sau thì sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 0,01. Các giá trị sai khác được phân tích theo phép thử Duncan. Các giá trị cột tỉ lệ bệnh và chỉ số bệnh đã được biến đổi dưới dạng Arcsin. Các giá trị trên bảng là giá trị trung bình góc.

### 3.2. Đa dạng hình thái của các mẫu nấm *Colletotrichum* spp.

Dựa trên các đặc điểm hình thái nấm *Colletotrichum* spp. nuôi cấy trên môi trường PDA, và so sánh với khóa phân loại của Suntton (1995), 32 mẫu nấm được chia thành 3 nhóm chính dựa vào đặc điểm khuẩn lạc, hình dạng bào tử và hình dạng giác bám như sau:

Nhóm I gồm 17 mẫu nấm *Colletotrichum* spp.: LD01, LD02, LD03, LD04, LD05, LD06, LD07, LD08, LD09, LD10, LD11, LD12, LD13, TN01, TN02, BR02 và BR05. Sợi nấm mảnh, màu trắng, mọc sát mặt thạch, đơn bào, trong suốt và

phân nhánh, có vách ngăn, trong mỗi tế bào của sợi nấm có nhiều hạt dầu. Tán nấm màu trắng đến trắng xám, mép tròn đều hoặc hơi tròn. Mặt trên đĩa nấm có những chấm nhỏ màu đen, có những đường tròn đồng tâm ở trung tâm và nhạt dần ra vòng ngoài (Hình 2A nhóm I). Mặt dưới của đĩa nấm màu hồng cam hoặc hơi vàng, các chấm nhỏ màu đen và đậm dần gần tâm đĩa (Hình 2B nhóm I). Bào tử đơn bào, không màu, tế bào có dạng hình trụ, bên trong có giọt dầu hình tròn không màu, xuất hiện từ ngày thứ 3 sau cấy trên môi trường PDA với mật độ thấp (Hình 2C nhóm I). Giác bám có dạng hình trứng, hơi tròn hay hình dạng không xác định, có màu nâu hoặc đen (Hình 2D nhóm I).



**Hình 2.** Đặc điểm hình thái của các nhóm A&B) mặt trước và mặt sau đĩa nấm *Colletotrichum* spp. mọc trên môi trường PDA 7 NSC, C) hình dạng bào tử, D) hình dạng giác bám quan sát ở vật kính 40X.

*Colletotrichum* spp. bao gồm TN03, TN04, TN05, TN09, TN10, TN11, TN13, LD14, LD15, LD16 và LD17. Sợi nấm mảnh, màu xám nhạt, mọc bung trên bề mặt thạch. Tán nấm xám hoặc xám trắng, mép tròn đều. Mặt trên đĩa nấm có những vòng tròn đồng tâm (Hình 2A nhóm II). Mặt sau đĩa nấm màu xám nhạt hơi ngả vàng, có những vòng tròn đồng tâm, có những đốm đen nhỏ ngoài rìa (Hình 2B nhóm II). Bào tử dạng hình trụ, hai đầu tù hoặc một đầu tù một đầu hơi nhọn (Hình 2C nhóm II). Giác bám hình trứng, màu xám nhạt hoặc hơi vàng (Hình 2D nhóm II).

Nhóm III gồm 3 mẫu nấm *Colletotrichum* spp. là BR01, BR03 và BR06. Tán nấm có màu trắng hoặc trắng xám, hoặc đen, mép tròn đều. Mặt dưới tán nấm có màu trắng hoặc hơi đen (Hình 2B nhóm III), mặt trên đĩa nấm màu trắng, có những vòng tròn đồng tâm (Hình 2A nhóm III), bào tử phân sinh hình trụ, hai đầu tù tới tròn (Hình 2C nhóm III). Giác bám có màu nâu đến nâu đậm, hình trứng tày, elip tới gần hình thoi, một số có hình dạng không đều, màu nâu nhạt đến nâu thẫm, vách mỏng, bên trong có nhiều chất nhân màu vàng. (Hình 2D nhóm III).

Các nhóm hình thái cho thấy có sự phân nhóm tương đối theo nguồn gốc thu mẫu ban đầu, ví dụ các mẫu nấm nhóm III đều được thu tại tỉnh Bà Rịa – Vũng Tàu, trong khi đó các mẫu nấm nhóm I phần lớn được thu tại Lâm Đồng, còn trong các mẫu

nhóm II là các mẫu có nguồn gốc tại Tây Ninh.

### 3.3. Đa dạng di truyền của nấm *Colletotrichum* spp. theo chỉ thị ISSR

Khảo sát nhiệt độ bắt cặp của 8 môi ISSR ở các khoảng nhiệt độ từ 50 – 54°C nhận thấy phổ điện di sản phẩm PCR cho kết quả băng đa hình sáng, rõ và ổn định ở các mức nhiệt độ bắt cặp của môi ISSR AF80820, AF80822, AF80823 và UBC810 là 50°C, của UBC834 là 51,5°C, của AF80821 và UBC808 là 52,5°C, của AF80825 là 54°C. Tất cả 8 môi ISSR trên cho sản phẩm PCR có số lượng băng nhiều, các băng xuất hiện rõ nét, tỷ lệ băng đa hình cao.

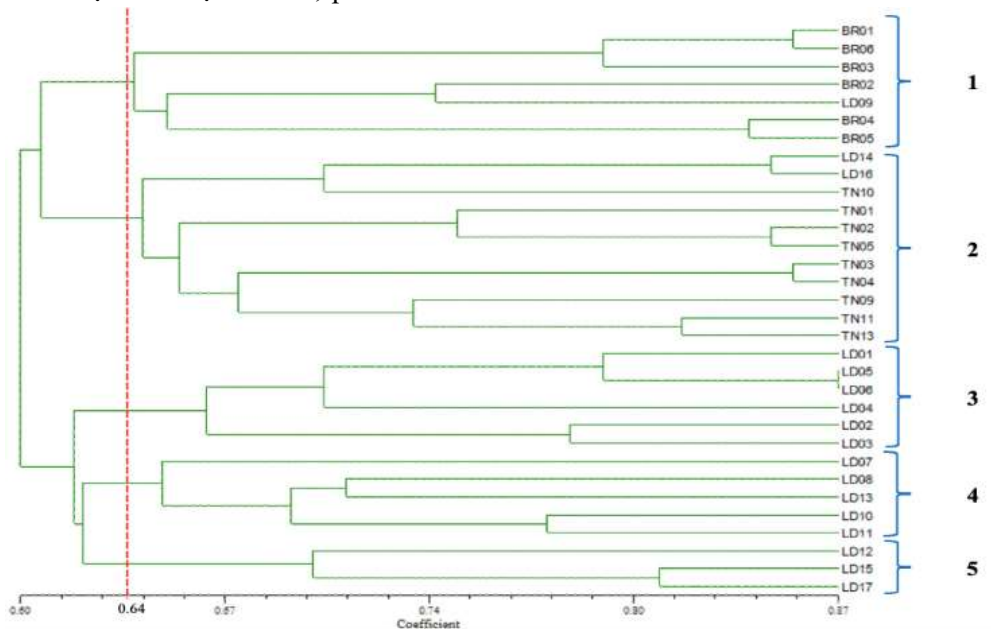
Tổng số sản phẩm khuếch đại của 8 môi là 134 băng DNA, đạt trung bình 16,8 băng/môi, kích thước băng từ 100 – 3000 bp. Số băng đa hình là 120 băng, tỉ lệ băng đa hình là 89,9%. Môi cho nhiều băng nhất là môi AF80820 (18 băng) và số băng đa hình đạt được là 15 băng đạt tỉ lệ 83,3%. Môi khuếch đại số băng thấp nhất là AF80821 (15 băng) và có tỉ lệ băng đa hình là 100% với 15 băng. Môi AF80823 cho khuếch đại 17 băng nhưng chỉ có 12 băng đa hình, là môi có tỉ lệ băng đa hình thấp nhất 70,6%. Trong 8 môi ISSR có đến 3 môi có tỉ lệ băng đa hình là 100% là môi AF80821, UBC808 và UBC834. Qua hình 3 thấy rằng kỹ thuật ISSR đã cho ra các sản phẩm khá tốt, số lượng băng nhiều, đồng thời các băng xuất hiện khá rõ nét, tỷ lệ băng đa hình cao.

**Bảng 3.** Số băng khuếch đại của 8 môi ISSR

Môi	Tổng số băng	Số băng đa hình	Tỉ lệ băng đa hình (%)	Kích thước băng (bp)
AF80820	18	15	83,3	100 - 2000
AF80821	15	15	100	150 - 2500
AF80822	17	15	88,4	100 - 2100
AF80823	17	12	70,6	100 - 2500
AF80825	17	14	82,4	100 - 2500
UBC808	16	16	100	150 - 3000
UBC810	17	16	94,1	200 - 3000
UBC834	17	17	100	150 - 2500
Tổng số	134	120	-	
Trung bình	16,8	15	89,9	

Các đoạn DNA được khuếch đại ổn định được cho điểm là 1 khi có mặt và 0 nếu không có dải DNA, và ghi nhận cho từng mẫu nấm để lập ma trận dữ liệu phục vụ phân tích tương quan di truyền. Mức độ tương đồng được thể hiện thông qua hệ số trung bình đa dạng di truyền giữa các mẫu nấm. Các mẫu nấm có hệ số di truyền gần nhau sẽ xếp thành 1 nhóm chung. Kết quả phân tích dựa trên hệ số Dice, phân nhóm

theo phương pháp UPGMA và xây dựng biểu đồ hình cây SAHN trên chương trình phần mềm NTSYSpc 2.1 cho kết quả 32 mẫu nấm *Colletotrichum* spp. có hệ số đa dạng di truyền dao động từ 0,49 đến 0,87, hệ số trung bình đa dạng di truyền là 0,64. Kết quả cây phân nhánh chia 32 mẫu nấm *Colletotrichum* spp. thành 5 nhóm chính (Hình 3).



**Hình 3.** Cây phân nhóm di truyền 32 mẫu nấm *Colletotrichum* spp.

Nhóm I gồm 7 mẫu nấm là: BR01, BR06, BR03, BR02, LD09, BR04 và BR05 với hệ số tương đồng di truyền là 0,64, nhỏ nhất so với hệ số tương đồng di truyền trong 5 nhóm. Các mẫu nấm trong nhóm này có 5 mẫu được phân lập chủ yếu ở Bà Rịa – Vũng Tàu và 1 mẫu được phân lập Lâm Đồng (LD09). Nhóm I này còn chia thành 2 nhóm nhỏ bao gồm: nhóm IA có BR01, BR06 và BR03 và nhóm IB có BR02, BR04, BR05 và LD09. Nhóm II là nhóm có số lượng nhiều nhất với 11 mẫu *Colletotrichum* spp. bao gồm LD14, LD16, TN10, TN11, TN01, TN02, TN05, TN03, TN04, TN09 và TN13 với hệ số tương đồng di truyền là 0,66. Nhóm III có 6 mẫu *Colletotrichum* spp. bao gồm LD01, LD05, LD06, LD04, LD02 và LD03 với hệ số tương đồng di truyền là 0,67. Nhóm IV gồm 5 mẫu nấm là LD07, LD08, LD13, LD10 và LD11 với hệ số tương đồng di truyền là 0,66. Nhóm V có 3 mẫu nấm bao gồm LD12, LD15 và LD17 với hệ số tương đồng di truyền là 0,67, lớn nhất so với hệ số tương đồng di truyền trong 5 nhóm.

Phân nhóm di truyền theo chỉ thị ISSR thể hiện sự phân biệt tương đối về mối tương quan so với phân nhóm theo đặc điểm hình thái tản sợi, bào tử và giác bám. Nhóm IA theo đặc điểm hình thái được xếp vào một nhóm riêng với đặc trưng khác biệt so với hai nhóm hình thái còn lại. Chỉ thị ISSR cũng cho thấy mối tương quan giữa đa dạng về vị trí địa lý nơi thu thập mẫu bệnh. Trong cùng một khu vực địa lý, các mẫu nấm có sự tương đồng về đặc điểm hình thái và đặc điểm di truyền tương đối cao, ví dụ các mẫu nhóm III, IV và V theo chỉ thị ISSR có hệ số tương đồng di truyền cao hơn so với nhóm I và nhóm II, đều được thu thập tại tỉnh Lâm Đồng và phần lớn đều thuộc cùng nhóm hình thái. Và các mẫu nấm nhóm II theo chỉ thị ISSR đều được thu thập từ Tây Ninh ngoại trừ LD14 và LD16. Kết quả

nghiên cứu này cũng chỉ rõ sự khác biệt về đặc điểm di truyền giữa các mẫu nấm *Colletotrichum* spp. ở các khu vực địa lý khác nhau, tương tự ghi nhận của Zhang và cs. (2024) với các chủng nấm *Colletotrichum* gây bệnh trên ớt tại Quảng Châu. Hầu hết các tác nhân gây bệnh cây trồng khác nhau về bộ gen, dưới tác động của điều kiện môi trường chúng có thể biến đổi di truyền, thay đổi kiểu hình để thích nghi và gây bệnh tốt hơn. Do đó, sử dụng các chỉ thị phân tử bao gồm chỉ thị ISSR để nghiên cứu nấm *Colletotrichum* spp. cho phép tìm kiếm các biến thể có khả năng gây bệnh từ các vùng sinh thái để làm cơ sở lựa chọn các nguồn vật liệu phục vụ nghiên cứu tạo giống kháng bệnh do nấm *Colletotrichum* spp. gây ra (Ly và cs., 2020).

#### 4. KẾT LUẬN

32 mẫu nấm *Colletotrichum* spp. được phân lập vẫn giữ nguyên độc lực sau thời gian lưu trữ, gây bệnh trên ớt chỉ thiên hai mũi tên đỏ với mức độ bệnh khác nhau. Dựa trên đặc điểm hình thái các mẫu nấm *Colletotrichum* spp. được chia thành ba nhóm hình thái học. Phân tích đa hình DNA với 8 môi ISSR, cho thấy các chủng nấm này được chia làm 5 nhóm với hệ số tương đồng di truyền biến động từ 0,49 đến 0,87, sự đa dạng tương đối lớn và có mối liên hệ về vị trí địa lý nơi thu thập mẫu bệnh, và tương quan với đặc điểm hình thái.

#### LỜI CẢM ƠN

Công trình này là một phần kết quả trong nhiệm vụ khoa học và công nghệ thuộc Nghị định thư “Nghiên cứu sử dụng vi sinh vật có ích phòng trừ một số bệnh hại chính trên rau họ cà (Solanaceae)”, mã số NĐT/HU/22/20.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

### 1. Tài liệu tiếng Việt

Nguyễn Duy Hưng, Hà Việt Cường và Hoàng Chúng Lãm. (2017). Xác định nấm *Colletotrichum* gây bệnh thán thư ớt ở đồng bằng sông Hồng. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 12(85), 87-93.

Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia QCVN 01-160:2014/BNNPTNT về khảo nghiệm trên đồng ruộng hiệu lực phòng trừ bệnh thán thư (*Colletotrichum* spp.) hại cây ớt của các thuốc trừ bệnh.

### 2. Tài liệu tiếng nước ngoài

Farshid, M., Jugah, K., & Andam, P. (2013). Genetic Diversity and Pathogenic Variability of *Colletotrichum truncatum* causing Anthracnose of pepper in Malaysia. *Journal of Phytopathology* 162(7), 456-465. DOI: <https://doi.org/10.1111/jph.12213>

Ly, V. A., Truong, T., & Nguyen, T. H. (2020). Application of anthracnose resistance-associated molecular markers in the detection of resistant chili pepper cultivars in Vietnam. *Journal of Science and Technology Development*, 23(3), 581-589. DOI: <https://doi.org/10.32508/stdj.v23i3.2395>

Montri, P., Taylor, P. W. J., & Mongkolporn, O. (2009). Pathotypes of *Colletotrichum capsici*, the causal agent of chili anthracnose in Thailand. *Plant Disease*, 93(1), 17-20. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-1-0017>

Prittesh, P., Rajkumar, B. K., Preeti, P., Rusabh, S., & Krishnamurthy, R. (2018). Assessment

of genetic diversity in *Colletotrichum falcatum* Went accessions based on RAPD and ISSR markers. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(1), 153-159. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.11.006>

Ratanacherdchai, K., Wang, H. K., Lin, F. C., & Soyong, K. (2010). RAPD analysis of *Colletotrichum* species causing chilli anthracnose disease in Thailand. *Journal of Agricultural Technology*, 3, 211-219.

Rohlf, R. J. (2000). NTSYSpc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Exeter software, New York.

Than, P. P., Jeewon, R., Hyde, K. D., Pongsupasamit, S., Mongkolporn, O., & Taylor, P. W. J. (2008). Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose on chilli (*Capsicum* spp.) in Thailand. *Plant pathology*, 57(3), 562-572. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01782.x>

Weir, B. S., Johnston, P. R. and Damm, U. (2012). The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Studies in Mycology* 73(1), 115-180. DOI: <https://doi.org/10.3114/sim0011>

Zhang, A., Li, L., Xie, X., Chai, A., Shi, Y., Xing, D., Yu, Z., & Li, B. (2024). Identification and Genetic Diversity Analysis of the Pathogen of Anthracnose of Pepper in Guizhou. *Plants*, 13(5), 728. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants13050728>