

## Morpho-biological characteristics of predatory mite (*Amblyseius longispinosus*), a biological control agent of *Eriophyes dimocarp* on longan

Tran Thi My Hanh, Nguyen Van Hoa

### Abstract

The predatory mite (*Amblyseius* sp.) is an important predator of several agricultural pests in Vietnam. In this study, the morpho-biological characteristics of *Amblyseius* sp. in reducing density and injury level of the eriophyid mite (*Eriophyes dimocarp*) on longan was studied under laboratory conditions from September 2016 to May 2017. *Amblyseius* sp. fed on *E. dimocarp* completed its life cycle in  $6.07 \pm 0.70$  days. A female of *Amblyseius* sp. laid  $10.30 \pm 3.33$  eggs and the rate of hatching was 96.7%. An adult consumed  $17.53 \pm 2.14$  individuals of *A. dimocarp* per day.

**Keywords:** Predatory mite (*Amblyseius* sp.), *Eriophyes dimocarp*, longan tree

Ngày nhận bài: 10/12/2017

Ngày phản biện: 20/12/2017

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Nhung

Ngày duyệt đăng: 19/1/2018

## KẾT QUẢ BƯỚC ĐẦU XÂY DỰNG CÂY PHÁT SINH LOÀI NẤM *Colletotrichum* spp. GÂY BỆNH THÁN THƯ TRÊN THANH LONG TẠI CÁC TỈNH PHÍA NAM

Đặng Thị Kim Uyên<sup>1</sup>, Trần Nhân Dũng<sup>2</sup>, Nguyễn Văn Hòa<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

Các dòng nấm *Colletotrichum* spp. gây bệnh thán thư trên thanh long tại các tỉnh phía Nam đã được thu thập và khảo sát tính đa dạng phát sinh loài. ADN từ các dòng nấm được ly trích theo phương pháp của Trần Nhân Dũng và Nguyễn Vũ Linh (2011). Vùng ITS1 + 5,8S + ITS2 được khuếch đại bằng PCR với 2 cặp mỗi ITS1 và ITS4. Trình tự ITS của 44 dòng nấm được phân tích và xác lập giản đồ cây phát sinh loài. Kết quả thu thập và phân lập ở Tiền Giang, Long An và Bình Thuận cho thấy loài nấm *Colletotrichum gloeosporioides* hiện diện 84,09%; loài *Colletotrichum capsici* hiện diện 13,63% và loài *Colletotrichum truncatum* hiện diện 2,27%. Giản đồ chia thành 3 nhóm: Nhóm thứ nhất gồm 37 dòng nấm *Colletotrichum gloeosporioides* có hệ số bootstrap là 99%; nhóm lớn thứ hai có 6 dòng nấm *Colletotrichum capsici* có hệ số Bootstrap là 98%; nhóm thứ ba là loài *Colletotrichum truncatum* có hệ số Bootstrap là 98%.

**Từ khóa:** *Colletotrichum* spp., thanh long, internal transcribed spacer

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việc xác định loài của nấm *Colletotrichum* gây bệnh thán thư trên xoài dựa trên đặc điểm hình thái học có thể không chính xác (Sutton, 1992). Do đó, các phương pháp sinh học phân tử thường được dùng để định danh loài *Colletotrichum*. Kỹ thuật sinh học phân tử dùng để định danh *Colletotrichum* thường phân tích trình tự internal transcribed spacer (ITS) và gene  $\beta$ -tubulin. Vùng ITS được sử dụng như là một dấu phân tử bởi vì vùng này có liên quan đến nhiều biến đổi trong phân tử và dễ dàng khuếch đại trong kỹ thuật PCR (Nilsson *et al.*, 2012). Vùng ITS bao gồm vùng ITS1, 5.8S và vùng ITS2 của rDNA. Trình tự vùng 5.8S là trình tự được bảo tồn cao trong khi trình tự vùng ITS1 và ITS2 thì có tính biến đổi và đa hình cao phụ thuộc vào loài nấm (Nilsson *et al.*, 2008). Vùng ITS được sử dụng phổ biến trong

nghiên cứu phát sinh loài và hệ thống phân loại học (Schoch *et al.*, 2012). “Kết quả bước đầu xây dựng cây phát sinh loài nấm *Colletotrichum* spp. gây bệnh thán thư trên thanh long tại các tỉnh phía Nam” đã được thực hiện nhằm tìm ra giản đồ phát sinh loài nấm gây bệnh thán thư trên thanh long.

### II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Các dòng nấm *Colletotrichum* spp. được Viện Cây ăn quả miền Nam nghiên cứu và tồn trữ.

ITS1 F: TCCGTAGGTGAACCTGCGG (Kumar *et al.*, 2005; Martin *et al.*, 2004).

ITS4 R: TCCTCCGCTTATTGATATGC (Kumar *et al.*, 2005; Martin *et al.*, 2004).

<sup>1</sup> Viện Cây ăn quả miền Nam, <sup>2</sup> Đại học Cần Thơ

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Phương pháp chiết xuất DNA tổng số

- Phương pháp chiết xuất DNA tổng số thực hiện theo quy trình của Trần Nhân Dũng và Nguyễn Vũ Linh (2011).

- Các dòng nấm nhân nuôi trong môi trường PDA khoảng 7 ngày.

- Dùng que lấy nấm (khoảng 5 - 7 mm<sup>2</sup>) cho vào ống effendorf có sẵn 500 µl Lysis buffer, nghiền những sợi nấm. Sau đó, ủ mẫu trong 3 giờ với nhiệt độ 55°C - 65°C.

- Cho 300 µl dung dịch phenol - chloroform - isoamyl (PCI) (25 : 24 : 1) vào mẫu, lắc rung bằng máy Voltex khoảng 15 - 20 giây. Sau đó đem ly tâm 12000 vòng, 5 phút ở 4°C. Dùng micropipette hút cẩn thận lớp trên sau đó chuyển qua ống mới (lặp lại 5 lần).

- Cho Isopropanol 500µl vào ống vừa loại bỏ tạp chất lắc nhẹ, đem ly tâm 16000 vòng, 3 phút, 4°C. Đổ bỏ hết phần nước ở trên, giữ lại phần cô đặc dưới đáy. Sau đó, cho 300 µl Ethanol 70% lắc nhẹ vài lần và ly tâm 16000 vòng trong 3 phút. Thu nhận DNA và trữ ở 4°C (Trần Nhân Dũng và Nguyễn Vũ Linh, 2011).

### 2.2.2. Kiểm tra DNA bằng sắc ký gel agarose

- Chuẩn bị gel 1%: Cân 1 g agarose và 100 ml 1X TAE buffer, đun nóng cho dung dịch gel tan đều không còn bọt bằng máy Microwave 3 - 4 phút. Lấy ra, để nguội 50 - 60°C (thêm 10µl nhuộm) đổ gel vào khuôn đã lắp ráp sẵn, dùng lớp phủ trong đặt lại khoảng 20 - 30 phút cho gel đông cứng.

- Khi gel đã đông cứng, từ từ nhắc lược ra và nhắc khuôn lên. Đặt khuôn vào bốn điện di ngập trong đệm chạy cao hơn mặt gel 3 - 5 mm.

- Hút dung dịch DNA với 8 µl và 1 µl Loading buffer (4 : 1) chấm vào giấy parafin, hút lên xuống cho hỗn hợp được trộn đều. Sau đó, dùng micropipette hút hết hỗn hợp cho vào “giếng” của miếng agarose.

- Chạy điện di khoảng 40 phút với hiệu điện thế 100 V. Đưa lên máy đọc: Lấy gel ra cho vào buồng ánh sáng UV chụp ảnh huỳnh quang DNA. Sau khi kiểm tra DNA phát hiện mẫu có DNA thì tiến hành phản ứng PCR.

### 2.2.3. Phản ứng PCR khuếch đại vùng ITS-rDNA

Hai primer ITS1 và ITS4 được sử dụng để khuếch đại vùng ITS-rDNA, bao gồm ITS1-5.8S-ITS2. Thể tích phản ứng là 25 µl có chứa dung dịch đệm PCR

1X, MgCl<sub>2</sub> 1,5 mM, dNTPs 400 µM, mỗi primer 200 pM, DNA khuôn và taq DNA polymerase. Phản ứng PCR được thực hiện với chu kỳ nhiệt: giai đoạn khởi động 94°C trong 5 phút, tiếp theo là 35 chu kỳ với 94°C trong 1 phút, 55°C 1,5 phút, 72°C 1 phút và sau cùng là 72°C trong 5 phút. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1% trong dung dịch đệm TAE 1X. Bảng gel được nhuộm với 6X gelRed DNA Loading Stain quan sát kết quả dưới tia UV.

### 2.2.4. Tinh sạch sản phẩm PCR

Trước khi giải trình tự, sản phẩm PCR được làm tinh sạch dựa trên protocol của nhà sản xuất và gửi mẫu giải trình tự tại Mỹ.

### 2.2.5. Giải trình tự vùng ITS - rDNA

Vùng ITS-rDNA được giải trình tự bằng hai primer ITS1 và ITS4, trình tự DNA được so sánh với các trình tự vùng ITS-rDNA của các mẫu phân lập *Colletotrichum* spp. trên thế giới đã biết tên loài từ cơ sở dữ liệu của ngân hàng gene (GenBank) làm cơ sở xác định tên loài của các chủng nấm *Colletotrichum* spp. phân lập được.

### 2.2.6. Phân tích số liệu

Trình tự được xếp hàng (Alignment) bằng phần mềm BioEdit7.2. Sau đó dùng SeqVerter để chuyển định dạng (Fasta) dữ liệu theo phần mềm Mega 6 phân tích bootstrap 1000 lần lặp lại và để quan sát mối quan hệ di truyền qua cây phát sinh loài nấm với phần mềm Mega6. Chỉ số bootstrap: là tần số xuất hiện của một nhóm (cluster) trên số lần giản đồ được thiết lập. Đơn vị tính là % (phần trăm). Theo Felsenstein (1985), bootstrap là một công cụ hỗ trợ cho việc xây dựng cây phát sinh loài.

## 2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

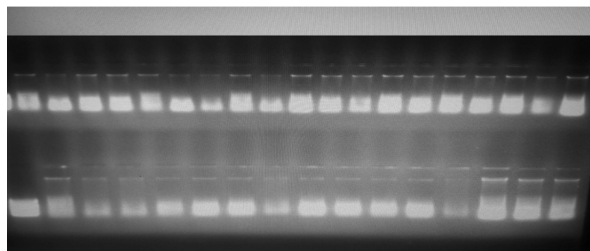
Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 6/2016 đến tháng 11/2017 tại Phòng thí nghiệm Sinh học phân tử - Bộ môn Bảo vệ thực vật - Viện Cây ăn quả miền Nam.

## III. KẾT QUẢ THẢO LUẬN

### 3.1. Sản phẩm ly trích DNA tổng số

Ly trích DNA là một bước khởi đầu rất quan trọng, vì nó quyết định sự thành công cho phản ứng PCR sau này. Quy trình ly trích DNA theo bộ kit của nhà sản xuất đạt hiệu quả tốt vì DNA ly trích có độ tinh khiết cao. Do đó, DNA thu được rất tốt, đảm bảo cho phản ứng PCR xảy ra.

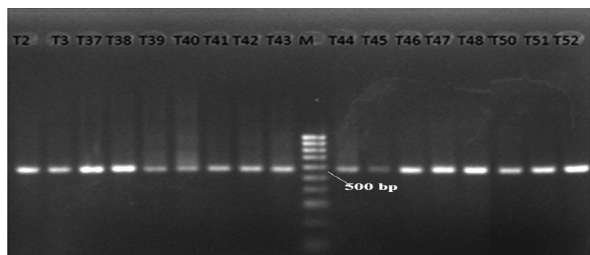
Áp dụng quy trình ly trích DNA, tiến hành ly trích DNA của 44 dòng nấm *Colletotrichum* spp. để thực hiện phản ứng PCR. Kết quả định lượng DNA trên gel agarose 1% cho thấy các mẫu đều thu được sản phẩm DNA (Hình 1).



Hình 1. Kết quả điện di DNA tổng số của các dòng nấm *Colletotrichum* spp.

### 3.2. Thực hiện phản ứng PCR để giải trình tự vùng gen ITS định danh các dòng nấm *Colletotrichum* spp. gây bệnh thán thư trên thanh long

Từ kết quả điện di trên, sản phẩm ly trích DNA tổng số của các mẫu nấm đã được pha loãng 10 lần để thực hiện phản ứng PCR theo chương trình nhiệt và các thành phần hóa chất chuẩn của Zhu Hai - Shan và cộng tác viên (2006).

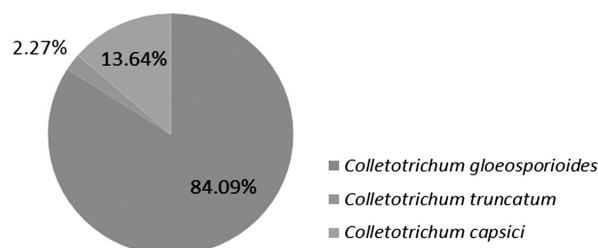


Hình 2. Sản phẩm PCR được nhân lên từ DNA của một số dòng nấm với mỗi ITS trên gel Agarose 1%

Giải trình tự gen 28S rRNA và tra cứu trên BLAST SEARCH có kết quả như sau: Tất cả 44 dòng nấm đều có kết quả PCR dương tính với mỗi ITS1 và ITS4, với lại kết quả giải trình tự vùng gen 28S rDNA của 44 dòng nấm đều cho tín hiệu tốt với số nucleotide lớn hơn 500 bp (Bảng 1). Tất cả các trình tự 28S rDNA của 44 dòng nấm đã được phân tích và so sánh với các trình tự đã công bố trên ngân hàng gen (NCBI) bằng công cụ BLAST nucleotid. Kết quả phân tích được so sánh với nhau và xây dựng giản đồ cây phát sinh loài của 44 dòng nấm được phân lập (Hình 4). Theo Rowland và Taber (1996), khi so sánh trình tự 16S rDNA với nhau. Nếu tỷ lệ tương đồng > 99% có thể kết luận 2 dòng vi khuẩn so sánh thuộc cùng một loài, từ 97% - 99% thì 2 dòng so sánh cùng một chi, nếu mức độ tương đồng < 97% thì dòng so sánh thuộc 2 chi khác nhau.

### 3.3. Các dòng nấm gây bệnh thán thư trên thanh long tại các tỉnh phía Nam

Qua bảng 1 và hình 3 thấy rằng, trong tổng số 44 dòng nấm *Colletotrichum* phân lập trên thanh long ruột trắng và ruột đỏ tại các tỉnh phía Nam thì có các dòng thuộc loài *Colletotrichum gloeosporioides* chiếm 84,09%; dòng thuộc loài *Colletotrichum capsici* chiếm 13,63% và loài *Colletotrichum truncatum* chiếm 2,27%.



Hình 3. Đa dạng về loài nấm *Colletotrichum* trên giống thanh long ruột trắng và ruột đỏ

### 3.4. Xây dựng giản đồ cây phát sinh loài nấm *Colletotrichum* spp. gây bệnh thán thư trên thanh long tại các tỉnh phía Nam

Cây phát sinh loài của các dòng nấm *Colletotrichum* spp. của 44 dòng nấm gây bệnh thán thư trên thanh long tại các tỉnh phía Nam với các dòng nấm có trên ngân hàng NCBI cho thấy chúng được phân bố như hình 4.

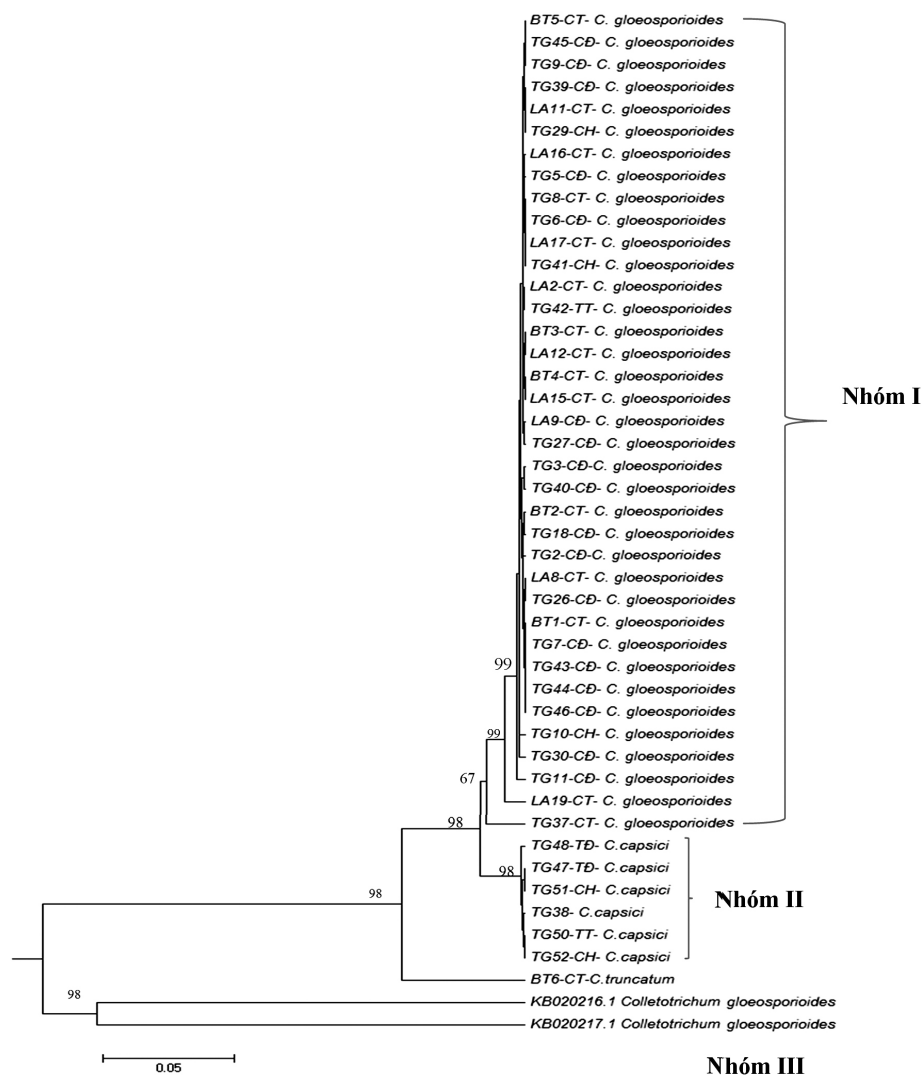
Giản đồ ở hình 4 cho thấy có 3 nhánh lớn. Nhánh I có 37 dòng nấm phân lập ở Tiền Giang, Long An và Bình Thuận trên cả 2 giống thanh long ruột trắng và thanh long ruột đỏ. Nhánh này được phân thành nhiều nhánh nhỏ, thuộc loài *Colletotrichum gloeosporioides*, trong đó dòng TG37, LA19, TG11 có khoảng cách di truyền xa nhất trong nhóm (0,003 - 0,014), với chỉ số Bootstrap là 67 - 99%. Độ tương đồng của dòng TG37 và LA19 là 97,8% còn độ tương đồng của TG37 và TG11 là 98,3%.

Nhóm II: gồm có 6 dòng thuộc loài *Colletotrichum capsici* có quan hệ mật thiết với nhau với chỉ số bootstrap là 98%. Trong đó 2 dòng T47, T51 có độ tương đồng là 100% với chỉ số bootstrap là 88%, dòng T50 và T52 cũng là 2 dòng có quan hệ gần gũi do có độ tương đồng là 100% với chỉ số bootstrap là 74%. Dòng T48 có khoảng cách di truyền xa nhất trong nhóm là 0,001.

Nhóm III được phân ra một nhánh riêng rõ có 1 dòng là loài *Colletotrichum truncatum* và có khoảng cách di truyền lớn nhất 0,047 so với 2 nhánh còn lại trong cây phát sinh loài.

**Bảng 1.** Mối tương quan di truyền giữa các dòng nấm phân lập với các dòng nấm có trong ngân hàng gen (NCBI) dựa vào trình tự ITS

Số TT	Dòng nấm	Chiều dài bp	Các loài quan hệ	Mã số	Tương đồng (%)
1	TG2	548 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KF516931	99%
2	TG3	546 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	HQ264183	100%
3	TG5	554 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KM463758	99%
4	TG6	552bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KP900290	99%
5	TG7	549 BP	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Km520010	99%
6	TG8	552 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KP900290	99%
7	TG9	580Bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Ab71044	99%
8	TG10	551 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	JN887344	100%
9	TG11	580 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KX447643	99%
10	TG18	550 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KP900274	99%
11	TG26	549 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KM520010	99%
12	TG27	591 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	JN390897	99%
13	TG29	551 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	JN887344	100%
14	TG30	550 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	JX902437	99%
15	TG37	538 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KF053201	97%
16	TG38	546 bp	<i>Colletotrichum capsici</i>	HQ271454	100%
17	TG39	549 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KP748204	100%
18	TG40	537 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KM357285	99%
19	TG41	547 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KM519998	99%
20	TG42	549 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KP748204	100%
21	TG43	549 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KP900256	99%
22	TG44	549 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KM520010	99%
23	TG45	554 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KM463758	99%
24	TG46	549 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KM520010	99%
25	TG47	560 bp	<i>Colletotrichum capsici</i>	KC311214	99%
26	TG48	546 bp	<i>Colletotrichum capsici</i>	HQ271452	100%
27	TG50	550 bp	<i>Colletotrichum capsici</i>	KP748196	100%
28	TG51	556 bp	<i>Colletotrichum capsici</i>	KP748222	100%
29	TG52	546 bp	<i>Colletotrichum capsici</i>	HQ271467	100%
30	LA2	549 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KP748204	100%
31	LA8	554 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KM463758	99%
32	LA9	547 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KM513571	99%
33	LA11	551 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	JN88734	100%
34	LA12	554 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KM463758	99%
35	LA15	549 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	JF710578	99%
36	LA16	542 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	JF710554	99%
37	LA17	553 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KJ801795	99%
38	LA19	549 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KP900256	98%
39	BT1	549 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KM520010	99%
40	BT2	548 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KF516931	99%
41	BT3	550 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KC215125	99%
42	BT4	545 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	JF710564	99%
43	BT5	545 bp	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	JF710564	99%
44	BT6	556 bp	<i>Colletotrichum truncatum</i>	KP748222	99%



Hình 4. Giản đồ cây phát sinh loài nấm gây bệnh thán thư trên thanh long được phân tích trên ITS1 và ITS4, chỉ số bootstrap được ghi trên đầu các nhánh của giản đồ

#### IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

##### 4.1. Kết luận

- Trong các dòng nấm gây bệnh thán thư trên thanh long tại các tỉnh phía Nam có 84,09% thuộc loài *Colletotrichum gloeosporioides*; 13,63% thuộc loài *Colletotrichum capsici* và 2,27% thuộc loài *Colletotrichum truncatum*.

- Đã xây dựng được giản đồ phát sinh loài của 44 dòng nấm *Colletotrichum* spp. gây bệnh thán thư trên thanh long. Giản đồ chia thành 3 nhóm (nhánh lớn) và có hệ số bootstrap cao (98% - 99%).

##### 4.2. Đề nghị

Thu thập thêm các dòng nấm gây bệnh thán thư tại Long An và Bình Thuận để xây dựng giản đồ phát sinh loài được hoàn thiện.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Trần Nhân Dũng và Nguyễn Vũ Linh, 2011. *Giáo trình Tin sinh học*. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ.
- Kumar, MM., 2004. Rank Difference Analysis of Microarrays (RDAM), a novel approach to statistical analysis of microarray expression profiling data. *BMC Bioinformatics*, 5: 148.
- Nilsson RH, Tedersoo L, Abarenkov K, Ryberg M, Kristiansson E, Hartmann M, Schoch CL, Nylander JAA, Bergsten J, Porter TM, Vaishampayan AJP, Ovaskainen O, Hallenberg N, Bengtsson-Palme J, Eriksson KM, Larsson HK, Larsson E, Koljalg U., 2012. Five simple guidelines for establishing basic authenticity and reliability of newly generated fungal ITS sequences. *Mycologia*, 4: 37-63.
- Nilsson RH, Tedersoo L, Abarenkov K, Ryberg M, Kristiansson E, Hartmann M, Schoch CL, Nylander

- JAA, Bergsten J, Porter TM, Vaishampayan AJP, Ovaskainen O, Hallenberg N, Bengtsson-Palme J, Eriksson KM, Larsson HK, Larsson E, Koljalg U., 2012. Five simple guidelines for establishing basic authenticity and reliability of newly generated fungal ITS sequences. *Mycology Keys*, 4: 37-63.
- Rowland, B.M. and H.W. Taber, 1996. Dulicate Isochorismate Synthase Genes of *Bacillus subtilis*; Regulation and Involvement in the Biosynthesis of Menaquinone and 2,3-dihydroxybenzoate. *Jbacteriol*, 178: 854-861.
- Schoch, C.L., Seifert KA, Huhndorf S, Robert V, Spouge JL, Levesque CA, Chen W., 2012. Fungal Barcoding Consortium; Fungal Barcoding Consortium Author List, Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi. *Proc Nat Acad Sci.*, 109: 6241-6246.
- Sutton, B.C., 1992. *The genus Glomerella and its anamorph Colletotrichum*. Pp. 1-26 in Bailey, J. A. & Jeger, M.J. (Eds.) *Cottetotrichum-Biology, Pathology and Control*. CAB International, Wallingford, England.
- White, T. J., T. D. Bruns, S. B. Lee, and J. W. Taylor, 1990. *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA Genes for phylogenetics*. In: Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J. and White, T. J. (eds) *PCR Protocols: a guide to methods and applications*, Academic Press, New York, USA, PP. 315-322.

### Preliminary results of construction phylogenetic tree of *Colletotrichum* spp. causing anthracnose diseases on dragon fruit in Southern provinces

Dang Thi Kim Uyen, Tran Nhan Dung, Nguyen Van Hoa

#### Abstract

Forty four isolates of anthracnose disease on dragon fruit in Southern provinces were investigated to observe their genetic diversity. First, they have been collected, then all were isolated in PDA Merd medium to get spore formation from mycelium (cultures of mycelium). DNA from fungus was extracted using procedure developed by Dung *et al.* (2011). After that, ITS regions were amplified by PCR method with specific primers ITS1 and ITS4. Finally, the ITS sequences of 44 isolates were analyzed and phylogenetic tree was created to express genetic relationship among studied isolates. The results showed that the causal organism of anthracnose disease on dragon fruit in Southern provinces was 84.09% of isolates belonging to *Colletotrichum gloeosporioides* species, 13.63% isolates belonging to *Colletotrichum capsici* and about 2.27% isolates belonging to *Colletotrichum truncatum* species. Schematic phylogenetic tree also showed that there were 3 groups: The first group included 37 *Colletotrichum gloeosporioides* strains at high bootstrap (99%); the second group included 6 *Colletotrichum capsici* strains at bootstrap (98%) and the third group was *Colletotrichum truncatum* species at bootstrap (98%).

**Keywords:** *Colletotrichum* spp., dragon fruit, Internal transcribed spacer

Ngày nhận bài: 10/12/2017

Ngày phản biện: 23/12/2017

Người phản biện: TS. Hà Minh Thanh

Ngày duyệt đăng: 19/1/2018

### ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ SỬ DỤNG VI KHUẨN ĐỐI KHÁNG PHÒNG TRỪ BỆNH THỐI RỄ DO NẤM *Phytophthora palmivora* VÀ *Fusarium solani* GÂY RA TRÊN CÂY CÓ MÚI Ở ĐIỀU KIỆN NHÀ LƯỚI

Nguyễn Ngọc Anh Thư<sup>1</sup>, Nguyễn Thành Hiếu<sup>1</sup>,  
Nguyễn Văn Hòa<sup>1</sup>, Trần Thị Thu Thủy<sup>2</sup>

#### TÓM TẮT

Trong những năm gần đây, bệnh vàng lá thối rễ trên cây có múi đã gây hại trầm trọng cho các vườn cây có múi ở khu vực Đồng bằng sông Cửu Long. Nguyên nhân chủ yếu là do nấm *Fusarium solani* và *Phytophthora* spp. gây ra. Kết quả đánh giá hiệu quả của các chủng vi khuẩn đối kháng với *Phytophthora palmivora* và *Fusarium solani* trong điều kiện nhà lưới cho thấy ở nghiệm thức 2 (chỉ chủng với vi khuẩn BS với mật số  $10^8$ ) và nghiệm thức 6 (chủng nấm trước và sau đó chủng vi khuẩn BS với mật số  $10^8$ ) cho kết quả kiểm soát tốt nhất đối với nấm *Phytophthora palmivora* và *Fusarium solani*.

**Từ khoá:** Cây có múi, *Fusarium solani*, *Phytophthora palmivora*, *Bacillus subtilis*

<sup>1</sup> Viện cây ăn quả miền Nam; <sup>2</sup> Đại học Cần Thơ