

NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG *Colletotrichum* sp. GÂY BỆNH ĐỐM LÁ TRÊN LAN
DỰA VÀO HÌNH THÁI VÀ TRÌNH TỰ ITS

Huỳnh Thị Hồng Phấn², Thạch Bá Thiên^{1,2}, Đặng Thị Bảo Quyên^{1,2},
Nguyễn Thị Ngọc Tuyền^{1,2}, Lê Đình Đôn^{1,2}, Bùi Cách Tuyền^{2*}

TÓM TẮT

Nấm bệnh là nguyên nhân hàng đầu gây nên triệu chứng đốm lá trên các loài lan trồng tại Việt Nam, nhưng thông tin về đa dạng loài *Colletotrichum* còn thiếu. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định các phức hợp loài *Colletotrichum* gây bệnh trên lan *Dendrobium* và *Aerides* tại Việt Nam. Các mẫu lá, thân và hoa có triệu chứng bệnh được thu thập trong giai đoạn 2023 - 2025, sau đó tiến hành phân lập, quan sát hình thái và phân tích trình tự vùng ITS. Kết quả ghi nhận 3 phức hợp chính: (i) *C. dracaenophilum* gây triệu chứng đốm đen nhỏ, cháy nâu đầu lá và đốm nâu có quầng vàng trên *Dendrobium*; (ii) *C. gloeosporioides* gây bệnh đốm nâu trên lá *Aerides* và *Mokara*; (iii) *C. orchidearum* gây bệnh đốm nâu trên hoa *Dendrobium*. Nghiên cứu cung cấp dữ liệu trình tự và đặc điểm hình thái của các phức hợp loài, đồng thời mô tả triệu chứng bệnh đặc trưng, góp phần bổ sung cơ sở khoa học cho phân loại và nghiên cứu sâu hơn về *Colletotrichum* trên lan tại Việt Nam.

Từ khoá: *Aerides*, *Dendrobium*, *C. dracaenophilum*, *C. gloeosporioides*, *C. orchidearum*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lan thuộc họ Orchidaceae là một trong những nhóm cây cảnh có giá trị kinh tế và thẩm mỹ cao, đồng thời đóng vai trò quan trọng trong bảo tồn đa dạng sinh học. Trong đó, các chi *Dendrobium* và *Aerides* được trồng phổ biến ở khu vực nhiệt đới châu Á nhờ sự đa dạng về màu sắc và hình dạng của hoa. Tại Việt Nam, các loài lan này không chỉ có giá trị thương mại mà còn là nguồn gen quý. Nhiều loài đang được liệt kê trong danh mục cần ưu tiên bảo tồn như *D. anosmum* (VU - Sắp nguy cấp) và *A. rosea* (EN - Nguy cấp) (Bộ Khoa học và Công nghệ, 2007). Tuy nhiên, trong điều kiện khí hậu nóng ẩm, các loài lan thường xuyên bị ảnh hưởng bởi bệnh hại, phổ biến nhất là bệnh đốm lá và đốm hoa, gây suy giảm năng suất và giá trị thương phẩm.

Các nghiên cứu trước đây đã xác định một số loài nấm gây bệnh đốm lá trên lan *Dendrobium*, bao gồm *Phyllosticta capitalensis*, *Curvularia intermedia*, *Nigrospora oryzae* và *Pestalotiopsis* sp. (Huỳnh Thị Hồng Phấn và cs., 2025). Tuy nhiên, trong quá trình khảo sát gần đây, một số triệu chứng bệnh được quan sát thấy có đặc điểm tương tự như bệnh thán thư (anthracnose) nghi ngờ do các loài thuộc chi *Colletotrichum* gây ra. Đây là chi nấm có tính đa dạng cao, được ghi nhận là tác nhân chính gây bệnh thán thư trên nhiều loài cây trồng, trong đó có lan. Các phức hợp *Colletotrichum* như *C. gloeosporioides*, *C. dracaenophilum* và *C. orchidearum* đã được báo cáo gây bệnh trên nhiều loài lan ở châu Á và Nam Mỹ (Liu et al., 2022).

Việc phân định loài trong chi *Colletotrichum* từ lâu đã là thách thức lớn do sự tương đồng hình thái giữa

các loài khác nhau và tính biến đổi hình thái trong cùng một loài. Liu và cộng sự (2022) đã nhấn mạnh rằng ngay cả khi sử dụng nhiều đặc điểm hình thái, việc nhận diện chính xác vẫn thường dẫn đến sai lệch bởi các loài trong chi này có xu hướng hội tụ hình thái. Trong bối cảnh đó, các công cụ phân tử đã trở thành nền tảng cho phân loại hiện đại. Vùng ITS được xem là mã vạch DNA tiêu chuẩn cho nấm nhờ khả năng khuếch đại dễ dàng và độ đa hình cao giữa các loài, mặc dù nó có hạn chế trong việc phân định các loài gần nhau. Liu và cộng sự (2022) đã khuyến nghị rằng ITS nên được sử dụng như điểm khởi đầu để xác định phức hợp loài và cần kết hợp với dữ liệu đa gen để đạt độ phân giải cao hơn. Trong nghiên cứu này, ITS được dùng như công cụ chính để nhận diện các phức hợp *Colletotrichum* trên lan. Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm xác định các phức hợp *Colletotrichum* gây bệnh trên lan *Dendrobium* và *Aerides* bằng phân tích trình tự ITS, đồng thời mô tả triệu chứng bệnh đặc trưng và đối chiếu với dữ liệu hình thái để làm rõ sự đa dạng của các tác nhân gây bệnh.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các mẫu lan thuộc loài *Dendrobium* và *Aerides* có triệu chứng bệnh như đốm lá, cháy lá và đốm hoa được thu thập từ tháng 3/2023 đến tháng 9/2025 tại vườn lan ở TP. Hồ Chí Minh (10°55'08.2"N, 106°40'05.2"E và 10°52'30.8"N, 106°47'37.6"E). Mẫu lan được bảo quản trong túi ziplock có hạt hút ẩm. Tổng cộng có 81 mẫu lá/hoa/thân lan có triệu chứng bệnh được thu thập. Trong đó có 6 mẫu đốm thân lan *Dendrobium*, 10 mẫu đốm hoa lan *Dendrobium* và 65 mẫu đốm lá (40 mẫu lan *Dendrobium*, 7 mẫu lan *Mokara*, 18 mẫu lan *Aerides*).

¹ Khoa Khoa học Sinh học, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

² Phòng Chẩn đoán Bệnh cây, Viện Nghiên cứu Công nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

* Tác giả liên hệ, email: buicachtuyen@gmail.com

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân lập tác nhân gây bệnh

Mẫu nấm được phân lập từ lá và hoa lan có triệu chứng bệnh theo phương pháp mô tả bởi Huỳnh Thị Hồng Phấn và cộng sự (2025). Sau khi rửa lá dưới dòng nước chảy, các mảnh cắt chứa mô bệnh (4 cm²/mảnh) được khử trùng lần lượt bằng ethanol 70% trong 30 giây, NaClO 1% trong 60 giây và 3 lần nước vô trùng. Mảnh cắt mô bệnh được thấm khô và cắt thành các mảnh nhỏ hơn (0,5 cm²/mảnh), sau đó đặt lên môi trường WA (agar 15 g/L). Sau 2 - 3 ngày, tơ nấm phát triển trên mảnh mô được chuyển sang môi trường PDA (khoai tây 200 g/L, glucose 20 g/L, agar 20 g/L) và ủ ở 28 ± 2°C trong điều kiện tối. Mẫu nấm được lưu trữ lâu dài trong ống thạch nghiêng có chứa glycerol 20%.

2.2.2. Phương pháp quan sát hình thái mẫu nấm phân lập

Các mẫu nấm phân lập được quan sát hình thái đại thể dưới kính hiển vi soi nổi (SZM7045, Novel), cấu trúc vi thể được quan sát dưới kính hiển vi quang học (L1100A, Shina). Các đặc điểm hình thái được nhận diện và so sánh theo cẩm nang về nấm học của Webster và Weber (2007).

Để quan sát sự hình thành cấu trúc vi thể, mẫu nấm phân lập được ủ trên lame đặt trong buồng ẩm theo phương pháp của Yang và cộng sự (2009). Buồng ẩm được chuẩn bị bằng cách đặt các lame có mẫu nấm vào đĩa Petri có lót giấy ẩm. Để kích thích sự hình thành bào tử, nấm được nuôi cấy ở môi trường PNA (lá kim thông khô, agar 20 g/L) và môi trường OA (yến mạch 20 g/L, agar 20 g/L).

2.2.3. Phương pháp kiểm tra khả năng gây bệnh nhân tạo

Các mẫu nấm phân lập được kiểm tra khả năng gây bệnh nhân tạo trên cây lan mô *Dendrobium* theo nguyên lý của Koch với quy trình được cải tiến bởi Huỳnh Thị Hồng Phấn và cộng sự (2025). Trên mỗi cây, 1 - 2 lá được chọn để lây nhiễm, mỗi lá tạo ba vết thương bằng đầu ống tiêm vô trùng. Tại mỗi vết thương, một khối thạch (0,5 cm²) cắt từ tản nấm 7 ngày tuổi được đặt trực tiếp trong 24 giờ, sau đó khối thạch được loại bỏ. Sự xuất hiện và tiến triển của vết bệnh được theo dõi sau 24, 48 và 72 giờ.

Đối với các mẫu nấm phân lập từ hoa, thí nghiệm được tiến hành trên nụ hoa lan. Mỗi nụ được tạo 2 vết thương và xử lý theo quy trình tương tự. Triệu chứng quan sát được trên lá và nụ được so sánh với biểu hiện bệnh tự nhiên. Nấm được phân lập lại từ vết bệnh nhân tạo và đối chiếu với mẫu ban đầu nhằm xác nhận tác nhân gây bệnh.

2.2.4. Phương pháp PCR và phân tích trình tự vùng ITS

DNA của các mẫu nấm phân lập được ly trích theo

phương pháp của Nakayashiki và cộng sự (1999). Phản ứng PCR được thực hiện trên máy luân nhiệt (GeneQ, Bioer) với thể tích mỗi phản ứng là 25 µL (12,5 µL 2X PCR Master Mix, 1 µL DNA, 1 µL mỗi xuôi ITS1, 1 µL mỗi ngược ITS4 và 9,5 µL ddH₂O). Vùng ITS được khuếch đại bằng cặp mồi ITS1/ITS4 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'/5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') theo chu trình nhiệt của White và cộng sự (1990), bao gồm: giai đoạn biến tính ban đầu ở 94°C trong 3 phút; 35 chu kỳ với biến tính ở 94°C trong 30 giây, bắt cặp ở 55°C trong 30 giây, kéo dài ở 72°C trong 1 phút; và kéo dài cuối cùng ở 72°C trong 10 phút. Sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel agarose 1,5% (AD160, Takara Bio) trong dịch đệm TAE 1X ở điều kiện 100 V trong 30 phút. DNA ladder được nạp cùng để so sánh kích thước. Kết quả quan sát bằng buồng soi gel UV (CSLUVTS312, Cleaver Scientific).

Sản phẩm PCR trình tự ITS được gửi phân tích tại Công ty 1st BASE (<https://base-asia.com/>). Hai chiều trình tự được xử lý riêng biệt và ghép nối bằng công cụ Global alignment trong phần mềm Geneious Prime phiên bản 11.0.20.1+1. Các trình tự trong nghiên cứu được so sánh với dữ liệu tham chiếu trên cơ sở dữ liệu NCBI bằng BLAST phiên bản 2.15.0. Cây phát sinh được xây dựng bằng phương pháp ghép nối lân cận (neighbor-joining) với 1.000 bootstrap để đánh giá độ tin cậy của các nhánh.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 3 năm 2023 đến tháng 3 năm 2026 tại Phòng Chẩn đoán Bệnh cây, Viện Nghiên cứu Công nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

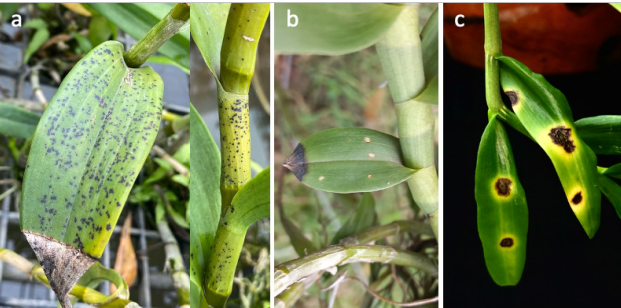
3.1. Triệu chứng bệnh trên lan *Dendrobium* và *Aerides*

Lan *Dendrobium* và *Aerides* biểu hiện triệu chứng bệnh đa dạng trên lá, thân và hoa. Triệu chứng bệnh trên lan có thể được phân thành năm nhóm chính: (1) đốm đen nhỏ trên lá và thân; (2) cháy nâu ở đầu lá; (3) đốm nâu có quang vàng trên lá; (4) đốm nâu lá (hay còn gọi là bệnh gỉ sắt) và (5) đốm nâu nhỏ trên cánh hoa (Hình 1).

Nhóm triệu chứng 1 có đốm đen nhỏ chủ yếu xuất hiện trên lá và thân lan *Dendrobium nobile* Yamamoto (Dendro Xuân). Đốm đen có kích thước dưới 1,5 mm, không có quang quanh đốm. Đốm thường xuất hiện trên lá và thân lan già (Hình 1a).

Nhóm 2 là triệu chứng cháy nâu ở đầu lá, chủ yếu hiện diện ở lan *D. chrysanthum* (Phi điệp vàng). Phần đầu lá bị cháy khô, chuyển màu nâu sẫm và lan dần vào phiến lá (Hình 1b). Quan sát dưới kính hiển vi soi nổi thấy có các đốm đen nhỏ trên vết bệnh.

Triệu chứng đốm nâu có quầng vàng (nhóm 3) xuất hiện phổ biến ở lan *D. anosmum* (Giả hạc) và *D. parishii* (Hoàng thảo tím hồng). Các đốm này có kích thước lớn (đường kính có thể lên đến 4 cm), màu nâu sẫm ở trung tâm và bao quanh bởi quầng vàng rõ rệt (Hình 1c). Bệnh lây lan nhanh giữa các cây thuộc hai loài trên và gây rụng lá sớm.

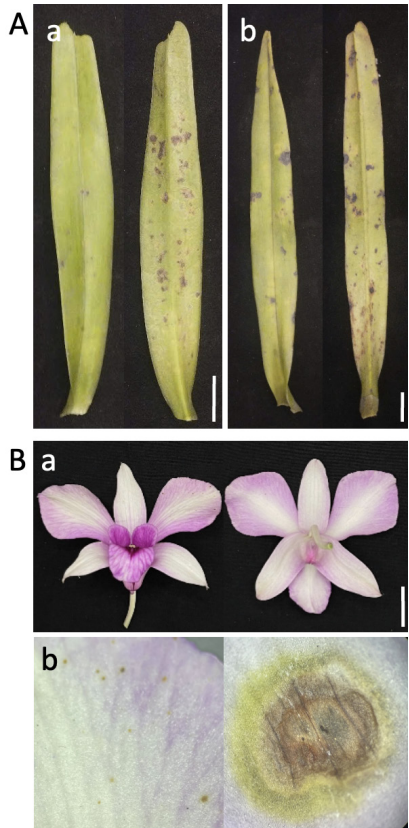


Hình 1. Triệu chứng bệnh trên lan *Dendrobium* trồng tại TP. Hồ Chí Minh

Ghi chú: a. Đốm đen nhỏ trên lá và thân lan *D. nobile* Yamamoto; b. Cháy nâu đầu lá lan *D. chrysanthum*; c. Đốm nâu có quầng vàng trên lá lan *D. parishii*.

Nhóm triệu chứng 4 là đốm nâu lá, xuất hiện chủ yếu trên các nhóm lan đơn thân như *Aerides* (Giáng hương), *Mokara*, *Vanda* và *Rhynchostylis* (Ngọc điểm). Trong nghiên cứu này, lá lan *A. rosea* và *A. falcata* có triệu chứng đốm nâu được thu thập và định danh tác nhân gây bệnh. Đốm bệnh có màu nâu sẫm, có dạng tròn hoặc bầu dục, kích thước thay đổi từ vài mm đến hơn 1 cm, một số đốm có viền vàng nhạt bao quanh (Hình 2A). Khi bệnh tiến triển, các đốm lan rộng, liên kết với nhau thành mảng lớn, làm lá bị hoại tử và mất màu xanh tự nhiên.

Cuối cùng, nhóm triệu chứng 5 là đốm nâu nhỏ xuất hiện phổ biến trên cánh hoa các loài lan *Dendrobium* sp. trông thương mại. Kích thước đốm dưới 1 mm, có quầng nhạt màu bao quanh (Hình 2B). Khi mật độ đốm cao, hoa trở nên kém thẩm mỹ, nhanh tàn và mất giá trị thương mại.

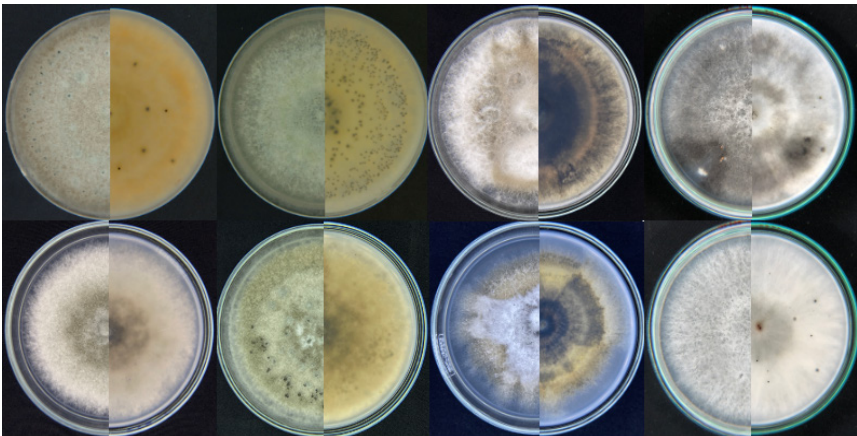


Hình 2. Triệu chứng bệnh trên lan *Dendrobium* và *Aerides* trồng tại TP. Hồ Chí Minh

Ghi chú: A. Triệu chứng bệnh trên lan *Aerides*: a. Đốm nâu trên lá lan *A. rosea* (hình trái: mặt trên lá, hình phải: mặt dưới lá); b. Đốm nâu trên lá lan *A. falcata*. B. Triệu chứng bệnh trên lan *Dendrobium*: a. Đốm nâu trên hoa lan *Dendrobium* sp.; b. Đốm nâu dưới kính hiển vi soi nổi. Thanh tỷ lệ = 1 cm.

3.2. Kết quả phân lập nấm từ lan có triệu chứng bệnh

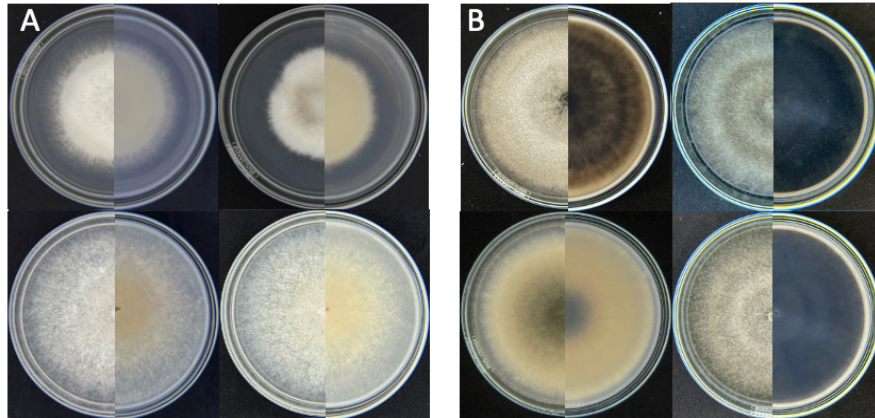
Tổng cộng đã thu thập được 81 mẫu lá/hoa/thân lan có triệu chứng bệnh và phân lập được 113 mẫu nấm, trong số đó, có 92 mẫu nấm có hình thái tản nấm và bào tử tương đồng với chi *Colletotrichum* dựa theo khoá phân loại của Liu và cộng sự (2022). Trên môi trường PDA, các mẫu nấm phân lập có đặc điểm hình thái đa dạng về màu sắc và kết cấu tản nấm.



Hình 3. Hình thái tản nấm các mẫu phân lập từ lan *Dendrobium* có triệu chứng đốm đen nhỏ, đốm nâu có quầng vàng và cháy nâu đầu lá

Các mẫu nấm phân lập có màu sắc tản nấm đa dạng, từ trắng xám nhạt đến cam đỏ, nâu hoặc xanh đen. Tốc độ sinh trưởng khá nhanh, tơ nấm bao phủ toàn bộ bề mặt đĩa PDA (đường kính 90 mm) sau 5 - 7 ngày nuôi

cấy. Một số mẫu nấm hình thành hạch nấm sau 14 ngày, trong đó các mẫu phân lập từ nhóm triệu chứng bệnh 1, 2 và 3 có thời gian hình thành hạch nấm sớm hơn (10 - 14 ngày) (Hình 3).



Hình 4. Hình thái tản nấm các mẫu phân lập từ lan *Aerides* và *Dendrobium*

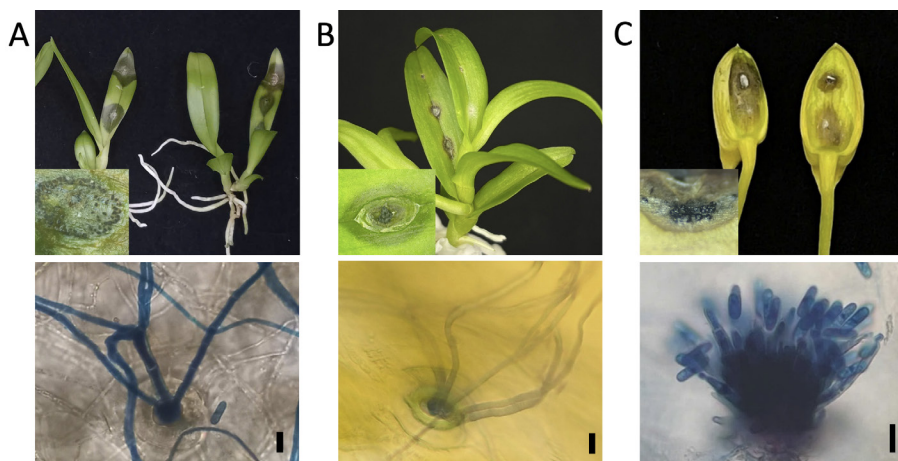
Ghi chú: A. Các mẫu nấm phân lập từ lan *Aerides* có triệu chứng đốm nâu lá; B. Các mẫu nấm phân lập từ lan *Dendrobium* có triệu chứng đốm nâu hoa.

Các mẫu nấm phân lập từ nhóm triệu chứng bệnh 4 ít hình thành hạch nấm, đa số tản nấm màu trắng đến trắng xám, có rìa không đều (Hình 4A). Trong khi đó, các mẫu nấm phân lập từ nhóm triệu chứng bệnh 5 có tản nấm tối màu hơn và hình thành hạch nấm chậm hơn (Hình 4B).

3.3. Khả năng gây vết bệnh nhân tạo của *Colletotrichum* sp. trên lan nuôi cấy mô

Có 38 mẫu nấm *Colletotrichum* sp. được chọn để kiểm tra khả năng gây vết bệnh trên cây lan nuôi cấy mô và nụ hoa. Trong đó, các mẫu nấm phân lập từ nhóm triệu chứng 1, 2 và 3 gây nên các vết úng nước kèm theo sự xuất hiện của các đốm đen xung quanh vết bệnh (Hình 5A), quan sát dưới kính hiển vi cho

thấy các đốm này chính là đĩa áp (appressorium) của *Colletotrichum*. Các mẫu nấm phân lập từ nhóm triệu chứng 4 gây ra vết bệnh màu nâu, khô, có hình elip đặc trưng (Hình 5B). Trong khi đó, các mẫu nấm phân lập từ nhóm triệu chứng 5 tạo vết bệnh màu nâu sẫm, có viền đậm rõ rệt, đồng thời hình thành đĩa áp tại vị trí vết bệnh (Hình 5C). Kết quả nhuộm mô bệnh ghi nhận sự xâm nhiễm của sợi nấm thông qua khí khổng của lá, đồng thời hình thành các đĩa áp tại khí khổng để giải phóng bào tử. Tất cả 38 mẫu nấm được chọn đều gây ra vết tổn thương trên lan và không có tổn thương đáng kể lá cây đối chứng. Mẫu nấm tái phân lập từ vết bệnh nhân tạo cũng có hình thái tương tự như mẫu nấm đã sử dụng ban đầu. Những quan sát này cho thấy *Colletotrichum* là tác nhân gây bệnh trên lan *Dendrobium* và *Aerides*.



Hình 5. Vết bệnh nhân tạo do *Colletotrichum* gây ra trên lan *Dendrobium* sau 72 giờ lây nhiễm

Ghi chú: A. Vết bệnh nhân tạo do mẫu nấm phân lập từ vết đốm nâu có quang vàng gây ra (hình trên: vết bệnh nhân tạo, hình dưới: kết quả nhuộm mô bệnh); B. Vết bệnh nhân tạo do mẫu nấm phân lập từ vết đốm nâu trên lá gây ra; C. Vết bệnh nhân tạo do mẫu nấm phân lập từ vết đốm nâu trên hoa gây ra. Thanh tỷ lệ = 10 μ m.

3.4. So sánh tương đồng trình tự vùng ITS của *Colletotrichum* sp. với dữ liệu tham chiếu trên GenBank

Tổng cộng có 10 mẫu nấm đại diện cho 5 nhóm triệu chứng bệnh được chọn để PCR và giải trình tự

vùng ITS (Bảng 1). Kết quả BLAST cho thấy các trình tự ITS của 10 mẫu nấm đại diện có mức độ tương đồng cao (98 - 100%) với các trình tự tham chiếu thuộc ba loài *Colletotrichum* gồm *C. coelogyne*s, *C. fructicola* và *C. orchidearum* (Bảng 2).

Bảng 1. Danh sách các mẫu nấm đại diện được chọn để giải trình tự vùng ITS với các mẫu tham chiếu trên GenBank

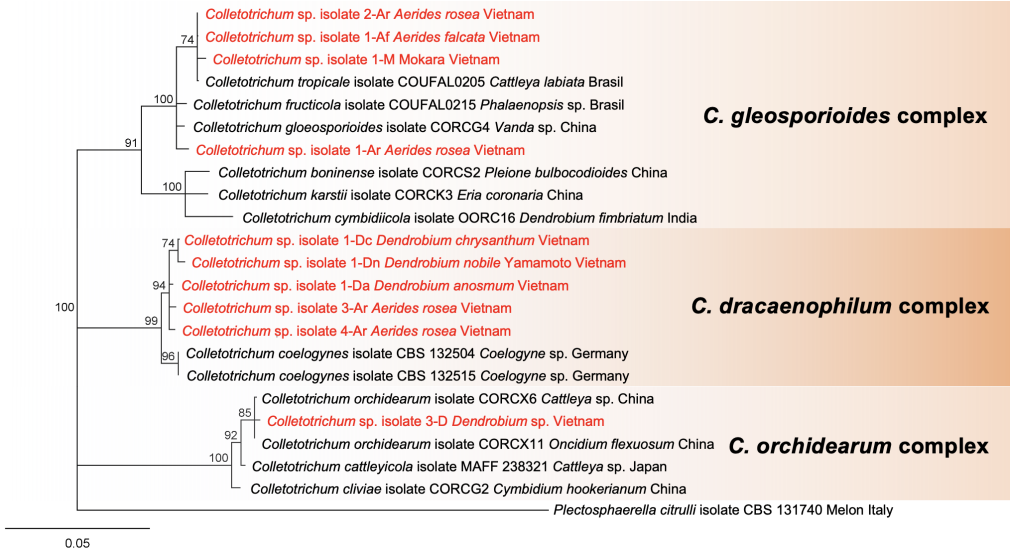
Mẫu nấm	Loài lan	Triệu chứng	Bộ phận bệnh
1-Dn	<i>Dendrobium nobile</i> Yamamoto	Đốm đen nhỏ	Lá, thân
1-Dc	<i>Dendrobium chrysanthum</i>	Cháy nâu	Lá
1-Da	<i>Dendrobium anosmum</i>	Đốm nâu có quầng vàng	Lá
3-Ar	<i>Aerides rosea</i>	Đốm nâu	Lá
4-Ar	<i>Aerides rosea</i>	Đốm nâu	Lá
1-Ar	<i>Aerides rosea</i>	Đốm nâu	Lá
2-Ar	<i>Aerides rosea</i>	Đốm nâu	Lá
1-Af	<i>Aerides falcata</i>	Đốm nâu	Lá
1-M	Mokara	Đốm nâu	Lá
3-D	<i>Dendrobium</i> sp.	Đốm nâu	Hoa

Bảng 2. Kết quả BLAST so sánh độ tương đồng trình tự ITS của các mẫu nấm phân lập từ lan với các mẫu tham chiếu trên GenBank

Mẫu nấm	Độ tương đồng với trình tự tham chiếu trên GenBank	Loài tham chiếu	Mã số GenBank
1-Dn	98,28	<i>Colletotrichum coelogyne</i> s	NR160827
1-Dc	98,69	<i>Colletotrichum coelogyne</i> s	NR160827
1-Da	98,87	<i>Colletotrichum coelogyne</i> s	NR160827
3-Ar	98,7	<i>Colletotrichum coelogyne</i> s	NR160827
4-Ar	98,7	<i>Colletotrichum coelogyne</i> s	NR160827
1-Ar	99,64	<i>Colletotrichum fructicola</i>	MH939970
2-Ar	99,59	<i>Colletotrichum fructicola</i>	MH939970
1-Af	99,45	<i>Colletotrichum fructicola</i>	MH939970
1-M	97,67	<i>Colletotrichum fructicola</i>	MH939970
3-D	100,00	<i>Colletotrichum orchidearum</i>	HM585403

Cụ thể, các mẫu nấm phân lập từ lá lan *Dendrobium nobile* Yamamoto, *D. chrysanthum*, *D. anosmum* và

A. rosea có trình tự gần với *C. coelogyne*s (thuộc phức hợp *C. dracaenophilum*). Trong khi các mẫu nấm phân lập từ vết đốm nâu trên lan *A. rosea*, *A. falcata* và Mokara tương đồng với *C. fructicola* (thuộc phức hợp *C. gloeosporioides*). Đáng chú ý, mẫu nấm phân lập từ hoa lan *Dendrobium* sp. gây bệnh trên hoa có trình tự trùng khớp hoàn toàn với *C. orchidearum* (thuộc phức hợp *C. orchidearum*). Cây phân nhóm tương đồng trình tự vùng ITS với các mẫu tham chiếu có ký chủ thuộc họ Lan cho thấy các mẫu nấm đại diện phân bố vào ba nhánh riêng biệt, tương ứng với ba phức hợp nói trên (Hình 6). Các nhánh chính đều có giá trị bootstrap cao (91 - 100%), phản ánh mức độ tin cậy trong việc phân tách các nhóm. Độ dài nhánh trong từng phức hợp ngắn thể hiện sự tương đồng cao, trong khi nhánh giữa các phức hợp dài hơn cho thấy sự khác biệt di truyền.



Hình 6. Cây phân nhóm tương đồng trình tự vùng ITS với trình tự tham chiếu có ký chủ là lan

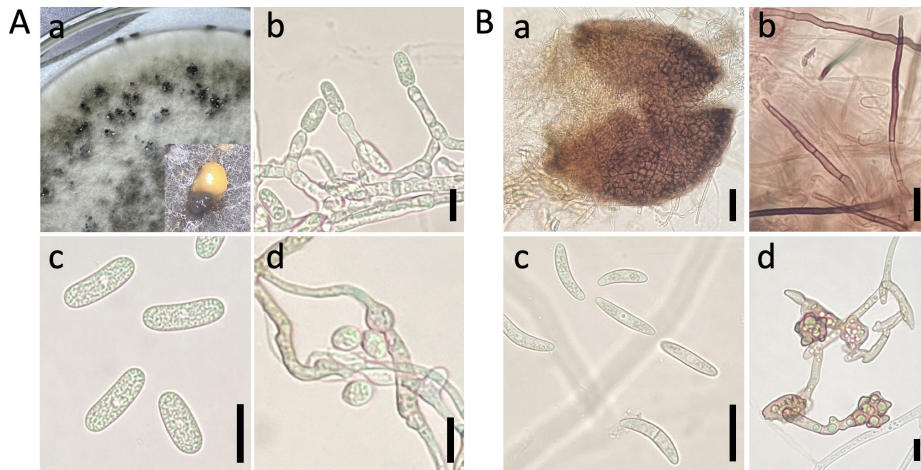
Ghi chú: Các mẫu trong nghiên cứu được tô đỏ; giá trị bootstrap (%) được hiển thị tại các nút; Plectosphaerella citrulli được sử dụng làm nhóm ngoài.

3.5. Đặc điểm hình thái nấm *Colletotrichum* gây bệnh trên lan

3.5.1. Đặc điểm hình thái nấm thuộc phức hợp *C. dracaenophilum*

Đặc điểm hình thái nấm thuộc phức hợp *C. dracaenophilum* được thể hiện trong hình 7 và hình 8A. Trên môi trường PDA, các mẫu nấm phân lập hình thành dày đặc các ổ bào tử (conidiomata) màu vàng cam, thường được bao bọc bởi các sợi nấm khí sinh. Cành mang bào tử được biệt hóa trực tiếp từ sợi nấm, hình trụ đến hình bình, trong suốt, có vách ngăn, phân nhánh, chiều dài dao động 12 - 45 μm ($n = 50$). Bào tử được giải phóng từ đỉnh của cành mang bào tử, có hình trụ với hai đầu tròn, hơi lõm ở giữa, trong suốt, không có vách ngăn.

Bào tử nảy mầm bằng cách hình thành ống mầm mảnh từ giữa hoặc đỉnh của bào tử. Trên môi trường OA, bào tử vách dày hình thành đơn lẻ ở giữa sợi nấm, hình cầu đến oval, trong suốt và không có vách ngăn, kích thước trung bình $5,1 \pm 0,9 \times 5,2 \pm 2,0 \mu\text{m}$ ($n = 20$). Giác bám được hình thành khi sợi nấm tiếp xúc với bề mặt phẳng (như cạnh đĩa Petri hoặc phiến lamelle trong buồng ẩm). Giác bám thường hình thành theo từng nhóm, có hình tương đối tròn với các rìa không đều, màu nâu nhạt. Ngoài giác bám, nấm còn hình thành sợi nấm cuộn xoắn để tăng diện tích tiếp xúc trên mặt phẳng. Gai cứng màu nâu đen, thường hình thành bên ngoài hạch nấm hoặc trên đĩa áp, dạng trụ dài và thon dần ở phía đỉnh, có nhiều vách ngăn, tế bào đáy thường phồng lên ở giữa.

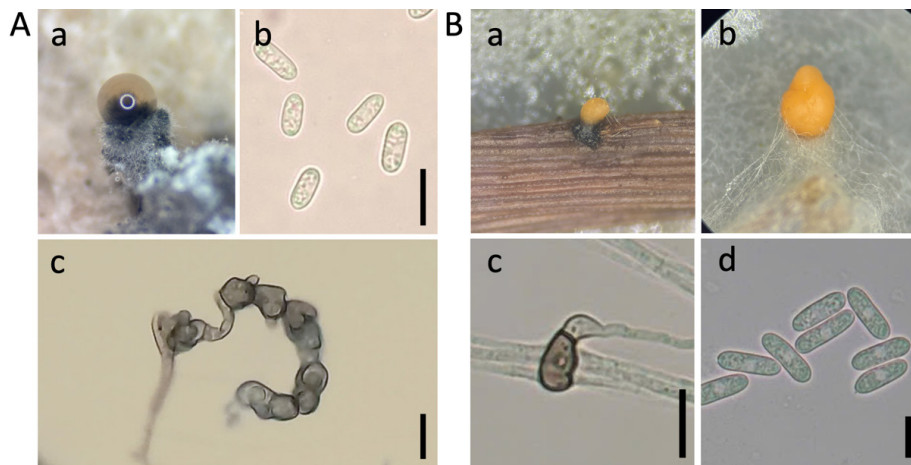


Hình 7. Đặc điểm hình thái mẫu 1-Dn thuộc phức hợp *C. dracaenophilum*

Ghi chú: A. Hình thái vô tính: a. Ổ bào tử; b. cành mang bào tử; c. bào tử; d. bào tử vách dày. B. Hình thái hữu tính: a. Quả thể hữu tính; b. gai cứng; c. bào tử nang; d. giác bám. Thanh tỷ lệ = 10 μm .

Ghi nhận trạng thái hữu tính ở một số mẫu nấm phân lập và hình thái của mẫu 1-Dn được thể hiện trong hình 8B. Quả thể hữu tính (ascomata) hình thành đơn lẻ trên môi trường PDA, hình cầu, màu nâu đen, kích thước trung bình $80,0 \pm 3,0 \times 95,2 \pm 2,0 \mu\text{m}$ ($n = 12$).

Bên trong quả thể hữu tính chứa các túi nang (asci), túi nang chứa các bào tử nang (ascospore). Bào tử nang hình trụ với hai đầu thuôn dài, thẳng hoặc cong ở giữa, trong suốt, đôi khi có 1 vách ngăn, kích thước trung bình $12,7 \pm 1,8 \times 3,3 \pm 0,4 \mu\text{m}$ ($n = 30$).



Hình 8. Đặc điểm hình thái phức hợp *C. dracaenophilum* và *C. gloeosporioides*

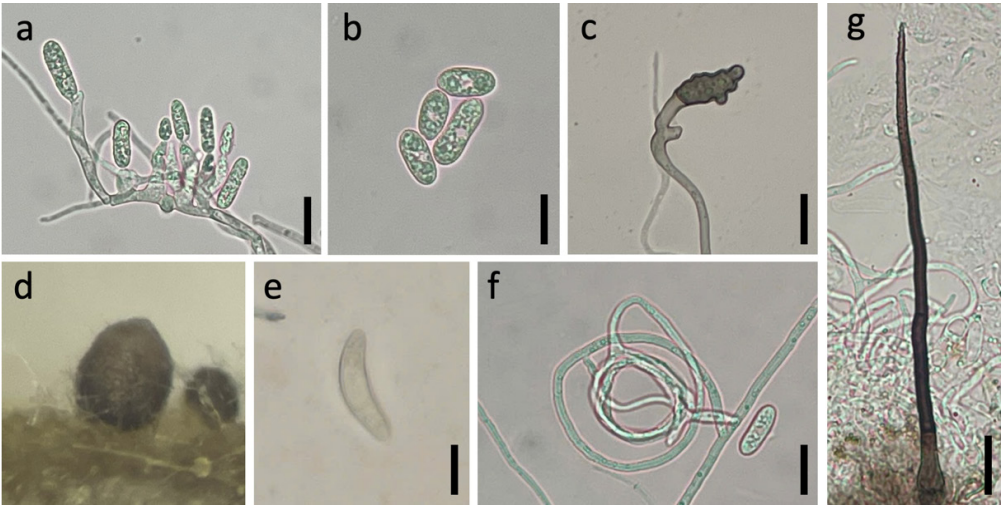
Ghi chú: A. Mẫu 1-Dc thuộc phức hợp *C. dracaenophilum*: a. ổ bào tử; b. bào tử; c. giác bám. B. Mẫu 1-Ar thuộc phức hợp *C. gloeosporioides*: a. ổ bào tử trên lá kim thông; b. ổ bào tử trong buồng ẩm; c. giác bám; d. bào tử. Thanh tỷ lệ = 10 μm .

3.5.2. Đặc điểm hình thái nấm thuộc phức hợp *C. gloeosporioides*

Đặc điểm hình thái của nấm thuộc phức hợp *C. gloeosporioides* được thể hiện trong Hình 8B. Ổ bào tử màu cam hình thành trên lá kim thông (môi trường PNA) và khối thạch trong buồng ẩm. Cành mang bào tử trong suốt, hình trụ, ngắn, phân nhánh ít. Bào tử có hình trụ với hai đầu tròn hoặc một đầu tròn và một đầu nhọn, thẳng, trong suốt, không có vách ngăn, kích thước trung bình $12,8 \pm 0,9 \times 5,3 \pm 0,5 \mu\text{m}$ ($n = 30$). Giác bám hình thành đơn lẻ ở đỉnh sợi nấm, hình quả lê hoặc hình trứng có viền không đều, màu nâu nhạt. Gai cứng thường hình thành ở rìa của ổ bào tử, hình trụ dài thon dần về phía đỉnh, màu nâu đen, có vách ngăn. Không ghi nhận hình thái hữu tính ở các mẫu nấm phân lập thuộc phức hợp này.

3.5.3. Đặc điểm hình thái nấm thuộc phức hợp *C. orchidearum*

Đặc điểm hình thái nấm 3-D thuộc phức hợp *C. orchidearum* được trình bày trong Hình 9. Ổ bào tử màu cam hình thành trên môi trường PDA và môi trường buồng ẩm. Cành mang bào tử trong suốt, hình trụ thuôn ở đỉnh, có vách ngăn, ít phân nhánh. Bào tử hình trụ có hai đầu tròn hoặc hình trứng, trong suốt, không có vách ngăn, kích thước trung bình $17,2 \pm 3,9 \times 5,2 \pm 0,9 \mu\text{m}$ ($n = 30$). Giác bám có hình trứng hoặc hình chùy với viền không đều, màu nâu. Quả thể hữu tính hình thành đơn lẻ trên khối thạch trong buồng ẩm, hình cầu hoặc hình quả lê, màu đen, kích thước trung bình $204,3 \pm 42,9 \times 134,6 \pm 15,1 \mu\text{m}$ ($n = 3$). Bào tử nang hình trụ cong với hai đầu nhọn, trong suốt, không có vách ngăn. Gai cứng màu nâu, hình trụ dài thon dần về phía đỉnh, có vách ngăn.



Hình 9. Đặc điểm hình thái mẫu 3-D thuộc phức hợp *C. orchidearum*

Ghi chú: a. cành mang bào tử, b. bào tử, c. giác bám, d. quả thể hữu tính, e. bào tử nang, f. sợi nấm cuộn xoắn, g. gai cứng. Thanh tỷ lệ = 10 μm .

3.5. Thảo luận

Các thông số về kích thước bào tử, hình dạng giác bám và sự xuất hiện của quả thể hữu tính trong các phức hợp *C. dracaenophilum*, *C. gloeosporioides* và *C. orchidearum* đều nằm trong phạm vi biến thiên đã được ghi nhận trong khoá phân loại của Liu và cộng sự (2022). Sự tương đồng này cho thấy kết quả định danh bằng ITS và hình thái trong nghiên cứu có độ tin cậy cao, củng cố cơ sở phân loại các mẫu nấm phân lập thuộc ba phức hợp chính gây bệnh trên lan tại Việt Nam.

Trong báo cáo của Weir và cộng sự (2012) và Damm và cộng sự (2019), phức hợp *C. gloeosporioides* được ghi nhận gây bệnh thối lá và thối thân trên nhiều loài lan như *Dendrobium*, *Phalaenopsis* và *Cymbidium* tại Hà Lan. Liu và cộng sự (2016) cũng mô tả phức hợp *C. dracaenophilum* gây bệnh đốm lá trên *Coelogyne*

và *Aerides* tại Trung Quốc, trong khi Basu và cộng sự (2024) ghi nhận phức hợp *C. orchidearum* gây bệnh thối hoa *Cattleya* và *Dendrobium* tại Ấn Độ. Như vậy, sự hiện diện đồng thời của ba phức hợp trong nghiên cứu này phản ánh tính đa dạng loài và khả năng thích nghi của *Colletotrichum* trên các loài lan tại Việt Nam.

Tại Việt Nam, nhiều nghiên cứu đã tập trung vào *Colletotrichum* gây bệnh trên cây ăn quả và cây công nghiệp. Chẳng hạn, trên xoài (*Mangifera indica*), Nguyen Thi Thuy Tien và cộng sự (2025a) đã xác định *C. asianum*, *C. fruticicola* và *C. laticiphilum* (thuộc phức hợp *C. gloeosporioides*) là tác nhân gây bệnh thán thư. Nguyen Thi Thuy Tien và cộng sự (2025b) cũng ghi nhận *C. scovillei*, *C. truncatum* và *C. siamense* (thuộc phức hợp *C. acutatum* và *C. truncatum*) gây bệnh thán thư trên ớt (*Capsicum annuum*). Gần đây,

C. nymphaeae (thuộc phức hợp *C. acutatum*) cũng được báo cáo gây bệnh thán thư lá dầu tây tại Lâm Đồng (Dung Le *et al.*, 2025). Những nghiên cứu này cho thấy *Colletotrichum* đã được quan tâm nhiều ở Việt Nam nhưng dữ liệu về tác nhân gây bệnh trên lan vẫn còn hạn chế.

Sự khác biệt về triệu chứng bệnh giữa các loài lan có thể phản ánh sự thích nghi với ký chủ hoặc biến đổi vi mô trong quần thể nấm, tương tự như các quá trình vi tiến hóa đã được đề cập trong các nghiên cứu về đa dạng nội loài của *Colletotrichum* (Cai *et al.*, 2009; Sharma *et al.*, 2019). Đáng chú ý, việc ghi nhận trạng thái hữu tính ở một số mẫu thuộc phức hợp *C. dracaenophilum* và *C. orchidearum* có khả năng liên quan đến sự tồn tại lâu dài của quần thể nấm gây bệnh trên lan.

IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được ba phức hợp *Colletotrichum* gây bệnh trên lan *Dendrobium* và *Aerides* tại Việt Nam dựa trên phân tích trình tự ITS kết hợp với đặc điểm hình thái. Cụ thể, nấm thuộc phức hợp *C. dracaenophilum* gây nhiều triệu chứng bệnh như đốm đen nhỏ trên lá và thân lan, cháy nâu đầu lá, đốm nâu và đốm nâu có quầng vàng trên lá lan *Dendrobium*. Nấm thuộc phức hợp *C. gloeosporioides* chủ yếu gây bệnh đốm nâu trên lá *Aerides* và Mokara. Trong khi nấm thuộc phức hợp *C. orchidearum* gây bệnh đốm nâu trên hoa *Dendrobium*. Sự hiện diện đồng thời của ba phức hợp này cho thấy *Colletotrichum* có phổ ký chủ rộng và khả năng thích nghi cao trên các loài lan nhiệt đới tại Việt Nam.

LỜI CẢM ƠN

Xin cảm ơn các cựu sinh viên phòng thí nghiệm bệnh cây đã tài trợ dụng cụ, thiết bị cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Huỳnh Thị Hồng Phấn, Thạch Bá Thiên, Nguyễn Minh Đức, Đặng Thị Bảo Quyên, Lê Đình Đôn, Bùi Cách Tuyến, 2025. Xác định nấm *Phyllosticta capitalensis* trên *Dendrobium nobile* Yamamoto bằng trình tự vùng ITS, TEF1, LSU và hình thái. Trong *Kỷ yếu Hội nghị Khoa học toàn quốc về Công nghệ Sinh học*, Trường Đại học Nông Lâm TP Hồ Chí Minh. Nhà xuất bản Nông nghiệp, 2: 321-326.

Bộ Khoa học và Công nghệ, 2007. *Sách Đỏ Việt Nam - Phần II: Thực vật*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật: 611 trang.

Basu A., Chowdhury S., Dutta S., Chatterjee S., 2024. First report of *Colletotrichum orchidearum* causing anthracnose on *Cattleya* orchids in India. *Plant Disease*, 108 (3): 765-770.

Cai L., Hyde K.D., Taylor P.W.J., Weir B.S., Waller J.M., Abang M.M., Zhang J.Z., Yang Y.L., Phoulivong S., Liu Z.Y., Prihastuti H., 2009. A polyphasic approach for studying *Colletotrichum*. *Fungal Diversity*, 39: 183-204.

Damm U., Cannon P.F., Woudenberg J.H.C., Crous P.W., 2019. The *Colletotrichum* species complex. *Studies in Mycology*, 92: 1-46.

Dung Le, An Thuy Bui, Huynh Duy Tran, Hoa Thi Kim Thuan Nguyen, 2025. Emergence of *Colletotrichum nymphaeae* in Vietnam: etiology and cultivar response to strawberry leaf anthracnose. *Archives of Microbiology*, 208: 78.

Liu F., Wang M., Cai L., Crous P.W., 2016. *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease of orchids in China. *Fungal Diversity*, 82: 1-26.

Liu F., Ma Z.Y., Hou L.W., Diao Y.Z., Wu W.P., Damm U., Cai L., 2022. Updating species diversity of *Colletotrichum*, with a phylogenomic overview. *Studies in Mycology*, 101 (1): 1-56.

Nakayashiki H., Kiyotaka N., Tosa Y., Mayama S., 1999. DNA extraction methods for filamentous fungi suitable for PCR amplification. *Fungal Genetics Reports*, 46: 29-32.

Nguyen Thi Thuy Tien, Le Thi Ha Thanh, Tran Thi My Linh, Nguyen Quang Duc Tien, Nguyen Hoang Loc, 2025a. Identification, characterization and pathogenicity of *Colletotrichum asianum*, *C. fructicola* and *C. laticophilum* causing mango anthracnose in Vietnam. *Canadian Journal of Microbiology*, 71: 1-19.

Nguyen Thi Thuy Tien, Le Thi Ha Thanh, Nguyen Thi Kim Thi, Phung Thi Bích Hoa, Nguyen Quang Duc Tien, Nguyen Hoang Loc, 2025b. First report of *Colletotrichum* species causing chili anthracnose in Hue, Vietnam. *Australasian Plant Pathology*, 54: 413-424.

Sharma G., Kumar V., Singh D., Sharma S., 2019. Evolutionary dynamics of *Colletotrichum* species. *Mycological Progress*, 18: 1023-1035.

Webster J., Weber R., 2007. *Introduction to fungi*. Cambridge University Press, Cambridge: 841 pp.

Weir B.S., Johnston P.R., Damm U., 2012. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Studies in Mycology*, 73: 115-180.

White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J., 1990. *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics*. Academic Press, San Diego, p. 315-322.

Yang Y.L., Liu Z.Y., Cai L., Hyde K.D., Yu Z.N., McKenzie E.H.C., 2009. *Colletotrichum* anthracnose of Amaryllidaceae. *Fungal Diversity*, 39: 123-146.

A study of the diversity of *Colletotrichum* sp. causing leaf spot disease in orchids
based on morphology and ITS sequence

Huynh Thi Hong Phan, Thach Ba Thien, Dang Thi Bao Quyen,
Nguyen Thi Ngoc Tuyen, Le Dinh Don, Bui Cach Tuyen

Abstract

Fungal pathogens are the leading cause of leaf spot symptoms on cultivated orchids in Vietnam, yet information on *Colletotrichum* diversity remains scarce. This study aimed to identify *Colletotrichum* complexes responsible for leaf spot disease on *Dendrobium* and *Aerides* orchids in Vietnam. From 2023 to 2025, symptomatic leaves, stems, and flowers were collected from orchid gardens and subjected to fungal isolation, morphological examination, and ITS sequence analysis. Three complexes of *Colletotrichum* were identified: (i) *C. dracaenophilum*, associated with small black spots, leaf tip blight, and brown lesions with yellow halos on *Dendrobium*; (ii) *C. gloeosporioides*, causing brown leaf spots on *Aerides* and *Mokara*; (iii) *C. orchidearum*, producing brown floral spots on *Dendrobium*. The results obtained from this study provide detailed descriptions of disease symptoms and morphological traits of the complexes. These findings contribute valuable sequence and taxonomic information for future research on *Colletotrichum* diversity and orchid pathology in Vietnam.

Keywords: *Aerides*, *Dendrobium*, *C. dracaenophilum*, *C. gloeosporioides*, *C. Orchidearu*

Ngày nhận bài: 06/5/2026

Người phản biện: TS. Phạm Đức Toàn, TS. Chu Đức Hà

Ngày duyệt đăng: 11/6/2026

Ngày phản biện: 07/5/2026

CẤU TRÚC QUẦN THỂ CỦA CÁC CHỦNG VI KHUẨN *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*
GÂY BỆNH BẠC LÁ LÚA TẠI HAI TỈNH ĐỒNG THÁP VÀ VĨNH LONG

Trần Thị Nam Lý^{1*}, Nguyễn Thị Xuân Mai¹, Nguyễn Đức Cường¹

TÓM TẮT

Bệnh bạc lá lúa do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) gây ra là một trong những bệnh gây thiệt hại nghiêm trọng đến năng suất và phẩm chất lúa gạo. Tính chống chịu vi khuẩn gây bệnh bạc lá được điều khiển bởi những gen chính trong từng giống và luôn thay đổi. Xác định cấu trúc quần thể của các chủng vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* được thực hiện trên bộ giống mang đơn gen kháng và giống chuẩn nhiễm trong điều kiện nhà lưới bằng phương pháp lây nhiễm nhân tạo với 30 chủng vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* thu thập tại hai tỉnh Đồng Tháp và Vĩnh Long. Kết quả cho thấy đã xác định được 8 nhóm kiểu hình, trong đó hai nhóm II và III có kiểu hình thuộc hệ thống phân nhóm Việt Nam (5 nhóm kiểu hình), kiểu hình của các nhóm VI, VII, VIII đã được công bố trước đây trên các chủng vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* của vùng đồng bằng sông Cửu Long, ba nhóm IX, X, XI có kiểu hình khác. Các chủng vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* phần lớn có kiểu hình thuộc nhóm III, chiếm 46,67%. Ba gen *xa5*, *Xa7* và *Xa21* trong tổng số 12 gen kháng vẫn còn hiệu lực kháng với các chủng *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* thuộc hai tỉnh Đồng Tháp và Vĩnh Long. Trong đó, gen kháng *xa5* có hiệu lực kháng cao 96,67%, gen *Xa7* còn hiệu lực kháng 80% và gen *Xa21* có hiệu lực kháng 56,67%.

Từ khóa: Bệnh bạc lá lúa, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, cấu trúc quần thể, gen kháng

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa (*Oryza sativa* L.) là cây lương thực quan trọng nhất ở các quốc gia châu Á và châu Phi (Odongo *et al.*, 2021). Đặc biệt, có hơn 90% lượng lúa gạo được sản xuất và tiêu thụ tại khu vực châu Á đóng vai trò then chốt với 6 quốc gia (Trung Quốc, Ấn Độ, Indonesia, Bangladesh, Việt Nam và Nhật Bản) chiếm tới 80% tổng sản lượng và tiêu thụ lúa gạo toàn cầu (Abdullah *et al.*, 2007). Bệnh bạc lá lúa do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây ra là một trong những bệnh hại lúa phổ biến. Vi khuẩn gây

bệnh này từng được xếp thứ 4 trong số 10 loài vi khuẩn thực vật nguy hiểm nhất trên thế giới (Mansfield *et al.*, 2012). Đây là bệnh gây hại nghiêm trọng trên lúa ở vùng đồng bằng sông Cửu Long (Phạm Văn Kim, 2015). Vi khuẩn Xoo gây bệnh cho cây lúa vào các giai đoạn từ làm đòng đến trổ bông, dẫn tới việc làm giảm khả năng quang hợp của lá, cây dễ bị nghẹn đòng, hạt lép nhiều và năng suất giảm đáng kể. Thiệt hại năng suất do bệnh bạc lá lúa ước tính từ 20% đến 30%, có thể lên tới 80% khi bệnh gây hại nghiêm trọng (tùy vào giống, giai đoạn

¹ Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long

* Tác giả liên hệ, email: lytranclrri@gmail.com