

*frugiperda* (J E Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a New Alien Invasive Pest in West and Central Africa. PLOS ONE 11(10): e0165632. doi:10.1371/journal.pone.0165632.

7. Passoa S., 1991. Color identification of economically important *Spodoptera* larvae in Honduras (Lepidoptera: Noctuidae). *Insecta Mundi*. Vol. 5 (3-4): 185-195.

8. Nguyễn Thị Kim Oanh, Vũ Thị Phượng, 2009. Thành phần sâu hại cỏ thăm, đặc điểm hình thái, sinh học và diễn biến mật độ của sâu xanh hại cỏ thăm (*Herpetogramma phaeopteralis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae) tại Hà Nội vụ xuân hè 2008. Báo cáo Khoa học về Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật. Hội nghị Khoa học toàn quốc lần thứ 3, Hà Nội, 22/10/2009. Nxb Nông nghiệp, Hà Nội: 1490-1498.

9. Sharanabasappa C. M. Kalleshwaraswamy,

Maruthi M.S, and Pavithra H. B., 2018. Biology of invasive fall army worm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) on maize. *Indian Journal of Entomology*, 80(3): 540-543.

10. Shylesha A. N., Jalali S. K, Ankita Gupta, Richa Varshney, Venkatesan T, Pradeeksha Shetty, Rakshit oja, Prabhu C. Ganiger, Omprakash Navik, Subaharan K, Bakthavatsalam and Chandish Ballal, 2018. Studies on new invasive pest *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) and its natural enemies. *Journal of Biological Control*, 32(3): 1-7

11. Viện Bảo vệ thực vật, 1997. Phương pháp điều tra cơ bản sâu bệnh hại cây trồng nông nghiệp tập 1. Nxb Nông nghiệp, Hà Nội.

**Phản biện: PGS.TS. Khuất Đăng Long**

## **XÁC ĐỊNH LOÀI XÂM LẤN SÂU KEO MÙA THU *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) TRÊN CÂY NGÔ TẠI HÀ NỘI VỤ XUÂN NĂM 2019**

### **Identification of Invasive Species Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) on Maize in Ha Noi in Spring 2019**

**Trần Thị Thu Phương<sup>1</sup>, Đỗ Nguyên Hạnh<sup>1</sup>, Hồ Thị Thu Giang<sup>1</sup>, Hà Việt Cường<sup>2</sup>**

*Ngày nhận bài: 22/4/2019*

*Ngày chấp nhận: 31/5/2019*

#### **Abstract**

The major aim of this study is to identify the identity of an invasive insect observed recently on maize in Viet Nam. The larvae individuals were collected on maize plants grown in Gia Lam - Hanoi in spring 2019 and then reared in laboratory. The identification was done by analyses of the symptoms, the morphological characteristics of developmental phases and adults of 10 male/female pairs and the sequence of the mitochondria cytochrome oxidase subunit I (COI) gene of 2 pupae samples. The symptoms and morphological characteristics of this species were matched perfectly with those of Fall armyworm (FAW) *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). The BLAST search indicated the COI sequences of the 2 samples were 100% identical with that of FAW available in the GenBank. The COI sequences of the 2 samples were 99.8 -100 % and 98.3 - 98.6 % sequence identical with those of the R (Rice) C (corn) strains of FAW, respectively. Similarly, the COI sequences of the 2 samples contained Sacl and Acil sites typical to R (Rice). In the COI tree, the 2 samples were grouped tightly within the R strain cluster of FAW. The COI gene analyses and in comparison with the published

information of the genetic structure of FAW suggested that the FAW samples collected in Hanoi would be interstrain hybrids with RC genotype between R mother and C father similar to that in Africa.

**Keywords:** *Spodoptera frugiperda*, R strain, COI, maize, Viet Nam

1. Bộ môn Côn trùng, Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

2. Bộ môn Bệnh cây, Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâu keo mùa thu *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) là loài côn trùng đa thực nguy hiểm có nguồn gốc tại châu Mỹ (Montezano *et al.*, 2018). Gần đây, sâu keo mùa thu (SKMT) đã trở thành dịch hại xâm lấn gây hại nghiêm trọng trên cây ngô tại châu Phi và châu Á. Tại châu Phi, đầu năm 2016, SKMT được phát hiện ở 5 nước Tây và Trung Phi như Nigeria, Benin, Togo, São Tomé and Príncipe (Goergen *et al.*, 2016) Đến năm 2018, loài này đã được phát hiện tại trên 30 quốc gia ở châu Phi (FAO, 2018). Tại châu Á, SKMT được phát hiện gây hại đầu tiên tại Ấn Độ và Yê Men vào tháng 7 năm 2018. Đến đầu năm 2019, loài này đã xuất hiện tại 5 quốc gia khác là Bangladesh, Trung Quốc, Myanmar, Sri Lanka và Thái Lan (FAO, 2019).

SKMT được ghi nhận gây hại trên 353 cây ký chủ khác nhau thuộc 76 họ trong đó họ Hoà thảo (Poaceae: 106), họ Cúc (Asteraceae: 31), họ Đậu (Fabaceae: 31). Ngoài cây ngô và cây lúa, loài này còn gây hại nghiêm trọng trên nhiều loại cây trồng khác như mía, bông, đậu tương, lạc, hoa hướng dương, hành, tỏi, củ cải, rau họ hoa thập tự, cây họ bầu bí, cà chua, khoai lang, táo, xoài (Montezano *et al.*, 2018).

Mức độ gây hại và thiệt hại kinh tế do SKMT đối với sản xuất ngô tại nhiều quốc gia đã được nghiên cứu và khảo sát. Tại Brazil, SKMT làm giảm 34 % sản lượng ngô (Lima *et al.*, 2010). Năm 2005, loài dịch hại này đã làm thiệt hại kinh tế khoảng 400 triệu đô la Mỹ cho sản xuất ngô của quốc gia này (Figueiredo *et al.*, 2005). Kết quả điều tra về mức độ thiệt hại do SKMT gây ra tại 12 quốc gia châu Phi (Benin, Cameroon, Democratic Republic of Congo, Ethiopia, Ghana, Malawi, Mozambique, Nigeria, Uganda, Tanzania, Zambia, Zimbabwe) trong 3 năm từ 2015 đến 2017 cho thấy loài sâu này đã gây thiệt hại về sản lượng ngô từ 8,3 đến 20,6 triệu tấn/năm nếu không tiến hành các biện pháp phòng trừ. Sản lượng bị thiệt hại này tương đương từ 21 % - 53 % tổng sản lượng ngô trung bình hàng năm trong 3 năm của các quốc gia này. Thiệt hại kinh tế ước tính khoảng từ 2,5 đến 6,2 triệu đô la Mỹ (Day *et al.*, 2017).

Phân loại SKMT, ngoài dựa trên đặc điểm hình thái, còn dựa trên marker phân tử. Hiện nay, mã vạch phân tử (barcode) phổ biến nhất để phân loại tới mức loài đối với động vật, côn trùng, kể cả các loài thuộc giống *Spodoptera*, là gen mã hóa cytochrome c oxidase subunit I (COI) trên ty thể (Hebert *et al.*, 2003; Pratheepa *et al.*, 2014).

SKMT gồm 2 nòi sinh học (strain), được đặt tên dựa theo ký chủ chính là R (Rice) và C (Corn) (Pashley, 1986, 1988). Hai nòi sinh học đồng nhất về hình thái nhưng khác biệt về di truyền và nhiều đặc điểm sinh học. Cho tới nay, marker phân tử phổ biến nhất để phân biệt 2 nòi là gen mã vạch COI. Đoạn mã vạch trên COI của nòi R có hai vị trí enzyme cắt giới hạn đặc trưng là SacI và Acil trong khi nòi C được đặc trưng bởi các vị trí MspI, BsmI và HinfI (Levy *et al.*, 2002; Nagoshi *et al.*, 2006). Gần đây, một marker phân tử liên kết giới tính nằm trên bộ gen nhân là gen mã hóa Triose phosphate isomerase (Tpi) cũng đã được phát hiện và chứng tỏ hiệu quả trong xác định nòi, đặc biệt là con lai SKMT (Nagoshi, 2010, 2012).

Tại Việt Nam, một loài sâu ăn lá, được định danh là *S. frugiperda* dựa trên đặc điểm hình thái, đã được công bố gây hại rất phổ biến trên cỏ thảm tại Hà Nội (Nguyễn Thị Kim Oanh và Vũ Thị Phượng, 2008). Tuy nhiên, tầm quan trọng của công bố này đã không được chú ý. Hậu quả, dựa trên các cảnh báo của FAO và CABI, công văn số 351/BVTV-TV ngày 19/02/2019 của Cục Bảo vệ thực vật về điều tra và theo dõi SKMT cho rằng loài này là loài gây hại du nhập mới tại Việt Nam.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã kết hợp phương pháp phân loại phân tử dựa trên trình tự đoạn gen mã vạch COI với phân loại hình thái dựa trên đặc điểm các pha phát dục nhằm khẳng định chính xác danh tính của loài SKMT đang gây hại trên ngô tại Việt Nam, trước hết tại khu vực Hà Nội. Kết quả của nghiên cứu này là thông tin khoa học hữu ích nhằm áp dụng các biện pháp quản lý hiệu quả loài sâu hại này tại Việt Nam.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Mẫu sâu

Sự xuất hiện và gây hại của loài SKMT trên cây ngô được thực hiện theo phương pháp điều tra tự do tại xã Phú Thị và xã Văn Đức, huyện Gia Lâm, Hà Nội từ 29/3 đến 15/4/2019. Sâu non thu thập trên cây ngô tại xã Phú Thị ngày 29/3/2019 đã được nuôi tại bộ môn Côn trùng – Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Trùng trưởng thành và trưởng thành cái được sử dụng để mô tả đặc điểm hình thái và ghép đôi giao phối để sinh ra thế hệ tiếp theo.

## 2.2 Chiết DNA

Nhộng của 4 mẫu sâu được sử dụng để chiết DNA cho phản ứng PCR. DNA tổng số được chiết theo phương pháp chiết nhanh của Wang *et al.*, (1993). Trong nghiên cứu này, phương pháp của Wang *et al.* (1993) được điều chỉnh nhằm tăng hàm lượng DNA. Nhộng sống (~ 300 mg), sau khi được rửa 3-5 giây bằng siêu âm, được nghiền nhuyễn với 500 µl dung dịch NaOH 0.5 M trong ống Eppendorf loại 1.5 ml bằng chày nhựa (Kontes™ Pellet Pestle). 5 µl dịch nghiền được hòa với 100 µl đệm Tris 100 mM, pH 8 và được dùng làm khuôn cho phản ứng PCR.

## 2.3 Phản ứng PCR

Phản ứng PCR được thực hiện với cặp mồi LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATA TTGG-3') và HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3') (Folmer *et al.*, 1994). Cặp mồi này được chọn vì chúng sẽ nhân một đoạn 658 bp, được gọi là đoạn Folmer, của gen COI trên ty thể côn trùng. Đoạn Folmer của gen COI hiện đang được sử dụng phổ biến nhất làm mã vạch phân tử (barcode) để phân loại côn trùng và động vật ở mức loài (Hebert *et al.*, 2003; Pratheepa *et al.*, 2014).

Phản ứng PCR được thực hiện bằng kit Phusion® High-Fidelity PCR (New England Biolabs) với tổng thể tích 50 µl gồm 5 µl đệm 5X Phusion HF Buffer, 1 µl dNTPs, 1 µl mỗi loại mồi (20 µM), 0.5 µl Phusion DNA Polymerase và 1 µl dịch DNA. Phản ứng PCR được thực hiện với điều kiện sau: khởi đầu biến tính ở 98°C trong 2 phút; tiếp theo là 35 chu trình phản ứng gồm biến tính ở 98°C trong 30 giây, gắn mồi ở 54°C trong

30 giây, tổng hợp sợi ở 72°C trong 40 giây. Phản ứng được kết thúc ở 72°C trong 4 phút.

Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1 % được chuẩn bị bằng đệm TAE (Tris Acetic acid EDTA) và chứa 0.5 mg/ml Ethidium bromide. Gel được chạy trên thiết bị điện di Mupid-exU Mini System (Helixxtec) với đệm TAE ở điện thế 100 V trong 30 phút.

## 2.4 Giải trình tự và phân tích trình tự

Sản phẩm PCR được tinh chiết từ gel agarose dùng kit tinh chiết Expin Gel SV Kit (GeneAll Biotechnology) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Hàm lượng DNA được ước lượng bằng điện di agarose. Sản phẩm PCR tinh chiết được giải trình tự trực tiếp cả 2 chiều bằng mồi PCR tại Viện Công nghệ sinh học (Hà Nội).

Các trình tự mẫu được xác định danh tính khi so sánh với các trình tự tại cơ sở dữ liệu GenBank bằng phần mềm tìm kiếm trực tuyến BLAST tại National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) và tại cơ sở dữ liệu Barcoding of Life Data system (BOLD; <http://www.boldsystems.org>). Căn trình tự đa chuỗi được thực hiện với phần mềm ClustalX2.1 (Larkin *et al.*, 2007). Cây phả hệ được xây dựng bằng phần mềm MEGA7.0 (Kumar *et al.*, 2016). Xác định nòi sinh học sâu keo dựa trên vị trí cắt của các enzyme cắt giới hạn (Sacl, Acil, MspI, BsmI và HinfI) được thực hiện theo công bố của Levy *et al.* (2002) và Nagoshi *et al.* (2006).

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

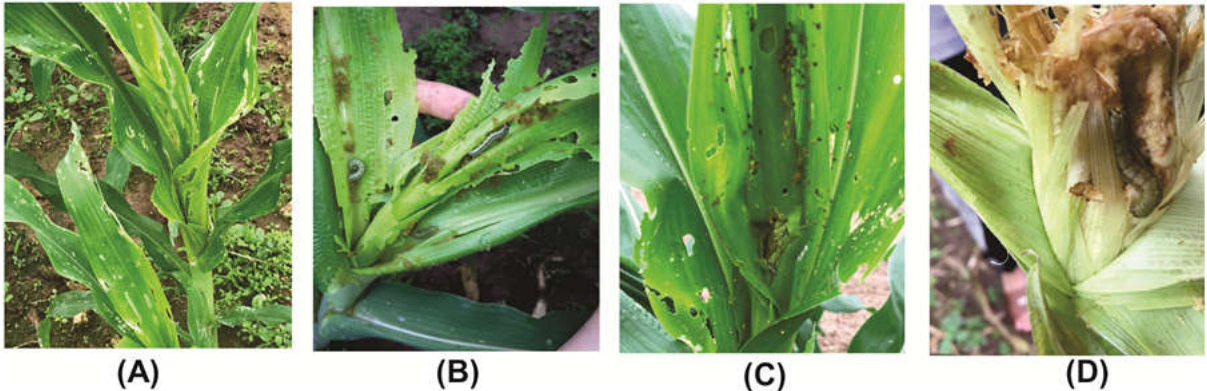
### 3.1 Định danh loài sâu hại theo đặc điểm hình thái và triệu chứng gây hại

#### 3.1.1. Triệu chứng gây hại trên ngô tại Hà Nội

Kết quả điều tra đồng ruộng cho thấy một loài sâu mới đã xuất hiện và gây hại nặng trên cây ngô vụ xuân tại Gia Lâm, Hà Nội. Triệu chứng gây hại điển hình của sâu non được thể hiện tại hình 1. Sâu non xuất hiện và gây hại trên cây ngô từ giai đoạn 20 đến 30 ngày sau nảy mầm. Sâu non mới nở ngay lập tức bắt đầu ăn các mô lá và thường ăn những phần mềm như lá non, lá non. Sâu non tuổi 1 và tuổi 2 ăn nhu mô màu

xanh từ một mặt của lá và để lại lớp biểu bì màng màu trắng ở mặt bên kia. Sâu non từ tuổi 3 gây hại trên toàn bộ cây và thường ăn khuyết lá non, ngọn, mầm hoa, hoa, bắp non, hạt non. Sự gây hại và triệu chứng gây hại của sâu non gây hại trên cây ngô tại Hà Nội giống như những triệu

chứng gây hại của loài *Spodoptera frugiperda* đã được mô tả bởi Cruz *et al.* (1999). Sâu non gây hại trên ngô tại các địa điểm điều tra được thu bắt và tiếp tục nuôi trên ngô cho đến khi hoá nhộng, vũ hoá trưởng thành tại Bộ môn Côn Trùng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.



**Hình 1. Triệu chứng gây hại của sâu keo mùa thu *Spodoptera frugiperda* trên cây ngô vụ xuân tại Hà Nội năm 2019. (A), (B) Triệu chứng hại trên cây và lá ngô; (C) Triệu chứng hại trên lá và hoa ngô; (D) Triệu chứng hại trên bắp non**

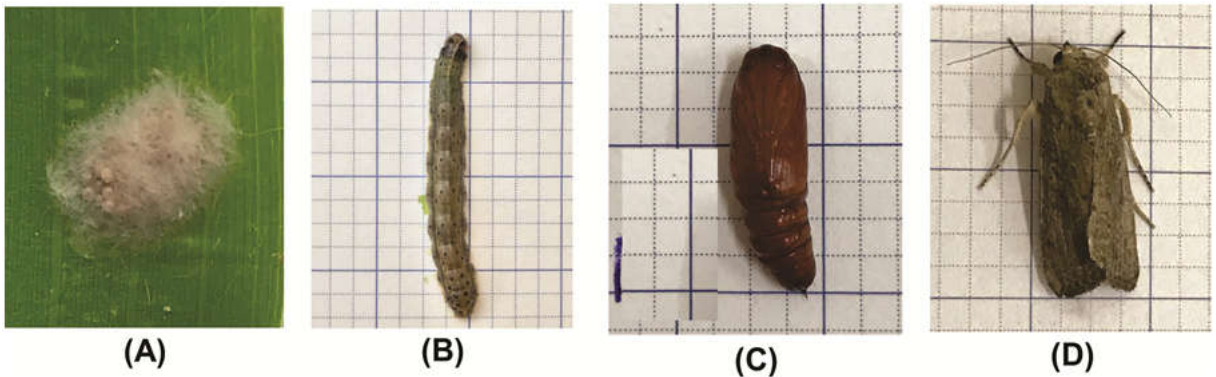
### 3.1.2. Đặc điểm hình thái của các pha phát dục loài sâu mới gây hại trên ngô tại Hà Nội

Loài sâu gây hại trên cây ngô thu thập tại Hà Nội vụ xuân năm 2019 có 4 phát dục: trứng, sâu non, nhộng và trưởng thành (Hình 2). Trưởng thành cái để trứng thành ổ ở mặt trên của lá giống như mô tả của Cruz *et al.* (1999). Ổ trứng có phủ lớp lông màu trắng kem. Trứng có hình cầu màu trắng kem có đường kính 0,4 - 0,5 mm. Sâu non 6 tuổi có màu xanh nhạt đến nâu vàng và nâu sẫm. Đầu sâu non có hình chữ Y ngược màu vàng, hai bên đầu có vân hình lưới. Đốt ngực thứ 1 của sâu non có 2 mảnh mai màu nâu đến nâu đen, đốt ngực thứ 2 có 8 u lông có màu nâu đen xếp thành 1 hàng ngang. Các đốt bụng từ 1 đến 7, mỗi đốt có 4 u lông màu nâu đen xếp thành hình thang cân trên phần lưng. Riêng đốt bụng thứ 8 có 4 u lông màu nâu đen có kích thước lớn hơn và xếp hàng hình vuông. Mỗi đốt bụng mang 1 đôi lỗ thở màu đen, cạnh mỗi lỗ thở có 2 u lông nhỏ nằm phía trên và phía sau của lỗ thở. Sâu non tuổi sáu đầy sức có kích thước mống đầu 2,5-2,7 mm và chiều dài thân 32-35 cm. Nhộng có màu nâu sáng bóng với kích

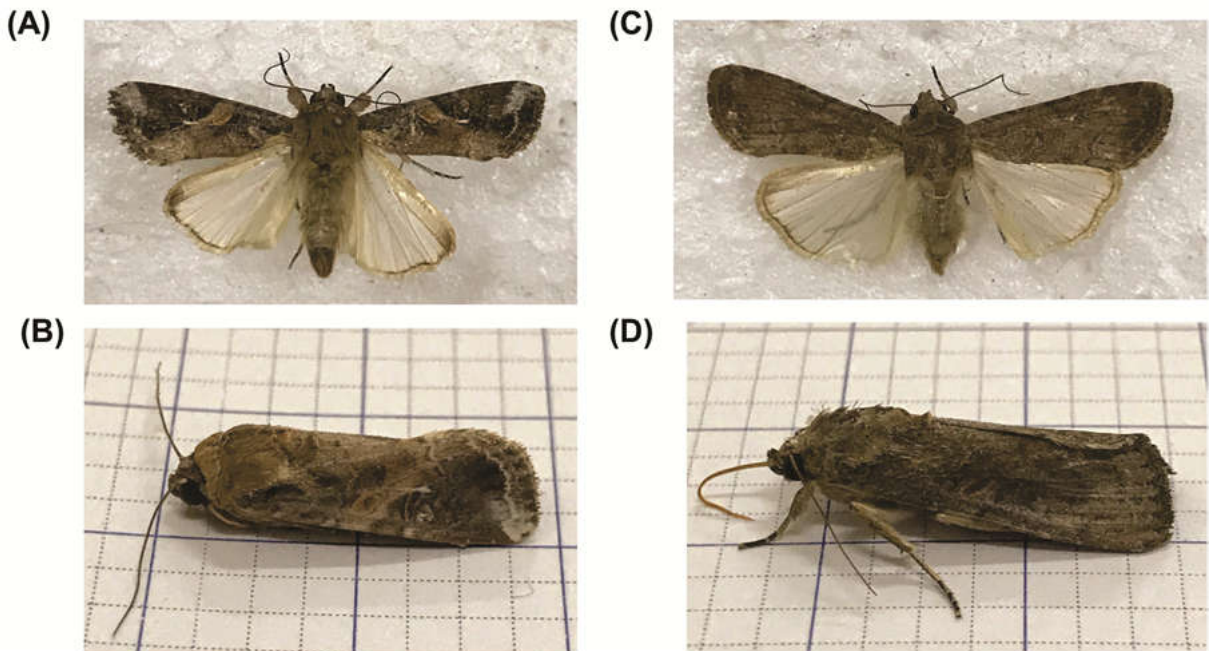
thước 1,6-1,8 cm, nhộng cái thường có kích thước lớn hơn nhộng đực.

Trưởng thành đực và trưởng thành cái được sử dụng để mô tả các đặc điểm hình thái cơ bản (Hình 3). Trưởng thành có chiều dài cơ thể 1,3-1,5 cm và sải cánh là 3,0-3,3 cm (Hình 3A). Trưởng thành có cánh trước màu nâu đến nâu sẫm, cánh sau màu trắng vàng có viền mép ngoài cánh hẹp màu nâu sẫm. Trưởng thành đực có cánh trước màu nâu sẫm với các đốm, vân màu nâu nhạt, xám và vàng rơm đặc biệt có 2 đốm tròn nhỏ vân nâu đen ở vị trí 1/4 diện tích cánh và 1 đốm lớn màu vàng rơm ở vị trí 3/4 diện tích cánh tính từ mép ngoài cánh. Trưởng thành cái có cánh trước màu nâu xám đồng nhất và có các vết đốm màu nâu sẫm, xám ở giữa cánh (Hình 3B).

Đặc điểm hình thái các pha phát dục của loài sâu mới phát hiện gây hại trên cây ngô tại Hà Nội giống với đặc điểm hình thái loài SKMT được mô tả bởi CABI (2019). Căn cứ vào đặc điểm hình thái các pha phát dục trên, chúng tôi có thể kết luận loài sâu hại mới xuất hiện và gây hại trên cây ngô tại Hà Nội là loài SKMT *Spodoptera frugiperda*.



Hình 2. Các pha phát dục của sâu keo mùa thu *Spodoptera frugiperda* gây hại trên cây ngô tại Hà Nội năm 2019. (A) Ổ trứng, (B) Sâu non, (C) Nhộng, (D) Trưởng thành



Hình 3. Trưởng thành sâu keo mùa thu *Spodoptera frugiperda*. (A), (B) Trưởng thành đực; (C), (D) Trưởng thành cái

**3.2 Định danh phân tử dựa trên trình tự đoạn gen mã vạch (barcode) COI**

**3.2.1. Giải trình tự đoạn gen COI**

Phản ứng PCR đã tạo băng duy nhất có kích thước mong muốn (~0.7 kb) từ 4 mẫu nhộng sâu hại ngô. Sản phẩm PCR của 2 mẫu sâu được giải trình tự trực tiếp 2 chiều bằng mỗi PCR được ký hiệu Hanoi-Maize-20 và Hanoi-Maize-24. Tất cả 4 trình tự thu được đều có chất lượng tốt. Sau khi lắp ráp và loại bỏ trình tự mỗi ở 2 đầu, đoạn

gen COI của 2 mẫu sâu đều có kích thước bằng 658 bp và có trình tự như sau:

**>Hanoi-Maize-20**

```
AACATTATATTTTATTTTTGGAATTTGAGCA
GGAATAGTAGGTACTTCTTTAAGTTTATTAATT
CGAGCTGAATTAGGAAGTCCAGGATCTTTAAT
TGGAGATGATCAAATTTATAACTATTGTAA
CAGCCCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAG
TTATACCAATTATAATTGGAGGATTTGGAAAT
TGACTTGTACCTTTAATATTAGGAGCTCCTGA
TATAGCTTTCCACGTATAAATAATATAAGTTT
```

TTGACTTTTACCCCATCTTTAACTTTATTAAT  
 TTCTAGTAGCATTGTAGAAAATGGAGCAGGA  
 ACTGGATGAACAGTTTACCCCCCCTCTCCT  
 CTAATATTGCTCATGGTGGTAGTTCAGTAGAT  
 TTAGCTATTTTCTCACTTCATTTAGCTGGAATT  
 TCATCTATTTTAGGAGCTATTAACCTTTATTACC  
 ACTATTATTAATATACGATTAATAATTTATCA  
 TTTGATCAAATACCTTTATTTATTTGAGCTGTA  
 GGTATTA<sup>CCGC</sup>ATTTTTATTATTATTATCTTTA  
 CCTGTTTTAGCTGGAGCTATTACTATATTACT  
 TACTGATCGAAATCTAAATACATCATTTTTTCG  
 ATCCTGCAGGAGGAGGTGATCCTATTCTTTAT  
 CAACATTTATTT

> Hanoi-Maize-24

AACATTATATTTTATTTTTGGAATTTGAGCA  
 GGAATAGTAGGTACTTCTTTAAGTTTATTAATT  
 CGAGCTGAATTAGGAACCTCAGGATCTTTAAT  
 TGGAGATGATCAAATTTATAACTATTGTAA  
 CAGCCCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAG  
 TTATACCAATTATAATTGGAGGATTTGGAAAT  
 TGA<sup>CTTGTACCTTTAATATTAGGAGCTC</sup>CTGA  
 TATAGCTTTCCACGTATAAATAATATAAGTTT  
 TTGACTTTTACCCCATCTTTAACTTTATTAAT  
 TTCTAGTAGCATTGTAGAAAATGGAGCAGGA  
 ACTGGATGAACAGTTTACCCCCCCTCTCCT  
 CTAATATTGCTCATGGTGGTAGTTCAGTAGAT  
 TTAGCTATTTTCTCACTTCATTTAGCTGGAATT  
 TCATCTATTTTAGGAGCTATTAACCTTTATTACC

ACTATTATTAATATACGATTAATAATTTATCA  
 TTTGATCAAATACCTTTATTTATTTGAGCTGTA  
 GGTATTA<sup>CCGC</sup>ATTTTTATTATTATTATCTTTA  
 CCTGTTTTAGCTGGAGCTATTACTATATTACT  
 TACTGATCGAAATCTAAATACATCATTTTTTCG  
 ATCCTGCAGGAGGAGGTGATCCTATTCTTTAT  
 CAACATTTATTT

3.2.2. Tìm kiếm trình tự tương đồng trên cơ sở dữ liệu GenBank

So sánh trình tự đoạn gen COI của 2 mẫu sâu hại cây ngô cho thấy chúng đồng nhất 100% chứng tỏ chúng thuộc cùng một loài. Tiếp theo, trình tự của 2 mẫu được sử dụng để định danh loài bằng tìm kiếm BLAST. Kết quả tìm kiếm BLAST cho thấy trình tự đoạn gen COI của 2 mẫu trùng khớp nhất với trình tự tương ứng của loài *S. frugiperda*. Hai mẫu có mức đồng nhất trình tự tuyệt đối 100% trên toàn bộ đoạn gen COI với 13 mẫu *S. frugiperda* sẵn có trên GenBank, trong đó có 11/13 mẫu là *S. frugiperda* thu thập trên cây ngô tại Ấn Độ (Bảng 1).

Tương tự, tìm kiếm tại cơ sở dữ liệu mã vạch (barcode) gen COI tại BOLD system cũng xác định loài trùng khớp với 2 mẫu sâu thu bắt tại Hà Nội là *S. frugiperda* (không trình bày kết quả tìm kiếm).

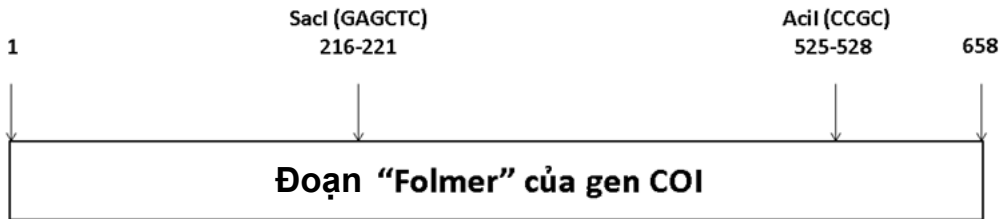
**Bảng 1. Các mẫu sâu trên GenBank gần gũi nhất với 2 mẫu sâu được xác định bằng tìm kiếm BLAST dựa trên trình tự đoạn gen COI**

TT	Loài	Ký chủ	Quốc gia	Phần trăm đoạn so sánh (%)	Mức đồng nhất trình tự (%)	Mã GenBank
1	<i>S. frugiperda</i>	Ngô	Ấn Độ	100	100	MH704433
2	<i>S. frugiperda</i>	Ngô	Ấn Độ	100	100	MH753332
3	<i>S. frugiperda</i>	Ngô	Ấn Độ	100	100	MH753330
4	<i>S. frugiperda</i>	Ngô	Ấn Độ	100	100	MH753329
5	<i>S. frugiperda</i>	Ngô	Ấn Độ	100	100	MH753327
6	<i>S. frugiperda</i>	Ngô	Ấn Độ	100	100	MH753326
7	<i>S. frugiperda</i>	Ngô	Ấn Độ	100	100	MH753325
8	<i>S. frugiperda</i>	Ngô	Ấn Độ	100	100	MH753324
9	<i>S. frugiperda</i>	Ngô	Ấn Độ	100	100	MH639005
10	<i>S. frugiperda</i>	Ngô	Kenya	100	100	MH190445
11	<i>S. frugiperda</i>	Ngô	Kenya	100	100	MH190444
12	<i>S. frugiperda</i>	Ớt	CH Dominic	100	100	MK318297
13	<i>S. frugiperda</i>	KXD <sup>1</sup>	Canada	100	100	GU095403

3.2.3. Xác định nòi sinh học dựa trên trình tự COI

SKMT *S. frugiperda* gồm 2 nòi sinh học là R (Rice) và C (Corn) và hai nòi này có thể phân biệt được dựa trên sự có mặt của một số enzyme cắt giới hạn trên đoạn gen COI (Levy *et al.*, 2002;

Nagoshi *et al.*, 2006). Kết quả phân tích trình tự cho thấy cả 2 mẫu sâu hại ngô tại Hà Nội đều có 2 vị trí SmaI (GAGCTC) và AclI (CCGC) đặc trưng cho nòi R (Hình 4). Cả 2 mẫu đều không có các vị trí cắt của MspI (CCGG), BsmI (GAATG) và HinfI (GANTC) đặc trưng cho nòi C.



**Hình 4. Sơ đồ chỉ vị trí 2 enzyme cắt giới hạn SmaI và AclI trên đoạn gen COI đặc trưng nòi R (Rice) của 2 mẫu sâu Hanoi-Maize-20 và Hanoi-Maize-24. Mũi tên chỉ vị trí acid nucleotide**

Đoạn gen COI ty thể sử dụng trong nghiên cứu này là mã vạch phân tử (barcode) được sử dụng phổ biến nhất để phân loại tới mức loài đối với động vật, côn trùng (Hebert *et al.*, 2003; Pratheepa *et al.*, 2014) và đã chứng tỏ hiệu quả trong định danh các loài thuộc chi *Spodoptera* (Nagoshi *et al.*, 2011; Shashank *et al.*, 2015). Các phân tích hình thái và phân tích phân tử dựa trên đoạn gen COI gồm tìm kiếm chuỗi tương đồng trên cơ sở dữ liệu GenBank, cơ sở dữ liệu mã vạch BOLD, so sánh trình tự và phân tích phả hệ đã khẳng định loài sâu hại ngô tại Hà Nội vụ xuân 2019 là loài SKMT (*S. frugiperda*). Tại châu Á, loài này đã được xác định là loài du nhập, xuất hiện đầu tiên tại Ấn Độ (Shylesha *et al.*, 2018; Sisodiya *et al.*, 2018) và tới tháng Một năm 2019, đã được phát hiện thấy tại Bangladesh, Myanmar, Sri Lanka, Thái Lan và Trung Quốc (FAO, 2019).

3.2.4. So sánh trình tự và phân tích phả hệ

Để định danh loài cũng như nòi sinh học của 2 mẫu sâu hại ngô mới thu được, trình tự đoạn gen COI của 62 mẫu *Spodoptera* bao gồm 43 mẫu *S. frugiperda* đã được định danh tới mức loài hoặc nòi sinh học, 12 mẫu *S. frugiperda* gần gũi nhất trong tìm kiếm BLAST và 7 mẫu *Spodoptera* khác (Bảng 2) đã được sử dụng để so sánh trình tự và phân tích phả hệ.

So sánh trình tự đoạn gen COI cho thấy 2 mẫu sâu hại ngô tại Hà Nội có mức đồng nhất trình tự rất cao, từ 98.3 % đến 100 % với các mẫu *S. frugiperda* và có mức đồng nhất trình tự khá thấp từ 93.3 % đến 95.7% với 7 mẫu *Spodoptera* khác (Bảng 2). So sánh trình tự cũng cho thấy 2 mẫu sâu hại ngô tại Hà Nội có mức đồng nhất trình tự đoạn gen COI từ 99.8 % đến 100 % đối với các mẫu *S. frugiperda* thuộc nòi R và thấp hơn, từ 98.3 % đến 98.6 % đối với các mẫu *S. frugiperda* thuộc nòi C.

Kết quả phân tích phả hệ cho thấy các mẫu *S. frugiperda* hình thành 2 cụm đặc trưng cho 2 nòi R và C với giá trị thống kê bootstrap đủ tin cậy (>75%) (Hình 5). Tương tự như kết quả phân tích enzyme cắt giới hạn và so sánh trình tự, hai mẫu sâu hại ngô tại Hà Nội phân nhóm rõ rệt trong cụm nòi R (Hình 5).

SKMT gồm 2 nòi sinh học (strain), được đặt tên dựa theo ký chủ chính là R (Rice) và C (Corn) (Pashley, 1986, 1988). Dựa trên phân tích enzyme cắt giới hạn, so sánh trình tự và phân tích phả hệ của gen COI, hai mẫu sâu hại ngô vụ xuân tại Hà Nội xác định được trong nghiên cứu này thuộc nòi R. Kết quả này cũng tương tự như các công bố gần đây về sự xuất hiện SKMT tại châu Phi và châu Á. Tại châu Phi, cả 2 nòi sinh học đều phát hiện thấy trên cây ngô, trong đó nòi

R chiếm ưu thế hơn (Cock *et al.*, 2017; Otim *et al.*, 2018; Srinivasan *et al.*, 2018). Tại châu Á, có lẽ do mới được phát hiện nên trên cơ sở dữ liệu GenBank, trình tự gen COI đối với loài này chỉ sẵn có trên cây ngô tại Ấn Độ. Trong phân tích phân tử của chúng tôi (Bảng 1, Hình 5), các mẫu SKMT tại Ấn Độ cũng thuộc nòi R.

Vì gen mã vạch COI là gen ty thể di truyền theo mẹ, và ở ngoài tự nhiên, con lai giữa 2 nòi đều tồn tại, nên chúng tôi không thể xác định được chính xác kiểu gen của 2 mẫu SKMT trong nghiên cứu này. Để xác định kiểu gen của chúng, cần phải phân tích thêm các marker nằm trên bộ gen nhân, chẳng hạn gen liên kết giới tính Tpi (Nagoshi, 2010, 2012). Việc xác định chính xác kiểu gen có ý nghĩa quan trọng khi đưa ra các quyết định quản lý loài SKMT vì các kiểu gen khác nhau có đặc điểm sinh học và sinh thái khác nhau. Không giống tại châu Mỹ, nơi nòi R và C phân bố đối xứng, nghiên cứu mới đây nhất về phân bố quần thể SKMT tại châu Phi cho thấy hầu hết các mẫu SKMT đều được phát hiện thấy trên cây ngô và phần lớn (95%) các mẫu phân tích đều có kiểu gen RC (mẹ nòi R x bố nòi C) và thiếu kiểu gen RR (bố nòi R x mẹ nòi R) (Nagoshi, 2019). Nếu quần thể SKMT tại châu Á và Việt Nam có phân bố kiểu gen tương tự tại châu Phi thì nguy cơ trước mắt của loài này đối với sản xuất nông nghiệp có lẽ chỉ giới hạn trên

các ký chủ chính ưa thích của nòi C như ngô, bông và lúa miến (sorghum). Tại châu Á, cấu trúc quần thể (kiểu gen) của SKMT chưa được nghiên cứu nhưng các công bố cho thấy dường như loài này chỉ được phát hiện thấy trên ngô (FAO, 2019).

Đã có nhiều tranh luận về phân chia nòi dựa theo ký chủ. Groot *et al.* (2016) đã tổng kết tất cả các nghiên cứu liên quan tới phân chia nòi SKMT và chỉ ra rằng sự khác biệt về ký chủ và thành phần pheromone giới tính không phải là lực tiến hóa chính qui định sự biệt hóa nòi của loài này vì: (i) ngoài tự nhiên, nòi R thường được phát hiện thấy trên cây ngô và ngược lại; (ii) các con lai giữa hai nòi cũng thường được bắt gặp; và (iii) tính đặc hiệu pheromone giới tính không cao. Các tác giả cũng gợi ý, dựa trên các bằng chứng thực nghiệm của Pashley *et al.* (1992) và Schöfl *et al.* (2009), cơ chế chính dẫn tới biệt lập sinh sản của 2 nòi này là sự khác biệt về thời điểm giao phối của chúng. Các hoạt động giao phối của nòi C diễn ra sớm hơn khoảng 3 giờ so với nòi R. Các tác giả đã đề xuất bỏ tên nòi dựa theo ký chủ và thay bằng tên nòi dựa theo thời gian hoạt động giao phối rõ. Gần đây, Hänniger *et al.* (2017) đã chứng minh được sự khác biệt về thời gian sinh sản của 2 nòi là do mức độ biểu hiện khác nhau của gen *vrlle*, một gen điều khiển nhịp điệu sinh học của côn trùng.

**Bảng 2. So sánh mức đồng nhất trình tự đoạn gen mã vạch COI của 2 mẫu sâu hại ngô (Hanoi-Maize-20 và Hanoi-Maize-24) thu tại Hà Nội vụ xuân 2019 với các mẫu *Spodoptera frugiperda* trên GenBank**

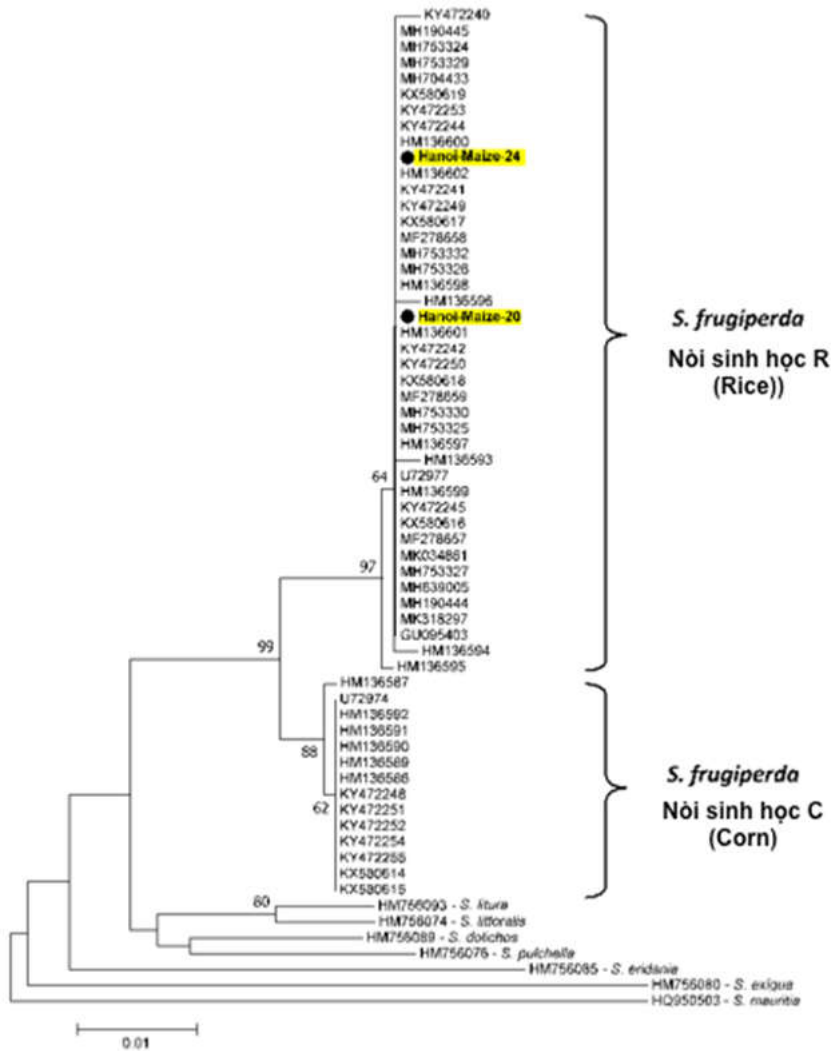
STT	Loài	Mã GenBank	Nòi sinh học xác định	Ký chủ	Quốc gia	Tham khảo	Mức đồng nhất trình tự (%)
1	<i>S. frugiperda</i>	U72974	C (Corn)	KXĐ	Mỹ	Levy et al., 2002	98.3
2	<i>S. frugiperda</i>	U72977	R (Rice)	KXĐ	Mỹ	Levy et al., 2003	100
3	<i>S. frugiperda</i>	HM136602	R (Rice)	KXĐ	Mỹ	Nagoshi et al., 2006, 2007, 2011)	100
4	<i>S. frugiperda</i>	HM136601	R (Rice)	KXĐ	Mỹ	Nagoshi et al., 2006, 2007, 2011)	100
5	<i>S. frugiperda</i>	HM136600	R (Rice)	KXĐ	Mỹ	Nagoshi et al., 2006, 2007, 2011)	100
6	<i>S. frugiperda</i>	HM136599	R (Rice)	KXĐ	Mỹ	Nagoshi et al., 2006, 2007, 2011)	100



STT	Loài	Mã GenBank	Nội sinh học xác định	Ký chủ	Quốc gia	Tham khảo	Mức đồng nhất trình tự (%)
7	<i>S. frugiperda</i>	HM136598	R (Rice)	KXĐ	Mỹ	Nagoshi et al., 2006, 2007, 2011)	99.8
8	<i>S. frugiperda</i>	HM136597	R (Rice)	KXĐ	Mỹ	Nagoshi et al., 2006, 2007, 2011)	99.8
9	<i>S. frugiperda</i>	HM136596	R (Rice)	KXĐ	Mỹ	Nagoshi et al., 2006, 2007, 2011)	99.8
10	<i>S. frugiperda</i>	HM136595	R (Rice)	KXĐ	Mỹ	Nagoshi et al., 2006, 2007, 2011)	99.8
11	<i>S. frugiperda</i>	HM136594	R (Rice)	KXĐ	Mỹ	Nagoshi et al., 2006, 2007, 2011)	99.8
12	<i>S. frugiperda</i>	HM136593	R (Rice)	KXĐ	Mỹ	Nagoshi et al., 2006, 2007, 2011)	99.8
13	<i>S. frugiperda</i>	HM136592	C (Corn)	KXĐ	Mỹ	Nagoshi et al., 2006, 2007, 2011)	98.4
14	<i>S. frugiperda</i>	HM136591	C (Corn)	KXĐ	Mỹ	Nagoshi et al., 2006, 2007, 2011)	98.4
15	<i>S. frugiperda</i>	HM136590	C (Corn)	KXĐ	Mỹ	Nagoshi et al., 2006, 2007, 2011)	98.4
16	<i>S. frugiperda</i>	HM136589	C (Corn)	KXĐ	Mỹ	Nagoshi et al., 2006, 2007, 2011)	98.3
17	<i>S. frugiperda</i>	HM136588	C (Corn)	KXĐ	Mỹ	Nagoshi et al., 2006, 2007, 2011)	98.6
18	<i>S. frugiperda</i>	HM136587	C (Corn)	KXĐ	Mỹ	Nagoshi et al., 2006, 2007, 2011)	98.4
19	<i>S. frugiperda</i>	HM136586	C (Corn)	KXĐ	Mỹ	Nagoshi et al., 2006, 2007, 2011)	98.4
20	<i>S. frugiperda</i>	KY472240	R (Rice)	Ngô	Ghana	Cock et al., 2017	99.8
21	<i>S. frugiperda</i>	KY472241	R (Rice)	Ngô	Ghana	Cock et al., 2017	100
22	<i>S. frugiperda</i>	KY472242	R (Rice)	Ngô	Ghana	Cock et al., 2017	100
23	<i>S. frugiperda</i>	KY472244	R (Rice)	Ngô	Ghana	Cock et al., 2017	100
24	<i>S. frugiperda</i>	KY472245	R (Rice)	Ngô	Ghana	Cock et al., 2017	100
25	<i>S. frugiperda</i>	KY472248	C (Corn)	Ngô	Ghana	Cock et al., 2017	98.3
26	<i>S. frugiperda</i>	KY472249	R (Rice)	Ngô	Ghana	Cock et al., 2017	100
27	<i>S. frugiperda</i>	KY472250	R (Rice)	Ngô	Ghana	Cock et al., 2017	100
28	<i>S. frugiperda</i>	KY472251	C (Corn)	Ngô	Ghana	Cock et al., 2017	98.3
29	<i>S. frugiperda</i>	KY472252	C (Corn)	Ngô	Ghana	Cock et al., 2017	98.3
30	<i>S. frugiperda</i>	KY472253	R (Rice)	Ngô	Ghana	Cock et al., 2017	100
31	<i>S. frugiperda</i>	KY472254	C (Corn)	Ngô	Ghana	Cock et al., 2017	98.3

STT	Loài	Mã GenBank	Nội sinh học xác định	Ký chủ	Quốc gia	Tham khảo	Mức đồng nhất trình tự (%)
32	<i>S. frugiperda</i>	KY472255	C (Corn)	Ngô	Ghana	Cock et al., 2017	98.3
33	<i>S. frugiperda</i>	KX580614	C (Corn)	Ngô	São Tomé and Príncipe	Goerge et al., 2016	98.3
34	<i>S. frugiperda</i>	KX580615	C (Corn)	Ngô	São Tomé and Príncipe	Goerge et al., 2016	98.3
35	<i>S. frugiperda</i>	KX580616	R (Rice)	Ngô	Nigeria	Goerge et al., 2016	100
36	<i>S. frugiperda</i>	KX580617	R (Rice)	Ngô	Nigeria	Goerge et al., 2016	100
37	<i>S. frugiperda</i>	KX580618	R (Rice)	Ngô	Nigeria	Goerge et al., 2016	100
38	<i>S. frugiperda</i>	KX580619	R (Rice)	Ngô	Nigeria	Goerge et al., 2016	100
39	<i>S. frugiperda</i>	MF278657	R (Rice)	Ngô	Tanzania	Srinivasan et al., 2018	100
40	<i>S. frugiperda</i>	MF278658	R (Rice)	Ngô	Tanzania	Srinivasan et al., 2018	100
41	<i>S. frugiperda</i>	MF278659	R (Rice)	Ngô	Tanzania	Srinivasan et al., 2018	100
42	<i>S. frugiperda</i>	MH704433	KXD	Ngô	Ấn Độ	Shylesha et al., 2018	100
43	<i>S. frugiperda</i>	MK034861	KXD	Ngô	Ấn Độ	Sisodiya et al., 2018	100
44	<i>S. frugiperda</i>	MH753332	KXD	Ngô	Ấn Độ	Tìm kiếm BLAST	100
45	<i>S. frugiperda</i>	MH753330	KXD	Ngô	Ấn Độ	Tìm kiếm BLAST	100
46	<i>S. frugiperda</i>	MH753329	KXD	Ngô	Ấn Độ	Tìm kiếm BLAST	100
47	<i>S. frugiperda</i>	MH753327	KXD	Ngô	Ấn Độ	Tìm kiếm BLAST	100
48	<i>S. frugiperda</i>	MH753326	KXD	Ngô	Ấn Độ	Tìm kiếm BLAST	100
49	<i>S. frugiperda</i>	MH753325	KXD	Ngô	Ấn Độ	Tìm kiếm BLAST	100
50	<i>S. frugiperda</i>	MH753324	KXD	Ngô	Ấn Độ	Tìm kiếm BLAST	100
51	<i>S. frugiperda</i>	MH639005	KXD	Ngô	Ấn Độ	Tìm kiếm BLAST	100
52	<i>S. frugiperda</i>	MH190445	KXD	Ngô	Kenya	Tìm kiếm BLAST	100
53	<i>S. frugiperda</i>	MH190444	KXD	Ngô	Kenya	Tìm kiếm BLAST	100
54	<i>S. frugiperda</i>	MK318297	KXD	Ớt	CH Dominic	Tìm kiếm BLAST	100
55	<i>S. frugiperda</i>	GU095403	KXD	KXD	Canada	Tìm kiếm BLAST	100
56	<i>S. mauritia</i>	HQ950503					93.3
57	<i>S. litura</i>	HM756093					95.5
58	<i>S. dolichos</i>	HM756089					95.7
59	<i>S. eridania</i>	HM756085					93.6
60	<i>S. exigua</i>	HM756080					92.4
61	<i>S. pulchella</i>	HM756076					95.3
62	<i>S. littoralis</i>	HM756074					95.5

Ghi chú: KXD: không xác định



**Hình 5. Cây phả hệ dựa trên trình tự đoạn COI của 2 mẫu sâu hại ngô thu tại Hà Nội vụ xuân 2019 (được đánh dấu bằng in đậm, bôi vàng, dấu chấm) và 62 mẫu sâu *Spodoptera frugiperda* trên GenBank.**

Các mẫu được căn trình tự đa chuỗi bằng phần mềm ClustalX 2.1. Cây được xây dựng bằng phương pháp Neighbor-Joining với khoảng cách di truyền được xác định bằng mô hình thay thế Kimura 2 tham số. Giá trị bootstraps (%) với 1000 lần lặp lại được chỉ rõ ở gốc các nhánh (chỉ thể hiện các giá trị > 50%). Thanh bar là khoảng cách di truyền. Nòi, nguồn gốc ký chủ và địa điểm của các mẫu *S. frugiperda* trên GenBank được trình bày ở bảng 2.

#### 4. KẾT LUẬN

Dựa trên phân tích đặc điểm hình thái các pha phát dục, triệu chứng gây hại trên cây ngô và trình tự mã vạch phân tử (barcode) COI, chúng tôi kết luận loài sâu mới được phát hiện gây hại trên cây ngô tại Hà Nội vụ xuân năm 2019 là loài sâu keo mùa thu *Spodoptera*

*frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Đây là kết quả đầu tiên xác định tên loài sâu hại *S. frugiperda* trên cây ngô tại Việt Nam bằng phương pháp sinh học phân tử sử dụng mã vạch gen (barcode) COI. Phân tích gen COI của 2 mẫu SKMT và so sánh với thông tin sẵn có gợi ý chúng là con lai RC giữa mẹ nòi R với bố nòi C.

Từ kết quả định danh loài sâu keo mùa thu mới gây hại trên cây ngô tại Hà Nội vụ xuân năm 2019, các nghiên cứu tiếp theo nhằm xác định nòi sinh học, phạm vi ký chủ, đặc điểm sinh học, sinh thái và tập tính của loài sâu hại này tại Việt Nam cần tiếp tục được nghiên cứu trong thời gian tới.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. CABI, 2019. *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm) *Invasive Species Compendium* Data sheet: Last modified 02 April 2019. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/29810#17692a1a-f6c4-46e0-ad16-1ac84362cdbe>.
2. Cock, M. J., Beseh, P. K., Buddie, A. G., Cafá, G., and Crozier, J., 2017. Molecular methods to detect *Spodoptera frugiperda* in Ghana, and implications for monitoring the spread of invasive species in developing countries. *Scientific reports* **7**, 4103.
3. Cruz, I., Figueiredo, M., Oliveira, A. C., and Vasconcelos, C. A., 1999. Damage of *Spodoptera frugiperda* (Smith) in different maize genotypes cultivated in soil under three levels of aluminium saturation. *International Journal of Pest Management* **45**, 293-296.
4. Day, R., Abrahams, P., Bateman, M., Beale, T., Clotley, V., Cock, M., Colmenarez, Y., Corniani, N., Early, R., and Godwin, J., 2017. Fall armyworm: impacts and implications for Africa. *Outlooks on Pest Management* **28**, 196-201.
5. FAO, 2018. Briefing Note on FAO Actions on Fall Armyworm in Africa. 16 February 2018, 7pp. <http://www.fao.org/3/a-bt415e.pdf>.
6. FAO, 2019. Briefing Note on FAO Actions on Fall Armyworm. 5 March 2019. <http://www.fao.org/3/a-bs183e.pdf>.
7. Figueiredo, M., Pentead-Dias, A., and Cruz, I., 2005. Danos provocados por *Spodoptera frugiperda* na produção de matéria seca e nos rendimentos de grãos, na cultura do milho. *Embrapa Milho e Sorgo-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)*.
8. Folmer, O., Black, M., Wr, H., Lutz, R., and Vrijenhoek, R., 1994. "DNA primers for amplification of mitochondrial Cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates."
9. Goergen, G., Kumar, P. L., Sankung, S. B., Togola, A., and Tamò, M., 2016. First Report of Outbreaks of the Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda* (J E Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a New Alien Invasive Pest in West and Central Africa. *PLOS ONE* **11**, e0165632.
10. Groot, A. T., Unbehend, M., Hänniger, S., Juárez, M. L., Kost, S., and Heckel, D. G., 2016. Evolution of reproductive isolation of *Spodoptera frugiperda*. in: *Pheromone Communication in Moths: Evolution, Behavior, and Application*. Allison, J. D., & CardŽ, R. T (Ed). 291-230.
11. Hänniger, S., Dumas, P., Schöfl, G., Gebauer-Jung, S., Vogel, H., Unbehend, M., Heckel, D. G., and Groot, A. T., 2017. Genetic basis of allochronic differentiation in the fall armyworm. *BMC evolutionary biology* **17**, 68.
12. Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., and Dewaard, J. R., 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **270**, 313-321.
13. Kumar, S., Stecher, G., and Tamura, K., 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution* **33**, 1870-1874.
14. Larkin, M. A., Blackshields, G., Brown, N., Chenna, R., McGettigan, P. A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I. M., Wilm, A., and Lopez, R., 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *bioinformatics* **23**, 2947-2948.
15. Levy, H. C., Garcia-Maruniak, A., and Maruniak, J. E., 2002. Strain identification of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) insects and cell line: PCR-RFLP of cytochrome oxidase C subunit I gene. *Florida Entomologist* **85**, 186-191.
16. Montezano, D. G., Specht, A., Sosa-Gómez, D. R., Roque-Specht, V. F., Sousa-Silva, J. C., Paula-Moraes, S. V. d., Peterson, J. A., and Hunt, T., 2018. Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. *African entomology* **26**, 286-301.

17. Nagoshi, R. N., 2010. The fall armyworm triose phosphate isomerase (Tpi) gene as a marker of strain identity and interstrain mating. *Annals of the Entomological Society of America* **103**, 283-292.
18. Nagoshi, R. N., 2012. Improvements in the identification of strains facilitate population studies of fall armyworm subgroups. *Annals of the Entomological Society of America* **105**, 351-358.
19. Nagoshi, R. N., 2019. Evidence that a major subpopulation of fall armyworm found in the Western Hemisphere is rare or absent in Africa, which may limit the range of crops at risk of infestation. *PLoS one* **14**, e0208966.
20. Nagoshi, R. N., Brambila, J., and Meagher, R. L., 2011. Use of DNA barcodes to identify invasive armyworm *Spodoptera* species in Florida. *Journal of Insect Science* **11**, 154.
21. Nagoshi, R. N., Meagher, R. L., Adamczyk Jr, J. J., Braman, S. K., Brandenburg, R. L., and Nuessly, G., 2006. New restriction fragment length polymorphisms in the cytochrome oxidase I gene facilitate host strain identification of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) populations in the southeastern United States. *Journal of Economic Entomology* **99**, 671-677.
22. Nguyễn Thị Kim Oanh và Vũ Thị Phương, 2008. Thành phần sâu hại cỏ thảm, đặc điểm hình thành, sinh học và diễn biến mật độ của sâu xanh hại cỏ thảm (*Herpetogramma phaeoptera* (Guenée) (Lepidoptera: Piralidae) tại Hà Nội vụ xuân hè 2008. *Kỷ yếu Hội nghị khoa học toàn quốc về sinh thái tài nguyên sinh vật lần thứ Ba. Hà Nội, 22/10/2009. 1490-1498.*
23. Otim, M. H., Tay, W. T., Walsh, T. K., Kanyesigye, D., Adumo, S., Abongosi, J., Ochen, S., Sserumaga, J., Alibu, S., and Abalo, G., 2018. Detection of sister-species in invasive populations of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) from Uganda. *PLoS one* **13**, e0194571.
24. Pashley, D. P., 1986. Host-associated genetic differentiation in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): a sibling species complex? *Annals of the Entomological Society of America* **79**, 898-904.
25. Pashley, D. P., 1988. Current status of fall armyworm host strains. *Florida Entomologist*, 227-234.
26. Pashley, D. P., Hammond, A. M., and Hardy, T. N., 1992. Reproductive isolating mechanisms in fall armyworm host strains (Lepidoptera: Noctuidae). *Annals of the Entomological Society of America* **85**, 400-405.
27. Pratheepa, M., Jalali, S. K., Arokiaraj, R. S., Venkatesan, T., Nagesh, M., Panda, M., and Pattar, S., 2014. Insect barcode information system. *Bioinformatics* **10**, 98-100.
28. Schöfl, G., Heckel, D. G., and Groot, A. T., 2009. Time-shifted reproductive behaviours among fall armyworm (Noctuidae: *Spodoptera frugiperda*) host strains: evidence for differing modes of inheritance. *Journal of evolutionary biology* **22**, 1447-1459.
29. Shashank, P. R., Thomas, A., and Ramamurthy, V. V., 2015. DNA barcoding and phylogenetic relationships of *Spodoptera litura* and *S. exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomologist* **98**, 223-228.
30. Shylesha, A. N., Jalali, S. K., Gupta, A., Varshney, R., Venkatesan, T., Shetty, P., Ojha, R., Ganiger, P. C., Navik, O., and Subaharan, K., 2018. Studies on new invasive pest *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) and its natural enemies. *Journal of Biological Control* **32**, 1-7.
31. Sisodiya, D. B., Raghunandan, B. L., Bhatt, N. A., Verma, H. S., Shewale, C. P., Timbadiya, B. G., and Borad, P. K., 2018. The fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae); first report of new invasive pest in maize fields of Gujarat, India. *Journal of Entomology and Zoology Studies* **6**, 2089-2091.
32. Srinivasan, R., Malini, P., and Othim, S. T. O., 2018. Fall armyworm in Africa: Which "race" are in the race, and why does it matter? *Current Science* **114**, 27.
33. Wang, H., Qi, M., and Cutler, A. J., 1993. A simple method of preparing plant samples for PCR. *Nucleic Acids Res* **21**, 4153-4.

**Phản biện: TS. Đào Thị Hằng**