

ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA BỆNH CHỐI RỒNG SẮN TẠI ĐỒNG NAI NĂM 2011-2013

Nguyễn Đức Thành^{1*}, Mai Văn Quân⁴, Ngô Gia Bôn⁴, Nguyễn Hữu Hỷ²,
Hà Việt Cường³, Trịnh Xuân Hoạt⁴

Nghiên cứu sinh, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội
²*Trung tâm Nghiên cứu thực nghiệm Nông nghiệp Hưng Lộc, Đồng Nai*
³*Khoa Nông học, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội*
⁴*Viện Bảo vệ thực vật*

Email*: ndt2tnn@yahoo.com

Ngày gửi bài: 04.04.2014

Ngày chấp nhận: 09.06.2014

TÓM TẮT

Tại Việt Nam, chối rồng sắn là một bệnh gây hại quan trọng trong sản xuất sắn. Phytoplasma thuộc nhóm 16SrI-*'Candidatus Phytoplasma asteris'* được báo cáo có liên quan đến bệnh này. Nghiên cứu đã sử dụng bẫy đèn để thu thập các loài rầy lá. DNA tổng số được tách chiết từ cơ thể côn trùng và cây có triệu chứng. Sử dụng phương pháp nested PCR để phát hiện phytoplasma. Khuếch đại đoạn 1100bp gen 16S rDNA cho thấy cơ thể côn trùng nhiễm phytoplasma. Phân tích đa hình chiều dài đoạn cắt giới hạn dùng enzyme cắt là EcoRI và HaeIII cho thấy sự sai khác không có ý nghĩa giữa các mẫu thử nghiệm. Bệnh chối rồng sắn lan truyền qua hom giống đã bị nhiễm bệnh trong điều kiện nhà lưới hoặc ngoài đồng. Bọ phấn (*Aleurodicus dispersus*), rệp sáp (*Paracoccus marginatus*) và nhện đỏ (*Tetranychus urticae*) không lan truyền phytoplasma mặc dù chúng sống trực tiếp trên cây sắn ngoài đồng.

Từ khóa: Bẫy ánh sáng, *'Candidatus Phytoplasma asteris'*, cơ thể côn trùng.

**Biological Characteristics of Cassava Witches' Broom Disease
Related to Phytoplasma in Dongnai Province**

ABSTRACT

In Vietnam, cassava witches' broom is an important disease in cassava production. Phytoplasma, 16SrI group-*'Candidatus Phytoplasma asteris'* is the causal agent associated with cassava witches' broom disease. In this study, leafhopper species were collected by using light traps. Total DNA was extracted from the insect species and the symptomatic plants. Nested polymerase chain reaction assay was used to detect the presence of phytoplasma. Amplification of a fragment 1100 base pair 16S rDNA gene confirmed that insect bodies were infected by the phytoplasma. Restriction fragment length polymorphism analysis using *EcoRI* and *HaeIII* endonucleases revealed the insignificant difference between the test samples. Cassava witches' broom disease is transmitted by cutting through vegetative propagation using diseased plants under greenhouse or field conditions. Whitefly (*Aleurodicus dispersus*), mealybug (*Paracoccus marginatus*) and red mite (*Tetranychus urticae*) do not transmit phytoplasma although they fed on cassava plant in the field.

Keywords: *'Candidatus Phytoplasma asteris'*, light traps, insect bodies.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh chối rồng gây hại sắn được ghi nhận xuất hiện rải rác trên giống sắn KM94 từ năm 2005 ở các vùng trồng sắn phía nam Việt Nam, gây thiệt hại đến năng suất và chất lượng sắn,

ảnh hưởng đến lợi ích của người trồng sắn. Một số kết quả nghiên cứu về bệnh chối rồng sắn tại Việt Nam cho biết, bệnh liên quan đến tác nhân do phytoplasma thuộc nhóm 16SrI-*'Candidatus Phytoplasma asteris'* gây ra (Trịnh Xuân Hoạt và cs., 2012; Alvarez et al., 2013). Cây sắn bị

bệnh chổi rồng có biểu hiện triệu chứng như mọc nhiều chồi ngọn và chồi thân ở phần thân chính, phần đọt thân bị xì mủ, thân sắn ngả màu thâm đen, phần lõi có màu nâu nhạt, chồi bị chết khô, nhiều cây bị thấp lùn lại. Cây sắn nhiễm bệnh sớm ở giai đoạn đầu làm giảm năng suất và chất lượng củ, thậm chí không cho thu hoạch (Trịnh Xuân Hoạt và cs., 2012). Cây sắn bị bệnh muộn giảm năng suất từ 10-30%, hàm lượng tinh bột giảm 20-30% (Báo Nông nghiệp Việt Nam, 2011).

Hiện nay, bệnh chổi rồng sắn xuất hiện, gây hại tại nhiều vùng trồng sắn ở một số tỉnh từ phía nam đến phía bắc Việt Nam. Sử dụng hom giống từ cây sắn đã bị nhiễm bệnh chổi rồng từ vùng này sang vùng khác là con đường lan truyền chủ yếu. Ở một số vùng trồng đã áp dụng các biện pháp phòng chống bệnh chổi rồng sắn như sử dụng hom sắn khỏe hoặc hom sắn từ vùng chưa bị bệnh để làm giống; ở các vườn bị bệnh nặng thì thu gom, đốt triệt để thân và tàn dư của cây bị bệnh; phát hiện sớm và tiêu hủy cây sắn bị bệnh chổi rồng và rác vôi bột,... Việc xác định một số đặc điểm sinh học của bệnh chổi rồng sắn là điều cần thiết, góp phần quản lý bệnh một cách có hiệu quả, hạn chế bệnh lây lan trên đồng ruộng. Bài viết này trích đăng một số kết quả nghiên cứu về đặc trưng sinh học của bệnh chổi rồng sắn tại tỉnh Đồng Nai năm 2011-2013.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu và thời gian

Các giống sắn: KM94, KM140, K419, Rayong 5, SM937-26 và HL-S11 do Trung tâm Nghiên cứu thực nghiệm nông nghiệp Hưng Lộc (Đồng Nai) cung cấp.

Một số mẫu côn trùng thu thập trên đồng ruộng được bảo quản trong cồn 96% để giám định tên loài và dùng trong tách chiết DNA tổng số tại Viện Bảo vệ thực vật.

Hóa chất, dung dịch đệm dùng trong phản ứng PCR (polymerase chain reaction) và RFLP (restriction fragment length polymorphism).

Mẫu đối chứng dương European aster yellows phytoplasma (EAY) thuộc nhóm 16SrI- 'Candidatus Phytoplasma asteris'.

Các dụng cụ khác như ống hút bắt côn trùng, chậu vại và phân bón,... dùng trong thí nghiệm.

Thời gian thực hiện từ tháng 9 năm 2011 đến tháng 8 năm 2013.

2.2. Nội dung và phương pháp

2.2.1. Chuẩn bị giá thể

Đất dùng làm giá thể trồng cây được hấp khử trùng trong nồi hấp ở nhiệt độ 120°C trong thời gian 45 phút để tiêu diệt các nguồn bệnh vi sinh vật và các sinh vật khác có trong đất thí nghiệm. Cây thí nghiệm được gieo trồng, chăm sóc cẩn thận và đặt trong nhà lưới chống côn trùng. Khi cây lớn, đạt số lá thật nhất định thì tiến hành thí nghiệm.

2.2.2. Xác định ảnh hưởng của đất trồng đến bệnh chổi rồng hại sắn

Sử dụng hom sắn KM94 bị bệnh chổi rồng và hom sắn KM94 khỏe. Thí nghiệm gồm có 4 công thức i) CT1: Trồng hom sắn bị bệnh chổi rồng trên đất đã hấp khử trùng; ii) CT2: Trồng hom sắn khỏe trên đất trồng có cây sắn bị bệnh chổi rồng; iii) CT3: Trồng hom sắn bị bệnh chổi rồng trên đất trồng có cây sắn bị bệnh chổi rồng; iv) CT4: Trồng hom sắn khỏe trên đất đã hấp khử trùng. Cây thí nghiệm đặt trong nhà lưới chống côn trùng.

2.2.3. Xác định khả năng lan truyền qua hom giống

Sử dụng hom sắn giống KM94, KM140, K419, Rayong 5 đã bị nhiễm bệnh chổi rồng trong thí nghiệm. Hom sắn KM94 khỏe được lấy từ cây đã mọc từ hạt không nhiễm bệnh được dùng làm đối chứng. Cây thí nghiệm được trồng trên đất đã hấp khử trùng.

2.2.4. Xác định khả năng lan truyền qua côn trùng

Dùng vợt, ống hút, bẫy đèn để bắt rầy trưởng thành tại ruộng sắn bị bệnh chổi rồng gây hại. Quan sát bằng hình thái bên ngoài để phân loại loài rầy khác nhau. Sau đó, thả trực tiếp rầy lên cây thí nghiệm gồm cây sắn bị bệnh chổi rồng và cây khỏe. Mỗi công thức thả 10-30

rây/5-10 cây và có công thức đối chứng không thả rây. Cây thí nghiệm được đặt trong lồng lưới cách ly côn trùng và để lồng vào trong nhà lưới.

2.2.5. Tách chiết và kiểm tra DNA tổng số bằng kỹ thuật PCR, RFLP

Tách chiết DNA tổng số

DNA tổng số từ mô cây và cơ thể côn trùng thu thập được tách chiết bằng phương pháp CTAB (cetyl trimethyl ammonium bromide) dựa theo tài liệu mô tả của Doyle and Doyle (1990). Cận tách chiết chứa DNA tổng số được hòa tan trong 50µl dung dịch đệm TE (10mM Tris-HCl, pH 8,0 và 1mM EDTA, pH 8,0) và bảo quản trong điều kiện lạnh sâu -20°C cho đến khi sử dụng.

Kiểm tra DNA tổng số bằng kỹ thuật PCR, RFLP

Sử dụng kỹ thuật PCR để khuếch đại đoạn gen 16S rDNA của phytoplasma. Cặp mồi sử dụng ban đầu là P1/P7, thành phần phản ứng và chu kỳ nhiệt của phản ứng PCR được dựa theo tài liệu đã công bố (Deng and Hiruki, 1991; Smart et al., 1996). Sản phẩm PCR lần 1 được pha loãng với nước cất vô trùng để làm khuôn mẫu DNA trong phản ứng nested PCR sử dụng cặp mồi R16(I)F1/R16(I)R1 (Lee et al., 1994). Trong kỹ thuật RFLP, sản phẩm PCR dùng cặp mồi R16(I)F1/R16(I)R1 được cắt với enzyme *EcoRI* và *HaeIII* theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

2.2.6. Xác định ảnh hưởng của một số giống sắn trồng ngoài đồng

Sử dụng hom sắn bị bệnh chổi rồng trên các giống KM94, KM419, SM937-26 và hom sắn giống HL-S11 không bị bệnh. Bố trí thí nghiệm theo kiểu khối ngẫu nhiên đầy đủ (RCBD). Làm đất không lên luống, rạch hàng cách nhau 1m. Trước khi trồng, vệ sinh đồng ruộng, nhặt bỏ tàn dư cây sắn vụ trồng trước.

Cách trồng: Đặt hom nằm ngang so với mặt đất, lấp đất sâu 3-4cm. Khoảng cách trồng: 0,8 x 1,0m. Mật độ trồng 12500 cây/ha. Bón phân theo mức (80kg N + 40kg P₂O₅ + 80kg K₂O)/ha tại vùng đất đỏ tỉnh Đồng Nai.

Chỉ tiêu theo dõi bao gồm: Tỷ lệ bệnh chổi rồng (%): số cây bị bệnh/tổng số cây theo dõi; năng suất (tấn/ha): cân năng suất ô thí nghiệm quy ra năng suất tấn/ha; hàm lượng tinh bột (%): cân bằng cân chuyên dụng.

2.2.7. Phương pháp tính và xử lý số liệu

Các chỉ tiêu theo dõi về sinh trưởng, phát triển của cây sắn được đánh giá theo quy chuẩn kỹ thuật QCVN 01-61:2011 của Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn (2011). Số liệu thu thập được xử lý thống kê trong Microsoft Excel và phân tích phương sai bằng chương trình IRRISTAT 4.0. Các số liệu tỷ lệ phần trăm (%) được biến đổi thành dạng arcsin căn bậc hai trước khi xử lý thống kê.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Ảnh hưởng của đất trồng đến khả năng lan truyền của bệnh chổi rồng hại sắn

Nhằm tìm hiểu xem đất trồng ảnh hưởng đến bệnh chổi rồng sắn như thế nào, tiến hành khử trùng đất (lấy đất ở ruộng trồng có cây sắn bị nhiễm bệnh chổi rồng ở ngay phần gốc cây). Kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 1.

Giống sắn KM94 là giống chủ lực được trồng chủ yếu ở nhiều địa phương, kết quả cho thấy, chỉ có hom trồng từ cây sắn đã bị bệnh mới phát triệu chứng đặc trưng của bệnh chổi rồng, trong khi đó hom trồng từ cây sắn khỏe không thấy bị nhiễm bệnh. Kết quả xử lý thống kê (mức $\alpha = 0,05$) cho thấy sự khác biệt rõ ràng giữa các công thức thí nghiệm. Trong điều kiện thí nghiệm, đất khỏe và đất trồng có cây sắn bị bệnh chổi rồng không phải là tác nhân gây bệnh chổi rồng hại sắn.

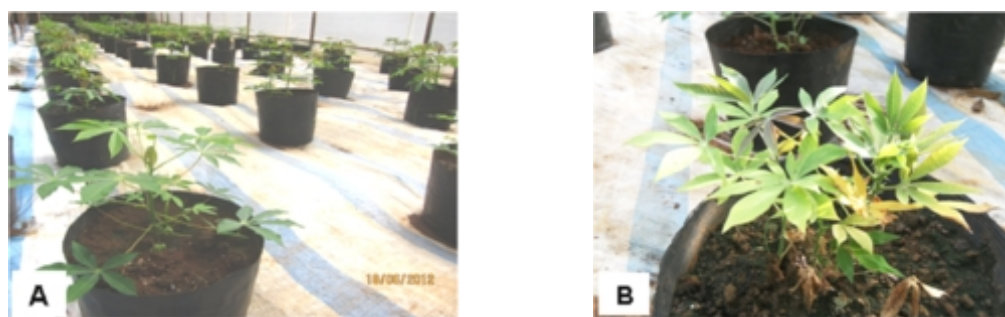
3.2. Ảnh hưởng của hom giống trồng đến khả năng lan truyền của bệnh chổi rồng hại sắn

Trong sản xuất, sắn trồng chủ yếu được lấy từ phần thân để làm hom giống. Việc sử dụng hom giống không bị bệnh là điều rất quan trọng, điều này góp phần kiểm soát được nguồn vật liệu giống ban đầu, tránh cho bệnh lây lan nhanh trên đồng ruộng. Sử dụng giống sắn KM94, KM140, K419, Rayong 5 trong thí nghiệm. Hom sắn KM94 khỏe dùng làm đối chứng được lấy từ cây đã mọc từ hạt không nhiễm bệnh. Cây thí nghiệm được trồng trên đất đã hấp khử trùng. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 1. Ảnh hưởng của đất trồng đến khả năng lan truyền của bệnh chổi rồng hại sắn (Đồng Nai, năm 2012)

TT	Công thức thí nghiệm	Số cây thí nghiệm (cây)	Số cây phát bệnh (cây)	Tỷ lệ cây phát bệnh (%)
1	CT1: Trồng hom sắn bị bệnh chổi rồng trên đất đã hấp khử trùng	30	13	43,3 ^b
2	CT2: Trồng hom sắn khỏe trên đất trồng có cây sắn bị bệnh chổi rồng	30	0	0,0 ^c
3	CT3: Trồng hom sắn bị bệnh chổi rồng trên đất trồng có cây sắn bị bệnh chổi rồng	30	17	56,7 ^a
4	CT4: Trồng hom sắn khỏe trên đất đã hấp khử trùng	30	0	0,0 ^c
	CV%			15,1
	LSD _{0,05}			7,12

Ghi chú: Giá trị trung bình trong cùng một cột mang chữ cái khác nhau thì sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,05$ và mức xác suất $p < 0,05$.



Hình 1. Cây thí nghiệm đặt trong nhà lưới (Đồng Nai, năm 2012)

Bảng 2. Khả năng lan truyền của bệnh chổi rồng hại sắn qua hom trong thí nghiệm chậu vại (Đồng Nai, năm 2012)

STT	Công thức thí nghiệm	Số cây thí nghiệm (cây)	Số cây phát bệnh (cây)	Tỷ lệ cây phát bệnh (%)
1	CT1: Trồng hom sắn KM94 bị bệnh chổi rồng	30	15	50,0 ^c
2	CT2: Trồng hom sắn KM140 bị bệnh chổi rồng	30	20	66,7 ^b
3	CT3: Trồng hom sắn KM419 bị bệnh chổi rồng	30	24	76,7 ^a
4	CT4: Trồng hom sắn Rayong 5 bị bệnh chổi rồng	30	9	30,0 ^d
5	CT5: Trồng hom sắn KM94 khỏe	30	0	0,0 ^e
	CV%			11,3
	LSD _{0,05}			9,21

Ghi chú: Giá trị trung bình trong cùng một cột mang chữ cái khác nhau thì sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,05$ và mức xác suất $p < 0,05$

Cây mọc từ hom bị bệnh có sức mọc mầm yếu, cây biểu hiện rõ triệu chứng bệnh chổi rồng trong điều kiện thí nghiệm. Giống sắn KM419 có tỷ lệ bệnh chổi rồng cao nhất 76,7%; thấp hơn cả là giống sắn Rayong 5 với

tỷ lệ cây bệnh là 30%. Hom trồng từ cây sắn khỏe giống KM94 không biểu hiện triệu chứng bệnh. Kết quả xử lý thống kê cho thấy sự khác biệt rõ ràng giữa các giống sắn thí nghiệm trong điều kiện nhà lưới.

3.3. Khả năng lan truyền của bệnh chổi rồng hại sắn qua một số loài côn trùng

Điều tra, quan sát thực tế trên đồng ruộng cho thấy, nhiều vùng trồng sắn tại tỉnh Đồng Nai thường bị nhện nhỏ, rệp sáp và bọ phấn gây hại. Do đó nghiên cứu tiến hành thí nghiệm xác định khả năng lan truyền bệnh chổi rồng của nhện đỏ, rệp sáp và bọ phấn hại sắn. Sử dụng

giống sắn KM94 khỏe được lấy từ cây đã mọc từ hạt không nhiễm bệnh được dùng làm thí nghiệm. Cây dứa cạn (*Catharanthus roseus*) được coi là cây chỉ thị trong nghiên cứu bệnh do phytoplasma gây ra vì loài cây này miễn cảm với tác nhân gây bệnh phytoplasma và được dùng làm cây duy trì, cây nhân nguồn trong nghiên cứu bệnh cây (Bảng 3).

Bảng 3. Khả năng lan truyền của bệnh chổi rồng hại sắn qua nhện đỏ, rệp sáp và bọ phấn (Đồng Nai, năm 2011 và 2012)

Đợt thí nghiệm	Nhện, côn trùng thí nghiệm	Sắn KM94		Dứa cạn	
		CPB/CTN (cây)	Kiểm tra PCR	CPB/CTN (cây)	Kiểm tra PCR
Đợt 1	Nhện đỏ <i>Tetranychus urticae</i> (Koch)	0/9	-	0/9	-
	Rệp sáp <i>Paracoccus marginatus</i> (Williams & Granara de Willink)	0/9	-	0/9	-
	Bọ phấn <i>Aleurodicus dispersus</i> (Russell)	0/9	-	0/9	-
Đợt 2	Nhện đỏ <i>Tetranychus urticae</i> (Koch)	0/15	-	0/15	-
	Rệp sáp <i>Paracoccus marginatus</i> (Williams & Granara de Willink)	0/15	-	0/15	-
	Bọ phấn <i>Aleurodicus dispersus</i> (Russell)	0/15	-	0/15	-

Ghi chú: CPB/CTN: cây phát bệnh/cây thí nghiệm; (-) tức là phản ứng PCR âm tính. Tên Latinh được giám định tại Viện Bảo vệ thực vật năm 2012.

Bảng 4. Một số loài rầy thu thập trên vùng trồng sắn có cây bị bệnh chổi rồng (Đồng Nai, năm 2012)

Ký hiệu mẫu	Tên tiếng Việt	Tên Latinh*	Số rầy vào bẫy (con)	Tỷ lệ (%)
TF1	Rầy sọc trắng	Chưa biết	11	2,7
TF2	Rầy xanh lớn	<i>Cofana unimaculata</i> (Signoret)	8	2,0
TF3	Rầy vân nâu	<i>Athysanus atkinsoni</i> (Distant)	49	12,1
TF4	Rầy xanh	<i>Nephotettix virescens</i> (Distant)	61	15,1
TF5	Rầy xanh	<i>Nephotettix nigropictus</i> (Stål)	109	26,9
TF6	Rầy xám	<i>Bythoscopes</i> sp.	14	3,5
TF7	Rầy xanh lớn	<i>Cofana unimaculata</i> (Signoret)	10	2,5
TF8	Rầy điện quang	<i>Recilia dorsalis</i> (Motschulsky)	56	13,8
TF9	Rầy vân	Chưa biết	2	0,5
TF10	Rầy	Chưa biết	34	8,4
TF11	Rầy xanh	<i>Parabolocratrus rusticusthalia</i> (Distant)	6	1,5
TF12	Rầy cỏ	Chưa biết	23	5,7
TF13	Rầy vân nâu	<i>Athysanus fusconervosus</i> (Motschulsky)	13	3,2
TF14	Rầy xanh	Chưa biết	4	1,0
TF15	Rầy đầu vàng	Chưa biết	5	1,2
Tổng số			405	100

Ghi chú: *Tên Latinh được giám định tại Viện Bảo vệ thực vật năm 2012.

Trong hai đợt thí nghiệm, đợt 1 (24/9/2011) và đợt 2 (02/3/2012), chưa thấy cây thí nghiệm có biểu hiện triệu chứng nhiễm bệnh chổi rồng. Kết hợp kiểm tra PCR cũng chưa phát hiện thấy sự có mặt của phytoplasma trong cơ thể các loài này.

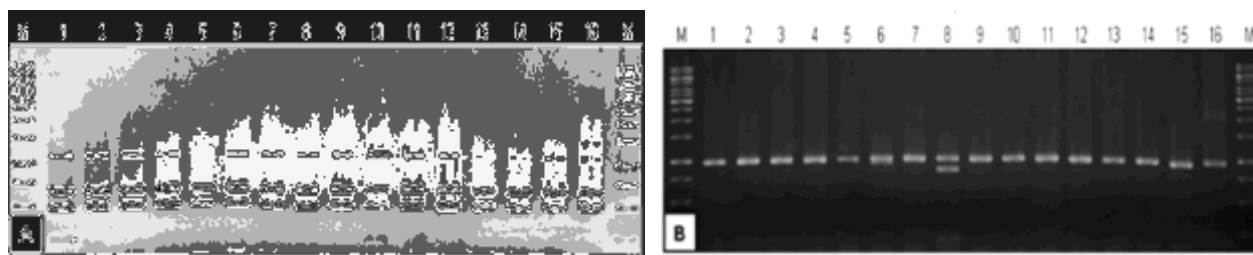
Trong điều kiện mùa khô tại tỉnh Đồng Nai, loài nhện nhỏ và loài mối xuất hiện gây hại phổ biến hơn cả. Bộ cánh cứng chỉ gây hại các phần củ giai đoạn cuối thu hoạch, hoặc phần củ còn sót lại trên đồng ruộng. Các loài rầy sống, gây hại trực tiếp trên cây sắn chưa phát hiện thấy. Phytoplasma gây bệnh thực vật lan truyền ngoài tự nhiên chủ yếu nhờ một số loài rầy theo kiểu bền vững. Dùng phương pháp bẫy đèn thu thập một số loài rầy trên vùng trồng sắn có cây sắn bị bệnh chổi rồng tháng 01 năm 2012 (Bảng 4).

Tuy chưa phát hiện thấy loài rầy nào sống, gây hại trực tiếp trên cây sắn nhưng dùng phương pháp bẫy đèn đã thu thập được một số loài rầy khác nhau. Dựa vào hình thái bên ngoài đánh dấu các ký hiệu mẫu khác nhau, một số tên loài rầy đã được giám định. Tổng số rầy vào bẫy đèn chỉ đạt 405 con, trong đó loài rầy *Nephotettix nigropictus* (Stål), *Nephotettix virescens* (Distant) chiếm tỷ lệ cao hơn cả, tương ứng là 26,9% và 15,1%. Do chỉ mới phát hiện được phytoplasma thuộc nhóm 16SrI - ‘*Candidatus Phytoplasma asteris*’ liên quan đến

bệnh chổi rồng trên cây sắn tại Việt Nam nên chúng tôi dùng cặp mồi đặc hiệu R16(I)F1/R16(I)R1 nhằm phát hiện sự có mặt của phytoplasma thuộc nhóm 16SrI trong cơ thể rầy thu thập. Kết quả điện di khuếch đại gen 16S rDNA với kích thước mong đợi là 1100bp (*hình ảnh không đưa ra*). Kết quả PCR cho thấy sự có mặt của phytoplasma trong cơ thể các loài rầy thu thập được.

Sản phẩm PCR dùng cặp mồi R16(I)F1/R16(I)R1 được cắt với enzyme thường được sử dụng trong nghiên cứu là *EcoRI* và *HaeIII* (Hình 2). Kết quả điện di PCR-RFLP trên gel agarose 1,5% không cho thấy sự khác biệt giữa các mẫu thử nghiệm, trong đó có các mẫu phân lập trên cây sắn bị bệnh chổi rồng tại Đồng Nai và một mẫu đối chứng phytoplasma thuộc nhóm 16SrI.

Dựa vào hình thái các loài rầy thu thập được, phân loại thành các loài khác nhau và tiến hành thả lên cây thí nghiệm trong điều kiện nhà lưới tại tỉnh Đồng Nai. Kết quả cho thấy khi thả rầy thu thập trên đồng ruộng lên cây thí nghiệm nhưng rầy chết nhanh, thường 1-3 ngày sau khi thả lên cây. Cây theo dõi sau 8-9 tháng nhưng không thấy xuất hiện triệu chứng bệnh (*bảng không đưa ra*). Cho đến kết quả hiện tại chưa tìm thấy loài côn trùng có khả năng lan truyền bệnh chổi rồng hại sắn.



Hình 2. Phân tích sản phẩm PCR bằng kỹ thuật RFLP năm 2012

Ghi chú: Kết quả điện di sản phẩm R16(I)F1/R16(I)R1 của mẫu côn trùng và sắn bị bệnh chổi rồng tại Việt Nam được cắt bằng enzyme (A): *EcoRI* và (B): *HaeIII*. M: thang DNA 1kb (Fermentas, Đức). Từ 1 đến 14: các mẫu côn trùng từ TF1 đến TF14 (được chỉ rõ ở bảng 4); 15: mẫu sắn bị bệnh chổi rồng; 16: EAY (*European aster yellows* - thuộc nhóm ‘*Candidatus Phytoplasma asteris*’).

3.4. Ảnh hưởng của một số giống sắn trồng ngoài đồng

Trong sản xuất, phương pháp nhân giống sắn trồng chủ yếu là qua hom. Việc sử dụng hom sắn ban đầu có ý nghĩa rất quan trọng trong quản lý bệnh hại. Tiến hành xác định ảnh hưởng của hom giống trồng đến khả năng lan truyền của bệnh chổi rồng hại sắn với 03 giống sắn đã bị bệnh chổi rồng và 01 giống sắn khỏe với quy mô nhỏ trên ruộng sản xuất tại vùng có áp lực bệnh cao của tỉnh Đồng Nai. Kết quả thí nghiệm trình bày ở bảng 5.

Sau gần 9 tháng trồng, tính đến thời điểm thu hoạch thí nghiệm, tỷ lệ bệnh chổi rồng trên giống sắn KM419 là cao nhất (19,2%), giống sắn HL-S11 chưa thấy bị nhiễm bệnh chổi rồng. Trên giống sắn KM419, cây nhiễm bệnh chổi rồng có chiều cao thấp hẳn xuống (1,79m), chồi ngọn cây bệnh còn bị chết khô và các biểu hiện triệu chứng đặc trưng khác của bệnh chổi rồng.

Giống sắn KM94 có chiều cao cây đạt cao nhất (3,33m). Kết quả xử lý thống kê cho thấy sự khác biệt rõ ràng giữa các giống sắn thí nghiệm.

Đánh giá ảnh hưởng của hom giống sắn đến một số chỉ tiêu năng suất và hàm lượng tinh bột được trình bày ở bảng 6.

Về năng suất thân lá, giống sắn KM419 đạt thấp nhất (18,21 tấn/ha), cao nhất trên giống sắn HL-S11 (40,25 tấn/ha). Về năng suất củ tươi, giống sắn SM937-26 đạt thấp nhất (24,71 tấn/ha), cao nhất là giống sắn HL-S11 (45,29 tấn/ha). Về năng suất tinh bột, giống sắn SM937-26 đạt thấp nhất (5,88 tấn/ha), cao nhất là giống sắn HL-S11 (12,85 tấn/ha). Kết quả xử lý thống kê (mức $\alpha = 0,05$) cho thấy sự khác biệt rõ ràng giữa các giống sắn thí nghiệm. Bệnh chổi rồng gây hại sắn làm giảm sút rõ rệt các chỉ tiêu về sinh trưởng phát triển của các giống sắn đã bị nhiễm bệnh so với giống không bị bệnh.

Bảng 5. Tỷ lệ bệnh chổi rồng và chiều cao cây của 4 giống sắn (Đồng Nai, năm 2013)

STT	Công thức thí nghiệm	Tỷ lệ bệnh chổi rồng (%)	Chiều cao cây (m)
1	CT1: KM94	7,36 ^b	3,33 ^a
2	CT2: KM419	19,20 ^a	1,79 ^c
3	CT3: SM937-26	6,08 ^b	2,76 ^b
4	CT4: HL-S11	0,00 ^c	2,85 ^b
	CV%	19,2	11,9
	LSD _{0,05}	2,95	0,16

Ghi chú: *n = 30; Giá trị trung bình trong cùng một cột mang chữ cái khác nhau thì sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,05$ và mức xác suất $p < 0,05$.

Bảng 6. Năng suất, hàm lượng tinh bột và chỉ số thu hoạch của 4 giống sắn (Đồng Nai, năm 2013)

Công thức thí nghiệm	Năng suất thân lá (tấn/ha)	Năng suất củ tươi (tấn/ha)	Năng suất tinh bột (tấn/ha)	Hàm lượng tinh bột (%)	Chỉ số thu hoạch
CT1: KM94	24,83 ^b	34,93 ^b	8,83 ^b	25,27 ^b	58,49 ^a
CT2: KM419	18,21 ^c	25,33 ^c	6,42 ^c	25,50 ^b	58,05 ^a
CT3: SM937-26	23,67 ^b	24,71 ^c	5,88 ^c	23,83 ^b	50,74 ^b
CT4: HL-S11	40,25 ^a	45,29 ^a	12,85 ^a	28,40 ^a	52,68 ^b
CV%	7,7	12,1	12,2	5,5	3,6
LSD _{0,05}	4,14	7,84	2,07	2,82	3,94

Ghi chú: Giá trị trung bình trong cùng một cột mang chữ cái khác nhau thì sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,05$ và mức xác suất $p < 0,05$.

4. THẢO LUẬN

Sử dụng hom sắn đã bị nhiễm bệnh đã làm cho bệnh chổi rồng lây lan nhanh trên đồng ruộng, gây thiệt hại đến năng suất và làm giảm hàm lượng tinh bột. Không phải tất cả các hom sắn trồng từ giống đã bị bệnh chổi rồng xuất hiện triệu chứng bệnh. Kiểm soát việc vận chuyển và kiểm tra hom sắn được sử dụng làm giống trong sản xuất cần phải được thực hiện tốt. Theo các kết quả đã công bố, phytoplasma gây bệnh cây không lan truyền qua tiếp xúc cơ học, qua dụng cụ chặt cành, hom. Phytoplasma được lan truyền thông qua quá trình nhân giống vô tính như sử dụng hom giống, chiết, ghép mầm từ cây bị bệnh lên cây khoẻ (Christensen et al., 2005). Côn trùng môi giới và cây trồng đều là những ký chủ tự nhiên của phytoplasma (Lee et al., 2000). Trong thời gian nghiên cứu này, mặc dù các loài rầy mang phytoplasma trong cơ thể nhưng chúng không truyền phytoplasma gây bệnh trên cây sắn. Điều này không có gì là ngạc nhiên, bởi sự có mặt của phytoplasma trong cơ thể rầy không có nghĩa là chúng là vector lan truyền bệnh (Vega et al., 1993). Các báo cáo kết quả nghiên cứu tại một số nước về bệnh phytoplasma gây hại trên cây sắn (*Manihot esculenta*) đều chưa phát hiện ra loài côn trùng có khả năng lan truyền bệnh (Davis et al., 2005; Arocha et al., 2008a, 2008b; Alvarez et al., 2009; Flôres et al., 2013).

5. KẾT LUẬN

Trong điều kiện nghiên cứu này i) chưa thấy bệnh chổi sắn lan truyền qua đất trồng; ii) bệnh chổi rồng sắn lan truyền chủ yếu qua hom giống đã bị nhiễm bệnh; iii) chưa thấy nhện đỏ, rệp sáp, bọ phấn và một số loài rầy là vector lan truyền bệnh chổi rồng hại sắn; iv) năng suất và hàm lượng tinh bột của giống sắn không bị bệnh đều cao hơn so với các giống sắn đã bị nhiễm bệnh chổi rồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Báo Nông nghiệp Việt Nam (2011). Giải pháp trị bệnh chổi rồng hại sắn. Truy cập ngày 31/3/2011 tại

<http://nongnghiep.vn/nongnghiepv/vi-vn/25/76163/Ky-thuat-nghe-nong/Giai-phap-tri-benh-choi-rong-hai-san.html>.

- Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn (2011). Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về khảo nghiệm giá trị canh tác và giá trị sử dụng của giống sắn QCVN 01-61:2011/BNNPTNT. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn ban hành tại Thông tư số 48/2011/TT-BNNPTNT ngày 05/7/2011.
- Trịnh Xuân Hoạt, Nguyễn Đức Thành, Ngô Gia Bôn, Mai Văn Quân và Vũ Duy Hiện (2012). Phát hiện và xác định phytoplasma liên quan đến bệnh chổi rồng hại sắn tại một số tỉnh phía nam Việt Nam. Tạp chí Bảo vệ thực vật, 2: 10-13.
- Alvarez, E., Mejía J.F., Llano G.A., Loke J.B., Calari A., Duduk B. and Bertaccini A. (2009). Characterization of a phytoplasma associated with frogskin disease in cassava. *Plant Diseases*, 93: 1139-1145.
- Alvarez, E., Pardo, J.M., Mejía J.F., Bertaccini A., Thanh N.D., Hoat T.X. (2013). Detection and identification of ‘Candidatus Phytoplasma asteris’ related phytoplasmas associated with a witches’ broom disease of cassava in Vietnam. *Phytopathogenic Mollicutes*, 3(2): 77-81.
- Arocha, Y., Echodu R., Talengera D., Muhangi J., Rockefeller E., Asher O., Nakacwa R., Serugga R., Gumisiriza G., Tripathi J., Kabuye D., Otipa M., Lukanda K. and Boa E. (2008a). Occurrence of ‘Candidatus Phytoplasma aurantifolia’ (16SrII group) in cassava and four other species in Uganda. *New Disease Reports*, 17: 28.
- Arocha, Y., Piñol B., Almeida R., Acosta K., Quiñones M., Zayas T., Varela M., Marrero Y., Boa E. and Lucas J.A. (2008b). First report of phytoplasmas affecting organoponic crops in central and eastern Cuba. *New Disease Reports*, 18: 24.
- Christensen, N.M., Axelsen K.B., Nicolaisen M. and Schulz A. (2005). Phytoplasmas and their interactions with hosts. *Trends in Plant Science*, 10: 526-535.
- Davis, R.I., Arocha Y., Jones P. and Malay A. (2005). First report of the association of phytoplasmas with plant diseases in the territory of Wallis and Futuna. *Australasian Plant Pathology*, Australasian Plant Pathology, 34: 417-418.
- Deng, S. and Hiruki C. (1991). Amplification of 16S rRNA genes from culturable and non-culturable mollicutes. *Journal of Microbiological Methods*, 14: 53-61.
- Doyle, J.J. and Doyle J.L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15.
- Flôres, D., Isolda C.H., Maria C.C. and Ivan P.B. (2013). Molecular identification of a 16SrIII-B phytoplasma associated with cassava witches’

- broom disease. *European Journal of Plant Pathology*, 137(2): 237-242.
- Lee, I-M., Gundersen, D.E., Hammond R.W., Davis R.E (1994). Use of mycoplasma like organism (MLO) groupspecific oligonucleotide primers for nested-PCR assays to detect mixed-MLO infections in a single host plant. *Phytopathology*, 84: 559-566.
- Lee, I.M, Davis R.E. and Gundersen D.E. (2000). *Phytoplasma: phytopathogenic mollicutes*. *Annual Review of Microbiology*, 54: 221-255.
- Smart, C.S., Schneider B., Blomquist C., Guerra J., Harrison N.A., Ahrens U., Lorenz K.H., Seemuller E., Kirkpatrick B.C. (1996). Phytoplasma-specific PCR primers based on sequences of the 16-23S rRNA spacer region. *Applied and Environmental Microbiology*, 62: 2988-2993.
- Vega, F.E, Davis R.E., Barbosa P., Dally E.L., Purcell A.H. and Lee I-M. (1993). Detection of a plant pathogen in a nonvector insect species by the polymerase chain reaction. *Phytopathology*, 83: 621-624.