

**VIỆN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP VIỆT NAM  
VIỆN DI TRUYỀN NÔNG NGHIỆP**

## **HỘI NGHỊ KHOA HỌC**

**NGUYỄN ĐỨC THÀNH**

**NGHIÊN CỨU BỆNH DO PHYTOPLASMA HẠI SẴN  
(*Manihot esculenta* Crantz) TẠI MỘT SỐ TỈNH ĐÔNG NAM BỘ**

**HÀ NỘI, 2017**

# PHẦN 1. MỞ ĐẦU

Cây sắn (*Manihot esculenta* Crantz) được trồng rộng khắp ở các tỉnh trong cả nước với nhiều vùng trồng tập trung, đem lại nguồn thu nhập cho người dân, góp phần ổn định tình hình kinh tế - xã hội. Sắn đã trở thành 1 trong 10 mặt hàng nông sản xuất khẩu quan trọng, có giá trị kinh tế cao của Việt Nam.

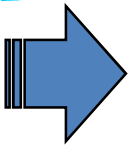


Ở nước ta trên cây sắn xuất hiện một loại bệnh mới được gọi là bệnh chổi phù thủy (hay bệnh chổi rồng) với biểu hiện triệu chứng đặc trưng do bị nhiễm phytoplasma. Cây sắn bị bệnh chổi phù thủy, năng suất giảm 10-30%, hàm lượng tinh bột giảm 20-30%.



Phytoplasma là một tác nhân đặc biệt gây bệnh trên cây trồng. Con đường lan truyền của phytoplasma ngoài tự nhiên là qua nhân giống vô tính và qua côn trùng môi giới. Chẩn đoán và phân loại nhóm tác nhân gây bệnh này chủ yếu dựa trên phân tích một số vùng gen, quan trọng nhất là gen mã hóa 16S RNA ribosome.

Phòng chống hiệu quả bệnh cây nói chung và bệnh chổi phù thủy hại sắn nói riêng phụ thuộc nhiều yếu tố, trong đó, đầu tiên là phải xác định chính xác tác nhân gây bệnh và các đặc điểm sinh học của bệnh. Do bệnh chổi phù thủy hại sắn là một bệnh mới ở Việt Nam nên cần phải thực hiện nghiên cứu về bệnh, đặc biệt tại các tỉnh trọng điểm có dịch ở Đông Nam Bộ.



## 1.1. TÍNH CẤP THIẾT CỦA ĐỀ TÀI

## 1.2. MỤC TIÊU CỦA ĐỀ TÀI

Chẩn đoán và phân loại được phytoplasma gây hại trên cây sắn tại một số tỉnh Đông Nam Bộ; đánh giá được một số đặc điểm sinh học chính như tính gây bệnh và khả năng lan truyền của chúng.

## 1.3. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHẠM VI NGHIÊN CỨU

### 1.3.1. Đối tượng nghiên cứu

Phytoplasma gây hại trên cây sắn, tập trung vào lĩnh vực chẩn đoán, phân loại và một số đặc điểm sinh học.

### 1.3.2. Phạm vi nghiên cứu

Điều tra mức độ phổ biến của bệnh chổi phù thủy hại sắn ở Đông Nam Bộ, xác định nguyên nhân phytoplasma gây bệnh chổi phù thủy hại sắn. Nghiên cứu biện pháp chẩn đoán, xác định và phân loại phytoplasma gây bệnh chổi phù thủy hại sắn và khả năng lan truyền của bệnh phytoplasma hại sắn ở điều kiện chậu vại trong nhà lưới.

# PHẦN 3. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

## 3.1. VẬT LIỆU, ĐỊA ĐIỂM VÀ THỜI GIAN NGHIÊN CỨU

### 3.1.1. Vật liệu nghiên cứu

#### 3.1.1.1. Giống sản thí nghiệm

#### 3.1.1.2. Thiết bị, dụng cụ và hoá chất dùng trong nghiên cứu

### 3.1.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

#### 3.1.2.1. Địa điểm nghiên cứu

Điều tra, thu thập mẫu cây sản có biểu hiện bệnh chổi phù thuỷ tại vùng Đông Nam Bộ và tại một số địa phương khác. Những nghiên cứu thực nghiệm, chẩn đoán và giám định liên quan đến nội dung của đề tài được thực hiện tại:

- ✓ Viện Bảo vệ thực vật, Bắc Từ Liêm, thành phố Hà Nội.
- ✓ Trung tâm Nghiên cứu Bệnh cây nhiệt đới, Học viện Nông nghiệp Việt Nam - Trâu Quỳ, huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội.
- ✓ Trung tâm Nghiên cứu thực nghiệm Nông nghiệp Hưng Lộc - xã Hưng Thịnh, huyện Trảng Bom, tỉnh Đồng Nai.

#### 3.1.2.2. Thời gian nghiên cứu

Đề tài được thực hiện từ năm 2011 đến năm 2014.

## **3.2. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU**

**3.2.1. Điều tra mức độ phổ biến của bệnh chổi phù thuỷ hại sắn**

**3.2.2. Phát hiện phytoplasma hại sắn bằng kính hiển vi điện tử, nhuộm mô và PCR**

**3.2.3. Định danh phân tử và phân tích phả hệ phytoplasma hại sắn**

**3.2.4. Ứng dụng kỹ thuật LAMP-PCR để chẩn đoán phytoplasma nhóm 16SrII hại sắn**

**3.2.5. Xác định một số đặc điểm sinh học của bệnh chổi phù thuỷ hại sắn do phytoplasma gây ra**

### 3.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

**Các phương pháp nghiên cứu là tương quy, được sử dụng trong nghiên cứu bệnh do phytoplasma gây ra.**

- Tỷ lệ cây sản nhiễm bệnh chổi phù thủy (%) được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ bệnh (\%)} = a/b \times 100$$

Trong đó: a: Tổng số cây sản bị nhiễm bệnh chổi phù thủy.

b: Tổng số cây sản điều tra/thí nghiệm.

- Tính hệ số tương đồng (F) cho từng cặp mẫu phytoplasma được tính theo công thức của Nei and Li (1979):

$$F = \frac{2N_{xy}}{N_x + N_y}$$

Trong đó:

$N_{xy}$ : số băng DNA chung có ở cả hai mẫu x và y,

$N_x$ : số băng DNA của mẫu x,

$N_y$ : số băng DNA của mẫu y.

Số liệu thu thập được xử lý trong Microsoft Office Excel. Số liệu thí nghiệm được tính toán, xử lý thống kê theo phương pháp phân tích phương sai bằng chương trình IRRISTAT 4.0.

# PHẦN 4. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

## 4.1. MÔ TẢ TRIỆU CHỨNG VÀ ĐIỀU TRA MỨC ĐỘ PHỔ BIẾN CỦA BỆNH CHỐI PHÙ THỦY HẠI SẢN

### 4.1.1. Mô tả triệu chứng bệnh







### 4.1.2. Mức độ phổ biến của bệnh chổi phù thủy hại sắn

**Bảng 4.1. Mức độ phổ biến của bệnh chổi phù thủy hại sắn tại các điểm điều tra ở một số tỉnh (năm 2011)**

STT	Địa điểm điều tra*	Tên giống	Giai đoạn sinh trưởng phát triển	Tỷ lệ bệnh
1	Trảng Bom, Đồng Nai	KM94	Chờ thu hoạch	18,0
2	Trảng Bom, Đồng Nai	KM140	Chờ thu hoạch	22,0
3	TP. Kon Tum, Kon Tum	KM94	Chờ thu hoạch	12,1
4	Kon Rẫy, Kon Tum	KM94	Chờ thu hoạch	29,4
5	Sơn Hà, Quảng Ngãi	KM94	Chờ thu hoạch	5,7
6	Đồng Phú, Bình Phước	KM60	Phát triển thân lá	10,8
7	Trảng Bom, Đồng Nai	KM60	Phát triển thân lá	12,2
8	Trảng Bom, Đồng Nai	KM419	Cây con	60,2

Ghi chú: \* Điều tra trên 3 cánh đồng khác nhau tại mỗi địa điểm.

## 4.2. PHÁT HIỆN PHYTOPLASMA HẠI SẴN BẰNG KÍNH HIỂN VI ĐIỆN TỬ, NHUỘM MÔ VÀ PCR

### 4.2.1. Phát hiện phytoplasma hại sắn bằng kính hiển vi điện tử

**Bảng 4.2. Phát hiện phytoplasma hại sắn bằng kính hiển vi điện tử**

STT	Bộ phận kiểm tra	Địa điểm thu thập	Kết quả hiển vi điện tử
1	Gân lá cây bệnh	Tân Thành, Bà Rịa - Vũng Tàu	+
2	Gân lá cây bệnh	Thống Nhất, Đồng Nai	+
3	Gân lá cây bệnh	Trảng Bom, Đồng Nai	+
4	Gân lá cây khỏe	Trảng Bom, Đồng Nai	-
5	Gân lá cây bệnh	Trảng Bom, Đồng Nai	+
6	Gân lá cây bệnh	Trảng Bom, Đồng Nai	+
7	Gân lá cây khỏe	Trảng Bom, Đồng Nai	-

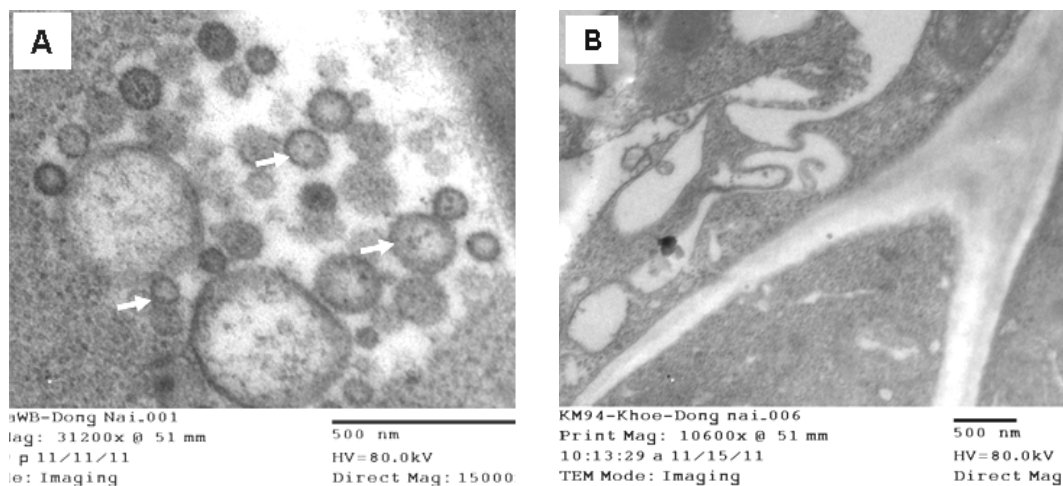
Ghi chú: (+) có phytoplasma; (-) không có phytoplasma.

hình tròn, hình ovan với kích thước từ 108 - 199 nm trong tế bào tế bào ống rây của mạch phloem cây sắn biểu hiện triệu chứng bệnh chổi phù thủy nhưng không thấy sự hiện diện của chúng trong tế bào ống rây của mạch phloem cây sắn không bị bệnh. Ngoài ra, không phát hiện thấy tác nhân gây bệnh nào khác trong tế bào ống rây của mạch phloem cây sắn bị bệnh chổi phù thủy và cây không bị bệnh



**Hình 4.2. Xác định phytoplasma hại sắn bằng kính hiển vi điện tử (đợt 1, năm 2011)**

A) Mẫu cây sắn dùng trong phân tích bằng kính hiển vi điện tử; B) Thể phytoplasma trong tế bào ống rây của mạch phloem cây sắn nhiễm bệnh chổi phù thủy (độ phóng đại 25.000 lần). Thanh bar: 500 nm.



**Hình 4.3. Xác định phytoplasma hại sắn bằng kính hiển vi điện tử (đợt 2, năm 2011)**

A) Thể phytoplasma (mũi tên) được tìm thấy trong tế bào ống rây của mạch phloem cây sắn nhiễm bệnh chổi phù thủy; B) cây sắn khỏe. Thanh bar: 500 nm

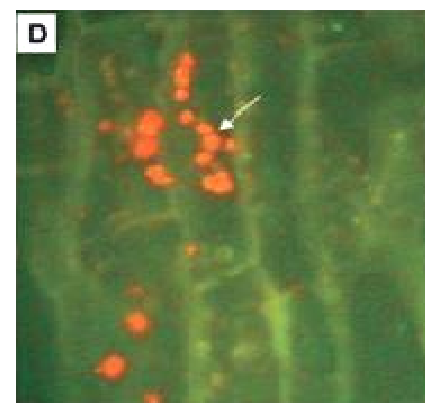
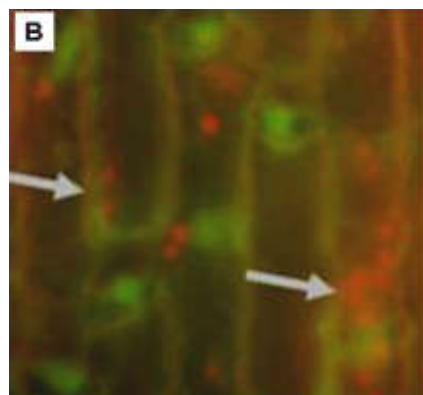
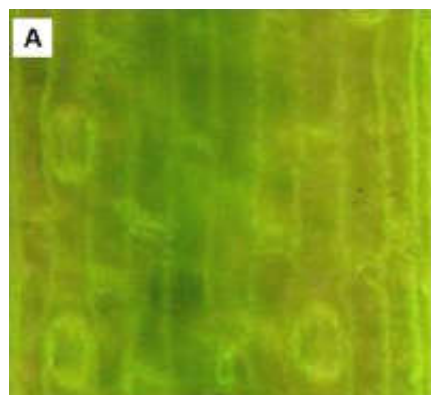
## 4.2.2. Phát hiện phytoplasma hại sắn bằng nhuộm mô

### 4',6-diamidino-2-phenylindole dihydrochloride (DAPI)

**Bảng 4.3. Phát hiện phytoplasma hại sắn bằng nhuộm DAPI (năm 2014)**

STT	Bộ phận kiểm tra	Tên bệnh cây ký chủ	Kết quả nhuộm DAPI
1	Gân lá - cây bệnh 1	Chối phù thủy sắn	+
2	Gân lá - cây bệnh 2	Chối phù thủy sắn	+
3	Gân lá - cây bệnh 3	Chối phù thủy sắn	+
4	Vỏ củ - cây bệnh 1	Chối phù thủy sắn	-
5	Gân lá - cây khỏe 1	Cây sắn không bị bệnh	-
6	Gân lá - cây khỏe 2	Cây sắn không bị bệnh	-
7	Gân lá - cây khỏe 3	Cây sắn không bị bệnh	-
8	Vỏ củ - cây khỏe 1	Cây sắn không bị bệnh	-

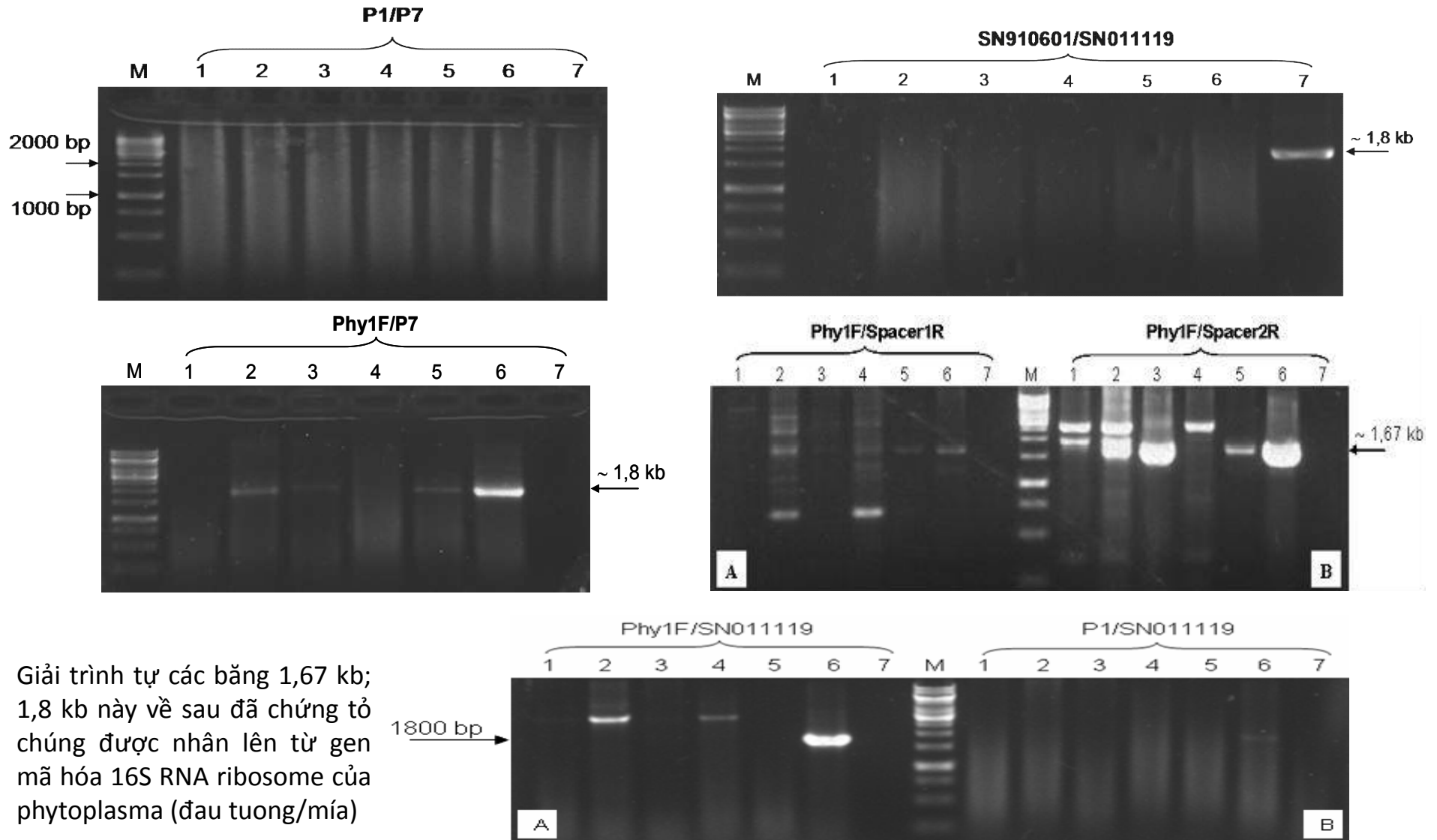
Ghi chú: (+) có phytoplasma, (-) không có phytoplasma



Hình 4.4. Kết quả thí nghiệm nhuộm DAPI

Arismendi *et al.* (2010)

### 4.2.3. Phát hiện phytoplasma hại sắn bằng kỹ thuật PCR



Kết quả kiểm tra PCR với mẫu sắn bệnh và các mẫu tham khảo có thể giải thích được lý do tại sao các phản ứng PCR dùng các cặp mồi trên không thể phát hiện được phytoplasma trên sắn: **(i)** kích thước sản phẩm PCR của các tổ hợp mồi này đều khá lớn (xấp xỉ từ 1,6 đến 1,8 kb) nên phản ứng PCR khó thực hiện, **(ii)** hàm lượng phytoplasma trong cây sắn bệnh có thể thấp tới mức vượt quá khả năng phát hiện bằng PCR.

### 4.2.3.1. Phát hiện phytoplasma hại sắn bằng kỹ thuật PCR lồng với cặp mồi R16F2n/R16R2

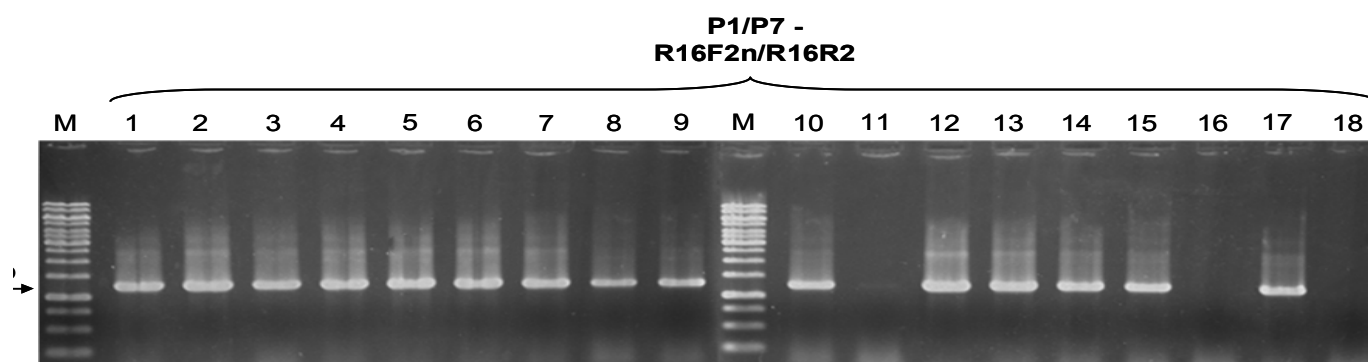
**Bảng 4.4. Kết quả PCR phát hiện phytoplasma hại sắn dùng cặp mồi P1/P7-R16F2n/R16R2**

STT	Mẫu thử*	Địa điểm thu mẫu	Năm thu thập	Bộ phận kiểm tra	Kết quả PCR
1	BRVT-01	Tóc Tiên, Tân Thành, Bà Rịa-Vũng Tàu	2011	Gân lá	+
2	BRVT-02	Tóc Tiên, Tân Thành, Bà Rịa-Vũng Tàu	2011	Gân lá	+
3	BRVT-03	Tóc Tiên, Tân Thành, Bà Rịa-Vũng Tàu	2011	Gân lá	+
4	BRVT-04	Tóc Tiên, Tân Thành, Bà Rịa-Vũng Tàu	2011	Gân lá	+
5	QNg-01	Sơn Nham, Sơn Hà, Quảng Ngãi	2011	Gân lá	+
6	QNg-02	Sơn Nham, Sơn Hà, Quảng Ngãi	2011	Gân lá	+
7	QNg-03	Sơn Nham, Sơn Hà, Quảng Ngãi	2011	Gân lá	+
8	QNg-04	Sơn Nham, Sơn Hà, Quảng Ngãi	2011	Gân lá	+
9	ĐN-01	Hung Thịnh, Trảng Bom, Đồng Nai	2011	Gân lá	+
10	ĐN-02	Hung Thịnh, Trảng Bom, Đồng Nai	2011	Gân lá	+
11	ĐN-03	Hung Thịnh, Trảng Bom, Đồng Nai	2011	Gân lá	+
12	ĐN-04	Hung Thịnh, Trảng Bom, Đồng Nai	2011	Gân lá	+

### Tiếp Bảng 4.4.

50	YB-02	Mậu A, Văn Yên, Yên Bái	2011	Gân lá	+
51	ĐN-34	Hung Thịnh, Trảng Bom, Đồng Nai	2012	Gân lá	+
52	ĐN-35	Hung Thịnh, Trảng Bom, Đồng Nai	2012	Gân lá	+
53	BD-01	Phú An, Bến Cát, Bình Dương	2012	Gân lá	-
54	BD-02	Phú An, Bến Cát, Bình Dương	2012	Gân lá	-
55	BP-01	Đồng Phú, Bình Phước	2012	Gân lá	+
56	BP-02	Đồng Phú, Bình Phước	2012	Gân lá	+
57	BP-03	Đồng Phú, Bình Phước	2012	Gân lá	+
58	PhT-01	Cổ Tiết, Tam Nông, Phú Thọ	2012	Gân lá	+

Ghi chú: \* Tên viết tắt và nguồn gốc các mẫu thử nghiệm được chỉ rõ ở phần phụ lục 2; (-) là phản ứng PCR âm tính; (+) là phản ứng PCR dương tính.



**Hình 4.5. Minh họa kết quả điện di sản phẩm PCR lồng dùng 2 cặp môi P1/P7-R16F2n/R16R2**

M: Thang DNA 1kb (Fermentas); Kích thước sản phẩm được chỉ rõ bằng mũi tên.

#### 4.2.3.2. Phát hiện phytoplasma bằng kỹ thuật PCR lồng với cặp mồi R16mF2/R16mR1

**Bảng 4.5. Kết quả PCR phát hiện phytoplasma hại sắn dùng cặp mồi P1/P7 - R16mF2/R16mR1**

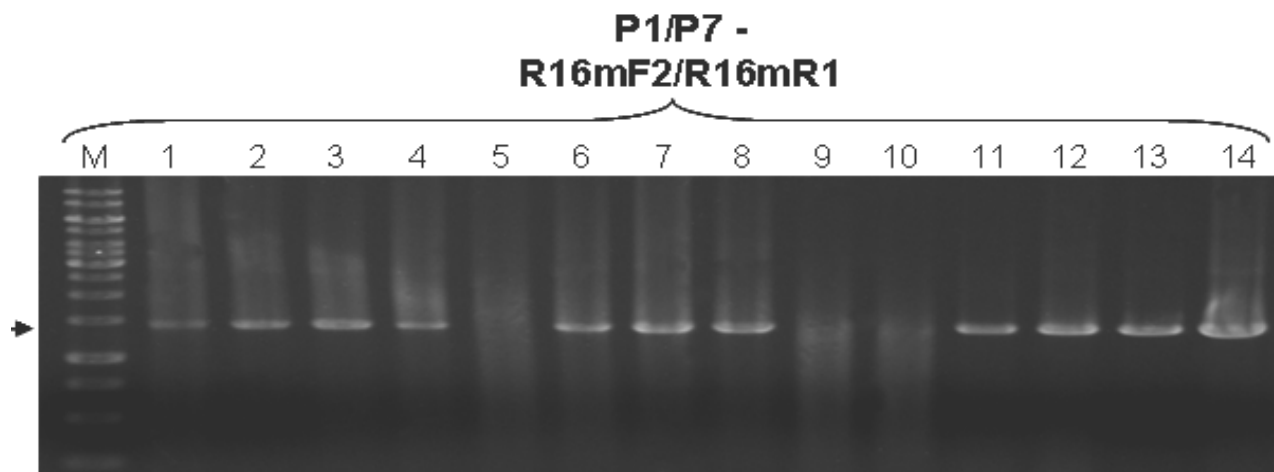
STT	Mẫu thử*	Địa điểm thu thập	Năm thu thập	Bộ phận kiểm tra	Kết quả PCR
1	BRVT-01	Tóc Tiên, Tân Thành, Bà Rịa-Vũng Tàu	2011	Gân lá	+
2	BRVT-02	Tóc Tiên, Tân Thành, Bà Rịa-Vũng Tàu	2011	Gân lá	+
3	BRVT-03	Tóc Tiên, Tân Thành, Bà Rịa-Vũng Tàu	2011	Gân lá	+
4	QNg-01	Sơn Nham, Sơn Hà, Quảng Ngãi	2011	Gân lá	+
5	QNg-02	Sơn Nham, Sơn Hà, Quảng Ngãi	2011	Gân lá	-
6	QNg-03	Sơn Nham, Sơn Hà, Quảng Ngãi	2011	Gân lá	+
7	ĐN-01	Hung Thịnh, Trảng Bom, Đồng Nai	2011	Gân lá	+
8	ĐN-02	Hung Thịnh, Trảng Bom, Đồng Nai	2011	Gân lá	+
9	ĐN-03	Hung Thịnh, Trảng Bom, Đồng Nai	2011	Gân lá	-
10	KT-01	Đăk Tôre, Kon Rẫy, Kon Tum	2011	Gân lá	-
11	KT-02	Đăk Tôre, Kon Rẫy, Kon Tum	2011	Gân lá	+
12	KT-03	Đăk Tôre, Kon Rẫy, Kon Tum	2011	Gân lá	+
13	YB-01	Mậu A, Văn Yên, Yên Bái	2011	Gân lá	+
14	YB-02	Mậu A, Văn Yên, Yên Bái	2011	Gân lá	+



### Tiếp Bảng 4.5.

20	T20-ĐN	Hung Lộc, Thống Nhất, Đồng Nai	2013	Gân lá	-
21	T11-QNg	Quảng Ngãi	Không rõ	Không rõ	+
22	T17-BD	Phú An, Bến Cát, Bình Dương	2012	Gân lá	-
23	T18-TN	Tân Hội, Tân Châu, Tây Ninh	2013	Gân lá	+
24	T19-BRVT	Bà Rịa-Vùng Tàu	Không rõ	Không rõ	+
25	TN-01	Tân Hội, Tân Châu, Tây Ninh	2013	Gân lá	+
26	TN-02	Tân Hội, Tân Châu, Tây Ninh	2013	Gân lá	-
27	TN-03	Tân Hội, Tân Châu, Tây Ninh	2013	Gân lá	+

Ghi chú: \* Tên viết tắt và nguồn gốc các mẫu thử nghiệm được chỉ rõ ở phần phụ lục 2;  
 (-) là phản ứng PCR âm tính; (+) là phản ứng PCR dương tính.



**Hình 4.6. Minh họa kết quả điện di sản phẩm PCR lồng dùng 2 cặp môi P1/P7-R16mF2/R16mR1**

### 4.3. ĐỊNH DANH PHÂN TỬ VÀ PHÂN TÍCH PHẢ HỆ PHYTOPLASMA HẠI SẴN

#### 4.3.1. Kết quả định danh bằng giải trình tự sản phẩm PCR

##### 4.3.1.1. Giải trình tự sản phẩm PCR dùng cặp mồi R16F2n/R16R2

**Bảng 4.6. Kết quả giải trình tự trực tiếp sản phẩm PCR  
lồng dùng cặp mồi R16F2n/R16R2**

STT	Mẫu	Địa điểm thu thập	Mồi giải trình tự*	Trình tự đọc được
1	BRVT-01	Tân Thành, Bà Rịa - Vũng Tàu	R16F2n	795
2	QNg-01	Sơn Hà, Quảng Ngãi	R16F2n	870
3	ĐN-01	Trảng Bom, Đồng Nai	R16F2n	869
4	KT-01	Kon Rẫy, Kon Tum	R16F2n	798
5	KT-17	Kon Rẫy, Kon Tum	R16F2n/R16R2	1.106
6	ĐN-34	Trảng Bom, Đồng Nai	R16F2n/R16R2	1.105
7	BP-01	Đồng Phú, Bình Phước	R16F2n/R16R2	1.156
8	ĐN-02	Trảng Bom, Đồng Nai	R16F2n/R16R2	1.083
9	YB-02	Văn Yên, Yên Bái	R16F2n/R16R2	1.052
10	BRVT-02	Tân Thành, Bà Rịa - Vũng Tàu	R16F2n/R16R2	1.114
11	QNg-19.2	Sơn Hà, Quảng Ngãi	R16F2n/R16R2	1.047
12	BR-05	Tân Thành, Bà Rịa - Vũng Tàu	R16F2n/R16R2	1.052
13	BR-7.2	Châu Đức, Bà Rịa - Vũng Tàu	R16F2n/R16R2	1.048
14	BR-9.1	Châu Đức, Bà Rịa - Vũng Tàu	R16F2n/R16R2	1.105

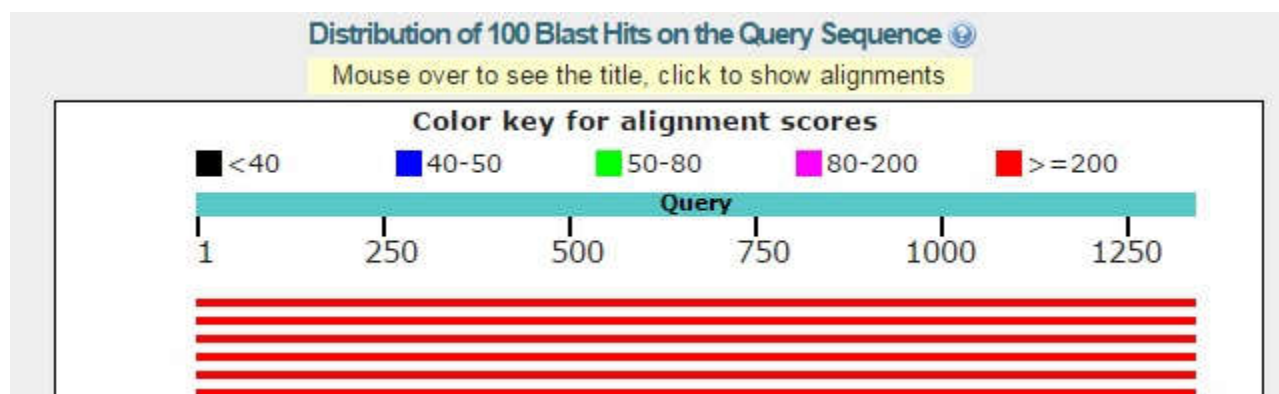
\* Chỉ trình bày các trình tự rõ ràng, không bị nhiễu.

### 4.3.1.2. Giải trình tự sản phẩm PCR dùng cặp mồi R16mF2/R16mR1

**Bảng 4.8. Kết quả giải trình tự trực tiếp sản phẩm PCR dùng cặp mồi R16mF2/R16mR1**

STT	Mẫu	Địa điểm thu thập	Mồi giải trình tự*	Trình tự đọc được
1	YB-01	Văn Yên, Yên Bái	R16mF2/R16mR1	1.231
2	T7-ĐN	Thống Nhất, Đồng Nai	R16mF2/R16mR1	1.340
3	T11-QNg	Sơn Hà, Quảng Ngãi	R16mF2/R16mR1	1.330
4	T18-TN	Tân Châu, Tây Ninh	R16mF2/R16mR1	1.341
5	T19-BRVT	Tân Thành, Bà Rịa Vũng Tàu	R16mF2/R16mR1	1.340

\* Chỉ trình bày các trình tự rõ ràng, không bị nhiễu.



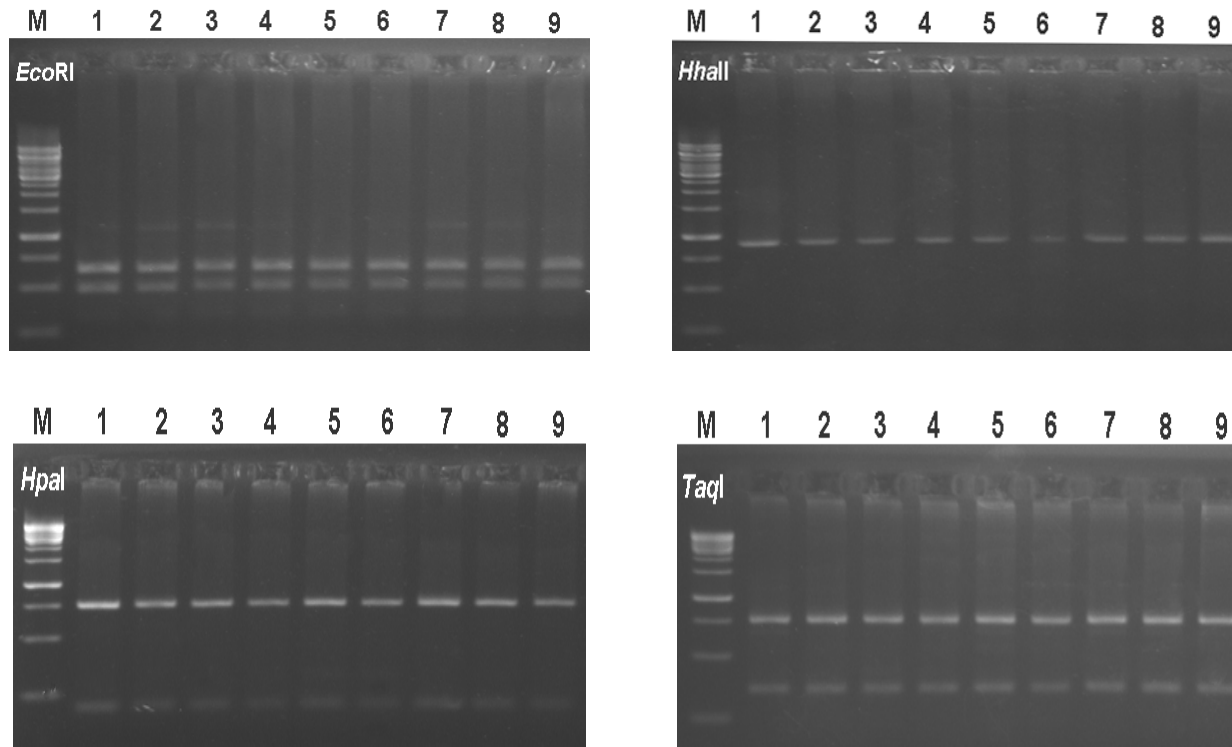
**Bảng 4.10. Danh sách các mẫu phytoplasma hại sắn  
đã được đăng ký trên Ngân hàng Gen**

STT	Mẫu	Địa điểm thu thập	Cặp mồi PCR*	Mồi giải trình tự	Trình tự	Mã truy cập Ngân hàng Gen
1	BRVT-01	Tóc Tiên, Tân Thành, Bà Rịa-Vũng Tàu	R16F2n/R16R2	R16F2n	795	JN381547
2	QNg-01	Sơn Nham, Sơn Hà, Quảng Ngãi	R16F2n/R16R2	R16F2n	870	JN381548
3	ĐN-01	Hưng Thịnh, Trảng Bom, Đồng Nai	R16F2n/R16R2	R16F2n	869	JN381549
4	KT-01	Đăk Tờre, Kon Rẫy, Kon Tum	R16F2n/R16R2	R16F2n	798	JN381550
5	KT-17	Đăk Tờre, Kon Rẫy, Kon Tum	R16F2n/R16R2	R16F2n/R16R2	1.106	JQ973105
6	ĐN-34	Hưng Thịnh, Trảng Bom, Đồng Nai	R16F2n/R16R2	R16F2n/R16R2	1.105	JQ973106
7	BP-01	Đồng Phú, Bình Phước	R16F2n/R16R2	R16F2n/R16R2	1.156	KC295284
8	ĐN-02	Hưng Thịnh, Trảng Bom, Đồng Nai	R16F2n/R16R2	R16F2n/R16R2	1.083	KM360168
9	BRVT-02	Tóc Tiên, Tân Thành, Bà Rịa-Vũng Tàu	R16F2n/R16R2	R16F2n/R16R2	1.114	KC295285
10	QNg-19.2	Sơn Nham, Sơn Hà, Quảng Ngãi	R16F2n/R16R2	R16F2n/R16R2	1.047	KM360169
11	BR-5	Châu Pha, Tân Thành, Bà Rịa-Vũng Tàu	R16F2n/R16R2	R16F2n/R16R2	1.052	KM360170
12	BR-7.2	Bình Ba, Châu Đức, Bà Rịa-Vũng Tàu	R16F2n/R16R2	R16F2n/R16R2	1.048	KM360171
13	BR-9.1	Suối Nghệ, Châu Đức, Bà Rịa-Vũng Tàu	R16F2n/R16R2	R16F2n/R16R2	1.051	KM360172
14	YB-02	Mậu A, Văn Yên, Yên Bái	R16F2n/R16R2	R16F2n/R16R2	1.052	KM360167
15	<b>YB-01</b>	Mậu A, Văn Yên, Yên Bái	R16mF2/R16mR1	<b>R16mF2/R16mR1</b>	1.231	KM360166
16	<b>T7-ĐN</b>	Hưng Lộc, Thống Nhất, Đồng Nai	R16mF2/R16mR1	<b>R16mF2/R16mR1</b>	1.340	KM280679
17	<b>T11-QNg</b>	Sơn Hà, Quảng Ngãi	R16mF2/R16mR1	<b>R16mF2/R16mR1</b>	1.330	KM280680
18	<b>T18-TN</b>	Tân Hội, Tân Châu, Tây Ninh	R16mF2/R16mR1	<b>R16mF2/R16mR1</b>	1.341	KM280681
19	<b>T19-BRVT</b>	Tân Thành, Bà Rịa-Vũng Tàu	R16mF2/R16mR1	<b>R16mF2/R16mR1</b>	1.340	KM280682

\* Cặp mồi sử dụng trong bước 2 của phản ứng PCR lồng

## 4.3.2. Kết quả định danh bằng kỹ thuật RFLP

### 4.3.2.1. Phân tích RFLP dựa trên sản phẩm PCR

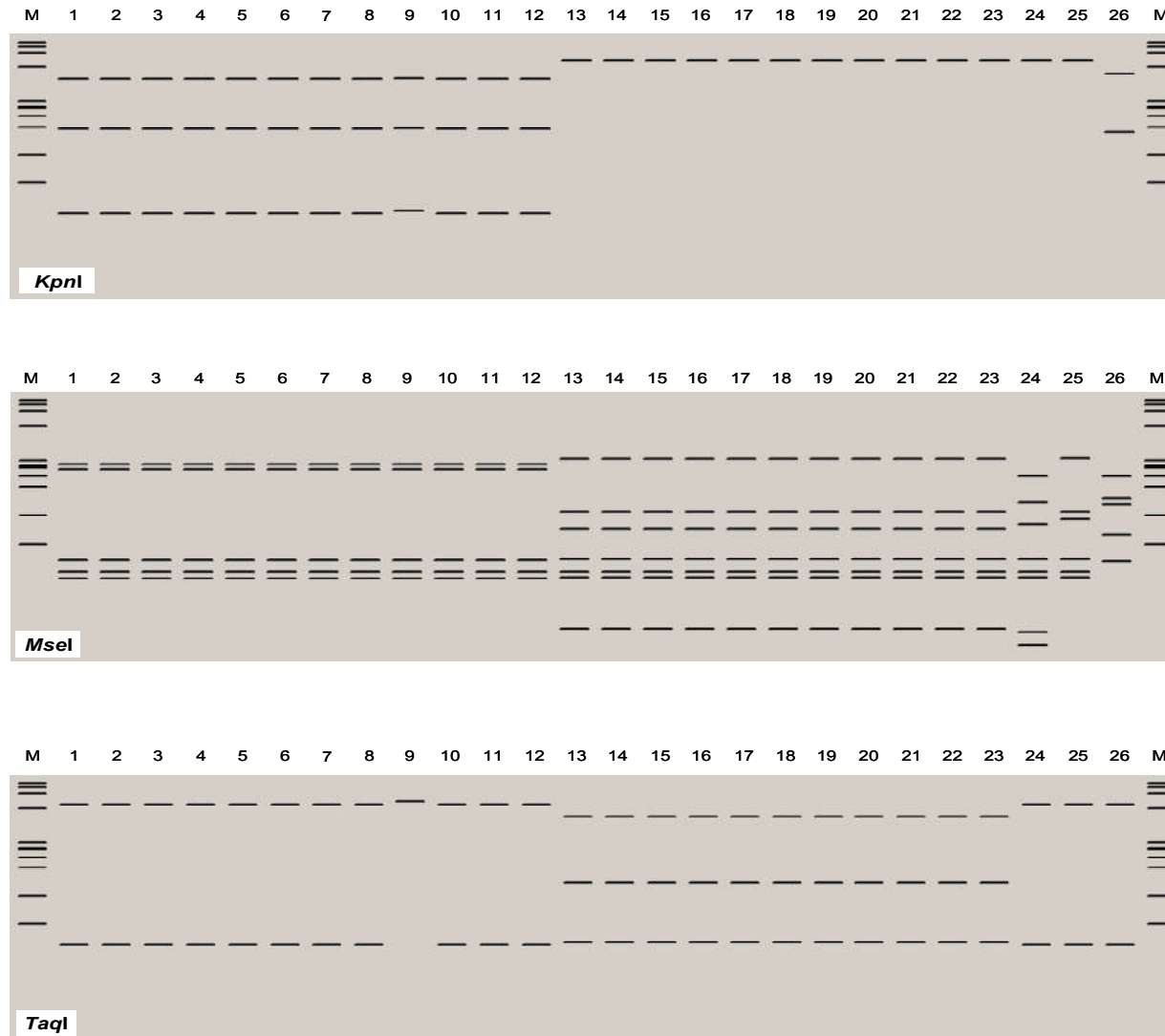


**Hình 4.7. Phân tích sản phẩm PCR bằng kỹ thuật RFLP**

M: thang DNA 1kb (Fermentas). Từ 1 đến 9: các mẫu sản bị bệnh chổi phù thủy gồm 1: BRVT-01, 2: BRVT-02, 3: QNg-01, 4: QNg-02, 5: KT-01, 6: TN-01, 7: ĐN-01, 8: ĐN-02, 9: BP-01.

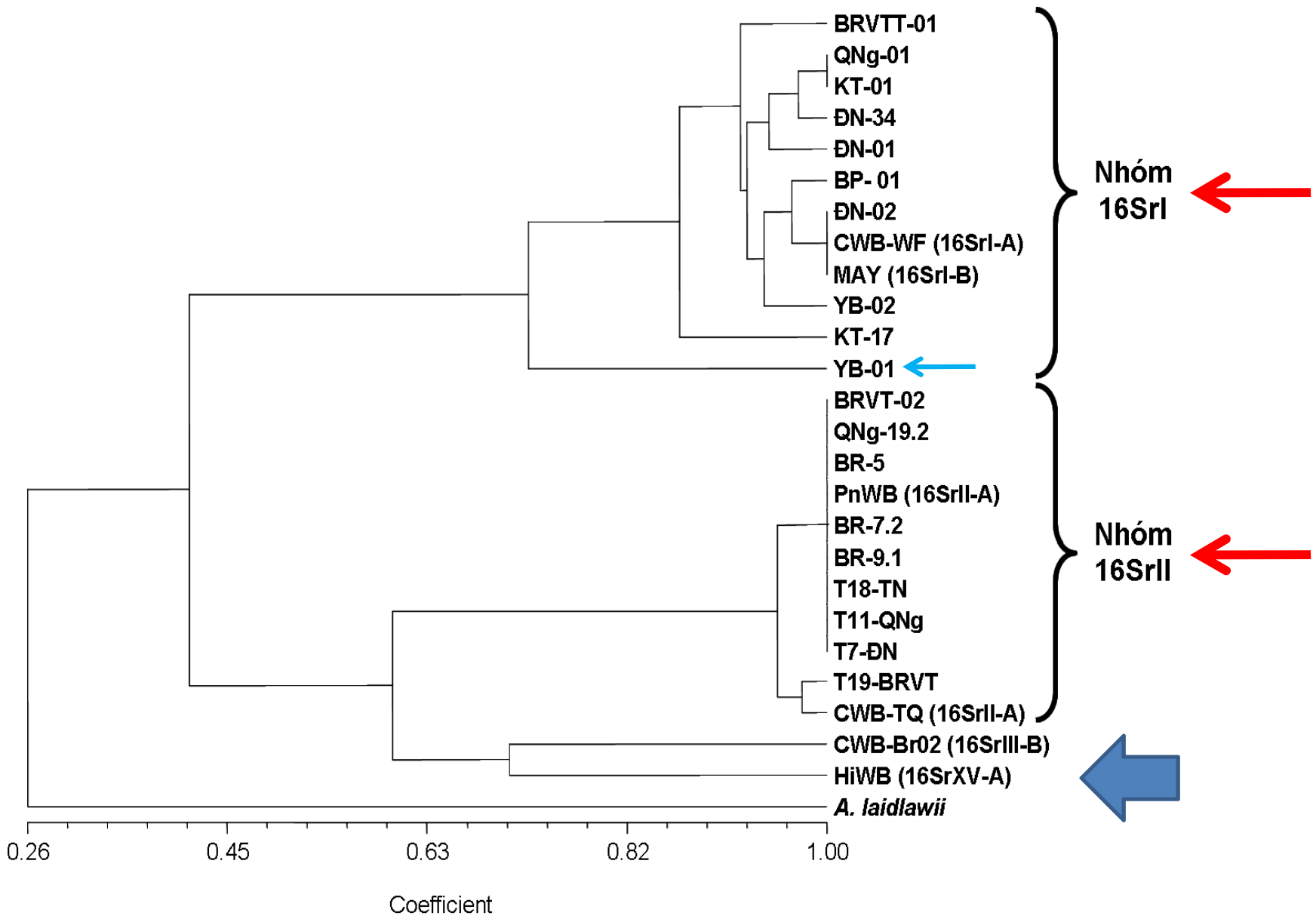
Đối với phytoplasma, một phương pháp truyền thống nhằm định danh và phân loại các nhóm là dựa trên phân tích đa hình chiều dài đoạn cắt giới hạn của sản phẩm PCR vùng gen mã hóa 16S RNA ribosome. Dựa trên cơ sở này, phân tích sản phẩm PCR lồng dùng cặp mồi R16F2n/R16R2 của các mẫu cây sản bị bệnh chổi phù thủy bằng 4 enzym cắt giới hạn. Cả 4 enzym cắt giới hạn này chưa đủ để phân biệt các nhóm phytoplasma, tuy nhiên, do giới hạn về nguồn enzym, đã không thể phân tích RFLP dùng các enzym khác.

### 4.3.2.2. Phân tích RFLP mô phỏng dựa trên trình tự sản phẩm PCR



**Hình 4.8. Phân tích đa hình mô phỏng trình tự nucleotide bằng pDRAW32**

M: Thang DNA chuẩn  $\phi$ 174DNA-*HaeIII* với kích thước cặp bazơ (base pair) từ trên xuống dưới lần lượt là 1.353, 1.078, 872, 603, 310, 281, 271, 234, 194, 118 và 72 bp. Số thứ tự ở hàng trên cùng tương ứng với các mẫu phân tích được chỉ rõ ở bảng 4.11.



**Hình 4.9. Phân tích cụm dựa trên số liệu RFLP mô phỏng vùng gen mã hóa 16S RNA ribosome của các mẫu phytoplasma hại sắn ở Việt Nam. Cây được vẽ theo phương pháp ghép cặp mẫu dùng khoảng cách trung bình số học ngang bằng (UPGMA)**

### 4.3.3. Kết quả định danh bằng phân tích đồng nhất trình tự nucleotide

**Bảng 4.13. So sánh mức đồng nhất trình tự nucleotide vùng gen 16S RNA ribosome của các mẫu phytoplasma hại sắn**

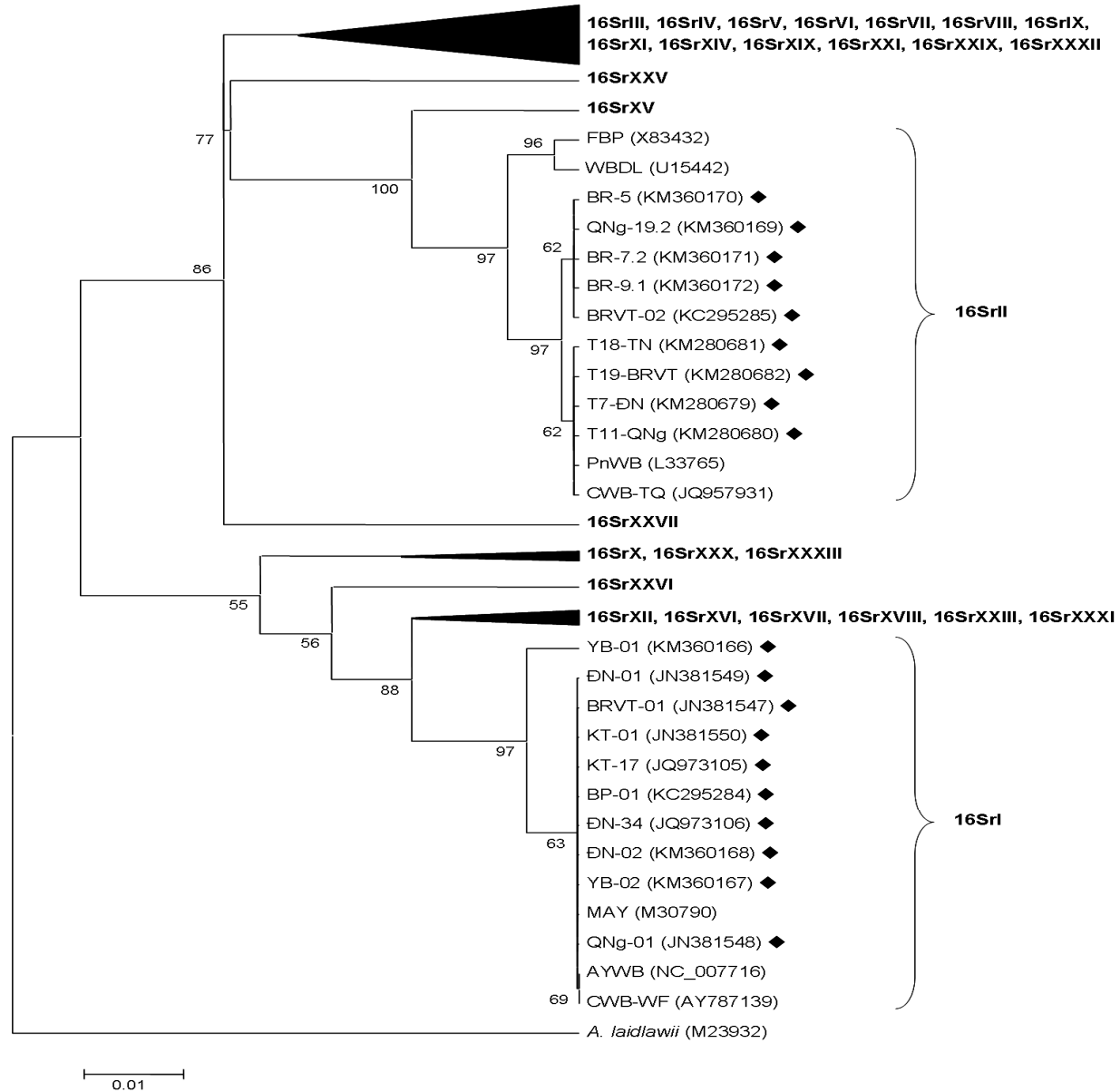
STT	Mẫu*	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	
1	BRVT-01	ID																										
2	QNg-01	0,99	ID																									
3	ĐN-01	0,99	1,00	ID																								
4	KT-01	0,99	0,99	1,00	ID																							
5	KT-17	0,98	0,99	0,99	0,99	ID																						
6	ĐN-34	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	ID																					
7	BP-01	0,99	0,99	0,99	0,99	1,00	0,99	ID																				
8	ĐN-02	0,99	1,00	1,00	1,00	0,99	0,99	0,99	ID																			
9	YB-01	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	ID																		
10	YB-02	0,99	0,99	1,00	0,99	0,99	0,99	0,99	1,00	0,98	ID																	
11	CWB-WF	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,98	0,99	ID																
12	MAY	0,99	1,00	1,00	1,00	0,99	0,99	0,99	1,00	0,98	1,00	1,00	ID															
13	BRVT-02	0,89	0,89	0,89	0,89	0,88	0,88	0,89	0,89	0,88	0,89	0,89	0,89	ID														
14	QNg-19.2	0,89	0,89	0,90	0,90	0,89	0,89	0,89	0,90	0,88	0,89	0,89	0,90	0,99	ID													
15	BR-5	0,88	0,89	0,89	0,89	0,88	0,88	0,88	0,89	0,88	0,89	0,88	0,89	0,99	0,99	ID												
16	BR-7.2	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,88	0,89	0,89	0,90	0,99	1,00	0,99	ID											
17	BR-9.1	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,88	0,89	0,89	0,89	1,00	1,00	0,99	1,00	ID										
18	T7-ĐN	0,89	0,90	0,90	0,90	0,89	0,89	0,89	0,90	0,88	0,90	0,89	0,90	0,99	1,00	0,99	1,00	1,00	ID									
19	T11-QNg	0,89	0,90	0,90	0,90	0,89	0,89	0,89	0,90	0,88	0,90	0,89	0,90	0,99	1,00	0,99	1,00	1,00	1,00	ID								
20	T18-TN	0,89	0,89	0,90	0,90	0,89	0,89	0,89	0,90	0,88	0,89	0,89	0,90	0,99	1,00	0,99	1,00	0,99	1,00	1,00	ID							
21	T19-BRVT	0,89	0,90	0,90	0,90	0,89	0,89	0,89	0,90	0,88	0,90	0,89	0,90	0,99	1,00	0,99	1,00	1,00	1,00	1,00	ID							
22	CWB-TQ	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,88	0,89	0,89	0,89	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	1,00	1,00	0,99	1,00	ID					
23	PnWB	0,89	0,89	0,90	0,90	0,89	0,89	0,89	0,90	0,88	0,89	0,89	0,90	0,99	1,00	0,99	1,00	0,99	1,00	1,00	1,00	1,00	0,99	ID				
24	CWB-Br02	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91	0,90	0,91	0,91	0,92	0,92	0,92	0,91	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	ID	
25	HibWB	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,88	0,89	0,89	0,90	0,96	0,97	0,96	0,96	0,96	0,97	0,97	0,97	0,97	0,96	0,97	0,91	ID		
26	<i>A.laidlawii</i>	0,89	0,90	0,90	0,90	0,89	0,89	0,89	0,90	0,88	0,90	0,89	0,90	0,86	0,86	0,85	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	ID	

Ghi chú: Các mẫu phân tích được chỉ rõ ở bảng 4.11; ID: tức là đồng nhất trình tự 100%; Số thứ tự ở hàng trên cùng tương ứng với tên mẫu phân tích ở cột phía bên tay trái.



## 4.3.4. Phân tích phả hệ phytoplasma dựa trên trình tự nucleotide

### 4.3.4.1. Phân tích phả hệ các nhóm phytoplasma hại sắn



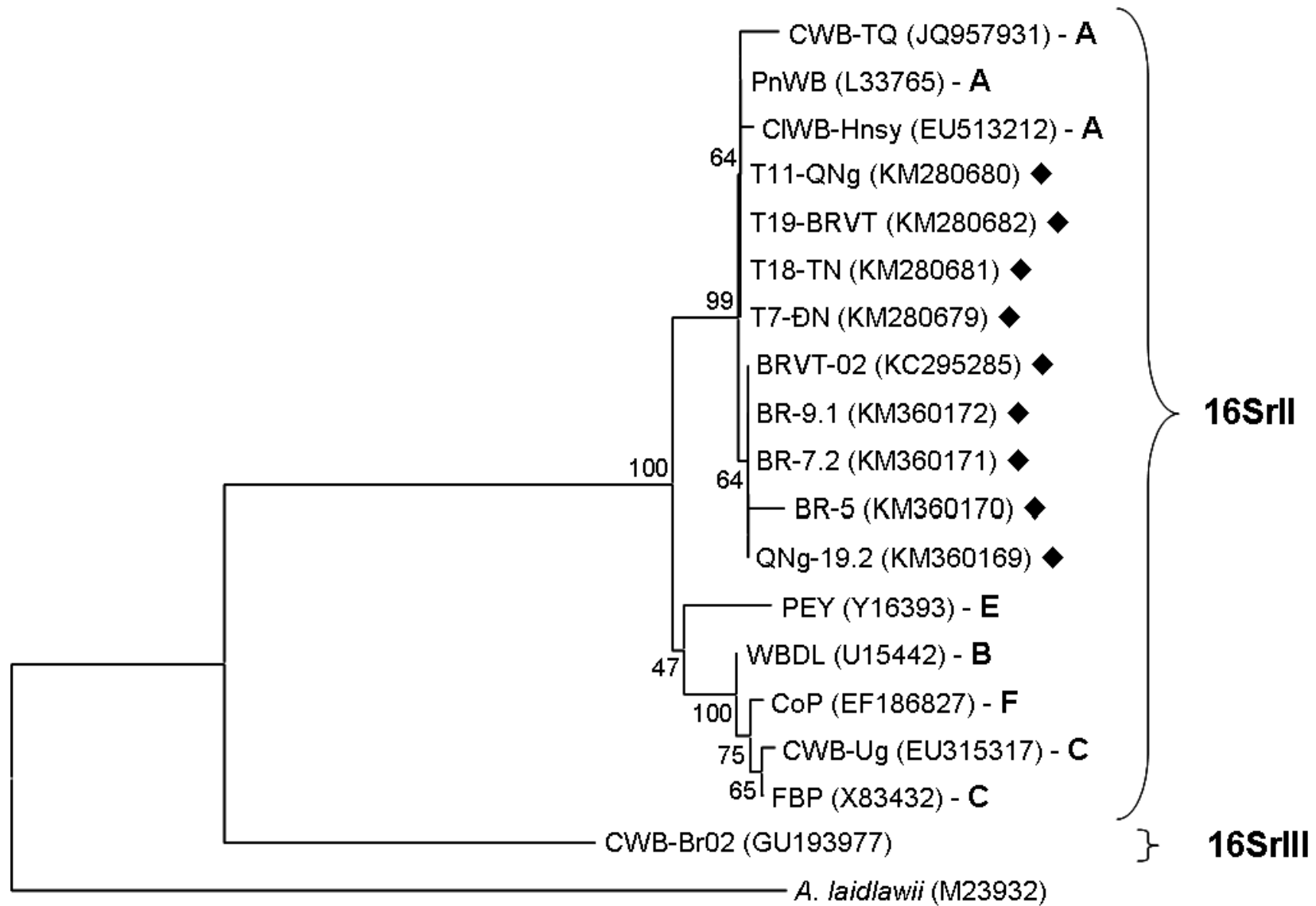
Hình 4.10. Cây phả hệ xác định nhóm phytoplasma hại sắn được vẽ theo phương pháp Neighbor-Joining

#### 4.3.4.2. Phân tích phả hệ nhóm phụ của phytoplasma thuộc nhóm 16Srl



Hình 4.11. Cây phả hệ xác định nhóm phụ của phytoplasma hại sắn thuộc nhóm 16Srl

#### 4.3.4.3. Phân tích phả hệ nhóm phụ của *phytoplasma* thuộc nhóm 16SrII



Hình 4.12. Cây phả hệ xác định nhóm phụ của phytoplasma hại sắn thuộc nhóm 16SrII

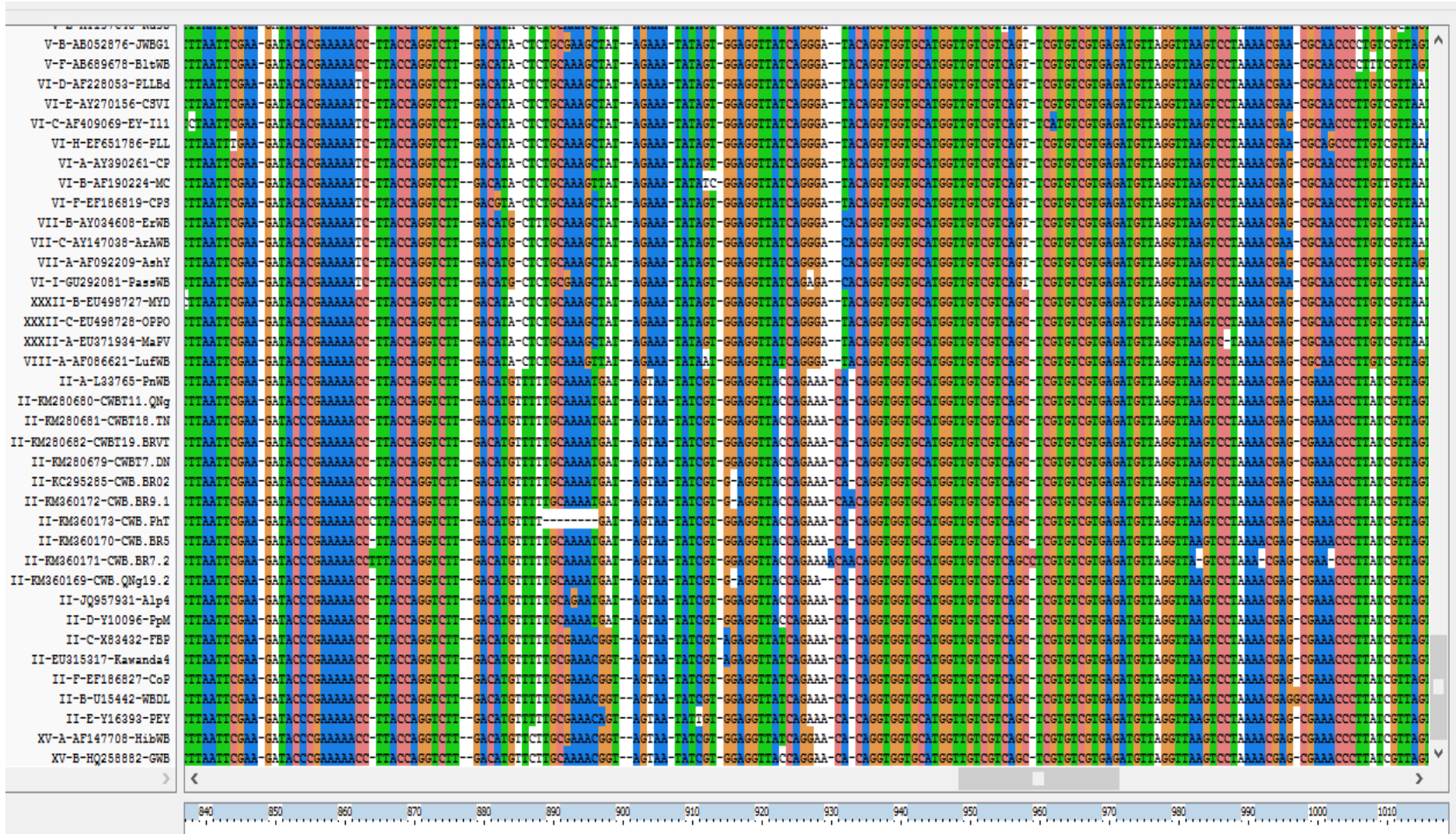
**Bảng 4.17. Các nhóm/nhóm phụ 16S RNA ribosome của phytoplasma  
hại sắn tại Việt Nam**

STT	Mẫu	Địa điểm	Mã truy cập Ngân hàng Gen	Nhóm 16S RNA ribosome	Nhóm phụ 16S RNA ribosome
1	BRVT-01	Tóc Tiên, Tân Thành, Bà Rịa-Vũng Tàu	JN381547	I	B
2	QNg-01	Sơn Nham, Sơn Hà, Quảng Ngãi	JN381548	I	B
3	ĐN-01	Hung Thịnh, Trảng Bom, Đồng Nai	JN381549	I	B
4	KT-01	Đăk Tôre, Kon Rẫy, Kon Tum	JN381550	I	B
5	KT-17	Đăk Tôre, Kon Rẫy, Kon Tum	JQ973105	I	B
6	ĐN-34	Hung Thịnh, Trảng Bom, Đồng Nai	JQ973106	I	B
7	BP-01	Đồng Phú, Bình Phước	KC295284	I	B
8	ĐN-02	Hung Thịnh, Trảng Bom, Đồng Nai	KM360168	I	B
9	BRVT-02	Tóc Tiên, Tân Thành, Bà Rịa-Vũng Tàu	KC295285	II	A
10	QNg-19.2	Sơn Nham, Sơn Hà, Quảng Ngãi	KM360169	II	A
11	BR-5	Châu Pha, Tân Thành, Bà Rịa-Vũng Tàu	KM360170	II	A
12	BR-7.2	Bình Ba, Châu Đức, Bà Rịa-Vũng Tàu	KM360171	II	A
13	BR-9.1	Suối Nghệ, Châu Đức, Bà Rịa-Vũng Tàu	KM360172	II	A
14	<b>YB-01</b>	<b>Mậu A, Văn Yên, Yên Bái</b>	<b>KM360166</b>	<b>I</b>	<b>Mới*</b>
15	YB-02	Mậu A, Văn Yên, Yên Bái	KM360167	I	B
16	T7-ĐN	Hung Lộc, Thống Nhất, Đồng Nai	KM280679	II	A
17	T11-QNg	Sơn Hà, Quảng Ngãi	KM280680	II	A
18	T18-TN	Tân Hội, Tân Châu, Tây Ninh	KM280681	II	A
19	T19-BRVT	Tân Thành, Bà Rịa-Vũng Tàu	KM280682	II	A

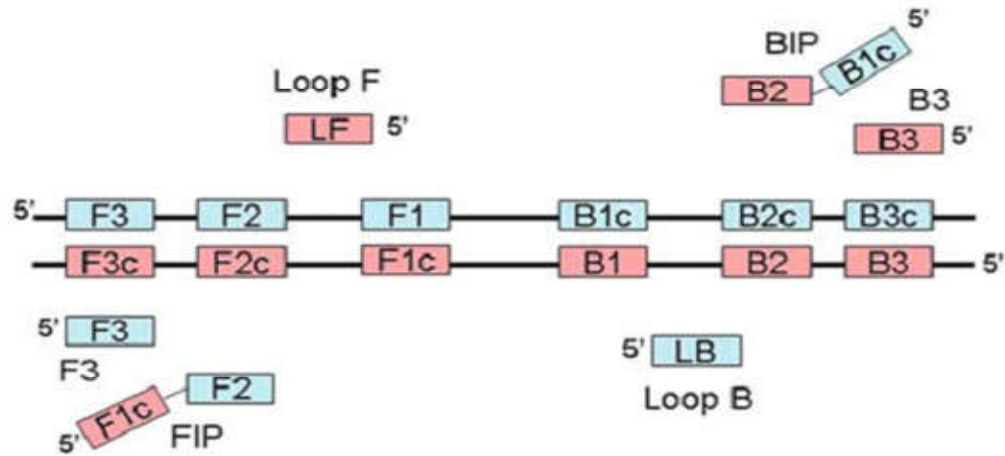
Ghi chú: \* Mới: nhóm phụ 16Srl chưa có tên trong hệ thống phân loại phytoplasma.

## 4.4. ỨNG DỤNG KỸ THUẬT LAMP-PCR ĐỂ CHẨN ĐOÁN PHYTOPLASMA NHÓM 16SRII HẠI SẴN

### 4.4.1. Thiết kế mồi LAMP đặc hiệu phytoplasma nhóm 16SrII

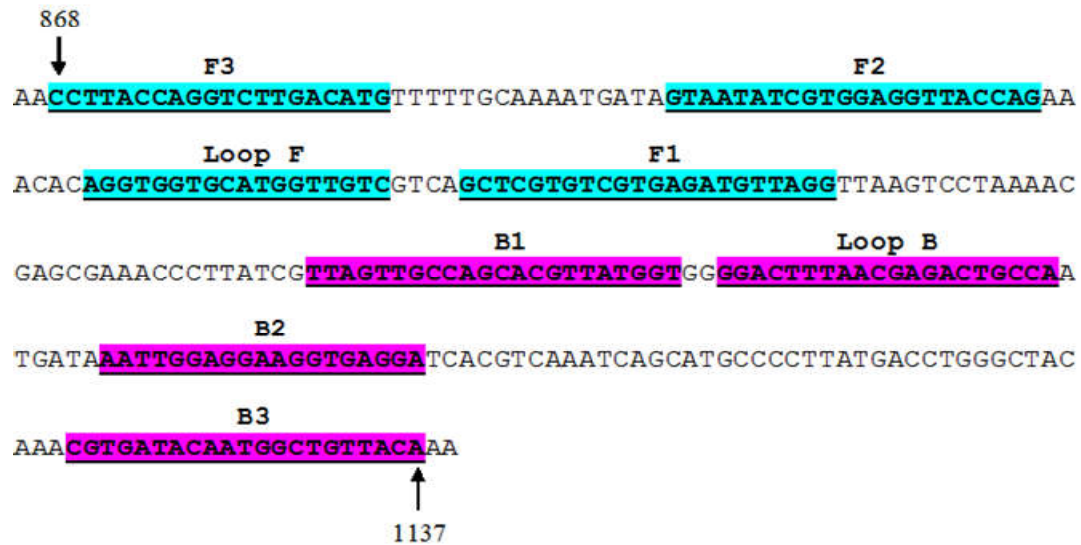


Hình 4.13. Minh họa một phần vùng gen 16S RNA ribosome chứa các trình tự phytoplasma nhóm 16SrII với các nhóm còn lại. Các mẫu được căn trình tự đa chuỗi bằng phần mềm ClustalX



Hình 4.14. Vị trí các trình tự trên vùng gen mục tiêu và các môi tương ứng trong kỹ thuật LAMP cải tiến

Nguồn: Mori and Notomi (2009)



Hình 4.15. Tám đoạn trình tự được lựa chọn để thiết các môi LAMP cải tiến đặc hiệu nhóm 16SrII. Các trình tự được lựa chọn bằng phần mềm trực tuyến PrimerExplorer V4 dùng trình tự của mẫu phytoplasma T7-ĐN làm khuôn. Ký hiệu các đoạn trình tự tương ứng với sơ đồ hình 4.14.

**Bảng 4.18. Đặc điểm 8 trình tự phù hợp trên gen mã hóa 16S RNA ribosome để thiết kế mồi LAMP đặc hiệu phytoplasma nhóm 16SrII**

S	Vùng	Trình tự	Vị trí*	Độ dài	Nhiệt độ tách sợi	Hàm lượng g GC	Mẫu đầu 3'	Năng lượng tự do đầu 3'	Năng lượng tự mồi	Năng lượng tự tạo cấu trúc kẹp tóc	Số liên kết tự tạo cấu trúc kẹp tóc	Số liên kết tự mồi hóa	Xếp hạng
1	F3	CCTTACCAGGTCTTGACATG	868	20	60,0	50,0	1	-0,1	0	0	0	0	93,3
2	B3	TGTAACAGCCATTGTATCACG	1.137	21	60,7	42,9	2	-1,5	0	0	0	0	86,4
3	Loop F	GACAACCATGCACCACCT	949	18	62,4	55,6	2	-1,3	-1,1	0	0	4	89,8
4	Loop B	GGACTTTAACGAGACTGCCA	1.031	20	62,1	50,0	3	-1,2	0	0	0	0	86,6
5	F2	GTAATATCGTGGAGGTTACCAG	904	22	60,1	45,5	2	0,8	0	0	0	0	93,3
6	F1c	CCTAACATCTCACGACACGAGC	975	22	65,2	54,5	2	-2,0	0	0	0	0	92,2
7	B2	TCCTCACCTCCTCCAATT	1.075	19	60,0	47,4	1	0,3	0	0	0	0	93,3
8	B1c	TTAGTTGCCAGCACGTTATGGT	1.007	22	64,9	45,5	2	0,3	-1	0	0	4	92,0

\* Vị trí trên trình tự mẫu T7-ĐN

**Bảng 4.19. Trình tự các mồi LAMP cải tiến đặc hiệu phytoplasma nhóm 16SrII**

Tên mồi	Loại mồi	Kích thước	Trình tự mồi 5' - 3'
CWBII-F3	F3	20	CTTTACCAGGTCTTGACATG
CWBII-B3	B3	21	TGTAACAGCCATTGTATCACG
CWBII-FIP	FIP	44	CTTAACATCTCACGACACGAGCGTAA TATCGTAGAGGTTACCAG
CWBII-BIP	BIP	38	TTAGTTGCCAGCACGTTATGGTTCCTC ACCTTCCTCTT
CWBII-LoopF	Loop F	18	GACAACCATGCACCACCT
CWBII-LoopB	Loop B	17	GGACTTTAACGATGACA



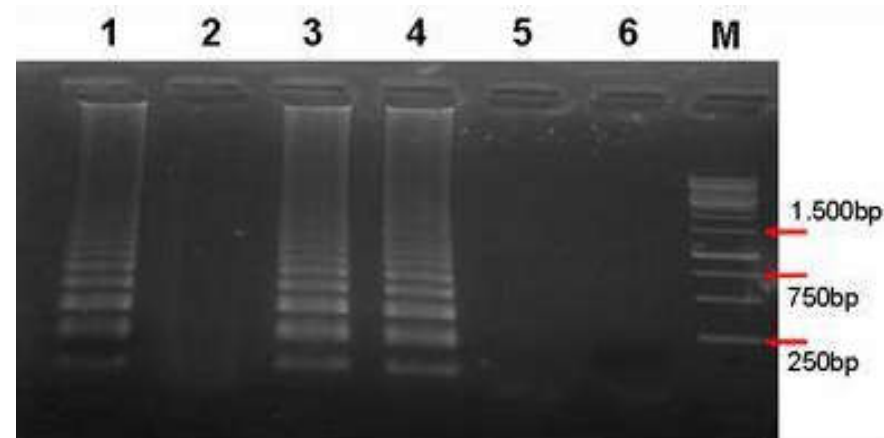
## 4.4.2. Đánh giá khả năng phát hiện phytoplasma của bộ mồi LAMP

### 4.4.2.1. Khả năng phân biệt nhóm 16SrI và 16SrII của bộ mồi LAMP

**Bảng 4.20. Phản ứng LAMP phát hiện phytoplasma nhóm 16SrII từ DNA tổng số chiết từ cây**

STT	Mẫu thử	Nhóm phytoplasma*	Kết quả LAMP**
1	DNA tổng số cây sắn bệnh chổi phù thủy 1	16SrII	+
2	DNA tổng số cây sắn bệnh chổi phù thủy 2	16SrI	-
3	DNA tổng số cây sắn bệnh chổi phù thủy 3	16SrII	+
4	DNA tổng số cây sắn bệnh chổi phù thủy 4	16SrII	+
5	DNA tổng số cây sắn khỏe (đối chứng)		-
6	Nước siêu sạch Invitrogen (đối chứng)		-

Ghi chú: \* Nhóm của mẫu kiểm tra đã được xác định bằng PCR lồng và giải trình tự  
\*\* (-) là phản ứng âm tính; (+) là phản ứng dương tính.



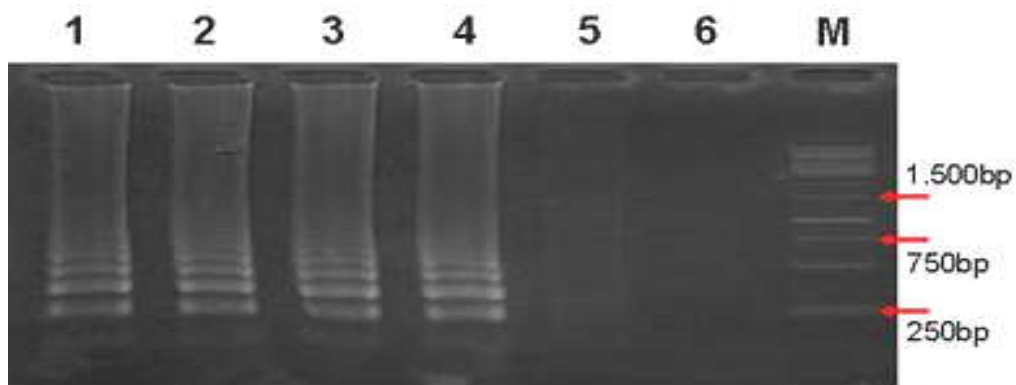
**Hình 4.16. Kết quả điện di sản phẩm LAMP phát hiện phytoplasma nhóm 16SrII từ DNA tổng số chiết từ cây**

M: Thang DNA 1kb (Fermentas); Từ 1 đến 6: các mẫu thử nghiệm ở bảng 4.20.

**Bảng 4.21. Phản ứng LAMP phát hiện phytoplasma nhóm 16SrII từ sản phẩm PCR tinh sạch**

STT	Mẫu thử*	Nhóm phytoplasma**	Kết quả LAMP***
1	Sản phẩm PCR tinh sạch 1	16SrII	+
2	Sản phẩm PCR tinh sạch 2	16SrII	+
3	Sản phẩm PCR tinh sạch 3	16SrII	+
4	Sản phẩm PCR tinh sạch 4	16SrII	+
5	DNA tổng số cây sắn khỏe (đối chứng)		-
6	Nước siêu sạch Invitrogen (đối chứng)		-

Ghi chú: \* Phản ứng PCR lồng được thực hiện dùng cặp mồi R16mF1/R16mR1; \*\*Nhóm của mẫu kiểm tra đã được giải trình tự; \*\*\* (-) là phản ứng âm tính; (+) là phản ứng dương tính.



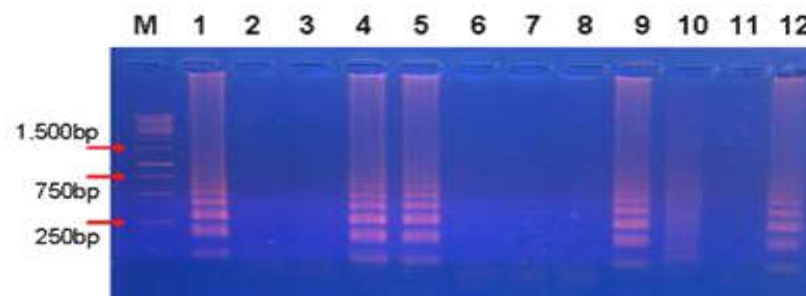
**Hình 4.17. Kết quả điện di sản phẩm LAMP phát hiện phytoplasma nhóm 16SrII từ sản phẩm PCR tinh sạch**

M: Thang DNA 1kb (Fermentas); Từ 1 đến 6: các mẫu thử nghiệm ở bảng 4.21.

**Bảng 4.22. Phản ứng LAMP phát hiện phytoplasma từ các loại mẫu sắn khác nhau bị bệnh chổi phù thủy**

STT	Mẫu thử*	Nguồn gốc	Loại mẫu	Kết quả LAMP**	
1	DNA tổng số 1	Hung Lộc, Thống Nhất, Đông Nai, 7/12/2013	Gân lá tươi	+	
2	DNA tổng số 2		Phiến lá ngọn tươi	-	
3	DNA tổng số 3		Vỏ thân tươi	-	
4	DNA tổng số 1	Châu Pha, Tân Thành, Bà Rịa-Vũng Tàu, 24/4/2011	Gân lá khô	+	
5	DNA tổng số 2		Gân lá khô	+	
6	DNA tổng số 3		Phiến lá ngọn khô	-	
7	DNA tổng số 4		Phiến lá ngọn khô	-	
8	DNA tổng số 5		Gân lá khô	-	
9	DNA tổng số 6		Gân lá khô	-	
10	DNA tổng số 2		Hung Lộc, Thống Nhất, Đông Nai, 7/12/2013	Gân lá tươi	+
11	Nước siêu sạch		Invitrogen		-
12	T7 - ĐN		Sản phẩm PCR tinh sạch		+

Ghi chú: \* (-) là phản ứng âm tính; (+) là phản ứng dương tính.



**Hình 4.18. Phản ứng LAMP phát hiện phytoplasma từ các loại mẫu sắn bị bệnh chổi phù thủy khác nhau**

M: Thang DNA 1kb (Fermentas); Từ 1 đến 12: các mẫu thử nghiệm ở bảng 4.22.

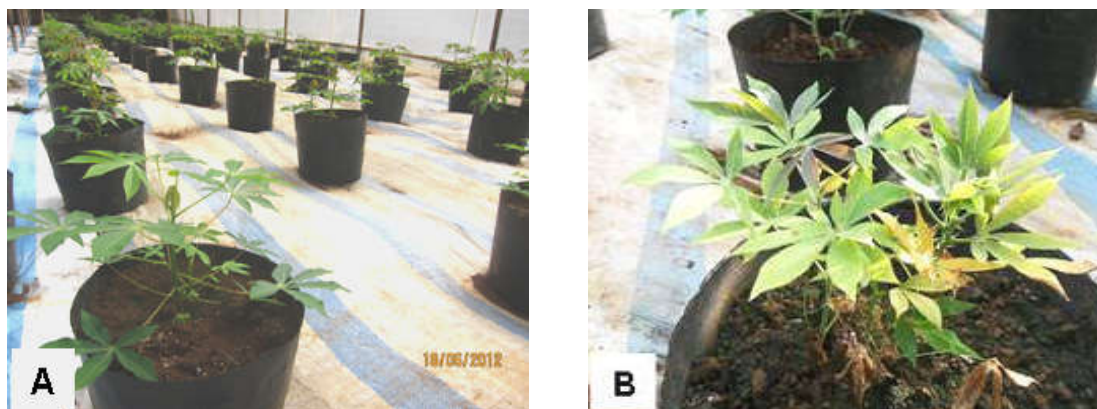
## 4.5. XÁC ĐỊNH MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA BỆNH CHỐI PHÙ THỦY HẠI SẢN DO PHYTOPLASMA GÂY RA

### 4.5.1. Ảnh hưởng của đất và hom giống đến khả năng lan truyền của bệnh

**Bảng 4.23. Ảnh hưởng của đất trồng và hom giống đến khả năng lan truyền của bệnh chối phù thủy hại sản (Đồng Nai, năm 2012)**

STT	Công thức thí nghiệm*	Tỷ lệ cây phát bệnh sau 9 tháng (%)	Kiểm tra PCR (số cây nhiễm/số cây thử)	Kết luận về PCR
1	CT1: Trồng hom sản bị bệnh chối phù thủy trên đất đã hấp khử trùng	43,3	5/5	+
2	CT2: Trồng hom sản khỏe trên đất trồng có cây sản bị bệnh chối phù thủy	0,0	0/5	-
3	CT3: Trồng hom sản bị bệnh chối phù thủy trên đất trồng có cây sản bị bệnh chối phù thủy	56,7	5/5	+
4	CT4: Trồng hom sản khỏe trên đất đã hấp khử trùng	0,0	0/5	-

Ghi chú: \* n = 30 cây; (-) phản ứng âm tính; (+) phản ứng dương tính;  $LSD_{0,05} = 7,12$ .

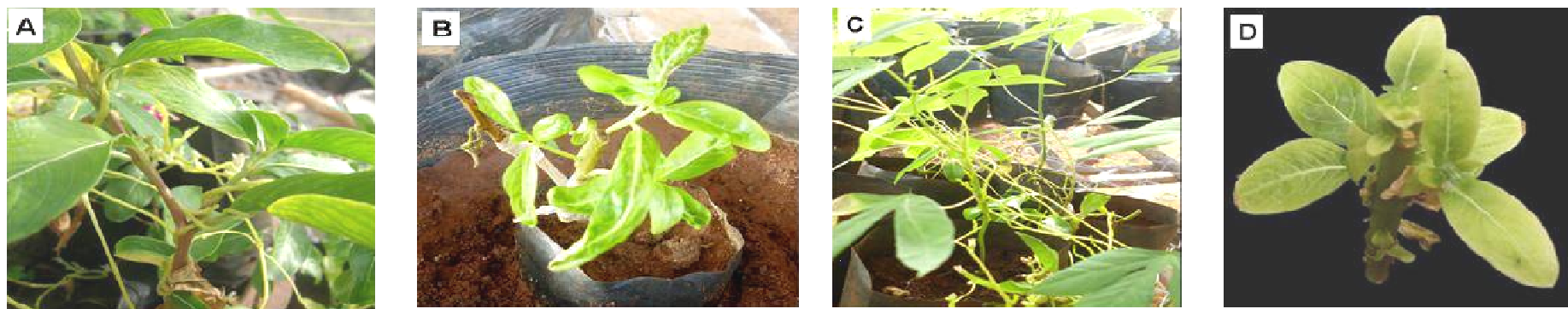


**Hình 4.19. Ảnh thí nghiệm ảnh hưởng của đất trồng đến khả năng lan truyền của bệnh chối phù thủy sản trong thí nghiệm nhà lưới (năm 2012)**

**Bảng 4.26. Khả năng lan truyền của bệnh chổi phù thủy hại sắn qua tơ hồng (Đồng Nai, năm 2012)**

STT	Công thức thí nghiệm*	Tỷ lệ cây phát bệnh sau 9 tháng	Kiểm tra PCR	Kết luận về PCR
1	CT1: KM94 bệnh chổi phù thủy - Tơ hồng - KM94 khỏe	13,3	2/5	+
2	CT2: KM94 bệnh chổi phù thủy - Tơ hồng - Cây dứa cạn khỏe	26,7	4/5	+
3	CT3: KM94 khỏe - Tơ hồng - KM94 khỏe	0,0	0/5	-

Ghi chú: \* n = 15 cây; (-) là phản ứng âm tính; (+) là phản ứng dương tính;  $LSD_{0,05} = 2,80$ .



**Hình 4.21. Khả năng lan truyền của bệnh chổi phù thủy hại sắn qua tơ hồng**

A) Tơ hồng bám dính lên cây dứa cạn (CT2); B) Triệu chứng bệnh trên cây dứa cạn sau khi cắt ngọn (CT2); C) Tơ hồng (*Cuscuta* spp.) bám dính lên cây sắn khỏe (CT3); D) So với triệu chứng bệnh trên cây dứa cạn sau khi cắt ngọn

Nguồn ảnh (D): Mejia (2014)

# PHẦN 5. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

## 5.1. KẾT LUẬN

- 1** Bệnh chổi phù thủy hại sắn do phytoplasma gây ra được phát hiện tại 9 tỉnh gồm Bà Rịa-Vũng Tàu, Đồng Nai, Bình Dương, Bình Phước, Tây Ninh, Quảng Ngãi, Kon Tum, Phú Thọ và Yên Bái. Cây nhiễm bệnh ở giai đoạn cây con thường sinh trưởng kém, thậm chí dẫn đến chết cây. Cây nhiễm bệnh ở giai đoạn muộn hơn đều có năng suất củ tươi, năng suất tinh bột thấp hơn so với cây không nhiễm bệnh.  
Tỷ lệ cây nhiễm bệnh chổi phù thủy đạt thấp nhất (5,7%) trên giống sắn KM94 ở giai đoạn chờ thu hoạch tại huyện Sơn Hà, tỉnh Quảng Ngãi và tỷ lệ bệnh cao nhất (60,2%) trên giống sắn KM419 ở giai đoạn cây con tại huyện Trảng Bom, tỉnh Đồng Nai.
- 2** Sử dụng các phương pháp kính hiển vi điện tử, kỹ thuật nhuộm mô cây với DAPI hay phương pháp PCR lồng với cặp mồi P1/P7 - R16mF2/R16mR1 hoặc cặp mồi P1/P7-R16F2n/R16R2 đều đã phát hiện, chẩn đoán được phytoplasma gây bệnh chổi phù thủy trên sắn.

- 3** Bằng kỹ thuật RFLP, phân tích trình tự nucleotide và phân tích phả hệ dựa trên gen 16S RNA ribosome đã xác định được phytoplasma hại sắn tại Đông Nam Bộ thuộc 2 nhóm gồm 16SrI (nhóm phụ 16SrI-B) và 16SrII (nhóm phụ 16SrII-A). Mẫu phytoplasma hại sắn YB-01 (KM360166) ở Yên Bái thuộc nhóm 16SrI nhưng nằm trong nhóm phụ hoàn toàn mới, chưa được công bố.
- 4** Thiết kế được bộ mồi LAMP-PCR đặc hiệu để chẩn đoán phytoplasma nhóm 16SrII hại sắn, bộ mồi này có thể áp dụng để phát hiện phytoplasma nhóm 16SrII trên cây sắn bị nhiễm bệnh.
- 5** Bệnh chổi phù thuỷ hại sắn do phytoplasma gây ra lan truyền chủ yếu thông qua việc sử dụng hom giống đã bị nhiễm bệnh làm vật liệu nhân giống vô tính, đồng thời, bệnh cũng truyền qua phương pháp ghép cây và qua tơ hồng, chưa phát hiện thấy loài côn trùng có khả năng lan truyền bệnh.

## 5.2. KIẾN NGHỊ

Sử dụng bộ mồi LAMP-PCR để chẩn đoán phytoplasma nhóm 16SrII hại sắn. Không dùng cây sắn đã bị nhiễm bệnh để làm vật liệu nhân giống vô tính; cần nghiên cứu tuyển chọn các giống sắn có khả năng kháng bệnh phytoplasma và có tiềm năng năng suất cao.



XIN CHÂN THÀNH CÁM ƠN

07/12/2013