

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM CỦA VIRUS, VI KHUẨN GÂY SUY THOÁI VÙNG CAM TẠI HÀ GIANG

Cao Văn Chí^{1*}, Hà Viết Cường³, Nguyễn Đức Huy³,
Bùi Quang Đăng², Phạm Hồng Hiến², Lương Thị Huyền¹,
Nguyễn Văn Trọng¹, Nguyễn Thị Bích Lan¹, Giang Đức Hiệp⁴

TÓM TẮT

Để nghiên cứu đặc điểm của virus và vi khuẩn gây suy thoái vùng cam tại Hà Giang, đã tiến hành thu thập các mẫu rễ và lá cam tại 3 huyện trồng cam của tỉnh Hà Giang là Vị Xuyên, Quang Bình và Bắc Quang. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi kiểm tra bằng PCR và RT - PCR trên 42 mẫu có triệu chứng thu thập tại 3 huyện Bắc Quang, Vị Xuyên và Quang Bình, tỉnh Hà Giang đã xác định được 24 mẫu (51,7%) nhiễm Ca.Las và 6 mẫu (14,3%) nhiễm Citrus *tristeza* virus (CTV). Ca.Las là nguyên nhân quan trọng cản trở sản xuất cam tại Hà Giang; Ca.Las được phát hiện thấy trên tất cả các giống cây ăn quả có múi tại 3 huyện (Bắc Quang, Vị Xuyên và Quang Bình), gồm cam chín sớm CS1, cam chín muộn V2 và chanh ta nhiễm 100%; cam Xã Đoài nhiễm 66,7%, cam Sành nhiễm 50%, chỉ có giống quýt chum không bị nhiễm. Tại điểm thu mẫu thuộc huyện Quang Bình, mức độ nhiễm Ca.Las là 16,7%, thấp hơn nhiều so với các điểm thu mẫu thuộc 2 huyện còn lại (50 - 80%).

Từ khóa: Vùng cam Hà Giang, bệnh Greening, bệnh Tristeza, bệnh vàng lá thối rễ.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Một trong các bệnh nguy hiểm trên cây có múi là bệnh tàn lụi do Citrus *tristeza* virus (CTV) gây ra. Bệnh tàn lụi làm giảm sinh trưởng cây cam, giảm năng suất, chất lượng quả, gây thoái hóa giống, đặc biệt có những giống có nguy cơ bị hủy bỏ. CTV từng được ghi nhận là 1 trong 10 virus thực vật nguy hiểm nhất trên thế giới. CTV là virus RNA, lan truyền ngoài tự nhiên nhờ rệp muội và nhân giống vô tính. Giống như các virus thực vật khác, hiện không có thuốc tiêu diệt trực tiếp CTV trong cây bệnh. Biện pháp phòng trừ chủ yếu hiện nay là phòng trừ tổng hợp bắt đầu từ khâu cây giống sạch bệnh.

Bệnh vàng lá gân xanh (tên tiếng Anh là *Huanglongbing*, hay cũ hơn là *Greening*) do vi khuẩn biệt dưỡng *Candidatus Liberibacter*

asiaticus (Ca.Las) gây ra, là bệnh nguy hiểm nhất trên cây ăn quả có múi tại châu Á, đặc biệt trên cây cam. Tương tự, tại Việt Nam, bệnh là một trong các nguyên nhân chính cản trở việc phát triển sản xuất cây ăn quả có múi trên khắp cả nước. Cây bị bệnh vàng lá gân xanh sinh trưởng rất còi cọc; bộ lá, đặc biệt là lá non bị biến vàng; quả nhỏ, lệch, bị biến vàng phần cuống trước khi chín, không có giá trị sử dụng. Tác nhân gây bệnh Ca.Las thuộc nhóm vi khuẩn biệt dưỡng nên không thể nuôi cấy được trên môi trường nhân tạo. Vi khuẩn lan truyền ngoài tự nhiên qua ghép và rầy chổng cánh (*Diaphorina citri*). Các chiến lược quản lý bệnh chủ yếu trên thế giới dựa vào: (i) sử dụng vật liệu giống sạch bệnh, (ii) loại bỏ sớm cây bệnh, (iii) phòng chống vector và (iv) tạo giống kháng bệnh.

Do tầm quan trọng của cây cam tại Hà Giang, mục tiêu của nghiên cứu này nhằm phát hiện sự có mặt và mức độ nhiễm của 2 tác nhân gây bệnh nghiêm trọng, Ca.Las và CTV trên cam tại một số vùng trồng cam chính của tỉnh Hà Giang.

¹ Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Cây có múi

² Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

³ Học viện Nông nghiệp Việt Nam

⁴ Chi cục Trồng trọt và Bảo vệ thực vật tỉnh Hà Giang

*Email: caovanchicitrus@gmail.com

2. ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, vật liệu nghiên cứu

- Cây ăn quả có múi: cam Sành, cam CS1, cam V2, cam Xã Đoài, quýt chum, chanh ta... tại 3

huyện: Vị Xuyên, Quang Bình và Bắc Quang của tỉnh Hà Giang.

- Các mẫu sử dụng trong nghiên cứu được trình bày ở bảng sau:

Đích	Mỗi	Trình tự (5'-3')	Kích thước (bp)	Nguồn gốc
CTV	CTV-CP-F1	AGAGGATCCATGGACGACGARACAAAGAAAT	690	Nghiên cứu này
	CTV-CP-R1	TCTGAGCTC TCAACGTGTGYTRAATTTCC		
Ca.Las	OMP-N5	AGCGGATCCCAATTGAAGATGATAGTTCGC	903	Nghiên cứu này
	OMP-N3m	TCTGAGCTCTTACACATAATCGGATACATCA		
	A2	ACGAGACAAGGATGTTGGCA	703	[1]
	J5	CCAATTGTGCTGACACTACC		

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xử lý và bảo quản mẫu

Các mẫu sau khi thu thập, được xử lý bằng 2 cách:

Ngâm ethanol 96% [2]: Mô gân lá và mô rễ của cây bệnh được ngâm 24 giờ trong ống ly tâm eppendorff 2.0 mL có chứa ethanol 96%, ethanol mới được thay thế thường xuyên, sau đó các mẫu được bảo quản ở nhiệt độ 4°C để phục vụ cho các thí nghiệm tiếp theo.

Xử lý khô: Các mẫu lá của cây bệnh được cho vào trong hộp kín có chứa silicagel tự chỉ thị để làm khô, sau đó các mẫu được bảo quản ở nhiệt độ 4°C để phục vụ cho các thí nghiệm tiếp theo.

2.2.2. Chiết ADN tổng số

Chiết ADN từ mô cây bằng CTAB theo phương pháp đã được mô tả bởi Chang và cs (1993) [3]. Khoảng 100 mg mẫu (gồm 4 mẫu gân lá + mẫu rễ) sau khi được làm khô ethanol, được nghiền với 1 mL đệm CTAB (đã bổ sung Beta-mercaptalthanol). Dịch nghiền được ly tâm 13.000 g (gravity, sức hút trái đất) trong 5 phút để loại bỏ tàn dư. Dịch trên tủa được chiết với 1 thể tích tương đương Chloroform : isoamyl alcohol (24 : 1) và pha trên tủa được tách bằng ly tâm 13.000 g

trong 10 phút. ADN tổng số trong dịch trên tủa được kết tủa bằng bổ sung 25% thể tích LiCl 10 M và ủ qua đêm ở -20°C, sau đó được ly tâm 13.000 g trong 15 phút. Cặn ADN được rửa 2 lần với ethanol 70%. Cặn được làm khô tự nhiên trong tủ sấy và được hòa với nước không chứa nuclease.

ARN từ mô cây cũng được chiết bằng kit chiết Easy-BLUE™ Total ARN Extraction Kit (iNtRON BIO) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

2.2.3. Chiết ADN tổng số

Chiết ADN từ mô cây bằng CTAB theo phương pháp được mô tả bởi Doyle (1991) [4]. Khoảng 100 mg mẫu (gồm 4 mẫu gân lá + mẫu rễ) sau khi được làm khô ethanol, được nghiền với 1 mL đệm CTAB (đã bổ sung Beta-mercaptalthanol). Dịch nghiền được ly tâm 13.000 g trong 5 phút để loại bỏ tàn dư. Dịch trên tủa được chiết với 1 thể tích tương đương Chloroform : isoamyl alcohol (24 : 1) và pha trên tủa được tách bằng ly tâm 13.000 g trong 10 phút. ADN tổng số trong dịch trên tủa được kết tủa bằng bổ sung 1 thể tích tương đương propanol 100% ủ qua đêm ở -20°C, sau đó được ly tâm 13.000 g trong 15 phút. Cặn ADN được rửa 2 lần với ethanol 70%. Cặn ADN được làm khô tự nhiên trong tủ sấy và được hòa với nước không chứa nuclease.

2.2.4. Phản ứng PCR

Phản ứng PCR với tổng thể tích phản ứng 20 μL được thực hiện trong tube PCR loại 0,2 mL chứa 10 μL 2X MyTaq™ HS Mix, 0,5 μL mỗi loại mỗi (20 μM), 0,5 μL ADN. Phản ứng PCR được thực hiện với các bước sau: (1) khởi đầu biến tính 95°C trong 20 giây, (2) lặp lại 35 chu trình phản ứng gồm biến tính 95°C trong 10 giây, gắn mỗi với nhiệt độ 56°C, kéo dài mỗi ở 72°C trong 50 giây, và (3) kết thúc phản ứng ở 72°C trong 5 phút.

Kết quả phản ứng PCR được kiểm tra bằng điện di agarose 1% trong đệm TAE.

2.2.5. Phản ứng RT-PCR

Phản ứng RT-PCR được thực hiện theo 2 bước, trong đó phản ứng tổng hợp sợi cDNA và phản ứng PCR được thực hiện riêng rẽ.

- Tổng hợp sợi cDNA:

Sợi cDNA được tổng hợp trong tube PCR loại 0,2 mL. Đầu tiên hỗn hợp phản ứng 10 μL chứa 2 μL RNA, 1 μL dNTPs (10 mM mỗi loại A, T, G, C), 2 μL mỗi CTV-CP-R1 (20 μM) và 5 μL nước sạch nuclease được ủ ở 65°C trong 3 phút để biến tính RNA và được để trong khay lạnh tối thiểu 2 phút. Tiếp theo, hỗn hợp phản ứng được bổ sung 2 μL đệm phản ứng phiên mã ngược (10X M-MuLV RT buffer), 1 μL enzyme phiên mã ngược (M-MuLV RT, 200 đơn vị enzyme/ μL), 0,2 μL chất ức chế enzyme RNA nuclease (RNase inhibitor, 40 đơn vị enzyme/ μL) và 6,8 μL nước sạch nuclease. Tổng thể tích phản ứng cuối cùng là 20 μL . Tube phản

ứng được ủ ở 42°C trong 1 giờ và enzyme được bất hoạt ở 65°C trong 20 phút.

- Phản ứng PCR:

Phản ứng PCR được thực hiện như mô tả ở mục 2.2.4.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 3 năm 2021 đến tháng 3 năm 2022.

Địa điểm nghiên cứu: Vùng trồng cam tại huyện Vị Xuyên, Quang Bình và Bắc Quang của tỉnh Hà Giang.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phát hiện vi khuẩn Ca.Las bằng PCR và CTV bằng RT-PCR

Kết quả phát hiện Ca.Las bằng PCR và CTV bằng RT-PCR được trình bày ở bảng 1 và điện di kết quả PCR/RT-PCR được trình bày ở hình 1, 2 và 3.

Trong số 42 mẫu được thu thập và kiểm tra, chỉ 6 mẫu (14,3%) nhiễm CTV gồm 3 mẫu được thu thập trực tiếp tại điểm thu mẫu (mẫu số 15, 17 và 28) và 3 mẫu do người trồng cam cung cấp (mẫu ký hiệu S1, S3, S4). Đáng chú ý, có 4/6 mẫu cùng bị nhiễm Ca.Las.

Phản ứng PCR cũng phát hiện 24 mẫu (57,1%) nhiễm Ca.Las. Kết quả này cho thấy, Ca.Las là một trong các nguyên nhân quan trọng gây hiện tượng vàng lá trên cây cam tại Hà Giang.

Bảng 1. Kết quả PCR phát hiện vi khuẩn Ca.Las gây bệnh vàng lá gân xanh (Greening) và RT-PCR phát hiện virus CTV gây bệnh tàn lụi trên cây ăn quả có múi tại Hà Giang

Mẫu (cây)	Giống cây ăn quả có múi	Tuổi cây (năm)	Vị trí vườn	Địa điểm (xã - huyện)	Phản ứng PCR/RT-PCR			
					Ca.Las		CTV	
					OMP-CP-F1/R1	A2/J5	CTV-CP-F1/R1 (lần 1)	CTV-CP-F1/R1 (lần 2)
1	Cam CS1	4	Đồi	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	+	KT	-	KT
2	Cam Sành	25	Đồi	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	-	-	-	KT

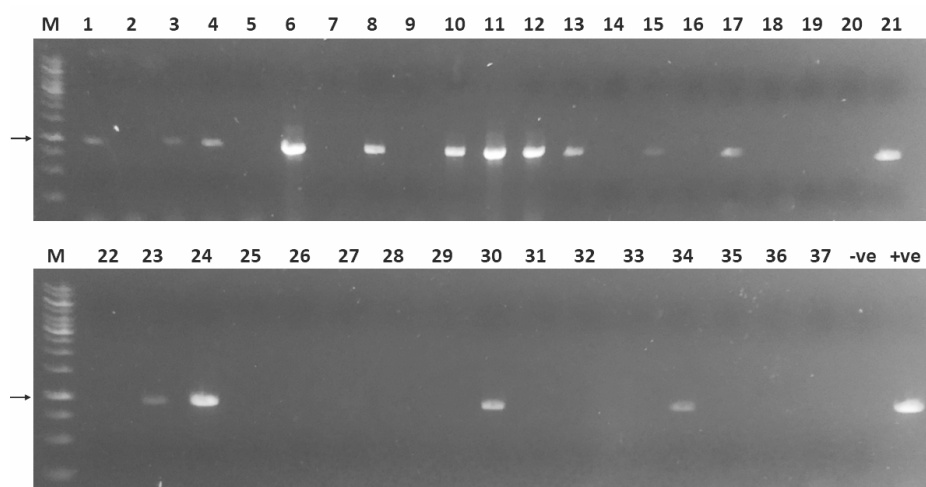
KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

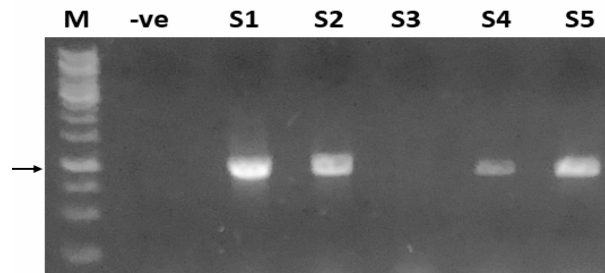
3	Cam V2	4	Đôi	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	+	KT	-	KT
4	Cam V2	4	Đôi	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	+	KT	-	KT
5	Cam Sành	25	Đôi	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	-	+	-	KT
6	Cam Sành	7	Đôi	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	+	KT	-	KT
7	Cam Sành	12	Đôi	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	-	-	-	KT
8	Cam Sành	16	Bờ sông	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	+	KT	-	KT
9	Cam Xã Đoài	6	Bờ sông	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	+	-	-	KT
10	Cam Xã Đoài	6	Bờ sông	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	-	KT	-	KT
11	Cam Sành	6	Bờ sông	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	+	KT	-	KT
12	Cam Xã Đoài	6	Bờ sông	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	+	KT	-	KT
13	Cam Sành	8	Đôi	Hùng An - Bắc Quang	+	KT	-	KT
14	Cam Sành	8	Đôi	Hùng An - Bắc Quang	-	-		-
15	Cam Sành	7	Đôi	Trung Thành - Vị Xuyên	+	KT	+	+
16	Cam Sành	7	Đôi	Trung Thành - Vị Xuyên	-	+	-	KT
17	Cam Sành	7	Đôi	Trung Thành - Vị Xuyên	+	KT		+
18	Cam Sành	7	Đôi	Trung Thành - Vị Xuyên	-	-	-	KT
19	Cam Sành	7	Đôi	Trung Thành - Vị Xuyên	-	-	-	KT
20	Cam Sành	7	Đôi	Trung Thành - Vị Xuyên	-	-	-	KT
21	Cam Sành	7	Đôi	Trung Thành - Vị Xuyên	+	-	-	KT
22	Cam Sành	7	Đôi	Trung Thành - Vị Xuyên	+	KT	-	KT
23	Cam CS1	7	Đôi	Trung Thành - Vị Xuyên	+	KT	-	KT
24	Cam CS1	7	Đôi	Trung Thành - Vị Xuyên	+	-	-	KT
25	Cam Sành	9	Đôi	Hương Sơn - Quang Bình	-	-	-	KT
26	Cam Sành	9	Đôi	Hương Sơn - Quang Bình	-	-	-	KT
27	Cam Sành	9	Đôi	Hương Sơn - Quang Bình	-	-		-

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

28	Cam Sành	9	Đôi	Hương Sơn - Quang Bình	-	-		+
29	Cam Sành	9	Đôi	Hương Sơn - Quang Bình	-	KT	-	KT
30	Cam Sành	9	Đôi	Hương Sơn - Quang Bình	+	+	-	KT
31	Cam Sành	9	Đôi	Hương Sơn - Quang Bình	-	-	-	KT
32	Quýt chum	8	Đôi	Hương Sơn - Quang Bình	-	-	-	KT
33	Cam Sành	8	Đôi	Hương Sơn - Quang Bình	-	KT		-
34	Cam Sành	8	Đôi	Hương Sơn - Quang Bình	+	+		-
35	Cam Sành	8	Đôi	Hương Sơn - Quang Bình	-	-	-	KT
36	Cam Sành	8	Đôi	Hương Sơn - Quang Bình	-	-		-
37	Chanh Ta	6	Đôi	Trung Thành - Vị Xuyên	-	+	-	KT
S1	Cam Sành	9	Bằng	Liên Hiệp - Bắc Quang	+	KT	+	KT
S2	Cam Sành	9	Bằng	Liên Hiệp - Bắc Quang	+	KT	-	KT
S3	Cam Sành	9	Bằng	Liên Hiệp - Bắc Quang	-	KT	+	KT
S4	Cam Sành	9	Bằng	Liên Hiệp - Bắc Quang	+	KT	+	KT
S5	Cam Sành	9	Bằng	Liên Hiệp - Bắc Quang	+	KT	-	KT
Tổng số mẫu nhiễm (tỷ lệ)					24 (57,1%)		6 (14,3%)	

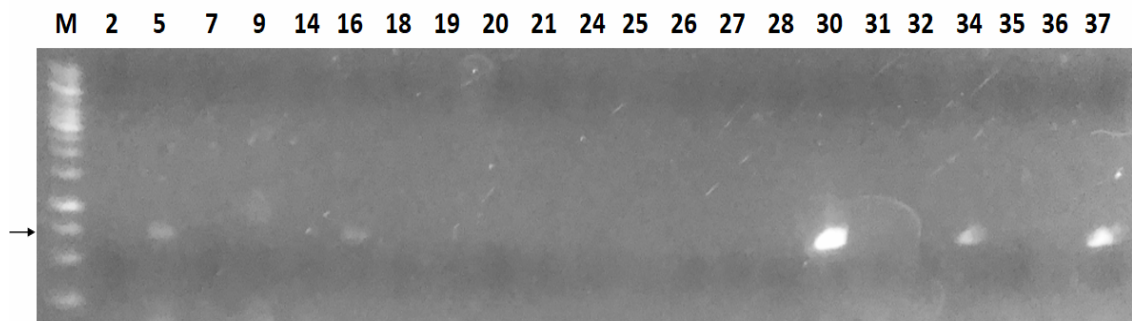
Ghi chú: KT (không thử). Các mẫu từ 1 - 37 được thu thập trực tiếp tại vườn; các mẫu từ S1 đến S5 do ông Đào Xuân Sinh (thôn Trung Tâm, xã Liên Hiệp, huyện Bắc Quang cung cấp - mẫu cành lá).





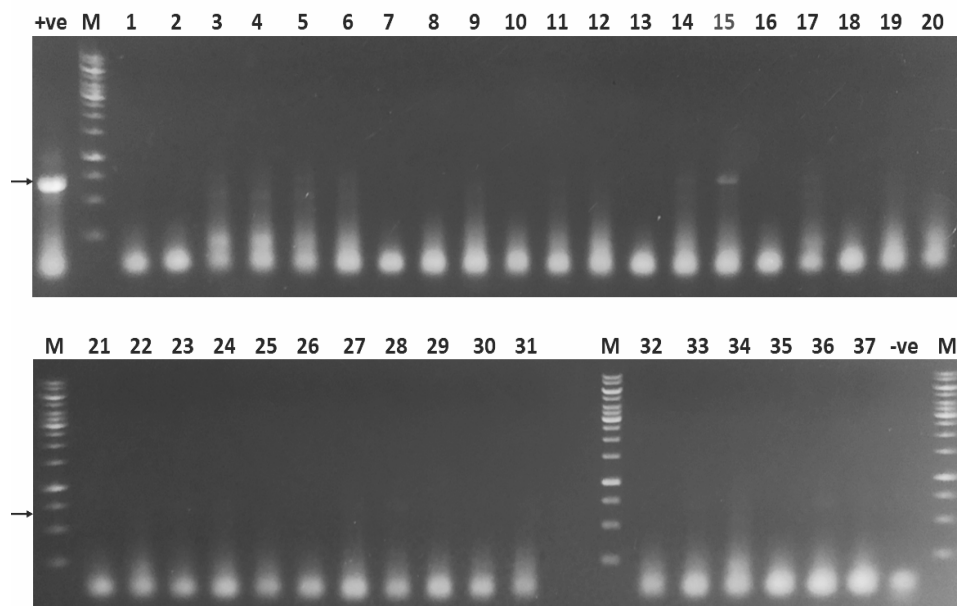
Hình 1. PCR phát hiện Ca.Las bằng cặp mồi OMP-N5 và OMP-N3m

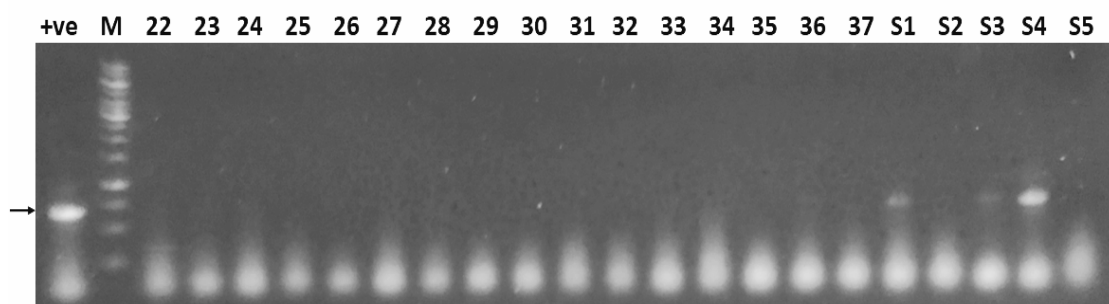
M là thang ADN 1 kb (GeneRuler 1 kb, Thermo). Số trên các giếng tương ứng số cây. Mũi tên chỉ kích thước sản phẩm PCR mong muốn 903 bp



Hình 2. PCR phát hiện Ca.Las bằng cặp mồi A2 và J5

M là thang ADN 1 kb (GeneRuler 1 kb, Thermo). Số trên các giếng tương ứng số cây. Mũi tên chỉ kích thước sản phẩm PCR mong muốn 703 bp





Hình 3. RT-PCR phát hiện CTV bằng CTV-CP-F1 và CTV-CP-R1

M là thang ADN 1 kb (GeneRuler 1 kb, Thermo). Số trên các giếng tương ứng số cây. Mũi tên chỉ kích thước sản phẩm PCR mong muốn 690 bp

3.2. Đánh giá mức độ nhiễm Ca.Las và CTV theo giống

Đánh giá mức độ nhiễm Ca.Las và CTV theo các giống cam được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Đánh giá mức độ nhiễm Ca.Las và CTV theo giống

TT	Giống	Tuổi cây	Địa điểm	Số cây	Ca.Las		CTV	
					Số cây PCR (+)	Phần trăm (%)	Số cây RT-PCR (+)	Phần trăm (%)
1	Cam Sành	2 - 25	Vĩnh Hảo, Hùng An, Liên Hiệp - Bắc Quang; Trung Thành - Vị Xuyên; Hương Sơn - Quang Bình	32	16	50	6	18,8
2	Cam CS1	4 - 7	Vĩnh Hảo - Bắc Quang; Trung Thành - Vị Xuyên	3	3	100	0	0
3	Cam V2	4	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	2	2	100	0	0
4	Cam Xã Đoài	6	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	3	2	66,7	0	0
5	Chanh ta	8	Trung Thành - Vị Xuyên	1	1	100	0	0
6	Quýt chum	8	Hương Sơn - Quang Bình	1	0	0	0	0

Kết quả kiểm tra PCR (Bảng 2) cho thấy, tất cả các giống kiểm tra, ngoại trừ giống quýt chum đều nhiễm Ca.Las ở các mức độ khác nhau. Trên tổng số 32 mẫu cam Sành thu thập có 16 mẫu bị nhiễm Ca.Las, chiếm 50% số mẫu thu thập, đáng chú ý trong 16 mẫu trên có 6 mẫu cùng nhiễm CTV. Các giống cây có múi khác bị nhiễm Ca.Las

ở mức cao so với số mẫu thu thập như cam chín sớm CS1 (100%), cam chín muộn V2 (100%), cam Xã Đoài (66,7%), chanh ta (100%). Tuy nhiên, không thể kết luận về tính chống chịu của giống quýt chum vì số lượng mẫu không đủ (n=1). Như vậy, bệnh *Greening* và bệnh *Tritezra* là một trong những nguyên nhân gây suy thoái vùng cam, kết

quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nehela Y. và Killiny N. (2020) [5], Wu F và cs (2021) [6].

3.3. Đánh giá mức độ nhiễm Ca.Las và CTV theo địa điểm

Bảng 3. Đánh giá mức độ nhiễm Ca.Las và CTV theo địa điểm

Huyện	Xã	Giống	Tuổi	Số cây	Ca.Las		CTV	
					Số cây PCR (+)	Phần trăm (%)	Số cây RT-PCR (+)	Phần trăm (%)
Bắc Quang	Vinh Hảo	Cam Sành, cam Xã Đoài, cam chín muộn V2, cam chín sớm CS1	4 - 25	12	9	75,0	0	0
	Liên Hiệp	Cam Sành	8 - 10	5	4	80,0	3	60,0
	Hùng An	Cam Sành	8	2	1	50,0	0	0
Vị Xuyên	Trung Thành	Cam Sành, cam chín sớm CS1, chanh ta	7	11	8	72,7	2	18,2
Quang Bình	Hương Sơn	Cam Sành, quýt chum	8 - 9	12	2	16,7	1	8,3

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, Ca.Las đều được phát hiện tại cả 3 huyện Bắc Quang, Vị Xuyên và Quang Bình. Tại điểm thu mẫu ở huyện Quang Bình, mức độ nhiễm Ca.Las là 16,7%, thấp hơn nhiều so với các điểm thu mẫu thuộc hai huyện còn lại (50 - 80%). Tỷ lệ nhiễm thấp tại điểm huyện Quang Bình cũng được phản ánh tại tình trạng cây trong vườn. Cây trong vườn có tỷ lệ bị vàng lá < 1% và được chăm sóc rất tốt. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Kumar và cs (2018) [7], theo đó khi cung cấp dinh dưỡng hợp lý đảm bảo bộ rễ phát triển tốt là nguyên nhân dẫn tới tỷ lệ bệnh thấp tại điểm này, vì Ca.Las đã được chứng minh ảnh hưởng rất lớn tới bộ rễ.

4. KẾT LUẬN

Kiểm tra bằng PCR và RT - PCR trên 42 mẫu có triệu chứng thu thập tại 3 huyện Bắc Quang, Vị Xuyên và Quang Bình, tỉnh Hà Giang đã xác định được 24 mẫu (51,7%) nhiễm Ca.Las và 6 mẫu (14,3%) nhiễm CTV. Kết quả cho thấy, Ca.Las là nguyên nhân quan trọng cản trở sản xuất cam tại tỉnh Hà Giang.

Ca.Las được phát hiện thấy trên tất cả các giống cây ăn quả có múi tại 3 huyện (Bắc Quang, Vị Xuyên và Quang Bình) gồm cam Sành (50%), cam chín sớm CS1, cam chín muộn V2 và chanh ta nhiễm 100%; cam Xã Đoài nhiễm 66,7%; chỉ có giống quýt chum không bị nhiễm. Tại điểm thu mẫu ở huyện Quang Bình, mức độ nhiễm Ca.Las là 16,7%, thấp hơn nhiều so với các điểm thu mẫu thuộc hai huyện còn lại (50 - 80%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hocquellet A., Toorawa P., Bove J.-M. and Garnier M. (1999). Detection and identification of the two *Candidatus liberobacter* species associated with citrus huanglongbing by pcr amplification of ribosomal protein genes of their operon. Molecular and cellular probes. 13(5): 373-379.
2. Mangeot-Peter L., Legay S., Hausman J.-F. and Guerriero G. (2016). How to store plant tissues in the absence of liquid nitrogen? Ethanol preserves the RNA integrity of *Cannabis sativa* stem tissues. AIMS Molecular Science. 3(4): 560-566.

3. Chang S., Puryear J. and Cairney J. (1993). A simple and efficient method for isolating RNA from pine trees. *Plant molecular biology reporter*. 11(2): 113-116.
4. Doyle J. (1991). DNA protocols for plants. In: *Molecular techniques in taxonomy*. Springer: 283-293 pages.
5. Nehela Y. and Killiny N. (2020). Revisiting the complex pathosystem of huanglongbing: Deciphering the role of citrus metabolites in symptom development. *Metabolites*. 10(10): 409.
6. Wu F., Huang M., Fox E. G., Huang J., Cen Y., Deng X. and Xu M. (2021). Preliminary Report on the Acquisition, Persistence, and Potential Transmission of Citrus tristeza virus by *Diaphorina citri*. *Insects*. 12(8): 735.
7. Kumar N., Kiran F. and Etxeberria E. (2018). Huanglongbing-induced anatomical changes in citrus fibrous root orders. *HortScience*. 53(6): 829-837.

RESEARCH ON THE CHARACTERISTICS OF VIRUS AND BACTERIA CAUSING THE ORANGE AREA DEGRADATION IN HA GIANG

**Cao Van Chi¹, Ha Viet Cuong³, Nguyen Duc Huy³,
Bui Quang Dang², Pham Hong Hien², Luong Thi Huyen¹,
Nguyen Van Trong¹, Nguyen Thi Bich Lan¹, Giang Duc Hiep⁴**

¹Citrus Research and Development Centre

²Vietnam Academy of Agricultural Sciences

³Vietnam National University of Agriculture

⁴Ha Giang province Plant Protection and Cultivation Sub-Department

Summary

To study the characteristics of virus and bacteria causing the orange degradation in Ha Giang, we collected samples of orange roots and leaves from 3 orange-growing districts in Ha Giang province (Vi Xuyen, Quang Binh and Bac Quang). The results of the study show that out of 42 symptomatic samples tested by PCR and RT-PCR, which are collected in the 3 districts of Bac Quang, Vi Xuyen and Quang Binh in Ha Giang province, 24 (51.7%) samples are identified with Ca.Las and 6 (14.3%) samples are infected with CTV. Ca.Las is an important factor hindering orange production in Ha Giang; Ca.Las is found on all citrus fruit varieties in the 3 districts (Bac Quang, Vi Xuyen and Quang Binh) including oranges Sanh (50%); early-ripening oranges CS1, late-ripening oranges V2 and 100% infected lemons; oranges Xa Doai (66.7%); Only the tangerine variety is not infected. At the sampling point in Quang Binh district, the infection rate of Ca.Las infection is 16.7%, much lower than that of the other two districts (50 - 80%).

Keywords: *Ha Giang orange areas, Greening disease, Tristeza disease, yellow leaf root rot disease.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Thu Thủy

Ngày nhận bài: 3/4/2023

Ngày thông qua phản biện: 28/4/2023

Ngày duyệt đăng: 10/7/2023