

PHÁT HIỆN *Cymbidium Mosaic Virus (CymMV)* VÀ *Odontoglossum Ringspot Virus (ORSV)* GÂY BỆNH TRÊN HOA LAN BẰNG KỸ THUẬT PCR

Phạm Đức Toàn¹, Nguyễn Khánh Ngọc Hà¹, Bùi Cách Tuyến^{2,*}

TÓM TẮT

Một trong những trở ngại cho ngành trồng hoa lan trên thế giới cũng như Việt Nam là dịch hại, trong đó bệnh gây thiệt hại rất lớn, đặc biệt là bệnh do virus bởi hiện không có cách chữa ngoài biện pháp phòng bệnh. Có hơn 30 virus tấn công hoa lan, trong đó phổ biến hàng đầu là *Cymbidium Mosaic Virus (CymMV)* gây bệnh khảm và *Odontoglossum Ringspot Virus (ORSV)* gây bệnh khảm vòng. Trong nghiên cứu này, kỹ thuật RT - PCR đã được sử dụng phát hiện virus nhanh chóng để có biện pháp phòng trừ thích hợp. Đã phát hiện 20/30 mẫu dương tính với *CymMV* chiếm tỉ lệ 66,7%, 4/30 mẫu dương tính với *ORSV* chiếm tỉ lệ 13,3%, trong đó *Dendrobium* là giống có tỉ lệ nhiễm *CymMV* cao nhất. Đã giải trình tự sản phẩm PCR và so sánh kết quả trên Genbank cho thấy tỉ lệ tương đồng với *CymMV* được phát hiện so với trình tự *CymMV* đã được công bố có sự tương đồng là 97%, tỉ lệ tương đồng của *ORSV* được phát hiện so với trình tự *ORSV* đã được công bố là 99%. Từ đó có thể khẳng định rằng hai đối tượng đã được chẩn đoán bằng RT - PCR là *CymMV* và *ORSV*.

Từ khoá: *Cymbidium Mosaic Virus (CymMV)*, *Odontoglossum Ringspot Virus (ORSV)*, RT-PCR, Hoa lan, Virus.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoa lan thuộc họ Orchidaceae, là một trong vài họ thực vật có số loài (species) rất lớn. Hoa lan có mặt khắp nơi trên trái đất trừ hai vùng cực phủ băng. Hoa lan đã được đề cập trong các thư tịch cổ như là cây thuốc, cây cảnh được yêu thích của con người. Hiện nay, ngành công nghiệp về hoa lan đang hướng đến thành một nền công nghiệp phát triển từ việc trồng hoa lan xuất khẩu và lưu thông như một ngành thương mại, nhanh chóng lan rộng trên phạm vi toàn thế giới, điều đó mang lại giá trị về kinh tế cao. Hoa lan được trồng ở nhiều quy mô lớn nhỏ khác nhau từ quy mô công nghiệp đến quy mô vườn, trại, cây kiểng và được sử dụng nhiều phương pháp sản xuất từ truyền thống đến áp dụng công nghệ kỹ thuật hiện đại. Đi cùng với sự phát triển của ngành kinh tế từ lan, các vấn đề về bệnh hại và kiểm soát bệnh hại trên lan ngày càng được quan tâm [1], [2]. Hiện nay, có ít nhất 30 loài virus đã được ghi nhận lây nhiễm sang hoa lan, trong các loại virus được ghi nhận thì *CymMV* và *ORSV* là hai virus được phát hiện nhiều nhất trên lan gây ảnh hưởng lớn đến mặt kinh tế [3],

[4]. Có nhiều phương pháp khác nhau trong nhận dạng virus gây hại cây trồng nói chung và trên hoa lan nói riêng, trong đó phương pháp sinh học phân tử cho kết quả nhanh và tin cậy nên được áp dụng rộng rãi trong chẩn đoán virus thực vật [5]. Hai loại virus này gây hại khá nghiêm trọng với ngành trồng lan ở các nước trên thế giới như Ấn Độ, Thái Lan, Indonesia, trong đó có Việt Nam. Tuy nhiên, các nghiên cứu về hai loại virus trên tại Việt Nam còn rất hạn chế. Mục đích của nghiên cứu này là sử dụng kỹ thuật RT-PCR để chẩn đoán và phát hiện *Cymbidium Mosaic Virus (CymMV)* và *Odontoglossum Ringspot Virus (ORSV)* gây bệnh trên hoa lan nhằm đánh giá sự hiện diện của *CymMV* và *ORSV* tại vườn trồng và từ đó góp phần cung cấp thông tin trong việc hạn chế sự gây hại của *CymMV* và *ORSV* trên các vườn trồng hoa lan.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu lá của cây hoa lan được thu thập từ vườn trồng lan ở xã Nhị Bình, huyện Hóc Môn, thành phố Hồ Chí Minh, gồm 30 mẫu được thu thập ngẫu nhiên trên 3 vị trí trồng tách biệt nhau và trên các giống khác nhau được trồng tại vườn. Các mẫu thu thập có triệu chứng nghi ngờ bệnh virus như đốm lá, sọc lá (Bảng 1, hình 1).

¹ Khoa Khoa học Sinh học, Trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh

² Khoa Môi trường và Tài nguyên, Trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh

* Email: buicachtuyen@gmail.com

Bảng 1. Danh sách mẫu lan được thu thập trong nghiên cứu

Mẫu số	Mã số mẫu	Tên mẫu thu thập	Tên tiếng Việt
1	666	<i>Cattleya</i> sp.	Cát lan
2	1000	<i>Dendrobium</i> sp.	Đăng lan
3	153	<i>Dendrobium</i> sp.	Đăng lan
4	026	<i>Coelogyne rochussenii</i>	Thanh đạm Indo
5	2199	Không tên	
6	1247	<i>Cymbidium</i> sp.	Lan kiếm
7	0012/22	<i>Epidendrum</i> sp.	Lan Epi
8	1966	<i>Cymbidium</i> sp.	Lan kiếm
9	505	<i>Cymbidium dayanum</i>	Kiếm xích ngọc
10	188	<i>Bulbophyllum</i> sp.	Lan lọng
11	D446	<i>Dendrobium</i> sp.	Đăng lan
12	0028/22	<i>Dendrobium milixae</i>	Đăng lan
13	1327	<i>Ascocentrum miniatum</i>	Hoả hoàng
14	663	<i>Dendrobium anosmum</i> French variety	Giả hạt Pháp
15	1018	<i>Dendrobium amethystoglossum</i>	Hoàng thảo lưỡi tím
16	1887	<i>Dendrobium hancockii</i>	Trúc lan
17	2046	<i>Oncidium</i> sp.	Vũ nữ vàng
18	1298	<i>Bulbophyllum</i> sp.	Lan lọng
19	1001	<i>Cattleya</i> sp.	Cát lan
20	362	<i>Coelogyne brachyptera</i>	Thanh đạm
21	252	<i>Oncidium</i> sp.	Vũ nữ vàng
22	277	<i>Coelogyne fimbriata</i>	Thanh đạm
23	2141	<i>Coelogyne</i> sp.	Thanh đạm
24	192	<i>Zygopetalum</i> sp.	Vũ nữ tím
25	1208	<i>Grammatophyllum</i> sp.	Vũ nữ hoàng hậu
26	1139	<i>Dendrobium crumenatum</i>	Đăng lan tuyết mai
27	1557	<i>Rhynchostylis gigantea</i>	Lan ngọc điểm
28	1380	<i>Vandopsis</i> sp.	Lan vanda
29	1411	<i>Dendrobium</i> sp.	Đăng lan
30	132	<i>Aerides odorata</i>	Quế lan hương





Hình 1. Hình thái mẫu và triệu chứng gây hại của virus

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phát hiện CymMV và ORSV gây bệnh trên lan bằng kỹ thuật RT-PCR

Quy trình ly trích RNA từ lá của cây hoa lan

RNA của virus gây hại hoa lan được ly trích theo quy trình của bộ Kit RNA (RNeasy (Qiagen, Germany). Thực hiện phiên mã ngược (Reverse transcription) theo quy trình tổng hợp cDNA của bộ kit “Thermo Scientific RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit”. Kiểm tra cDNA sau khi phiên mã bằng cặp primer 18s115 - F: GCGCGAAACAAGCTTCTTATC và 18s115 - R: GTAGACATCTGTGACGCGA với kích thước đoạn khuếch đại là 115 bp để đánh giá sự hiện diện của cDNA [6]. Phản ứng PCR được thực hiện bởi cặp primer khuếch đại virus *CymMV* chiều 5'-3': CY348-F: GCAGATCTTCGTGGCCAACGTCA và CY348-R: AGAGCATAGAGAGTGTGGTGAG với kích thước đoạn khuếch đại là 348 bp. Virus *ORSV* được khuếch đại từ trình tự primer OR275-F: GCTTGGGCTGACCCCAATTCACCT và OR275-R: GGATTCTGCGGATTTTCTACCTCG với chiều dài đoạn khuếch đại là 275 bp [6]. Phản ứng PCR với tổng thể tích là 12,5 μ l bao gồm những thành phần phản ứng sau: 1X MasterMix (6,25 μ l Master mix nồng độ 2X), 0,2 mM mỗi primer (0,25 μ l primer F, 0,25 μ l primer R nồng độ 10 mM), 1 μ l cDNA và nước khử ion. Chu trình nhiệt dùng cho phản ứng PCR được thực hiện qua các giai đoạn sau: đầu tiên là biến tính trước ở 95°C trong 5 phút, tiếp theo là 30 chu kỳ được lặp lại

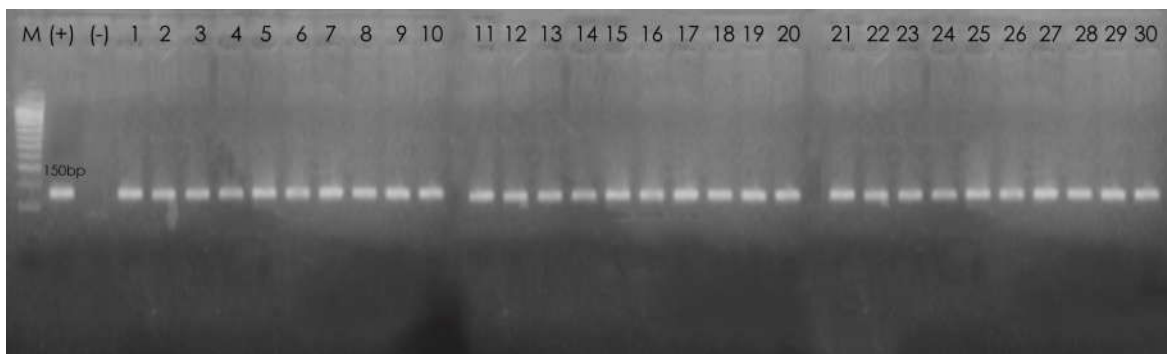
qua ba giai đoạn: biến tính ở 95°C trong 30 giây; nhiệt độ bắt cặp (*Ta*) được thực hiện ở 63°C trong 30 giây; giai đoạn kéo dài ở 75°C trong 30 giây, tiếp theo là giai đoạn sau kéo dài ở 75°C trong 10 phút và cuối cùng mẫu được giữ ở nhiệt độ 4°C [6]. Sản phẩm của phản ứng PCR được phân tích bằng phương pháp điện di trên gel agarose 1,5% trong dung dịch đệm TBE 0,5X, sử dụng 5 μ l sản phẩm PCR và 1 μ l GelRed bơm vào từng giếng, điện di trong 30 phút. Gel sau khi điện di được quan sát trên đèn UV trong buồng soi gel.

Giải trình tự hai chiều sản phẩm PCR của mẫu dương tính với *CymMV* và *ORSV* để kết luận đúng đối tượng gây hại. Mẫu dương tính được gửi giải trình tự tại Công ty Nam Khoa, thành phố Hồ Chí Minh. Kết quả giải trình tự được so sánh với dữ liệu của *CymMV* và *ORSV* trên ngân hàng dữ liệu NCBI bằng các phần mềm BioEdit và BLAST.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tái tổ hợp cDNA

RNA của các mẫu thu thập được tiến hành tái tổ hợp cDNA tổng số, sản phẩm cDNA được thực hiện phản ứng PCR với primer 18s115 để kiểm chứng kết quả cDNA. Kết quả cDNA của tổng số 30 mẫu được thể hiện qua hình 2, cho thấy tất cả mẫu được ly trích RNA và tái tổ hợp cDNA thành công. Kết quả điện di trên gel cho thấy cDNA được tổ hợp tốt, không có giếng mờ hoặc mất band, cDNA đủ điều kiện để sử dụng để thực hiện các phản ứng tiếp theo.



Hình 2. Kết quả điện di 30 sản phẩm PCR của cDNA

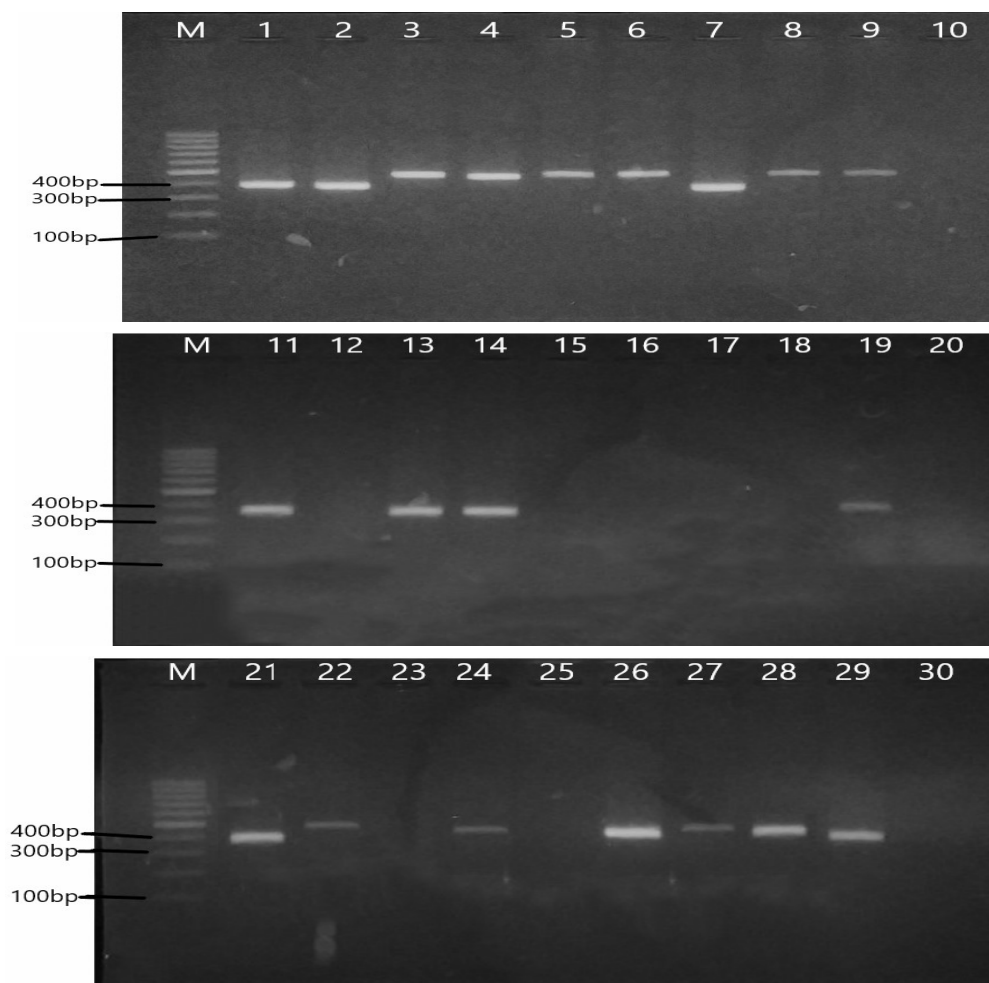
M: Ladder 100 bp; (+): đối chứng dương; (-): đối chứng âm (nước cất); 1 – 30: sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5%, trong dung dịch TBE 0,5X, 30 phút ở hiệu điện thế 100 V

3.2. Phát hiện chẩn đoán sự hiện diện của virus *CymMV* và *ORSV*

3.2.1. Phát hiện chẩn đoán *CymMV*

Sau khi kiểm tra sự hiện diện của cDNA bằng primer 18s115. Sản phẩm cDNA được sử dụng như là

khuôn mẫu trong phản ứng PCR với cặp primer đặc hiệu CY348 cho *CymMV*, với kích thước đoạn khuếch đại để nhận diện *CymMV* trong khoảng 348 - 400 bp.



Hình 3. Kết quả điện di PCR kiểm tra virus *CymMV* trên mẫu

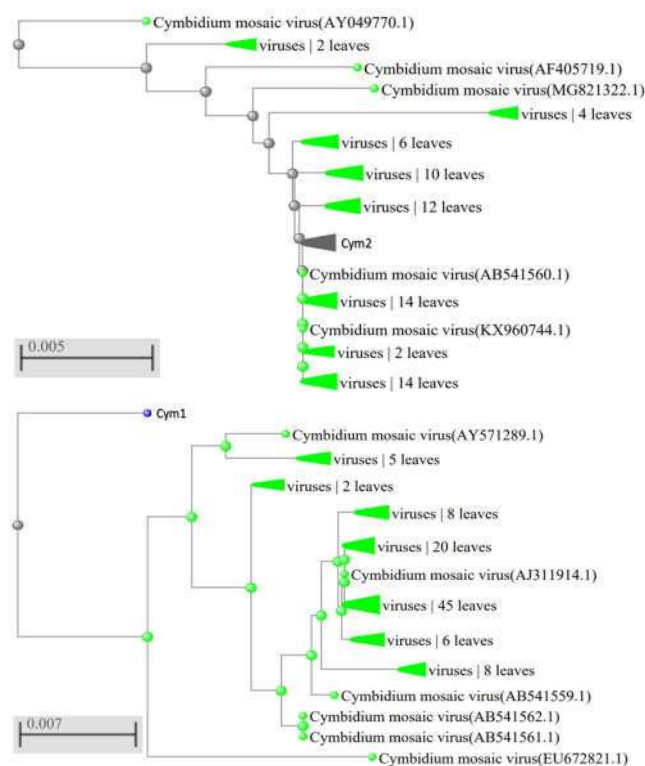
M: Ladder 100 bp Bioline; 1 - 30: sản phẩm PCR 30 mẫu lan với primer CY348; các sản phẩm PCR được điện di trên agarose gel 1,5%, trong dung dịch TBE 0,5X, 30 phút ở hiệu điện thế 100 V

Kết quả từ điện di, ghi nhận có sự xuất hiện của đoạn khuếch đại có kích thước dao động khoảng hơn 300 – 400 bp. Để kiểm chứng tính chính xác của kết quả PCR, các mẫu có đoạn khuếch đại được gửi giải trình tự 2 chiều, trong đó mẫu ở giếng số 1 (Mẫu số

1, mã số 666, *Cattleya* sp., được kí hiệu *Cym1*) và mẫu ở giếng số 3 (Mẫu số 3, mã số: 153, *Dendrobium* sp., được kí hiệu *Cym2*) được chọn để giải trình tự xác định *CymMV*. Kết quả giải trình tự 2 sản phẩm PCR được trình bày chi tiết ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả giải trình tự sản phẩm PCR của mẫu ký hiệu *Cym1* và *Cym2*

Ký hiệu mẫu	Trình tự (5'-3')
<i>Cym1</i>	CAACCNNTTTTGTGCTTACTACGCAAANGTGGTGTGGAATCTGATGCTGGCCACTAACG ATCCGCCCGCCAACTGGGCCAAGGCTGGTTTCCAAGAGGATACTCGGTTTGCCGCCTTTG ACTTCTTCGATGCCGTCGATTCCACTGCCGCGCTGGAACCTGTTGAATGGCAGCGTCGCC CTACTGACCGTGAACGTGCTGCGCACTCGATTGGAAAGTACGGCGCCCTTGCCCGTCAGC GTATCCAAAACGGCAACCTCATCACCAACATTGCCGAGGTCACCAAGGGCCATCTTGGCT CCACCAACACTCTCTATGCTCTTA
<i>Cym2</i>	CCGAGTTTTGGCGCTTCTACGCAAANGTGGTGTGGAACCTGATGCTGGCCACTAACGATC CGCCGCCAACTGGGCCAAGGCTGGTTTCCAGGAGGATACCCGTTTTGCCGCCTTTGACTT CTTCGATGCGTCGATTCCACTGCCGCGCTGGAGCCTGCTGAATGGCAGCGCCGCCCTACT GACCGCGAACGTGCCGCGCACTCGATCGGGAAGTACGGCGCCCTTGCTCGTCAGCGTATC CAAAACGGCAACCTCATCACCAACATTGCCGAGGTCACCAAGGGCCATCTTGGCTCCACC AACACTCTCTATGCTCAAA



Hình 4. Kết quả phân nhóm kiểm tra định danh virus *CymMV*, trong đó *Cym1* và *Cym2* là mẫu được giải trình tự để kiểm tra

Khi so sánh 2 trình tự vừa giải được với dữ liệu trên ngân hàng dữ liệu NCBI cho thấy cả hai có sự khác biệt là 26/324 nucleotide (tỉ lệ tương đồng là 91,8%), đây là sự tương đồng cao, và tiến hành so sánh bằng thuật toán BLAST trên ngân hàng dữ liệu NCBI với

các dữ liệu đã được đăng ký trên NCBI. Kết quả cho thấy, cả 2 mẫu *Cym1* và *Cym2* có sự tương đồng với *CymMV* đã được công bố trên hệ thống dữ liệu, với mức tương đồng từ 96,83 - 97,15% (Bảng 3, hình 4).

Bảng 3. Kết quả so sánh mẫu ký hiệu *Cym1* và *Cym2* với thông tin từ ngân hàng dữ liệu NCBI

Ký hiệu mẫu	Trình tự <i>CymMV</i> trên NCBI	Mức bao phủ	Tỉ lệ tương đồng (%)
<i>Cym1</i>	AB541561.1	305/315	96,83
	EU672821.1	305/315	96,83
	AB541562.1	305/315	96,83
<i>Cym2</i>	AB541560.1	307/316	97,15
	AB541559.1	307/316	97,15
	KX960744.1	306/316	96,84

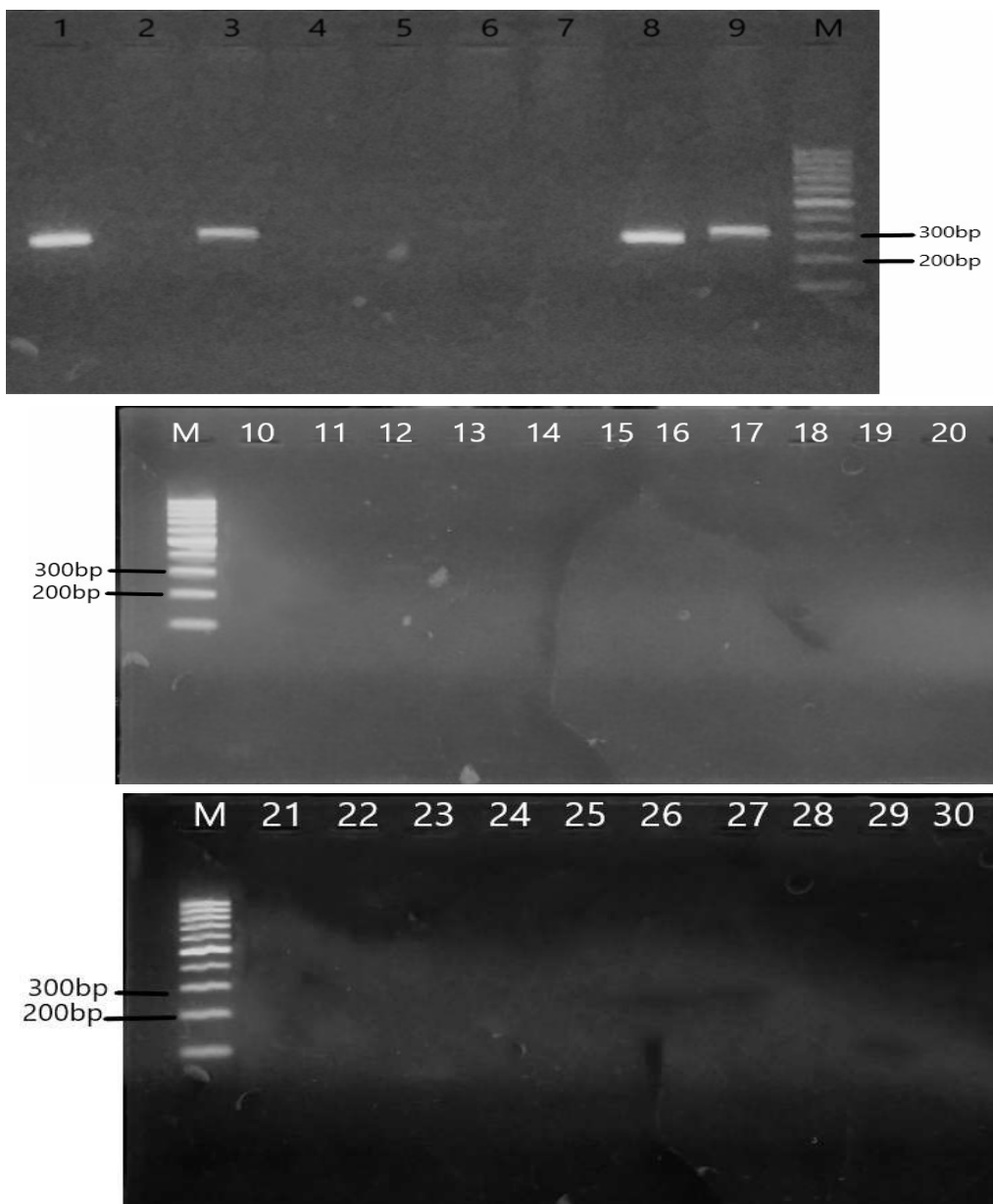
Kết quả trên cho thấy, cả 2 trình tự đều có sự tương đồng cao với các trình tự *CymMV* đã được đăng ký trên NCBI. Từ kết quả giải trình tự 2 chiều, kết luận trình tự được khuếch đại chính là *CymMV*. Như vậy, những mẫu được cho là nhiễm virus gây bệnh khảm trên hoa lan là những mẫu có xuất hiện đoạn khuếch đại (band) trùng khớp với đoạn khuếch đại có kích thước trong khoảng hơn 300 – 400 bp khi điện di trên gel agarose [6]. Trong tổng số 30 mẫu thu thập được phân tích chẩn đoán sự hiện diện của *CymMV*, kết quả ghi nhận có sự xuất hiện của 20 trong 30 mẫu lan vật liệu ban đầu dương tính với virus *CymMV*, gồm các mẫu số 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9,

11, 13, 14, 19, 21, 22, 24, 26, 27, 28, 29 (Hình 3, bảng 1), còn những mẫu còn lại không xuất hiện band sáng được đánh giá là những mẫu âm tính với *CymMV*.

3.2.2. Phát hiện chẩn đoán ORSV

Tương tự virus *CymMV*, tổng số 30 mẫu RNA dùng để chẩn đoán phát hiện *ORSV* sau khi li trích

RNA cũng được tái tổ hợp cDNA và kiểm tra sự hiện diện của cDNA bằng primer 18s115 (Hình 1). Sản phẩm cDNA được làm khuôn mẫu để tiến hành thực hiện phản ứng PCR với cặp primer đặc hiệu OR275 cho việc phát hiện virus *ORSV*. Kích thước đoạn khuếch đại để phát hiện virus *ORSV* là 275 bp.



Hình 5. Kết quả điện di PCR kiểm tra virus *ORSV* trên mẫu

M: Ladder 100 bp Bioline; 1 - 30: sản phẩm PCR 30 mẫu lan với primer CY348; các sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5%, trong dung dịch TBE 0,5X, 30 phút ở hiệu điện thế 100 V

Những mẫu được cho là nhiễm hoặc dương tính với virus *ORSV* gây bệnh khảm vòng là những mẫu có xuất hiện đoạn khuếch đại (band) trùng khớp với đoạn khuếch đại có kích thước trong khoảng 275 bp khi điện di trên gel agarose [6]. Kết quả ghi nhận có

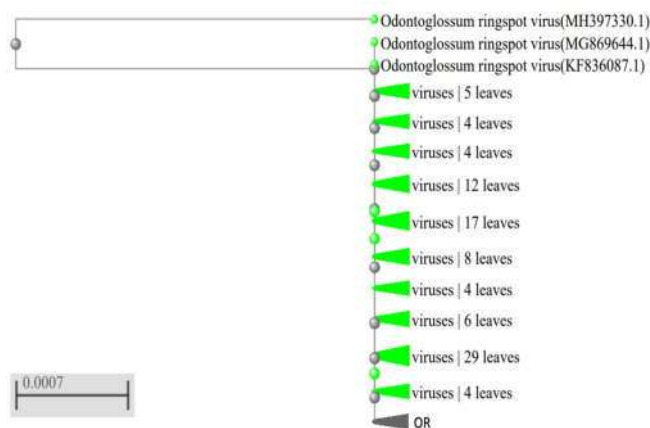
sự xuất hiện đoạn khuếch đại có kích thước trong khoảng hơn 200 – 300 bp được nghi ngờ là band biểu hiện cho virus *ORSV*. Để kiểm chứng mức độ tin cậy và chính xác của kết quả PCR, mẫu ở giếng số 1 (mẫu số 1, mã số 666, *Cattleya* sp., được kí hiệu *OR*)

được gửi giải trình tự đoạn khuếch đại. Kết quả giải trình tự mẫu ký hiệu *OR* được trình bày chi tiết ở

Bảng 4. Kết quả giải trình tự đoạn khuếch đại sản phẩm PCR của mẫu ký hiệu *OR*

Ký hiệu mẫu	Trình tự (5'-3')
<i>OR</i>	ATTGGTAACNCTCTCTGGGTAATCAGTTCCAAACACAACAAGCTCGAACAACCTGTTCAAC AGCAGTTTGCTGATGTTTGGCAGCCGGTTCCTACTTTGACCAGTAGGTTTCCTGCAGGC GCTGGTTACTTCAGAGTTTATCGCTATGATCCTATATTAGATCCTTTAATAACTTTCTTAA TGGGTACTTTTGATACTCNGTAATAGAATAATCGAGGTAGAAAATCCGCAGAATC

Khi tiến hành so sánh bằng thuật toán BLAST trên ngân hàng dữ liệu NCBI, kết quả cho thấy mẫu ký hiệu *OR* có trình tự tương đồng với *ORSV* đã được công bố trên hệ thống dữ liệu, với mức tương đồng 99,11% (Bảng 5, hình 4).



Hình 6. Kết quả phân nhóm kiểm tra định danh virus *ORSV*, trong đó *OR* là mẫu được giải trình tự để kiểm tra

Bảng 5. Kết quả so sánh mẫu ký hiệu *OR* với thông tin từ ngân hàng dữ liệu NCBI

Ký hiệu mẫu	Trình tự <i>ORSV</i> trên NCBI	Mức bao phủ	Tỉ lệ tương đồng (%)
<i>OR</i>	MG869644.1	222/224	99,11
	KF836087.1	222/224	99,11

Kết quả cho thấy, trình tự mẫu *OR* có sự tương đồng rất cao với các trình tự *ORSV* đã được công bố trên ngân hàng dữ liệu NCBI. Vì vậy, mẫu có kích thước đoạn khuếch đại 275 bp này chính là mẫu dương tính với virus *ORSV* gây hại trên hoa lan. Trong tổng số 30 mẫu được phân tích chẩn đoán, kết quả cho thấy có 4 trong 30 mẫu lan dương tính với virus *ORSV*, gồm các mẫu số 1, số 3, số 8, số 9 (Hình 5, bảng 1); những mẫu còn lại không xuất hiện đoạn khuếch đại với cặp primer OR275-F; OR275-R là những mẫu âm tính với virus *ORSV*. Kết quả cho thấy, có những mẫu lan chỉ nhiễm 1 loại virus

CymMV hoặc *ORSV* (Hình 2, 3), cũng có trường hợp nhiễm cả 2 loại virus, trong đó có các mẫu số 1, *Cattleya* sp.; mẫu số 3, *Dendrobium* sp.; mẫu số 8, *Cymbidium* sp.; mẫu số 9, *Cymbidium dayanum* (Bảng 1, hình 3, 5) nhiễm cùng lúc 2 loại virus *CymMV* và *ORSV*. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Yamane và cs (2008) [7], cho rằng mẫu cùng lúc có thể nhiễm cả 2 loại virus khác nhau, với triệu chứng không rõ ràng cho từng loại virus. Nhìn chung các mẫu dương tính với *CymMV* có triệu chứng khảm trên lá hoặc trên hoa, còn mẫu dương tính với *ORSV* thì biểu hiện triệu chứng sọc, hoặc có dây như khảm, hoặc đốm vòng trên lá. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu trước đây của Wong và cs (1994) [8], Su Min Kim và Sun Hee Choi (2015) [6] đã mô tả rằng khi lan bị nhiễm *CymMV* sẽ có triệu chứng khảm lục hoặc có vết trũng như hoại tử trên lá và hoa, còn trường hợp nhiễm *ORSV* thì có các triệu chứng sọc lá, khảm sọc, đốm vòng trên lá và hoa.

4. KẾT LUẬN

Trong tổng số 30 mẫu hoa lan được phân tích, đã phát hiện 20/30 mẫu dương tính với virus *CymMV* gây bệnh khảm, chiếm tỉ lệ 66,7% và 4/30 mẫu dương tính với virus *ORSV* gây bệnh khảm vòng, chiếm tỉ lệ 13,3%, trong đó giống *Dendrobium* là giống nhiễm *CymMV* nhiều nhất. Kết quả giải trình tự đoạn khuếch đại đã xác định mẫu dương tính với *CymMV* trong nghiên cứu này có trình tự tương đồng là 97% so với *CymMV* đã được công bố trên ngân hàng dữ liệu NCBI; *ORSV* được phát hiện trong nghiên cứu này tương đồng so với trình tự *ORSV* đã được công bố trên NCBI là 99%. Từ đó có thể khẳng định rằng hai đối tượng đã được thẩm định bằng PCR là *CymMV* và *ORSV*. Mẫu dương tính với *CymMV* có các triệu chứng khảm xanh lục; mẫu nhiễm *ORSV* có các triệu chứng sọc, khảm sọc, đốm vòng trên lá và hoa. Kết quả này là một trong những thông tin hữu ích góp phần cung cấp thêm thông tin về nghiên cứu virus trên cây hoa lan, đặc biệt là virus *CymMV* và *ORSV*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sue Bottom (2014). *Orchid Pests and Diseases Diagnosis, Treatment and Prevention*. American Orchid Society.
2. Peggy Alrich & Wesley E. Higgins (2019). *Compendium of Orchid Genera*. American Orchid Society and Natural History Publication (Borneo).
3. Hu J. S., Ferreira S., Wang M., Xu M. Q. (1993). *Detection of Cymbidium mosaic virus, Odontoglossum ringspot virus, Tomato spotted wilt virus, and potyviruses infecting orchids in Hawaii*. Plant Disease 77 (5): 464 - 468.
4. Pant, R, Mrinal Das, K Pun, P Ramachandran, R Medhi (2010). *Occurrence of Cymbidium Mosaic and Odontoglossum Ringspot Viruses in Orchid Germplasm of Sikkim and Darjeeling Hills, Their Identification and Diagnosis*. Indian Phytopathology. 63 (3): 326 - 332.
5. Naidu R. A. and A. Hughes (2002). *Methods for the detection of plant virus diseases*. Department of plant pathology, The University of Georgia, Athens, USA: 233 - 260.
6. Su Min Kim, Sun Hee Choi (2015). *Simultaneous detection of Cymbidium mosaic virus and Odontoglossum ringspot virus in orchids using multiplex RT - PCR*. Virus Genes 51: 417 – 422 DOI 10.1007/s11262-015-1258-x.
7. Yamane K, Oyama K, Iuchi E, Ogawa H, Suzuki T and Natsuaki T. (2008). *RT-PCR Detection of Odontoglossum ringspot virus, Cymbidium mosaic virus and Tospoviruses and Association of Infections with Leaf - Yellowing symptoms in Phalaenopsis*. Journal of Phytopathology 156: 268 - 273.
8. Wong S. M, Chung C. G, Lee Y. H, Tan K, Zettler F. W. (1994). *Incidence of Cymbidium mosaic and Odontoglossum ringspot viruses and their significance in orchid cultivation in Singapore*. Crop protection. 13, 235-239.

DETECTION OF *Cymbidium Mosaic Virus (CymMV)* AND *Odontoglossum Ringspot Virus (ORSV)* INFECTING ORCHIDS USING RT - PCR TECHNIQUE

Pham Duc Toan¹, Nguyen Khanh Ngoc Ha¹, Bui Cach Tuyen^{2,*}

¹Faculty of Biological Science - Nong Lam University - Ho Chi Minh city

²Faculty of Environment & Natural Resources - Nong Lam University - Ho Chi Minh city

* Email: buicachtuyen@gmail.com

Summary

Pest and disease are the obstacles hindering orchid cultivation around the world and also in Vietnam. Diseases considered very disastrous, especially viral ones, because there are no cure so far except prevention measures. There are more than 30 viruses attacking orchids. Among them *Cymbidium Mosaic Virus (CymMV)* and *Odontoglossum Ringspot Virus (ORSV)* are widespread. In this study, RT - PCR technique was used to rapidly detect viruses. Results showed that 20/30 samples were detected positive with *CymMV* (66.7%) and 4/30 samples positive with *ORSV* (13.3%). *Dendrobium* is the species having highest infection rate with *CymMV*. The PCR products were sequenced and compared with Genbank data resulting 97% and 99% similarity for *CymMV* and *ORSV* respectively.

Keywords: *Cymbidium Mosaic Virus (CymMV)*, *Odontoglossum Ringspot Virus (ORSV)*, RT-PCR, Orchid, Virus.

Người phản biện: GS.TS. Nguyễn Văn Tuất

Ngày nhận bài: 13/9/2022

Ngày thông qua phản biện: 12/10/2022

Ngày duyệt đăng: 17/10/2022