

KHẢO SÁT THÀNH PHẦN VÀ TÌNH TRẠNG VIRUS GÂY BỆNH HẠI CÀ CHUA TẠI VÙNG TRỒNG CHÍNH CỦA TỈNH LÂM ĐỒNG

Hoàng Việt Hậu¹, Hồ Minh Hiền¹, Lưu Thế Trung²,

Nguyễn Khoa Trường¹, Lê Ngọc Triệu^{1*}

TÓM TẮT

Bệnh xoắn lá do virus trên cà chua đã gây thiệt hại lớn cho sản xuất tại các vùng trồng cà chua chính của Lâm Đồng. Để tạo cơ sở cho các giải pháp phòng trừ, việc khảo sát tình trạng virus ở vườn ươm, các kiểu canh tác khác nhau, trên hạt giống, mẫu đất trồng được thực hiện. Trong nghiên cứu này, kỹ thuật RT-PCR được sử dụng để kiểm tra sự xâm nhiễm trên mẫu thu thập từ hai huyện Đức Trọng và Đơn Dương. Kết quả ghi nhận tại khu vực canh tác bị xâm nhiễm 7 loại virus sau: ToMV (17,05%), CMV (7,75%), TMV (4,65%), TSWV (3,10%), TNRV (3,10%), Begomovirus (6,98%) và Tospovirus (14,73%); các vườn canh tác không che chắn hoặc che chắn không tốt bị nhiễm cả 7 loại virus; các vườn che chắn tốt, tỷ lệ nhiễm virus thấp và ít chủng loại: ToMV (6,00%), CMV (2,00%), TMV (2,00%), Tospovirus (6,00%). Ở các vườn ươm, ghi nhận được sự xuất hiện của các loại virus ToMV (44,93%), CMV (27,22%), TMV (0,63%) và Tospovirus (1,27%), các vườn ươm che chắn tốt hạn chế đáng kể tình trạng xâm nhiễm virus so với các vườn che chắn không tốt. Hạt giống được sử dụng để gieo ươm tạo cây con làm gốc ghép có tỷ lệ nhiễm virus ToMV là 43,75% trong khi không phát hiện virus ở hạt để gieo ươm tạo cây con làm ngọn ghép. Các mẫu bộ trí, bộ phận và bộ cửa thu thập trong các khu vực khảo sát có mang các loại virus ToMV, CMV, Tospovirus và Begomovirus. Với các mẫu đất thu thập được từ các vườn canh tác, 26,67% mẫu nhiễm ToMV và 33,33% mẫu nhiễm TMV.

Từ khóa: *ToMV, CMV, TMV, TSWV, TNRV, Tospovirus, Begomovirus, cà chua, Lâm Đồng.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, trên thế giới đã ghi nhận có nhiều loại sâu, bệnh hại ảnh hưởng đến quá trình và hiệu quả canh tác cà chua, trong đó bệnh hại do virus chiếm một tỷ lệ lớn. Nhiều nhà nghiên cứu bệnh học cây trồng đã mô tả các triệu chứng bệnh và con đường lây truyền của các loại virus trên cà chua (Cerkauskas, 2004; Cerkauskas, 2005a, b; Baker và Adkins, 2000; Edward, 2011; Seepiban *et al.*, 2011). Bên cạnh đó, các phương pháp chẩn đoán virus gây hại cà chua bằng kỹ thuật ELISA và PCR/RT-PCR cũng đã được áp dụng (Agindotan *et al.*, 2007; Sivparas và Gubba, 2008; Vinayarani *et al.*, 2011; Chiemsombat *et al.*, 2010; Charoenvilaisiri *et al.*, 2014; Nevame *et al.*, 2018).

Lâm Đồng là một trong những địa phương có diện tích trồng cà chua lớn, tập trung ở 2 huyện Đơn Dương và Đức Trọng. Tuy nhiên, diện tích gieo trồng giảm dần qua các năm bởi tình trạng dịch hại do

virus gây xoắn lá cà chua. Vấn đề đặt ra đối với ngành nông nghiệp tỉnh Lâm Đồng là tìm được các giải pháp để phòng trừ dịch hại virus gây xoắn lá cà chua một cách hiệu quả. Trong thời gian qua đã có một số nghiên cứu về tình hình bệnh dịch do virus trên cà chua tại các vùng trồng trong nước đã được tiến hành. Nghiên cứu tình hình bệnh vàng xoắn lá cà chua của 40 hộ trồng cà chua (34 hộ ở huyện Đơn Dương và 6 hộ ở huyện Đức Trọng) thuộc tỉnh Lâm Đồng, do Phòng Công nghệ Sinh học của Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam đã chỉ ra tỷ lệ nhiễm *Begomovirus* là 15% tổng số mẫu thu thập (Bùi Thị Thu Ngân, 2012). Lâm Ngọc Hạnh (2005) đã đánh giá tình trạng nhiễm CMV, TMV và TSWV bằng kỹ thuật Elisa và xây dựng quy trình chẩn đoán TMV bằng kỹ thuật RT - PCR đối với cà chua trồng ở Lâm Đồng, kết quả cho thấy vào thời điểm 2004 - 2005 cà chua tại Đức Trọng bị nhiễm nặng CMV và TMV có gây bệnh nhưng ít hơn, chưa phát hiện TSWV trong khi Đơn Dương thì chưa nhiễm. Tuy nhiên, diễn biến dịch bệnh tại các vùng trồng cà chua chính của Lâm Đồng ngày càng phức tạp và trầm trọng, có các triệu chứng mới đã ghi nhận được tại địa phương thông qua các điều tra, khảo sát của Chi cục Trồng trọt và Bảo vệ thực vật Lâm Đồng.

¹ Trường Đại học Đà Lạt

*Email: trieu@dlu.edu.vn

² Viện Khoa học Lâm nghiệp Nam Trung bộ và Tây Nguyên

Để có được cơ sở khoa học cho các giải pháp phòng trừ virus trên cà chua, việc khảo sát thành phần và tình trạng xâm nhiễm của virus trong các khu vực vườn trồng, vườn ươm sản xuất giống và trong hạt giống là cần thiết, bên cạnh đó việc kiểm tra virus trên đất trồng và các côn trùng là vector lan truyền bệnh cũng góp phần xây dựng bức tranh chung về các con đường lây nhiễm virus trên cà chua tại địa phương.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Đối tượng

2.1.1. Cây cà chua trong các hình thức vườn trồng

Vườn che chắn tương đối: vườn trồng che chắn bằng lưới dày trên 32 mesh, mới, không thùng, kết cấu kín, cách ly được với bên ngoài.

Vườn che chắn sơ sài: vườn trồng che chắn bằng lưới thưa 16 mesh, cũ hỏng, thùng, kết cấu không kín, không cách ly được với bên ngoài.

Vườn trồng không che chắn: trồng ngoài trời không che chắn.

2.1.2. Cây giống cà chua ngọn ghép, gốc ghép, cây đã ghép trong các hình thức vườn ươm

Vườn che chắn tương đối: che chắn bằng lưới dày trên 32 mesh, mới, không thùng, kết cấu kín, cách ly được với bên ngoài.

Vườn che chắn không tốt: các khu vực gieo ươm trong vườn che chắn bằng lưới thưa 16 mesh hoặc lưới mịn hơn nhưng cũ hỏng, thùng, kết cấu không kín, không cách ly được với bên ngoài.

2.1.3. Hạt giống cà chua: Hạt giống sử dụng để gieo tạo cây con làm ngọn ghép, gốc ghép.

2.1.4. Mẫu đất và giá thể: Mẫu giá thể ươm cây thu thập từ các vườn ươm khảo sát. Mẫu đất trồng thu thập từ các vườn canh tác.

2.1.5. Mẫu côn trùng: Mẫu côn trùng thu thập được trong các vùng canh tác khảo sát.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thu thập mẫu

Thu thập 2 - 5 mẫu cá thể/vườn trồng tùy thuộc diện tích vườn trồng; thu 5 mẫu cây giống ngọn ghép, thu 5 mẫu cây giống gốc ghép, 10 mẫu cây giống hoặc 5 mẫu gộp 10 cây đã ghép đối với các vườn ươm. Với các mẫu lấy trực tiếp từ cây, thu 2 - 5 lá cho 1 mẫu cá thể, cho ngay vào túi ni lông đã được

ký hiệu sẵn có thể kéo kín miệng, bảo quản trong nước đá trong vòng 4 giờ trước khi được đưa về tách chiết acid nucleic tại phòng thí nghiệm.

Mẫu hạt giống được thu thập từ các vườn ươm khảo sát và các mẫu do Chi cục Trồng trọt và Bảo vệ thực vật tỉnh Lâm Đồng cung cấp. Mẫu hạt đạt tiêu chuẩn: trên 30 hạt, được lấy từ bịch hạt giống còn nguyên của nhà sản xuất. Hạt giống sau đó được gieo trong các đĩa petri để tạo cây con làm nguồn vật liệu cho tách chiết acid nucleic tổng số.

Thu thập mẫu đất vườn trồng, mẫu giá thể ươm cây: 2 - 3 mẫu đất lấy ở tầng mặt gần gốc cây có triệu chứng bệnh/vườn trồng và mẫu giá thể từ các vườn ươm để xác định sự có mặt của virus thông qua việc trồng cây giống sạch bệnh để lấy mẫu phân tích.

Mẫu côn trùng: tìm bắt các loại côn trùng phổ biến trong thời điểm điều tra, để riêng theo chủng loại để tiến hành tách chiết acid nucleic tổng số.

2.2.2. Phương pháp điều tra mật độ côn trùng trong vườn canh tác và vườn ươm

Theo phương pháp được mô tả trong “Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây trồng”, QCVN 01- 38: 2010/BNNPTNT (Bộ Nông nghiệp và PTNT, 2010).

2.2.3. Phương pháp tách chiết mẫu

Mẫu lá cà chua thu thập từ các vườn trồng, vườn ươm khảo sát, mẫu toàn cây từ hạt giống sạch bệnh được gieo trên giá thể vườn ươm, đất trồng tại các vườn trồng thu thập được, mẫu toàn cây từ hạt giống cần kiểm tra virus được gieo trong đĩa petri trong điều kiện cách ly được tách chiết acid nucleic tổng số theo phương pháp CTAB (Weising *et al.*, 2005).

Mẫu côn trùng được gộp chung nhiều cá thể cùng chủng loại, tách chiết acid nucleic tổng số bằng bộ kit HITM Genomic kit của Hãng ABT (Việt Nam) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Kiểm tra chất lượng và nồng độ DNA theo phương pháp tương quan mật độ quang (Weising *et al.*, 2005).

2.2.4. Phương pháp phân tích mẫu acid nucleic tổng số để xác định virus

Các mẫu acid nucleic tổng số từ các mẫu thực vật cần phân tích đạt tiêu chuẩn, có độ tinh sạch được xác định dựa tỷ lệ OD₂₆₀/OD₂₈₀ trong khoảng 1,7-2,0, có nồng độ đạt trên 100 ng/μL được sử dụng tiến hành PCR theo điều kiện dưới đây: Do trong quá

trình tiến hành khảo sát, có những mẫu có triệu chứng tương tự như Tomato spotted wilt virus (TSWV) Tomato necrotic ringspot virus (TNRV) nhưng khi kiểm tra bằng RT-PCR đặc hiệu thì cho kết quả âm tính và Begomovirus cũng đã từng được ghi nhận tại Lâm đồng nên cùng với 7 loại virus gồm Tomato mosaic virus (ToMV), Cucumber mosaic virus (CMV), Tobacco mosaic virus (TMV), Potato virus X (PVX), Potato virus Y (PVY), TSWV và TNRV thì virus thuộc chi Tospovirus và chi Begomovirus cũng được phân tích trong nghiên cứu này.

Điều kiện chạy RT - PCR để phân tích sự xâm nhiễm của từng loại virus dựa trên các điều kiện về

thành phần cặp mồi đặc hiệu, nhiệt độ bắt mỗi tham khảo từ các công bố có trước và có cải biến về nhiệt độ bước chuyển đổi DNA thành cDNA (40°C trong 20 phút) và điều chỉnh thời gian các bước trong chu trình nhiệt để phù hợp với việc sử dụng kit MyTaq One - Step RT - PCR (Bioline, Anh) đối với các virus RNA và kit MyTaq™ HS DNA Polymerase (Bioline, Anh) đối với Begomovirus.

Chi tiết phương pháp RT - PCR về nhiệt độ bắt mỗi, kích thước band sản phẩm đặc hiệu, nguồn tham khảo đối với các loại virus được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Trình tự cặp mồi và nhiệt độ sử dụng trong nghiên cứu

Loại virus	Phương pháp thực hiện	Nhiệt độ bắt mồi (°C)	Trình tự cặp mồi xuôi, ngược (5' - 3')	Kích thước band đặc hiệu	Ghi chú
PVX	RT-PCR	58	AAG CCT GAG CAC AAA TTC GC GCT TCA GAC GGT GGC CG	101bp	Agindotan <i>et al.</i> (2007)
PVY	RT-PCR	58	GGG TTT AGC GCG TTA TGC C TCT TGT GTA CTG ATG CCA CCG	150bp	Agindotan <i>et al.</i> (2007)
TSWV	RT-PCR	59	AGCTAACCATGGTTAGCTCACTAAGGAAAGC AGCATTCCATGGTTAACACACTAAGCAAGCAC	832bp	Sivparas và Gubba (2008)
TMV	RT-PCR	54	TGA AAA TGA ATC ATT GTC TG ACT CAT CAA CAA CTT CTT CC	454bp	Vinayarani <i>et al.</i> (2011)
Topovirus	RT-PCR	54	GTA AAC ACC ATG TCT AMC GT TTA MAM TTC YAK MGA	1356bp	Chiemsombat <i>et al.</i> (2010)
CMV	RT-PCR	52	GCATTCTAGATGGACAAATCTGAATC GCATGGTACCTCAAACCTGGGAGCAC	657bp	Kumar <i>et al.</i> (2009)
ToMV	RT-PCR	58	CTC CAT CGT TCA CAC TCG TTA CT GAT CTG TCA AAG TCT GAG AAA CTT C	508bp	Jacobi <i>et al.</i> (1998)
TNRV	RT-PCR	54	GCA TGC ATG TCT AAC GTT AGG AAG CTT TTA CAG TCC TAT ACT TCC	846bp	Charoenvilaisi <i>ri et al.</i> (2014)
Begomovirus	PCR	60	GAT GGC CGC GCC TTT TCC TTT TAT GTG G GCT GCT GTA TGG GCT GTC GAA GTT CAG	390bp	Nevame <i>et al.</i> (2018)

Sản phẩm RT - PCR được điện di trên gel agarose 2% dưới điện thế 60 V trong 2 giờ, sau đó gel được nhuộm với Ethidium bromide và được quan sát dưới ánh sáng cực tím (UV) và chụp ảnh trên hệ thiết bị UVP Gel Studio PLUS (Hãng Analytik Jena - Đức).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần virus xâm nhiễm ở các vườn trồng

Kết quả khảo sát 129 mẫu cây trồng thu thập từ các vườn trồng được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2 cho thấy, ở các vườn trồng xuất hiện 7 loại virus xâm nhiễm trên cà chua gồm ToMV, CMV, Tospovirus, TMV, TSWV, TNRV và Begomovirus.

Trong đó ở vườn che chắn tương đối chỉ nhiễm 4/9 loại virus khảo sát, đồng thời tỷ lệ nhiễm cũng thấp hơn so với che chắn sơ sài và không che chắn. Che chắn tương đối thể hiện rõ ưu thế chắn côn trùng và vì thế cũng hạn chế các loại virus lan truyền qua côn trùng hút chích.

Đối với trường hợp che chắn sơ sài có tỷ lệ nhiễm cao vì không những côn trùng xâm nhập được mà khi đã xâm nhập thì lại có tác dụng nhốt các vector côn trùng truyền bệnh, do vậy tỷ lệ nhiễm thậm chí còn cao hơn canh tác không che chắn.

Bảng 2. Thành phần và tỷ lệ mẫu nhiễm virus ở các vườn trồng

Hình thức trồng Virus	Che chắn tương đối (%)	Che chắn sơ sài (%)	Không che chắn (%)	Tổng thể (%)
ToMV	6,00	50,00	20,29	17,05
CMV	2,00	20,00	10,14	7,75
Tospovirus	6,00	40,00	17,39	14,73
TMV	2,00	20,00	4,35	4,65

PVX	-	-	-	-
PVY	-	-	-	-
TSWV	-	10,00	4,35	3,10
TRNV	-	10,00	4,35	3,10
Begomovirus	-	20,00	10,14	6,98

3.2. Thành phần virus xâm nhiễm ở các vườn ươm

Kết quả khảo sát 158 mẫu cây trồng thu thập từ các vườn ươm thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Thành phần và tỷ lệ nhiễm virus ở các vườn ươm

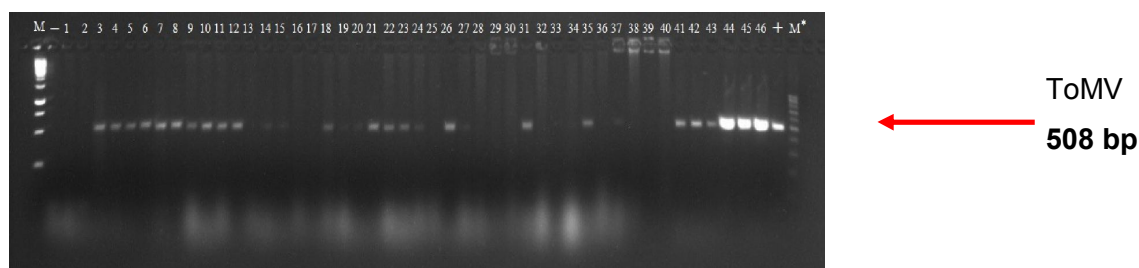
Loại virus	Ngon ghép (%)		Gốc ghép (%)		Cây đã ghép (%)		Tổng thể che chắn tương đối (%)	Tổng thể che chắn không tốt (%)	Tổng thể các vườn (%)
	Che chắn tương đối	Che chắn không tốt	Che chắn tương đối	Che chắn không tốt	Che chắn tương đối	Che chắn không tốt			
ToMV	25,00	64,29	25,00	66,67	33,33	58,00	30,00	60,75	44,93
CMV	-	64,29	6,25	46,67	6,25	46,00	5,00	49,37	27,22
Tospovirus	-	14,29	-	-	-	-	-	2,53	1,27
TMV	-	-	-	6,67	-	-	-	1,27	0,63
PVX	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PVY	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TSWV	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TRNV	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Begomovirus	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Bảng 3 cho thấy, ở vườn ươm che chắn tương đối đã hạn chế virus đáng kể so với các vườn ươm che chắn không tốt. Xét theo chủng loại cây con vườn ươm, mức độ bị xâm nhiễm virus được thể hiện ở bảng 4.

Xét trên tổng thể các vườn ươm khảo sát, thành phần virus ở cây con gốc ghép và cây con ngon ghép có sự khác nhau, trong khi cây con ngon ghép nhiễm Tospovirus thì cây con gốc ghép lại nhiễm TMV. Kết hợp với kết quả phân tích hạt giống và giá thể dưới đây, có thể nhận thấy các virus này bị xâm nhiễm thông qua côn trùng. Các virus xâm nhiễm trên cả ngon ghép và gốc ghép đều xuất hiện ở cây đã ghép, tuy nhiên trên cây đã ghép không có sự xuất hiện của Tospovirus và TMV. Hiện tượng này có thể lý giải bằng việc các mẫu thu thập vào các thời điểm khác nhau và tại các vườn ươm khác nhau.

Bảng 4. Tỷ lệ và thành phần virus xâm nhiễm trên các loại cây giống

Loại virus	Cây con ngon ghép (%)	Cây con gốc ghép (%)	Cây con đã ghép (%)
ToMV	43,33	45,16	45,92
CMV	30,00	25,81	26,53
Tospovirus	6,67	-	-
TMV	-	3,23	-
PVX	-	-	-
PVY	-	-	-
TSWV	-	-	-
TRNV	-	-	-
Begomovirus	-	-	-



Hình 1. Kết quả phân tích ToMV trên một số mẫu khảo sát

Ghi chú: M: thang DNA 1kb (InnuSTAR), M': thang DNA 100bp (Bioline); (số) là các mẫu khảo sát, (-) đối chứng âm, (+) đối chứng dương.

3.3. Thành phần virus xâm nhiễm ở côn trùng

Phân tích các mẫu gộp của các loại côn trùng gồm bộ trĩ (gộp 52 cá thể), bộ phấn (gộp 62 cá thể), bộ cưa non (gộp 35 cá thể) và bộ cưa trưởng thành (gộp 40 cá thể), kết quả cho thấy chúng có mang các virus có khả năng gây bệnh hại cà chua và được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Thành phần virus trên các mẫu côn trùng trong các khu vực khảo sát

Virus	Bộ phấn	Bộ cưa non	Bộ cưa trưởng thành	Bộ trĩ
ToMV	+	+	+	+
CMV	+	-	-	-
Tospovirus	+	-	-	+
TMV	-	-	-	-
PVX	-	-	-	-
PVY	-	-	-	-
TSWV	-	-	-	-
TNRV	-	-	-	-
Begomovirus	+	-	-	-

Ghi chú: "+" dương tính với virus, "-" âm tính với virus

Bảng 5 cho thấy, các côn trùng thu thập vào thời điểm thu mẫu đều mang virus gây xoắn lá, đặc biệt là ToMV. Tuy nhiên, bộ trĩ và bộ phấn không phải vector truyền ToMV mà bộ cưa mới có khả năng truyền virus theo con đường cơ học (gây thương tổn lớn trên cây). Bộ trĩ đã được chỉ ra là tác nhân lây truyền Tospovirus (Seepiban *et al.*, 2011) và bộ phấn được xác định là tác nhân lan truyền Begomovirus.

3.4. Thành phần virus xâm nhiễm ở hạt giống

Kết quả kiểm tra các hạt giống thu thập được cho thấy hạt giống để gieo ươm tạo cây làm ngọn ghép không mang virus (0/8 mẫu kiểm tra), trong khi đó tỷ lệ nhiễm ToMV ở hạt giống để gieo ươm tạo cây làm gốc ghép là 7/16 mẫu kiểm tra (43,75%).

Các mẫu hạt giống cà chua để gieo ươm tạo cây làm ngọn ghép thuộc giống Rita đang trồng phổ biến tại Lâm Đồng, hạt giống cà chua để gieo ươm tạo cây làm gốc ghép thuộc giống Hawaii 02 (3/8 mẫu nhiễm), giống CN 336 (2/4 mẫu nhiễm), giống Vimina (2/4 mẫu nhiễm). Trong sản xuất cây giống cà chua tại Lâm Đồng, phương thức sử dụng phổ biến nếu không canh tác trên giá thể trong vườn ươm chính là ghép cây bởi cây ghép sẽ mang đặc điểm năng suất, chất lượng quả của các giống được sử dụng làm ngọn ghép nhưng mang tính chống chịu được bệnh héo xanh trên cà chua do vi khuẩn *Pseudomonas solanacearum* Smith. Xâm nhập qua rễ, đặc điểm này vốn được thể hiện ở các chủng giống làm gốc ghép.

3.5. Thành phần virus xâm nhiễm ở đất trồng và giá thể ươm cây

Kết quả kiểm tra mẫu cây từ hạt giống sạch bệnh gieo trên giá thể sử dụng để ươm cây thu thập từ 6 vườn ươm cho thấy, các cây hoàn toàn không bị xâm nhiễm virus, điều này chứng minh trong giá thể ươm cây không mang các mầm bệnh virus khảo sát.

Kết quả kiểm tra mẫu cây từ hạt giống sạch bệnh gieo trên mẫu đất thu thập từ các vườn trồng (10 mẫu đất thu từ các vườn trồng ở Đức Trọng và 20 mẫu lấy từ các vườn trồng ở Đơn Dương) cho thấy tỷ lệ nhiễm 2 loại virus ToMV và TMV khá cao: 8/30 mẫu nhiễm ToMV và 10/30 mẫu nhiễm TMV. Hai loại virus TMV và ToMV khá gần nhau về mặt phân loại và cũng có đặc tính tương tự nhau, trong nhiều nghiên cứu có trước cho thấy TMV tồn tại khá lâu trong môi trường đất và có thể xâm nhiễm vào cây, thậm chí có thể tồn tại trên 5 năm trong sợi thuốc lá.

3.6. Kết quả điều tra côn trùng ở các vườn trồng và vườn sản xuất cây giống

Kết quả điều tra côn trùng trên 21 vườn trồng tại Đơn Dương và 11 vườn trồng tại Đức Trọng được thể hiện ở bảng 6.

Bảng 6. Thành phần côn trùng ở các vườn trồng tại Đơn Dương và Đức Trọng

Virus Vị trí/loại hình canh tác	Đơn Dương			Đức Trọng
	Che chắn tương đối (con/cây)	Che chắn sơ sài (con/cây)	Không che chắn (con/cây)	Không che chắn (con/cây)
Bộ trĩ	0,3	1,2	1,1	2,3
Bộ phần	10,4	11,9	16,7	15,7
Bộ cưa	1,5	1,0	3,4	1,9
Rệp	0,1	0,2	0,2	0,9
Nhện	0,9	1,9	1,2	0,7
Khác	0,3	0,4	0,6	0,4

Mật độ côn trùng tại các vườn trồng che chắn tương đối hạn chế đáng kể so với các vườn trồng che chắn sơ sài hoặc không được che chắn. Sự xuất hiện của bộ trĩ có thể làm lây lan TSWV, TNRV và Tospovirus nói chung; sự xuất hiện của rệp có thể làm lây lan CMV; sự xuất hiện của bộ cưa có thể làm

lan truyền ToMV; sự xuất hiện của bộ phần có thể làm lây lan Begomovirus.

Kết quả nghiên cứu về mật độ côn trùng xuất hiện trong khu vực vườn sản xuất cây giống tại Đơn Dương và Đức Trọng được thể hiện ở bảng 7.

Bảng 7. Mật độ côn trùng tại các vườn ươm ở Đức Trọng và Đơn Dương

Loại côn trùng	Mật độ côn trùng quan sát trên bẫy (con/cm ²)			
	Đức Trọng		Đơn Dương	
	Che chắn tương đối	Che chắn sơ sài	Che chắn tương đối	Che chắn sơ sài
Bộ trĩ		2,17	0,60	4,0
Bộ phần	0,33	1,50	0,67	3,33
Khác		0,33	0,33	

Mật độ côn trùng tại các vườn ươm giống che chắn tương đối hạn chế đáng kể so với các vườn ươm che chắn sơ sài.

Các kết quả thể hiện ở bảng 6 và 7 cho thấy, mật độ côn trùng xuất hiện trong khu vực canh tác và vườn ươm cây giống phụ thuộc rõ vào điều kiện sản xuất, càng che chắn tốt thì càng ít côn trùng xâm nhập vào vườn trồng cũng như vườn ươm.

Kết quả thí nghiệm thực tế cho thấy việc canh tác và sản xuất cây giống trong các mô hình được che chắn tốt bằng lưới 51 mesh chắn được các côn trùng nhỏ đã hạn chế gần như triệt để các loại virus khảo sát cũng như các côn trùng là vector truyền virus.

4. KẾT LUẬN

Kết quả ghi nhận tại khu vực canh tác bị xâm nhiễm 6 loại virus sau: ToMV (17,05%), CMV (7,75%), TMV (4,65%), TSWV (3,10%), TNRV (3,10%), Tospovirus (14,73%) và Begomovirus (6,98%) trong khi ở các vườn ươm, ghi nhận được sự xuất hiện của các loại virus ToMV (44,93%), CMV (27,22%), TMV (0,63%) và Tospovirus (1,27%).

Việc che chắn tốt trong khu vực canh tác và ươm giống có tác dụng hạn chế côn trùng và các loại virus xâm nhiễm thông qua vector côn trùng như bộ trĩ, bộ cưa, rệp. Trên một số côn trùng tồn tại trong các vùng sản xuất cà chua tại Đức Trọng và Đơn Dương thực sự mang các loại virus. Côn trùng là một trong tác nhân lan truyền virus chính trong các vùng sản xuất cà chua trọng điểm của Lâm Đồng.

Virus ToMV và TMV có khả năng tồn tại sẵn trong đất trồng tại các vườn canh tác và có khả năng xâm nhiễm vào cây trồng.

Một số lô hạt giống sử dụng để gieo ươm tạo cây con làm gốc ghép bị nhiễm virus ToMV do vậy đây cũng là nguồn lây lan bệnh virus gây hại cà chua.

LỜI CẢM ƠN

Công trình này là sản phẩm của đề tài: “Nghiên cứu phòng trừ bệnh xoăn lá virus hại cà chua tại các vùng trọng điểm của tỉnh Lâm Đồng” do Trường Đại học Đà Lạt chủ trì. Các tác giả xin chân thành cảm ơn UBND tỉnh Lâm Đồng, Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Lâm Đồng đã tài trợ kinh phí cho nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Agindotan, B. O., Shiel, P. J., Berger, P. H., 2007. Simultaneous detection of potato viruses, PLRV, PVA, PVX and PVY from dormant potato tubers by TaqMan® real - time RT - PCR. *Journal of Virological Methods*, 142 (1 - 2): 1 - 9.
2. Baker, C., Adkins, S., 2000. Peppers, Tomatoes, and Tobamoviruses. *Plant Pathology Circular*, No. 400.
3. Bộ Nông nghiệp và PTNT, 2010. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia QCVN 01 - 38: 2010/BNNPTNT về phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây trồng.
4. Cerkauskas, R., 2004. Tomato Diseases - Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV). AVRDC. The World Vegetable Center, 04 - 610.
5. Cerkauskas, R., 2005a. Tomato Diseases - Potato Virus Y (PVY). AVRDC. The World Vegetable Center, 05 - 625.
6. Cerkauskas, R., 2005b. Tomato Diseases - Potato Virus X (PVX). AVRDC. The World Vegetable Center, 05 - 629.
7. Charoenlaisiri, S., Seepiban, C., Bhunchoth, A., Warin, N., Luxananil, P., Gajanandana, O., 2014. Development of a multiplex RT - PCR - ELISA to identify four distinct species of tospovirus. *Journal of Virological Methods*, 202: 54 - 63.
8. Chiemsombat, P., Sharman, M., Srivilai, K., Campbell, P., Persley, D., Attathom, S., 2010. A new tospovirus species *infecting Solanum esculentum* and *Capsicum annuum* in Thailand. *Australasian Plant Disease Notes*, 5 (1): 75.
9. Edward J. S., 2011. Virus Diseases Of Tomato. the Alabama Cooperative Extension System, ANR - 0836.
10. Jacobi, V., Bachand, G. ., Hamelin, R. ., Castello, J., 1998. Development of a multiplex immunocapture RT-PCR assay for detection and differentiation of tomato and tobacco mosaic tobamoviruses. *Journal of Virological Methods*, 74 (2), 167 - 178.
11. Lâm Ngọc Hạnh, 2005. Đánh giá tình trạng nhiễm bệnh virus (Cucumber Mosaic Virus, Tobacco Mosaic Virus và Tomato Spotted Wilt Virus) trên cà chua (*Solanum lycopersicum*) ở tỉnh Lâm Đồng bằng kỹ thuật ELISA và bước đầu xây dựng quy trình chẩn đoán virus Tobacco Mosaic Virus bằng kỹ thuật RT - PCR. Khóa luận tốt nghiệp ngành Công nghệ sinh học, Trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh.
12. Kumar, S., Khan, M. S., Raj, S. K., Sharma, A. K., 2009. Elimination of mixed infection of Cucumber mosaic and Tomato aspermy virus from *Chrysanthemum morifolium* Ramat. cv. Pooja by shoot meristem culture. *Scientia Horticulturae*, 119 (2): 108 - 112.
13. Nevame, A. Y. M., Xia, L., Nchongboh, C. G., Hasan, M. M., Alam, M. A., Yongbo, L., Longting, S., 2018. Development of a New Molecular Marker for the Resistance to Tomato Yellow Leaf Curl Virus. *BioMed Research International*, 1 - 10.
14. Bùi Thị Thu Ngân, 2012. Xác định virus thuộc chi Begomovirus gây bệnh vàng xoắn lá trên cây cà chua (*Solanum lycopersicum*) ở tỉnh Lâm Đồng. Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Việt Nam. Thông tin online ([http://iasvn.org/chuyen-muc/Xac-dinh-virus-thuoc-chi-Begomovirus-gay-benh-vang-xoan-la-tren-cay-ca-chua-\(Solanum-lycopersicum\)-o-tinh-Lam-Dong-\(ThS.-Bui-Thi-Thu-Ngan.-Email-ngan.btt@iasvn.org\)-2138.html](http://iasvn.org/chuyen-muc/Xac-dinh-virus-thuoc-chi-Begomovirus-gay-benh-vang-xoan-la-tren-cay-ca-chua-(Solanum-lycopersicum)-o-tinh-Lam-Dong-(ThS.-Bui-Thi-Thu-Ngan.-Email-ngan.btt@iasvn.org)-2138.html)).
15. Seepiban, C., Gajanandana, O., Attathom, T., Attathom, S., 2011. Tomato necrotic ringspot virus, a new tospovirus isolated in Thailand. *Arch Virol*, 156: 263-274.
16. Sivparsad, B. J., Gubba, A., 2008. Isolation and molecular characterization of Tomato spotted wilt virus (TSWV) isolates occurring in South Africa. *African Journal of Agricultural Research*, 3 (6): 428 - 434.
17. Vinayarani, G., Madhusudhan, K. N., Deepak, S. A., Niranjana, S. R., Prakash, H. S., 2011. Detection of Mix Infection of Tobamoviruses in Tomato and Bell Pepper by using RT-PCR and Duplex RT - PCR. *International Journal of Plant Pathology*, 2 (2): 89 - 95.
18. Weising, K., Nybom, H., Wolff, K., Kahl G., 2005. *DNA Fingerprinting in Plants Principles, Methods, and applications* (second edition). Cpc Press Taylor & Fancies group.

**SURVEILLANCE OF COMPONENT AND STATUS OF VIRUSES INDUCING TOMATO LEAF
DEFORMATION DISEASE IN LAM DONG PROVINCE**

Hoang Viet Hau¹, Ho Minh Hien¹, Luu The Trung²,

Nguyen Khoa Truong¹, Le Ngoc Trieu^{1*}

¹Da Lat University

**Email: trieuln@dlu.edu.vn*

²Forest science Institute of Central Highlands and South of central Vietnam

Summary

The tomato virus disease has caused great damage to agricultural production in main tomato cultivation areas of Lam Dong province. To provide a basis for control solutions, the study of virus status in different condition of nurseries and cultivation, on seeds, and soil samples was carried out. In this study, PCR and RT-PCR techniques were used to test the infection of viruses on the samples collected in Duc Trong and Don Duong districts. The cultivation areas were infected by 7 kinds of viruses, including ToMV (17.05%), CMV (7.75%), TMV (4.65%), TSWV (3.10%), TNRV (3.10%), Begomovirus (6.98%) and Tospovirus (14.73%); non or bad shading cultivation areas and nurseries were also recorded all of 7 kinds of viruses; but in the good shading cultivation areas virus infection status was significantly limited as ToMV (6.00%), CMV (2.00%), TMV (2.00%) and Tospovirus (6.00%). Analysis results of samples from nurseries showed that, there were the occurrence of ToMV (43.04%), CMV (27.22%), TMV (0.63%), and Tospovirus (1.27%); the virus infection status in good shielding nurseries was significantly limited comparing to bad shielding nurseries. In the seeds used as rootstock plantlets, the infection rate of ToMV was 43.75% while there was no virus detected in the seeds for grafting tip plantlets. The insect samples analysis showed that thrips, spiralling whiteflies and saw beetles collected in the survey area contained ToMV, CMV and Tospovirus, Begomovirus. The rate of insects in cultivation areas and nurseries was depended on their shielding level. In the soil samples collected in the cultivation areas, there were 26.67% and 33.33% of investigated samples were infected by ToMV and TMV, respectively; in the soil of cultivation areas were infected by ToMV (26.67%) and TMV (33.33%), respectively.

Keywords: *ToMV, CMV, TMV, TSWV, TNRV, Tospovirus, Begomovirus, tomato, Lam Dong.*

Người phản biện: PGS.TS. Hà Viết Cường

Ngày nhận bài: 12/10/2020

Ngày thông qua phản biện: 13/11/2020

Ngày duyệt đăng: 20/11/2020