

SỬ DỤNG KỸ THUẬT MULTIPLEX RT - PCR PHÁT HIỆN VIRUS *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) VÀ *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) GÂY HẠI TRÊN CHI LAN KIẾM (*Cymbidium*)

Phạm Đức Toàn¹, Hồ Trần Thị Bảo Trân¹, Bùi Cách Tuyến^{2,*}

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

² Phòng Chẩn đoán Bệnh cây, Viện Nghiên cứu Công nghệ Sinh học và Môi trường,
Trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh

* Email: buicachtuyen@gmail.com

TÓM TẮT

Chi lan Kiếm (*Cymbidium*) thuộc họ Orchidaceae là nhóm lan có giá trị kinh tế cao và luôn nằm trong nhóm hoa lan được ưa chuộng trên thị trường. Hiện nay, các bệnh do virus gây ra đang là thách thức lớn đối với các nước sản xuất và xuất khẩu hoa lan. *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) và *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) là 2 loài virus gây hại phổ biến cho cây hoa lan, trong đó có Chi lan Kiếm. Mục đích của nghiên cứu này nhằm phát hiện nhanh và chính xác đồng thời CymMV và ORSV trên Chi lan Kiếm dựa vào kỹ thuật Multiplex RT - PCR. Kết quả cho thấy, có 44/48 mẫu nhiễm virus, tỉ lệ 91,6%. Trong đó, số mẫu nhiễm CymMV là 43/48 mẫu, chiếm tỉ lệ nhiễm 89,5%, chỉ duy nhất 1 mẫu nhiễm ORSV, chiếm tỉ lệ 0,2%, tương tự chỉ có 1 mẫu nhiễm kép ORSV và CymMV, tỉ lệ 0,2%, có 4/48 (tỉ lệ 0,83%) mẫu không phát hiện sự hiện diện nhiễm ORSV, CymMV. Kết quả cho thấy, Chi lan Kiếm nhiễm CymMV có biểu hiện các đốm đen tròn, vết hoại tử đen, trong khi đó mẫu Chi lan Kiếm nhiễm ORSV thì có triệu chứng sọc màu vàng nhạt, đốm vòng trên lá. Kết quả đạt được của nghiên cứu này là thông tin hữu ích cung cấp thêm các thông tin về virus trên cây hoa lan.

Từ khóa: Lan Kiếm, CymMV, Multiplex RT - PCR, nhiễm kép, ORSV.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi lan Kiếm (*Cymbidium*) thuộc họ Orchidaceae là nhóm lan có giá trị kinh tế cao và luôn nằm trong nhóm hoa lan được ưa chuộng trên thị trường thế giới [1]. Hiện nay, nghề trồng lan tại Việt Nam đang phát triển mạnh và được nhiều người ưa chuộng nhờ tiềm năng kinh tế lớn, góp phần mang lại nguồn thu nhập cao. Tuy nhiên, cùng với sự gia tăng về nhu cầu và quy mô sản xuất, dẫn đến việc thu thập và xuất khẩu hoa lan ngày càng tăng, đặc biệt trong môi trường tự nhiên. Điều này khiến lan dễ bị ảnh hưởng bởi các yếu tố ngoại cảnh, làm suy giảm chất lượng, năng suất và giá trị kinh tế. Ngày nay, các bệnh do virus gây ra đang là thách thức lớn đối với các nước sản xuất và xuất khẩu hoa lan. Trên thế giới đã ghi nhận hơn 50 loài virus gây bệnh trên lan [2], trong

đó CymMV (*Potexvirus cymbidi*) và ORSV (*Tobamovirus odontoglossi*) được xem là 2 đối tượng nguy hiểm, gây thiệt hại nghiêm trọng đến năng suất và chất lượng hoa lan [3]. CymMV và ORSV đã được công bố là virus lây nhiễm cho nhiều chi lan khác nhau trên toàn cầu [4 - 6]. Tuy vậy, cho đến nay vẫn chưa có nhiều thông tin cập nhật về tình trạng hiện diện của CymMV và ORSV ảnh hưởng đến hoa lan tại Việt Nam. Hai loài virus này thường gây ra một số triệu chứng như: Đốm hoại tử, khảm sọc lá màu vàng, mất màu trên hoa, biến dạng hoa và ức chế sinh trưởng, dẫn đến suy giảm giá trị kinh tế của cây lan, gây thiệt hại đáng kể cho ngành trồng lan [7 - 9].

Hiện nay, tỉ lệ nhiễm CymMV và ORSV ngày càng gia tăng, gây tác động tiêu cực đến hiệu quả kinh tế ngành sản xuất lan. Do đó, việc phát hiện

sớm các đối tượng virus gây bệnh là điều hết sức cần thiết để kịp thời thực hiện các biện pháp kiểm soát và hạn chế sự lây lan. Chính vì vậy, việc sử dụng kỹ thuật Multiplex RT – PCR phát hiện CymMV và ORSV gây hại trên Chi lan Kiếm (*Cymbidium*) là cần thiết nhằm phát hiện nhanh, chính xác và khảo sát tỉ lệ nhiễm bệnh do 2 loại virus này gây ra trên Chi lan Kiếm.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Tổng số 48 mẫu lá cây lan thuộc Chi lan Kiếm có biểu hiện triệu chứng nghi ngờ nhiễm bệnh do CymMV, ORSV gây ra được thu thập tại vườn sưu tập cây hoa lan ở xã Nhị Bình, huyện Hóc Môn, thành phố Hồ Chí Minh (nay là xã Đông Thạnh, thành phố Hồ Chí Minh) (Bảng 1). Mẫu đối chứng dương của CymMV và ORSV được cung cấp bởi Phòng thí nghiệm Sinh học phân tử A204, Viện Nghiên cứu Công nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh.

Bảng 1. Danh sách mẫu Chi lan Kiếm có biểu hiện triệu chứng nghi ngờ nhiễm CymMV và ORSV

Số thứ tự mẫu	Mã số mẫu lưu	Tên mẫu
1	0213	<i>Cymbidium</i> sp.
2	1024	<i>Cymbidium</i> sp.
3	0022	<i>Cymbidium</i> sp.
4	1103	<i>Cymbidium</i> sp.
5	0083	<i>Cymbidium</i> sp.
6	0075	<i>Cymbidium</i> sp.
7	1246	<i>Cymbidium finlaysonianum</i>
8	0507	<i>Cymbidium</i> sp.
9	0554	<i>Cymbidium dayanum</i> Var. <i>alba</i>
10	0060	<i>Cymbidium aloifolium</i> (L.) Sw.
11	0293	<i>Cymbidium</i> sp.
12	0040	<i>Cymbidium</i> sp.
13	0034	<i>Cymbidium finlaysonianum</i>
14	0025	<i>Cymbidium</i> sp.
15	0357	<i>Cymbidium aloifolium</i>
16	0008	<i>Cymbidium finlaysonianum</i> Lindl.
17	0194	<i>Cymbidium finlaysonianum</i> Lindl.
18	1207	<i>Cymbidium</i> sp.
19	0201	<i>Cymbidium</i> sp.
20	0039	<i>Cymbidium</i> sp.

KHOA HỌC & CÔNG NGHỆ

21	1092	<i>Cymbidium</i> sp.
22	0043	<i>Cymbidium erythrostylum</i> Rolfe.
23	1020	<i>Cymbidium</i> sp.
24	0103	<i>Cymbidium</i> sp.
25	1126	<i>Cymbidium</i> sp.
26	0511	<i>Cymbidium</i> sp.
27	0083	<i>Cymbidium</i> sp.
28	0016	<i>Cymbidium</i> sp.
29	0227	<i>Cymbidium</i> sp.
30	0075	<i>Cymbidium</i> sp.
31	0190	<i>Cymbidium</i> sp.
32	1026	<i>Cymbidium</i> sp.
33	0082	<i>Cymbidium golden Vanguard</i>
34	2065	<i>Cymbidium dayanum</i> Red
35	0013	<i>Cymbidium</i> sp.
36	0507	<i>Cymbidium</i> sp.
37	0462	<i>Cymbidium</i> sp.
38	1505	<i>Cymbidium</i> sp.
39	1269	<i>Cymbidium</i> sp.
40	0576	<i>Cymbidium</i> sp.
41	0055	<i>Cymbidium</i> sp.
42	0206	<i>Cymbidium</i> sp.
43	1205	<i>Cymbidium</i> sp.
44	0177	<i>Cymbidium</i> sp.
45	0854	<i>Cymbidium</i> sp.
46	0045	<i>Cymbidium</i> sp.
47	0406	<i>Cymbidium</i> sp.
48	1033	<i>Cymbidium</i> sp.



Hình 1. Mẫu lá Chi lan Kiếm có biểu hiện triệu chứng nghi ngờ nhiễm virus

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Ly trích RNA tổng số và tổng hợp cDNA

RNA tổng số của virus gây hại Chi lan Kiếm được ly trích dựa theo quy trình của bộ Kit EZ - 10 Spin Column Plant RNA Miniprep Kit (Cat#BS82314, Biobasic, Canada). Các mẫu RNA tổng số sau khi ly trích được kiểm tra độ tinh sạch và xác định nồng độ (ng/μl) bằng cách đo OD (Optical Density) với bước sóng 260 và 280 nm trên máy đo quang phổ (BioDrop, Anh). Tiếp tục, cDNA được tổng hợp bằng bộ Kit “SensiFAST™ cDNA Synthesis Kit” và được bảo quản ở -20°C.

2.2.2. Kiểm tra cDNA bằng cặp primer 18S115

Sử dụng cặp primer đặc hiệu 18S115, với primer xuôi 18S115-F: 5'-GAGAAATCAAAGTT TTTGGGTTCG-3' và primer ngược 18S115-R: 5'-CCGTGTTGAGTCAAATTAAGCCGC-3' để kiểm tra sự hiện diện và chất lượng của cDNA với sản phẩm khuếch đại có kích thước 115 bp [9]. Phản ứng PCR được thực hiện với tổng thể tích là 12,5 μl, bao gồm 1X MasterMix (Bioline, Anh), 0,2 mM mỗi primer (Sigma, Đức), khoảng 50 ng/μl cDNA, nước khử ion vừa đủ thể tích 12,5 μl [10]. Chương trình nhiệt được thiết lập gồm: Giai đoạn tiền biến tính ở 95°C trong 5 phút; 30 chu kỳ lặp lại gồm biến tính ở 95°C trong 30 giây, bắt cặp ở 63°C trong 30 giây, kéo dài ở 72°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 4°C [10]. Kết quả phản ứng PCR được phân tích bằng điện di trên

gel agarose 1,5% trong dung dịch đệm TAE 0,5X với hiệu điện thế 100 V trong 30 phút và quan sát kết quả điện di bằng máy đọc có đèn UV.

2.2.3. Thực hiện phản ứng Multiplex RT - PCR

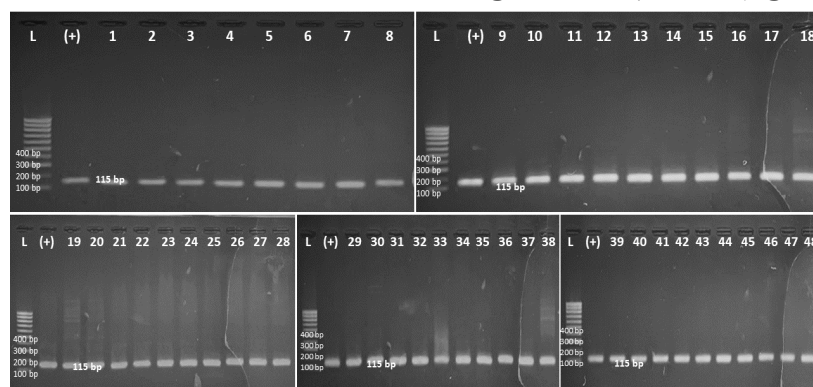
Phản ứng Multiplex RT - PCR được thực hiện đồng thời với các cặp primer gồm: 18S115F/R; cặp primer đặc hiệu CY348-F: 5'-GCAGATCTTCGT GGCCAACGTCA-3'; CY348-R: 5'-AGAGCATAG AGAGTGTGGTGGAG-3' được sử dụng để phát hiện CymMV với sản phẩm khuếch đại có kích thước 348 bp; cặp primer đặc hiệu OR257-F: 5'-GCTTGGGCTGACCCCAATTC-3'; OR257-R: 5'-GGATTCTGCGGATTTCTACCTCG-3' để phát hiện ORSV với sản phẩm khuếch đại có kích thước 257 bp [9]. Phản ứng Multiplex RT - PCR được thực hiện với tổng thể tích là 12,5 μl gồm: 1X MasterMix; 0,2 mM mỗi loại primer CY348F/R; 0,2 mM mỗi loại primer OR257F/R; 0,2 mM mỗi loại primer 18S115F/R; 1 μl cDNA (50 ng/μl) và nước khử ion vừa đủ thể tích 12,5 μl. Đối với mẫu đối chứng âm, cDNA được thay thế bằng nước khử ion [11]. Chu trình nhiệt cho PCR gồm: Giai đoạn tiền biến tính ở 95°C trong 5 phút; 30 chu kỳ lặp lại gồm biến tính ở 95°C trong 30 giây, bắt cặp ở 63°C trong 30 giây, kéo dài ở 72°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 4°C [11]. Sản phẩm PCR được phân tích bằng điện di trên gel agarose 1,5% trong dung dịch đệm TAE 0,5X với hiệu điện thế 100 V trong 30 phút và quan sát kết quả điện di bằng máy đọc có đèn UV.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kiểm tra kết quả tổng hợp cDNA từ RNA tổng số

RNA virus được ly trích từ các mẫu lá Chi lan Kiếm và được sử dụng làm khuôn mẫu để tổng

hợp cDNA. Kết quả tổng hợp cDNA được kiểm tra với cặp primer 18S115F/R khi điện di sản phẩm PCR trên gel agarose cho thấy tất cả các mẫu đều xuất hiện sản phẩm khuếch đại sáng rõ, điều này chứng tỏ cDNA đạt chất lượng tốt (Hình 2).



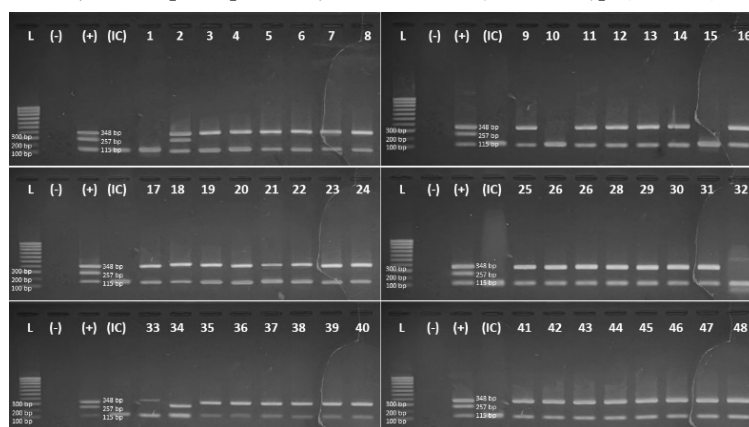
Hình 2. Kết quả kiểm tra cDNA với primer 18S115F/R

Ghi chú: L: Ladder 100 bp; (+): Đối chứng dương; 1 - 48: Mẫu cDNA của các mẫu Chi lan Kiếm trong nghiên cứu, mẫu được điện di trên gel agarose 1,5% trong dung dịch đệm TAE 0,5X với hiệu điện thế 100 V trong 30 phút.

3.2. Phản ứng Multiplex RT - PCR

Kết quả thực hiện phản ứng Multiplex RT - PCR đồng thời với 3 cặp primer gồm: 18S115F/R; CY348F/R; OR257F/R cho sản phẩm khuếch đại với các kích thước khác nhau, tương ứng để nhận diện cho từng đối tượng virus gây hại. Theo đó, cặp primer CY348F/R cho kích thước đoạn khuếch đại 348 bp để phát hiện

CymMV, cặp primer OR257F/R phát hiện ORSV với kích thước khuếch đại 257 bp, còn lại cặp primer 18S115F/R dùng làm đối chứng nội để nhận biết cDNA có hiện diện trong phản ứng PCR. Kết quả điện di sản phẩm Multiplex RT - PCR trên gel agarose đã phát hiện sự hiện diện của CymMV và ORSV trên các mẫu Chi lan Kiếm được thu thập (Hình 3).



Hình 3. Kết quả điện di sản phẩm Multiplex RT - PCR phát hiện CymMV và ORSV trên mẫu Chi lan Kiếm

Ghi chú: L: Ladder 100 bp; (-): Đối chứng âm; (+): Đối chứng dương; IC: Đối chứng nội; 1 - 48: Mẫu Chi lan Kiếm được thu thập, mẫu được điện di trên gel agarose 1,5% trong dung dịch đệm TAE 0,5X với hiệu điện thế 100 V trong 30 phút.

Kết quả điện di cho thấy, mẫu số 2 xuất hiện đồng thời hai đoạn khuếch đại có kích thước lần lượt là 257 bp và 348 bp, tương đồng với đối chứng dương ORSV và CymMV khi đối chiếu với thang chuẩn 100 bp, kết quả này cho thấy, mẫu số 2 bị xâm nhiễm đồng thời cả ORSV và CymMV. Mẫu số 34 xuất hiện đoạn khuếch đại có kích thước khoảng 257 bp khi đối chiếu với thang chuẩn 100 bp, đây là đoạn khuếch đại của cặp primer OR257F/R để phát hiện sự hiện diện của ORSV (Hình 3). Các mẫu khác chỉ xuất hiện đoạn khuếch đại 348 bp, đây là đoạn khuếch đại của cặp primer CY348F/R để phát hiện CymMV, kết quả này cho thấy, hầu hết các mẫu đều nhiễm CymMV (Hình 3). Ngoại trừ các mẫu số 1, 10, 15, 32 không

xuất hiện đoạn khuếch đại đặc hiệu nào từ cặp primer CY348F/R, OR257F/R. Do vậy, từ kết quả của nghiên cứu đã khẳng định rằng, 4 mẫu Chi lan Kiếm này không nhiễm ORSV và CymMV (Hình 3). Dựa trên kết quả thống kê số lượng mẫu nhiễm của từng loại virus trên các mẫu Chi lan Kiếm được thu thập thì CymMV có mức độ hiện diện cao hơn ORSV. Tổng số mẫu Chi lan Kiếm nhiễm virus được quan sát là 44/48 mẫu, với tỉ lệ nhiễm 91,6%, trong đó số mẫu nhiễm CymMV là 43/48 mẫu, tỉ lệ nhiễm 89,5%, chỉ có 1 mẫu nhiễm ORSV, chiếm tỉ lệ 0,2%, tương tự cũng chỉ có 1 mẫu Chi lan Kiếm nhiễm kép ORSV và CymMV, tỉ lệ 0,2%, có 4/48 (tỉ lệ 0,83%) mẫu không phát hiện sự hiện diện nhiễm ORSV, CymMV (Bảng 2).

Bảng 2. Tỉ lệ nhiễm CymMV và ORSV trên Chi lan Kiếm được thu thập

Tổng số mẫu kiểm tra	Số mẫu nhiễm virus				Tổng số mẫu nhiễm virus
	Nhiễm đơn CymMV	Nhiễm đơn ORSV	Đồng nhiễm CymMV và ORSV	Không nhiễm	
48	43	1	1	4	44
Tỉ lệ nhiễm virus (%)	89,5	0,20	0,20	0,83	91,6

Kết quả nghiên cứu cho thấy, mẫu Chi lan Kiếm nhiễm CymMV có biểu hiện qua các đốm đen tròn và vết hoại tử đen kéo dài dọc theo gân lá, trong khi đó mẫu Chi lan Kiếm nhiễm ORSV thì có biểu hiện triệu chứng các vết màu vàng nhạt trên lá hay đốm vòng trên lá. Trường hợp mẫu Chi lan Kiếm đồng nhiễm cả 2 virus (1/48 mẫu) thì có triệu chứng điển hình của CymMV và ORSV, có các vết hoại tử đen kéo dài dọc theo gân lá, bên trong lá có các đốm sọc vàng nhạt. Kết quả nghiên cứu này cho thấy, Chi lan Kiếm bị nhiễm CymMV cao hơn ORSV, đồng nhiễm cả CymMV và ORSV thấp. Trên Chi lan Kiếm, CymMV có khả năng là đối tượng gây bệnh phổ biến hơn ORSV, với tỉ lệ nhiễm CymMV đến 89,5%. Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với kết quả các nghiên cứu trước đây cho rằng CymMV xâm nhiễm trên các Chi hoa lan phổ biến hơn so với ORSV. Nghiên cứu của Khentry

và cs (2006) [5] đã công bố tỉ lệ nhiễm CymMV trên Chi lan *Dendrobium* là 65,4%, ORSV là 0% đối với 280 mẫu cây lan trưởng thành được kiểm tra, song song đó nghiên cứu cũng cho thấy, tỉ lệ nhiễm virus đối với Chi lan *Dendrobium* cắt cành và trồng chậu với tỉ lệ nhiễm 18,6% (CymMV) và 8,7% (ORSV) [5]. Tỉ lệ nhiễm CymMV cao hơn ORSV cũng được báo cáo trên nhóm lan thuộc Chi lan Vũ nữ (*Oncidium*) từ các trang trại trồng lan tại đảo Hải Nam - Trung Quốc, theo đó mức độ nhiễm 77,58% đối với CymMV, 16,04% với ORSV, đồng nhiễm CymMV và ORSV là 10,19% [6]. Tuy nhiên, kết quả này lại khác với kết quả nghiên cứu của Alvareen và Meera (2022) [12], tại Ấn Độ phát hiện 27/45 mẫu Chi lan Kiếm nhiễm ORSV (60%) và 16/45 mẫu nhiễm CymMV (35,5%), kết quả cho thấy tỉ lệ nhiễm ORSV chiếm ưu thế hơn CymMV [12]. Sự khác biệt về tỉ lệ nhiễm CymMV và ORSV giữa các nghiên cứu có

thể bắt nguồn từ các yếu tố như điều kiện khí hậu, môi trường, phương thức canh tác và quản lý cây trồng tại từng khu vực, góp phần ảnh hưởng đến sự phân bố và khả năng lây lan của từng loại virus. Tuy vậy, nhìn chung với tỉ lệ nhiễm virus cao được ghi nhận trên Chi lan Kiếm trong nghiên cứu này là một trong những thông tin cung cấp cho người trồng lan, cho thấy tính cấp thiết trong việc tăng cường giám sát sức khỏe cây lan và áp dụng các biện pháp phòng trừ tổng hợp nhằm kiểm soát, ngăn chặn sự xâm nhiễm của virus, bảo đảm chất lượng và sản lượng của cây hoa lan.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy, CymMV hiện diện phổ biến trên Chi lan Kiếm với tỉ lệ nhiễm cao vượt trội so với ORSV và tỉ lệ nhiễm đơn CymMV chiếm đa số hơn so với đồng nhiễm CymMV và ORSV. Tổng số mẫu nhiễm CymMV là 43/48 mẫu, tỉ lệ nhiễm 89,5%, ORSV hiện diện 1 mẫu, chiếm tỉ lệ 0,2%, tương tự chỉ 1 mẫu Chi lan Kiếm nhiễm kép ORSV và CymMV, tỉ lệ 0,2%, có 4/48 (tỉ lệ 0,83%) mẫu không phát hiện sự hiện diện nhiễm ORSV, CymMV. Kết quả ghi nhận Chi lan Kiếm nhiễm CymMV có biểu hiện các đốm đen tròn, vết hoại tử đen, trong khi đó mẫu Chi lan Kiếm nhiễm ORSV thì có triệu chứng sọc màu vàng nhạt, đốm vòng trên lá. Kết quả đạt được của nghiên cứu này cung cấp thêm thông tin về mức độ xâm nhiễm của ORSV và CymMV trên cây lan nói chung và Chi lan Kiếm nói riêng, để từ đó đưa ra các giải pháp quản lý phòng trừ tổng hợp đạt hiệu quả cho ngành canh tác hoa lan.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả gửi lời cảm ơn chân thành đến tất cả quý anh, chị và quý đồng nghiệp tại Trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh đã tận tình giúp đỡ và hỗ trợ trong suốt quá trình thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Hợp (1998). *Phong lan Việt Nam*. Nxb Nông nghiệp, 751 trang.
2. Zettler, F. W., Ko, N. J., Wisler, G. C., Elliot, M. S., Wong, S. M. (1990). Viruses of

orchids and their control. *Plant Disease*, 74(9), 621 - 626.

3. Yamane, K., Oyama, K., Iuchi, E., Ogawa, H. (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(5), 268 - 273.

4. Ajikuttira, P., Loh, C. S., Wong, S. M. (2005). Reciprocal function of movement proteins and complementation of long-distance movement of Cymbidium mosaic virus RNA by Odontoglossum ringspot virus coat protein. *Journal of General virology*, 86(5), 1543 - 1553.

5. Khentry, Y., Paradornuwat, A., Tantiwivat, S., Phansiri, S., Thaveechai, N. (2006). Incidence of Cymbidium mosaic virus and Odontoglossum ringspot virus in *Dendrobium* spp. in Thailand. *Crop Protection*, 25(9), 926 - 932.

6. Liu, F., Han, Y., Li, W., Shi, X., Xu, W., Lin, M. (2013). Incidence of Cymbidium mosaic virus and Odontoglossum ringspot virus affecting *Oncidium* orchids in Hainan island, China. *Crop Protection*, 54, 176 - 180.

7. Engelmann, J., Hamacher, J. (2008). Plant virus diseases: Ornamental plants. *Desk Encyclopedia of Plant and Fungal Virology*, 4, 436 - 458.

8. Pant, R. P., Rashmi, E. R., Manjunath, N., Baranwal, V. K. (2020). Status of orchid viruses in India and management strategies for them. *Applied Plant Virology*, 725 - 745.

9. Kim, S. M., Choi, S. H. (2015). Simultaneous detection of Cymbidium mosaic virus and Odontoglossum ringspot virus in orchids using Multiplex RT-PCR. *Virus Genes*, 51, 417 - 422.

10. Phạm Đức Toàn, Nguyễn Khánh Ngọc Hà, Bùi Cách Tuyến (2022). Phát hiện Cymbidium mosaic virus (CymMV) và Odontoglossum ringspot virus (ORSV) gây bệnh trên hoa lan bằng kỹ thuật PCR. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 20, 31 - 38.

11. Phạm Đức Toàn, Nguyễn Khánh Ngọc Hà và Bùi Cách Tuyến (2024). Phát triển quy trình Multiplex RT-PCR phát hiện *Cymbidium* mosaic virus (CymMV) và *Odontoglossum* ringspot virus (ORSV) gây bệnh trên hoa lan. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 1, 24 - 31.
12. Alvareen, N., Meera, C. D. (2022). Simultaneous detection of *Odontoglossum* ringspot virus (ORSV) and *Cymbidium* mosaic virus (CymMV) infecting orchids in Meghalaya, India by Multiplex RT-PCR. *South African Journal of Botany*, 151, 777 - 780.

USING MULTIPLEX RT - PCR FOR DETECTION OF *Cymbidium* mosaic virus (CymMV) AND *Odontoglossum* ringspot virus (ORSV) IN *Cymbidium* ORCHIDS

Pham Duc Toan¹, Ho Tran Thi Bao Tran¹, Bui Cach Tuyen²

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

² Plant Disease Diagnostic Clinic, Research Institute for Biotechnology and Environment
- Nong Lam University - Ho Chi Minh city

Abstract

Cymbidium orchids, belonging to the Orchidaceae family, are an orchid group with high economic value and are among the most popular orchids on the market. Currently, diseases caused by viruses pose a major challenge for orchid producing and exporting countries. *Cymbidium* mosaic virus (CymMV) and *Odontoglossum* ringspot virus (ORSV) are two common viruses that cause harm to orchids, including *Cymbidium*. The purpose of this study was to quickly and accurately detect both CymMV and ORSV on *Cymbidium* orchids using Multiplex RT - PCR. The results showed that a total of 44 out of 48 *Cymbidium* orchid samples were infected with the virus, resulting in an infection rate of 91.6%. Of these, 43 out of 48 *Cymbidium* orchid samples were infected with CymMV (89.5%). In contrast, only 1 *Cymbidium* orchid sample was infected with ORSV (0.2%), only 1 sample was infected with both ORSV and CymMV (0.2%). Furthermore, 4 out of 48 (0.83%) samples were not infected with either ORSV or CymMV. The results indicated that CymMV-infected orchids showed necrotic sunken lesions, round black spots, black necrotic streaks, chlorotic streaking on leaves, while ORSV-infected orchids exhibited symptoms of stripped mosaic, diamond mottle, ringspots on leaves. These archived results provide useful additional information about viruses affecting orchids, particularly *Cymbidium* orchids.

Keywords: *Cymbidium*, *CymMV*, *Multiplex RT - PCR*, *mixed infections*, *ORSV*.

Ngày nhận bài: 5/5/2025

Ngày chuyển phản biện: 9/6/2025

Ngày thông qua phản biện: 25/6/2025

Ngày duyệt đăng: 10/7/2025