

**ĐÁNH GIÁ MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM NÔNG SINH HỌC
CỦA CÁC VẬT LIỆU SẴN (*Manihot Esculenta* Crantz) TRÊN ĐỒNG RUỘNG
VÀ SÀNG LỌC KHẢ NĂNG KHÁNG BỆNH KHẢM LÁ CMV
TRONG ĐIỀU KIỆN LÂY NHIỄM NHÂN TẠO BẰNG PHƯƠNG PHÁP GHÉP**

Hoàng Thị Thùy*, Trần Thị Thanh Hà, Vũ Thị Bích Hạnh,
Nguyễn Văn Hà, Dương Thị Loan, Vũ Văn Liết

Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: htthuyctc@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 11.02.2020

Ngày chấp nhận đăng: 11.08.2020

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá một số đặc điểm của 14 vật liệu sắn trong nước và nhập nội trong điều kiện ở Gia Lâm, Hà Nội và đánh giá khả năng kháng bệnh của các vật liệu thông qua thí nghiệm lây nhiễm nhân tạo bằng phương pháp ghép. Các vật liệu được trồng trên đồng ruộng trong một thí nghiệm tuần tự không nhắc lại, theo dõi một số đặc điểm nông sinh học. Các vật liệu cho thu hoạch sau 8-11 tháng trồng. Chiều cao cây của các vật liệu ở mức trung bình và dao động không nhiều (165,2-183,2cm), có 6 vật liệu có phân cành. Hầu hết các vật liệu chỉ có 1 thân/khóm, CM15, CM21 có 2 thân/khóm và CM60 có 3 thân/khóm. Số củ/cây của các vật liệu dao động từ 4,3-15,8 củ/cây. Khối lượng củ tươi cao nhất ở CM15 (5,0 kg/cây) và 2 giống đối chứng (5,26-5,82 kg/cây). Sử dụng phương pháp ghép, sau 2 tuần thu được 40 cây ghép thành công của 13 vật liệu. Kiểm tra kiểu gen của các cây ghép này bằng chỉ thị JSP1/JSP2 và JSP1/JSP3 đã xác định được sự có mặt của ACMV ở 8 vật liệu (CM2, CM3, CM8, CM15, CM20, CM60, KM140 và KM94). Đánh giá mức độ nhiễm bệnh của các vật liệu sau ghép 3 tháng, xác định nhóm vật liệu kháng gồm CM15, CM16, CM21, CM60, CM88 và ĐC2 (KM94), nhóm kháng cao gồm CM50 và CM61.

Từ khóa: Sắn, bệnh khảm lá CMV, lây nhiễm nhân tạo.

Evaluation of Agro-Biological Characteristics of some Cassava (*Manihot Esculenta* Crantz) Materials in Field Conditions and Screening of the Resistance to CMV in Artificial Infection

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate some agro-biological characteristics of 14 domestic and exotic cassava materials in Gia Lam, Hanoi condition, and to evaluate the resistance of the materials through artificial infection experiments by the transplanting method. The material was grown in the field in a sequential experiment without repeating, tracking some agro-biological characteristics. The materials were harvested after 8-11 months. The plant height of the materials ranged from 165.2-183.2cm, there are 8 materials with branching height. Most materials have only 1 stem/cluster, CM15, CM21 had 2 stems/cluster and CM60 had 3 stems/cluster. The number of tubers/tree varies from 4.3-15.8 tubers/tree. The highest weight of fresh tubers was obtained CM15 (5.0 kg/tree) and 2 control varieties (5.26-5.82 kg/tree). Using the transplanting method, evaluated after 2 weeks, 40 successful transplanted trees of 13 materials were evaluated. Genotyping of these transplanted trees was checked by JSP1/JSP2 and JSP1/JSP3 primers detected the presence of ACMV in plants of 8 materials (CM2, CM3, CM8, CM15, CM20, CM60, KM140 and KM94). Assessing the level of infection after 3 months of transplantation, the group of resistant and highly resistant varieties were identified including CM15, CM16, CM21, CM60, CM88, CM50, CM61 and KM94.

Keywords: Cassava, cassava mosaic virus CMV, artificial infection.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây sắn đã góp phần quan trọng vào an ninh lương thực, đặc biệt là trong các giai đoạn khó khăn của đất nước. Trước năm 1986, các giống sắn được trồng ở Việt Nam đều là các giống sắn địa phương như Gòn, Xanh Vĩnh Phú... với các đặc điểm ăn tươi ngon nhưng năng suất củ thấp tươi thấp (chỉ đạt trên dưới 10 tấn/ha), tỷ lệ tinh bột thấp (20-25%). Một trong những yếu tố chính giúp nâng cao năng suất và sản lượng sắn là nhờ sự tăng cường nghiên cứu, nhập nội, lai tạo, ứng dụng công nghệ mới trong chọn tạo và nhân giống sắn lai (Hoàng Kim & cs., 2008).

Công tác nghiên cứu và phát triển giống sắn của Việt Nam từ năm 1981 đến nay đã có những bước tiến quan trọng, với bộ giống sắn gồm nhiều giống tốt như HL23, HL24, HL20, Xanh Vĩnh Phúc, KM60, KM94, KM95, SM37-26, KM98-1 và KM140.

Giá trị sản xuất sắn đang bị ảnh hưởng nghiêm trọng do dịch bệnh khảm lá CMV. Chọn tạo giống sắn có khả năng chống chịu bệnh khảm lá có ý nghĩa quan trọng, giúp bổ sung vào bộ giống sắn hiện tại ở Việt Nam. Trong điều kiện nhà kính hoặc phòng thí nghiệm, đánh giá nhiễm hay khả năng chống chịu bệnh CMV được thực hiện bằng cách lây nhiễm bệnh lên cây khỏe bằng ghép hoặc sử dụng KIT chuẩn đoán virus, trong đó sử dụng KIT cho kết quả nhanh, chính xác, giúp xác định được hàm lượng virus trong cây, từ đó phán đoán mức độ gây hại.

Gần đây, cơ chế truyền lây truyền bệnh khảm lá CMV bằng phương pháp ghép đã được chứng minh là rất hiệu quả (Wagaba, 2013). Từ đó cho thấy công cụ này có thể là công cụ mạnh để sàng lọc nhanh nguồn gen sắn kháng bệnh trong điều kiện nhà kính nhà lưới. Đến nay, 3 gen kháng CMD là, CMD1 (recessive gene), CMD2 (major dominant gene) và CMD3 (quantitative trait loci, QTL, conferring resistance) đã được khám phá cùng với các chỉ thị phân tử quan trọng liên kết với CMD2 và CMD3 đã được nhận biết (Akano, 2002; Fregene, 2001; Okogbenin, 2012).

Nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá sơ bộ một số đặc điểm nông sinh học của các

mẫu giống sắn, và nhận biết mẫu giống sắn kháng CMV thông qua phương pháp ghép trong nhà lưới và phân tích phân tử. Từ đó đưa ra khuyến cáo sử dụng trong chọn tạo giống và sản xuất để giảm thiểu tác hại của bệnh.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu đánh giá trong thí nghiệm đồng ruộng gồm 14 mẫu giống sắn mới được thu thập, trong đó 10 mẫu giống có nguồn gốc trong nước, 2 mẫu giống có nguồn gốc nước ngoài với đối chứng là 2 giống sắn KM94 và KM140 hiện đang được trồng phổ biến trong sản xuất. Danh sách vật liệu được cho dưới bảng 1.

Vật liệu sử dụng làm nguồn lây nhiễm bệnh khảm lá CMV trong thí nghiệm lây nhiễm nhân tạo là hom giống sắn bệnh của giống KM419 được vận chuyển từ Tây Ninh trong điều kiện cách ly nghiêm ngặt: hom giống được bọc trong giấy ẩm và bao kín hai lần trong túi nilon kín suốt quá trình vận chuyển. Sau khi tiếp nhận, tiến hành thiêu hủy vật liệu bao gói và trồng hom sắn bệnh trong nhà lưới có mái che với hệ thống lưới chống côn trùng, phun phòng bọt phấn trắng định kỳ.

2.1. Đánh giá đặc điểm nông sinh học, năng suất và yếu tố cấu thành năng suất của nguồn vật liệu trên đồng ruộng:

- Các vật liệu được trồng trong vườn tập đoàn, bố trí thí nghiệm theo kiểu tuần tự không nhắc lại, mỗi vật liệu trồng 10 hom, ô thí nghiệm 10m².

- Kỹ thuật chăm sóc, phương pháp lấy mẫu tham khảo QCVN 01-61:2011/BNNPTNT.

- Theo dõi một số chỉ tiêu tham khảo QCVN 01-61:2011/BNNPTNT, bao gồm:

+ Một số đặc điểm nông sinh học tiêu biểu: thời gian sinh trưởng, chiều cao cây, chiều cao phân cành, số thân/khóm;

+ Một số yếu tố cấu thành năng suất và năng suất gồm số củ/cây, khối lượng củ tươi/cây, năng suất củ tươi, khối lượng sắn lát khô/cây, năng suất sắn lát khô;

+ Chỉ tiêu đánh giá chất lượng: hàm lượng tinh bột.

Đánh giá một số đặc điểm nông sinh học của các vật liệu sắn (*Manihot Esculenta* Crantz) trên đồng ruộng và sàng lọc khả năng kháng bệnh khảm lá CMV trong điều kiện lây nhiễm nhân tạo bằng phương pháp ghép

Bảng 1. Danh sách vật liệu nghiên cứu

Tên gọi	Nguồn gốc	Kí hiệu	Địa điểm thu thập
Lá tre Sơn La	Sơn La	CM2	Đại học Nông Lâm Thái Nguyên
Lai đỏ Lai Châu	Lai Châu	CM3	Đại học Nông Lâm Thái Nguyên
Đờ hơ Hòa Bình	Hòa Bình	CM8	Đại học Nông Lâm Thái Nguyên
Sắn lùn	Cao Bằng	CM15	Đại học Nông Lâm Thái Nguyên
Sắn ăn Hoàng Su Phi	Hà Giang	CM16	Đại học Nông Lâm Thái Nguyên
Cao sắn Tủa Chùa	Điện Biên	CM20	Đại học Nông Lâm Thái Nguyên
Trắng Điện Biên	Điện Biên	CM21	Điện Biên
Mì cao sắn	Đắk Lắk	CM50	Đắk Lắk
SC205	Bắc Giang	CM60	Trung tâm NC&PT Cây có củ
DT4	Phú Thọ	CM61	Trung tâm NC&PT Cây có củ
CuBa.Q15	Cu Ba	CM88	Trung tâm NC&PT Cây có củ
Mozambic tím	Mozambic	CM169	Trung tâm NC&PT Cây có củ
KM140	Giống công nhận cấp Quốc gia	ĐC1	
KM94		ĐC2	

Bảng 2. Danh sách các môi đặc hiệu được sử dụng trong thí nghiệm

Môi	Trình tự môi	Kích thước sản phẩm (bp)
JSP1/JSP2	L- ATGTCTGAAGCGACCAGGAGAT R- TGTTTATTAATTGCCAATACT	770
JSP1/JSP3	L- ATGTCTGAAGCGACCAGGAGAT R- CCTTTATTAATTTGTCACTGC	770

- Phân tích phương sai ANOVA, hệ số biến động (CV%) và sai khác nhỏ nhất có ý nghĩa (LSD_{0,05}) sử dụng phần mềm IRRISTAT 5.0.

2.2. Đánh giá khả năng chống chịu bệnh CMV của nguồn vật liệu sắn thông qua thí nghiệm lây nhiễm nhân tạo bằng phương pháp ghép

- Thí nghiệm được thiết kế theo kiểu khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh, 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại là một khối.

- Phương pháp thí nghiệm:

+ Sử dụng phương pháp ghép mắt nhỏ có gỗ tham khảo theo phương pháp của Rwegasira & cs. (2015), mắt ghép lấy trên vật liệu sắn đã bị nhiễm virus CMV trồng trong nhà lưới có hệ thống lưới chống côn trùng và được phun phòng bọ phấn trắng định kỳ để tránh lây lan nguồn bệnh ra bên ngoài. Mỗi vật liệu thực hiện ghép trên 9 hom, chia thành 3 lần nhắc lại, tạo nên tổng số 126 cây ghép; trong đó CM2 thực hiện

ghép 4 mắt/cây, CM3 thực hiện ghép 5 mắt/cây, CM21 thực hiện ghép 3 mắt/cây, các vật liệu còn lại ghép 6 mắt/cây. Số mắt ghép thực hiện/cây phụ thuộc vào số mắt của đoạn cắt.

+ Cắt đoạn ghép (25-30cm) và nhúng vào nước ấm (45-50°C) trong 30 phút trước khi trồng vào bầu (kích thước bầu (39 × 31,3cm).

+ Đánh giá kiểu gen: Sau trồng 2 tuần thu mẫu lá non và kiểm tra sự có mặt của virus trong cây bằng các cặp môi đặc hiệu tham khảo kết quả nghiên cứu của Jerome & cs. (2019) trong bảng 2.

Tách chiết ADN từ lá tươi theo phương pháp của Dellaporta & cs. (1983) có một số cải tiến; mô lá non (lá ở chồi phát sinh từ mắt ghép) được nghiền trong nitơ lỏng cùng 15ml đệm chiết (EB) và thêm 10ml SDS 20%. Kết tủa ADN được rửa 2 lần với 700µl ethanol 80% và sau đó làm khô tại nhiệt độ 25-30°C. Sau đó ADN được hòa tan trong 50 µl đệm 1 × TE (Tris, EDTA) và cất trữ tại nhiệt độ -20°C.

Bảng 3. Đặc điểm của các mẫu giống sản trong điều kiện năm 2019 tại Gia Lâm, Hà Nội

Ký hiệu	TGST (ngày)	CCC (cm)	CCPC (cm)	Số thân/khóm	Số củ/cây	Kl củ tươi (kg)	NS củ tươi (tấn/ha)	Kl sản lát khô (kg)	NS sản lát khô (tấn/ha)	Hàm lượng tinh bột (%)
CM2	263	168,1	-	1	8,3	5,0	17,1 ± 0,34	1,1	6,0 ± 0,21	12,7
CM3	272	171,9	23,6	1	7,5	3,6	18,4 ± 0,46	0,9	7,3 ± 0,18	11,6
CM8	256	165,5	78,5	1	6,3	3,7	20,2 ± 0,41	1,0	7,9 ± 0,11	19,6
CM15	311	167,8	-	2	11,1	4,5	24,4 ± 0,65	1,9	12,5 ± 0,27	21,6
CM16	287	183,2	121,4	1	7,2	3,8	20,6 ± 0,72	1,2	8,0 ± 0,25	12,5
CM20	242	171,2	77	1	12,9	3,6	22,4 ± 0,21	1,1	9,1 ± 0,34	23,1
CM21	265	179,9	-	2	12,7	4,1	15,6 ± 0,34	1,5	7,9 ± 0,42	19,9
CM50	287	181,3	-	1	4,5	3,5	13,7 ± 0,63	0,9	5,4 ± 0,15	22,1
CM60	275	158,4	-	3	9,1	3,8	22,7 ± 0,54	1,3	9,1 ± 0,09	21,2
CM61	265	173,8	37,9	1	10,4	4,3	23,7 ± 0,52	1,8	11,6 ± 0,28	19,4
CM88	296	165,2	53,6	1	7,8	4,3	22,5 ± 0,45	1,7	11,2 ± 0,15	17,1
CM169	307	173,5	-	1	4,3	3,4	21,6 ± 0,57	0,9	5,8 ± 0,08	13,3
ĐC1	251	169,3	-	1	15,8	5,8	30,7 ± 0,38	2,7	20,1 ± 0,37	26,2
ĐC2	312	178,1	-	1	13,4	5,3	29,9 ± 0,44	2,2	17,4 ± 0,21	25,1

Ghi chú: TGST: thời gian sinh trưởng; CCC: chiều cao cây; CCPC: chiều cao phân cành; KL: khối lượng; NS: năng suất.

PCR thực hiện trong tổng thể tích 10µl sử dụng 5µl master mix, 1µl mỗi môi, 1µl của khuôn ADN (150 ng/µl) và 1µl nước cất khử trùng. Sản phẩm PCR chuyển lên gel agarose 1,8% sau đó quan sát bằng máy soi gel.

+ Đánh giá kiểu hình sau 3 tháng: quan sát triệu chứng bệnh trên lá non và đánh giá theo thang điểm như sau:

Điểm 1: các cây không có triệu chứng bệnh

Điểm 2: các cây có các chấm úa vàng trung bình hoặc một số biến màu

Điểm 3: các cây có các chấm trên toàn bộ bề mặt lá, xoắn lá

Điểm 4: các cây có bản lá biến màu hoặc nhăn nheo (đến 2/3 diện tích lá)

Điểm 5: các cây có nhiều triệu chứng của bệnh CMV và/hoặc tổng 4/5 diện tích lá biến màu, cây còi cọc.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả đánh giá đặc điểm nông sinh học, năng suất và yếu tố cấu thành năng suất của nguồn vật liệu trên đồng ruộng

Các vật liệu được trồng thành vườn tập đoàn trong khu thí nghiệm của Viện Nghiên cứu

và Phát triển cây trồng từ tháng 11/2018. Một số tính trạng nông sinh học chính được theo dõi và ghi nhận lại dưới bảng 3.

Đánh giá sơ bộ một số đặc điểm của 14 vật liệu nghiên cứu cho thấy, các vật liệu có nguồn gốc khác nhau, do đó các tính trạng quan sát được cũng có sự sai khác đáng kể. Các vật liệu nhìn chung cho thu hoạch sau 8-11 tháng trồng, CM15 và CM169 có thời gian sinh trưởng >10 tháng, giống đối chứng 2 (KM94) có thời gian sinh trưởng dài nhất trong số các vật liệu trong nghiên cứu.

Chiều cao cây của các vật liệu ở mức trung bình, không sai khác nhau đáng kể, dao động từ 160,0 đến 183,2cm. Có 6/14 vật liệu có phân cành với chiều cao phân cành tương đối khác biệt, dao động từ 23,6 đến 121,4cm. Có 11/14 mẫu giống có 1 thân/khóm, 3 mẫu giống còn lại có số thân/khóm là 2 (CM15 và CM21) và 3 (CM60).

Khi 85% số cây của quần thể chín (khi cây rụng khoảng 2/3 số lá, các lá còn lại trên thân ngả vàng) tiến hành dỡ củ đánh giá sơ bộ năng suất. Số củ/cây của các vật liệu có sự khác biệt lớn, dao động từ 4,3-15,8 củ/cây. Giống đối chứng 1 (KM140) có số củ/cây lớn nhất, trung bình 15,8 củ/cây, CM169 (Mozambic tím) chỉ cho

Đánh giá một số đặc điểm nông sinh học của các vật liệu sắn (*Manihot Esculenta* Crantz) trên đồng ruộng và sàng lọc khả năng kháng bệnh khảm lá CMV trong điều kiện lây nhiễm nhân tạo bằng phương pháp ghép

trung bình 4,3 củ/cây, CM50 (Mỳ cao sắn) cho trung bình 4,5 củ/cây. Nhìn chung không có tương quan giữa số lượng củ/cây và khối lượng củ tươi thu được. Các vật liệu cho lượng củ tươi/cây dao động từ 3,4 đến 5,8kg, cao nhất là 2 giống đối chứng, ngoài ra CM2 (lá tre Sơn La) cũng cho 5,0kg củ tươi/cây. Khối lượng củ tươi thu được là yếu tố quan trọng giúp đánh giá năng suất củ tươi cũng như năng suất sắn lát khô, nhưng cũng là yếu tố chịu ảnh hưởng lớn của điều kiện ngoại cảnh, điều kiện canh tác và bệnh dịch hại. Năng suất củ tươi của các vật liệu khi thu tất cả các hom trong quần thể dao động từ 20,4 đến 30,7 tấn/ha, cao nhất là 2 giống đối chứng. Các vật liệu có năng suất củ tươi thấp dưới 20 tấn/ha bao gồm CM2 (Lá tre Sơn La), CM3 (Lai đỏ Lai Châu), CM21 (Trắng Điện Biên) và CM50 (Mỳ cao sắn), trong đó đáng lưu ý CM2 có khối lượng củ tươi thu hoạch khá tốt nhưng năng suất quần thể thấp do khuyết mật độ.

Từ lượng củ tươi thu được, chúng tôi tiến hành cắt lát, sấy khô và cân năng suất. Khối

lượng củ tươi thu được ở các vật liệu có tương quan rõ rệt với khối lượng sắn lát khô, dao động từ 0,87 đến 2,65kg. Năng suất sắn lát khô thu được cao nhất ở giống đối chứng KM140, đạt 20,1 tấn/ha. Có thể thấy không có sự tương quan chặt giữa năng suất củ tươi và năng suất sắn lát khô do năng suất sắn lát khô chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố như độ xơ, độ bở, hàm lượng nước.

Hàm lượng tinh bột của các vật liệu thu được tương đối sai khác, dao động từ 11,6-26,2%. Hai giống đối chứng là các giống có hàm lượng tinh bột khá tốt đạt 26,2 và 25,1%. Có 4/12 vật liệu còn lại có hàm lượng tinh bột đạt trên 20% gồm CM15, CM20, CM50 và CM60.

Sơ bộ đánh giá một số chỉ tiêu nông sinh học của 14 vật liệu nghiên cứu, có thể thấy được mức độ đa dạng về kiểu hình của các mẫu giống sắn trong nghiên cứu này. Nhìn chung các mẫu vật liệu mới thu thập có các đặc điểm về năng suất và chất lượng kém hơn các giống đối chứng, có thể sử dụng làm vật liệu lai tạo biến dị phục vụ công tác chọn tạo giống sau này.

Bảng 4. Kết quả ghép mắt trên các vật liệu

Vật liệu	Số mắt ghép thực hiện	Số mắt ghép thành công	Tỷ lệ ghép thành công (%)	Số cây ghép thành công	Tỷ lệ cây ghép thành công (%)
CM2	36	13	36,11	4	44,44
CM3	45	14	31,11	3	33,33
CM8	54	14	25,93	3	33,33
CM15	54	22	40,74	3	33,33
CM16	54	19	35,19	3	33,33
CM20	54	15	27,78	4	44,44
CM21	27	7	25,93	3	33,33
CM50	54	21	38,89	4	44,44
CM60	54	11	20,37	4	44,44
CM61	54	9	16,67	2	22,22
CM88	54	17	31,48	3	33,33
CM169	54	0	0	0	0
ĐC1	54	11	20,37	2	22,22
ĐC2	54	13	24,07	2	22,22
Tổng	-	186	-	40	-
Trung bình	-	-	26,97	-	32,15

3.2. Kết quả đánh giá khả năng chống chịu bệnh CMV của nguồn vật liệu sản thông qua thí nghiệm lây nhiễm nhân tạo bằng phương pháp ghép

3.2.1. Kết quả ghép mắt

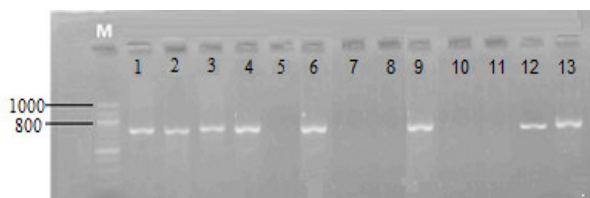
Các vật liệu sau khi ghép mắt theo phương pháp ghép mắt nhỏ có gỗ được trồng trong bầu đất. Bầu được đặt trong khu cách ly (nhà lưới có hệ thống màn chống côn trùng), che lưới đen và tưới ẩm thường xuyên để đảm bảo tỷ lệ sống. Sau khi ghép mắt 2 tuần, chúng tôi tiến hành đánh giá tỷ lệ sống của mắt ghép và số cây ghép thành công. Các cây ghép thành công duy trì màu xanh sau ghép 2 tuần. Bảng 4 thể hiện tỷ lệ mắt ghép thành công cũng như số cây ghép thành công của mỗi giống sản.

Kết quả đánh giá cho thấy tỷ lệ mắt ghép thành công sau 2 tuần của các mẫu giống có sự sai khác tương đối lớn, trong đó mẫu giống CM169 (Mozambic tím) không thu được mắt ghép thành công sau 2 tuần, các vật liệu còn lại có tỷ lệ mắt ghép sống dao động từ 16,67% (CM61-DT4) đến 40,74% (CM15 - Sản lùn Cao Bằng). Sau 2 tuần chúng tôi thu được 40 cây ghép thành công (mỗi cây có 1-6 mắt ghép) của 13 mẫu giống.

3.2.2. Đánh giá kiểu gen của các vật liệu sau ghép

Sau ghép 2 tuần, chúng tôi tiến hành thu mẫu lá non của các vật liệu để kiểm tra sự có mặt của virus CMV sử dụng 2 môi đặc hiệu JSP1/JSP2 kiểm tra sự có mặt của virus ACMV và JSP1/JSP3 kiểm tra sự có mặt của virus EACMV.

Kết quả phân tích cho thấy môi JSP1/JSP2 cho xuất hiện band ở 8 mẫu giống với kích thước



Hình 1. Sản phẩm PCR kiểm tra sự có mặt của virus ACMV với môi JSP1/JSP2

band từ 750-800bp (Hình 1) trong khi không quan sát thấy sản phẩm PCR ở môi JSP1/JSP3 (Hình 2). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Jerome & cs. (2019). Như vậy có thể khẳng định, trong phạm vi nghiên cứu này chỉ có virus ACMV đã được lây nhiễm cho 8 vật liệu CM2, CM3, CM8, CM15, CM20, CM60 và 2 giống đối chứng thông qua phương pháp ghép.

3.2.3. Đánh giá kiểu hình của các vật liệu sau ghép

Đánh giá kiểu hình được tiến hành 3 tháng sau ghép. Kết quả đánh giá được thể hiện ở bảng 6.

Sau 3 tháng, các vật liệu thể hiện mức độ nhiễm khác nhau đối với virus CMV. Giống đối chứng 1 (KM140) nhiễm nặng nhất với 1 cây nhiễm bệnh điểm 4 và 1 cây nhiễm bệnh điểm 5. Mẫu giống CM3 nhiễm nặng với mức độ nhiễm bệnh điểm 4. Có 2 mẫu giống không có biểu hiện bệnh là CM50 và CM61.

Trên cơ sở mức điểm bệnh, 13 mẫu giống được phân thành 4 nhóm:

- Nhóm các mẫu giống nhiễm cao gồm các mẫu giống có mức điểm hại trung bình 3,1-5: CM2 (Lá tre Sơn La), CM3 (Lai đỏ Lai Châu), ĐC1 (KM140).

- Nhóm các mẫu giống nhiễm gồm các mẫu giống có mức điểm hại trung bình từ 2,1-3: CM8 (Đờ Hơ Hòa Bình) và CM20 (Cao sản Tủa Chùa).

- Nhóm các mẫu giống kháng có mức điểm hại trung bình 1,1-2: CM15 (Sản lùn Cao Bằng), CM16 (Sản ăn Hoàng Su Phì), CM21 (Trắng Điện Biên), CM60 (SSC205), CM88 (CuBa.Q15), ĐC2 (KM94).



Hình 2. Sản phẩm PCR kiểm tra sự có mặt của virus EACMV với môi JSP1/JSP3

Đánh giá một số đặc điểm nông sinh học của các vật liệu sắn (*Manihot Esculenta* Crantz) trên đồng ruộng và sàng lọc khả năng kháng bệnh khảm lá CMV trong điều kiện lây nhiễm nhân tạo bằng phương pháp ghép

Bảng 5. Chú thích kết quả chạy PCR

Ký hiệu giống	Vật liệu	Ký hiệu giống	Vật liệu
1	CM2	8	CM50
2	CM3	9	CM60
3	CM8	10	CM61
4	CM15	11	CM88
5	CM16	12	ĐC1
6	CM20	13	ĐC2
7	CM21	M	Thang chuẩn

Bảng 6. Kết quả đánh giá mức độ bệnh của các vật liệu sau ghép

Vật liệu	Điểm nhiễm bệnh	Vật liệu	Điểm nhiễm bệnh
CM2	3,25	CM50	1,00
CM3	4,00	CM60	1,25
CM8	2,67	CM61	1,00
CM15	1,67	CM88	1,33
CM16	2,00	ĐC1	4,50
CM20	2,25	ĐC2	1,50
CM21	2,00		



A



B



C

Ghi chú: A: Mẫu sắn sau ghép 30 ngày; B: Mẫu sắn CM15 - Sắn lùn Cao Bằng sau ghép 65 ngày; C: Mẫu sắn sau ghép 3 tháng - một cây ghép của giống ĐC1 (KM140) với mức đánh giá nhiễm bệnh điểm 4).

Hình 3. Đánh giá các mẫu vật liệu sau ghép

- Nhóm các mẫu giống kháng cao có mức điểm hại trung bình 1: CM50 (Mì cao sản Đắk Lắk), CM61 (DT4).

Có thể thấy, các vật liệu CM15, CM60 và ĐC1 có mang virus qua kết quả kiểm tra PCR 2 tuần sau ghép, nhưng sau 3 tháng các vật liệu

đều có biểu hiện triệu chứng bệnh ở mức nhiễm rất nhẹ hoặc không nhiễm, cho thấy sự nhân lên và gây hại của virus trong các vật liệu này là không đáng kể. Đây có thể được coi là các vật liệu kháng tốt, cần tiếp tục có những nghiên cứu tiếp theo để có thể khẳng định chắc chắn hơn.

Kết quả thí nghiệm lây nhiễm nhân tạo bằng phương pháp ghép cho thấy: sử dụng phương pháp ghép giúp tạo ra tổ hợp các cây ghép có mức độ nhiễm virus khác nhau nghĩa là có thể sử dụng phương pháp này để lây truyền virus phục vụ công tác nhận biết và đánh giá các giống sản kháng bệnh. Trong khuôn khổ nghiên cứu này, tỷ lệ ghép thành công nhìn chung còn thấp. Sau ghép 2 tuần các vật liệu được phân tích ADN nhận biết được sự có mặt của ACMV trong 7 vật liệu sử dụng chỉ thị JPS1/JPS2, sơ bộ kết luận phương pháp ghép có thể lan truyền ACMV.

4. KẾT LUẬN

Đánh giá đặc điểm nông sinh học, năng suất, chất lượng và khả năng kháng bệnh khảm lá CMV của 12 vật liệu sản có nguồn gốc trong nước và nhập nội với 2 giống đối chứng KM140 và KM94 cho thấy các vật liệu nhìn chung sinh trưởng tốt, cho năng suất khá nhưng không vượt các giống đối chứng về cả năng suất và chất lượng. Khuyến cáo sử dụng các vật liệu này trong lai tạo biến dị để nghiên cứu chọn giống sản mới.

Thực hiện thí nghiệm lây nhiễm nhân tạo trong nhà lưới bằng phương pháp ghép, phân tích ADN kiểm tra sự có mặt của virus trên các vật liệu sau ghép 2 tuần và đánh giá mức độ nhiễm bệnh sau ghép 3 tháng, nhóm các mẫu giống kháng và kháng cao được xác định gồm CM15 (Sắn lùn Cao Bằng), CM16 (Sắn ăn Hoàng Su Phì), CM21 (Trắng Điện Biên), CM60 (SSC205), CM88 (CuBa.Q15), ĐC2 (KM94), CM50 (Mì cao sản Đắk Lắk) và CM61 (DT4).

Kết quả đánh giá trên đồng ruộng và đánh giá tính kháng bệnh CMV trong thí nghiệm lây nhiễm nhân tạo cho thấy bên cạnh 2 giống đối chứng, CM15 (Sắn lùn Cao Bằng) là 1 vật liệu triển vọng quy tụ cả năng suất cao và tính kháng bệnh tốt. Bên cạnh đó, nhóm các giống kháng cũng là những nguồn gen quý phục vụ công tác chọn giống sản lai năng suất cao và

kháng bệnh khảm lá CMV, cần được duy trì và phát triển trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Akano O., Dixon O., Mba C., Barrera E. & Fregene M. (2002). Genetic mapping of a dominant gene conferring resistance to cassava mosaic disease. *Theor. Appl. Genet.* 105: 521-525.
- Dellaporta S.L., Wood J. & Hiskis J.B. (1983). A plant DNA miniprep: version II, *Plant Mol. Biol. Rep.* 1: 19-21.
- Fregene M., Okogbenin E., Mba C., Angel F., Suarez M.C., Guitierrez J., Chavarriaga P., Roca W., Bonierbale M. & Tohme J. (2001). Genome mapping in cassava improvement: challenges, achievements and opportunities. *Euphytica.* 120: 159-165.
- Hoang Kim, Nguyen Van Bo, Reinhardt H. & Hernan C. (2008). Current Situation of Cassava in Vietnam and the selection of cassava doubled haploid (DH) lines derived from CIAT. Paper presented at "Cassava meeting the challenges of the new millennium" hosted by IPBO- Ghent University, Belgium 21-25 July 2008.
- Jerome A.H., Martine Z.T., Hermine B.N., Justin S.P., Gilles H.T.C., Sergine E.N. & Joseph M.B.C.A. (2019). Evaluation of resistance to cassava mosaic disease in selected African cassava cultivars using combined molecular and greenhouse grafting tools. *Physiological and Molecular Plant Pathology.* 105: 47-53.
- Okogbenin E., Egesi C.N., Olanmi B., Ogundapo O., Kahya S., Hurtado P., Marin J., Akinbo A.O., Mba C., Gomez H., Vicente C., Baiyeri S., Uguru M., Ewa F. & Fregene M. (2012). Molecular marker analysis and validation of resistance to cassava mosaic disease in elite cassava cultivars in Nigeria. *Crop Sci.* 52: 2576-2586.
- Rwegasira G.M. & Chrissie M.E.R. (2015). Efficiency of non-vector methods of cassava brown streak virus transmission to susceptible cassava plants, *Afr. J. Food Agr. Nut.* pp. 1684-5374.
- Wagaba H., Beyene G., Trembley C., Alicai T., Fauquet C.M. & Taylor N.J. (2013). Efficient transmission of Cassava brown streak disease viral pathogens by chip bud grafting. *BMC Res. Notes.* 6: 516.