

Selection of introduced potato varieties in Thai Nguyen province during 2015 - 2016

Hoang Thi Minh Thu, Duong Thi Thu Huong,
Nguyen Thi Nhung, Tran Ngoc Ngoan

Abstract

Results of VCU study on 8 introduced potato varieties under Winter crop season in Thai Nguyen province during 2015 - 2016 showed that: All 8 potato varieties grew and developed well and were resistant to main pest and diseases in Winter season of 2015 - 2016 in Thai Nguyen province conditions. Among tested varieties, 03 had the highest yield and quality such as KT1 variety with 31.82 tons/ha, 12KT3-1 variety with 28.05 tons/ha and Jelly variety with 28.01 tons/ha. Variety KT1 can be used for both of food and processing purposes, while two other varieties can be used just for food only.

Keywords: Introduced potato variety, high yield, good quality, food, processing

Ngày nhận bài: 10/1/2018
Ngày phản biện: 15/1/2018

Người phản biện: TS. Trịnh Văn Mỹ
Ngày duyệt đăng: 12/2/2018

KHẢO SÁT SỰ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA SÂU KÉO MÀNG (*Hellula undalis*) GÂY HẠI RAU CẢI TẠI ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG BẰNG DẤU PHÂN TỬ ISSR

Trần Thanh Thy¹, Lê Văn Vàng² và Nguyễn Lộc Hiền²

TÓM TẮT

Sâu kéo màng (SKM) hiện là một trong những côn trùng gây hại nghiêm trọng trên cây rau cải họ Brassicaceae ở Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL). Do đó, việc khảo sát sự đa dạng di truyền của quần thể SKM rất quan trọng nhằm làm cơ sở cho việc nghiên cứu biện pháp quản lý dịch hại này hiệu quả. Nghiên cứu thực hiện trên 13 mẫu SKM được thu thập tại 13 tỉnh thuộc ĐBSCL. Sự đa dạng kiểu gen được khảo sát bằng 10 dấu chỉ thị phân tử ISSR. Kết quả cho thấy, trong tổng số 110 băng ADN được khuếch đại từ 10 dấu chỉ thị ISSR có 109 băng đa hình đạt tỷ lệ 98,99%. Phân tích mối quan hệ di truyền dựa vào phương pháp UPGMA đã chỉ ra quần thể SKM nghiên cứu có sự đa dạng về kiểu gen rất cao với hệ số tương đồng trung bình là 0,65. Mười ba mẫu SKM nghiên cứu được chia thành 4 nhóm chính, phần lớn SKM được thu trên cùng cây ký chủ được xếp cùng một nhóm. Kết quả này cho thấy đặc điểm di truyền của quần thể SKM ĐBSCL là khác nhau và cho thấy sự đa dạng di truyền đã chịu ảnh hưởng của cây ký chủ.

Từ khóa: Sâu kéo màng (*Hellula undalis*), rau cải, đa dạng di truyền, ISSR, kiểu hình

ĐẶT VẤN ĐỀ

Rau cải thuộc họ Brassicaceae là loại rau ăn lá dễ trồng, nhanh thu hoạch, được canh tác phổ biến quanh năm trên hầu hết các loại đất và mang lại hiệu quả kinh tế cao. Tuy nhiên, sản xuất rau cải gặp nhiều khó khăn do nhiều loại sâu gây hại như sâu kéo màng, sâu tơ, sâu khoang, bọ nhậy... (Hồ Thị Thu Giang, 2005; Trần Đăng Hòa và *ctv.*, 2013).

Sâu kéo màng (*H. undalis* Fabricius) là dịch hại quan trọng trên cây họ Thập tự (Brassicaceae), phân bố chủ yếu ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới (Waterhouse & Norris, 1989) và cũng được ghi nhận ở các nước ôn đới (Kalbfleisch, 2006). Ngòi *H. undalis* đẻ trứng trên đọt cải non, sâu non nở ra tấn công vào gân đỉnh sinh trưởng làm hư chồi ngọn

của cây (Veenakumari *et al.*, 1995; Sivapragasam & Chua, 1997), đã bùng phát thành dịch và gây thiệt hại lên đến 100% năng suất ở Hawaii, Ấn Độ, Malaysia, Philippines, Đài Loan, Ai Cập, Iraq và Nhật Bản (Kalbfleisch, 2006). Kết quả khảo sát của Tạ Thị Huỳnh Đào và Nguyễn Văn Huỳnh (2008) cho thấy *H. undalis* tấn công được 11 loài cải khác nhau thuộc họ Brassicaceae và 95% nông dân trồng cải ở các huyện Mỹ Xuyên và Kế Sách (Sóc Trăng) sử dụng thuốc trừ sâu hóa học để phòng trị sâu kéo màng. Tuy nhiên, chỉ có 45% nông dân được phỏng vấn cho rằng biện pháp phun thuốc hóa học là có hiệu quả, do sâu ẩn bên trong ổ bằng tơ khó thấm nước. Các nghiên cứu di truyền quần thể là rất quan trọng bởi vì sự biến đổi gene của một loài có liên quan trực tiếp với khả năng chịu được các điều kiện khác nhau

¹ Trường Đại học Cửu Long; ² Trường Đại học Cần Thơ

ở môi trường mới (Barbosa *et al.*, 2014; Zaleski *et al.*, 2013). Trong những năm gần đây, chỉ thị phân tử ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats) đã được sử dụng để nghiên cứu sự đa dạng di truyền cho nhiều sinh vật. ISSR là một loại chỉ thị phân tử sử dụng các đoạn trình tự đơn giản (2-5 nucleotide) được lặp lại nhiều lần. Phương pháp này tương đối đơn giản, dễ thực hiện, chi phí thấp, và phù hợp cho sinh vật có thông tin di truyền còn chưa đầy đủ (Ng và Tan, 2015). Luque và cộng tác viên (2002) đã chứng minh ISSR phù hợp để nghiên cứu sự biến đổi di truyền trong cùng loài và khác loài trong các nhóm côn trùng. Chỉ thị phân tử ISSR đã được sử dụng khá phổ biến trong nghiên cứu đa dạng di truyền ở côn trùng như bộ *Lepidoptera* (Luque *et al.*, 2002), *Diptera* (Chong *et al.*, 2014), *Hemiptera* (Xie *et al.*, 2014), *Neuroptera* (Barbosa *et al.*, 2014), *Coleoptera* (Souza *et al.*, 2015).

Để làm cơ sở cho việc nghiên cứu biện pháp quản lý sâu kén màng trên các loại rau cải, nghiên cứu đánh giá sự đa dạng di truyền của loài *H. undalis* được thu thập tại 13 tỉnh thuộc ĐBSCL đã được thực hiện.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Sâu kén màng, hộp đựng mẫu sâu, thiết bị dùng cho ly trích DNA, điện di và PCR: cân điện tử Adventurer(OHAUS, Mỹ), máy ủ nước nóng WB/OB 7-45 (Mettmert, Đức), Máy ly tâm Mikro 22R (Hettich, Đức), Máy PCR GenAmp PCR system 2007 (Applied Biosystems – Singapore), Lò vi sóng EM - G47758 (SANYO, Nhật), Bộ điện di OWL A2 (Thermo Scientific, Malaysia), Máy đọc gel bằng tia UV (BioBlock Scientific, Pháp), máy ảnh, Tủ lạnh SR-S22TN(S) và tủ lạnh -29°C MDF-135 (SANYO, Nhật)...

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu mẫu sâu kén màng

Thu mẫu ngẫu nhiên 260 ấu trùng SKM tại mỗi địa điểm tương ứng với mỗi tỉnh, thu trên năm loại cải (ký chủ) được trồng phổ biến tại địa phương (tổng cộng 13 tỉnh). Mười ba mẫu SKM được thu thập từ các ruộng cải bị SKM gây hại, gồm 03 mẫu thu tại ruộng cải xanh, 06 mẫu thu tại ruộng cải ngọt, 02 mẫu thu tại ruộng cải tùa xại, 01 mẫu thu tại ruộng cải thìa và 01 mẫu thu tại ruộng cải bắp, được mã hóa theo cây ký chủ và địa phương theo tỉnh. Thời gian thu mẫu từ tháng 1 đến tháng 4/2016. Mười ba mẫu sâu kén màng thu về được quan sát đặc điểm hình thái của sâu.

Bảng 1. Danh sách mẫu SKM được mã hóa theo địa phương

STT	Ký hiệu	Cây ký chủ	Nơi thu mẫu Huyện, Tỉnh/Thành phố
1	AG	Cải xanh	Chợ Mới, An Giang
2	BL	Cải ngọt	Thành phố Bạc Liêu
3	BT	Cải tùa xại	Chợ Lách, Bến Tre
4	CM	Cải xanh	Trần Văn Thời, Cà Mau
5	CT	Cải xanh	Phong Điền, Cần Thơ
6	ĐT	Cải ngọt	Lai Vung, Đồng Tháp
7	HG	Cải tùa xại	Châu Thành, Hậu Giang
8	KG	Cải thìa	Hòn Đất, Kiên Giang
9	LA	Cải ngọt	Mộc Hóa, Long An
10	ST	Cải ngọt	Mỹ Xuyên, Sóc Trăng
11	TG	Cải bắp	Chợ Gạo, Tiền Giang
12	TV	Cải ngọt	Tiểu Cần, Trà Vinh
13	VL	Cải ngọt	Long Hồ, Vĩnh Long

2.2.2. Ly trích ADN

ADN của 13 mẫu SKM được ly trích theo quy trình của Taylor và Powell (1982) được tinh chỉnh theo các bước sau: cân khoảng 20 - 50 mg mẫu SKM, nghiền mịn mẫu với 1000 µl CTAB (2X) đã được ủ nóng ở 65°C trong 15 phút. Sau khi nghiền mịn, mẫu được cho vào tuýp 1,5 ml và thêm 50 µl SDS 10%, 5 µl proteinase K, 10 µl ME trộn đều và ủ 65°C trong 1 giờ (10 phút đảo 1 lần). Sau khi ủ, mẫu được ly tâm 13.000 vòng/phút, phần dung dịch bên trên được chuyển sang tuýp mới. Hỗn hợp mẫu ly trích được làm sạch 2 lần với CI (Chloroform: Isoamylalcohol; 24: 1). Sau đó, mẫu được thêm 5 µl RNase, trộn đều và ủ 37°C trong 1 giờ.

Hỗn hợp mẫu sau khi ủ được làm sạch 1 lần nữa với CI. Tiếp đến thêm isopropanol theo tỷ lệ 1:1 và ủ lạnh (-20°C) trong 30 phút. Hỗn hợp ly trích được ly tâm ở tốc độ 13.000 vòng/phút trong 10 phút, sau khi ly tâm sẽ loại bỏ phần dung dịch bên trên và giữ lại phần tủa ADN. Mẫu ADN tủa được rửa 2 lần trong cồn 70%, sau đó ADN được phơi khô và hòa tan trong 30 µl TE (pH 8.0). Mẫu ADN được trữ ở tủ lạnh -20°C.

2.2.3. ISSR - PCR

Mười ISSR được sử dụng để phân tích, trình tự mỗi được tổng hợp theo Mostafa và cộng tác viên (2011), Latif và cộng tác viên (2013) và Nirmaladevi và cộng tác viên (2016) tại công ty Phusa Biochem (Bảng 2).

Phản ứng PCR được tiến hành trong 20 µl gồm: 2,0 µl buffer (10X), 0,4 µl dNTPs (10 mM), 0,5µl primer ISSR (10 pM), 0,2 µl Taq ADN Polymerase (5U/ µl), 1,0µl ADN (100 ng/µl) và 15,9µl H₂O. Phản ứng PCR được thực hiện qua 40 chu kỳ gia nhiệt trên máy PCR GenAmp PCR system 2007 như sau: 5 phút ở 94°C, 40 chu kỳ gồm 30 giây ở 94°C, 30 giây ở nhiệt độ bắt mỗi (Bảng 2), 72°C trong 40 giây, sau đó là 7 phút ở 72°C và trữ ở 10°C. Sản phẩm

PCR được điện di trong 70 phút với cường độ dòng điện 24V trên gel polyacrylamide 8% trong dung dịch TBE 0,5X bằng bộ điện di CompactPAGE-twin AE-7341. Nhuộm gel với ethidium bromide trong 15 phút (1mg/l), rửa lại với nước rồi đem chụp hình gel bằng máy chụp ảnh trên máy chiếu tia UV. Ghi nhận sự hiện diện của các băng được khuếch đại trên gel polyacrylamide để đánh giá sự đa dạng giữa các mẫu SKM.

Bảng 2. Trình tự mỗi ISSR sử dụng phân tích

STT	Tên mỗi	Nhiệt độ bắt mỗi	Trình tự mỗi
1	ISSR-Bn1	42	5'-TCCTCCTCCTCCTCC-3'
2	ISSR-Bn2	42	5'-CACACACACACAAG -3'
3	ISSR-Bn3	55	5'-AGGTCCAGCAGCAGCAG-3'
4	ISSR-Bb3	55	5'-CACCACCACGC-3'
5	ISSR-Bb5	55	5'-CACACACACACAAG-3'
6	ISSR-Bn6	55	5'-GAGAGAGAGAGAGG-3'
7	ISSR-Bb7	55	5'-GGGCGAGAGAGAGAGAGA-3'
8	ISSR-Bb9	55	5'-GAGAGAGAGAGAGAGAGAC-3'
9	ISSR-Bb10	55	5'-GAGAGAGAGAGAGAGAGAT-3'
10	ISSR-Bb13	55	5'-AGCAGCAGCAGCGT-3'

2.2.4. Phân tích số liệu

Dựa vào phổ điện di, các băng đa hình được nhận diện bằng Gel Analyzer 8% kết quả mã hóa dạng nhị phân, theo nguyên tắc: có băng được khuếch đại là 1 và không có băng được khuếch đại là 0. Kết quả mã hóa dạng nhị phân được sử dụng để phân tích hệ số tương đồng theo phương pháp UPGMA bằng phần mềm NTSYSp 2.0.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

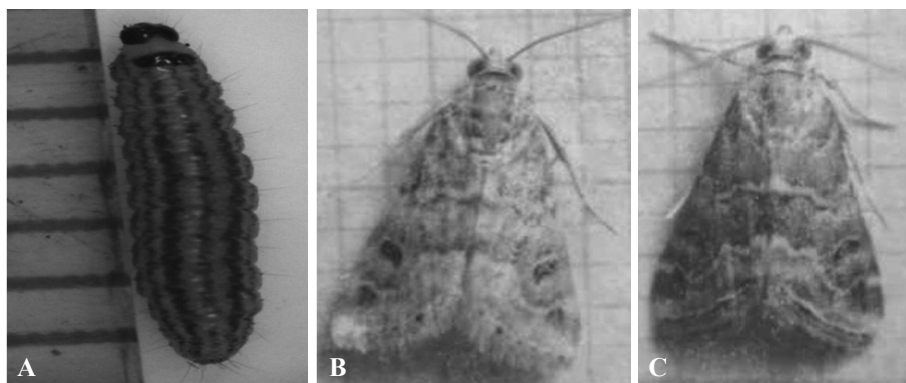
Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 6/2016 - 2/2017 tại phòng thí nghiệm sinh học phân tử Bộ môn Di truyền và chọn giống cây trồng - Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ và Công ty cổ phần Sinh học Phù Sa.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm hình thái

Kết quả thu mẫu sâu kén mang tại 13 tỉnh thuộc ĐBSCL trên 05 cây ký chủ (cải ngọt, cải xanh, cải tùa xại, cải thìa và cải bắp), quan sát về hình thái cho thấy chỉ duy nhất thể hiện một kiểu hình như sau:

- Giai đoạn ấu trùng: Ấu trùng rất giống nhau về hình thái từ tuổi 1 đến tuổi 4, chỉ khác nhau về kích thước, màu sắc, u lông và mảng lưng ngực trên cơ thể. Ấu trùng thon dài hình thoi, đầu và mảng lưng ngực màu đen; có 5 sọc, 1 đường sọc chính giữa lưng và 4 đường sọc xung quanh màu hồng chạy dọc theo thân mình; cơ thể chia thành 13 đốt, ở mỗi đốt có các u lông phân bố ở 2 bên (Hình 1A).



Hình 1. Kiểu hình của *Hellula undalithu* tại tỉnh Vĩnh Long. (A): ấu trùng; (B): thành trùng đục và (C): thành trùng cải

- Giai đoạn thành trùng: Thành trùng đực là loài bướm nhỏ có râu hình sợi chỉ, 2 mắt kép và 2 mắt đơn, đôi cánh trước có màu vàng xám. Cánh trước có những vết xám gợn sóng, cách gốc cánh 1/3 chiều dài có đốm hình quả thận màu xám nhạt, phía cuối rìa cánh có một hàng điểm đen nhỏ. Cánh sau có màu nhạt hơn. Phần bụng con đực thon dài (Hình 1B). Thành trùng cái, cơ bản giống thành trùng đực, chỉ khác đôi cánh có màu xám đậm và có những vết xám đen, đậm màu gợn sóng, phần bụng con cái to tròn và ở đốt bụng cuối con cái nhọn, có một cây kim đẻ trứng đây là đặc điểm quan trọng để phân biệt thành trùng đực và thành trùng cái (Hình 1C).

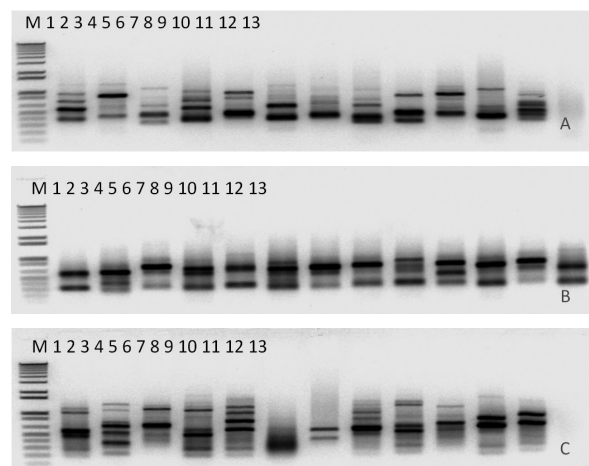
3.2. Sự đa dạng di truyền của 13 mẫu SKM

Sản phẩm khuếch đại của 10 mỗi ISSR đã được

sử dụng trong phản ứng PCR cho 13 mẫu sâu kéo màng được thể hiện ở Bảng 3. Các đoạn mỗi được sử dụng đều cho tỷ lệ băng đa hình rất cao. Kết quả cho thấy tất cả 10 primer đều cho các băng đa hình, tuy nhiên cũng có mẫu không cho sản phẩm khuếch đại ADN (Hình 2C). Hai mỗi ISSR-Bn2 và ISSR-Bn6 cho số băng khuếch đại cao (16 - 18/ mỗi) trong khi hai mỗi ISSR-Bn1 và ISSR-Bn7 số băng khuếch đại ít nhất (7 băng). Có tổng cộng 109/110 băng đa hình chiếm tỷ lệ 98,89%, trung bình $10,9 \pm 3,81$ băng đa hình cho mỗi chỉ thị. Ngoại trừ mỗi ISSR-Bb9 với tỷ lệ đa hình là 88,89% thì 9 mỗi còn lại đều cho tỷ lệ đa hình là 100%. Kết quả này cho thấy chỉ thị phân tử ISSR cũng là một công cụ hữu ích giúp đánh giá nhanh nguồn gen và hỗ trợ hiệu quả cho những nghiên cứu về di truyền quần thể và phân loại nhóm sâu kéo màng gây hại trên rau cải.

Bảng 3. Kết quả phân tích sự đa hình các phân đoạn ADN của 10 chỉ thị ISSR

STT	Tên mỗi	Kích thước (bp)	Tổng số băng	Số băng đa hình	Tỷ lệ băng đa hình (%)
1	ISSR-Bn1	500 - 1500	7	7	100
2	ISSR-Bn2	200 - 1500	16	16	100
3	ISSR-Bn3	550 - 1500	8	8	100
4	ISSR-Bb3	300 - 1200	12	12	100
5	ISSR-Bb5	200 - 1100	12	12	100
6	ISSR-Bn6	200 - 1650	18	18	100
7	ISSR-Bb7	300 - 1200	7	7	100
8	ISSR-Bb9	100 - 1500	9	8	88,89
9	ISSR-Bb10	150 - 850	12	12	100
10	ISSR-Bb13	200 - 1000	9	9	100
<i>Tổng</i>			<i>110</i>	<i>109</i>	
<i>Trung bình</i>			<i>11 ± 3,74</i>	<i>10,9 ± 3,81</i>	<i>98,89</i>



Hình 2. Phổ điện di sản phẩm PCR của 13 mẫu *Hellula undalis* với chỉ thị ISSR-Bn2 (A); ISSR-Bn3 (B); ISSR-Bn6 (C). M: ladder 1 Kb plus (invitrogen, USA); 1-13 mẫu *Hellula undalis* theo thứ tự trong Bảng 1

Mối quan hệ di truyền của 13 mẫu SKM dựa trên chỉ thị phân tử ISSR.

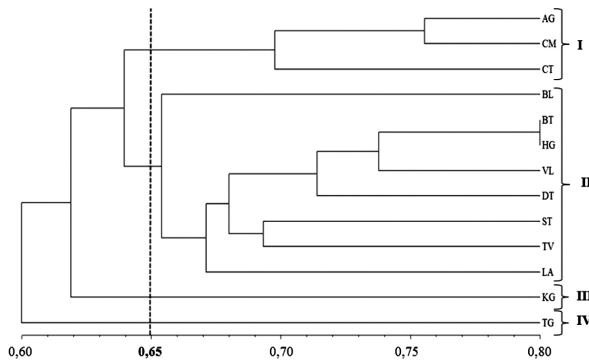
Các kết quả thu thập được bằng chỉ thị phân tử ISSR được tổng hợp và sử dụng phần mềm NTSYSpc 2.0 thực hiện phân tích UPGMA và thiết lập sơ đồ phân nhánh theo hệ số tương đồng để đánh giá mối quan hệ di truyền của 13 mẫu sâu kéo màng. Hệ số tương đồng giữa 13 mẫu sâu kéo màng biến động từ 0,45 đến 0,80 (Bảng 4). Dựa vào kết quả bảng ma trận, sơ đồ phân nhánh thể hiện mối quan hệ di truyền giữa 13 mẫu sâu kéo màng được thiết lập (Hình 3). Ở hệ số tương đồng trung bình 0,65 có thể chia 13 mẫu SKM khảo sát thành 4 nhóm chính. Nhóm I gồm 3 mẫu (AG, CM và CT), sâu kéo màng được thu trên cùng cây ký chủ là cải xanh; nhóm II gồm 8 mẫu (BL, BT, HG, VL, ĐT, ST, TV và LA), sâu kéo màng được thu trên 2 nhóm cây ký chủ là

cải ngọt và cải tùa xại; nhóm III gồm 1 mẫu (KG), sâu kéo màng được thu trên cây ký chủ là cải thìa và nhóm IV gồm 1 mẫu (TG), sâu kéo màng được thu trên cây ký chủ là cải bắp. Nhìn chung, các mẫu

sâu kéo màng được thu thập trên cùng cây ký chủ sẽ được xếp cùng 1 nhóm, ngoại trừ hai mẫu thu trên cải tùa xại (BT và HG) được xếp vào cùng nhóm II với nhóm mẫu khác thu trên cải ngọt.

Bảng 4. Tóm tắt ma trận hệ số tương đồng của 13 mẫu SKM thu thập tại 13 tỉnh ĐBSCL

	AG	BL	BT	CM	CT	ĐT	HG	KG	LA	ST	TG	TV	VL
AG	1,00												
BL	0,63	1,00											
BT	0,65	0,69	1,00										
CM	0,75	0,55	0,65	1,00									
CT	0,68	0,67	0,65	0,71	1,00								
ĐT	0,67	0,66	0,66	0,65	0,66	1,00							
HG	0,66	0,67	0,80	0,65	0,69	0,74	1,00						
KG	0,61	0,56	0,67	0,64	0,53	0,59	0,67	1,00					
LA	0,61	0,64	0,65	0,65	0,64	0,65	0,69	0,62	1,00				
ST	0,58	0,59	0,61	0,63	0,65	0,65	0,74	0,65	0,66	1,00			
TG	0,45	0,59	0,68	0,54	0,55	0,60	0,68	0,59	0,55	0,64	1,00		
TV	0,62	0,63	0,68	0,66	0,66	0,65	0,75	0,61	0,66	0,69	0,56	1,00	
VL	0,55	0,67	0,67	0,58	0,64	0,74	0,80	0,62	0,69	0,68	0,70	0,65	1,00



Hình 3. Sơ đồ phả hệ thể hiện mối tương quan di truyền giữa 13 mẫu SKM tại 13 tỉnh ĐBSCL

Kết quả này cho thấy đặc điểm di truyền của quần thể SKM ở ĐBSCL là có khác nhau và cho thấy sự đa dạng di truyền đã chịu ảnh hưởng của cây ký chủ. Kerdelhué và cộng tác viên (2002) cho rằng có nhiều yếu tố tạo nên sự khác biệt di truyền trong quần thể như khả năng phân tán, sự cách ly địa lý, ảnh hưởng từ môi trường sống hay nguồn thức ăn. Qua đó cho thấy sự tương quan giữa hệ số di truyền và nguồn thức ăn (cây ký chủ) là kết luận được tìm thấy ở nhiều nghiên cứu về đa dạng di truyền ở côn trùng.

KẾT LUẬN

Sự đa dạng di truyền dựa trên chỉ thị phân tử ISSR trong nghiên cứu này đã cho thấy quần thể sâu kéo màng, SKM thu thập từ 13 tỉnh thuộc ĐBSCL

được chia thành 4 nhóm chính dựa theo sơ đồ phả hệ, nhóm I sâu thu trên cải xanh; nhóm II sâu thu trên cải ngọt và cải tùa xại; nhóm III sâu thu trên cải thìa và nhóm IV sâu thu trên cải bắp. Mỗi liên hệ đó phụ thuộc vào loại cây ký chủ và điều kiện sinh thái. Để có thể giúp nghiên cứu sâu hơn về biện pháp quản lý đối tượng sâu hại này trên cây rau cải cũng cần thiết phân tích cấu trúc di truyền của các quần thể sâu kéo màng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tạ Thị Huỳnh Đào và Nguyễn Văn Huỳnh, 2008. Đặc điểm sinh học, khả năng gây hại và phản ứng đối với một số thuốc trừ sâu của sâu kéo màng *Hellula undalis* Fabricius hại cải ở Đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí khoa học*, Đại học Cần Thơ, 9: 77-83.

Hồ Thị Thu Giang, 2005. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học của sâu đục nõn cải *Hellula undalis* Fabricius (Lepidoptera: Pyralidae). Báo cáo Khoa học Hội nghị Côn trùng học Toàn quốc lần 5, Hà Nội, 11-12/4/2005, trang 57- 61.

Trần Đăng Hòa, Nguyễn Minh Hiếu, Nguyễn Cẩm Loan, 2013. Hiệu lực của một số thuốc trừ sâu sinh học và thảo mộc đối với một số loài sâu hại rau cải xanh tại Quảng Bình. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 23/2013: 27-32.

Barbosa, N.C.C, Sérgio de Freitas and Morales, A.C., 2014. Distinct genetic structure in populations of *Chrysoperla externa* Hagen (Neuroptera,

- Chrysopidae) shown by genetic markers ISSR and COI gene. *Revista Brasileira de Entomologia*, 58(2): 203-211.
- Chong, Y.V., Chua, T.H. and Song, B.K.**, 2014. Genetic variations of *Chrysomya megacephala* populations in Malaysia (Diptera: Calliphoridae). *Advances in Entomology*, 2(1): 49-56.
- Kalbfleisch, S.**, 2006. Integrated pest management of *Hellula undalis* Fabricius on Crucifers in Central Luzon, Philippines, with E,E-11,13-hexadecadienal as synthetic sex pheromone. *Department für Pflanzenwissenschaften* 184.
- Kerdelhué, C., Roux-Morabito, G., Forichon, J., Chambon, J., Robert, A., Lieutier, F.**, 2002. Population genetic structure of *Tomicus piniperda* L. (Curculionidae: Scolytinae) on different pine species and validation of *T. destruens* (Woll.). *Molecular Ecology*, 11:483-494.
- Latif, M.A., Rahman, M.M., Ali, M.E., Ashkani, S., Rafii, M.Y.**, 2013. Inheritance studies of SSR and ISSR molecular markers and phylogenetic relationship of rice genotypes resistant to tungro virus. *Comptes Rendus Biologies*, 336: 125-133.
- Luque, C., Legal, L., Staudter, H., Gers, C. and Wink, M.**, 2002. ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) as genetic markers in Noctuids (Lepidoptera). *Hereditas*, 136: 251-253.
- Mostafa, N., Omar, H., Tan, S.G., Napis, S.**, 2011. Studies on the Genetic Variation of the Green Unicellular Alga *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae) Obtained from Different Geographical Locations Using ISSR and RAPD Molecular Marker. *Molecules*, 16: 2598-2608.
- Nirmaladevi, D., Venkataramana, M., Srivastava, R.K., Uppalapati, S.R., Gupta, V.K., Yli-Mattila, T., Tsui, K.M.C., Srinivas, C., Niranjana, S.R., Chandra, N.S.**, 2016. Molecular phylogeny, pathogenicity and toxigenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. *Scientific Reports*, 1-14.
- Ng, W.L. and S.G. Tan**, 2015. Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers. *ASM Science Journal*, 9(1), 30-39.
- Sivapragasam, A., Chua, T.H.**, 1997. Preference for sites within plant by larvae of the cabbage webworm, *Hellula undalis* (Fab.) (Lep., Pyralidae). *J. Appl. Ent.*, 121: 361-365.
- Souza, A. das G.C. de, Sousa, N.R., Fernandes, J. dos S., Pamplona, A.M.S.R., Costa, J.N.M. and Trevisan, O.**, 2015. Genetic diversity of *Conotrachelus humeropicus* Fielder (Coleoptera: Curculionidae) detected by ISSR markers. *Embrapa Amazônia Ocidental*. <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/135688/1/Anais-ISTH-nov-2015-FR063.pdf> (Ngày truy cập: 21/06/2016).
- Veenakumari, K., Mohanraj, P., Ranagnath, H.R.**, 1995. Additional records of insect pests of vegetables in the Andaman Islands (India). *J. Ent. Res.* 19(3): 277-279.
- Xie, J.N., Guo, J.J., Jin D.C. and Wang, X.J.**, 2014. Genetic Diversity of *Sogatella furcifera* (Hemiptera: Delphacidae) in China Detected by Inter- Simple Sequence Repeats. *Journal of Insect Science*. 14(233): 1 - 6.
- Waterhouse, P. H., Norris, K.R.**, 1989. *Hellula* species. Biological Control: Pacific Prospects-Supplement 1. ACIAR Monograph. 12: 77-81.
- Zaleski, S.R.M., Lazzari, S.M.N., Lazzarotto, T.P., Iede, E.T. and Marques, F.A.**, 2013. Genetic structure of populations of *Pissodes castaneus* (De Geer) (Coleoptera, Curculionidae) using amplified fragment length polymorphism. *Revista Brasileira de Entomologia*. 57(4): 405-410.

Genetic diversity of cabbage webworm (*Hellula undalis* Fabricius) on green mustard by using ISSR marker in the Mekong Delta

Tran Thanh Thy, Le Van Vang, Nguyen Loc Hien

Abstract

The cabbage webworm (*Hellula undalis* Fabricius) is an insect causing various problems to green mustards (Brassicaceae) in several provinces in the Mekong Delta of Viet Nam. The genetic diversity was analyzed by using ISSR marker (Inter-simple sequence repeats) as a molecular marker in order to make a specific picture of the population diversity of *Hellula undalis* for further studies. In this research, 13 samples of larvae were collected in 13 provinces in the Mekong Delta. Ten ISSR primers were used in the experiment to identify the genetic diversity. The results included 110 amplified fragments generated by 10 sets of selected ISSR primers, of which 109 fragments were polymorphic (98.99%). Genetic relationship of 13 pests were clustered by UPGMA method to demonstrate the differentiation of all species, showing an extensive average genetic diversity at 0.65. According to the diagram, 13 samples were grouped into four main clusters, the majority of *Hellula undalis* collected on the same host plant were grouped together. This report illustrates the influence of host plant on genetic diversity.

Keywords: Cabbage webworm (*Hellula undalis*), brassicaceae, genetic diversity, ISSR, phenotype

Ngày nhận bài: 13/12/2017

Ngày phản biện: 22/12/2017

Người phản biện: TS. Trần Thị Mỹ Hạnh

Ngày duyệt đăng: 15/1/2017

NGHIÊN CỨU HIỆU ỨNG TĂNG TRƯỞNG CỦA CÂY ỚT XỬ LÝ VỚI PHÂN ĐOẠN OLIGOCHITOSAN CHẾ TẠO BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHIẾU XẠ KẾT HỢP XỬ LÝ HÓA HỌC

Lê Thành Hưng^{1,2}, Lê Quang Luân³, Bùi Văn Lê⁴, Nguyễn Tiến Thắng⁵, Phạm Đình Dũng^{1,6*}

TÓM TẮT

Chitosan có khối lượng phân tử (Mw) 193 kDa và độ deacety 80% được cắt mạch bằng phương pháp chiếu xạ tia gamma Co-60 dạng dung dịch 5% để chế tạo oligochitosan. Chế phẩm oligochitosan có Mw ~ 14,84 kDa chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ kết hợp xử lý H₂O₂ được sử dụng để tách và thu nhận 2 phân đoạn oligochitosan có Mw khác nhau (F₂: Mw~1-3 kDa và F₃: Mw~3-10 kDa) để khảo sát hiệu ứng tăng trưởng và năng suất trên cây ớt chỉ thiên (*Capsicum frutescens* L.). Kết quả thử nghiệm về tác dụng kích thích nảy mầm cho thấy tất cả các loại oligochitosan chế tạo được đều có tác dụng làm tăng tỷ lệ nảy mầm khi xử lý hạt giống trước khi gieo. Kết quả cho thấy các phân đoạn F₂ và F₃ có Mw ~ 1-10 kDa có tác dụng làm gia tăng sinh khối tươi (4,5 - 38,3%), chiều cao cây (7,7 - 34,6%), đường kính thân (3,4 - 8,7%) và hàm lượng chlorophyll (33,7 - 82,3%). Ngoài ra, khi xử lý phun các phân đoạn F₂ và F₃ có Mw ~ 1-10 kDa có tác dụng làm gia tăng năng suất từ 9,0 đến 11,4% so với đối chứng. Như vậy, các phân đoạn oligochitosan có Mw ~ 1-10 kDa hứa hẹn là một sản phẩm có nguồn gốc tự nhiên, an toàn và hiệu quả cao để tăng năng suất và chất lượng quả ớt.

Từ khóa: Cây ớt, chiếu xạ, năng suất, oligochitosan, phân đoạn, tăng trưởng

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chitosan là một polymer sinh học có nguồn gốc tự nhiên được cấu tạo từ các đơn phân β-D-glucosamine và β-N-acetyl-glucosamine (Luan *et al.*, 2005). Chitosan có thể được thu nhận từ vỏ các động vật giáp xác như tôm, cua hoặc các loại côn trùng (Sugiyama *et al.*, 2001).

Chitosan là một hợp chất được ứng dụng nhiều trong nông nghiệp để bảo vệ cây trồng chống lại các yếu tố stress sinh học và phi sinh học (Guan *et al.*, 2009) và kích thích tăng trưởng thực vật (Farouk *et al.*, 2008 và 2011). Oligochitosan còn được ứng dụng như là một chất kích kháng tự nhiên trên thực vật có tác dụng hỗ trợ tăng cường khả năng tự kháng bệnh của cây trồng (Luan *et al.*, 2006). Ngoài ra, oligochitosan còn được sử dụng trên cây trồng để cải thiện sự tăng trưởng, cải thiện chất lượng trái của nhiều loại cây trồng (Farouk *et al.*, 2008; Ghoname *et al.*, 2010). Bittelli và cộng tác viên (2001) cho thấy khi sử dụng chitosan và oligochitosan bằng cách phun qua lá đã làm giảm sự thoát hơi nước của cây trồng do đó làm giảm lượng nước sử dụng trong khi đó vẫn đảm bảo được năng suất cây trồng. Gần đây, Sheikh và Al-Malki (2011) cũng cho thấy rằng oligochitosan làm gia tăng chiều dài quả, trọng lượng tươi và khô, tăng số lá và hàm lượng diệp lục tố. Thêm vào đó, Luan và cộng tác viên (2006) cũng

đã cho thấy các phân đoạn oligochitosan có Mw ~ 1-10 kDa có hoạt tính tăng trưởng và hiệu ứng kích kháng cao hơn so với các phân đoạn khác. Để chế tạo oligochitosan, chiếu xạ được cho là phương pháp hiệu quả nhất hiện nay do có nhiều ưu điểm hơn các phương pháp sử dụng enzyme hay các tác nhân hóa học (Kume *et al.*, 2002). Mặc dù vậy, gần đây phương pháp chiếu xạ kết hợp xử lý hydrogen peroxide trong cắt mạch các polysaccharide tự nhiên đã có tác dụng làm giảm một đáng kể liều chiếu xạ (Luan *et al.*, 2012; Duy *et al.*, 2011) và do đó đã làm giảm chi phí chiếu xạ và hạ giá thành sản phẩm. Mục đích của nghiên cứu này là nghiên cứu hiệu ứng tăng trưởng và khả năng cải thiện năng suất của các phân đoạn oligochitosan có khối lượng phân tử thấp (Mw ~ 1-10 kDa) chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ kết hợp xử lý H₂O₂ trên cây ớt nhằm tiến tới ứng dụng trong nông nghiệp để cải thiện năng suất và chất lượng nông sản.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chitosan 8B có độ deacetyl khoảng 80% của hãng Katitokichi, Nhật Bản. Nguồn xạ tia gamma GC-5000, BRIT, Ấn Độ tại Viện Nghiên cứu Hạt nhân Đà Lạt. Giống ớt thí nghiệm là ớt chỉ thiên TN278 (*Capsicum frutescens* L.) do Công ty Trang Nông cung cấp.

¹ Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nông nghiệp Công nghệ cao TP. HCM

² Bộ môn Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Nông Lâm TP. HCM

³ Trung tâm Công nghệ Sinh học TP. HCM

⁴ Trường Đại học Khoa học Tự nhiên TP. HCM; ⁵ Viện Sinh học Nhiệt đới TP. HCM

⁶ Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam