

BỘ KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

BỘ NÔNG NGHIỆP & PTNT

**VIỆN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP VIỆT NAM
VIỆN BẢO VỆ THỰC VẬT**

BÁO CÁO TỔNG KẾT
KẾT QUẢ THỰC HIỆN ĐỀ TÀI ĐỘC LẬP CẤP NHÀ NƯỚC

ĐỀ TÀI:

**NGHIÊN CỨU ĐẶC TÍNH SINH HỌC CỦA VI RÚT GÂY BỆNH
VÀNG LÙN, LÙN XOẮN LÁ CÁC BIỆN PHÁP QUẢN LÝ TỔNG
HỢP CÂY TRỒNG (ICM) TRONG SẢN XUẤT LÚA**

Chủ nhiệm đề tài: TS Nguyễn Như Cường

BỘ KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

BỘ NÔNG NGHIỆP & PTNT

VIỆN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP VIỆT NAM

VIỆN BẢO VỆ THỰC VẬT

BÁO CÁO TỔNG HỢP

KẾT QUẢ THỰC HIỆN ĐỀ TÀI ĐỘC LẬP CẤP NHÀ NƯỚC

ĐỀ TÀI:

NGHIÊN CỨU ĐẶC TÍNH SINH HỌC CỦA VI RÚT GÂY BỆNH
VÀNG LÙN, LÙN XOẮN LÁ CÁC BIỆN PHÁP QUẢN LÝ TỔNG
HỢP CÂY TRỒNG (ICM) TRONG SẢN XUẤT LÚA

Chủ nhiệm đề tài: TS Nguyễn Như Cường

DANH MỤC TÀI LIỆU

1. Danh sách những người thực hiện của đề tài KH&CN cấp nhà nước
2. Báo cáo thống kê và Danh mục sản phẩm KHCN của đề tài
3. Báo cáo tổng kết kết quả đề tài

DANH SÁCH NHỮNG NGƯỜI THỰC HIỆN CỦA ĐỀ TÀI KH & CN CẤP NHÀ NƯỚC

1. Tên đề tài:

“Nghiên cứu đặc tính sinh học của vi rút gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá các biện pháp quản lý tổng hợp cây trồng (ICM) trong sản xuất lúa.

2. Thuộc chương trình: Độc lập cấp nhà nước

3. Thời gian thực hiện: 3.5 năm (08/2007 – 08/2010)

4. Cơ quan chủ trì: Viện Bảo vệ thực vật

5. Bộ chủ quản: Bộ Nông Nghiệp và PTNT

6. Danh sách những người thực hiện

TT	Học hàm, học vị, họ và tên	Chữ ký
1	TS. Nguyễn Như Cường	
2	Ths. Đặng Thị lan Anh	
3	TS. Ngô Vĩnh Viễn	
4	PGS.TS. Phạm Thị Vượng	
5	TS. Nguyễn Trường Thành	
6	Ths. Tạ Hoàng Anh	
7	TS. Nguyễn Thị Lộc	
8	PGS.TS. Lê Trần Bình	
9	TS. Nguyễn Trung Nam	

Chủ nhiệm đề tài
(Họ, tên và chữ ký)

Thủ trưởng tổ chức chủ trì đề tài
(Họ, tên, chữ ký và đóng dấu)

MỞ ĐẦU

Năm 2006 dịch rầy nâu, bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá đã phát sinh, gây thiệt hại nặng trên diện rộng thuộc 22 tỉnh và thành phố ở Đồng bằng sông Cửu Long, Đông Nam bộ, Nam Trung bộ và Tây Nguyên. Theo tổng kết của Cục BVTV trong vụ Hè- Thu 2006 và Đông –Xuân 2006-2007 diện tích bị nhiễm rầy ở các tỉnh Nam bộ là 731,092 ha, trong đó diện tích nhiễm nặng là 67,238 ha, bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá có diện tích nhiễm lên tới 237,466 ha, diện tích nhiễm nặng là 118,021 và bị tiêu hủy là 35,982 ha [1]. Trước tình hình trên, Thủ tướng chính phủ đã có chỉ thị số 30/2006/CT-TTg ngày 11/8/2006, công điện số 1680/CD –TTg ngày 19/10/2006 gửi chủ tịch UBND các tỉnh, thành phía Nam, Bộ Nông nghiệp và PTNT về việc áp dụng các biện pháp phòng chống dịch rầy nâu, bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá; Quyết định số 1459/QĐ- TTG ngày 7/11/2006 về chính sách hỗ trợ phòng trừ, dập dịch rầy nâu, bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá đối với các tỉnh phía Nam, Bộ Nông nghiệp và PTNT đã thành lập ban chỉ đạo quốc gia phòng chống bệnh vàng lùn, lùn xoắn và rầy nâu.

Trước những vấn đề cấp bách trên Bộ Khoa học và Công Nghệ đã giao Viện Bảo vệ Thực vật thực hiện đề tài độc lập cấp nhà nước “ Nghiên cứu đặc tính sinh học của vi rút gây bệnh và môi giới truyền bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá, các biện pháp quản lý tổng hợp cây trồng (ICM) trong sản xuất lúa “ thực hiện tại những vùng trọng điểm dịch các tỉnh Nam bộ, Duyên Hải Nam Trung bộ và các vùng trồng lúa khác trong cả nước, các nội dung chính không được trùng với các đề tài đã được bộ Nông nghiệp và PTNT giao cho các đơn vị trực thuộc thực hiện. Từ kết quả nghiên cứu của đề tài, năm 2010 Viện Bảo vệ thực vật đã đề xuất “Quy trình quản lý tổng hợp cây lúa (ICM) được ứng dụng xây dựng mô

hình” và được hội đồng khoa học cấp cơ sở thông qua và cho phép ứng dụng.

Báo cáo này tập hợp kết quả từ các nội dung nghiên cứu của đề tài trong những năm 2007 đến nay, kết quả nghiên cứu này đã góp phần làm cơ sở cho một biện pháp chủ động hơn trong việc khống chế tác hại do bệnh vi rút lúa vàng lùn và bệnh lùn xoắn lá do rầy nâu là môi giới truyền bệnh.

CHƯƠNG 1: NHỮNG NGHIÊN CỨU VỀ VIRUS HẠI LÚA

1.1. Những nghiên cứu về virus, bệnh virus và môi giới ở nước ngoài

1.1.1. Những nghiên cứu về bệnh virus hại lúa ở nước ngoài

Trong khoảng 30 năm trước đây, bệnh virus hại lúa chưa đóng vai trò quan trọng trong sản xuất lúa, đặc biệt là các nước trồng lúa thuộc châu Phi. Tuy nhiên, cùng với sự bùng phát của nhiều loài dịch hại, trong đó có một số loài là môi giới truyền bệnh virus, các bệnh do virus gây ra trên cây lúa ngày càng trở lên quan trọng, và đã gây thiệt hại rất lớn cho nghề sản xuất lúa gạo thế giới. Hiện nay, người ta đã ghi nhận có trên 30 loài virus gây bệnh trên cây lúa thuộc châu Phi, châu Á, châu Mỹ La tinh, và Mỹ, trong đó chỉ có 5 bệnh virus được ghi nhận xuất hiện ở châu Phi là *Rice stripe necrosis virus* (RSNV), *Rice crinkle disease*, *Maize streak virus* (MSV), *African cereal streak virus* (ACSV) và *Rice yellow mottle virus* (RYMV)[12]. Tuy nhiên, một số virus chỉ được ghi nhận xuất hiện trên cây lúa ở các phản ứng thử trong phòng thí nghiệm như *Sugarcane polyvirus*, *Maize dwarf mosaic virus*, *Maize rough dwarf virus*, *Brome mosaic virus*, *Ryegrass mosaic virus*, *Barley stripe mosaic virus*, *Barley yellow dwarf virus*, *Oat pseudorosette virus* và *Wheat streak mosaic virus*, đại đa số virus còn lại là tác nhân gây bệnh virus, có tới 26 virus gây bệnh và làm thiệt hại đến năng suất lúa [13], [18], [28]. Các virus này đều đều được truyền bởi một số nhóm côn trùng như nhóm sâu hại thân, lá, bộ cánh cứng, rệp, bọ xít và nấm như (*Polymyxa graminis*). Một số ít loài còn lại được truyền bởi vết xây xát do các va chạm cơ giới và qua đất, có 2 loại virus được truyền qua hạt giống là *Rice wrinkled stunt* và *Rice witches broom* [12]. Trong các loại bệnh gây ra do virus có 3 bệnh có quan trọng nhất và phổ biến nhất là bệnh Tungro, bệnh vàng lùn và bệnh lùn xoắn lá

- Bệnh virus lúa vàng lùn (Rice Grassy stunt virus- RGSV)

Bệnh có mặt và gây hại nghiêm trọng ở các nước trồng lúa ở Nam và Đông Nam Á, Trung Quốc, Nhật Bản, Đài Loan, bệnh đã thành dịch và gây hại nghiêm trọng ở Indonesia 1970-1977, Philippines 1973-1977 và 1982-1983 [22][24], Ấn Độ 1972-1974 và 1981, 1984[31] và Nhật Bản [26]

Virus gây bệnh là một thành viên thuộc nhóm tenuivirus, tiểu thể virus có dạng sợi vòng, rộng 6-8 nm, tạo nên bởi đến 4 phân tử mạch đơn RNA mang điện dương và âm, vỏ bọc protein và enzym tái tổ hợp RNA polymerase. Vi rút lúa cỏ có quan hệ huyết thanh xa với virus lúa sọc (Rice Stripe Virus- RSV).

Virus RGSV do rầy nâu (*Nilaparvata lugens*) và 2 loại rầy khác (*Nilaparvata bakeri*, *Nilaparvata muiri*) là môi giới truyền bệnh và truyền theo kiểu bền vững [23][24], virus sẽ được nhân sinh khối trong cơ thể rầy sau khi rầy trích hút cây lúa bệnh song không truyền qua trứng, nhìn chung các cá thể rầy nhiễm virus RGSV có vòng đời ngắn hơn, khả năng phát dục kém hơn so với rầy không mang bệnh [25][29].

Virus RGSV trong tự nhiên chỉ thấy trên cây lúa, trên các giống lúa kháng rầy nâu đã được sử dụng phổ biến ở châu Á, tỷ lệ nhiễm bệnh là rất thấp đến không nhiễm. Tuy nhiên, quần thể rầy nâu sẽ có thể vượt qua được tính kháng ấy của giống, chỉ sau 1 vài năm sử dụng rộng rãi, khả năng kháng rầy của giống lúa đó sẽ bị giảm giảm dần hoặc bị phá vỡ. Khi quần thể rầy nâu đã gia tăng số lượng, trích hút và trú ngụ trong ruộng lúa, mặc dù có mang gene kháng bệnh, thì giống lúa ấy cũng không còn thể hiện tính kháng vì rút lúa cỏ nữa và triệu chứng lúa cỏ lúc đó sẽ thậm chí biểu hiện rất nặng trên đồng ruộng. Ở một số nước khí hậu á nhiệt đới, đã có rất nhiều giống lúa kháng bệnh mang gene kháng virus lúa cỏ được chọn tạo từ một dòng lúa đại *Oryza nivara* [22]

- Bệnh virus lúa lùn xoắn lá (*Rice ragged stunt virus- RRSV*)

Bệnh LXL được ghi nhận đầu tiên năm 1977 ở Indonesia, Malaysia, Philippines và Thái Lan, năm 1978 bệnh xuất hiện và gây hại ở Trung Quốc, Ấn Độ và Srilanka [20] và Đài Loan [15] và năm 1979 ở Nhật Bản [33]. Nguồn gốc xuất hiện của virus LXL vẫn chưa rõ ràng. ở các nước đã bị hại, virus LXL thường rất nhanh hình thành dịch. Ở những vùng nhiệt đới, mật độ quần thể rầy nâu hay tăng cao bất thường dẫn tới hiện tượng lúa lùn xoắn lá bùng phát thành dịch ở nhiều nước trong khu vực này vào những năm cuối thập kỷ 70 [17].

Vi rút lúa lùn xoắn lá (RRSV) thuộc nhóm Oryzavirus, họ Reoviridae, tiểu thể vi rút có dạng hình đa diện, đường kính 50 nm, bộ gene gồm 10 phân tử RNA mạch kép với 5 protein chính. Virus RRSV do rầy nâu (*Nilaparvata lugens*) và 2 loại rầy khác (*Nilaparvata bakeri*, *Nilaparvata muiri*) là môi giới truyền bệnh và truyền theo kiểu bền vững [24] [32], virus sẽ được nhân sinh khối trong cơ thể rầy sau khi rầy trích hút cây lúa bệnh song không truyền qua trứng. Trong tự nhiên sự lây nhiễm trên cỏ dại và các loại ngũ cốc khác là không đáng kể hoặc không quan sát thấy [20] [32].

- Bệnh virus Tungro hại lúa (Rice tungro virus disease)

Bệnh gây hại ở nhiều nước khác nhau: Philippines, Indonesia, Malaysia, Thái lan, ấn Độ.... Nhiều nhà nghiên cứu cho rằng bệnh xuất hiện khá sớm vào năm 1941 tại Philippines.

Nguyên nhân gây bệnh là do sự tổ hợp của virus tungro hình nhộng (Rice tungro bacilliform virus- RTBV) thuộc nhóm Badnavirus và virus tungro hình cầu (Rice tungro spherical virus RTSV) thuộc nhóm Waikavirus [21].

Môi giới truyền bệnh là Rầy xanh đuôi đen *Nephotettix malayanus*, *N. nigropictus*, *N. parus*, *N. virescens*, và truyền theo cơ chế bán bền vững, *N.*

virescens đóng vai trò quan trọng nhất trong việc lan truyền bệnh. Rầy điện quang, có thể mang mầm bệnh nhưng không truyền qua trứng [21].

Nguyên nhân của sự bùng phát và gây hại của các loài virus gây bệnh hại lúa trong những năm gần đây được xác định bởi rất nhiều nguyên nhân trong đó bao gồm một số nguyên nhân quan trọng sau[12],[14]:

Có sự thay đổi lớn lao về các kỹ thuật canh tác lúa như sử dụng các giống cải tiến miễn cảm với dịch hại, sử dụng quá mức của các loại thuốc trừ sâu, phân hóa học dẫn tới sự thay đổi của hệ thống canh tác làm tổn hại đến điều kiện sinh thái tự nhiên của cây trồng, côn trùng và virus.

Do nhu cầu lương thực cùng với sự cải thiện của hệ thống tưới tiêu đã góp phần tăng số vụ/năm dẫn đến khoảng cách giữa các vụ bị thu hẹp, mặt khác do hệ thống tưới tiêu hoàn thiện đã làm tăng sự sống sót của các loài sâu, bệnh và cỏ dại trong đó có virus, và các loài môi giới của chúng.

- Sử dụng quá mức, không đúng cách các loại thuốc trừ sâu đã làm ảnh hưởng đến các loại thiên địch, tăng khả năng chống chịu và tái phát quần thể từ đó dẫn đến sự bùng phát của một số loài sâu hại và sự tồn tại của virus

- Một số virus (*Rice hoja blanca virus*) và nhiều môi giới có thể được lan truyền nhờ gió từ các vùng bị nhiễm bệnh đến các vùng mới

- Trong quá trình canh tác, gieo trồng đã tạo ra các vết thương cơ giới bởi con người, động vật, công cụ sản xuất đã tạo cơ hội cho sự lây lan của một số loài virus

- Đa số các virus truyền qua hạt giống đều có thể tồn tại cùng với hạt giống.

1.1.2. Những nghiên cứu về môi giới truyền bệnh

Bệnh do virus gây hại hiện nay chưa có thuốc đặc trị, biện pháp phòng chống chính là hạn chế ở mức thấp nhất có thể sự xâm nhập và truyền bệnh của môi giới ở giai đoạn mẫn cảm của cây trồng với bệnh bằng các biện pháp canh tác hợp lý và sử dụng thuốc hóa học để phòng trừ môi giới. Do vậy, việc nghiên cứu xác định môi giới, qui luật phát sinh phát triển và các biện pháp phòng trừ chúng đã được nhiều tác giả tập trung nghiên cứu.

Môi giới truyền bệnh của virus gây bệnh hại lúa có 9 nhóm chính (xem bảng 1)[12]

Môi giới truyền bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá ở được xác định là nhóm rầy thân bao gồm *N. lugens*, *N. Bakeri*, *N. Muiri* trong đó rầy nâu là môi giới quan trọng nhất và truyền theo cơ chế bền vững [20], [24], [25], [26], [27], [29], [30], [31].[32]. Rầy nâu (*Nilaparvata lugens* Stal) thuộc giống *Nilaparvata*, họ Delphacidae, bộ Homoptera, chúng đã được ghi nhận ở hầu hết các nước trồng lúa như Ấn Độ, Sri Lanka, Bangladesh, Nepal, Cam Phu Chia, Thái Lan, Việt Nam, Trung Quốc, Đài Loan, Malaysia, Indonesia, Hàn Quốc, Nhật Bản, Philippin, các quốc đảo vùng Thái Bình Dương như Masiana, Solomon, Fiji, New Guinea.

Bảng 1.1. Véc tơ truyền bệnh virus hại lúa

STT	Véc tơ truyền bệnh	Nhóm virus được truyền
1	Nhóm sâu hại thân	<i>Rice black streaked dwarf fiji virus, Rice grassy stunt tenuivirus, Rice họa Blanca tenuivirus, Rice ragged stunt phytoreovirus, Rice stripe tenuivirus, Rice wilted stunt virus, Southern rice black streaked dwarf virus</i>
2	Nhóm sâu hại lá	<i>Rice bunchy stunt phytoreovirus, Rice dwarf phytoreovirus, Rice gall dwarf phytoreovirus, Rice transitory yellowing rhabdovirus, Maize streak geminivirus strain A, Rice orange leaf virus, Rice waika machlovirus, Rice tungro badnavirus, Rice tungro helper machlovirus, African cereal streak virus</i>
3	Nhóm bộ cánh cứng (Chrysomelidae và Phytophagus Coccinelidae)	<i>Rice yellowing motle sobemovirus</i>
4	Nhóm rệp	<i>Rice guilame luteovirus</i>
5	Nấm (<i>Polymyxa graminis</i>)	<i>Rice necrosis mosaic luteovirus, Rice stripe necrosis luteovirus</i>
6	Bọ xít	<i>Rice chlorotic streak virus</i>
7	Đất	<i>Rice crinkle virus disease</i>
8	Hạt giống	<i>Rice wrinkled stunt disease, withes' broom disease</i>
9	Cơ giới, tiếp xúc	<i>Rice mosaic virus, Rice yellow motle sobemovirus</i>

Trước những năm 1960 rầy nâu chỉ là đối tượng dịch hại thứ yếu, trong thập niên 60 và 70 của thế kỷ 20 khi cuộc “cách mạng xanh” diễn ra thì rầy nâu đã trở thành đối tượng gây hại quan trọng bậc nhất tại các nước sản xuất lúa,

trong giai đoạn 1966 – 1975 thiệt hại do rầy nâu gây ra (thiệt hại do rầy nâu và bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá do rầy nâu là môi giới) cho các nước châu Á ước tính khoảng 300 triệu USD [17].

Rầy nâu được các nước trồng lúa như Nhật Bản, Hàn Quốc, Trung Quốc... đặc biệt là IRRI tập trung nghiên cứu khá đầy đủ và có hệ thống các đặc điểm sinh học, sinh thái, sự di cư, nhập cư, biến động quần thể, các biện pháp canh tác nhằm hạn chế quần thể rầy nâu cũng như các biện pháp phòng trừ bằng hóa học, sinh học, trong đó việc nghiên cứu chọn tạo và sử dụng giống chống chịu rầy nâu đã được đặc biệt tập trung.

Các kết quả nghiên cứu đã khẳng định rầy nâu là môi giới chính, quan trọng nhất truyền bệnh vàng lùn xoắn lá hại lúa, virus xâm nhập vào cơ thể rầy bằng cách theo dịch cây khi rầy chích hút cây bệnh. Virus được nhân sinh khối trong cơ thể rầy và virus được truyền theo cơ chế bền vững, virus không truyền qua trứng [23], [24], [32]. Rầy nâu nhiễm virus có vòng đời ngắn hơn và khả năng phát dục kém hơn so với rầy không mang bệnh [25]. Có thể tạo nên một quần thể rầy nâu có khả năng truyền bệnh yếu hơn bằng cách cho rầy nhiễm virus giao phối với rầy khỏe [25].

1.1.3. Nghiên cứu về phòng trừ

Phòng trừ bệnh virus khi bệnh đang bùng phát cũng như chiến lược phòng trừ bệnh virus hại lúa đã được một số tác giả khuyến cáo, ” không một phương pháp phòng trừ nào có thể giữ cho cây trồng hoàn toàn tránh khỏi sự xâm nhiễm của virus và rất nhiều biện pháp có thể thực hiện như là những giải pháp kinh tế” [19].

Trong điều kiện dịch bệnh virus đang phát triển thì việc sử dụng thuốc trừ sâu phòng trừ môi giới có thể được coi là một biện pháp ưu tiên cho việc ngăn

chặn sự lan truyền và giảm thiệt hại của virus với cây trồng, tuy nhiên việc sử dụng một cách thái quá thuốc hóa học sẽ có tác dụng ngoài mong muốn với bệnh virus [34].

Chiến lược phòng trừ bệnh virus đã được đưa ra như sau [12]:

- Dự đoán xu hướng lan truyền của virus trên đồng ruộng
- Hiểu được sự đa dạng của kháng huyết thanh, cấu tạo phân tử, và đặc điểm sinh học của virus gây bệnh
- Nghiên cứu sự xuất hiện và biến động quần thể của môi giới
- Nghiên cứu xác định các loài môi giới khác ngoài môi giới chính
- Đánh giá, xác định và chuyển những gen kháng virus cho giống được trồng ở vùng trọng điểm bệnh
- Tăng cường nghiên cứu và kế thừa những nghiên cứu về tính kháng của cây trồng với virus, xây dựng bản đồ gen của cây trồng
- Đánh giá tác hại kinh tế của virus
- Điều tra đánh giá các yếu tố môi trường và sự thay đổi các kỹ thuật canh tác ảnh hưởng tới bệnh virus.
- Điều tra sự tồn tại của virus trên đồng ruộng
- Cần có một chiến lược quản lý dịch hại phù hợp, bền vững.

1.2. Những nghiên cứu về virus, bệnh virus và môi giới hại lúa trong nước

1.2.1. Nghiên cứu về bệnh virus

Hiện nay, nước ta đã ghi nhận được 5 loại bệnh do virus gây ra là bệnh Tungro (Rice tungro virus disease), [9], bệnh vàng lùn (Rice grassy stunt virus) [29], bệnh lùn xoắn lá (Rice ragged stunt virus) [8], bệnh vàng lá di động (Rice transitory yellowing virus) [9] và bệnh lùn sọc đen phương Nam (Southern rice

black streaked dwarf virus) [10].

- Sự phân bố của các bệnh virus hạt lúa ở nước ta như sau:

- + Bệnh Tungro được ghi nhận xuất hiện từ Khánh Hòa trở vào
- + Bệnh Vàng lá di động: từ các tỉnh khu 4 cũ trở ra
- + Bệnh lùn sọc đen phương Nam xuất hiện từ Quảng Ngãi trở ra
- + Bệnh vàng lùn từ Ninh Thuận, Bình Thuận trở vào các tỉnh Đông Nam bộ, Tây Nam bộ và Tây Nguyên
- + Bệnh vàng lùn từ Ninh Thuận, Bình Thuận trở vào các tỉnh Đông Nam bộ, Tây Nam bộ và Tây Nguyên

Tất cả các bệnh virus có mặt ở Việt Nam đều gây hại nghiêm trọng cho các vùng sản xuất mà bệnh xuất hiện. Bệnh lùn xoắn lá trong 2 năm 1977-1978 bệnh gây hại trên 40 000 ha thuộc các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long[8], từ năm 2006 - đến nay bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá xuất hiện và gây hại ở 22 tỉnh thành phố thuộc đồng bằng sông Cửu Long, Đông Nam bộ và Tây Nguyên với diện tích nhiễm bệnh ở vụ Hè –Thu 2006 và Đông –Xuân 2006-2007 lên tới 237, 466 ha [1]. Bệnh lùn sọc đen phương Nam xuất hiện và gây hại nặng vụ Hè Thu 2009 từ ở Các tỉnh từ Nghệ An trở ra với tổng diện tích nhiễm lên tới trên 40 000 ha và xấp xỉ 20 000 ha gần như mất trắng.

Nhìn chung, các nghiên cứu chuyên sâu về đặc điểm sinh học, sinh học phân tử của các virus RRSV, RGSV ở nước ta không nhiều, có một số tác giả đã tách dòng và xác định được trình tự gen CP của các chủng RGSV, đưa ra qui trình RT-PCR và cặp mồi RGSV-NCP-F và RGSV-NCP-R đặc hiệu cho gen NCP của virus RGSV và phân tích đa dạng di truyền của gen NCP các mẫu RGSV tại các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long [4], nghiên cứu về quan hệ di truyền của các chủng RGSV ở các tỉnh Nam Trung bộ với các chủng RGSV tại

các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long [6]. Tiến hành tách thành công các dòng và phân tích tính đa dạng di truyền của các chủng virus RRSV giữa các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long với nhau, kết quả cho thấy các chủng RRSV ở Việt Nam có sự tương đồng rất chặt chẽ và khá giống với các chủng RRSV của Thái Lan và Philippine[5], các kết quả nghiên cứu đã xác định được sự có mặt của virus RGSV trong cơ thể rầy nâu [7]. Môi giới truyền bệnh là rầy nâu, cơ chế truyền bệnh theo cơ chế bền vững, thời gian ủ bệnh trong cơ thể rầy trung bình từ 7-10 ngày [10].

1.2.2. Nghiên cứu về môi giới

Các nghiên cứu về rầy với vai trò gây hại trực tiếp như: Nghiên cứu đặc điểm sinh học, sinh thái của nhóm rầy hại thân, đánh giá tính kháng của giống, diễn biến quần thể trên đồng ruộng được nghiên cứu khá đầy đủ. Tuy nhiên, nghiên cứu rầy với vai trò là môi giới truyền bệnh còn ít được quan tâm, một số nghiên cứu gần đây đã xác định rầy lưng trắng (*Sogatella furcifera*) là môi giới truyền bệnh lùn sọc đen phương Nam ở Việt nam, trong khi đó rầy nâu nhỏ (*Laodelphax striatellus*) là môi giới chính truyền bệnh này ở Trung Quốc thì chưa ghi nhận được sự truyền bệnh ở Việt Nam [2]. Mặt khác, một số tác giả cũng đã nghiên cứu ảnh hưởng của thức ăn nhiễm virus RRSV, RGSV tới phát dục của rầy nâu, kết quả cho thấy rầy được nuôi trên thức ăn nhiễm virus RRSV, RGSV có vòng đời ngắn hơn, khả năng đẻ trứng, tỷ lệ trứng nở thấp hơn so với rầy nuôi trên thức ăn sạch bệnh [3].

1.2.3. Nghiên cứu về phòng chống bệnh virus và môi giới

Các biện pháp phòng chống rầy nâu với vai trò gây hại trực tiếp đã được nghiên cứu khá đầy đủ và rất nhiều biện pháp phòng chống chúng hiệu quả đã được đưa ra như sử dụng giống chống chịu, cấy thưa, bón phân cân đối, bảo vệ

quần thể thiên địch, sử dụng thuốc hóa học theo nguyên tắc 4 đúng...

Mặt khác, các biện pháp phòng chống bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá cũng đã được nghiên cứu và khuyến cáo một số biện pháp phòng chống như sử dụng một số giống có khả năng kháng với rầy nâu như OM 4900, OM 6073 và OM 6162. Trong các vùng diễn ra dịch rầy nâu, bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá hoặc vùng có nguy cơ cao thì cần tập trung các biện pháp bảo vệ cây lúa giai đoạn sạ đến 30 ngày sau sạ thông qua việc vệ sinh đồng ruộng, sạ tập trung, né rầy, sử lý hạt giống bằng các loại thuốc: Cruiser plus 312.5FS, Enaldo 40FS và Gaucho 600FS kết hợp với phun thuốc nội hấp có hiệu lực cao và kéo dài như Oshin 20WP, Dantotsu 16WSG, Bassa 50EC. Chess 50 WG [10] để trừ rầy nâu môi giới.

1.3. Một số nghiên cứu về virus RRSV và RGSV

1.3.1. Virus RGSV

- Phân loại và cấu trúc virus RGSV

RGSV thuộc chi Tenuivirus bao gồm các loài Echinochloa hoja Blanca virus (EHJBV), Maize stripe virus (MSV), RGSV, Rice Hoja Blanca virus (RHBV), Rice stripe virus (RSV), và Urochoa hoja Blanca virus (UHBV). Còn có 4 loài là European wheat striate mosaic virus (EWSMV), Iranian wheat stripe virus (IWSV), Rice wilted stunt virus (RWSV) và Winter wheat mosaic virus (WWMV) được cho là thuộc chi Tenuivirus.

Cấu tạo hình thái của RGSV bao gồm nhiều đoạn vRNA, vcRNA, protein vỏ virus và vài phân tử RdRp (Enzyme nhân bản RNA và tạo phân tử RNA). Thể virus khó quan sát thấy trong dịch chiết thực vật qua kính hiển vi điện tử. Thể virus sau khi được tách chiết có dạng sợi dài 2 μ m, rộng 6-8 nm khi được quan sát trong uralyacetate. Nhiều thể virus có dạng sợi cuộn tròn chu vi từ 200-2400 nm (trung bình 950-1.350nm) cũng được tìm thấy. Thể virus rộng xấp xỉ

4nm khi được quan sát trong phosphotungstate [16], [29], [35], [37].

Độ bền dịch chiết của virus RGSV là 12 giờ ở điều kiện nhiệt độ phòng và hơn 6 giờ ở 40°C. Độ loãng tối đa là 10^{-2} , 10^{-3} trong dịch chiết từ lúa và từ 10^{-2} đến 10^{-6} trong dịch chiết từ rây nâu. Nhiệt độ bất hoạt sau 10 phút là 500°C. Khả năng truyền bệnh của dịch trích lá lúa vẫn còn sau khi đông lạnh, rã đông và sử lý với dung môi hữu cơ.

Cấu trúc bộ gen của RGSV có chiều dài thể virus là 25kb gồm có 6 phân đoạn RNA, cả 6 phân đoạn RNA này đều mang đoạn mã kết thúc dài gồm 17 nucleotide tương tự nhau, Các đoạn này có khả năng tự cuộn lại và tạo cấu trúc hình cán chổi[16], [29], [35], [37].

Đoạn mã theo chiều bổ xung của phân đoạn RNA1 dài nhất với 9760 nucleotide, và có chứa một ORF mã hóa cho một RdRp tương tự như RdRp của RGSV- loài chuẩn của chi Tenuivirus và có $37 \pm 9 \%$ axit amin giống nhau trong tổng số 2140 axit amin [35], [37].

Tuy nhiên, virus RGSV có khác với các virus khác thuộc chi Tenuivirus là RNA1 có thêm một ORF ngắn có chiều dương ở đầu 5'. Hai protein dự đoán được mã hóa bởi RNA 2 chỉ tương tự chút ít so với các protein được mã hóa bởi RNA2 của các Tenuivirus khác. Các protein dự đoán được mã hóa bởi các RNA3, RNA4 rất khác biệt so với các protein đã được biết. Sự khác biệt giữa các protein được mã hóa bởi các đoạn RNA2, RNA3, RNA4, RNA5 và RNA6 cho thấy RGSV rất khác biệt so với các Tenuivirus khác. Protein vỏ của RGSV được mã hóa bởi đoạn mã theo chiều bổ xung của RNA5 gồm 2704 nucleotide [35], [37].

- Sự truyền bệnh –môi giới truyền bệnh

RGSV không truyền qua hạt giống, phấn hoa và vết thương cơ giới chúng chỉ

được truyền qua môi giới là rầy nâu (*Nilaparvata lugens*) và *N. Bakeri*, *N. Muiri*, theo cơ chế bền vững và không truyền qua trứng, chúng có khả năng truyền bệnh đến chết, với rầy nâu tỷ lệ truyền bệnh không có sự khác biệt giữa rầy cánh ngắn và cánh dài, rầy đục và rầy cái hoặc giữa các biotype 1,2 và 3[16], [27], [29].

Rầy nâu có giai đoạn lấy virus tối thiểu (minimum acquisition access period) là 1 giờ, giai đoạn ủ bệnh trong cơ thể rầy (latent period) trung bình là 8 ngày (dao động từ 3-28 ngày) và giai đoạn truyền bệnh tối thiểu (minimum inoculation period) là 9 phút [28],[29].

1.3.2. Virus RRSV

- Phân loại và cấu trúc virus RRSV

Virus RRSV thuộc chi Oryzavirrus, chi này có 2 virus là RRSV và Echinochloa ragged stunt virus (ERSV)

Virus RRSV có 10 phân đoạn RNA sợi đôi, vỏ capsid dạng khối đa diện (20 mặt) với đường kính xấp xỉ 700Å, trong đó có chứa một lõi đa diện có đường kính 500 Å để các gai (đường kính 200 Å và chiều cao 100 Å) gắn vào. Các ống hình tháp pháo của RRSV lớn hơn so với các ống tương ứng của Orthoreovirus và CPV (đường kính 150 Å và chiều cao 100 Å). RRSV chứa ít nhất 6 protein cấu trúc (P1, P2,P3, P4A, P8B, P9 với trọng lượng phân tử tương ứng là 138kDa, 133kDa, 131 kDa, 141 kDa, 42 kDa và 39 kDa) được mã hóa bởi 10 đoạn RNA sợi đôi. Vỏ capsid RRSV, encapsidating RdRp (protein P4A) và 10 đoạn RNA sợi đôi, chứa ít nhất 4 loại protein P2 (protein gắn mũ), P3 (protein vỏ capsid), P8 (protein capsid chính sẽ được cắt thành P8A và P8B) và P9 (protein gai liên quan đến sự lan truyền của virus thông qua vector). Một số protein sau khi được tạo ra sẽ tự phân cắt để cho ra một số protein nhỏ hơn mang chức năng riêng biệt. Tất cả 10 đoạn RNA của bộ gen virus đều đã được đọc mã [35], [37], [38].

Trình tự nucleotide đầu 5' và 3' của các đoạn trong genome của RRSV đã được xác định và so sánh với các đoạn trình tự tương ứng của các virus khác trong họ Reoviridae. Hai vùng trình tự này đều có tính bảo thủ ở tất cả 10 đoạn RNA sợi dương bao gồm 6 nucleotide đầu 5' (5'-GAUAAA-) và 4 nucleotide đầu 3' (3'-GUGC- Nhiệt độ bất hoạt sau 10 phút là 500°C.

RRSV trong rầy nâu có tác dụng pha loãng 10^{-5} , mất hoạt tính ở 60°C trong 10 phút, năng truyền bệnh của dịch trích lá lúa vẫn còn sau khi đông lạnh, rã đông hoặc sự thay đổi của pH (trong thời gian 6-9 giờ) [16]. [35],[37].

- Sự lan truyền – môi giới

RRSV không truyền qua hạt giống, phấn hoa và vết thương cơ giới chúng chỉ được truyền qua môi giới là rầy nâu (*Nilaparvata lugens*) và *N. bakeri*, *N. mui*, theo cơ chế bền vững và không truyền qua trứng, chúng có khả năng truyền bệnh đến chết, với rầy nâu tỷ lệ truyền bệnh không có sự khác biệt giữa rầy cánh ngắn và cánh dài, rầy đực và rầy cái hoặc giữa các biotype 1,2 và 3 [25], [26], [27],[28], [29].

Rầy nâu có giai đoạn lấy virus tối thiểu (minimum acquisition access period) là 3 giờ, giai đoạn ủ bệnh trong cơ thể rầy (latent period) trung bình là 9 ngày (dao động từ 2-33 ngày) và giai đoạn truyền bệnh tối thiểu (minimum inoculation period) là 9 phút [28],[29].

CHƯƠNG 2:

MỤC TIÊU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Mục Tiêu

- Phân lập và xác định được các chủng virus gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá, đặc tính sinh học của virus và môi giới truyền bệnh.
- Nghiên cứu quan hệ tương tác giữa virus gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá với các môi giới truyền bệnh và cây lúa,
- Xây dựng được các biện pháp quản lý cây trồng tổng hợp (ICM) trong sản xuất lúa nhằm chủ động phòng chống rầy nâu, bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá có hiệu quả.

2.2. Nội Dung

2.2.1. Nghiên cứu xác định các chủng virrus vàng lùn, lùn xoắn lá, đặc điểm sinh học của virus và môi giới

- 2.2.1.1. Điều tra thu thập, lưu giữ các mẫu bệnh virus vàng lùn, lùn xoắn lá và các loại ký chủ khác, môi giới truyền bệnh làm vật liệu nghiên cứu.
- 2.2.1.2. Phân lập các chủng virus gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá từ các mẫu bệnh.
- 2.2.1.3. Nghiên cứu xây dựng thư viện cDNA của các gen virus gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá trên lúa.
- 2.2.1.4. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học của một số virus gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá
- 2.2.1.5. Xác định trình tự gen các chủng virus chính gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá

2.2.1.6. Xác định các loài môi giới (nhóm rầy thân) truyền bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá, nghiên cứu các đặc điểm sinh học của loài môi giới chính

2.2.2. Nghiên cứu quan hệ tương tác giữa virus gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá với các môi giới truyền bệnh

2.2.2.1. Nghiên cứu quan hệ giữa mật độ quần thể rầy và mật độ rầy mang virus gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá ngoài tự nhiên

2.2.2.2. Xác định giữa mật độ rầy mang virus gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá với tỷ lệ bệnh trên các giống lúa ở các điều kiện canh tác khác nhau

2.2.2.3. Nghiên cứu khả năng lan truyền bệnh của các pha phát triển của rầy nâu

2.2.2.4. Nghiên cứu thời điểm nhập cư, di cư của rầy nâu trong ngày và cả vụ trên 1 ruộng giữa các vùng nhằm dự báo sớm dịch rầy nâu và bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá

2.2.3. Nghiên cứu bệnh lý cá thể của cây lúa nhiễm bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá, đánh giá tính miễn dịch cá thể, quần thể của cây lúa với bệnh

2.2.3.1. Nghiên cứu sự khác biệt về sinh trưởng, phát triển của cây lúa bị bệnh với cây lúa khỏe

2.2.3.2. Nghiên cứu giai đoạn miễn cảm của cây lúa với bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá.

2.2.3.3. Đánh giá tính miễn dịch cá thể, quần thể ruộng lúa bị bệnh

2.2.4. Nghiên cứu đề xuất hệ thống các biện pháp quản lý bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và môi giới truyền bệnh theo hướng hiệu quả và thân thiện với môi trường trên cơ sở đó xây dựng mô hình phòng chống bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá tại một số vùng sinh thái điển hình

2.2.4.1. Nghiên cứu các biện pháp phòng trừ bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và môi giới truyền bệnh bằng các chế phẩm sinh học, thảo mộc, hóa học có hiệu quả và thân thiện với môi trường.

2.2.4.2. Xây dựng mô hình (ICM) ứng dụng các hệ thống biện pháp phòng chống môi giới truyền bệnh và bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá hiệu quả thân thiện với môi trường.

2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.3.1. Thu thập mẫu lúa bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và rầy nâu

- Thu thập các mẫu lúa bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá điển hình đem về lưu giữ tại các ô bê tông có diện tích 1x1 m được chụp các lồng lưới cách ly tại Long An, Tiền Giang và Bình Thuận trong thời gian 2007-2010.

Nguồn lúa TN1 sạch bệnh: định kỳ 5 ngày/lần gieo lúa TN1 trong khay được cách ly trong lồng lưới chống côn trùng riêng biệt.

Nguồn cây lúa nhiễm bệnh vàng lùn: Sử dụng cây lúa thu thập ngoài đồng ruộng có các triệu chứng điển hình của bệnh vàng lùn và duy trì trong 2 ô được chụp lồng lưới chống côn trùng. Định kỳ 5-10 ngày/lần bổ xung cây lúa TN1 sạch bệnh, đồng thời bổ xung cây lúa bệnh thu thập ngoài đồng (thu thập từ các địa phương khác nhau)

Nguồn cây lúa nhiễm lùn xoắn lá: tương tự như với cây lúa nhiễm vàng lùn.

Nguồn rầy nâu sạch bệnh: rầy nâu thu ngoài đồng được nuôi trên cây cỏ mác (*Monochoria vaginalis*), khi trứng nở, tách rầy tuổi 1 chuyển sang các lồng nuôi rầy có gieo lúa TN 15-20 ngày tuổi và liên tục duy trì quần thể rầy

Nguồn rầy nâu mang bệnh VL: rầy nâu sạch bệnh được thả vào các lồng trồng lúa nhiễm bệnh VL

Nguồn rầy nâu mang bệnh LXL: rầy nâu sạch được thả vào các lồng trồng lúa nhiễm bệnh lùn xoắn lá.

- Mẫu lúa và rầy được thu tại các ruộng lúa nghi nhiễm bệnh vàng lùn, vàng xoắn lá. Các mẫu được thu vào trong các ống Falcon sạch, bảo quản trong đá khô (-20°C), mang về phòng thí nghiệm chờ phân tích.

2.3.2. Thiết kế mỗi đặc hiệu gen mã hóa các đoạn gen của virus

Khai thác dữ liệu trong Ngân hàng gen quốc tế (GenBank) để tìm ra tất cả các trình tự gen của virus. Sử dụng phần mềm SeqMan/DNAstar để so sánh các trình tự gen của các loại virus với nhau và lựa chọn các vùng có độ bảo thủ cao nhất gen để thiết kế mỗi.

2.3.3. Tách chiết RNA tổng số của virus

RNA tổng số từ các mẫu lá lúa và rầy nâu được tách chiết theo hướng dẫn sử dụng hóa chất Trizol Reagents (Invitrogen, Mỹ). Lá lúa và rầy được nghiền trong nitrogen lỏng thành bột mịn. Bổ sung Trizol, đảo nhẹ ở nhiệt độ phòng trong 10 phút, bổ sung 200 μl Chloroform: Isoamyl (24:1), đảo nhẹ và ly tâm 10.000 vòng trong 10 phút. Hút dịch nổi, kết tủa RNA bằng Isopropanol. Ly tâm ở 10.000 vòng trong 10 phút, bỏ dịch nổi, thu tủa và pha loãng RNA trong nước khử DEPC 0,01%.

2.3.4. Phản ứng RT-PCR

Phản ứng RT-PCR được thực hiện theo hướng dẫn của bộ kit RNA (Invitrogen-Super ScriptTM III One-Step RT-PCR system with Platinum[®] *Taq* High Fidelity) với khuôn là 20-50 ng RNA tổng số đã tách (cho mỗi phản ứng) và cặp mỗi đặc hiệu. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1%, nhuộm gel trong dung dịch Ethidium bromide và làm sạch gel bằng bộ kit QIAquick Gel Extraction (Qiagen).

2.3.5. Tạo plasmid tái tổ hợp mang gen mong muốn

Sản phẩm thôi gel được gắn vào vector tách dòng pBT nhờ enzyme T4 ligase (Fermentas). Hỗn hợp được ủ ở 22°C trong 2 giờ, sau đó được biến nạp vào tế bào khả biến *E.coli* DH5α.

2.3.6. Biến nạp vector tái tổ hợp vào tế bào khả biến E.coli

- Chuẩn bị tế bào khả biến: Tế bào *E.coli* DH5α được cấy ria trên môi trường LB đặc và nuôi qua đêm ở 37°C. Chọn một khuẩn lạc nuôi cấy trong 5ml LB lỏng, lắc 200 v/p, ở 37°C trong 2 – 3 giờ, đo OD_{600nm} đạt 0,4 – 0,6 thì chuyển dịch nuôi cấy sang ống ly tâm, để 15 phút ở trong đá (hoặc ở 4 °C). Ly tâm 4000 v/p, ở 4 °C, trong 15 phút (lặp lại ba lần, để trong đá lần thứ hai 30 phút, lần thứ ba 60 phút). Đổ dịch CaCl₂, hòa tan trong 1ml CaCl₂ /100ml LB ban đầu. Bổ sung 15 – 20% glycerol. Chia 50μl dịch tế bào khả biến vào mỗi ống eppendorf 1,5ml. Bảo quản tế bào khả biến trong tủ lạnh -80°C.

- Biến nạp: Bổ sung 20μl vector đã gắn gen (vector tái tổ hợp) vào ống tế bào khả biến và trộn nhẹ, đặt ngay vào đá trong 30 phút rồi ủ ở 42 °C trong 1,5 phút, sau đó đặt vào đá 5 phút. Bổ sung 700μl môi trường LB lỏng, hỗn hợp được nuôi ở 37 °C, lắc 200 v/p trong 1 giờ. Sử dụng que cấy trải, trải 150 – 250μl dịch khuẩn lên đĩa môi trường LB đặc có chứa 0,01mg/l ampicilline, X-gal 0,004%, IPTG 100μM. Ủ đĩa ở 37 °C trong 16 giờ.

2.3.7. Colony – PCR

Sau khi nuôi khuẩn đã biến nạp trên môi trường chọn lọc, thu được những khuẩn lạc xanh và trắng. Nguyên lý của khuẩn lạc xanh và trắng: Toàn bộ khuẩn lạc phát triển trên môi trường có ampicillin đều là khuẩn lạc mang plasmid. Sự có mặt của gen kháng ampicilline trong plasmid giúp vi khuẩn có khả năng kháng kháng sinh ampicilline. Những khuẩn lạc xanh xuất hiện do trong vector

mang gen lac-operon hoạt động bình thường, không có đoạn gen được xen vào, khi có chất cảm ứng IPTG sẽ tổng hợp enzym β -galactosidase, enzym này sẽ chuyển hóa cơ chất X-gal thành hợp chất có màu xanh. Còn những khuẩn trắng do nhận được plasmid mang lac-operon không hoạt động, chính vì vậy khi có chất cảm ứng IPTG thì gen không tổng hợp enzym β -galactosidase và không xảy ra hiện tượng chuyển hóa X-gal. Lac-operon bị bất hoạt là do đoạn DNA ngoại lai xen vào giữa promoter của operon gen lacZ. Do đó, lac-promoter không thể điều khiển gen cấu trúc phiên mã, nên không có sự dịch mã thành enzym. Để khẳng định chắc chắn sự có mặt của gen quan tâm, chúng tôi kiểm tra bằng cách chạy phản ứng colony-PCR.

Khuẩn lạc trắng của mỗi mẫu được chọn lọc và đánh số thứ tự, thực hiện phản ứng colony-PCR với cặp mồi pUC18 – F và pUC18 – R để xác định khuẩn lạc có plasmid mang gen quan tâm. Vì hai mồi này nằm trên vector, nên nếu khuẩn lạc có plasmid mang gen quan tâm, thì sản phẩm PCR sẽ cho một đoạn băng có kích thước lớn hơn đoạn DNA tương ứng khoảng 0,2kb. Sản phẩm colony-PCR được điện di kiểm tra trên gel agarose 0,8% để chọn ra các khuẩn lạc mang gel có kích thước như mong muốn, đồng thời nuôi những khuẩn lạc này trong 10ml LB lỏng có bổ sung ampicilline 100mg/l để tách plasmid.

Thành phần phản ứng colony-PCR (μ l): Buffer NH_4^+ (2,0); MgCl_2 (2,0); dNTPs (2,0); Primer pUC18 –F (1,0); Primer pUC18 –R (1,0); DNA polymerase (1,0); H_2O (11,0). Tổng thể tích là 20,0 μ l.

Chu kỳ nhiệt của phản ứng colony-PCR: bước 1: 95 $^\circ\text{C}$, 4 phút; bước 2: 94 $^\circ\text{C}$, 30 giây; bước 3: 52 $^\circ\text{C}$, 30 giây; bước 4: 72 $^\circ\text{C}$, 3 phút; từ bước 2 đến bước 4 lặp lại 25 chu kỳ; bước 5: 72 $^\circ\text{C}$, 10 phút; bước 6: 4 $^\circ\text{C}$, bảo quản mẫu.

2.3.8. Tách plasmid

Sử dụng bộ kit QIAprep Spin Miniprep và chỉ dẫn của nhà sản xuất để tách plasmid. Đây là phương pháp tách plasmid từ 1 – 1,5 ml dịch khuẩn *E.coli*, có số bản sao plasmid cao. Quy trình bao gồm: Hút 1,5ml dịch khuẩn *E.coli* đã nuôi qua đêm trong môi trường LB lỏng cho vào ống eppendorf 1,5ml. Ly tâm 8000v/p trong 5 phút để thu tế bào vi khuẩn. Hòa tan tế bào trong 250µl buffer RS có bổ sung RNase (sản phẩm tách không còn RNA). Bổ sung 250µl BL, đảo ống nhẹ nhàng 4-6 lần để trộn đều hỗn hợp. Không để phản ứng phân giải quá 5 phút. Đảo đều eppendorf ngay khi bổ sung NE. Dung dịch trở nên có màu trắng sữa. Ly tâm 13000v/p trong 15 phút. Hút dịch nổi cho vào cột QIAprep Spin Miniprep. Ly tâm 13000v/p trong 1 phút, loại bỏ dịch chảy qua cột, rửa cột QIAprep Spin Miniprep bằng cách bổ sung 0,5ml buffer PB và ly tâm 13000v/p trong 1 phút. Loại bỏ dịch chảy qua cột. Rửa cột QIAprep Spin Miniprep bằng cách bổ sung 0,75ml buffer WP và ly tâm ở 13000v/p. Loại bỏ dịch chảy qua cột, và ly tâm bổ sung 13000v/p trong 1 phút để loại bỏ hết đệm rửa. Chuyển cột sang một ống eppendorf 1,5ml mới. Hòa tan DNA bằng cách bổ sung 50µl EL hoặc nước cất, để ở nhiệt độ phòng 1 phút rồi ly tâm ở 13000v/p trong 1 phút. Tiến hành điện di kiểm tra sản phẩm tách plasmid trên gel agarose 0,8%.

2.3.9. Xác định trình tự các đoạn gen của virus

Các dòng plasmid tái tổ hợp chứa gen quan tâm được xác định trình tự trên máy ABI PRISM[®] 3100 Avant Genetic Analyzer. Sử dụng các phần mềm DNASTar, BioEdit và ClustalX để so sánh các trình tự gen và dựng cây phát sinh chủng loại theo phương pháp tối đa (Maximum Parsimony -MP) trên cơ sở các số liệu thu được qua so sánh các trình tự gen.

2.3.10. Tách chiết virus và quan sát hình thái và cấu trúc của virus trên kính hiển vi điện tử

- Nghiền lá lúa đã xác định sự có mặt của RGSV bằng RT-PCR trong nitor lỏng thành dạng bột, bổ sung dung dịch đệm chiết Kali photphat 100mM, pH = 7, tiếp tục nghiền... lọc dịch nghiền qua giấy lọc cho đến khi thấy dịch nghiền trong, cất mẫu ở 4⁰C.

- Quan sát dịch lọc bằng kính hiển vi điện tử quét phân giải cao Hitachi S-4800

- Phân tích ảnh chụp từ kính hiển vi điện tử để phát hiện virus.

- Thu dịch virus để tiến hành các thí nghiệm lây nhiễm và thử các đặc tính sinh học.

2.3.11. Phương pháp đánh giá hiệu quả việc sử dụng chất kích thích sinh trưởng với virus gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá trong nhà lưới

CT 1: Đ/C 1: không lây bệnh, không phun thuốc

CT 2: Đ/C 2a: Lây bệnh vàng lùn và không phun thuốc

CT 3: Đ/C 2b Lây bệnh lùn xoắn lá và không phun thuốc

CT 4: Phun thuốc Boom Flower n 5 ngày sau đó lây bệnh vàng lùn

CT 5: Phun thuốc Boom Flower n 5 ngày sau đó lây bệnh lùn xoắn lá

CT 6: Phun thuốc K-H 5 ngày sau đó lây bệnh vàng lùn

CT 7: Phun thuốc K-H 5 ngày sau đó lây bệnh lùn xoắn lá

CT 8: Phun thuốc Boom Flower n sau khi lây bệnh vàng lùn được 3 ngày

CT 9: Phun thuốc Boom Flower n sau khi lây bệnh lùn xoắn lá được 3 ngày

CT 10: Phun thuốc K-H sau khi lây bệnh vàng lùn được 3 ngày

CT 11: Phun thuốc K-H sau khi lây bệnh lùn xoắn lá được 3 ngày

CT12: Phun thuốc Boom Flower n sau lây bệnh lùn xoắn lá và xuất hiện triệu chứng

CT13: Phun thuốc Boom Flower n sau lây bệnh vàng lùn và xuất hiện triệu chứng

CT14: Phun thuốc K-H sau lây bệnh lùn xoắn lá và xuất hiện triệu chứng

CT15: Phun thuốc K-H sau lây bệnh vàng lùn và xuất hiện triệu chứng

- Lây bệnh cá thể: cho 1 rầy nhiễm bệnh/cây lúa trong thời gian 48 giờ

- Mỗi cây chụp 1 ống

- 50 cây/công thức

- Ngày lây bệnh nhân tạo: 15 ngày sau sạ

- Nồng độ:

+ Boom Flower n: 3mm/1 lít nước

+ K-H: 7 ml/ 1 lít nước

- Chỉ tiêu theo dõi:

+ Số cây biểu hiện bệnh ở mỗi công thức

+ Thời gian ủ bệnh

- Phân tích các mẫu lúa thí nghiệm bằng phương pháp PCR và DAS-ELISA tại Phòng thí nghiệm Công nghệ tế bào thực vật –Viện CNSH

- Thí nghiệm lây bệnh nhân tạo được làm trong nhà lưới tại Mỹ Phú Thủ Thừa, Long An 2007, 2009

2.3.12. Xác định các loài môi giới truyền bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá ngoài rầy nâu,

Xác định các loài môi giới truyền bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá ngoài rầy nâu

* Bẫy đèn:

- Địa điểm: xã Mỹ Phú (Thủ Thừa, Long An) và xã Hòa Thành (Đông Hòa, Phú Yên)

- Thời gian 2007-2009

- Tiến hành đếm và phân loại từng loại rầy: rầy nâu, rầy lưng trắng, rầy xanh đuôi đen và các loại rầy khác...

* Trên đồng ruộng

- Thu trên các vụ Đông –Xuân và Hè - Thu

- Trà lúa: sớm, chính vụ và muộn của các vụ lúa

- Thời gian 2007-2009

- Mỗi trà lúa điều tra 3 ruộng tại xã Mỹ Phú (Thủ Thừa, Long An) và xã Hòa Thành (Đông Hòa, Phú Yên).

- Phương pháp thu:

- + Điều tra diễn biến rầy trên đồng ruộng bằng bẫy dính vàng

- + Điều tra 5 điểm chéo góc, mỗi điểm 30 khóm

- Đem bẫy về nhà đếm và phân loại rầy các loại

- Thời điểm điều tra thu thập 15, 40, 60 và 80 ngày sau sạ

2.3.13. Nuôi sinh học của loài rầy môi giới quan trọng nhất

- Phương pháp nuôi

Nguồn rầy nâu ban đầu dùng cho các thí nghiệm nuôi sinh học: rầy được bắt ngoài ruộng đưa về cho đẻ trứng trên cây cỏ mác (*Monochoria vaginalis*). Khi trứng nở, tách rầy tuổi 1, tiến hành nuôi cá thể trên các loại thức ăn khác nhau ở các cốc nhựa (7x15cm) có trồng 1 cây lúa TN1 15-20 ngày tuổi sạch bệnh, nhiễm bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá được chụp bằng ống bằng Mica cứng (5x30 cm) và đầu trên được bịt bằng vải màn, 5 ngày thay thức ăn 1 lần.

+ Nguồn thức ăn sạch: lúa TN1 được gieo 2–3 cây/cốc sau 10 ngày tiến hành loại bớt chỉ giữ lại 1 cây.

+ Nguồn thức ăn bệnh vàng lùn: Lúa TN1 được gieo 2–3 cây/cốc, sau khi cây lúa được 10 ngày tuổi tiến hành đưa vào các lồng lưu giữ rầy bệnh vàng lùn, cho tiếp xúc 48 giờ sau đó chuyển ra và giữ trong các lồng lưới cách ly đợi khi cây nào có triệu chứng bệnh điển hình sẽ được dùng làm nguồn thức ăn nuôi rầy (tiến hành tỉa bớt chỉ giữ 1 cây/cốc).

+ Nguồn thức ăn bệnh lùn xoắn lá: Lúa TN1 được gieo 2–3 cây/cốc, sau khi cây lúa được 10 ngày tuổi tiến hành đưa vào các lồng lưu giữ rầy bệnh lùn xoắn lá, cho tiếp xúc 48 giờ sau đó chuyển ra và giữ trong các lồng lưới cách ly đợi khi cây nào có triệu chứng bệnh điển hình sẽ được dùng làm nguồn thức ăn nuôi rầy (tiến hành tỉa bớt chỉ giữ 1 cây/cốc).

+ Khả năng đẻ trứng: rầy nâu được ghép đôi và nuôi trong các cốc chụp giấy bóng cứng như mô tả ở trên, với các loại thức ăn riêng rẽ, mỗi cốc thả 1 cặp, theo từng dạng cánh dài hoặc ngắn. Hàng ngày thay cây lúa 1 lần, và cây lúa đó được kiểm tra số trứng đẻ trong ngày.

+ Tỷ lệ trứng nở: tiến hành đếm số trứng nở, trứng không nở của mỗi cặp rầy nâu theo dõi.

+ Số cá thể/ công thức theo dõi: 50 rầy

- Chỉ tiêu theo dõi

+ Thời gian phát dục các pha (ngày)

+ Vòng đời (ngày)

+ Số trứng/cá thể cái

+ Tỷ lệ trứng nở (%)

- Thí nghiệm được tiến hành trong thời gian 2007 - 2008

- Địa điểm: Mỹ Phú - Thủ Thừa - Long An

2.3.14. Phương pháp điều tra tỷ lệ bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá

Điều tra tỷ lệ bệnh theo phương pháp của Viện BVTV - 1997

2.3.15. Phương pháp theo dõi bầy đèn

- Theo dõi bầy đèn:

- + Dùng đèn huỳnh quang, công suất 40 W
- + Thời gian theo dõi: 17.30 -24.00 giờ hàng ngày
- + Chỉ tiêu theo dõi: đếm số rầy vào bầy mỗi đêm

- Địa điểm: xã Mỹ Phú (Thủ Thừa, Long An) và xã Hòa Thành (Đồng Hòa, Phú Yên).

- Thời gian 2007 - 2010.

2.3.16. Phương pháp điều tra diễn biến rầy nâu trên đồng ruộng

Điều tra diễn biến rầy trên đồng ruộng bằng bầy dính vàng:

- + Thời gian bắt đầu điều tra: 7 ngày sau sạ
- + Điều tra định kỳ 7 ngày/lần
- + Điều tra 5 điểm chéo góc, mỗi điểm 30 khóm
- + Bầy được đem về đếm rầy các tuổi và ký sinh thiên địch (KSTĐ)

2.3.17. Phương pháp xác định tỷ lệ rầy có khả năng truyền bệnh ở bầy đèn

- Đánh giá tỷ lệ rầy vào đèn có khả năng truyền bệnh

- + Thời gian thí nghiệm: 10 ngày /1 lần
- + Thu ngẫu nhiên 30 rầy từ bầy đèn
- + Lây bệnh bằng phương pháp lây bệnh cá thể
- + Thời gian rầy tiếp xúc với cây: 24 giờ
- + Cây lúa: TN1 -10 ngày tuổi
- + Thời gian theo dõi: 20 ngày từ khi rầy tiếp xúc với bệnh
- + Chỉ tiêu theo dõi: tỷ lệ cây biểu hiện bệnh

- Địa điểm: xã Mỹ Phú, Thủ Thừa, Long An
- Thời gian: 2007 - 2009

2.3.18. Phương pháp xác định tỷ lệ rầy mang nguồn bệnh trên đồng ruộng

- Thời gian kiểm tra: 3 giai đoạn sinh trưởng của lúa : đẻ nhánh (20 NSS), làm đòng (40 NSS) và trổ (60 NSS)
- Thu ngẫu nhiên 30 rầy /ruộng (từ tổng số 90 con thu từ 3 ruộng điều tra)
- Số ruộng kiểm tra: 3 ruộng/thời vụ/giống chủ yếu
- Lấy bệnh bằng phương pháp lấy bệnh cá thể
- Thời gian rầy tiếp xúc với cây: đến khi rầy chết tự nhiên
- Cây lúa thí nghiệm: TN1 -10 ngày tuổi
- Thời gian theo dõi: 20 ngày từ khi rầy tiếp xúc với bệnh
- Chỉ tiêu theo dõi: tỷ lệ cây biểu hiện bệnh
- Địa điểm: xã Mỹ Phú, Thủ Thừa, Long An; Long Định, Châu Thành, Tiền Giang.
- Thời gian: 2007 - 2009

2.3.19. Phương pháp xác định khả năng truyền bệnh của các pha phát dục của rầy nâu

- Nguồn rầy thí nghiệm: rầy được nở ra từ trứng của nguồn rầy bắt ngoài ruộng được đưa về và cho đẻ trên cây cỏ mác (*Monochoria vaginalis*), khi trứng nở tách rầy tuổi 1 và chuyển vào các lồng có các loại thức ăn khác nhau được cách ly trong lồng lưới.
- Nguồn thức ăn bệnh vàng lùn: cây lúa được gieo vào các khay trong lồng lưới cách ly, lúa 10 ngày tuổi được đưa vào lồng lưu giữa rầy, bệnh vàng lùn, cho tiếp xúc 48 giờ sau đó lấy ra và giữ trong các lồng lưới cách ly đợi khi

cây nào có triệu chứng bệnh điển hình sẽ được trồng vào các ống nhựa như mô tả trên dùng làm nguồn thức ăn nuôi rầy.

- Nguồn thức ăn bệnh lùn xoắn lá: cây lúa được gieo vào các khay trong lồng lưới cách ly, lúa được 10 ngày tuổi đưa vào lồng lưu giữa rầy, bệnh lùn xoắn lá, cho tiếp xúc 48 giờ sau đó tách ra và giữ trong các lồng lưới cách ly đợi khi cây nào có triệu chứng bệnh điển hình sẽ được dùng làm nguồn thức ăn nuôi rầy

- Tách rầy và tiến hành lây bệnh ở các tuổi, pha khác nhau
 - + Số cá thể/công thức: 30 con/tuổi
 - + Lây bệnh bằng phương pháp lây bệnh cá thể
 - + Thời gian rầy tiếp xúc với cây: 24, 48 giờ
 - + Cây lúa thí nghiệm: TN1 -10 ngày tuổi
 - + Thời gian theo dõi: 20 ngày từ khi rầy tiếp xúc với bệnh
 - + Chỉ tiêu theo dõi: số cây biểu hiện bệnh
- Địa điểm: xã Mỹ Phú, Thủ Thừa, Long An
- Thời gian: 2007 - 2009

2.3.20. Phương pháp xác định sự nhập cư của rầy

- Sử dụng bẫy dính vàng (fixed yellow sticky-trap) với kích thước: 60 x25 cm/bẫy.
- Chiều cao đặt bẫy luôn được điều chỉnh bằng chiều cao cây lúa
- Đặt 5 bẫy trên mỗi điểm theo dõi
- Thời gian kiểm tra bẫy:
 - + Trong ngày: 8 -11 giờ, 11 -17 giờ và 17 giờ đến 8 giờ sáng ngày hôm sau
 - + Trong vụ: sạ đến thu hoạch
- Chỉ tiêu theo dõi: đếm số rầy /bẫy/thời điểm
- Địa điểm: xã Mỹ Phú, Thủ Thừa, Long An

- Thời gian: 2007 - 2009

2.3.21. Phương pháp theo dõi sự phát tán của rầy

Sử dụng bẫy bay (Flight trap): với kích thước: cao 200 cm, rộng= dài= 1,2m, xung quanh bẫy được che phủ bởi ni lon đen, phía chân bẫy để hở 40 cm không che phủ ni lon, phía trên đỉnh bẫy đặt 1 hộp nhựa với bán kính 15 cm nhằm để giữ trường thành phát tán tại đó

- Thời gian đặt bẫy: 40 ngày sau sạ đến thu hoạch
- Chọn điểm đặt bẫy: chọn điểm có mật độ rầy tương đối cao
- Thời gian theo dõi: 2 giờ/lần từ 7.30 đến 21.30 và từ 21.30 đến 7.30 sáng hôm sau.

- Chi tiêu theo dõi:

- + Số rầy thu được ở mỗi thời gian theo dõi trong ngày
- + Thời gian rầy bắt đầu phát tán
- + Thời gian kết thúc phát tán
- + Diễn biến quá trình phát tán

- Địa điểm: xã Mỹ Phú, Thủ Thừa, Long An

- Thời gian: 2007 - 2009

2.3.22. Phương pháp xác định sự khác nhau về sinh trưởng giữa cây lúa nhiễm bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá và cây lúa khỏe

- Tiến hành lây bệnh nhân tạo cá thể: 1 rầy/ cây lúa, cây lúa được chụp trong các lồng cách ly.

- Tuổi lúa thí nghiệm: 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 35, và 40 ngày sau sạ.
- Thời gian rầy tiếp xúc với cây lúa: 24 giờ
- Số cây lúa ở mỗi tuổi: 30 cây

- Nguồn rầy bệnh: Rầy được nuôi và duy trì từ các nguồn lưu giữ bệnh tại Thủ Thừa.

- Chỉ tiêu theo dõi:

- + Thời gian biểu hiện bệnh
- + Chiều cao cây
- + Thời gian bắt đầu đẻ nhánh
- + Chiều dài, rộng lá

- Địa điểm: xã Mỹ Phú, Thủ Thừa, Long An

- Thời gian: 2007 - 2009

2.3.23. Phương pháp xác định thời gian miễn cảm với cây lúa với bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá

- Tiến hành lây bệnh nhân tạo cá thể: 1 rầy/ cây lúa, cây lúa được chụp trong các lồng cách ly.

- Tuổi lúa thí nghiệm: 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 35, và 40 ngày sau sạ

- Thời gian rầy tiếp xúc với cây lúa: 24 giờ

- Số cây lúa ở mỗi tuổi: 30 cây

- Nguồn rầy bệnh: Rầy được nuôi và duy trì từ các nguồn lưu giữ bệnh tại Thủ Thừa.

- Chỉ tiêu theo dõi:

- + số cây sống, chết
- + Chiều cao cây ở 30 ngày sau sạ
- + % số cây trở không thoát/ thoát
- + Dài bông
- + Số hạt/bông
- + Tỷ lệ hạt lép (%)

- Địa điểm: xã Mỹ Phú, Thủ Thừa, Long An

- Thời gian: 2007 - 2010

2.3.24. Phương pháp thí nghiệm thời điểm sạ lúa ảnh hưởng tới bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và rầy nâu

- Công thức

- + Sạ né rầy theo lịch thời vụ.
- + Sạ trước lịch thời vụ 5 ngày
- + Sạ sau lịch thời vụ 5 ngày

- Bố trí thí nghiệm

- + Thí nghiệm diện rộng không nhắc lại
- + Diện tích ô thí nghiệm: 3 - 5 ha/công thức
- + Giống thí nghiệm: IR 4625
- + Lượng giống: 100 kg/ha
- + Phân bón: 80 kg N : 50 kg P₂O₅ : 50 kg K₂O
- + Các yếu tố: phun thuốc, chăm sóc đảm bảo tương tự giữa các

công thức

- Phương pháp điều tra: tương tự phần 2.3.14 (với bệnh) và phần 2.3.16.

(rầy nâu)

- Chỉ tiêu theo dõi

- + Mật độ rầy nâu 5, 15, 45 ngày sau sạ
- + Tỷ lệ bệnh 45 ngày sau sạ
- + Năng suất thực tế

- Địa điểm: xã Mỹ Phú, Thủ Thừa, Long An

- Thời gian: 2007 - 2009

2.3.25. Phương pháp thí nghiệm lượng giống sạ ảnh hưởng tới bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và rầy nâu

- Công thức

- + 100 kg giống/ha

- + 150 kg giống/ha

- + 200 kg giống/ha

- Bố trí thí nghiệm

- + Thí nghiệm diện rộng không nhắc lại

- + Diện tích ô thí nghiệm: 3-5ha/công thức

- + Giống thí nghiệm: IR 4625

- + Phân bón: 80 kg N : 50 kg P₂O₅ : 50 kg K₂O

- + Các yếu tố: thời điểm sạ, giống, phân bón, chăm sóc.. đảm bảo

như nhau giữa các công thức

- Phương pháp điều tra: tương tự phần 2.3.14 (với bệnh) và phần 2.3.16. (rầy nâu)

- Chỉ tiêu theo dõi

- + Mật độ rầy nâu 5, 15, 45 ngày sau sạ

- + Tỷ lệ bệnh 45 hoặc 50 ngày sau sạ

- + Năng suất thực tế

- Địa điểm: xã Mỹ Phú, Thủ Thừa, Long An

- Thời gian: 2007 - 2009

2.3.26. Phương pháp đánh giá thiệt hại của bệnh trên đồng ruộng

- Điều tra các ruộng cố định theo từng tỷ lệ bệnh

- Thời điểm điều tra: 35 - 40 ngày sau sạ

- Phương pháp điều tra: tương tự phần 2.3.14 (với bệnh) và phần 2.3.16. (rầy nâu)

- Theo dõi năng xuất tại các ruộng điều tra tương ứng với từng tỷ lệ bệnh đã xác định trước

- Theo dõi 5 ruộng/mức độ bệnh

- Các ruộng được chọn đảm bảo tương đối đồng đều về giống, điều kiện chăm sóc (các ruộng ở cùng khu vực)

- Địa điểm: xã Mỹ Phú, Thủ Thừa, Long An, Long Định, Châu Thành, Tiền Giang

- Thời gian: 2007 - 2009

2.3.27. Phương pháp điều tra tỷ lệ bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá trên một số điều kiện canh tác

- Đất trồng 2 vụ lúa/năm, 3 vụ lúa trên năm,

- Các ruộng được chọn đảm bảo tương đối đồng đều về giống, điều kiện chăm sóc (các ruộng ở cùng khu vực)

- Phương pháp điều tra: tương tự phần 2.3.14

- Địa điểm: Thủ Thừa, Tân Thạnh (Long An); Châu Thành (Tiền Giang)

- Thời gian: 2007 - 2009

2.3.28. Phương pháp điều tra thiên địch trên đồng ruộng

Theo phương pháp phần 2.3.16

- Địa điểm: xã Mỹ Phú, Thủ Thừa, Long An; Long Định, Châu Thành, Tiền Giang

- Thời gian: 2007 - 2010

2.3.29. Phương pháp đánh giá hiệu lực thuốc phòng trừ rầy nâu

- Thí nghiệm được tiến hành: các vụ lúa hè thu, thu đông, Đông –Xuân từ 2007 - 2010

- Địa điểm: ruộng thí nghiệm Viện Lúa Đồng Bằng Sông Cửu Long với giống nhiễm rầy OM1490, Trung tâm nghiên cứu Nông nghiệp Đồng Tháp Mười, Mỹ Phú (Long An)

- Thí nghiệm được bố trí theo khối hoàn toàn ngẫu nhiên, 8 nghiệm thức, 3 lần lặp lại. Bón phân theo công thức 80 – 40 - 30 kg (N – P - K)/ha.

- Chỉ tiêu theo dõi:

+ **Mật số rầy nâu:** tại các thời điểm 1 ngày trước khi phun thuốc, 3, 7, 10, 14 ngày sau khi phun thuốc

Điều tra 5 điểm (di động) theo hai đường chéo góc của ô, mỗi điểm 4 bụi lúa, các điểm này cách xa bờ ít nhất là 1.0 m. Dùng khay có kích thước 40cm x 50cm x 5cm, khay có thoa dầu mazut. Đặt khay 1 góc 45⁰ so với thân cây lúa, mép khay chạm với thân cây lúa ở điểm sát mặt nước. Mỗi bụi đập 2 đập. Cách 2 bụi đập 1 bụi. Đếm số rầy nâu có trên khay /điểm, sau đó quy ra mật số rầy con /m²

+ **Hiệu lực của thuốc:** tại các thời điểm 3, 7, 10, 14 ngày sau khi phun thuốc
Hiệu lực của thuốc được hiệu chỉnh theo công thức Henderson –Tilton

Ta x Cb

$$HL(\%) = (1 - \frac{\text{Ta} \times \text{Cb}}{\text{Tb} \times \text{Ca}}) \times 100$$

Tb x Ca

Ta: Số cá thể sống ở nghiệm thức phun thuốc sau khi thí nghiệm.

Tb: Số cá thể sống ở nghiệm thức phun thuốc trước khi thí nghiệm.

Ca: Số cá thể sống ở nghiệm thức đối chứng sau khi thí nghiệm.

Cb: Số cá thể sống ở nghiệm thức đối chứng trước khi thí nghiệm

+ Ảnh hưởng của thuốc đến sinh trưởng của cây lúa vào 1, 3, 7 ngày sau khi phun thuốc

Đánh giá ảnh hưởng của thuốc đối với cây lúa theo thang phân cấp sau:

Cấp hại	Triệu chứng nhiễm độc của cây trồng
1	Cây lúa bình thường.
2	Sinh trưởng của cây lúa giảm nhẹ.
3	Ngộ độc tăng lên, sinh trưởng của cây lúa giảm, nhưng triệu chứng (về màu sắc, hình dạng,...) chưa rõ ràng.
4	Có triệu chứng ngộ độc nhưng chưa ảnh hưởng đến năng suất.
5	Cây biến màu, thuốc gây ảnh hưởng đến năng suất
6	Thuốc làm giảm năng suất ít.
7	Thuốc gây ảnh hưởng nhiều tới năng suất.
8	Triệu chứng ngộ độc tăng dần tới làm chết cây.
9	Cây bị chết hoàn toàn.

- Số liệu về mật độ sâu và hiệu lực của thuốc ở các thời điểm quan sát được xử lý theo phương pháp đa biên độ của Duncan với độ tin cậy 95% bằng phần mềm SPSS 11.5.

2.3.30. Phương pháp đánh giá thuốc trừ rầy bằng cách bón vào đất

- Thuốc hoá học (nguồn gốc Hàn Quốc): Carbofuran, Carbosulfan, Imidacloprid dạng hạt.

- Giống lúa: IR 4625 giống đang trồng phổ biến tại địa phương.

- Thời điểm bón thuốc: lúa 15 ngày tuổi và 30 ngày tuổi

. Cách bón: thuốc được bón vào trong đất ở độ sâu 5 cm, cách gốc lúa 4 đến 5 cm. Sau khi bón thuốc vào đất, sử dụng chụp bằng Mica để cách ly cây lúa và bắt đầu thả rầy vào.

- Số rầy/cây lúa: 20 con tuổi 4,5 (đảm bảo đồng đều về số lượng rầy mỗi tuổi giữa các công thức)

- Bố trí thí nghiệm:
 - + Kích thước ô thí nghiệm 1x1 m (1 loại thuốc được gieo trong 1 ô)
 - + Số cây lúa/ô: 5 cây (mỗi cây là một lần nhắc lại).
- Thời điểm lúa sau gieo 30 ngày, được bón thuốc và được chụp bằng ống Mica để bảo vệ, ống Mica có đường kính 23cm và cao 60cm.
- Sau khi thả rầy 3 ngày, bắt đầu kiểm tra số lượng rầy còn sống ở cả công thức và đối chứng.
- Địa điểm: xã Mỹ Phú, Thủ Thừa, Long An; Long Định, Châu Thành, Tiền Giang
- Thời gian: 2007 - 2009

2.3.31. Phương pháp đánh giá hiệu quả việc sử dụng chất kích thích sinh trưởng tới cây lúa nhiễm bệnh VL,LXL trong nhà lưới

- CT 1: Đ/C 1: không lây bệnh, không phun thuốc
- CT 2: Đ/C 2a: Lây bệnh vàng lùn và không phun thuốc
- CT 3: Đ/C 2b: Lây bệnh lùn xoắn lá và không phun thuốc
- CT 4: Phun thuốc Boom Flower n 5 ngày sau đó lây bệnh vàng lùn
- CT 5: Phun thuốc Boom Flower n 5 ngày sau đó lây bệnh lùn xoắn lá
- CT 6: Phun thuốc K-H 5 ngày sau đó lây bệnh vàng lùn
- CT 7: Phun thuốc K-H 5 ngày sau đó lây bệnh lùn xoắn lá
- CT 8: Phun thuốc Boom Flower n sau khi lây bệnh vàng lùn được 3 ngày
- CT 9: Phun thuốc Boom Flower n sau khi lây bệnh lùn xoắn lá được 3 ngày
- CT 10: Phun thuốc K-H sau khi lây bệnh vàng lùn được 3 ngày
- CT 11: Phun thuốc K-H sau khi lây bệnh lùn xoắn lá được 3 ngày
- CT12: Phun thuốc Boom Flower n sau lây bệnh lùn xoắn lá và xuất hiện triệu chứng

CT13: Phun thuốc Boom Flower n sau lây bệnh vàng lùn và xuất hiện triệu chứng

CT14: Phun thuốc K-H sau lây bệnh lùn xoắn lá và xuất hiện triệu chứng

CT15: Phun thuốc K-H sau lây bệnh vàng lùn và xuất hiện triệu chứng

- Lây bệnh cá thể: cho 1 rầy nhiễm bệnh/cây lúa trong thời gian 48 giờ
- Mỗi cây chụp 1 ống
- 50 cây/công thức
- Ngày lây bệnh nhân tạo: 15 ngày sau sạ
- Nồng độ:
 - + Boom Flower n: 3mm/1 lít nước
 - + K-H: 7 ml/ 1 lít nước
- Chỉ tiêu theo dõi:
 - + Số cây biểu hiện bệnh ở mỗi công thức
 - + Thời gian ủ bệnh
 - + Một số chỉ tiêu sinh trưởng: cao cây (cm), dài lá (cm), rộng lá (cm)
- Địa điểm: xã Mỹ Phú, Thủ Thừa, Long An,
- Thời gian: 2007 - 2009

2.3.32. Phương pháp đánh giá hiệu quả của việc sử dụng chất kích thích sinh trưởng với bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá ngoài đồng ruộng

- Thí nghiệm ô lớn không nhắc lại
- Diện tích ô thí nghiệm: 500 m²/công thức hoặc lớn hơn tùy điều kiện thực tế
- Các công thức:
 - + Tỷ lệ bệnh dưới 10 %
 - + Tỷ lệ bệnh: 10-20%

- + Tỷ lệ bệnh: 20-30 %
- + Tỷ lệ bệnh: 30-40 %
- Thời điểm phun:
 - + Lần 1 khi bắt đầu thấy triệu chứng bệnh xuất hiện
 - + Lần 2: 15 ngày sau đó
 - + Lần 3: 60 ngày sau sạ
- Thuốc thí nghiệm: Boom Flower n, K-H
- Liều lượng: theo khuyến cáo của nhà sản xuất
- Chọn các ruộng có tỷ lệ bệnh khác nhau trên cùng một cánh đồng, các ruộng thí nghiệm đảm bảo cùng giống, thời gian sạ, lượng giống sạ, các chế độ phân bón và chăm sóc tương đối đồng đều
- Theo dõi một số chỉ tiêu cấu thành năng xuất: chồi/m², số bông/m²: Điều tra 3 điểm, mỗi điểm 3 m²
- Tỷ lệ hạt chắc/bông: thu ngẫu nhiên 3 điểm, 100 bông/điểm
- P1000 (gr)
- Năng suất thực tế/công thức (tấn/ha)
- Địa điểm: xã Mỹ Phú, Thủ Thừa, Long An; Long Định, Châu Thành, Tiền Giang và bổ sung ở các xã khác thuộc các địa phương trên
- Thời gian: 2007 - 2009

2.3.33. Phương pháp thử nghiệm một số biện pháp kỹ thuật khôi phục quần thể ruộng lúa bị nhiễm bệnh

Điều tra xác định tỷ lệ bệnh

* Điều tra đánh giá tỷ lệ bệnh

Phương pháp điều tra như phần 2.3.14

- Thời gian điều tra

+ Lần 1: bắt thấy xuất hiện triệu chứng bệnh

+ Lần tiếp theo: 10, 20 ngày sau điều tra lần 1

* Biện pháp kỹ thuật

- Phun trừ rầy nâu bằng thuốc hóa học

- Ngừng bón đạm

- Rút nước, thay nước mới

- Bón bổ sung lân: 150 kg Supe lân

- Bón bổ sung Kali: 30-50 kg Kali clorua

- Bón vôi: 200 kg/ha

- Phun chất kích thích sinh trưởng:

+ Boom Flower n với liều lượng 50 ml/bình 16 lít

+ Số lần phun

Lần 1 ngay sau khi xuất hiện triệu chứng

Lần 2: cách lần 1 7-10 ngày

Lần 3: 60 ngày sau sạ

- Chỉ tiêu theo dõi

+ Tỷ lệ bệnh

+ Trọng lượng 1000 hạt (g)

+ Số chồi/khóm

+ Số bông/m²

+ Số hạt/bông

+ Tỷ lệ chắc (%)

+ Năng suất thực tế

- Địa điểm: xã Mỹ Phú, Thủ Thừa, Long An

- Thời gian: 2007 - 2010

2.3.34. Phương pháp đánh giá phòng trừ môi giới tới tỷ lệ bệnh

- Thí nghiệm bố trí ô lớn không nhắc lại
- Diện tích ô thí nghiệm: 500 m²
- Các công thức có giống, thời vụ, phân bón tương tự nhau
- Công thức thí nghiệm
 - + Xử lý hạt giống bằng Cruiser Plus 312.5 FS, không tiến hành phun thuốc trừ rầy nhập cư
 - + Không xử lý hạt giống, phun thuốc trừ rầy nhập cư bằng thuốc Oshin 20 WP
 - + Xử lý hạt giống bằng Cruiser Plus 312.5 FS, phun thuốc Oshin 20 WP trừ rầy nhập cư
 - + Đối chứng: không xử lý, không phun thuốc trừ rầy nhập cư
- Phương pháp điều tra: như phần 2.3.14 (với bệnh), 2.3.16 (với rầy)
- Chỉ tiêu theo dõi
 - + Mật độ rầy trưởng thành 5, 10 và 15 ngày sau sạ
 - + Tỷ lệ bệnh (%) ở 50 ngày sau sạ
- Địa điểm: xã Mỹ Phú, Thủ Thừa, Long An.
- Thời gian: 2007 - 2010

2.3.35. Phương pháp xây dựng mô hình

Mô hình được xây dựng theo phương pháp thúc đẩy Push- Pull có sự tham gia của cộng đồng và kết hợp mô hình liên kết 4 nhà

- Địa điểm: ấp 4 xã Mỹ Phú huyện Thủ Thừa tỉnh Long An; ấp Cầu Tre xã Phú Cần huyện Tiểu Cần tỉnh Trà Vinh; Thị trấn Võ Xu, huyện Đức Linh tỉnh Bình Thuận; HTX Hòa Thành Tây, huyện Đông Hòa; HTX Hòa An Tây, Hòa Trị 1, 2, Hòa Quang Nam, Hòa Thắng 2, Hòa An Đông huyện Phú Hòa tỉnh Phú Yên

2.3.36. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý theo các phương pháp và công thức chuyên biệt hoặc xử lý theo các phương pháp xử lý thông kê sinh học thông thường

2.3.37. Địa điểm, thời gian nghiên cứu

- Địa điểm nghiên cứu

+ Trạm nghiên cứu tạm thời của Viện BVTV tại Long An, Trà Vinh, Phú Yên và Bình Thuận

+ Các tỉnh Long An, Tiền Giang, Phú Yên, Bình Định, Khánh Hòa và Ninh Thuận

+ Phòng Công nghệ tế bào thực vật, Viện Công nghệ sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

+ Phòng Thí nghiệm trọng điểm Công nghệ gen, Viện Công nghệ sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Thời gian nghiên cứu:

8/2007 – 11/2010

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả điều tra thu thập và lưu giữ mẫu bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và các loài môi giới

3.1.1. Kết quả điều tra bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá tại các tỉnh Duyên Hải Nam Trung bộ

Kết quả điều tra trong 2 năm 2007-2008 tại các tỉnh Duyên Hải Nam Trung bộ cho thấy rầy nâu hiện diện ở tất cả các điểm, các vùng điều tra nhưng kết quả phân tích mẫu 342 mẫu lúa (tập trung thu thập các mẫu nghi ngờ có triệu chứng) đã thu thập chưa ghi nhận bệnh xuất hiện ở Bình Định, Phú Yên và Khánh Hòa, trong đó tại các tỉnh Bình Thuận, Ninh Thuận ghi nhận có một số mẫu dương tính với bệnh VL, LXL vậy đã có sự hiện diện của bệnh VL, LXL ở các tỉnh Ninh Thuận và Bình Thuận, tuy nhiên bệnh VL xuất hiện phổ biến hơn rất nhiều so với bệnh LXL (xem bảng 3.1)

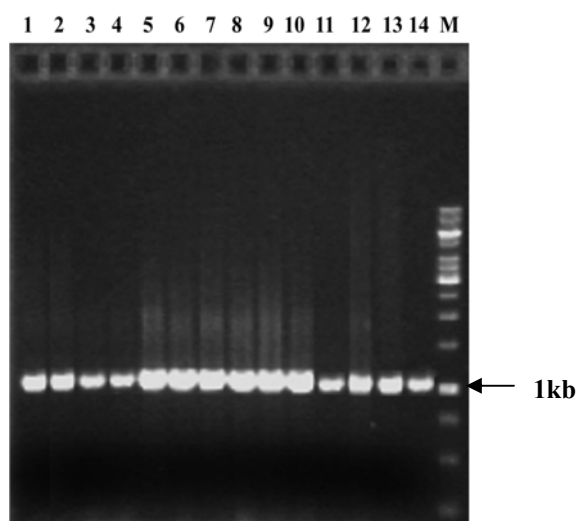
Trong khi đó, tất cả các mẫu lúa thu ở các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long như Sóc Trăng (ST), Cần Thơ (CT), Bạc Liêu (BL), Vĩnh Long (VL) , Đồng Tháp (ĐT), Tiền Giang (TG) và Trà Vinh (TV) đều dương tính với virus gây bệnh VL (Xem hình 3.1)

Các kết quả lây bệnh nhân tạo rầy vào đèn và rầy thu từ ruộng lúa tại Phú Yên cũng không ghi nhận được sự hiện diện của bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá ở Phú Yên.

Bảng 3.1. Kết quả kiểm tra bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá trên các mẫu lúa tại các tỉnh Duyên Hải Nam Trung bộ 2007-2008 bằng phương pháp RT-PCR

TT	Địa phương	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu dương tính
Bình Định			
1	Hoài Nhơn	15	0
2	Phù Cát	15	0
3	Tây Sơn	15	0
4	Hoài Ân	15	0
5	An Nhơn	15	0
Phú Yên			
6	Tuy An	15	0
7	Đông Hòa	15	0
8	Phú Hòa	15	0
9	Tây Hòa	15	0
10	Tuy Hòa	15	0
Khánh Hòa			
11	Ninh Hòa	15	0
12	Diên Khánh	17	0
13	Diên Khánh	15	0
14	Khánh Vĩnh	15	0
Ninh Thuận			
15	Ninh Phước	15	3 ^{RG} , 1 ^{RR}
16	Ninh Hải	14	1 ^{RG}
17	Ninh Sơn	13	1 ^{RG}
18	Thuận Bắc	15	1 ^{RG}
19	Thuận Nam	15	1 ^{RG}
Bình Thuận			
20	Bắc Bình	13	2 ^{RG}
21	Hàm Thuận Bắc	15	2 ^{RG}
22	Tuy Phong	15	1 ^{RG}
23	Đức Linh	15	4 ^{RG} , 1 ^{RR}
24	Hàm Thuận Nam	15	3 ^{RG}
Tổng số		342	19^{RG}, 2^{RR}

(1^{RG} dương tính với RGSV, 1^{RR} dương tính với RRSV)



Hình 3.1. Điện di sản phẩm RT-PCR gen CP của RGSV trên các mẫu lúa thu thập tại các địa phương .. Dòng (1). ST1; (2). ST2; (3). CT1; (4). CT2; (5). BL1; (6). BL2; (7). VL1; (8). VL2; (9). ĐT1; (10). ĐT2; (11). TG1; (12). TG2; (13). TV1; (14). TV2; (M) Thang chuẩn 1 kb. Gel agarose 1%.

Như vậy, tuy rầy nâu hiện diện ở tất cả các vùng, các điểm điều tra nhưng bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá mới chỉ ghi nhận xuất hiện ở Ninh Thuận trở vào.

3.1.2. Lưu giữ mẫu bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá

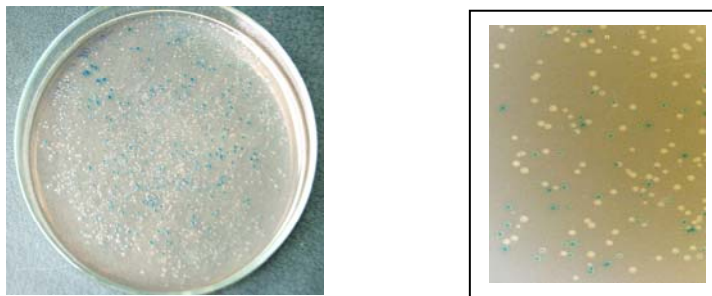
Liên tục trong thời gian thực hiện đề tài từ 2007 đến 2010, việc lưu giữ các mẫu lúa bệnh vàng lùn (VL), lùn xoắn lá (LXL) và rầy nâu đã được duy trì tại Trung tâm Bảo vệ thực vật phía Nam (ấp Mới, Long Định, Châu Thành, Tiền Giang), Trạm nghiên cứu tạm thời của viện Bảo vệ thực vật (ấp 4, Mỹ Phú, Thủ Thừa, Long An) và nhà lưới của Trạm Giống cây trồng Đức Linh (thị trấn Võ Xu, huyện Đức Linh, tỉnh Bình Thuận),

Các mẫu lúa, rầy này luôn đảm bảo phục vụ đầy đủ kịp thời các thí nghiệm tại chỗ và được gửi ra Viện BVTV làm mẫu tiêu bản. viện Công nghệ Sinh học để tiến hành nghiên cứu phân tích.

3.2. Phân lập các chủng virus gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá

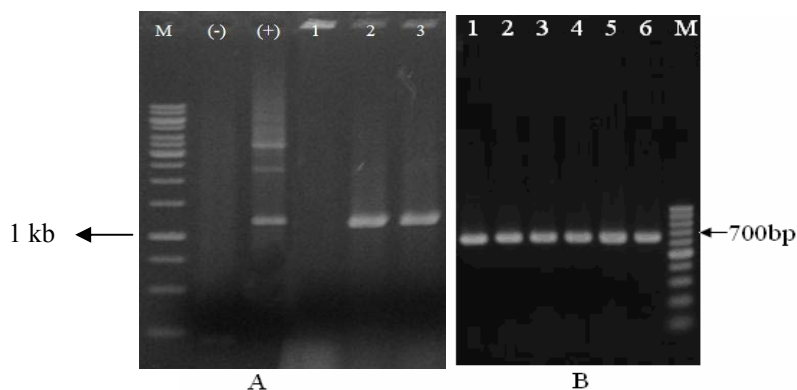
3.2.1. Phân lập chủng virus RGSV

Quá trình phân lập tách dòng được thực hiện bằng cách gắn sản phẩm PCR vào vectơ tách dòng pBT do phòng Công nghệ Tế bào thực vật cung cấp.



Hình 3.2. Kết quả biến nạp vectơ tái tổ hợp vào tế bào khả biến *E.coli* DH5α

Chọn các khuẩn lạc trắng của mỗi mẫu để chạy phản ứng colony-PCR với cặp mồi pUC18-F và pUC18-R để xác định khuẩn lạc có plasmid mang đoạn ADN mong muốn. Vì hai mồi nằm trên vector nên kích thước của đoạn ADN được khuếch đại sẽ lớn hơn đoạn ADN mong muốn khoảng 0,2Kb, Sản phẩm colony-PCR được điện di kiểm tra trên gel agarose 0,8% (xem hình 3.2).



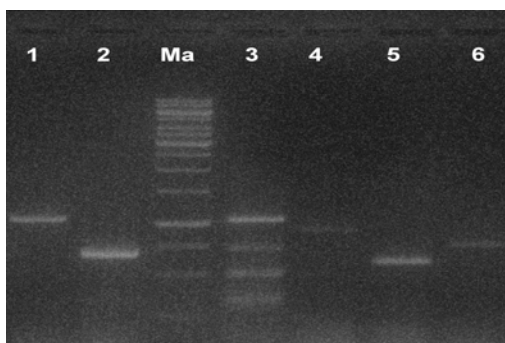
Hình 3.3. Kết quả Colony-PCR các dòng RGSV-CP và RRSV-frag1

M: Thang chuẩn 1Kb, (-): Đối chứng âm; (+): Đối chứng dương;
A. Các dòng RGSV-CP 1-3 (Long An), B. Các dòng RGSV-CP 1-6 (Long An)

Các dòng khuẩn lạc mang vector tái tổ hợp được nuôi trong 3ml LB lỏng, tách plasmid, xác định gen và so sánh với các trình tự tương ứng trên GenBank.

3.2.2. Phân lập virus RRSV

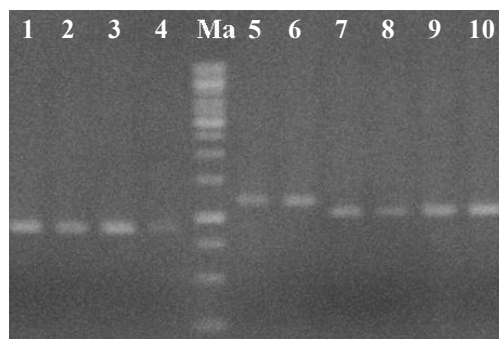
Quá trình phân lập tách dòng được thực hiện bằng cách gắn sản phẩm PCR vào vector tách dòng pBT do phòng Công nghệ Tế bào thực vật cung cấp.



Hình 3.4. Phản ứng PCR khuếch đại các đoạn mong muốn trong genome RRSV

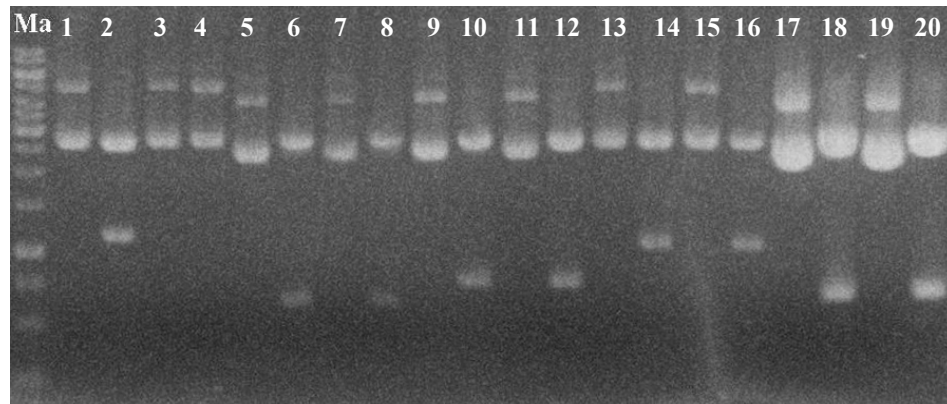
Ma: Marker 1kb; (-): Đối chứng âm; (+): Đối chứng dương; (1-6): các đoạn DNA được nhân lên bằng các cặp mồi đặc hiệu

Sau khi cấy trải trên môi trường chọn lọc, các dòng E.coli DH5-alpha mang vector tái tổ hợp được kiểm tra bằng phương pháp Colony-PCR với cặp mồi vector pUC18 F&R (xem hình 3.5).



Hình 3.5. Kiểm tra một số dòng khuẩn lạc mang vector tái tổ hợp chứa đoạn DNA của RRSV. Các giếng 1-10: các dòng khuẩn lạc 1-10, Ma: Thang chuẩn 1Kb (Fermentas)

Sau khi chọn khuẩn lạc trắng tương ứng với các giếng sản phẩm colony-PCR có kích thước như mong muốn và nuôi trong 3ml LB lỏng, tiến hành tách plasmid theo bộ kit Bioneer. Để kiểm tra sản phẩm tách plasmit và khẳng định một lần nữa sự có mặt của đoạn DNA quan tâm trong plasmid đã được tinh sạch, một lượng nhỏ plasmit được sử dụng để cắt bằng enzym *Bam*HI (xem hình 3.6)



Hình 3.6. Kiểm tra sự có mặt của vector tái tổ hợp bằng enzyme *Bam*HI

Ma: Thang chuẩn 1Kb; các giếng đánh số lẻ: plasmid chưa cắt, các giếng đánh số chẵn: plasmid cắt bằng *Bam*HI

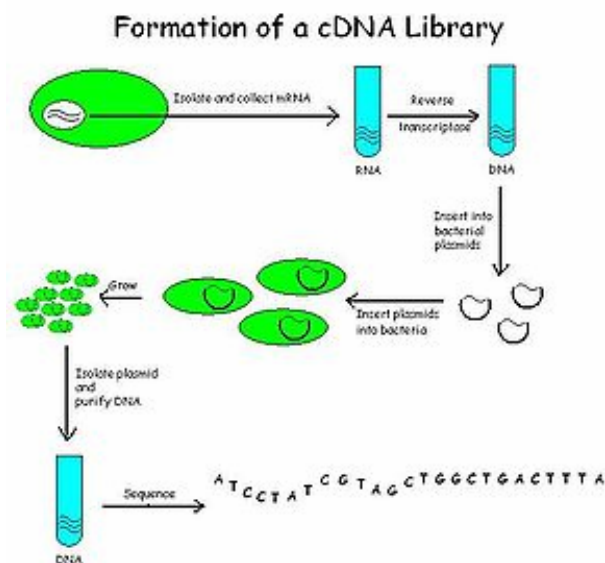
3.3. Xây dựng thư viện cDNA của virus gây bệnh VL, LXL

Thư viện DNA là một tập hợp các đoạn DNA khác nhau được tách dòng, có hai loại thư viện DNA:

- Thư viện genome: chứa các đoạn DNA đại diện cho toàn bộ genome của một loài nào đó, thư viện này thường được tạo bằng phage λ
- Thư viện cDNA: chỉ chứa các phân tử DNA bổ sung được tổng hợp từ các phân tử RNA thông tin trong tế bào. Ưu thế của thư viện cDNA là nó chỉ chứa vùng mã hóa trong genome. Để chuẩn bị thư viện cDNA, bước đầu tiên là phải tách chiết RNA thông tin của loại tế bào mong muốn

Các bước tạo thư viện cDNA

- Tách RNA thông tin: Tách RNA bằng cách sử dụng dung dịch Trizol và sử dụng cột gắn oligo-dT để gắn các sợi RNA có đuôi poly-A. Phần RNA không gắn lên cột sẽ được rửa qua cột. RNA thông tin được tách khỏi cột bằng cách sử dụng buffer hòa tan và nhiệt độ.



Hình 3.7. Sơ đồ xây dựng thư viện cDNA

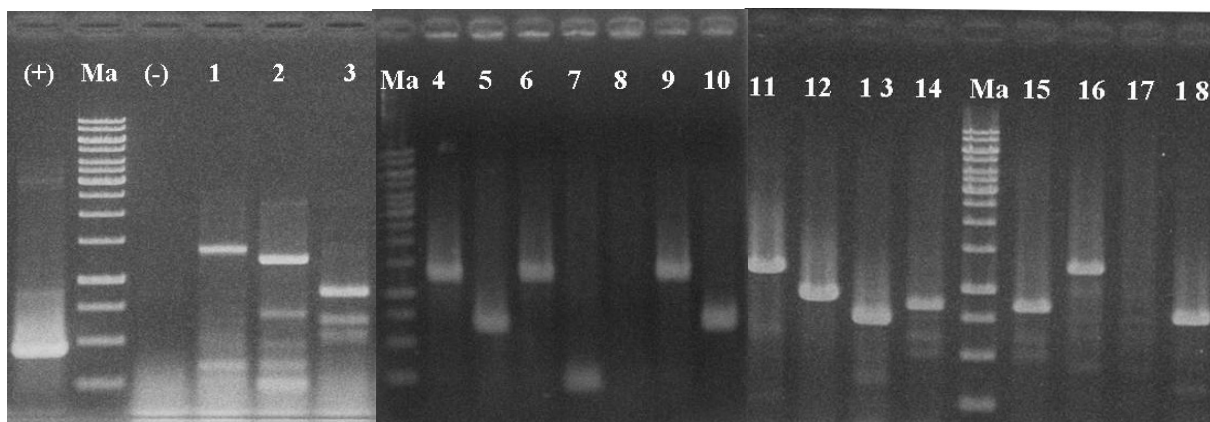
- Xây dựng thư viện cDNA: Sau khi RNA thông tin được tách ra, oligo-dT được sử dụng làm mồi gắn vào đuôi poly-A, tạo ra đầu 3'-OH tự do. Đầu 3' này sẽ tiếp tục được kéo dài nhờ enzyme reverse transcriptase để tạo sợi DNA bổ sung. Sợi RNA ban đầu được loại bỏ bằng enzyme RNase H, do đó còn lại cDNA sợi đơn. cDNA sợi đơn này được chuyển thành sợi đôi nhờ DNA polymerase. Tuy nhiên, để DNA polymerase tổng hợp được sợi bổ sung, cần có đầu 3'-OH tự do. Điều này được thực hiện nhờ cDNA sợi đơn cuộn lại tạo ra một cấu trúc kẹp tóc ở đầu 3'. Polymerase kéo dài đầu 3', sau đó cấu trúc vòng này được mở ra nhờ hoạt động cắt của S1 nuclease. Các enzyme giới hạn và DNA ligase sau đó được sử dụng để chèn đoạn DNA sợi đôi vào plasmid. Thông

thường, vi khuẩn chứa plasmid mang đoạn chèn sẽ được chọn lọc bằng kháng sinh và nhân lên để tạo thư viện và lưu giữ.

3.3.1. Xây dựng thư viện cDNA của virus RGSV

RNA tổng số của virus được tách từ các mẫu lúa có triệu chứng điển hình tại tỉnh Long An được sử dụng để tổng hợp cDNA bằng các cặp mồi ngẫu nhiên (Fermentas). Phản ứng PCR được thực hiện với các cặp mồi đặc hiệu được thiết kế để nhân các phân đoạn khác nhau trong genome của virus RGSV.

Kết quả điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 0,8% (xem hình 3.8) cho thấy, đối chứng âm không xuất hiện băng vạch nào, điều này cho thấy các mẫu không bị nhiễm DNA hay RNA tạp. Đối chứng dương lên một băng rất rõ có kích thước 0,4 kb, chứng tỏ thành phần và điều kiện đã thiết lập là phù hợp để nhân đoạn gen mong muốn.



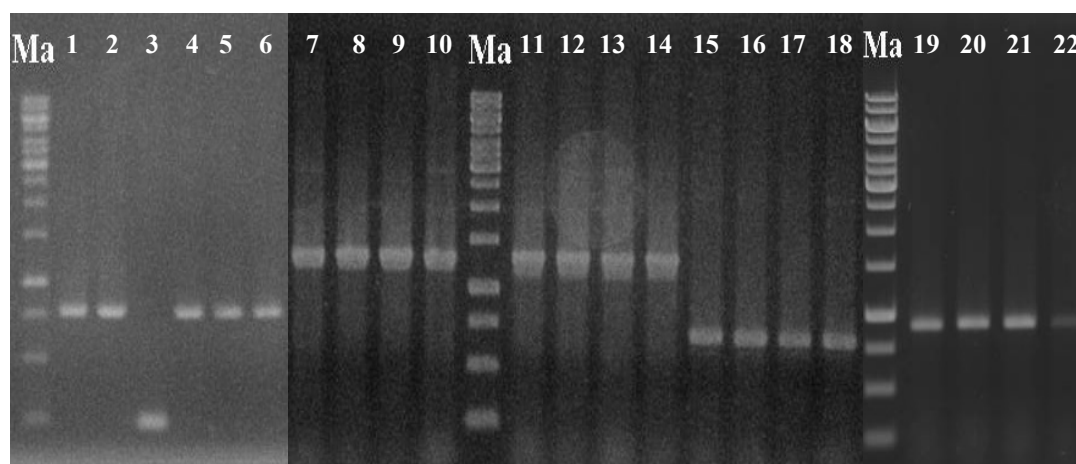
Hình 3.8. Phản ứng PCR khuếch đại các đoạn mong muốn trong genome RGSV

Ma: Marker 1kb; (-): Đối chứng âm; (+): Đối chứng dương; (1-18): các đoạn DNA được nhân lên bằng các cặp mồi đặc hiệu

Như vậy, RNA thu được có chất lượng tốt và kết quả của phản ứng PCR này là đáng tin cậy. Ở các giếng còn lại (giếng 1-18) đều xuất hiện các băng có

kích thước tương đương với kích thước dự tính, cho thấy sự xuất hiện của virus RGSV trong mẫu lúa nghi nhiễm bệnh thu tại Long An, đồng thời chứng tỏ các cặp mồi là thích hợp để nhân dòng các đoạn DNA mong muốn.

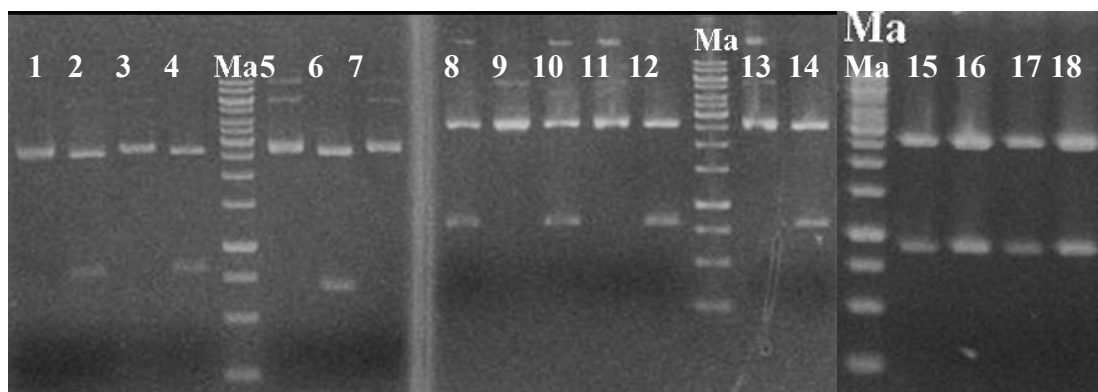
Các băng DNA được thổi gel, ghép vào vector tách dòng, biến nạp vào tế bào khả biến *E. coli* DH5- α , nuôi trên môi trường LB chọn lọc nhằm thu các dòng khuẩn lạc mang vector tái tổ hợp. Phương pháp colony-PCR bằng cặp mồi pUC-18 F&R nhằm kiểm tra dòng khuẩn lạc dương tính. Vì hai mồi pUC-18 F&R nằm trên vector nên kích thước của đoạn ADN được khuếch đại sẽ lớn hơn đoạn ADN mong muốn khoảng 0,2Kb. Sản phẩm colony-PCR được điện di kiểm tra trên gel agarose 0,8% (xem hình 3.9).



Hình 3.9. Kiểm tra một số dòng khuẩn lạc mang vector tái tổ hợp chứa đoạn DNA của RGSV. Các giếng 1-20: các dòng khuẩn lạc 1-20; Ma: Thang chuẩn 1Kb (Fermentas)

Những dòng khuẩn lạc mang vector tái tổ hợp được nuôi trong môi trường LB lỏng có bổ sung 50 mg/l Carbenicillin, tách plasmid và kiểm tra bằng enzyme BamHI (xem hình 3.10). Các plasmid mang đoạn chèn có kích thước dự

tính được tinh sạch và đọc trình tự bằng máy ABI PRISM® 3100 Avant Genetic Analyzer.



Hình 3.10. Kiểm tra sự có mặt của vector tái tổ hợp bằng enzyme *Bam*HI

Ma: Thang chuẩn 1Kb; giếng 1-14 : các giếng đánh số lẻ: plasmid chưa cắt, các giếng đánh số chẵn : plasmid cắt bằng *Bam*HI ; giếng 15-18 : plasmid cắt bằng *Bam*HI của các dòng 3I, 3II và 12I và 12II

So sánh các trình tự thu được với các trình tự nucleotide đã được công bố trên Genbank (sử dụng chương trình BLAST, NCBI) cho thấy các đoạn gene thu được đúng là các phân đoạn khác nhau trong genome của RGSV (xem hình 3.11 và phụ lục 3.1, 3.2).

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
AB032180.1	Rice grassy stunt virus RNA 1, complete sequence	1482	1482	100%	0.0	95%
AB009656.1	Rice grassy stunt virus genomic RNA, complete sequence of RNA1	1482	1482	100%	0.0	95%
AF509470.1	Rice grassy stunt virus segment RNA1, complete sequence	1448	1448	100%	0.0	95%

Hình 3.11. Kết quả BLAST phân đoạn RGSV-1

Rice grassy stunt virus RNA 1, complete sequence
Length=9760 GENE ID: 995264 RGSVs1gp1 | 18.9K proteín [Rice grassy stunt virus]
(10 or fewer PubMed links)

Score = 2569 bits (1391), Expect = 0.0
Identities = 1431/1451 (99%), Gaps = 0/1451 (0%)
Strand=Plus/Plus

Query	1	TAAGAACATCCTATGAAAGAGAGAAACATTAAGTGCCTCTTTCTCCATTTGGATTTTCGTC	60
Sbjct	1000	TAAGAACATTTTATGAAAGAGAGAAACATTAAGTGCCTCTTTCTCCATTTGGATTTTCGTC	1059
Query	61	TTGCTCCTCAGCAAGATCTCTAGCCAACCTACACAGGTGTCCCAAGCTTTCATCTTTTAT	120
Sbjct	1060	TTGCTCCTCAGCAAGATCTCTAGCCAACCTACACAGGTGTCCCAAGCTTTCATCTTTTAT	1119
Query	121	TGTCATATCAATAGTTTTATATGCTTGGCTAATCCTGGTTAATAGTGACTCCATACTTTC	180
Sbjct	1120	TGTCATATCAATAGTTTTATATGCTTGGCTAATCCTGGTTAATAGTGACTCCATACTTTC	1179
Query	181	CAACTCTTCACAAACTTCCTTGTCTTCTTGAATACTCTCAGGATAATCATGAGCTAGCCT	240
Sbjct	1180	CAACTCTTCACAAACTTCCTTGTCTTCTTGAATACTCTCAGGATAATCATGAGCTAACCT	1239
Query	241	ATCTCTTGCTGCCTTGCTTAGCTTAGATAGTTGAACATCTTTTGGTAGCCTAATGATGA	300
Sbjct	1240	ATCTCTTGCTGCCTTGCTTAGCTTAGATAGTTGAACATCTTTTGGTAGCCTAATGATGA	1299
Query	301	TTCAAAAAGTTCTCTGCACCAACTCTTCAGTCTTTTCTCATCAACTAGATCTGGAACTG	360
Sbjct	1300	TTCAAAAAGTTCTCTGCACCAACTCTTCAGTCTTTTCTCATCAACTAGATCTGGAACTG	1359
Query	361	ACCCAAATTCATCTGTGTGAATAAACTAGTGGGTGCTCTCTGGTCTCTCCACAATATCCA	420
Sbjct	1360	ACCCAAATTCATCTGTGTGAATAAACTAGTGGGTGCTCTCTGGTCTCTCCACAATATCCA	1419
Query	421	GTCTTTAAGCCAATCATCCATTTTGAGTCTTTTATCATATTACATTCTGCTGTGACTG	480
Sbjct	1420	GTCTTTAAGCCAATCATCCATTTTGAGTCTTTTATCATATTACATTCTGCTGTGACTG	1479
Query	481	TAGCTCACTGGTGATCACATCTTCTTTGAAAGATGAACAGTCAACACTGTTGTGTAAAG	540
Sbjct	1480	TAGCTCACTGGTGATCACATCTTCTTTGAAAGATGAACAGTCAACACTGTTGTGTAAAG	1539
Query	541	TGCTCTCTCACCAGTGCACTCTTGAAGCAATCTTATGGAGTGATCAGTTATGTCAATACA	600
Sbjct	1540	TGCTCTCTCACCAGTGCACTCTTGAAGCAATCTTATAGAGTGATCAGTTATGTCAATACA	1599
Query	601	GAATGAGTCTGACAAAAATGGCTGATGTGTTATCAACTTAGGATCTAGAACTATTGGACA	660
Sbjct	1600	GAATGAGTCTGACAAAAATGGCTGGTGAATTATCAACTTGGGATCTAGAACTATTGGACA	1659
Query	661	TCCATCTCTATCACTCATTTGTACTCTTCGAAATTCAAACATCCTCCCAAGCATTTTACA	720
Sbjct	1660	TCCATCTCTATCACTCATTTGTACCTTCGAAATTCAAACATCCTCCCAAGCATTTTACA	1719
Query	721	GTCTCTGTTACCATATGCCATAGTGTAGTGAGAATTTCCCACTCGGTGTTCTCTTGACCA	780
Sbjct	1720	GTCTCTGTTACCATATGCCATAGTGTAGTGGAATTTCCCACTCGATGTTCTCTTGACCA	1779
Query	781	TTCCTTCAATGATTGTATAGTATCTGATAGGTGCATTGCACTAGATAGACTAACACTTTT	840
Sbjct	1780	TTCCTTCAATGATTGTATAGTATCTGATAGGTGCATTGCACTAGATAGACTAACACTTTT	1839
Query	841	GATGTAAGACTCCATATTCTGATCAGAGTTTACTTCAATCTGAACTGCTACATCATGTAG	900
Sbjct	1840	GATGTAAGACTCCATATTTTGATCAGAGTTTACTTCAATCTGAACTGCTACATCATGTAG	1899
Query	901	ATAACCTCTCCATACACCTGGTCCGAAGTACTTCTTTTCCCTCCCTGTTATATGATTGCTT	960
Sbjct	1900	ATAACCTCTCCAAACACCTGGTCCGAAGTACTTCTTTTCCCTCCCTGTTATATGATTGCTT	1959

Query	961	TTGGACGTAGCCACCCAGTAGACCTAGATTACCAATTCTTATCTTCTCCATAATGTCTCT	1020
Sbjct	1960	TTGGACGTAGCCACCTAGTAGACCTAGATTACCAATTCTTATCTTCTCCATAATGTCTCT	2019
Query	1021	CCTACAGTATTTAGCTTCATCCCTCAGCTTCATTAGGTCATAACTACTCTTAACAATCCT	1080
Sbjct	2020	CCTACAGTATTTAGCTTCATCCCTCAGTTTCATTAGGTCATAACTACTCTTAACAATCCT	2079
Query	1081	GTGGCCAATCATTGTTAACCAGTTCCTCGTTGGATCATTAGCTGCTTCTGCTTTTAGTAA	1140
Sbjct	2080	GTGACCAATCATTGTTAACCAGTTCCTCGTTGGATCATTAGCTGCTTCTGCTTTTAGTAA	2139
Query	1141	TTCTAAGCTTAGCAGCATTTTTGTGTTGGTTTCCTTTTGTATAGTGTGATATGCATC	1200
Sbjct	2140	TTCTAAGCTTAGCAGCATTTTTGTGTTGGTTTCCTTTTGTATAGTGTGATATGCATC	2199
Query	1201	CTCTAGAACCCTATCACAGTATATGTACTGACAATATGCTCTTCTAGCAGAAGCACTGAG	1260
Sbjct	2200	CTCTAGAACCCTATCACAGTATATGTACTGACAATATGCTCTTCTAGCAGAAGCACTGAG	2259
Query	1261	ACTATTTATAGTGAGATCTTCAAAGTTTTCTCCAGCTCCTCATATCCCATACCACTGTC	1320
Sbjct	2260	ACTATTTATAGTGAGATCTTCAAAGTTTTCTCCAGCTCCTCATATCCCATACCACTGTC	2319
Query	1321	AAGCAACTCTTTCTCCACTAATTGCCCAATTCTTATTAAGGACCTGAAACCACCAAGAGA	1380
Sbjct	2320	AAGCAACTCTTTCTCCACTAATTGCCCAATTCTTATTAAGGACCTGAAACCACCAAGAGA	2379
Query	1381	AAGGTTTTGATCAAACCTCGCCAAGATGATGTTCTACCAAATTCATGTCATCCTGAGTGTT	1440
Sbjct	2380	AAGGTTTTGATCAAACCTCGCCAAGATGATGTTCAACCAAATTCATGTCATCCTGAGTGTT	2439
Query	1441	GTAGTCTCCAG	1451
Sbjct	2440	GTAGTCTCCAG	2450
Hình			

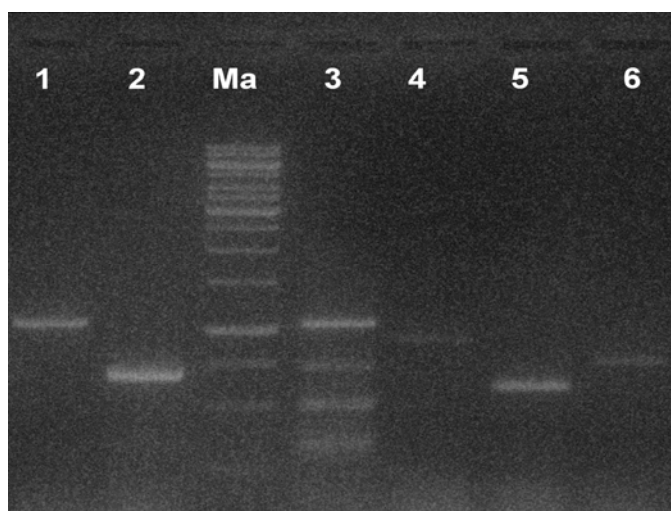
Hình 3.12. 1 phân đoạn trong sợi RGSV1

Kết quả, gần như toàn bộ genome của virus RGSV ở Việt Nam đã được giải mã, và đăng ký được 41 trình tự gen của virus RGSV trên ngân hàng gen quốc tế (Genbank) (xem phụ lục 3.3)

3.3.2. Xây dựng thư viện cDNA của virus RRSV

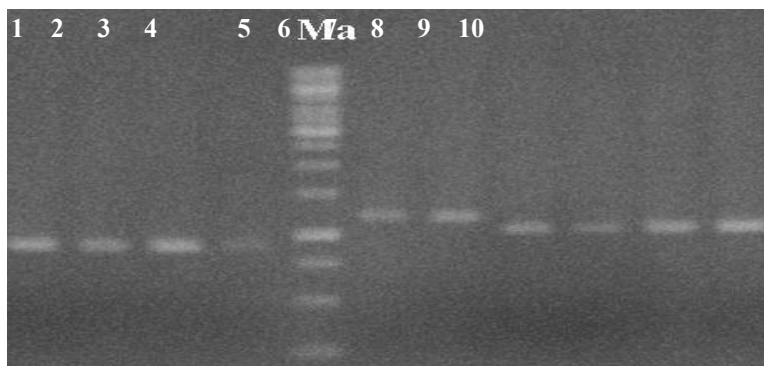
RNA tổng số được tách chiết từ các mẫu lá lúa có các triệu chứng điển hình bệnh LXL được dùng làm nguyên liệu cho phản ứng tổng hợp cDNA và PCR nhân dòng các đoạn gene mong muốn bằng những cặp mồi đặc hiệu cho RRSV. Kết quả PCR (xem hình 3.13)

Sau khi cấy trải trên môi trường chọn lọc, các dòng E.coli DH5-alpha mang vector tái tổ hợp được kiểm tra bằng phương pháp Colony-PCR với cặp mồi vector pUC18 F&R (xem hình 3.14).



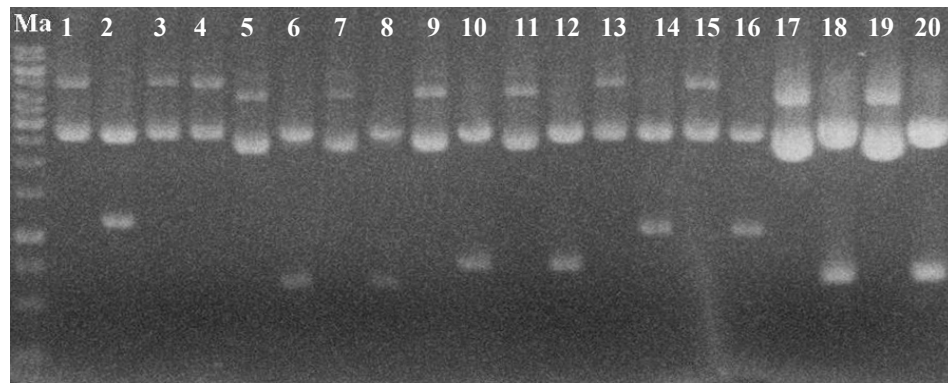
Hình 3.13. Phản ứng PCR khuếch đại các đoạn mong muốn trong genome RRSV

Ma: Marker 1kb; (-): Đối chứng âm; (+): Đối chứng dương; (1-6): các đoạn DNA được nhân lên bằng các cặp mồi đặc hiệu



Hình 3.14. Kiểm tra một số dòng khuẩn lạc mang vector tái tổ hợp chứa đoạn DNA của RRSV. Các giếng 1-10: các dòng khuẩn lạc 1-10, Ma: Thang chuẩn 1Kb (Fermentas)

Sau khi chọn khuẩn lạc trắng tương ứng với các giếng sản phẩm colony-PCR có kích thước như mong muốn và nuôi trong 3ml LB lỏng, chúng tôi tiến hành tách plasmid theo bộ kit Bioneer. Để kiểm tra sản phẩm tách plasmid và khẳng định một lần nữa sự có mặt của đoạn DNA quan tâm trong plasmid đã được tinh sạch, một lượng nhỏ plasmid được sử dụng để cắt bằng enzyme *Bam*HI (xem hình 3.15).



Hình 3.15. Kiểm tra sự có mặt của vector tái tổ hợp bằng enzyme *Bam*HI

Ma: Thang chuẩn 1Kb; các giếng đánh số lẻ: plasmid chưa cắt, các giếng đánh số chẵn: plasmid cắt bằng *Bam*HI

So sánh các trình tự thu được với các trình tự nucleotide đã được công bố trên Genbank (sử dụng chương trình BLAST, NCBI) cho thấy các đoạn gene thu được đúng là các phân đoạn khác nhau trong genome của RRSV (xem hình 3.13 và phụ lục 3.4, 3.5).

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
U66712.1	Rice ragged stunt virus non-structural protein Pns10 gene, complete	1720	1720	100%	0.0	99%
AY512586.1	Rice ragged stunt virus nonstructural protein RRSV-P10 (RRSV-S10)	1633	1633	95%	0.0	99%

Hình 3.16. Kết quả BLAST phân đoạn RRSV-1

Rice ragged stunt virus nucleic acid-binding protein P6 gene,
complete cds
Length=1785

Score = 638 bits (345), Expect = 8e-180
Identities = 347/348 (99%), Gaps = 0/348 (0%)
Strand=Plus/Plus

```

Query  1      ACTGAGCAAGCTAGTCCCAAGACCGAAATCGTG6CTGCCACAGTTCATAAAATTCCTGTC  60
          |||
Sbjct  703      ACTGAGCAAGCTAGTCCCAAGACCGAAATCGTG6CTGCCACAGTTCATAAAATTCCTGTC  762

Query  61      AATCATGCCGAGGCGGATAAACGCGTAGTGGTCTTGAAGGGTCGGACAAAAGATAAAGCC  120
          |||
Sbjct  763      AATCATGCCGAGGCGGATAAACGCGTAGTGGTCTTGAAGGGTCGGACAAAAGATAAAGCC  822

Query  121     CAAGGGGTTAGAGAGGTAACGAGTTTAGCGAGAGATACAACGGTGTGGAACATGAGTTG  180
          |||
Sbjct  823      CAAGAGGTTAGAGAGGTAACGAGTTTAGCGAGAGATACAACGGTGTGGAACATGAGTTG  882

Query  181     ATGCAATCAGTCGGTGATGATAGTGTGCAAGTGAGCGGTGAATTGAGCGGCTTCGGTGAC  240
          |||
Sbjct  883      ATGCAATCAGTCGGTGATGATAGTGTGCAAGTGAGCGGTGAATTGAGCGGCTTCGGTGAC  942

Query  241     GAGTCCTTCGAAGTGTCGAAAACGGATGTTGTCTGGAGTAGAGAACAAGCAATTGGCCATT  300
          |||
Sbjct  943      GAGTCCTTCGAAGTGTCGAAAACGGATGTTGTCTGGAGTAGAGAACAAGCAATTGGCCATT  1002

Query  301     GATCGAGTACCAGAACTTGAGCCCTGTGGGGAGGTGAGTGAGGACGAG  348
          |||
Sbjct  1003     GATCGAGTACCAGAACTTGAGCCCTGTGGGGAGGTGAGTGAGGACGAG  1050

```

Hình 3.17. phân đoạn trong sợi RRSV

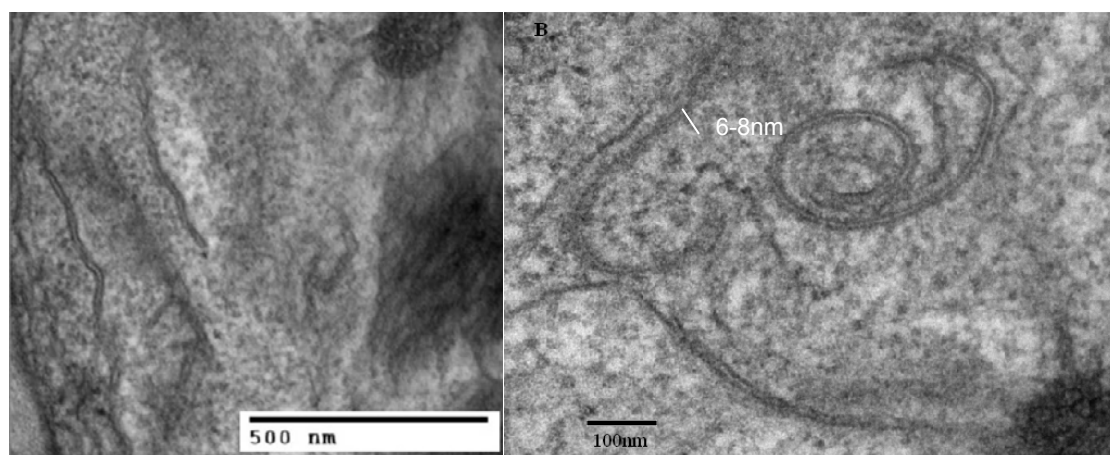
Kết quả, genome của virus RRSV ở Việt Nam đã được giải mã, và đăng ký được 12 trình tự gen của virus RRSV trên ngân hàng gen quốc tế (Genbank) (xem phụ lục 3.6)

3.4. Một số đặc điểm sinh học của virus RGSV và RRSV

3.4.1. Virus RGSV

3.4.1.1. Hình thái virus RGSV

Với mục đích nghiên cứu xác định đặc điểm hình thái virus, chúng tôi đã tiến hành soi virus trên kính hiển vi điện tử, cho tới nay việc quan sát virus RGSV bằng kính hiển vi điện tử gặp rất nhiều khó khăn. Để quan sát có thể dùng 2 phương pháp: siêu ly tâm mẫu để thu được dịch là các virus và cắt lát cực mỏng để quan sát virus. Tuy nhiên, phương pháp thứ nhất đòi hỏi phải có thiết bị siêu ly tâm và quá trình thu dịch chiết tương đối phức tạp, tốn nhiều thời gian. Do vậy, chúng tôi lựa chọn phương pháp lát cắt cực mỏng và soi virus trên kính hiển vi điện tử (xem hình 3.18)



Hình 3.18. Ảnh hiển vi điện tử RGSV được soi dưới kính hiển vi điện tử JEOL 1010 bằng phương pháp cắt lát siêu mỏng

Virus RGSV có dạng hình sợi dài, đường kính 6-8nm, dài khoảng 2000nm, tồn tại chủ yếu ở dạng riêng rẽ. Không giống như trong các tài liệu công bố trước đây, virus ít tồn tại ở dạng bó cuộn mà phân bố riêng rẽ

3.4.1.2. So sánh sự đa dạng di truyền giữa các trình tự nucleotide của RGSV phân lập tại Việt Nam với các trình tự tương ứng trên genbank

Bảng hệ số tương đồng (Bảng 3.3) và cây phát sinh chủng loại (xem hình 19) được xây dựng trên cơ sở so sánh các trình tự gen CP-RGSV giữa Long An (FN433644) với các trình tự tương ứng khác của ĐBSCL (17), của Nam Trung Bộ (2) và thế giới (3). Bảng 2 cho thấy trình tự gen CP-RGSV phân lập từ Long An có hệ số tương đồng cao (97,4-99,3%) so với các trình tự của ĐBSCL, Nam Trung Bộ và thế giới. Đặc biệt trình tự Long An (FN433644) có quan hệ di truyền gần gũi nhất với trình tự của Tiền Giang 1, Long An (GQ329710) và Hậu Giang với hệ số tương đồng tương ứng là: 99,3%, 99,3% và 99,2%. Điều này cho thấy các chủng RGSV phân lập tại Đồng bằng sông Cửu Long năm 2009 có thể có cùng một nguồn gốc, và có sự khác biệt nhiều hơn so với các chủng phân lập tại khu vực Nam Trung Bộ năm 2008.

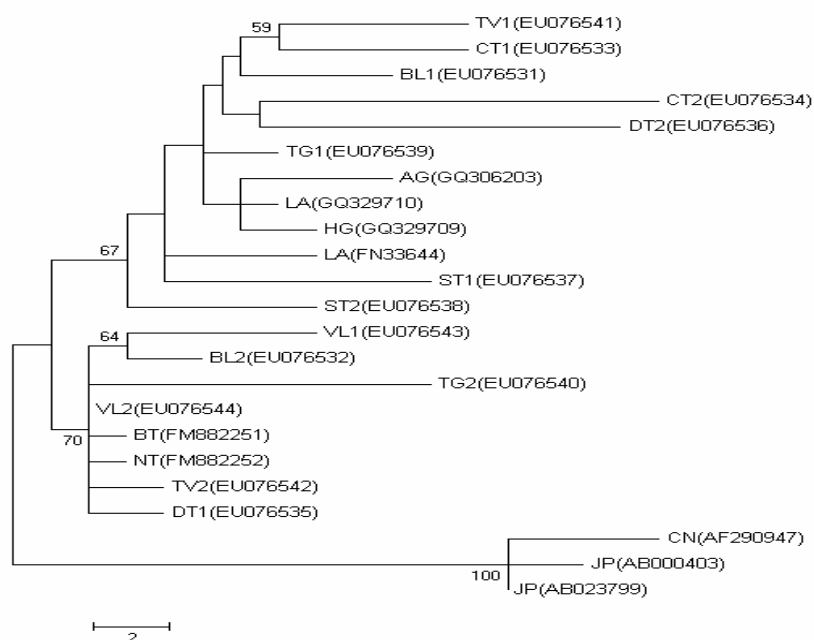
Kết quả về cây phát sinh chủng loại được xây dựng từ các trình tự gen CP-RGSV được thể hiện rõ ở hình 7. Các trình tự của Long An (FN33644), ĐBSCL, Nam Trung Bộ và thế giới chia làm 2 nhánh khác nhau rõ rệt: nhánh thế giới và Việt Nam. Nhánh thế giới bao gồm 3 trình tự của thế giới (Nhật Bản (2) và Trung Quốc (1)) đã tạo thành một nhóm riêng với giá trị bootstrap 100% so với nhánh Việt Nam. Hơn nữa hệ số tương đồng về trình tự nucleotide giữa trình tự của Trung Quốc so với hai trình tự của Nhật Bản JP(AB000403) và JB(AB023779) cao tương ứng là 99,4% và 99,6% (xem bảng 3.3), chứng tỏ mối quan hệ di truyền chặt chẽ giữa 3 chủng RGSV của thế giới được so sánh. Như vậy gen CP của chủng RGSV phân lập được ở Việt Nam là hoàn toàn độc lập so với chủng của thế giới. Điều này đồng nghĩa với việc bệnh VL&LXL xuất hiện ở ĐBSCL và Nam Trung Bộ của Việt Nam không bắt nguồn từ các nước lân cận mà do virus nội tại của Việt Nam.

Bảng 3.2. Hệ số tương đồng và sai khác về trình tự nucleotide giữa CP-RGSV của Long An với các trình tự ở DBSCL, Nam Trung Bộ và thế giới công bố trên GenBank

Hệ số sai khác

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23		
1		99.0	98.7	98.9	97.6	98.8	98.3	98.8	98.5	99.4	97.9	98.1	99.0	99.5	98.9	98.7	98.8	99.3	98.1	98.8	98.8	98.5	99.0	1	AG(GQ306203).seq
2	1.0		98.7	98.9	97.2	99.0	98.5	98.8	98.5	99.2	97.4	97.6	99.0	99.3	98.9	98.9	98.8	99.3	98.1	99.0	98.8	98.5	99.0	2	BL1(EU076531).seq
3	1.3	1.3		99.6	97.8	98.7	98.0	99.5	98.2	98.9	98.0	98.2	98.9	99.0	99.6	98.6	98.9	99.0	98.8	98.7	99.5	99.3	99.7	3	BL2(EU076532).seq
4	1.1	1.1	0.4		98.0	98.9	98.2	99.7	98.4	99.1	98.2	98.4	99.1	99.2	99.8	98.8	99.1	99.2	99.0	98.9	99.7	99.3	99.9	4	BT(FM882251).seq
5	2.4	2.8	2.3	2.1		97.2	96.5	97.9	96.7	97.9	99.4	99.6	97.4	97.8	98.0	97.1	97.4	97.5	97.3	97.2	97.9	97.5	98.1	5	CN(AF290947).seq
6	1.2	1.0	1.3	1.1	2.8		98.3	98.8	98.3	99.0	97.4	97.6	99.0	99.1	98.9	98.5	98.6	99.1	98.1	99.0	98.8	98.5	99.0	6	CT1(EU076533).seq
7	1.8	1.6	2.1	1.9	3.6	1.8		98.1	98.0	98.5	96.7	96.9	98.3	98.6	98.2	98.0	98.3	98.6	97.3	98.3	98.2	97.8	98.3	7	CT2(EU076534).seq
8	1.2	1.2	0.5	0.3	2.2	1.2	2.0		98.3	99.0	98.1	98.3	99.0	99.1	99.7	98.7	99.0	99.1	98.9	98.8	99.6	99.2	99.8	8	DT1(EU076535).seq
9	1.6	1.6	1.9	1.7	3.4	1.8	2.1	1.8		98.7	96.9	97.1	98.5	98.8	98.4	98.2	98.3	98.8	97.5	98.3	98.3	98.0	98.5	9	DT2(EU076536).seq
10	0.6	0.8	1.1	0.9	2.2	1.0	1.6	1.0	1.3		98.1	98.3	99.2	99.7	99.1	98.9	99.0	99.5	98.3	99.0	99.0	98.7	99.2	10	HG(GQ329709).seq
11	2.2	2.6	2.1	1.9	0.6	2.6	3.4	2.0	3.1	2.0		98.8	97.6	98.0	98.2	97.3	97.6	97.8	97.5	97.4	98.1	97.8	98.3	11	JP(AB000403).seq
12	2.0	2.4	1.9	1.7	0.4	2.4	3.1	1.8	2.9	1.8	0.2		97.9	98.2	98.4	97.5	97.9	98.0	97.5	97.6	98.3	98.0	98.5	12	JP(AB023799).seq
13	1.0	1.0	1.1	0.9	2.6	1.0	1.8	1.0	1.6	0.8	2.4	2.2		99.3	99.1	98.9	99.0	99.3	98.3	98.8	99.0	98.7	99.2	13	LA(FN33644).seq
14	0.5	0.7	1.0	0.8	2.3	0.9	1.4	0.9	1.2	0.3	2.1	1.9	0.7		99.2	99.0	99.1	99.6	98.4	99.1	99.1	98.8	99.3	14	LA(GQ329710).seq
15	1.1	1.1	0.4	0.2	2.1	1.1	1.9	0.3	1.7	0.9	1.9	1.7	0.9	0.8		98.8	99.1	99.2	99.0	98.9	99.7	99.3	99.9	15	NT(FM882252).seq
16	1.3	1.1	1.4	1.2	2.9	1.6	2.1	1.3	1.9	1.1	2.7	2.5	1.1	1.0	1.2		98.7	99.0	98.0	98.5	98.7	98.4	98.9	16	ST1(EU076537).seq
17	1.2	1.2	1.1	0.9	2.6	1.5	1.8	1.0	1.8	1.0	2.4	2.2	1.0	0.9	0.9	1.3		99.1	98.3	98.6	99.0	98.7	99.2	17	ST2(EU076538).seq
18	0.7	0.7	1.0	0.8	2.5	0.9	1.4	0.9	1.2	0.5	2.3	2.1	0.7	0.4	0.8	1.0	0.9		98.4	99.1	99.1	98.8	99.3	18	TG1(EU076539).seq
19	2.0	2.0	1.2	1.0	2.7	2.0	2.7	1.1	2.5	1.8	2.5	2.5	1.8	1.7	1.0	2.1	1.8	1.7		98.3	98.9	98.5	99.1	19	TG2(EU076540).seq
20	1.2	1.0	1.3	1.1	2.8	1.0	1.8	1.2	1.8	1.0	2.6	2.4	1.2	0.9	1.1	1.6	1.4	0.9	1.8		98.8	98.6	99.0	20	TV1(EU076541).seq
21	1.2	1.2	0.5	0.3	2.2	1.2	1.9	0.4	1.8	1.0	2.0	1.8	1.0	0.9	0.3	1.3	1.0	0.9	1.1	1.2		99.2	99.8	21	TV2(EU076542).seq
22	1.6	1.6	0.7	0.7	2.5	1.6	2.3	0.8	2.1	1.3	2.3	2.1	1.3	1.2	0.7	1.7	1.3	1.2	1.6	1.4	0.8		99.4	22	VL1(EU076543).seq
23	1.0	1.0	0.3	0.1	2.0	1.0	1.8	0.2	1.6	0.8	1.8	1.6	0.8	0.7	0.1	1.1	0.8	0.7	0.9	1.0	0.2	0.6		23	VL2(EU076544).seq

AG(GQ306203): An Giang, BL1(EU076531): Bạc Liêu 1, BL2(EU976532): Bạc Liêu 2, BT(FM882251): Bình Thuận, CT1(EU076533): Cần Thơ 1, CT2(EU076534): Cần Thơ 2, CN(AF290947): Trung Quốc, DT1(EU076535): Đồng Tháp 1, DT2(EU076536): Đồng Tháp 2, HG(GQ329709): Hậu Giang; JP(AB000403): Nhật Bản, JB(AB023779): Nhật Bản, LA(FN33644): Long An; LA(GQ329710); NT(FM882252): Ninh Thuận, ST1(EU076537): Sóc Trăng 1, ST2(EU076538): Sóc Trăng 2, TG1(EU076539): Tiền Giang 1, TG2(EU076540): Tiền Giang 2, TV1(EU076541): Trà Vinh 1, TV2(EU076542): Trà Vinh 2, VL1(EU076543): Vĩnh Long 1, VL2(EU076544): Vĩnh Long 2



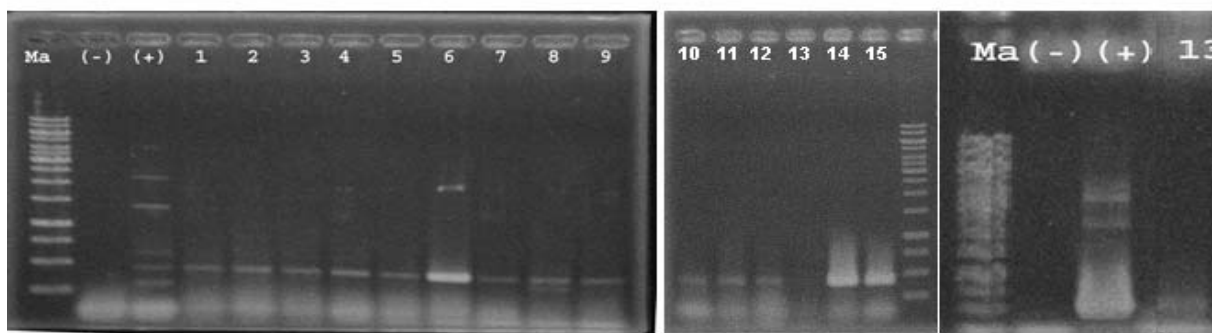
Hình 3.19. Cây phát sinh chủng loại xây dựng trên cơ sở so sánh trình tự gen CP của chủng RGSV phân lập từ Long An với các trình tự tương ứng ở ĐBSCL, Nam Trung Bộ và thế giới công bố trên GenBank

Cây phát sinh chủng loại được xây dựng trên cơ sở so sánh 23 trình tự (thế giới (3), ĐBSCL(18) và Nam Trung Bộ (2)) gen CP-RGSV lấy từ GenBank. Thanh bar trình bày số thay thế nucleotide. Các số trên mỗi nốt của cây phát sinh chủng loại là giá trị bootstrap tính theo phần trăm (1000 lần lặp lại). Chỉ những giá trị bootstrap > 50% được chỉ ra trên hình.

AG(GQ306203):AnGiang, BL1(EU076531):Bạc Liêu 1, BL2(EU976532): Bạc Liêu2, BT(FM882251):Bình Thuận, CT1(EU076533):Cần Thơ 1, CT2 (EU076534): Cần Thơ 2, CN(AF290947): Trung Quốc, DT1(EU076535): Đồng Tháp 1, DT2(EU076536): Đồng Tháp 2, HG(GQ329709): Hậu Giang; JP(AB000403): Nhật Bản, JB(AB023779): Nhật Bản, LA(FN33644): Long An; LA(GQ329710); NT(FM882252): Ninh Thuận, ST1(EU076537): Sóc Trăng 1,

ST2(EU076538): Sóc Trăng 2, TG1(EU076539): Tiền Giang 1 TG2(EU076540): Tiền Giang 2, TV1(EU076541): Trà Vinh 1, TV2(EU076542): Trà Vinh 2, VL1(EU076543): Vĩnh Long 1, VL2(EU076544): Vĩnh Long 2

3.4.1.3. Ảnh hưởng của một số hóa chất tới virus RGSV



Hình 3.20. Kiểm tra sự tồn tại của virus trong 15 công thức thí nghiệm bằng phản ứng PCR với cặp mồi đặc hiệu RGSV1 F&R

Lúa được phun Boom Flower n hoặc K-H ở các thời điểm khác nhau: trước 5 ngày khi lây bệnh nhân tạo hoặc sau 3 ngày khi lây nhiễm bệnh nhân tạo, trước hoặc sau khi cây lúa biểu hiện triệu chứng bệnh. Sau khi phun thuốc 5 ngày ở công thức phun thuốc cuối cùng tiến hành thu mẫu lúa ở tất cả các công thức thí nghiệm, bảo quản riêng rẽ và tiến hành kiểm tra sự tồn tại và phát triển của virus ở mỗi công thức. Với mỗi công thức thí nghiệm, cân chính xác 200 mg lá lúa, tách ARN, tổng hợp cDNA và tiến hành phản ứng PCR với cặp mồi đặc hiệu RGSV1 F&R. Sự có mặt của các băng ADN đặc hiệu với kích thước mong muốn (~ 0,4 kb) cho biết sự tồn tại của virus trong mẫu lúa đã thu

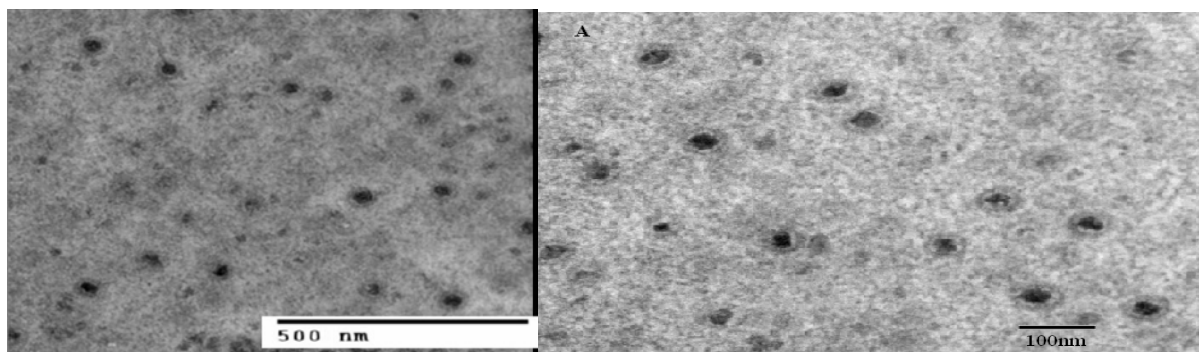
Hình 11 cho thấy, đối chứng âm không lên băng, chứng tỏ phản ứng không bị nhiễm ADN hoặc ARN ngoại lai. Đối chứng dương lên băng đặc hiệu có kích thước khoảng 0,4 kb, chứng tỏ phản ứng diễn ra tốt và kết quả là đáng tin cậy (xem hình 3.20). Ở các giếng từ 1 đến 15 đều xuất hiện băng ADN đặc

hiệu, chứng tỏ virus vẫn tồn tại ở tất cả các mẫu. Căn cứ vào độ đậm và rộng của các băng ADN ở các giếng, có thể thấy hàm lượng virus ở các mẫu lúa là khác nhau. Trong đó, lượng virus ở công thức 6 là lớn nhất, chứng tỏ việc phun KH 5 ngày rồi lây nhiễm bệnh vàng lùn có ảnh hưởng ít nhất tới sự sinh trưởng của virus trong cây lúa so với các công thức phun thuốc còn lại. Các thí nghiệm đều được lặp lại 3 lần và được kiểm tra trong các phản ứng độc lập. Điều này cho thấy Boom Flower n hoặc K-H có thể làm khả năng chống chịu của cây lúa và hạn chế khả năng phát triển của virus, còn chưa có khả năng ức chế hoàn toàn sự sinh trưởng của RGSV trong các mẫu lúa thí nghiệm.

3.4.2. Virus RRSV

3.4.2.1. Hình thái virus RRSV

Lựa chọn phương pháp lát cắt cực mỏng và soi virus trên kính hiển vi điện tử quan sát hình thái virus RRSV, các thể virus có đường kính khoảng 48 nm với cấu tạo gồm phần vỏ và phần trung tâm có thể quan sát rõ dưới kính hiển vi. Tuy nhiên, các gai của virus không được quan sát thấy ở độ phóng đại 30000 lần. Các thể virus cũng tồn tại ở dạng riêng rẽ mà không liên kết lại thành dạng chuỗi như một số tác giả đã công bố [30].



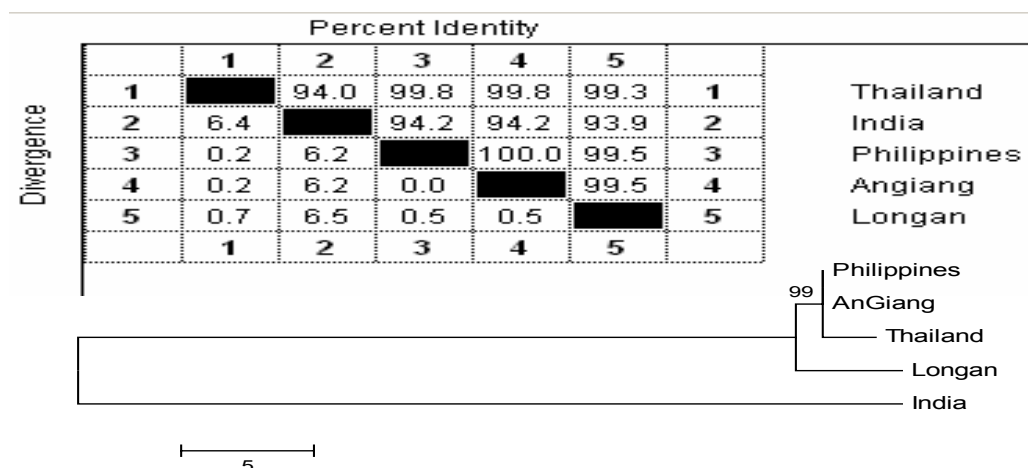
Hình 3.21. RRSV Long An được soi dưới kính hiển vi điện tử JEOL 1010 bằng phương pháp cắt lát siêu mỏng

3.4.2.2. So sánh sự đa dạng di truyền giữa các trình tự nucleotide của RRSV phân lập tại Việt Nam với các trình tự tương ứng trên thế giới

Một số phân đoạn RRSV đã phân lập từ mẫu thu tại Long An được so sánh với các phân đoạn tương ứng được công bố khá nhiều trên genbank (>2 trình tự) (bao gồm phân đoạn 4 và phân đoạn 9). Các phân đoạn còn lại (1, 2, 3, 5, 7, 8, 10) có số trình tự (đã công bố trước đây) ≤ 2 đều là những trình tự của Thái Lan. Như vậy, với những phân đoạn này, dòng Long An là dòng RRSV đầu tiên được phân lập tại Việt Nam. Phân đoạn 6 đã được nhiều tác giả công bố trình tự của các dòng phân lập tại một số địa điểm khác nhau ở Việt Nam và thế giới. Tuy nhiên, dòng Long An vẫn cần được tiếp tục xác định trình tự để thấy rõ mối quan hệ di truyền giữa các chủng Việt Nam với nhau. Tiến hành so sánh trình tự nucleotide RRSV-4-LA (1059 nucleotide) với dòng tương ứng của Thái Lan thấy rằng hai dòng này có độ tương đồng cao (99%) với 10 vị trí sai khác nằm trong gene mã hóa cho protein P4 (36,9 kDa). Trong đó, chỉ có 1 vị trí sai khác không làm thay đổi khung đọc, còn lại 9 vị trí sai khác dẫn đến làm thay đổi 8 amino acid trong protein P4. Tuy nhiên, đây mới chỉ là trình tự amino acid giả định. Để có những kết luận chính xác hơn về sự thay đổi này cũng như những ảnh hưởng của nó tới cấu trúc và chức năng của P4, cần tiến hành các nghiên cứu sâu hơn về protein (Xem phụ lục 3.5)

Phân đoạn RRSV9 chứa khung đọc mở mã hóa cho protein gai của virus RRSV. Đây là một protein quan trọng trong quá trình lây nhiễm của virus trên các vật chủ lúa và rầy, do vậy cho đến nay, protein gai đóng vai trò thiết yếu trong các kit chẩn đoán virus lùn xoắn lá bằng phương pháp ELISA. Do đó, việc phân tích trình tự nucleotide mã hóa cho phân đoạn này có ý nghĩa rất quan trọng. Trình tự RRSV-Spike phân lập tại Long An được so sánh với các trình tự tương ứng đã công bố trên genbank (phụ lục 3.6).

Bảng 3.3. Hệ số tương đồng về trình tự nucleotide giữa các gene mã hóa protein gai của RRSV Việt Nam và thế giới



Hình 3.22. Cây phát sinh chủng loại xây dựng trên cơ sở so sánh trình tự gen RRSV-Spike

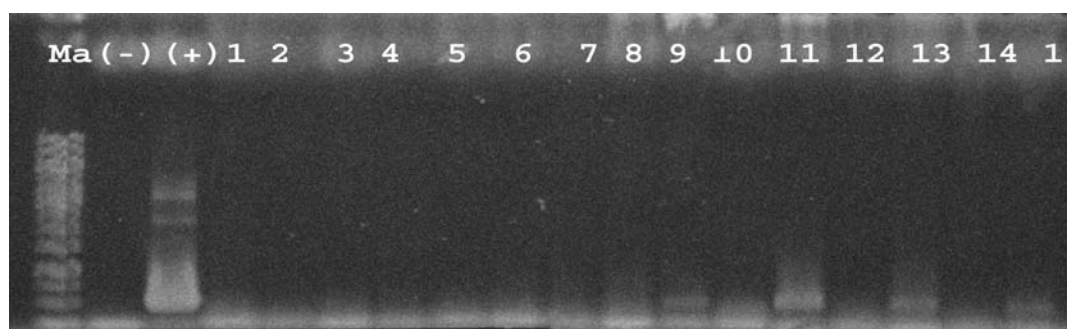
Bar: số thay thế nucleotide. Chỉ những giá trị bootstrap > 50% được chỉ ra trên hình. Angiang (GQ329711), LongAn (FN600158), India (L38900), Philippines (L79969), Thailand (L38899).

Dựa vào bảng hệ số tương đồng di truyền (xem bảng 5) có thể thấy trình tự nucleotide của dòng An Giang hoàn toàn giống với trình tự phân lập tại Philippines (100%). Trình tự Long An có độ tương đồng cao nhất với dòng An Giang và Philippines (99,5%) và thấp nhất khi so với dòng Ấn Độ (93,9%). Trên cây phát sinh chủng loại (xem hình 3.22), dòng Ấn Độ tách thành một nhánh riêng rẽ so với các dòng còn lại, với lý do giả định là Ấn Độ có vị trí khá cách biệt so với các nước trong khu vực Đông Nam Á (Philippines, Thái Lan và Việt Nam).

3.4.2.3. Ảnh hưởng của một số hóa chất tới virus RRSV

Lúa được phun Boom Flower n hoặc K-H ở các thời điểm khác nhau: trước 5 ngày khi lây bệnh nhân tạo hoặc sau 3 ngày khi lây nhiễm bệnh nhân tạo,

trước hoặc sau khi cây lúa biểu hiện triệu chứng bệnh. Sau khi phun thuốc 5 ngày ở công thức phun thuốc cuối cùng tiến hành thu mẫu lúa ở tất cả các công thức thí nghiệm, bảo quản riêng rẽ và tiến hành kiểm tra sự tồn tại và phát triển của virus ở mỗi công thức. Với mỗi công thức thí nghiệm, cân chính xác 200 mg lá lúa, tách ARN, tổng hợp cDNA và tiến hành phản ứng PCR với cặp mồi đặc hiệu RRSV1 F&R. Sự có mặt của các băng ADN đặc hiệu với kích thước mong muốn (~ 0,4 kb) cho biết sự tồn tại của virus trong mẫu lúa đã thu.



Hình 3.23. Kiểm tra sự tồn tại của virus trong 15 công thức thí nghiệm bằng phản ứng PCR với cặp mồi đặc hiệu RRSV1 F&R

Ở các giếng 9,11,13,15 xuất hiện băng ADN đặc hiệu, chứng tỏ virus vẫn tồn tại ở tất cả các mẫu. Các thí nghiệm đều được lặp lại 3 lần và được kiểm tra trong các phản ứng độc lập. Điều này cho thấy các loại thuốc Boom Flower n hoặc K-H có thể không có khả năng làm tăng sức chống chịu của cây lúa và hạn chế khả năng phát triển của virus hoặc chưa có khả năng ức chế hoàn toàn sự sinh trưởng của RRSV trong các mẫu lúa thí nghiệm.

3.5. Xác định các loài môi giới truyền bệnh VL, LXL và một số đặc điểm sinh học chính của loài môi giới quan trọng nhất

3.5.1. Xác định các loài môi giới truyền bệnh VL, LXL

Kết quả theo dõi phân tích thành phần rầy vào đèn tại Long An từ tháng

8/2007 đến tháng 12/2008, chưa ghi nhận được loài môi giới truyền bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá ngoài rầy nâu, trong thành phần rầy vào đèn tại đây chỉ ghi nhận được sự hiện diện của một số loại rầy như rầy lưng trắng, rầy xanh đuôi đen, rầy xanh nhỏ và rầy nâu.

Bảng 3.4. Thành phần và số lượng các loại rầy vào đèn tại Mỹ Phú

từ tháng 8/2007 đến 12/2008

Tháng	Số lượng				
	RN	RLT	RĐQ	RXĐĐ	RX
2007					
8	127387	2860	16921	3527	8217
9	52529	1446	36562	14829	8844
10	7049	589	2429	5393	3809
11	502105	10103	12721	43574	5955
12	661787	6312	2588	18138	3064
2008					
1	82261	2017	2103	638	1938
2	205827	68	8557	5154	2760
3	142359	1381	7227	419	3170
4	41752	684	28191	4366	2205
5	960913	5646	6028	3094	1463
6	230252	3015	792	356	7478
7	830930	1725	5101	897	7996
8	339647	2018	3918	1074	6768
9	74057	1073	16346	851	2413
10	24533	536	2583	1033	2281
11	221675	5824	16728	16543	4830
12	1235728	8384	55552	8876	16384

Ghi chú:

- RN: rầy nâu
- RLT: rầy lưng trắng
- RĐQ: rầy điện quang
- RXĐĐ: rầy xanh đuôi đen
- RX: rầy xanh

Trong đó rầy nâu luôn chiếm ưu thế (Bảng 3.4), kết quả rầy vào đèn tại Đông Hòa (Phú Yên) cũng cho kết quả tương tự (xem phụ lục 3.7),

Kết quả điều tra và thu thập tập hợp các loài rầy thân hại lúa trên đồng ruộng tại Mỹ Phú (Long An), chỉ ghi nhận được rầy nâu và rầy lưng trắng, trong đó rầy nâu luôn chiếm ưu thế tuyệt đối so với rầy lưng trắng với tất cả các lần thu thập, các loài rầy hại thân khác chưa được ghi nhận (xem bảng 3.5, phụ lục 3.8).

Từ các kết quả phân tích thành phần rầy vào đèn, rầy trên đồng ruộng tại Phú Yên, Long An từ 8/2007-12/2008 chưa ghi nhận được các loài môi giới khác có khả năng truyền bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá là *N. bakeri*, *N. mui* [20], [21], [24], hiện diện tại các vùng nghiên cứu. Hiện tại rầy nâu vẫn là môi giới duy nhất, và quan trọng nhất trong việc truyền bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá ở đồng bằng sông Cửu Long và Nam trung bộ.

Bảng 3.5. Kết quả điều tra thành phần rầy hại thân lúa trên đồng ruộng tại Mỹ Phú từ 2007-2008

Thời điểm điều tra (NSS)	Rầy nâu	Rầy lưng trắng
Vụ Đông – Xuân 2007-2008		
15	38	0
40	126	3
60	219	21
80	457	48
Vụ Hè – Thu 2008		
15	11	0
40	59	0
60	102	8
80	221	25

Ghi chú:

- NSS: ngày sau sạ
- Số liệu trên là số liệu rầy trưởng thành

3.5.2. Một số đặc điểm sinh học cơ bản của rầy nâu môi giới truyền bệnh

Kết quả nuôi rầy nâu trên thức ăn là lúa sạch bệnh và lúa nhiễm bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá cho thấy thời gian phát dục của các pha trứng, rầy non và tiền đẻ trứng ít có sự sai khác, pha trưởng thành có sự sai khác đáng kể, rầy nuôi trên thức ăn nhiễm vi rút vàng lùn, lùn xoắn lá có thời gian phát dục ngắn hơn so với rầy nâu được nuôi trên thức ăn là cây lúa sạch bệnh tương ứng là 4,52 ngày và 4,88 ngày, thời gian tiền đẻ trứng của rầy nâu nuôi trên thức ăn nhiễm bệnh LXL ngắn hơn so với nuôi trên thức ăn sạch và thức ăn nhiễm bệnh VL ở cùng điều kiện nhiệt độ và ẩm độ (xem bảng 3.6)

Bảng 3.6. Thời gian phát dục các pha của rầy nâu nuôi trên thức ăn lúa nhiễm bệnh VL, LXL và thức ăn sạch tại Thủ Thừa, 2007

Thức ăn	Trứng (ngày)	Rầy non các tuổi (ngày)					Tiền đẻ trứng (ngày)	Trưởng thành (ngày)
		1	2	3	4	5		
Lúa sạch	7,95 ± 0,71	3,23 ± 0,42	2,32 ± 0,47	2,41 ± 0,49	2,68 ± 0,56	3,5 ± 0,58	3,36 ± 0,77	22,36 ± 6,25
Lúa nhiễm VL	7,88 ± 0,59	3,28 ± 0,45	2,36 ± 0,48	2,4 ± 0,49	2,44 ± 0,5	3,32 ± 0,47	3,0 ± 1,04	17,84 ± 3,33
Lúa nhiễm LXL	7,83 ± 0,64	3,09 ± 0,41	2,39 ± 0,49	2,43 ± 0,50	2,35 ± 0,48	3,17 ± 0,38	2,4 ± 0,66	17,48 ± 4,33

t°(TB): 27,62 °C RH%(TB): 62,02 %

Rầy nâu nuôi trên cây lúa sạch bệnh có số trứng trung bình/cá thể lớn hơn so với số trứng trung bình/cá thể nuôi trên thức ăn nhiễm bệnh VL hoặc LXL, sự chênh lệch là 78,25 quả/cá (với thức ăn nhiễm VL) và 69,3 quả/cá thể (với thức ăn nhiễm bệnh LXL) (xem bảng 3.7)

Bảng 3.7. Khả năng đẻ trứng và tỷ lệ nở của trứng rầy nâu nuôi trên thức ăn lúa nhiễm bệnh VL, LXL và thức ăn sạch tại Thủ Thừa, 2007.

Thức ăn	Số trứng trung bình/cá thể	Số trứng nở trung bình/cá thể	Tỷ lệ trứng nở trung bình/cá thể (%)
Lúa Sạch	279,8 ± 83,97	271,2 ± 82,46	97,12 ± 1,11
Lúa nhiễm VL	201,55 ± 43,81	187,73 ± 43,65	92,82 ± 2,7
Lúa nhiễm LXL	210,44 ± 73,03	200,11 ± 70,51	94,85 ± 1,18
t°(TB): 27,62 °C RH%(TB): 62,02 %			

Do thực tế, hiện tại rầy nâu được ghi nhận là môi giới duy nhất, và quan trọng nhất trong việc truyền bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá chưa ghi nhận loài môi giới khác ngoài rầy nâu ở các vùng nghiên cứu, nên chúng tôi không tiến hành so sánh được các đặc điểm sinh học của chúng với rầy nâu ở miền Bắc và miền Trung.

3.6. Kết quả nghiên cứu quan hệ giữa virus gây bệnh VL, LXL với môi giới truyền bệnh

Thực tế, quần thể rầy nâu ngoài tự nhiên (rầy vào đèn và rầy nâu trên ruộng lúa), bao gồm 3 quần thể là:

- Rầy nâu không mang virus vàng lùn hoặc lùn xoắn lá (free virus)
- Rầy nâu mang virus vàng lùn hoặc lùn xoắn lá nhưng chưa có khả năng truyền bệnh khi chúng chích hút cây lúa bởi vì chúng đang ở giai đoạn ủ bệnh (Latent period)
- Rầy nâu mang virus vàng lùn hoặc lùn xoắn lá và có khả năng truyền bệnh cho cây lúa khi chúng chích hút cây lúa.

3.6.1. Quan hệ giữa rầy nâu và bệnh VL

3.6.1.1. Quan hệ rầy nâu và bệnh vàng lùn trên đồng ruộng

Kết quả điều tra mật độ quần thể rầy nâu trên ruộng lúa và các thí nghiệm lây bệnh nhân tạo nhằm đánh giá tỷ lệ rầy mang nguồn bệnh và rầy có khả năng truyền bệnh vàng lùn tại Thủ Thừa –Long An vụ Đông xuân và Hè Thu cho thấy:

- Vụ Đông - Xuân

Kết quả điều tra và lây bệnh nhân tạo với nguồn rầy nâu thu từ ruộng lúa ở các thời điểm là 20, 40 và 60 ngày sau sạ trong thời gian từ 2007 – 2008, cho thấy tại 3 thời điểm theo dõi, trên ruộng lúa luôn có tỷ lệ nhất định rầy nâu mang nguồn bệnh, nhưng tỷ lệ rầy có khả năng truyền bệnh thì chỉ được ghi nhận ở giai đoạn 20 và 40 ngày sau sạ, tỷ lệ rầy mang nguồn bệnh luôn luôn cao hơn nhiều so với tỷ lệ rầy có khả năng truyền bệnh. Ở thời điểm 20 ngày sau sạ tỷ lệ rầy mang nguồn bệnh và rầy có khả năng truyền bệnh cao nhất tương ứng là 33,3 và 13,3 %, trong khi đó ở 60 ngày sau sạ tỷ lệ này là 3,3 % và 0,%, tuy ở giai đoạn 60 ngày sau sạ tỷ lệ bệnh và mật độ quần thể rầy trên đồng ruộng là cao nhất (xem bảng 3.8). Kết quả đánh giá trong vụ Đông –Xuân 2008 - 2009 tại Tiền Giang và Long An cũng cho kết quả tương tự (xem phụ lục 3.9)

Bảng 3.8. Kết quả đánh giá quan hệ giữa rầy tổng số và rầy mang bệnh vàng lùn trên đồng ruộng Mỹ Phú vụ Đông –Xuân 2007-2008

Thời điểm đánh giá (NSS)	Mật độ rầy tổng số (con/m ²)	Tỷ lệ rầy mang nguồn bệnh (%)	Tỷ lệ rầy có khả năng truyền bệnh (%)	Tỷ lệ bệnh (%)
20	103	33,3	13,3	8,5
40	946	16,6	3,3	25,6
60	2134	3,3	0	37,9

- Vụ Hè –Thu 2008

Thực tế sản xuất cho thấy vụ Hè - Thu thường có tỷ lệ bệnh thấp hơn rất nhiều so với vụ Đông - Xuân, kết quả điều tra và lấy bệnh nhân tạo từ nguồn rầy thu ngoài đồng, ghi nhận sự hiện diện của rầy nâu mang nguồn bệnh ở thời điểm 20 và 40 ngày sau sạ, nhưng rầy có khả năng truyền bệnh chỉ ghi nhận được ở giai đoạn 20 ngày sau sạ. Mặc dù, ở 60 ngày sau sạ trên đồng ruộng tỷ lệ bệnh, mật độ rầy nâu là cao nhất trong các kỳ đánh giá, nhưng tỷ lệ rầy mang bệnh và có khả năng truyền bệnh lại không ghi nhận được ở các kết quả thí nghiệm lấy bệnh nhân tạo (xem bảng 3.9) (xem phụ lục 10).

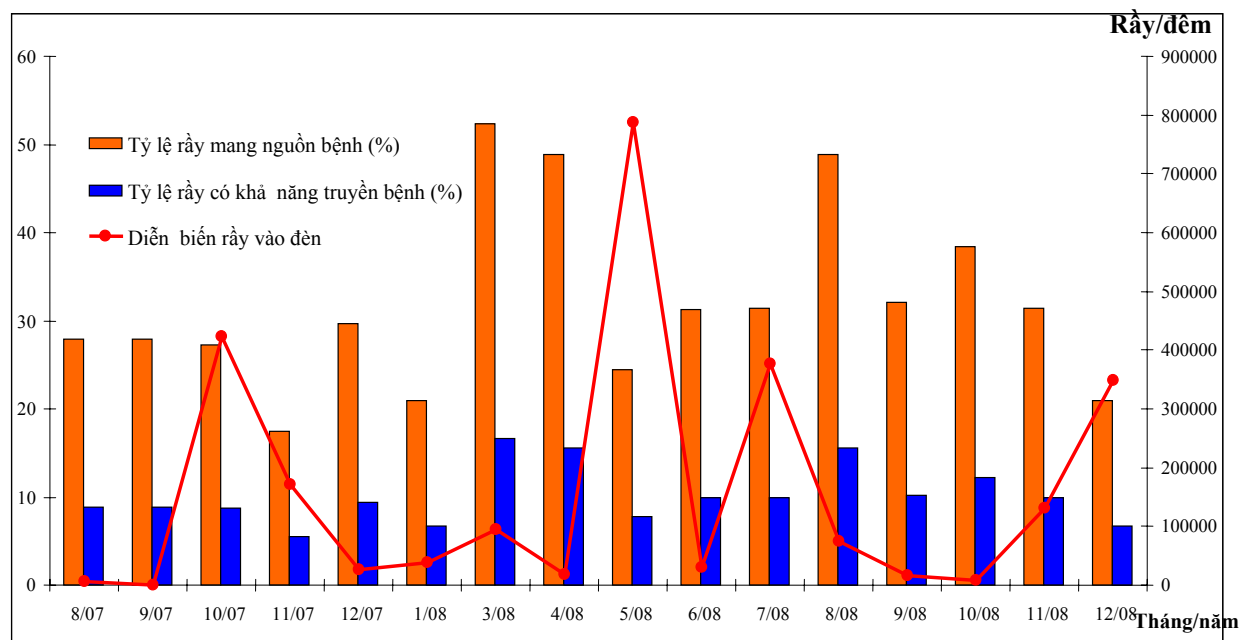
Bảng 3.9. Kết quả đánh giá quan hệ giữa rầy tổng số và rầy mang bệnh vàng lùn trên đồng ruộng Mỹ Phú vụ Hè- Thu 2008

Thời điểm đánh giá (NSS)	Mật độ rầy tổng số (con/m²)	Tỷ lệ rầy mang nguồn bệnh (%)	Tỷ lệ rầy có khả năng truyền bệnh (%)	Tỷ lệ bệnh (%)
20	67	6,6	3,3	1,5
40	598	3,3	0	6,4
60	983	0	0	10,2

3.6.1.2. Quan hệ rầy nâu và bệnh vàng lùn ở bẫy đèn

Đánh giá tỷ lệ rầy mang nguồn bệnh và rầy có khả năng truyền bệnh của rầy vào đèn tại Thủ Thừa – Long An trong thời gian từ tháng 8 năm 2007 đến tháng 12 năm 2008 cho thấy: tất cả các tháng theo dõi rầy vào đèn đều mang một tỷ lệ nhất định rầy mang nguồn bệnh và rầy có khả năng truyền bệnh. Tỷ lệ rầy mang nguồn bệnh luôn cao hơn rất nhiều so với tỷ lệ rầy có khả năng truyền bệnh.

Tuy nhiên, tỷ lệ này ở các tháng khác nhau có sự khác nhau đáng kể, các tháng 3,4, 8, 10,11 và 12 có tỷ lệ rầy mang nguồn bệnh và rầy có khả năng truyền bệnh cao hơn hẳn so với các tháng còn lại (xem hình 3.24), điều này rất có nghĩa trong sản xuất vì đây là các tháng bắt đầu vào thời gian gieo sạ vụ hè thu và vụ đông xuân.



Hình 3.24. Diễn biến giữa mật độ rầy tổng số, rầy mang nguồn bệnh và rầy có khả năng truyền bệnh vàng lùn ở bầy đàn tại Thủ Thừa –Long An 2007-2008

3.6.2. Quan hệ giữa rầy nâu và bệnh LXL

3.6.2.1. Quan hệ rầy nâu và bệnh LXL trên đồng ruộng

Nhằm đánh giá quan hệ giữa bệnh LXL với quần thể rầy nâu trên đồng ruộng các điều tra tỷ lệ bệnh, mật độ quần thể rầy nâu và các thí nghiệm lây bệnh nhân tạo đã được tiến hành. Kết quả cho thấy:

- Vụ Đông Xuân

Trong 2 năm 2007 - 2008 tại 3 thời điểm là 20, 40 và 60 ngày sau sạ cho thấy bệnh lùn xoắn lá đều có sự hiện diện ở tất cả các kỳ điều tra, tuy nhiên tỷ lệ

bệnh khá thấp tỷ lệ cao nhất ở 60 ngày sau sạ là 3,2%. Tuy nhiên, tỷ lệ rầy mang nguồn bệnh và tỷ lệ rầy có khả năng truyền bệnh chỉ ghi nhận được ở giai đoạn 20 ngày sau sạ (xem bảng 3.10). Kết quả đánh giá trong vụ Đông –Xuân 2008-2009 tại Tiền Giang và Long An cũng cho kết quả tương tự (xem phụ lục 3.11).

Bảng 3.10. Kết quả đánh giá quan hệ giữa rầy tổng số và rầy mang bệnh LXL trên đồng ruộng Mỹ Phú vụ Đông –Xuân 2007-2008

Thời điểm đánh giá (NSS)	Mật độ rầy tổng số (con/m²)	Tỷ lệ rầy mang nguồn bệnh (%)	Tỷ lệ rầy có khả năng truyền bệnh (%)	Tỷ lệ bệnh (%)
20	103	3,3	3,3	0,5
40	946	0	0	2,8
60	2134	0	0	3,2

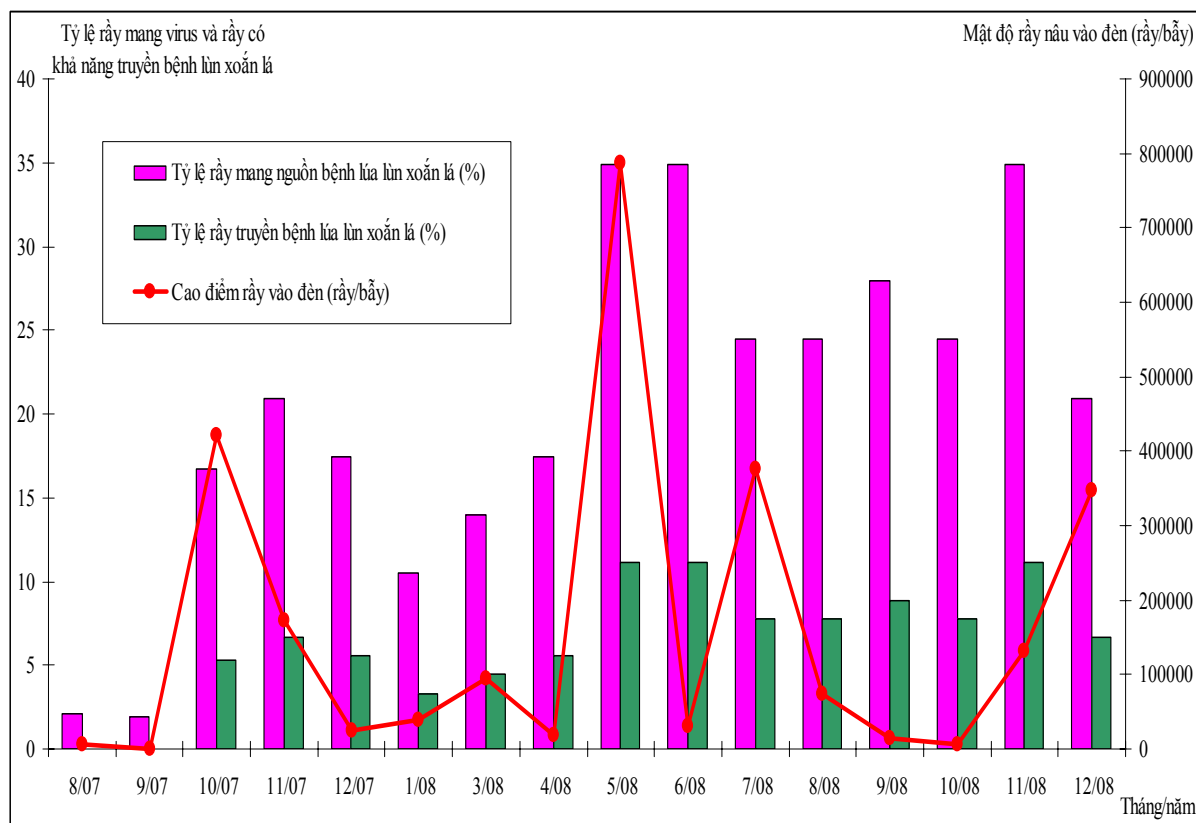
- Vụ Hè –Thu

Kết quả điều tra thực tế đồng ruộng cho thấy bệnh LXL luôn có tỷ lệ rất thấp, trong vụ Hè – Thu 2008 tại Mỹ Phú rầy mang nguồn bệnh, rầy có khả năng truyền bệnh chỉ được ghi nhận ở giai đoạn 20 ngày sau sạ, tỷ lệ này là 6,6 % và 3,3% (xem bảng 3.11). Kết quả theo dõi tại Long An, Tiền Giang vụ Hè –Thu 2009 cũng cho kết quả tương tự (xem phụ lục 3.12)

Bảng 3.11. Kết quả đánh giá quan hệ giữa rầy tổng số và rầy mang bệnh vàng lùn trên đồng ruộng Mỹ Phú vụ Hè- Thu 2008

Thời điểm đánh giá (NSS)	Mật độ rầy tổng số (con/m²)	Tỷ lệ rầy mang nguồn bệnh (%)	Tỷ lệ rầy có khả năng truyền bệnh (%)	Tỷ lệ bệnh (%)
20	103	6,6	3,3	0
40	946	0	0	3,4
60	2134	0	0	5,1

3.6.2.2. Quan hệ rầy nâu và bệnh LXL ở bắp đèn



Hình 3.25. Diễn biến giữa mật độ rầy tổng số, rầy mang nguồn bệnh và rầy có khả năng truyền bệnh ở bắp đèn tại Thủ Thừa –Long An -2008

Kết quả đánh giá tỷ lệ rầy mang nguồn bệnh và rầy có khả năng truyền bệnh của rầy vào đèn tại Thủ Thừa – Long An trong thời gian từ tháng 8 năm 2007 đến tháng 12 năm 2008 thấy rằng tất cả các tháng theo dõi, rầy vào đèn đều mang một tỷ lệ nhất định rầy mang nguồn bệnh và rầy có khả năng truyền bệnh, tỷ lệ rầy mang nguồn bệnh luôn luôn cao hơn so với tỷ lệ rầy có khả năng truyền bệnh. Tuy nhiên, tỷ lệ này ở các tháng khác nhau có sự khác nhau đáng kể, các tháng 5,6 và 11 tỷ lệ rầy mang nguồn bệnh và rầy có khả năng truyền bệnh cao hơn hẳn so với các tháng còn lại (xem hình 3.25), điều này rất có nghĩa trong sản xuất vì các tháng 5,6 là các tháng bắt đầu vào thời gian gieo sạ vụ hè thu và

tháng 11 là tháng bắt đầu thời gian gieo sạ vụ đông xuân.

Việc xác định tỷ lệ rầy mang nguồn bệnh, rầy có khả năng truyền bệnh trong quần thể rầy ngoài tự nhiên (rầy vào đèn, rầy trên đồng ruộng) có ý nghĩa quan trọng trong việc dự báo nguy cơ và khả năng phát sinh, bùng phát bệnh trên đồng ruộng, đặc biệt là những vụ, năm khi mà quần thể rầy nâu phát sinh với số lượng lớn. Các cơ quan chuyên môn, chức năng cần tiến hành thường xuyên, định kỳ việc thu thập và thử phản ứng của rầy đặc biệt là rầy vào đèn (nguồn rầy di cư có khả năng phát tán bệnh), với virus vàng lùn, lùn xoắn lá để cảnh báo sớm nguy cơ hình thành, phát triển của dịch ở các vùng sản xuất.

3.7. Khả năng truyền bệnh VL, LXL của các pha phát triển của rầy nâu

3.7.1. Khả năng truyền bệnh VL của các pha phát dục của rầy nâu

Trong điều kiện rầy thí nghiệm được nuôi trên thức ăn lúa nhiễm bệnh vàng lùn từ tuổi 1 với thời gian tiếp xúc của rầy với cây lúa thí nghiệm 48 giờ, rầy tuổi 1 và 2 chưa có khả năng truyền bệnh, tuy thực tế trong cơ thể rầy tuổi 1 và 2 đã mang virus vàng lùn hoặc lùn xoắn lá nhưng đang ở giai đoạn ủ bệnh (latent period) nên chúng chưa có khả năng truyền bệnh cho cây lúa khi chúng chích hút, bởi vì tổng thời gian phát dục tuổi 1 và 2 của rầy nâu trung bình từ 5,5-6,5 ngày[3], rầy tuổi 3 bắt đầu truyền được bệnh, tỷ lệ truyền bệnh trung bình là 77,8% và có thời gian ủ bệnh trung bình của cây lúa là $9,57 \pm 1,62$ ngày, các tuổi 4, 5 và trưởng thành đều có tỷ lệ truyền bệnh là 100 % tuy nhiên thời gian ủ bệnh của cây lúa khi thí nghiệm truyền bệnh với rầy tuổi 4 là $8,22 \pm 0,67$ ngày trong khi đó ở tuổi 5 và trưởng thành thời gian ủ bệnh của cây lúa ngắn nhất (xem bảng 3.12). Trong khi đó, nếu thời gian tiếp xúc của rầy thí nghiệm với cây lúa là 24 giờ, rầy tuổi 1, 2 chưa có khả năng truyền bệnh, thời gian ủ bệnh của rầy tuổi 4 cũng dài nhất nhưng tỷ lệ truyền bệnh, lại có sự khác biệt so

với thời gian tiếp xúc là 48 giờ cụ thể là: Rầy tuổi 5 có khả năng truyền bệnh cao nhất (20,5%), tiếp đến là rầy trưởng thành (xấp xỉ 16 %) (xem phụ lục 3.13,3.14).

Bảng 3.12. Khả năng truyền bệnh VL của một số pha phát dục của rầy nâu tại Thủ Thừa 2009

Pha phát dục		Tỷ lệ cây biểu hiện triệu chứng (%)	Thời gian ủ bệnh (ngày)
Rầy non	Tuổi 1	0	-
	Tuổi 2	0	-
	Tuổi 3	77,8	9,57±162
	Tuổi 4	100	8.22±0.67
	Tuổi 5	100	7,78±1.30
Trưởng thành		100	7.56±1.24

3.7.2. Khả năng truyền bệnh LXL của các pha phát dục của rầy nâu

Kết quả thí nghiệm xác định khả năng truyền bệnh của các pha phát dục của rầy nâu với bệnh LXL cho thấy: trong điều kiện rầy thí nghiệm được nuôi trên thức ăn lúa nhiễm bệnh LXL từ tuổi 1, với thời gian tiếp xúc của rầy với cây lúa thí nghiệm 48 giờ, rầy tuổi 1 và 2 chưa có khả năng truyền bệnh, tuy thực tế trong cơ thể rầy tuổi 1 và 2 đã mang virus vàng lùn hoặc lùn xoắn lá nhưng đang ở giai đoạn ủ bệnh (latent period) nên chúng chưa có khả năng truyền bệnh cho cây lúa khi chúng chích hút, bởi vì tổng thời gian phát dục tuổi 1 và 2 của rầy

nâu trung bình từ 5,5-6,5 ngày[3], trong khi đó thời gian ủ bệnh của virus vàng lùn và lùn xoắn lá trong cơ thể rầy tối thiểu có thể truyền được bệnh là 7 ngày và trung bình là 8,2 ngày[11]. Rầy tuổi 3 bắt đầu truyền được bệnh tỷ lệ truyền là 67,8 % và có thời gian ủ bệnh trung bình là $9,17 \pm 1.02$ ngày, các tuổi 4, 5 và trưởng thành đều có tỷ lệ truyền bệnh là 100 % tuy nhiên thời gian ủ bệnh của cây lúa khi thí nghiệm truyền bệnh với rầy tuổi 4 là 8.62 ± 1.63 ngày trong khi đó ở tuổi 5 và trưởng thành thời gian ủ bệnh của cây lúa ngắn nhất (xem bảng 3.13). Với thời gian tiếp xúc của rầy với cây lúa thí nghiệm là 24 giờ thời gian ủ bệnh của cây lúa của các công thức thí nghiệm tương tự như 48 giờ, tuy nhiên khả năng truyền bệnh của rầy tuổi 3,4 lại cao nhất là tuổi 4 (19,09 %) tiếp đến là tuổi 3 (18,45 %) và trưởng thành (18,24%), tuổi 5 (11,54 %) có tỷ lệ truyền thấp nhất (xem phụ lục 3.13,3.14)

Bảng 3.13. Khả năng truyền bệnh LXL của một số pha phát dục của rầy nâu tại Thủ Thừa 2009

Pha phát dục		Tỷ lệ cây biểu hiện triệu chứng (%)	Thời gian ủ bệnh (ngày)
Rầy non	Tuổi 1	0	-
	Tuổi 2	0	-
	Tuổi 3	67,8	$9,17 \pm 1.02$
	Tuổi 4	100	8.62 ± 1.63
	Tuổi 5	100	$7,39 \pm 1.25$
Trưởng thành		100	7.08 ± 0.42

Tuổi 1,2 của rầy nâu chưa có khả năng truyền bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá tuy rầy đã mang virus trong cơ thể, do vậy chúng ta nên chủ động thực hiện các biện pháp rầy môi giới khi quần thể rầy trên đồng ruộng ở tuổi 1, 2 ở giai đoạn cây lúa mẫn cảm với bệnh.

3.8. Quá trình nhập cư và di cư của rầy nâu

3.8.1. Quá trình nhập cư và di cư trong ngày của rầy nâu

Sử dụng bẫy dính vàng để theo dõi quá trình nhập cư trong ngày của rầy nâu vào ruộng lúa. Kết quả, cho thấy rầy nâu nhập cư vào ruộng lúa tập trung chủ yếu vào thời gian từ 17 giờ ngày hôm trước đến 8 giờ sáng hôm sau (chiếm 91,97% tổng số rầy bắt được trong 24 tiếng theo dõi)(xem bảng 3.14)

Trong khi đó, theo dõi quá trình phát tán của rầy nâu khỏi ruộng lúa trong ngày bằng bẫy bay cho thấy: rầy nâu phát tán khỏi ruộng lúa tập trung chủ yếu vào 4 thời điểm, trong đó tập trung chủ yếu vào thời điểm từ 19.30- 21.30 giờ hàng ngày (51,23 %), tiếp đến thời gian 15.30 – 17.30 giờ và thấp nhất là thời gian từ 15.30 giờ đến 19.30 giờ hàng ngày. (xem bảng 3.14).

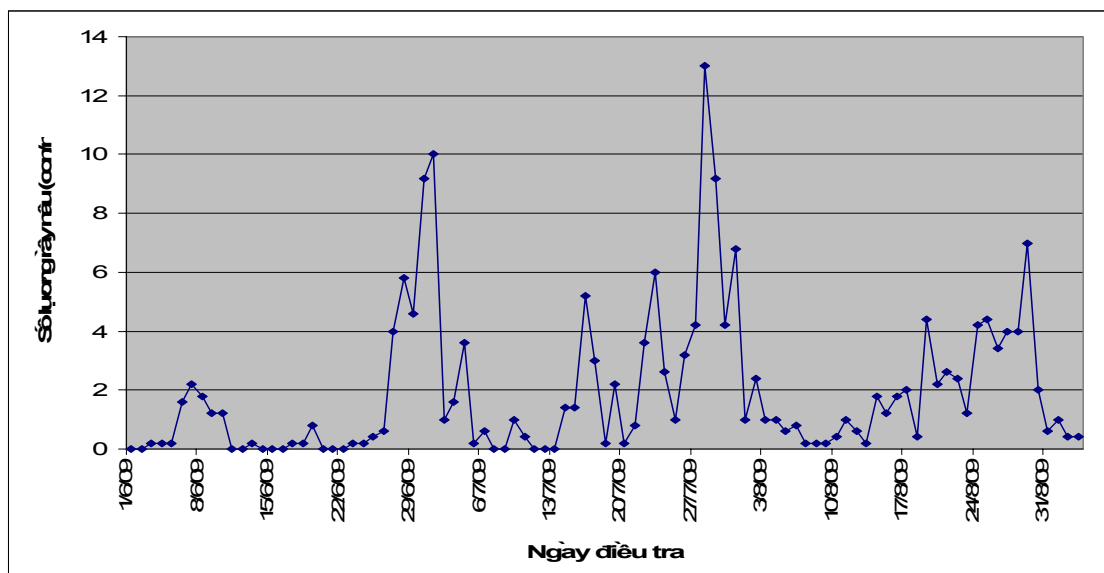
Bảng 3.14. Thời điểm nhập cư và di cư của rầy nâu trên đồng ruộng trong ngày tại Thủ Thừa – Long An vụ Đông Xuân 2007-2008 và Hè Thu 2008

Thời điểm xâm nhập đồng ruộng của rầy nâu		Thời điểm di cư của rầy nâu	
Thời điểm	Tỷ lệ (%) rầy nâu xâm nhập trong ngày	Thời điểm	Tỷ lệ (%) rầy nâu di chuyển trong ngày
8h – 11h	5,09	15h30 – 17h30	21,31
11h – 17h	2,94	17h30 – 19h30	9,34
17h – 8h	91,97	19h30 – 21h30	51,23

		21h30 – 7h30	15,74
--	--	--------------	-------

3.8.2. Quá trình nhập cư và phát tán của rầy nâu trong vụ lúa

- *Quá trình nhập cư của rầy nâu trên ruộng lúa*



Hình 3.26. Quá trình xâm nhập của rầy nâu vào ruộng lúa tại Thủ Thừa, vụ mùa 2009

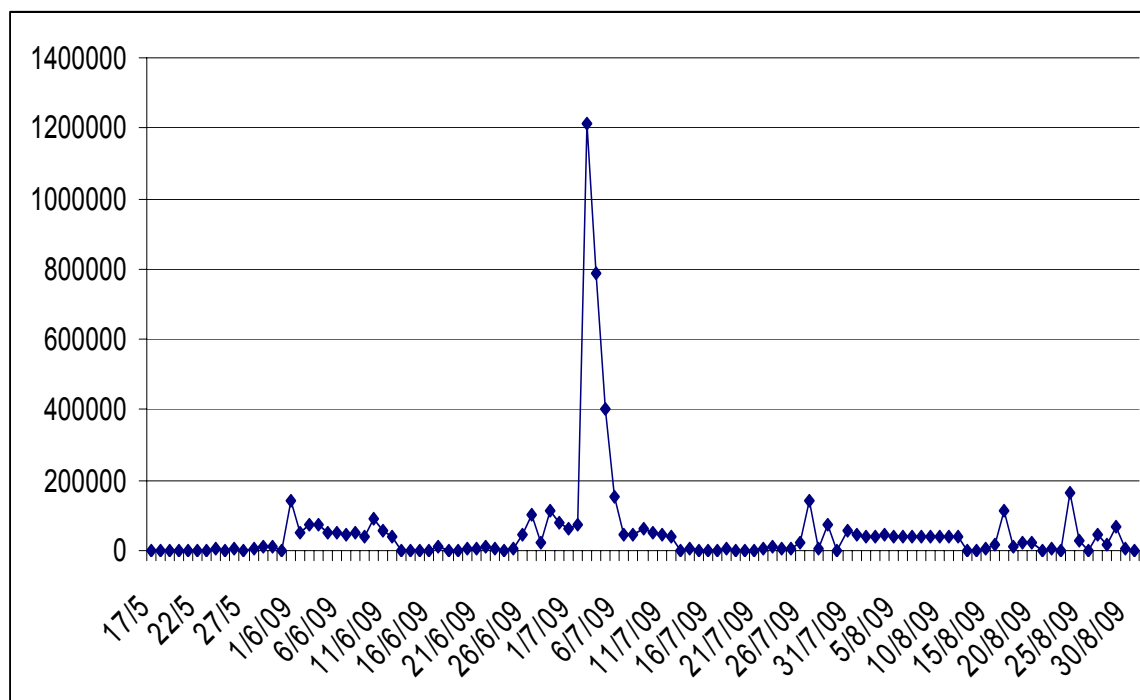
Ghi chú: - Ngày sạ: 23 tháng 5 năm 2009

- Giống theo dõi IR 4625 có thời gian sinh trưởng 95 ngày.

Vụ mùa năm 2009 rầy nâu xâm nhập vào ruộng lúa khá sớm (7 NSS), số lượng rầy xâm nhập ban đầu khá thấp (2,3 con/bẫy), quá trình xâm nhập diễn ra liên tục đến 80 ngày sau sạ. Tuy nhiên quá trình xâm nhập có 4 đợt cao điểm vào các thời điểm 13, 35, 63 và 80 ngày sau sạ, các đợt xâm nhập này đều trùng với các đợt cao điểm rầy vào đèn (xem hình 3.26,3.27)

Thực tế, các đợt rầy nhập cư sớm có ý nghĩa quan trọng trong việc thiết

lập và phát triển quần thể rầy trong ruộng lúa, quá trình xâm nhập bổ xung rầy trên các ruộng lúa là một nguyên nhân quan trọng gây lên hiện tượng gổl lúa của rầy trên đồng ruộng.



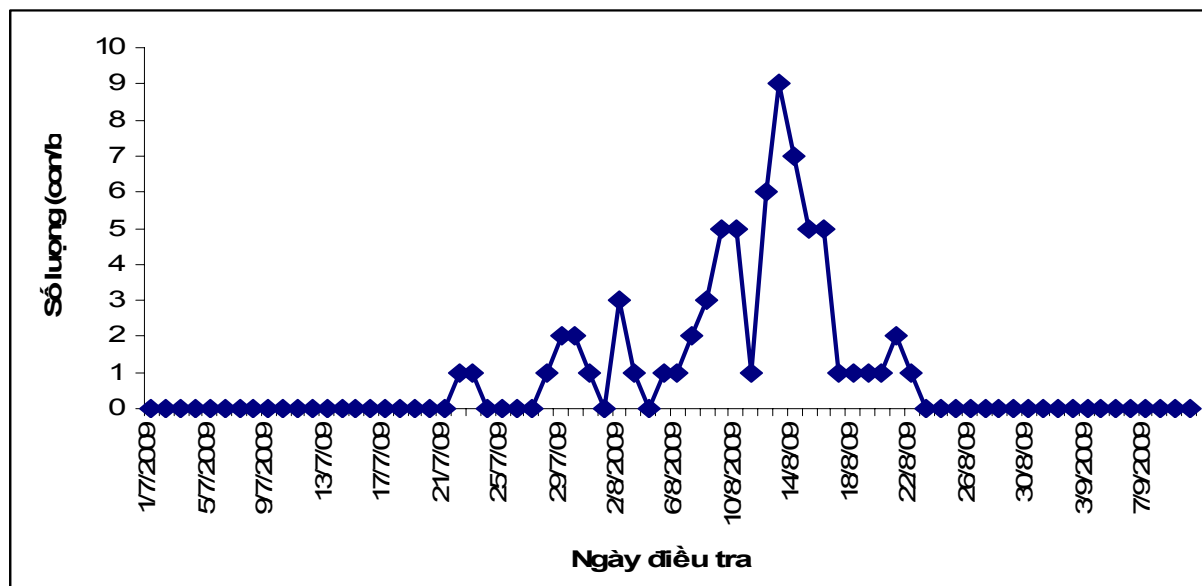
Hình 3.27. Diễn biến rầy nâu vào đèn tại Mỹ Phú từ ngày 17/5 – 30/ 8 năm 2009

- Quá trình phát tán của rầy nâu trên ruộng lúa

Quá trình phát tán của rầy nâu trên ruộng lúa vụ mùa năm 2009 bắt đầu từ 59 ngày sau sạ, đây là giai đoạn cuối đòng chuẩn bị trở là giai đoạn cây lúa bắt đầu “già” không còn là thức ăn rất ưa thích của rầy nâu nữa nên quá trình phát tán bắt đầu diễn ra. Đặc biệt giai đoạn 70 đến 85 ngày sau sạ cây lúa lúc này đã phát triển vào giai đoạn cuối, cây lúa lúc này hoàn toàn không là thức ăn phù hợp cho rầy nâu nữa nên quá trình phát tán xảy ra rất mạnh (hình 3.28)

Thực tế đồng ruộng rầy nâu xâm nhập vào ruộng lúa khá sớm trung bình vào 7-10 ngày sau sạ, do vậy khi trong thời kỳ dịch đang xảy ra hoặc nguy cơ xảy ra dịch cao, cần chủ động thực hiện các biện pháp phòng trừ môi giới ngay ở

giai đoạn đầu vụ bởi vì giai đoạn này cũng là giai đoạn mẫn cảm của cây lúa với bệnh. Mặt khác, do quá trình nhập cư bỏ xung trong quá trình phát triển của cây lúa, nên có hiện tượng gổi lúa rầy trên đồng ruộng do đó khi tiến hành phòng trừ rầy nâu với vai trò gây hại trực tiếp cần lưu ý thời điểm phun và số lần phun nhằm hạn chế quần thể rầy trên đồng ruộng tránh cháy rầy cuối vụ.



Hình 3.28 . Quá trình phát tán của rầy nâu trên ruộng lúa tại Thủ Thừa, vụ mùa 2009

Ghi chú: - Ngày sạ: 23 tháng 5 năm 2009

- Giống theo dõi: IR 4625 có thời gian sinh trưởng 100 ngày

3.9. Kết quả nghiên cứu bệnh lý cá thể của cây lúa nhiễm bệnh VL, LXL, đánh giá tính miễn dịch các thể, quần thể của cây lúa với bệnh

3.9.1. Bệnh vàng lùn

3.9.1.1. Ảnh hưởng của bệnh VL lá đến sinh trưởng, phát triển của cây lúa

Nhằm đánh giá ảnh hưởng của bệnh vàng lùn tới sự sinh trưởng và phát triển của cây lúa chúng tôi tiến hành lây bệnh nhân tạo trong điều kiện nhà lưới ở

các tuổi lúa khác nhau: 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 35 và 40 ngày sau sạ, tất cả các công thức thí nghiệm đều có cây xuất hiện triệu chứng, cây lúa khi nhiễm bệnh càng nhỏ thì có thời gian ủ bệnh càng ngắn.

Bảng 3.15. Ảnh hưởng của bệnh vàng lùn tới một số chỉ tiêu sinh trưởng của cây lúa (Thí nghiệm trong nhà lưới Thủ Thừa – Long An -2008)

Thời điểm nhiễm bệnh (NSS)	Thời gian ủ bệnh (ngày)	Chiều cao cây		Dài lá		Rộng lá		Ngày để nhánh (NSS)
		Cao cây (cm)	% so với đối chứng	Dài lá	% so với đối chứng	Rộng lá (cm)	% so với đối chứng	
5	9.4	13.8	16.65	13.7	32.78	0.38	30.77	11.20
7	9.8	14.3	17.25	9.4	22.49	0.24	19.43	11.40
10	10.8	24.4	29.43	12.2	29.19	0.34	27.53	19.00
15	13.6	30.7	37.03	17.2	41.15	0.52	42.11	23.20
20	20.6	50.2	60.55	29.0	69.38	0.84	68.02	25.60
25	21.6	62.2	75.03	36.8	88.04	1.12	90.69	28.40
30	24.2	62	74.79	33.7	80.62	1.02	82.59	27.60
35	25.2	64.9	78.29	37.8	90.43	1.16	93.93	27.40
40	33.2	68.2	82.27	38.2	91,38	1.17	94,35	28.40
Đối chứng	-	82.9	-	41.8	100	1.24	-	25.50

Cây lúa bị nhiễm bệnh ở giai đoạn 5 ngày sau sạ thì chiều cao cây chỉ đạt 16,65 % so với đối chứng, các chỉ tiêu dài, rộng lá cũng rất thấp so với đối chứng tương ứng là 32,78 % và 30,77% , cây lúa bị nhiễm bệnh ở 15 ngày sau sạ thì ảnh hưởng của bệnh tới các chỉ tiêu sinh trưởng, phát triển có nhẹ hơn so với nhiễm bệnh ở 5 ngày sau sạ, nhưng mức độ ảnh hưởng vẫn rất rõ ràng, chiều cao cây đạt 37,03 %, chiều dài lá là 41,15 % và chiều rộng lá 42,11 % so với đối chứng. Trong khi đó cây lúa bị nhiễm bệnh ở tuổi lúa là 40 ngày sau sạ mức độ ảnh hưởng của bệnh tới một số chỉ tiêu sinh trưởng của cây lúa là khá nhỏ cụ thể là chiều cao cây lúa đạt 82,27% so với đối chứng, chiều dài lá và rộng lá cũng tương ứng đạt 91, 38% và 94, 35%. Tuy nhiên, khi cây lúa bị nhiễm bệnh tuổi càng nhỏ thì thời điểm bắt đầu đẻ nhánh của chúng cũng bị rút ngắn lại so với đối chứng cụ thể là khi nhiễm bệnh ở 5 ngày sau sạ là 11,02 ngày, nhiễm bệnh ở 15 ngày sau sạ là 23,2 ngày trong đó ở công thức đối chứng thời gian bắt đầu đẻ nhánh là 25,5 ngày; trong đó nếu nhiễm bệnh ở giai đoạn muộn hơn thì thời gian đẻ nhánh lại dài ra nhiễm bệnh ở 40 ngày sau sạ thì thời gian này lại là 28,4 ngày (xem bảng 3.15).

3.9.1.2. Thời kỳ miễn cảm của cây lúa với bệnh VL

Kết quả theo dõi thí nghiệm cho thấy cây lúa càng non mức độ miễn cảm với bệnh càng lớn, ở 5 ngày sau sạ tất cả các cây có xuất hiện triệu chứng bệnh đều bị chết, hiện tượng cây nhiễm bệnh bị chết vẫn xuất hiện trên các công thức nhiễm bệnh muộn hơn, cây lúa bị nhiễm bệnh ở 10 và 15 ngày sau sạ với tỷ lệ tương ứng là 26,7 và 6,7%. Cây bị nhiễm bệnh vào ngày 10 ngày sau sạ còn sống, cây phát triển rất kém và 100 % số cây không trở thoát. Các bị nhiễm bệnh càng muộn thì mức độ ảnh hưởng càng ít cụ thể là nếu cây bị nhiễm bệnh ở 15 ngày sau sạ thì số bông trở thoát 31,4 %, số hạt trên bông chỉ đạt trung bình là

40,7 hạt/bông và tỷ lệ lép là 17,8 % trong khi đó nếu cây bị nhiễm bệnh ở 30 ngày sau sạ thì tỷ lệ trỗ thoát là 100%, số hạt trên bông là 82,8 hạt và số hạt lép chỉ là 9,3% ; cây lúa rất miễn cảm với bệnh vàng lùn từ khi sạ đến 15 ngày sau sạ, mức độ miễn cảm giảm dần khi cây lúa ở các độ tuổi lớn hơn và khá an toàn với bệnh khi bị nhiễm ở 40 ngày sau sạ (xem bảng 3.16)

Bảng 3.16. Kết quả nghiên cứu xác định giai đoạn miễn cảm của cây lúa với bệnh vàng lùn Thí nghiệm trong nhà lưới tại Long An 2007-2010

Thời điểm lây bệnh (NSS)	Tỷ lệ cây chết (%)	% bông bệnh không trỗ thoát	Số hạt/bông	Dài bông (cm)	Tỷ lệ lép (%)
5	100	-	-	-	-
10	26,7	100	-	-	-
15	6,7	68,6	40,7	16,8	17,8
20	0	34,5	65,2	18,1	13,7
25	0	11,2	78,5	19,3	9,6
30	0	0	82,8	20,5	9,3
35	0	0	85,3	20,9	8,9
40	0	0	87,1	21,1	8,5
Đ/c	0	0	87,3	21,4	7,2

Ghi chú:

NSS: ngày sau sạ

Giống thí nghiệm: IR 4625

3.9.2. Bệnh LXL

3.9.2.1. Ảnh hưởng của bệnh LXL lá đến sinh trưởng, phát triển của cây lúa

Thí nghiệm lây bệnh lùn xoắn lá nhân tạo với các tuổi lúa khác nhau: 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 35 và 40 ngày sau sạ, cho thấy ở tất cả các công thức thí nghiệm đều xuất hiện cây lúa thể hiện triệu chứng bệnh, cây lúa bị nhiễm bệnh có bị giảm chiều cao, dài, rộng lá so với đối chứng. Cây lúa bị nhiễm bệnh sau 5 ngày sạ có chiều cao cây, dài và rộng lá là: 55,25%, 36,57% và 43,75%; trong khi đó cây lúa bị nhiễm bệnh ở 15 ngày sau sạ các chỉ tiêu trên tương ứng là 65,02%, 59,62% và 73,43 %, cây lúa bị nhiễm bệnh ở 40 ngày sau sạ các chỉ tiêu sinh trưởng như chiều cao cây, dài và rộng lá vẫn bị ảnh hưởng, nhưng mức độ ảnh hưởng khá nhẹ cụ thể là các chỉ tiêu này là 95,17 %, 84,14 % và 96,87 % (xem bảng 3.17)

Bảng 3.17. Ảnh hưởng của bệnh lùn xoắn lá tới một số chỉ tiêu sinh trưởng của cây lúa Thí nghiệm trong nhà lưới Thủ Thừa – Long An -2008

Thời điểm nhiễm bệnh (NSS)	Thời gian ủ bệnh (ngày)	Chiều cao cây		Dài lá		Rộng lá		Ngày để nhánh (NSS)
		Cao cây (cm)	% so với đối chứng	Dài lá	% so với đối chứng	Rộng lá (cm)	% so với đối chứng	
5	9.4	45.80	55.25	19.20	36.57	0.56	43,75	13.00
7	9.8	57.40	69.24	25.60	48.76	0.78	60,94	14.80
10	10.8	51.30	61.88	31.80	60.57	1.10	85,93	16.80
15	13.6	53.90	65.02	31.30	59.62	1.11	73,43	18.80
20	20.6	57.80	69,72	36.80	70,09	1.14	89,06	20.10
25	21.6	58.30	70.33	37.20	70.86	1.16	90,62	21.00
30	24.2	65.10	78.53	36.40	69.33	1.21	94,53	20.40
35	25.2	76.50	92.28	41.80	79.62	1.24	96,87	21.20

40	33.2	78.91	95,17	44.20	84.19	1.24	96,87	23.40
Đối chứng	-	82.9	-	52.5	100	1.28	-	25.50

Ghi chú: - NSS: ngày sau sạ - Giống thí nghiệm: IR 4625

Mặt khác, khi cây lúa bị nhiễm bệnh thời điểm 5,7,15 ngày sau sạ có thời điểm bắt đầu đẻ nhánh là khá sớm từ 13 đến 18,8 ngày sau sạ, ngược lại nếu nhiễm bệnh vào 20, 25, 30, 35 và 40 ngày sau sạ thì thời gian đẻ nhánh lại kéo dài hơn so với nhiễm bệnh ở các giai đoạn trước đó nhưng vẫn ngắn hơn so với đối chứng (xem bảng 3.17).

3.9.2.2. Thời kỳ miễn cảm của cây lúa với bệnh LXL

Kết quả theo dõi cho thấy khi cây lúa 5 ngày sau sạ bị nhiễm bệnh thì có 55,3% số cây có biểu hiện triệu chứng bệnh bị chết và tỷ lệ này là 11,9 % khi bị nhiễm bệnh ở giai đoạn 10 ngày sau sạ và 0,6 % khi bị nhiễm bệnh ở giai đoạn 15 ngày sau sạ. Mặt khác, kết quả thí nghiệm cũng cho thấy nhiễm bệnh ở 5 ngày sau sạ 100 % số cây sông sót không trở được bông, nếu bị nhiễm ở 10 ngày sau sạ thì mức độ ảnh hưởng của bệnh tới cây lúa cũng có giảm, tỷ lệ trở bông thoát của những cây sông sót là 27,5% và tỷ lệ lép lên tới 21,5 % so với đối chứng.

Giống thí nghiệm: IR 4625, trong khi đó bị nhiễm bệnh ở 15 ngày sau sạ các tương ứng là 43,3 % và 16,3 %; tương tự như với bệnh vàng lùn cây lúa rất miễn cảm với bệnh lùn xoắn lá ở giai đoạn từ sạ đến 15 ngày sau sạ sau đó tính miễn cảm giảm dần theo tuổi cây lúa, cây lúa rất an toàn khi bị nhiễm bệnh ở 40 ngày sau sạ (xem bảng 3.18).

Bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá có ảnh hưởng đến các chỉ tiêu sinh trưởng và phát triển cây lúa cao cây, dài rộng lá mức độ ảnh hưởng giảm dần khi cây lúa

nhễm bệnh ở các giai đoạn cây lúa già hơn, mức độ ảnh hưởng rất nhỏ khi ở 40 ngày sau sạ. Mặt khác, mức độ miễn cảm của cây lúa với bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá tới các chỉ tiêu về năng suất như tỷ lệ trổ thoát, hạt lép, số hạt trên bông cũng giảm dần theo tuổi cây lúa nhiễm bệnh, cây lúa an toàn khi nhiễm bệnh ở 40 ngày tuổi. Do vậy, cần thực hiện các biện pháp bảo vệ cây lúa từ khi sạ đến 40 ngày sau sạ, thông qua các biện pháp phòng trừ rầy nâu với vai trò là môi giới truyền bệnh, ở các giai đoạn sau 40 ngày sau sạ việc quản lý rầy nâu nên tiến hành các biện pháp quản lý theo hướng coi rầy nâu là đối tượng gây hại trực tiếp.

Bảng 3.18. Kết quả nghiên cứu xác định giai đoạn miễn cảm của cây lúa với bệnh lùn xoắn lá Thí nghiệm tại nhà lưới, Long An 2007-2010

Thời điểm lây bệnh (NSS)	Tỷ lệ cây chết (%)	% bông bệnh không trổ thoát	Số hạt/bông	Dài bông (cm)	Tỷ lệ lép (%)
5	56,7	100	-	-	-
10	13,3	72,5	35,3	13,1	21,5
15	3,3	56,7	51,2	15,9	16,3
20	0	9,8	76,7	18,5	12,4
25	0	2,1	81,6	19,8	9,5
30	0	0	85,2	20,3	9,1
35	0	0	85,8	20,7	8,7
40	0	0	87,1	21,4	8,2

Đ/c	0	0	87,3	21.4	7,2
-----	---	---	------	------	-----

Ghi chú: - NSS: ngày sau sạ

3.10. Kết quả điều tra tỷ lệ bệnh và năng suất trên đồng ruộng

Thực tế điều tra thực tế đồng ruộng cho thấy ở tất cả các thời điểm, mùa vụ điều tra, trên đồng ruộng luôn tồn tại song song cả 2 bệnh VL và LXL, thậm chí trong một khóm lúa có cả triệu chứng của 2 bệnh, nhưng tỷ lệ bệnh vàng lùn luôn có tỷ lệ cao hơn 90%. Do vậy, việc đánh giá tương quan giữa tỷ lệ bệnh được tính ở đây là hỗn hợp của 2 bệnh. Kết quả điều tra đánh giá tại Long An, Tiền Giang trong năm 2007 - 2008 và các năm tiếp theo tại các vùng thực hiện đề tài cho thấy năng suất thực tế cuối vụ với tỷ lệ bệnh từ 5% - 10% thì thiệt hại thực tế cao nhất là 5,8% - 12,5% so với đối chứng, mức độ hại từ 20% - 30% thì năng suất giảm từ 20,5% - 31,8% so với đối chứng, thậm chí ở mức độ hại lên tới 30% - 40% thì năng suất thực tế vẫn đạt được đến 54,8% - 58,5%, năng suất thực tế đạt được 32,1 đến 37,4 tạ/ha (Bảng 3.19). Các điều tra đánh giá của những năm tiếp theo 2009 - 2010 tại Long An, Tiền Giang và Bình Thuận đều cho kết quả tương tự, thậm chí với tỷ lệ bệnh trên đồng ruộng lên tới trên 70% năng suất vẫn đạt từ 11 - 25 tạ/ha (xem phụ lục 3.15,3.16).

Trên đồng ruộng cho thấy ở mức độ nhiễm bệnh với tỷ lệ đến 40%, năng suất vẫn đạt 37,4 tạ/ha, do vậy không nên tiến hành hủy các ruộng nhiễm bệnh với tỷ lệ tương tự, mà nên tiến hành các biện pháp chăm sóc nhằm khôi phục quần thể ruộng lúa và triệt để tiến hành các biện pháp phòng trừ môi giới nhằm tránh sự lây lan của bệnh sang các ruộng khác.

**Bảng 3.19. Năng suất và tỷ lệ bệnh đồng ruộng tại Long An và Tiền Giang
năm 2007-2008**

Địa điểm điều tra	Tỷ lệ bệnh (%)	Năng suất	
		Năng suất (tạ/ha)	% so với đối chứng
Vụ đông xuân 2007-2008			
Thủ Thừa Long An	≤ 5	60	100
	5 – 10	56,5	94,2
	10-20	50,3	83,8
	20-30	43,2	72,0
	30-40	35,1	58,5
Tân Thạnh Long An	≤ 5	67,3	100
	5 – 10	62.8	93,3
	10-20	54,5	80,7
	20-30	45,9	68,2
	30-40	37,4	55,4
Vụ hè thu 2008			
Thủ Thừa Long An	≤ 5	58,5	100
	5 – 10	53,6	91,6
	10-20	48,9	83,6
	20-30	41,4	70,8
Tân Thạnh Long An	≤ 5	58,6	100
	5 – 10	51,3	87,5
	10-20	47,7	81,4
	20-30	40,2	68,6
	30-40	32,1	54,8
Châu Thành Tiền Giang	≤ 5	63,8	100
	5 – 10	60,1	94,2
	10-20	56,3	88,2
	20-30	50,7	79,5

- Ghi chú: - đối chứng là ruộng có tỷ lệ bệnh ≤ 5%

3.11. Các biện pháp canh tác phòng trừ bệnh VL, LXL và rầy nâu môi giới

Tại các vùng thực hiện đề tài nói riêng, vùng đồng bằng sông Cửu Long cũng như Duyên Hải Nam Trung bộ nói chung cây lúa được trồng độc canh có thể là 2 vụ/năm hoặc 3 vụ/năm, không có sự xen canh hoặc luân canh với các cây trồng khác. Mặt khác, các vùng này ít có sự chủ động điều tiết nước, do hệ thống thủy lợi chưa hoàn thiện, các ruộng lúa chủ yếu phụ thuộc vào chế độ nước tự nhiên như chế độ thủy triều của hệ thống sông và kênh rạch trong vùng hoặc trông chờ vào nước mưa. Do vậy, việc nghiên cứu ảnh hưởng của các biện pháp canh tác tới bệnh và rầy nâu chúng tôi tập chung vào một số biện pháp như thời điểm gieo sạ, mật độ sạ...

3.11.1. Thời điểm sạ và rầy nâu, bệnh VL, LXL

3.11.1.1. Vụ Đông –Xuân

Bảng 3.20. Thời điểm sạ và mật độ rầy nhập cư và tỷ lệ bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá tại Mỹ Phú vụ Đông –Xuân 2007-2008

Thời điểm sạ	Mật độ rầy (Con/m ²)			Tỷ lệ bệnh (%) 45 NSS	Năng suất (tấn/ha)
	5 NSS	15 NSS	45 NSS		
Trước né rầy (12/11)	10,4*	183,7*	1254,5	18,5	5,1
Né rầy (25/11)	5,6*	49,5*	672,6	8,4	6,0
Sau né rầy (6/12)	3,4*	227,3*	2517,5	26,8	4,8

Ghi chú: - Cao điểm rầy vào đèn ngày 16 – 22/11 và ngày 10 – 23/12/2007:

- Lịch thời vụ: 20/11- 30/11
- * rầy trưởng thành xâm nhập vào ruộng lúa
- Tỷ lệ bệnh bao gồm cả bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá

Kết quả theo dõi vụ đông – xuân 2007 - 2008 và các vụ tiếp theo tại xã Mỹ Phú , Thủ Thừa, Long An, và các vùng thực hiện đề tài cho thấy thời điểm sạ có ảnh hưởng rất lớn tới mật độ rầy nhập cư đầu vụ và mật độ quần thể rầy ở giai đoạn sau, ở công thức sạ né rầy mật độ rầy trưởng thành ở thời điểm 5 ngày sau sạ chỉ là 5,6 con/m² trong khi đó sạ trước lịch né rầy mật độ là 10,4 con/m² và sau lịch né rầy là 3,4 con/m², nhưng ở thời điểm 15 ngày sau sạ mật độ rầy trưởng thành là 49,5 con/m² ở công thức sạ theo lịch né rầy và 183,7 con/ m² ở công thức sạ trước lịch, 227, 3 con/m² ở công thức sạ sau lịch né rầy. Tỷ lệ bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá ở công thức sạ né rầy là 8,4% ở công thức sạ né rầy, trong khi đó tỷ lệ bệnh ở công thức sạ trước lịch né rầy là 18,5 % và sau lịch né rầy là 26,8 % ở thời điểm 45 ngày sau sạ (xem bảng 3.20). Trong các năm 2009-2010 các công thức gieo trước, sau lịch né rầy và né rầy tại các tỉnh Long An, Bình Thuận đều cho kết quả tương tự (xem phụ lục 3.17,3.18).

3.11.1.2 Vụ Hè –Thu

Thí nghiệm trong vụ Hè –Thu 2008 và các vụ tiếp theo tại xã Mỹ Phú, Thủ Thừa, Long An và các vùng thực hiện đề tài cho thấy tương tự như vụ Đông –Xuân, thời điểm gieo sạ có ảnh hưởng rõ rệt tới mật độ rầy nhập cư đầu vụ và tỷ lệ bệnh trên đồng ruộng. Trên công thức sạ né rầy mật độ rầy nhập cư đầu vụ thấp hơn đáng kể so với sạ không né rầy (bao gồm sạ trước và sau lịch sạ né rầy), ở công thức né rầy mật độ rầy nhập cư đầu vụ ở 5 và 15 ngày sau sạ là 0.9 con/m² và 21,5 con /m², trong khi đó mật độ rầy tương ứng của công thức sạ trước lịch né rầy là 2,5 và 91,7 con/m², công thức sạ sau lịch né rầy là 2,0 và 103,8 con/m² ở cùng thời điểm theo dõi. Tỷ lệ bệnh ở công thức gieo sạ né rầy cũng thấp hơn đáng kể so với gieo sạ không né rầy dù thời điểm sạ trước hay sau đợt cao điểm rầy vào đèn, trên ruộng gieo sạ né rầy tỷ lệ bệnh là 4,5% trong khi đó sạ trước tỷ lệ bệnh là 10,5% và sau tỷ lệ bệnh là 14,7% ở cùng thời điểm 45 ngày sau sạ (xem bảng 3.21). Việc đánh giá ảnh hưởng của thời vụ sạ né rầy và

trước, sau né rầy được tiếp tục tiến hành, các kết quả thu được ở các năm tiếp theo đều cho kết quả tương tự (xem phụ lục 3.19).

Bảng 3.21. Thời điểm sạ và mật độ rầy nhập cư và tỷ lệ bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá tại Mỹ Phú vụ Hè -Thu 2008

Thời điểm sạ	Mật độ rầy (Con/m ²)			Tỷ lệ bệnh (%) 45 NSS	Năng suất (tấn/ha)
	5 NSS	15 NSS	45 NSS		
Trước né rầy (10/5)	2,5*	91,7	972,5	10,5	5,2
Né rầy (26/5)	0,9*	21,5	514,6	4,5	6,1
Sau sau né (6/6)	2,0*	103,8	1128,2	14,7	5,0

Ghi chú: - Cao điểm rầy vào đèn ngày 17 – 24/5 và ngày 12 – 23/6/2008:

- Lịch thời vụ: 23/5- 30/5

- * rầy trưởng thành xâm nhập vào ruộng lúa

- Tỷ lệ bệnh bao gồm cả bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá.

Trong cả 2 vụ Đông - Xuân và Hè - Thu, thời điểm sạ có vai trò quan trọng trong việc giảm thiểu mật độ rầy nhập cư ban đầu trên đồng ruộng, sạ né rầy (ở những vùng có khả năng chủ động được thời vụ gieo sạ) làm giảm mật độ rầy nhập cư ban đầu giai đoạn cây lúa rất mẫn cảm với bệnh từ đó có tác dụng rõ rệt tới việc giảm tỷ lệ bệnh trên đồng ruộng, điều này rất có ý nghĩa trong việc phòng chống bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và rầy nâu môi giới.

3.11.2. Lượng giống sạ và rầy nâu, bệnh VL, LXL

3.11.2.1. Vụ Đông –Xuân

Thí nghiệm các lượng giống sạ khác nhau (100, 150 và 200 kg/ha) trong vụ Đông - Xuân 2007 - 2008, và các vụ tiếp theo tại xã Mỹ Phú, huyện Thủ

Thừa, tỉnh Long An cho thấy lượng giống sạ ảnh hưởng đáng kể tới mật độ rầy nhập cư đầu vụ vào ruộng lúa, ở công thức 100 kg giống /ha mật độ rầy xâm nhập ở thời điểm 5 ngày sau sạ là 5,6 con/m² trong khi đó ở các công thức 150 kg giống và 200 kg giống/ha có mật độ rầy tương ứng là 9,3 con/m² và 21,5 con/m², kết quả tương tự ở thời điểm 15 và 45 ngày sau sạ mật độ rầy ở công thức 100 kg giống/ha luôn có mật độ rầy thấp hơn so với công thức sạ 150 và 200 kg giống/ha.

Bảng 3.22. Lượng giống sạ và mật độ rầy nhập cư và tỷ lệ bệnh VL, LXL tại Mỹ Phú vụ Đông –Xuân 2007-2008

Lượng giống (kg/ha)	Mật độ rầy (Con/m ²)			Tỷ lệ bệnh (%)	Năng suất (tấn/ha)
	5 NSS	15 NSS	45 NSS	45 NSS	
100	5,6*	49,5*	572,6	8,4	6,1
150	9,3*	77,8*	912,7	11,5	5,9
200	21,5*	95,5*	1023,5	16,7	5,4

Ghi chú: - Thời gian sạ: 25-26/11/2007

- * Rầy trưởng thành xâm nhập vào ruộng lúa

- Tỷ lệ bệnh bao gồm cả bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá.

Do mật độ rầy trưởng thành xâm nhập trong giai đoạn đầu ở các công thức 150 và 200 kg giống/ha cao hơn so với công thức 100 kg giống/ha nên tỷ lệ bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá ở các công thức này cũng cao hơn đáng kể so với công thức sạ với lượng giống là 100 kg giống/ha cụ thể là tỷ lệ bệnh ở công thức 150 kg/ha và 200 kg/ha tương ứng là 11,5% và 16,7%, trong khi đó công thức 100

kg/ha chỉ là 8,4% (xem bảng 3.22). Kết quả theo dõi ảnh hưởng của lượng giống sạ tới mật độ rầy và tỷ lệ bệnh của các vụ tiếp theo đề cho kết quả tương tự (xem phụ lục 3.20,3.21)

3.11.2.2. Vụ Hè –Thu

Ảnh hưởng của mật độ sạ tới phát sinh và phát triển của rầy nâu và bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá một cách toàn diện hơn, các thí nghiệm được tiếp tục tiến hành ở các vụ tiếp theo tiến hành ở vụ Hè - Thu 2008. Kết quả theo dõi cho thấy ở vụ mùa diễn biến của rầy nâu và bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá nhẹ hơn so với vụ Đông - Xuân, nhưng kết quả cho thấy một cách khá rõ nét về ảnh hưởng của lượng giống sạ đến phát sinh và phát triển của rầy nâu và bệnh trên đồng ruộng.

Bảng 3. 23. Lượng giống sạ và mật độ rầy nhập cư và tỷ lệ bệnh VL, LXL tại Mỹ Phú vụ Hè –Thu 2008

Lượng giống (kg/ha)	Mật độ rầy (Con/m ²)			Tỷ lệ bệnh (%) 45 NSS	NĂng suất (tấn/ha)
	5 NSS	15 NSS	45 NSS		
100	0,9*	21,5	514,6	4,5	5,8
150	1,6*	47,2	812,5	7,5	5,4
200	6,8*	91,5	1011,5	12,1	5,1

Ghi chú: - Thời gian sạ: 24-25/5/2008

- * rầy trưởng thành xâm nhập vào ruộng lúa

- Tỷ lệ bệnh bao gồm cả bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá

Với lượng giống 100 kg/ha ở thời điểm 5 ngày sau sạ mật độ rầy là

0,9con/m² trong khi đó mật độ ở cùng thời điểm của công thức 150 kg/ha và 200 kg/ha là 1,6 và 6,8 con/m². Tỷ lệ bệnh trên đồng ruộng cũng có sự khác biệt khá rõ ở các công thức với các lượng giống khác nhau, với lượng giống 100 kg/ha tỷ lệ bệnh ở 45 ngày sau sạ là 4,5% trong khi đó tỷ lệ bệnh ở công thức 150 và 200 kg giống/ha là 7,5 và 12,1% ở cùng thời điểm điều tra (xem bảng 3. 23). Kết quả thí nghiệm ở các vụ tiếp theo đã cho thấy lượng giống sạ có ảnh hưởng rất rõ ràng đến mật độ rầy nhập cư giai đoạn đầu và mật độ giai đoạn sau, từ đó đã có tác dụng giảm rõ rệt tỷ lệ bệnh VL, LXL trên đồng ruộng (xem phụ lục 3.22).

Lượng giống sạ có ảnh hưởng rõ rệt tới mật độ rầy nhập cư ban đầu, gieo sạ thưa với lượng giống 100 kg/ha có tác dụng giảm số lượng rầy môi giới nhập cư đầu vụ, giai đoạn cây lúa rất mẫn cảm với bệnh, điều này rất có ý nghĩa trong việc phòng chống bệnh VL, LXL. Tuy nhiên, việc gieo sạ thưa phải đi đôi với chất lượng hạt giống, các biện pháp chăm sóc phù hợp đảm bảo cây lúa khỏe, các biện pháp bảo vệ cây lúa trong giai đoạn mẫn cảm với bệnh như xử lý hạt giống, phun thuốc trừ môi giới ..., thì mới phát huy hiệu quả của việc gieo sạ thưa trong việc phòng chống bệnh VL,LXL.

3.11.2.3 Mức độ nhiễm bệnh VL, LXL trên một số giống phổ biến

Thực tế sản xuất tại Long An, Tiền Giang có khoảng trên 20 giống lúa được trồng ở các vùng này, trong đó có 13 giống được trồng khá phổ biến. Kết quả điều tra mức độ nhiễm bệnh trên đồng ruộng của 13 giống trồng phổ biến tại Long An và Tiền Giang trong 2 vụ Đông –Xuân và Hè –Thu từ năm 2007-2009 cho thấy các giống này đều bị nhiễm bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá trong cả 2 vụ gieo trồng và cả hai địa phương điều tra, trong đó bệnh vàng lùn luôn có tỷ lệ cao hơn so với bệnh lùn xoắn lá.

**Bảng 3.24. Tỷ lệ bệnh VL, LXL trên một số giống phổ biến tại Long An,
Tiền Giang 2007-2008**

STT	Giống	Long An				Tiền Giang			
		Đông - Xuân		Hè -Thu		Đông -Xuân		Hè -Thu	
		Tỷ lệ bệnh (%)		Tỷ lệ bệnh (%)		Tỷ lệ bệnh (%)		Tỷ lệ bệnh (%)	
		VL	LXL	VL	LXL	VL	LXL	VL	LXL
1	OM4498	9,31	3,11	12.74	2.54	10,61	3,33	8.53	3.91
2	IR59606	4,53	1,13	3.27	2.47			-	-
3	OM1490	3,67	2,07	5.32	3.42	1,68	0,97	2.15	1.03
4	VND95-10	14,21	3,41	13.74	2.84	11,51	6,73	9.37	5.91
5	OM576	8,52	1,72	7.34	3.04	8,97	2,61	7.51	2.31
6	OM3536	4,98	2,18	5.20	1.91	6,81	2,62	4.86	1.83
7	OMCS2000	12,36	4,67	11.63	5.75	9,02	3,11	7.42	2.95
8	VND20-07	6,19	3,16	5.97	2.31	11,33	6,61	9.25	5.34
9	OM2717	-		-	-	9,13	2,09	7.15	2.11
10	OM2517	2,91	1,51	3,46	1,76	7,71	2,12	6.38	2.07
11	VND95-20	18,93	5,27	17,24	7,54	9,85	3,76	7,53	2,73
12	Jasmine 85	16,78	2,53	3.95	1.87	25,71	12,87	22,58	15,32
13	IR 50404	6,57	0,56	1.56	0.84	1,39	1,27	1,72	1,03

Một số giống Jasmine 85, VND 95-20, OMCS 2000 có tỷ lệ bệnh cao hơn các giống còn lại, các giống IR 50404, OM 4900 có tỷ lệ bệnh trên đồng ruộng thấp hơn so với các giống điều tra (xem bảng 3.24). Kết quả điều tra các vụ tiếp theo tại Long An và Tiền Giang ở vụ Đông –Xuân 2008-2009 và Hè Thu 2009

cũng cho kết quả tương tự (xem phụ lục 3.23).

Nhìn chung, các giống trồng phổ biến ở Long An, Tiền Giang đều nhiễm bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá, tuy nhiên một số giống như IR 50404, OM 4900 có tỷ lệ thấp hơn so với các giống còn lại, do vậy trong điều kiện dịch bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá xảy ra nên trồng các giống IR 50404, OM 4900 nếu điều kiện đất đai, mùa vụ, thời tiết khí hậu cho phép và đảm bảo yêu cầu được hiệu quả kinh tế.

3.11.2.4. Mức độ bệnh VL, LXL trên đất 2 và 3 vụ lúa/năm

Trên đất 2 vụ/năm (Thủ Thừa) vụ và 3 vụ/năm (Tân Trụ) tại Long An cho thấy trên đất 3 vụ/năm hoặc 2 vụ/năm đều có sự hiện diện của 2 loại bệnh tại các vùng điều tra trên tất cả các giống được trồng tại các vùng này. Tuy nhiên, đất 2 vụ có tỷ lệ bệnh thấp hơn so với đất 3 vụ, trên đất 2 vụ thì vụ Đông – Xuân có tỷ lệ bệnh cao hơn so với vụ Hè - Thu, trong khi đó trên đất 3 vụ/năm thì vụ Thu – Đông lại có tỷ lệ bệnh cao nhất và tiếp đến là vụ Đông – Xuân và thấp nhất là vụ Hè – Thu sớm trên cùng một giống là IR 50404 (xem bảng 3. 25, phụ lục 3.24)

Bảng 3.25. Tỷ lệ bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá trên đất 2 và 3 vụ lúa/năm tại Long An 2007-2008

Số vụ/năm	Địa phương	Giống	Tỷ lệ bệnh vàng lùn (%)	Tỷ lệ bệnh lùn xoắn lá (%)
2 vụ	Thủ Thừa- Long An			
	Đông – Xuân 2007-2008	VD 20	13,18	2,86
		OM4498	9,31	3,11
		OM576	8,52	1,72
		IR 4625	12,5	2,1
		OM3536	4,98	2,18
	Hè – Thu 2008	Jasmine 85	3.95	1.87
		OMCS2000	11.63	5.75
		IR 4625	4,3	1,1
		OM576	7.34	3.04
3 vụ	Tân Thạnh- Long An			
	Đông –Xuân 2007-2008	VD 20	11,81	3,69
		IR 50404	6,57	0,27
		OM576	13,21	2,98
	Vụ Hè – Thu sớm	IR 50404	7,87	4,32
		OM576	6,91	1,63
	Vụ Thu -Đông	IR 50404	8,73	0,95
		Jasmine 85	34,56	9,86

3.12. Các biện pháp phòng trừ bệnh VL, LXL và rầy nâu môi giới bằng các biện pháp sinh học, hóa học

3.12.1. Danh mục một số thiên địch của rầy nâu

Đã tiến hành thu thập được 35 loài thiên địch của rầy nâu, trong đó có 26

loài côn trùng thuộc 12 họ của 4 bộ côn trùng, 7 loài nhện thuộc 2 họ của bộ Araneidae và 2 loài nấm ký sinh thuộc 1 họ của bộ Moniliales. Có 4 loài ong ký sinh trứng, 29 loài ký sinh hoặc ăn thịt các pha trưởng thành, rầy non và 2 loài nấm gây bệnh trưởng thành. Ghi nhận 3 loài ong ký sinh trứng của rầy, trong đó phổ biến nhất là 2 loài thuộc giống *Anagrus*, thu trứng về theo dõi chúng tôi thấy tỷ lệ ký sinh lên tới xấp xỉ 20%. Rầy nâu cũng bị một số lớn các loài bắt mồi ăn thịt tấn công, trong đó nổi bật là các loài bọ xít mù xanh (*Cyrtorhinus lividipennis*), nhện sói vân đỉnh ba (*Pardosa pseudoannulata*), nhện sói bọc trứng (*Pirata subpiraticus*), nhện lớn hàm to bụng tròn (*Dyschiriognatha tenera*), bọ cánh cứng 3 khoang (*Ophionea indica*) và bọ rùa 8 chấm (*Harmonia octomacula*). Các vi sinh vật gây bệnh cho rầy chúng tôi ghi nhận được 2 loài tuy nhiên tỷ lệ ký sinh thấp (Xem phụ lục 3.25)

3.12.2. Hiệu quả một số thuốc trừ rầy nâu có nguồn gốc thảo mộc, sinh học

Trong thời gian từ 2007 - 2010 đã tiến hành khảo nghiệm đánh giá hiệu lực trừ rầy nâu của một số chế phẩm, thuốc có nguồn gốc thảo mộc (6 loại) và sinh học (6 loại) trong các thời vụ Đông - Xuân, Hè - Thu và Thu - Đông:

- Thuốc thảo mộc: Toi toi 12,5DD, Neem – Xoan Xanh 0,3 EC, Vectimec 1,8 EC, Abatimec 1,8 EC, Silsau 1,8 EC

- Thuốc sinh học: Biovip, Ometar, Cộng hợp vi sinh 16 BTN, Bemetent WP (trắng xanh), Bemetent WP + Amino 15, và Ometar + Biovip (OmeBio BTN)

- Với các thuốc thảo mộc hiệu quả khá thấp, hiệu quả cao nhất là Abatimec và Vetimec cũng chỉ là 60% sau 10 ngày phun, các thuốc Toi toi 12,5 DD và Neem – Xoan xanh 0,3 EC hiệu lực cao nhất đều dưới 60 % .

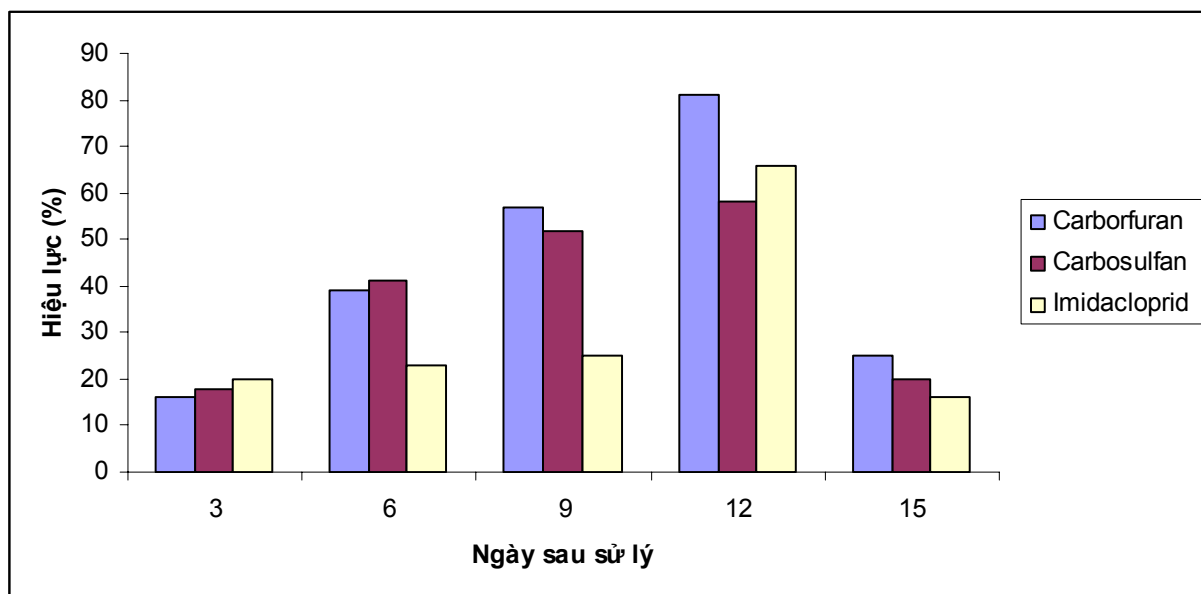
- Các thuốc có nguồn gốc sinh học, chế phẩm sinh học thì Ometar có hiệu lực khá, đạt 75% sau 7 ngày phun và 71 % sau 10 ngày phun, tiếp đến là

Bemetent WP + Amino 15 (hiệu quả đạt 69 % sau 7 ngày phun), các thuốc Biovip có hiệu lực thấp nhất trong tất cả các lần đánh giá (xem phụ lục 3.26)

Với hiệu quả trừ rầy không cao và chậm, thường đạt cao nhất sau 7 ngày sau phun, các thuốc này không thể áp dụng phòng trừ rầy nâu khi dịch vàng lùn, lùn xoắn xảy ra và việc trừ rầy là vai trò môi giới, mà chỉ có thể áp dụng phòng trừ rầy nâu trong điều kiện không có dịch vàng lùn, lùn xoắn lá xảy ra, hoặc ở giai đoạn sau khi sạ 40 ngày khi cây lúa khá an toàn với bệnh VL, LXL.

3.12.3. Phòng trừ rầy nâu bằng thuốc hóa học bón gốc

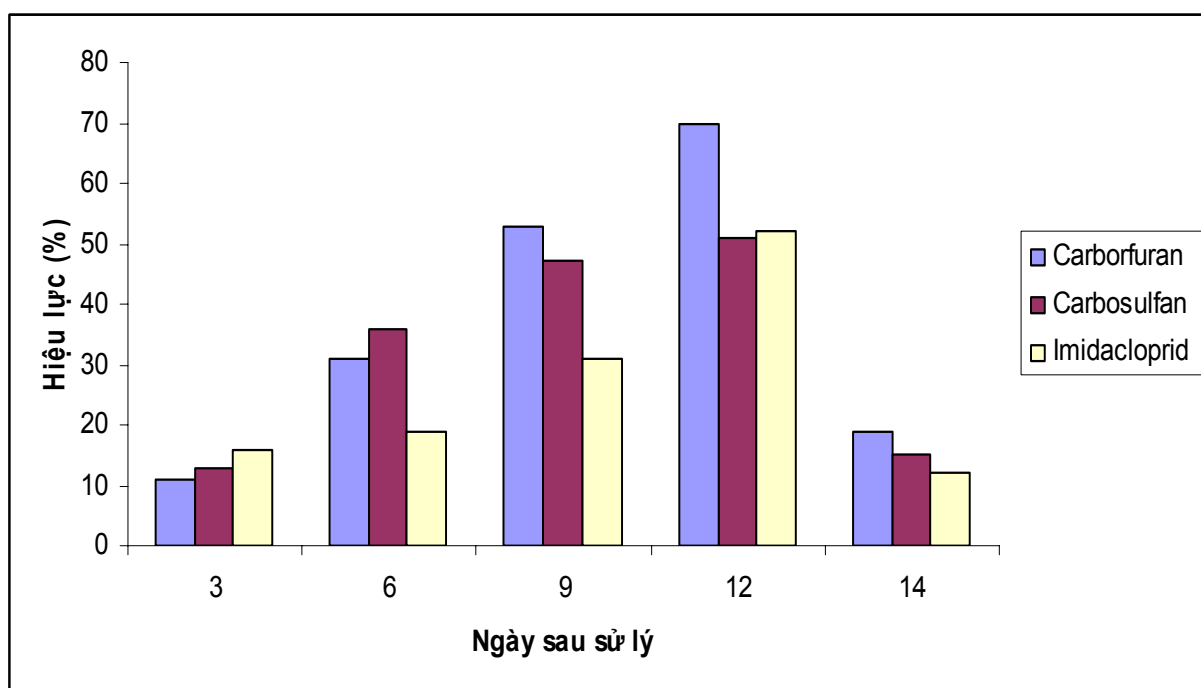
Trong năm các năm 2007 - 2009 các loại thuốc hóa học trừ rầy bằng cách bón gốc là Carbofuran, Carbosulfan và Imidacloprid được tiến hành thử nghiệm với 2 giai đoạn là 15 ngày và 30 ngày sau sạ.



Hình 3.29. Hiệu lực của một số loại thuốc trừ rầy bằng phương pháp bón gốc ở 15 ngày sau sạ Mỹ Phú, 3/2009

Hiệu lực của các loại thuốc thí nghiệm có hiệu lực khá thấp ở 3 ngày sau sạ và hiệu lực tăng và đạt hiệu quả cao nhất ở 12 ngày sau sử lý và sau đó giảm ở

15 ngày sau bón ở cả hai thời điểm bón là 15 và 30 ngày sau sạ, trong đó thuốc Carbofuran có hiệu lực cao nhất tiếp đến là thuốc Imidacloprid và thấp nhất là thuốc Carbosulfan, sử lý thuốc vào giai đoạn cây lúa 15 ngày sau sạ có hiệu lực cao hơn so với giai đoạn 30 ngày sau sạ (Hình 3.29,3.30)



Hình 3.30. Hiệu lực của một số loại thuốc trừ rầy bằng phương pháp bón gốc ở 30 ngày sau sạ Mỹ Phú, 3/2009

Điều này cho thấy các loại thuốc hóa học trên được sử lý bằng cách bón vào gốc không thể dùng cho việc trừ rầy nâu với vai trò môi giới truyền bệnh, chỉ nên dùng cho việc trừ rầy với vai trò gây hại trực tiếp.

Do vậy, trong điều kiện dịch rầy nâu, bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá xảy ra, hoặc có nguy cơ cao thì không nên sử dụng các loại thuốc có nguồn gốc thảo mộc, sinh học và thuốc bón gốc để trừ rầy nâu với vai trò môi giới, nên sử dụng một số loại thuốc nội hấp có hiệu lực trừ rầy cao và kéo dài để trừ môi giới như

Oshin 20WP, Dantotsu 16WSG, Bassa 50EC. Chess 50 WG (xem phụ lục 27).

3.12.4. Hiệu quả của một số kích thích sinh trưởng lá tới cây lúa, ruộng lúa nhiễm bệnh VL, LXL

3.12.4.1. Ảnh hưởng của một số chất kích thích sinh trưởng đến cây lúa nhiễm bệnh VL, LXL trong điều kiện thí nghiệm

Các công thức sử lý thuốc kích thích sinh trưởng (Boom Flower n) và phân bón lá (K-H) đều có số cây xuất hiện triệu chứng thấp hơn so với đối chứng ở cả hai bệnh VL và LXL, tuy nhiên ở các công thức phun Boom Flower n có tỷ lệ cây xuất hiện triệu chứng bệnh thấp hơn đáng kể so với đối chứng và phun K-H, cụ thể là phun Boom flower trước khi lây bệnh nhân tạo 5 ngày số cây nhiễm bệnh vàng lùn là 11/50 (CT 4), lùn xoắn lá 15/50 (CT5) và công thức phun K-H là 16/50 (CT6) và 19/50 (CT7) trong đó đối chứng tương ứng là 26/50 (Đ/c 1a), 23/50 (Đ/c 1b). Tương tự như vậy phun Boom flower sau khi nhiễm bệnh nhân tạo 3 ngày số cây xuất hiện triệu chứng bệnh vàng lùn 11/50 (CT 8), lùn xoắn lá 12/50 (CT9) trong khi đó KH với bệnh vàng lùn là 15/50 (CT 10), lùn xoắn lá là 21/50 (CT11), kết quả tương tự ở các công thức phun Boom Flower n và K-H sau khi bắt đầu xuất hiện triệu chứng.

Mặt khác, Boom Flower n, K-H cũng có ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của cây lúa bị nhiễm bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá cụ thể là ở các công thức phun Boom Flower n hoặc K-H ở các thời điểm trước khi, sau khi lây bệnh 3 ngày hoặc bắt đầu xuất hiện triệu chứng bệnh đều có cao cây, dài và rộng lá cao hơn so với đối chứng lây bệnh nhưng không phun, nhưng phun sớm thì hiệu quả rõ ràng hơn (xem bảng 3.26).

Chất kích thích sinh trưởng Boom Flower n, K-H có hiệu quả nhất định tới sự phát triển của cây lúa nhiễm bệnh, cũng như thời gian ủ bệnh và tỷ lệ cây biểu

hiện triệu chứng trong điều kiện thí nghiệm.

Bảng 3.26. Ảnh hưởng của một số chất kích thích sinh trưởng, phân bón lá tới cây lúa nhiễm bệnh VL, LXL trong nhà lưới tại Mỹ Phú 2007

Công thức	Tổng số cây biểu hiện bệnh	Thời gian biểu hiện bệnh (ngày)			Cao cây (cm)	Dài lá (cm)	Rộng lá (cm)
		Sớm nhất	Muộn nhất	Trung bình			
1 (Đ/C)	0	-	-	-	91,9±4,08	61,4±3,40	1,26±0,09
2 (Đ/C 1a)	26	8	24	14,15±5,83	52,89±11,12	33,94±7,33	0,74±0,19
3 (Đ/C 1b)	23	9	15	10,9±1,88	58,4±11,0	36,21±7,22	0,88±1,15
4	11	9	26	16,18±6,22	59,12±7,10	37,75±5,25	0,81±0,18
5	15	9	26	15,00±5,68	62,08±10,43	40,00±7,39	0,95±0,20
6	16	8	24	13,06±4,59	57,23±9,05	37,38±6,73	0,84±0,18
7	19	8	16	12,31±2,42	65,00±13,71	40,94±10,10	1,03±0,19
8	11	9	25	14,45±6,69	55,75±6,51	35,25±6,51	0,77±0,17
9	12	12	24	15,00±4,28	60,81±11,25	38,45±8,00	0,91±0,13
10	16	8	25	14,62±5,69	55,75±8,85	36,25±5,13	0,85±0,18
11	21	9	25	12,66±4,16	59,26±8,48	36,47±0,21	0,80±0,21
12	14	8	25	13,00±5,46	56,16±8,54	34,91±8,12	0,90±0,21
13	19	8	25	13,57±6,23	55,12±8,77	34,75±7,06	0,77±0,13
14	15	9	15	11,06±2,31	59,8±11,9	38,06±9,23	0,88±0,18
15	22	9	26	20,18±7,56	49,28±8,73	32,57±5,25	0,70±0,05

3.12.4.2. Ảnh hưởng của một số chất kích thích sinh trưởng và phân bón lá tới cây lúa ngoài đồng ruộng

Kết quả theo dõi cho thấy việc phun một số thuốc kích thích sinh trưởng như Boom Flower n và K-H khi ruộng lúa bắt đầu xuất hiện triệu chứng bệnh, phun lần 2 sau đó 15 ngày và lần 3 vào 60 ngày sau sạ có tác dụng khôi phục quần thể ruộng lúa bị bệnh khá tốt: tăng số danh hữu hiệu, tăng số hạt chắc/bông và tăng trọng lượng 1000 hạt và làm tăng năng suất của ruộng so với ruộng không phun.

Bảng 3.27 . Hiệu quả của việc sử dụng phân bón lá tới ruộng lúa nhiễm bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá tại Long An, Đông –Xuân 2008 – 2009

TT	Công thức		Số danh/m ²	Số bông/m ²	Hạt chắc/bông	P ₁₀₀₀ hạt	Năng suất t/ha
1	Tỷ lệ bệnh dưới 10 %	Phun K.	772	473	68	31,5	5,7
		Phun B	769	508	67	31,6	5,8
		KP	763	428	64	30,8	5,1
2	Tỷ lệ bệnh 10 -20%	Phun K.	692	357	67	31,2	49,3
		Phun B	711	376	66	31,4	5,0
		KP	653	312	64	30,6	40,2
3	Tỷ lệ bệnh 20-30%	Phun K.	623	333	67	31,7	45,8
		Phun B	612	362	65	31,6	48,3
		KP	619	276	63	30,5	3,5

Ghi chú: - K: K- H; - B: Boom Flower n; - KP: Không phun.

- Phun thuốc lần 1 vào 25-30 ngày sau sạ
- Phun lần 2 vào 35-40 ngày sau sạ
- Phun lần 3 vào 60 ngày sau sạ

Cụ thể là ruộng có cùng mức tỷ lệ bệnh nhỏ hơn 10 % khi phun K-H và Boom Flower n có số bông/m² tương ứng là 473 bông và 508 bông trong khi đó ở ruộng không phun là 428 bông, trên các ruộng với các tỷ lệ bệnh ở mức 10-20 % và 20-30% khi được phun Boom Flower n, K-H đều cho kết quả tương tự. Mặt khác, ở những ruộng được phun K-H và Boom Flower n có số hạt chắc/bông, P1000 và năng suất cao hơn so với đối chứng. (xem bảng 3.27).

Việc phun Boom Flower, K-H lên các ruộng lúa bị nhiễm bệnh VL, LXL với các tỷ lệ bệnh khác nhau khi bệnh bắt đầu xuất hiện và tiếp tục phun lần 2 sau đó 15 ngày và lần 3 vào 60 ngày sau sạ có hiệu quả rõ rệt tới quần thể ruộng lúa ở các mặt: tăng số bông/m², số hạt chắc/bông và trọng lượng 1000 hạt và cuối cùng là tăng năng suất đáng kể so với không phun. Do vậy, trên các ruộng bị nhiễm bệnh song song với việc thực hiện các biện pháp phòng trừ triệt để môi giới..., nên tiến hành Boom Flower, K-H nhằm khôi phục quần thể ruộng lúa từ đó tăng năng suất ruộng lúa.

3.12.5. Hiệu quả phòng trừ rầy nâu môi giới tới tỷ lệ bệnh trên đồng ruộng

Hiện chưa có loại thuốc nào có khả năng phòng trừ bệnh virus hại lúa nói chung và bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá nói riêng, biện pháp hữu hiệu nhất hiện nay là tiến hành phòng các biện pháp nhằm hạn chế ở mức thấp nhất có thể số lượng môi giới xâm nhập và truyền bệnh trong giai đoạn miễn cảm của cây lúa với bệnh, thực hiện các biện pháp canh tác hợp lý để cây lúa khỏe từ đó tăng sức chống chịu của cây lúa với bệnh. Bên cạnh các biện pháp gieo sạ tập trung, né rầy, giảm lượng giống sạ, bón phân cân đối...nhằm giảm thiểu số lượng rầy nhập cư ban đầu vào ruộng lúa, tăng sức chống chịu cho cây lúa, thì biện pháp sử dụng các loại thuốc hóa học trừ rầy nâu nhập cư ban đầu là biện pháp chủ động, hữu hiệu nhằm giảm số lượng rầy nhập cư ban đầu từ đó giảm tỷ lệ bệnh trên đồng ruộng.

**Bảng 3.28. Hiệu quả một số biện pháp trừ rầy nâu tới bệnh VL, LXL Vụ
Đông – Xuân 2007 - 2008 tại Mỹ Phú, Long An**

Công thức	Mật độ rầy trưởng thành (con/m ²)			Tỷ lệ bệnh (%) 50 NSS
	5 NSS	10 NSS	15 NSS	
Xử lý hạt giống, không phun thuốc	8,3	65,6	99,5	25,3
Không xử lý hạt, phun thuốc	17,8	6,1	16,5	9,5
Xử lý hạt, phun thuốc	7,8	4,3	10,2	3,8
Không xử lý hạt giống, không phun thuốc	18,9	84,7	121,7	31,5

Ghi chú: - Thời gian sạ 20/11/2007

- Giống IR 4625

- Phun thuốc vào 7 ngày sau sạ

- Tỷ lệ bệnh bao gồm cả bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá.

Kết quả theo dõi thí nghiệm cho thấy ở công thức chỉ xử lý hạt giống tuy mật độ rầy nâu 5 ngày sau sạ khá thấp (8,3 con/m²) so với không xử lý (18,9 con/m²), nhưng sau 10 và 15 ngày sạ thì mật độ rầy khá cao 65,6 con/m² và 99,5 con/m² xấp xỉ so với công thức đối chứng và tỷ bệnh ở 50 ngày sau sạ lên tới 25,3%, trong đó ở công thức không xử lý hạt giống nhưng tiến hành phun thuốc trừ môi giới thì mật độ rầy 5 ngày sau sạ là 8,6 con/m² nhưng sau 10 và 15 ngày sau sạ thì mật độ khá thấp là 6,1 con/m² và 16,5 con/m², tỷ lệ bệnh ở 50 ngày sau sạ là 9,5 %. Trong khi đó nếu kết hợp cả xử lý hạt giống và phun thuốc trừ môi giới thì mật độ rầy ở 10 ngày sau sạ là 4,3 con/m² và tỷ lệ bệnh rất thấp (3,8 %) so với đối chứng và các công thức khác (xem bảng 3.28). Phòng trừ môi giới

bằng việc kết hợp sử lý hạt giống, sử dụng thuốc hóa học trong vụ Đông - Xuân 2008 - 2009 tại Mỹ Phú cũng cho kết quả tương tự (xem phụ lục 3.28)

Do vậy, trong bối cảnh bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá có nguy cơ cao hoặc dịch đang diễn ra, để phòng chống bệnh đạt hiệu quả, ngoài việc áp dụng gieo sạ né rầy (nếu có điều kiện), sử dụng giống xác nhận, gieo sạ với lượng giống phù hợp thì cần kết hợp sử lý hạt giống và phun thuốc trừ môi giới khi rầy nâu trưởng thành xâm nhập vào ruộng lúa với mật độ lớn,

3.12.6. Giải pháp kỹ thuật hồi phục quần thể ruộng lúa bị bệnh

Trong thực tế sản xuất, để phòng chống bệnh VL, LXL việc khuyến cáo gieo sạ né rầy, tập trung, phòng trừ môi giới nhằm bảo vệ cây lúa ở giai đoạn mẫn cảm với bệnh đã được thực hiện khá tốt và đạt hiệu quả khá cao. Tuy nhiên, trong điều kiện tự nhiên với hệ thống thủy lợi chưa hoàn thiện nên một phần diện tích không nhỏ của các vùng sản xuất lúa ở các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long còn phụ thuộc vào nước trời (chế độ nước thủy triều, chờ mưa) nên thời vụ gieo cấy không chủ động được. Mặt khác, rất nhiều hộ nông dân chưa chủ động phòng trừ bệnh, môi giới, chủ quan nên thực tế một diện tích khá lớn vẫn bị bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá gây hại. Từ những kết quả nghiên cứu chúng tôi đã thực hiện một số giải pháp kỹ thuật: thay nước, bón bổ xung lân, vôi, kali và kết hợp với trừ rầy môi giới nhằm khôi phục quần thể ruộng lúa khi bị nhiễm bệnh trên một số ruộng bị nhiễm bệnh. Kết quả thực hiện các biện pháp này trong Vụ Đông - Xuân 2007 - 2008 và 2008 - 2009 trên một số diện tích bị nhiễm bệnh đã cho những kết quả rất tốt. Trong vụ Đông - Xuân 2008-2009 tại ấp 4 xã Mỹ Phú các hộ nông dân: ông Huỳnh Văn Nhẫn, Lê Văn Khen, Trần Văn Hoàng, Võ Bá Trình thuộc ấp 4 xã Mỹ Phú, Thủ Thừa, Long An sạ vào ngày 20, 21, 22 tháng 11 năm 2008 chỉ sau 7 - 9 ngày sau sạ trùng ngay vào đợt cao điểm rầy vào đèn kéo dài từ ngày 29 tháng 11 đến ngày 10 tháng 12 với số lượng cao nhất lên tới trên 140 000 con/đêm (đêm ngày 6 tháng 12), mật số rầy nâu trưởng thành xâm nhập vào các ruộng từ 200 - 300 con/m². Trên đồng ruộng các hộ này bắt đầu

xuất hiện triệu chứng bệnh vào 20 - 25 ngày sau sạ và đến ngày 10 tháng 1 năm 2009 tỷ lệ bệnh đã lên tới trên 40 % (Huỳnh Văn Nhẫn, Võ Bá Trình). Các giải pháp kỹ thuật đã được áp dụng nhằm tăng cường khả năng chống chịu với bệnh, hồi phục quần thể ruộng lúa, kết quả cho thấy các giải pháp kỹ thuật trên đã có hiệu quả rõ rệt dù tỷ lệ bệnh khá cao (từ 29,6 đến 45,3%) nhưng năng suất thu được từ 4,1 - 5,4 tấn/ha (xem bảng 3.29, phụ lục 3.29). Các giải pháp kỹ thuật này đã được chúng tôi tiến hành tập huấn hướng dẫn rộng rãi cho các vùng sản xuất thuộc các tỉnh Long An, Trà Vinh, Tiền Giang, Đồng Tháp...

Bảng 3.29. Hiệu quả áp dụng một số giải pháp phục hồi quần thể ruộng lúa nhiễm bệnh VL, LXL tại Mỹ Phú, Long An – Đông –Xuân 2008-2009

Chủ hộ	Diện tích (ha)	Tỷ lệ bệnh (%) (40 NSS)	Số chồi /m ²	Số bông/m ²	Tỷ lệ hạt chắc (%)	Năng suất (tấn/ha)
Huỳnh Văn Nhẫn	1,2	45,3	675	403	81,2	4,1
Lê Văn Khen	0,8	36,7	736	496	88,6	5,2
Trần Văn Hoàng	1,4	29,6	704	543	90,5	5,4
Võ Bá Trình	0,6	41,5	693	411	80,8	4,1

Ghi chú: - Tỷ lệ bệnh bao gồm bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá.

- Các hộ đều dùng Bassa 50 + Chess 50 WG trừ rầy vào ngày 4 và 10/12.

Trên các ruộng đã nhiễm bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá cần sử dụng các giải pháp ngừng bón đạm, thay nước, bón bổ xung lân, vôi và kali và tiến hành phun Boom Flower nhằm hồi phục quần thể ruộng lúa bị nhiễm bệnh từ đó đảm bảo được năng suất và tiến hành triệt để phòng trừ môi giới tránh sự lây lan bệnh sang các ruộng khác.

3.13. kết quả xây dựng mô hình áp dụng quy trình

Kết hợp với chính quyền địa phương UBND xã Mỹ Phú, huyện Thủ Thừa, tỉnh Long An, Chi cục BVTV Phú Yên, UBND xã Phú Cần, huyện Tiểu Cần, tỉnh Trà Vinh và chương trình “Cùng nông dân ra đồng” của công ty cổ phần Bảo vệ thực vật An Giang, đã xây dựng được 9 mô hình với tổng số diện tích toàn bộ các mô hình là 2381 ha tại các địa phương trên (xem bảng 3.30).

Bảng 3.30. Diện tích thực hiện mô hình tại Trà Vinh, Long An và Phú Yên từ 2007 - 2010

Địa phương	Diện tích (ha)	Sản lượng tăng (tấn)
Trà Vinh	1100	882,2
Long An	320	153,6
Phú Yên	961	611
Tổng	2381	1646,8

Trong đó mô hình tại xã Tiểu Cần có diện tích là 110 thực hiện 10 vụ liên tiếp, mô hình xã Mỹ Phú có diện tích 40 ha thực hiện 8 vụ liên tiếp, tổng sản lượng thóc tăng so với sản xuất đại trà là 1646 tấn (xem bảng 3.30). Trong mô hình các yêu cầu về kỹ thuật tỷ lệ bệnh thấp hơn so với ngoài mô hình, năng suất tăng hơn từ 10% đến 12,4% so với ngoài mô hình (xem bảng 3.31). Hiệu quả kinh tế đem lại của việc áp dụng quy trình bao gồm phần tăng năng xuất và phần giảm được chi phí sản xuất, trong các mô hình ngoài phần tăng lợi nhuận do năng suất tăng thì chi phí cũng giảm 1,955 triệu đồng/ha (bảng 3.32).

Bảng 3.31. Hiệu quả áp dụng các biện pháp phòng trừ bệnh VL, LXL do rầy nâu lan truyền tại Long An, Trà Vinh và Phú Yên, 2007 -2008

Địa điểm	Mô hình			Ngoài mô hình	
	Diện tích (ha)	Tỷ lệ bệnh (%)	Năng xuất (tấn/ha)	Tỷ lệ bệnh (%)	Năng xuất (tấn/ha)
Đông –Xuân 2007-2008					
Thủ Thừa - Long An	40	5,7	6,3	9,3	5,7
Tiểu Cần - Trà Vinh	110	2,5	6,35	3,1	5,14
Phú Yên	23	0	7,8	0	6,5
Vụ Hè - Thu 2008					
Phú Yên	75	0	7,7	0	66,7
Thủ Thừa - Long An	40	8,5	5,85	0	5,29
Tiểu Cần - Trà Vinh	110	≤1	6,55	≤1	5,82

Ghi chú: - Số liệu ngoài mô hình được tính trung bình của 3 ruộng.

- Các ruộng ngoài mô hình được chọn cùng giống, cùng thời gian sạ và phân bón tương đương với các ruộng trong mô hình.

**Bảng 3.32. Chênh lệch chi phí giữa sản xuất lúa trong và ngoài mô hình Mỹ
Phú, vụ Hè –Thu 2009**

Mục chi	Mô hình		Ngoài mô hình	
	Số lượng	Thành tiền (1000 đ)	Số lượng	Thành tiền (1000 đ)
I. Vật tư (tính cho 1 ha)				
+ Giống	100	1000	170	1700
+ Lân	150	375	100	250
+ Kaly	100	1000	100	1000
+ Ure	100	1000	150	1500
+ Thuốc BVTV	7 lần phun	2100	9 lần phun	2700
II. Công				
+ Làm đất		1000		1000
+ Dặm tĩa, bón phân		1000		1000
+ Thu hoạch		2150		2150
+ Phun thuốc	7 000 đ/bình	980	7 000 đ/bình	1260
Chi phí		10605		12560
Chênh lệch chi phí		-1955		

3.14. Hiệu quả kinh tế xã hội và môi trường của đề tài

Trong quá trình thực hiện đề tài và áp dụng quy trình vào các mô hình, đề tài đã thực hiện mô hình liên kết 4 nhà: nhà nông, nhà khoa học, nhà quản lý và

doanh nghiệp nên các kết quả đề tài ứng dụng rộng rãi, có sức lan tỏa, bền vững, các mô hình đều được thực hiện liên tục 8 đến 10 vụ đem lại hiệu quả kinh tế, xã hội và môi trường cao.

- Hiệu quả kinh tế, xã hội

+ Hiệu quả kinh tế:

Không kể những đóng góp mới cho khoa học, đề tài đã đem lại hiệu quả kinh tế đáng kể, góp phần vào sự ổn định kinh tế cho những vùng đề tài thực hiện, chỉ tính riêng các mô hình mà mô hình trực tiếp quản lý đã đem lại hiệu quả là:

Số tiền thu được từ sản lượng lúa tăng so với ngoài mô hình từ năm 2007 đến khi kết thúc đề tài 2010 là (1):

$$1646,8 \text{ tấn lúa} \times 4,5 \text{ tr.đ/tấn} = 6.587,2 \text{ triệu đồng}$$

Số tiền tiết kiệm được do thực hiện quy trình (2):

$$2381 \text{ ha} \times 1,955 \text{ triệu đ./ha} = 4.654,855 \text{ triệu đồng}$$

Tổng số lợi nhuận đem lại của đề tài (1) + (2):

$$11.242,055 \text{ triệu đồng}$$

Thực tế tại các vùng thực hiện mô hình sự lan tỏa của mô hình tới các hộ nông dân trong vùng là rất lớn, cụ thể là tại Trà Vinh mô hình đã được mở rộng ra tất cả các xã trong huyện và một số xã trong tỉnh.

+ Hiệu quả xã hội

Tại các vùng đề tài thực hiện, và triển khai mô hình đã đem lại hiệu quả xã hội khá rõ, đặc biệt là mô hình tại ấp Cầu Tre xã Phú Cần, huyện Tiểu Cần, tỉnh Trà Vinh, ở đây với trên 98% là người Khme, trước đây tình hình khá phức tạp bao gồm vấn đề dân tộc và tôn giáo sau 10 vụ thực hiện mô hình (110 ha/vụ) tình hình kinh tế xã hội được ổn định và có nhiều tiến bộ, đời sống nhân dân được cải thiện, với tỷ lệ hộ gia đình văn hóa chiếm 95,07%, hộ sử dụng điện chiếm

99,5%, hộ sử dụng nước sạch hợp vệ sinh chiếm 99% so số hộ chung. Hàng năm tỷ lệ hộ nghèo giảm 4%, hiện số hộ nghèo trong xã chiếm tỷ lệ 16,66% so dân số. Qua mô hình, tình đoàn kết gắn bó với nhau giữa bà con nông dân đồng bào dân tộc Khmer cùng dân tộc kinh được thắt chặt hơn, không còn cảnh sống theo kiểu “ *Đèn nhà ai nấy sáng*”, quan tâm đến cộng đồng và những người xung quanh hơn, mô hình đã được chọn đi dự hội nghị tổng kết phong trào thi đua yêu nước toàn quốc 2005 - 2010.

- Hiệu quả môi trường

Việc thực hiện quy trình trong các mô hình đã góp phần giữ gìn môi trường tốt hơn cụ thể là giảm được 1,5 - 2 lần phun thuốc/vụ, tất cả các mô hình tại các địa phương đều có các điểm tập trung thu gom các vỏ chai, hộp thuốc trừ sâu, không còn hiện tượng vảo chai lọ đựng thuốc trừ sâu, bệnh vật bừa bãi ở trên bờ ruộng, đường đi...

CHƯƠNG 4: KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết Luận

4.1.1.Đề tài đã có những đóng góp mới cho khoa học như sau:

- Đã xây dựng được thư viện cDNA của virus RGSV và RRSV:
- + Gần như toàn bộ genome của virus RGSV ở Việt Nam đã được giải mã và đăng ký được 41 trình tự gen của virus RGSV trên ngân hàng gen quốc tế (Genbank)
- + Genome của virus RRSV ở Việt Nam đã được giải mã và đăng ký được 12 trình tự gen của virus RRSV trên ngân hàng gen quốc tế (Genbank)
- Chủng RGSV của Việt Nam hoàn toàn độc lập với các chủng thế giới đã công bố, điều này có thể kết luận bệnh vàng lùn xuất hiện ở Việt Nam không bắt nguồn từ các nước lân cận mà từ nội tại của Việt Nam từ kết quả xây dựng và phân tích cây phát sinh chủng loại được xây dựng từ trình tự gen CP-RGSV của Long An (FN33644), ĐBSCL, Nam Trung Bộ.
- Virus gây bệnh lùn xoắn lá có quan hệ gần gũi với virus gây bệnh lùn xoắn lá ở Philippines từ việc xây dựng và phân tích cây phát sinh chủng loại của virus RRSV, Nucleotide của dòng An Giang hoàn toàn giống với dòng Philippines (100%), Trình tự Long An tương đồng với dòng An Giang và Philippines (99,5%).

4.1.2. Những đóng góp trong việc chỉ đạo phòng chống bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá

- Xác định được giai đoạn miễn cảm của cây lúa với bệnh cũng như mức độ ảnh hưởng của bệnh tới sinh trưởng của cây lúa khi bị nhiễm bệnh ở các thời kỳ khác nhau làm cơ sở cho việc đưa ra các biện pháp phòng chống phù hợp cho từng giai đoạn phát triển của cây lúa một cách hiệu quả.

- Trên đồng ruộng luôn tồn tại một tỷ lệ nhất định bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá hại lúa; quần thể rầy nâu (bầy đèn, đồng ruộng) luôn tồn tại rầy nâu không mang virus RRSV hoặc RGSV, rầy nâu mang virus RRSV hoặc RGSV đang ở giai đoạn ủ bệnh chưa có khả năng truyền bệnh và rầy nâu có khả năng truyền bệnh cho cây lúa khi chích hút cây lúa, do vậy cần tiến hành thu thập, phân tích mẫu rầy để sớm dự báo khả năng xuất hiện, nguy cơ xuất hiện bệnh trên đồng ruộng.
- Rầy nhập cư vào ruộng lúa khá sớm trung bình 7 đến 10 ngày sau sạ và kéo dài đến xung quanh 80 ngày sau sạ, nên cần có những biện pháp chủ động phòng trừ môi giới ngay giai đoạn mới sạ (giai đoạn miễn cảm của cây với bệnh) khi dịch bệnh đang diễn ra.
- Rầy nâu là môi giới chính của RRSV và RGSV, chưa phát hiện được loài môi giới khác ngoài rầy nâu ở khu vực đồng bằng sông Cửu Long và Duyên Hải Nam trung bộ, do vậy khi dịch bệnh xảy ra chỉ cần quan tâm phòng trừ môi giới duy nhất là rầy nâu.
- Để phòng chống bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá do rầy nâu môi giới cần thực hiện tổng hợp các biện pháp như sử dụng giống kháng bệnh, kháng rầy (OM 4900...), gieo sạ né rầy, gieo sạ với lượng giống phù hợp kết hợp với xử lý hạt giống và phun thuốc nội hấp trừ môi giới ở giai đoạn miễn cảm của cây lúa với bệnh
- Khi ruộng lúa bị nhiễm bệnh sử dụng các giải pháp: ngừng bón đạm, thay nước, bón bổ xung lân, vôi và kali và tiến hành phun Boom Flower n ngay sau khi triệu chứng bệnh xuất hiện, phun lần 2 cách đó 15 ngày và lần 3 vào giai đoạn cây lúa chuẩn bị trổ (khoảng 60 ngày sau sạ) kết hợp với tiến hành phòng trừ môi giới đã có hiệu quả rõ rệt trong việc hồi phục quần thể ruộng lúa, mặc dù ruộng lúa bị nhiễm bệnh VL, LXL với tỷ lệ bệnh cao (từ 29,6 đến 45,3%) nhưng

năng suất thu được từ 4,1 -5,4 tấn/ha, không nên khuyến cáo hủy lúa khi tỷ lệ bệnh chưa quá cao.

Bên cạnh các kết quả khoa học đã đạt được đề tài đã xây dựng được quy trình và áp dụng vào xây dựng mô hình đem lại hiệu quả kinh tế, xã hội và môi trường như sau:

4.1.3. Hiệu quả kinh tế, xã hội và môi trường

- Đã xây dựng được 9 mô hình với tổng số diện tích toàn bộ các mô hình là 2381 ha tại Long An, Trà Vinh và Phú Yên.
- Sản lượng thóc tăng so với sản xuất đại trà là 1646 tấn, giảm chi phí sản xuất 1955000 đ/ha so với ngoài mô hình, với tổng số lợi nhuận đem lại của đề tài là 11242,055 triệu đồng
- Góp phần ổn định và nâng cao đời sống cho các hộ tham gia mô hình đặc biệt là đồng bào dân tộc.
- Ý thức bảo vệ môi trường của người dân được nâng cao, môi trường tự nhiên được bảo vệ.

4.2. Kiến Nghị

4.2.1. Để phòng chống bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá đạt hiệu quả cao và bền vững cần áp dụng tổng hợp các biện pháp như: sử dụng giống xác nhận, gieo sạ tập trung, né rầy, gieo sạ với lượng giống hợp lý, sử lý hạt giống, bón phân cân đối, sử dụng các loại phân bón lá, kích thích sinh trưởng, và tiến hành các biện pháp chăm sóc nhằm đảm bảo cây lúa khỏe, phòng trừ môi giới bằng các loại thuốc nội hấp có hiệu lực trừ rầy kéo dài và cao ít độc hại như Oshin 20WP, Dantotsu 16WSG, Chess 50 WG.

4.2.2. Khi ruộng lúa bị bệnh với tỷ lệ bệnh dưới 50 % không nên hủy mà cần tiến hành các biện pháp chăm sóc nhằm hạn chế sự phát triển của bệnh và tăng khả

năng phục hồi quần thể ruộng lúa như ngừng bón đạm, thay nước, tăng cường bón lân, vôi, kali và phun các loại thuốc phân bón lá, kích thích sinh trưởng ngay khi triệu chứng bệnh xuất hiện và lần 2 vào khoảng 15 ngày sau lần 1 và lần 3 vào giai đoạn lúa chuẩn bị trổ (xung quanh 60 ngày sau sạ), triệt để phòng trừ môi giới bằng các loại thuốc nội hấp có hiệu lực trừ rầy kéo dài và cao ít độc hại như Oshin 20WP, Dantotsu 16WSG, Bassa 50 EC, Chess 50 WG.

4.2.3. Cần tiếp tục đầu tư cho việc nghiên cứu sâu hơn về sinh học, sinh học phân tử của virus RRSV và RGSV .

4.2.4. Nghiên cứu xây dựng mô hình mô phỏng sự di chuyển hệ thống quá trình di chuyển của rầy nâu giữa các vùng, khu vực và giữa các quốc gia.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cục Bảo vệ thực vật, 2007. Tổng kết công tác Bảo vệ thực vật năm 2006, kế hoạch công tác 2007.
2. Nguyễn Như Cường, Phạm Hồng Hiến, Ngô Văn Dũng, Đặng Lan Anh, 2009. Kết quả nghiên cứu xác định môi giới truyền bệnh “lùn lụi” hại lúa ở phía Bắc Việt nam. Tạp chí BVTV. 6(228): 8-18-24.
3. Nguyễn Như Cường, Đàm Hữu Trác, Phạm Văn Sơn, Đặng Thị Lan Anh, Đỗ Trà Hồng, Phùng Sinh Hoạt, Ngô Vĩnh Viễn, 2010. Một số đặc điểm sinh học của rầy nâu nuôi trên lúa thường và lúa nhiễm bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt nam. 1(14): 14-19.
4. Nguyễn Trung Nam, Nguyễn Minh Hùng, Chu Hoàng Hà, Hoàng Thị Thu Hằng và Lê Trần Bình, 2007. Đánh giá đa dạng di truyền các dòng virus gây bệnh vàng lùn tại các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long. Tạp chí CNSH 5(4): 479-484.
5. Nguyễn Trung Nam, Hoàng Thị Thu Hằng, Chu Hoàng Hà, Nguyễn Hữu Cường, Lê Trần Bình, Đặng Lan Anh, Nguyễn Như Cường, Nguyễn Ngọc Sơn, Hoàng Thị Nga, Hoàng Thế Hùng, 2009. Detection of rice ragged stunt virus (RRSV) in Vietnamese rice using RT-PCR and DNA sequencing. Proceeding of The analytica Vietnam Conference. Hanoi, Vietnam 19-20 March, 2009: 233-241.
6. Nguyễn Ngọc Sơn, Hoàng Thị Thu Hằng , Đặng Thị Lan Anh, Nguyễn Như Cường, Nguyễn Hữu Cường, Chu Hoàng Hà, Lê Trần Bình và Nguyễn Trung Nam, 2008. Quan hệ di truyền giữa các chủng virus gây bệnh vàng lùn ở lúa tại các tỉnh Duyên Hải Nam Trung bộ. Tạp chí CNSH 6(3): 301-309.
7. Nguyễn Ngọc Sơn, Hoàng Thị Thu Hằng, Nguyễn Hữu Cường, Hoàng Thị Nga, Chu Hoàng Hà, Lê Trần Bình, Đặng Lan Anh, Hoàng Trung Nam và Nguyễn Như Cường, 2009. Kiểm tra sự có mặt của virus gây bệnh vàng lùn

(RGSV) ở lúa trong cơ thể rầy tại các tỉnh Nam Trung bộ bằng RT-PCR. Tạp chí BVTV 1(223): 18-23.

8. Hà Minh Trung, 1982. Bệnh lùn xoắn lá. NXB Nông nghiệp, 97 tr.

9. Ngo Vinh Vien, Ha Minh Trung, Nguyen Van Tuat, Tran Thi Thuan et al, 2000. Virus and virus - like diseases of rice in Vietnam. Proceedings of the Conference on Rice Research and Development in Vietnam for the 21th century - aspects of Vietnam - India cooperation. Cantho , Viet nam, 18 - 19 September.

10. Ngô Vĩnh Viễn, Phạm Thị Vượng, Nguyễn Như Cường, 2009a. Kết quả chẩn đoán bệnh vi rút lúa lùn sọc đen ở một số tỉnh phía Bắc Việt nam. Tạp chí BVTV. 6(228): 8-17.

11. Ngô Vĩnh Viễn, Nguyễn Trường Thành, Lê văn Trịnh, Nguyễn Như Cường, Đinh Văn Thành, Tạ Hoàng Anh, Hà Bích Thu, Đinh Thị Thanh, Nguyễn Thị Me, Đàm Hữu Trác, Hoàng Công Điền, Nguyễn Tuấn Anh, Trần Thị Thu Huyền, Nguyễn Doãn Phương, Phạm Văn Sơn, Phùng Sinh Hoạt, Đặng Thị Lan Anh, Đỗ Trà Hồng, Lại Tiến Dũng, Phan Bích Thu, Nguyễn Thị Dương, Đào Thị Huê, Trần Văn Huy, Nguyễn Thị Chúc Quỳnh, Nguyễn Thị Hồng Vân, Nguyễn Minh Đức, Vũ Thị Hiên. 2009b. Báo cáo tổng kết đề tài: ***"Nghiên cứu các giải pháp phòng trừ rầy nâu, bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá hại lúa"*** . Hà Nội tháng 12/2009. 96 trang.

12. Abo M.E, and A.A. Sy, 1998. Rice virus diseases: Epidemiology and management strategies. Journal of Sustainable Agriculture 11(2/3): 113-134

13. Bakker, W, 1974. Characterisation and ecological aspects of rice yellow mottle virus in Kenya. Agricultural Research Reports No. 829.

14. Buddenhagen I. W., 1983. Disease resistance in rice. Page 401-428 in Durable resistance in crops, ed. F. Lamperi, J.M. Waller and N. Van der Graff. Plenum Publishing Corporation, New York, USA.

15. Chen C.C., R.J. Chiu and E.S. Wang, 1982. Rice ragged stunt virus- a virus disease new to Taiwan. Plant Prot. Bull. (Taiwan) 21: 447 (Abstr.) (in Chinese)
16. Chomchan P, Miranda GJ, Shirako Y (2002), "Detection of rice grassy stunt tenuivirus nonstructural proteins p2, p5 and p6 from infected rice plants and from viruliferous brown planthoppers", *Arch Virol*, **147**: 2291–2300
17. Dyck V.A., and B. Thomas, 1979. The brown planthopper problem. In Brown Planthopper: Threat to rice production in Asia. IRRRI, Philippines: 3-17.
18. Harder , D. E., and W. Bakker, 1973. African cereal streak, a new virus of cereals in East Africa. *Phytopathology* 63: 1407-1411.
19. Heathcote G.D., 1973. Control of viruses spread by invertebrates to plant. In viruses and invertebrates, ed. A.J.Gibbs.pp 587- 609.Amsterdam Holland. Elsevier.
20. Hibino H., 1979a. Rice ragged stunt virus,a new virus disease occurencing in tropical Asia. *Rev. Plant Prot. Res.* 12: 98-110.
21. Hibino H., N. Saleh and M. Roenchan, 1979b. Transmission of two kinds of rice tungro – associated viruses by insect vectors. *Phytopathology*. 69: 1266-1268.
22. Hibino H., and Cabauatan P.Q., 1985. Rice grassy stunt virus strain causing tungrolike symptom in the Philippines. *Plant Dis.*69: 538-41.
23. Hibino H., 1986. Rice grassy stunt virus. CMI/AAB Descr. Plant Viruses No. 320
24. Hibino H., 1989. Insect-borne viruses of rice. In *Advance in Disease Vector Research*, ed. K.F. Harris, 6: 209-241. New York: Springer-Verlag.
25. Hirao J., S. Oya and H. Inue, 1987. Transmission of rice grassy stunt virus (RGSV) by the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. (Hemiptera: Delphacidae). *Bull. Kyushu Natl. Argric. Exp.Stn* 24: 307-35.

26. Iwasaki M., and A. Shinkai, 1979. Occurrence of rice grassy stunt virus disease in Kyushu, Japan. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.*45: 741-44 (in Japanese with English summary).
27. Iwasaki M., Nakano M., and A. Shinkai, 1982. Variation in the transmission rate of rice grassy stunt virus in various colonies of brown planthopper. *Proc. Assoc. Plant Prot. Kushi* 28: 1-3 (in Japanese with English summary)
28. Khan, R.P., and Dickerson, 1957. Susceptibility of rice to systemic infection by three common cereal viruses. *Phytopathology* 47: 526
29. Ling K.C, 1972. Rice virus diseases. Los Banos, Philippines. IRRI.122 pp.
30. Ling K.C., E. R. Tiongco, E.R. Aguiro and P.Q. Cabauatan, 1978. Rice ragged stunt virus in Philippines. *IRRI Res. Pap. Ser. No.* 16: 25
31. Mariappan V., Hibino H., and N. Shanmugam, 1984. A new rice virus in India. *Int. Rice Res. News letter.* 9(6): 9-10.
32. Milne R.G., and K.C. Kling, 1982. Rice ragged stunt virus. *CMI/AAB Descr. Plant Viruses* No. 248.
33. Shinkai A., M. Nakano and M. Iwasaki, 1980. Occurrence of rice ragged stunt disease in disease in Kyushu, Japan. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.*46: 411 (Abstr.) (in Japanese).
34. Thomas F., N.M. Gruenhagen and C.A, Farar, 1999. Management of plant viral diseases through chemical control of insect vectors. *Annu. Rev. Entomol.* 44: 457-81.
35. Toriyama S, Kimishima T, Takahashi M, Shimizu T, Minaka N, Akutsu K (1998) The complete nucleotide sequence of the rice grassy stunt virus genome and genomic comparisons with viruses of the genus *Tenuivirus*. *J Gen Virol* 79: 2051–2058
36. Thresh J.M., 1989. Insect borne virus of rice and the green revolution. *Tropical Pest Management* 351.

37. Upadhyaya, N.M., Yang, M., Kositratana, W., Ghosh, A. and Waterhouse, P.M (1995), Molecular analysis of rice ragged stunt oryzavirus segment 9 and sequence conservation among isolate from Thailand and India, Archives of Virology 140 (11), 1945-1956.
38. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

MỤC LỤC

MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1: NHỮNG NGHIÊN CỨU VỀ VIRUS HẠI LÚA	7
1.1. Những nghiên cứu về virus, bệnh virus và môi giới ở nước ngoài	7
1.1.1. Những nghiên cứu về bệnh virus hại lúa ở nước ngoài	7
1.1.2. Những nghiên cứu về môi giới truyền bệnh	11
1.1.3. Nghiên cứu về phòng trừ	13
1.2. Những nghiên cứu về virus, bệnh virus và môi giới hại lúa trong nước	14
1.2.1. Nghiên cứu về bệnh virus	14
1.2.2. Nghiên cứu về môi giới	16
1.2.3. Nghiên cứu về phòng chống bệnh virus và môi giới	16
1.3. Một số nghiên cứu về virus RRSV và RGSV	17
1.3.1. Virus RGSV	17
1.3.2. Virus RRSV	19
CHƯƠNG 2: MỤC TIÊU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	21
2.1. Mục Tiêu	21
2.2. Nội Dung	21
2.2.1. Nghiên cứu xác định các chủng virrus vàng lùn, lùn xoắn lá, đặc điểm sinh học của virus và môi giới	21
2.2.2. Nghiên cứu quan hệ tương tác giữa virus gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá với các môi giới truyền bệnh	22
2.2.3. Nghiên cứu bệnh lý cá thể của cây lúa nhiễm bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá, đánh giá tính miễn dịch cá thể, quần thể của cây lúa với bệnh	22
2.2.4. Nghiên cứu đề xuất hệ thống các biện pháp quản lý bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và môi giới truyền bệnh theo hướng hiệu quả và thân thiện với môi trường trên cơ sở đó xây dựng mô hình phòng chống bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá tại một số vùng sinh thái điển hình	22
2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	23
2.3.1. Thu thập mẫu lúa bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và rầy nâu	23
2.3.2. Thiết kế môi đặc hiệu gen mã hóa các đoạn gen của virus	24
2.3.3. Tách chiết RNA tổng số của virus	24
2.3.4. Phản ứng RT-PCR	24
2.3.5. Tạo plasmid tái tổ hợp mang gen mong muốn	25
2.3.6. Biến nạp vector tái tổ hợp vào tế bào khả biến E.coli	25
2.3.7. Colony – PCR	25
2.3.8. Tách plasmid	27

2.3.9. Xác định trình tự các đoạn gen của virus.....	27
2.3.10. Tách chiết virus và quan sát hình thái và cấu trúc của virus trên kính hiển vi điện tử.....	28
2.3.11. Phương pháp đánh giá hiệu quả việc sử dụng chất kích thích sinh trưởng với virus gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá trong nhà lưới.....	28
2.3.12. Xác định các loài môi giới truyền bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá ngoài rầy nâu,	29
2.3.13. Nuôi sinh học của loài rầy môi giới quan trọng nhất.....	30
2.3.14. Phương pháp điều tra tỷ lệ bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá.....	32
2.3.15. Phương pháp theo dõi bầy đàn.....	32
2.3.16. Phương pháp điều tra diễn biến rầy nâu trên đồng ruộng.....	32
2.3.17. Phương pháp xác định tỷ lệ rầy có khả năng truyền bệnh ở bầy đàn.....	32
2.3.18. Phương pháp xác định tỷ lệ rầy mang nguồn bệnh.....	33
2.3.19. Phương pháp xác định khả năng truyền bệnh của các pha phát dục của rầy nâu.....	33
- Nguồn rầy thí nghiệm: rầy được nở ra từ trứng của nguồn rầy bắt ngoài ruộng được đưa về và cho đẻ trên cây cỏ mác (<i>Monochoria vaginalis</i>), khi trứng nở tách rầy tuổi 1 và chuyển vào các lồng có các loại thức ăn khác nhau được cách ly trong lồng lưới.	33
2.3.20. Phương pháp xác định sự nhập cư của rầy.....	34
2.3.21. Phương pháp theo dõi sự phát tán của rầy	35
2.3.22. Phương pháp xác định sự khác nhau về sinh trưởng giữa cây lúa nhiễm bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá và cây lúa khỏe	35
2.3.23. Phương pháp xác định thời gian miễn cảm với cây lúa với bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá	36
2.3.24. Phương pháp thí nghiệm thời điểm sạ lúa ảnh hưởng tới bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và rầy nâu	37
2.3.25. Phương pháp thí nghiệm lượng giống sạ ảnh hưởng tới bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và rầy nâu	38
2.3.26. Phương pháp đánh giá thiệt hại của bệnh trên đồng ruộng.....	38
2.3.27. Phương pháp điều tra tỷ lệ bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá trên một số điều kiện canh tác.....	39
2.3.28. Phương pháp điều tra thiên địch trên đồng ruộng.....	39
2.3.29. Phương pháp đánh giá hiệu lực thuốc phòng trừ rầy nâu	40
2.3.30. Phương pháp đánh giá thuốc trừ rầy bằng cách bón vào đất	41
2.3.31. Phương pháp đánh giá hiệu quả việc sử dụng chất kích thích sinh trưởng tới cây lúa nhiễm bệnh VL,LXL trong nhà lưới	42

2.3.32. Phương pháp đánh giá hiệu quả của việc sử dụng chất kích thích sinh trưởng với bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá ngoài đồng ruộng	43
2.3.33. Phương pháp thử nghiệm một số biện pháp kỹ thuật khôi phục quần thể ruộng lúa bị nhiễm bệnh	44
2.3.34. Phương pháp đánh giá phòng trừ môi giới tới tỷ lệ bệnh	46
2.3.35. Phương pháp xây dựng mô hình	46
2.3.36. Phương pháp xử lý số liệu	47
2.3.37. Địa điểm, thời gian nghiên cứu	47
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN	48
3.1. Kết quả điều tra thu thập và lưu giữ mẫu bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và các loài môi giới	48
3.1.1. Kết quả điều tra bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá tại các tỉnh Duyên Hải Nam Trung bộ	48
3.1.2. Lưu giữ mẫu bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá	50
3.2. Phân lập các chủng virus gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá	51
3.2.1. Phân lập chủng virus RGSV	51
3.2.2. Phân lập virus RRSV	52
3.3. Xây dựng thư viện cDNA của virus gây bệnh VL, LXL	53
3.3.1. Xây dựng thư viện cDNA của virus RGSV	55
3.3.2. Xây dựng thư viện cDNA của virus RRSV	59
3.4. Một số đặc điểm sinh học của virus RGSV và RRSV	63
3.4.1. Virus RGSV	63
3.4.2. Virus RRSV	68
3.5. Xác định các loài môi giới truyền bệnh VL, LXL và một số đặc điểm sinh học chính của loài môi giới quan trọng nhất	71
3.5.1. Xác định các loài môi giới truyền bệnh VL, LXL	71
3.5.2. Một số đặc điểm sinh học cơ bản của rầy nâu môi giới truyền bệnh ..	74
3.6. Kết quả nghiên cứu quan hệ giữa virus gây bệnh VL, LXL với môi giới truyền bệnh	75
3.6.1. Quan hệ giữa rầy nâu và bệnh VL	76
3.6.2. Quan hệ giữa rầy nâu và bệnh LXL	78
3.7. Khả năng truyền bệnh VL, LXL của các pha phát triển của rầy nâu	81
3.7.1. Khả năng truyền bệnh VL của các pha phát dục của rầy nâu	81
3.7.2. Khả năng truyền bệnh LXL của các pha phát dục của rầy nâu	82
3.8. Quá trình nhập cư và di cư của rầy nâu	84
3.8.1. Quá trình nhập cư và di cư trong ngày của rầy nâu	84
3.8.2. Quá trình nhập cư và phát tán của rầy nâu trong vụ lúa	85

3.9. Kết quả nghiên cứu bệnh lý cá thể của cây lúa nhiễm bệnh VL, LXL, đánh giá tính miễn dịch các thể, quần thể của cây lúa với bệnh	87
3.9.1. Bệnh vàng lùn.....	87
3.9.2. Bệnh LXL.....	91
3.10. Kết quả điều tra tỷ lệ bệnh và năng suất trên đồng ruộng.....	94
3.11. Các biện pháp canh tác phòng trừ bệnh VL, LXL và rầy nâu môi giới ..	96
3.11.1. Thời điểm sạ và rầy nâu, bệnh VL, LXL	96
3.11.2. Lượng giống sạ và rầy nâu, bệnh VL, LXL	98
3.12. Các biện pháp phòng trừ bệnh VL, LXL và rầy nâu môi giới bằng các biện pháp sinh học, hóa học.....	104
3.12.1. Danh mục một số thiên địch của rầy nâu	104
3.12.2. Hiệu quả một số thuốc trừ rầy nâu có nguồn gốc thảo mộc, sinh học	105
3.12.3. Phòng trừ rầy nâu bằng thuốc hóa học bón gốc.....	106
3.12.4. Hiệu quả của một số kích thích sinh trưởng lá tới cây lúa, ruộng lúa nhiễm bệnh VL, LXL	108
3.12.5. Hiệu quả phòng trừ rầy nâu môi giới tới tỷ lệ bệnh trên đồng ruộng	111
3.12.6. Giải pháp kỹ thuật hồi phục quần thể ruộng lúa bị bệnh	113
3.13. kết quả xây dựng mô hình áp dụng quy trình.....	115
3.14. Hiệu quả kinh tế xã hội và môi trường của đề tài.....	117
CHƯƠNG 4: KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ	120
4.1. Kết Luận	120
4.1.1.Đề tài đã có những đóng góp mới cho khoa học như sau:	120
4.1.2. Những đóng góp trong việc chỉ đạo phòng chống bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá	120
4.1.3. Hiệu quả kinh tế, xã hội và môi trường.....	122
4.2. Kiến Nghị.....	122
TÀI LIỆU THAM KHẢO	124

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 3.1. Điện di sản phẩm RT- PCR gen CP của RGSV trên các mẫu lúa thu thập tại các địa phương	46
Hình 3.2. Kết quả biến nạp vector tái tổ hợp vào tế bào khả biến <i>E.Coli</i> DH 5a.....	47
Hình 3.3. Kết quả Colony –PCR và RRSV –frag 1.....	47
Hình 3.4. Phản ứng PCR khuếch đại các đoạn mong muốn trong genome RRSV.....	48
Hình 3.5. Kiểm tra một số dòng khuẩn lạc mang vec tơ tái tổ hợp chứa đoạn DNA của RRSV	48
Hình 3.6. Kiểm tra sự có mặt của vec tơ tái tổ hợp enzyme <i>Bam</i> HI.....	49
Hình 3.7. Sơ đồ xây dựng thư viện cDNA	50
Hình 3.8. Phản ứng PCR khuếch đại các đoạn gen mong muốn trong genome RGSV.....	51
Hình 3.9. Kiểm tra một số dòng khuẩn lạc mang vec tơ tái tổ hợp chứa đoạn DNA của RGSV.....	52
Hình 3.10. Kiểm tra sự có mặt của vec tơ tái tổ hợp bằng enzyme <i>Bam</i> HI.....	53
Hình 3.11. Kết quả BLAST phân đoạn RGSV-1.....	53
Hình 3.12. Phân đoạn trong sợi RGSV 1.....	55
Hình 3.13. Phản ứng PCR khuếch đại các đoạn mong muốn trong genome RRSV.....	56
Hình 3.14: Kiểm tra một số dòng khuẩn lạc mang vec tơ tái tổ hợp chứa đoạn DNA của RRSV.....	56
Hình 3.15: Kiểm tra sự có mặt của vec tơ tái tổ hợp bằng enzyme <i>Bam</i> HI... ..	57
Hình 3.16: Kết quả BLAST phân đoạn RRSV-1.....	58

Hình 3.17. Phân đoạn trong sợi RGSV.....	58
Hình 3.18. Ảnh hiển vi điện tử RGSV được soi dưới kính hiển vi điện tử JEOL 1010 bằng phương pháp cắt lát siêu mỏng.....	59
Hình 3.19. Cây phát sinh chủng loại xây dựng trên cơ sở so sánh trình tự gen CP của chủng RGSV phân lập từ Long An với các trình tự tương ứng ở ĐBSCL và thế giới công bố trên Genbank.....	62
Hình 3.20. Kiểm tra sự tồn tại của virus trong 15 công thức thí nghiệm bằng phản ứng PCR với các cặp mồi đặc hiệu RGSV1 F&R.....	63
Hình 3.21. RRSV Long An được soi dưới kính hiển vi điện tử JEOL 1010 bằng phương pháp lát cắt siêu mỏng.....	64
Hình 3.22. Cây phát sinh chủng loại xây dựng trên cơ sở so sánh trình tự gen RRSV-Spike.....	66
Hình 3.23. Kiểm tra sự tồn tại của virus trong 15 công thức thí nghiệm bằng phản ứng PCR với cặp mồi đặc hiệu RRS1 F&R.....	67
Hình 3.24. Diễn biến giữa mật độ rầy nâu tổng số, rầy mang nguồn bệnh và rầy có khả năng truyền bệnh vàng lùn ở bầy đèn tại Thủ Thừa –Long An 2007-2008.....	74
Hình 3.25. Diễn biến giữa mật độ rầy tổng số, rầy mang nguồn bệnh và rầy có khả năng truyền bệnh ở bầy đèn tại Thủ Thừa –Long An -2008.....	76
Hình 3.26. Quá trình xâm nhập của rầy nâu vào ruộng lúa tại Thủ Thừa, vụ mùa 2009.....	81
Hình 3.27. Diễn biến rầy nâu vào đèn tại Mỹ Phú từ ngày 17/5 – 30/ 8 năm 2009.....	82
Hình 3.28. Quá trình phát tán của rầy nâu trên ruộng lúa tại Thủ Thừa, vụ mùa 2009.....	83

Hình 3.29. Hiệu lực của một số loại thuốc trừ rầy bằng phương pháp bón gốc ở 15 ngày sau sạ Mỹ Phú, 3/2009.....	102
Hình 3.30. Hiệu lực của một số loại thuốc trừ rầy bằng phương pháp bón gốc ở 30 ngày sau sạ Mỹ Phú, 3/2009.....	103

DANH LỤC BẢNG

Bảng 3.1. Kết quả kiểm tra bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá trên các mẫu lúa tại các tỉnh Duyên Hải Nam Trung bộ 2007-2008 bằng phương pháp PCR	45
Bảng 3.2. Hệ số tương đồng và sai khác về trình tự nucleotide giữa CP-RGSV của Long An với các trình tự ở ĐBSCL, Nam Trung bộ và thế giới, được công bố trong Genbank.....	61
Bảng 3.3. Hệ số tương đồng về trình tự nucleotide giữa các gen mã hóa protein gai của RRSV Việt nam và thế giới.....	66
Bảng 3.4. Thành phần và số lượng các loại rầy vào đèn tại Mỹ Phú từ tháng 8/2007-12/2008.....	68
Bảng 3.5. Kết quả điều tra thành phần rầy hại thân lúa trên đồng ruộng tại Mỹ Phú từ 2007-2008.....	69
Bảng 3.6. Thời gian phát dục các pha của rầy nâu trên thức ăn nhiễm bệnh VL, LXL và thức ăn sạch tại Thủ Thừa, 2007.....	70
Bảng 3.7. Khả năng đẻ trứng và tỷ lệ nở của trứng rầy nâu nuôi trên thức ăn lúa nhiễm bệnh vàng lùn và thức ăn sạch tại Thủ Thừa, 2007.....	71
Bảng 3.8. Kết quả đánh giá quan hệ giữa rầy tổng số và rầy mang nguồn bệnh vàng lùn trên đồng ruộng Mỹ Phú vụ Đông-Xuân 2007-2008.....	72
Bảng 3.9. Kết quả đánh giá quan hệ giữa rầy tổng số và rầy mang bệnh vàng lùn trên đồng ruộng Mỹ Phú vụ Hè –Thu 2008.....	73
Bảng 3.10. Kết quả đánh giá quan hệ giữa rầy tổng số và rầy mang nguồn bệnh trên đồng ruộng Mỹ Phú vụ Đông –Xuân 2007-2008.....	75
Bảng 3.11. Kết quả đánh giá quan hệ giữa rầy tổng số và rầy mang bệnh vàng lùn trên đồng ruộng Mỹ Phú vụ Hè- Thu 2008.....	75
Bảng 12. Khả năng truyền bệnh VL của một số pha phát dục của rầy nâu tại Thủ Thừa 2009.....	78

Bảng 3.13: Khả năng truyền bệnh LXL của một số pha phát dục của rầy nâu tại Thủ Thừa 2009.....	79
Bảng 3.14. Thời điểm nhập cư và di cư của rầy nâu trên đồng ruộng trong ngày tại Thủ Thừa – Long An vụ Đông Xuân 2007-2008 và Hè Thu 2008.....	80
Bảng 3.15. Ảnh hưởng của bệnh vàng lùn tới một số chỉ tiêu sinh trưởng của cây lúa (Thí nghiệm trong nhà lưới Thủ Thừa – Long An -2008).....	84
Bảng 3.16. Kết quả nghiên cứu xác định giai đoạn mầm cảm của cây lúa với bệnh vàng lùn Thí nghiệm trong nhà lưới tại Long An 2007-2010.....	86
Bảng 3.17. Ảnh hưởng của bệnh lùn xoắn lá tới một số chỉ tiêu sinh trưởng của cây lúa Thí nghiệm trong nhà lưới Thủ Thừa – Long An -2008.....	87
Bảng 3.18. Kết quả nghiên cứu xác định giai đoạn mầm cảm của cây lúa với bệnh lùn xoắn lá Thí nghiệm tại nhà lưới, Long An 2007-2010.....	89
Bảng 19. Năng suất và tỷ lệ bệnh đồng ruộng tại Long An và Tiền Giang năm 2007-2008.....	91
Bảng 20: Thời điểm sạ và mật độ rầy nhập cư và tỷ lệ bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá tại Mỹ Phú vụ Đông –Xuân 2007-2008.....	92
Bảng 21: Thời điểm sạ và mật độ rầy nhập cư và tỷ lệ bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá tại Mỹ Phú vụ Hè -Thu 2008.....	94
Bảng 22 : Lượng giống sạ và mật độ rầy nhập cư và tỷ lệ bệnh VL, LXL tại Mỹ Phú vụ Đông –Xuân 2007-2008.....	95
Bảng 23: Lượng giống sạ và mật độ rầy nhập cư và tỷ lệ bệnh VL, LXL tại Mỹ Phú vụ Hè –Thu 2008.....	96
Bảng 3.24. Tỷ lệ bệnh VL, LXL trên một số giống phổ biến tại Long An, Tiền Giang 2007-2008.....	98
Bảng 3.25. Tỷ lệ bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá trên đất 2 và 3 vụ lúa/năm tại Long An 2007-2008.....	100

Bảng 3.26. Ảnh hưởng của một số chất kích thích sinh trưởng, phân bón lá tới cây lúa nhiễm bệnh VL, LXL trong nhà lưới tại Mỹ Phú 2007.....	105
Bảng 27. Hiệu quả của việc sử dụng phân bón lá tới ruộng lúa nhiễm bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá tại Long An, Đông –Xuân 2008 – 2009.....	106
Bảng 28. Hiệu quả một số biện pháp trừ rầy nâu tới bệnh VL, LXL Vụ Đông – Xuân 2007-2008 tại Mỹ Phú, Long An.....	108
Bảng 29. Hiệu quả áp dụng một số giải pháp phục hồi quần thể ruộng lúa nhiễm bệnh VL, LXL tại Mỹ Phú, Long An – Đông –Xuân 2008-2009.....	110
Bảng 3.30. Diện tích thực hiện mô hình tại Trà Vinh, Long An và Phú Yên từ 2007-2010.....	111
Bảng 31. Hiệu quả áp dụng các biện pháp phòng trừ bệnh VL, LXL do rầy nâu lan truyền tại Long An, Trà Vinh và Phú Yên, 2007 -2008.....	112
Bảng 32: Chênh lệch chi phí giữa sản xuất lúa trong và ngoài mô hình Mỹ Phú, vụ Hè –Thu 2009.....	113

BÁO CÁO THỐNG KÊ

KẾT QUẢ THỰC HIỆN ĐỀ TÀI/DỰ ÁN SXTN

I. THÔNG TIN CHUNG

1. Tên đề tài/dự án: Nghiên cứu đặc sinh học của virus và môi giới truyền bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá; các biện pháp quản lý tổng hợp cây trồng (ICM) trong sản xuất lúa

Mã số đề tài, dự án

Thuộc:

- Chương trình (tên, mã số chương trình):
- Dự án khoa học và công nghệ (tên dự án)
- Độc lập (tên lĩnh vực KHCN): Nông, lâm, ngư nghiệp

2. Chủ nhiệm đề tài/dự án:

Họ và tên: TS. Nguyễn Như Cường

Ngày, tháng, năm sinh: Ngày 16 tháng 4 năm 1965 Nam

Học hàm, học vị: Tiến sĩ

Chức danh khoa học: Nghiên cứu viên chính

Điện thoại: Tổ chức: 042650036 Nhà riêng: 04.8639543 Di động: 0988720308

Fax: 04.8363563 Email: Nhucuongnguyencis@yahoo.com.vn

Tên tổ chức đang công tác: Viện Bảo vệ thực vật

Địa chỉ tổ chức: Đông Ngạc – Từ Liêm – Hà Nội

Địa chỉ nhà riêng: Số 11 ngõ 255 Đường Hoàng Mai – Quận Hoàng Mai – TP Hà Nội

3. Tổ chức chủ trì đề tài/dự án:

Tên tổ chức chủ trì đề tài: Viện Bảo vệ thực vật

Điện thoại: 04.7521380 Fax: 04.8363563

Email:

Địa chỉ: Đông Ngạc – Từ Liêm – Hà Nội

Họ và tên thủ trưởng tổ chức: Phạm Thị Vượng

Số tài khoản: 3100 – 01- 029

Ngân hàng: Kho Bạc Nhà Nước – Từ Liêm – Hà Nội

Tên cơ quan chủ quản đề tài: Bộ nông nghiệp và PTNT

II. TÌNH HÌNH THỰC HIỆN ĐỀ TÀI

1. Thời gian thực hiện đề tài/dự án:

- Theo Hợp đồng đã ký kết: Từ ngày 1 tháng 8 năm 2007 đến tháng 8 năm 2010
- Thực tế thực hiện: Từ ngày 12 tháng 1 năm 2007 đến tháng 11 năm 20011
- Được gia hạn (nếu có):
- Lần 1 từ tháng 8 năm 2010 đến tháng 11 năm 2010

2. Kinh phí và sử dụng kinh phí:

a) Tổng kinh phí thực hiện: 3.150 triệu đồng, trong đó

+ Kinh phí hỗ trợ SNKH: 3.150 triệu đồng

+ Kinh phí từ các nguồn khác:

+ Tỷ lệ kinh phí thu hồi đối với dự án (nếu có)

b) Tình hình cấp và sử dụng kinh phí từ nguồn SNKH

Số TT	Theo kế hoạch		Thực tế đạt được		Ghi chú (Số đề nghị quyết toán)
	Thời gian (Tháng, năm)	Kinh phí (tr.đ)	Thời gian (Tháng, năm)	Kinh phí (tr.đ)	
1	Tháng 8 năm 2007	1.000	Tháng 12 năm 2007	1.000	1.000
2	Tháng 4 năm 2008	1.100	Tháng 12 năm 2008	1.100	1.100
3	Tháng 4 năm 2009	600	Tháng 12 năm 2009	600	600
4	Tháng 4 năm 2010	450	Tháng 12 năm 2010	400	400

c) Kết quả sử dụng kinh phí theo các khoản chi:

Đối với đề tài:

Đơn vị tính: triệu đồng

TT	Nội dung các khoản chi	Theo kế hoạch			Thực tế đạt được		
		Tổng	SNKH	Nguồn khác	Tổng	SNKH	Nguồn khác
1	Trả công lao động (khoa học, phổ thông)	1.225.030	1.225.030		976.165	976.165	
2	Nguyên vật liệu năng lượng	1.349.970	1.349.970		972.805	972.805	
3	Thiết bị, máy móc	105.000	105.000		109.000	109.000	
4	Xây dựng sửa chữa nhỏ	50.000	50.000		50.000	50.000	
5	Chí khác	420.000	420.000		1.042.030	1.042.030	
	Tổng cộng	3.150.000	3.150.000		3.150.000	3.150.000	

- Lý do thay đổi nếu có: Khi duyệt chuyên đề chuyển thành công lao động kỹ thuật
Đối với dự án:

Đơn vị tính: triệu đồng

TT	Nội dung các khoản chi	Theo kế hoạch			Thực tế đạt được		
		Tổng	SNKH	Nguồn khác	Tổng	SNKH	Nguồn khác
1	Trả công lao động (khoa học, phổ thông)	1.225.030	1.225.030		976.165	976.165	
2	Nguyên vật liệu năng lượng	1.349.970	1.349.970		972.805	972.805	
3	Thiết bị, máy móc	105.000	105.000		109.000	109.000	
4	Xây dựng sửa chữa nhỏ	50.000	50.000		50.000	50.000	
5	Chi khác	420.000	420.000		1.042.030	1.042.030	
	Tổng cộng	3.150.000	3.150.000		3.150.000	3.150.000	

3. Các văn bản hành chính trong quá trình thực hiện đề tài/dự án

(Liệt kê các quyết định, văn bản của cơ quan quản lý từ công đoạn xác nhận nhiệm vụ, xét chọn, phê duyệt kinh phí, hợp đồng, điều chỉnh(thời gian, nội dung, kinh phí thực hiện nếu có); văn bản của tổ chức chủ trì đề tài, dự án (đơn kiến nghị, điều chỉnh...nếu có)

Số TT	Số, thời gian ban hành văn bản	Tên văn bản	Ghi chú
1	Số 1317/QĐ – BKHCN ngày 6/7/2007	Quyết định về việc thành lập Hội đồng Khoa học Công nghệ cấp nhà nước xét duyệt thuyết minh đề tài Độc lập cấp Nhà nước giao trực tiếp thực hiện kế hoạch 2007	
2	Số 1693/QĐ-BKHCN ngày 16/8/2007	Quyết định phê duyệt tổ chức cá nhân chủ trì đề tài, dự án thử nghiệm độc lập cấp nhà nước xét duyệt giao trực tiếp thực hiện kế hoạch 2007	
3	Số 2776/QĐ-BKHCN ngày 21/11/2007	Quyết định về việc phê duyệt kinh phí đề tài và dự án sản xuất thử nghiệm độc lập cấp Nhà nước thực hiện trong kế hoạch năm 2007	

4	Số 453 CV/BVTV/KH-HTQT ngày 23/8/2007	Công văn thay đổi chủ trì đề tài	
5	Số 330 CV/BVTV/CT ngày 24/3/2010	Công văn gia hạn thời gian thực hiện đề tài	
6	Số 554/QĐ-BKHCN ngày 13/4/2010	Quyết định điều chỉnh thời gian thực hiện đề tài độc lập	
7	Số 2 HĐNCKH-ĐTĐL ngày 1/8/2007	Hợp đồng nghiên cứu khoa học và phát triển công nghệ	

4. Tổ chức phối hợp thực hiện đề tài, dự án:

Số TT	Tên tổ chức đăng ký theo Thuyết minh	Tên tổ chức đã tham gia thực hiện	Nội dung tham gia chủ yếu	Sản phẩm chủ yếu đạt được	Ghi chú *
1	Viện Bảo vệ thực vật	Viện Bảo vệ thực vật	- Nghiên cứu xác định các chủng virus vàng lùn, lùn xoắn lá , đặc điểm sinh học của virus và môi giới - Nghiên cứu quan hệ tương tác giữa virus vàng lùn, lùn xoắn lá với các môi giới truyền bệnh - Nghiên cứu bệnh lý cá thể của cây lúa bị bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và đánh giá tính miễn dịch cá thể, quần thể của cây lúa với bệnh - Nghiên cứu và đề xuất hệ thống các biện pháp quản lý bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và môi giới truyền	- Xác định được hiện tại vùng đồng bằng sông Cửu Long, Duyên hải Nam trung bộ rầy nâu là môi giới chính, chưa ghi nhận môi giới khác ngoài rầy nâu - Xác định được quan hệ giữa rầy tổng số, rầy mang nguồn bệnh, rầy có khả năng truyền bệnh và tỷ lệ bệnh trên đồng ruộng, bãi đèn - Qui luật nhập cư, phát tán của	

			bệnh, xây dựng mô hình phòng chống bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá tại một số vùng sinh thái điển hình	rầy trong ngày, cả vụ trên ruộng lúa - Xác định được ảnh hưởng của vện tới sinh trưởng, phát triển của cây lúa ở các giai đoạn nhiễm bệnh khác nhau - Giai đoạn miễn cảm của cây lúa với bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá - Nghiên cứu các biện pháp trừ rầy môi giới, canh tác trong phòng trừ bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá - Quy trình quản lý tổng hợp cây trồng trong phòng trừ bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá do rầy nâu lan truyền - Xây dựng được 9 mô hình với tổng diện tích trên 2300 ha tại các vùng nghiên cứu có hiệu quả kinh tế cao hơn từ 10% trở lên so với sản xuất đại trà	
2	Viện Di truyền nông nghiệp	Viện Công nghệ Sinh học	Nghiên cứu xác định các chủng virrus vàng lùn, lùn xoắn lá , đặc điểm sinh học của	- Phân lập, tinh chiết 2 virus RRSV, RGSV để phục vụ các	

			virus và môi giới	nghiên cứu tiếp theo - Tạo thư viện cDNA của 2 virus RGSV, RRSV - Cấu trúc phân tử của virus RGSV, RRSV - Trình tự gen của 2 virus RGSV, RRSV	
3	Viện lúa Đồng bằng sông Cửu Long	Viện lúa Đồng bằng sông Cửu Long	Nghiên cứu biện pháp phòng chống bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và môi giới truyền bệnh bằng các biện pháp sinh học (thuốc có nguồn gốc sinh học, thảo mộc)	Đã tiến hành đánh giá, 6 loại thuốc thảo mộc, sinh học trừ rầy nâu và giới thiệu một số loại có triển vọng là Abatimec 1,8 EC, Vectimec 1,8 EC, Ometar, Bemetent WP + Amino 15,	
4	Viện Thổ Nhưỡng				
5	Viện KHKTN duyên hải Nam Trung Bộ				

- Lý do thay đổi (nếu có)

- Do đối tác là viện di truyền nông nghiệp thực hiện quá nhiều đề tài, và nguồn nhân lực nên từ chối tham gia đề tài
- Do nguồn kinh phí và điều kiện triển khai quá xa, nguồn nhân lực hạn chế nên các cơ quan như viện Nông hóa thổ nhưỡng, viện KHKT duyên hải nam trung bộ từ chối tham gia

5. Cá nhân tham gia thực hiện đề tài, dự án:

(Người tham gia thực hiện đề tài thuộc tổ chức chủ trì và cơ quan phối hợp, không quá 10 người kể cả chủ nhiệm đề tài)

STT	Tên cá nhân đăng ký theo Thuyết minh	Tên cá nhân đã tham gia thực hiện	Nội dung tham gia chính	Sản phẩm chủ yếu đạt được	Ghi chú
1	TS. Nguyễn Như Cường	TS. Nguyễn Như Cường	Điều phối toàn bộ hoạt động của đề tài, tham gia thực hiện nội dung nghiên cứu về thành phần loài, đặc điểm sinh học của môi giới truyền bệnh, các quy trình phòng chống bệnh và môi giới truyền bệnh theo hướng ICM. Xây dựng mô hình phòng chống bệnh và môi giới truyền bệnh.	- Đến thời điểm hiện tại môi giới của bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá là rầy nâu, chưa ghi nhận được môi giới khác ở các vùng nghiên cứu; đặc điểm sinh học chính của rầy nâu nhiễm bệnh - Xây dựng, thử nghiệm quy trình trên các mô hình ứng dụng - Xây dựng được mô hình 110 ha/vụ tại Trà vinh từ 2007-2010	
2	ThS. Đặng Thị Lan Anh	ThS. Đặng Thị Lan Anh	Theo dõi hoạt động của toàn bộ đề tài, chịu trách nhiệm về phía Viện BTVT. Điều tra diễn biến và quan hệ của môi giới truyền bệnh với bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá ở các vùng. Lưu giữ nguồn bệnh, môi giới mang bệnh. Nghiên cứu sinh học của môi giới truyền bệnh	- Kết quả diễn biến và quan hệ giữa môi giới và bệnh tại Long An - Lưu giữ nguồn bệnh, môi giới tại Long An phục vụ nghiên cứu, - Đặc điểm sinh học cơ bản của rầy nâu nhiễm bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá	
3	TS. Phạm Thị Vượng	TS. Phạm Thị Vượng	Chịu trách nhiệm nghiên cứu về môi giới truyền bệnh,, và biện pháp phòng chống ICM	- Đến thời điểm hiện tại môi giới của bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá là rầy nâu, chưa ghi nhận được môi giới khác ở các vùng nghiên cứu - Tham gia xây dựng quy trình, và	

				chỉ đạo mô hình tại Phú Yên	
4	TS. Ngô Vĩnh Viễn	TS. Ngô Vĩnh Viễn	Chịu trách nhiệm nghiên cứu xác định chủng vi rút vàng lùn, lùn xoắn lá, đặc tính sinh học của chúng và quy trình phòng chống bệnh theo hướng ICM	- Kết hợp với viện CNSH xây dựng thư viện cDNA của virus RRSV, RGSV, - Ảnh hưởng của một số hóa chất đến virus - Tham gia xây dựng quy trình, và chỉ đạo mô hình tại Long An	
5	TS. Nguyễn Trường Thành	TS. Nguyễn Trường Thành	Chịu trách nhiệm về phía Viện BVTV nghiên cứu các biện pháp phòng chống bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và môi giới truyền bệnh bằng biện pháp hóa học, sinh học, thảo mộc	- Kết quả về ảnh hưởng của một số thuốc kích thích sinh trưởng đến cây lúa - Kết quả khảo nghiệm đánh giá thuốc hóa học trừ rầy, giới thiệu cho sản xuất	
6	TS. Nguyễn Thị Lộc	TS. Nguyễn Thị Lộc	Đại diện cho Viện lúa ĐBSCL, nghiên cứu biện pháp phòng chống bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và môi giới truyền bệnh bằng các biện pháp sinh học (thuốc có nguồn gốc sinh học, thảo mộc)	- Đã tiến hành đánh giá, 6 loại thuốc thảo mộc, sinh học trừ rầy nâu và giới thiệu một số loại có triển vọng là Abatimec 1,8 EC, Vectimec 1,8 EC, Ometar, Bemetent WP + Amino 15	
7	PGS.TS. Đỗ Năng Vịnh	TS. Nguyễn Trung Nam	Chịu trách nhiệm về phía Viện Công nghệ sinh học nghiên cứu phương pháp chẩn đoán nhanh vi rút, xác định chủng vi rút, đặc tính sinh học	- Phân lập, tinh chiết 2 virus RRSV, RGSV để phục vụ các nghiên cứu tiếp theo - Tạo thư viện cDNA của 2 virus RGSV, RRSV - Cấu trúc phân tử của virus RGSV, RRSV - Trình tự gen của 2 virus RGSV,	

				RRSV	
8	TS. Phạm Xuân Hội	ThS. Hoàng Thị Thu Hằng	Nghiên cứu phương pháp chẩn đoán nhanh vi rút, xác định chủng vi rút đặc tính sinh học, trình tự gen, cDNA	- Phân lập, tinh chiết 2 virus RRSV, RGSV để phục vụ các nghiên cứu tiếp theo - Tạo thư viện cDNA của 2 virus RGSV, RRSV - Cấu trúc phân tử của virus RGSV, RRSV - Trình tự gen của 2 virus RGSV, RRSV - Phương pháp chẩn đoán nhanh sự có mặt của virus RRSV, RGSV trong cây lúa, rầy bằng phương pháp ELISA	
9	TS. Lê Công Vinh	ThS. Tạ Hoàng Anh	Nghiên cứu về phương pháp phòng trừ bệnh và môi giới bằng biện pháp canh tác và mùa vụ. Xây dựng mô hình ICM tại phía Nam	- Kết quả các biện pháp trừ rầy môi giới, thời gian sạ, mật độ sạ, phân bón tới môi giới và bệnh - Xây dựng mô hình tại Bình Thuận	
10	TS. Lưu Văn Quỳnh	Chu Hoàng Hà	Nghiên cứu phương pháp chẩn đoán nhanh vi rút, xác định chủng vi rút đặc tính sinh học, trình tự gen, cDNA	- Phân lập, tinh chiết 2 virus RRSV, RGSV để phục vụ các nghiên cứu tiếp theo - Tạo thư viện cDNA của 2 virus RGSV, RRSV - Cấu trúc phân tử của virus RGSV, RRSV - Trình tự gen của 2 virus RGSV, RRSV - Phương pháp chẩn đoán nhanh sự có mặt của virus RRSV, RGSV trong cây lúa, rầy bằng phương pháp ELISA	

- Lý do thay đổi

6. Tình hình hợp tác quốc tế

STT	Theo kế hoạch (Nội dung, Thời gian, Kinh phí, địa điểm)	Thực tế (Nội dung, Thời gian, Kinh phí, địa điểm)	Ghi chú
1	- Nội dung: + Kiểm tra kết quả trình tự genome, xây dựng thư viện cDNA và tiếp cận các phương pháp nghiên cứu sinh học phân tử về virus + Trao đổi kết quả nghiên cứu mới nhất về rầy nâu, phương pháp nuôi rầy quần thể, đánh giá tính kháng thuốc, thành phần rầy hại thân: + Phương pháp nghiên cứu sự di cư và phát tán của rầy nâu - Thời gian: 4– 12 tháng 11 năm 2008 - Kinh phí: 78, 733,530 đồng - Địa điểm : + Trung tâm nghiên cứu nông nghiệp quốc gia nhật bản – 3-1-1, Kannodai, Tsukuba, Ibaraki 305-8666 Nhật Bản + Trung tâm nghiên cứu nông nghiệp quốc gia vùng Okinawa 2421 Suya, Koshi, Kumamoto 861-1192, Nhật Bản	- Nội dung: + Kiểm tra kết quả trình tự genome, xây dựng thư viện cDNA và tiếp cận các phương pháp nghiên cứu sinh học phân tử về virus + Trao đổi kết quả nghiên cứu mới nhất về rầy nâu, phương pháp nuôi rầy quần thể, đánh giá tính kháng thuốc, thành phần rầy hại thân: + Phương pháp nghiên cứu sự di cư và phát tán của rầy nâu - Thời gian: 4– 12 tháng 11 năm 2008 - Kinh phí: 78, 733,530 đồng - Địa điểm : + Trung tâm nghiên cứu nông nghiệp quốc gia nhật bản – 3-1-1, Kannodai, Tsukuba, Ibaraki 305-8666 Nhật Bản + Trung tâm nghiên cứu nông nghiệp quốc gia vùng Okinawa 2421 Suya, Koshi, Kumamoto 861-1192, Nhật Bản	

- Lý do thay đổi

7. Tình hình tổ chức hội thảo, hội nghị

STT	Theo kế hoạch (Nội dung, thời gian, kinh phí, địa điểm)	Thực tế (Nội dung, thời gian, kinh phí, địa điểm)	Ghi chú
	Không	The analytica Vietnam Conference 2009 Hanoi, March 19-20, 2009	Tham gia và đăng bài “ Detection of rice ragged stunt virus (RRSV) in Vietnamese rice using RT-PCR and DNA Sequencing”

8. . Tóm tắt các nội dung , công việc chủ yếu :

(Nêu tại mục 15 của thuyết minh, không bao gồm: Hội thảo khoa học, điều tra khảo sát trong nước và nước ngoài)

TT	Các nội dung, công việc chủ yếu (Các mốc đánh giá chủ yếu)	Thời gian (Bắt đầu, kết thúc – tháng.....năm)		Người cơ quan thực hiện
		Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	
1	Nghiên cứu xác định các chủng virrus vàng lùn, lùn xoắn lá , đặc điểm sinh học của virus và môi giới	2007-2010	2007-2010	Nguyễn Trung Nam, Hoàng Thị Thu Hằng, Chu Hoàng Hà – Viện CNSH - Nguyễn Như Cường, Phạm Thị Vượng, Đặng Lan Anh- Viện BVTV
2	Nghiên cứu quan hệ tương tác giữa virus vàng lùn, lùn xoắn lá với các môi giới truyền bệnh	2007-2009	2007-2009	Nguyễn Như Cường, Phạm Thị Vượng, Ngô Vĩnh Viễn – Viện BVTV
3	Nghiên cứu bệnh lý cá thể của cây lúa bị bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và đánh giá tính miễn dịch cá thể, quần thể của cây lúa với bệnh	2008-2010	2007-2010	Nguyễn Như Cường, Phạm Thị Vượng, Ngô Vĩnh Viễn,Đặng Lan Anh, Tạ Hoàng Anh – Viện BVTV
4	Nghiên cứu và đề xuất hệ thống các biện pháp quản lý bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và môi giới truyền bệnh theo hướng hiệu quả, bền vững thân thiện với môi trường trên cơ sở đó xây dựng mô hình phòng chống bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá tại một số vùng sinh thái điển hình	2008-2010	2007-2010	Nguyễn Như Cường, Phạm Thị Vượng, Ngô Vĩnh Viễn, Nguyễn Trường Thành, Đặng Lan Anh, Tạ Hoàng Anh – Viện BVTV - Nguyễn Thị Lộc, Nguyễn Thị Nghĩa- Viện Lúa Ô Môn - Nguyễn Hữu Doãn, Nguyễn Văn Mạnh- Chi cục BVTV Phú Yên - Lê Duy Nghĩa- Trạm BVTV Thủ Thừa, Long An

- Lý do thay đổi (nếu có):

III. SẢN PHẨM KH&CN CỦA ĐỀ TÀI, DỰ ÁN

1. Sản phẩm KH&CN đã tạo ra:

a) Sản phẩm dạng I

TT	Tên sản phẩm và chỉ tiêu chất lượng chủ yếu	Đơn vị đo	Số lượng	Theo kế hoạch	Thực tế đạt được
1	Mẫu các loài rầy môi giới	Các pha phát triển của rầy mang bệnh	10-15	10-15	15
2	Mẫu bệnh vàng lùn	Mẫu	20	20	20
3	Mẫu bệnh lùn xoắn lá	Mẫu	20	20	20

- Lý do thay đổi (nếu có)

b) Sản phẩm dạng II

TT	Tên sản phẩm	Yêu cầu khoa học cần đạt		Ghi chú
		Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	
1	Quy trình quản lý bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và môi giới truyền bệnh biện pháp quản lý cây trồng tổng hợp ICM	1 Quy trình ICM được ứng dụng xây dựng mô hình có tỷ lệ bệnh dưới 5% và năng suất tăng 10 – 15% so với bình quân chung so với sản xuất đại trà.	1	Đạt
2	Mô hình (ICM) ứng dụng hệ thống các biện pháp phòng chống môi giới truyền bệnh và bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá có hiệu quả thân thiện với môi trường	- Xây dựng được 2-3 mô hình phòng trừ bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá theo hướng ICM tại các vùng dịch + Quy mô: 5-10ha/mô hình + Tỷ lệ bệnh dưới 5% + Năng suất tăng 10-15% so với bình quân chung của sản xuất đại trà	9 mô hình - Quy mô từ 8-110 ha/mô hình/vụ với tổng diện tích 2381 ha - Năng suất và hiệu quả kinh tế tăng từ 10-15%	- Vượt 6 mô hình - Vượt 2200 ha

- Lý do thay đổi (nếu có)

c) Sản phẩm dạng III

TT	Tên sản phẩm	Yêu cầu khoa học cần đạt		Số lượng, nơi công bố (Tạp chí, nhà xuất bản)
		Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	
1	Bài báo	3	5	- Tạp chí CNSH: 2 - Tạp chí BVTV: 1 - Tạp chí VAAS: 1 - Conference proceeding 1
2	Sách chuyên khảo	1	1	NXB Nông nghiệp
3				
4				

- Lý do thay đổi (nếu có)

d) Kết quả đào tạo

TT	Cấp đào tạo, Chuyên ngành đào tạo	Số lượng		Ghi chú (Thời gian kết thúc)
		Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	
1	Thạc sĩ: chuyên ngành công nghệ sinh học	02	03	2009

- Lý do thay đổi (nếu có)

đ) Tình hình đăng ký bảo hộ quyền sở hữu công nghiệp, quyền đối với giống cây trồng:

TT	Tên sản phẩm đăng ký	Kết quả		Ghi chú (Thời gian kết thúc)
		Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	
1				
2				

e) Thống kê doanh mục sản phẩm KHCN đã được ứng dụng vào thực tế

TT	Tên kết quả đã được ứng dụng	Thời gian	Địa điểm (Ghi rõ tên, địa chỉ nơi ứng dụng)	Kết quả sơ bộ
	Quy trình quản lý bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và môi giới truyền bệnh theo hướng ICM Được ứng dụng xây dựng mô hình	2007-2010	- Ấp 4 xã Mỹ Phú, huyện Thủ Thừa, tỉnh Long An - Ấp Cầu Tre, Phú Cần, huyện Tiểu Cần, tỉnh, Trà Vinh - HTX Hòa Thành Tây, Đông huyện Hòa tỉnh Phú Yên - HTX Hòa An Đông, Hòa Trị 1, 2 Hòa An Tây, Hòa Quang Nam, huyện Phú Hòa, tỉnh Phú Yên - Thị trấn Võ Xu, huyện Đức Linh, tỉnh Bình Thuận	40 ha/vụ (tổng số 8 vụ -320 ha) - 110 ha/vụ (tổng số 10 vụ- 1100 ha) - Trung bình 32 ha/vụ (tổng 4 vụ- 160 ha) - Trung bình: 24 ha/vụ/mô hình (tổng số 4 vụ- 801 ha)

2. Đánh giá về hiệu quả do đề tài, dự án mang lại:

a) Hiệu quả về khoa học công nghệ:

(Nêu rõ danh mục công nghệ và mức độ nắm vững, làm chủ, so sánh với trình độ công nghệ so với khu vực và thế giới)

- Đã đăng ký được tổng số 41 trình tự gene virus RGSV và 12 trình tự gene virus RRSV trên ngân hàng gene thế giới (Genbank)
- Xây dựng được thư viện cDNA của virus RSGV và RRS,
- Hiện tại ở Việt Nam rầy nâu là môi giới truyền 2 bệnh vàng lùn, lùn xoắn, chưa ghi nhận được môi giới khác ngoài rầy nâu
- Quy luật phát tán và xâm nhập của rầy nâu trên đồng ruộng
- Quan hệ giữa rầy nâu và tỷ lệ bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá trên đồng ruộng,
- Xác định được thời gian miễn cảm của cây lúa (sạ đến 40 ngày sau sạ), các biện pháp canh tác thời gian sạ, lượng giống sạ, các biện pháp chủ động phòng chống rầy nâu với vai trò môi giới nhập cư trong giai đoạn miễn cảm của cây lúa với bệnh, tỷ lệ bệnh và mức độ thiệt hại tương ứng, các biện pháp khôi phục quần thể cây lúa bị nhiễm bệnh...
- Đề xuất quy trình quản lý bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và rầy nâu môi giới theo hướng ICM

b) Hiệu quả về kinh tế xã hội:

(Nêu rõ hiệu quả làm lợi tính bằng tiền dự kiến do đề tài, dự án tạo ra so với các sản phẩm cùng loại trên thị trường)

- Xây dựng các mô hình áp dụng quy trình trên địa bàn 4 tỉnh Phú Yên, Bình Thuận, Long An và Trà Vinh với tổng diện tích trên 2300 ha, sản lượng tăng trên 1600 tấn.
- Góp phần đáng kể trong việc ổn định đời sống và ổn định xã hội cho những vùng thực hiện

- Đặc biệt tại ấp Cầu Tre, xã Phú Cần tỉnh Trà Vinh có tới trên 98% là đồng bào khme, mô hình đã góp phần quan trọng trong việc ổn định an ninh, chính trị, tôn giáo, dân tộc, mô hình được UBND tỉnh chọn là điển hình tiến tiến tham dự và báo cáo điển hình tại hội nghị tổng kết toàn quốc phong trào thi đua yêu nước 2006-2010.

3. Tình hình thực hiện chế độ báo cáo, kiểm tra đề tài, dự án:

TT	Nội dung	Thời gian thực hiện	Ghi chú (Tóm tắt kết quả , kết luận chính)
I	Báo cáo định kỳ		
	Kỳ 1	7-12/2007	- Đã tiến hành phân lập, tinh chiết 1 chủng virus vàng lùn hại lúa (RGSV) tại đồng bằng sông Cửu Long và Duyên Hải Nam Trung bộ,, đăng ký 6 trình tự nucleotide vào Ngân hàng gen Quốc tế (Genbank). - Rầy nâu là môi giới chính truyền bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá, chưa phát hiện được môi giới truyền bệnh khác ngoài rầy nâu ở bầy đèn và đồng ruộng - Thức ăn lúa nhiễm bệnh vàng lùn hoặc lùn xoắn lá có ảnh hưởng rõ rệt đến thời gian phát dục pha trưởng thành của rầy nâu và số trứng trung bình/cá thể. - Trong vụ Đông – Xuân 2007-2008 tại Long An quần thể rầy nâu trên đồng ruộng và bầy đèn đều có một tỷ lệ nhất định rầy mang nguồn và có khả năng truyền bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá. - Rầy nâu có khả năng bắt đầu truyền bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá từ tuổi 3, với bệnh vàng lùn rầy tuổi 4 - Trong ngày rầy nâu xâm nhập vào ruộng lúa tập trung chủ yếu vào thời gian từ 17 giờ ngày hôm trước đến 8 giờ sáng hôm sau (91,97%) và di cư tập trung chủ yếu vào 4 thời điểm, trong đó 19.30- 21.30 giờ hàng ngày rầy nâu phát tán với số lượng lớn nhất chiếm tới 51,23 %. Rầy nâu bắt đầu nhập cư vào ruộng lúa khá sớm trung bình từ 7-10 ngày sau sạ, và chúng nhập cư bổ xung đến cuối vụ. Rầy nâu bắt đầu di cư khi ruộng lúa ở giai đoạn xung quanh 70 ngày sau sạ, kéo dài đến xung quanh 90 ngày sau sạ. - Thời gian sạ, lượng giống sạ có ảnh hưởng rõ rệt tới mật số rầy nhập cư giai đoạn đầu và phát triển quần thể giai đoạn sau, cũng như tỷ lệ bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá trên đồng ruộng ở giai đoạn 50 ngày sau - Bước đầu đã ghi nhận được 14 loài côn trùng, 2 loài nhện và 2 loài nấm là thiên địch của rầy nâu, - Tất cả các giống trồng phổ biến tại các vùng điều tra đều nhiễm bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá, đất 3 vụ hay 2 vụ đều có sự hiện diện của 2 loại bệnh tại các vùng điều tra trên các giống được trồng tại các vùng này. Tuy nhiên, đất 2 vụ có tỷ lệ 2 bệnh này thấp hơn so với đất 3 vụ - Các thuốc Abatimec 1,8 EC, Vectimec 1,8 EC, Ometar, Bemetent WP + Amino 15, và Ometar + Biovip (OmeBio BTN) có hiệu lực trừ rầy khá đạt hiệu quả từ 60,8- 75,7 % . - Trong điều kiện thí ở ô nhỏ và cóc với các loại thuốc trừ rầy bón vào đất cho thấy ở 12 ngày sau khi bón thuốc, hiệu lực của

			imidacloprid có hiệu lực 70% và carbofuran có hiệu lực cao nhất lên tới 80%. - Kết hợp sử lý hạt giống kết hợp với phun trừ rầy môi giới cho kết quả cao trong việc hạn chế mật độ rầy nhập cư ban đầu từ đó giảm tỷ lệ bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá trên đồng ruộng - Xây dựng được 3 mô hình với diện tích 173 ha (vụ Đông – Xuân 2007-2008)
	Kỳ 2	7/2007-6/2008	- Đăng ký 10 trình tự nucleotide của virus RGSV, RRSV vào Ngân hàng gen Quốc tế (Genbank). - Rầy nâu là môi giới chính truyền bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá, chưa phát hiện được môi giới truyền bệnh khác ngoài rầy nâu ở bầy đàn và đồng ruộng - Thức ăn lúa nhiễm bệnh vàng lùn hoặc lùn xoắn lá có ảnh hưởng rõ rệt đến thời gian phát dục pha trưởng thành của rầy nâu và số trứng trung bình/cá thể. - Trong vụ Đông – Xuân 2007-2008 và Hè – Thu 2008 tại Long An quần thể rầy nâu trên đồng ruộng và bầy đàn đều có một tỷ lệ nhất định rầy mang nguồn và có khả năng truyền bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá - Rầy nâu có khả năng bắt đầu truyền bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá từ tuổi 3, với bệnh vàng lùn rầy tuổi 4 có khả năng truyền bệnh cao nhất trung bình là 19,09 % - Trong ngày rầy nâu xâm nhập vào ruộng lúa tập trung chủ yếu vào thời gian từ 17 giờ ngày hôm trước đến 8 giờ sáng hôm sau (91,97%); di cư tập trung chủ yếu vào 4 thời điểm, trong đó chủ yếu vào 19.30-21.30 giờ hàng. Rầy nâu bắt đầu nhập cư vào ruộng lúa khá sớm trung bình từ 7-10 ngày sau sạ, và chúng nhập cư bổ xung đến cuối vụ. Rầy nâu bắt đầu di cư khi ruộng lúa ở giai đoạn xung quanh 70 ngày sau sạ, kéo dài đến xung quanh 90 ngày sau sạ. - Sinh trưởng phát triển cây lúa đều bị ảnh hưởng khi bị nhiễm bệnh vàng lùn hoặc lùn xoắn lá, cây lúa bị bệnh càng muộn thì ảnh hưởng càng ít và ngược lại. - Cây lúa rất mẫn cảm với cả bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá, khi bị nhiễm bệnh ở 5 ngày sau sạ, chúng bị nhiễm và chết 100 % (với bệnh vàng lùn) và tỷ lệ nhiễm bệnh lên tới 92,31% và tỷ lệ chết lên tới 41, 18% (bệnh lùn xoắn lá), tuổi càng lớn cây lúa càng ít mẫn cảm hơn với cả hai bệnh - Thời gian sạ, mật độ sạ có ảnh hưởng rõ rệt tới mật số rầy nhập cư giai đoạn đầu và phát triển quần thể giai đoạn sau, cũng như tỷ lệ bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá trên đồng ruộng ở giai đoạn 50 ngày sau sạ ở cả 2 vụ, sạ né rầy có mật số rầy nhập cư ban đầu và tỷ lệ bệnh thấp hơn đáng kể so với sạ trước hoặc sau né rầy. - Bước đầu đã ghi nhận được 14 loài côn trùng, 2 loài nhện và 2 loài nấm là thiên địch của rầy nâu - Tất cả các giống trồng phổ biến tại các vùng điều tra đều nhiễm bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá ở các mức độ khác nhau; đất 3 vụ hay 2 vụ đều có sự hiện diện của 2 loại bệnh tại các vùng điều tra trên các giống được

			trồng tại các vùng này. Tuy nhiên, đất 2 vụ có tỷ lệ 2 bệnh này thấp hơn so với đất 3 vụ, - Trên sản suất đại trà mức độ nhiễm bệnh 5-10 % ít có ảnh hưởng tới năng suất, năng suất lúa giảm rõ rệt khi tỷ lệ bệnh trên đồng ruộng từ 10-20 %; ở mức độ nhiễm bệnh là 30-40% năng suất có thể giảm tới 45,2 % - Các thuốc Abatimec 1,8 EC, Vectimec 1,8 EC, Ometar, Bemetent WP + Amino 15, và Ometar + Biovip (OmeBio BTN) có hiệu lực trừ rầy khá đạt hiệu quả từ 60,8- 75,7 % . - Trong điều kiện thí ở ô nhỏ và cốc với các loại thuốc trừ rầy bón vào đất cho thấy ở 12 ngày sau khi bón thuốc, hiệu lực của imidacloprid là 70% và carbofuran có hiệu lực cao nhất lên tới 80%. - Trong điều kiện nhà lưới Boom Flower n và K-H có tỷ lệ xuất hiện bệnh thấp hơn so với đối chứng, và 2 loại kích thích sinh trưởng này đều có tác động tốt khả năng hồi phục quần thể ruộng lúa -Áp dụng một số biện pháp như trừ rầy môi giới, rút nước thay nước, bón lân, kali, vôi và phun Boom Flower n trên các ruộng bị nhiễm bệnh đã có khả năng làm tăng số chồi, số danh hữu hiệu, tỷ lệ hạt chắc và trọng lượng 1000 hạt so với đối chứng và cuối cùng giữ được năng suất ruộng bệnh dù tỷ lệ bệnh khá cao - Kết hợp sử lý hạt giống kết hợp với phun trừ rầy môi giới cho kết quả cao trong việc hạn chế mật độ rầy nhập cư ban đầu từ đó giảm tỷ lệ bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá trên đồng ruộng - Xây dựng được 3 mô hình với diện tích 173 ha (vụ Đông – Xuân 2007-2008) đã làm tăng lại hiệu quả kinh tế 10-15 % so với ngoài sản xuất đại trà
	Kỳ 3	7/2007-12/2008	- Đăng ký 16 trình tự nucleotide vào Ngân hàng gen Quốc tế (Genbank). - Rầy nâu là môi giới chính truyền bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá, chưa phát hiện được môi giới truyền bệnh khác ngoài rầy nâu ở bầy đàn và đồng ruộng - Thức ăn lúa nhiễm bệnh vàng lùn hoặc lùn xoắn lá có ảnh hưởng rõ rệt đến thời gian phát dục pha trưởng thành của rầy nâu và số trứng trung bình/cá - Trong vụ Đông – Xuân 2007-2008 và Hè – Thu 2008 tại Long An quần thể rầy nâu trên đồng ruộng và bầy đàn đều có một tỷ lệ nhất định rầy mang nguồn và có khả năng truyền bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá. - Rầy nâu có khả năng bắt đầu truyền bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá từ tuổi 3 đến trưởng thành - Trong ngày rầy nâu xâm nhập vào ruộng lúa tập trung chủ yếu vào thời gian từ 17 giờ ngày hôm trước đến 8 giờ sáng hôm sau (91,97%) và di cư tập trung chủ yếu vào 4 thời điểm, trong đó lúc 19.30- 21.30 giờ hàng ngày rầy nâu phát tán với số lượng lớn nhất chiếm tới 51,23 %, Rầy nâu bắt đầu nhập cư vào ruộng lúa khá sớm trung bình từ 7-10 ngày sau sạ, chúng nhập cư bổ xung đến cuối vụ. Rầy nâu bắt đầu

			di cư khi ruộng lúa ở giai đoạn xung quanh 70 ngày sau sạ, kéo dài đến xung quanh 90 ngày sau sạ. - Sinh trưởng phát triển cây lúa đều bị ảnh hưởng khi bị nhiễm bệnh vàng lùn hoặc lùn xoắn lá, tuy nhiên mức độ ảnh hưởng tỷ lệ với giai đoạn sinh trưởng của lúa, - Cây lúa rất mẫn cảm với cả bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá, khi bị nhiễm bệnh ở 5 ngày sau sạ, chúng bị nhiễm và chết 100 % (với bệnh vàng lùn) và tỷ lệ nhiễm bệnh lên tới 92,31% và tỷ lệ chết lên tới 41, 18% (bệnh lùn xoắn lá), tuổi càng lớn cây lúa càng ít mẫn cảm hơn với cả hai bệnh - Thời gian sạ, mật độ sạ có ảnh hưởng rõ rệt tới mật số rầy nhập cư giai đoạn đầu và phát triển quần thể giai đoạn sau, cũng như tỷ lệ bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá trên đồng ruộng ở giai đoạn 50 ngày sau sạ ở cả vụ Đông – Xuân và Hè -Thu, - Bước đầu đã ghi nhận được 14 loài côn trùng, 2 loài nhện và 2 loài nấm là thiên địch của rầy nâu - Tất cả các giống trồng phổ biến tại các vùng điều tra đều nhiễm bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá ở các mức độ khác nhau; đất 3 vụ hay 2 vụ đều có sự hiện diện của 2 loại bệnh tại các vùng điều tra trên các giống được trồng tại các vùng này. Tuy nhiên, đất 2 vụ có tỷ lệ 2 bệnh này thấp hơn so với đất 3 vụ, Trên đất 2 vụ thì vụ Đông –Xuân có tỷ lệ bệnh cao hơn so với vụ Hè Thu - Trên sản xuất đại trà mức độ nhiễm bệnh 5-10 % ít có ảnh hưởng tới năng suất, năng suất lúa giảm rõ rệt khi tỷ lệ bệnh trên đồng ruộng từ 10-20 %; ở mức độ nhiễm bệnh là 30-40% năng suất có thể giảm tới 45,2 % - Các thuốc Abatimec 1,8 EC, Vectimec 1,8 EC, Ometar, Bemetent WP + Amino 15, và Ometar + Biovip (OmeBio BTN) có hiệu lực trừ rầy khá đạt hiệu quả từ 60,8- 75,7 % . - Trong điều kiện thí ở ô nhỏ và cốc với các loại thuốc trừ rầy bón vào đất cho thấy ở 12 ngày sau khi bón thuốc, hiệu lực của imidacloprid là 70% và carbofuran có hiệu lực cao nhất lên tới 80%. - Trong điều kiện nhà lưới Boom Flower n và K-H có tỷ lệ xuất hiện bệnh thấp hơn so với đối chứng, - Áp dụng một số biện pháp như trừ rầy môi giới, rút nước thay nước, bón lân, kali, vôi và phun Boom Flower n trên các ruộng bị nhiễm bệnh đã có khả năng làm tăng số chồi, số danh hữu hiệu, tỷ lệ hạt chắc và trọng lượng 1000 hạt so với đối chứng và cuối cùng giữ được năng suất ruộng bệnh dù tỷ lệ bệnh khá cao - Kết hợp sử lý hạt giống kết hợp với phun trừ rầy môi giới cho kết quả cao trong việc hạn chế mật độ rầy nhập cư ban đầu từ đó giảm tỷ lệ bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá trên đồng ruộng - Xây dựng được 3 mô hình với diện tích 173 ha (vụ Đông – Xuân 2007-2008) và 3 mô hình với qui mô 225 ha (vụ Hè –Thu 2008) đã làm tăng lại hiệu quả kinh tế 10-15 % so với ngoài sản xuất đại trà
--	--	--	---

	Kỳ 4	7-2007-6/2009	- Đã đăng ký tổng số 22 trình tự các đoạn gen của virus RGSV và RRSV được trên GenBank - So sánh cây phát sinh từ các trình tự gen CP- RGSV với nhánh thế giới bao gồm 3 trình tự của thế giới (Nhật Bản (2) và Trung Quốc (1)) đã tạo thành một nhóm riêng với giá trị bootstrap 100% so với nhánh Việt Nam cho thấy bệnh VL&LXL xuất hiện ở ĐBSCL và Nam Trung Bộ của Việt Nam không bắt nguồn từ các nước lân cận mà do virus nội tại của Việt Nam. - Rầy nâu là môi giới chính truyền bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá, chưa phát hiện được môi giới truyền bệnh khác ngoài rầy nâu ở bầy đèn và đồng ruộng - Kết quả lây bệnh nhân tạo với nguồn rầy thu từ bầy đèn tại Thủ Thừa Long An từ tháng 2 đến tháng 12 năm 2009 cho thấy: quần thể rầy nâu vào đèn tại vùng nghiên cứu này luôn có một tỷ lệ nhất định rầy nâu có khả năng truyền bệnh vi rút vàng lùn, lùn xoắn lá. - Rầy nâu tuổi 3 bắt đầu có khả năng truyền bệnh VL, LXL - Tất cả các tuổi lúa trong thí nghiệm : 5,7,10,15,20,25,30,35 và 40 ngày sau sạ đều xuất hiện triệu chứng bệnh cây lúa bị nhiễm bệnh ở giai đoạn 5 ngày sau sạ thì chiều cao cây chỉ đạt 16,65 % so với đối chứng, các chỉ tiêu dài, rộng lá cũng rất thấp so với đối chứng tương ứng là 32,78 % và 30,77% - Vụ Đông – Xuân 2008-2009, thời điểm sạ, mật độ sạ có ảnh hưởng tới mật độ rầy nhập cư đầu vụ và phát triển của mật số quần thể rầy ở giai đoạn sau, cũng như tỷ lệ bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá trên đồng ruộng - Đã thu thập được thêm 11 loài thiên địch của rầy nâu, tổng số loài thiên địch của rầy nâu đã thu thập là 29 loài - Các giống trồng phổ biến tại Long An và Tiền Giang đều bị nhiễm bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá, tỷ lệ bệnh vàng lùn luôn chiếm tỷ lệ cao hơn đáng kể so với bệnh lùn xoắn lá trên tất cả các giống; đất
--	------	---------------	---

		trồng 2 vụ và 3 vụ, tuy nhiên trên đất trồng 2 vụ , trên cùng giống VD 20 , OM 576 tỷ lệ bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá thì tỷ lệ bệnh của cả hai bệnh trên đều thấp hơn so với trên đất trồng 3 vụ lúa /năm - Trong 7 loại thuốc sinh học và thảo mộc khác nhau cho thấy: Thuốc Ometar có khả năng phòng trừ rầy cao nhất và hiệu quả phòng trừ cũng kéo dài hơn khi so sánh với các thuốc sinh học khác, - Một số loại thuốc hóa học là Carbofuran, Carbosulfan và Imidaplorid bằng cách bón vào đất có hiệu lực khá thấp ở 3 ngày sau sạ và sau đó hiệu lực tăng và đạt hiệu quả cao nhất ở 12 ngày sau sử lý , sử lý thuốc vào giai đoạn cây lúa 15 ngày sau sạ có hiệu lực cao hơn so với giai đoạn 30 ngày sau sạ - Thuốc kích thích sinh trưởng như Boom Flower n và K-H có tác dụng khôi phục quần thể ruộng lúa bị bệnh khá tốt - Việc sử dụng đồng bộ các biện pháp thay nước, bón bổ xung lân vôi và phun thuốc kích thích sinh trưởng kết hợp với việc trừ rầy môi giới, nhằm khôi phục quần thể ruộng lúa khi bị nhiễm bệnh đã có hiệu quả rõ rệt dù tỷ lệ bệnh khá cao - Kết hợp sử lý hạt giống kết hợp với phun trừ rầy môi giới cho kết quả cao trong việc hạn chế mật độ rầy nhập cư ban đầu từ đó giảm tỷ lệ bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá trên đồng ruộng - Kết hợp với UBND xã Mỹ Phú (Long An), xã Phú Cần (Trà Vinh), Chi cục BVTV tỉnh Phú Yên và Công ty CP BVTV An Giang xây dựng được 9 mô hình tại 3 tỉnh Long An (1), Trà Vinh (1) và Phú Yên (7) với tổng diện tích 605 ha, các mô hình đều tăng hiệu quả kinh tế 13,2 % trở lên so với ngoài mô hình
	Kỳ 5	7/2007-12/2009 - Trình tự các đoạn gen của virus RGSV và RRSV được đăng ký trên GenBank là 28 - Kết quả về cây phát sinh chủng loại được xây dựng từ các trình tự gen CP-RGSV ở Việt Nam so với thế giới chia làm 2 nhánh khác nhau rõ rệt: nhánh thế giới (Trung Quốc, Nhật Bản) và Việt Nam tạo

		thành một nhóm riêng với giá trị bootstrap 100% so với nhánh Việt Nam. - Phương pháp siêu ly tâm mẫu để thu được dịch là các virus và cắt lát cực mỏng để quan sát virus cho thấy cả 2 loại virus trong mẫu lúa bệnh với các kích thước của RGSV dài khoảng 2μm, rộng 6-8 nm, đường kính của RRSV khoảng 48nm. - Rầy nâu là môi giới chính truyền bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá, chưa phát hiện được môi giới truyền bệnh khác ngoài rầy nâu ở bầy đèn và đồng ruộng - Nguồn rầy thu từ bầy đèn tại Thủ Thừa Long An từ tháng 2 đến tháng 12 năm 2009 cho thấy: quần thể rầy nâu vào đèn tại vùng nghiên cứu này luôn có một tỷ lệ nhất định rầy nâu có khả năng truyền bệnh vi rút vàng lùn, lùn xoắn lá. - Khả năng truyền bệnh của các pha phát dục của rầy nâu với bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá cho thấy, rầy tuổi 1 và 2 không có khả năng truyền bệnh, từ rầy tuổi 3 đến trưởng thành có khả năng truyền được bệnh VL, LXL - Quá trình xâm nhập của rầy vào ruộng lúa có 4 đợt cao điểm vào các thời điểm 13, 35, 63 và 90 ngày sau sạ - Quá trình phát tán của rầy nâu trên ruộng lúa vụ mùa mẫn 2009 bắt đầu từ 59 ngày sau sạ, trong đó rầy nâu phát tán tập trung vào giai đoạn 70 đến 85 ngày sau - Ảnh hưởng của bệnh VL, LXL tới sự sinh trưởng và phát triển của cây lúa: tất cả các tuổi lúa trong thí nghiệm : 5,7,10,15,20,25,30,35 và 40 ngày sau sạ đều xuất hiện triệu chứng bệnh cây lúa bị nhiễm bệnh và làm giảm chiều cao cây, dài và rộng - Cây lúa càng nhỏ thì tính mẫn cảm với bệnh càng cao và cây lúa càng lớn thì mức độ mẫn cảm cũng giảm - Cả vụ Đông – Xuân 2008-2009 và Hè –Thu 2009, thời điểm sạ, mật độ sạ đều có ảnh hưởng tới mật độ rầy nhập cư đầu vụ và phát triển của mật số quần thể rầy ở giai đoạn sau, cũng như tỷ lệ bệnh vàng
--	--	--

			lùn, lùn xoắn lá trên đồng ruộng: - Số loài thiên địch của rầy nâu đã thu thập là 29 loài - Các giống trồng phổ biến tại Long An và Tiền Giang đều bị nhiễm bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá, tỷ lệ bệnh tuy thuộc vào giống, mùa vụ khác nhau. - Trên đồng ruộng cho thấy ở mức nhiễm bệnh 5-10% năng suất giảm không đáng kể so với ruộng đối chứng ở tất cả các thời vụ điều tra và các địa điểm điều tra. Năng suất giảm rõ rệt khi trên đồng ruộng có tỷ lệ bệnh trung bình là từ 10-20% trở lên - Trong 7 loại thuốc sinh học và thảo mộc khác nhau cho thấy: Thuốc Ometar có khả năng phòng trừ rầy cao nhất và hiệu quả phòng trừ cũng kéo dài hơn khi so sánh với các thuốc sinh học khác, - Một số loại thuốc hóa học là Carbofuran, Carbosulfan và Imidaplorid bằng cách bón vào đất có hiệu lực cao nhất ở 12 ngày sau sử lý, sử lý thuốc vào giai đoạn cây lúa 15 ngày sau sạ có hiệu lực cao hơn so với giai đoạn 30 ngày sau sạ - Thuốc kích thích sinh trưởng như Boom Flower n và K-H có tác dụng khôi phục quần thể ruộng lúa bị bệnh khá tốt: tăng số danh hữu hiệu, tăng số hạt chắc/bông và tăng trọng lượng 1000 hạt và làm tăng năng suất của ruộng so với ruộng không phun. - Việc sử dụng đồng bộ các biện pháp thay nước, bón bổ xung lân vôi và phun thuốc kích thích sinh trưởng kết hợp với việc trừ rầy môi giới, nhằm khôi phục quần thể ruộng lúa khi bị nhiễm bệnh đã có hiệu quả rõ rệt dù tỷ lệ bệnh khá cao - Kết hợp sử lý hạt giống kết hợp với phun trừ rầy môi giới cho kết quả cao trong việc hạn chế mật độ rầy nhập cư ban đầu từ đó giảm tỷ lệ bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá trên đồng ruộng - Kết hợp với UBND xã Mỹ Phú (Long An), xã Phú Cần (Trà Vinh), Chi cục BVTV tỉnh Phú Yên và Công ty CP BVTVA Giang xây dựng được 9 mô hình tại 3 tỉnh Long An (1), Trà Vinh (1) và Phú Yên (7) với tổng diện tích 605 ha, các mô hình đều tăng hiệu quả kinh tế 13,2 % trở lên so với ngoài mô hình
--	--	--	--

	Kỳ 6	7/2007-6/2010	- Đã đăng ký được tổng số 41 trình tự gen của RGSV và 12 trình tự gen RRSV trên Genbank - Giai đoạn miễn cảm nhất của cây lúa với cả 2 virus vàng lùn và lùn xoắn lá là 5 ngày sau sạ tiếp theo cây lúa càng già thì mức độ miễn cảm giảm đi, tuy nhiên phải ở giai đoạn 40 ngày sau sạ thì cây lúa mới thực sự an toàn với virus - Tỷ lệ bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá tỷ lệ thuận với năng suất lúa, tuy nhiên ở mức độ tỷ lệ bệnh nhỏ hơn 5% thì không thiệt hại đến năng suất lúa, khi tỷ lệ bệnh trên đồng ruộng lên tới trên 70% thì năng suất thu được 4 xấp xỉ 50% nếu tiến hành chăm sóc giúp quần thể lúa phục hồi quần thể. - Tất cả các biện pháp gieo sạ thưa, né rầy, sử lý hạt giống và chăm sóc hợp lý đều góp phần giảm tỷ lệ bệnh trên đồng ruộng - Thu thập được 35 loài thiên địch của rầy nâu thuộc 14 họ của 5 bộ côn trùng và 1 họ thuộc 1 bộ nấm, trong đó 2 loài thuộc giống Anagrus và loài bộ xít mù xanh (<i>Cyrtorhinus lividipennis</i>), nhện sói vân đỉnh ba (<i>Pardosa pseudoannulata</i>), nhện sói bọc trứng (<i>Pirata subpiraticus</i>), nhện lớn hàm to bụng tròn (<i>Dyschiriognatha tenera</i>), bọ cánh cứng 3 khoang (<i>Ophionea indica</i>) và bọ rùa 8 chấm <i>Harmonia octomacula</i>. Xuất hiện khá phổ biến và góp phần vào hạn chế quần thể rầy nâu - Hai chế phẩm Vertimec 1,8 EC và Abatimec 1,8 có hiệu lực trừ rầy khá ở 7 và 10 ngày sau phun; Thuốc Bassa 50 EC tuy đã được sử dụng trong một thời gian rất dài nhưng hiệu lực trừ rầy vẫn đạt được 81 % sau 7 ngày phun, các thuốc Dantotsu16WSG, Oshin 20WP đạt hiệu quả cao nhất vào 7 ngày sau phun (hiệu lực đạt trên 90%), trong đó thuốc Chess 50 WG có hiệu lực kéo dài đến 14 ngày sau phun vẫn đạt 93,7% - Dựa vào các kết quả nghiên cứu của đề tài và các kết quả nghiên cứu của các nhà khoa học công bố, đã xây dựng được một quy trình quản lý cây trồng theo hướng tổng hợp - Đã tiến hành xây dựng 10 mô hình tại 4 tỉnh với diện tích trên 2300 ha áp dụng quy trình quản lý tổng hợp cây trồng đem lại hiệu quả kinh tế từ 10% trở lên
--	------	---------------	---

II	Kiểm tra định kỳ		
	Lần 1	11/9/2008	+ Điều tra thu thập, lưu giữ các mẫu bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá trên lúa và ký chủ phụ và môi giới truyền bệnh + Phân lập các chủng vi rút gây bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá từ các mẫu lúa bệnh và môi giới khác nhau + Xác định trình tự gen của các vi rút gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá hại lúa tại các tỉnh Miền Trung và ĐBSCL + Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học của vi rút gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá hại lúa + Nghiên cứu xây dựng thư viện C DNA của các gen vi rút gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá + Nghiên cứu xác định loài môi giới (nhóm rầy thân) truyền bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá + Nghiên cứu quan hệ giữa mật độ quần thể rầy nâu và mật độ rầy mang vi rút vàng lùn, lùn xoắn lá ngoài đồng ruộng. + Xác định quan hệ giữa mật độ rầy mang vi rút gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá với tỷ lệ bệnh trên các điều kiện sản xuất : giống, chế độ canh tác khác nhau + Nghiên cứu khả năng gây bệnh các pha phát dục của rầy nâu + Nghiên cứu thời điểm nhập cư của rầy nâu trong ngày và cả vụ trên một ruộng lúa và giữa các vùng. Nhằm dự báo dịch rầy nâu, bệnh vàng lùn , lùn xoắn lá + Nghiên cứu sự khác biệt về sinh trưởng phát triển của cây lúa bị bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá so với cây khỏe + Nghiên cứu giai đoạn miễn cảm của cây lúa với bệnh + Đánh giá tính miễn dịch cá thể và quần thể ruộng lúa khi bị nhiễm bệnh + Nghiên cứu các biện pháp quản lý bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và môi giới truyền bệnh bằng biện pháp canh tác + Nghiên cứu các biện pháp phòng trừ bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và môi giới bằng các chế phẩm sinh học, thảo mộc + Nghiên cứu ứng dụng các sản phẩm hóa học và phương pháp sử dụng thuốc trừ rầy theo phương pháp bón vào đất + Nghiên cứu ứng dụng các loại chế phẩm điều hòa sinh trưởng cây trồng nâng cao tính chống chịu của cây khi bị nhiễm
	Lần 2	18/9/2009	+ Điều tra thu thập, lưu giữ các mẫu bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá trên lúa và ký chủ phụ và môi giới truyền bệnh + Phân lập các chủng vi rút gây bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá từ các mẫu lúa bệnh và môi giới khác nhau + Xác định trình tự gen của các vi rút gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá hại lúa tại các tỉnh Miền Trung và ĐBSCL + Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học của vi rút gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá hại lúa + Nghiên cứu xây dựng thư viện C DNA của các gen vi rút gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá

			+ Nghiên cứu xác định loài môi giới (nhóm rầy thân) truyền bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá + Nghiên cứu quan hệ giữa mật độ quần thể rầy nâu và mật độ rầy mang vi rút vàng lùn, lùn xoắn lá ngoài đồng ruộng. + Xác định quan hệ giữa mật độ rầy mang vi rút gây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá với tỷ lệ bệnh trên các điều kiện sản xuất : giống, chế độ canh tác khác nhau + Nghiên cứu khả năng gây bệnh các pha phát dục của rầy nâu + Nghiên cứu thời điểm nhập cư của rầy nâu trong ngày và cả vụ trên một ruộng lúa và giữa các vùng. Nhằm dự báo dịch rầy nâu, bệnh vàng lùn , lùn xoắn lá + Nghiên cứu sự khác biệt về sinh trưởng phát triển của cây lúa bị bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá so với cây khỏe + Nghiên cứu giai đoạn miễn cảm của cây lúa với bệnh + Đánh giá tính miễn dịch cá thể và quần thể ruộng lúa khi bị nhiễm bệnh + Nghiên cứu các biện pháp quản lý bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và môi giới truyền bệnh bằng biện pháp canh tác + Nghiên cứu các biện pháp phòng trừ bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và môi giới bằng các chế phẩm sinh học, thảo mộc + Nghiên cứu ứng dụng các sản phẩm hóa học và phương pháp sử dụng thuốc trừ rầy theo phương pháp bón vào đất + Nghiên cứu ứng dụng các loại chế phẩm điều hòa sinh trưởng cây trồng nâng cao tính chống chịu của cây khi bị nhiễm
	Lần 3	27/11/2009	+ Quy trình quản lý bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và môi giới truyền bệnh biện pháp quản lý cây trồng tổng hợp (ICM) + Mô hình ICM ứng dụng hệ thống các biện pháp phòng chống môi giới truyền bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá có hiệu quả thân thiện môi trường
III	Nghiệm thu cấp cơ sở		

CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI
(Họ tên, chữ ký)

THỦ TRƯỞNG TỔ CHỨC CHỦ TRÌ
(Họ tên, chữ ký)

VIỆN BẢO VỆ THỰC VẬT

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

Hà nội, ngày 15 tháng 12 năm 2010

**NHẬN XÉT VỀ TỔ CHỨC THỰC HIỆN
ĐỀ TÀI KHCN CẤP NHÀ NƯỚC**

I. Thông tin chung

1. Tên đề tài/dự án: Nghiên cứu đặc sinh học của virus và môi giới truyền bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá; các biện pháp quản lý tổng hợp cây trồng (ICM) trong sản xuất lúa

Mã số đề tài, dự án:

Thuộc:

- Chương trình (tên, mã số chương trình):
- Dự án khoa học và công nghệ (tên dự án)
- Độc lập (tên lĩnh vực KHCN): Nông, lâm, ngư nghiệp

2. Chủ nhiệm đề tài/dự án:

Họ và tên: TS. Nguyễn Như Cường

3. Tên tổ chức chủ trì: Viện Bảo vệ thực vật

4. Tổng kinh phí thực hiện: 3150 Tr.đ

- Trong đó nguồn kinh phí từ ngân sách: 3150 Tr. đ
- Tỷ lệ và kinh phí thu hồi (đối với dự án SXTN): 0

5. Thời gian thực hiện:

- Bắt đầu theo hợp đồng: 8/2007
- Kết thúc theo hợp đồng: 8/2010

- Được điều chỉnh gia hạn: 11/2010

6. Văn bản gia hạn: Số 554/QĐ-BKHCN ngày 13/4/2010

II. Nhận xét về tổ chức thực hiện

1. Nhận xét về tiến độ thực hiện

Đề tài thực hiện đúng với hợp đồng và thuyết minh đã phê duyệt

2. Nhận xét về tình hình sử dụng và hy động nguồn vốn

- Căn cứ theo báo cáo đề nghị quyết toán đề tài đã sử dụng kinh phí đúng mục đích, không vi phạm các nguyên tắc quản lý theo quy định

3. Nhận xét, kết luận chung

- Đề tài đã thực hiện đúng các nội dung theo thuyết minh tổng thể, thuyết minh hàng năm và hợp đồng đã ký kết.
- Các sản phẩm của đề tài đầy đủ và vượt so với hợp đồng
- Chủ trì đề tài và các chủ trì đề tài nhánh phối hợp ăn ý, tổ chức thực hiện khoa học, hợp lý

Trong quá trình thực hiện đề tài đã đạt yêu cầu trong việc tổ chức thực hiện, phối hợp nhịp nhàng giữa các bên liên quan và tuân thủ theo các chế độ tài chính hiện hành

THỦ TRƯỞNG TỔ CHỨC CHỦ TRÌ