

CHƯƠNG VII

VIRUS GÂY BỆNH CÂY

I. LỊCH SỬ NGHIÊN CỨU BỆNH VIRUS HẠI THỰC VẬT

* Sự phát hiện ra virus hại thực vật

A. Mayer (1886) đã phát hiện sự lây lan của bệnh khảm thuốc lá nhưng ông coi đó là một bệnh vi khuẩn. D.Ivanopski (1892) sau khi phát hiện bệnh ông cho rằng đó là một chất độc. Mãi tới M.Bayerinck (1898) mới xác định virus là một nguyên nhân gây bệnh mới nhỏ bé hơn vi khuẩn. Các công trình của A.Mayer, D.Ivanopski, M.Bayerinck và sau này là của Loeffler, Frosch, 1898 đã mở đầu cho môn virus học ở thực vật và sau này là cả môn virus học ở động vật và người phát triển và trở thành một ngành khoa học lớn hiện nay trong sinh học hiện đại của thế giới. Các công trình nghiên cứu virus tiếp sau đã dần xác định chính xác các virus hại thực vật.

Virus (TMV) lần đầu đã được quan sát thấy vào năm 1931 – 1939 trên kính hiển vi điện tử đầu tiên. Từ đó việc nghiên cứu hình thái học virus đã được phát triển nhanh chóng người ta phát hiện ra hình thái nhiều virus.

Phương pháp huyết thanh được sử dụng trong những năm 30 đã tạo chuyển biến lớn trong nghiên cứu virus. Tuy vậy, sau nhiều năm sử dụng các phương pháp quan sát huyết thanh thông thường không có hiệu quả cao, phương pháp Latex cũng không khắc phục được. Năm 1977, Clark và Adams lần đầu tiên đã phát triển phương pháp ELISA để chẩn đoán các cây bệnh virus – phương pháp này đã thu được kết quả rất khả quan. Đến năm 1982 người ta đã sử dụng phương pháp DNA probe và phương pháp PCR (Polymeraza chain reaction). Phương pháp này giúp việc chẩn đoán virus thực vật chính xác và nhanh chóng trong trường hợp cây chỉ có triệu chứng bệnh rất nhẹ hay bệnh hoàn toàn ở dạng ẩn cũng có thể phát hiện được. Các tiến bộ trên đây cũng đã được ứng dụng nghiên cứu tạo cây sạch, tạo giống chống bệnh.

Người ta sử dụng gen hoá mã vỏ protein của virus để gây miễn dịch và phương pháp Cross protection (bảo vệ chéo) đã được ứng dụng có hiệu quả. Ngày nay, với các đóng góp của Frankin, M.V.H. Van Regenmortel, C.M. Fauquet, D.H.L. Bishop và nhiều tác giả trong việc phân loại virus và nhiều nhà khoa học nghiên cứu sinh lý, sinh hoá, hình thái, sinh thái học, môn virus học đã trở thành môn khoa học hiện đại và phát triển, tìm ra nhiều quy luật về sinh học mới.

II. NHỮNG THIẾT HẠI CỦA BỆNH VIRUS Ở THỰC VẬT.

2.1. Những thiệt hại chung của bệnh virus thực vật

Bệnh virus thực vật gây thiệt hại lớn nhất không phải là cho cây trồng bị chết nhanh

chóng mà chính là chúng làm cho cây bị thoái hoá, giảm sức sống, dần tàn lụi. Ở cây lâu năm một số virus sau khi gây bệnh nặng trong mùa khi có thời tiết và nhiệt độ ôn hoà, nhưng khi nhiệt độ thấp hay quá cao thường gây nên hiện tượng mất triệu chứng (latent periode) làm cho người sản xuất bị nhầm lẫn, không phát hiện được cây bị bệnh và mức nguy hiểm của bệnh, chỉ đến lúc nào đó cây không còn khả năng phục hồi theo chu kỳ bệnh nữa, cây hoàn toàn tàn lụi, khi đó mới biết thì đã quá muộn.

Virus cũng có thể gây nên những thiệt hại nặng nề và nhanh chóng ngay trong vụ trồng của các cây thường năm như virus gây bệnh lúa vàng lụi bệnh vàng lá lúa, bệnh xoắn lá cà chua, bệnh virus khoai tây, bệnh khảm sọc lá hành tây. Bệnh virus hại lúa, virus hại sắn đã từng huỷ diệt hàng chục vạn ha ở châu Á và châu Phi trong một thời gian ngắn chưa tới 30 ngày từ một cánh đồng xanh tươi trở thành vàng úa, chết lụi.

Thiệt hại quan trọng thứ hai của virus là ảnh hưởng của bệnh tới phẩm chất của các sản phẩm nông nghiệp: hạt lúa bị bệnh vàng lụi thường bị lép không cho thu hoạch, trong trường hợp được thu hoạch hạt thường rất nhỏ và hạt gạo bị đen, khi ăn có vị đắng. Khoai tây bị virus gây hại làm cho cây cần cỗi, lá khảm loang lổ, củ khoai nhỏ, hàm lượng tinh bột và các chất dinh dưỡng đều thấp. Có trường hợp bệnh do một chủng đặc biệt của virus làm vỏ quả, củ có vết loét, bắn giảm giá trị thương phẩm, như khi khoai tây bị nhiễm một chủng virus Y. Ở cà chua bị xoắn lá quả bé, mủi khô và hoa rụng; năng suất và phẩm chất đều rất thấp.

Virus Tristeza hại ở cây cam ngọt rất nặng trên vùng bờ biển Địa trung Hải, Trung Mỹ, Đông Nam Á... làm cho quả cam chín ép và rụng sớm, quả còn non đã úa vàng vỏ, nước cam nhạt không mùi, vị.

Bệnh virus còn nguy hiểm ở chỗ: virus ký sinh bắt buộc trong tế bào cây ký chủ vì vậy khi tế bào bị huỷ hoại, chết, virus mới bị mất hoạt tính. Khi tế bào non phát triển mạnh, virus cũng phát triển mạnh, tạo ra những triệu chứng rất điển hình trên cây non hay bộ phận non của một cây. Chính vì vậy khi nhân giống vô tính bằng invitro, virus có khả năng lây lan rất lớn trong việc phát triển công nghệ sinh học và các vùng trồng trọt công nghệ cao.

Đối với những cây trồng nhân giống vô tính như cam, quýt, khoai tây, khoai lang, sắn nhân bằng nuôi cấy mô, chiết, ghép... virus là nguy cơ huỷ diệt rất lớn đối với nhiều loài cây trồng. Chúng khó phát hiện và khó loại trừ. Chính vì vậy, chúng trở thành một kẻ thù nguy hiểm của công nghệ sinh học. Ở các nước phát triển, việc tiêu diệt bệnh hại, loại trừ bệnh hại, tạo cây sạch và cây chống chịu virus, phytoplasma, viroide... là một công việc quan trọng trong sản xuất nông nghiệp.

2.2. Thiệt hại của bệnh virus ở Việt Nam.

Việt Nam là một đất nước có chiều dài gần 2000 km, khí hậu nhiệt đới gió mùa. Trong năm có một mùa đông lạnh ở phía bắc. Chính vì vậy, cây trồng và thảm thực vật Việt Nam bốn mùa xanh tươi. Đây là điều kiện để bệnh virus ở Việt Nam rất phong phú về

số lượng và chủng loại. Bệnh đã gây ra rất nhiều thiệt hại nặng nề cho sản xuất.

Ví dụ: bệnh vàng lùn đã tàn phá hàng trăm ngàn ha lúa ở miền núi, trung du và đồng bằng hai miền Bắc, Nam.

Bệnh vàng lá cam, quýt đã huỷ diệt nhiều vườn cam, nhiều vườn khác ở trong tình trạng thoái hoá, giảm năng suất nghiêm trọng. Các cây bông, hồ tiêu, ca cao... đều bị bệnh gây hại. Cây họ cà như thuốc lá, cà chua, khoai tây, các loại rau bầu, bí, các cây họ đậu: đậu tương, đậu xanh, đậu đen... các cây ăn quả như chuối, dứa, đu đủ.. đều mắc bệnh.

Ngoài cây lương thực, cây công nghiệp, cây ăn quả.v.v. virus còn hại các loại cây thuốc, cây hoa, cây cảnh... có thể nói rằng virus là một loại bệnh nguy hiểm, phá hoại hầu hết các loại cây trồng. Bệnh gây nên sự thoái hoá dẫn đến tàn lụi cây trồng, thậm chí có thể huỷ diệt nhanh chóng những diện tích lớn trong sản xuất trồng trọt.

Bệnh không những làm giảm năng suất cây trồng mà còn làm giảm phẩm cấp của sản phẩm. Vì vậy đây là một loại bệnh gây hại toàn diện và rất nguy hiểm cho ngành trồng trọt ở nước ta cũng như trên thế giới.

III. ĐẶC TÍNH CHUNG CỦA VIRUS HẠI THỰC VẬT.

3.1. Virus hại thực vật là những nucleoprotein rất nhỏ bé

Những virus dạng cầu nhóm Luteo virus kích thước chỉ từ 23- 24nm.

Những virus dạng cầu nhóm Ilavirus có kích thước biến động từ 26 - 35 nm. Hơn mười nhóm virus khác cũng có kích thước biến động trong khoảng 29nm, 30 - 34nm. Virus lớn nhất dạng cầu là Tomato spotted wilt cũng chỉ có đường kính 80nm. Nhóm Rhabdoviridae là virus dạng vi khuẩn to nhất (135 - 380 x 45 - 95nm). Virus dài nhất là các virus dạng sợi nhóm Closterovirus dài 2000 x 12nm.

Chúng nhỏ bé như vậy nên việc tìm kiếm phát hiện chúng đòi hỏi phải có những phương pháp đặc biệt.

3.2. Virus ký sinh ở mức độ tế bào và chúng có khả năng nhân lên trong tế bào

Người ta phát hiện thấy virus nhiễm ở các cơ thể nhỏ bé như mycoplasma, vi khuẩn, nấm cho tới các thực vật thượng đẳng, người, động vật ...

Theo các tài liệu, hiện nay người ta đã biết tới 2000 loài virus gây bệnh cho các sinh vật trong đó có 1/2 (khoảng hơn 1000 loài) là các virus hại thực vật chưa kể đến các chủng loại của chúng.

3.3. Virus có cấu tạo rất đơn giản, chúng có 2 thành phần chính là protein và axit nucleic.

Lõi axit nucleic ở bên trong được bao bằng một lớp vỏ protein (capside). Thường axit nucleic của virus gây bệnh cây hầu hết là các virus có genom là ARN chuỗi đơn (+), chỉ có một số ít genom ARN là mạch kép và có rất ít. Khoảng hơn 25 loài là virus có lõi ADN mạch kép. Virus gây bệnh cây thường chỉ có 1 loại protein.

3.4. Virus có khả năng hoạt động chống chịu với các điều kiện ngoại cảnh: xác định khả năng chống chịu này bằng 3 chỉ tiêu: thời gian tồn tại ở dạng dịch, ngưỡng pha loãng và nhiệt độ làm mất hoạt tính (Q_{10}).

3.5. Virus còn có khả năng biến dị: virus dễ dàng tạo thành chủng (strain) mới khi cây ký chủ và môi trường sống thay đổi và virus có thể mất hoạt tính (nói cách khác là virus “chết”...).

Virus có nhiều đặc tính khác, với các nguyên nhân gây bệnh khác không phải chỉ do chúng nhỏ bé mà do cấu trúc vật lý, cấu tạo hoá học, cách xâm nhiễm, sinh sản và di chuyển trong tế bào cây ký chủ, triệu chứng tạo thành trên cây ký chủ cũng rất khác biệt. Tuy nhiên, cho tới nay đã trải qua hàng trăm năm khi virus được phát hiện trên thế giới cho tới nay các nhà virus học vẫn chưa đi đến một kết luận chính xác: virus có phải là một sinh vật theo đúng nghĩa của nó hay không? Bên cạnh những đặc điểm giống như một sinh vật như đặc điểm xâm nhiễm và gây bệnh, sự di truyền và biến dị, có bị mất hoạt tính (chết). Virus lại có thể tách ARN và protein riêng, rồi ghép genom (ARN) của nó với một vỏ protein khác, virus lại trở lại hoạt động bình thường. Virus còn có thể tạo thành dạng kết tinh trong tế bào cây. Những đặc điểm này hoàn toàn không phải là đặc điểm của một cơ thể sống. Tuy nhiên, cho đến nay virus vẫn được xếp vào nhóm các vi sinh vật gây bệnh cho cây, cho người và cho gia súc, vì chúng có khá nhiều đặc điểm giống một sinh vật nhỏ bé, sự phân loại này chỉ mang tính tương đối.

IV. TRIỆU CHỨNG BỆNH VIRUS HẠI THỰC VẬT

Việc phân loại triệu chứng bệnh virus hại thực vật có ý nghĩa quan trọng trong chẩn đoán, phòng trừ và nghiên cứu bệnh hại. Tuy nhiên, sự phân loại bệnh chỉ có tính chất tương đối vì diễn biến triệu chứng bệnh rất phức tạp và cách phân loại còn tùy thuộc vào quan điểm của mỗi tác giả khác nhau.

Qua nghiên cứu bệnh virus thực vật, nhiều tác giả đã chia bệnh thành các nhóm sau:

4.1. Khảm lá:

Bệnh virus thường xâm nhiễm vào lá cây gây ra hiện tượng khảm lá, loang lổ, chỗ xanh đậm, chỗ xanh nhạt, chỗ biến vàng. đây là triệu chứng phổ biến nhất với hầu hết các bệnh virus hại cây. Có thể nêu ví dụ một số bệnh sau: virus khảm thuốc lá, khảm lá ớt, khảm lá dưa chuột, khảm lá đậu, khảm lá khoai tây.

a) Khảm đốm chết có hình nhân

Như bệnh đốm hình nhân ở cây đu đủ, cây mận, cây thuốc lá, cây hoa cẩm chướng...

b) Hiện tượng gân lá chết, sáng gân, biến dạng,...

Virus khảm lá khoai tây (dạng khảm nhân) tạo ra chết gân ở cây khoai tây, gân lá trong ở cây thuốc lá (biến dạng gân do virus quần lá gây ra)...

c) Hiện tượng khảm lá, lùn cây

Khảm lá kèm theo cây lùn cũng là một dạng bệnh rất phổ biến ở cây bệnh virus: như

bệnh khảm lùn cây ngô, bệnh vàng lùn cây lúa, xoắn lùn cây bông,...

4.2. Biến dạng: như xoắn lá cà chua, cuốn lá khoai tây, xoắn lá hồ tiêu, xoắn lá ớt, khảm nhân lá khoai tây,...Ngoài biến dạng lá còn hiện tượng biến dạng củ quả. Như bệnh đốm héo cà chua, bệnh vàng lùn khoai tây, bệnh virus ở táo, nho, mận cũng gây biến dạng quả.

4.3. Biến màu: như biến vàng ở lúa, vàng lá cây cam, vàng lá cây đậu,...

4.4. Hiện tượng tàn lụi: cây còi cọc, lùn, mọc từng bụi như bệnh lùn bụi ở cây lạc, bệnh lúa cỏ, bệnh Tristeza cam, bệnh chùm ngọn chuối.

4.5. Gây vết chết ở thân cây: Bệnh vàng lá cam, gây ra vết lõm ở thân cây cam chanh và virus sùng cành táo.

Cách chia nhóm được trình bày trên có ý nghĩa để nhận biết bệnh nhanh thông qua việc quan sát thực tế. Một số tác giả đã chia triệu chứng bệnh thành các nhóm: Nhóm bệnh nhiễm hệ thống (nhiễm toàn cây) và nhóm bệnh nhiễm bộ phận (gây vết chết cục bộ). Cách chia nhóm này giúp cho việc chẩn đoán bệnh hại sơ bộ lúc đầu. Tuy nhiên, trong trường hợp nào đó có virus vừa gây các vết chết vừa nhiễm hệ thống. Việc phân nhóm vẫn chỉ có tính chất tương đối. Tuy nhiên, đây là cách chia nhóm có giá trị cao hơn cách chia nhóm theo triệu chứng đơn thuần.

4.6. Tính chống chịu của virus thực vật

Virus là một ký sinh rất nhỏ bé, ký sinh tuyệt đối trong tế bào thực vật. Trong trường hợp virus bị tách ra khỏi tế bào, nằm trong dịch cây, chúng sẽ rất khó tồn tại. Nghiên cứu vấn đề này có ý nghĩa quan trọng vì nhóm virus truyền cơ học muốn truyền bệnh phải sống một thời gian trong dịch cây mới có thể truyền đến một tế bào sống khác của thực vật. Nhiều tác giả đã đi đến nhận xét: các yếu tố - sự kéo dài đời sống của virus trong một dịch cây bị ôxi hoá do môi trường, tác động của các mức nhiệt độ cao, thấp khác nhau, khả năng dịch chứa virus bị pha loãng do mưa, môi trường,... có ảnh hưởng rất rõ rệt đến việc bảo tồn sức lây bệnh của virus qua một ký chủ mới.

Với nhận xét trên các nhà virus học đã khảo sát khả năng chống chịu của virus với môi trường bằng 3 thí nghiệm đơn giản:

+ Thời gian tồn tại của virus trong dạng dịch: “lấy 10 hay 20 ống nghiệm đã khử trùng có nút kín, để ở điều kiện nhiệt độ trong phòng thí nghiệm và quy định thời gian lấy từng ống nghiệm ra lây bệnh cho cây khoẻ. Thời gian nào kéo dài nhất mà dịch cây vẫn còn khả năng lây nhiễm bệnh người gọi là “thời gian tồn tại trong dạng dịch của virus”.

Ví dụ: - Virus Y khoai tây (PVY): 15 phút - 1 giờ

- Virus khảm lá mía (SCMV): 1 ngày

- Virus khảm thuốc lá (TMV): 1 tháng

- Virus X khoai tây (PVX): 1 tháng

+ Ngưỡng pha loãng: cũng bố trí thí nghiệm tương tự và lây bệnh cho cây khỏe ở các mức pha loãng: 1 giữ nguyên dịch chiết từ lá cây nhiễm virus, pha loãng 1/2, 1/4,...1/8...1/16...1/32...1/64...1/128... ngưỡng pha loãng sẽ là mức pha loãng cao nhất mà ở đó dịch cây chứa virus còn giữ được khả năng lây bệnh. Sau mức pha đó virus không lây bệnh được nữa.

Ví dụ: - Virus Y khoai tây (PVY) là 10^{-2}

- Virus X khoai tây (PVX) là 10^{-5}

- Virus khảm thuốc lá (TMV) là 10^{-6}

+ Nhiệt độ làm mất hoạt tính (Q_{10}): là nhiệt độ trong bình đun cách thủy (cố định nhiệt trong 10 phút) mà ở nhiệt độ đó virus bắt đầu mất hoàn toàn khả năng lây bệnh.

Ví dụ: - virus Y khoai tây (PVY) $Q_{10} = 52^{\circ}\text{C}$

Virus X khoai tây (PVX) $Q_{10} = 72^{\circ}\text{C}$

- Virus khảm thuốc lá (TMV) $Q_{10} = 93^{\circ}\text{C} - 96^{\circ}\text{C}$ tùy theo chủng

Tùy theo chủng virus mà Q_{10} có thể dao động 1 vài độ. Ví dụ virus TMV có thể có chủng có Q_{10} biến động từ $93^{\circ}\text{C} - 96^{\circ}\text{C}$.

V. HÌNH THÁI VÀ CẤU TẠO CỦA VIRUS THỰC VẬT

5.1. Hình thái

Virus thực vật và virus hại sinh vật nói chung có hình dạng và kích thước rất đa dạng. Chúng có thể có dạng hình gậy ngắn, hình gậy dài, hình cầu, hình khối đa diện, hình sợi ngắn, sợi dài, hình vi khuẩn và nhiều dạng khác.

a) Nhóm virus hình gậy

- Virus khảm thuốc lá (TMV) kích thước $15 \times 300\text{nm}$
- Virus khảm lá đậu hà lan kích thước $46 - 200 \times 22\text{nm}$
- Virus khảm sọc lá lúa mạch kích thước $100 - 150 \times 20\text{nm}$

b) Nhóm các virus có hình sợi mềm

- Virus X khoai tây (PVX) kích thước $480 - 580 \times 13\text{nm}$ (sợi ngắn)
- Virus A khoai tây (PVA) kích thước $680 - 900 \times 13\text{nm}$ (sợi dài trung bình)
- Virus Tristeza hại cam, chanh và virus biến vàng củ cải đường có kích thước từ $800 - 2000 \times 12\text{nm}$. (sợi dài nhất)

Thuộc nhóm Potex virus (d), Poty virus (e), Closterovirus (f).

c) Nhóm virus có cấu tạo đối xứng dạng hình cầu

- Virus đốm chết lá thuốc lá dạng cầu, đường kính 30nm
- Virus khảm lá dưa chuột dạng cầu, đường kính 29nm

- Virus khảm lá súp lơ dạng cầu, đường kính 50 nm

Thuộc nhóm Tymovirus (g), Cucumovirus (h), Caulimovirus (i).

d) Nhóm virus có cấu tạo đối xứng hình vi khuẩn

- Virus đốm chết vàng rau diếp, kích thước 300 x 52nm

Nhóm Alfamosaic virus 28 – 58 x 18nm

Thuộc nhóm Rhodovirus (k).

e) Các nhóm virus có hình dạng khác: đó là nhóm Gemini virus và Tenuivirus.

5.2. Cấu tạo

a) Cấu tạo

Bình thường mỗi một virus đều được cấu tạo từ protein và axit nucleic, một số virus đặc biệt còn chứa cả polyamin, lipid hoặc men đặc hiệu (như thực thể khuẩn Bacteriophage).

Tỷ lệ axit nucleic và protein thay đổi với mỗi loại virus khác nhau. Axit nucleic thường chiếm từ 5 - 40%, còn protein nhiều hơn thường chiếm từ 60 - 95%, lượng axit nucleic thấp và protein cao có thể thấy ở các virus có hình sợi dài trái lại lượng axit nucleic cao và protein thấp có thể thấy ở các virus có dạng hình cầu.

Trọng lượng toàn cơ thể của virus cũng rất khác nhau, từ 4,6 triệu đơn vị trọng lượng phân tử ở virus khảm lá cỏ Bromo, 39 triệu ở virus khảm lá thuốc lá và 73 triệu ở bệnh virus giòn thân thuốc lá,...

b) Protein của virus thực vật

Cũng được tạo thành từ nhiều axit amin như alalin, acginin, sistein, glixin, lizin, leusin, fenilalamin, treonin, prolin, triptophan, tirozin, valin, axit asparagimic, axit alutamic,...

Các axit nucleic của virus: ARN hay ADN quyết định bản chất protein của chúng (thành phần cấu tạo, sự sắp xếp,...).

Ví dụ: virus khảm thuốc lá (TMV) là virus có dạng hình trụ ngắn (hình gậy ngắn) kích thước đo được 300 x 15nm. Các phân tử protein được sắp xếp theo hình xoắn (lò xo) bao quanh, một chuỗi các axit nucleic (ARN). Ở giữa hình trụ có một lõi rỗng. Các phân tử protein cũng sắp xếp dạng xoắn bao quanh gọi là vỏ (capside) của virus. Lớp vỏ của virus khảm thuốc lá có 161/3 đơn vị phân tử protein cho một vòng xoắn, và virus có 130 vòng xoắn.

Ở các virus hình sợi xoắn mềm như nhóm Potex virus, nhóm Potyvirus, nhóm Closterovirus,... sự sắp xếp của lõi axit nucleic (ARN) và vỏ protein cũng tương tự ở virus khảm thuốc lá.

Ở các virus hình cầu như nhóm Luteo virus, nhóm Cucumo virus,...các phân tử protein và axit nucleic sắp xếp đối xứng qua tâm của hình cầu giống như một khối đa diện.

Các virus có dạng hình vi khuẩn, như virus thuộc họ Rhaboviridae và Caulimoviridae là những virus có cấu tạo đối xứng qua trục xuyên tâm. Đối với một số virus ADN thuộc họ Caulimoviridae protein được xếp vòng quanh, còn các sợi ADN nằm thành từng vòng khép kín ở giữa (hình dạng các virus được mô tả trên hình).

c) Axit nucleic của virus thực vật

Phần lớn các virus thực vật có cấu tạo genom là ARN chuỗi (+) và vỏ bọc ngoài là protein. Một số ít có ARN chuỗi kép, khoảng 25 virus thực vật chứa lõi ADN chuỗi kép, ngược lại ở virus động vật thì phần lớn là virus có genom là ADN.

Cả ARN và ADN đều là những chuỗi phân tử dài, chứa hàng trăm hay nhiều hơn là hàng ngàn các đơn vị nhỏ được gọi là nucleotit.

Chuỗi polynucleotit này có phân tử lượng là $2,5.10^6$ (ở virus khảm lá thuốc lá).

d) Thể kết tinh của virus

Một số virus trong điều kiện nhất định của môi trường có thể tạo thành tinh thể. Năm 1935, W. M. Stanley đã tách được tinh thể của virus khảm thuốc lá (TMV). Virus chỉ tạo thành tinh thể khi chúng ở trạng thái tĩnh (virion). Một số virus tạo thể kết tinh khi ta xử lý amoniusunphat.

Ngày nay, người ta có thể tạo ra tinh thể virus ngay trong ống nghiệm vì bản chất của hiện tượng này là do tác dụng của các lực nối kết giữa các phân tử và phụ thuộc cấu tạo lý hoá bề mặt của các vật thể nhỏ bé không phân biệt là sinh vật hay phi sinh vật. Trong thí nghiệm y học người ta đã làm kết tinh virus gây bệnh bại liệt khi tạo ra điểm đẳng điện trong ống nghiệm. Tinh thể của virus thực vật được quan sát thấy rất rõ dưới kính hiển vi quang học thông thường nhất là các virus thuộc nhóm Tabamo virus hay Poty virus,... Tuy nhiên, sự xuất hiện của chúng phụ thuộc vào tình trạng của cây lúc lấy mẫu và điều kiện môi trường.

e) Chức năng axit nucleic và protein: trong cấu tạo cơ thể virus thực vật có những chức năng khác nhau: axit nucleic giữ vai trò quyết định tính di truyền xâm nhiễm và lây bệnh của virus thực vật, protein có tác dụng bảo vệ, bám giữ và có vai trò quan trọng trong khi virus truyền bệnh qua môi giới truyền bệnh.

VI. SỰ XÂM NHIỄM VÀ TỔNG HỢP VIRUS MỚI.

6.1. Sự xâm nhiễm của virus

Virus xâm nhập vào tế bào qua các vết thương nhẹ do sâu sát và nhờ sự tiếp xúc của giọt dịch chứa virus hoặc do cọ sát tiếp xúc giữa lá cây bệnh, cây khoẻ mà virus xâm nhập vào tế bào. Virus còn có thể truyền bệnh trong trường hợp một hạt phấn hoa bị nhiễm virus được rơi vào một nõn thực vật. Trong mô cây đã bị nhiễm bệnh virus di chuyển trong tế

bào chất của tế bào và có thể đi sang các tế bào khác thông qua các sợi liên bào hay các vết thương mở ra ở vách tế bào.

6.2. Sự tái sinh virus

a) Khái niệm

Sự tái sinh (replication) hay sinh sản là sự hình thành phân tử virus mới từ phân tử virus ban đầu.

Sau khi xâm nhập vào tế bào ký chủ, sự tái sinh virus trải qua 4 giai đoạn:

1. Tháo vỏ để giải phóng bộ gen virus
2. Tổng hợp protein virus
3. Tổng hợp bộ gen virus mới
4. Lắp ráp phân tử virus

b) Đặc điểm chung

Sự tái sinh virus, mặc dù khác nhau tùy nhóm, nhưng đều có đặc điểm chung sau

1. Virus sử dụng vật liệu của tế bào ký chủ (amino acid, nucleotide) để tổng hợp protein và acid nucleic của chính virus.

2. Virus sử dụng năng lượng của tế bào ký chủ (chủ yếu dưới dạng các hợp chất cao năng như ATP) để tổng hợp protein và acid nucleic của chính virus.

3. Virus sử dụng bộ máy tổng hợp protein của tế bào ký chủ (ribosome, tRNA và các enzyme liên quan) để tổng hợp protein của virus. Quá trình tổng hợp sẽ dựa trên khuôn mRNA của virus. Tất cả virus thực vật sử dụng ribosome 80 S của tế bào ký chủ.

4. Hầu hết các virus thực vật tổng hợp 1 hoặc 1 số enzyme cần thiết cho quá trình tổng hợp bộ gen virus. Ví dụ:

a. Tất cả các virus RNA mã hóa RdRp (RNA-dependent RNA polymerase). RdRp là một enzyme polymer hóa và có chức năng tổng hợp RNA trên khuôn RNA.

b. Các geminivirus (có bộ gen DNA sợi vòng đơn) mã hóa Rep (replication) protein. Rep không phải là một enzyme có chức năng polyme hóa nhưng có chức năng cắt và nối các phân tử DNA virus trong quá trình tổng hợp sợi DNA virus.

Tóm lại, sự tái sinh virus phụ thuộc hoàn toàn vào bộ máy tổng hợp protein và acid nucleic của tế bào ký chủ. Sở dĩ như vậy là do virus nói chung và virus thực vật nói riêng chỉ mã hóa một số ít gen; ví dụ các begomovirus chỉ mã hóa 5 - 8 gen, các potyvirus chỉ mã hóa 10 gen.

Do phải dựa hoàn toàn vào vật chất của tế bào thực vật để sinh sản, các virus đã phát triển mạnh trên cây non và tế bào non trong một cây. Ở các cây già cỗi, quá trình này sẽ chậm lại hay hầu như ngừng hẳn. Chính vì vậy, tuổi cây non và phần non của cây là nơi virus sinh sản rất mạnh. Các điều kiện ngoại cảnh như: nhiệt độ quá cao, thấp, độ pH của

môi trường, ánh sáng, chế độ dinh dưỡng, chăm sóc. Một chất được nhiều nhà khoa học xác nhận có bản chất protein tên là interferon có thể sản sinh ra ở tế bào ký chủ khi virus xâm nhập. Với nồng độ thấp khoảng một phần triệu gram đã có khả năng ức chế sinh sản của virus. Chính vì những lý do trên bệnh virus không gây được tác hại huỷ diệt ngay mà thường gây thoái hoá. Sự huỷ diệt chỉ xảy ra khi điều kiện môi trường và cây bệnh thuận lợi cho virus sinh sản và lây nhiễm, như trong các trận dịch của bệnh lúa vàng lụi ở nước ta những năm 1960.

6.3. Sự di chuyển của virus trong tế bào cây.

Virus xâm nhập vào tế bào cây, chúng di chuyển theo dòng tế bào chất hoặc có trường hợp virus di chuyển theo các dòng nhựa nguyên và dòng nhựa luyện của cây, lẫn vào sự di chuyển của các chất dinh dưỡng, nước hay muối khoáng của mạch dẫn thực vật. Virus di chuyển từ tế bào này qua tế bào khác qua các cầu nối nguyên sinh một cách chậm chạp.

Quan sát một virus khoai tây xâm nhập vào ngọn một lá ký chủ ở dưới thấp của cây khoai tây non, G. Samuel đã ghi nhận: sau 3 ngày virus mới nhiễm hết một lá đơn, sau 4 ngày mới nhiễm hết đoạn gân của lá kép và một phần đoạn thân sát gốc, sau 5 ngày mới nhiễm hết dọc theo gân chính và một lá ngọn (các lá khác chưa hề nhiễm virus). Sau 10 ngày mới nhiễm hết 2 lá ngọn, 1 thân chính và lá kép nơi virus lây nhiễm vào đầu tiên... tới 25 ngày sau virus mới nhiễm trên toàn cây khoai tây bị lây nhiễm.

Sự dịch chuyển của virus trong toàn cây tạo thành một cây bệnh nhiễm hệ thống với các triệu chứng toàn cây như khảm lá, xoắn lá, lùn cây, lùn bụi... Có trường hợp virus cho lây nhiễm cục bộ trên lá, tạo vết chết, không lây lan toàn cây thường gọi là cây nhiễm bệnh cục bộ: đó là dạng vết chết hoại trên cây thuốc lá đại, cây cà độc dược, cây cúc bách nhật... khi nhiễm các virus TMV, PVX...

VII. PHÂN LOẠI VIRUS THỰC VẬT

Việc phân loại virus gây bệnh được chẩn đoán theo Ủy ban quốc tế về phân loại virus (International committee on taxonomy of viruses – gọi tắt là ICTV) dựa vào đặc điểm cấu tạo, hình thái của virus cũng như mối quan hệ huyết thanh và các đặc tính khác như đặc điểm truyền lan, lây nhiễm, phạm vi ký chủ đặc biệt là các đặc điểm di truyền ARN và ADN. Tên gọi của virus hại thực vật quy định dùng tiếng Anh bao gồm tên của cây ký chủ chính, triệu chứng bệnh trên cây ký chủ đó và cuối cùng là từ virus. Ví dụ: virus gây bệnh khảm thuốc lá - Tobacco mosaic virus - viết tắt là TMV.

Theo Agrios G.N, 1997 trong hệ thống phân loại tất cả các loài virus thực vật thuộc ngành virus (Kingdom: viruses). Trong ngành tùy theo cấu tạo của axit nucleic chúng được chia làm 2 nhóm ARN virus và ADN virus dựa vào axit nucleic của virus là ADN hoặc ARN. Chúng tôi sử dụng bảng phân loại theo Claude Fauquet (2001).

A/ Nhóm ARN virus

a) Các virus có ARN sợi đơn dương (ss ARN +)

+ ARN virus dạng hình gậy: gồm 32 loài

- 1 ssARN (+)

Giống Tobamovirus Ví dụ: Tobacco mosaic virus (virus khảm thuốc lá)

- 2ssARNs

Giống Tobravirus Ví dụ: Tobacco rattle virus

- 2-4 ssARNs: virus hình gậy truyền qua nấm

Giống Furovirus. Ví dụ: Soil-borne wheat mosaic virus (virus khảm lá lúa mì có nguồn gốc từ đất).

- 3ss ARNsS

Giống Hordeivirus. Ví dụ: Barley stripe mosaic virus (virus khảm sọc nhỏ lúa đại mạch)

+ ARN virus dạng sợi mềm: 280 loài

- 1ssARN

Carlavirus Ví dụ: Carnation latent virus (virus ẩn hoa cẩm chướng)

Trichovirus Ví dụ: Apple chlorotic leafspot virus (virus đốm vàng lá táo)

Potexvirus Ví dụ: Potato virus X (virus khảm lá khoai tây)

Họ Potyviridae

- 1ssARN virus hình sợi mềm dài

Giống Closterovirus: Ví dụ: Beet yellows virus (virus vàng lá củ cải đường)

+ARN virus dạng hình cầu: 165 loài

- 1ssARN (+)

Họ: Sequiviridae

Waikavirus. Ví dụ: Rice tungro spherical virus (virus tungro dạng cầu hại lúa)

Họ: Tombusviridae

Giống: Tombusvirus Ví dụ: Tomato bushy stunt virus (virus chùn ngọn tàn lụi cà chua)

Giống Carmovirus Ví dụ: Carnation mottle virus (virus đốm lá cẩm chướng)

Giống Machlomovirus Ví dụ: Maize chlorotic mottle virus (virus đốm vàng ngô)

Giống Necrovirus Ví dụ: Tobacco necrosis virus (bệnh đốm chết thuốc lá)

Giống Luteovirus Ví dụ: Barley yellow dwarf virus (virus vàng lùn)

Giống Sobemovirus Ví dụ: Southern bean mosaic virus (virus khảm lá đậu)

Giống Tymovirus Ví dụ: Turnip yellow mosaic virus (virus khảm vàng cây củ cải)

- 2ssARN (+)

Họ: Comoviridae

Giống: Comovirus Ví dụ: Cowpea mosaic virus (virus khảm lá cây đậu đũa)

Nepovirus Ví dụ: Tobacco ringspot virus (virus đốm hình nhẫn thuốc lá)

- 3ssARN (+)

Họ: Bromoviridae

Giống: Ilavirus Ví dụ: Tobacco streak virus (virus sọc lớn thuốc lá)

Cucumovirus Ví dụ: Cucumber mosaic virus (virus khảm lá dưa chuột)

Alfamovirus Ví dụ: Alfalfa mosaic virus (virus khảm lá cỏ đinh lăng)

+Các virus có ARN sợi đơn âm (- ssARN): gồm 90 loài

- 1(-) ssARN

Họ: Rhadoviridae

Nucleorhadovirus Ví dụ: Potato yellow dwarf virus (virus vàng lùn khoai tây)

- 3 (-) ssARNs

Họ: Bunyaviridae

Giống: Tospovirus Ví dụ: Tomato spotted wilt virus (virus đốm héo cà chua)

- 4 (-) ssARNs

Giống: Tenuivirus Ví dụ: Rice stripe virus (virus sọc nhỏ lá lúa)

b) ARN sợi kép (ds ARN)

+ **Virus hình cầu:** 40 loài

2dsARN

Họ: Reoviridae

Giống: Fijivirus Ví dụ: Rice Fiji disease virus (virus bệnh Fiji lúa)

Oryzavirus Ví dụ: Rice ragged stunt virus (virus xoắn ngọn lá lúa)

B/ Nhóm ADN virus

a) ADN sợi kép (ds ADN): 21 loài

+ **ds ADN virus hình cầu:** Giống Caulimovirus

Ví dụ: Cauliflower mosaic virus (virus khảm súp lơ)

+ Virus hình vi khuẩn không có vỏ bọc: Giống Badnavirus

Ví dụ: Rice tungro baciliform virus (virus tungro dạng vi khuẩn hại lúa)

b) ADN sợi đơn (ss ADN): 55 loài

+ Virus hình chày

Gây hại cây một lá mầm, lan truyền qua rầy

Họ Geminiviridae

Giống Geminivirus

Ví dụ: Maize streak virus (virus sọc lá lớn ngô)

Gây hại cây hai lá mầm, lan truyền qua bộ phận.

Ví dụ: Bean golden mosaic virus (virus khảm vàng cây đậu).

+ Virus hình cầu đơn

Ví dụ: Banana bunchy top virus (virus chùn ngọn chuối).

VIII. SỰ TRUYỀN BỆNH VIRUS THỰC VẬT

Virus thực vật xâm nhập vào cây khỏe hoặc truyền lan sang đời sau của cây trồng bằng nhiều con đường rất khác nhau hoặc nhờ môi giới truyền bệnh (vector) hoặc không nhờ môi giới truyền bệnh.

Nhưng nói chung là virus không thể tự lan truyền, chúng luôn phải nhờ một sự trợ giúp bên ngoài để có thể lây lan.

Ta có thể tạm chia cách truyền bệnh của virus thực vật làm 2 nhóm:

8.1. Sự truyền bệnh virus không nhờ môi giới.

a) Truyền bệnh qua nhân giống vô tính thực vật

- Qua nuôi cấy mô: virus có thể truyền dễ dàng qua nuôi cấy mô tế bào thực vật. Nếu tế bào bị nhiễm virus được đem nuôi cấy và nhân lên số lượng lớn thì những cây con được tạo thành có thể bị nhiễm bệnh từ 90 – 100% ở mức độ bệnh khác nhau.

- Truyền qua hom giống chiết từ cây bị bệnh, qua mắt ghép, cành ghép, chồi ghép, gốc ghép bị nhiễm bệnh. Các cây trồng nhân giống vô tính bằng củ như khoai tây, một số cây hoa, cây cảnh, bằng củ và thân như khoai lang, sắn... luôn có nguy cơ bị virus phá hoại trên diện tích lớn, nếu không kiểm soát được nguồn giống ban đầu.

b) Truyền bệnh qua hạt giống và qua phấn hoa

Virus thường không truyền qua hạt giống

Bệnh virus truyền qua phấn hoa không chỉ nhiễm vào hạt giống mà có thể nhiễm vào cây con hay mầm mọc từ hạt giống đó. Quan trọng hơn chúng có thể truyền qua trong quá trình thụ phấn hoa để xâm nhập vào cây mẹ. Virus cũng có thể qua phấn hoa mà lây từ cây

này qua cây khác trên đồng ruộng.

Có khoảng 100 virus lan truyền được qua hạt giống. Tuy nhiên, trong thực tế chỉ có một số ít hạt mang virus. Một vài trường hợp cá biệt như: TRSV tỷ lệ nhiễm bệnh rất cao có thể đến 100% số hạt cây bệnh (cây đậu tương). BSMV nhiễm ở hạt cây lúa mạch từ 50 - 100%, virus TMV nhiễm ngoài vỏ hạt (Barley). Hạt cây họ đậu bị nhiễm nhiều loại virus (đậu tương và các loại đậu ăn quả). Do đó cần chú ý chọn lọc giống sạch bệnh để chống virus nhiễm ở hạt tạo cây con bị bệnh thành nguồn bệnh ban đầu nguy hiểm cho cây trồng ban đầu sau này.

c) Virus truyền bệnh bằng cơ học, tiếp xúc

Truyền bệnh virus bằng cơ học tiếp xúc thường xảy ra với nhóm các bệnh virus có tính chống chịu cao với điều kiện môi trường.

Trong thiên nhiên khi cây mọc dày, giao tán nhau bệnh có thể truyền khi lá cây bệnh cọ sát vào lá cây khỏe, đặc biệt là ở các ruộng trồng rau và các cây trồng hàng năm. Thường trong mùa mưa bão ở nước ta, khi gió mạnh từ cấp 3, 4 trở lên dễ gây ra vết thương ở cây nên tỷ lệ cây nhiễm bệnh có thể cao hơn.

Các vết thương gây nên do côn trùng, các động vật khác, máy móc, dụng cụ.

Khi chăm bón, thu hái tạo các vết thương ở thân cây, lá, rễ, cây khỏe là điều kiện để cho virus ở dạng giọt dịch lây nhiễm từ cây bệnh sang.

Các virus khảm khoai tây X, virus bệnh khảm lá cây thuốc lá là các virus dễ dàng lây bệnh qua các vết thương cơ giới, tiếp xúc.

Các virus có khả năng chống chịu kém hơn với điều kiện ngoại cảnh như virus Y, virus A ở khoai tây lây truyền cơ học yếu và truyền côn trùng dễ dàng hơn. Virus có khả năng truyền bệnh qua các vết thương nhẹ.

8.2. Sự truyền bệnh virus bằng môi giới

Môi giới (vector) là các vật trung gian giúp cho virus có thể từ một cây bệnh xâm nhập vào cây khỏe để thực hiện quá trình xâm nhiễm, gây bệnh.

Từ năm 1895 Takata, 1901 Takami (Nhật Bản) đã phát hiện bọ rầy *Inazuma dorsalis* và bọ rầy *Nephotettix cineticeps* là môi giới truyền bệnh lúa lùn cây ở Nhật Bản. Năm 1916 Doolittle phát hiện ra rệp *Aphis gossypii* truyền bệnh khảm lá dưa chuột. Năm 1920, O.Botjes thấy rệp *Myzus persicae* truyền bệnh cuốn lá khoai tây.

Theo Harris (1981) có tới 381 loài động vật có thể truyền bệnh virus hại thực vật, trong đó 94% thuộc ngành chân khớp (*Athropoda*) và 6% thuộc ngành giun tròn (*Nematoda*). Côn trùng là nhóm môi giới đặc biệt quan trọng chiếm tới 99% các loài thuộc ngành chân khớp truyền bệnh virus thực vật.

a) Các phương thức truyền qua môi giới

Virus truyền bệnh bằng môi giới có thể có nhiều kiểu truyền bệnh khác nhau:

- Truyền bệnh theo kiểu truyền sinh học nghĩa là có mối quan hệ sinh học giữa virus và cơ thể côn trùng, virus có một thời gian tiềm ẩn trong cơ thể côn trùng, qua tuyến nước bọt đi vào hệ thống tiêu hoá thấm qua thành ruột vào máu rồi lại trở về tuyến nước bọt. Sau giai đoạn tiềm ẩn này virus có thể được tăng nồng độ do được cô đặc hay trong một vài trường hợp virus có thể sinh sản ngay trong cơ thể côn trùng.

Các tác giả đã chia các kiểu truyền bệnh qua côn trùng và các động vật thành 3 nhóm virus.

+ Nhóm truyền theo kiểu bền vững: là những virus có thể sống bền vững trong cơ thể côn trùng một thời gian và từ một vài tiếng đến một vài tuần lễ mới có khả năng lây bệnh cho cây.

Ví dụ: - virus gây bệnh xoắn lá cà chua (Tomato leafcurl virus)

- Virus gây bệnh cuộn lá khoai tây (Potato leafroll virus)

+ Nhóm truyền bệnh theo kiểu không bền vững.

Gồm những virus không có khả năng tồn tại trong cơ thể côn trùng từ một vài phút tới 1 giờ. Đó là những virus lây bệnh nhanh chóng trong khoảng thời gian từ 15 giây đến 30 phút chính hút ở cây bệnh sau đó có thể lây lan ngay.

Điển hình là virus thuộc nhóm Potyvirus như:

- Bệnh khảm lùn cây ngô (Maize dwarf mosaic virus)

- Bệnh khảm vàng lá đậu (Bean yellow mosaic virus)

+ Nhóm truyền bệnh nửa bền vững

Những virus thuộc nhóm này có kiểu truyền bệnh trung gian giữa hai nhóm trên. Có thể kể điển hình là virus Tungro hại lúa, virus Tristeza hại cam chanh...

b) Côn trùng truyền virus

Côn trùng chiếm tới 99% số loài thuộc ngành chân khớp (*Athropoda*, Harris, 1981), các loài côn trùng có thể truyền bệnh virus hại thực vật thuộc các bộ:

-Bộ cánh đều (*Homoptera*)

-Bộ cánh nửa (*Hemiptera*)

-Bộ cánh cứng (*Coleoptera*)

-Bộ cánh thẳng (*Orthoptera*)

- Bộ cánh tơ (*Thysanoptera*)

Đó là những bộ có nhiều họ và loài côn trùng truyền bệnh. Các họ rệp muội (*Aphididae*), họ ve sầu (*Cicadellidae*), họ muỗi bay (*Delphasidae*), họ ve sầu sừng

(*Menbracidae*), họ bọ phấn (*Aleyrodidae*), họ rệp giả (*Pseudococcidae*).

Các bộ, họ côn trùng gồm rất nhiều loài. Theo A.Gibbs và B. Harrison (1976) có khoảng 400 loài và có thể truyền hơn 200 virus khác nhau gây nhiều bệnh hại cây trồng. Chỉ riêng rệp đào (*Myzus persicae*) thuộc họ rệp muội đã có thể truyền tới 60 bệnh virus.

Các loài rệp, bọ rầy, bọ phấn, v.v... phần lớn đều chích hút dịch chứa virus từ bó mạch phloem của cây, virus được truyền có thể thuộc nhóm bền vững, không bền vững hay nửa bền vững tùy thuộc đặc tính của virus thuộc nhóm nào và mối quan hệ giữa chúng với côn trùng. Có loài rệp có thể truyền cả 3 loài virus thuộc 3 nhóm, có loài chỉ truyền 1 virus thuộc một nhóm, điều này phụ thuộc vào mối quan hệ sinh học giữa côn trùng và virus. Có loài rệp khi hút virus persistent nó có thể giữ virus cả đời trong cơ thể, song khi hút virus non - persistent nó chỉ giữ virus ở tuyến nước bọt trong khoảng 15 giây đến 30 phút như rệp đào, bọ rầy (*Nephotettix apicalis*) có thể giữ virus bệnh lúa lùn qua cơ thể cả đời và có thể truyền qua trứng tới 7 đời sau.

Tuổi của côn trùng cũng rất quan trọng, nói chung các côn trùng từ tuổi 3 - 5 có khả năng truyền bệnh nhiều hơn các côn trùng còn non.

c) Nhện truyền virus thực vật

Nhện thuộc loài tám chân, chúng có mật độ khá cao trên các cây ký chủ nhưng phạm vi ký chủ của nhện hẹp hơn các loài côn trùng khác. Theo kết quả nghiên cứu của nhiều tác giả, nhện là môi giới truyền một số loài thuộc họ *Eriophyidae*, có kích thước khoảng 0,2mm, đây là những loài nhện rất nhỏ và có phạm vi ký chủ hẹp. Loài nhện họ *Tetranychidae* có kích thước dưới 1mm có phạm vi ký chủ khá rộng. Loài *Tetranychus telarius* (Schultz, 1963) hay loài *T. urticae* (Koch) có thể truyền virus PVY.

Loài nhện *Aceria tulipae* truyền virus gây bệnh khảm sọc lá lúa mì, chúng có thể chích hút trong 15 phút. Virus không truyền qua trứng nhện (Slykhui, 1955).

d) Virus truyền bệnh nhờ tuyến trùng

Có hơn 20 virus được truyền nhờ tuyến trùng, các giống *Trichodorus*, *Paratrachodorus*, *Longidorus* giống *Xiphinema*...

Các loài tuyến trùng thường truyền những virus không bền vững như bệnh hoá nâu sớm đậu Hà Lan (Pea early browning), bệnh giòn lá thuốc lá (Tabacco rattle virus) truyền bệnh bằng những tuyến trùng trưởng thành của hai giống *Trichodorus* và *Paratrachodorus*.

Một số giống tuyến trùng có thể giữ trong cơ thể chúng một thời gian khá dài, một vài tháng thậm chí hàng năm (Van Hoof, 1970). Các nhóm Tobraviruses, Nepoviruses là những nhóm virus thường truyền bệnh nhờ tuyến trùng.

e) Bệnh virus truyền nhờ nấm

Một số loài nấm gây bệnh cây, trong quá trình gây bệnh xâm nhập vào cây khoẻ có khả năng mang theo virus thực vật xâm nhập và gây bệnh cho cây, đặc biệt là các loài nấm

sống dưới đất như nấm *Olpidium*, *Polymyxa* và *Spongospora*. Các nấm này thường sinh bào tử động (zoospore) để xâm nhập vào rễ cây khỏe và gây bệnh cho cây.

Nấm *Olpidium* thường truyền các loại bệnh virus:

- Virus gây đốm chết hoại thuốc lá (Tabacco necrotic virus)
- Virus gây đốm chết hoại dưa chuột (Cucumber necrotic virus)
- Virus còi cọc cây thuốc lá (Tabacco stunt virus)

Nấm *Polymyxa* truyền bệnh khảm lá lúa mì (Wheat mosaic virus) và bệnh đốm chết vàng gân cây củ cải đường (Beet necrotic yellow vein virus). Nấm *Spongospora* truyền bệnh quắt ngọn khoai tây (Potato mop-top virus).

f) Virus truyền bệnh bằng dây tơ hồng

Quá trình truyền bệnh này thường xảy ra chậm, nó phụ thuộc vào sự sinh trưởng và phát triển của cây tơ hồng. Trong trường hợp cây tơ hồng phát triển trên cây bệnh nhanh và mọc lan sang cây khỏe sớm thì bệnh cũng có thể lây nhanh, ngược lại, cây tơ hồng phát triển chậm trên cây bệnh thì việc truyền bệnh sẽ kéo dài. Thời gian kéo dài từ 5 – 6 tháng hoặc lâu hơn. Bệnh thường lây ở cây đại, cây lấy gỗ, cây ăn quả.

IX. PHÒNG TRỪ BỆNH VIRUS HẠI THỰC VẬT

Hiện nay trên thế giới người ta đã phát hiện ra khoảng 650 loại virus hại thực vật (Yohashiro và ctv, 1991), trong đó có nhiều bệnh hại có ý nghĩa kinh tế. Bệnh virus không chỉ làm giảm năng suất cây trồng mà còn là một trong những nguyên nhân gây thoái hoá giống cây trồng. Theo Reesman A. J., 1970 ở châu Âu virus cuốn lá làm giảm năng suất 50%, virus Y và virus A làm giảm năng suất 50% với triệu chứng nặng, virus X và virus S làm giảm năng suất 25%. Bệnh virus hại cà chua làm giảm năng suất từ 15 – 25% (Broadbent, 1976), bệnh virus hại thuốc lá làm giảm thiệt hại 5,2 triệu đô la trong năm 1978 tại nam Carolina (Gooding và Main, 1981). Bệnh khảm lá cây ngũ cốc gây thiệt hại ước tính từ 3 – 14 triệu USD (Sill và ctv, 1955) ở Mỹ. Bệnh Tungro ở Philippines năm 1971 đã gây thiệt hại trên nửa triệu tấn thóc, v.v. Đối với cây lâu năm như cam, chanh, mận, lê, táo bệnh virus không những làm mất hoặc giảm năng suất, chất lượng quả mà còn là nguồn bệnh nguy hiểm cho những năm sau. Virus có thể truyền qua tiếp xúc có học, qua hạt giống, hom giống, nuôi cấy mô, côn trùng môi giới, nấm, tuyến trùng, thực vật thượng đẳng ký sinh,... Do tính chất gây hại chủ yếu trong hệ mạch dẫn, khả năng phát tán nhanh chóng qua con đường trao đổi giống và sự truyền lan của côn trùng môi giới nên bệnh có mức độ phát triển mạnh, dễ gây thành dịch. Đây là một trong những loại bệnh khó phòng trừ, các biện pháp hoá học ít có tác dụng.

9.1. Các biện pháp phòng trừ bệnh virus hại thực vật

Trên thế giới nhiều biện pháp phòng trừ bệnh virus hại thực vật đã được áp dụng như loại bỏ nguồn bệnh, tiêu diệt côn trùng môi giới, diệt cỏ dại, luân canh cây trồng, dùng

giống sạch bệnh hoặc giống chống bệnh, chịu bệnh. Dựa vào đặc điểm của từng loại virus gây hại, đặc tính cây trồng người ta đã đề ra những biện pháp phòng trừ cho từng nhóm bệnh theo khả năng truyền lan và sự tồn tại của nguồn bệnh.

* Sử dụng hạt giống, cây trồng sạch bệnh

Một loại virus có khả năng truyền qua hạt giống ví dụ:

- Virus khảm lá đậu tương (SMV) (Jame và ctv, 1982)
- Khảm đốm cây lạc (PMV) (Jame và ctv, 1982)
- Virus khảm đốm xanh lá dưa chuột (CGMV) (Holling và ctv, 1975)
- Virus khảm lá thuốc lá (TMV) (Tsuzuki và ctv, 1967; Nagai, 1981)

Biện pháp:

- Chọn hạt giống từ cây khỏe, sạch bệnh (Jame và ctv, 1982; Y.Honda và ctv, 1977).
- Xử lý hạt giống là biện pháp tích cực để loại trừ và phòng bệnh lây lan trên vườn

ươm:

+ Xử lý nhiệt (hạt ớt, cà chua, dưa) xử lý không khí nóng 70⁰C trong 2 – 3 ngày, xử lý nhiệt khoai tây giống ở 36⁰ C trong 40 ngày có thể hạn chế được virus cuốn lá (Duriat, 1989).

+ Xử lý hạt giống bằng hoá chất như Trisodium photphat 10% hay có thể dùng Monazon để hạn chế bệnh lan truyền qua tiếp xúc cơ học (Yokashi và ctv, 1991, Yohachiro và ctv, 1991).

-Biện pháp nuôi cấy mô từ đỉnh sinh trưởng cộng xử lý nhiệt, biện pháp này được ứng dụng rộng rãi trong và ngoài nước để nhân giống các loại cây như khoai tây (Kasanis, 1957; Pett, 1974; Nozeran, 1977). Quá trình xử lý nhiệt ở nhiệt độ 32 – 38⁰ C trong thời gian 7 ngày đến 7 tuần sau đó nuôi cấy đỉnh sinh trưởng có thể loại trừ được virus A, xoắn lá, virus X và virus Y trong khi đó virus M và virus S cũng giảm đi đáng kể. Đối với các loại rau để có vật liệu sạch ban đầu người ta phải dùng biện pháp nuôi cấy mô, sau đem nhân giống vô tính với số lượng lớn dùng để sản xuất hạt (Walley và ctv, 1974).

Cây ăn quả thường là cây dài ngày luôn chịu tác động của các tác nhân truyền bệnh, thời gian ủ bệnh thường kéo dài, gây khó khăn cho việc làm sạch virus. Virus nuôi cấy đỉnh sinh trưởng và xử lý nhiệt đối với cây thân gỗ khó khăn hơn nhiều so với cây thân cỏ do khả năng tái sinh chồi yếu. Quá trình xử lý nhiệt thường được tiến hành chủ yếu ở những giai đoạn cành mang mắt ghép sau này. Theo Nyland và Gohhen (1969) xử lý nhiệt có thể loại trừ được 6 loại virus ở cây anh đào, 2 virus ở cây phúc bồn tử, 2 loại virus ở cây nho, 7 loại virus ở cây táo. Thành công trong xử lý virus ở cây ăn quả khó đạt 100%. Nuôi cấy đỉnh sinh trưởng ở cây ăn quả nay mới chỉ được sử dụng trên những đối tượng sau: táo (Walley, 1972), dâu (Putz, 1974) và ở nước ta cũng như một số nước trên thế giới nuôi cấy mô cây chuối, dâu tây đã được sử dụng rộng rãi trong việc tạo nguồn giống sạch bệnh cho

sản xuất.

Trên đối tượng là cây hoa, kỹ thuật nuôi cấy mô nhân giống vô tính được ứng dụng tại nhiều nước trên thế giới. Ở nước ta với một số loài hoa quý như phong lan, thủy tiên, cúc cũng đã sử dụng phương pháp này,.. Ở Hà Lan, Anh, Đức việc sản xuất cây sạch bệnh là việc làm thường xuyên và có các cơ sở chuyên nhân và làm sạch virus trên cây hoa.

Biện pháp nuôi cấy mô tạo nguồn giống sạch bệnh kết hợp chọn lọc vệ sinh đồng ruộng trên cây khoai tây đã được nghiên cứu và ứng dụng ở Việt Nam (Nguyễn Quang Thạch, Huỳnh Minh Tấn, Vũ Triệu Mân và ctv, 1990 - 1992). Năng suất khoai tây trong hệ thống chọn lọc vệ sinh đồng ruộng tăng từ 2,4 – 4 tấn/ha trên diện tích rộng (Vũ Triệu Mân, 1986).

9.2. Chẩn đoán và phòng trừ bệnh virus hại thực vật

Phương pháp chẩn đoán virus thực vật rất phổ biến hiện nay là chẩn đoán bằng triệu chứng, bằng kháng huyết thanh và kit ELISA, bằng phương pháp PCR, phương pháp cây chỉ thị và bằng kính hiển vi điện tử (Đã trình bày chi tiết trên phần chẩn đoán bệnh cây).

CHƯƠNG VIII

PHYTOPLASMA GÂY BỆNH CÂY

(DỊCH KHUẨN BÀO)

I. LỊCH SỬ NGHIÊN CỨU

Mycoplasma hại động vật đã được phát hiện từ năm 1898 nhờ bác học Pháp là Nocard và Roux. Ngày nay mycoplasma hại thực vật được gọi là Phytoplasma.

Bệnh phytoplasma hại thực vật lần đầu tiên được phát hiện ở Nhật Bản (J. Doi và ctv, 1967) với hiện tượng cây khoai tây bị bệnh lùn bụi. Cho tới nay người ta đã phát hiện hơn 200 loại bệnh khác nhau do phytoplasma gây ra ở hàng trăm loài cây.

II. TRIỆU CHỨNG VÀ TÁC HẠI CỦA BỆNH

Phytoplasma xâm nhập vào bó mạch libe và gây ra hiện tượng biến vàng ở cây bệnh. Hầu hết các cây bị phytoplasma đều có lá màu nhạt, hàm lượng chlorophyll giảm, bệnh thường gây ra các triệu chứng sau:

- Bệnh hoá gỗ cà chua làm thân cây cứng, lá nhỏ và nhạt màu, ở châu Úc có bệnh chổi lớn ở cà chua, ở Ấn Độ có bệnh xoắn ngọn đỏ tía cà chua, ở Đài Loan có bệnh trắng lá mía.

- Bệnh cuốn lá khoai tây do phytoplasma làm lá cuốn tròn có màu đỏ tía, có nhiều vết chết ở thân, mạch dẫn biến màu, cây mọc đơn thân nhô cao và chết non.

- Bệnh lùn bụi: làm cây mọc thành nhiều thân xèo ra như một cái chổi, hoa có màu xanh, mạch gỗ chết như dạng gân mạng lưới.

Phytoplasma gây ra rất nhiều bệnh hại cây trồng khác như: bệnh biến vàng cây cúc tây, bệnh lùn cây lúa miến, bệnh lùn cây ngô ở châu Âu và châu Mỹ, bệnh hoá xanh vỏ quả cam, chanh ở các vùng trồng cam trên thế giới. Bệnh biến vàng cây lúa ở vùng trồng lúa Đông Nam Á có dạng do phytoplasma gây ra.

Thiệt hại của bệnh giống như bệnh virus thực vật, phytoplasma gây thoái hoá cây trồng dẫn đến năng suất và phẩm chất giảm, cây dần dần thoái hoá và tàn lụi.

III. NGUYÊN NHÂN GÂY BỆNH

Phytoplasma được xếp vào bộ Phytoplasmales, lớp Mollicutes (theo Bergey) chúng có đặc tính trung gian giữa virus và vi khuẩn có triệu chứng giống các bệnh virus thực vật và bệnh do môi trường nên cần phân biệt rõ khi giám định.

Phytoplasma thường có hình bầu dục, hình ovan, hình tròn, đôi khi ở dạng không định hình và có kích thước đường kính nhỏ nhất khoảng 40 - 60 nm, thường gặp 175 - 250 nm và lớn nhất từ 300 – 800 nm. Nhiều tác giả cho rằng đó là những giai đoạn phát triển