

TÁCH DÒNG VÀ PHÂN TÍCH TRÌNH TỰ GEN CP CỦA CymMV VÀ ORSV GÂY BỆNH TRÊN PHONG LAN Ở MỘT SỐ TỈNH PHÍA BẮC VIỆT NAM

Nguyễn Thị Minh Hằng^{1,2}, Bùi Văn Thắng^{1,2}, Phạm Bích Ngọc², Chu Hoàng Hà^{2*}

¹Viện Công nghệ sinh học Lâm nghiệp, Trường Đại học Lâm nghiệp

²Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam, *chuhuongha@ibt.ac.vn

TÓM TẮT: Phong lan là một trong những loài cây làm cảnh, có hoa đẹp, nhiều màu sắc kiểu dáng và có giá trị kinh tế cao. Tuy nhiên, việc trồng phong lan đang gặp nhiều khó khăn do một số loại bệnh, đặc biệt là bệnh do virus gây ra, làm giảm năng suất cũng như chất lượng hoa. *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) và *Odontoglossum ringspot tobamovirus* (ORSV) được cho là 2 virus gây thiệt hại lớn nhất cho các loài hoa lan. Gen CP mã hóa cho protein vỏ của CymMV và ORSV được tách dòng và phân tích trình tự nucleotide. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tách dòng gen CP của 2 virus CymMV và ORSV phân lập tại một số tỉnh miền Bắc, Việt Nam. So sánh các trình tự nucleotide thu được với nhau và với một số trình tự công bố trên Genbank, cho thấy trình tự gen CP của CymMV khá đa dạng, ngược lại trình tự gen CP của ORSV lại rất bảo thủ khi so sánh giữa các dòng virus gây bệnh trên cây hoa lan ở các vùng miền khác nhau. Kết quả thu được góp phần vào việc phân tích đa dạng di truyền của virus CymMV và ORSV, làm cơ sở để lựa chọn vật liệu di truyền tạo giống hoa lan chuyển gen kháng được 2 loại virus này tại Việt Nam.

Từ khóa: *Cymbidium mosaic virus*, *Odontoglossum ringspot tobamovirus*, đa dạng di truyền, gen CP, phong lan.

MỞ ĐẦU

Phong lan là một trong những loài cây hoa được quan tâm phát triển nhất trong các loài hoa, bởi vì hoa lan đẹp, nhiều màu sắc và kiểu dáng đa dạng. Nghề trồng hoa lan ở Việt Nam hiện đang mang lại giá trị kinh tế cao, tuy nhiên việc trồng hoa lan cũng gặp nhiều khó khăn do các loại bệnh gây ra. Một trong các loại bệnh gây nghiêm trọng nhất ở hoa lan là bệnh virus, làm giảm năng suất và chất lượng hoa. Có trên 50 loại virus gây bệnh trên hoa lan [1, 8], trong đó *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) và *Odontoglossum ringspot tobamovirus* (ORSV) được báo cáo là gây thiệt hại lớn nhất ở hoa lan [2, 4, 7, 8].

CymMV là virus khảm hoa lan, gây ra các hiện tượng vàng lá thê khảm, vết lõm hoại tử màu đen và các vết mất màu trên lá và hoa [2]. CymMV thuộc chi *Potexviruses*, hệ gen là sợi RNA đơn dương dài 6.227 nucleotide, tổ chức hệ gen gồm 3 vùng gen (RdRp, TGB và CP) với 5 khung đọc mở mã hóa cho các phân tử protein có trọng lượng 160 kDa (RdRp), 26 kDa/13 kDa/10 kDa (MP) và 24 kDa (CP) [5, 7]. ORSV

là virus đốm vòng hoa lan, gây ra các đốm vòng hoại tử màu đen nâu trên thân, lá và hoa [2]. ORSV thuộc chi *Tobamoviruses*, hệ gen là sợi RNA đơn dương dài 6.609 nucleotide với 4 khung đọc mở mã hóa cho các phân tử protein 126kDa/183 kDa (RdRp), 33 kDa (MP) và 18 kDa (CP) [3]. Trong đó, gen CP mã hóa cho protein vỏ của CymMV và ORSV được nghiên cứu nhiều nhất với mục tiêu tạo giống hoa lan kháng hai loài virus này. Các báo cáo cho thấy trình tự gen CP của CymMV và ORSV rất đa dạng khi phân lập từ các vùng miền khác nhau. Gen CP của CymMV phân lập ở Thái Lan có độ tương đồng di truyền 88,3-98,9%, trình tự gen CP của ORSV phân lập ở Singapore có độ tương đồng di truyền 97,4-99,3%, ở Hàn Quốc 96,6-99,7% và ở Đài Loan 99,5-99,7% [6].

Tạo giống hoa lan chuyển gen kháng lại virus bằng công nghệ RNAi đang được coi là một biện pháp hữu hiệu nhất để ngăn chặn và hạn chế tác hại do virus gây ra. Vấn đề đặt ra là cây chuyển gen được tạo ra bằng cách sử dụng vật liệu di truyền (gen CP) từ các virus gây bệnh chỉ kháng được dòng virus có gen được sử dụng

hoặc các dòng virus có quan hệ di truyền gần gũi. Trong khi đó trình tự gen CP của các dòng CymMV và ORSV lại rất đa dạng ở các vùng miền khác nhau. Vì vậy, việc tìm hiểu về đa dạng di truyền phân tử gen CP của hai loại virus này ở một số tỉnh thành của Việt Nam sẽ là cơ sở khoa học cho việc lựa chọn một đoạn gen CP đặc hiệu làm nguyên liệu sử dụng tạo giống hoa lan chuyển gen kháng được hai loại virus này ở Việt Nam hiệu quả.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu

Các mẫu lá phong lan có biểu hiện nhiễm virus CymMV và ORSV được thu từ 3 tỉnh, trong đó 4 mẫu Hà Nội ký hiệu là: Hà Nội 1, Hà Nội 2, Hà Nội 3 và Hà Nội 4; 2 mẫu Bắc Giang: Bắc Giang 1 và Bắc Giang 2; 2 mẫu Thái Nguyên: Thái Nguyên 1 và Thái Nguyên 2, sử dụng làm vật liệu tách chiết RNA tổng số.

Vector tách dòng pBT được Phòng Công nghệ tế bào Thực vật, Viện Công nghệ Sinh học cung cấp, tế bào khả biến *E. coli* DH5- α , kit tổng hợp cDNA, enzyme DreamTaq™ DNA polymerase (Fermentas, Hoa Kỳ), kit thôi gel và kit tách plasmid (Bioneer, Hàn Quốc). Các máy móc, thiết bị được sử dụng tại phòng Công nghệ tế bào Thực vật và máy xác định trình tự gen tự động của Phòng thí nghiệm trọng điểm Công nghệ gen, Viện Công nghệ Sinh học.

Phương pháp

RNA tổng số được tách chiết từ mẫu lá lan nhiễm bệnh bằng bộ kit tách RNA thực vật theo hướng dẫn của nhà sản xuất và RNA tách chiết được sử dụng làm khuôn tổng hợp cDNA. Trên cơ sở dữ liệu về các trình tự gen CP của CymMV và ORSV công bố trên GenBank, thiết kế cặp mồi suy biến: CP-CymMV-F: 5'-ATG GGA GAG YCC ACT CCR RCY CCA GN-3' và CP-CymMV-R: 5'-GTT CAG TAG GGG G TG CAG CCA-3' để nhân gen CP của CymMV có kích thước khoảng 672 bp; và cặp mồi đặc hiệu CP-ORSV-F: 5'-ATG TCT TAC ACT ATT ACA GAC CCG T-3' và CP-ORSV-R: 5'-GGA AGA GGT CCA AGT AAG TCC A-3' để nhân gen CP của ORSV có kích thước khoảng 477 bp.

Thành phần phản ứng RT-PCR trong thể

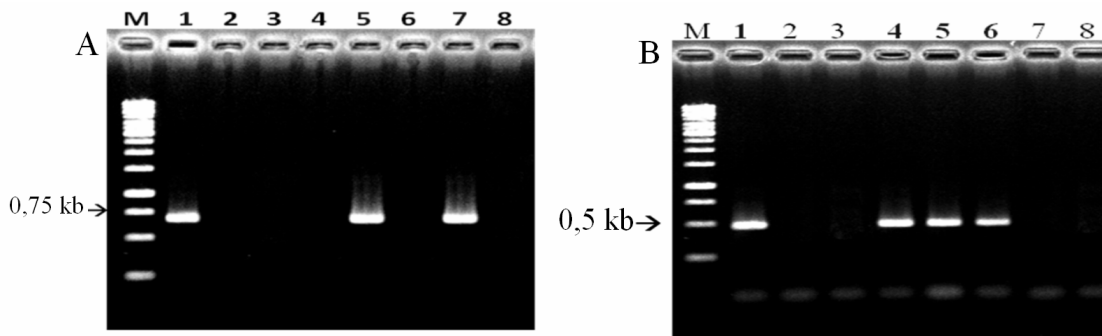
tích 25 μ l, trong đó chứa: 1X đệm RT-PCR; 1 mM mỗi loại dNTPs; 75 pM mỗi loại mồi đặc hiệu; Rnase inhibitor 1 đơn vị, 1 μ l hỗn hợp enzyme (Reverse transcriptase và Taq polymerase); 1 μ g RNA tổng số; bổ sung nước khử ion tới thể tích 25 μ l theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Fermentas, Hoa Kỳ). Phản ứng được thực hiện theo chu kỳ nhiệt: bước 1: 50°C, 30 phút; bước 2: 95°C, 15 phút; bước 3: 94°C, 30 giây; bước 4: 53°C, 30 giây; bước 5: 72°C, 3 phút; từ bước 3 đến bước 5 lặp lại 10 chu kỳ; bước 6: 94°C, 30 giây; bước 7: 55°C (cặp mồi CP-CymMV-F/R) và 52°C (cặp mồi CP-ORSV-F/R), 30 giây; bước 8: 72°C, 5 phút; từ bước 6 đến bước 8 lặp lại 30 chu kỳ; bước 9: 72°C, 10 phút; bước 10: 4°C, bảo quản mẫu. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1%, nhuộm gel trong dung dịch Ethidium bromide và thôi gel, tinh sạch theo bộ kit của hãng QIAGEN.

Sản phẩm PCR tinh sạch được gắn trực tiếp vào vector tách dòng pBT và biến nạp vào tế bào khả biến *E. coli* DH5 α . Dòng plasmid tái tổ hợp được chọn lọc, tinh sạch và giải trình tự gen tự động trên máy ABI PRIMS 3100 Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystem). Sử dụng phần mềm DNA star, BioEdit và ClustalX để so sánh các trình tự gen thu được với các trình tự gen công bố trong GenBank và dựng cây phát sinh chủng loại.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Tách dòng và xác định trình tự gen CP của CymMV và ORSV

RNA tổng số tách chiết được từ 8 mẫu lá phong lan được sử dụng làm khuôn tổng hợp cDNA và nhân gen CP-CymMV và CP-ORSV. Sản phẩm RT-PCR được điện di trên gel agarose 1% (hình 1). Kết quả cho thấy, với cặp mồi CP-CymMV-F/CP-CymMV-R có 3/8 mẫu xuất hiện băng DNA kích thước khoảng 677 bp (mẫu Hà Nội 1, Bắc Giang 1 và Thái Nguyên 1) (hình 1a). Với cặp mồi CP-ORSV-F/CP-ORSV-R có 4/8 mẫu xuất hiện băng DNA kích thước khoảng 477 bp (mẫu Hà Nội 1, Hà Nội 4, Bắc Giang 1 và Bắc Giang 2) (hình 1b) đúng với kích thước theo lý thuyết thiết kế của mỗi cặp mồi. Các mẫu còn lại không có băng DNA được khuếch đại có thể do mẫu lá phong lan không bị nhiễm virus.



Hình 1. PCR nhân gen CP của virus CymMV (a) và ORSV (b)

M: thang DNA 1 kb; giếng 1: Hà Nội 1; giếng 2: Hà Nội 2; giếng 3: Hà Nội 3; giếng 4: Hà Nội 4; giếng 5: Bắc Giang 1; giếng 6: Bắc Giang 2; giếng 7: Thái Nguyên 1 và giếng 8: Thái Nguyên 2.

Sản phẩm PCR được tinh sạch, gắn vào vector tách dòng pBT và biến nạp vào tế bào *E. coli* DH5a. Chọn lọc plasmid tái tổ hợp để xác định trình tự đoạn gen ngoại lai. Kết quả xác định trình tự gen thu được cho thấy, cả 3 đoạn gen khuếch đại được bằng cặp mồi CP-CymMV-F/CP-CymMV-R chính là gen CP của CymMV có kích thước 677 bp mã hóa cho protein từ protein vỏ virus (CP) và 4 đoạn gen khuếch đại được bằng cặp mồi CP-ORSV-F/CP-ORSV-R cũng chính là gen CP của ORSV có kích thước 477 bp. Kích thước gen CP của CymMV và ORSV thu được đúng với kích thước công bố trong GenBank. Từ kết quả nhận được cho thấy, mẫu cây hoa lan Hà Nội 1 và Bắc Giang 1 bị nhiễm đồng thời cả 2 virus CymMV và ORSV. Mẫu Hà Nội 4 và Bắc Giang 2 chỉ nhiễm ORSV, còn mẫu Thái Nguyên 1 bị nhiễm CymMV.

So sánh trình tự gen CP của CymMV và ORSV phân lập được với các trình tự gen tương ứng công bố trên GenBank

So sánh 3 trình tự gen CP của CymMV phân lập được từ 3 mẫu hoa lan bị nhiễm virus tại Hà Nội, Bắc Giang và Thái Nguyên có mức độ tương đồng cao 96,4-99%; và so với 9 trình tự gen tương ứng công bố trên GenBank có mức độ tương đồng 95,9-99,4%, tương ứng giữa mẫu Bắc Giang 1 so với Hawaii (95,9%) và mẫu Hà Nội 1 so với Đài Loan (99,4%) (bảng 1). Kết quả so sánh cũng cho thấy gen CP của CymMV rất đa dạng, tuy giữa các trình tự gen CP có độ tương đồng > 95%

nhưng các vị trí nucleotide có sự sai khác nhau nằm phân bố trên toàn bộ gen. Do đó, cần có những nghiên cứu đầy đủ về đa dạng di truyền của các dòng virus CymMV ở nhiều vùng khác nhau trong cả nước, từ đó mới có cơ sở tạo giống hoa lan chuyển gen kháng virus CymMV phổ rộng (kháng nhiều dòng virus).

Tương tự, so sánh 4 trình tự gen CP của ORSV phân lập được từ mẫu lá phong lan nhiễm virus tại Hà Nội và Bắc Giang có mức độ tương đồng rất cao 99,0-99,8%; và so với 7 trình tự gen tương ứng công bố trên GenBank có mức độ tương đồng 96,2-100%, tương ứng giữa mẫu Bắc Giang 2 so với mẫu của Đức (96,2%) và mẫu Bắc Giang 1 so với các mẫu của Trung Quốc, Đài Loan và Hàn Quốc (100%) (bảng 2). Kết quả so sánh cho thấy, trình tự gen CP của ORSV phân lập từ các dòng virus ở nhiều vùng khác nhau có mức độ tương đồng khá cao > 96%; nhiều đoạn nucleotide của gen CP khá bảo thủ (từ vị trí nucleotide 75-290 giống nhau 100%). Có thể sử dụng các đoạn trình tự bảo thủ của gen CP cho mục đích thiết kế vector chuyển gen phổ rộng kháng nhiều chủng ORSV khác nhau.

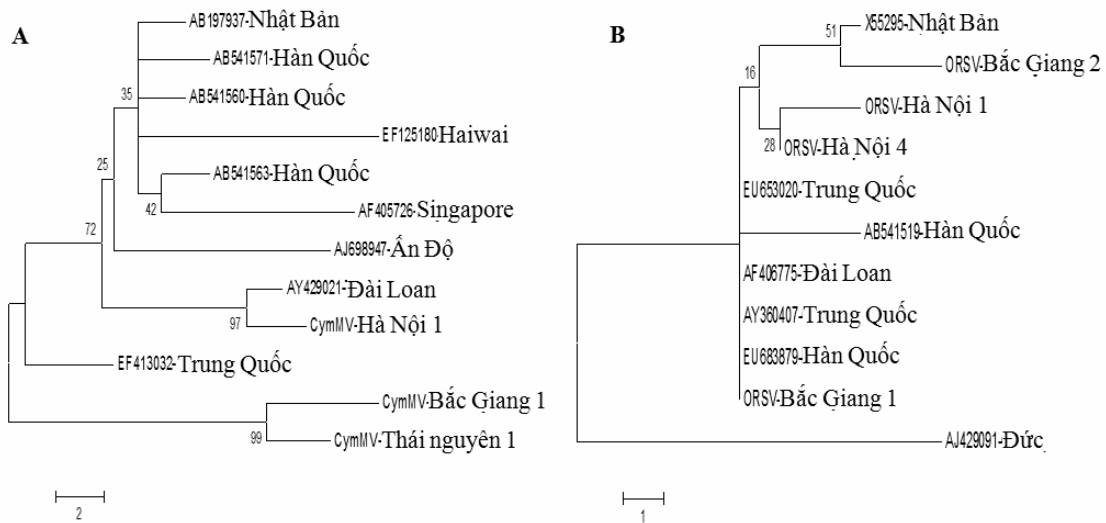
Cây phát sinh chủng loại được xây dựng theo phương pháp tối đa Maximum Parsimony (MP) sử dụng kết quả so sánh ClustalX giữa các trình tự gen CP của CymMV và ORSV phân lập được với các trình tự gen CP đại diện cho CymMV và ORSV công bố trong GenBank (hình 2).

Bảng 1. Hệ số tương đồng về trình tự nucleotide giữa gen CymMV của một số tỉnh phía Bắc Việt Nam và thế giới.

Hệ số tương đồng (%)															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
Hệ số sai khác (%)	1	■	99,4	99,3	99,3	98,4	98,2	98,5	96,7	98,2	97,3	98,5	98,2	1	AB197937-Nhật Bản
	2	0,6	■	99,3	99,3	98,4	98,2	98,5	96,7	98,2	97,3	98,5	98,2	2	AB541560-Hàn Quốc
	3	0,7	0,7	■	99,1	98,5	98,4	98,4	96,6	98,1	97,2	98,4	98,2	3	AB541563-Hàn Quốc
	4	0,7	0,7	0,9	■	98,2	98,1	98,4	96,7	98,1	97,3	98,4	98,1	4	AB541571-Hàn Quốc
	5	1,7	1,7	1,5	1,8	■	97,2	97,8	96,0	97,5	96,6	97,5	97,2	5	AF405726-Singapore
	6	1,8	1,8	1,7	2,0	2,9	■	97,6	96,0	97,3	96,4	97,6	97,0	6	AJ698947-Ấn Độ
	7	1,5	1,5	1,7	1,7	2,3	2,4	■	96,7	99,4	96,4	97,9	97,3	7	AY429021-Đài Loan
	8	3,4	3,4	3,5	3,4	4,2	4,2	3,4	■	96,7	99,0	97,2	95,8	8	CymMV- Bắc Giang 1
	9	1,8	1,8	2,0	2,0	2,6	2,7	0,6	3,4	■	96,4	97,9	97,0	9	CymMV- Hà Nội 1
	10	2,7	2,7	2,9	2,7	3,5	3,7	3,7	1,1	3,7	■	97,5	96,4	10	CymMV- Thái Nguyên 1
	11	1,5	1,5	1,7	1,7	2,6	2,4	2,1	2,9	2,1	2,6	■	97,3	11	EF413032-Trung Quốc
	12	1,8	1,8	1,8	2,0	2,9	3,0	2,7	4,3	3,1	3,7	2,7	■	12	EF125180-Haiwai
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			

Bảng 2. Hệ số tương đồng về trình tự nucleotide giữa gen ORSV của một số tỉnh phía Bắc Việt Nam và thế giới

Hệ số tương đồng (%)														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11			
Hệ số sai khác (%)	1	■	99,4	96,6	99,4	99,4	99,4	99,4	98,3	98,7	99,2	99,0	1	AB541519-Hàn Quốc
	2	0,6	■	97,3	100,0	100,0	100,0	100,0	99,0	99,4	99,8	99,6	2	AF406775-Đài Loan
	3	3,4	2,8	■	97,3	97,3	97,3	97,3	96,2	96,6	97,1	96,9	3	AJ429091-Đức
	4	0,6	0,0	2,8	■	100,0	100,0	100,0	99,0	99,4	99,8	99,6	4	AY360407-Trung Quốc
	5	0,6	0,0	2,8	0,0	■	100,0	100,0	99,0	99,4	99,8	99,6	5	EU653020-Trung Quốc
	6	0,6	0,0	2,8	0,0	0,0	■	100,0	99,0	99,4	99,8	99,6	6	EU683879-Hàn Quốc
	7	0,6	0,0	2,8	0,0	0,0	0,0	■	99,0	99,4	99,8	99,6	7	ORSV- Bắc Giang 1
	8	1,7	1,1	3,9	1,1	1,1	1,1	1,1	■	99,2	99,2	99,4	8	ORSV- Bắc Giang 2
	9	1,3	0,6	3,4	0,6	0,6	0,6	0,6	0,8	■	99,6	99,0	9	ORSV-Hà Nội 1
	10	0,8	0,2	3,0	0,2	0,2	0,2	0,2	0,8	0,4	■	99,4	10	ORSV-Hà Nội 4
	11	1,1	0,4	3,2	0,4	0,4	0,4	0,4	0,6	1,1	0,6	■	11	X55295-Nhật Bản
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11			



Hình 2. Cây phát sinh chủng loại xây dựng trên cơ sở so sánh trình tự gen CymMV (a) và ORSV (b)

Cây phát sinh chủng loại của CymMV chia làm 2 nhánh chính: nhánh 1 gồm hai mẫu của Việt Nam (CymMV-Bắc Giang 1 và CymMV-Thái Nguyên 1); nhánh 2 gồm 10 mẫu còn lại và được chia làm 2 nhánh phụ. Nhánh phụ 1 chỉ một mẫu của Trung Quốc (EF413032-Trung Quốc) và nhánh phụ 2 gồm 9 mẫu còn lại ở các nước Nhật Bản, Hàn Quốc, Hawaii, Singapore, Ấn Độ, Đài Loan và Hà Nội 1 (mẫu Hà Nội 1 thuộc một nhóm với mẫu Đài Loan) (hình 2a). Kết quả này cho thấy trình tự gen CP của CymMV là khá đa dạng giữa các vùng miền.

Cây phát sinh chủng loại của ORSV cũng được chia làm 2 nhánh chính: nhánh 1 chỉ có một mẫu của Đức (AJ429091-Đức) khác lớn nhất so với các mẫu đem so sánh; nhánh 2 gồm 10 mẫu còn lại với hệ số tương đồng gen CP 98,3-100%. Ở nhánh 2, hai mẫu ORSV-Hà Nội 1 và ORSV-Hà Nội 4 nằm trong cùng một nhóm; ORSV-Bắc Giang 2 và X55295-Nhật Bản nằm trong cùng 1 nhóm. Mẫu ORSV-Bắc Giang 1 nằm trong cùng một nhóm với các mẫu của Đài Loan, Trung Quốc và Hàn Quốc (hình 2b). Kết quả này cho thấy dòng virus ORSV ở châu Á có cùng một nguồn gốc với mức độ tương đồng gen CP rất cao.

KẾT LUẬN

Đã phân lập và xác định được 3 trình tự gen

CP của CymMV và 4 trình tự gen CP của ORSV từ phong lan bị bệnh thu ở 3 địa phương (Hà Nội, Bắc Giang và Thái Nguyên). Các trình tự gen CP của CymMV phân lập được có độ tương đồng 96,4-99% và các trình tự gen CP của ORSV phân lập được có độ tương đồng cao 99,0-99,8%.

Trình tự gen CP của CymMV khá đa dạng, ngược lại trình tự gen CP của ORSV lại rất bảo thủ khi so sánh giữa dòng virus gây bệnh trên phong lan ở các vùng miền khác nhau. Đây là cơ sở phân tử để lựa chọn đoạn gen CP đặc hiệu làm vật liệu di truyền tạo giống phong lan chuyển gen kháng hiệu quả đồng thời với virus CymMV và ORSV.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chang C., Chen C. Y., Hsu Y. H., Wu J. T., Hu C. C., Chang W. C. and Lin N. S., 2005. Transgenic resistance to Cymbidium mosaic virus in *Dendrobium* expressing the viral capsid protein gene. *Transgenic Res.*, 14: 41-46.
2. Hu J. S., Ferreira S., Wang M. and Xu M. Q., 1993. Detection of Cymbidium Mosaic Virus, Odonoglossum Ringspot Virus, Tomato Spotted Wilt Virus, and Potyviruses Infecting Orchids in Hawaii. *Plant Dis.*, 77: 464-468.

- Ikegami M. and Inouye N., 1996. Genomic organization of Odontoglossum Ringspot Virus (Cy-1 Stain) RNA and comparison with that of Korean Strain. Bull. Res. Inst. Bioresour. Okayama Univ., 4: 137 -147.
- Sherpa A. R., Hallan V. and Zaidi A. A., 2004. Cloning and sequencing of coat protein gene of an Indian Odontoglossum ringspot virus isolate. Acta Virol., 48: 267-269.
- Sherpa A. R., Hallan V., Pathak P. and Zaidi A. A., 2007. Complete nucleotide sequence analysis of Cymbidium mosaic virus Indian isolate: further evidence for natural recombination among potexviruses. J. Biosci., 32: 663-669.
- Srifah P., Loprasert S. and Rungroj N., 1996. Use of reverse transcription-polymerase chain reaction for cloning of coat protein-encoding genes of Cymbidium mosaic virus. Gene 179: 105-107.
- Wong S. M., Chng C. G., Lee H. Y., Tan K. and Zettler F. W., 1994. Incidence of Cymbidium mosaic and Odontoglossum ringspot viruses and their significance in orchid cultivation in Singapore. Crop Protection, 13: 235-239.
- Zettler F. W., Ko N. J., Wisler G. C., Elliot Mark S., and Wong S. M., 1990. Viruses of orchids and their control. Plant Dis., 74: 621-626.

CLONING AND SEQUENCE ANALYSIS OF ORCHIDS CymMV AND ORSV CP GENE ISOLATED IN NORTHERN OF VIETNAM

Nguyen Thi Minh Hang^{1,2}, Bui Van Thang^{1,2}, Pham Bich Ngoc², Chu Hoang Ha²

¹College of Forestry Biotechnology, Vietnam Forestry University

²Institute of Biotechnology, VAST

SUMMARY

Orchids are ones of indoor decorated plants with beautiful and fragrant flowers. It is not only varied in styles, but also high economic valuable flower. However, the cultivation of orchids meets several difficulties, especially viral infection that caused reducing the productivity and quality of orchid flowers. Cymbidium mosaic virus (CymMV) and Odontoglossum ringspot tobamovirus (ORSV) are considered as viruses that cause the largest damage to orchids. In this study, we cloned and sequenced the coating protein genes (CP) of the two viruses CymMV and ORSV isolated from some provinces in northern Vietnam. These sequences were aligned out by BioEdit 7 software. The CP nucleotide sequences of the isolates were compared with those of previously published isolates in GenBank originating from different countries. The results showed the CP gene sequences of CymMV were quite diverse, in contrast, the CP genes of ORSV were very conservative. These results contributed to the study of genetic diversity of the CymMV and ORSV viruses and as a basis for selection genetic materials to create disease resistant orchids in Vietnam.

Keywords: Cymbidium mosaic virus, Odontoglossum ringspot tobamovirus, CP gene, genetic diversity, orchids.

Ngày nhận bài: 13-7-2012