



DOI:10.22144/ctu.jvn.2019.076

## ẢNH HƯỞNG CỦA BRASSINOLIDE ĐẾN BỆNH VÀNG LÁ GÂN XANH, NĂNG SUẤT VÀ PHẨM CHẤT TRÁI QUÝT ĐƯỜNG (*Citrus reticulata* Blanco) TẠI THỊ XÃ LONG MỸ, TỈNH HẬU GIANG

Trang Kiên Bush<sup>1</sup>, Huỳnh Lê Anh Nhi<sup>2</sup>, Trần Văn Hậu<sup>2\*</sup> và Trần Sỹ Hiếu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Học viên cao học ngành Khoa học Cây trồng, Trường Đại học An Giang

<sup>2</sup>Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Trần Văn Hậu (email: tvhau@ctu.edu.vn)

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 30/10/2018

Ngày nhận bài sửa: 29/12/2018

Ngày duyệt đăng: 28/06/2019

### Title:

Effects of Brassinolide on the citrus greening, yield and fruit quality of “Duong” mandarin (*Citrus reticulata* Blanco var. Duong) grown in Long My district, Hau Giang province

### Từ khóa:

Brassinolide, vàng lá gân xanh, điện di DNA, quýt Đường, tinh bột

### Keywords:

Brassinolide, Citrus greening, DNA electrophoresis, “Duong” mandarin, Starch

### ABSTRACT

This study is aimed to determine the effects of Brassinolide (BL) on citrus greening disease, yield and quality of “Duong” mandarin grown in Long My town, Hau Giang province. A field trial was conducted from August 2017 to October 2018. There were 5 treatments including BL concentrations of 0.05  $\mu\text{M}$  (0.5 mL of 0.01SL); 0.10  $\mu\text{M}$  (1.0 mL 0.01SL), 0.15  $\mu\text{M}$  (1.5 mL 0.01SL), positive control (solution of  $\text{ZnSO}_4$  - at 5,000 ppm +  $\text{MnSO}_4$  5,000 ppm), and negative control treatment (water). All treatments were applied every two weeks until fruits were harvested (12 months). The experiment was arranged in a completely randomized design with 6 replications, one tree for each replicate. The presence of “*Candidatus Liberibacter asiaticus*” was determined by PCR using specific primers. Leaf samples were collected before and after the experiment. Quantification of leaves in iodine solution was used to diagnose the disease. The results showed that spraying BL at 0.15  $\mu\text{M}$  periodically twice a week for 12 months resulted in the lowest disease incidence (2.3%), disease index (5.9%) and undetectable level of bacterial titer as shown by PCR. The latter was confirmed by the lowest concentration of starch in leaves (0.73 mg/g) and highest yield (28.4 kg/tree), fruit size and fruit quality than these of the other treatments.

### TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành để xác định ảnh hưởng của Brassinolide (BL) đến bệnh vàng lá gân xanh, năng suất và phẩm chất của trái quýt Đường tại thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang. Thí nghiệm được tiến hành từ tháng 08/2017 đến 10/2018, gồm 5 nghiệm thức là các nồng độ BL: 0,05  $\mu\text{M}$  (0,5 mL 0.01SL); 0,10  $\mu\text{M}$  (1,0 mL 0.01SL) và 0,15  $\mu\text{M}$  (1,5 mL 0.01SL), nghiệm thức đối chứng dương (dung dịch -  $\text{ZnSO}_4$  5,000 ppm +  $\text{MnSO}_4$  5,000 ppm) và nghiệm thức đối chứng âm (nước). Các nghiệm thức được phun định kỳ 2 tuần/lần cho đến khi thu hoạch trái (12 tháng). Thí nghiệm được bố trí theo thể thức ngẫu nhiên hoàn toàn, 6 lần lặp lại, mỗi lặp lại tương ứng với một cây. Sự hiện diện của vi khuẩn “*Candidatus Liberibacter asiaticus*” trong lá được xác định bằng phương pháp PCR với cặp mồi đặc hiệu. Định lượng tinh bột trong lá bằng dung dịch iod được dùng để chẩn đoán bệnh. Kết quả cho thấy nghiệm thức phun BL 0,15  $\mu\text{M}$  định kỳ 2 tuần/lần trong 12 tháng có tỷ lệ bệnh VLGX (2,3%), chỉ số bệnh VLGX (5,9%) thấp nhất, mật số vi khuẩn ở mức không phát hiện được bằng PCR và hàm lượng tinh bột trong lá thấp nhất (0,73 mg/g) và có năng suất cao nhất (28,4 kg/cây), kích thước trái và phẩm chất trái cao hơn so với nghiệm thức đối chứng âm và các nồng độ còn lại.

Trích dẫn: Trang Kiên Bush, Huỳnh Lê Anh Nhi, Trần Văn Hậu và Trần Sỹ Hiếu, 2019. Ảnh hưởng của Brassinolide đến bệnh vàng lá gân xanh, năng suất và phẩm chất trái quýt đường (*Citrus reticulata* Blanco) tại thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(3B): 49-57.

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Hậu Giang có hơn 1.299 ha chuyên canh quýt Đường, với diện tích đang cho trái là 1.092 ha với sản lượng 13.417 tấn/năm, tập trung chủ yếu ở Long Mỹ (800 ha), đạt sản lượng hơn 21.000 tấn (Ủy ban nhân dân tỉnh Hậu Giang, 2016). Quýt Đường Long Trị là một loại trái cây đặc sản của tỉnh Hậu Giang. Tuy nhiên, bệnh vàng lá gân xanh (VLGX) làm cho sản lượng cũng như chất lượng trái giảm đáng kể, gây thiệt hại kinh tế rất lớn. Gần đây, việc sử dụng chất kích thích sức chống chịu của cây quýt để duy trì và phục hồi đối với cây bị nhiễm bệnh VLGX đang được áp dụng và mang lại hiệu quả cao (Gottwald *et al.*, 2012). Brassinosteroids (BR) là nhóm hormone thực vật làm tăng sức đề kháng cho thực vật chống lại các stress phi sinh học và kháng bệnh (Rao *et al.*, 2002). Kết quả nghiên cứu cho thấy, mật số vi khuẩn "*Candidatus Liberibacter asiaticus*", tác nhân gây bệnh VLGX, trong cây có mùi giảm đáng kể sau khi phun qua lá với epibrassinolide (EBL) trong điều kiện nhà lưới và ngoài đồng ruộng (Canales *et al.*, 2016). Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định hiệu quả của Brassinolide (BL) trong sản phẩm 0.01 SL phun qua lá đến bệnh VLGX, năng suất và phẩm chất trái quýt Đường.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1 Vật liệu

Thí nghiệm được thực hiện tại vườn quýt Đường sáu năm tuổi tại thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang từ tháng 08/2017 đến tháng 10/2018. Brassinolide được sử dụng là dạng chế phẩm 0.01 SL (Brassinolide: 0,01%) của Công ty Ngọc Yến. Cây quýt Đường được sử dụng trong nghiên cứu có triệu chứng bệnh VLGX như: cây còi cọc, lá bị vàng ở một số nhánh (phiến lá vàng nhưng gân lá vẫn xanh), lá nhỏ. Cây được chọn có thời gian sinh trưởng, tỷ lệ bệnh và cấp bệnh tương đương nhau. Tình trạng bệnh của cây trước khi thí nghiệm được xác nhận bằng phản ứng PCR với cặp mồi đặc hiệu (mồi xuôi OI1: 5' CAC CGA AGA TAT GGA CAA CA 3' và mồi ngược OI2c: 5' GAG GTT CTG GTG GTT TTT CTG 3') của Jagoueix *et al.* (1996).

### 2.2 Phương pháp

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức ngẫu nhiên hoàn toàn, có 5 nghiệm thức, 6 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại tương ứng với một cây. Các nghiệm thức bao gồm: 1) BL nồng độ 0,05  $\mu$ M, 2) BL nồng độ 0,10  $\mu$ M, 3) BL nồng độ 0,15  $\mu$ M, mỗi nghiệm thức pha với 18 lít nước, phun cho 6 cây, 4) đối chứng dương phun dung dịch hỗn hợp  $ZnSO_4$  5,000 ppm +  $MnSO_4$  5,000 ppm theo nghiên cứu của Nguyễn Thị Minh Châu và Nguyễn Bảo Vệ (2005) và 5) đối chứng âm

phun nước. Mỗi cây phun 3 lít dung dịch, phun ướt đều tán lá cây, định kỳ 2 tuần/lần trong 12 tháng.

Các chỉ tiêu sinh trưởng của cây được theo dõi bằng cách: đánh dấu 5 cành phân bố đều theo các hướng của tán cây, sau đó theo dõi và ghi nhận tỷ lệ lá bệnh, cấp bệnh và chỉ số bệnh VLGX trên cành cây được đánh giá theo Quy chuẩn Việt Nam (QCVN) 01-119:2012/BNN-PTNT, tỷ lệ cành ra đọt non, tỷ lệ đọt non bị nhiễm bệnh VLGX, tỷ lệ ra hoa, tỷ lệ đậu trái: Số chồi ra hoa và số trái đậu trên mỗi cành 1 tháng/lần từ lúc ra hoa đến thu hoạch. Các chỉ tiêu liên quan đến năng suất, thành phần năng suất và phẩm chất trái bao gồm số trái/cây, khối lượng và năng suất trái/cây, acid tổng số, độ Brix, hàm lượng vitamin C, hàm lượng nước trong thịt trái. Đối với mỗi lần lặp lại 5 trái được thu mẫu để đo đạc và tính giá trị trung bình. Ngoài ra, một số chỉ tiêu liên quan đến đặc tính trái như chiều cao trái, đường kính trái, tỷ lệ trái lệch tâm (hình dạng trái bị méo mó, khi bổ dọc trái ra thì tâm trái bị lệch hẳn sang một bên và được xác định bằng cách cắt trái làm 2 phần bằng nhau theo hướng thẳng đứng từ trên xuống theo chiều cao của trái), tỷ lệ hạt lép đen cũng được ghi nhận. Các chỉ tiêu phẩm chất trái được phân tích và tính trung bình từ 5 trái thu trên mỗi cây. Hàm lượng acid tổng số trong trái được phân tích dựa theo qui trình của TCVN 5483-2007. Hàm lượng vitamin C được phân tích theo phương pháp chuẩn độ với dung dịch 2,6 dichlorophenolindophenol (TCVN 6427-2:1998). Tình trạng bệnh của cây trước và sau thí nghiệm: thu ngẫu nhiên 10 lá xung quanh tán trên mỗi cây thí nghiệm tại thời điểm trước khi thí nghiệm (lần 1) và sau khi kết thúc thí nghiệm (lần 2) để chẩn đoán bệnh VLGX bằng phản ứng PCR theo mô tả của Hung *et al.* (1999) với cặp mồi đặc hiệu của Jagoueix *et al.* (1996). Ngoài ra, hàm lượng tinh bột trong lá cũng được xác định để đánh giá tình trạng bệnh VLGX do cây có mùi nhiễm bệnh VLGX có sự tích lũy tinh bột trong lá cao. Định lượng tinh bột trong lá được thực hiện dựa trên phản ứng iod - tinh bột theo quy trình của Whitaker *et al.* (2014). Phần mềm Genstat được dùng để phân tích phương sai (ANOVA) có hiệu chỉnh cho lấy mẫu lặp lại và so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức bằng phép kiểm định LSD ở mức ý nghĩa 5%.

## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1 Tỷ lệ bệnh, chỉ số bệnh vàng lá gân xanh

#### 3.1.1 Diễn biến tỷ lệ lá bệnh trên cành cây

Kết quả ở Bảng 1, cho thấy tại các thời điểm quan sát tỷ lệ lá bệnh trên cành của các nghiệm thức phun BL có sự khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức không xử lý BL, mặc dù ở thời điểm

trước khi xử lý (TKXL) tỷ lệ lá bệnh trên cành khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Hai nghiệm thức phun BL nồng độ 0,10 và 0,15  $\mu\text{M}$  và nghiệm thức đối chứng dương đều giúp giảm tỷ lệ bệnh và cây quýt Đường phục hồi tốt hơn so với nghiệm thức đối chứng âm. Nghiệm thức phun BL nồng độ 0,15  $\mu\text{M}$  có tỷ lệ bệnh thấp nhất (22,9%) (LSD nghiệm thức (NT) = 1,5). Ảnh hưởng tương tác giữa nồng độ phun BL và thời gian xử lý đến bệnh VLGX cho thấy đối với nghiệm thức đối chứng, tỷ lệ lá bệnh trên cành có xu hướng tăng dần theo thời gian (từ 44,8% ở thời điểm TKXL và tăng dần đến 58,3% ở thời điểm 10 tháng sau khi xử lý (TSKXL)). Trái lại, ngoại trừ BL ở nồng độ 0,05  $\mu\text{M}$  không cho thấy hiệu quả (tỷ lệ cành bệnh dao động trong khoảng 40,2 - 45,1%), nghiệm thức nồng độ BL 0,10 và 0,15

$\mu\text{M}$  đều cho thấy hiệu quả làm giảm tỷ lệ lá bệnh trên cành rõ rệt. Đặc biệt, đối với nồng độ 0,15  $\mu\text{M}$  tỷ lệ bệnh giảm dần từ 44,2% (TKXL) xuống mức 2,3% ở thời điểm 10 TSKXL ( $P < 0,001$ ,  $\text{LSD} = 2,83$ ), thấp nhất trong các nghiệm thức khảo sát. Điều này cho thấy tỷ lệ lá bệnh VLGX trên cành cây quýt Đường được xử lý với BL hai nồng độ 0,10 và 0,15  $\mu\text{M}$  có xu hướng giảm dần theo thời gian xử lý và hiệu quả tăng lên cùng với sự gia tăng nồng độ BL. Canales *et al.* (2016) khẳng định rằng mật số vi khuẩn gây bệnh VLGX cây có múi giảm đáng kể khi xử lý EBL sau 3 tháng. Sau khi xử lý EBL, các gen phòng thủ đều có mức biểu hiện cao rõ rệt và được duy trì ở tất cả các thời điểm khảo sát từ đó làm giảm bệnh theo thời gian, duy trì ổn định và giúp cây phục hồi sau khi nhiễm bệnh VLGX.

**Bảng 1: Ảnh hưởng của Brassinolide lên tỷ lệ lá bệnh VLGX (%) trên cây quýt Đường tại thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang**

Nghiệm thức	Thời điểm quan sát (Tháng sau khi xử lý)											
	TKXL	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	TB
BL 0,05 $\mu\text{M}$	44,2	45,1	43,5	41,9	41,9	42,0	41,4	40,8	40,8	40,2	41,5	42,1 <sup>b</sup>
BL 0,10 $\mu\text{M}$	45,4	44,3	40,3	39,5	35,2	33,2	31,8	27,5	24,6	20,4	16,4	32,6 <sup>c</sup>
BL 0,15 $\mu\text{M}$	44,2	43,9	40,2	35,6	27,4	21,0	15,6	11,7	7,0	3,3	2,3	22,9 <sup>d</sup>
ĐC dương	45,1	44,7	42,1	41,0	36,6	31,9	31,9	26,8	23,9	23,2	15,6	33,0 <sup>e</sup>
ĐC âm	44,8	47,8	48,9	49,6	51,5	52,5	53,0	54,5	55,0	57,4	58,3	52,1 <sup>a</sup>
Trung bình	44,7 <sup>A</sup>	45,2 <sup>A</sup>	43,0 <sup>B</sup>	41,5 <sup>C</sup>	38,5 <sup>D</sup>	36,1 <sup>E</sup>	34,7 <sup>F</sup>	32,3 <sup>G</sup>	30,3 <sup>H</sup>	28,9 <sup>I</sup>	26,8 <sup>J</sup>	

F (Nghiệm thức - NT) = \*\*, LSD = 1,50

F (Thời điểm quan sát - TĐQS) = \*\*, LSD = 1,09

F (NT\*TĐQS) = \*\*, LSD = 2,83

CV (%) = 5,1

Ghi chú: Trong cùng một cột hoặc hàng, các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê theo phép thử LSD 5%; \*\*: khác biệt có ý nghĩa thống kê 1%. BL: Brassinolide; ĐC: đối chứng; ĐC dương: phun dung dịch hỗn hợp  $\text{ZnSO}_4$  5,000 ppm +  $\text{MnSO}_4$  5,000 ppm; ĐC âm: Phun nước. TKXL: trước khi xử lý; TB: Trung bình; VLGX: Vàng lá gân xanh

### 3.1.2 Diễn biến chỉ số bệnh (Disease Index - DI%) trên cành cây

Chỉ số bệnh tại các thời điểm quan sát của các nghiệm thức phun BL có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức không xử lý BL. Hai nghiệm thức phun BL nồng độ 0,10 và 0,15  $\mu\text{M}$  và nghiệm thức đối chứng dương đều giúp giảm chỉ số bệnh tốt hơn so với nghiệm thức đối chứng âm. Nghiệm thức phun BL nồng độ 0,15  $\mu\text{M}$  có chỉ số bệnh thấp nhất (31,5%) (LSD NT = 2,35) (Bảng 2). Ảnh hưởng tương tác giữa nồng độ phun BL và thời gian xử lý đến bệnh VLGX cho thấy đối với nghiệm thức đối chứng, chỉ số bệnh có xu hướng tăng dần theo thời gian (từ 65,9% ở thời điểm TKXL (chỉ số bệnh ở thời điểm này khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức) và tăng dần đến 92,6% ở thời điểm 10 TSKXL)). Bên cạnh đó, ngoại trừ BL ở nồng độ 0,05  $\mu\text{M}$  không cho thấy hiệu quả (chỉ số bệnh dao động trong khoảng 61,5 - 82,2%), nghiệm thức nồng độ BL 0,10 và 0,15  $\mu\text{M}$  đều cho

thấy hiệu quả làm giảm chỉ số bệnh rõ rệt. Đặc biệt, đối với nồng độ 0,15  $\mu\text{M}$  chỉ số bệnh giảm dần từ 65,9% (TKXL) xuống mức 5,9% ở thời điểm 10 TSKXL ( $P < 0,001$ ,  $\text{LSD} = 5,46$ ), thấp nhất trong các nghiệm thức khảo sát. Điều này cho thấy chỉ số bệnh VLGX trên cành cây quýt Đường được xử lý với BL hai nồng độ 0,10 và 0,15  $\mu\text{M}$  có xu hướng giảm dần theo thời gian xử lý và hiệu quả tăng lên cùng với sự gia tăng nồng độ BL. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Canales *et al.* (2016) khẳng định rằng mật số vi khuẩn gây bệnh VLGX cây có múi giảm rõ rệt khi xử lý với EBL sau 3 tháng xử lý. EBL kích thích một loạt gen có vai trò phòng thủ với vi khuẩn gây bệnh VLGX, mức biểu hiện cao của cả ba gen acid hydroperoxide lyase (HPL), allene oxide synthase (AOS) và phenylalanine ammonia lyase (PAL) là nguyên nhân của sự gia tăng khả năng kháng bệnh chống lại vi khuẩn gây bệnh VLGX ở cây có múi khi phun EBL. Chính vì vậy, khi phun BL trên cây quýt Đường nhiễm VLGX làm giảm chỉ số bệnh rõ rệt.

**Bảng 2: Ảnh hưởng của Brassinolide lên chỉ số lá bệnh VLGX (%) trên cây quýt Đường tại thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang**

Nghiệm thức	Thời điểm quan sát (Tháng sau khi xử lý)											
	TKXL	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	TB
BL 0,05 µM	64,6	65,2	61,5	64,4	70,4	80,8	74,8	74,8	77,8	82,2	77,8	72,2 <sup>b</sup>
BL 0,10 µM	64,1	60,7	55,6	53,4	46,7	47,4	43,7	40,0	27,4	16,3	14,4	42,7 <sup>c</sup>
BL 0,15 µM	65,9	62,9	46,7	41,5	37,0	25,9	25,2	15,2	12,2	7,8	5,9	31,5 <sup>d</sup>
ĐC dương	65,9	63,0	53,4	56,3	46,0	46,7	47,4	39,3	22,2	22,2	21,1	43,9 <sup>c</sup>
ĐC âm	65,9	65,9	64,4	71,1	75,6	80,0	84,5	86,7	88,9	91,9	92,6	78,9 <sup>a</sup>
Trung bình	65,3 <sup>A</sup>	63,5 <sup>A</sup>	56,3 <sup>B</sup>	57,3 <sup>B</sup>	55,1 <sup>B</sup>	56,2 <sup>B</sup>	55,1 <sup>B</sup>	51,2 <sup>C</sup>	45,7 <sup>D</sup>	44,1 <sup>D</sup>	42,4 <sup>D</sup>	

F (Nghiệm thức - NT) = \*\*, LSD = 2,35  
 F (Thời điểm quan sát - TĐQS) = \*\*, LSD = 2,11  
 F (NT\*TĐQS) = \*\*, LSD = 5,46  
 CV (%) = 7,9

Ghi chú: Trong cùng một cột hoặc hàng, các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê theo phép thử LSD 5%; \*\*: khác biệt có ý nghĩa thống kê 1%. BL: Brassinolide; ĐC: đối chứng; ĐC dương: phun dung dịch hỗn hợp ZnSO<sub>4</sub> 5,000 ppm + MnSO<sub>4</sub> 5,000 ppm; ĐC âm: Phun nước. TKXL: trước khi xử lý; TB: Trung bình; VLGX: Vàng lá gân xanh

**3.2 Tỷ lệ đọt non bị nhiễm bệnh vàng lá gân xanh (%)**

Kết quả ở Bảng 3, cho thấy tại các thời điểm quan sát tỷ lệ đọt non bị nhiễm bệnh VLGX trung bình của các nghiệm thức phun BL có sự khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức không xử lý BL vào các thời điểm quan sát. Nghiệm thức phun BL nồng độ 0,15 µM có tỷ lệ đọt non nhiễm bệnh trung bình thấp nhất so với các nghiệm thức khác. Ảnh hưởng tương tác giữa nồng độ phun BL và thời gian xử lý đến tỷ lệ đọt non nhiễm bệnh VLGX cho thấy: ở nồng độ BL 0,15 µM có tỷ lệ đọt non bị nhiễm bệnh VLGX thấp nhất so với ở nồng độ 0,05 và 0,10 µM vào thời điểm 1 TSKXL (2,8%) giảm dần cho đến thời điểm 10 TSKXL (0,6%), khác biệt có ý nghĩa thống kê với các nghiệm thức còn lại. Tỷ lệ đọt non bị nhiễm bệnh VLGX có xu hướng giảm nếu phun BL ở nồng độ 0,15 µM theo thời gian. Kết quả cho thấy phun BL giúp cây quýt Đường đã bị

nhiễm bệnh VLGX phục hồi, những đọt non trên cành cây bị nhiễm bệnh VLGX sinh trưởng, phát triển tốt và tỷ lệ nhiễm bệnh VLGX rất thấp (Hình 1). Theo Trần Văn Hậu (2009) thì khả năng cho trái của cây có múi tùy thuộc rất lớn vào lá và diện tích lá được hình thành khi ra hoa và các đọt sinh trưởng. Do đó, việc hạn chế đọt non bị nhiễm bệnh VLGX bằng cách phun BL có ý nghĩa quan trọng đến năng suất sau này. Canales *et al.* (2016) cho rằng mật số vi khuẩn gây bệnh VLGX giảm dần theo thời gian kể từ thời điểm 3 TSKXL với EBL. Mức biểu hiện cao của cả ba gen HPL, AOS, và PAL có thể là nguyên nhân của sự gia tăng khả năng kháng bệnh chống lại vi khuẩn gây bệnh VLGX ở cây có múi có phun), chính vì vậy những đọt ra đọt non của cây quýt Đường được xử lý BL trong thí nghiệm này có tỷ lệ nhiễm bệnh VLGX giảm dần và rất thấp, điều này phù hợp với nhận định của Canales *et al.* (2016) về sự biểu hiện của các gen phòng thủ chống lại vi khuẩn gây bệnh VLGX cây có múi.

**Bảng 3: Ảnh hưởng của Brassinolide lên tỷ lệ đọt non bị nhiễm bệnh VLGX (%) trên cây quýt Đường tại thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang**

Nghiệm thức	Thời điểm quan sát (Tháng sau khi xử lý)										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	TB
BL 0,05 µM	9,3	16,7	26,2	15,6	18,3	12,4	14,1	17,3	11,2	10,5	15,2 <sup>b</sup>
BL 0,10 µM	7,6	10,7	15,7	7,4	8,2	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9 <sup>c</sup>
BL 0,15 µM	2,8	3,4	4,0	1,9	0,8	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	1,6 <sup>d</sup>
ĐC dương	8,6	15,0	15,4	10,0	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	11,1 <sup>c</sup>
ĐC âm	39,5	86,0	76,6	74,6	44,9	61,1	61,1	61,1	61,1	61,1	62,7 <sup>a</sup>
Trung bình	13,5 <sup>E</sup>	26,4 <sup>A</sup>	27,5 <sup>A</sup>	21,9 <sup>B</sup>	16,5 <sup>D</sup>	18,9 <sup>C</sup>	19,2 <sup>C</sup>	19,9 <sup>C</sup>	18,6 <sup>C</sup>	18,5 <sup>C</sup>	

F (Nghiệm thức - NT) = \*\*, LSD = 1,83  
 F (Thời điểm quan sát - TĐQS) = \*\*, LSD = 1,50  
 F (NT\*TĐQS) = \*\*, LSD = 4,21  
 CV (%) = 15,9

Ghi chú: Trong cùng một cột hoặc hàng, các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê theo phép thử LSD 5%; \*\*: khác biệt có ý nghĩa thống kê 1%. BL: Brassinolide; ĐC dương: phun dung dịch hỗn hợp ZnSO<sub>4</sub> 5,000 ppm + MnSO<sub>4</sub> 5,000 ppm; ĐC âm: Phun nước; ĐC: đối chứng; TB: Trung bình; VLGX: Vàng lá gân xanh





**Hình 1: Ảnh hưởng của Brassinolide lên chồi non cây quýt Đường ở thời điểm 2 tháng sau khi xử lý tại thị xã Long Mỹ, Hậu Giang**

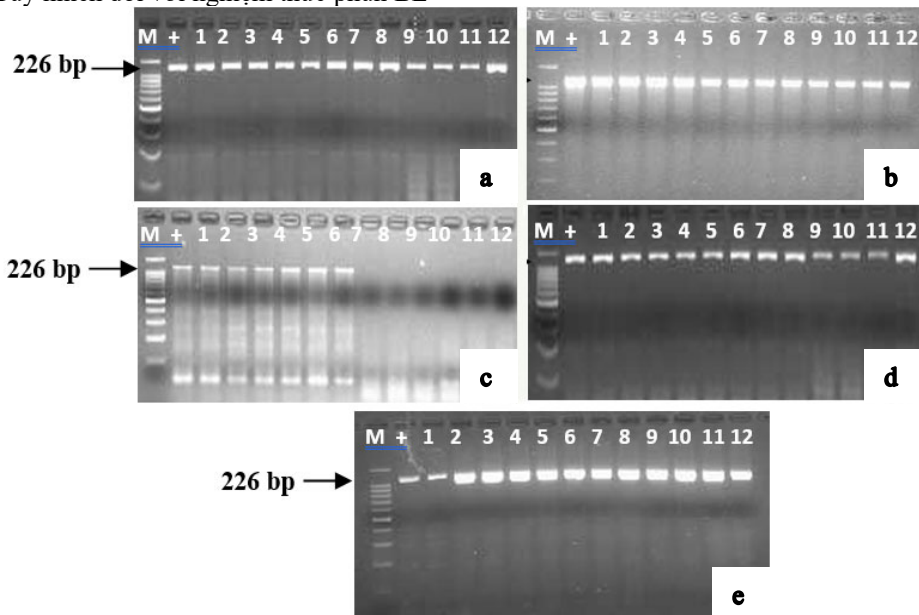
A) Nghiệm thức đối chứng âm, chồi non chưa xuất hiện, lá trên cành vẫn còn triệu chứng bệnh vàng lá gân xanh; B) Nghiệm thức phun Brassinolide 0,15  $\mu\text{M}$ , chồi non không có triệu chứng bệnh vàng lá gân xanh

**3.3 Chẩn đoán bệnh vàng lá gân xanh**

**3.3.1 Chẩn đoán bằng phương pháp PCR**

Phản ứng PCR sử dụng cặp mồi chuyên biệt, với sản phẩm khuếch đại có kích thước khoảng 226 bp, được dùng để chẩn đoán sự hiện diện của vi khuẩn gây bệnh VLGX. Qua kết quả phổ điện di DNA ở Hình 2a, 2b và 2d cho thấy tất cả 12 giếng đều dương tính với vi khuẩn gây bệnh VLGX, điều đó cho thấy mẫu lá quýt Đường trước và sau thí nghiệm đều nhiễm bệnh. Như vậy, các nghiệm thức phun BL nồng độ 0,05  $\mu\text{M}$  và 0,10  $\mu\text{M}$  và nghiệm thức đối chứng dương trên quýt Đường đều không làm hạn chế bệnh VLGX. Riêng nghiệm thức đối chứng âm thể hiện bệnh VLGX trước và sau thí nghiệm rõ nhất (Hình 2e). Tuy nhiên đối với nghiệm thức phun BL

nồng độ 0,15  $\mu\text{M}$  trước thí nghiệm cho kết quả dương tính với bệnh, nhưng sau thí nghiệm cho kết quả âm tính với bệnh (Hình 2c). Kết quả này cho thấy khi phun qua lá với BL nồng độ 0,15  $\mu\text{M}$  sau 12 tháng giúp cây quýt Đường nhiễm bệnh VLGX phục hồi và giảm bệnh rõ rệt. Điều này phù hợp với nhận định của Canales *et al.* (2016) cho rằng mật số vi khuẩn gây bệnh VLGX trên cây có mùi giảm đáng kể hầu như bằng không sau 12 tháng điều trị với EBL. Khi xử lý EBL có tác dụng kích thích các gen phòng thủ với vi khuẩn gây bệnh VLGX ngăn cản sự xâm nhập và biểu hiện của vi khuẩn này, chính vì thế cây quýt Đường bị nhiễm bệnh VLGX được xử lý với BL sau 12 tháng cho kết quả âm tính khi chẩn đoán bằng kỹ thuật PCR.



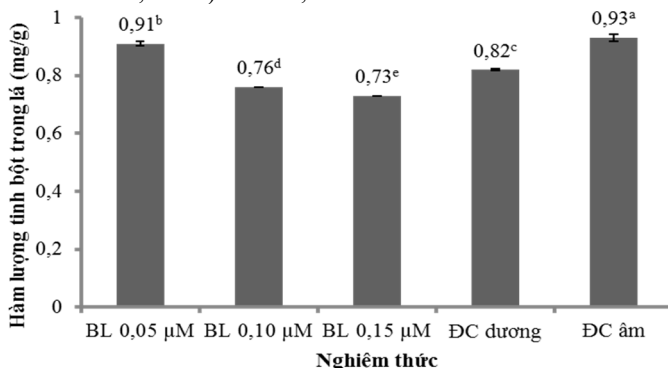
**Hình 2: Phổ điện di DNA trong lá quýt đường trước và sau khi xử lý ở các nồng độ Brassinolide (BL) khác nhau. a) BL nồng độ 0,05  $\mu\text{M}$ ; b) BL nồng độ 0,10  $\mu\text{M}$ ; c) BL nồng độ 0,15  $\mu\text{M}$ ; d) đối chứng dương; e) đối chứng âm**

Ghi chú: Trong tất cả hình a, b, c, d, e: Giếng M: thang DNA chuẩn 100 bp; Giếng "+": đối chứng mẫu dương tính; Giếng từ 1-6: mẫu lá quýt Đường trước thí nghiệm; Giếng từ 7-12: mẫu lá quýt Đường sau thí nghiệm.

### 3.3.2 Định lượng tinh bột trong lá

Schneider (1968) cho rằng tinh bột trong lá cây có mùi tích lũy bất thường trong khi cây bị nhiễm bệnh VLGX. Kết quả phân tích định lượng tinh bột trung bình của ba giống cam quýt (*Citrus depressa*, *Citrus reticulata*, *Citrus oto*) cho thấy hàm lượng tinh bột trong lá bị nhiễm VLGX cao hơn so với trong lá khỏe mạnh (Takushi *et al.*, 2007). Do đó,

định lượng hàm lượng tinh bột trong lá là một chỉ tiêu quan trọng để chẩn đoán mức độ nhiễm bệnh VLGX trên cây có mùi. Hàm lượng tinh bột trong lá giữa các nghiệm thức có sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% (Hình 2). Hàm lượng tinh bột trong lá cây quýt Đường thấp nhất ở nghiệm thức phun BL nồng độ 0,15  $\mu\text{M}$  (0,73 mg/g mẫu lá), cao nhất ở nghiệm thức đối chứng âm (0,93 mg/g mẫu).



**Hình 3: Hàm lượng tinh bột trong lá dưới ảnh hưởng của các nồng độ Brassinolide khác nhau trên cây quýt Đường tại thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang**

Ghi chú: Các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê theo phép thử LSD 5%, LSD=0,003; BL: Brassinolide; ĐC: đối chứng; ĐC dương: phun dung dịch hỗn hợp  $\text{ZnSO}_4$  5,000 ppm +  $\text{MnSO}_4$  5,000 ppm; ĐC âm: Phun nước

Nhìn chung, ở nghiệm thức đối chứng âm hàm lượng tinh bột trong lá cao hơn so với các nghiệm thức xử lý BL và nghiệm thức đối chứng dương, điều này cho thấy cây quýt Đường bị nhiễm bệnh VLGX đã phục hồi tốt sau khi điều trị với BL, kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Canales *et al.* (2016). Các tác giả cho rằng hiệu quả kiểm soát sự xâm nhiễm của vi khuẩn đạt được là do khả năng tăng cường sự biểu hiện của các gen phòng thủ đã được kích ứng bên trong cây có mùi bị bệnh VLGX khi xử lý EBL. Điều này cho thấy khi xử lý BL làm mật số vi khuẩn gây bệnh VLGX trong cây giảm rõ rệt làm giảm sự tích lũy tinh bột trong lá so với cây bệnh.

### 3.4 Sự ra hoa, đậu trái, năng suất và thành phần năng suất

Tỷ lệ chồi ra hoa và tỷ lệ đậu trái giữa các nghiệm thức xử lý BL ở các nồng độ khác nhau và nghiệm thức đối chứng khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 1% (Bảng 4). Các nghiệm thức phun BL (ngoại trừ nồng độ 0,05  $\mu\text{M}$ ) và đối chứng dương đều làm tăng tỷ lệ ra hoa và đậu trái so với đối chứng âm. Nghiệm thức phun BL nồng độ 0,15  $\mu\text{M}$  cho tỷ lệ ra hoa (62,7%) và tỷ lệ đậu trái (70,1%) cao nhất và khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại. Theo Hong *et al.* (2009) bệnh VLGX ảnh hưởng đến mô libe, sự vận chuyển đường ở diệp lục và nhu mô đến các bộ phận của cây bị cản trở,

cành có thể bị chết làm suy giảm sự ra hoa và đậu trái trên cây bệnh. Cây bị rụng trái cùng với sự phát triển của bệnh (Aubert *et al.*, 1988). Điều trị với BL có thể giúp cây bị bệnh phục hồi tốt và tăng tỷ lệ chồi ra hoa. Cung cấp BL cho cây cam trong suốt thời kỳ ra hoa làm tăng tỷ lệ đậu trái, nếu cung cấp trong giai đoạn trái phát triển thì giảm rụng trái sinh lý (Iwahori *et al.*, 1990). Do đó, việc phun BL giúp cây giảm bệnh đồng thời tăng tỷ lệ ra hoa và đậu trái so với cây bị bệnh.

Kết quả trình bày ở Bảng 4 cho thấy tổng số trái/cây của các nghiệm thức khác biệt có ý nghĩa thống kê, nghiệm thức phun BL nồng độ 0,15  $\mu\text{M}$  có số trái/cây cao nhất (222 trái). Các nghiệm thức phun BL và đối chứng dương đều làm tăng khối lượng trái so với đối chứng âm. Nghiệm thức phun BL nồng độ 0,15  $\mu\text{M}$  cho trái có khối lượng cao nhất (128,6 g), khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại. Điều này phù hợp với nhận định của Wang *et al.* (2004) trọng lượng trái cam tăng khi xử lý với BL. Năng suất trái của các nghiệm thức cũng khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 1%. Năng suất trái quýt Đường cao nhất ở nghiệm thức phun BL nồng độ 0,15  $\mu\text{M}$  (28,4 kg/cây). Kết quả này cho thấy, cây bị nhiễm bệnh VLGX được điều trị bằng BL phun qua lá làm tăng số trái/cây, trọng lượng trái và năng suất trái quýt Đường.

**Bảng 4: Ảnh hưởng của Brassinolide lên tỷ lệ ra hoa (%) và tỷ lệ đậu trái (%) trên cây quýt Đường tại thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang**

Nghiệm thức	Tỷ lệ ra hoa (%)	Tỷ lệ đậu trái (%)	Số trái/cây	Trọng lượng trái (g)	Năng suất trái (kg/cây)
BL 0,05 μM	39,2 <sup>c</sup>	53,4 <sup>b</sup>	110,0 <sup>c</sup>	95,4 <sup>c</sup>	10,5 <sup>c</sup>
BL 0,10 μM	48,7 <sup>b</sup>	55,8 <sup>b</sup>	146,0 <sup>b</sup>	109,8 <sup>b</sup>	16,0 <sup>b</sup>
BL 0,15 μM	62,7 <sup>a</sup>	70,1 <sup>a</sup>	222,0 <sup>a</sup>	128,6 <sup>a</sup>	28,4 <sup>a</sup>
ĐC dương	50,5 <sup>b</sup>	53,8 <sup>b</sup>	133,0 <sup>bc</sup>	105,3 <sup>b</sup>	14,0 <sup>b</sup>
ĐC âm	35,2 <sup>c</sup>	30,2 <sup>c</sup>	77,0 <sup>d</sup>	51,1 <sup>d</sup>	4,0 <sup>d</sup>
F	**	**	**	**	**
LSD	6,82	8,92	23,08	7,80	2,36
CV (%)	12,1	14,2	14,1	6,7	13,6

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê theo phép thử LSD 5%; \*\*: khác biệt có ý nghĩa thống kê 1%; BL: Brassinolide; ĐC: đối chứng; ĐC dương: phun dung dịch hỗn hợp ZnSO<sub>4</sub> 5,000 ppm + MnSO<sub>4</sub> 5,000 ppm; ĐC âm: Phun nước

**3.5 Đặc tính nông học của trái**

Kết quả ở Bảng 5 cho thấy đường kính trái và chiều cao trái quýt Đường ở ba nồng độ phun BL có sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% tại thời điểm thu hoạch (Bảng 5). Đường kính và chiều cao trái tăng dần theo nồng độ BL trong thí nghiệm. Như vậy, BL phun qua lá có ảnh hưởng đến đường kính và chiều cao trái. Nghiệm thức phun BL nồng độ 0,15 μM cho trái có đường kính trái (6,6 cm) và chiều cao trái (5,5 cm) cao nhất, khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại. Tỷ lệ lệch tâm và tỷ lệ hạt lép đen ở ba nồng độ phun BL có sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% tại thời điểm thu hoạch

(Bảng 5). Tỷ lệ trái lệch tâm và tỷ lệ hạt lép đen giảm dần theo nồng độ BL trong thí nghiệm. Như vậy, BL phun qua lá có ảnh hưởng đến đường kính, chiều cao trái, tỷ lệ lệch tâm và tỷ lệ hạt lép đen. Nghiệm thức phun BL nồng độ 0,15 μM có tỷ lệ lệch tâm (0,6%) và tỷ lệ hạt lép đen thấp nhất (6,4%), khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại, đặc biệt là nghiệm thức đối chứng âm có tỷ lệ trái lệch tâm (46,1%) và tỷ lệ hạt lép đen (71,3%) cao nhất. Kết quả này cho thấy cây quýt Đường phun qua lá với BL sau 10 tháng làm giảm rõ rệt sự ảnh hưởng của bệnh VLGX qua ghi nhận về tỷ lệ trái bị lệch tâm và tỷ lệ hạt lép đen.

**Bảng 5: Ảnh hưởng của Brassinolide lên đường kính trái (cm), chiều cao trái (cm), tỷ lệ trái lệch tâm (%), tỷ lệ hạt lép đen (%) trên cây quýt Đường tại thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang**

Nghiệm thức	Đường kính trái (cm)	Chiều cao trái (cm)	Tỷ lệ trái lệch tâm (%)	Tỷ lệ hạt lép đen (%)
BL 0,05 μM	6,1 <sup>b</sup>	5,0 <sup>bc</sup>	10,6 <sup>b</sup>	36,6 <sup>b</sup>
BL 0,10 μM	5,8 <sup>bc</sup>	5,0 <sup>b</sup>	2,8 <sup>cd</sup>	26,2 <sup>c</sup>
BL 0,15 μM	6,6 <sup>a</sup>	5,5 <sup>a</sup>	0,6 <sup>d</sup>	6,4 <sup>d</sup>
ĐC dương	5,7 <sup>c</sup>	4,8 <sup>c</sup>	4,4 <sup>c</sup>	38,5 <sup>b</sup>
ĐC âm	4,0 <sup>d</sup>	4,2 <sup>d</sup>	46,1 <sup>a</sup>	71,3 <sup>a</sup>
F	**	**	**	**
LSD	0,29	0,13	2,33	3,60
CV (%)	4,3	2,3	15,2	8,5

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê theo phép thử LSD 5%; \*\*: khác biệt có ý nghĩa thống kê 1%; BL: Brassinolide; ĐC: đối chứng; ĐC dương: phun dung dịch hỗn hợp ZnSO<sub>4</sub> 5,000 ppm + MnSO<sub>4</sub> 5,000 ppm; ĐC âm: Phun nước

**3.6 Phẩm chất trái**

Hàm lượng nước, hàm lượng acid tổng số và hàm lượng vitamin C trong trái quýt Đường ở các nghiệm thức có phun BL và nghiệm thức đối chứng dương có sự khác biệt với nghiệm thức đối chứng âm ở mức ý nghĩa 1% (Bảng 6). Hàm lượng nước (89,1%), hàm lượng acid tổng số (0,24 g/L) và vitamin C (13,3 mg/100 g) cao nhất ở nghiệm thức phun BL nồng độ 0,15 μM và thấp nhất ở nghiệm

thức đối chứng âm (lần lượt là 66,5%, 0,06 g/L và 8,3 mg/100 g). Lê Mai Nhật (2014) cho rằng trái quýt Đường ở cây bị nhiễm bệnh VLGX phẩm chất trái rất thấp. Nhìn chung, các nghiệm thức xử lý BL giúp khắc phục hiện tượng trái bị xơ và tăng hàm lượng nước trong thịt trái, hàm lượng acid tổng số và hàm lượng vitamin C cũng gia tăng so với đối chứng âm, điều này cho thấy cây quýt Đường bị

bệnh VLGX đã được phục hồi sau khi phun qua lá với BL ở nồng độ 0,15 µM.

Qua kết quả trình bày ở Bảng 6 cho thấy độ Brix của trái quýt Đường giữa các nghiệm thức phun BL và nghiệm thức đối chứng dương khác biệt nhau qua phân tích thống kê ở mức ý nghĩa 1%. Độ Brix của trái quýt Đường ở nghiệm thức đối chứng âm thấp nhất (7,0%). Ở nghiệm thức phun BL 0,15 µM có độ Brix cao nhất (9,4%) và khác biệt có ý nghĩa

thống kê với các nghiệm thức còn lại. Theo Trần Thượng Tuấn và ctv. (1999), độ Brix của trái quýt Đường là 9,0%. Thông qua độ Brix của trái có thể đánh giá độ ngọt của trái. Theo Lê Thị Thu Hồng (2000) khi cây quýt Đường nhiễm bệnh VLGX độ Brix giảm. Từ đó cho thấy quýt Đường ở các nghiệm thức phun BL của thí nghiệm này có độ ngọt hơn so với đối chứng âm là do cây quýt Đường đã phục hồi sau khi phun BL.

**Bảng 6: Ảnh hưởng của Brassinolide lên một số chỉ tiêu phẩm chất trái (hàm lượng nước (%), độ Brix (%), acid tổng số (TA) (g/L), vitamin C) trên cây quýt Đường tại thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang**

Nghiệm thức	Hàm lượng nước (%)	Độ Brix (%)	TA (g/L)	Vitamin C (mg/100g mẫu tươi)
BL 0,05 µM	77,1 <sup>c</sup>	7,1 <sup>d</sup>	0,12 <sup>b</sup>	8,3 <sup>c</sup>
BL 0,10 µM	87,3 <sup>a</sup>	8,5 <sup>b</sup>	0,10 <sup>b</sup>	10,5 <sup>b</sup>
BL 0,15 µM	89,1 <sup>a</sup>	9,4 <sup>a</sup>	0,24 <sup>a</sup>	13,3 <sup>a</sup>
ĐC dương	84,2 <sup>b</sup>	8,2 <sup>c</sup>	0,13 <sup>b</sup>	10,5 <sup>b</sup>
ĐC âm	66,5 <sup>d</sup>	7,0 <sup>d</sup>	0,06 <sup>c</sup>	8,3 <sup>c</sup>
F	**	**	**	**
LSD	1,96	0,08	0,02	0,31
CV (%)	2,0	0,8	14,4	2,6

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê theo phép thử LSD 5%; \*\*: khác biệt có ý nghĩa thống kê 1%; BL: Brassinolide; ĐC: đối chứng; ĐC dương: phun dung dịch hỗn hợp ZnSO<sub>4</sub> 5,000 ppm + MnSO<sub>4</sub> 5,000 ppm; ĐC âm: Phun nước

**4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT**

**4.1 Kết luận**

– Phun BL qua lá 2 tuần/lần ở các nồng độ khác nhau liên tục trong 12 tháng có hiệu quả lên tỷ lệ bệnh VLGX, sự sinh trưởng, năng suất và phẩm chất trái cây quýt Đường.

– Phun BL qua lá ở nồng độ 0,15 µM trên quýt Đường định kỳ 2 tuần/lần từ khi cây bắt đầu biểu hiện bệnh cho đến khi thu hoạch trái giúp cây bị nhiễm bệnh VLGX giảm tỷ lệ bệnh (2,3%) và chỉ số bệnh (5,9%), tỷ lệ đọt non bị nhiễm bệnh VLGX thấp (0,6%), tỷ lệ ra hoa và tỷ lệ đậu trái cao (62,7 và 70,1%), số trái/cây, trọng lượng trái và năng suất cao (222 trái, 128,6 g và 28,4 kg/cây). Ngoài ra, các chỉ tiêu phẩm chất trái như hàm lượng nước trong thịt trái (89,1%, acid tổng số (0,24 g/L), độ Brix (9,4%) và vitamin C (13,3 mg/100 g) ở nghiệm thức 0,15 µM cũng đạt cao nhất. Kết quả điện di DNA đối với cây quýt Đường bị nhiễm bệnh VLGX thời điểm 12 tháng sau phun BL nồng độ 0,15 µM cho kết quả âm tính. Hàm lượng tinh bột tích lũy trong lá cây quýt Đường ở nghiệm thức phun BL nồng độ 0,15 µM thấp nhất (0,73 mg/g lá) so với các nghiệm thức còn lại.

**4.2 Đề xuất**

Áp dụng phun BL nồng độ 0,15 µM định kỳ 2 tuần/lần khi cây bị bệnh VLGX nhằm làm giảm tỷ lệ và chỉ số bệnh VLGX, tăng năng suất và phẩm

chất trái quýt Đường. Đây mới là kết quả nghiên cứu bước đầu cần có thêm những nghiên cứu để có kết luận đầy đủ hơn.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

Aubert, B., Garnier M, Cassin J.C. and Bertin Y., 1988. Citrus greening disease survey in East and West African countries South of Sahara. In: S.M. Garnsey, L.W. Timmer and J.A. Dodds (Eds). Proceedings of the 10th Conference of the International Organization of Citrus Virologists (1957-2010), 10(10). Retrieved from <https://escholarship.org/uc/item/71757972>.

Canales, E., Coll, Y., Hernández, I., Portieles, R., Rodríguez García, M., López Y., et al., 2016. ‘Candidatus Liberibacter asiaticus’, Causal Agent of Citrus Huanglongbing, Is Reduced by Treatment with Brassinosteroids. PLoS ONE 11(1): e0146223. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146223>.

Gottwald, T.R., Graham, J.H., Irey, M.S., McCollum, T.G. and Wood, B.W., 2012. Inconsequential effect of nutritional treatments on huanglongbing control, fruit quality, bacterial titer and disease progress. Crop Protection. 36: 73-82.

Hong, L.T.T., Dien L.Q., Trung L.N. and Chau N.M., 2009. Cultivation and health management of pathogen free citrus seedling in Southern Vietnam. In: International Training Workshop on Health Management of Pathogen-free Citrus



- Orchard, SOFRI, Tien Giang - Vietnam, 16 - 20<sup>th</sup> November.
- Hung, T.H., Wu, H.L. and Su, H.J., 1999. Development of a rapid method for the diagnosis of citrus greening disease using the polymerase chain reaction. *Journal of Phytopathology*. 147(10): 599-604.
- Iwahori, S., Tominaga, S. and Higuchi, S., 1990. Retardation of abscission of citrus leaf and fruitlet explants by brassinolide. *Plant Growth Regu.* 19(2): 119-125.
- Jagoueix, S., Bové, J.M. and Garnier, M., 1996. "PCR detection of the two 'Candidatus' *Liberibacter* species associated with greening disease of citrus". *Molecular Cellular Probes*. 10: 43-50.
- Lê Mai Nhất, 2014. Nghiên cứu bệnh Vàng lá greening hại cây có múi ở một số tỉnh phía Bắc Việt Nam và đề xuất biện pháp phòng chống. Luận án Tiến sĩ Nông nghiệp. Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam. Hà Nội.
- Lê Thị Thu Hồng, 2000. Nghiên cứu một số biện pháp Bảo vệ thực vật trong sản xuất cây giống có múi ở đồng bằng sông Cửu Long. Luận án tiến sĩ Nông nghiệp. Viện Khoa học Kỹ thuật Việt Nam. Hà Nội.
- Nguyễn Thị Minh Châu và Nguyễn Bảo Vệ, 2005. Ảnh hưởng của dung dịch phun lá ( $ZnSO_4 + MnSO_4$ ) đến triệu chứng vàng lá gân xanh ở cam Mật và quýt Đường có tuổi cây và mức độ bệnh khác nhau. Hội thảo Quốc gia năm 2005 "Cây có múi, xoài và khóm" tại Đại học Cần Thơ, tổ chức ngày 1/3/2005. Nhà xuất bản Nông nghiệp. Hà Nội. 416 trang.
- Quy chuẩn Việt Nam (QCVN) 01-119:2012/BNN-PTNT. Ban hành kèm theo Thông tư số 63/2012/TT-BNNPTNT, ngày 14 tháng 12 năm 2012 của Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.
- Rao, S.S.R., Vardhini, B.V., Sujatha, E. and Anuradha, S., 2002. Brassinosteroids - A new class of phytohormones. *Current Science*. 82 (10): 1239-1245.
- Schneider, H. 1968. Anatomy of greening diseased sweet orange shoots. *Phytopathology*. 58: 1155-1160.
- Takushi, T., Toyozato, T., Kawano, S., et al., 2007. Scratch method for simple, rapid diagnosis of citrus huanglongbing using iodine to detect high accumulation of starch in the citrus leaves. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*. 73(1): 3-8.
- Tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN) 5483:2007. Sản phẩm rau, quả. Xác định độ axit chuẩn độ được. 10 trang.
- Tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN) 6427-2-1998 (ISO 6557-2-1984). Rau quả và các sản phẩm rau quả. Xác định hàm lượng axit Ascorbic - Phần 2 - Phương pháp thông dụng. 6 trang.
- Trần Thượng Tuấn, Nguyễn Bảo Vệ, Lê Thị Xua và ctv., 1999. Điều tra, thu thập, bảo tồn và đánh giá một số giống cây ăn trái đặc sản của các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long. Báo cáo khoa học, đề tài nghiên cứu cấp bộ. Khoa Nông Nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ, 6-67.
- Trần Văn Hậu, 2009. Giáo trình xử lý ra hoa cây ăn trái. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh. 314 trang.
- Ủy ban nhân dân tỉnh Hậu Giang, 2016. Báo cáo. Sơ kết 3 năm thực hiện Chương trình phát triển nông sản chủ lực tỉnh Hậu Giang giai đoạn 2013 - 2016, định hướng đến năm 2020. Tài liệu lưu hành nội bộ.
- Wang, C. F., You, Y., Chen, F. L. X., Wang, J. and Wang, J. S., 2004. Adjusting effect of Brassinolide and  $GA_4$  on the orange growth. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*. 26 (5):759-762.
- Whitaker, D.C., Giurcanu, M.C., Young, L.J., et al., 2014. Starch content of citrus leaves permits diagnosis of huanglongbing in the warm season but not cool season. *HortScience*. 49(6): 757-762.