



DOI:10.22144/ctu.jsi.2016.080

KHẢO SÁT SỰ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA BỌ VÒI VOI *Diocalandra frumenti* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) GÂY HẠI CÂY DỪA BẰNG DẤU PHÂN TỬ ISSR

Nguyễn Hồng Ứng¹, Triệu Phương Linh², Huỳnh Kỳ² và Lê Văn Vàng²

¹Khoa Nông nghiệp - Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh

²Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 05/08/2016

Ngày chấp nhận: 26/10/2016

Title:

Genetic diversity among *Diocalandra frumenti* (Coleoptera: Curculionidae) on coconut by ISSR marker

Từ khóa:

Bọ vòi voi, *Diocalandra frumenti*, Dừa, ISSR, kiểu hình

Keywords:

Coconut, *Diocalandra frumenti*, ISSR, phenotypic

ABSTRACT

Diocalandra frumenti is the severely dangerous insect causing various problems to coconut in several provinces in the Mekong Delta of Vietnam. The genetic diversity was analyzed by applying ISSR marker (Inter-simple sequence repeats) as a molecular marker in order to make a specific picture of the population diversity of *Diocalandra frumenti* for further studies. In this research, 40 samples of adult insect were collected from 8 provinces in the Mekong Delta and 4 provinces in the southeast region. Four phenotypes were classified based on morphological characters, and ten ISSR primers were applied in the experiment to identify the genetic diversity. The results included 161 amplified fragments generated by 10 set of selected ISSR primers, of which 148 fragments were polymorphic (91.7%). Genetic relationship of 40 pests were clustered by UPGMA to demonstrate the differentiation of all species, showing an extensive genetic diversity ranged from 3.16 to 8.54. According to the diagram, 40 samples were grouped into four main clusters. This report illustrates the influence of geographical origin on genetic diversity.

TÓM TẮT

Bọ vòi voi (*Diocalandra frumenti*) hiện là một trong những côn trùng gây hại nghiêm trọng trên dừa tại các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long, do đó khảo sát sự đa dạng di truyền của quần thể bọ vòi voi nhằm tạo nền tảng cho việc nghiên cứu biện pháp quản lý dịch hại hiệu quả nhất. Nghiên cứu được tiến hành thu thập 40 mẫu bọ vòi voi *D. frumenti* tại 8 tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long và 4 tỉnh miền Đông Nam Bộ, kết quả khảo sát hình thái đã sắp xếp dựa trên 4 kiểu hình chính. Sự đa dạng kiểu gen được khảo sát bằng 10 dấu chỉ thị phân tử ISSR. Trong tổng số 161 băng DNA được khuếch đại từ 10 ISSR có 148 băng đa hình đạt tỉ lệ 91,7%. Kết quả phân tích sơ đồ nhánh dựa vào phương pháp UPGMA đã chứng minh quần thể bọ vòi voi có sự đa dạng về kiểu gen rất cao và có khoảng cách di truyền dao động từ 3,16 - 8,54. Bốn mươi mẫu nghiên cứu được chia thành 4 nhóm chính, phần lớn các các kiểu hình khác nhau của cùng 1 địa điểm thu mẫu được xếp cùng một nhóm. Riêng quần thể bọ vòi voi hiện diện ở miền Đông Nam Bộ được xếp thành một nhóm. Kết quả này cho thấy đặc điểm di truyền của quần thể bọ vòi voi ở ĐBSCL và miền Đông Nam Bộ là khác nhau và cho thấy sự đa dạng di truyền đã chịu ảnh hưởng của khoảng cách địa lý.

Trích dẫn: Nguyễn Hồng Ứng, Triệu Phương Linh, Huỳnh Kỳ và Lê Văn Vàng, 2016. Khảo sát sự đa dạng di truyền của bọ vòi voi *Diocalandra frumenti* (Coleoptera: Curculionidae) gây hại cây dừa bằng dấu phân tử ISSR. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Số chuyên đề: Nông nghiệp (Tập 3): 128-135.

1 GIỚI THIỆU

Bọ vòi voi *Diocalandra frumentis* (Coleoptera: Curculionidae) được xem là dịch hại chính trên cây dừa (*Cocos nucifera*) (Hill, 1983). Ngoài thiệt hại trực tiếp, sự gây hại của bọ vòi voi *D. frumentis* làm mô cây bị tổn thương, tạo điều kiện cho các vi sinh vật có hại xâm nhập (Salomone và Caballera Ruano, 2008). Tại Việt Nam, *D. frumentis* hiện diện ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long, miền Đông Nam bộ, miền Trung. Cả thành trùng đực và cái đều có 4 đốm màu vàng trên 2 cặp cánh cứng, mỗi cánh có 2 đốm (Nguyễn Thị Thu Cúc, 2015). Bọ vòi voi là loài nhỏ, kích thước cơ thể dài từ 6 - 8 mm, màu đen sáng, trên cánh trước có 4 đốm lớn màu vàng nâu hoặc nâu đen, chiếm gần hết diện tích của cánh. (Hill, 1983). Ấu trùng bọ vòi voi đục thành đường hầm trong vỏ trái, có thể đục đến gần dừa làm cho trái rụng (Lever, 1979; Giblin-Davis, 2011). Nếu sự tấn công xảy ra ở trái lớn (trên 3 tháng tuổi) sẽ làm trái méo mó, kích thước nhỏ (Nguyễn Thị Thu Cúc, 2015). Ngoài ra, trên một số vườn dừa ở tỉnh Bến Tre còn phát hiện bọ vòi voi gây hại trong rễ dừa và thân dừa (Nguyễn Thị Nguyệt, 2012). *D. frumentis* còn được ghi nhận là gây hại trên cau, dừa nước và nhiều loài cây thuộc họ cọ dầu khác ở nhiều nơi trên thế giới (CABI, 2009; EPPO, 2012). Các nghiên cứu di truyền quần thể là rất quan trọng bởi vì sự biến đổi gene của một loài có liên quan trực tiếp với khả năng chịu được các điều kiện khác nhau ở môi trường mới (Barbosa *et al.*, 2014; Zaleski *et al.*, 2013). Trong những năm gần đây, ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats) đã được sử dụng để nghiên cứu về đa dạng di truyền cho nhiều sinh vật. ISSR là một loại chỉ thị phân tử sử dụng các đoạn trình tự đơn giản (2 - 5 nucleotide) được lặp lại nhiều lần. Phương pháp này tương đối đơn giản, dễ thực hiện, chi phí thấp, và phù hợp cho sinh vật có thông tin di truyền còn chưa đầy đủ (Ng & Tan, 2015). Luque *et al.* (2002) đã chứng minh rằng phương pháp ISSR là phù hợp để nghiên cứu sự biến đổi di truyền trong cùng loài và khác loài trong các nhóm côn trùng. Phương pháp ISSR đã được sử dụng khá phổ biến trong nghiên cứu đa dạng di truyền ở côn trùng như bộ Lepidoptera (Luque *et al.*, 2002), Diptera (Chong *et al.*, 2014), Hemiptera (Xie *et al.*, 2014),

Neuroptera (Barbosa *et al.*, 2014), Coleoptera (Souza *et al.*, 2015).

Miền Tây Nam Bộ có nền khí hậu nhiệt đới ẩm với tính chất cận xích đạo, thể hiện rõ rệt với nhiệt độ trung bình hàng năm 24 – 27°C, biên độ nhiệt trung bình năm 2 – 30°C, chênh lệch nhiệt độ ngày và đêm thấp, ít có bão hoặc nhiễu loạn thời tiết. Khí hậu có hai mùa rõ rệt, mùa mưa tập trung từ tháng 5 - 10, lượng mưa chiếm đến 99% tổng lượng mưa của cả năm. Mùa khô từ tháng 12 đến tháng 4 năm sau, hầu như không có mưa. Đây được xem là các yếu tố khí hậu của vùng thích hợp cho các sinh vật sinh trưởng và phát triển (Mạnh Tráng, 2013). Trong khi đó, miền Đông Nam Bộ nằm trong miền khí hậu phía Nam, Đông Nam Bộ có đặc điểm của vùng khí hậu cận xích đạo với nền nhiệt độ cao và hầu như không thay đổi trong năm, đặc biệt có sự phân hoá sâu sắc theo mùa, phù hợp với hoạt động của gió mùa. Lượng mưa dồi dào trung bình hàng năm khoảng 1.500 – 2.000 mm. Khí hậu của vùng tương đối ổn định, ít có thiên tai nhưng về mùa khô có lượng mưa thấp gây khó khăn cho sản xuất và sinh hoạt.

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá sự đa dạng di truyền của loài bọ vòi voi *D. frumentis* được thu thập tại 8 tỉnh thuộc Đồng bằng sông Cửu Long và 4 tỉnh thuộc miền Đông Nam Bộ làm cơ sở cho việc nghiên cứu biện pháp quản lý đối tượng gây hại này.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Vật liệu nghiên cứu và phương pháp thu mẫu

Thu thập ngẫu nhiên 150 cá thể bọ vòi voi tại mỗi địa điểm tương ứng với mỗi tỉnh (tổng cộng 12 tỉnh) và xếp theo nhóm dựa trên màu sắc cánh. Các cá thể có cùng màu sắc cánh được xếp chung 01 nhóm. Bốn mươi mẫu bọ vòi voi được thu thập từ các vườn dừa và dừa nước thuộc 8 tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long và 4 tỉnh miền Đông Nam Bộ, được mã hóa theo kiểu màu sắc trên cánh và địa phương (tên tỉnh) đã thu thập nguồn bọ vòi voi (Bảng 1). Thời gian thu mẫu từ từ tháng 02 đến tháng 4 năm 2016.

Bảng 1: Danh sách mẫu bọ vòi voi được mã hóa theo địa phương và kiểu hình

STT	Ký hiệu	Kiểu hình	Nơi thu mẫu (Tỉnh/Thành phố)	STT	Ký hiệu	Kiểu hình	Nơi thu mẫu (Tỉnh/Thành phố)
1	BT1	1	Bến Tre	21	ST1	1	Sóc Trăng
2	BT2	2	Bến Tre	22	ST2	2	Sóc Trăng
3	BT3	3	Bến Tre	23	ST3	3	Sóc Trăng
4	CT1	1	Cần Thơ	24	VL1	1	Vĩnh Long
5	CT2	2	Cần Thơ	25	VL2	2	Vĩnh Long
6	CT3	3	Cần Thơ	26	VL3	3	Vĩnh Long

STT	Ký hiệu	Kiểu hình	Nơi thu mẫu (Tỉnh/Thành phố)	STT	Ký hiệu	Kiểu hình	Nơi thu mẫu (Tỉnh/Thành phố)
7	CT4	4	Cần Thơ	27	ĐN1	1	Đồng Nai
8	HG1	1	Hậu Giang	28	ĐN2	2	Đồng Nai
9	HG2	2	Hậu Giang	29	ĐN3	3	Đồng Nai
10	HG3	3	Hậu Giang	30	ĐN4	4	Đồng Nai
11	LA1	1	Long An	31	BD1	1	Bình Dương
12	LA2	2	Long An	32	BD2	2	Bình Dương
13	LA3	3	Long An	33	BD3	3	Bình Dương
14	LA4	4	Long An	34	TP1	1	TP Hồ Chí Minh
15	TG1	1	Tiền Giang	35	TP2	2	TP Hồ Chí Minh
16	TG2	2	Tiền Giang	36	TP3	3	TP Hồ Chí Minh
17	TG3	3	Tiền Giang	37	VT1	1	Bà Rịa-Vũng Tàu
18	TV1	1	Trà Vinh	38	VT2	2	Bà Rịa-Vũng Tàu
19	TV2	2	Trà Vinh	39	VT3	3	Bà Rịa-Vũng Tàu
20	TV3	3	Trà Vinh	40	VT4	4	Bà Rịa-Vũng Tàu

2.2 Ly trích DNA

DNA của 40 mẫu bọ vòi voi được ly trích theo quy trình của Taylor và Powell (1982) được tinh chỉnh theo các bước sau: cân khoảng 20 - 50 mg mẫu bọ vòi voi, nghiền mịn mẫu với 1000 µl CTAB (2X) đã được ủ nóng ở 65°C trong 15 phút. Sau khi nghiền mịn, mẫu được cho vào tuýp 1,5 ml và thêm 50 µl SDS 10%, 5 µl proteinase K, 10 µl ME trộn đều và ủ 65°C trong 1 giờ (10 phút đảo 1 lần). Sau khi ủ, mẫu được ly tâm 13000 vòng/ phút, phần dung dịch bên trên được chuyển sang tuýp mới. Hỗn hợp mẫu ly trích được làm sạch 2 lần với CI (Chloroform: Isoamylalcohol; 24: 1). Sau đó, mẫu được thêm 5 µl RNase, trộn đều và ủ 37°C trong 1 giờ.

Hỗn hợp mẫu sau khi ủ được làm sạch 1 lần nữa với CI. Tiếp đến thêm isopropanol theo tỉ lệ 1:1 và ủ lạnh (-20°C) trong 30 phút. Hỗn hợp ly trích được ly tâm ở tốc độ 13000 vòng/ phút trong 10 phút, sau khi ly tâm sẽ loại bỏ phần dung dịch bên trên và giữ lại phần tủa DNA. Mẫu DNA tủa được rửa 2 lần trong cồn 70%, sau đó DNA được phơi khô và hoà tan trong 30 µl TE (pH 8.0). Mẫu DNA được trữ ở tủ lạnh -20°C để thực hiện các thí nghiệm tiếp sau.

2.3 ISSR-PCR

Mười ISSR được sử dụng để phân tích, trình tự mỗi được tổng hợp theo Wolfe *et al.* (1998), Luque *et al.* (2002), Jabbarzadeh *et al.* (2010) và Xie *et al.* (2014) tại công ty PhusaBiochem (Bảng 2).

Bảng 2: Trình tự mỗi ISSR sử dụng phân tích

STT	Tên mỗi	Nhiệt độ bắt mỗi	Trình tự mỗi
1	ISSR_Bb1	55,0	5'-GTGGTGGTGGC-3'
2	ISSR_Bb7	55,0	5'-GGGCGAGAGAGAGAGAGA-3'
3	ISSR_Bn1	42,7	5'-TCCCTCCTCCTCC-3'
4	ISSR_Bn3	51,4	5'-AGGTCCAGCAGCAGCAG-3'
5	ISSR_Bn4	55,4	5'-CACGTACACTGTGTGTGTGTGTGT-3'
6	ISSR_Bn5	46,5	5'-GACGATATGAGAGAGAGAGAGA-3'
7	ISSR_P1	51,0	5'-CACACACACACAAG-3'
8	ISSR_P2	50,0	5'-AGTGAGTGAGTG-3'
9	ISSR_P3	48,2	5'-GACAGACAGACAGACA-3'
10	ISSR_P6	52,4	5'-GAGAGAGAGAGAGAGAT-3'

Phản ứng PCR được tiến hành trong 20 µl gồm: Buffer 10X, dNTPs, primer ISSRs (Bảng 2), Taq DNA Polymerase, mẫu DNA và H₂O. Phản ứng PCR được thực hiện qua 40 chu kỳ gia nhiệt trên máy PCR GenAmp PCR system 2007 như sau: 5 phút ở 94°C, 40 chu kỳ gồm 30 giây ở 94°C, 30 giây ở nhiệt độ bắt mỗi (Bảng 2), 72°C trong 40 giây, sau đó là 7 phút ở 72°C và trữ ở 10°C để mẫu không bị biến đổi và có thể sử dụng cho các bước tiếp theo trong một thời gian. Sản phẩm PCR được điện di trong 70 phút với cường độ dòng điện 24V

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

2.4 Phân tích số liệu

Dựa vào phổ điện di, các băng đa hình được nhận diện bằng Gel Analyzer kết quả mã hóa dạng

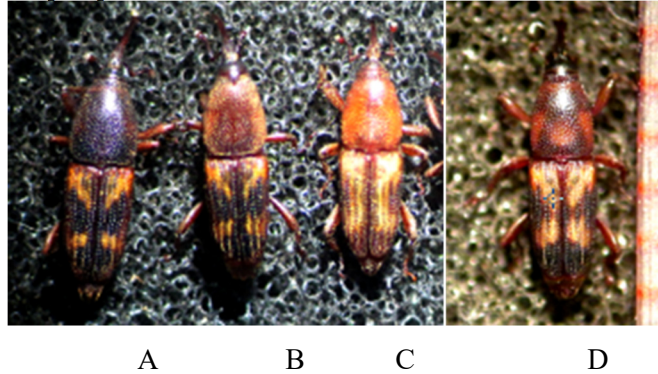
nhị phân, theo nguyên tắc: có băng được khuếch đại = 1 và không có băng được khuếch đại = 0. Kết quả mã hóa dạng nhị phân được sử dụng để phân tích khoảng cách liên kết theo phương pháp UPGMA bằng phần mềm STATISTICA 5.5.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Đặc điểm hình thái

Dựa vào màu sắc cánh, đốm trên cánh và đầu, các mẫu thu thập được sắp xếp theo 4 kiểu hình

chính (Bảng 1, Hình 1): (1) nền cánh màu đen, trên cánh có 04 đốm màu vàng rõ nét, đầu có màu đen; (2) nền cánh màu nâu đen, trên cánh có 04 đốm màu vàng rõ nét, đầu có nâu hoặc vàng nâu; (3) nền cánh màu nâu hoặc nâu đen, trên cánh có 04 đốm không rõ nét, tạo một vệt dài màu vàng sáng trên mỗi cánh, đầu màu vàng hoặc vàng nâu và (4) nền cánh màu nâu hoặc nâu đen, 04 đốm màu vàng rõ nét, đầu có nhiều đốm lớn màu vàng sáng.



Hình 1: Các kiểu hình mẫu bọ vòi voi: kiểu hình 1 (A), kiểu hình 2 (B), kiểu hình 3 (C) và kiểu hình 4 (D)

3.2 Phân tích đa hình của 40 mẫu bọ vòi voi

Kết quả khuếch đại của 10 primer ISSR đã được sử dụng trong phản ứng PCR cho 40 mẫu bọ vòi voi được thể hiện ở Bảng 3, cho thấy có tổng số 161 băng được khuếch đại, trong đó có 148 băng

đa hình chiếm tỉ lệ 91,7%, trung bình $14,8 \pm 3,22$ băng đa hình cho mỗi chỉ thị. Hai đoạn mỗi ISSR_Bn4 và ISSR_P6 trong tổng số 10 đoạn mỗi được sử dụng cho tỉ lệ đa hình là 100%, chỉ thị cho tỉ lệ đa hình thấp nhất đạt 76,5% (ISSR_P3).

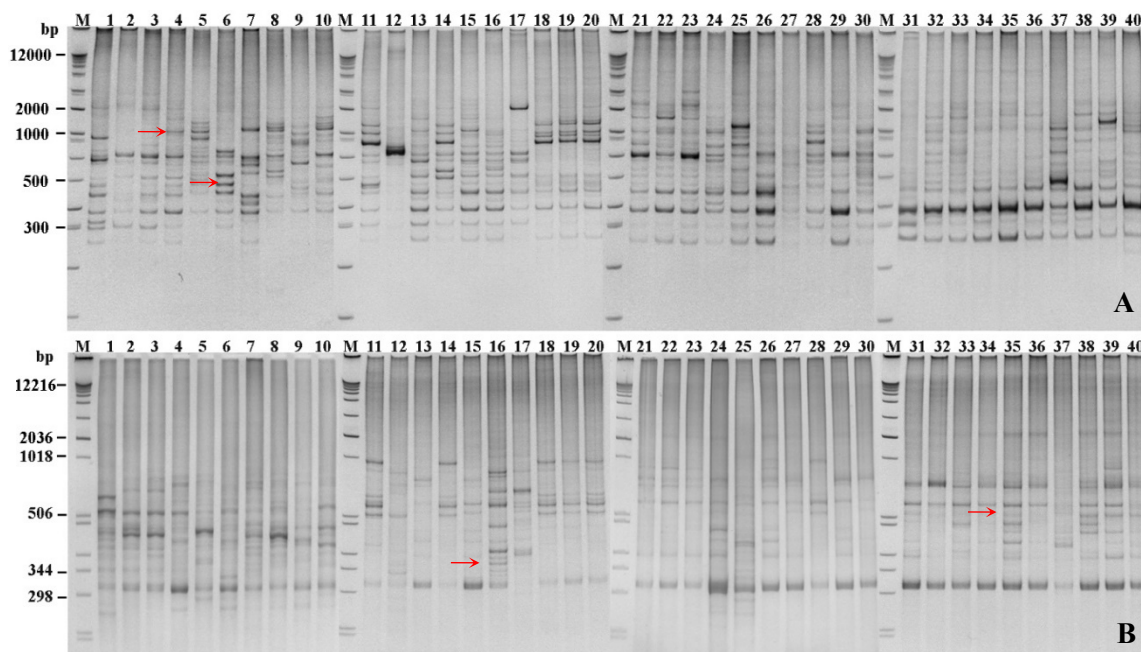
Bảng 3: Kết quả phân tích sự đa hình các phân đoạn DNA của 10 chỉ thị IS

STT	Tên môi	Kích thước (bp)	Tổng số băng DNA	Số băng đa hình	Tỉ lệ băng đa hình
1	ISSR_Bb1	300-2000	12	11	91,7
2	ISSR_Bb7	220-3500	16	14	87,5
3	ISSR_Bn1	100-3000	15	14	93,3
4	ISSR_Bn3	270-3000	21	20	95,2
5	ISSR_Bn4	300-3000	15	15	100
6	ISSR_Bn5	500-3000	15	14	93,3
7	ISSR_P1	150-1000	15	14	93,3
8	ISSR_P2	100-1000	14	12	85,7
9	ISSR_P3	200-2000	17	13	76,5
10	ISSR_P6	260-2000	21	21	100
Tổng			161	148	
Trung bình			$16,1 \pm 2,88$	$14,8 \pm 3,22$	91,7

Trong các chỉ thị, ISSR_Bn3 thể hiện sự đa hình giữa các mẫu khá rõ nét (Hình 2a), với 21 dãy băng được khuếch đại có đến 20 băng đa hình (95,2%), trọng lượng phân tử lớn nhất có kích thước khoảng 3000 bp và nhỏ nhất khoảng 270 bp. Chỉ thị ISSR_P6 cũng thể hiện sự đa hình cao (Hình 2b), với 21 dãy băng được khuếch đại đều là

băng đa hình (100%), trọng lượng phân tử trong khoảng 260 - 2000 bp.

Trong nghiên cứu này, phương pháp ISSR đã đánh giá được sự đa dạng di truyền của quần thể bọ vòi voi, các đoạn môi được sử dụng đều cho tỉ lệ băng đa hình cao.



Hình 2: Phổ điện di sản phẩm PCR của 40 mẫu bọ vòi voi với chỉ thị ISSR_Bn3 (A), ISSR_P6 (B) ((A) M: ladder 1 Kb plus (invitrogen, USA); (B) M: ladder 1 Kb (invitrogen, USA); 1 - 40 mẫu bọ vòi voi theo thứ tự trong Bảng 1)

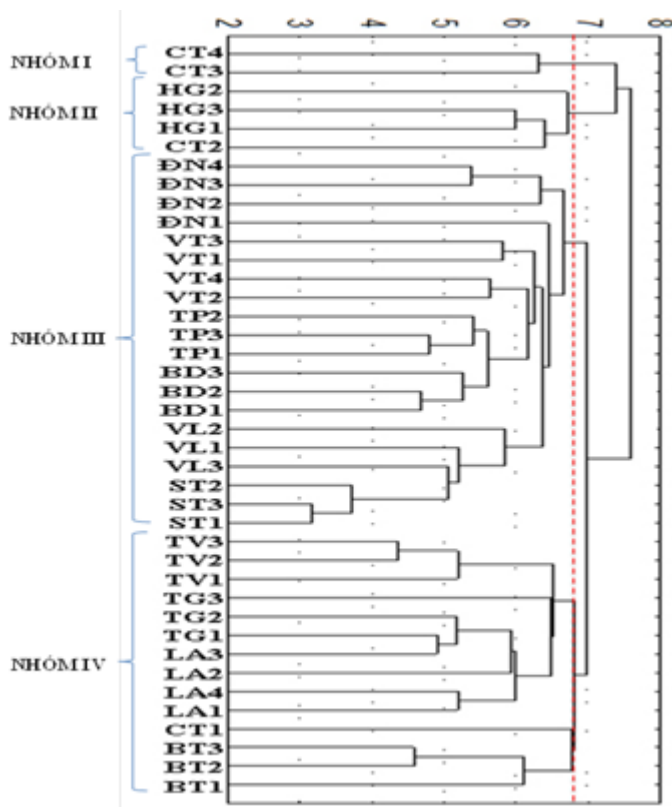
3.3 Phân tích nhóm và lập giản đồ phả hệ của 40 mẫu bọ vòi voi dựa trên dữ liệu sản phẩm PCR

Khoảng cách di truyền được thể hiện qua bảng ma trận (Bảng 4) cho thấy giữa các mẫu bọ vòi voi nghiên cứu dao động từ 3,16 - 8,54. Dựa vào kết quả bảng ma trận, sơ đồ phân nhánh thể hiện mối tương quan di truyền giữa 40 mẫu bọ vòi voi được thiết lập (Hình 3). Bốn mươi mẫu được chia thành 4 nhóm chính. Nhóm I gồm 2 mẫu (CT4, CT3); nhóm II gồm 3 mẫu (HG2, HG3, HG1, CT2); nhóm III gồm 20 mẫu (ĐN4, ĐN3, ĐN2, ĐN1, VT3, VT1, VT4, VT2, TP2, TP3, TP1, BD3, BD2, BD1, VL2, VL3, VL1, ST2, ST3, ST1). Nhóm III được chia thành 2 nhóm nhỏ, hai nhóm nhỏ lại được chia thành nhiều nhóm phụ với khoảng cách di truyền gần nhau hơn. Trong đó, ST3 và ST1 là 2 mẫu có khoảng cách di truyền gần nhau nhất (3,16). Nhóm IV gồm 14 mẫu (TV3, TV2, TV1, TG3, TG2, TG1, LA3, LA2, LA4, LA1, CT1, BT3, BT2, BT1) được chia thành 4 nhóm nhỏ, và CT1 có khoảng cách di truyền lớn so với 13 mẫu còn lại.

Nhìn chung, đa số các mẫu có kiểu hình khác nhau được thu cùng một địa điểm sẽ xếp cùng 1 nhóm, riêng mẫu thu tại Cần Thơ lại có sự khác biệt di truyền ở các kiểu hình khác nhau. Các mẫu được thu tại miền Đông Nam Bộ được phân thuộc cùng một nhóm, tuy nhiên, ở nhóm này cũng có sự

hiện diện của mẫu thu tại tỉnh Sóc Trăng và Vĩnh Long, điều này có thể là do sự di trú hoặc trao đổi, vận chuyển sản phẩm đã mang theo các cá thể, tạo điều kiện cho sự bắt cặp và sinh sản giữa các cá thể bọ vòi voi ở những vùng địa lý khác nhau. Có nhiều yếu tố tạo nên sự khác biệt di truyền trong quần thể như khả năng phát tán, sự cách ly địa lý, ảnh hưởng từ môi trường sống hay nguồn thức ăn (Kerdelhué *et al.*, 2002). Qua đó cho thấy sự tương quan giữa khoảng cách di truyền và khoảng cách địa lý là kết luận được tìm thấy ở nhiều nghiên cứu về đa dạng di truyền ở côn trùng.

Kết quả nghiên cứu về sự đa dạng di truyền trong quần thể đung dừa *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier (Coleoptera: Curculionidae) bằng kỹ thuật RAPD tại số vùng thuộc Dubai (Gadelhak và Enan, 2005) hay ở loài *Conotrachelus humeropicus* Fielder (Coleoptera: Curculionidae) tại vùng Amazon bằng kỹ thuật ISSR đã cho thấy có sự phân nhóm tương ứng với các cấu trúc địa lý (Souza *et al.*, 2015). Bên cạnh đó, sự biến động di truyền quần thể *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) thu thập từ các vùng khác nhau thuộc Malaysia khi phân tích bằng kỹ thuật ISSR cũng kết luận có mối tương quan giữa khoảng cách di truyền và khoảng cách địa lý (Chong *et al.*, 2014). Tương tự, kết quả nghiên cứu đa dạng di truyền dựa vào kỹ thuật ISSR trên rầy lưng trắng *Sogatella furcifera*



Hình 3: Sơ đồ phả hệ thể hiện mối tương quan di truyền giữa 40 mẫu bọ vòi voi tại các tỉnh ĐBSCL và miền Đông Nam Bộ

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1 Kết luận

Dấu phân tử ISSR đã cho thấy quần thể 40 mẫu bọ vòi voi được chia thành 4 nhóm chính dựa theo sơ đồ phả hệ, trong đó cho thấy sự đa dạng di truyền đã chịu ảnh hưởng của khoảng cách địa lý và điều kiện sinh thái.

4.2 Đề xuất

Nghiên cứu phân tích cấu trúc di truyền của quần thể của bọ vòi voi

Phân tích hình thái học của bọ vòi voi và sử dụng các đoạn mồi ISSR khác để làm rõ hơn cấu trúc của quần thể bọ vòi voi trúc của quần thể bọ vòi voi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Barbosa, N.C.C, Sérgio de Freitas and Morales, A.C, 2014. Distinct genetic structure in populations of *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera, Chrysopidae) shown by genetic markers ISSR and COI gene. *Revista Brasileira de Entomologia*. 58(2): 203-211.

CABI, 2009. *Diocalandra frumenti* (Fabricius). *Distribution Maps of Plant Pests* no. 249 1st revision.

Chong, Y.V., Chua, T.H. and Song, B.K., 2014. Genetic variations of *Chrysomya megacephala* populations in Malaysia (Diptera: Calliphoridae). *Advances in Entomology*. 2(1): 49-56

EPPO, 2012. EPPO Technical Document No. 1061. EPPO Study on the Risk of Imports of Plants for Planting EPPO Paris, 39 pages.

Gadelhak, G.G. and Enan, M.R., 2005. Genetic Diversity Among Populations of Red Palm Weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier (Coleoptera: Curculionidae), Determined by Random Amplified Polymorphic DNAPolymerase Chain Reaction (RAPD-PCR). *International Journal of Agriculture & Biology*. 7(3): 395-399.

Giblin-Davis, R.M., 2011. Borers of palms. In: *Insects on palms*. CABI Publishing, pp: 267 - 304.

Hill, D.S., 1983. *Diocalandra frumenti*. In: *Agricultural insect pests of the tropics and their control*. 2nd Edition. Cambridge University Press, pp. 478-479.

Kerdelhué, C., Roux-Morabito, G., Forichon, J., Chambon, J., Robert, A., Lieutier, F., 2002. Population genetic structure of *Tomicus piniperda* L. (Curculionidae: Scolytinae) on different pine species and validation of *T. destruens* (Woll.). *Molecular Ecology*. 11: 483-494.

- Lever, R.J.A.W., 1979. Pests of the Coconut Palm. FAO Plant Production and Protection
- Lepesme, P., 1947. Les insectes des palmiers. Paul Lechevalier (Edit). Paris, 904 pages.
- Luque, C., Legal, L., Staudter, H., Gers, C. and Wink, M., 2002. ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) as genetic markers in Noctuids (Lepidoptera). *Hereditas*. 136: 251-253.
- Mạnh Tráng (2013). Vị trí địa lý, điều kiện tự nhiên của vùng Đồng bằng sông Cửu Long. Thông tin nông thôn Việt Nam.
http://ptit.edu.vn/wps/portal/nongthonvn!/ut/p/c4/04_SB8K8xLLM9MSSzPy8xBz9CP0os3hLizBHd1cflwN_MyM3A08vc2cXVx83Y49AY_2CbEdFAO8ydg!/?WCM_GLOBAL_CONTEXT=/wps/wcm/connect/nongthonvn/nongthonvn/vungnongthon/dongbangsongcuulong/6b72e480404c19aba437fe9171cb7767 (truy cập ngày 30/6/2016).
- Mạnh Tráng (2013). Vị trí địa lý, điều kiện tự nhiên của vùng Đông Nam Bộ. Thông tin nông thôn Việt Nam.
http://ptit.edu.vn/wps/portal/nongthonvn!/ut/p/c4/04_SB8K8xLLM9MSSzPy8xBz9CP0os3hLizBHd1cflwN_MyM3A08vc2cXVx83Y49AY_2CbEdFAO8ydg!/?WCM_GLOBAL_CONTEXT=/wps/wcm/connect/nongthonvn/nongthonvn/vungnongthon/dongnambo/72fa6d00404c367ea669fe9171cb7767
- Ng, W.L and Tan, S.G., 2015. Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers. *ASM Science Journal*. 9(1): 30-39.
- Nguyễn Thị Nguyệt, 2012. Bộ vòi voi trên cây dứa. Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Bến Tre.
<http://dost-bentre.gov.vn/TinTuc/NoiDung.aspx?tintuc=6446>
- Nguyễn Thị Thu Cúc, 2015. Côn trùng, nhện gây hại cây ăn trái tại Việt Nam và thiên địch. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ. Cần Thơ, Việt Nam, 623 pages.
- Salomone, F. and Cabellero, R.M., 2008. New pest for Phoenix canariensis Hort. Ex. Chab. in its original habitat, the Canary Islands. Situation report. 2 pages.
- Souza, A. das G.C. de, Sousa, N.R., Fernandes, J. dos S., Pamplona, A.M.S.R., Costa, J.N.M., Trevisan, O., 2015. Genetic diversity of *Conotrachelus humeropictus* Fielder (Coleoptera: Curculionidae) detected by ISSR markers. *Embrapa Amazônia Ocidental*.
<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/135688/1/Anais-ISTH-nov-2015-FR063.pdf> (Ngày truy cập: 21/06/2016).
- Zaleski, S.R.M., Lazzari, S.M.N., Lazzarotto, T.P., Iede, E.T., Marques, F.A., 2013. Genetic structure of populations of *Pissodes castaneus* (De Geer) (Coleoptera, Curculionidae) using amplified fragment length polymorphism. *Revista Brasileira de Entomologia*. 57(4): 405–410.
- Xie, J.N., Guo, J.J., Jin, D.C. and Wang, X.J., 2014. Genetic Diversity of *Sogatella furcifera* (Hemiptera: Delphacidae) in China Detected by Inter-Simple Sequence Repeats. *Journal of Insect Science*. 14 (233).
- Wolfe, A.D, Q. Xiang and Kephart, S.R., 1998. Assessing hybridization in natural populations of *Penstemon* (Scrophulariaceae) using hypervariable intersimple sequence repeat (ISSR) bands. *Molecular Ecology*. 7: 1107-1125.
- Jabbarzadeh, Z., Khosh-khui, M., Salehi, H. and Saberivand, A., 2010. Inter simple sequence repeat (ISSR) markers as reproducible and specific tools for genetic diversity analysis of rose species. *African Journal of Biotechnology*. 9(37): 6091-6095.