

TUYỂN CHỌN VI KHUẨN VÙNG RỄ KÍCH THÍCH TĂNG TRƯỞNG VÀ PHÒNG TRỪ SINH HỌC BỆNH HÉO XANH DO VI KHUẨN *RALSTONIA SOLANACEARUM* TRÊN CÂY CÀ CHUA

Trần Vũ Phấn¹, Phan Thị Mỹ Phúc¹, Nhan Hoàng Phong² và Duy Văn Ai³

ABSTRACT

Screening of plant growth promoting bacteria promising for biocontrol of bacterial wilt disease of tomato caused by Raltonia solanacearum Smith have proceeded in succeeding steps: define the ability of host root colonization and of plant growth promotion, evaluate the ability of antagonism / induced resistance against the pathogen, and the capability to control the bacterial wilt disease. Among more than 500 rhizobacterial isolates isolated from healthier plants in the vegetable fields tested, 40 hopeful isolates that were stored at -20°C in King's B medium containing 20% glycerol have been used in the current study. Results have proved that five rhizobacterial isolate named Tbt1.18.1et, Tbt1.12.7et, Tbt1.18.2t, T1.12.7.1et and T4.6, have exposed as promising biofertilizers and as agents for biocontrolling bacterial wilt disease.

Keywords: tomato, plant growth promoting rhizobacteria, *R. solanacearum*, antagonist

Title: Screening rhizobacteria for plant growth promotion and biocontrol of bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) on tomato

TÓM TẮT

Đề tài được thực hiện nhằm tuyển chọn các chủng vi khuẩn vùng rễ kích thích cây tăng trưởng và triển vọng trong phòng trừ sinh học bệnh héo xanh do vi khuẩn Ralstonia solanacearum Smith trên cây cà chua. Quy trình sàng lọc được thực hiện qua các bước đánh giá về khả năng định vị trên vùng rễ và kích thích tăng trưởng, khả năng đối kháng / kích kháng với vi khuẩn gây bệnh, và khả năng kiểm soát bệnh héo xanh. Từ >500 chủng vi khuẩn phân lập từ các cây khỏe trong ruộng canh tác cây trồng cạn, đã chọn lọc sơ khởi 40 chủng, trữ ở -20°C trong môi trường King's B có 20 % glycerol. Kết quả đã tuyển chọn được 5 chủng vi khuẩn Tbt1.18.1et, Tbt1.12.7et, Tbt1.18.2t, T1.12.7.1et và T4.6 có khả năng định vị ở vùng rễ, vừa kích thích tăng trưởng cây cà chua, vừa có khả năng kiểm soát được bệnh héo xanh do R. solanacearum.

Từ khóa: cà chua, vi khuẩn vùng rễ kích thích tăng trưởng, *R. solanacearum*, đối kháng

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* còn là tác nhân gây hại phổ biến và quan trọng trên cà chua, cà tím, khoai tây, ớt, thuốc lá, đậu phộng, dưa, bông vải, gừng,... Trên cà chua, vi khuẩn gây bệnh héo tươi, là một trong những bệnh gây hại nghiêm trọng nhất đối với hầu hết các vùng trồng cà chua trên thế giới (CABI, 2003).

¹ Bộ Môn Bảo Vệ Thực Vật, Khoa Nông Nghiệp & SHƯD, Trường Đại học Cần Thơ

² Công ty Syngenta Việt Nam

³ Nguyên sinh viên Nông Học khóa 30 (2004-2008), Trường Đại học Cần Thơ

Việc phòng trị bệnh héo xanh thường rất khó khăn do chúng có phạm vi ký chủ rộng, có khả năng lưu tồn rất hữu hiệu trong đất (Đỗ Tấn Dũng, 2004). Một trong các biện pháp hữu hiệu để đối phó với bệnh là ứng dụng kỹ thuật ghép giống cà chua có năng suất cao với các gốc ghép chuyên dùng do Trung tâm nghiên cứu và phát triển rau châu Á (AVRDC) cung cấp. Tuy nhiên, biện pháp này cũng có một số trở ngại do nông dân phải thêm chi phí mua cây ghép và vận chuyển. Một chiến lược theo hướng thân thiện với môi trường hữu hiệu trong quản lý các bệnh có nguồn gốc từ đất là sử dụng vi khuẩn có ích sống ở vùng rễ cây trồng (Nakkeeran *et al.*, 2006). Trên thế giới, các nghiên cứu trong hơn thập niên qua, đã ghi nhận có nhiều chủng vi khuẩn vùng rễ vừa kích thích cây tăng trưởng, vừa là tác nhân phòng trừ sinh học các bệnh có nguồn gốc từ đất theo cơ chế đối kháng, và cả theo cơ chế kích kháng lưu dẫn (induced systemic resistance = ISR), đây là công cụ tiềm năng cho nông nghiệp bền vững (Siddiqui, 2006). Đến nay đã có trên 33 sản phẩm với các chủng vi khuẩn vùng rễ khác nhau (thuộc các chi *Pseudomonas*, *Bacillus*) đã được thương mại hóa ở Bắc Mỹ (Nakkeeran *et al.*, 2006). Ở nước ta, đã có những công trình nghiên cứu nhằm phòng trị bệnh hại cây có nguồn gốc từ đất,... trong đó biện pháp sử dụng vi khuẩn đối kháng cũng được khuyến cáo (Vũ Triệu Mân, 2004). Tuy nhiên, việc ứng dụng các vi khuẩn vùng rễ kích thích tăng trưởng thực vật (PGPRs) thuộc chi *Bacillus* chưa được nhiều báo cáo đề cập đến.

Đề tài "Chọn lọc và ứng dụng vi khuẩn vùng rễ kích thích tăng trưởng để kích kháng chống một số bệnh hại có nguồn gốc từ đất cho cây cà chua và ớt" được thực hiện. Báo cáo này trình bày kết quả nghiên cứu về hiệu quả phòng trị bệnh héo xanh do *R. solanacearum* và khả năng kích thích tăng trưởng cây cà chua của một số chủng PGPRs triển vọng.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

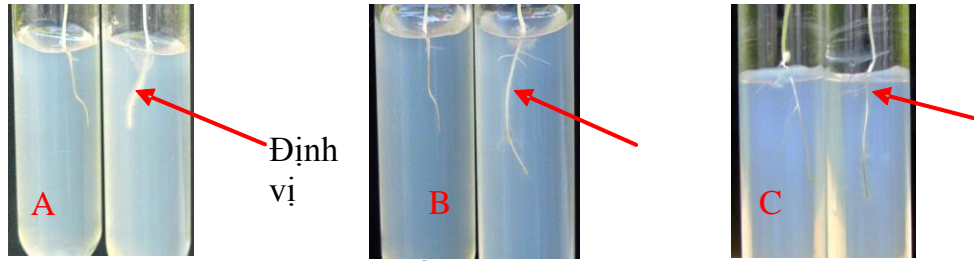
2.1 Nguồn vi sinh vật

- Vi khuẩn vùng rễ: được phân lập từ những khảo sát trước, từ những cây có biểu hiện tăng trưởng vượt trội trên các ruộng khảo sát, đã qua chọn lọc sơ khởi, trừ trong môi trường King's B lỏng với 20 % glycerol, ở -20°C.

- Vi khuẩn *Ralstonia solanacearum*: phân lập trên môi trường TZC, từ cây cà chua bị bệnh héo xanh, chọn chủng độc, rồi trừ ở 4°C với môi trường King's B agar.

2.2 Khảo sát khả năng định vị và kích thích tăng trưởng của vi khuẩn

Hạt cà chua đã khử trùng mặt ngoài rồi ngâm 24 giờ với huyền phù vi khuẩn (106 cfu/ml), được cấy qua môi trường WA 0,6% trong ống nghiệm. Ghi nhận sự phát triển của mầm, khả năng định vị của vi khuẩn trên rễ. Mức độ định vị được đánh giá: +++ (>50%), ++ (21-50 %), + (1-20 %) (Silva *et al.*, 2003).



Hình 1: Sự định vị của vi khuẩn trên rễ cà chua: (A) +++,(B) ++,(C) +

2.3 Khả năng đối kháng của vi khuẩn vùng rễ đối với vi khuẩn *R. solanacearum*

Chà 100 μ l huyền phù *R. solanacearum* (10^8 cfu/ml) trên môi trường King's B agar trong đĩa petri. Tạo 4 lỗ (d= 7mm) cách đều nhau trên môi trường. Cho vào mỗi lỗ 20 μ l huyền phù của mỗi chủng vi khuẩn thử nghiệm (10^9 cfu/ml). Đánh giá hiệu quả ức chế *R. solanacearum* dựa trên bán kính vùng vi khuẩn gây bệnh bị ức chế (cm) sau khi ủ đĩa ở 30°C vào 1, 7, 11 ngày sau khi thử nghiệm (Lemessa, 2006).

2.4 Khả năng kích thích tăng trưởng & kiểm soát bệnh héo xanh trong chậu

Khảo sát (giống cà chua TN-323), thực hiện trong chậu, với đất đã khử trùng (121°C trong 45 phút), bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, với 4 lặp lại. Xử lý theo 2 cách:

- Nhằm đánh giá hiệu quả đối kháng: Trồng 3 cây/chậu. Các nghiệm thức bao gồm:

Đôi chứng chủng bệnh và không xử lý vi khuẩn đối kháng (ĐC1).

Đôi chứng không chủng bệnh và không xử lý vi khuẩn đối kháng (ĐC2).

Đôi chứng không chủng bệnh và có xử lý từng chủng vi khuẩn đối kháng.

Các nghiệm thức chủng bệnh và có xử lý từng chủng vi khuẩn đối kháng.

Vi khuẩn được nhân trong môi trường King'B lỏng 36 giờ trước khi xử lý. Cây được xử lý vi khuẩn vùng rễ lần 1 bằng cách ngâm hạt trong huyền phù vi khuẩn 4 giờ, và lần 2 bằng cách tưới (10^8 cfu/ml, 3ml/cây), 3 ngày trước khi gây nhiễm bệnh nhân tạo với vi khuẩn gây bệnh (10^6 tế bào vi khuẩn/ml, 15 ml/3 cây/chậu).

- Nhằm đánh giá hiệu quả kích kháng: Trồng tách rễ trong chậu đôi. Cây con 12 ngày tuổi được cắt rễ trụ, trồng sang chậu đôi chứa đất đã thanh trùng bằng autoclave (4 giờ ở 121°C), với $\frac{1}{2}$ bộ rễ đều nhau ở mỗi bên chậu đôi.

Các nghiệm thức bao gồm:

Đôi chứng chủng *R. solanacearum* ở 1 bên chậu đôi (ĐC1).

Đôi chứng hoàn toàn không chủng gì ở cả 2 bên chậu đôi (ĐC2).

Các đôi chứng chỉ chủng chủng PGPRs ở ngăn 1, không chủng ở ngăn 2.

Các nghiệm thức chủng PGPRs ở ngăn 1, ngăn 2 chủng *R. Solanacearum*.

Vi khuẩn vùng rễ (10^8 cfu/ml, 10 ml/chậu) được chủng vào 7 ngày sau khi trồng cây vào chậu đôi. Vi khuẩn gây bệnh (10^8 vi khuẩn/ml, 10 ml/bên chậu không có chủng PGPRs) được chủng vào 3 ngày sau khi chủng PGPRs, ngay sau khi tạo vết thương trên rễ.

Chỉ tiêu theo dõi gồm chiều cao cây, cấp bệnh khi cây có hiện tượng héo xanh dựa theo thang đánh giá của Deberdt *et al.* (1999).

2.5 Hiệu quả kiểm soát bệnh héo xanh trong điều kiện ngoài đồng

Thí nghiệm gồm 6 nghiệm thức (4 chủng PGPRs và hai đối chứng: C1 (chỉ chủng *R. solanacearum*) và C2 (không chủng cả PGPRs và *R. solanacearum*), được bố trí theo thể thức khối hoàn toàn ngẫu nhiên với 4 lần lặp lại, 10 cây cà chua/lặp lại.

- Cây con 20 ngày tuổi (giống TN-323) được cấy thành 2 hàng, khoảng cách 50 x 40cm, 10 cây/ô, ứng với từng nghiệm thức. Rãi vôi bột cách ly giữa các ô, rộng 0,3m. Chủng vi khuẩn vùng rễ lần 1 bằng cách ngâm hạt trước khi gieo, lần 2 vào 6 ngày sau khi trồng (10^8 cfu/ml, 15ml/gốc), 12 ngày sau, chủng vi khuẩn gây bệnh (10^8 cfu/ml, 15 ml/gốc).

- Chỉ tiêu theo dõi bao gồm sự phát triển của cây (chiều cao và trọng lượng tươi của thân, rễ). Đánh giá sự phát triển bệnh héo xanh theo thang đánh giá được đề nghị bởi Deberdt *et al.* (1999), tính chỉ số bệnh theo Cooke (1998).

3 KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1 Khả năng định vị và kích thích tăng trưởng của vi khuẩn vùng rễ

Kết quả đánh giá khả năng kích thích tăng trưởng của các chủng vi khuẩn vùng rễ ở bảng 1 cho thấy chủng T13.4, giúp rễ cà chua có xử lý phát triển dài hơn so với đối chứng, các chủng còn lại không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng (Hình 2).

Các vi khuẩn vùng rễ thật sự phải có khả năng định vị và thiết lập được mối quan hệ giữa chúng với cây chủ thông qua hệ rễ, khả năng định vị càng cao thì vi khuẩn càng dễ thể hiện hiệu quả (Silva *et al.*, 2003). Đây cũng là một trong các thông số giúp tuyển chọn các chủng vi khuẩn vùng rễ trong nghiên cứu này.

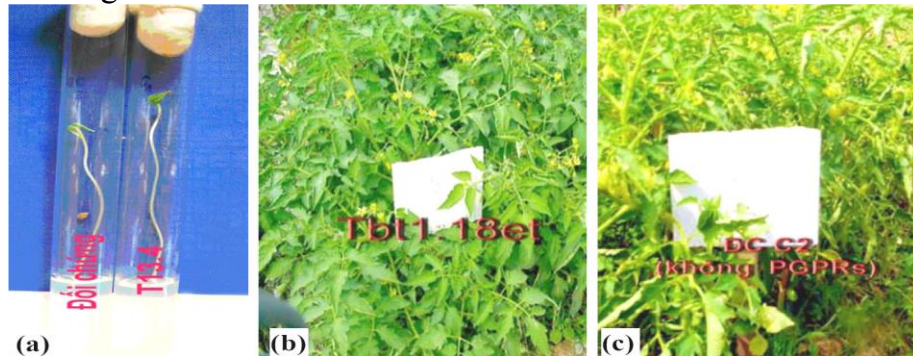
Bảng 1: Sự phát triển chiều dài rễ và chiều cao cây con cà chua dưới tác động của vi khuẩn vùng rễ qua một số thời điểm khảo sát

Chủng vi khuẩn	Định vị	3 ngày		10 ngày		21 ngày		
		Dài rễ (cm)	Cao thân (cm)	Dài rễ (cm)	Cao thân (cm)	Dài rễ (cm)	Cao thân (cm)	
Tbt1.20.1t	+	4,03	a	1,12 abc	8,25 bc	4,78 abc	9,45 bcd	5,46 bc
T1.12g	+	4,20	a	1,12 abc	6,05 de	5,23 abc	6,95 de	6,48 ab
T13.3f	+	2,45	bcd	0,65 cd	6,20 de	4,30 bc	9,58 bcd	5,63 bc
T18.3	+	1,38	d	0,68 cd	5,75 de	3,75 c	1,63 f	5,78 b
T1.12.7.1et	+	4,33	a	1,33 ab	6,93 cd	5,05 abc	7,33 cde	6,28 ab
T4.6t	+	2,98	abc	0,78 bcd	7,55 cd	4,93 abc	10,5 b	6,15 b
T2.7.1t	+	4,00	a	1,58 a	6,68 cde	5,50 ab	8,45 b-e	6,63 ab
T13.4	+	4,23	a	1,10 abc	10,3 a	6,25 a	13,60 a	7,6 a
T11.1.4f	+	3,70	ab	1,10 abc	9,38 ab	6,00 a	7,98 b-e	5,85 b
Đối chứng		3,78	a	1,63 a	8,53 bc	5,05 abc	10,30 bc	6,08 b
CV (%)		25,01	36,62	15,86	19,14	23,1	14,51	
Ý nghĩa thống kê		**	**	**	*	**	**	

Ghi chú: * khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5%, ** khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1%, theo phép thử Duncan.

+: định vị ít (1-20% vùng rễ); e: vi khuẩn nội sinh; f: vi khuẩn phát huỳnh quang

Theo Nehn *et al.* (1996), các chủng PGPR kích thích cây tăng trưởng qua việc tạo chất điều hòa sinh trưởng thực vật, hòa tan dưỡng chất như lân,... Trong khảo sát, cây con xử lý vi khuẩn được trồng trong điều kiện không bội nhiễm và môi trường không dinh dưỡng, đã định vị được trên rễ và có khuynh hướng phát triển khá hơn so với đối chứng.



Hình 2: Khả năng kích thích tăng trưởng thực vật của vi khuẩn vùng rễ (a) Đánh giá *in vitro*; đáng giá ở điều kiện ngoài đồng (b) cây cà chua được kích thích tăng trưởng do chủng Tbt1.18et so với (c) đối chứng



Hình 3: (a) Khả năng đối kháng với *R. solanacearum* của các chủng vi khuẩn vùng rễ trên đĩa petri; (b) hiệu quả chống bệnh héo rũ qua đối kháng và (c) theo cơ chế kích kháng của chủng vi khuẩn Tbt1.12.7et

3.2 Khả năng đối kháng của vi khuẩn đối với *R. solanacearum* trong đĩa petri

Từ >500 chủng đã trắc nghiệm, 40 chủng vi khuẩn có định vị ở vùng rễ, biểu hiện đối kháng mầm bệnh ở các mức độ khác nhau được đánh giá lại.

Kết quả bảng 2 cho thấy các chủng có biểu hiện đối kháng tốt với vi khuẩn gây bệnh là: Tbt1.18.1et, T4.6t, Tbt2.1.1et, Tbt1.12.7et, Tbt1.17.1e, Tbt1.12.7.1et, P4.10.18t, Tbt 1.18.2t. (Hình 3a). Trong nghiên cứu về khả năng đối kháng của vi khuẩn *Bacillus* spp. đối với vi khuẩn *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* gây bệnh trên cây bông vải, Ahmed & Zahran (2006) xem những vi khuẩn tạo bán kính vành khăn ức chế vi khuẩn gây bệnh >12mm là có khả năng đối kháng cao. Trong thí nghiệm này có một số chủng vi khuẩn vùng rễ tạo bán kính ức chế >13mm. Trong đó, các chủng biểu hiện sớm và bền như Tbt1.18.1et, Tbt 1.12.7et,

Tbt 1.18.2t. Kết quả nhuộm cho thấy 4 chủng này đều tạo nội bào tử, cho phép dễ nhận định chúng thuộc chi *Bacillus*.

Bảng 2: Khả năng đối kháng của vi khuẩn vùng rễ với *R. solanacearum* trên môi trường King's B có agar theo thời gian (ngày sau thử nghiệm)

Chủng vi khuẩn	Bán kính ức chế vi khuẩn gây bệnh (mm)					
	1NSKTN		7NSKTN		11NSKTN	
Tbt1.18.1et	9,7	a	15,3	ab	16,2	ab
Tbt1.6.4tf	0	j	0	j	10,7	cde
T4.6t	4,2	de	3,7	hi	4,9	f-i
Tbt2.1.1et	3,2	d-g	7,9	ef	10,0	cde
Tbt1.12.7et	6,1	b	13,1	bcd	13,2	abc
P41.1.1.2	0	j	17,8	a	10,3	cde
Tbt1.17.1e	4,1	de	5,3	fgh	5,8	e-h
Tbt1.18.5et	3,0	e-h	7,1	fg	7,4	d-g
P4.10.18t	3,6	def	10,3	de	11,9	bcd
Tbt1.18.2t	6,7	b	11,1	cd	17,1	a
Tbt1.18.6.1et	5,7	bc	11,1	cd	16,3	ab
Tbt2.1.2t	1,7	hi	12,1	cd	12,5	a-d
Tbt9c	1,7	hi	13,6	bc	13,0	abc
Tbt1.9.5.1e	2,0	ghi	11,4	cd	11,9	bcd
Tbt1.18.6.1et	0	j	11,2	cd	10,9	cde
P4.8.5.2t	0	j	5,2	fgh	12,1	bcd
Tbt1.17.2	0,8	i	4,7	gh	10,9	cde
Đối chứng	0	j	0	j	0	i
CV%	37,16		31,25		37,68	
Ý nghĩa thống kê	**		**		**	

Ghi chú: Các trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một (những) chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê. ** khác biệt ở mức ý nghĩa 1% theo phép thử Duncan

NSKTN: ngày sau khi thử nghiệm

3.3 Hiệu quả kiểm soát bệnh héo xanh trong điều kiện nhà lưới

Kết quả qua các thí nghiệm trong chậu, với đất đã khử trùng, được trình bày ở (Bảng 3 và 4). Kết quả phân tích cho thấy:

Hiệu quả kiểm soát bệnh: có 2 chủng T4.6t và Tbt1.12.7et biểu hiện đối kháng tốt, trong đó T4.6t còn có khả năng kích thích tăng trưởng (Bảng 4). Sáu chủng P24.1tf, Tbt1.12.7et, Tbt1.18.2t, Tbt 1.20.1t, P 4.10.7t và P4.10.18t có biểu hiện khả năng kích kháng. Như vậy, chủng Tbt1.12.7et có khả năng đối kháng và kích kháng (Hình 3b và c).

Bảng 3: Diễn biến chỉ số bệnh héo xanh (%) cà chua của các nghiệm thức

Chủng vi khuẩn	Thời điểm đánh giá chỉ số bệnh			Thời điểm đánh giá chỉ số bệnh		
	14 NSCB	21 NSCB	28 NSCB	7 NSCB	14 NSCB	21 NSCB
Tbt1.18.5et	0	13	13	10	10	10
Tbt1.18.1et	0	13	13	0	0	10
Tbt1.12.7et	0	0	0	15	15	0
Tbt1.18.6.1et	0	0	20	15	15	15
Tbt1.18.5.1et	0	40	60	0	0	15
P4.10.18t	0	26	13	30	30	0
Tbt1.18.2t	0	26	13	40	40	30
Tbt1.17.2	0	53	26	10	10	40
P4.8.5.2t	0	20	26	45	45	40
T4.6t	0	0	0	0	0	0
ĐC1	40	66	93	55	80	100

Ghi chú: NSCB= ngày sau chủng bệnh

Số liệu % được chuyển sang arcsin(√(x/100)) khi phân tích thống kê, với x là chỉ số bệnh

Bảng 4: Chiều cao cây cà chua (cm) của các nghiệm thức

Nghiệm thức	Thời điểm quan sát (ngày sau khi chủng gây bệnh)				Ghi chú	
	0	7	14	21		
- Ral	T1.12g	22,4 ab	37,9 ab	42,3 ab	36,6 ab	Thí nghiệm đợt 1
	T18.3	22,3 ab	34,8 ab	37,3 a-d	42,1 a-e	
	T2.7t	22,1 ab	35,7 ab	39,9 abc	42,5 a-d	
	T4.6t	21,7 ab	37,8 ab	45,9 ab	50,1 abc	
	ĐC 2	22,1 ab	25,8 ab	29,3 d-h	34,5 d-g	
+ Ral	T1.12g	19,3 b	23,0 ab	25,7 fgh	42,4 efg	
	T18.3	20,2 ab	31,3 ab	34,0 b-f	39,2 a-g	
	T2.7t	23,1 a	38,2 a	41,4 ab	43,9 ab	
	T4.6t	19,6 ab	41,3 ab	49,5 a	56,0 a	
	ĐC 1	22,4 ab	25,9 ab	28,8 d-h	25,3 c-g	
CV(%)	10,18	15,31	15,29	17,06		
Ý nghĩa thống kê	**	**	**	**		
- Ral	Tbt1.18.5et	21,0	37,2 ab	43,5 a-d	46,7 a-d	Thí nghiệm đợt 2
	Tbt1.12.7et	20,9	37,0 ab	44,9 a-d	49,3 abc	
	P4.10.18t	21,8	42,9 a	48,8 a	51,5 a	
	Tbt1.17.2	19,4	37,1 ab	45,7 abc	50,3 ab	
	ĐC 2	19,1	38,1 ab	45,8 abc	48,4 abc	
+ Ral	Tbt1.18.5et	20,9	35,0 b	44,0 a-d	46,4 a-d	
	Tbt1.12.7et	18,8	34,4 b	46,5 ab	48,6 abc	
	P4.10.18t	20,6	34,8 b	40,8 a-d	43,9 a-d	
	Tbt1.17.2	19,1	36,9 ab	43,5 a-d	46,9 a-d	
	ĐC 1	19,4	22,9 c	38,7 bcd	42,2 cd	
CV(%)	11,15	13,24	11,15	9,96		
Ý nghĩa thống kê	ns	**	*	*		

Ghi chú: Các trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một(những) chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê. ns không ý nghĩa thống kê, * khác biệt ở mức ý nghĩa 5%, ** khác biệt ở mức ý nghĩa 1%. Đòi chủng 1(ĐC1) chỉ chủng vi khuẩn gây bệnh; ĐC2: hoàn toàn không chủng.

+ Ral: có chủng *R. solanacearum* và vi khuẩn vùng rễ (PGPRs); - Ral: chỉ chủng PGPRs

Về khả năng kích thích tăng trưởng (Bảng 4) các chủng T4.6t, T1.12g, Tbt1.18.5.1et, P4.10.18t, Tbt1.18.5et tuy không giúp cây phát triển trội hơn so với đối chứng khỏe, nhưng chúng giúp cây chống chịu và phát triển tốt hơn khi bị nhiễm bệnh. Theo Vessey (2003), vi khuẩn vùng rễ kích thích tăng trưởng thực vật (plant growth promoting rhizobacteria-PGPRs) không chỉ có vai trò như phân hữu cơ vi sinh mà còn kích thích tăng trưởng thực vật bằng cách giúp cây chống lại mầm bệnh. Biểu hiện kích thích tính kháng bệnh của vi khuẩn vùng rễ được ghi nhận qua khả năng làm chậm quá trình biểu hiện bệnh, làm giảm tỉ lệ và độc tính của bệnh nếu so với cây không được chủng kích kháng (Van Loon *et al.*, 1998).

3.4 Hiệu quả kiểm soát bệnh héo xanh trong điều kiện ngoài đồng

Thí nghiệm được thực hiện trong điều kiện nhiệt độ trung bình 26-35°C và ẩm độ 60-90%. Thời tiết ít mưa và giữa các ô thí nghiệm có rải vôi nên sự cách ly giữa các ô thí nghiệm rất tốt. Cuối vụ có mưa nhiều nhưng vì thí nghiệm đã đến giai đoạn kết thúc nên cũng rất ít ảnh hưởng đến kết quả thí nghiệm.

3.4.1 Tỉ lệ thiệt hại do bệnh héo xanh

Kết quả bảng 5 cho thấy từ 10 ngày sau khi chủng gây bệnh, chỉ số bệnh của các nghiệm thức có xử lý với vi khuẩn vùng rễ đều thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng chủng bệnh, và tương đương với đối chứng hoàn toàn không chủng gì (ĐC2).

Bảng 5: Chỉ số bệnh héo xanh (%) cà chua của các nghiệm thức

STT	Nghiệm thức	Ngày sau khi chủng					
		0	6	10	20	30	34
1	Tbt1.17.1.1e	0,72	1,60 b	1,61 b	2,59 b	3,03 b	3,27 b
2	P4.10.18t	0,72	1,37 b	1,37 b	2,35 b	2,23 b	2,58 b
3	Tbt1.18et	1,09	1,16 b	1,16 b	1,53 b	2,63 b	3,38 b
4	T4.6t	0,72	1,91 b	1,86 b	2,26 b	2,82 b	3,36 b
5	ĐC1	1,60	4,09 a	5,06 a	5,69 a	6,21 a	6,57 a
6	ĐC2	1,16	1,90 b	2,60 b	2,73 b	3,36 b	3,45 b
Mức ý nghĩa		ns	*	**	**	**	**
CV(%)		64,77	56,78	51,26	44,04	34,46	30,97

Chú thích: Trong cùng một cột, những số trung bình nghiệm thức được theo sau bởi một hoặc những chữ giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa ở mức thống kê theo phép thử Duncan.

* Mức ý nghĩa 5%; ** Mức ý nghĩa 1%; ns Khác biệt không có ý nghĩa.

ĐC1: Nghiệm thức đối chứng không chủng vi khuẩn PGPRs nhưng có chủng bệnh.

ĐC2: Nghiệm thức đối chứng không chủng vi khuẩn PGPRs và vi khuẩn gây bệnh.

Số liệu % được chuyển sang \sqrt{x} khi phân tích thống kê, với x là chỉ số bệnh

- Sự phát triển của cây trong các nghiệm thức (Bảng 6).

+ Chiều cao cây từ thời điểm 18 ngày sau khi trồng (NSKT) của các nghiệm thức có chủng vi khuẩn kích thích tăng trưởng đều có chiều cao cây cao hơn đối chứng. Trong đó cao nhất là nghiệm thức chủng vi khuẩn P4.10.18t (tăng 11,27% với đối chứng) và thấp nhất là đối chứng 1. Chủng Tbt1.18et cũng kích thích tăng trưởng và có tỉ lệ bệnh thấp.

+ Trọng lượng thân và rễ: Kết quả bảng 7 cũng cho thấy khả năng kích thích tăng trưởng nổi trội của chủng vi khuẩn P4.10.18t (145,45% so với đối

chứng), kể đến là chủng Tbt1.17.1.1e (133,33% so với đối chứng). Hai chủng còn lại cũng có kích thích phát triển bộ rễ nhưng ít hơn.

- Năng suất trái của các nghiệm thức có chủng PGPR tăng đáng kể so với đối chứng. Cao nhất ở chủng P4.10.18t (145% so với đối chứng chủng bệnh), các nghiệm thức còn lại tuy có năng suất thấp hơn, nhưng đều cao khác biệt so với đối chứng.

Như vậy, các chủng vi khuẩn vùng rễ khảo sát vừa kích thích tăng trưởng vừa giúp quản lý bệnh héo xanh vi khuẩn trên cà chua. Kết quả thí nghiệm ngoài đồng của Doan & Nguyen (2006), các nghiệm thức có chủng vi khuẩn kích thích tăng trưởng cho tăng năng suất từ 7,78 đến 10,56% so với đối chứng. Trong thí nghiệm này, năng suất tăng từ 27,89% đến 44,90% so với đối chứng. Thí nghiệm của Doan (2006) chỉ sử dụng vi khuẩn để áo hạt, còn thí nghiệm này vừa áo hạt và chủng bổ sung vi khuẩn vào đất 2 lần sau đó.

Bảng 6: Sự phát triển của cây cà chua qua các lần quan sát

STT	Nghiệm thức	Chiều cao cây (cm)			Trọng lượng thân (kg/cây)	Trọng lượng rễ (kg/cây)	Năng suất trái (tấn/ha)
		11NSKT	18NSKT	38NSKT			
1	Tbt1.17.	50,05bc	73,93b	94,95b	0,315ab	0,045b	51,78b
2	P4.10.18	56,76a	78,10a	100,10a	0,353a	0,055a	60,58a
3	Tbt1.18e	48,66c	70,01c	92,42b	0,298b	0,043bc	46,29b
4	T4.6t	52,16b	73,51b	94,18b	0,303b	0,040cd	48,22b
5	ĐC1	48,46c	69,30c	86,45c	0,208c	0,030e	32,53c
6	ĐC2	50,26bc	70,30c	88,10c	0,218c	0,038d	33,38c
Mức ý nghĩa		**	**	**	**	**	**
CV(%)		3,21	1,80	2,31	11,98	12,65	10,65

Chú thích: Trong cùng một cột, những số trung bình nghiệm thức được theo sau bởi một (những) chữ giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê theo phép thử Duncan. ** Mức ý nghĩa 1%.

ĐC1: Nghiệm thức đối chứng không chủng vi khuẩn PGPRs nhưng có chủng bệnh.

ĐC2: Nghiệm thức đối chứng không chủng vi khuẩn PGPRs và vi khuẩn gây bệnh.

Qua phân tích so sánh kết quả của các thí nghiệm, 5 chủng vi khuẩn vùng rễ đã được chọn là các chủng Tbt1.18.1et, T4.6t, Tbt1.12.7et, và Tbt1.18.2t. (Bảng 7).

Bảng 7: Đặc điểm các chủng vi khuẩn vùng rễ triển vọng

Chủng vi khuẩn	Đặc điểm	Định vị/ rễ	KT tăng trưởng	Khả năng đối kháng với R. solanacearum và kiểm soát bệnh héo xanh
Tbt1.18.1et	- Khuẩn lạc nhẵn, màu trắng sữa-vàng nhạt.	+++	++	Đối kháng mạnh, R ^a =1.37-1.6 cm. Kích thích tăng trưởng & kiểm soát được bệnh ngoài đồng
T4.6t	- Phát triển nhanh.	+	+	Đối kháng khá mạnh, r ₀ R= 0.49cm. Có khả năng kích kháng bệnh. Kiểm soát bệnh ngoài đồng.
Tbt1.12.7et	- Tạo nội bào tử.	+++	+	Đối kháng mạnh, r ₀ R=1.08 cm. Có khả năng kích kháng bệnh.
Tbt1.18.2t		+++		Đối kháng mạnh, R=1.1 cm. Có khả năng kích kháng bệnh
T1.12.7.1et		+	+	Đối kháng mạnh, R= 1.1 cm

^a: Bán kính vành khăn vùng ức chế vi khuẩn gây bệnh

4 KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

- Các chủng vi khuẩn vùng rễ Tbt1.18.1et, T4.6t, Tbt1.12.7et, Tbt1.18.2t, và T1.12.7.1et vừa kích thích tăng trưởng cây, vừa có khả năng kiểm soát bệnh héo xanh do vi khuẩn *R. solanacearum*. Đây là những chủng có triển vọng có thể chọn lọc để phòng trừ sinh học bệnh héo xanh trên cà chua.
- Khảo sát thêm hiệu quả của cơ chế kích thích tăng trưởng của các chủng vi khuẩn này với các tác nhân gây bệnh khác để biết thêm về phổ hiệu lực của chúng.
- Nghiên cứu dạng chế phẩm thích hợp và biện pháp xử lý hiệu quả để có thể áp dụng trong sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ahmed, N.A., E.B. Zahran, 2006. Inhibition of soil borne *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* in cotton by *Bacillus* spp.. Mitt. Biol. Bundesanst. Land- Forstwirtschaft. 408: 86-92.
- CAB.International, 2003. Crop protection. Compendium. Wallingford, UK: CAB. International.
- Deberdt P, P. Queneherve, A. Darrasse, P. Prior.1999. Increased susceptibility to bacterial wilt in tomatoes by nematode galling and the role of the mi gene in resistance to nematodes and bacterial wilt. Plant pathology 48: 408-414.
- Đỗ Tấn Dũng, 2004. Nghiên cứu bệnh héo xanh vi khuẩn (*Ralstonia solanacearum* Smith) gây hại một số cây trồng vùng Hà Nội và phụ cận, 1998 - 2003. Hội thảo quốc gia bệnh cây và sinh học phân tử - bệnh hại cây có nguồn gốc từ đất. Lần thứ tư - Đại học Cần Thơ 29/10/2004. NXB Khoa Học Công Nghệ.
- Doan T.T., Nguyen T.H., 2006. Status of research on biological control of tomato and groundnut bacterial wilt in Vietnam. Mitt. Biol. Bundesanst. Land- Forstwirtschaft. 408: 105-111.
- Lemessa, F.O, 2006. Biochemical, Pathological and Genetic Characterization of Strains of *Ralstonia solanacearum* (Smith) from Ethiopia and Biocontrol of *R. solanacearum* with Bacterial Antagonists. PhD. Dissertation. University of Hannover, Germany.
- Nakkeeran, S., W. G. D. Fernando, and Z.A. Siddiqui. 2006. Plant growth promoting rhizobacteria formulations and its scope in commercialization for the management of pests and diseases. In Z. A. Siddiqui (ed.), *PGPR: Biocontrol and Biofertilization.*, Springer, pp: 257–296.
- Nehl D.B., S.J. Allen, J.F. Brown. 1996. Deleterious rhizosphere bacteria: an integrating perspective. Applied Soil Ecology 5: 1-20.
- Siddiqui, Z.A. 2006. PGPR: Prospective biocontrol agents of plant pathogens. In Z. A. Siddiqui (ed.), *PGPR: Biocontrol and Biofertilization.*, Springer, pp: 111–142.
- Silva H.S.A, R.D.S. Romeiro and A. Mounteer 2003. Development of a root colonization bioassay for rapid screening of rhizobacteria for potential biocontrol agents. J. Phytopathology 151: 42–46.
- Van Loon, L.C., P. A. H. M Bakker and C. M. J Pieterse, 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology* 36:453-483.
- Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* 255: 571–586.
- Vũ Triệu Mân. 2004. Điềm qua một vài bệnh hại cây có nguồn gốc từ đất ở Việt Nam. Hội thảo Quốc Gia Bệnh cây và Sinh học phân tử "Bệnh hại cây có nguồn gốc từ đất", lần 4. Nhà xuất bản Nông Nghiệp, pp: 5-9.