

- Grist, D. H., and R. J. A. W. Lever**, 1969. *Pests of rice*. Longmans, Green and Co., Ltd., London.
- International Rice Research Institute**, 2002. *Standard evaluation system for rice (SES)*. IRRI, November, 2002, pp.20
- Miyashita, K.**, 1963. Outbreaks and population fluctuations of Insects, with special reference to agricultural insect pests in Japan. *Bull. Natl. Inst. Agric. Sci., Jpn. Ser. C.*, (15):99-170.
- Mochida, O., T. Suryana, and A. Wahyu**, 1977. Recent outbreaks of the brown plant hopper in Southeast Asia (with special reference to Indonesia), in *The rice brown plant-hopper*. Food and Fertilizer Technology Center for the Asian and Pacific Region, Taipei, pp 170-191
- Ikeda, R. and D. A. Vaughan**, 2006. The distribution of resistance genes to the brown plant hopper in rice germplasm. *Rice Genetics Newsletter. Vol 8*: 125-127

## Evaluation of brown plant hopper resistance of some rice varieties and breeding lines in the Cuulong River Delta

Pham Thi Kim Vang, Luong Minh Chau, Nguyen Thi Lang

### Abstract

To minimize the yield loss caused by BPH, while contributing to the national goals and regional food security based on ecological environment, the programme used resistant varieties need to be proposed and solved. Therefore, the experiments on “Evaluation of brown plant hopper resistance of some rice varieties and breeding lines in the Cuulong River Delta” were conducted to find out more precious materials for BPH resistant rice breeding. The experiment was carried out in the Cuu Long Delta Rice Research Institute. 115 breeding lines and rice varieties were tested with 4 BPH strains collected from Can Tho, Dong Thap, Tien Giang, Hau Giang by using standard seed box technique. The research selected 14 resistant rice breeding lines and varieties, including OM6683, OM5954, OM7364, TLR493, OM7268, OM6830, OM10279, OM28L, OM7262, OM6610, OM10040, OM927-1, TLR594, TLR1.030. These selected lines and varieties will be good materials for rice BPH resistant breeding purposes in the Cuulong River Delta.

**Key words:** Brown plant hopper (BPH) resistant rice varieties, Cuulong River Delta

Ngày nhận bài: 12/7/2016

Ngày phản biện: 18/7/2016

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Văn Viết

Ngày duyệt đăng: 26/7/2016

## ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG CỦA VI KHUẨN *Pseudomonas* PHÁT HUỖNH QUANG ĐỐI VỚI NẤM *Pyricularia oryzae* GÂY BỆNH ĐẠO ÔN TRÊN LÚA VÀ CƠ CHẾ CÓ LIÊN QUAN TRONG ĐIỀU KIỆN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Nguyễn Thị Xuân Mai<sup>1</sup>, Nguyễn Đức Cương<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

175 chủng vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang được phân lập từ đất vùng rễ của cây lúa thuộc tỉnh Đồng Tháp. Qua đánh giá sơ khởi khả năng đối kháng nấm *Pyricularia oryzae* (chủng Po.ĐT.TM-15) của các chủng vi khuẩn phân lập đã chọn ra 15 chủng có biểu hiện đối kháng để đánh giá chính thức khả năng ức chế sự phát triển sợi nấm *P. oryzae* trong điều kiện phòng thí nghiệm. Kết quả cho thấy, 5 chủng vi khuẩn *Pseudomonas* có ký hiệu Ps.ĐT-33, Ps.ĐT-52, Ps.ĐT-18, Ps.ĐT-09 và Ps.ĐT-31 thể hiện khả năng cao nhất ức chế sự phát triển sợi nấm *P. oryzae*. Thí nghiệm đánh giá khả năng ức chế bào tử nấm *P. oryzae* mọc mầm của dịch trích môi trường nuôi cấy 9 chủng vi khuẩn trong điều kiện phòng thí nghiệm cho thấy, năm chủng vi khuẩn Ps.ĐT-33, Ps.ĐT-52, Ps.ĐT-18, Ps.ĐT-09 và Ps.ĐT-31 có hiệu quả ức chế cao nhất đối với sự mọc mầm của bào tử nấm *P. oryzae*. Ngoài ra, năm chủng vi khuẩn nêu trên còn thể hiện khả năng phân giải chitin và protein trên môi trường Chitin và Skimmed milk agar.

**Từ khóa:** *Pyricularia oryzae*, *Pseudomonas* phát huỳnh quang, phòng trừ sinh học

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh đạo ôn do nấm *Pyricularia oryzae* gây ra là một trong những bệnh hại quan trọng nhất trên lúa

ở Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL). Bệnh xuất hiện trên tất cả các vụ lúa trong vùng và gây nhiều thiệt hại cho nông dân. Bệnh có khả năng tấn công

<sup>1</sup> Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long

và gây hại trên lá, cổ lá, cổ gié và cuống hạt. Hiện nay, biện pháp quản lý bệnh chủ yếu sử dụng thuốc hóa học, tuy nhiên việc lạm dụng thuốc hóa học trong quản lý dịch hại sẽ dẫn đến tình trạng kháng thuốc, mặt khác thuốc hóa học còn gây ô nhiễm môi trường và ảnh hưởng đến sức khỏe cộng đồng. Vì vậy, sử dụng vi sinh vật có ích trong quản lý dịch hại nói chung và bệnh đạo ôn trên lúa nói riêng được xem như giải pháp quản lý dịch hại thân thiện đối với môi trường. Trong số các vi sinh vật có ích được ứng dụng trong quản lý bệnh hại trên cây trồng, vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang được biết đến như nhóm vi sinh vật đối kháng tiềm năng có khả năng phòng trừ một số bệnh hại do nấm bệnh và vi khuẩn gây ra. Để tài được thực hiện nhằm mục đích xác định một số chủng vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang có hiệu quả đối kháng cao đối với nấm *P. oryzae* gây bệnh đạo ôn và cơ chế có liên quan trong điều kiện phòng thí nghiệm.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nấm *P. oryzae* (chủng Po.ĐT.TM-15) được phân lập tại huyện Tháp Mười, tỉnh Đồng Tháp. 175 chủng vi khuẩn *Pseudomonas* spp. phát huỳnh quang được phân lập từ đất vùng rẫy lúa thuộc 4 huyện Lai Vung, Châu Thành, Tháp Mười và Tân Hồng của tỉnh Đồng Tháp. Thuốc hóa học Beam 75 WP được sử dụng như nghiệm thức đối chứng. Giống lúa OM 1490 được cung cấp bởi bộ môn Bệnh cây, Viện lúa ĐBSCL. Một số môi trường nuôi cấy nấm *P. oryzae* và vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang, các vật liệu thí nghiệm trong phòng và nhà lưới.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thí nghiệm 1: Đánh giá khả năng đối kháng của vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang đối với nấm *P. oryzae* trong điều kiện phòng thí nghiệm

Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp (Noori and Saud, 2012) có cải tiến. Đặt khoanh khuẩn ty nấm *P. oryzae* (Ø: 0,5 cm) đã nuôi cấy 5 ngày trên môi trường Rice Straw Glucose Agar (RSGA) trên bề mặt đĩa petri chứa môi trường PDA với khoảng cách 2,5 cm tính từ rìa đĩa Petri, tiếp tục cấy 1 loop vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang phát triển trên môi trường King's B được 2 ngày tại vị trí đối diện, khoảng cách từ khoanh khuẩn ty nấm đến vị trí cấy vi khuẩn là 4 cm. Ủ đĩa petri ở nhiệt độ 25°C, ghi nhận bán kính vòng vô khuẩn ở thời điểm 3, 5, 7 và 14 ngày sau thí nghiệm (NSTN). Thí

nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 4 lần lặp lại, ở nghiệm thức đối chứng khoanh giấy thấm được nhúng trong nước cất thanh trùng.

- Thí nghiệm 2: Đánh giá khả năng ức chế nảy mầm của dịch trích vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang đối với nấm *P. oryzae* trong điều kiện phòng thí nghiệm

Khả năng ức chế mọc mầm bào tử nấm *P. oryzae* được thực hiện theo phương pháp Chandrakala *et al.*, 2012) có cải tiến. Trộn dung dịch bào tử nấm ( $10^4$  bào tử/ml) với dịch trích vi khuẩn nuôi cấy trên môi trường Nutrient Broth (NB) theo tỷ lệ 1:1. Sử dụng pipette hút 100 µl hỗn hợp dung dịch trải lên bề mặt lam, ủ lam trong đĩa petri đáy nắp có chứa giấy thấm đã thấm nước cất thanh trùng ở nhiệt độ 25°C. Sau khi ủ, nhỏ 1-2 giọt lacto phenol - cotton blue xung quanh rìa lame và quan sát dưới kính hiển vi. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 4 lần lặp lại, mỗi lần ghi nhận 50 bào tử. Nghiệm thức đối chứng dương, xử lý bào tử nấm trong dung dịch thuốc hóa học theo nồng độ khuyến cáo (g/lít). Nghiệm thức đối chứng âm xử lý bào tử nấm trong môi trường (NB). Ghi nhận khả năng mọc mầm của bào tử ở thời điểm 3, 6 giờ sau ủ (GSTN) và tính tỷ lệ bào tử mọc mầm.

- Thí nghiệm 3: Đánh giá khả năng phân giải enzyme chitinase và protease của vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang trong điều kiện phòng thí nghiệm

Khảo sát khả năng phân giải enzyme chitinase và protease của vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang lần lượt theo phương pháp của (Hsu & Lockwood, 1975) và (Shyamala and Sivakumaar, 2012). Vi khuẩn *Pseudomonas* được nhân nuôi trên môi trường King's B trong 48 giờ. Sử dụng que cấy vi khuẩn cấy 1 điểm trên môi trường chitin agar có bổ sung 4% colloidal chitin, ủ đĩa petri ở nhiệt độ 28°C và cấy 1 điểm môi trường Skimmed milk agar, ủ đĩa petri ở nhiệt độ 30°C. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 4 lần lặp lại, mỗi nghiệm thức là một chủng vi khuẩn. Ghi nhận bán kính vòng phân giải hình thành xung quanh khuẩn lạc vi khuẩn trên môi trường chitin agar ở 2, 4, 6 ngày và môi trường Skimmed milk agar ở 1, 3, 5 ngày sau thí nghiệm (NSTN).

### 2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel; Thống kê bằng phần mềm SAS trong phân tích ANOVA qua phép thử Duncan ở mức ý nghĩa 5%.

### III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Khả năng đối kháng của vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang đối với nấm *P. oryzae* trong điều kiện phòng thí nghiệm

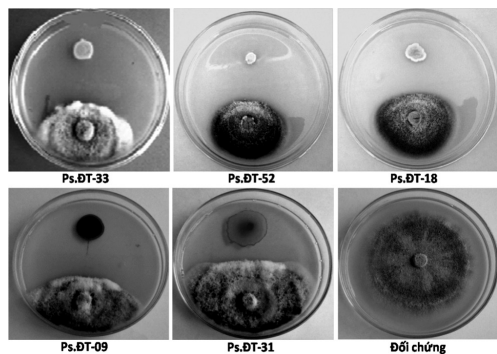
Kết quả ghi nhận (Bảng 1) cho thấy, 9 chủng vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang Ps.ĐT-33, Ps.ĐT-52, Ps.ĐT-18, Ps.ĐT-09, Ps.ĐT-31, Ps.ĐT-14, Ps.ĐT-32, Ps.ĐT-42 và Ps.ĐT-28 có bán kính vòng vô khuẩn (BKVVK) lớn hơn và khác biệt so với các chủng còn lại trong giai đoạn từ 3 NSTN đến 7 NSTN. Tuy nhiên ở giai đoạn 14 NSTN, BVVVK giữa

các chủng vi khuẩn khác biệt rất rõ về mặt thống kê, năm chủng vi khuẩn Ps.ĐT-33, Ps.ĐT-52, Ps.ĐT-18, Ps.ĐT-09 và Ps.ĐT-31 thể hiện khả năng đối kháng mạnh nhất, với BKVVK lớn hơn và khác biệt so với các chủng còn lại, tiếp tiếp theo là các chủng Ps.ĐT-14, Ps.ĐT-32, Ps.ĐT-42, Ps.ĐT-28. Nhóm còn lại gồm 6 chủng vi khuẩn có bán kính vòng vô khuẩn thấp nhất trong số các chủng vi khuẩn đánh giá ở giai đoạn này (14 NSTN). Từ kết quả thí nghiệm, 9 chủng vi khuẩn trên sẽ được chọn để đánh giá khả năng ức chế mọc mầm của bào tử nấm *P. oryzae*.

**Bảng 1.** Bán kính vòng vô khuẩn (mm) ở những nghiệm thức cấy vi khuẩn và nấm *P. oryzae* trên môi trường PDA tại các thời điểm quan sát (NSTN)

STT	Nghiệm thức	Bán kính vòng vô khuẩn (mm) tại các thời điểm quan sát (NSTN)			
		3 ngày	5 ngày	7 ngày	14 ngày
1	Ps.ĐT-14	11,50 cd	8,00 bc	7,50 bcd	3,75 d
2	Ps.ĐT-32	11,50 cd	8,50 b	6,50 d	3,08 d
3	Ps.ĐT-03	8,50 g	5,25 e	3,14 fg	0,88 f
4	Ps.ĐT-11	11,13 cde	7,75 bc	3,14 fg	1,25 f
5	Ps.ĐT-33	14,50 a	10,63 a	10,13 a	9,50 a
6	Ps.ĐT-52	13,50 ab	10,33 a	9,80 a	9,20 a
7	Ps.ĐT-02	9,61 f	6,56 cd	3,50 fg	1,50 f
8	Ps.ĐT-16	8,75 g	6,38 de	3,63 fg	1,60 f
9	Ps.ĐT-18	13,50 ab	10,50 a	9,00 abc	8,88 a
10	Ps.ĐT-22	10,21 ef	5,88 de	3,13 g	0,83 f
11	Ps.ĐT-42	11,88 c	8,50 b	6,13 de	4,50 d
12	Ps.ĐT-09	13,00 b	10,38 a	9,50 ab	8,00 b
13	Ps.ĐT-28	11,13 cde	7,75 bc	6,88 d	2,55 e
14	Ps.ĐT-31	11,38 cd	9,25 ab	7,25 cd	6,75 c
15	Ps.ĐT-36	10,63 de	6,25 de	4,63 ef	1,50 f
Mức ý nghĩa		**	**	**	**
CV%		2,7	5,4	9,0	12,2

Ghi chú: Bảng 1, 2, 3 và 4: Các số trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt qua phép kiểm định Duncan. \*\*khác biệt ở mức ý nghĩa 1%. Số liệu đã được chuyển đổi sang  $(x+0,5)/2$  khi thống kê.



**Hình 1.** Các chủng vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang ức chế sự phát triển sợi nấm *P. oryzae* (chủng Po.ĐT.TM-15) trên môi trường PDA tại 14 NSTN

#### 3.2. Khả năng ức chế nảy mầm của dịch trích môi trường nuôi cấy vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang đối với nấm *P. oryzae*

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, các nghiệm thức xử lý dịch trích môi trường nuôi cấy vi khuẩn có tỷ lệ bào tử mọc mầm thấp tại thời điểm 3 GSTN với tỷ lệ mọc mầm từ 1-4,5%; thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng âm 1 (9%) và đối chứng âm 2 (6,5%). Vào thời điểm 6 giờ GSTN, tỷ lệ bào tử mọc mầm ở các nghiệm thức gia tăng đáng kể so với 3 GSTN, tại những nghiệm thức xử lý dịch trích xạ khuẩn mặc dù cho tỷ lệ nảy mầm cao hơn so với nghiệm thức xử lý thuốc hóa học (Beam 75WP), tuy nhiên vẫn thấp hơn và khác biệt ý nghĩa trong thống kê so với

nghiệm thức đối chứng âm (đ/c âm 1 & 2). Trong số các nghiệm thức xử lý bào tử bằng dịch trích vi khuẩn, nghiệm thức Ps.ĐT-33, Ps.ĐT-52, Ps.ĐT-31, Ps.ĐT-09 và Ps.ĐT-18 có tỷ lệ bào tử mọc mầm thấp nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với những nghiệm thức còn lại. Từ kết quả thí nghiệm, năm chủng vi khuẩn trên sẽ được chọn để đánh giá khả năng phân giải Chitin và Protein (Bảng 2).

**Bảng 2.** Tỷ lệ bào tử mọc mầm ở những nghiệm thức xử lý dịch trích môi trường nuôi cấy các chủng vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang tại từng thời điểm quan sát

STT	Nghiệm thức	Tỷ lệ bào tử mọc mầm (%) tại các thời điểm quan sát (GSTN)	
		3 giờ	6 giờ
1	Ps.ĐT-14	2,00 d	67,00 b
2	Ps.ĐT-09	2,00 d	40,50 de
3	Ps.ĐT-32	4,75 c	70,50 b
4	Ps.ĐT-52	1,50 e	29,00 fg
5	Ps.ĐT-33	1,50 e	24,00 g
6	Ps.ĐT-18	2,00 d	36,00 ef
7	Ps.ĐT-28	2,00 d	69,50 b
8	Ps.ĐT-31	2,00 d	43,50 d
9	Ps.ĐT-02	2,00 d	53,00 c
10	Đ/c dương (Beam 75 WP)	0,50 f	18,00 h
11	Đ/c âm 1 (NB)	9,50 a	96,50 a
12	Đ/c âm 2 (Nước cất)	6,25 b	94,50 a
Mức ý nghĩa		**	**
CV%		6,0	5,6

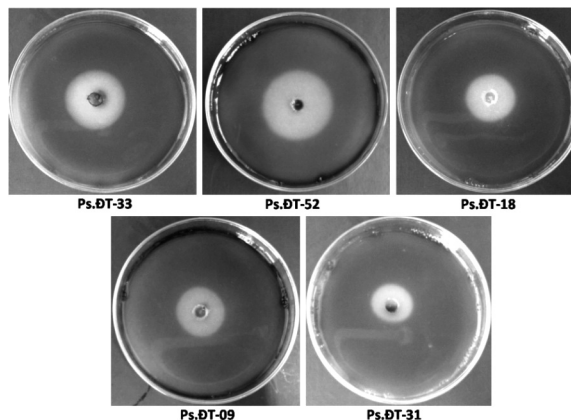
### 3.3. Đánh giá khả năng tiết enzyme chitinase của các chủng vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang có triển vọng

Khả năng phân giải chitin của các chủng vi khuẩn được ghi nhận tại bảng 3. Vào thời điểm 2 NSTN, tất cả các chủng vi khuẩn thí nghiệm thể hiện khả năng phân giải chitin, trong đó, hai chủng Ps.ĐT-33 và Ps.ĐT-52 thể hiện khả năng phân giải chitin cao nhất với bán kính vòng phân giải lần lượt là 10,25 mm và 9,75mm, cao hơn và khác biệt có nghĩa thống kê so với các chủng còn lại. Tiếp theo là các chủng Ps.ĐT-18 và Ps.ĐT-09 với bán kính vòng phân giải là 8,00 mm và 5,88 mm. Chủng Ps.ĐT-31 có khả năng phân giải chitin thấp nhất với bán kính vòng phân giải 5 mm. Tại thời điểm 4 đến 6 NSTN, chủng vi khuẩn Ps.ĐT-33 vẫn thể hiện khả năng phân giải

chitine cao nhất, tiếp theo là các chủng Ps.ĐT-52, Ps.ĐT-18 và Ps.ĐT-09, chủng Ps.ĐT-31 cho hiệu quả phân giải chitine thấp nhất tại hai thời điểm này.

**Bảng 3.** Bán kính vòng phân giải chitin (mm) của các chủng vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang triển vọng tại các thời điểm quan sát (NSTN)

STT	Nghiệm thức	Bán kính vòng phân giải chitin (mm) tại các thời điểm (NSTN)		
		2 ngày	4 ngày	6 ngày
1	Ps.ĐT-09	5,88 c	11,00 d	16,13 c
2	Ps.ĐT-52	9,75 a	14,25 b	21,50 b
3	Ps.ĐT-33	10,25 a	16,63 a	24,50 a
4	Ps.ĐT-18	8,00 b	12,75 c	20,50 b
5	Ps.ĐT-31	5,00 c	7,25 e	10,25 d
Mức ý nghĩa		**	**	**
CV%		5,5	2,5	2,9



**Hình 2.** Khả năng phân giải chitin của các chủng vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang trên môi trường Chitin agar tại 4 NSTN

### 3.4. Đánh giá khả năng tiết enzyme protease của vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang có triển vọng

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, vào thời điểm 1 NSTN, chủng vi khuẩn Ps.ĐT-33 cho khả năng phân giải enzyme protein cao nhất với bán kính phân giải 6,38 mm, cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng còn lại. Tiếp theo là các chủng Ps.ĐT-52, Ps.ĐT-18 và Ps.ĐT-31 với bán kính vòng phân giải ghi nhận lần lượt là 5,50 mm; 4,13 mm và 3,88 mm. Chủng Ps.ĐT-09 có bán kính vòng phân giải chỉ 1,88mm; đây là chủng có bán kính vòng phân giải thấp nhất trong số các chủng được đánh giá. Ở thời điểm 3 NSTN, chủng vi khuẩn Ps.ĐT-33 vẫn thể hiện khả năng phân giải protein cao nhất, tiếp theo là các chủng Ps.ĐT-52, Ps.ĐT-18 và Ps.ĐT-31.

Chủng Ps.ĐT-31 cho bán kính vòng phân giải thấp nhất trong số các chủng được đánh giá. Tại thời điểm 5NSTN, hai chủng Ps.ĐT-33 và Ps.ĐT-52 vẫn thể hiện khả năng phân giải protein cao nhất, tiếp theo là chủng Ps.ĐT-18. Hai chủng Ps.ĐT-09 và Ps.ĐT-31 cho hiệu quả phân giải protein thấp nhất ở giai đoạn này.

**Bảng 4.** Bán kính vòng phân giải protein (mm) của các chủng vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang triển vọng tại các thời điểm quan sát (NSTN).

STT	Nghiệm thức	Bán kính vòng phân giải protein (mm) tại các thời điểm (NSTN)		
		1 ngày	3 ngày	5 ngày
1	Ps.ĐT-09	1,88 d	7,55 d	13,38 c
2	Ps.ĐT-52	5,50 b	11,13 b	20,00 a
3	Ps.ĐT-33	6,38 a	12,38 a	21,13 a
4	Ps.ĐT-18	4,13 c	8,25 c	16,50 b
5	Ps.ĐT-31	3,88 c	4,5 e	13,13 c
Mức ý nghĩa		**	**	**
CV%		4,4	2,5	4,9

#### IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

##### 4.1. Kết luận

Năm chủng vi khuẩn *Pseudomonas* phát huỳnh quang (Ps.ĐT-31, Ps.ĐT-51, Ps.ĐT-18, Ps.ĐT-09 và Ps.ĐT-31) thể hiện khả năng đối kháng cũng như ức chế bào tử mọc mầm của nấm *P. oryzae* (Chủng Po.ĐT.TM-15) cao nhất trong số các chủng vi khuẩn được đánh giá ở điều kiện phòng thí nghiệm. Đây

cũng là những chủng vi khuẩn có khả năng phân giải chitin và protein trên môi trường và Chitin và Skimmed milk agar.

##### 4.2. Đề nghị

Cần tiếp tục triển khai thí nghiệm ở điều kiện nhà lưới và thực hiện các thí nghiệm tiếp theo trên đồng ruộng để xác định hiệu quả của các chủng vi khuẩn *Pseudomonas* có triển vọng hạn chế sự sinh trưởng và phát triển của nấm *P. oryzae* gây bệnh đạo ôn trên lúa.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Chandrakala, A., S. C. Chandrashekar, G. Jyothi and B. M. Ravikumar, 2012. Effect of cell-free culture filtrates of bio-control agents on the spore germination and infection by *Phytophthora infestans* causing late blight of potato. *Global Journal of Biology, Agriculture and Health Sciences*, 1(2): 40-45.
- Hsu, S. C. and J. L. Lockwood, 1975. Powdered chitin agar as a selective medium for enumeration of actinomycetes in water and soil. *Applied microbiology*, 29: 422-426.
- Noori, M. S. S. and H. M. Saud, 2012. Potential plant growth-promoting activity of *Pseudomonas* sp. isolated from paddy soil in Malaysia as biocontrol agent. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 3:120. doi:10.4172/2157-7471.1000120.
- Shyamala, L. and P. K. Sivakumar, 2012. Antifungal activity of rhizobacteria isolated from rice rhizosphere soil against rice blast fungus *Pyricularia oryzae*. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archive*, 3(3): 692-696.

### Evaluation of *Pseudomonas fluorescens* against *Pyricularia oryzae* causing rice blast disease and related mechanisms in invitro condition

Nguyen Thi Xuan Mai, Nguyen Duc Cuong

#### Abstract

One hundred and seventy five bacterial isolates were isolated from rice field rhizosphere in Dong Thap province. Fifteen out of 175 antagonist activity of bacteria isolates were selected from preliminary antagonistic test for *in vitro* mycelium growth inhibition assessment of *Pseudomonas fluorescens* against *P. oryzae* (Po.ĐT.TM-15 isolate). Result indicated that five bacterial isolates coded as Ps.ĐT-33, Ps.ĐT-52, Ps.ĐT-18, Ps.ĐT-09 and Ps.ĐT-31 had the highest mycelium growth inhibition ability against *P. oryzae* fungus. *In vitro* spore growth inhibition evaluation of cultural filtrates of nine antagonistic bacterial isolates showed that five bacterial isolates Ps.ĐT-33, Ps.ĐT-52, Ps.ĐT-18, Ps.ĐT-09 and Ps.ĐT-31 were recorded the highest spore germination inhibition efficacy on *P. oryzae* fungus. In addition, these five bacteria isolates also expressed the chitinolytic and proteinolytic enzymes on Chitin and Skimmed milk agar medium.

**Key words:** *Pyricularia oryzae*, fluorescent *Pseudomonas*, biocontrol

Ngày nhận bài: 12/7/2016  
 Người phản biện: TS. Hà Minh Thanh

Ngày phản biện: 22/7/2016  
 Ngày duyệt đăng: 26/7/2016

## KHẢO SÁT HIỆU QUẢ CỐ ĐỊNH ĐẠM CỦA HAI DÒNG VI KHUẨN *Serratia marcescens* CTB3 VÀ *Ideonella* sp. CT1N2 TRÊN GIỐNG LÚA OM6976

Nguyễn Thị Pha<sup>1</sup>, Trần Đình Giỏi<sup>2</sup>

### TÓM TẮT

Ứng dụng vi khuẩn cố định đạm trên ruộng lúa đang được các nhà khoa học quan tâm nghiên cứu trong những năm gần đây. Đề tài khảo sát hiệu quả cố định đạm của 2 dòng vi khuẩn *Serratia marcescens*. CTB3 và *Ideonella* sp. CT1N2 trên giống lúa OM6976 đã được thực hiện nhằm xác định khả năng thay thế phân hóa học do hoạt động cố định đạm của vi khuẩn tạo ra. Hai dòng vi khuẩn được đánh giá hiệu quả cố định đạm ở 5 mức phân đạm gồm 0%, 25%, 50%, 75% và 100% trên nền phân bón 80:40:30 kg/ha (N:P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:K<sub>2</sub>O) so sánh với 2 đối chứng không chủng vi khuẩn bón đầy đủ phân đạm (100%) và không bón phân đạm (0%) trong vụ Hè Thu năm 2015 tại xã Tân Thạnh, huyện Thới Lai, TP. Cần Thơ. Kết quả đã xác định được hai dòng vi khuẩn này có khả năng thay thế từ 25-50% phân đạm hóa học cho cây lúa, trong đó dòng vi khuẩn *S.marcescens*. CTB3 còn cho năng suất cao hơn đối chứng bón đầy đủ phân đạm khi được bón 75-100% phân đạm hóa học.

**Từ khóa:** Cố định đạm sinh học, canh tác lúa, vi khuẩn vùng rễ lúa

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sản xuất lúa ở Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) chủ yếu sử dụng phân bón hóa học làm tăng giá thành sản phẩm và ảnh hưởng xấu đến độ phì của đất. Theo Võ Minh Kha (2003) cây lúa chỉ sử dụng được từ 50–60% lượng phân bón vào, phần còn lại bị cố định ở trong đất, thất thoát do bị rửa trôi, phân đạm hóa và bay hơi vì thế gây ô nhiễm môi trường. Ứng dụng vi khuẩn cố định đạm trên ruộng lúa là giải pháp hữu hiệu cải thiện vấn đề này. Hai loài vi khuẩn *Serratia marcescens* và *Ideonella* sp được nhiều nghiên cứu xác định là có khả năng cố định đạm trên một số cây trồng như lúa miến (sorghum) và lúa (Gyaneshwar *et al.*, 2002; Gopalakrishnan *et al.*, 2011 và Jesse and Daniel, 2009). Ngoài khả năng cố định đạm một số loài thuộc chi *Serratia* còn có khả năng hòa tan lân (Ben *et al.*, 2009), đối kháng nấm bệnh (Widiastuti, 2008). Hai dòng vi khuẩn *S. marcescens*. CTB3 và *Ideonella* sp. CT1N2 được phân lập từ đất vùng rễ lúa, thuộc nhóm Gram âm, tế bào hình que, có khả năng sinh trưởng trên nhiều nguồn carbon khác nhau như sucrose, D-glucose, D- mannose, D-fructose, Maltose, có phản ứng catalase dương tính và có khả năng cố định đạm (Nguyễn Thị Pha và ctv., 2015). Giống lúa OM6976 là một trong các giống lúa chủ lực ở các tỉnh ĐBSCL, được chọn tạo từ tổ hợp lai IR68144/OM997//OM2718///OM2868, có thời gian sinh trưởng 97-102 ngày, chiều cao cây 100-110 cm, trọng lượng ngàn hạt 26-27 gram, giàu sắt, cứng cây, dạng hình đẹp, bông to, nhiều hạt, hơi nhiễm rầy nâu và đạo ôn, đẻ nhánh ít, chịu phèn, mặn khá (Trần Thị Cúc Hòa và ctv., 2011).

Để đánh giá khả năng cung cấp phân đạm sinh học cho cây lúa OM6976, nghiên cứu “Khảo sát hiệu quả cố định đạm của hai dòng vi khuẩn *Serratia marcescens*. CTB3 và *Ideonella* sp. CT1N2 trên giống lúa OM6976” đã được thực hiện làm cơ sở cho nghiên cứu phát triển phân bón vi sinh cho canh tác lúa trong hệ thống sản xuất nông nghiệp sạch và bền vững trong tương lai.

### II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Hai dòng vi khuẩn vùng rễ lúa *Serratia marcescens*. CTB3 và *Ideonella* sp. CT1N2 được phân lập, tuyển chọn và định danh từ kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Pha và ctv. (2015), giống lúa OM6976, được chọn tạo từ tổ hợp lai IR 68144/OM 997//OM 2718///OM 2868.

- Đất thí nghiệm thuộc nhóm đất thịt pha sét có hàm lượng đạm tổng số cao (0,26%), lân tổng số thấp (0,122%), lân dễ tiêu thấp (47,5 mg/kg) và kali dễ tiêu thấp (0,299 meq/100g) so với mô tả về đặc tính đất phù sa của Trần Minh Tiến và ctv. (2014).

#### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

##### 2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm (TN) được thực hiện trong vụ Hè Thu 2015 theo kiểu bố trí khối đầy đủ hoàn toàn ngẫu nhiên, 4 lần lặp lại với 12 nghiệm thức (NT) như trong Bảng 1, trên nền phân bón: 80:40:30 kg/ha (N:P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:K<sub>2</sub>O). Diện tích mỗi ô TN là 20 m<sup>2</sup>, khoảng

<sup>1</sup> Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long