

TUYỂN CHỌN THỰC KHUẨN THỂ CÓ TIỀM NĂNG KIỂM SOÁT BỆNH HÉO XANH DO VI KHUẨN *RALSTONIA SOLANACEARUM* TRÊN CÂY HOA CÚC (*CHRYSANTHEMUM* SP.) TRONG ĐIỀU KIỆN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Huỳnh Ngọc Tâm¹, Lê Uyển Thanh², Trần Thanh Tùng³,
Lưu Thái Danh³, Nguyễn Thị Thu Nga³

¹NCS Viện Công nghệ sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

²Trường Đại học Đồng Tháp

³Trường Đại học Cần Thơ

Hoa Cúc (*Chrysanthemum* sp.) là loại cây trồng có giá trị kinh tế cao, mang lại lợi ích kinh tế rất lớn cho người dân ở các tỉnh Đồng Bằng sông Cửu Long (ĐBSCL). Tuy nhiên, chúng thường bị bệnh héo xanh do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* gây ra ở mức độ cao. Hiện tại, tập quán canh tác của nông dân chủ yếu dựa vào biện pháp hóa học kém hiệu quả do vi khuẩn gây bệnh đã kháng các thuốc chứa hoạt chất là kháng sinh hoặc các thuốc gốc đồng (Frampton *et al.*, 2012). Vì vậy, trong xu hướng tiến đến một nền nông nghiệp hữu cơ, việc đẩy mạnh ứng dụng các chế phẩm sinh học nhằm cải tạo đất, cân bằng hệ vi sinh vật đất đã và đang là vấn đề cấp thiết của Việt Nam nói riêng và thế giới nói chung.

Trong hệ sinh thái tự nhiên và hệ sinh thái nông nghiệp luôn có sự hiện diện phong phú các quần thể vi sinh vật có lợi trong đất như xạ khuẩn, vi khuẩn, nấm và thực khuẩn thể (bacteriophages). Bên cạnh đó, thực khuẩn thể (TKT) là virus kí sinh tế bào vi khuẩn đã được thế giới nghiên cứu rất nhiều và ứng dụng trong phòng trừ sinh học bệnh cây trồng vì chúng có một số ưu điểm sau: kí sinh rất chuyên tính tế bào vi khuẩn (Duckworth và Gulig, 2002), thực khuẩn thể có mặt bất kì nơi đâu nếu có sự hiện diện của tế bào vi khuẩn kí chủ như: đất, nước, cây trồng, cơ thể động vật và con người (Adams, 1959), hơn thế nữa thực khuẩn thể không độc với tế bào nhân thật (Greer, 2005) và khả năng thực khuẩn thể tự sao chép trong một chu kì chỉ trong vòng 15 phút do đó mật số gia tăng rất nhanh (Duckworth và Gulig, 2002). Hiện nay, trên thế giới đã có nhiều ghi nhận về việc TKT có hiệu quả trong việc quản lí bệnh do các vi khuẩn. Riêng ở Việt Nam, nhóm nghiên cứu của Nguyễn Thị Trúc Giang và cs. (2014), Nguyễn Thị Thu Nga và cs. (2016), Phan Quốc Huy và cs. (2016) bước đầu nghiên cứu ứng dụng của thực khuẩn thể trong phòng trị bệnh hại vi khuẩn trên cây trồng, tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào về đánh giá hiệu quả phòng trị của thực khuẩn thể đối với bệnh héo xanh do vi khuẩn *R. solanacearum* gây ra trên cây hoa cúc (*Chrysanthemum* sp.).

Trong nghiên cứu này nhằm tuyển chọn được những dòng thực khuẩn thể hiệu quả cho việc quản lý bệnh héo xanh trên cây hoa cúc, góp phần phát triển nguồn vật liệu trong phòng trừ sinh học trên cây hoa ở ĐBSCL nói riêng và Việt Nam nói chung.



Hình 1: Cúc Tiger tại TP.Sa Đéc, tỉnh Đồng Tháp

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Địa điểm và mẫu vật

Giống hoa cúc Tiger, nguồn vi khuẩn gây bệnh và nguồn thực khuẩn thể được phân lập từ các tỉnh Đồng Bằng Sông Cửu Long (ĐBSCL) và Lâm Đồng.

2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp điều tra, thu thập mẫu bệnh trên đồng ruộng: theo Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây trồng QCVN 01-38: 2010/BNNPTNT (Bộ Nông nghiệp và PTNT, 2010). Mỗi tỉnh chọn huyện và xã có diện tích trồng cúc trọng điểm. Chọn ít nhất 3 ruộng có đặc trưng canh tác khác nhau, ghi chép các số liệu liên quan đến giống, chế độ luân canh, thời vụ, phân bón, thuốc bảo vệ thực vật... Xác định ruộng điều tra đại diện cho vùng bị bệnh. Điều tra theo 5 điểm chéo góc. Đối với các mẫu bệnh có triệu chứng bệnh héo xanh vi khuẩn trên đồng ruộng, tiến hành thu đoạn thân gần gốc hoặc toàn cây và đất cho vào túi sạch, ghi nhãn với các thông tin: nơi thu thập, giống, ngày thu mẫu,...

Phương pháp phân lập vi khuẩn *Ralstonia solanacearum*: Phân lập vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh được áp dụng theo (Mehan V. K và McDonald D., 1995) và (Burgess *et al.*, 2009).

Phương pháp phân lập các dòng thực khuẩn thể: Thu thập mẫu đất, cây bệnh héo xanh trên cây hoa cúc ở các tỉnh ĐBSCL, sau đó thực hiện phân lập các dòng TKT theo (Makari *et al.*, 2013) và (Biền Văn Minh, 2006).

Phương pháp đánh giá khả năng ký sinh của thực khuẩn thể đối với các chủng vi khuẩn *R. solanacearum* trong điều kiện phòng thí nghiệm

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên. Gồm 55 chủng vi khuẩn *R. solanacearum* và 124 dòng thực khuẩn thể **với 3 lần lặp lại.**

Cách tiến hành: Cho 100 µl huyền phù vi khuẩn *R. solanacearum* với OD = 0,3 vào đĩa petri có vạch 16 ô chứa 10 ml môi trường King'B 0,8% agar đã nấu tan để nguội ở 50°C, sau đó dùng micropipette hút 5 µl huyền phù TKT nhỏ vào từng ô tương ứng trên đĩa petri đã chứa sẵn vi khuẩn *R. solanacearum*. Sau đó đặt đĩa ở điều kiện phòng.

Chỉ tiêu ghi nhận: Xác định khả năng ký sinh của TKT thông qua việc hình thành vòng vô khuẩn (plaques) trên từng chủng vi khuẩn khác nhau sau 24 giờ. Từ đó xác định phổ ký chủ của mỗi dòng TKT và các chủng vi khuẩn mẫn cảm nhất bằng cách đếm tổng số vi khuẩn bị ký sinh bởi mỗi dòng TKT và tổng số TKT ký sinh trên mỗi dòng vi khuẩn.

Xử lý số liệu: Số liệu được xử lý bằng Excel và phân tích thống kê bằng phần mềm Mstat-C với phép thử Duncan.

Phương pháp đánh giá khả năng phân giải vi khuẩn *R. solanacearum* của 10 dòng TKT có phổ ký chủ rộng

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại, gồm 10 dòng TKT có phổ ký chủ rộng nhất và 3 chủng vi khuẩn bị ký sinh nhiều nhất.

Cách tiến hành: Rút 100µl huyền phù TKT 10³ pfu/ml + 100 µl huyền phù vi khuẩn *R. solanacearum* OD = 0,3 cho vào đĩa petri chứa 10ml môi trường King'B 0,8% agar, được hòa đều với nhau và được đặt ở điều kiện phòng.

Chỉ tiêu ghi nhận: Ghi nhận đường kính phân giải từng dòng thực khuẩn thể với từng chủng vi khuẩn kí chủ tương ứng, bằng cách đo đường kính 10 vòng plaques của mỗi lần lặp lại ở các thời điểm 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ sau khi tiến hành thí nghiệm.

Xử lí số liệu: Số liệu được phân tích thống kê bằng phần mềm Mstat-C qua phép thử Duncan từ đó chọn ra các dòng TKT có đường kính phân giải vi khuẩn cao nhất để đánh giá hiệu quả phòng trị trong điều kiện nhà lưới.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Kết quả phân lập các chủng vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh trên Cúc (*Chrysanthemum sp.*) và các dòng TKT ở một số tỉnh ĐBSCL và Lâm Đồng

Trong thời gian từ tháng 9/2015 đến tháng 3/2017, chúng tôi tiến hành thu mẫu bệnh héo xanh tại các tỉnh ĐBSCL và Lâm Đồng. Kết quả phân lập được 55 chủng vi khuẩn *R.solanacearum* (Bảng 1) và 124 dòng TKT (Bảng 2) gồm các tỉnh: Bến Tre, Cần Thơ, Hậu Giang, Tiền Giang, An Giang, Đồng Tháp, Bạc Liêu và Lâm Đồng. Trong đó vi khuẩn *R.solanacearum* phân lập nhiều ở tỉnh Bến Tre với 13 dòng trong số 55 dòng chiếm 23,6% và TKT phân lập được 38 dòng trong số 124 dòng chiếm 30,6%, và đây cũng là nơi có diện tích trồng hoa chuyên canh rất lớn và lâu đời ở ĐBSCL, do đó dịch bệnh cũng rất nhiều so với các tỉnh khác trong khu vực.

Bảng 1 Danh sách 55 chủng vi khuẩn <i>R. solanacearum</i> phân lập ở một số tỉnh ĐBSCL và Lâm Đồng			Bảng 2 Danh sách 124 dòng thực khuẩn thể phân lập ở một số tỉnh ĐBSCL và Lâm Đồng		
STT	Địa điểm thu mẫu	Số chủng VK	STT	Địa điểm thu mẫu	Số dòng TKT
1	TP Sa Đéc - Đồng Tháp	8	1	TP Sa Đéc - Đồng Tháp	33
2	H. Châu Phú- An Giang	3	2	H. Châu Phú - An Giang	5
3	TP Đà Lạt - Lâm Đồng	3	3	TP Đà Lạt - Lâm Đồng	9
4	Q. Thốt Nốt - Cần Thơ	7	4	Q. Thốt Nốt - Cần Thơ	8
5	Q. Bình Thủy - Cần Thơ	6	5	Q. Bình Thủy - Cần Thơ	3
6	H. Chợ Lách - Bến Tre	13	6	H. Chợ Lách - Bến Tre	38
7	Mỹ Tho - Tiền Giang	12	7	Mỹ Tho - Tiền Giang	12
8	Long Mỹ - Hậu Giang	1	8	Long Mỹ - Hậu Giang	9
9	Ngan Dừa - Bạc Liêu	1	9	Ngan Dừa - Bạc Liêu	3
10	Vĩnh Lợi - Bạc Liêu	1	10	Vĩnh Lợi - Bạc Liêu	4
Tổng		55	Tổng		124

Các chủng vi khuẩn phân lập được đều có khuẩn lạc tròn, có màu trắng sữa, nhẵn bóng, nhòe trên môi trường King'B. Khuẩn lạc của vi khuẩn *R.solanacearum* trên môi trường TZCA (Tetrazolium Chloride Agar) thì có màu hồng ở giữa và rìa có màu trắng phù hợp với miêu tả của Vũ Triệu Mân (2007).

Khi cho thực khuẩn thể (phage) lên một lớp vi khuẩn đang phân chia trên đĩa thạch dinh dưỡng sẽ tạo nên một vùng phân giải trong suốt. Vùng phân giải này gọi là “plaque” (đốm thực khuẩn) (Hình 2).



Hình 2: Hình minh họa phương pháp pha loãng đồ đĩa để tách ròi TKT qua hình thành đốm thực khuẩn đơn lẻ (plaque). Dòng TKT ΦCT46 (trái), dòng TKT ΦBT109 (phải)

2. Đánh giá khả năng ký sinh của thực khuẩn thể đối với các chủng vi khuẩn *R. solanacearum* trong điều kiện phòng thí nghiệm

Bảng 3

Khả năng ký sinh của 124 dòng TKT đối với 55 dòng vi khuẩn phân lập ở một số tỉnh ĐBSCL và Lâm Đồng

STT	Dòng TKT	Số VK kí sinh	STT	Dòng TKT	Số VK kí sinh	ST T	Dòng TKT	Số VK kí sinh
1	ΦĐT1	51	43	ΦCT43	42	85	ΦBT85	46
2	ΦĐT2	51	44	ΦCT44	51	86	ΦBT86	51
3	ΦĐT3	50	45	ΦCT45	51	87	ΦBT87	44
4	ΦĐT4	50	46	ΦCT46	52	88	ΦBT88	42
5	ΦĐT5	49	47	ΦCT47	51	89	ΦBT89	41
6	ΦĐT6	42	48	ΦCT48	37	90	ΦBT90	40
7	ΦĐT7	41	49	ΦCT49	52	91	ΦBT91	43
8	ΦĐT8	52	50	ΦCT50	47	92	ΦBT92	40
9	ΦĐT9	52	51	ΦBT51	37	93	ΦBT93	32
10	ΦĐT10	42	52	ΦBT52	41	94	ΦĐT94	45
11	ΦĐT11	40	53	ΦBT53	53	95	ΦĐT95	46
12	ΦĐT12	49	54	ΦBT54	51	96	ΦĐT96	48
13	ΦĐT13	52	55	ΦBT55	38	97	ΦTG97	50
14	ΦĐT14	52	56	ΦBT56	51	98	ΦTG98	50

TIÊU BAN TÀI NGUYÊN SINH VẬT

15	ΦĐT15	40	57	ΦBT57	51	99	ΦTG99	47
16	ΦĐT16	42	58	ΦBT58	49	100	ΦTG100	46
17	ΦĐT17	48	58	ΦBT59	51	101	ΦTG101	50
18	ΦĐT18	51	60	ΦBT60	50	102	ΦTG102	48
19	ΦĐT19	46	61	ΦBT61	38	103	ΦTG103	48
20	ΦĐT20	48	62	ΦBT62	51	104	ΦTG104	45
21	ΦĐT21	44	63	ΦBT63	43	105	ΦTG105	49
22	ΦĐT22	48	63	ΦBT64	49	106	ΦTG106	49
23	ΦĐT23	46	65	ΦBT65	50	107	ΦTG107	49
24	ΦĐT24	51	66	ΦBT66	52	108	ΦTG108	49
25	ΦĐT25	47	67	ΦBT67	53	109	ΦHG109	51
26	ΦAG26	31	68	ΦBT68	32	110	ΦHG110	51
27	ΦAG27	47	69	ΦBT69	38	111	ΦHG111	46
28	ΦAG28	40	70	ΦBT70	42	112	ΦHG112	41
29	ΦAG29	50	71	ΦBT71	53	113	ΦHG113	51
30	ΦAG30	49	72	ΦBT72	52	114	ΦHG114	51
31	ΦLĐ31	48	73	ΦBT73	52	115	ΦHG115	52
32	ΦLĐ32	49	74	ΦBT74	44	116	ΦHG116	50
33	ΦLĐ33	49	75	ΦBT75	53	117	ΦHG117	46
34	ΦLĐ34	41	76	ΦBT76	45	118	ΦBL118	37
35	ΦLĐ35	43	77	ΦBT77	53	119	ΦBL119	38
36	ΦLĐ36	47	78	ΦBT78	52	120	ΦBL120	40
37	ΦLĐ37	50	79	ΦBT79	51	121	ΦBL121	23
38	ΦLĐ38	51	80	ΦBT80	47	122	ΦBL122	42
39	ΦLĐ39	38	81	ΦBT81	52	123	ΦBL123	40
40	ΦCT40	39	82	ΦBT82	48	124	ΦBL124	34
41	ΦCT41	50	83	ΦBT83	48	-	-	-
42	ΦCT42	52	84	ΦBT84	43	-	-	-
Trung bình số vi khuẩn kí chủ của mỗi TKT 45,7/55								

Bảng 4

Số lượng TKT kí sinh trên các dòng vi khuẩn *R. solanacearum* trong tổng số 124 dòng TKT được khảo sát

STT	Dòng VK	Số TKT kí sinh	STT	Dòng VK	Số TKT kí sinh	STT	Dòng VK	Số TKT kí sinh
1	ĐT4	119	20	CT71	102	39	BT160	0
2	ĐT5	119	21	CT78	95	40	ĐT171	119
3	ĐT6	122	22	CT79	117	41	ĐT172	116
4	ĐT7	117	23	CT80	97	42	TG187	121
5	ĐT9	124	24	CT81	105	43	TG189	122
6	ĐT12	121	25	CT87	115	44	TG190	121
7	ĐT25	119	26	CT88	119	45	TG191	118
8	AG27	118	27	BT101	96	46	TG192	122
9	AG28	94	28	BT104	72	47	TG194	120

10	AG30	114	29	BT112	102	48	TG196	119
11	AG32	93	30	BT118	70	49	TG197	115
12	LĐ34	122	31	BT133	46	50	TG198	120
13	LĐ37	88	32	BT134	120	51	TG199	122
14	LĐ39	118	33	BT135	117	52	TG202	118
15	CT57	120	34	BT145	74	53	TG204	117
16	CT59	114	35	BT152	73	54	HG206	109
17	CT65	101	36	BT156	45	55	BL223	111
18	CT68	96	37	BT157	50	-	-	-
19	CT69	116	38	BT158	105	-	-	-
Trung bình số lượng TKT kí sinh trên môi vi khuẩn <i>R. solanacearum</i> 100/124								

Kết quả khả năng kí sinh của 124 dòng TKT đối với 55 chủng vi khuẩn được phân lập ở một số tỉnh ĐBSCL và Lâm Đồng cho thấy có 10 dòng TKT có khả năng kí sinh vi khuẩn *R. solanacearum* rộng là ΦĐT13, ΦAG29, ΦLĐ38, ΦCT44, ΦCT46, ΦBT56, ΦBT67, ΦBT75, ΦTG97, ΦHG109 là trên 50 trong tổng số 55 dòng vi khuẩn khảo sát chiếm 90,9% và 3 chủng vi khuẩn ĐT9, LĐ34, BT134 bị thực khuẩn thể kí sinh nhiều nhất trên 120 trong tổng số 124 dòng TKT được khảo sát chiếm 96,77%.

3. Đánh giá khả năng tiêu diệt vi khuẩn của 10 dòng TKT có phổ ký chủ rộng

Thời điểm 48 GSKNN kết quả trình bày ở Bảng 5, các nghiệm thức TKT đều cho kết quả phân giải từ 2,13 đến 8,79 mm. 6 dòng TKT ΦCT46, ΦCT44, ΦBT67, ΦĐT13, ΦBT56, ΦBT75 có trung bình đường kính phân giải cao đạt từ 8,32 đến 8,79 mm và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các dòng còn lại. Các nghiệm thức vi khuẩn cũng cho thấy kết quả bị phân giải từ 4,47 đến 9,74 mm. Đối với vi khuẩn thì trung bình đường kính bị phân giải cao nhất là chủng BT134 là 9,74 mm khác biệt ý nghĩa thống kê với 2 chủng còn lại.

Bảng 5

Đường kính phân giải của 10 dòng thực khuẩn thể với 3 chủng vi khuẩn thời điểm 48 giờ

Đường kính đốm thực khuẩn (plaque) (mm)				
VK (A) TKT(B)	ĐT9	LĐ34	BT134	TB(B)
ΦBT56	3,80 lm	7,27 efgh	14,1 a	8,40 A
ΦAG29	7,14 fgh	3,33 lmn	6,73 ghi	5,73 C
ΦLĐ38	3,61 lm	7,42 efgh	9,59 d	6,87 B
ΦCT44	5,73 ij	8,07 ef	12,2 bc	8,65 A
ΦCT46	6,32 hij	7,47 efgh	12,6 b	8,79 A
ΦĐT13	3,77 lm	7,98 efg	13,3 ab	8,34 A
ΦBT67	4,47 kl	8,17 ef	12,9 b	8,51 A
ΦTG97	2,62 mno	2,09 no	1,68 o	2,13 D
ΦBT75	5,17 jk	8,52 de	11,3 c	8,32 A
ΦHG109	2,04 no	2,05 no	3,05 mn	2,38 D

TB(A)	4,47 C	6,24 B	9,74 A	
CV	10,4			
Mức ý nghĩa	F(A)*,F(B)*,F(A×B)*			

Chú thích: các số trung bình trong một cột theo sau bởi một hoặc nhiều chữ giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo phép thử Duncan, * Khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Thời điểm 72 GSKNN kết quả trình bày ở Bảng 6 cho thấy nghiệm thức TKT đều cho kết quả phân giải từ 2,67 đến 11,4 mm. Trong đó, 2 dòng TKT ΦCT46, ΦBT67, có trung bình đường kính phân giải cao là 11,2 mm và 11,4 mm cao hơn và khác biệt ý nghĩa với các dòng TKT còn lại. Kế đó là 3 dòng TKT ΦCT44, ΦBT56, ΦBT75 có trung bình đường kính phân giải cũng khá cao từ 10,0 mm đến 10,4 mm. Các nghiệm thức vi khuẩn cũng cho thấy độ mẫn cảm của 3 chủng vi khuẩn, trong đó chủng vi khuẩn BT134 mẫn cảm nhất có trung bình đường kính phân giải cao 12,1 mm và khác biệt ý nghĩa so với 2 chủng vi khuẩn còn lại.

Bảng 6

Đường kính phân giải của 10 dòng thực khuẩn thể với 3 chủng vi khuẩn thời điểm 72 giờ

Đường kính đốm thực khuẩn (plaque) (mm)				
VK(A) TKT(B)	ĐT9	LĐ34	BT134	TB(B)
ΦBT56	4,08 l	8,95 g	17,95ab	10,3 B
ΦAG29	7,52 ghij	3,42 lm	7,77 ghi	6,24 D
ΦLĐ38	3,72 lm	7,78 ghi	12,1 e	7,85 C
ΦCT44	6,27 jk	8,45 gh	16,6 c	10,4 B
ΦCT46	7,13 hijk	8,82 g	8,82 g	11,2 A
ΦĐT13	4,02 l	8,10 gh	17,1 bc	9,73 B
ΦBT67	6,47 ijk	8,64 g	19,2 a	11,4 A
ΦTG97	3,20 lm	2,42 m	2,40 m	2,67 E
ΦBT75	6,08 k	10,7 f	13,3 d	10,0 B
ΦHG109	3,10 lm	2,30 m	3,19 lm	2,86 E
TB(A)	5,16 C	6,95 B	12,7 A	
CV(%)	9,35			
Mức ý nghĩa	F(A)*,F(B)*,F(A×B)*			

Chú thích: các số trung bình trong một cột theo sau bởi một hoặc nhiều chữ giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo phép thử Duncan, * Khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Thị Trúc Giang và cs.,(2014) đã phân lập được 10 dòng thực khuẩn thể từ 26 dòng vi khuẩn, trong đó có 4 dòng TKT có khả năng phòng trị hiệu quả bệnh cháy bìa lá lúa do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Ở thời điểm 24 GSKNC thì bốn dòng TKT đều cho hiệu quả tiêu diệt vi khuẩn với đường kính phân giải từ 3,8 – 5,1 mm. Trong đó, dòng thực khuẩn 10, 12 và 13 có hiệu quả tiêu diệt vi khuẩn cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê với dòng TKT 17 với đường kính phân giải lần lượt là 4,9 mm; 5,1 mm; 5,1 mm và 3,8 mm. Ở thời điểm 48 GSKNC thì đường kính phân giải của bốn dòng TKT đạt từ 8,1 – 11,7 mm, dòng TKT 12 (11,7 mm) có đường kính phân giải khác biệt ý nghĩa thống kê so với các dòng còn lại.

Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Tan *et al.* (2009), trong việc phân lập 132 dòng thực khuẩn từ nước công, với 30 dòng thực khuẩn thể cho kết quả đối kháng với *R. solanacearum* và 5 dòng TKT ức chế *Erwinia chrysanthemi* thể hiện qua đường kính phân giải từ khoảng 6 – 17 mm trong 24 – 48 giờ.

III. KẾT LUẬN

Kết quả phân lập được 124 dòng thực khuẩn thể và 55 chủng vi khuẩn *R. solanacearum* từ những ruộng trồng Cúc tại các tỉnh: Bến Tre, Cần Thơ, Hậu Giang, Tiền Giang, An Giang, Đồng Tháp, Bạc Liêu và Lâm Đồng.

Kết quả đánh giá khả năng kí sinh của 124 dòng TKT đối với 55 chủng vi khuẩn *R. solanacearum* có 10 dòng TKT có khả năng kí sinh rộng là ΦĐT13, ΦAG29, ΦLĐ38, ΦCT44, ΦCT46, ΦBT56, ΦBT67, ΦBT75, ΦTG97, ΦHG109, chúng kí sinh trên 50 trong tổng số 55 dòng vi khuẩn khảo sát chiếm 90,9%. Có 3 chủng vi khuẩn ĐT9, LĐ34, BT134 bị thực khuẩn thể kí sinh nhiều nhất: 120 trong tổng số 124 dòng TKT được khảo sát chiếm 96,77%.

Kết quả đánh giá khả năng tiêu diệt vi khuẩn của 10 dòng thực khuẩn thể lên 3 chủng vi khuẩn ĐT9, LĐ34, BT134 có 5 dòng TKT là ΦCT44, ΦCT46, ΦBT56, ΦBT67, ΦBT75 có khả năng tiêu diệt vi khuẩn *R. solanacearum* cao hơn các dòng thực khuẩn thể còn lại.

Lời cảm ơn: Công trình được hoàn thành với sự hỗ trợ nhiệt tình của các cộng tác viên và đội ngũ nghiên cứu viên của bộ môn Bảo vệ thực vật trường Đại học Cần Thơ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Adams M. H.**, 1959. *Bacteriophages*. Interscience publishers. 592 pp.
2. **Biền Văn Minh**, 2006. Phương pháp khảo sát phage. *Tạp chí khoa học Trường ĐH Sư phạm Huế*. 65:24-26.
3. **Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn**, 2010. *Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây trồng*, QCVN 01-38: 2010/BNNPTNT, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn ban hành tại Thông tư số 71/2010/TT-BNNPTNT, ngày 10 tháng 12 năm 2010.
4. **Duckworth D. H. & Gulig P. A.**, 2002. Bacteriophages. *BioDrugs*. 16 (1): 57-62.
5. **Greer G. G.**, 2005. Bacteriophage control of foodborne bacteria. *Journal of Food Protection*, 68 (5): 1102-1111.
6. **Makari Hanumanthappa K., Palaniswamy M., Angayarkanni J.**, 2013. Isolation of lytic bacteriophage against *Ralstonia solanacearum* causing wilting symptoms in ginger (*Zingiber officinale*) and potato (*Solanum tuberosum*) plants. *International Research Journal of Biological Sciences*, 2 (11): 78-84.
7. **Mehan V. K & McDonald D.**, 1995. “Techniques for diagnosis of *Pseudomonas solanacearum*, and for resistance screening against groundnut bacterial wilt”, *Technical Report*, International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics.
8. **Nguyễn Thị Thu Nga và Nguyễn Thị Trúc Giang**, 2016. Thực khuẩn thể và ứng dụng trong phòng trị bệnh hại vi khuẩn trên cây trồng. *Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 301:181-202.
9. **Nguyễn Thị Trúc Giang, Đoàn Thị Kiều Tiên và Nguyễn Thị Thu Nga**, 2014. Phân lập TKT và đánh giá hiệu quả phòng trị bệnh cháy bìa lá lúa do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae*

- pv. *oryzae*. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 4: 194-203.
10. **Phan Quốc Huy, Nguyễn Minh Trung, Hồ Cảnh Thịnh và Nguyễn Thị Thu Nga**, 2016. Đánh giá hiệu quả của thực khuẩn thể trong phòng trừ bệnh thối hạt trên lúa do vi khuẩn *Burkholderia glumae*. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 45: 70-78.
 11. **Frampton R. A., Pitman A. R. & Fineran P. C.**, 2012. Advances in bacteriophage-mediated control of plant pathogens. *International journal of microbiology*: 1-11.
 12. **Tan, G.H., M.S. Nordin, A.R. Napsiah and H. Rosnah**, 2009. Lysis activity of bacteriophages isolated from sewage against *Ralstonia solanacearum* and *Erwinia chrysanthemi* (Aktiviti lisis bakteriofaj daripada air kumbahan terhadap *Ralstonia solanacearum* dan *Erwinia chrysanthemi*), *J. Trop. Agric. and Fd. Sc.* 37(2): 203– 209.

**SCREENING POTENTIAL BACTERIOPHAGES IN VITRO FOR
CONTROLLING *RALSTONIA SOLANACEARUM* CAUSING BACTERIAL WILT
ON *CHRYSANTHEMUM* SP.**

**Huynh Ngoc Tam, Le Uyen Thanh, Tran Thanh Tung,
Luu Thai Danh, Nguyen Thi Thu Nga**

SUMMARY

There were total 124 bacteriophages and 55 *R. solanacearum* strains isolated from Ben Tre, Can Tho, Hau Giang, Tien Giang, An Giang, Dong Thap, Bac Lieu and Lam Dong provinces. Assessing parasitic abilities of 124 bacteriophages on 55 *R. solanacearum* strains, there were 10 bacteriophages i.e. ΦĐT13, ΦAG29, ΦLĐ38, ΦCT44, ΦCT46, ΦBT56, ΦBT67, ΦBT75, ΦTG97, ΦHG109 expressing wide parasitizing range (on 50 strains of *R. solanacearum* in total 55 tested strains, occupying 90.9%). Three *R. solanacearum* strains ĐT9, LĐ34, BT134 showed most sensitivity to 120 phages in total 124 tested phages, occupying 96.77%. Assessing lytic abilities of 10 bacteriophages on 3 *R. solanacearum* strains i.e. ĐT9, LĐ34, BT134 indicated 5 bacteriophages i.e. ΦCT44, ΦCT46, ΦBT56, ΦBT67, ΦBT75 expressing stronger lytic abilities compared to the remaining bacteriophage strains.