

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM VI KHUẨN HỌC CỦA VÙNG RỄ CÂY DỨA Ở NÔNG TRƯỜNG SUỐI HAI, HUYỆN BA VÌ, TỈNH HÀ TÂY

NGUYỄN MINH ANH, PHẠM THANH HÀ,
NGUYỄN THỊ QUỲNH MAI, NGUYỄN NGỌC DŨNG

Viện Công nghệ sinh học

Cây dứa là loại cây trồng có giá trị kinh tế cao và được coi là một cây trồng để xóa đói giảm nghèo cho người nông dân Việt Nam. Vì vậy, diện tích trồng dứa sẽ được gia tăng trong thời gian tới [3]. Giống như ở nhiều loại cây trồng khác trong điều kiện nhiệt đới, cây dứa dễ bị bệnh do các vi nấm gây nên, trong đó chủ yếu do nấm *Phytophthora* làm thối nõn, [9]. Kết quả nghiên cứu trong điều kiện chậu vại cũng cho thấy bệnh thối nõn dứa do *Phytophthora* sp. có thể được khắc phục khá hữu hiệu nhờ sử dụng các chủng vi khuẩn đối kháng nấm chọn lọc [8].

Trong bài báo này, một số đặc điểm vi khuẩn học của vùng rễ của cây dứa trồng ở nông trường Suối Hai, xã Tây Đằng, huyện Ba Vì, tỉnh Hà Tây được trình bày.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Mẫu phân tích

Mẫu phân tích là đất trồng dứa và rễ của cây dứa được thu nhận ở 5 địa điểm vào các thời điểm khác nhau trên cùng một thửa ruộng (bảng 1).

Bảng 1

Những đặc điểm cơ bản của các mẫu phân tích

Thời gian Mẫu	Tháng 7-2003		Tháng 11-2003		Tháng 4-2004	
	Độ pH của đất	Thể trạng của cây	Độ pH của đất	Thể trạng của cây	Độ pH của đất	Thể trạng của cây
1	kxđ	khỏe, cây tơ	5,0	khỏe, hình thành quả	5,0	khỏe, đã thu hoạch quả
2	kxđ	khỏe, cây tơ	4,5	khỏe, hình thành quả	5,0	khỏe, đã thu hoạch quả
3	kxđ	khỏe, cây tơ	4,8	khỏe, hình thành quả	5,0	khỏe, đã thu hoạch quả
4	kxđ	khỏe, cây tơ	5,0	khỏe, hình thành quả	5,0	khỏe, đã thu hoạch quả
5	kxđ	khỏe, cây tơ	5,0	khỏe, hình thành quả	5,0	khỏe, đã thu hoạch quả

Ghi chú: kxđ. không xác định.

Công trình được hỗ trợ về kinh phí của Chương trình nghiên cứu cơ bản (2003-2004) và của Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2. Môi trường

Các môi trường cao thịt thạch MPA [4], S1 [5], NFDM bán lỏng [6], ashby [4], PDA, CPA [2] và môi trường khoáng Gerretson [1] đã được sử dụng.

3. Phương pháp

Để xác định mật độ của các nhóm vi khuẩn cần quan tâm, phương pháp đếm số khuẩn lạc trên đĩa thạch và phương pháp xác định số lượng xấp xỉ (MPN) theo Okon và cs. (1977) đã được sử dụng. Mật độ của vi khuẩn khu trú ở rễ được xác định như sau: rễ cây dứa được rửa sạch

đất bám bằng nước máy, sau đó được rửa tiếp ba lần bằng nước vô trùng, thấm khô bề mặt của rễ, cân 10 g và được nghiền nát bằng thanh thủy tinh, tiếp đến bổ sung 90 ml nước máy vô trùng, trộn đều và pha loãng.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Vi khuẩn dị dưỡng cacbon tổng số

Trên môi trường MPA, mật độ của vi khuẩn dị dưỡng cacbon tổng số trong đất và rễ của cây dứa trồng ở nông trường Suối Hai, Ba Vì, Hà Tây đã được xác định và kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2

Mật độ của vi khuẩn dị dưỡng cacbon tổng số (số khuẩn lạc/ g mẫu tươi)

Thời gian Mẫu	Tháng 7. 2003		Tháng 11. 2003		Tháng 4. 2004	
	Đất	Rễ	Đất	Rễ	Đất	Rễ
1	$1,3 \cdot 10^6$	$5,6 \cdot 10^6$	$2,0 \cdot 10^7$	$4,0 \cdot 10^7$	$5,1 \cdot 10^6$	$2,2 \cdot 10^6$
2	$1,4 \cdot 10^6$	$2,6 \cdot 10^6$	$4,0 \cdot 10^7$	$2,5 \cdot 10^7$	$5,0 \cdot 10^6$	$5,6 \cdot 10^7$
3	$4,4 \cdot 10^5$	$2,9 \cdot 10^6$	$6,0 \cdot 10^7$	$5,0 \cdot 10^7$	$1,2 \cdot 10^7$	$3,8 \cdot 10^7$
4	$2,2 \cdot 10^5$	$3,7 \cdot 10^6$	$3,0 \cdot 10^7$	$1,8 \cdot 10^7$	$8,7 \cdot 10^6$	$4,1 \cdot 10^6$
5	$1,2 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^6$	$2,0 \cdot 10^7$	$1,0 \cdot 10^7$	$2,0 \cdot 10^7$	$4,0 \cdot 10^6$

Vi khuẩn là nhóm vi sinh vật có mật độ cao nhất trong đất trồng trọt và thường cho giá trị 106-108 tế bào/1cm³ đất [12]. Như vậy, nhìn chung mật độ của nhóm vi khuẩn trong đất trồng dứa ở nông trường Suối Hai có giá trị từ thấp tới trung bình, tùy theo thời gian và đạt cao nhất vào tháng 11 (khoảng hàng chục triệu tế bào/g đất tươi), khi cây dứa đang ở giai đoạn mang quả. Bảng 2 cho thấy, ở giai đoạn cây dứa tơi, 9-10 tháng tuổi, có sự chênh lệch giữa mật độ của tế bào vi khuẩn ở rễ và đất không rễ, nhưng tỷ lệ đó không cao như ở một số loại cây trồng khác [12]; ở giai đoạn mang quả, 14 tháng tuổi, và sau thu hoạch, 19 tháng tuổi, mật độ của vi khuẩn của rễ cây dứa hầu như thấp hơn so với mật độ của vi khuẩn có trong đất, mặc dù sự chênh lệch đó không lớn. Với mật độ vi khuẩn dị dưỡng tổng số như vậy cho phép kết luận rằng đất trồng dứa ở nông trường Suối Hai có độ phì không cao và rễ của cây dứa ở đây không tạo nên hiệu ứng tích cực lên sự khu trú của vi khuẩn như ở nhiều loại cây trồng khác.

2. Nhóm vi khuẩn pseudomonat sinh huỳnh quang.

Vi khuẩn pseudomonat sinh huỳnh quang được coi là tác nhân gây tiềm năng trong phòng chống nấm gây bệnh của cây trồng có nguồn gốc từ hạt và từ đất [12]. Theo Gould và cs. (1985), môi trường S1 được chứng minh là môi trường có tính đặc hiệu cao trong việc xác định số lượng vi khuẩn pseudomonat sinh huỳnh quang. Kết quả xác định mật độ của nhóm vi khuẩn pseudomonat sinh huỳnh quang trong các mẫu đất và rễ dứa được trình bày ở bảng 3. Trước hết kết quả cho thấy, ở giai đoạn cây dứa tơi, nhìn chung mật độ của nhóm vi khuẩn pseudomonat sinh huỳnh quang ở rễ cao hơn hẳn so với mật độ trong đất, từ vài lần cho tới hàng trăm lần; trong khi đó, ở giai đoạn cây dứa mang quả, mật độ của nhóm vi khuẩn này có giá trị khá thấp và không có sự chênh lệch giữa rễ cây và đất không rễ. So với vi khuẩn dị dưỡng tổng số ở giai đoạn cây dứa cho quả thì nhóm vi khuẩn pseudomonat sinh huỳnh quang ở giai

đoạn này chiếm tỷ lệ khá thấp, cả ở trong đất lẫn ở rễ. Ở giai đoạn sau thu hoạch quả, mật độ của nhóm vi khuẩn pseudomonat sinh huỳnh quang tăng cao trở lại và sự chênh lệch về mật độ phân

bố giữa rễ và đất không rõ ràng. Với kết quả như vậy, có thể cho rằng yếu tố khí hậu và hiện trạng sinh lý của cây đều đã tác động lên sự phân bố của nhóm vi khuẩn này.

Bảng 3

Mật độ của nhóm vi khuẩn pseudomonat sinh huỳnh quang (số khuẩn lạc/g mẫu tươi)

Thời gian Mẫu	Tháng 7. 2003		Tháng 11. 2003		Tháng 4. 2004	
	Đất	Rễ	Đất	Rễ	Đất	Rễ
1	≤ 10	9,8. 10 ⁴	≤ 10	≤ 10	2,0. 10 ⁴	5,0. 10 ⁴
2	1,0. 10 ³	4,0. 10 ³	≤ 10	4,0. 10 ²	2,4. 10 ⁴	5,4. 10 ⁵
3	≤ 10	9,8. 10 ⁴	1,0. 10 ³	≤ 10	8,8. 10 ⁴	1,5. 10 ⁶
4	≤ 10	4,5. 10 ⁴	≤ 10	≤ 10	1,4. 10 ⁴	3,2. 10 ⁴
5	≤ 10	2,3. 10 ⁴	4,0. 10 ³	≤ 10	2,9. 10 ⁴	2,6. 10 ⁴

3. Nhóm vi khuẩn *Bacillus*

Khả năng sử dụng vi khuẩn *Bacillus* trong phòng chống nấm gây bệnh ở cây trồng đã được nhiều tác giả đề cập tới [7,11]. Một đặc điểm nổi bật của nhóm vi khuẩn này là khả năng sống sót cao nhờ sự hình thành bào tử khi điều kiện sống bất lợi xảy ra, chẳng hạn như khi nhiệt độ tăng 45°C so với nhiệt độ tối ưu cho sinh trưởng [7]. Để xác định mật độ của nhóm vi khuẩn này, sau khi mẫu được pha

loãng mười lần, mẫu được ủ ở 80°C trong 15 phút, sau đó mẫu được ria lên đĩa môi trường MPA. Kết quả được trình bày ở bảng 4 cho thấy nhóm vi khuẩn *Bacillus* tồn tại khá ổn định theo thời gian; sự phân bố không khác nhau trong môi trường đất và rễ, và không phụ thuộc vào giai đoạn sinh trưởng của cây. Tuy tồn tại với mật độ khá cao và ổn định như vậy, nhưng trong 141 chủng phân lập được, không có chủng nào có khả năng đối kháng nấm *Phytophthora* sp. gây thối nõn dứa.

Bảng 4

Mật độ của nhóm vi khuẩn *Bacillus* (số khuẩn lạc/g mẫu tươi)

Thời gian Mẫu	Tháng 7. 2003		Tháng 11. 2003		Tháng 4. 2004	
	Đất	Rễ	Đất	Rễ	Đất	Rễ
1	1,1. 10 ⁵	2,9. 10 ⁶	1,2. 10 ⁶	1,2. 10 ⁶	3,0. 10 ⁴	1,0. 10 ⁵
2	9,6. 10 ⁴	8,0. 10 ⁴	6,0. 10 ⁵	6,0. 10 ⁵	6,0. 10 ⁵	7,0. 10 ⁴
3	1,0. 10 ⁵	8,0. 10 ⁴	1,0. 10 ⁶	3,0. 10 ⁵	1,2. 10 ⁵	4,0. 10 ⁵
4	4,0. 10 ⁴	4,2. 10 ⁵	4,0. 10 ⁵	1,0. 10 ⁵	7,4. 10 ⁴	4,2. 10 ⁵
5	1,8. 10 ⁵	7,2. 10 ⁵	3,0. 10 ⁶	4,0. 10 ⁵	1,1. 10 ⁵	1,5. 10 ⁵

4. Vi khuẩn cố định nitơ phân tử

Đối với vi khuẩn cố định nitơ phân tử, chỉ có nhóm cố định nitơ vi hiếu khí và nhóm cố định nitơ phân tử hiếu khí được xác định. Mật độ của nhóm vi khuẩn cố định nitơ vi hiếu khí với nguồn cơ chất là glucoza được xác

định bằng phương pháp MPN, trong đó cho mỗi dãy pha loãng, mẫu được ủ 5 lần lặp lại. Mẫu được coi là dương tính nếu có biểu hiện dấu hiệu sinh trưởng của vi khuẩn như sự gia tăng độ đục hoặc tạo lớp đĩa sinh trưởng trong môi trường bán lỏng và được khẳng định bằng quan sát tế bào dưới kính hiển vi quang học. Căn cứ vào số

mẫu dương tính, số lượng vi khuẩn được tính theo bảng McGRADY [11]. Kết quả được trình bày ở bảng 5. Các số liệu thu được cho thấy nhìn chung mật độ của nhóm vi khuẩn cố định nitơ phân tử vi hiếu khí có giá trị khá thấp, ngay cả trong rễ dứa, mặc dù có hai mẫu rễ ở giai đoạn sau thu hoạch quả cho mật độ khá cao, khoảng 10.000-100.000 tế bào/g rễ tươi. Giống như ở các nhóm vi khuẩn khác đã trình bày ở trên, số cặp mẫu cho tỷ lệ giữa mật độ của vi khuẩn cố định nitơ phân tử ở rễ và trong đất (R/Đ) lớn hơn 1 là rất ít. Điều đó chứng tỏ rễ cây dứa ở địa phương này không phải là môi

trường hấp dẫn cho nhóm vi khuẩn cố định nitơ phân tử vi hiếu khí hoạt động.

Vi khuẩn cố định nitơ hiếu khí được xác định bằng cách đặt các hạt đất nhỏ hoặc rễ sạch được nghiền nát trực tiếp trên môi trường Ashby rắn; mẫu được ủ ở 30°C và quan sát sinh trưởng sau 24, 48 và 72 giờ. Kết quả cho thấy bằng phương pháp này, trên môi trường không đậm, không cho bất cứ khuẩn lạc nào đặc trưng cho vi khuẩn nhóm Azotobacter. Sự vắng mặt của nhóm vi khuẩn này ở các mẫu được phân tích có thể giải thích bởi nguyên nhân độ pH thấp của đất.

Bảng 5

Mật độ của nhóm vi khuẩn cố định nitơ vi hiếu khí trong môi trường NFDM (số tế bào/g mẫu tươi)

Mẫu \ Thời gian	Tháng 7. 2003		Tháng 11. 2003		Tháng 4. 2004	
	Đất	Rễ	Đất	Rễ	Đất	Rễ
1	$2,5 \cdot 10^3$	$5,0 \cdot 10^2$	$5,0 \cdot 10^3$	$7,0 \cdot 10^2$	$5,0 \cdot 10^3$	$1,2 \cdot 10^4$
2	$3,5 \cdot 10^3$	$7,0 \cdot 10^2$	$8,0 \cdot 10^2$	$8,0 \cdot 10^2$	$1,6 \cdot 10^3$	$1,7 \cdot 10^3$
3	$2,5 \cdot 10^3$	$2,5 \cdot 10^3$	$1,7 \cdot 10^3$	$3,5 \cdot 10^3$	$3,0 \cdot 10^3$	$1,8 \cdot 10^5$
4	$2,5 \cdot 10^3$	$6,0 \cdot 10^3$	$7,0 \cdot 10^2$	$7,0 \cdot 10^2$	$8,0 \cdot 10^3$	$2,0 \cdot 10^3$
5	$6,0 \cdot 10^3$	$2,5 \cdot 10^3$	$5,0 \cdot 10^2$	$5,0 \cdot 10^2$	$1,1 \cdot 10^4$	$9,5 \cdot 10^3$

5. Vi khuẩn phân giải hợp chất photphát khó tan

Mật độ của vi khuẩn có khả năng phân giải photphát canxi trên nền môi trường Gerretsen được trình bày ở bảng 6. Các số liệu cho thấy, ở giai đoạn cây dứa 14 tháng tuổi, mật độ của

nhóm vi khuẩn phân giải hợp chất photphát canxi ở tất cả mẫu rễ được phân tích đều cao hơn so với ở đất; ở giai đoạn cây 19 tháng tuổi, số liệu hầu như ngược lại. Với số liệu như vậy cho phép nghĩ tới sự tồn tại một mối quan hệ nhất định nào đó giữa vi khuẩn phân giải photphát vô cơ khó tan và cây dứa.

Bảng 6

Mật độ của nhóm vi khuẩn phân giải photphát trên môi trường Gerretsen (số khuẩn lạc/g mẫu tươi)

Mẫu \ Thời gian	Tháng 7. 2003		Tháng 11. 2003		Tháng 4. 2004	
	Đất	Rễ	Đất	Rễ	Đất	Rễ
1	kxd	kxd	$5,1 \cdot 10^5$	$3,5 \cdot 10^6$	$2,3 \cdot 10^6$	$1,6 \cdot 10^5$
2	kxd	kxd	$1,1 \cdot 10^5$	$2,3 \cdot 10^6$	$8,7 \cdot 10^6$	$3,5 \cdot 10^5$
3	kxd	kxd	$7,8 \cdot 10^5$	$7,9 \cdot 10^6$	$1,3 \cdot 10^6$	$2,6 \cdot 10^6$
4	kxd	kxd	$3,8 \cdot 10^5$	$6,5 \cdot 10^6$	$9,1 \cdot 10^5$	$6,1 \cdot 10^5$
5	kxd	kxd	$3,8 \cdot 10^5$	$5,7 \cdot 10^6$	$1,0 \cdot 10^6$	$4,6 \cdot 10^5$

Ghi chú: kxd. không xác định.

III. KẾT LUẬN

Một số đặc điểm vi khuẩn học của vùng rễ của cây dứa ở các giai đoạn phát triển khác nhau được trồng tại nông trường Suối Hai, huyện Bavi, tỉnh Hà Tây đã được nghiên cứu. Trong đất, nhóm vi khuẩn dị dưỡng cacbon tổng số có mật độ trung bình, đạt vài triệu tới vài chục triệu tế bào trong 1 g mẫu tươi; ở rễ, mật độ của nhóm vi khuẩn này thể hiện cao hơn ở giai đoạn cây dứa tơ, nhưng tỷ lệ chênh lệch thấp, còn ở các giai đoạn khác mật độ của nhóm vi khuẩn này không có sự khác nhau giữa rễ và đất. Đối với nhóm vi khuẩn pseudomonat sinh huỳnh quang, ở giai đoạn cây dứa tơ, tỷ lệ mật độ ở rễ so với trong đất có sự chênh lệch khá rõ, từ vài lần cho tới vài trăm lần, nhưng ở các giai đoạn khác sự phân bố không tuân theo quy luật đó. Nhóm vi khuẩn Bacillus tồn tại với mật độ khoảng vài chục nghìn tới triệu tế bào cả ở trong đất và ở rễ, ít biến động theo thời gian và giai đoạn phát triển của cây dứa. Nhìn chung, vi khuẩn cố định nitơ vi hiếu khí với glucoza làm nguồn cơ chất có mật độ thấp, từ vài trăm cho tới khoảng chục nghìn tế bào, phân bố khá đồng đều ở môi trường đất lẫn rễ và không phụ thuộc vào giai đoạn phát triển của cây. Ở vùng rễ của cây dứa, nhóm vi khuẩn cố định nitơ hiếu khí không tồn tại. Vi khuẩn có khả năng phân giải photphat canxi tồn tại với mật độ khá cao, từ vài trăm nghìn cho tới vài triệu tế bào và sự phân bố của chúng có thể phụ thuộc vào giai đoạn phát triển của cây dứa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Babenko C. et al., 1984: Biological activity

and physiolo-biochemical properties of phosphate dissolving bacteria. Microbiol (tiếng Nga).

2. Burgess L. W. và cs., 2002: Bệnh nấm đất hại cây trồng nguyên nhân và biện pháp phòng trừ. Viện Bảo vệ thực vật, Hà Nội.
3. Egorov N. X., 1983: Thực tập vi sinh vật học. (dịch sang tiếng Việt). Nxb. Mir, Mátxcova.
4. Gould W. D. et al., 1985: Appl. Env. Microbiol., 49: 28-32.
5. Kleeberger A., Castorph H. and Klingmueller W., 1983: Arch. Microbiol., 136, 306-311.
6. Marten P., 1999: Rhizobakterien von Raps fuer den biologischen Pflanzenschutz. The University Rostock. Luận án tiến sỹ.
7. Ngo Vinh Vien et al., 2001: Heart rot of pineapple in Northern Vietnam. Second Australasia Soilborne diseases symposium, Victoria, Australia.
8. Okon Y., Albrecht S. L. and Burris R. H., 1977: Appl. Environ. Microbiol., 33: 85.
9. Postgate J. R., 1969: Viable counts and viability. In: Norris, J. R. and Ribbons, D. W. (eds.): Methods in Microbiology, Acad. Press Inc. New York
10. Weller D. M., 1988: Ann. Rev. Phytopathol., 26: 379-407.

SOME BACTERIOLOGICAL PROPERTIES OF THE RHIZOSPHERE OF PINEAPPLE CULTIVATED IN SUOIHAI FARM, BAVI DISTRICT, HATAY PROVINCE

NGUYEN MINH ANH, PHAM THANH HA,
NGUYEN THI QUYNH MAI, NGUYEN NGOC DUNG

SUMMARY

The densities of total carbohydrate heterotrophic, fluorescent pseudomonad, bacilli, microaerobic, aerobic nitrogen-fixing and phosphate dissolving bacteria in the rootfree soils and in roots of pineapples cultivated in the Suoihai farm at different stages were studied. In general, the density of the investigated bacteria groups in soils as well as in roots was not high, from some to hundreds million cells per gram of wet sample. The obtained dates showed that the pineapple roots did not appear to be an attractive medium for the occurrence of bacteria.

Ngày nhận bài: 29-6-2004