

TÌM MÔI TRƯỜNG NHÂN NUÔI VÀ TỒN TRỮ VI KHUẨN *Burkholderia cepacia* TG17

Dương Thị Nguyễn Quyên¹, Nguyễn Đức Độ¹ và Phạm Văn Kim¹

ABSTRACT

Burkholderia cepacia TG17, isolated from rice field of Chau Thanh district, Tien Giang province, is an antagonistic bacterium against rice sheath blight fungus, *Rhizoctonia solani*. Objective of the experiment is to establishment suitable cultural and conserved media to multiply and commercialize the bacterium as biological fungicide. The subject has two steps.

In the first experiment, results showed that 80 mixed liquid soybean and rice bran in 250 ml erlenmeyer were shaken on a horizontal shaker with 100 times/ minute frequency is more suitable for multiply the bacterium and increased the population to 2.3×10^{10} CFU/ml, after 72h of culture. In second experiment, results showed that grinded corncob with agar concentration 0.05% medium was the best to maintain alive time of the bacterium up to 150 days.

Keywords: *Burkholderia cepacia* TG17, multiplied medium, conserved medium

Title: Suitable cultural and conserved media for *Burkholderia cepacia* TG17 bacterium

TÓM TẮT

Thí nghiệm được thực hiện nhằm mục đích tìm ra loại môi trường rẻ tiền thích hợp cho việc nhân nuôi và tồn trữ vi khuẩn *Burkholderia cepacia* TG17 được lâu dài. Đề tài bao gồm hai bước, tìm môi trường nhân nuôi vi khuẩn hiệu quả nhưng rẻ tiền và tìm môi trường tồn trữ vi khuẩn được lâu dài.

Kết quả thí nghiệm cho thấy môi trường thích hợp cho nhân nuôi vi khuẩn TG17 trên máy lắc ngang với tần số lắc 100 lần/ phút là môi trường dịch trích cám pha đậu nành theo tỉ lệ 9:1, mật số vi khuẩn đạt được tối đa là $2,3 \times 10^{10}$ CFU/ ml sau 72 giờ lắc. Khảo sát ảnh hưởng của loại giá thể và nồng độ chất nền agar đến tỉ lệ sống và phát triển của vi khuẩn TG17 cho thấy có thể trữ vi khuẩn TG17 trong giá thể cùi bắp xay được 150 ngày khi bổ sung thêm chất nền agar ở nồng độ 0.05%.

Từ khóa: *Burkholderia cepacia* TG17, nhân nuôi, tồn trữ

1 MỞ ĐẦU

Bệnh đốm vằn trên lúa (*Rhizoctonia solani* Kuhn = *Thanatephorus cucumeris* Fank) được xem là bệnh quan trọng đứng hàng thứ hai sau bệnh cháy lá, bệnh đặc biệt gây hại nặng vào hai vụ Hè Thu và Thu Đông trong năm và có thể làm tổn thất năng suất lúa rất nghiêm trọng (Phạm Văn Kim, 2000; Nguyễn Thanh Nghị, 1981 và Bùi Huân Minh, 1979). Bệnh có thể làm giảm năng suất từ 20 - 25% (Reissig, W. H.; E. A. Heinrichs; J. A. Litsinger; K. Moody; L. Fiedler; T.W. Mew and A. T. Barrion., 1993). Để phòng trị bệnh, nông dân phải dùng thuốc đặc hiệu để phun. Tuy nhiên khi đã sử dụng thuốc thì sang vụ sau cũng phải dùng thuốc, nếu không bệnh sẽ nặng hơn và làm giảm năng suất. Việc sử dụng thuốc trị bệnh vừa gây ô

¹ Khoa Nông Nghiệp và Sinh Học Ứng Dụng

nhiễm môi trường vừa không có tính bền vững. Bộ môn Bảo Vệ Thực Vật, Trường Đại Học Cần Thơ, từ lâu đã nghiên cứu sử dụng vi khuẩn *Burkholderia cepacia* TG17 để quản lý bệnh đốm vằn một cách bền vững (Phạm Văn Kim, Hồ Văn Chiến, Lê Hữu Hải, Võ Văn Á, Đỗ Văn Ván, Huỳnh Minh Châu, T. W. Mew., 1999) và góp phần trong việc bảo vệ sức khỏe của con người và môi trường.

Vi khuẩn *Burkholderia cepacia* TG17 được phân lập từ đất lúa huyện Châu Thành, tỉnh Tiền Giang, có khả năng hạn chế sự phát triển của khuẩn ty nấm *R. solani*, với bán kính vòng vô khuẩn từ 8 mm đến 10 mm (Nguyễn Thị Thu Nga, 2003) và được thử nghiệm ngoài ruộng của nông dân tại Cai Lậy để quản lý bệnh đốm vằn qua nhiều vụ có hiệu quả rất tốt (Phạm Văn Kim, *et al.*, 1999). Tuy nhiên, do chưa tìm ra cách tồn trữ vi khuẩn này được lâu dài, nên chưa có thể sản xuất vi khuẩn dưới dạng thương mại, vì đến nay, chỉ có thể giữ được sức sống của vi khuẩn không quá hai tuần lễ sau đó mật số của chúng giảm dần. Do đó cần phải tìm biện pháp sản xuất và tồn trữ vi khuẩn này được lâu hơn, thì mới có thể triển khai công nghệ này ra rộng rãi đến người dân sử dụng.

Mục tiêu của đề tài này là tìm môi trường thích nghi để nhân nuôi và tồn trữ vi khuẩn *Burkholderia cepacia* TG17 được lâu dài hơn, trong điều kiện bình thường của phòng.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Phương tiện

Địa điểm thực hiện thí nghiệm: thí nghiệm được thực hiện tại phòng thí nghiệm bộ môn Bảo Vệ Thực Vật, khoa Nông Nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại Học Cần Thơ.

Chủng vi khuẩn *Burkholderia cepacia* TG17 phân lập từ đất ruộng lúa tại huyện Châu Thành – Tỉnh Tiền Giang. Chủng vi khuẩn này được tổ Bệnh Cây, bộ môn Bảo Vệ Thực Vật, khoa Nông Nghiệp và Sinh học Ứng dụng, trường Đại Học Cần Thơ cung cấp.

Đếm mật số vi khuẩn trên môi trường King's B theo công thức:

| | |
|---|-----------|
| Proteose peptone | 20 g |
| Glycerol | 15 ml |
| K ₂ HPO ₄ khan | 1.5 g |
| MgSO ₄ . 7H ₂ O | 1.5 g |
| Agar | 15 – 20 g |
| H ₂ O cất | 1000 ml |
| pH = 7 – 7.4 (Schaad, 1988 và Malcolm and Charles, 1997). | |

Nhân nuôi vi khuẩn trên máy lắc với môi trường lỏng gồm: môi trường dịch trích đậu nành, môi trường dịch trích cám và môi trường dịch trích cám pha với dịch trích đậu nành theo tỉ lệ dịch trích đậu nành: dịch trích cám là 1:9. Trong đó môi trường dịch trích đậu nành được nấu theo công thức 150 g đậu nành/ lít và môi trường dịch trích cám được nấu theo công thức 40 g cám/ lít (lượng thể tích môi trường dịch trích thí nghiệm là 80 ml chứa trong bình tam giác 250 ml lắc với tần số 100 lần/ phút ở điều kiện bình thường của phòng thí nghiệm).

Môi trường bảo quản trong điều kiện nhiệt độ bình thường của phòng gồm:

- Giá thể : Cùi bắp xay nhỏ ($\text{Ø} = 4\text{mm}$) ngâm nước, trấu và đậu nành hạt xay nhỏ ($\text{Ø} = 4\text{mm}$)
- Chất nền agar thêm vào huyền phù vi khuẩn trước khi trộn với giá thể ở các nồng độ: 0%; 0,005%; 0,01% và 0,05%.

2.2 Phương pháp

2.2.1 Tìm môi trường thích hợp cho việc nhân nuôi vi khuẩn trên máy lắc

- Mục đích: Tìm ra loại môi trường rẻ tiền cho mật số vi khuẩn cao có thể thay thế môi trường King's B đắt tiền.
- Phương pháp: Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 nghiệm thức là ba loại môi trường lỏng: dịch trích đậu nành (150 g đậu nành/lít), dịch trích cám (40 g/lít) và dịch trích cám + đậu nành với tỉ lệ (dịch trích cám: dịch trích đậu nành = 9:1) và 3 lần lặp lại. Mỗi lần lặp lại là một bình tam giác 250 ml chứa 80 ml môi trường dịch trích thí nghiệm được lắc với tần số 100 lần/ phút trên máy lắc ngang ở điều kiện bình thường của phòng.

Chỉ tiêu ghi nhận bao gồm mật số vi khuẩn ở mỗi nghiệm thức sau 36 giờ, 48 giờ, 60 giờ, 72 giờ, 84 giờ và 96 giờ sau khi lắc, với phương pháp pha loãng huyền phù vi sinh vật và được đếm trên môi trường King's B. Số liệu thu được chuyển sang Log10 trước khi phân tích thống kê.

2.2.2 Tìm môi trường tồn trữ

Mục đích: tìm ra loại giá thể và nồng độ chất nền (agar) thích hợp để có thể tồn trữ vi khuẩn *Burkholderia cepacia* TG 17 được lâu dài.

Phương pháp:

- Thí nghiệm được thực hiện trên vi khuẩn *Burkholderia cepacia* TG17.
- Thí nghiệm được bố trí theo lối thừa số với năm lần lặp lại và ba nhân tố gồm: ba loại giá thể (cùi bắp xay (cùi của giống bắp lai dùng làm thức ăn gia súc), hạt đậu nành xay và vỏ trấu xay), bốn nồng độ agar hoà trong huyền phù vi khuẩn trước khi trộn vào giá thể (0%; 0,005%; 0,01%; 0,05%) và bảy mức thời gian tồn trữ (0, 15, 30, 45, 60, 105, 150 ngày tồn trữ).

Mỗi nghiệm thức bao gồm 20 gam giá thể được chứa trong bao PE, được thanh trùng ở 121°C trong 30 phút bằng nồi khử trùng ướt sau đó cho 10 ml huyền phù vi khuẩn trộn với 10 ml huyền phù vi khuẩn có thêm agar ở nồng độ thí nghiệm (mật số vi khuẩn ban đầu là 2×10^{10} CFU/ ml), ép kín bao lại, và bảo quản ở điều kiện nhiệt độ bình thường của phòng.

Mật số vi khuẩn sau mỗi thời gian tồn trữ được đếm với phương pháp pha loãng huyền phù vi sinh vật và đếm trên môi trường King's B. Số liệu thu được chuyển sang Log10 trước khi phân tích thống kê.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Tìm môi trường lỏng thích hợp cho việc nhân nuôi vi khuẩn trên máy lắc ngang

Bảng 1: Mật số vi khuẩn *Burkholderia cepacia* TG17 của ba loại môi trường ở các thời điểm sau khi bắt đầu nhân nuôi

| Nghiệm Thức | Log ₁₀ của mật số vi khuẩn | | | | | |
|--|---------------------------------------|--------|--------|--------|---------|--------|
| | 36 giờ | 48 giờ | 60 giờ | 72 giờ | 84 giờ | 96 giờ |
| Dịch trích đậu nành | 9,22 | 9,52 b | 10,02 | 9,62 b | 9,37 b | 9,17 c |
| Dịch trích cám | 9,42 | 9,40 b | 9,92 | 9,87 b | 9,79 ab | 9,61 b |
| Dịch trích cám pha dịch trích đậu nành | 9,36 | 10,15a | 10,28 | 10,37a | 10,21a | 10,09a |
| CV(%) | 1,9 | 1,9 | 1,8 | 2,4 | 2,2 | 2,1 |
| Mức ý nghĩa | ns | * | ns | * | * | * |

(Ghi chú: trong cùng một cột, những số có cùng chữ theo sau thì không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 5%).

ns: không khác biệt; *: khác biệt ở mức ý nghĩa 5%.

Bảng 2: Mật số vi khuẩn *Burkholderia cepacia* TG17 qua các thời điểm của cùng một loại môi trường

| Thời gian nhân nuôi (giờ) | Log ₁₀ của mật số vi khuẩn | | |
|---------------------------|---------------------------------------|----------------|--|
| | Dịch trích đậu nành | Dịch trích cám | Dịch trích cám pha dịch trích đậu nành |
| 36 | 9,22 b | 9,42 c | 9,36 b |
| 48 | 9,52 b | 9,40 c | 10,15 a |
| 60 | 10,02 a | 9,92 a | 10,28 a |
| 72 | 9,62 ab | 9,87 a | 10,37 a |
| 84 | 9,37 b | 9,79 ab | 10,21 a |
| 96 | 9,17 b | 9,61 bc | 10,09 a |
| CV(%) | 2,8 | 1,4 | 2,8 |

Ghi chú: trong cùng một cột, những số có cùng chữ theo sau thì không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 5%.

Bảng 1 và 2, cho thấy môi trường thích hợp cho việc nhân nuôi vi khuẩn là môi trường hỗn hợp dịch trích cám và dịch trích đậu nành theo tỉ lệ 9:1. Mật số vi khuẩn nhân được đạt tối đa $2,3 \times 10^{10}$ CFU/ml sau 72 giờ sau khi lắc .

Bảng 3: So sánh hiệu quả kinh tế giữa các loại môi trường nhân mật số vi khuẩn

| Loại môi trường | Chi phí cho 1 lít môi trường |
|--|------------------------------|
| King's B | 8600 đ |
| Dịch trích đậu nành (150g đậu nành /lít) | 1200 đ |
| Dịch trích cám (40g cám / lít) | 100 đ |
| Dịch trích cám pha dịch trích đậu nành (15g đậu nành + 36 g cám/lít) | 210 đ |

Về mặt kinh tế, môi trường cám hoà đậu nành theo tỉ lệ 9:1 có giá thành tương đối rẻ tiền hơn môi trường thuần đậu nành. Dù giá thành có cao hơn môi trường cám thuần túy nhưng môi trường hỗn hợp này cho mật số vi khuẩn cao nhất. Có thể đánh giá môi trường nhân nuôi hỗn hợp đậu nành và cám là môi trường có hiệu quả cao hơn cả so với hai môi trường kia và cả với môi trường chuẩn King's B.

Với mật số vi khuẩn đạt được là $2,3 \times 10^{10}$ CFU/ml sau 72 giờ sau khi lắc có thể sử dụng cho lúa (mỗi ha cần 1 lít huyền phù vi khuẩn có mật số 1×10^9 CFU/ml). Về mặt kinh tế, giá thành sản phẩm với mức giá của môi trường nhân nuôi cám pha đậu nành là có thể chấp nhận được trong sản xuất.

3.2 Tìm môi trường thích hợp cho việc tồn trữ vi khuẩn đối kháng *B. cepacia* TG17

3.2.1 Kết quả trung bình

Số liệu trung bình của thí nghiệm được trình bày trong Bảng 4. Qua Bảng 4, trấu và cùi bắp xay là hai loại giá thể phù hợp cho việc bảo quản vi khuẩn *B. cepacia* TG17, tốt hơn so với đậu nành xay và có thể duy trì được thời gian bảo quản trung bình khoảng 15 ngày. Trong khi đó, việc thêm chất nền agar vào môi trường bảo quản không có tác dụng kéo dài thời gian bảo quản vi khuẩn. Tuy nhiên, cũng qua kết quả trung bình, các nhân tố có tương tác với nhau do đó cần phân tích chi tiết hơn để thấy rõ hơn kết quả của thí nghiệm.

3.2.2 Ảnh hưởng của 3 loại giá thể lên thời gian tồn trữ vi khuẩn

Bảng 4: Kết quả trung bình của các loại giá thể, nồng độ agar thêm vào và thời gian tồn trữ vi khuẩn *Burkholderia cepacia* TG17 trong thí nghiệm (Đơn vị: log của mật số vi khuẩn)

| Nghiệm thức | Trung bình của các thời điểm |
|---|------------------------------|
| <u>TRUNG BÌNH GIÁ THỂ</u> | |
| Trấu | 9,097 a |
| Cùi bắp xay | 9,161 a |
| Đậu nành xay | 8,299 b |
| Mức Ý nghĩa | * |
| <u>TRUNG BÌNH NỒNG ĐỘ AGAR (%)</u> | |
| 0 | 9,007 a |
| 0,005 | 8,904 a |
| 0,01 | 8,752 a |
| 0,05 | 8,747 a |
| Mức ý nghĩa | * |
| <u>TRUNG BÌNH THỜI ĐIỂM (ngày tồn trữ)</u> | |
| 0 | 9,283 a |
| 15 | 9,239 a b |
| 30 | 8,913 b |
| 45 | 8,569 c |
| 60 | 8,257 c |
| Mức ý nghĩa | * |
| <u>TƯƠNG TÁC</u> | |
| Giá thể x nồng độ agar | * |
| Giá thể x thời điểm tồn trữ | * |
| Giá thể x nồng độ agar x thời điểm tồn trữ | * |

CV = 3,12%

Ghi chú: trong cùng một cột, những số có cùng chữ theo sau thì không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 5%.

Bảng 5 cho thấy giá thể có ảnh hưởng rõ lên sự tồn trữ của vi khuẩn. Hai loại giá thể cùi bắp xay và trấu có hiệu quả hơn so với đậu nành trong việc kéo dài thời gian bảo quản của vi khuẩn. Môi trường có giá thể là đậu nành có mật số vi khuẩn giảm nhanh vào 30 ngày tồn trữ, trong khi giá thể là trấu giúp mật số vi khuẩn tồn trữ đến 45 ngày và mật số chỉ giảm vào 60 ngày tồn trữ. Cùi bắp xay cũng giúp giữ cho vi khuẩn chậm giảm mật số hơn đậu nành (45 ngày). Có thể do trấu và cùi bắp xay giúp môi trường thoáng khí nên giúp vi khuẩn sống lâu hơn so với đậu nành.

3.2.3 Ảnh hưởng của nồng độ agar thêm vào lên thời gian tồn trữ vi khuẩn

Tính trên trung bình của 3 loại giá thể: kết quả trong Bảng 6 cho thấy, việc đưa thêm agar vào làm chất nền không có hiệu quả lên sự kéo dài thời gian tồn trữ của vi khuẩn.

Tuy nhiên khi phân tích tương quan giữa giá thể, nồng độ agar và thời gian tồn trữ thì 3 nhân tố này có tương tác với nhau (Bảng 4). Để thấy được hiệu quả của nồng độ agar lên thời gian tồn trữ vi khuẩn cần phân tích thêm trên từng loại giá thể.

Tính trên từng loại giá thể: trong 3 loại giá thể trên, đậu nành xay là giá thể cho thời gian tồn trữ vi khuẩn kém nhất và được loại bỏ trong phân tích sau này, 2 giá thể trấu và đậu nành xay có thời gian tồn trữ trung bình ổn định và kéo dài hơn nên được tiếp tục tìm hiểu ảnh hưởng của nồng độ agar thêm vào để tìm môi trường tồn trữ vi khuẩn tối hảo.

Bảng 5: Ảnh hưởng của trung bình nồng độ agar lên thời gian tồn trữ vi khuẩn *B. cepacia* TG17 của từng loại giá thể. (Đơn vị: log của mật số vi khuẩn)

| Thời gian tồn trữ (ngày) | Log ₁₀ của mật số vi khuẩn | | |
|--------------------------|---------------------------------------|-------------|--------------|
| | Trấu | Cùi bắp xay | Đậu nành xay |
| 0 | 9,513 a | 9,180 ab | 9,155 a |
| 15 | 9,377 a | 9,778 a | 8,563 ab |
| 30 | 9,256 a | 9,273 ab | 8,210 bc |
| 45 | 8,960 ab | 8,806 b | 7,941 bc |
| 60 | 8,376 b | 8,769 b | 7,627 c |
| Mức ý nghĩa | ** | ** | ** |

CV (%) = 3,12

Ghi chú: trong cùng một cột, những số có cùng chữ theo sau thì không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

** : khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.

Bảng 6: Ảnh hưởng của nồng độ agar của trung bình các loại giá thể, lên thời gian tồn trữ sản phẩm vi khuẩn đối kháng *B. cepacia* TG17. (Đơn vị: log của mật số vi khuẩn)

| Thời gian tồn trữ (ngày) | Log ₁₀ mật số của vi khuẩn | | | |
|--------------------------|---------------------------------------|-------------|------------|------------|
| | Agar 0% | Agar 0.005% | Agar 0.01% | Agar 0.05% |
| 0 | 9,270 a | 9,364 a | 9,287 a | 9,210 a |
| 15 | 9,309 a | 9,444 a | 9,084 ab | 9,120 a |
| 30 | 9,129 a | 8,734 ab | 8,830 ab | 8,959 ab |
| 45 | 8,831 a | 8,635 ab | 8,309 ab | 8,502 ab |
| 60 | 8,495 a | 8,341 b | 8,249 b | 7,945 b |
| Mức ý nghĩa | ** | ** | ** | ** |

CV (%) = 3,12

Ghi chú: trong cùng một cột, những số có cùng chữ theo sau thì không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.

** : khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.

Bảng 7: Ảnh hưởng của nồng độ agar thêm vào lên thời gian tồn trữ của vi khuẩn *B. cepacia* TG17 trên giá thể trấu (Đơn vị: log của mật số vi khuẩn)

| Thời gian tồn trữ | Nồng độ agar thêm vào giá thể trấu (%) | | | |
|-------------------|--|----------|----------|---------|
| | 0 % | 0,005 % | 0,01 % | 0,05 % |
| 0 NSTT | 9,426 ab | 9,692 a | 9,469 a | 9,466 a |
| 15 NSTT | 9,428 ab | 9,532 a | 9,190 ab | 9,360 a |
| 30 NSTT | 9,582 a | 8,780 bc | 9,160 ab | 9,502 a |
| 45 NSTT | 8,958 b | 8,830 b | 8,916 b | 9,138 a |
| 60 NSTT | 8,426 c | 8,340 c | 8,926 b | 7,812 b |
| Mức ý nghĩa | ** | ** | ** | ** |

CV (%) = 3,12

Ghi chú: trong cùng một cột, những số có cùng chữ theo sau thì không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

** : khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.

Bảng 8: Ảnh hưởng của thời gian tồn trữ lên mật số vi khuẩn *B. cepacia* TG17 trên giá thể cùi bắp xay có thêm các nồng độ agar khác nhau (Đơn vị: log của mật số vi khuẩn)

| Thời gian tồn trữ | Nồng độ agar thêm vào giá thể cùi bắp xay (%) | | | |
|-------------------|---|----------|-----------|----------|
| | 0 % | 0,005 % | 0,01 % | 0,05 % |
| 0 NSTT | 9,348 ab | 9,184 ab | 9,140 abc | 9,048 ab |
| 15 NSTT | 9,884 a | 9,652 ab | 9,938 a | 9,636 a |
| 30 NSTT | 9,302 ab | 9,406 ab | 9,290 abc | 9,094 ab |
| 45 NSTT | 8,954 abc | 8,742 b | 8,686 b | 8,843 b |
| 60 NSTT | 8,556 bc | 8,778 b | 8,868 abc | 8,874 ab |
| 105 NSTT | 8,530 bc | 8,578 b | 8,576 b | 8,530 b |
| 150 NSTT | 6,494 d | 6,390 c | 7,858 d | 8,234 b |
| Mức ý nghĩa | * | * | * | * |

CV=11,27%

Ghi chú: trong cùng một cột, những số có cùng chữ theo sau thì không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 5%

* : khác biệt ở mức ý nghĩa 5%.

Kết quả trong Bảng 7 cho thấy trên giá thể trấu nếu không đưa chất nền agar vào ta vẫn có thể bảo quản được vi khuẩn đối kháng được 45 ngày.

Đối với giá thể cùi bắp xay, kết quả trong Bảng 8 cho thấy việc thêm agar vào với nồng độ 0,05% có tác dụng kéo dài thời gian bảo quản vi khuẩn đối kháng lên đến 150 ngày, mật số giảm còn $1,7 \times 10^8$ CFU /ml, là mật số tối thiểu có thể chấp nhận được.

Tóm lại: kết quả thí nghiệm 2 cho thấy loại giá thể và nồng độ chất nền agar của môi trường bảo quản đã ảnh hưởng đến tỉ lệ sống và phát triển của vi khuẩn *B. cepacia* TG17 theo thời gian. Trên giá thể trấu nếu không đưa chất nền agar vào ta vẫn có thể bảo quản được vi khuẩn đối kháng được 45 ngày. Trên giá thể cùi bắp xay việc thêm agar vào ở nồng độ 0,05% có tác dụng kéo dài thời gian bảo quản vi khuẩn đối kháng lên đến 150 ngày.

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1 Kết luận

Môi trường lòng cám đậu nành với tỉ lệ 9:1 là môi trường tốt nhất để nhân nuôi vi khuẩn trên máy lắc ngang và cho mật số cao đạt nồng độ $2,3 \times 10^{10}$ CFU/ml ở 72 giờ nhân nuôi.

Giá thể cùi bắp xay có thêm 0,05% agar giúp bảo quản vi khuẩn đối kháng *B. cepacia* TG17 lên đến 150 ngày.

4.2 Đề nghị

Cần tiếp tục nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian tồn trữ lên hiệu lực đối kháng của vi khuẩn vì thí nghiệm này chỉ đánh giá khả năng sống sót của vi khuẩn sau thời gian tồn trữ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- BÙI HUẤN MINH. 1979. Điều tra cơ bản bệnh hại cây trồng và mối quan hệ của bệnh đốm vằn (*Thanatephorus cucumeris*) đối sự thất thu năng suất lúa NN3A tại huyện Cái Bè, Tiền Giang, Đông Xuân 78-79. Luận văn tốt nghiệp đại học. Trường Đại Học Cần Thơ. 68 p.
- MALCOLM, C.S. and W.A. CHARLES, 1997. The plant disease clinic and field diagnosis of abiotic disease. APS Press. 171 p.
- NGUYỄN THANH NGHỊ. 1981. Điều tra ảnh hưởng của bệnh đốm vằn (*Thanatephorus cucumeris*) đối với năng suất lúa NN3A tại huyện Chợ Mới tỉnh An Giang vụ Đông Xuân 1980 –1981 . Luận văn tốt nghiệp đại học. Trường Đại Học Cần Thơ. 29 trang.
- NGUYỄN THỊ THU NGA. 2003. Khảo sát khả năng đối kháng của vi khuẩn *Burkholderia cepacia* TG17 đối với nấm *Rhizoctonia Solani* Kuhn và tìm môi trường nhân nuôi thích hợp. Luận án thạc sĩ khoa học Nông Học. Khoa Nông Nghiệp, Đại Học Cần Thơ. 61 p.
- PHẠM VĂN KIM. 2000. Các nguyên lý bệnh hại cây trồng. Tài liệu học tập ngành Nông Học và Trồng Trọt. 185 p.
- PHẠM VĂN KIM, HỒ VĂN CHIẾN, LÊ HỮU HẢI, VÕ VĂN Á, ĐỖ VĂN VẤN, HUỖNH MINH CHÂU, T. W. MEW., 1999. Kết quả bước đầu trong nghiên cứu sử dụng vi khuẩn đối kháng để đối phó với bệnh đốm vằn hại lúa (*Rhizoctonia solani*) tại Đồng Bằng Sông Cửu Long. Tuyển tập công trình nghiên cứu khoa học, trường Đại Học Cần Thơ, Cần Thơ 1999: 70-76
- REISSIG, W. H.; E. A. HEINRICHS; J. A. LITSINGER; K. MOODY; L. FIEDLER; T.W. MEW and A. T. BARRION. 1993. Hướng dẫn biện pháp tổng hợp phòng trừ dịch hại trên lúa ở Châu Á nhiệt đới. Viện Nghiên Cứu Lúa Quốc Tế. Nhà xuất bản Nông Nghiệp. 408 p.
- SCHAAD, N.W., 1988. Laboratory Guide for Identification of plant pathogenic bacteria: 3. 2nd edition. APS press, pp. 120 – 128.