

**NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM CỦA VI KHUẨN *Agrobacterium tumefaciens* Smith VÀ BỆNH U SÙI RỄ HOA HỒNG  
TẠI MỘT SỐ TỈNH MIỀN BẮC VIỆT NAM**

**SURVEY ONCROWN GALL DISEASE OF ROSE  
CAUSED BY *Agrobacterium tumefaciens* Smith**

**Ngô Thị Xuyên, Lê Lương Tề**  
*Đại học Nông nghiệp I Hà Nội*

**Abstract**

Crown gall caused by a soil-inhabiting *Agrobacterium tumefaciens* is one of the most damaging rose diseases, reducing the yields of marketable flowers. This is serious bacterial disease of Rose and was founded in 7 provinces in the North Vietnam (Ha Noi, Hai Duong, Bac Ninh, Thai Binh, Ha Tay, Quang Ninh & Lao Cai). Here, we present the crown gall bacteria that good invade rose plants on February to April of Spring and from October to December of Autumn-Winter season through wounds, such as those arising from cultivation, transplanting from China. The white rose cultivar is more susceptible to invasion than carrot color of chinese rose, the "Tam xuan" and graft of tam xuan with rose are resistance of crown gall. Roses most commonly damage in Ha Tay by crown gall (42-48%). The pathogen develop very good at temperature from 25-30°C and pH6-7, *A. tumefaciens* is a Gram-negative, non-sporing, motile, rod-shaped bacterium. The crown gall bacterium is soil-borne and persists for long periods of time in the soil & in plant debris. However, our current knowledge of the pathogenic *A. tumefaciens* bacteria present in most soils and can be spread by water, dry soil, wet soil and infected plant with crown gall. Populations of pathogenic agrobacteria slowly decline following time in fallow soil and in water, they can survive for long time of the year (one to three months of this experiment) on infected plant than dry and wet soil.

Keyword: Crown gall disease, *Agrobacterium tumefaciens*, roses, Biology and Biochemical test of the pathogenic bacteria and their survive.

**I. ĐẶT VẤN ĐỀ**

Nghề trồng hoa đang ngày một phát triển và mở rộng diện tích ở nhiều vùng trong cả nước. Hoa có một ý nghĩa và vai trò quan trọng trong đời sống con người, ngoài giá trị về mặt tinh thần cây hoa còn trở thành một loại cây có tiềm năng và rất có giá trị về mặt kinh tế ở nhiều nước trên thế giới và đặc biệt ở nước ta trong giai đoạn hiện nay. Những vùng trồng hoa nổi tiếng (Ngọc Hà, Nhật Tân, Tây Tựu (Hà Nội); Đặng Lam, An Hải (Hải Phòng); Đà Lạt (Lâm Đồng) ... từ rất lâu đã mang lại lợi nhuận lớn cho người sản xuất. Diện tích trồng hoa đạt trên 2000ha (Nguyễn Xuân Linh 1997; 1998) và ngày càng được mở rộng trong cơ cấu chuyển đổi cây trồng như Đông Anh -Hà Nội; Mê Linh -Vĩnh Phúc; Văn Giang - Hưng Yên; Vũ Thư-Thái Bình; Tiên Sơn -Bắc Giang; Sa Pa-Lào Cai. Diện tích trồng hồng chiếm vị trí quan trọng trong sản xuất hoa song thành phần bệnh xuất hiện trên các giống hoa

nhập nội cũng tăng lên rõ rệt và làm giảm năng suất cũng như phẩm chất hoa thương phẩm. Bệnh u sùi rễ hoa hồng do vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* Smith được coi là một trong những bệnh nguy hiểm làm chết cây ngay từ khâu cây giống, cảnh giâm và hiện nay vẫn chưa được người sản xuất quan tâm và thực hiện phòng trừ tại các vùng trồng hoa. Phát hiện khả năng phân bố trên các giống hồng trồng phổ biến, theo dõi diễn biến bệnh hại, xác định mức độ bệnh và tìm hiểu các yếu tố ảnh hưởng đến bệnh, biết được đặc điểm quan trọng của vi khuẩn *A. tumefaciens* là hết sức cần thiết trong nghiên cứu nhằm góp phần đề xuất những biện pháp phòng trừ hạn chế bệnh có hiệu quả cho người sản xuất.

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

1. *Điều tra tình hình bệnh u sùi rễ hoa hồng*  
Điều tra theo vùng, giống hoa, xác định phổ kí

chủ, phân bố và diễn biến của bệnh tại Bắc Ninh, Hà Nội, Quảng Ninh, Hà Tây, Vĩnh Phúc, Thái Bình, Hưng Yên, Hải Dương, Viện Nghiên cứu Rau -Quả Trung ương. Điều tra ngẫu nhiên 10 điểm, định kỳ trên diện tích rộng, điều tra diễn biến diện hẹp tại Yên Hưng - Quảng Ninh 2005 và Quốc Oai - Hà Tây 2006 theo định kì 7 ngày /1lần theo hàng cố định trên ruộng và theo từng công thức thí nghiệm như qui định chung của viện BVTV (1997). Thu thập mẫu bệnh từ năm 2004-2006 tại các vùng nghiên cứu, phân lập nuôi cấy vi khuẩn tạo dòng thuần trên các môi trường pepton và môi trường đặc trưng có chỉ thị màu (D2M), sử dụng trong lấy bệnh nhân tạo, nhuộm gram xác định vi khuẩn gây bệnh.

## 2. Tìm hiểu đặc điểm sinh học và sinh hoá của vi khuẩn *A. tumefaciens*

- Kiểm tra khả năng tạo u sùi trên lát cắt cà rốt của 9 isolates (BN04-01, BN05-02, HN05-01, HN05-02, HT05-01, QN05-01, QN05-02, TB05-01, TB05-02), lấy ở nồng độ vi khuẩn  $10^6 \times 3$  lần lặp lại x 3 lát.

- Theo dõi sự phát triển của vi khuẩn trên môi trường pepton sau 1-10 ngày trong các điều kiện nhiệt độ 10, 15, 20, 25, 28, 30°C; các ngưỡng pH: 5; 5.5; 6; 6.5 ;7 ; 7.5. Mỗi ngưỡng lấy vi khuẩn ở nồng độ  $10^6$ /ml với 5 lần nhắc lại, theo dõi số ngày xuất hiện khuẩn lạc và số lượng khuẩn lạc hình thành.

- Thử 9 phản ứng sinh hoá: phản ứng khử Arginine; khử oxydase; phân giải pepton tạo H<sub>2</sub>S và NH<sub>3</sub>; phản ứng indol; phân giải gelatin; phân giải tinh bột, phản ứng esculin. Phương pháp nhuộm gram, nhuộm tiêm mao và mô tả hình thái khuẩn lạc và tế bào của vi khuẩn. Sử dụng các môi trường đặc hiệu đối với từng phản ứng: môi trường Thornely, môi trường Hugh và Leifson, môi trường Dowson (Buddenhagen et al, 1964, Bradbudy, 1986 và Schaad, 1988); các loại thuốc thử và chất chỉ thị: thuốc thử Kovacs, Griss, chất chỉ thị Bromthymol bleu, methyl đỏ, giấy quỳ... Mỗi phản ứng đều có những dấu hiệu nhận biết riêng nhằm khẳng định phản ứng âm tính (-)hay dương tính h (+). Thực hiện trên 9 isolates thử phản ứng trong năm 2005

(BN04-01, BN05-02, HN04-01, HN05-02, HT05-01, QN04-01, QN05-02, TB04-01, TB05-02) và 8 isolate năm 2006 (HN05-01, HN06-01, TB05-01, HD06-01, QN06-01, QN06-02, LC06-01, BN06-01).

- Theo dõi sự phát triển của vi khuẩn trong đất để khô theo thời gian sau 1, 2, 3 tháng: mẫu đất và tàn dư bệnh thu từ Quốc Oai -Hà Tây, lấy 10g đất khô cho vào 10ml nước cất vô trùng hoà lấy phần dịch trong pha thành các nồng độ  $10^3$ ,  $10^4$  và  $10^5$  với 4 công thức x 5 lần lặp lại công thức 1: sau khi lấy mẫu đất về để khô và cấy ngay; CT2: sau 1 tháng; CT3: sau 2 tháng và CT 4: sau 3 tháng để khô. Theo dõi số ngày xuất hiện khuẩn lạc và số lượng khuẩn lạc tạo thành. Tương tự như thế theo dõi sự phát triển của vi khuẩn trong đất ngâm nước và trong tàn dư bệnh theo thời gian.

Số liệu được xử lý theo thống kê sinh học của các lần lặp, IRRISTAT (Gomez et al, 1992)

## III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

### 1. Tình hình phân bố bệnh u sùi và tác hại của vi khuẩn *A. tumefaciens*

Bệnh u sùi rễ do vi khuẩn *A. tumefaciens* là một loại bệnh mới xuất hiện ở nước ta trong vòng một vài năm trở lại đây và có thể coi là một bệnh nghiêm trọng trên cây giống hoa hồng nhập nội từ Trung Quốc (N.T. Xuyên, L.L. Tề và ctv, 2004). Kết quả điều tra từ 2004-2006 phân bố của bệnh ở miền Bắc cho kết quả bệnh có chiều hướng tăng và xuất hiện trên 7 vùng (bảng 1). Năm 2004 bệnh xuất hiện trong cả 2 vụ xuân và thu đông ở các vùng Bắc Ninh, Hà Tây, Hà Nội, Thái Bình. Năm 2005 bệnh xuất hiện thêm 2 vùng ở Quảng Ninh và Hải Dương. Đầu năm 2006 bệnh phân bố thêm một điểm nữa là Sa Pa - Lào Cai. Bệnh xuất hiện ngay ở giai đoạn cây con trong vườn ươm, đặc biệt có nguồn bệnh sẵn trên rễ cây giống nhập khẩu, xuất hiện và gây hại nặng trong khoảng thời gian từ tháng 2 đến tháng 4, làm ảnh hưởng lớn đến năng suất và phẩm chất hoa. Triệu chứng bệnh biểu hiện trên rễ, cổ rễ,

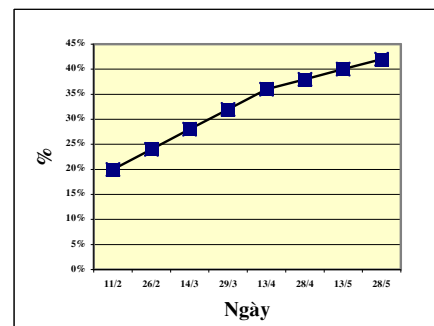
gốc cành đều hình thành u sùi hình hạt gạo trắng, sau lớn dần và chuyển sang màu nâu kèm thêm nấm *Fusarium oxysporum* và *F. solani*; bệnh

nặng làm cho lá vàng và cây chết tại nhiều điểm cây mới trồng từ bầu cây giống nhập nội ra ruộng trồng.

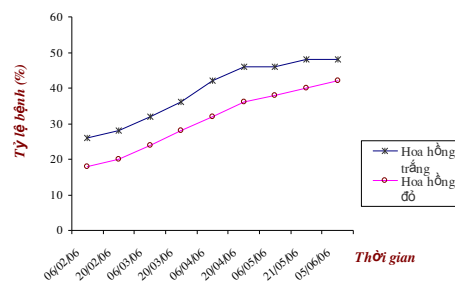
*Bảng 1.* Tình hình bệnh hại và phân bố của bệnh u sùi rễ hoa hồng tại một số tỉnh của miền Bắc Việt Nam

Điểm điều tra	Năm 2004		Năm 2005		Năm 2006	
	Thời gian xuất hiện (tháng)	Tỷ lệ bệnh trung bình (%)	Thời gian xuất hiện (tháng)	Tỷ lệ bệnh trung bình (%)	Thời gian xuất hiện (tháng)	Tỷ lệ bệnh trung bình (%)
1. Bắc Ninh	2-5 (xuân) 9-12 (thu đông)	20.2(10-32) 13.8(10-20)	2-5 (xuân)	20.5 (12-30)	2-5 (xuân)	20.3 (10-30)
2. Thái Bình	9-12 (thu đông)	16.4 (10-25)	2-5 (xuân)	19.2 (14-25)	2-5 (xuân)	21.6 (14-28)
3. Hà Tây	9-12 (thu đông)	20.2 (10-30)	2-5 (xuân)	28.0 (16-40)	2-5 (xuân)	35.0 (18-48)
4. Hà Nội	2-5 (xuân) 9-12 (thu đông)	28.3 (18-40) 20.2 (10-30)	2-5 (xuân)	31.6 (18-44)	2-5 (xuân)	33.2 (20-44)
5. Hải Dương	-	-	2-5 (xuân)	26.3 (16-36)	2-5 (xuân)	28.5 (18-40)
6. Q. Ninh	-	-	2-5 (xuân)	32.6 (20-42)	2-5 (xuân)	31.2 (18-42)
7. Lào cai	-	-	-	-	2-5 (xuân)	20.2 (10-30)

Khả năng xuất hiện, tiềm ẩn nguồn bệnh được khẳng định qua khâu nhập nội các giống hoa hồng Trung Quốc (nghiên cứu từ 2004 đến nay) vi khuẩn vẫn còn tồn tại và gây bệnh thêm ở nhiều vùng trồng hoa miền Bắc Việt Nam, chứng tỏ bệnh đã lan trải trên diện rộng ảnh hưởng đến năng suất, phẩm chất hoa hồng và trực tiếp đến kinh tế của nông hộ. Trong các giống hồng đó có giống hồng phấn trắng nhiễm nặng nhất và hồng cà rốt là nhiễm nhẹ hơn. Vụ thu đông bệnh xuất hiện phổ biến từ tháng 9 đến tháng 12; tuy nhiên vào vụ thu đông bệnh thấp hơn hẳn vụ xuân. Bệnh không xuất hiện trên các giống hồng khác, giống tầm xuân hoặc gốc tầm xuân ghép hoa hồng, và cũng chưa có vùng nào tìm ra thuốc phòng trừ bệnh có hiệu quả, riêng điểm Quốc Oai -Hà Tây đã xử lý đất bằng formal 0,4% tại nơi trồng hoa của Công ty Siêu thị hoa Quảng Bá, phun foocmol 1% định kì 2 tháng /lần, vi khuẩn vẫn tồn tại làm giảm năng suất tới 25%. Việc sử dụng foocmol là danh mục thuốc đã cấm để xử lý đất ở đây cũng cần phải được xem xét lại. Còn ở Quảng Ninh và Hải Dương thì phun streptomycin 0.5% khi thấy bệnh xuất hiện.



*Hình 1.* Diễn biến bệnh u sùi rễ trên giống hồng đỏ tại Yên Hưng -Quảng Ninh (2005)



*Hình 2.* Diễn biến của bệnh u sùi trên 2 giống hoa hồng trắng và đỏ tại Quốc Oai - Hà Tây (2006)

Qua điều tra và theo dõi trong 3 năm cho thấy quá trình phát sinh và phát triển của bệnh là tương tự như nhau. Bệnh u sùi rễ hoa hồng xuất hiện gây hại nặng trong khoảng thời gian từ trung tuần tháng 2 đến cuối tháng 4. Diễn biến bệnh tăng dần đến cuối tháng 4 tại điểm điều tra của vùng trồng hoa Yên Hưng -Quảng Ninh và Quốc Oai -Hà Tây đã phản ánh rõ điều này.

Diễn biến bệnh u sùi trên giống hoa hồng trắng và giống hoa hồng đỏ vụ xuân 2006 tại Quốc Oai -Hà Tây với tỷ lệ bệnh 42-48%. ở các điểm điều tra khác bệnh phát triển cũng cùng chung qui luật này. Sau tháng 4 trở đi bệnh phát triển kém hơn nhưng không ngừng hẳn. 6 tháng cuối năm bệnh xuất hiện muộn hơn, bệnh bắt đầu biểu hiện từ tháng 10 đến tháng 12 và dừng lại khi trời lạnh. Khí hậu năm 2004-2005 nắng nhiều vào tháng 5 nên bệnh phát triển chậm. Các lô giống hoa hồng nhập về từ Trung quốc đã có sẵn nguồn bệnh, cây giống trong bầu ươm trồng luôn nên việc kiểm tra của nông hộ còn bị hạn chế.

Ngoài việc điều tra trên đồng ruộng chúng tôi còn kết hợp xác định nguồn bệnh trên các lô giống nhập nội tại Hà Tây cho thấy số cành, cây giống bị nhiễm u sùi chiếm 15-30%/100 cây giống. Khi loại bỏ u bệnh và xử lý cây giống bằng kasuran đã cho kết quả cây phục hồi 12,5%. Thời gian từ tháng 2-4/2005 TLB tăng lên khá nhanh (4%) cũng giống kết quả năm 2004, đây là lúc nhiệt độ tương đối phù hợp với sự phát triển của vi khuẩn, có mưa phùn vi khuẩn lây lan xâm nhiễm nhanh. Từ 13/4 trở đi những u bệnh cũ vẫn tiếp tục phát triển, nhưng các u mới hình thành ít hơn.

## 2. Nghiên cứu đặc điểm của vi khuẩn *A. tumefaciens*

Kết quả quan sát, nhuộm màu và đo đếm kích thước vi khuẩn *A. tumefaciens* cho kết quả tương tự như các tài liệu của Krasnicop (1956); Christov (1972); Horst (1983); ...Vi khuẩn có dạng hình gậy, kích thước 2.5-3.0 x 0.7-0.8µm, dạng đơn bào, không tạo ra bào tử, có vỏ và lông roi, là vi khuẩn háo khí, nhuộm gram (-), khuẩn lạc tròn và rìa nhẵn. Màu sắc khuẩn lạc của các isolates khác nhau khi

nuôi cấy trên các môi trường pepton đều cho kết quả màu trắng kem, nhẵn, bóng, tròn, nhỏ, rìa đều đặn. Trên môi trường chỉ thị D2M ban đầu khuẩn lạc có màu xanh da trời nhạt sau đó đậm dần.

### a) Khả năng lây bệnh của vi khuẩn *A. tumefaciens* trên lát cắt cà rốt

Kết quả lây bệnh (2005) cho thấy tất cả các isolates đều có khả năng tạo u sùi trên lát cắt cà rốt (bảng 2). Quá trình biến đổi của lát cắt cà rốt biểu hiện rõ sau khi lây vi khuẩn bằng dịch vi khuẩn ( $10^{-6}$ ) có tạo vết thương trên bề mặt lát cắt cà rốt. Sau 19-22 ngày, trên bề mặt của lát cắt xuất hiện những u sùi màu hồng, phần lớn các u sùi xuất hiện ở giữa lát cắt phần bó mạch và rìa của lát cắt, sau đó các u sùi chuyển dần sang màu trắng ngà chuyển sang đen và thối ở giai đoạn cuối. Từ các u sùi trên lát cắt cà rốt chúng tôi tiến hành phân lập vi khuẩn và cấy trên môi trường chỉ thị D2M và thấy tất cả các nguồn vi khuẩn phân lập từ các lát cắt đều làm chuyển màu môi trường.

Bảng 2. Thời gian và khả năng tạo u sùi của vi khuẩn *A. tumefaciens* trên lát cắt cà rốt

Isolates	Số lát cắt lây	Số lát cắt xuất hiện	Thời gian (ngày)
BN04-01	9	6	20
BN05-02	9	7	20
HN05-01	9	6	22
HN05-02	9	7	20
HT05-01	9	5	22
QN05-01	9	8	19
QN05-02	9	7	21
TB05-01	9	9	19
TB05-02	9	8	20
Đ/C	9	0	0

### b) Ảnh hưởng của nhiệt độ pH tới khả năng phát triển của vi khuẩn

Nhiệt độ và độ pH là hai yếu tố liên quan mật thiết tới sự sinh trưởng, phát triển của vi khuẩn. Kết quả điều tra khả năng xuất hiện, phát triển của bệnh u sùi tại các vùng điều tra trong thời gian từ

tháng 2 đến tháng 5 hàng năm cho thấy: vi khuẩn phát triển thích hợp trong điều kiện thuận lợi ở vụ xuân, vụ thu đông. Xác định được thời điểm phát sinh, phát triển của bệnh và đưa ra biện pháp hạn chế sự lây lan, phát tán bệnh trên đồng ruộng là

hết sức cần thiết trong điều kiện nóng ẩm ở nước ta. Kết quả khảo sát qua 2 năm 2005-2006 trong bảng 3 chỉ ra rằng vi khuẩn phát triển mạnh ở nhiệt độ từ 25-30°C, nhiệt độ càng tăng vi khuẩn phát triển càng mạnh.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng phát triển của vi khuẩn *A. tumefaciens* trên môi trường pepton

Nhiệt độ (°C)	Năm 2005		Năm 2006	
	Số ngày xuất hiện khuẩn lạc	Số khuẩn lạc tạo thành	Số ngày xuất hiện khuẩn lạc	Số khuẩn lạc tạo thành
10	13.5±0.7	20.3±3.04	11.4±0.8	19.8±1.6
15	8.5±0.2	106.3±6.6	7.4±0.6	100.8±2.4
20	1.0±0.0	382.0±20.6	1.0	382.4±14.8
25	1.0±0.0	528.0±25.5	1.0	554.2±10.8
28	1.0±0.0	668.0±15.8	1.0	661.6±15.4
30	1.0±0.0	828.0±15.7	1.0	833.0±20.6
32	-	-	1.0	627.2±15.2
35	-	-	1.0	435.2±20.2
38	-	-	1.0	126.8±6.2
40	-	-	1.0	65.0±3.2

Khi nhiệt độ trên 30°C thì sự phát triển của vi khuẩn có chiều hướng giảm xuống, số lượng khuẩn lạc vẫn xuất hiện nhiều. Ở nhiệt độ cao plasmid của vi khuẩn bị mất và vi khuẩn không có khả năng gây bệnh và điều đó biểu hiện dù nhiệt độ cao, vi khuẩn xuất hiện nhưng bệnh vẫn giảm đi, điều này lí giải tại sao vào mùa hè bệnh phát triển rất kém, thậm chí dừng hẳn. Nhiệt độ thấp vi khuẩn phát triển kém hơn, điều này cho thấy thời gian từ tháng 2 đến tháng 5 bệnh phát triển rất mạnh và vào mùa đông khi thời tiết lạnh bệnh ngừng phát triển. Vào những năm mưa, ẩm nhiều, không quá nóng bệnh u sùi rễ hoa hồng có thể tiếp tục phát triển ngay cả ở vụ xuân hè và vào những tháng mùa đông.

Kết quả thí nghiệm về ảnh hưởng của độ pH đối với sự phát sinh, phát triển của vi khuẩn *A. tumefaciens* cho thấy loài vi khuẩn này phát triển tốt trong khoảng pH6 -7, tốt nhất ở pH6,5; trong khoảng pH cao hơn 7 và thấp hơn 6 vi khuẩn phát triển yếu hơn, nhưng pH tăng lên số lượng khuẩn lạc giảm ít hơn so với pH giảm xuống (bảng 4).

Ở các vùng điều tra tại Bắc Ninh, Quảng Ninh

hay Thái Bình, Hà Tây, Hà Nội, Hải Dương, Lào Cai thì các loại đất trồng hoa hồng đều có các ngưỡng pH phù hợp cho vi khuẩn phát triển nên bệnh đã lan rộng gây tác hại, giảm năng suất đáng kể. Có thể kết luận rằng vi khuẩn u sùi thích hợp với đất hơi chua cho đến trung tính. Căn cứ vào đặc điểm này ta có thể đưa ra biện pháp phòng trừ vi khuẩn *A. tumefaciens*: thay đổi pH đất tới ngưỡng mà sự phát triển của vi khuẩn là rất thấp thông qua các biện pháp như: bón vôi cải tạo đất, phân chuồng ủ, canh tác, luân canh với các cây trồng khác không phải kí chủ của vi khuẩn *A. tumefaciens*.

c) Kết quả thử phản ứng sinh hoá đối với vi khuẩn *A. tumefaciens*

Một trong những nghiên cứu quan trọng về đặc điểm của vi khuẩn là thử các phản ứng sinh hoá để xác định đúng loài gây bệnh. 9 isolates năm 2005 và 8 isolates 2006 đã thu thập từ các vùng nghiên cứu khác nhau được tìm hiểu đặc tính sinh lý và thử các phản ứng sinh hoá. Kết quả qua 2 năm nghiên cứu trong bảng 5 đều cho thấy: vi khuẩn *A. tumefaciens* không có khả năng khử arginine và phân giải gelatin; có khả năng

phân giải các loại đường, tinh bột, tryptophan, khử oxydase, khử NO<sub>3</sub> thành NO<sub>2</sub>.  
phân giải pepton tạo NH<sub>3</sub> và H<sub>2</sub>S, có khả năng

*Bảng 4. Ảnh hưởng của độ pH đến khả năng phát triển của vi khuẩn A. tumefaciens trên môi trường pepton*

Ngưỡng pH	Năm 2005		Năm 2006	
	Số ngày xuất hiện khuẩn lạc	Số khuẩn lạc tạo thành	Số ngày xuất hiện khuẩn lạc	Số khuẩn lạc tạo thành
5.0	1.0	120.6±6.7	1.0	122.8±6.6
5.5	1.0	224.3±10.2	1.0	221.0±10.2
6.0	1.0	508.0±10.0	1.0	506.0±15.4
6.5	1.0	616.7±7.8	1.0	617.8±17.6
7.0	1.0	525.0±6.9	1.0	506.6±16.8
7.5	1.0	435.3±5.9	1.0	422.6±9.6

*Bảng 5. Kết quả thử phản ứng sinh hoá của các isolate vi khuẩn A. tumefaciens khác nhau (2005-2006)*

Isolate	Phản ứng								
	Khử Agrinine	Khử oxydasae	Phân giải đường	Khử NO <sub>3</sub>	Tạo H <sub>2</sub> S	Indol	Phân giải gelatin	Amidon	Esculin
Năm 2005									
BN04-01	-	+	+	+	+	+	-	+	+
BN05-02	-	+	+	+	+	+	-	+	+
HN04-01	-	+	+	+	+	+	-	+	+
HN05-02	-	+	+	+	+	+	-	+	+
HT05-01	-	+	+	+	+	+	-	+	+
QN04-01	-	+	+	+	+	+	-	+	+
QN05-02	-	+	+	+	+	+	-	+	+
TB04-01	-	+	+	+	+	+	-	+	+
TB05-02	-	+	+	+	+	+	-	+	+
Năm 2006									
HN 05-01	-	+	+	+	+	+	-	+	+
HT 06-01	-	+	+	+	+	+	-	+	+
TB 05-01	-	+	+	+	+	+	-	+	+
HD 06-01	-	+	+	+	+	+	-	+	+
QN 06-01	-	+	+	+	+	+	-	+	+
QN 06-02	-	+	+	+	+	+	-	+	+
LC 06-01	-	+	+	+	+	+	-	+	+
BN 06-01	-	+	+	+	+	+	-	+	+

Kết quả cho thấy vi khuẩn *A. tumefaciens* là loài gây bệnh u sùi rễ hoa hồng là đúng và phù hợp với các nghiên cứu trước đây của nhiều tác giả (Christov, 1972; Horst, 1983; Kintya, 1990).

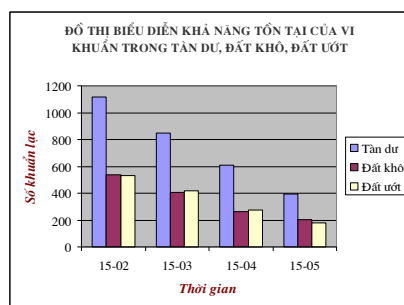
d) Kiểm tra khả năng tồn tại của vi khuẩn *A. tumefaciens* trong tàn dư bệnh, đất ướt, đất khô theo thời gian

Kết quả nghiên cứu trong 3 năm (2004-2006) cho thấy bệnh u sùi rễ do vi khuẩn *A. tumefaciens* phát sinh và phát triển lây nhiễm phổ biến tại nhiều vùng trồng hoa hồng ở miền

Bắc nước ta. Bệnh phân bố rộng hơn và có mặt ở cả 2 vụ, điều đó chứng tỏ rằng vi khuẩn có khả năng tồn tại trong đất, trên tàn dư bệnh kể cả đất khô và đất ướt. Thí nghiệm này được thực hiện 2006 nhằm kiểm chứng lại khả năng này của vi khuẩn trong tự nhiên (bảng 6, hình 3).

Bảng 6. Khả năng tồn tại của *A. tumefaciens* trong tàn dư, đất ướt, đất khô theo thời gian

Thời gian (2006)	Nồng độ vi khuẩn	Số ngày xuất hiện khuẩn lạc	Số khuẩn lạc xuất hiện		
			Tàn dư	Đất khô	Đất ướt
15.02	$10^{-3}$	1	1651.0±18.4	808.0±13.2	803.6±15.4
	$10^{-4}$	1	1031.6±11.6	528.2±10.2	527.0±11.2
	$10^{-5}$	1	668.6±10.6	274.0±8.2	266.8±7.0
	T. bình		1116.9	536.7	532.3
15.03	$10^{-3}$	1	1276.6±8.6	606.6±13.4	624.8±8.4
	$10^{-4}$	1	749.0±20.4	377.4±6.0	434.4±15.4
	$10^{-5}$	1	519.2±12.4	223.8±9.0	192.8±13.2
	T. bình		848.1	406.0	417.3
15.04	$10^{-3}$	1	1026.8±8.4	468.2±13.2	397.0±9.6
	$10^{-4}$	1	513.6±14.8	192.8±10.0	299.8±6.0
	$10^{-5}$	1	265.4±12.6	122.0±9.6	126.8±8.4
	T. bình		607.8	261.0	274.6
15.05	$10^{-3}$	1	773.2±12.0	371.8±12.0	241.2±12.6
	$10^{-4}$	1	310.6±12.2	135.2±4.0	197.0±9.6
	$10^{-5}$	1	93.6±10.2	99.4±8.8	108.4±7.0
	T. bình		392.5	202.0±8.3	182.1



Hình 3: Khả năng tồn tại của vi khuẩn *A. tumefaciens* trong tàn dư, đất khô, đất ướt theo thời gian

Khả năng tồn tại của vi khuẩn trong đất khô, đất ngâm nước và tàn dư bệnh để khô theo thời gian (mẫu đất và tàn dư lấy tại Quốc Oai -Hà Tây) đã thu được kết quả tương tự nghiên cứu qua các năm. Trên mẫu đất và tàn dư bệnh thu tại Yên Hưng -Quảng Ninh cho kết quả số khuẩn lạc giảm dần theo thời gian qua mỗi lần thí nghiệm trong đó số khuẩn lạc tồn tại trên tàn dư bệnh luôn là cao hơn cả, tuy nhiên số lượng khuẩn lạc giảm đi là không đáng kể. Trải qua thời gian khá dài (15-2 đến 15-5/2006) vi khuẩn vẫn tồn tại mặc dù không có cây kí chủ, chứng tỏ chúng có khả năng bảo tồn

lâu dài trong đất và tàn dư bệnh, vì vậy khi thực hiện các biện pháp luân canh trong một thời gian ngắn sẽ không đạt hiệu quả cho việc ngăn ngừa sự phát sinh, phát triển, gây hại của vi khuẩn *A. tumefaciens*.

#### IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

- Bệnh u sùi trên hoa hồng do vi khuẩn *A. tumefaciens* đã phân bố rộng và gây hại nghiêm trọng tại 7 vùng thuộc miền Bắc Việt Nam (Hà Nội, Hải Dương, Bắc Ninh, Thái Bình, Hà Tây, Quảng Ninh và Lào Cai) trong đó Hà Tây bị bệnh nặng nhất (TLB là 42-48%).

- Quá trình phát sinh và phát triển của bệnh u sùi là tương tự như nhau sau 3 năm nghiên cứu (2004-2006). Bệnh hại trong cả 2 vụ xuân và thu đông với 2 cao điểm tháng 2-4 và tháng 10-12 nhưng bệnh hại nặng hơn ở vụ xuân. Các lô giống hoa hồng trong bầu nhập nội từ Trung Quốc luôn có sẵn nguồn bệnh. Giống hồng trắng nhiễm bệnh nặng hơn giống hồng cà rốt, giống tâm xuân Việt Nam và gốc ghép tâm xuân không bị nhiễm bệnh.

- Sau 19-22 ngày, u sùi xuất hiện trên bề mặt,

phần bó mạch và rìa của của lát cắt cà rốt, các u sùi chuyển dần từ màu hồng sang màu trắng ngà và sang màu đen và thối ở giai đoạn cuối.

- Vi khuẩn *A. tumefaciens* gây bệnh u sùi rễ hoa hồng phát triển tốt trong điều kiện nhiệt độ 25-30°C và pH 6-7. Vi khuẩn có dạng hình gậy (2.5-3.0 x 0.7-0.8µm) dạng đơn bào, không tạo ra bào tử, có vỏ và lông roi, là vi khuẩn hiếu khí, nhuộm gram (-), khuẩn lạc tròn và rìa nhẵn. Khuẩn lạc màu trắng kem, nhẵn, bóng, tròn, nhỏ, rìa đều đặn và có màu xanh da trời nhạt sau đó đậm dần trên môi trường chỉ thị D2M; không có khả năng khử arginine, không phân giải gelatin; có thể phân giải các loại đường, tinh bột, tryptophan, tạo NH<sub>3</sub> và H<sub>2</sub>S, khử oxydase.

- Vi khuẩn có khả năng sống hoại sinh một thời gian dài trong đất và tàn dư bệnh nên biện pháp luân canh trong thời gian ngắn là không có hiệu quả. Vi khuẩn tồn tại trên tàn dư bệnh cao hơn so với đất khô và đất ướt. Số khuẩn lạc giảm dần theo thời gian trong đất nghỉ lâu ngày và trong nước nên biện pháp ngâm nước ruộng và để đất nghỉ là rất cần thiết để hạn chế bệnh.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abd and Taha. (1993). *Nematode Interaction with Root nodule Bacteria*. In Nematode Interaction. M.V. Khan, Plant Pathology & Plant Nematology Laboratories. Department of Botany Aligarh Muslim University of Aligarh, India, p. 234-239.
2. Christov A. (1972). *Rosae Handbook*. Crotonon Hudson, New York, p. 95-378.
3. Horst, R. K. 1983. *Compendium of Rose Diseases*. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota. Pp. 23-26 and Color Plates 39-42.
4. Kintya. (1990). *Secondary Metabolites of Rose and its Resistance to Disease*. Rew. Of Plant Pathol. Vol 69, p. 616.
5. Krasnicop (1956), Phân loại Vi khuẩn (Bản tiếng Nga). NXB Mockba. 1959. tr. 560-576.
6. Panagopoulos, C.G., Psallidas, P.G., and Alivizatos, A.S. 1979. *Evidence of a breakdown in the effectiveness of biological control of crown gall*. In Schippers, B., Gams, W. (Eds.): *Biology and Control of Soil-Borne Plant Pathogens*, New York: Academic Press, pp 569-577.
7. Pirone et al. (1960). *Disease and Pest of Ornamental Plants*. The Ronald Pree Company, New York, p. 775.
8. Smith, E.F. and Townsend, C.O..(1907). *A plant tumor of bacterial origin*. Science, 25, p. 671-673.
9. Stonier, T. (1960). *Agrobacterium tumefaciens* Conn. II. *Production of an antibiotic substance*. J. Bacteriol. 79, p. 889 - 898.
10. Ngô Thị Xuyên, Lê Lương Tê, Đặng Nông Giang. (2004). *Bước đầu nghiên cứu bệnh u sùi rễ cây hoa hồng* - Tạp chí Bảo vệ Thực vật. NXB Nông nghiệp Hà Nội, tr. 12-18.
- Zhu, Jun et al. 2000. *Minireview: The bases*



of crown gall tumorigenesis. *Journal of Bacteriology* 182:3885-3895

