



Hình 5. Tơ nấm sau 12 ngày và quả thể nấm nuôi trồng

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Lâm Dũng, 2003. *Công nghệ nuôi trồng nấm*. NXB Nông Nghiệp. Hà Nội.

Trịnh Tam Kiệt, 2011. *Nấm lớn Việt Nam*. Tập 1. NXB Khoa học và Kỹ thuật. Hà Nội.

Trịnh Tam Kiệt, 2012. *Nấm lớn Việt Nam*. Tập 2. NXB Khoa học và Kỹ thuật. Hà Nội.

Ooi VE, Liu F., 2000. Immunomodulation and anti-cancer activity of polysaccharide-protein complexes. *Curr Med Chem*; 7: 715-729.

Samuel I. Awala and Victor O. Oyetayo, 2015. The Phytochemical and Antimicrobial Properties of the Extracts Obtained from *Trametes Elegans* Collected from Osengere in Ibadan, Nigeria. Department of Microbiology, Federal University of Technology, P M B 704, Akure, Nigeria.

White, T. J., T. D. Bruns, S. B. Lee, and J. W. Taylor., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA Genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Academic Press. US. 482pp.

### Study on propagation measures and culture for wild mushroom van chi (*Trametes elegans*) collected from Nui Cam, An Giang

Ho Thi Thu Ba

#### Abstract

Study on propagation measures and culture for wild mushroom van chi (*Trametes elegans*) collected from Nui Cam, An Giang was carried out in the laboratory of An Giang university from 8/2019 to 11/2020. The preliminary result showed that this wild mushroom was identified to belong to *Trametes elegans* by comparing 18S rRNA sequences and observing the morphological characteristics. The best first stage medium for *Trametes elegans* was PDA which showed the mycelia grew faster than others in 5 days. The best secondary stage medium was rice + 5% rice bran + 5% corn flour in 9 days and the medium for giving high yield of primordia was 90% rubber sawdust + 5% rice bran + 5% corn flour in 16 days for full development and after 50 days, harvested fruiting bodies reached the highest biological efficiency of 1.76%.

**Keywords:** Wild mushroom van chi (*Trametes elegans*), propagation medium, identification

Ngày nhận bài: 12/12/2020

Ngày phản biện: 08/01/2021

Người phản biện: TS. Cổ Thị Thùy Vân

Ngày duyệt đăng: 29/01/2021

### ĐÁNH GIÁ HIỆU LỰC ỨC CHẾ CỦA VI KHUẨN *Bacillus velezensis* ĐỐI VỚI NẤM *Phytophthora* sp. GÂY BỆNH SƯƠNG MAI TRÊN CÂY CÀ CHUA

Lê Vũ Khánh Trang<sup>1</sup>, Lê Thị Mai<sup>1</sup>,  
Võ Lương Ý Nhi<sup>1</sup>, Huỳnh Thị Ngọc Lan<sup>1</sup>

#### TÓM TẮT

Vi khuẩn *Bacillus velezensis* hiện nay đang được quan tâm nghiên cứu bởi có nhiều tiềm năng trong việc ứng dụng sản xuất các chế phẩm sinh học phòng trừ bệnh hại và giúp tăng năng suất cho cây trồng. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá khả năng ức chế sự phát triển của nấm *Phytophthora* sp. gây bệnh sương mai trên cây cà chua của các thành phần môi trường nuôi cấy vi khuẩn *B. velezensis* với mục đích phát triển và đa dạng hóa các sản phẩm chế phẩm sinh học. Kết quả nghiên cứu đã cho thấy các thành phần môi trường nuôi cấy vi khuẩn *B. velezensis*,

<sup>1</sup> Trường Đại học Sư phạm, Đại học Đà Nẵng

bao gồm tế bào vi khuẩn, dịch ngoại bào, dịch enzyme và các thành phần phi enzyme đều có khả năng đối kháng với nấm bệnh *Phytophthora* sp.. Trong đó, khả năng đối kháng của tế bào vi khuẩn và dịch ngoại bào với nấm bệnh *Phytophthora* sp. là rất mạnh thể hiện qua hiệu lực ức chế nấm lần lượt là 84,44% và 80% sau 5 ngày. Các enzyme ngoại bào thể hiện hiệu lực đối kháng với nấm bệnh là 72,59% cao hơn 1,6 lần so với các thành phần phi enzyme (45,18%). Hiệu lực đối kháng mạnh với nấm bệnh được chứng minh trong nghiên cứu này sẽ góp phần phát triển đa dạng sản xuất các loại chế phẩm sinh học từ chủng vi khuẩn *Bacillus velezensis* phục vụ vào công cuộc phòng trừ bệnh sương mai ở cây trồng nói chung và cây cà chua nói riêng.

**Từ khóa:** Vi khuẩn *Bacillus velezensis*, hiệu lực ức chế, nấm *Phytophthora* sp., bệnh sương mai, cây cà chua

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tại Việt Nam, cây cà chua được trồng và tiêu thụ phổ biến với diện tích trong những năm gần đây dao động khoảng 23 đến 25 ngàn ha. Hiện nay, cây cà chua đang được chú trọng đẩy mạnh ứng dụng công nghệ sinh học để nâng cao năng suất và chất lượng sản phẩm, như nghiên cứu chọn tạo giống cà chua lai năng suất cao và chất lượng phù hợp với từng khu vực khác nhau, kháng được các loại sâu bệnh hại. Tuy nhiên, quá trình sản xuất vẫn còn gặp nhiều hạn chế do điều kiện khí hậu nước ta dễ dàng tạo điều kiện thuận lợi cho một số loại bệnh trên cây phát triển, chủ yếu là các bệnh do vi sinh vật gây ra như: bệnh héo xanh, bệnh đốm vi khuẩn, bệnh đốm quả, bệnh sương mai,... Trong đó, bệnh sương mai là loại bệnh phổ biến thứ hai trên cây cà chua với tác nhân chính gây bệnh là do nấm *Phytophthora* sp. đã gây mất mùa, làm tăng chi phí và cản trở việc sản xuất của nhiều nhà vườn, ước tính thiệt hại sụt giảm năng suất lên tới 40 - 70% năng suất. Hiện nay, các nhà vườn thường sử dụng các loại thuốc hóa học để diệt nấm nhưng biện pháp này thường để lại một số hậu quả như: diệt hết tất cả các vi sinh vật có lợi trong đất làm mất cân bằng hệ vi sinh, tạo điều kiện cho các loài gây hại phát triển, dư lượng thuốc diệt nấm làm ô nhiễm nguồn đất, nước, gây hại đối với sức khỏe của người... Trong các biện pháp phòng trừ đang được nghiên cứu để dần thay thế biện pháp hóa học thì biện pháp ứng dụng các chế phẩm sinh học là một hướng đi được các nhà khoa học của nhiều nước trên thế giới cũng như Việt Nam quan tâm, vì có tác dụng tích cực đối với nông nghiệp và ưu việt hơn so với các sản phẩm hóa học.

Vi khuẩn *Bacillus velezensis* là một loại vi khuẩn mới được phát hiện gần đây, thuộc loại vi khuẩn Gram dương, hình que, có khả năng sinh acid từ aesculin, amygdalin, arbutin,... (Wang *et al.*, 2008). Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra tiềm năng kiểm soát sinh học của *B. velezensis* thông qua bốn cơ chế chính: kháng sinh qua trung gian chất chuyển hóa kháng khuẩn, sản xuất các hormone tăng trưởng để hấp thu chất dinh dưỡng, cạnh tranh dinh dưỡng với các vi sinh vật khác và sản sinh các hợp chất để

bay hơi cùng với các hợp chất lipopeptide bề mặt (Adetomiwa Ayodele Adeniji *et al.*, 2019). Nghiên cứu sơ bộ của nhóm đã phân lập và tuyển chọn được chủng vi khuẩn kí hiệu là BV16 có khả năng tiêu diệt nấm gây bệnh mạnh nhất và đã được xác định đó là loài *Bacillus velezensis* (Trang *et al.*, 2020). Do đó, nghiên cứu này tiếp tục thực hiện để sàng lọc và đánh giá hiệu lực ức chế sự phát triển nấm *Phytophthora* sp. gây bệnh sương mai trên cây cà chua từ các thành phần trong canh trường nuôi cấy của vi khuẩn *B. velezensis* để chọn ra thành phần có hiệu lực ức chế nấm bệnh cao nhất, từ đó làm cơ sở khoa học để ứng dụng vi sinh vật đối kháng sản xuất đa dạng các sản phẩm chế phẩm sinh học.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Từ các vùng trồng cà chua ở Đà Nẵng, chủng nấm *Phytophthora* sp. gây bệnh sương mai trên cây cà chua và vi khuẩn *B. velezensis* đã được phân lập và được bảo quản tại Khoa Sinh - Môi trường, Trường Đại học Sư phạm - ĐH Đà Nẵng (Trang *et al.*, 2020).

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Phương pháp giữ giống vi sinh vật

Vi khuẩn *B. velezensis* được giữ giống trên môi trường thạch LB (Luria-Bertani), nấm *Phytophthora* sp. được giữ giống trên môi trường PDA (Potato dextrose agar). Tất cả các giống vi sinh vật được bảo quản ở 4°C và thực hiện cấy chuyển hàng tháng.

#### 2.2.2. Phương pháp hoạt hóa vi sinh vật

- Vi khuẩn *B. velezensis*: Từ ống thạch nghiêng lấy sinh khối vi khuẩn để tiến hành hoạt hóa trong 50 ml môi trường LB đã được khử trùng ở điều kiện 121°C, 1 atm trong thời gian 20 phút, tiến hành nuôi cấy lắc 150 vòng/ phút trong 18 giờ ở nhiệt độ phòng.

- Đối với nấm *Phytophthora* sp. gây bệnh sương mai: Từ ống thạch nghiêng được hoạt hóa lại trong môi trường PDA trên đĩa bằng cách cắt một khoanh thạch trong ống thạch nghiêng rồi úp sang môi trường PDA mới trong khoảng 5 - 7 ngày ở 30°C để thực hiện các phương pháp đối kháng.

**2.2.3. Phương pháp thu sinh khối tế bào, dịch ngoại bào, enzyme ngoại bào và các thành phần phi enzyme từ canh trường nuôi cấy vi khuẩn *Bacillus velezensis***

Sau khi được hoạt hóa, vi khuẩn *B. velezensis* được tăng sinh trong 100 mL môi trường LB. Sau khi OD<sub>600</sub> đạt giá trị 0,7 tiến hành ly tâm ở 10.000 vòng/10 phút để thu dịch ngoại bào và sinh khối tế bào vi khuẩn (mật độ sinh khối tế bào đạt 10<sup>8</sup> cfu/ml). Đối với nghiệm thức sinh khối tế bào gia nhiệt, sau khi thu sinh khối tiến hành gia nhiệt ở 55°C trong 15 phút. Sinh khối tế bào vi khuẩn được tái huyền phù trong nước cất vô trùng.

Để thu enzyme ngoại bào và các thành phần phi enzyme, lấy 50 ml dịch ngoại bào cho vào bình 250 ml. Tiến hành kết tủa phân đoạn dịch ngoại bào bằng muối amoni sunfat (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> bão hòa và khuấy đều để lắng. Sau 12 giờ tiến hành ly tâm 10000 vòng/10 phút ở 4°C thu được phần dịch nổi là các thành phần phi enzyme, phần kết tủa được hòa tan trong đệm acetate pH = 3,8.

**2.2.4. Đánh giá hiệu lực ức chế nấm *Phytophthora sp.* từ các thành phần trong canh trường nuôi cấy vi khuẩn *B. velezensis* ở điều kiện phòng thí nghiệm**

Đánh giá hiệu lực ức chế nấm bệnh của vi khuẩn được thực hiện theo phương pháp cấy kếp và theo dõi sự phát triển của sợi nấm sau 5 ngày và 7 ngày ủ ở nhiệt độ 30°C. Hiệu lực ức chế sự phát triển của nấm bởi vi khuẩn được tính theo công thức (Han *et al.*, 2015):

$$I = \frac{R - r}{R} \times 100 \%$$

Trong đó: I là hiệu lực đối kháng (ức chế sự phát triển của nấm bởi vi khuẩn); R là bán kính hệ sợi nấm đối chứng (cm); r là bán kính hệ sợi nấm có chủng vi khuẩn (cm).

Các mẫu thí nghiệm đánh giá khả năng kháng nấm *Phytophthora sp.* được thực hiện bao gồm các mẫu và công thức (CT) thí nghiệm (TN) như bảng 1.

**Bảng 1.** Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm	Mẫu thí nghiệm	Công thức thí nghiệm	Nồng độ pha loãng
ĐC	Nước cất vô trùng (đối chứng)	ĐC	
TN 1	Sinh khối tế bào vi khuẩn <i>B. velezensis</i> không gia nhiệt	CT1	10 <sup>-4</sup>
TN 2	Sinh khối tế bào vi khuẩn <i>B. velezensis</i> được gia nhiệt ở 55°C trong vòng 15 phút	CT2	10 <sup>-5</sup>
		CT3	10 <sup>-6</sup>
		CT1	10 <sup>-6</sup>
TN 3	Dịch ngoại bào	CT2	10 <sup>-7</sup>
		CT3	10 <sup>-8</sup>
		CT1	10 <sup>-4</sup>
TN 4	Dịch enzyme ngoại bào	CT2	10 <sup>-5</sup>
TN 5	Dịch phi enzyme	CT3	10 <sup>-6</sup>

Ghi chú: \*Từ mẫu ban đầu là môi trường nuôi cấy vi khuẩn *B. velezensis* đạt mật độ 10<sup>8</sup> cfu/ml tiến hành pha loãng theo dãy nồng độ khác nhau.

**2.2.5. Phương pháp xử lý số liệu**

Kết quả được biểu thị bằng trị số trung bình và độ lệch chuẩn (Mean ± SD). Xử lý thống kê dựa vào phân tích ANOVA. Kết quả thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%.

**2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu**

Nghiên cứu thực hiện từ tháng 1 đến 10/2020 tại Bộ môn Công nghệ Sinh học, Khoa Sinh - Môi trường, trường Đại học Sư phạm, Đại học Đà Nẵng.

**III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1. Đánh giá hiệu lực ức chế sự phát triển của nấm *Phytophthora sp.* từ tế bào vi khuẩn *B. velezensis***

Kết quả hiệu lực ức chế sự phát triển của nấm bệnh *Phytophthora sp.* từ các thí nghiệm sinh khối tế bào không gia nhiệt (TN1) và gia nhiệt ở 55°C (TN2) (Bảng 1, hình 1 và hình 2) cho thấy trong điều kiện phòng thí nghiệm, sinh khối tế bào vi khuẩn *B. velezensis* khi được pha loãng ở nồng độ 10<sup>-4</sup> và 10<sup>-5</sup> (Nồng độ tế bào ban đầu đạt 10<sup>8</sup> cfu/ml) thể hiện

hiệu lực ức chế nấm đạt giá trị tương ứng là 84,44% và 74,82% sau 5 ngày theo dõi và giảm dần sau 7 ngày, tuy nhiên vẫn đạt giá trị khá cao, tương ứng 75,56% và 65,92%. Đối với thí nghiệm 2 cho thấy sinh khối tế bào vi khuẩn *B. velezensis* mặc dù đã gia nhiệt ở 55°C nhưng vẫn thể hiện hiệu lực kháng nấm lên đến 66,67% ở nồng độ pha loãng  $10^{-4}$  sau 5 ngày theo dõi. Ở nồng độ  $10^{-5}$ , hiệu lực ức chế nấm bệnh không cao, chỉ đạt 41,48% và giảm dần sau đó.

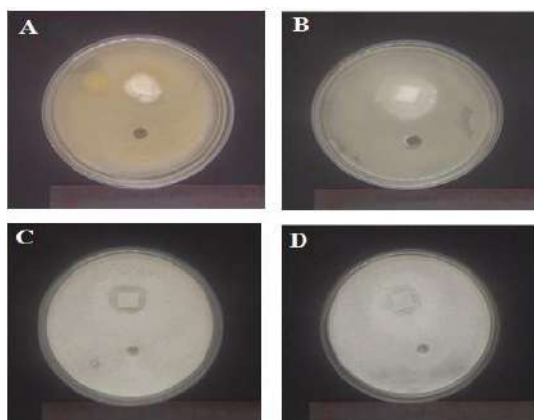
Kết quả của nghiên cứu đã kết luận được rằng khả năng ức chế sự phát triển của nấm bệnh của sinh khối tế bào vi khuẩn *B. velezensis* rất mạnh.

Trong đó, hiệu lực ức chế nấm bệnh từ tế bào bình thường cao hơn 17,77% so với hiệu lực chế của tế bào được gia nhiệt ở 55°C. *B. velezensis* có khả năng cạnh tranh dinh dưỡng mạnh làm hạn chế sự sinh trưởng và phát triển của nấm bệnh *Phytophthora* sp. Mặt khác, trong điều kiện bất lợi của môi trường (ví dụ như gia nhiệt), *B. velezensis* có khả năng sinh bào tử và giải phóng một số hợp chất nội bào có hoạt tính kháng nấm dẫn đến vẫn duy trì khả năng ức chế nấm bệnh phát triển (Adetomiwa Ayodele Adeniji *et al.*, 2019).

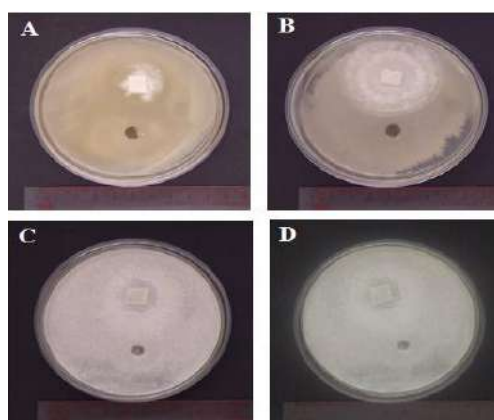
**Bảng 2.** Hiệu lực ức chế sự phát triển của nấm bệnh từ sinh khối tế bào vi khuẩn *Bacillus velezensis*

Mẫu TN	CT	Bán kính tản nấm (cm)		Hiệu lực kháng nấm (%)	
		Sau 5 ngày	Sau 7 ngày	Sau 5 ngày	Sau 7 ngày
Đối chứng	ĐC	4,5	4,5	-	-
TN1	CT1	0,7 ± 0,1	1,1 ± 0,1	84,44 ± 2,22 <sup>a</sup>	75,56 ± 2,22
TN2		1,5 ± 0,17	2,6 ± 0,15	66,67 ± 3,84 <sup>c</sup>	40,74 ± 4,62
TN1	CT2	1,13 ± 0,15	1,53 ± 0,06	74,82 ± 3,39 <sup>b</sup>	65,92 ± 1,28
TN2		2,67 ± 0,2	3,3 ± 0,1	41,48 ± 3,39 <sup>d</sup>	26,67 ± 2,22
TN1	CT3	4,5	4,5	-	-
TN2		4,5	4,5	-	-

Ghi chú: Số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Các giá trị biểu hiện bằng chữ cái giống nhau trong cùng 1 cột sai khác không có ý nghĩa ở mức xác suất  $P \leq 0,05$  theo phân tích Duncan.



**Hình 1.** Khả năng đối kháng nấm từ tế bào không gia nhiệt của vi khuẩn *B. velezensis* sau 7 ngày ở các công thức: A. CT1; B. CT2; C. CT3; D. Đối chứng



**Hình 2.** Khả năng đối kháng nấm từ tế bào được gia nhiệt ở 55°C của vi khuẩn *B. velezensis* sau 7 ngày các công thức: A. CT1; B. CT2; C. CT3; D. Đối chứng

### 3.2. Đánh giá hiệu lực ức chế sự phát triển của nấm *Phytophthora* sp. từ dịch ngoại bào của vi khuẩn *B. velezensis*

Đối với thí nghiệm 3 (TN3) tiến hành xác định hiệu lực ức chế sự phát triển của nấm bệnh *Phytophthora* sp. từ dịch ngoại bào, kết quả cho thấy hiệu lực kháng nấm của dịch ngoại bào giảm dần khi nồng độ pha loãng tăng dần (Bảng 3). Sau 5 ngày của

dịch ngoại bào ở CT1 thể hiện hiệu lực kháng nấm lên đến 80% và giảm còn 73,33% sau 7 ngày. So sánh với nghiên cứu của Caulier và cộng tác viên (2018) thì sinh khối và dịch ngoại bào của *B. velezensis* thể hiện hiệu lực kháng nấm bệnh *Phytophthora* sp. cao hơn 4,44% so với sinh khối chủng *Bacillus* sp. và *Pseudomonas* spp.

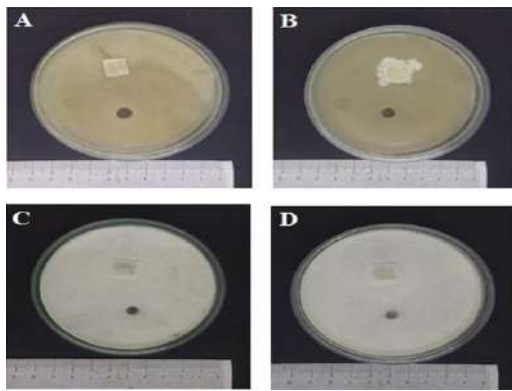
Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng vi khuẩn *B. velezensis* có khả năng tổng hợp nhiều hợp chất ngoại bào có hoạt tính kháng nấm và kháng khuẩn gây

hại cho cây trồng bao gồm lipopeptide, polyketide, dipeptide, siderophore và các protein kháng khuẩn (Arguelles-Arias *et al.*, 2009; Yuan *et al.*, 2012).

**Bảng 3.** Hiệu lực ức chế sự phát triển của nấm bệnh từ dịch ngoại bào (TN3)

CT	Bán kính tản nấm (cm)		Hiệu lực kháng nấm (%)	
	Sau 5 ngày	Sau 7 ngày	Sau 5 ngày	Sau 7 ngày
Đ/C	4,5	4,5	-	-
CT1	0,9 ± 0,1	1,2 ± 0,2	80,00 ± 2,22	73,33 ± 4,44
CT2	1,43 ± 0,06	1,63 ± 0,11	68,14 ± 1,28	63,70 ± 2,56
CT4	4,5	4,5	-	-

Ghi chú: Số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại.



**Hình 3.** Khả năng đối kháng nấm *Phytophthora* sp. từ dịch ngoại bào của vi khuẩn *B. velezensis* sau 7 ngày ở các nồng độ pha loãng: A. CT1; B. CT2; C. CT3; D. Đối chứng

**3.3. Đánh giá hiệu lực ức chế sự phát triển của nấm *Phytophthora* sp. từ các thành phần enzyme và phi enzyme trong dịch ngoại bào**

Để xác định rõ trong dịch ngoại bào, các thành phần enzyme hay phi enzyme của vi khuẩn *B. velezensis* đóng vai trò chủ yếu trong việc ức chế nấm bệnh *Phytophthora* sp. tiến hành thực hiện TN4 (enzyme) và TN5 (phi enzyme) (Bảng 4). Kết quả

cho thấy rằng, so với các thành phần phi enzyme hiệu lực ức chế cao nhất thu nhận được ở CT1 sau 5 ngày theo dõi là 45,18% thì thành phần enzyme thu nhận từ dịch ngoại bào thể hiệu lực ức chế sự phát triển của nấm bệnh cao hơn gấp 1,6 lần, tương ứng 72,59% ở CT1. Sau khi tiếp tục pha loãng đến nồng độ 10<sup>-5</sup> (CT3), dịch enzyme ngoại bào vẫn còn thể hiện khả năng kháng nấm, ở nồng độ này dịch phi enzyme không còn hiệu lực kháng nấm.

Kết quả của nghiên cứu đã cho thấy hiệu lực kháng nấm *Phytophthora* sp. của vi khuẩn *B. velezensis* khác nhau ở các thành phần enzyme và phi enzyme thu nhận được từ dịch ngoại bào. Khả năng kháng nấm bệnh thông qua các thành phần không phải là enzyme có thể là một số hợp chất có hoạt tính kháng nấm như iturin (ITU), fengycin (fen), siderophore bacillibactin... (Jina and Piyush, 2020; Manel Cheffi *et al.*, 2019). Bên cạnh đó, *B. velezensis* tổng hợp được nhiều loại enzyme ngoại bào như protease, chitinase, glucanase, cellulase, lipase, amylase và cylase... có khả năng phá hủy vách tế bào nấm bệnh (Nguyễn Lâm Dũng và *ctv.*, 2010; Trịnh Thành Trung và *ctv.*, 2017), do đó ức chế được nấm *Phytophthora* sp. gây bệnh sương mai trên cây cà chua.

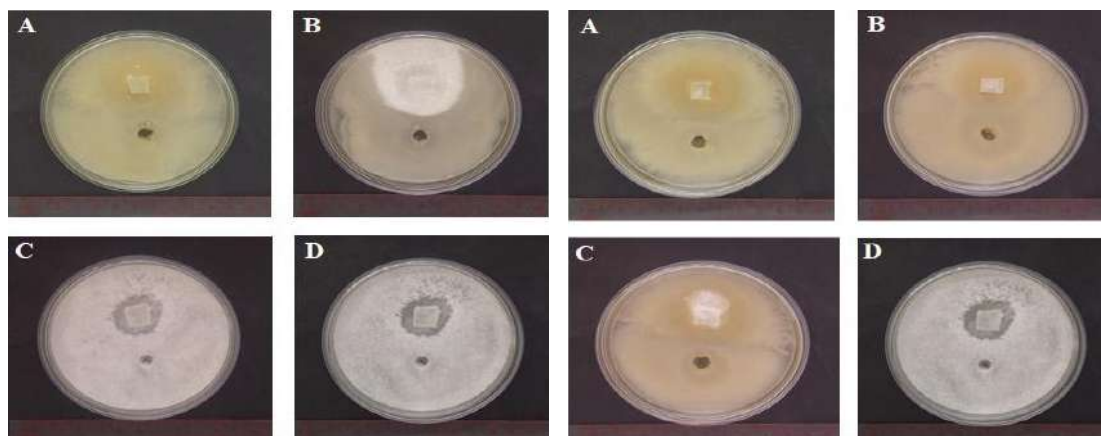
**Bảng 4.** Hiệu lực ức chế sự phát triển của nấm bệnh từ các thành phần enzyme và phi enzyme trong dịch ngoại bào

Mẫu TN	CT	Bán kính tản nấm (cm)		Hiệu lực kháng nấm (%)	
		Sau 5 ngày	Sau 7 ngày	Sau 5 ngày	Sau 7 ngày
Đối chứng	ĐC	4,5	4,5	-	-
TN4	CT1	1,23 ± 0,25	1,77 ± 0,63	72,59 ± 5,59 <sup>a</sup>	60,74 ± 14,1
TN5		2,47 ± 0,15	3,43 ± 1,75	45,18 ± 3,39 <sup>c</sup>	23,70 ± 2,56
TN4	CT2	1,87 ± 0,15	3,23 ± 0,25	58,52 ± 3,39 <sup>b</sup>	54,42 ± 5,59
TN5		3,40 ± 1,74	4,23 ± 2,33	24,44 ± 8,00 <sup>d</sup>	5,18 ± 5,59
TN4	CT3	4 ± 0,3 <sup>b</sup>	4,27 ± 0,25 <sup>a</sup>	11,11 ± 6,67 <sup>e</sup>	5,18 ± 5,59
TN5		4,5	4,5	-	-

Ghi chú: Số liệu trong bảng là trung bình của 3 lần lặp lại. Các giá trị biểu hiện bằng chữ cái giống nhau trong cùng 1 cột sai khác không có ý nghĩa ở mức xác suất P ≤ 0,05 theo phân tích Duncan.

Như vậy, nghiên cứu này có thể làm tiền đề để thực hiện các thử nghiệm tách chiết và tinh sạch một số enzyme, hợp chất tiềm năng có hoạt tính kháng

nấm từ vi khuẩn *B. velezensis* để ứng dụng trong việc phát triển và đa dạng hóa các loại chế phẩm sinh học từ vi khuẩn *B. velezensis*.



Hình 4. Khả năng đối kháng nấm *Phytophthora* sp. từ dịch phi enzyme sau 7 ngày ở các TN: A. CT 1; B. CT2; C. CT3; D. ĐC

#### IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã cho thấy tất cả các thành phần trong môi trường nuôi cấy vi khuẩn *B. velezensis* đều thể hiện khả năng đối kháng với nấm bệnh *Phytophthora* sp.. Trong đó, hiệu lực ức chế nấm bệnh của tế bào và dịch ngoại bào là cao nhất, tương ứng lần lượt là 84,44% và 80%. Ngoài ra, trong dịch ngoại bào của vi khuẩn *B. velezensis* thì dịch enzyme ngoại bào có hiệu lực ức chế sự phát triển của nấm bệnh (72,59%) cao hơn 1,6 lần so với các thành phần phi enzyme (45,18%). Vì vậy, có thể kết luận rằng vi khuẩn *B. velezensis* rất có tiềm năng trong ứng dụng vào sản xuất chế phẩm phòng trừ bệnh sương mai trên cây cà chua. Trên cơ sở đối kháng với nấm thông qua nhiều thành phần khác nhau trong canh trường nuôi cấy của vi khuẩn tạo cơ sở khoa học cho việc đa dạng hóa các loại chế phẩm sinh học phòng trừ bệnh cây trồng, hướng đến một nền nông nghiệp phát triển bền vững.

#### LỜI CẢM ƠN

Xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Sư phạm, Đại học Đà Nẵng đã tài trợ cho nghiên cứu này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Lâm Dũng, Nguyễn Đình Quyển, Phạm Văn Ty, 2010. *Vi sinh vật học*. NXB Giáo dục Việt Nam, 278.

Trịnh Thành Trung, Đinh Thị Tuyết Vân, Nguyễn Phương Liên, Đào Thị Lương, Dương Văn Hợp, 2017. Tiềm năng ứng dụng tạo chế phẩm làm phân bón hữu cơ sinh học từ các chủng *Bacillus velezensis* phân lập từ các vùng sinh thái khác nhau tại Việt Nam. *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 15 (1): 169-179.

Adetomiwa Ayodele Adeniji, Du Toit Loots, Olubukola O. B., 2019. *Bacillus velezensis*: phylogeny, useful applications, and avenues for exploitation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103 (9): 1-14.

Arguelles-Arias A, Ongena M, Halimi B, Lara Y, Brans A, Joris B, Fickers P, 2009. *Bacillus amyloliquefaciens* GA1 as a source of potent antibiotics and other secondary metabolites for biocontrol of plant pathogens. *Microbial Cell Factories*, 8 (1): 63.

Caulier Simon, Annika Gillis, Gil Colau, Florent Licciardi, Maxime Liepin, Nicolas Desoignies, Pauline Modrie, Anne Legreve, Jacques Mahillon, Claude Bragard, 2018. Versatile Antagonistic Activities of Soil-Borne *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. against *Phytophthora infestans* and other potato pathogens. *Frontiers in Microbiology*, Vol II.

Han, J. H., Shim, H., Shin, J. H., & Kim, K. S., 2015. Antagonistic activities of *Bacillus* spp. strains isolated from tidal flat sediment towards anthracnose pathogens *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* in South Korea. *The Plant Pathology Journal*, 31 (2): 165-175.

Jina Raijikumari and Piyush Pandey, 2020. Genomic Insights and Comparative Genomics of *Bacillus* Species Having Diverse Mechanisms of Biocontrol Against Fungal Phytopathogens, *Bacilli and Agrobiotechnology: Phytostimulation and Biocontrol. Bacilli in Climate Resilient Agriculture and Bioprospecting*. Springer, Cham: 217-237.

Manel Cheffi Ali Chenari Bouket, Faizah N. Alenezi, Lenka Luptakova, Marta Belka, Armelle Vallat, Mostafa E. Rateb, Slim Tounsi, Mohamed Ali Triki and Lassaad Belbahri, 2019. *Olea europaea* L. Root

Endophyte *Bacillus velezensis* OEE1 Counteracts Oomycete and Fungal Harmful Pathogens and Harbours a Large Repertoire of Secreted and Volatile Metabolites and Beneficial Functional Genes. *Journals Microorganisms*, 7 (9): 314.

Trang Le Vu Khanh, Le Nguyen Tan, Mai Le Thi, My Pham Thi, Trieu Ly Hai, 2020. *Selecting Bacillus* sp. Antagonist of fungal phytopathogen *Phytophthora infestans* causing tomato late blight. *Annual Research & Review in Biology* 35(12): 32-40.

Wang, L. T., Lee, F. L., Tai, C. J., & Kuo, H. P., 2008. *Bacillus velezensis* is a later heterotypic synonym of *Bacillus amyloliquefaciens*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58 (3): 671-675.

Yuan, J., Raza, W., Huang, Q., and Shen, Q., 2012b. The ultrasound-assisted extraction and identification of antifungal substances from *B. amyloliquefaciens* strain NJN-6 suppressing *Fusarium oxysporum*. *J. Basic Microbiol.*, 52: 721-730.

## Evaluation of inhibitory efficiency of *Bacillus velezensis* against fungal pathogen *Phytophthora* sp. causing late blight on tomato

Le Vu Khanh Trang, Le Thi Mai,  
Vo Luong Y Nhi, Huynh Thi Ngoc Lan

### Abstract

*Bacillus velezensis* has been paid much attention by researchers based on the potential application to prevent plant disease and increase crop yields. This study was performed to evaluate the ability to inhibit the growth of *Phytophthora* sp. causing late blight on tomato by different ingredients in *B. velezensis* culture medium with the aim of developing and diversifying biological control products. The results showed that the inhibitory efficiency against fungal pathogen *Phytophthora* sp. was observed at all components of *B. velezensis* culture medium, including biomass, extracellular fluid, extracellular enzymes and non-enzyme metabolites. Among them, the highest inhibitory efficiency was recorded at the biomass and extracellular fluid, making up 84.44% and 80%, respectively after 5 days. The inhibition of mycelial growth of the extracellular enzymes (72.59%) was 1.6 times higher than extracellular non-enzyme compounds (45.18%). The promising antagonistic activity demonstrated in this study will contribute to the diversification and improvement of the quality of biological control products *Bacillus velezensis* in Vietnam.

**Keywords:** *B. velezensis*, inhibitory efficiency, *Phytophthora* sp., late blight, tomato

Ngày nhận bài: 18/12/2020

Ngày phản biện: 27/12/2020

Người phản biện: TS. Đoàn Thị Thanh

Ngày duyệt đăng: 29/01/2021

## NGHIÊN CỨU XỬ LÝ KIỂM DỊCH THỰC VẬT RUỒI ĐỤC QUẢ PHƯƠNG ĐÔNG (*Bactrocera dorsalis*) TRÊN QUẢ VÀI TƯƠI BẰNG BIỆN PHÁP XÔNG HƠI METHYL BROMIDE

Lê Nhật Thành<sup>1</sup>, Hoàng Kim Thoa<sup>2</sup>, Hà Thanh Hương<sup>3</sup>, Nguyễn Viết Hải<sup>1</sup>,  
Hồ Thị Xuân Hương<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Thanh Hiền<sup>4</sup>, Lê Sơn Hà<sup>3</sup>,  
Nguyễn Mạnh Hiếu<sup>5</sup>, Nguyễn Quang Hiếu<sup>3</sup>, Nguyễn Thị Thu Hương<sup>3</sup>

### TÓM TẮT

Kết quả kiểm tra mức độ mẫn cảm cho thấy pha trứng trưởng thành của ruồi đục quả phương đông có sức chống chịu cao hơn so với pha sâu non (tuổi 1, 2 và 3) và kết quả thí nghiệm xác định tỷ lệ chết khẳng định rằng tất cả 42.000 cá thể trứng trưởng thành của *B. dorsalis* đã chết hoàn toàn sau xông hơi bằng Methyl bromide (CH<sub>3</sub>Br) ở liều 32 g/m<sup>3</sup>/2 h. Trong thí nghiệm quy mô lớn, xông hơi quả vải tươi bằng Methyl bromide đạt hiệu quả xử lý kiểm dịch thực vật ở liều lượng 32 g/m<sup>3</sup>/2 h với kích thước hộp carton (39 cm × 28,5 cm × 10,5 cm), khối lượng 5 kg/hộp và thể tích hàng hóa chiếm 70% thể tích buồng xử lý, nhiệt độ buồng xử lý được duy trì trong khoảng 27 - 30°C trong suốt thời gian xử lý.

**Từ khóa:** Quả vải tươi, ruồi đục quả Phương Đông (*Bactrocera dorsalis*), xử lý kiểm dịch, xông hơi methyl bromide

<sup>1</sup> Trung tâm Kiểm dịch thực vật Sau nhập khẩu I, Cục Bảo vệ thực vật

<sup>2</sup> Trung tâm Giám định Kiểm dịch thực vật, Cục Bảo vệ thực vật; <sup>3</sup> Cục Bảo vệ thực vật

<sup>4</sup> Viện Bảo vệ thực vật; <sup>5</sup> Viện Cơ điện Nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch