

NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG DỊCH NUÔI CÂY *BACILLUS VEZELENSIS* ĐỂ KIỂM SOÁT NẤM *FUSARIUM* GÂY BỆNH CHẾT HÉO TRÊN CÂY DƯA LƯỚI

Trần Ngọc Hùng¹

Ngày nhận bài: 27/11/2020; Ngày phản biện thông qua: 15/12/2020; Ngày duyệt đăng: 15/01/2021

TÓM TẮT

Fusarium là tác nhân phổ biến gây ra bệnh thối rễ trên nhiều loại cây trồng khác nhau. Nghiên cứu đã phân lập được ba chủng nấm *Fusarium* có hoạt lực gây bệnh cao từ rễ của cây rau cải, cây dưa lưới và cây cà chua bị bệnh. Trong đó, chủng nấm *Fusarium* F03 gây bệnh chết héo trên cây dưa lưới bị ức chế mạnh bởi dịch nuôi cấy vi khuẩn *Bacillus velezensis*. Dịch nuôi cấy *Bacillus velezensis* trên môi trường potato – glucose (PG) sau 05 ngày có đường kính vòng kháng nấm đạt 9,0 mm và hiệu quả ổn định trong 06 tháng. Hoạt chất kháng nấm thu được ở phương pháp tủa với ethanol 50% và thời gian kết tủa 60 phút cho hiệu quả kháng nấm không thay đổi so với dịch nuôi cấy gốc. Dịch nuôi cấy *Bacillus velezensis* làm giảm 66,7% tỷ lệ cây chết héo so với đối chứng ở thử nghiệm trên cây dưa lưới con.

Từ khóa: *Bacillus velezensis*, cây dưa lưới, *Fusarium*

1. MỞ ĐẦU

Nấm *Fusarium* là tác nhân phổ biến gây bệnh héo trên nhiều loại cây trồng khác nhau. Trên các cây rau ngắn ngày và các loại cây trồng dây leo họ bầu bí, nấm xâm nhập vào hệ thống mạch rễ làm cho cây trồng còi cọc, vàng lá, chậm phát triển, gây thiệt hại không nhỏ cho các nhà vườn. Trong một số trường hợp, nấm *Fusarium* có thể là một tác nhân cơ hội, gây hại nghiêm trọng cho hệ rễ của nhiều loại cây trồng khi kết hợp với nhiều tác nhân khác như tuyến trùng, các loài nấm như *Rhizoctonia*, *Phytophthora*, *Pythium*. Trên cây dưa lưới, nấm *Fusarium* gây bệnh héo rũ, chạy dây, bệnh lở cổ rễ ở cả giai đoạn cây con và cây trưởng thành. Nếu giá thể trồng không được xử lý đúng cách, bào tử nấm bệnh có thể tồn tại trong thời gian dài và gây thiệt hại nặng cho các hộ trồng dưa lưới (Hội nông dân tỉnh Đồng Nai, 2017). Theo phương pháp truyền thống, để phòng trừ hiệu quả các bệnh trên rễ, hầu hết các trang trại đều sử dụng các loại thuốc diệt nấm hóa học. Tuy nhiên hiện nay, xu hướng tiêu dùng và canh tác nông nghiệp hữu cơ ngày càng được quan tâm và đầu tư mở rộng. Một số trang trại sử dụng các chủng vi sinh hữu hiệu như *Trichoderma*, *Bacillus* và xạ khuẩn để xử lý giá thể, đất trồng kết hợp với các biện pháp canh tác cũng đã đem lại kết quả rất tốt. Trong đó, vi khuẩn *Bacillus velezensis*, một loài thuộc nhóm *Bacillus subtilis* mới được phân loại gần đây, cho thấy nhiều ưu điểm trong việc kiểm soát các loài nấm bệnh hại cây trồng (Rooney và cộng sự, 2009). Ở Việt Nam, những nghiên cứu sử dụng biện pháp sinh học để kiểm soát bệnh trên cây trồng chủ yếu tập trung vào xạ khuẩn, nhóm nấm đối kháng và một số loài thuộc chi *Bacillus*. Một số nghiên cứu

liên quan có thể kể đến như Trần Thị Thu Thủy đã sàng lọc được một chủng *Bacillus megaterium* và ba chủng *Bacillus pumilus* từ 45 chủng ban đầu có khả năng kiểm soát nấm *Fusarium moniliforme* gây bệnh lúa von (Trần Thị Thu Thủy và cộng sự, 2014); nghiên cứu của Trịnh Thành Trung đã cho thấy 15 chủng vi khuẩn *Bacillus velezensis* phân lập từ các vùng sinh thái khác nhau có khả năng kháng nhiều loại nấm bệnh khác nhau như *Fusarium oxysporum*, *Sclerotium hydrophilum*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora capsici* và vi khuẩn gây bệnh bạc lá *Xanthomonas oryzae* (Trịnh Thành Trung và cộng sự, 2017). Những nghiên cứu thực hiện trên dòng vi khuẩn *Bacillus velezensis* chưa nhiều, đặc biệt là tìm hiểu về các đặc tính của hoạt chất kháng nấm *Fusarium*. Trong nghiên cứu này, các chủng *Fusarium* phân lập được từ một số loại cây trồng sẽ được đánh giá tính nhạy cảm với dịch nuôi cấy của *Bacillus velezensis* trên các loại môi trường và thời gian nuôi khác nhau; dịch nuôi cấy tiếp tục được tinh sạch sơ bộ và đánh giá hiệu quả kháng nấm; nghiên cứu cũng thử nghiệm khả năng sử dụng dịch nuôi cấy này để kiểm soát nấm *Fusarium* gây ra bệnh chết héo trên cây dưa lưới con trong điều kiện phòng thí nghiệm.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cây rau màu bị thối rễ: bao gồm cây rau cải, cây cà chua và cây dưa lưới thu nhận từ các nhà vườn trồng rau theo phương pháp truyền thống trên địa bàn thành phố Thủ Dầu Một, tỉnh Bình Dương.

Chủng *Bacillus velezensis*: được phân lập và làm thuần từ môi trường phòng thí nghiệm, do

¹Trường Đại học Thủ Dầu Một;

Tác giả liên hệ: Trần Ngọc Hùng; ĐT: (+84) 918 537023; Email: hungtngoc@tdmu.edu.vn

phòng thí nghiệm Sinh học trường đại học Thủ Dầu Một cung cấp.

Môi trường potato glucose (PG): khoai tây 200 g/L, đun sôi 30 phút thu dịch chiết; glucose 50 g/L

Môi trường giá đậu: giá đậu 200 g/L, đun sôi 30 phút thu dịch chiết, pepton 10 g/L; glucose 30 g/L

Môi trường cao thịt - pepton: cao thịt 5 g/L; pepton 10 g/L; NaCl 5 g/L; pH: 7,0 – 7,2

Môi trường LB: pepton 10 g/L; cao nấm men 5 g/L; NaCl 10 g/L; pH: 7,0

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập nấm *Fusarium sp.* gây bệnh thối rễ Phân lập nấm *Fusarium sp.*

Rễ cây cải, cây cà chua, cây dưa lưới bị bệnh héo vàng được rửa sạch đất; cắt rễ thành các mẫu nhỏ rồi đặt lên môi trường thạch nước cất WA (agar 15 g/ lít). Ủ ở nhiệt độ phòng (~30°C) cho đến khi tơ nấm xuất hiện; cắt các khối thạch chứa tơ nấm chuyển sang môi trường PGA. Dựa theo khóa phân loại của Nguyễn Lâm Dũng, các chủng nấm có bào tử hình thuyền, có 3 – 4 vách ngăn được tiếp tục làm thuần trên môi trường PGA. Các đặc điểm phát triển, hình dạng, màu sắc của vòng tăng trưởng và bào tử nấm trên môi trường PGA được ghi nhận.

Lây bệnh nhân tạo

Các cây dưa lưới, cây rau cải, cây cà chua con có 2 cặp lá được chuyển vào các chậu để gây bệnh nhân tạo. Đất trồng được hấp diệt trùng để loại bỏ các tác nhân vi sinh. Bổ sung bào tử các chủng nấm *Fusarium* tương ứng vào các chậu thí nghiệm với tỷ lệ 10⁵ bào tử/ g đất. Các chậu đối chứng không gây nhiễm với nấm bệnh *Fusarium*. Đặt các chậu cây trong nhà lưới, tưới phun sương định kỳ. Hằng tuần, quan sát, ghi nhận các triệu chứng của bệnh chết héo với biểu hiện tương tự như các mẫu bệnh dùng để phân lập (Lester và cộng sự, 2009). Chọn chủng nấm *Fusarium* có tỷ lệ gây bệnh trên cây chủ cao để tiến hành các thử nghiệm tiếp theo.

2.2.2. Đánh giá khả năng kháng *Fusarium sp.* của dịch nuôi cấy *Bacillus velezensis*

Các chủng nấm bệnh *Fusarium* được cấy điem vào các đĩa petri chứa môi trường PGA. Khi vòng tăng trưởng của nấm đạt khoảng 02 cm; khoan các lỗ thạch có đường kính 0,5 cm ở 04 phía của vòng tăng trưởng nấm, cách khoảng 1,5 cm. 0,1mL dịch nuôi cấy vi khuẩn *Bacillus velezensis* sẽ được bơm vào giếng để thực hiện thí nghiệm. Lỗ thạch đối chứng chứa 0,1 mL môi trường vô trùng không cấy vi khuẩn (Trịnh Thành Trung và cộng sự, 2017).

Dịch nuôi cấy được chuẩn bị như sau: vi khuẩn *Bacillus velezensis* được nuôi cấy trên môi trường

cao thịt – pepton; tốc độ lắc 120 vòng/ phút, nhiệt độ 35°C trong thời gian 03 ngày; ly tâm thu dịch nuôi cấy ở tốc độ 10.000 vòng/ phút trong thời gian 10 phút.

Sau khi bổ sung dịch nuôi cấy, các đĩa được ủ ở nhiệt độ phòng (30°C) trong thời gian 24 giờ rồi đo khoảng cách (r) từ mép giếng đến đường kính vòng tăng trưởng của nấm *Fusarium*. Đường kính vòng kháng nấm (D) được xác định theo công thức: $D (mm) = 2 \times r$. Chọn chủng nấm *Fusarium* có D lớn nhất để tiến hành các thử nghiệm tiếp theo.

2.2.3. Ảnh hưởng của một số yếu tố đến khả năng kháng *Fusarium* của dịch nuôi cấy *Bacillus velezensis*

Ảnh hưởng của môi trường và thời gian nuôi cấy

Vi khuẩn *Bacillus velezensis* được cấy trên các môi trường lỏng khác nhau: môi trường cao thịt – pepton; môi trường giá đậu; môi trường PGA; môi trường LB; tốc độ lắc 120 vòng/ phút, nhiệt độ 35°C. Sau các khoảng thời gian 02 ngày, 03 ngày, 04 ngày và 05 ngày, ly tâm thu dịch nuôi cấy rồi bổ sung 0,1 mL vào các giếng. Ủ ở nhiệt độ phòng (30°C) trong thời gian 24 giờ rồi xác định đường kính vòng kháng nấm của các nghiệm thức. Chọn nghiệm thức có đường kính vòng kháng *Fusarium* lớn nhất để tiến hành các thử nghiệm tiếp theo.

Độ bền của hoạt chất kháng *Fusarium F03* thu từ môi trường nuôi cấy *Bacillus velezensis*

Chủng vi khuẩn *Bacillus velezensis* được nuôi cấy lắc trên môi trường và thời gian thích hợp đã chọn từ thí nghiệm trước. Ly tâm thu dịch nuôi cấy và bảo quản ở nhiệt độ 05°C. Xác định khả năng kháng *Fusarium* của dịch nuôi cấy sau các khoảng thời gian 0 tháng, 01 tháng, 03 tháng và 06 tháng bảo quản.

2.2.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ ethanol và thời gian kết tủa lên khả năng thu nhận hoạt chất kháng *Fusarium F03*

Chủng *Bacillus velezensis* được nuôi cấy trên môi trường giá đậu trong thời gian 03 ngày; ly tâm thu dịch nuôi cấy ở tốc độ 10.000 vòng/ phút trong thời gian 10 phút; thu nhận hoạt chất kháng nấm bằng cách bổ sung ethanol 99,9% với tỷ lệ từ 50%; 55%; 60%; 65%; 70%; 75%; 80% và 85%, thời gian kết tủa thay đổi từ 30; 60 và 90 phút. Ly tâm thu kết tủa ở tốc độ 10.000 vòng/ phút trong thời gian 10 phút rồi tiến hành đánh giá hoạt tính kháng khuẩn bằng phương pháp đục lỗ thạch. Chọn điều kiện kết tủa cho hiệu quả thu nhận hoạt chất kháng *Fusarium F03* tốt nhất.

2.2.5. Khả năng kiểm soát nấm *Fusarium F03* trên cây dưa lưới ở điều kiện thí nghiệm

Cây dưa lưới có 02 lá non được sử dụng cho thí

nghiệm, bao gồm 03 nghiệm thức (NT):

NT 1: nghiệm thức đối chứng, gồm 24 cây dưa lưới không xử lý nấm bệnh.

NT 2: gồm 24 cây dưa lưới, xử lý nấm *Fusarium* F03 với tỷ lệ $3,5 \times 10^6$ bào tử/ chậu.

NT 3: gồm 24 cây dưa lưới, xử lý nấm *Fusarium* F03 với tỷ lệ $3,5 \times 10^6$ bào tử/ chậu; 0,1 mL dịch ly trích/ chậu.

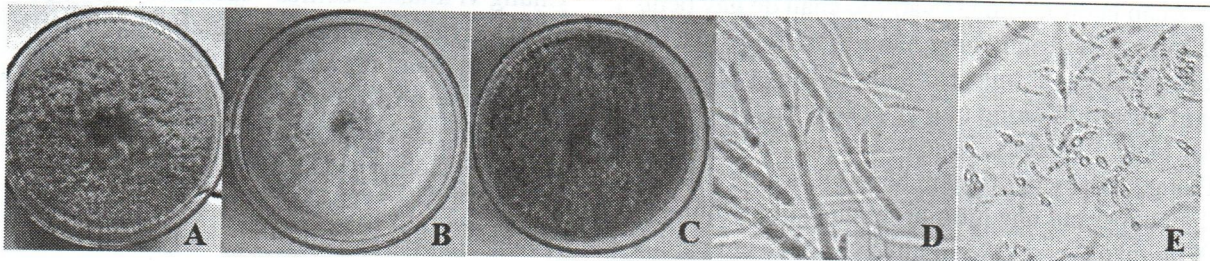
Đánh giá tỷ lệ cây có biểu hiện bệnh chết héo ở các nghiệm thức sau 07 ngày, 14 ngày và 21 ngày.

2.2.6. Xử lý thống kê

Các thí nghiệm được thực hiện lặp lại 03 lần.

Bảng 1. Đặc điểm các chủng nấm *Fusarium* sp. phân lập được

Ký hiệu chủng	Nguồn phân lập	Đặc điểm
F 01	Rễ rau cải	Nấm phát triển mạnh; đường kính vòng tăng trưởng đạt 8,5 cm sau 04 ngày nuôi cấy trên môi trường PGA; hệ sợi ban đầu màu trắng, sau 07 ngày chuyển thành màu nâu nhạt; bào tử hình thuyền có vách ngăn đặc trưng của chi nấm <i>Fusarium</i> .
F 03	Rễ cây dưa lưới	Đường kính vòng tăng trưởng của nấm đạt $8 \pm 0,3$ cm sau 04 ngày nuôi cấy trên môi trường PGA; hệ sợi ban đầu màu trắng sáng, sau 07 ngày chuyển thành màu trắng ngà; bào tử hình thuyền cong nhẹ, có vách ngăn.
F 05	Rễ cà chua	Nấm phát triển mạnh; đường kính vòng tăng trưởng đạt $8 \pm 0,3$ cm sau 04 ngày nuôi cấy trên môi trường PGA; hệ sợi màu trắng ngà, sau 07 ngày chuyển thành màu nâu đậm; bào tử hình thuyền cong, có vách ngăn khi già.



Hình 1. Khuẩn lạc nấm và bào tử của các chủng *Fusarium* trên môi trường PGA.

A) Khuẩn lạc chủng F01 sau 05 ngày; B) Khuẩn lạc chủng F03 sau 05 ngày; C) Khuẩn lạc chủng F05 sau 05 ngày; D) Bào tử chủng F03 sau 03 ngày quan sát ở vật kính 40X; E) Bào tử chủng F03 sau 15 ngày quan sát ở vật kính 40X.

Các chủng nấm *Fusarium* phân lập được có sự đa dạng về màu sắc hệ sợi trong khi hình thái bào tử tương đối đồng đều với dạng hình thuyền cong nhẹ hai đầu (Hình 1). Trên môi trường PGA, các chủng nấm phát triển nhanh với đường kính vòng tăng trưởng đạt 8 - 8,5 cm sau 04 ngày, bào tử các chủng hình thành sau khoảng 03 ngày. Ban đầu, vách ngăn của bào tử nấm *Fusarium* F03 chưa rõ ràng (Hình 1D). Càng về già, bào tử nấm cong nhiều hơn, các vách ngăn xuất hiện rõ tạo thành các đốt, một số đốt của bào tử phình lên với vách ngăn dày hơn (Hình 1E), đây có thể là yếu tố giúp

Phân tích ANOVA bằng phần mềm Stargraphic Centurion 15.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập nấm *Fusarium* sp. gây bệnh thối rễ

Từ 03 mẫu rễ cây rau màu bị bệnh, bước đầu đã phân lập được 07 chủng nấm nghi ngờ là *Fusarium* sp. Dựa theo tốc độ tăng trưởng, màu sắc hệ sợi và cấu trúc bào tử khi nuôi cấy trên môi trường PGA, kết quả phân lập thu được 03 chủng *Fusarium*, các chủng vì nấm được kí hiệu và mô tả các đặc điểm như Bảng 1.

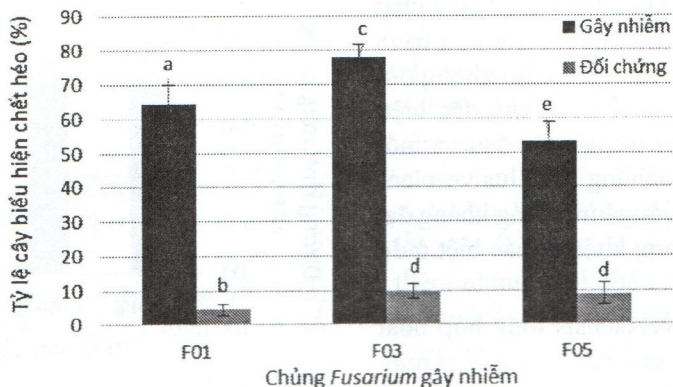
cho bào tử *Fusarium* tồn tại lâu hơn trong môi trường tự nhiên.

3.2. Gây bệnh nhân tạo với các chủng *Fusarium* phân lập được

Các chủng nấm *Fusarium* được nhân giống trên môi trường bán rắn, thu nhận bào tử và bổ sung vào các loại cây trồng tương ứng với tỷ lệ 10^5 bào tử/ g đất. Khả năng gây bệnh của các chủng nấm được thể hiện trong Hình 2. Các chủng nấm *Fusarium* phân lập được đều có khả năng gây bệnh trên các cây chủ với các mức độ khác nhau. Trên cây rau cải ngồng, nghiệm thức gây nhiễm với chủng

Fusarium F01 có biểu hiện chết héo với tỷ lệ 64,4±5,7 %. Trên cây dưa lưới con, tỷ lệ biểu hiện bệnh chết héo là 77,8±3,9 % khi gây nhiễm với Fusarium F03. Trong khi đó, khả năng gây bệnh

của chủng Fusarium F05 trên cây cà chua chỉ đạt 53,3±5,4 %. Các nghiệm thức đối chứng trên các cây rau cải, dưa lưới và cà chua có tỷ lệ biểu hiện bệnh chết héo lần lượt đạt 4,4 %, 9,7 % và 8,9 %.



Hình 2. Tỷ lệ gây bệnh chết héo của các chủng Fusarium trên các cây chủ

3.3. Đánh giá khả năng kháng Fusarium sp. của dịch nuôi cấy Bacillus velezensis

Các chủng nấm Fusarium được nuôi cấy trên môi trường PGA trong 02 ngày. Dịch nuôi cấy Bacillus velezensis được ly trích và bổ sung vào các giếng, đường kính vòng kháng các chủng Fusarium được thể hiện trong Hình 3.

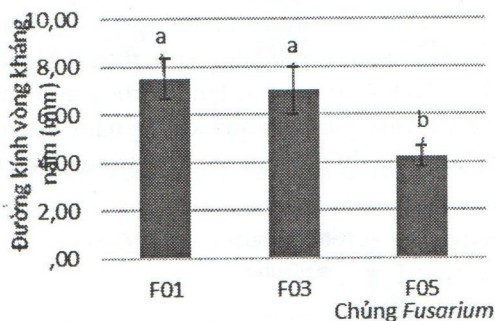
môi trường cao thịt – pepton có hiệu quả kháng các chủng Fusarium khác nhau. Đường kính vòng kháng đối với chủng Fusarium F01 và F03 không khác biệt đáng kể, đạt lần lượt 7,5 và 7,0 mm. Chủng Bacillus velezensis trong nghiên cứu sinh hoạt chất kháng nấm Fusarium F03 với đường kính vòng phân giải lớn (9,0 mm sau 05 ngày nuôi cấy), tương đương với kết quả mà tác giả Trịnh Thành Trung và cộng sự (2017) đã công bố.

Với tỷ lệ gây bệnh cao trên cây dưa lưới, chủng Fusarium F03 được sử dụng cho các thử nghiệm tiếp theo.

3.4. Ảnh hưởng của một số yếu tố đến khả năng kháng Fusarium của dịch nuôi cấy Bacillus velezensis

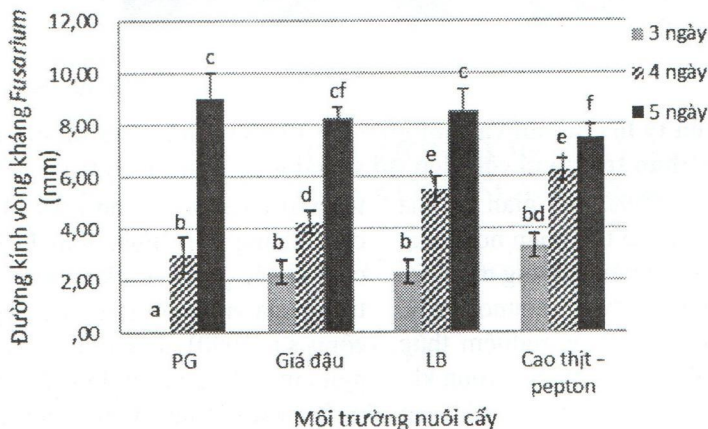
Ảnh hưởng của môi trường và thời gian nuôi cấy

Khả năng sinh hoạt chất kháng nấm Fusarium F03 của chủng Bacillus velezensis được khảo sát trên 4 loại môi trường với các mốc thời gian nuôi cấy khác nhau. Đường kính vòng kháng ở các nghiệm thức được thể hiện trong Hình 4.



Hình 3. Đường kính vòng kháng các chủng Fusarium của dịch nuôi cấy vi khuẩn Bacillus velezensis.

Dịch nuôi cấy vi khuẩn Bacillus velezensis trên



Hình 4. Đường kính vòng kháng Fusarium của dịch nuôi cấy vi khuẩn Bacillus velezensis trên các môi trường và thời gian nuôi khác nhau. Các ký tự khác nhau trên các cột biểu thị mức độ sai khác ở độ tin cậy 95% (P<0,05).

Chủng *Bacillus velezensis* sinh hoạt chất kháng *Fusarium* F03 tăng dần theo thời gian nuôi cấy từ 03 đến 05 ngày. Trong khi đó, thành phần môi trường không ảnh hưởng nhiều đến khả năng sinh hoạt chất kháng nấm. Điều này cho thấy hoạt chất được sản sinh một cách tự nhiên trong quá trình sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn, không đòi hỏi sự có mặt của các yếu tố cảm ứng đặc biệt. Trên môi trường PG, môi trường giá đậu và môi trường LB, dịch nuôi cấy chủng *Bacillus velezensis* sau 05 ngày nuôi có đường kính vòng kháng đạt lần lượt 9,0; 8,3 và 8,5 mm, không khác biệt ở độ tin cậy 95%.

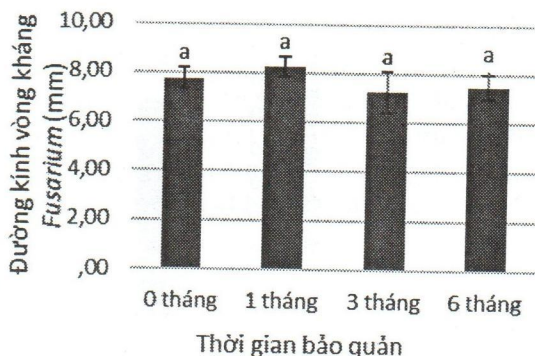
Việc chủng *Bacillus velezensis* tổng hợp hoạt chất kháng nấm với hiệu quả cao trên môi trường potato – glucose cũng giúp cho quá trình sản xuất được thuận tiện và có chi phí thấp. Do có chi phí nguyên liệu thấp nhất trong ba môi trường nuôi cấy, môi trường PG được sử dụng để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

Độ bền của hoạt chất kháng Fusarium F03 thu từ môi trường nuôi cấy Bacillus velezensis

Dịch nuôi cấy chủng *Bacillus velezensis* trên môi trường PG sau khi loại bỏ tế bào được bảo quản ở nhiệt độ 05°C. Khả năng kháng nấm *Fusarium* F03 của dịch chiết được đánh giá lại sau 01 tháng, 03 tháng và 06 tháng bảo quản.

Ở nhiệt độ bảo quản 05°C, khả năng kháng nấm của hoạt chất không thay đổi sau 06 tháng bảo

quản (Hình 5), đạt $7,5 \pm 0,5$ mm, không khác biệt so với trước khi bảo quản ở độ tin cậy 95%. Kết quả này cho thấy hoạt chất kháng nấm từ *Bacillus velezensis* có nhiều tiềm năng để thương mại hóa.

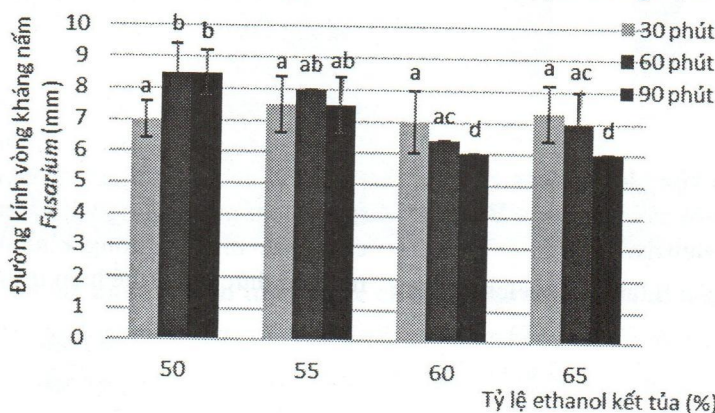


Hình 5. Ảnh hưởng của thời gian bảo quản đến khả năng kháng nấm Fusarium F 03 của dịch nuôi cấy vi khuẩn Bacillus velezensis.

Các ký tự khác nhau trên mỗi cột biểu thị sự sai khác ở mức độ tin cậy 95% ($P < 0,05$).

3.5. Ảnh hưởng của tỷ lệ ethanol và thời gian kết tủa lên khả năng thu nhận hoạt chất kháng nấm Fusarium F03

Hoạt chất kháng nấm từ dịch nuôi cấy chủng *Bacillus velezensis* được thử nghiệm tách chiết bằng việc kết tủa trong ethanol ở các mốc thời gian khác nhau. Kết tủa được hòa tan lại trong nước cất vô trùng và đánh giá hiệu quả kháng nấm *Fusarium* F03. Kết quả thí nghiệm thể hiện trong Hình 6.



Hình 6. Ảnh hưởng của tỷ lệ ethanol và thời gian kết tủa lên khả năng kháng nấm Fusarium F 03. Các ký tự khác nhau trên mỗi cột biểu thị sự sai khác ở mức độ tin cậy 95% ($P < 0,05$).

Khi kết tủa với ethanol 50%, thời gian kết tủa từ 60 đến 90 phút cho hiệu quả thu nhận hoạt chất tăng đáng kể, với đường kính vòng kháng nấm của hoạt chất đều đạt 8,5 mm. Ở tỷ lệ ethanol 55%, đường kính vòng kháng nấm ở các nghiệm thức không có sự khác biệt ở độ tin cậy 95%. Trong khi đó, khả năng thu nhận hoạt chất lại có xu hướng giảm dần theo thời gian kết tủa khi sử dụng ethanol ở các nồng độ cao hơn.

Kết quả tinh sạch sơ bộ hoạt chất bằng cách kết

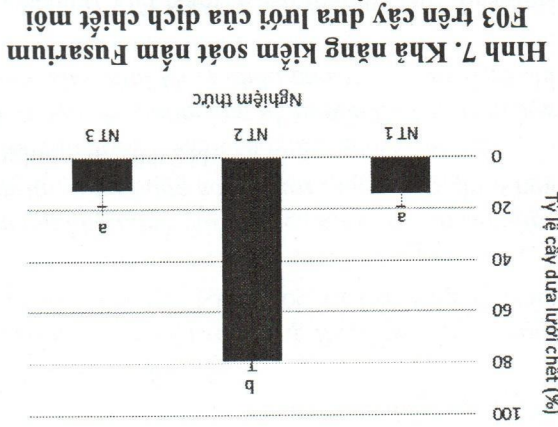
tủa với ethanol đã cho thấy nhiều khả năng hoạt chất kháng nấm *Fusarium* F03 thu được có bản chất là các polypeptide, nhóm các kháng sinh đặc trưng của vi khuẩn *Bacillus* (Nguyễn Đình Lạc và cộng sự, 1990). Tuy nhiên, cần tiến hành các thí nghiệm tinh sạch sâu hơn để có thể cô lập và xác định được các đặc điểm phân tử của hoạt chất.

3.6. Khả năng kiểm soát nấm Fusarium F03 trên cây dưa lưới ở điều kiện thí nghiệm

Dịch nuôi cấy chủng *Bacillus velezensis* trên

môi trường PG sau khi loại bỏ tế bào được pha loãng 50 lần trong nước cất rồi thử nghiệm khả năng kiểm soát Fusarium F03 trên cây dưa lưới con. Sau thời gian 02 tuần, tỷ lệ cây dưa lưới có biểu hiện chết héo được thể hiện trong Hình 7.

Dưa lưới ở nghiệm thức xử lý nấm bệnh Fusarium F03 (NT2) có tỷ lệ biểu hiện bệnh chết héo lên đến 79,2±3,4% trong khi nghiệm thức có xử lý với dịch nuôi cấy chủng *Bacillus velezensis* (NT3) tỷ lệ cây chết chỉ 12,5±5,9%, không khác biệt so với nghiệm thức đối chứng (NT1) ở độ tin cậy 95%, với tỷ lệ cây chết đạt 13,9±5,2%. Trong số các cây dưa lưới biểu hiện bệnh do xử lý Fusarium F03, cũng được ghi nhận ở tất cả các cây dưa lưới có xử lý dịch nuôi cấy chủng *Bacillus velezensis*.



Hình 7. Khả năng kiểm soát nấm Fusarium F03 trên cây dưa lưới của dịch chiết môi trường nuôi cấy chủng *Bacillus velezensis*.
 Kết quả thử nghiệm trên cây dưa lưới con bị gây nhiễm với nấm Fusarium F03 cho thấy dịch nuôi cấy có khả năng kiểm soát bệnh chết héo trên cây lên đến 66,7% so với đối chứng, đây là một kết quả tương đối cao đối với một biện pháp kiểm soát sinh học. Ngoài ra, những nghiên cứu trước

Nghiên cứu đã phân lập được 03 chủng Fusarium có khả năng gây bệnh chết héo trên cây rau cải, cây dưa lưới và cây cà chua. Trong đó, chủng nấm Fusarium F03 bị ức chế mạnh bởi dịch nuôi cấy vi khuẩn *Bacillus velezensis*. Trên môi trường PG trong 05 ngày nuôi cấy, dịch nuôi cấy *Bacillus velezensis* có đường kính vòng kháng nấm đạt 9,0 mm và 0n định khả năng kháng nấm trong 6 tháng. Hoạt chất kháng nấm được thu nhận hiệu quả nhất khi kết tủa với ethanol ở nồng độ 50% trong thời gian 60 phút. Thử nghiệm trên cây dưa lưới con cho thấy dịch nuôi cấy *Bacillus velezensis* làm giảm 66,7% tỷ lệ cây chết héo so với đối chứng.

LỜI CẢM ƠN

Tác giả xin gửi lời cảm ơn đến Trường Đại học Thủ Dầu Một đã hỗ trợ kinh phí và trang thiết bị để thực hiện nghiên cứu này; xin cảm ơn sự hỗ trợ trong quá trình thí nghiệm của các bạn sinh viên ngành Sinh học ứng dụng, bao gồm: Phan Ngọc Minh, Nguyễn Nhật Hào, Lý Đoàn Hồng Vương, Nguyễn Thị Thanh Hằng, Biên Phúc Hậu và Nguyễn Thị Ngọc Ly.

STUDY ON USING THE CULTURED SOLUTION OF *Bacillus velezensis* TO CONTROL Fusarium CAUSED THE WITHERED DEATH DISEASE ON THE CANTALOUPE

Received Date: 27/11/2020; Revised Date: 15/12/2020; Accepted for Publication: 15/01/2021
 Tran Ngoc Hung²

SUMMARY

Fusarium is the commonly agent cause the rotten root disease on many kinds of crop plants. The research isolated three Fusarium strains have the high caused disease activity from the diseased root

²The Dan Moi University; Corresponding author: Tran Ngoc Hung; Tel: (+84) 918 537023; Email: hungngoc@tdmu.edu.vn

of the choy sum, the cantaloupe and the tomato. In which, the *Fusarium* F03 strain caused the withered death disease on the cantaloupe is inhibited highly by the cultured solution of *Bacillus velezensis*. The cultured solution of *Bacillus velezensis* on the potato – glucose (PG) medium for 5 days had the diameter of fungal inhibitive zone got 9.0 mm and its effectivity was stable for 6 months. The precipitate received at 50% ethanol for 60 minutes had the fungal inhibitive effect was not different from the cultural solution. The experiment on the young cantaloupe showed the cultural solution of *Bacillus velezensis* reduced 66.7% of the withered death rate as the control.

Keywords: *Bacillus velezensis*, cantaloupe, *Fusarium*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

- Nguyễn Lâm Dũng. (2019). *Vi sinh vật học, phần I: thế giới vi sinh vật*. Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, 331-332.
- Hội nông dân tỉnh Đồng Nai (2017). *Quy trình kỹ thuật và định mức kinh tế kỹ thuật trên cây dưa lưới*. Văn phòng UBND tỉnh Đồng Nai xuất bản, 6-7.
- Nguyễn Quang Huy (2012). *Phân lập các chủng Bacillus có hoạt tính tạo màng sinh vật (biofilm) và tác dụng kháng khuẩn của chúng*, Tạp chí sinh học, 1, 99-105.
- Nguyễn Đình Lạc và cộng sự (1990). *Nghiên cứu kỹ thuật sản xuất Bacitracin phục vụ chăn nuôi*. Đề tài cấp nhà nước, Mã số 52D – 01 – 16, Chương trình Công nghệ sinh học.
- Huỳnh Thị Cẩm Tiên và Hồ Việt Thế (2019). *Phân lập và định danh một số chủng Bacillus spp. có hoạt tính cao trong tầng đất mặt thu được từ tỉnh Bình Thuận*, Tạp chí Khoa học và Công nghệ Thực phẩm, 18(2), 48-62.
- Trần Thị Thu Thủy và cộng sự (2014). *Phân lập và đánh giá khả năng đối kháng của vi khuẩn Bacillus đối với nấm Fusarium moniliforme gây bệnh lúa von tại đồng bằng sông Cửu Long*, Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, Số chuyên đề: Nông nghiệp, 4, 204-211.
- Trịnh Thành Trung và cộng sự (2017). *Tiềm năng ứng dụng tạo chế phẩm làm phân bón hữu cơ sinh học từ các chủng Bacillus velezensis phân lập tại các vùng sinh thái khác nhau của Việt Nam*, Tạp chí Công nghệ Sinh học, 15(1), 169-179.
- Lester, W. B. & et al. (2009). *Cẩm nang chuẩn đoán cây bệnh ở Việt Nam*. Australian Centre for International Agricultural Research, ACIAR, 91-93.

Tài liệu tiếng nước ngoài

- Rooney, A. P. & et al. (2009). *Phylogeny and molecular taxonomy of the Bacillus subtilis species complex and description of Bacillus subtilis subsp. inaquosorum subsp. nov.*, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2429–2436, DOI 10.1099/ij.s.0.009126-0
- Mycology online, *Fusarium*, The University of Adelaide, ngày truy cập: 20 tháng 10 năm 2020, nguồn: <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/hyphomycetes/fusarium/#:~:text=The%20colour%20of%20the%20thallus,cell%20and%20pedicellate%20basal%20cell.>