

**PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN VI KHUẨN *Bacillus*  
CÓ KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG NẤM *Colletotrichum* sp.  
GÂY BỆNH THÁN THƯ TRÊN TRÁI BƯỞI NĂM ROI  
SAU THU HOẠCH TẠI THỊ XÃ BÌNH MINH,  
TỈNH VĨNH LONG**

**ISOLATION AND SELECTION OF *Bacillus* BACTERIA  
ANTAGONIZES THE FUNGUS *Colletotrichum* sp. CAUSING  
ANTHRACNOSE DISEASE ON POSTHARVEST POMELO  
“CULTIVAR NAM ROI” FRUITS IN BINH MINH COMMUNE,  
VINH LONG PROVINCE**

NGUYỄN THỊ HỒNG GÁM<sup>1,a</sup>, QUÁCH VĂN CAO THỊ<sup>1</sup>,  
NGUYỄN TRUNG TRỰC<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học SPKT Vĩnh Long

<sup>a</sup>Tác giả liên hệ: [trucnt@vlute.edu.vn](mailto:trucnt@vlute.edu.vn)

Nhận bài (Received): 30/6/2023; Phản biện (Reviewed): 06/7/2023; Chấp nhận (Accepted): 19/10/2023

**TÓM TẮT**

Nấm *Colletotrichum* sp. gây ảnh hưởng đến năng suất và chất lượng của trái bưởi Năm Roi. Nghiên cứu nhằm phân lập và tuyển chọn vi khuẩn *Bacillus* có khả năng đối kháng nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên trái bưởi Năm Roi sau thu hoạch ở thị xã Bình Minh, tỉnh Vĩnh Long. Kết quả đã phân lập được 9 chủng vi khuẩn *Bacillus* từ đất vùng rễ cây bưởi. Khả năng đối kháng của các chủng vi khuẩn *Bacillus* đối với nấm *Colletotrichum* sp. được thực hiện bằng phương pháp đối kháng sợi nấm và ức chế bào tử. Kết quả nghiên cứu cho thấy có 8/9 chủng vi khuẩn *Bacillus* thể hiện khả năng kháng nấm bệnh, trong đó chủng BDB3\_TR thể hiện khả năng kháng nấm cao nhất với tỷ lệ đối kháng là 37,98%. Kết quả định danh cho thấy chủng vi khuẩn BDB3\_TR tương đồng 100% với chủng vi khuẩn *Bacillus thuringiensis*.

**Từ khóa:** Bệnh thán thư, đối kháng, *Colletotrichum* sp., trái bưởi, vi khuẩn *Bacillus*

**ABSTRACT**

*The fungus *Colletotrichum* sp. affects the yield and quality of Pomelo fruit “cultivar Nam Roi”. The study aimed to isolate and select *Bacillus* with the ability to antagonize the fungus *Colletotrichum* sp., which causes anthracnose disease in postharvest pomelo fruits “cultivar Nam Roi” in Binh Minh commune, Vinh Long province. As a result, nine strains of *Bacillus* were isolated from the rhizosphere soil of pomelo trees. The antagonistic activity of isolated *Bacillus* against *Colletotrichum* sp. was carried out by antagonistic mycelia and spore inhibition. The results showed that 8/9 strains of *Bacillus* showed inhibition against fungal*

diseases, of which strain BDB3\_TR showed the highest antagonism with an inhibitory rate of 37.98%. The identification results showed that the strain BDB3\_TR was 100% similar to *Bacillus thuringiensis*.

**Keywords:** antagonism, anthracnose disease, *Bacillus*, *Colletotrichum* sp., pomelo fruits

## 1. Mở đầu

Trái cây có múi (*Citrus* spp.) là một trong những loại trái cây được trồng rộng rãi trên toàn cầu nói chung và Việt Nam nói riêng [1]. Theo quy hoạch của Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, tính đến năm 2020 nước ta có diện tích trồng bưởi và cam cao nhất. Ở Đồng bằng sông Cửu Long và nhiều khu vực Châu Á, bưởi Năm Roi là một trong những loại cây ăn quả có chất lượng cao và được trồng phổ biến [2]. Trái bưởi mang lại nhiều giá trị kinh tế, đồng thời đáp ứng các nhu cầu dinh dưỡng của con người do giàu chất xơ, chất chống oxy hóa và các vi chất dinh dưỡng khác [3].

Bệnh thán thư (anthracnose) sau thu hoạch do nấm *Colletotrichum* sp. gây ra trên trái bưởi làm trái nhanh thối, ảnh hưởng lớn đến năng suất và chất lượng trái. Ngoài ra, bệnh thán thư còn ảnh hưởng đến giá trị kinh tế của trái bưởi [4].

Hiện nay, công tác quản lý và phòng trừ nấm bệnh đặc biệt là bệnh thán thư trên trái cây có múi sau thu hoạch đang gặp nhiều khó khăn và chưa thật sự mang lại hiệu quả. Để kiểm soát nấm bệnh thì phương pháp thường được sử dụng là thuốc diệt nấm [5]. Tuy nhiên, sử dụng thuốc hóa học trong thời gian dài và liên tục dẫn đến sự phát triển của các chủng nấm kháng thuốc [6]. Bên cạnh đó, thuốc hóa học còn có nguy cơ tiềm ẩn đối với sức khỏe con người và môi trường [7]. Do vậy, việc tìm phương pháp khác thay thế là cần thiết.

Phương pháp kiểm soát sinh học là một phương pháp lành mạnh và hiệu quả

về môi trường để giảm thiểu sâu bệnh và tác động sâu bệnh thông qua việc sử dụng các loài thiên địch, nấm hoặc các vi sinh vật khác gây trở ngại cho các loài dịch hại. Một số mầm bệnh được kiểm soát nhờ sử dụng các chất đối kháng có nguồn gốc từ vi sinh vật đã được chứng minh, trong đó có vi khuẩn *Bacillus* [8] [9]. Nhiều nghiên cứu cho thấy vi khuẩn *Bacillus* có khả năng đối kháng nấm gây bệnh thán thư trên trái dâu tây [10], óc chó [11], ớt [12], đu đủ [13], cây cà phê [14]...; Tuy nhiên, trên đối tượng bưởi Năm Roi thì chưa có nghiên cứu cụ thể. Vì vậy, nghiên cứu phân lập vi khuẩn *Bacillus* có khả năng đối kháng nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên trái bưởi sau thu hoạch là nền tảng cho việc sử dụng vi khuẩn *Bacillus* trong bảo quản trái bưởi sau thu hoạch.

## 2. Nội dung

### 2.1. Nguyên vật liệu

Vi khuẩn *Bacillus* được phân lập từ đất vùng rễ của cây bưởi tại 3 vườn bưởi khỏe không bị bệnh thán thư của 3 hộ ở thị xã Bình Minh, tỉnh Vĩnh Long. Mẫu đất được thu ngẫu nhiên từ 5 vị trí trong vườn, độ sâu khoảng 10-15 cm, mỗi vị trí từ 0,5 kg đến 1 kg, cho vào túi, ghi nhãn. Nấm *Colletotrichum* sp. được phân lập từ trái bưởi bị nhiễm bệnh thán thư tự nhiên. Mẫu vi khuẩn và nấm *Colletotrichum* sp. được thu tại các hộ trồng bưởi chuyên canh thị xã Bình Minh, tỉnh Vĩnh Long.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Phân lập vi khuẩn *Bacillus*

Vi khuẩn *Bacillus* được phân lập trên môi trường Nutrient Agar (NA: 5 g/L

pepton, 5 g/L natri chloride, 1,5 g/L beef extract, 1,5 g/L yeast extract, 18 g/L agar, pH 7,0). Trãi mẫu đất vào mâm đã được khử khuẩn xịt cồn và lau sạch, trộn đều các mẫu đất của cùng 1 vườn với nhau. Cân 10g đất đã trộn hòa tan với 90ml nước cất đã tiệt trùng. Cho hỗn hợp vào bình tam giác và lắc với chu kỳ 150 vòng/phút trong 30 phút.

Mẫu đất được tiếp tục ủ ở nhiệt độ 80°C trong 20 phút để loại bỏ tế bào sinh dưỡng. Pha loãng mẫu đến độ pha loãng  $10^{-6}$  bằng nước muối sinh lý 0,85%. Hút 100  $\mu$ L mẫu ở mỗi độ pha loãng, trãi mẫu trên đĩa petri có chứa môi trường NA, ủ đĩa ở 37°C trong 24 giờ. Tiến hành các bước tách rông nhiều lần để thu được các chủng vi khuẩn thuần [15].

### 2.2.2. Xác định đặc điểm sinh hóa của dòng vi khuẩn *Bacillus*

Xác định một số đặc điểm hình thái và sinh lí, sinh hóa cơ bản của vi khuẩn *Bacillus*: nhuộm Gram (Gram dương), nhuộm bào tử (có bào tử), khả năng oxidase (+), catalase (+) [16].

Chủng vi khuẩn *Bacillus* có khả năng ức chế nấm cao nhất sẽ được chọn để giải trình tự đoạn gen với cặp mồi 27F: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' và 1492R: 5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3'. Kết quả PCR sẽ được gửi giải trình tự tại công ty Macrogen, Hàn Quốc (www.macrogen.com).

### 2.2.3. Phương pháp phân lập nấm *Colletotrichum* sp.

Nấm bệnh được phân lập trên môi trường PDA (20 g D-glucose, 200 g khoai tây, 20 g agar, pH 7,0-7,2). Khử trùng bề mặt mẫu bằng nước cất và cồn 70°, mẫu bệnh được cắt thành dạng hình vuông kích

thước khoảng 1 cm<sup>2</sup>. Cho mẫu bệnh vào giữa đĩa petri có chứa môi trường PDA, ủ đĩa ở nhiệt độ 25-28°C trong 5-7 ngày. Khi sợi nấm phát triển trên đĩa thạch, tiếp tục cắt khối thạch có sợi nấm với kích thước khoảng 1 cm<sup>2</sup>, cấy chuyển sang đĩa có chứa môi trường PDA mới. Các bước trên được lặp lại cho đến khi sợi nấm phát triển thuần.

### 2.2.4. Khảo sát khả năng gây bệnh của nấm *Colletotrichum* sp. trên trái bưởi

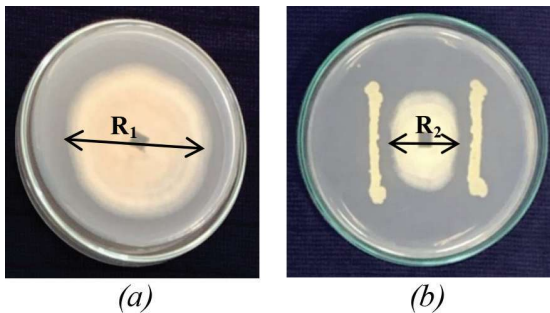
Trái bưởi được lấy nhiễm với mật số bào tử nấm *Colletotrichum* sp.  $10^6$  CFU/mL. Chọn ba trái bưởi không có dấu hiệu bị bệnh, không bị tổn thương về mặt cơ học, đồng đều về màu sắc và kích thước. Trái bưởi được rửa sạch dưới vòi nước chảy, được rửa thêm hai lần nước cất tiệt trùng và làm khô bằng bông gòn vô trùng. Mỗi trái bưởi được tạo bốn vết thương bằng tăm vô trùng (đường kính 2 mm), các vết thương cách đều nhau. Bào tử của nấm bệnh được lấy bằng cách: lấy bào tử nấm cho vào ống eppendorf có 500  $\mu$ L nước cất, tiến hành vortex để bào tử nấm bệnh phân tán đều, đếm mật số bào tử nấm và hiệu chỉnh về mật số  $10^6$  bào tử/mL. Dịch huyền phù được tiêm vào các vết thương vừa tạo (10 mL/vết thương). Mẫu đối chứng được tiêm nước cất vô trùng. Các mẫu sau khi lấy nhiễm được ủ kín ở độ ẩm 85%, 28°C và theo dõi vết bệnh trong 15 ngày [17].

### 2.2.5. Định danh nấm *Colletotrichum* sp.

Chủng nấm *Colletotrichum* sp. được định danh dựa trên đặc điểm hình thái sợi nấm, quan sát bào tử dưới kính hiển vi sau 5-7 ngày ủ và giải trình tự đoạn gen với cặp mồi ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3' và ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' [18].

### 2.2.6. Khảo sát khả năng đối kháng của vi khuẩn *Bacillus* với nấm *Colletotrichum* sp.

Phương pháp đối kháng sợi nấm được thực hiện theo nghiên cứu của Touré *et al.* (2004) [19]. Các bước thực hiện gồm: cắt khối nấm có diện tích khoảng 1 cm<sup>2</sup>, đặt ở giữa đĩa petri có chứa môi trường PDA. Sau 3-4 ngày sau cấy hai đường vi khuẩn song song, dài khoảng 2 cm cách nấm khoảng 5-10 mm (khối nấm nằm giữa). Đo đường kính nấm và ghi nhận kết quả mỗi ngày (Hình 1).



Hình 1. Cách đo đường kính đối kháng bằng phương pháp sợi nấm

(a) Đĩa đối chứng; (b) Đĩa có chủng vi khuẩn

Sau 5 ngày quan sát, hiệu suất ức chế sự phát triển của nấm được tính theo công thức:

$$I = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100$$

Trong đó: I: hiệu suất đối kháng của vi khuẩn (%); R<sub>1</sub>: đường kính của hệ sợi nấm đối chứng (cm); R<sub>2</sub>: đường kính của hệ sợi nấm trên đĩa có chủng vi khuẩn (cm)

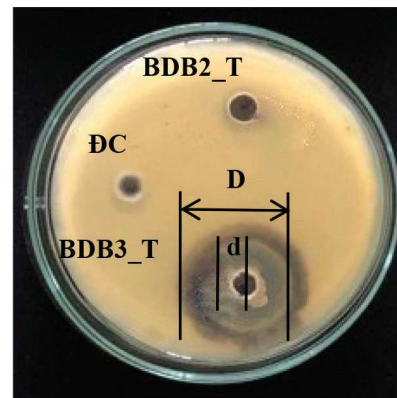
Phương pháp ức chế bào tử được thực hiện theo nghiên cứu của Dhanasekaran *et al.* (2012) [20]. Các bước thực hiện bao gồm: Vi khuẩn *Bacillus* được tăng sinh trong môi trường Nutrient Broth (NB: 5 g/L pepton, 5 g/L natri chloride, 1,5 g/L beef extract, 1,5 g/L yeast extract, pH 7,0) lắc với chu kỳ 200 vòng/phút, 30°C trong 48 giờ. Sau đó, dịch tăng sinh được ly tâm với tốc độ 10.000 vòng/phút, 4°C trong

10 phút. Bào tử của nấm bệnh được lấy bằng cách: lấy bào tử nấm cho vào ống eppendorf có 500 µL nước cất, tiến hành vortex để bào tử nấm bệnh phân tán đều. Sau đó, dùng micropipette hút 100 µL dịch nấm cho vào đĩa môi trường PDA, trải đều trên bề mặt thạch, mật số 10<sup>6</sup> bào tử/mL. Tạo 3 giếng (đường kính 8 mm) trên môi trường PDA đã có bào tử nấm. Hút 80 µL dịch trong tăng sinh của vi khuẩn *Bacillus* cho vào 2 giếng, giếng còn lại cho vào 80 µL dịch mẫu đối chứng, để khô hoàn toàn. Tiến hành quan sát, đo đường kính vòng vô nấm (d) và ghi nhận kết quả sau mỗi 24 giờ (Hình 2).

Sau 5 ngày quan sát, hoạt tính đối kháng được tính theo công thức:

$$\text{Kích thước vòng đối kháng} = D - d$$

Trong đó: D: đường kính vòng đối kháng (cm); d: đường kính lỗ thạch (cm), d=0,8 cm



Hình 2. Cách đo đường kính vòng đối kháng bằng phương pháp bào tử

### 2.2.7. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel và Minitab 20. Phân tích phương sai (ANOVA) một nhân tố và kiểm định LSD với độ tin cậy 95%. Kiểm tra mức độ tương đồng của chủng vi khuẩn *Bacillus* bằng cách sử dụng công cụ BLASTn trên cơ sở dữ liệu NCBI.



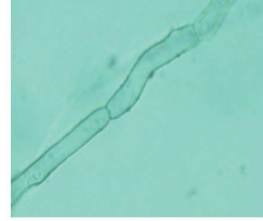
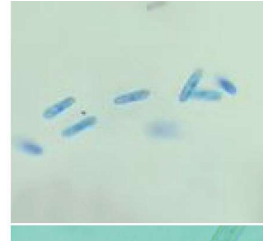
### 3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

#### 3.1. Kết quả phân lập, lây nhiễm và định danh nấm *Colletotrichum* sp. trên trái bưởi

B1



B2



(a)

(b)

(c)

(d)

**Hình 3. Chủng nấm B1, B2 trên môi trường PDA và bào tử của chúng**  
(a) Biểu hiện nhiễm bệnh thối thối trên trái bưởi; (b) Mặt trước của nấm  
(c) Mặt sau của nấm; (d) Bào tử nấm quan sát ở vật kính 40x

Chủng nấm B1 có màu xám trắng, sợi nấm mọc cao khoảng 1-2 mm, có lông tơ, mép gợn sóng. Sau 5 ngày, chủng nấm B1 đạt kích thước 50-60 mm, sau 7 ngày sợi nấm mọc dày ngả màu xám, có vòng tròn đồng tâm ở giữa. Quan sát dưới vật kính 40x, cho thấy bào tử có dạng hình trụ, hai đầu tròn, không có vách ngăn (Hình 3). Kết quả nghiên cứu của Cruz-Lagunas *et al.* (2020) [17] cũng cho thấy nấm *Colletotrichum* sp. có sợi nấm màu trắng, sau đó chuyển sang màu xám nhạt, bào tử hình trụ thon dài.

Chủng nấm B2 có dạng bụi trắng, mịn, bám sát vào bề mặt môi trường. Sau 4 ngày, nấm B2 đạt kích thước 50-60 mm, sau 6 ngày nấm ngả màu hơi ngà. Quan sát dưới vật kính 40X, sợi nấm có vách ngăn và không bào tử. Kết quả chủng nấm B2, không xác định được chi nấm. Kết quả tương tự chủng nấm DX3A được phân lập trên vỏ bưởi, bám sát bề mặt thạch, có màu trắng mịn, chưa thể xác định được chi nấm [21].

Nghiên cứu phân lập được 02 chủng nấm khác nhau (Kí hiệu B1 và B2) trên môi trường PDA (Hình 3).

Kết quả lây nhiễm cho thấy, chủng nấm B1 là chủng nấm *Colletotrichum* sp., do sau khi lây nhiễm vết bệnh có đốm nhỏ, màu sẫm, vỏ bị khô và sần sùi, tương tự với nghiên cứu của Cruz-Lagunas *et al.* (2020) [17]. Tuy nhiên, chủng nấm B2 không thể hiện độc lực gây bệnh trên trái bưởi. Từ kết quả lây nhiễm, chủng nấm B1 có độc lực gây bệnh cao, nên được chọn thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

Kết quả so sánh trình tự vùng gen 16S rRNA của chủng B1 với trình tự gen của các loài nấm *Colletotrichum* sp. trong cơ sở dữ liệu GenBank của National Center for Biotechnology Information (NCBI) bằng công cụ BLASTn cho thấy tổng số nucleotide được giải là 531 nucleotide, trình tự vùng gen 16S rRNA của chủng B1 có sự tương đồng cao nhất với chủng nấm *Colletotrichum siamense* DPFT16 (MH883641.1) (tỷ lệ phần trăm giống nhau là 100%) (Hình 4 và Hình 5).

Descriptions		Graphic Summary	Alignments	Taxonomy																																				
Sequences producing significant alignments																																								
Download Select columns Show 100																																								
<input type="checkbox"/> select all <i>NaN sequences selected</i>																																								
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Description</th> <th>Scientific Name</th> <th>Max Score</th> <th>Total Score</th> <th>Query Cover</th> <th>E value</th> <th>Per. Ident</th> <th>Acc. Len</th> <th>Accession</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/> Colletotrichum siamense isolate DPFT16 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</td> <td>Colletotrichum si...</td> <td>981</td> <td>981</td> <td>98%</td> <td>0.0</td> <td>100.00%</td> <td>556</td> <td>MH883641.1</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> Colletotrichum asianum isolate DPFT15 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</td> <td>Colletotrichum as...</td> <td>981</td> <td>981</td> <td>96%</td> <td>0.0</td> <td>100.00%</td> <td>551</td> <td>MH883639.1</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> Colletotrichum siamense strain GBLZ16CO-029 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal tra...</td> <td>Colletotrichum si...</td> <td>981</td> <td>981</td> <td>96%</td> <td>0.0</td> <td>100.00%</td> <td>589</td> <td>MN527109.1</td> </tr> </tbody> </table>					Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession	<input checked="" type="checkbox"/> Colletotrichum siamense isolate DPFT16 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	Colletotrichum si...	981	981	98%	0.0	100.00%	556	MH883641.1	<input type="checkbox"/> Colletotrichum asianum isolate DPFT15 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	Colletotrichum as...	981	981	96%	0.0	100.00%	551	MH883639.1	<input type="checkbox"/> Colletotrichum siamense strain GBLZ16CO-029 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal tra...	Colletotrichum si...	981	981	96%	0.0	100.00%	589	MN527109.1
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession																																
<input checked="" type="checkbox"/> Colletotrichum siamense isolate DPFT16 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	Colletotrichum si...	981	981	98%	0.0	100.00%	556	MH883641.1																																
<input type="checkbox"/> Colletotrichum asianum isolate DPFT15 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	Colletotrichum as...	981	981	96%	0.0	100.00%	551	MH883639.1																																
<input type="checkbox"/> Colletotrichum siamense strain GBLZ16CO-029 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal tra...	Colletotrichum si...	981	981	96%	0.0	100.00%	589	MN527109.1																																

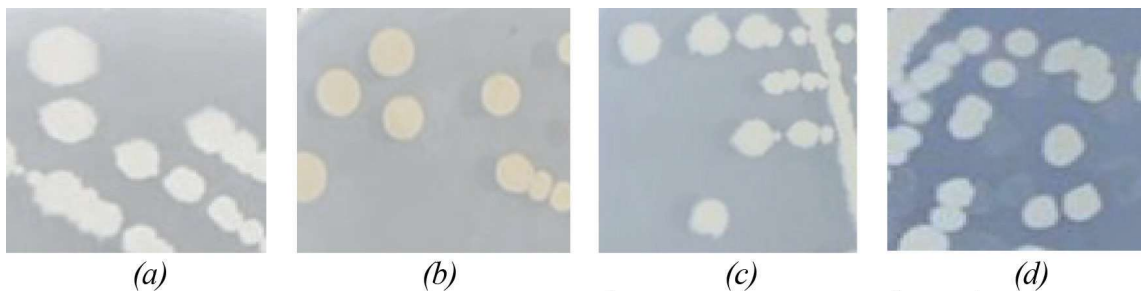
Hình 4. Kết quả so sánh mức độ tương đồng của chủng nấm B1 bằng công cụ BLASTn

Colletotrichum siamense isolate DPFT16 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence  
 Sequence ID: **MH883641.1** Length: 556 Number of Matches: 1

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
981 bits(531)	0.0	531/531(100%)	0/531(0%)	Plus/Plus
Query 23	ACAAACCCCTTTGTGAACATACCTATAAC TGTGCTTCGGCGGGTAGGGTCTCCGCGACCT			82
Sbjct 26	ACAAACCCCTTTGTGAACATACCTATAAC TGTGCTTCGGCGGGTAGGGTCTCCGCGACCT			85
Query 83	CCCGGCCTCCCGCCCCGGGGGGGTCCGGCGCCGCCGGAGGATAACCAAACCTCTGATTTA			142
Sbjct 86	CCCGGCCTCCCGCCCCGGGGGGGTCCGGCGCCGCCGGAGGATAACCAAACCTCTGATTTA			145
Query 143	ACGACGTTTCTTCTGAGTGGTACAAGCAAATAATCAAAC TTTTAAACACGGATCTCTTG			202
Sbjct 146	ACGACGTTTCTTCTGAGTGGTACAAGCAAATAATCAAAC TTTTAAACACGGATCTCTTG			205
Query 203	GTTCTGGCATCGATGAAGAACGACGAAATGCGATAAGTAATGTAATTGCAGAATTC			262
Sbjct 206	GTTCTGGCATCGATGAAGAACGACGAAATGCGATAAGTAATGTAATTGCAGAATTC			265
Query 263	GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTTGCGCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCC			322
Sbjct 266	GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTTGCGCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCC			325
Query 323	TTTCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCTCTGCTTGGTGTGGGGCCCTACAGCTGATGTAG			382
Sbjct 326	TTTCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCTCTGCTTGGTGTGGGGCCCTACAGCTGATGTAG			385
Query 383	GCCCTCAAAGGTAGTGGCGGACCTCCCGGAGCCTCCTTTGCGTAGTAAC TTTACGCTCT			442
Sbjct 386	GCCCTCAAAGGTAGTGGCGGACCTCCCGGAGCCTCCTTTGCGTAGTAAC TTTACGCTCT			445
Query 443	GCAC TGGGATCCGGAGGGACTCTTGGCGTAAAAACCCCAATTTTCCAAAGGTTGACCTC			502
Sbjct 446	GCAC TGGGATCCGGAGGGACTCTTGGCGTAAAAACCCCAATTTTCCAAAGGTTGACCTC			505
Query 503	GGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAAC TTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA 553			
Sbjct 506	GGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAAC TTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA 556			

Hình 5. Kết quả so sánh trình tự gen 16S rRNA của chủng B1 với chủng Colletotrichum siamense DPFT16 trên ngân hàng NCBI

### 3.2. Kết quả phân lập vi khuẩn Bacillus



Hình 6. Các hình dạng khác nhau của khuẩn lạc Bacillus quan sát bằng mắt thường

- a. Vi khuẩn Bacillus có màu trắng đục, răng cưa không đều;
- b. Vi khuẩn Bacillus có màu vàng, tròn đều
- c. Vi khuẩn Bacillus có màu trắng, răng cưa không đều;
- d. Vi khuẩn Bacillus có màu trắng, răng cưa

Kết quả phân lập được 09 chủng vi khuẩn Bacillus từ 03 mẫu đất vùng rẫy cây bưởi ở thị xã Bình Minh, tỉnh Vĩnh Long (Bảng 1). Sau 24 giờ ủ, các khuẩn lạc có màu trắng hoặc trắng đục, vàng và có viền răng cưa không đều hoặc tròn đều (Hình 6).

Bảng 1. Kết quả phân lập và đặc điểm hình thái của chủng vi khuẩn Bacillus

STT	Kí hiệu	Nguồn phân lập	Đặc điểm hình thái
1	BDB1_T	Đất vùng rẫy cây bưởi. Xã Hiếu Phụng, Huyện Vĩnh Liêm, Tỉnh Vĩnh Long	Khuẩn lạc dạng hình tròn, màu trắng đục, răng cưa đều

STT	Kí hiệu	Nguồn phân lập	Đặc điểm hình thái
2	BDB1_TR	Đất vùng rẫy cây bưởi. Xã Hiếu Phụng, Huyện Vũng Liêm, Tỉnh Vĩnh Long	Khuẩn lạc dạng hình tròn, màu trắng đục, răng cưa không đều
3	BDB1_V	Đất vùng rẫy cây bưởi. Xã Hiếu Phụng, Huyện Vũng Liêm, Tỉnh Vĩnh Long	Khuẩn lạc dạng hình tròn đều, màu vàng, không răng cưa
4	BDB2_T	Đất vùng rẫy cây bưởi. Xã Hiếu Nhơn, Huyện Vũng Liêm, Tỉnh Vĩnh Long	Khuẩn lạc dạng hình tròn, màu trắng, răng cưa đều
5	BDB2_TR	Đất vùng rẫy cây bưởi. Xã Hiếu Nhơn, Huyện Vũng Liêm, Tỉnh Vĩnh Long	Khuẩn lạc dạng hình tròn, màu trắng, răng cưa không đều
6	BDB2_V	Đất vùng rẫy cây bưởi. Xã Hiếu Nhơn, Huyện Vũng Liêm, Tỉnh Vĩnh Long	Khuẩn lạc dạng hình tròn đều, màu vàng, không răng cưa
7	BDB3_TR	Đất vùng rẫy cây bưởi. Huyện Long Hồ, Tỉnh Vĩnh Long	Khuẩn lạc dạng hình tròn, màu trắng, răng cưa không đều
8	BDB3_V	Đất vùng rẫy cây bưởi. Huyện Long Hồ, Tỉnh Vĩnh Long	Khuẩn lạc dạng hình tròn đều, màu vàng lớn, không răng cưa
9	BDB3_VN	Đất vùng rẫy cây bưởi. Huyện Long Hồ, Tỉnh Vĩnh Long	Khuẩn lạc dạng hình tròn, màu vàng nhỏ, không răng cưa

Kết quả nhuộm Gram cho thấy, vi khuẩn *Bacillus* thuộc vi khuẩn Gram dương, có bào tử, phản ứng oxidase và catalase dương tính. Các chủng vi khuẩn này có đặc điểm hình thái tương tự với mô tả của Holt *et al.* (1994) [22].

### 3.3. Kết quả khảo sát khả năng đối kháng của vi khuẩn *Bacillus* với nấm *Colletotrichum* sp.

#### 3.3.1. Khảo sát khả năng đối kháng bằng phương pháp đối kháng sợi nấm

Kết quả khảo sát khả năng đối kháng cho thấy có 8/9 chủng vi khuẩn *Bacillus* có khả năng đối kháng với chủng nấm B1 (Bảng 2). Nhìn chung, khả năng đối kháng tăng dần, tuy nhiên mức độ đối kháng của mỗi chủng khác nhau qua từng ngày, cụ thể: khả năng đối kháng của các chủng BDB1\_T, BDB2\_TR, BDB2\_V, BDB3\_TR tăng dần theo thời gian tồn trữ; khả năng đối kháng của chủng BDB1\_TR, BDB1\_V và BDB3\_V tăng cao nhất ở ngày 3 và giảm dần ở ngày 4, 5; chủng BDB3\_VN

kháng nấm cao nhất ở ngày 2 và giảm dần từ ngày 3. Kết quả này có thể do sự cạnh tranh dinh dưỡng của vi khuẩn yếu đi trong khi sự phát triển của nấm càng nhanh [23].

Sau 24 giờ đồng nuôi cấy, nấm phát triển bình thường, các chủng vi khuẩn *Bacillus* chưa thể hiện khả năng đối kháng. Từ ngày 2, các chủng vi khuẩn *Bacillus* bắt đầu thể hiện hiệu quả đối kháng. Trong đó, chủng vi khuẩn BDB3\_TR thể hiện khả năng kháng nấm cao nhất, với tỉ lệ đối kháng trung bình là 37,98%. Kết quả cho thấy, chủng vi khuẩn BDB3\_TR có hoạt tính ức chế nấm *Colletotrichum* sp. cao hơn chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* Strain PY-1 ức chế nấm *Fusarium oxysporum* với hoạt tính là 32% trong nghiên cứu của Gong *et al.* (2006). Tuy nhiên, khả năng kháng nấm của chủng BDB3\_TR thấp hơn so với chủng BHL21 với nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên trái đu đủ [13], và chủng BHCM9.3 so với nấm *Colletotrichum scovillei* gây bệnh

thân thu trên trái ớt [12]. Kết quả cho thấy, đối kháng với từng chủng nấm gây bệnh mỗi chủng vi khuẩn *Bacillus* có khả năng khác nhau.

Bảng 2. Hiệu suất đối kháng của vi khuẩn *Bacillus* đối với chủng nấm B1 (%)

Số TT	Chủng vi khuẩn	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5	Trung bình
1	BDB1_T	-	12,13 <sup>c</sup> ±2,39	12,65 <sup>c</sup> ±7,61	13,92 <sup>d</sup> ±6,19	15,05 <sup>cd</sup> ±5,93	13,44 <sup>d</sup> ±1,31
2	BDB1_TR	-	25,18 <sup>ab</sup> ±1,13	26,73 <sup>abc</sup> ±4,88	24,40 <sup>bcd</sup> ±2,76	21,11 <sup>bcd</sup> ±7,70	24,36 <sup>bc</sup> ±2,37
3	BDB1_V	-	25,01 <sup>ab</sup> ±3,33	27,87 <sup>ab</sup> ±6,19	26,01 <sup>bc</sup> ±3,46	21,67 <sup>bcd</sup> ±6,01	25,14 <sup>bc</sup> ±2,60
4	BDB2_T	-	-	-	-	-	-
5	BDB2_TR	-	19,32 <sup>abc</sup> ±7,52	27,25 <sup>ab</sup> ±7,37	27,91 <sup>b</sup> ±7,02	30,12 <sup>abc</sup> ±8,15	26,15 <sup>b</sup> ±4,72
6	BDB2_V	-	23,56 <sup>ab</sup> ±1,90	25,34 <sup>abc</sup> ±4,15	28,52 <sup>b</sup> ±5,57	30,18 <sup>ab</sup> ±4,52	26,90 <sup>b</sup> ±3,00
7	BDB3_TR	-	29,26 <sup>a</sup> ±2,95	36,70 <sup>a</sup> ±1,80	41,85 <sup>a</sup> ±1,39	44,13 <sup>a</sup> ±0,84	37,98 <sup>a</sup> ±6,59
8	BDB3_V	-	17,14 <sup>bc</sup> ±4,26	20,89 <sup>bc</sup> ±1,90	15,12 <sup>cd</sup> ±1,15	14,53 <sup>d</sup> ±2,58	16,92 <sup>cd</sup> ±2,87
9	BDB3_VN	-	22,88 <sup>abc</sup> ±3,50	22,16 <sup>bc</sup> ±1,23	14,54 <sup>cd</sup> ±1,09	14,52 <sup>d</sup> ±1,86	18,52 <sup>bcd</sup> ±4,62

Ghi chú: - Số liệu thể hiện là giá trị trung bình của ba lần lặp lại và độ lệch chuẩn.

- Trong cùng một cột, các số có ký tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

- BDB1, BDB2, BDB3 lần lượt là số mẫu đất vùng rễ cây bưởi 1, 2, 3; T, TR, V, VN lần lượt là hình thái của chủng vi khuẩn trắng, trắng răng cưa, vàng, vàng nhỏ.

- Ký hiệu “-” thể hiện vi khuẩn không có khả năng đối kháng với chủng nấm B1.

### 3.3.2. Khảo sát khả năng đối kháng bằng phương pháp ức chế bào tử

Phương pháp đối kháng sợi nấm chỉ cho biết vi khuẩn *Bacillus* có khả năng đối kháng hay không, nhưng không xác định được khả năng đối kháng là do sự cạnh tranh dinh dưỡng hay do vi khuẩn *Bacillus* sinh các hợp chất kháng nấm. Tuy nhiên, phương pháp ức chế bào tử cho biết vi khuẩn *Bacillus* có khả năng sinh các chất kháng khuẩn, thể hiện qua các vòng vô khuẩn, đường kính vòng vô khuẩn càng lớn thì khả năng sinh chất kháng nấm càng cao [14].

Kết quả khảo sát bằng phương pháp ức chế bào tử cho thấy có 8/9 chủng vi khuẩn *Bacillus* có khả năng ức chế với chủng nấm B1 (Bảng 3). Nhìn chung, hoạt tính ức chế

của vi khuẩn *Bacillus* giảm nhẹ theo thời gian, tuy nhiên mỗi chủng có mức độ đối kháng khác nhau. Ở ngày 1, nấm chưa phát triển nên chưa nhận thấy hoạt tính ức chế bào tử nấm của vi khuẩn *Bacillus*. Từ ngày 2, vi khuẩn *Bacillus* thể hiện hoạt tính ức chế bào tử nấm bằng đường kính vòng vô khuẩn. Trong đó, chủng vi khuẩn BDB3\_TR thể hiện khả năng ức chế nấm cao nhất, với đường kính vòng vô khuẩn trung bình là 0,9 cm ( $p < 0,05$ ). Tuy nhiên, chủng BDB3\_TR có khả năng ức chế bào tử nấm *Colletotrichum* sp. trên trái bưởi thấp hơn so với chủng ĐR2B1 ức chế bào tử nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh khô cành khô quả trên cây cà phê [14]. Kết quả cho thấy mỗi chủng vi khuẩn *Bacillus* có mức độ ức chế bào tử với từng chủng nấm gây bệnh khác nhau.



Bảng 3. Đường kính vòng kháng khuẩn của vi khuẩn *Bacillus* đối với chủng nấm B1 (cm)

Số TT	Chủng vi khuẩn	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5	Trung bình
1	BDB1_T	-	0,23 <sup>b</sup> ±0,06	0,23 <sup>b</sup> ±0,06	0,23 <sup>b</sup> ±0,06	0,23 <sup>b</sup> ±0,06	<b>0,23<sup>c</sup>±0,00</b>
2	BDB1_TR	-	0,63 <sup>ab</sup> ±0,15	0,63 <sup>ab</sup> ±0,15	0,63 <sup>ab</sup> ±0,15	0,63 <sup>ab</sup> ±0,15	<b>0,63<sup>b</sup>±0,00</b>
3	BDB1_V	-	0,37 <sup>b</sup> ±0,06	0,33 <sup>b</sup> ±0,12	0,33 <sup>b</sup> ±0,12	0,33 <sup>b</sup> ±0,12	<b>0,34<sup>cd</sup>±0,02</b>
4	BDB2_T	-	-	-	-	-	-
5	BDB2_TR	-	0,53 <sup>ab</sup> ±0,15	0,40 <sup>b</sup> ±0,00	0,40 <sup>b</sup> ±0,00	0,33 <sup>b</sup> ±0,06	<b>0,42<sup>c</sup>±0,08</b>
6	BDB2_V	-	0,63 <sup>ab</sup> ±0,25	0,63 <sup>ab</sup> ±0,25	0,63 <sup>ab</sup> ±0,25	0,60 <sup>ab</sup> ±0,27	<b>0,62<sup>b</sup>±0,02</b>
7	BDB3_TR	-	<b>0,97<sup>a</sup>±0,25</b>	<b>0,90<sup>a</sup>±0,30</b>	<b>0,87<sup>a</sup>±0,31</b>	<b>0,87<sup>a</sup>±0,31</b>	<b>0,90<sup>a</sup>±0,05</b>
8	BDB3_V	-	0,33 <sup>b</sup> ±0,12	0,33 <sup>b</sup> ±0,12	0,33 <sup>b</sup> ±0,12	0,27 <sup>b</sup> ±0,06	<b>0,32<sup>de</sup>±0,03</b>
9	BDB3_VN	-	0,30 <sup>b</sup> ±0,10	0,30 <sup>b</sup> ±0,10	0,27 <sup>b</sup> ±0,10	0,27 <sup>b</sup> ±0,06	<b>0,28<sup>de</sup>±0,02</b>

Ghi chú: - Số liệu thể hiện là giá trị trung bình của ba lần lặp lại và độ lệch chuẩn.

- Trong cùng một cột, các số có ký tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

- BDB1, BDB2, BDB3 lần lượt là số mẫu đất vùng rễ cây bưởi 1, 2, 3; T, TR, V, VN lần lượt là hình thái của chủng vi khuẩn trắng, trắng răng cưa, vàng, vàng nhỏ.

- Ký hiệu “-” thể hiện vi khuẩn không có khả năng đối kháng với chủng nấm B1.

Kết quả khảo sát bằng phương pháp đối kháng sợi nấm và ức chế bào tử cho thấy, chủng vi khuẩn BDB3\_TR thể hiện khả năng kháng nấm cao nhất, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng vi khuẩn còn lại. Kết quả chủng BDB3\_TR được chọn tiến hành thí nghiệm tiếp theo.

### 3.4. Kết quả định danh vi khuẩn *Bacillus*

Kết quả so sánh trình tự vùng gen

16S rRNA của chủng BDB3\_TR với trình tự gen của các chủng vi khuẩn *Bacillus* trong cơ sở dữ liệu GenBank của NCBI bằng công cụ BLASTn cho thấy tổng số nucleotide được giải là 923 nucleotide, trình tự vùng gen 16S rRNA của chủng BDB3\_TR có sự tương đồng cao nhất với chủng vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* SXFB8 (OM648228.1) (tỷ lệ phần trăm giống nhau là 100%) (Hình 7 và Hình 8).

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain SXFB8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	<i>Bacillus thuringiensis</i>	1705	1705	100%	0.0	100.00%	1443	OM648228.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain NRAIR_BT_R13 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	<i>Bacillus thuringiensis</i>	1703	1703	99%	0.0	100.00%	1407	QP349657.1

Hình 7. Kết quả so sánh mức độ tương đồng của chủng vi khuẩn BDB3\_TR bằng công cụ BLASTn

**Bacillus thuringiensis strain SXFB8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence**Sequence ID: [OM648228.1](#) Length: 1443 Number of Matches: 1

Range 1: 501 to 1423		<a href="#">GenBank</a>	<a href="#">Graphics</a>	<a href="#">Next Match</a>	<a href="#">Previous Match</a>
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	
1705 bits(923)	0.0	923/923(100%)	0/923(0%)	Plus/Minus	
Query 1		CAAAAGGTTACCCACCGACTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGGTGTGACGGGCGGTGTG			60
Sbjct 1423		CAAAAGGTTACCCACCGACTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGGTGTGACGGGCGGTGTG			1364
Query 61		TACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCAG			120
Sbjct 1363		TACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCAG			1304
Query 121		CTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAACAGAGAACGGTTTTATGAGATTAGCT			180
Sbjct 1303		CTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAACAGAGAACGGTTTTATGAGATTAGCT			1244
Query 181		CCACCTCGCGGTCTTGACGCTCTTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGAGCCAGGTC			240
Sbjct 1243		CCACCTCGCGGTCTTGACGCTCTTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGAGCCAGGTC			1184
Query 241		ATAAGGGGCATGATGATTTGACGTATCCCCACCTTCTCCGGTTTGTACCAGGCGAGTCA			300
Sbjct 1183		ATAAGGGGCATGATGATTTGACGTATCCCCACCTTCTCCGGTTTGTACCAGGCGAGTCA			1124
Query 301		CCTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGAC			360
Sbjct 1123		CCTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGAC			1064
Query 361		TTAACCCAAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTCTGCTC			420
Sbjct 1063		TTAACCCAAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTCTGCTC			1004
Query 421		CCGAAGGAGAAGCCCTATCTTAGGGTTTTACAGAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTT			480
Sbjct 1003		CCGAAGGAGAAGCCCTATCTTAGGGTTTTACAGAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTT			944
Query 481		CGCGTTTGCCTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTT			540
Sbjct 943		CGCGTTTGCCTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTT			884
Query 541		TGAGTTTTCAGCCTTTCGGGCCGTAATCCCCAGGCGGAGTGCCTTAATGCGTTAACTTCAGCA			600
Sbjct 883		TGAGTTTTCAGCCTTTCGGGCCGTAATCCCCAGGCGGAGTGCCTTAATGCGTTAACTTCAGCA			824
Query 601		CTAAAGGGCGGAAACCTCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAAGGG			660
Sbjct 823		CTAAAGGGCGGAAACCTCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAAGGG			764
Query 661		TATCTAATCCTGTTTGCCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGTGTACAGTACAGACACAGAGAG			720
Sbjct 763		TATCTAATCCTGTTTGCCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGTGTACAGTACAGACACAGAGAG			704
Query 721		TCGCGCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCATATCTCTACGCATTTTACCGCTACACATGGAAAT			780
Sbjct 703		TCGCGCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCATATCTCTACGCATTTTACCGCTACACATGGAAAT			644
Query 781		CCACTTTCCTCTTTCGCACTCAAGTCTCCCAAGTTCCTCAATGACCCCTCCACGGTTGAGCCG			840
Sbjct 643		CCACTTTCCTCTTTCGCACTCAAGTCTCCCAAGTTCCTCAATGACCCCTCCACGGTTGAGCCG			584
Query 841		TGGGCTTTCACATCAGACTTAAGAAACACCTGCGCGCGCTTTACGCCCAATAATTCCGG			900
Sbjct 583		TGGGCTTTCACATCAGACTTAAGAAACACCTGCGCGCGCTTTACGCCCAATAATTCCGG			524
Query 901		ATAACGCTTGCCACCTACGTATT 923			
Sbjct 523		ATAACGCTTGCCACCTACGTATT 501			

**Hình 8. Kết quả so sánh trình tự gen 16S rRNA của chủng B1 với chủng Bacillus thuringiensis SXFB8 trên ngân hàng NCBI**

#### 4. Kết luận

Nghiên cứu phân lập được 1 chủng nấm *Colletotrichum* sp. trên trái bưởi Năm Roi. Kết hợp quan sát hình thái và giải trình tự, xác định được chủng nấm *Colletotrichum siamense* DPFT16 gây bệnh thán thư trên trái bưởi Năm Roi. Nghiên cứu phân lập được 9 chủng vi khuẩn *Bacillus* từ đất vùng rễ cây bưởi. Khả năng đối kháng của vi khuẩn *Bacillus* với nấm *Colletotrichum* sp. được thực

hiện bằng phương pháp đối kháng sợi nấm và ức chế bào tử. Kết quả tuyển chọn được 8/9 chủng vi khuẩn *Bacillus* có khả năng kháng nấm. Trong đó, chủng vi khuẩn BDB3\_TR có mức độ kháng cao nhất với phương pháp đối kháng sợi nấm là 37,98% và ức chế bào tử là 0,9 cm ( $p < 0,05$ ). Kết quả định danh cho thấy chủng vi khuẩn BDB3\_TR tương đồng với loài vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* SXFB8 với mức độ tương đồng là 100%.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Nguyễn Văn Luật, (2006), *Cây có múi: giống và kỹ thuật trồng*, NXB Nông nghiệp.
- [2]. Lan-Phi, NT. and Vy, TT., (2015), *Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of peels' essential oils of different pomelo varieties in the south of Vietnam*, International Food Research Journal, 22.6: 2426-2431.

- [3]. Nguyễn Tiên Duy, Phạm Văn Quân và Lê Tất Khương, (2016), *Nghiên cứu ảnh hưởng của thời điểm và vật liệu bao quả đến sâu bệnh hại, mủ mề và chất lượng quả bưởi Diễn*, Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 58.8: 13-16.
- [4]. Guarnaccia, V., Groenewald, JZ., Polizzi, G., and Crous, PW., (2017), *High species diversity in Colletotrichum associated with citrus diseases in Europe*. Persoonia, 39.1: 32–50.
- [5]. Phạm Văn Toàn, (2013), *Thực trạng sử dụng thuốc bảo vệ thực vật và một số giải pháp giảm thiểu việc sử dụng thuốc không hợp lý trong sản xuất lúa ở Đồng bằng sông Cửu Long*, Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ, 28.1: 47-53.
- [6]. Patel, N., Desai, P., Patel, N., Jha, A., and Gautam, HK., (2014), *Agronanotechnology for plant fungal disease management: a review*, International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 3.10: 71-84.
- [7]. Mishra, P., Sharma, A., and Sharma, D., (2014), *A study on harmful effects of pesticide residue in vegetables*, International Journal of Recent Research and Review, 7.1: 45-48.
- [8]. Parthasarathy, S., Rajalakshmi, J., Narayanan, P., Arunkumar, K., and Prabakar, K., (2017), *Bio-control potential of microbial antagonists against post-harvest diseases of fruit crops: A review*. Research and Reviews: Journal of Botanical Sciences, 6.1: 17-23.
- [9]. Fadhilah, Q., Santoso, I., Maryanto, A., and Yasman, Y., (2021), *Antifungal potential from Bacillus sp. against phytopathogenic fungus Colletotrichum sp.* AIP Conference Proceedings. AIP Publishing, 2374.1: 1-8.
- [10]. Jumpathong, W., Intra, B., Euanorasetr, J., and Wanapaisan, P., (2022), *Biosurfactant-producing Bacillus velezensis PW192 as an anti-fungal biocontrol agent against Colletotrichum gloeosporioides and Colletotrichum musae*. Microorganisms, 10.5: 1-5.
- [11]. Choub, V., Won, SJ., Ajuna, HB., Moon, JH., Choi, SI., Lim, HI., and Ahn, YS., (2022), *Antifungal activity of volatile organic compounds from Bacillus velezensis CE 100 against Colletotrichum gloeosporioides*. Horticulturae, 8.6: 1-5.
- [12]. Trần Thùy Trang, Nguyễn Thị Ánh Nguyệt, Lê Thị Mai Châm, Nguyễn Tấn Đức, Phạm Nguyễn Đức Hoàng và Dương Hoàng Xô, (2020), *Phân lập và tuyển chọn chủng vi khuẩn thuộc nhóm Bacillus subtilis có khả năng đối kháng tốt với nấm Colletotrichum scovillei gây bệnh thán thư trên ớt ở Thành phố Hồ Chí Minh*, Tạp chí Khoa học Đại học Mở Thành phố Hồ Chí Minh, 15.1: 72-86.
- [13]. Nguyễn Thị Như Huỳnh, Quách Văn Cao Thi, Nguyễn Trung Trực và Trần Quốc Dũng, (2023), *Phân lập vi khuẩn Bacillus có hoạt tính đối kháng nấm Colletotrichum spp. gây bệnh thán thư trên trái đu đủ sau thu hoạch*, Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Thái Nguyên, 228.1: 357-363.
- [14]. Nguyễn Bá Thọ, Nguyễn Thị Liên và Võ Đình Quang, (2020), *Phân lập một số*

chủng *Bacillus sp.* đối kháng với nấm *Colletotrichum sp.* gây bệnh khô cành khô quả trên cây cà phê ở tỉnh Đắk Nông, Tạp chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm, 20.3: 94-102.

- [15]. Ashwini, N., and Srividya, SJB. (2014), *Potentiality of Bacillus subtilis as biocontrol agent for management of anthracnose disease of chilli caused by Colletotrichum gloeosporioides OGCI*. 3 Biotech, 4.2: 127-136.
- [16]. Abussaud, M., Alanagreh, L., and Abu-Elteen, K., (2013), *Isolation, characterization and antimicrobial activity of Streptomyces strains from hot spring areas in the northern part of Jordan*. African Journal of Biotechnology, 12.51: 7124-7132.
- [17]. Cruz-Lagunas, B., Ortega-Acosta, SÁ., Reyes-García, G., Toribio-Jiménez, J., Juárez-López, P., Guillén-Sánchez, D., (2020), *Colletotrichum gloeosporioides causes anthracnose on grapefruit (Citrus paradisi) in Mexico*. Australasian Plant Disease Notes, 15.1: 1-4.
- [18]. White, TJ., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J., (1990), *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics*. PCR protocols: a guide to methods and applications, 18.1: 315-322.
- [19]. Touré, Y., Ongena, M., Jacques, P., Guiro, A., and Thonart, P., (2004), *Role of lipopeptides produced by Bacillus subtilis GAI in the reduction of grey mould disease caused by Botrytis cinerea on apple*, Journal of Applied Microbiology, 96.5: 1151-1160.
- [20]. Dhanasekaran, D., Panneerselvam, A., and Thajuddin, N., (2012), *Applications of actinobacterial fungicides in agriculture and medicine*. IntechOpen, 29-54.
- [21]. Huỳnh Ngọc Thanh Tâm, Nguyễn Thị Kim Tươi và Hà Thanh Toàn, (2021) , *Phân lập và nhận diện các dòng nấm mốc hiện diện trên vỏ bưởi Da Xanh và bưởi Năm Roi được trồng ở Đồng bằng sông Cửu Long*, Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ, 57.1: 108-117.
- [22]. Holt, JG., Krieg, NR., Sneath, PH., Staley, JT., and Williams, ST., (1994), *Bergey's Manual of determinate bacteriology*, 9: 1-754.
- [23]. Nguyễn Thị Liên, Nguyễn Thị Yến Như, Nguyễn Thị Pha và Trần Thị Xuân Mai, (2016), *Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn từ đất vùng rễ ớt có khả năng đối kháng với nấm Colletotrichum sp. gây bệnh thán thư trên ớt*, Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ, 47.1: 16-23.