Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ
Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học
website: ctujsvn.ctu.edu.vn

DOI:10.22144/ctu.jvn.2023.015

KHẢ NĂNG ỨC CHẾ NẤM *Neoscytalidium dimidiatum* GÂY BỆNH ĐỐM NÂU THANH LONG CỦA VI KHUẨN *Pseudomonas* sp.

Trần Thị Ngọc Như, Phạm Ngọc Mai, Thạch Trung Cương, Đỗ Thị Thanh Huyền, Nguyễn Đặng Tường Vy, Võ Thị Thuý Huệ và Nguyễn Vũ Phong*

Khoa Khoa học Sinh học, Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh

**Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Vũ Phong (email: nvphong@hcmuaf.edu.vn)*

Thông tin chung:
Ngày nhận bài: 05/09/2022
Ngày nhận bài sửa: 01/11/2022
Ngày duyệt đăng: 07/11/2022

Title:
Potential to inhibit Neoscytalidium dimidiatum causing canker disease on dragon fruit of Pseudomonas sp.

Từ khóa:
Hoạt tính đối kháng, Neoscytalidium dimidiatum, Pseudomonas aeruginosa, thử nghiệm sinh học, 16S-rRNA

Keywords:
Antagonistic activity, bioassay test, Neoscytalidium dimidiatum, Pseudomonas aeruginosa, 16S-rRNA

ABSTRACT

Neoscytalidium dimidiatum causing stem canker has been a threat to dragon fruit. For integrated disease management, it is necessary to find effective antagonistic microorganisms against this pathogen. Pseudomonas is a soil bacteria genus known for its high antifungal activity. In this study, species identification of two strains of bacteria was conducted based on their characteristics and 16S-rRNA sequence. Their antagonistic activity against fungi was measured using the dual-culture and the agar well diffusion methods. The potential to inhibit the disease on the dragon fruit vine of PN01 and PN02 strains was investigated using a bioassay test. The results showed that four of six bacterial strains have an inhibited effect on mycelium growth. The results also revealed both PN01 and PN02 strains were capable of decreasing the disease to 50%. Based on the sequence of the 16S-rRNA region, two bacterial strains were identified as Pseudomonas aeruginosa. Further studies on biological characteristics, antifungal compounds, and disease control of bacterial strains are needed to develop biocide from indigenous microorganism strains for plant protection.

TÓM TẮT

Nấm Neoscytalidium dimidiatum gây bệnh đốm nâu là mối đe dọa nghiêm trọng đối với cây thanh long. Để góp phần phòng trừ tổng hợp dịch bệnh, cần tìm các vi sinh vật đối kháng có hiệu quả cao đối với tác nhân gây bệnh này. Pseudomonas là một chi vi khuẩn trong đất và được biết có hoạt tính kháng nấm cao. Trong nghiên cứu này, hai chủng vi khuẩn được định danh dựa trên các đặc điểm hình thái, sinh hóa và trình tự 16S-rRNA. Khả năng đối kháng của các chủng vi khuẩn đối với nấm được đánh giá bằng phương pháp đồng nuôi cấy và khuếch tán giếng thạch. Khả năng ức chế nấm bệnh trên cành thanh long của hai chủng PN01 và PN02 đã được khảo sát bằng thử nghiệm in vitro. Kết quả cho thấy bốn trong 6 chủng vi khuẩn có tác dụng ức chế sự phát triển của hệ sợi nấm. Ở thử nghiệm chủng bệnh nhân tạo trên cành 3 giống thanh long, cả hai chủng Pseudomonas PN01 và PN02 đều có khả năng giảm tỷ lệ bệnh xuống 50%. Dựa vào trình tự vùng 16S-rRNA, 2 chủng vi khuẩn tương đồng hoàn toàn với Pseudomonas aeruginosa. Các nghiên cứu về đặc điểm sinh học, các hợp chất kháng nấm và khả năng kiểm soát bệnh của hai chủng vi khuẩn này cần tiếp tục thực hiện để phát triển chế phẩm bảo vệ thực vật từ chủng vi sinh vật bản địa.

1. GIỚI THIỆU

Ở Việt Nam, thanh long được trồng ở 30 tỉnh thành, nhưng phát triển mạnh thành các vùng chuyên canh quy mô lớn tập trung ở các tỉnh Bình Thuận (29.000 ha), Long An (11.000 ha) và Tiền Giang (8.000 ha) chiếm 93,6% diện tích và 95,5 % sản lượng cả nước (Cục Xúc tiến Thương mại, 2019). Thanh long đóng góp đáng kể cho kim ngạch xuất khẩu quả tươi của Việt Nam trong những năm gần đây. Với ưu thế thị trường tiêu thụ ổn định và hiệu quả kinh tế cao, nông dân đang ngày càng chú trọng đầu tư vào sản xuất thanh long. Việt Nam là nước nhiệt đới, có khí hậu nóng ẩm, thích hợp cho sự phát triển và sinh trưởng của cây thanh long, nhưng nhiệt độ cao và lượng mưa lớn cũng là điều kiện thuận lợi cho vi sinh vật phát triển và gây hại (Kế, 1997). Vi nấm là một trong những tác nhân gây nhiều bệnh trên thanh long như: bệnh đốm nâu (do *Neoscytalidium dimidiatum*), bệnh thán thư (do *Colletotrichum gloeosporioides*), bệnh thối đầu cành (do *Alternaria* sp.). Các bệnh này ảnh hưởng đến sinh trưởng phát triển của cây, giảm năng suất, chất lượng quả, giá trị thương phẩm, gây thiệt hại lớn cho người trồng thanh long.

Bệnh đốm nâu do nấm *Neoscytalidium dimidiatum* gây ra là một trong những bệnh hại nghiệm trọng nhất. Bệnh đã được ghi nhận xuất hiện rải rác đầu tiên vào năm 2008 tại các tỉnh Bình Thuận và Tiền Giang và đến năm 2011, bệnh tấn công mạnh và lây lan nhanh hơn, đến năm 2013 diện tích nhiễm bệnh ước khoảng 10.000 ha (Cục Bảo vệ thực vật, 2014). Mức độ bệnh ở các vườn, địa phương khác nhau, dao động từ 30% đến 70%, có những vườn mất trắng năng suất do quả bị nhiễm bệnh không thể thu hoạch được, thiệt hại rất lớn cho nhà vườn trồng thanh long (Hiếu, 2011).

Các biện pháp canh tác, biện pháp hóa học đã được đưa vào áp dụng để phòng trừ các bệnh nấm gây ra trên thanh long, nhưng các biện pháp này vẫn còn những hạn chế như chưa tiêu diệt triệt để nguồn bệnh, việc sử dụng các loại thuốc hóa học, thuốc bảo vệ thực vật gây tác động xấu đến môi trường, ảnh hưởng đến sức khỏe con người và có khả năng gia tăng tính kháng thuốc của mầm bệnh (Cục Trồng trọt, 2019). Biện pháp sinh học sử dụng các vi sinh vật đối kháng được xem là biện pháp hiệu quả, thân thiện và an toàn với môi trường. Nhiều nhóm vi sinh vật có đặc tính đối kháng với nấm *Neoscytalidium dimidiatum* gây bệnh đốm nâu đã được nghiên cứu ở quy mô phòng thí nghiệm và ngoài đồng như: nấm *Trichoderma* sp., *Bacillus* sp., *Streptomyces* sp., *Chaetomium* sp. (Dung và ctv., 2018; Giang và ctv., 2018; Quyết và ctv., 2018; Hiếu và ctv., 2022). Việc nghiên cứu các chủng vi sinh vật có lợi, có khả năng kiểm soát phòng ngừa bệnh đốm nâu trên cây thanh long, phục vụ canh tác thanh long theo hướng bền vững là cần thiết.

Pseudomonas là nhóm vi khuẩn hiện diện nhiều ở vùng rễ cây trồng có khả năng tiết ra nhiều loại kháng sinh ức chế nhiều loại nấm, vi khuẩn gây bệnh có nguồn gốc trong đất. Chế phẩm từ *Pseudomonas fluorescens* đã được công nhận sử dụng phòng trừ các bệnh do nấm trên các loại cây trồng (Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, 2020). Các nghiên cứu tuyển chọn vi khuẩn *Pseudomonas* sử dụng đối kháng với các nấm bệnh cây trồng cũng đã thực hiện (Hiền & Toàn, 2020; Tú và ctv., 2021). Nghiên cứu này trình bày kết quả chọn lọc chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp. có khả năng đối kháng cao với nấm *Neoscytalidium dimidiatum* gây bệnh đốm nâu trên cây thanh long.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Cành thanh long khỏe, sạch bệnh thuộc ba giống ruột trắng, ruột đỏ, ruột tím hồng được thu tại các vườn tỉnh Long An. Nguồn nấm *Neoscytalidium dimidiatum* được phân lập từ vết bệnh đốm nâu thanh long ở tỉnh Long An, định danh và lưu trữ ở Phòng Sinh học tích hợp thực vật, Khoa Khoa học Sinh học, Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Định danh vi khuẩn dựa vào đặc điểm hình thái, sinh hóa và trình tự 16S-rDNA

Sáu chủng vi khuẩn được phân lập từ đất trồng thanh long tại tỉnh Long An. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc được quan sát sau 24 – 48 giờ nuôi cấy. Đặc điểm sinh hóa của các chủng vi khuẩn được xác định bởi các phản ứng như xác định Gram bằng dung dịch KOH 3%, nhuộm Gram, khả năng phát triển của vi khuẩn trong điều kiện kỵ khí, hình thái khuẩn lạc ở 28^{o}C trên môi trường YDC (Yeast Dextrose Carbonate), khả năng phát huỳnh quang dưới tia UV (Agrios, 2005; Schaad et al., 2001). Vùng 16S-rDNA hai chủng PN01, PN02 được nhân bằng PCR với primer 27F và 1492R (de Lillo et al., 2006), được giải trình tự hai chiều tại First Base (Malaysia). Đoạn trình tự sau hiệu chỉnh được so sánh với trình tự có sẵn trong ngân hàng gen phục vụ định danh. Xây dựng cây phát sinh loài bằng phần mềm MEGA11 (Tamura et al., 2021).

2.3. Khảo sát khả năng ức chế của vi khuẩn với nấm Neoscytalidium dimidiatum

Các thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, với sáu dòng vi khuẩn, 3 lần lặp lại với mỗi lần lặp lại là 3 đĩa petri.

2.3.1. Phương pháp cấy kép (Dual culture method)

Thí nghiệm được tiến hành trên môi trường PDA để xác định hiệu quả đối kháng của vi khuẩn với nấm bệnh theo Ferreira et al. (1991). Vi khuẩn được vạch thành 2 đường thẳng song song, đối xứng với tâm đĩa petri cấy nấm bệnh, vệt cấy cách mép đĩa khoảng 1,5 cm. Đĩa đối chứng chỉ cấy nấm bệnh. Các đĩa nuôi cấy được ủ trong tối. Đo đường kính tản nấm ở 24, 48, 72 giờ sau cấy và tính hiệu suất đối kháng theo thang đánh giá của Soytong (1988).

2.3.2. Phương pháp khuếch tán giếng thạch (well diffusion)

Thí nghiệm được tiến hành nhằm mục đích đánh giá khả năng kháng nấm của dịch nuôi cấy vi khuẩn theo Bauer et al. (1966). Các chủng vi khuẩn được nhân nuôi trên môi trường SP đạt mật độ 10^9 cfu/mL. Ly tâm và thu phần dịch nổi rồi lọc qua 2 lớp giấy lọc Whatman số 1 (Mekete et al., 2009). Nhỏ 50 µL dịch lọc vào các giếng thạch trên môi trường PDA đã cấy trãi dịch nấm ở mật độ 10^6 bào tử/mL. Sau 48 giờ ủ ở 30°C, xác định đường kính vòng ức chế sinh trưởng của nấm xung quanh giếng, từ đó lựa chọn được chủng vi sinh vật có hoạt tính đối kháng nấm gây bệnh.

2.4. Đánh giá khả năng hạn chế bệnh của hai chủng *Pseudomonas* trong phòng thí nghiệm

Cành của ba giống thanh long được sử dụng trong thí nghiệm. Cành thanh long 10 – 15 cm được khử trùng và đặt trong các hộp nhựa được xử lý bằng cồn 70%, đáy hộp đặt lớp giấy thấm vô trùng vừa đủ ướt bằng nước cất vô trùng, đặt các hộp ở điều kiện phòng thí nghiệm (25°C ± 2). Trên mỗi cành thanh long tiến hành tạo vết thương bằng kim ghim đã khử trùng, mỗi cành 7 vết thương. Dùng kim tiêm nhỏ 50 µL dịch bào tử nấm mật độ 10^6 bào tử/mL lên điểm gây vết thương, đặt hộp ở nhiệt độ phòng. 50 µL dung dịch vi khuẩn mật số 10^9 cfu/mL được nhỏ lên vết thương trước hoặc sau khi lây nhiễm nấm 48 giờ. Thí nghiệm được lặp lại ba lần, mỗi lần lặp lại là ba cành thanh long. Tỷ lệ bệnh, chỉ số bệnh được theo dõi ở 5, 10 và 15 ngày sau chủng bệnh. Chỉ số bệnh được tính theo công thức của Townsend-Heuberger (1943). Hiệu quả giảm bệnh được tính theo công thức của Abbott (1925).

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thí nghiệm được phân tích phương sai (Analysis of Variance, ANOVA), so sánh trung bình theo phương pháp trắc nghiệm Duncan. Hiệu suất đối kháng (%) không trắc nghiệm phân hạng.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định vi khuẩn *Pseudomonas* sp. dựa vào đặc điểm hình thái và sinh hóa

Các chủng vi khuẩn được phân loại theo hình thái khuẩn lạc. Đặc điểm khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn được thể hiện ở Bảng 1. Cả sáu chủng vi khuẩn đều có cùng đặc tính là gram âm, hiếu khí, khuẩn lạc màu trắng trên môi trường YDC và phát huỳnh quang khi chiếu UV thuộc chi *Pseudomonas* (Public Health England, 2015).

Bảng 1. Đặc điểm các chủng vi khuẩn

Chủng vi khuẩn	Đặc điểm khuẩn lạc	Gram	Kỵ khí	Môi trường YDC	Phát quang
PN01, PN02	Lạc khuẩn màu vàng đậm, dẹt giống như con mắt, biên không đều, đường kính 0,5-1,5 mm.	-	-	Trắng	+
PN03	Lạc khuẩn màu xanh nhạt, hình tròn, biên không đều, đường kính 1,5-2,5 mm.	-	-	Trắng	+
PN04	Lạc khuẩn màu xanh nhạt, hình tròn, biên đều, đường kính 0,5-1 mm.	-	-	Trắng	+
PN05, PN06	Lạc khuẩn màu xanh nhạt, hình tròn, biên không đều, đường kính khoảng 1 mm.	-	-	Trắng	+

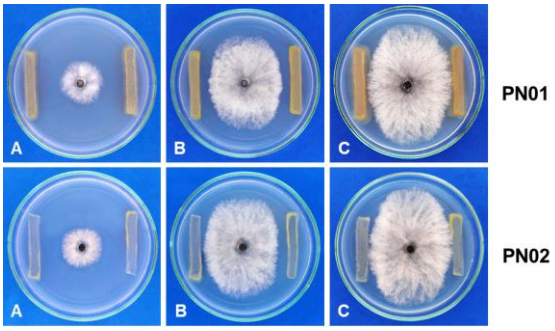
3.2. Khả năng ức chế nấm *Neoscytalidium dimidiatum* của các chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp.

Với phương pháp cấy kép, ở 72 giờ sau cấy, chỉ có 2 dòng PN01, PN02 có khả năng ức nấm *Neoscytalidium dimidiatum*. Khả năng ức chế của chủng PN01 đạt 52%, kế tiếp là PN02 với 45% (Bảng 2, Hình 1). Bốn dòng vi khuẩn còn lại không có khả năng ức chế nấm *N. dimidiatum*.

Bảng 2. Khả năng đối kháng nấm *Neoscytalidium dimidiatum* của 6 chủng vi khuẩn

Dòng vi khuẩn	24 GSC		48 GSC		72 GSC	
	Đường kính tản nấm	HSĐK (%)	Đường kính tản nấm	HSĐK (%)	Đường kính tản nấm	HSĐK (%)
PN01	22,7	7	41,0 ^{d}	27	43,2 ^{b}	52
PN02	23,3	5	42,3 ^{d}	25	49,8 ^{a}	45
PN03	23,9	2	54,6 ^{ab}	3	-	0
PN04	23,6	3	51,8 ^{a}	8	-	0
PN05	23,8	2	55,3 ^{ab}	2	-	0
PN06	24,1	1	47,2 ^{c}	16	-	0
ĐC	24,4		56,4 ^{a}		-	0
Mức ý nghĩa	ns		**		*	

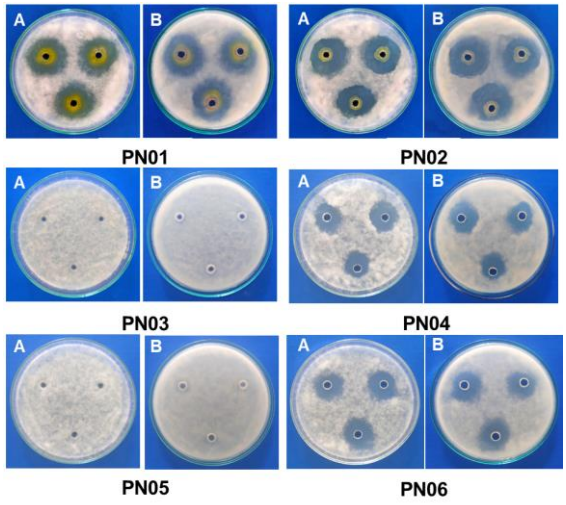
ĐC: đối chứng; GSC: giờ sau cấy, HSĐK: Hiệu suất đối kháng. Trong cùng một cột, các giá trị có cùng kí tự theo sau thì sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. (ns): khác biệt không có ý nghĩa; (*) khác biệt có ý nghĩa; (**): khác biệt rất có ý nghĩa ở mức 0,01; và (-) tản nấm lan kín đĩa.



Hình 1. Khả năng đối kháng với *Neoscytalidium dimidiatum* của 2 chủng vi khuẩn theo phương pháp đồng nuôi cấy

A: 24 GSC, B: 48 GSC, C: 72 GSC (GSC: giờ sau cấy).

Khi khảo sát bằng phương pháp khuếch tán giếng thạch, hai dòng PN03 và PN05 không có khả năng ức chế nấm bệnh. Hai dòng PN04 và PN06 có kích thước vòng đối kháng là 19,3 và 17,2 mm. Hai dòng PN01 và PN02 có kích thước vòng đối kháng lần lượt là 24,3 và 22,2 mm được chọn tiếp tục đánh giá khả năng hạn chế bệnh trên cành thanh long nhiễm bệnh nhân tạo (Hình 2).



Hình 2. Khả năng đối kháng *Neoscytalidium dimidiatum* của sáu chủng vi khuẩn theo phương pháp khuếch tán giếng thạch

A: Mặt trên, B: Mặt dưới

3.3. Khả năng hạn chế bệnh của 2 chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp. chọn lọc

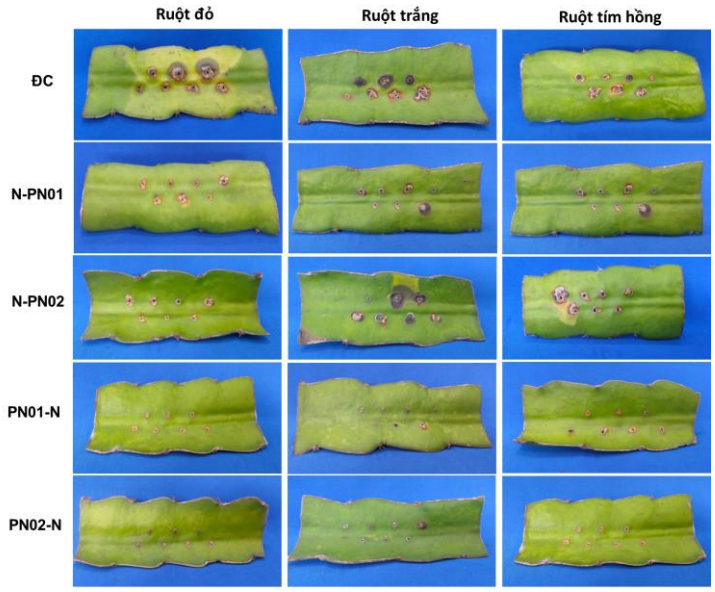
Ở thời điểm 5 ngày sau lây nhiễm (NSLN), chỉ số bệnh ở các nghiệm thức không có sự khác biệt, hiệu quả giảm bệnh khi phun vi khuẩn sau lây nhiễm nấm (6-22%) so với phun vi khuẩn trước khi lây nhiễm nấm (6-40%). Tương tự, ở 10 NSLN, chỉ số bệnh tăng lên, dao động từ 33,6% đến 43,0%, hiệu suất đối kháng từ 12 - 44%. Nhưng ở 15 NSLN, chỉ số bệnh ở các nghiệm thức biến thiên từ 33,4% đến 62,6%, khác biệt có ý nghĩa thống kê. Khi phun vi khuẩn trước lây bệnh nhân tạo có hiệu suất đối kháng từ 43% đến 56% so với phun vi khuẩn sau khi lây nhiễm (từ 17-31%) (Bảng 3). Nhìn chung, phun vi khuẩn trước lây bệnh nhân tạo cho thấy hiệu quả phòng trừ bệnh cao hơn so với phun dịch vi khuẩn sau lây bệnh nhân tạo ở nghiệm thức N-PN01 và N-PN02, thí nghiệm cho thấy cả hai chủng vi khuẩn có khả năng phòng bệnh. Sau 15 ngày thí nghiệm, cả 2 chủng vi khuẩn đều không gây hại cho cành thanh long.

Bảng 3. Khả năng hạn chế bệnh của 2 chủng vi khuẩn ở 3 giống thanh long

Thanh long ruột đỏ						
Nghiệm	**5 NSLN**		**10 NSLN**		**15 NSLN**	
thức	**CSB (%)**	**HSĐK (%)**	**CSB (%)**	**HSĐK (%)**	**CSB (%)**	**HSĐK (%)**
N-PN01	30,7	14	37,9	12	52,0 ^{abc}	31
N-PN02	33,3	6	36,0	16	62,6 ^{ab}	17
PN01-N	25,5	28	36,0	16	33,4 ^{c}	56
PN02-N	33,3	6	33,6	22	42,6 ^{bc}	43
ĐC	35,6		43,0		75,3 ^{a}	
Thanh long ruột tím hồng						
Nghiệm	**5 NSLN**		**10 NSLN**		**15 NSLN**	
thức	**CSB (%)**	**HSĐK (%)**	**CSB (%)**	**HSĐK (%)**	**CSB (%)**	**HSĐK (%)**
N-PN01	33,3	22	40,5	20	45,2 ^{bc}	38
N-PN02	35,6	17	40,0	21	57,6 ^{ab}	21
PN01-N	25,6	40	33,3	34	33,3 ^{c}	54
PN02-N	28,3	34	38,2	24	38,2 ^{bc}	47
ĐC	42,8		50,6		72,6 ^{a}	
Thanh long ruột trắng						
Nghiệm	**5 NSLN**		**10 NSLN**		**15 NSLN**	
thức	**CSB (%)**	**HSĐK (%)**	**CSB (%)**	**HSĐK (%)**	**CSB (%)**	**HSĐK (%)**
N-PN01	35,6	12	38,0 ^{ab}	25	55,4 ^{abc}	29
N-PN02	38,2	6	40,5 ^{ab}	20	62,4 ^{ab}	20
PN01-N	28,3	30	28,3 ^{b}	44	35,6 ^{c}	54
PN02-N	33,3	18	33,3 ^{b}	34	40,5 ^{bc}	48
ĐC	40,5		50,6 ^{a}		77,6 ^{a}	

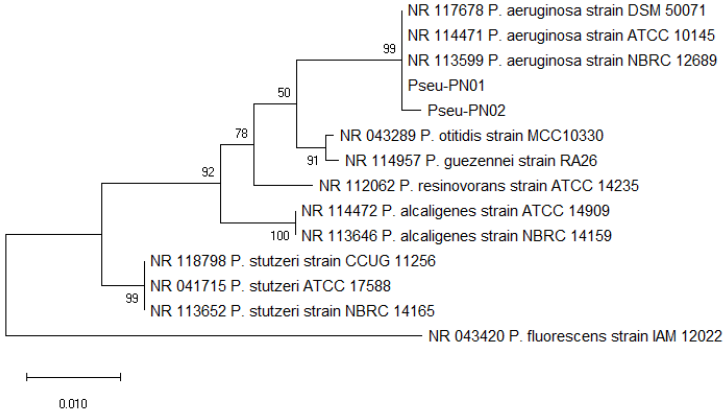
NSLN: ngày sau lây nhiễm; HSĐK: hiệu suất đối kháng. CSB: chỉ số bệnh; N-PN01, N-PN02: phun vi khuẩn ở 2 NSLN. PN01-N, PN02-N: phun vi khuẩn 2 ngày trước nhiễm nấm. Số liệu đã được chuyển đổi bằng $y = (x)^{1/2}$ trước khi xử lý thống kê. P-value ≤ 0,05.

Trong số sáu chủng vi khuẩn phân lập, hai chủng vi khuẩn được xác định là *P. aeruginosa* cho thấy hiệu quả đối kháng chống lại nấm gây bệnh. Sự ức chế tăng trưởng của nấm *Neoscytalidium dimidiatum* bởi hai chủng vi khuẩn đối kháng đạt từ 45-55% trong hai thử nghiệm ($p < 0,05$). *Pseudomonas aeruginosa* được phân lập từ vùng rễ của các loài thực vật khác nhau được báo cáo là một loại vi khuẩn đối kháng với các loại nấm gây bệnh hại khác. Yasmin et al. (2014) đã báo cáo một chủng phân lập *P. aeruginosa* có hiệu quả đối kháng với *F. oxysporum, F. moniliforme, F. solani* và *Rhizoctonia solani* gây bệnh trên bông vải. Loài vi khuẩn này cũng ức chế sự phát triển của *Colletotrichum gloeosporioides* và *Rhizoctonia solani* trong thử nghiệm *in vitro* (Sasirekha & Srividya, 2016). Đồng thời, đã có báo cáo về khả năng ức chế mạnh sự phát triển của các loại nấm như *Phytophthora capsici* và *Colletotrichum orbiculare* nhờ phenazine-1-carboxylic acid (Lee et al., 2003; Trung et al., 2020), các loại vi khuẩn gây bệnh như *Pseudomonas, E. coli, Staphylococcus* và *Bacillus nhờ* pyocyanin *(*Abdul-Hussein & Atia, 2016). Cho đến nay có rất ít báo cáo về khả năng kiểm soát sinh học của *P. aeruginosa* trong điều kiện đồng ruộng.



Hình 3. Khả năng hạn chế bệnh đốm nâu của 2 dòng vi khuẩn *Pseudomonas* sp. PN01 và PN02

ĐC: đối chứng; N-PN01, N-PN02: phun vi khuẩn sau lây nhiễm 2 ngày; PN01-N, PN02-N: phun vi khuẩn 2 ngày trước lây nhiễm.



Hình 4. Mối quan hệ phát sinh loài của 2 chủng Pseudomonas sp. PN01 và PN02

Phương pháp Maximum Likelihood được áp dụng với giá trị bootrap là 1000.

Trong nghiên cứu này, hai chủng *Pseudomonas* sp. PS01 và PS02 đã cho thấy khả năng ức chế đáng kể sinh trưởng của nấm điều kiện *in vivo*, cần tiếp tục đánh giá hiệu quả giảm bệnh điều kiện nhà lưới và đồng ruộng để khai thác ứng dụng quản lý tổng hợp bệnh đốm nâu cây thanh long.

4. KẾT LUẬN

Trong sáu chủng vi khuẩn, 2 chủng *Pseudomonas* sp. PN01 và PN02 được xác định có khả năng ức chế nấm *Neoscytalidium dimidiatum* và hạn chế bệnh trên cành ba giống thanh long *in vivo*. Các nghiên cứu về đặc điểm sinh học, hoạt chất kháng vi sinh vật, an toàn sinh học và khả năng ức chế vi sinh vật gây hại cây trồng của hai dòng vi khuẩn PN01 và PN02 cần được tiếp tục nghiên cứu để ứng dụng tạo thuốc trừ nấm sinh học bảo vệ cây trồng.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ kinh phí từ nhiệm vụ khoa học và công nghệ của Trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh (mã số: CS-SV21-KHSH-10).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abdul-Hussein, Z. R., & Atia, S. S. (2016). Antimicrobial effect of pyocyanin extracted from *Pseudomonas aeroginosa*. *European Journal of Experimental Biology*, *6*(3), 1-4.

Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, *18*(2), 265-267.

Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology* (5th ed). Elsevier Academic Press, London.

An, N. N., Thao, H. H. M., Yen, H. N. H., Hanh, N. T. D., Hoa, N. L. H., Tien, T. T. T., ... & Viet, P. T. (2020). Isolation, identification and characterization of bacterial antagonists of the dragon fruit fungal pathogen *Neoscytalidium dimidiatum*. *Journal of Science and Technology-IUH*, *44*(02). DOI: 10.46242/jst-iuh.v44i02.1036.

Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, *45*(4), 493–496.

Cục Bảo vệ thực vật (2014). Tình hình sâu bệnh hại trên thanh long và giải quyết các rào cản kiểm dịch thực vật cho quả thanh long xuất khẩu của Việt Nam. *Trong Hội nghị Sản xuất và phát triển thị trường thanh long bền vững*, TP. Phan Thiết, Bình Thuận, ngày 15/5/2014.

Cục Trồng trọt. (2019). Hiện trạng và định hướng phát triển cây ăn quả các tỉnh phía Nam. *Trong Hội nghị "Thúc đẩy phát triển bền vững cây ăn quả các tỉnh phía Nam" của Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, TP. Tân An, Long An, 15/3/2019: 1-19.

Cục Xúc tiến Thương mại. (2019). *Tình hình sản xuất và xuất khẩu thanh long năm 2019*. https://vietrade.gov.vn/tin-tuc/4161/tinh-

de Lillo, A., Ashley, F. P., Palmer, R. M., Munson, M. A., Kyriacou, L., Weightman, A. J., & Wade, W. G. (2006). Novel subgingival bacterial phylotypes detected using multiple universal polymerase chain reaction primer sets. *Oral microbiology and immunology*, *21*(1), 61–68. DOI: 10.1111/j.1399-302X.2005.00255.x

Dung, Đ. T. T., Trúc, V. T. T., & Quang, V. Đ. (2018). Khả năng đối kháng của vi khuẩn *Bacillus* sp. với vi nấm *Neoscytalidium dimidiatum* gây bệnh đốm trắng trên thanh long. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Sư phạm thành phố Hồ Chí Minh*, *15*(12), 32-42. DOI: 10.54607/hcmue.js.15.12.60(2018)

Ferreira, J. H. S., Matthee, F. N., & Thomas, A. C. (1991). Biological control of *Eutypa lata* on grapevine by an antagonistic strain of *Bacillus subtilis*. *Phytopathology*, *81*(3), 283-287.

Giang, N. V., Cảnh, N. X., & Phùng Thị Lệ Quyên, N. (2019). Kết quả khảo sát ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường nuôi cấy in vitro tới khả năng kháng nấm *Neoscytalidium dimidiatum* của chủng *Bacillus velezensis* YMĐ1. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 2B, 42.

Hiền C. T. & Toàn T. L., (2020). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn *Pseudomonas* có khả năng đối kháng *in vitro* với nấm *Fusarium solani* và *Colletotrichum gloeosporioides*. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, *56*(5B), 135-142. DOI:10.22144/ctu.jvn.2020.122.

Kế, N. V. (1997). *Cây thanh long*. Nhà xuất bản nông nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh. 24 trang.

Lee, J. Y., Moon, S. S., & Hwang, B. K. (2003). Isolation and *in vitro* and *in vivo* activity against *Phytophthora capsici* and *Colletotrichum orbiculare* of phenazine-1-carboxylic acid from *Pseudomonas aeruginosa* strain GC-B26. *Pest management science*, *59*(8), 872–882. DOI: 10.1002/ps.688

Mekete, T., Hallmann, J., Kiewnick, S., & Sikora, R. (2009). Endophytic bacteria from Ethiopian coffee plants and their potential to antagonise *Meloidogyne incognita*. *Nematology*, *11*(1), 117-127. DOI: 10.1163/156854108X398462

Hiếu, N. T. (2011). *Bệnh hại trên thanh long và biện pháp quản lý*. Tài liệu tập huấn Viện Cây Ăn Quả Miền Nam.

Hiếu, N. T., Thư, N. N. A., Anh, N. T. K., Hòa, N. V., Linh, Đ. T., Sơn, N. H., Tuất, N. V., Hiền, P. T. T., & Hiền, P. B. (2022). Nghiên cứu sử dụng vi sinh vật đối kháng trong kiểm soát nấm *Neoscytalidium dimidiatum* gây bệnh đốm nâu trên cây thanh long. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, *01*(134), 95.

Public Health England. (2015). Identification of Pseudomonas species and other NonGlucose Fermenters. UK Standards for Microbiology Investigations. ID 17 Issue 3.

Quyết, N. T., Thành, N. Đ., Bình, T. Q., Hương, B. T. L, Huy, N. Đ., & Hội, P. X. (2018). Xác định khả năng đối kháng của loài *Chaetomium* spp. với nấm *Neoscytalidium dimidiatum* gây bệnh đốm nâu thanh long. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, *11*(96), 111-115.

Sasirekha, B., & Srividya, S. (2016). Siderophore production by *Pseudomonas aeruginosa* FPN06, a biocontrol strain for *Rhizoctonia solani* and *Colletotrichum gloeosporioides* causing diseases in chilli. *Agriculture and Natural Resources*, *50*(4), 250-256. DOI: 10.1016/j.anres.2016.02.003

Soytong, K. (1988). Identification of species of *Chaetomium* in the Philippines and screening for

their biocontrol properties against seed-borne fungi of rice. Agris.

Schaad, N. W., Jones, J. B., & Chun, W. (2001). *Laboratory guide for the identification of plant pathogenic bacteria* (No. Ed. 3). American Phytopathological Society (APS Press).

Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular biology and evolution*, *38*(7), 3022-3027. DOI: 10.1093/molbev/msab120

Townsend, G.R. and Heuberger, J.W. (1943) Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *The Plant Disease Reporter*, 27, 340-343.

Trung, N. T., Cuong, N. T., Thao, N. T., Anh, D. T. M., & Tuyen, D. T. (2020). Elucidation and Identification of an Antifungal Compound from *Pseudomonas aeruginosa* DA3. 1 Isolated from Soil in Vietnam. *Jundishapur Journal of Microbiology*, *13*(10). DOI: 10.5812/jjm.103792.

Tú, M. T. H., Dương, Đ. T. T., Hoa T. T., Hoa, B. T. M., Huyền, P. T., Thành, M. T. L., Tuyên, H., Nhuệ, P. N. (2021). Tuyển chọn chủng vi sinh vật đối kháng vi khuẩn và nấm gây bệnh đốm lá trên cây hoa hồng. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, *8*(129), 68-74.

Yasmin, S., Hafeez, F. Y., & Rasul, G. (2014). Evaluation of *Pseudomonas aeruginosa* Z5 for biocontrol of cotton seedling disease caused by *Fusarium oxysporum*. *Biocontrol science and technology*, *24*(11), 1227-1242. DOI: 10.1080/09583157.2014.932754