



DOI:10.22144/ctujos.2025.234

## ĐỊNH DANH VÀ KHẢ NĂNG TIẾT ENZYME ĐỐI KHÁNG CỦA *Bacillus amyloliquefaciens* BA5ATT VỚI *Phytophthora palmivora* GÂY BỆNH VÀNG LÁ, THỐI RỄ SÀU RIÊNG TẠI XÃ LONG KIẾN, TỈNH AN GIANG

Nguyễn Phú Dũng<sup>1\*</sup>, Đào Thị Mỹ Tiên<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Thái Sơn<sup>1</sup>, Nguyễn Trương Hồng Công<sup>2</sup> và Huỳnh Hữu Lợi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>2</sup>Học viên cao học, Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>3</sup>Sinh viên ngành Bảo vệ thực vật, Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

\*Tác giả liên hệ (Corresponding author): npdung@agu.edu.vn

### Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 18/07/2025

Sửa bài (Revised): 01/12/2025

Duyệt đăng (Accepted): 08/12/2025

**Title:** Identification and antagonistic enzyme secretion ability of *Bacillus* sp. against *Phytophthora palmivora* causing durian yellow leaf and root rot disease in Long Kien commune, An Giang province

**Author:** Nguyen Phu Dung<sup>1</sup>, Dao Thi My Tien<sup>1</sup>, Nguyen Thi Thai Son<sup>1</sup>, Nguyen Truong Hong Cong<sup>2</sup> and Huynh Huu Loi<sup>3</sup>

**Affiliation(s):** <sup>1</sup>An Giang University - Vietnam National University Ho Chi Minh City, Viet Nam; <sup>2</sup>Master students of Crop Science K9, An Giang University - Vietnam National University Ho Chi Minh City, Viet Nam; <sup>3</sup>Students of Plant Protection DH22BT Faculty of Agriculture and Natural Resources, Vietnam National University Ho Chi Minh City, Viet Nam

### TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm tuyển chọn dòng *Bacillus* sp. đối kháng *Phytophthora palmivora* gây vàng lá, thối rễ sâu riêng, đồng thời xác định đặc điểm hình thái và sinh hóa và PCR - giải trình tự để ứng dụng phòng trừ bệnh. Từ 12 mẫu đất vùng rễ sâu riêng đại diện ở xã Long Kiến, tỉnh An Giang, năm dòng vi khuẩn (BA2LK, BA5LK, BA6LK, BA2ATT và BA5ATT) đã được phân lập, các dòng này đều có đặc điểm hình thái và sinh học phù hợp với chi *Bacillus*. Kết quả đối kháng ở *in vitro* cho thấy cả 5 dòng đều có khả năng ức chế sự phát triển sợi nấm của *P. palmivora* từ 2 đến 8 ngày sau đối kháng. Dòng vi khuẩn BA5ATT được định danh là loài *Bacillus amyloliquefaciens*, có hiệu suất đối kháng cao nhất (27,2-47,5%) và duy trì tốt khả năng tiết enzyme cellulase (30,6-55,02 mm) và  $\beta$ -glucanase (36,6-59,74 mm) mạnh từ 3 đến 9 ngày sau cấy. Đây là tác nhân sinh học tiềm năng trong kiểm soát bệnh hại sâu riêng.

**Từ khóa:** *Bacillus amyloliquefaciens*, Bệnh vàng lá và thối rễ sâu riêng, cellulase, *Phytophthora palmivora*,  $\beta$ -glucanase

### ABSTRACT

This study aimed to select *Bacillus* sp. strains antagonistic to *Phytophthora palmivora*, the causal agent of durian leaf yellowing and root rot diseases, and to identify their morphological and biochemical characteristics, and to perform PCR-sequencing for application in disease control. Five bacterial strains (BA2LK, BA5LK, BA6LK, BA2ATT and BA5ATT) were isolated from 12 durian rhizosphere soil samples in Long Kien commune, An Giang province, all of which showed morphological and biological characteristics consistent with the genus *Bacillus*. *In vitro* antagonism tests showed that all five strains inhibited the mycelium growth of *P. palmivora* from 2 to 8 days after inoculation. Among them, strain BA5ATT was identified as *Bacillus amyloliquefaciens*, exhibiting the highest antagonistic efficiency (27.2-47.5%) and consistently strong production of cellulase (30.6-55.02 mm) and  $\beta$ -glucanase (36.6-59.74 mm) from 3 to 9 days after inoculation. This strain was a promising biocontrol agent for managing durian leaf yellowing and root rot diseases.

**Keywords:** *Bacillus amyloliquefaciens*, cellulase, durian yellow leaf and root rot disease, *Phytophthora palmivora*,  $\beta$ -glucanase

## 1. GIỚI THIỆU

Sầu riêng (*Durio zibethinus*) là cây ăn quả đặc sản có giá trị kinh tế cao, được trồng rộng rãi ở đồng bằng sông Cửu Long nhờ điều kiện tự nhiên thuận lợi. Khu vực này có các tỉnh trồng nhiều gồm Tiền Giang (13.500 ha), Vĩnh Long (2.888 ha), Bến Tre (1.968 ha) với đa dạng giống lớn, phổ biến nhất là Ri6, Monthong và chuông bò (Vo et al., 2021; Do et al., 2021; Tran et al., 2019), góp phần đưa sầu riêng trở thành cây trồng chủ lực của vùng. Tuy nhiên, các bệnh vàng lá, thối rễ và thối thân do *Phytophthora*, *Phytophthium* và *Fusarium* hiện được xem là những bệnh quan trọng nhất trên sầu riêng, gây suy giảm sinh trưởng, thối mục hệ rễ và chết cây hàng loạt (Nguyen et al., 2025; Kumar et al., 2023). Kết quả từ các nghiên cứu được thực hiện trong giai đoạn 2023 – 2025 cho thấy mức thiệt hại kinh tế có thể đạt 20 – 25% sản lượng ở những vùng trồng thâm canh, đặc biệt dưới điều kiện ẩm độ cao thuận lợi cho nấm đất phát triển (Suriyarachchi et al., 2025; Drenth & Guest, 2004). Để phòng trị các bệnh này nhiều loại thuốc hóa học được sử dụng nhưng hiệu quả chưa đạt kỳ vọng, đồng thời việc lạm dụng thuốc hóa học trong sầu riêng như phun quá mức và sai kỹ thuật, dẫn tới tồn dư hóa chất trong quả/đất, ô nhiễm môi trường, ảnh hưởng sức khỏe người trồng và làm suy yếu khả năng xuất khẩu (Nguyen et al., 2021). Trước thực trạng đó, việc **ứng dụng vi sinh vật đối kháng**, đặc biệt là **vi khuẩn *Bacillus***, đang được quan tâm (Nguyen, 2022). Nhiều loài hoặc chủng *Bacillus* spp. được chứng minh là sản sinh kháng sinh hoặc enzyme, với hơn 60 dạng chất kháng sinh khác nhau đã được xác định (Compant et al., 2005). Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm tìm hiểu việc ứng dụng **vi khuẩn *Bacillus* sp. đối kháng** nấm gây bệnh trên sầu riêng, hướng đến giảm dần việc sử dụng thuốc bảo vệ thực vật.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nguồn nấm *Phytophthora palmivora* gây bệnh vàng lá, thối rễ sầu riêng đã được nghiên cứu chi tiết về đặc điểm sinh học, định danh, cung cấp và lưu giữ tại phòng thí nghiệm bệnh cây, Khoa Nông nghiệp – Tài nguyên thiên nhiên, Trường Đại học An Giang. Các dòng vi khuẩn *Bacillus* sp. (BA2LK, BA5LK, BA6LK, BA2ATT và BA5ATT) được phân lập trên các mẫu đất thu tại vùng rễ sầu riêng ở xã Long Kiên, tỉnh An Giang theo phương pháp cấy trái mẫu ở các nồng độ đã pha loãng trái trên môi trường Luria Bertani (LB) - agar, mô tả theo

định danh của Logan and De Vos (2009), Lawrence (2012), Abdulkadir and Waliyu (2012).

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Định danh hình thái các dòng vi khuẩn *Bacillus* sp.

Việc quan sát hình dạng các dòng vi khuẩn đã phân lập, nuôi cấy (ở nhiệt độ 30 – 37°C trong 48-72 giờ) và làm thuần trên môi trường Tryptic Soy Agar (TSA) được thực hiện bằng cách cố định trên lam và soi dưới vật kính hệ dầu (Tran et al., 2018). Gram được nhuộm theo Lawrence (2012) với crystal violet, lugol, cồn 95%, safranin để phân biệt Gram (+) và (-). Phản ứng Catalase được tiến hành bằng cách nhỏ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% lên khuẩn lạc, sủi bọt là phản ứng (+) (Pham et al., 2021). Việc thử phản ứng Oxidase với một ít vi khuẩn làm giấy tẩm thuốc chuyển đen là phản ứng (+) (Pham et al., 2021). Phản ứng KOH được thực hiện qua việc trộn vi khuẩn với KOH 3%, quan sát có nhớt là Gram (-), không nhớt là Gram (+) (Nguyen, 2015).

#### 2.2.2. Khả năng đối kháng của các dòng vi khuẩn với nấm gây bệnh

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 nghiệm thức tương ứng 5 dòng vi khuẩn *Bacillus* sp. (BA2LK, BA5LK, BA6LK, BA2ATT và BA5ATT) đã phân lập, làm thuần trên môi trường LB và nuôi cấy nấm gây bệnh trên môi trường PDA, 5 lần lặp lại, 3 đĩa/dòng. Sau 2 ngày nuôi cấy, khoan nấm gây bệnh có đường kính 5 mm được chuyển sang đĩa Petri chứa môi trường PDA và cách thành đĩa 1 cm, sau đó cấy 1 đường vi khuẩn ở phía đối diện cách thành đĩa 2 cm. Ở nghiệm thức đối chứng chỉ cấy khoan nấm bệnh và cách thành đĩa 1 cm (Shouan et al., 2010). Hiệu suất đối kháng (HSDK) được tính theo công thức của Shouan et al. (2010):  $I = [(C-T)/C] \times 100$ , trong đó: I là HSDK của vi khuẩn, C là đường kính tán nấm phát triển trong công thức đối chứng và T là đường kính tán nấm phát triển về phía vi khuẩn, đánh giá tại các thời điểm 2, 4, 6, 8 ngày. Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel và SAS.

#### 2.2.3. Định danh dòng vi khuẩn đối kháng bằng biện pháp sinh học phân tử

Dòng vi khuẩn đối kháng mạnh nhất được chọn và gửi định danh tại Công ty TNHH DNA Sequencing (Cần Thơ). Vùng gen 16S rDNA được khuếch đại bằng PCR từ DNA tổng số tách chiết theo phương pháp Packeiser et al. (2013), cặp mồi 27F và 1492R đã được sử dụng. Trình tự nucleotide được so sánh với cơ sở dữ liệu GenBank qua công

cụ BLAST (NCBI) và phân tích cây phả hệ bằng phần mềm MEGA 11.

2.2.4. *Đánh giá khả năng sản sinh enzyme đối kháng của Bacillus sp.*

*Khảo sát khả năng tiết enzyme cellulase (CMC):* Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 lần lặp lại, mỗi nghiệm thức là một dòng vi khuẩn. Môi trường kiểm tra hoạt tính cellulase được chuẩn bị và mẫu giấy thấm được nhúng vào huyền phù vi khuẩn ( $10^8$  cfu/ml) và cấy 3 điểm trên mỗi đĩa thí nghiệm, sau đó ủ ở nhiệt độ phòng. Sau ủ, các đĩa được tráng dung dịch Lugol trong 5 phút. Vùng không màu quanh khuẩn lạc cho thấy khả năng phân giải cellulose (Saroj et al., 2018). Đường kính vòng phân giải (ĐKVPG) được đo vào 3, 5, 7 và 9 ngày sau thí nghiệm (NSTN), vùng phân giải là khu vực không bắt màu với Lugol 1%.

*Khảo sát khả năng tiết enzyme  $\beta$ -glucanase:* Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 lần lặp lại, mỗi nghiệm thức là một dòng vi khuẩn. Theo phương pháp của Renwick et al. (1991), *Bacillus sp.* được nuôi cấy trong vòng 6 ngày ở môi trường TSA, thu bào tử bằng nước cất vô trùng, lọc qua vải lọc tạo huyền phù, pha loãng và điều chỉnh mật số về  $10^8$  cfu/ml. Huyền phù vi khuẩn *Bacillus sp.* được tẩm bằng giấy thấm ( $r = 5$  mm) lên đĩa chứa môi trường  $\beta$ -glucan, mỗi đĩa 3 điểm cấy. Việc ủ được tiến hành ở nhiệt độ phòng, tại các thời điểm ghi nhận chỉ tiêu, tráng đĩa bằng dung dịch Congo red 0,6%, rửa lại bằng nước cất vô trùng. ĐKVPG  $\beta$ -glucanase (vùng trong suốt) được đo vào 11, 13 và 15 NSTN bằng thuốc thử Congo – red 0,6%.

2.2.5. *Xử lý số liệu*

Số liệu thí nghiệm được phân tích kiểm định ANOVA bằng phần mềm SAS dựa trên phương pháp kiểm định Duncan.

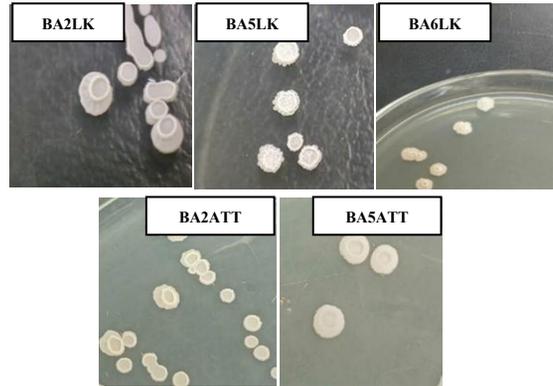
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. *Phân lập và định danh hình thái dòng vi khuẩn đối kháng*

3.1.1. *Kết quả phân lập*

Từ 12 mẫu đất vùng rễ sâu riêng tại 4 vườn thuộc xã Long Kiên, tỉnh An Giang (xã Long Kiên và An Thạnh Trung, huyện Chợ Mới, tỉnh An Giang cũ), 5 dòng *Bacillus sp.* đã được phân lập, bao gồm: BA2LK, BA5LK, BA6LK, BA2ATT và BA5ATT. Các dòng có đặc điểm khuẩn lạc khác nhau trên môi trường LB (Hình 1) qua hình thái khuẩn lạc xác định dưới kính hiển vi quang học theo mô tả định danh của Logan and De Vos (2009). Các mẫu đều có hình dạng tròn, màu sắc dao động từ trắng sữa đến trắng

ngà/kem, thường có vòng đồng tâm (nhô hoặc lõm nhẹ), bề mặt có thể bóng, hơi nhẵn đến thô sần, rìa thường gợn sóng hoặc có răng cưa, đôi khi chia thùy.



Hình 1. Đặc điểm khuẩn lạc của các dòng vi khuẩn *Bacillus sp.*

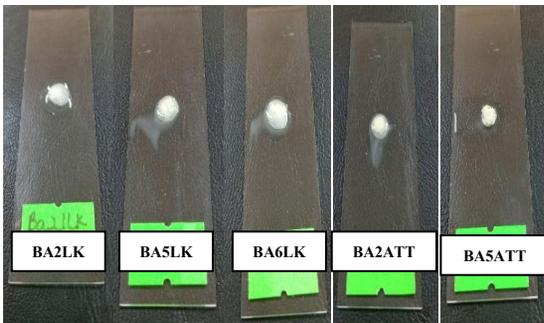
3.1.2. *Kết quả định danh hình thái của các dòng Bacillus sp.*

Bảng 1. Kết quả khảo sát hình thái và nhuộm Gram của 5 dòng vi khuẩn

Tên dòng	Hình dạng và sự bắt màu	Kích thước tế bào
BA2LK		
BA5LK		
BA6LK		
BA2ATT		
BA5ATT		

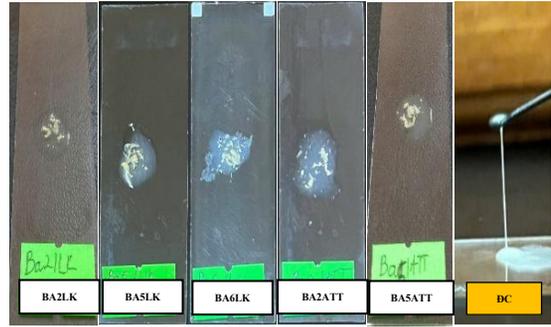
**Quan sát hình thái tế bào và nhuộm Gram:** Các dòng vi khuẩn sau khi làm thuần được nuôi cấy trên môi trường LB ở nhiệt độ phòng trong 72 giờ, sau đó tiến hành nhuộm Gram. Phương pháp này giúp phân loại vi khuẩn theo thành tế bào và quan sát hình thái dưới kính hiển vi. Kết quả nhuộm được mô tả ở Bảng 1 cho thấy tất cả dòng vi khuẩn đều bắt màu tím, chứng tỏ là vi khuẩn Gram dương, có thành tế bào chứa lớp peptidoglycan dày. Tế bào có hình que, hai đầu tròn – đặc trưng của chi *Bacillus*, với kích thước dài từ 3,2 đến 4,39  $\mu\text{m}$ . Về cách sắp xếp: BA2LK, BA6LK, BA5ATT chủ yếu đứng đơn lẻ, trong khi BA5LK và BA2ATT thường tạo chuỗi ngắn. Kết quả này phù hợp với mô tả của Holt et al. (1994) về đặc điểm hình thái của *Bacillus*.

**Kết quả phản ứng catalase:** Catalase là enzyme giúp phân hủy hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) thành nước và oxy, bảo vệ tế bào vi khuẩn khỏi stress oxy hóa. Nhiều vi khuẩn Gram dương, trong đó có *Bacillus*, thường có catalase dương tính (Madigan et al., 2018). Thử nghiệm catalase được tiến hành bằng cách nhỏ KOH 3% lên mẫu vi khuẩn trên lam kính. Kết quả cho thấy cả 5 dòng vi khuẩn (BA2LK, BA5LK, BA6LK, BA2ATT, BA5ATT) đều sinh bọt khí, chứng tỏ có phản ứng catalase dương tính (Hình 2).



**Hình 2. Kết quả phản ứng catalase của các dòng vi khuẩn**

**Phản ứng KOH (3%):** Phản ứng KOH là phương pháp hỗ trợ xác định nhanh tính chất Gram của vi khuẩn. Vi khuẩn Gram âm có thành tế bào mỏng sẽ bị KOH phá vỡ, giải phóng DNA tạo dịch nhớt có thể kéo sợi. Ngược lại, vi khuẩn Gram dương không tạo dịch nhớt (Do, 2008). Kết quả cho thấy cả 5 dòng vi khuẩn phân lập đều không tạo dịch nhớt khi phản ứng với KOH 3%, chứng tỏ là vi khuẩn Gram dương (Hình 3). Kết quả được khẳng định khi so sánh với đối chứng là vi khuẩn Gram âm, vốn tạo dịch nhớt rõ rệt trong cùng điều kiện thử nghiệm.



**Hình 3. Kết quả phản ứng KOH**

Tóm lại, cả 5 dòng vi khuẩn phân lập đều mang đặc trưng của vi khuẩn *Bacillus*, cụ thể khuẩn lạc hình tròn, màu trắng đến trắng ngà, bề mặt khô nhẵn, nhô cao, rìa chia thùy hoặc răng cưa. Tế bào hình que, hai đầu tròn, Gram dương (bắt màu tím), sắp xếp đơn lẻ hoặc chuỗi ngắn. Phản ứng catalase dương tính (sinh bọt) cho thấy có khả năng sản sinh enzyme catalase. Phản ứng KOH âm tính, không tạo dịch nhớt, khẳng định tính chất Gram dương của các dòng vi khuẩn. Các đặc điểm hình thái và phản ứng sinh hóa của các dòng vi khuẩn phân lập hoàn toàn phù hợp với mô tả vi khuẩn *Bacillus* trong nghiên cứu của Tran (2024), bao gồm: khuẩn lạc trắng đến trắng đục, rìa răng cưa, bề mặt khô nhẵn; tế bào hình que, Gram dương và phản ứng catalase dương tính.

### 3.2. Khả năng đối kháng của các dòng vi khuẩn *Bacillus* spp. với *Phytophthora* sp. gây bệnh ở điều kiện phòng thí nghiệm

Các thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp đối kháng trực tiếp trên môi trường PDA, kết quả cho thấy HSDK của các dòng vi khuẩn được phân lập dao động từ 5,15 đến 47,5% khác biệt có ý nghĩa thống kê 1% kể từ 2 đến 8 ngày sau đối kháng (NSĐK) và được mô tả chi tiết ở Bảng 2 và Hình 4. Cụ thể, HSDK của các dòng vi khuẩn ở 2 NSĐK dao động từ 5,15 đến 27,21%, dòng vi khuẩn BA5ATT cao nhất (27,21%), kế đến là BA2LK (21,32%) và thấp nhất là BA6LK (5,15%). Từ 4 đến 6 NSĐK, HSDK tăng từ 21,87 lên 47,5% với BA5ATT vẫn cao nhất (42,58 – 47,5%), kế đến là BA2LK và BA2ATT (36,72 – 44,64%), thấp nhất vẫn là BA6LK (21,87 – 25%). Đến 8 NSĐK, HSDK giảm nhẹ, còn 24,29 – 46,43%. BA5ATT tiếp tục cao nhất (46,43%), BA2LK và BA2ATT xếp sau (42,5 – 43,21%), thấp nhất là BA6LK (24,29%). Kết quả chứng tỏ dòng vi khuẩn BA5ATT luôn thể hiện khả năng đối kháng cao nhất, trong khi BA6LK luôn thấp nhất ở cả ba thời điểm.

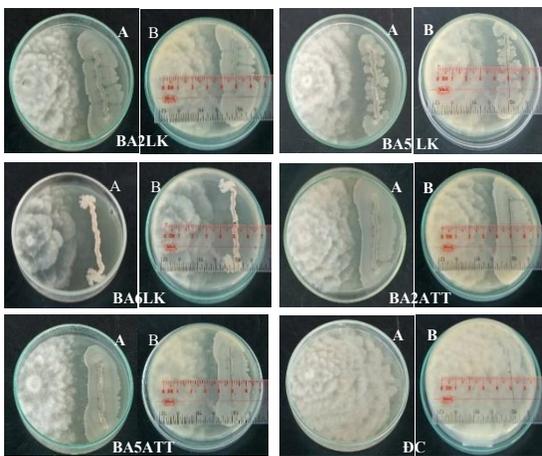
Kết quả phân tích cho thấy dòng BA5ATT cho hiệu quả đối kháng cao và ổn định nhất từ 2 đến 8

NSDK, phù hợp với các nghiên cứu trước đây. Kết quả nghiên cứu của Nguyen et al. (2023) cho thấy chủng *Bacillus siamensis* (CT7) có khả năng ức chế nấm *P. palmivora* cao nhất (36,5 – 59,7%). Tương tự, Nguyen et al. (2018) phân lập 23 chủng vi khuẩn nội sinh từ rễ hồ tiêu, trong đó LD18 (gần với *Bacillus sonorensis*) có khả năng đối kháng *Phytophthora capsici*. Ngoài ra, Rabbee et al. (2019) cũng ghi nhận *Bacillus velezensis* có khả năng kháng *P. capsici*, ứng dụng hiệu quả trong kiểm soát bệnh thối rễ trên ớt.

**Bảng 2. Hiệu suất đối kháng (%) của các dòng vi khuẩn đối với nấm bệnh**

Thí nghiệm	Hiệu suất đối kháng (%) của các dòng vi khuẩn			
	2	4	6	8
	NSDK	NSDK	NSDK	NSDK
BA2LK	21,32 <sup>b</sup>	39,06 <sup>b</sup>	44,64 <sup>b</sup>	43,21 <sup>b</sup>
BA5LK	12,50 <sup>c</sup>	31,25 <sup>c</sup>	34,29 <sup>c</sup>	33,57 <sup>c</sup>
BA6LK	5,15 <sup>d</sup>	21,87 <sup>d</sup>	25,00 <sup>d</sup>	24,29 <sup>d</sup>
BA2ATT	16,17 <sup>c</sup>	36,72 <sup>b</sup>	43,21 <sup>b</sup>	42,50 <sup>b</sup>
BA5ATT	27,21 <sup>a</sup>	42,58 <sup>a</sup>	47,50 <sup>a</sup>	46,43 <sup>a</sup>
CV (%)	17,3	6,6	6,4	4,5
Mức ý nghĩa	**	**	**	**

Ghi chú: Trong cùng một cột, những số có chữ theo sau khác nhau thì có khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1% (\*\*); NSDK: Ngày sau đối kháng.



**Hình 4. Hiệu quả đối kháng ở thời điểm 4 NSDK**

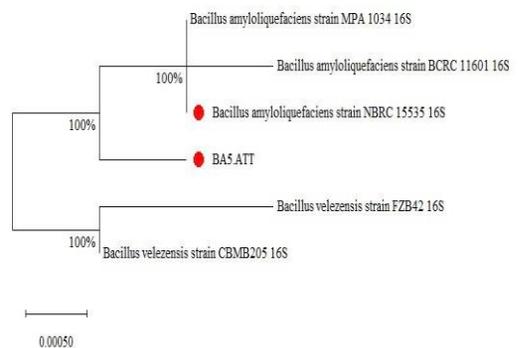
Ghi chú: A là mặt trước của đĩa petri và B là mặt sau của đĩa petri.

### 3.3. Định danh dòng vi khuẩn đối kháng bằng biện pháp sinh học phân tử

Dòng vi khuẩn BA5ATT có hiệu quả đối kháng cao nhất được lựa chọn đại diện để định danh loài qua giải trình tự gen. Kết quả kích thước của dòng

vi khuẩn đối kháng BA5ATT (1.415 nucleotide), các sản phẩm được phân tích trình tự và so sánh với gen 16S RNA của các dòng vi khuẩn khác trên NCBI - Blast cho thấy, dòng vi khuẩn BA5ATT có độ tương đồng 99,79 - 99,86% (Hình 5) với trình tự gen của 5 loài trong chi *Bacillus* [*Bacillus amyloliquefaciens* strain NBRC15535 (NR041455.1), *Bacillus amyloliquefaciens* MPA1034 (NR117946.1), *Bacillus amyloliquefaciens* strain BCRC11601 (NR116022.1), *Bacillus velezensis* strain CBMB205 (NR116240.1) và *Bacillus velezensis* strain FZB42 (NR075005.1)].

Các vi khuẩn vùng rễ thuộc chi vi khuẩn *Bacillus* bao gồm nhiều loài như *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. pumilus*, *B. maycoides*, *B. pastueri*, *B. sphaericus*, có thể sản sinh nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học khác nhau và có khả năng ức chế nhiều loại mầm bệnh trên nhiều loại cây trồng (Gnanamanickam, 2009; Govindasamy et al., 2010; Narayanasamy, 2013). Do dòng vi khuẩn đối kháng BA5ATT có quan hệ chặt chẽ với chủng *Bacillus amyloliquefaciens* strain NBRC15535 với độ tương đồng cao 99,86% nên được đặt tên là *Bacillus amyloliquefaciens* BA5ATT.



**Hình 5. Cây phả hệ của loài vi khuẩn *Bacillus amyloliquefaciens* BA5ATT**

### 3.4. Khảo sát khả năng tiết enzyme phân giải của dòng vi khuẩn *Bacillus* triển vọng

Do có khả năng đối kháng mạnh và ổn định, dòng BA5ATT được chọn để khảo sát khả năng tiết enzyme phân giải. Hai dòng có đối kháng thấp nhất, BA5LK và BA6LK, được chọn làm đối chứng để so sánh.

#### 3.4.1. Khả năng tiết enzyme cellulase

Theo Tran (2024), cellulose là thành phần chính của thành tế bào nấm, do đó vi khuẩn đối kháng tiết

enzyme cellulase có thể phân hủy thành tế bào, ức chế nấm gây bệnh. Cơ chế này làm giảm khả năng xâm nhiễm và hỗ trợ cây trồng phát triển. Nhờ khả năng tiết enzyme mạnh, *Bacillus* được ứng dụng rộng rãi trong sản xuất chế phẩm sinh học nông nghiệp.

Kết quả ở Bảng 3, Hình 6 và Hình 7 cho thấy ở 3 NSTN, ĐKVPG của 3 dòng vi khuẩn khảo nghiệm dao động từ 26,67 đến 30,60 mm. Dòng BA5ATT cho ĐKVPG cao nhất (30,60 mm), tiếp theo là BA5LK (28,20 mm) và thấp nhất là BA6LK (26,67 mm). Từ 5 đến 7 NSTN, ĐKVPG tăng lên 33,4–46,74 mm. BA5ATT tiếp tục cao nhất (39,34 – 46,74 mm), trong khi BA5LK và BA6LK dao động từ 33,4 đến 39,48 mm, không khác biệt nhau rõ rệt. Đến 9 NSTN, BA5ATT duy trì ưu thế với ĐKVPG 55,02 mm, tiếp theo là BA5LK (49,34 mm) và thấp nhất vẫn là BA6LK (46,66 mm). Kết quả chứng tỏ BA5ATT có khả năng tiết cellulase mạnh và ổn định nhất, tương quan với hiệu quả đối kháng trước đó.

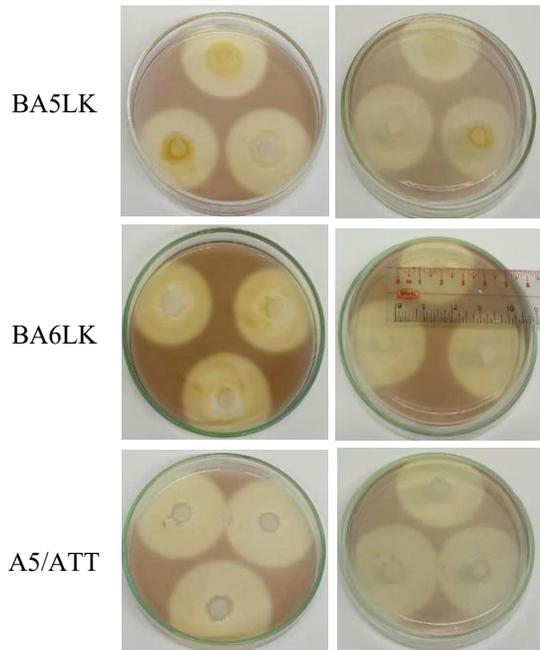
Kết quả cho thấy BA5ATT không chỉ có hiệu quả đối kháng cao mà còn tiết cellulase vượt trội, trong khi hai dòng còn lại có hoạt tính cellulase yếu và không khác biệt rõ rệt. Điều này cho thấy có mối liên hệ chặt chẽ giữa hoạt tính enzyme và khả năng đối kháng. Kết quả phù hợp với nghiên cứu của Pham et al. (2024), khi chủng KL6 thuộc *Bacillus* sp. vừa ức chế nấm *Fusarium* sp. hiệu quả (7,7 – 41,41%) vừa có hoạt tính mạnh đối với cellulase, protease và chitinase, cho thấy tiềm năng ứng dụng trong kiểm soát sinh học.

**Bảng 3. ĐKVPG (mm) enzyme cellulase của các dòng vi khuẩn**

Thí nghiệm	ĐKVPG (mm) enzyme cellulase ở các NSTN			
	3		5	
	NSTN	NSTN	NSTN	NSTN
BA5LK	28,20 <sup>b</sup>	34,06 <sup>b</sup>	39,48 <sup>b</sup>	49,34 <sup>b</sup>
BA6LK	26,67 <sup>c</sup>	33,40 <sup>b</sup>	38,86 <sup>b</sup>	46,66 <sup>c</sup>
BA5ATT	30,60 <sup>a</sup>	39,34 <sup>a</sup>	46,74 <sup>a</sup>	55,02 <sup>a</sup>
CV (%)	1,9	3,0	6,1	2,9
Mức Ý nghĩa	**	**	**	**

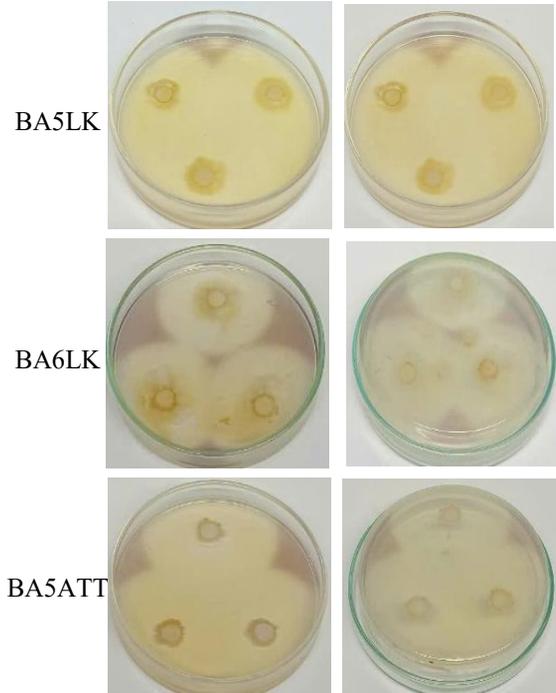
Ghi chú: Trong cùng một cột, những số có chữ theo sau khác nhau thì có khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1% (\*\*); NSTN: Ngày sau thí nghiệm.

**Mặt trước đĩa petri Mặt sau đĩa petri**



**Hình 6. Kết quả khả năng tiết enzyme cellulase của các dòng vi khuẩn ở 5 NSTN**

**Mặt trước đĩa petri Mặt sau đĩa petri**

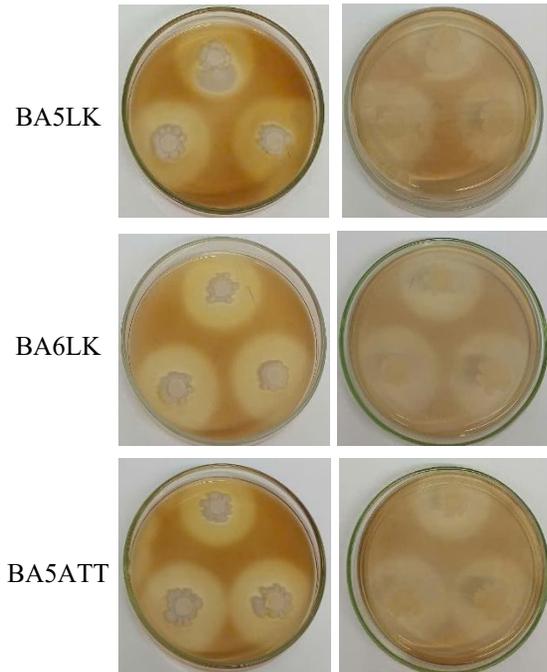


**Hình 7. Kết quả khả năng tiết enzyme cellulase của các dòng vi khuẩn ở 9 NSTN**

3.4.2. Khả năng tiết enzyme  $\beta$ -glucanase

Enzyme  $\beta$ -glucanase, tương tự cellulase, đóng vai trò quan trọng trong cơ chế đối kháng sinh học bằng cách phân giải  $\beta$ -glucan – thành phần chính của thành tế bào nấm, từ đó phá hủy tế bào nấm và tiêu diệt mầm bệnh. Sản phẩm phân giải còn là nguồn carbon và năng lượng cho vi khuẩn, giúp tăng sinh trưởng và cạnh tranh, góp phần ức chế sự phát triển của nấm gây bệnh (Nguyen et al., 2024).

Mặt trước đĩa petri Mặt sau đĩa petri



Hình 8. Kết quả khả năng tiết enzyme  $\beta$ -glucanase của các dòng vi khuẩn ở 3 NSTN

Bảng 4. ĐKVPG (mm) enzyme  $\beta$ -glucanase của các dòng vi khuẩn

Thí nghiệm	ĐKVPG (mm) enzyme $\beta$ -glucanase ở các NSTN		
	3 NSTN	5 NSTN	7 NSTN
BA5LK	34,26 <sup>b</sup>	45,80 <sup>b</sup>	52,18 <sup>b</sup>
BA6LK	33,60 <sup>c</sup>	44,80 <sup>c</sup>	49,34 <sup>c</sup>
BA5ATT	36,60 <sup>a</sup>	47,74 <sup>a</sup>	59,74 <sup>a</sup>
CV (%)	2,1	1,5	1,8
Mức ý nghĩa	**	**	**

Ghi chú: Trong cùng một cột, những số có chữ theo sau khác nhau thì có khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1% (\*\*); NSTN: Ngày sau thí nghiệm.

Cả ba dòng vi khuẩn BA5ATT, BA5LK và BA6LK đều tiết  $\beta$ -glucanase với ĐKVPG tăng dần từ 33,6 đến 59,74 mm trong 3 – 7 NSTN và có khác biệt ý nghĩa ở mức 1% (Bảng 4 và Hình 8). BA5ATT có hoạt tính cao nhất, ổn định và vượt trội so với hai dòng còn lại, phù hợp với hiệu suất đối kháng được ghi nhận trước đó. Kết quả nghiên cứu của Nguyen et al. (2024) ghi nhận hai chủng *Bacillus* sp. 4 và 41 có khả năng tiết  $\beta$ -glucanase, đối kháng với nấm *Colletotrichum fructicola* gây thán thư ớt. *Bacillus* sp. 41 tích lũy enzyme cao nhất (1,202 U/mL sau 12 giờ), hiệu quả kiểm soát nấm đạt 57,39%, cao hơn *Bacillus* sp. 4 (0,85 U/mL và 50,73%). Kết quả các nghiên cứu khác cũng cho thấy  $\beta$ -1,3-glucanase từ các loài *Bacillus* như *B. circulans*, *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, có hiệu quả cao trong kiểm soát nấm gây bệnh (Otsuka et al., 2022; Le, 2023).

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Năm dòng vi khuẩn phân lập được đều có đặc điểm hình thái và sinh học phù hợp với chi *Bacillus* như khuẩn lạc tròn, trắng đến trắng đục, bề mặt khô nhẵn, rìa răng cưa; tế bào Gram dương, hình que, catalase dương và âm tính với KOH 3%. Cả năm dòng đều thể hiện khả năng đối kháng nấm gây bệnh vàng lá, thối rễ sâu riêng trong phòng thí nghiệm. Đặc biệt, dòng BA5ATT được định danh là *Bacillus amyloliquefaciens*, có hiệu suất đối kháng cao nhất (27,2 – 47,5%) và duy trì tốt khả năng tiết enzyme cellulase (30,6 – 55,02 mm) và  $\beta$ -glucanase (36,6 – 59,74 mm) từ 3 đến 9 ngày sau cấy. Đây là tác nhân sinh học tiềm năng trong kiểm soát bệnh vàng lá, thối rễ sâu riêng.

4.2. Kiến nghị

Các nghiên cứu và thử nghiệm *Bacillus amyloliquefaciens* BA5ATT đối kháng với *Phytophthora palmivora* trên sầu riêng qua nhiều vụ và quy mô rộng hơn cần được tiếp tục thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả thực tiễn, hướng đến ứng dụng làm tác nhân sinh học phòng trừ bệnh vàng lá, thối rễ sâu riêng.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO (REFERENCES)

- Abdulkadir, M., & Waliyu, S. (2012). Screening and isolation of the soil bacteria for ability to produce antibiotics. *European Journal of Applied Sciences*, 4(5), 211-215.
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clement, C., & Barka, E. A. (2005). Use of plant growth promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71, 4951–4959. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005>
- Do, H. T. (2008). *Microbiology textbook*. Vietnam Education Publishing House (in Vietnamese).
- Do, K. T., Phan, H. T., Tran, H. G., Nguyen, T. P. A., Tran, M. T., & Nguyen, A. V. (2021). Genetic diversity of durian (*Durio zibethinus*) varieties based on DNA barcode sequences and ISSR molecular markers. *Can Tho University Journal of Science*, 57(4), 109–118 (in Vietnamese). <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2021.119>
- Drenth, A., & Gues, D. I. (2004). *Diversity and Management of Phytophthora in Southeast Asia*. ACIAR Monograph 114, Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, ACT, Australia.
- Gnanamanickam, S. S. (2009). Biological control of rice diseases. In *Progress in Biological Control* (pp. 67–78). Springer Science+Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/978-90-481-2465-7>
- Govindasamy, V., Senthilkumar, M., Magheshwaran, V., Kumar, U., Bose, P., Sharma, V., & Annapurna, K. (2010). *Bacillus and Paenibacillus spp.: Potential PGPR for sustainable agriculture*. In D. K. Maheshwari (Ed.), *Plant growth and health promoting bacteria* (pp. 333–364). Springer-Verlag. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2_15)
- Holt, J. H., Sneath, P. H. & Krieg, N. R. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 9th ed., Lippincott Williams and Wilkins, New York, 192-194.
- Kumar, S., Senevirathne, P., & Jayasinghe, C. (2023). Comprehensive investigation of die-back disease caused by *Fusarium* in durian. *Plants*, 12(17), 3045. <https://doi.org/10.3390/plants12173045>
- Lawrence, A. (2012). *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*. Elsevier's Science & Technology Rights Department. 513 pages.
- Le, D. Q. (2023). Evaluation of antifungal activity against *Corynespora cassiicola* by bacteria isolated from soil in the root zone of cucumber plants. *Biodiversitas*, 24(12), 6584-6591. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d241220>
- Logan, N. A., & De Vos, P. (2009). *Genus I. Bacillus* Cohn 1872, 174AL. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Firmicutes* 3 (January), 31-34.
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2018). *Brock Biology of Microorganisms (15th ed.)*. Pearson Education.
- Narayanasamy, P. (2013). Biological management of Diseases of crops Vol. 1, *Characteristics of Biological control Agents*. Springer Science Business Media Dordrecht, pp. 350 – 378. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-6380-7>
- Nguyen, G. T., Ddao, C. C., Phan, T. T. L., Truong, D. H., & Lam, T. T. K. (2021). *The use and management of pesticides in paddy rice and durian cultivation in Phong Dien District, Can Tho city, Vietnam. NIPES Journal of Science and Technology Research*, 3(3), 1–10 (in Vietnamese).
- Nguyen, H. G., Tran, T. T. T., Dang, U. T. K., & Nguyen, H. V. (2025). Overview of agents causing root and stem rot in durian (*Durio zibethinus* L.) and management strategies. *Vietnam Journal of Agricultural Science*, 23(3), 395–410 (in Vietnamese). <https://doi.org/10.31817/tckhnnvn.2025.23.3.12>
- Nguyen, H. T. T., Nguyen, H. D., Nguyen, H. B., Le, A. T. N., Nguyen, N. T. M., & Tran, D. Q. (2024). Antagonistic activity of *Colletotrichum fruticola* CL5 causing anthracnose on chili fruit by *Bacillus* spp.-produced 1,3-β-glucanase. *Hue University Journal of Science*, 133(3A), 49–60 (in Vietnamese).
- Nguyen, L. T., Le, N. N. Q., Kim, K. T., Le, T. T. C., Lieu, T. B., & Nguyen, P. T. (2023). Evaluation of antagonistic activity against *Phytophthora palmivora* by bacteria isolated from durian rhizosphere soil. *TNU Journal of Science and Technology*, 228(13), 391–398 (in Vietnamese).
- Nguyen, N. T. T. (2015). Study on the development of a multi-strain microbial formulation and evaluation of its effectiveness on the production of pine seedlings (*Pinus merkusii*) in nurseries. *Journal of Natural Science and Technology*, 3/2015, 3960–3968 (in Vietnamese).
- Nguyen, T. T., Tran, H. T. T., Nguyen, T. X., & Nguyen, G. V. (2018). Isolation and biological characterization of endophytic bacterial strains from pepper roots. *Vietnam Journal of Agricultural Science and Technology*, 10(95), 85-90 (in Vietnamese).
- Nguyen, V. X. (2022). *Study on the application of beneficial Bacillus bacterial formulations in peanut production in Quang Nam*. Ho Chi Minh

- City: Nong Lam University, Vietnam (in Vietnamese).
- Otsuka, Y., Sato, K., Yano, S., Kanno, H., Suyotha, W., Konno, H., & Taira, T. (2022). GH-16 type  $\beta$ -1, 3-glucanase from *Lysobacter* sp. MK9-1 enhances antifungal activity of GH-19 type chitinase, and its glucan-binding domain binds to fungal cell-wall. *J Appl Glycosci*, 69(3), 49-56.
- Packeiser, H., Lim, C., Balagurunathan, B., Wu, J., & Zhao, H. (2013). *An extremely simple and effective colony PCR procedure for bacteria, yeasts, and microalgae. Applied Biochemistry and Biotechnology*, 169(2), 695–700 (in Vietnamese). <https://doi.org/10.1007/s12010-012-0043-8>
- Pham, N. T. T., Vu, H. H., Vu, U. N., & Huynh, G. T. (2021). Isolation and selection of actinomycete strains with the ability to degrade organic matter and antibacterial activity for aquaculture applications. *Can Tho University Journal of Science*, 57(Fisheries Special Issue), 99–106. (in Vietnamese) <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2021.069>
- Pham, N. T. A., Nguyen, D. X., Tran, A. T., Vo, T. T. M., Nguyen, K. M., Nguyen, P. N., Tran, T. N. Q., Nguyen, K. L. H., Phan, T. T. H., & Nguyen, M. T. (2024). Evaluation of the antagonistic activity of *Bacillus* sp. against *Fusarium* sp. isolated from *Citrus reticulata* Blanco with root rot and leaf yellowing disease in Lai Vung district, Dong Thap province. In *National Conference on Biotechnology 2024, Genetic Engineering: Biochemical and Protein Technology; Cell Technology; Food and Environmental Microbial Technology; Agricultural Biotechnology; Medical and Pharmaceutical Biotechnology: Regenerative Medicine and Cell Therapy* (pp. 1081–1088). Hue University Publishing House (in Vietnamese).
- Rabbee, M. F., Ali, S., & Baek, K. (2019). Endophyte *Bacillus velezensis* isolated from citrus spp. controls streptomycin-resistant *Xanthomonas citri* subsp. *citri* that causes citrus bacterial canker. *Agronomy*, 9, 470. <https://doi.org/10.3390/agronomy9080470>
- Renwick, A., Campbell, R. & Coe, S. (1991). Assessment of in vivo screening systems for potential biocontrol agents of *Gaeumannomyces graminis*. *Plant Pathology*, 40(4), 524-532. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1991.tb02415.x>
- Saroj, P., Manasa, P., & Narasimhulu, K. (2018). Characterization of thermophilic fungi producing extracellular lignocellulolytic enzymes for lignocellulosic hydrolysis under solid-state fermentation. *Bioresources and Bioprocessing*, 5, 31. <https://doi.org/10.1186/s40643-018-0216-6>
- Shouan, Z., Thomas, L., White, M. C. M., John, A. M., Joseph, W. K., & Waldemar, K. (2010). Evaluation of plant growth-promoting rhizobacteria for control of Phytophthora blight on squash under greenhouse conditions. *Biological Control*, 53, 129-135. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.10.015>
- Suriyarachchi, S., Phuntumart, V., Senevirathna, A. M. W., & Tennakoon, T. M. A. (2025). Management of *Phytophthora* and *Phytophthium* oomycete diseases in durian: A comprehensive review. *Crop Protection*, 180, 106456.
- Tran, C. V., Bui, H. V., Le, L. T. B., Nuyen, H. X., Pham, H. Q., & Bien, M. V. (2018). *Environmental microbiology textbook*. Hanoi University of Science and Technology Publishing House (in Vietnamese).
- Tran, H. K. (2024). *Isolation and selection of Bacillus sp. from mango rhizosphere soil with the ability to inhibit Colletotrichum sp. causing anthracnose on mango* (Master's thesis). Academy of Science and Technology, Ho Chi Minh City, Vietnam (in Vietnamese).
- Tran, H. V., Le, N. T. Y., & Tran, H. S. (2019). Flowering characteristics and fruit development of Ri-6 durian at Cai Lay, Tien Giang. *Can Tho University Journal of Science*, 55(6), 47–55 (in Vietnamese).
- Võ, T. H., Nguyen, D. V., Dao, N. Q., Bui, K. C., & Dao, Y. T. P. (2021). *Durian cultivation handbook adapted to climate change*. Hanoi: Agriculture Publishing House, 84 pages (in Vietnamese).