

SURVEYING THE ABILITY OF *Bacillus velezensis* OM017175 TO CONTROL THE BACTERIAL LEAF SPOT ON BANANA PEPPER (*Capsicum annuum*) IN VITRO AND GREEN HOUSE CONDITIONS

Pham Phu Qui¹, Doan Thi Kieu Tien¹, Le Uyen Thanh^{2*}, Nguyen Thi Thu Nga¹, Ho Le Thi¹

¹College of Agriculture - Can Tho University, ²Dong Thap University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 30/9/2023	The antagonistic ability of <i>Bacillus velezensis</i> OM017175 against <i>Xanthomonas</i> spp. was investigated under <i>in vitro</i> and green-house conditions to find out the effective antagonist population and timing application in controlling bacterial leaf spot on chilli. <i>In vitro</i> , survey results showed that <i>B. velezensis</i> OM017175 treated with inoculum at 10 ⁹ and 10 ⁸ CFU/mL has high antagonistic ability and was similarly with inhibition zone ranged from 5.4 to 4.8 mm, respectively. In green-house conditions, two effective timing applications for antagonistic bacteria were determined at 3 days before pathogen inoculation and 3 days after pathogen inoculation. In addition, two treatments treating antagonistic bacteria with populations of 10 ⁸ or 10 ⁹ CFU/mL at 3 days after pathogen inoculation still had high disease reduction efficiency, ranging from 40.33% to 40.57%. At 3 days before inoculation, the treatment with 10 ⁹ CFU/mL was the highest disease reduction efficiency (40.65%). In general, <i>B. velezensis</i> OM017175 has the ability in controlling bacterial leaf spot disease on pepper, with efficiency depending on population and timing application, and has potential to become a biological control agent.
Revised: 29/11/2023	
Published: 30/11/2023	
KEYWORDS	
<i>Bacillus velezensis</i>	
Bacterial leaf spot	
Bacterial population	
Chilli	
Treating time	
<i>Xanthomonas</i> sp.	

KHẢO SÁT KHẢ NĂNG KIỂM SOÁT BỆNH Đốm LÁ VI KHUẨN (*Xanthomonas* sp.) CỦA *Bacillus velezensis* OM017175 TRÊN CÂY ỚT SỪNG VÀNG (*Capsicum annuum*) Ở ĐIỀU KIỆN *IN VITRO* VÀ NHÀ LƯỚI

Phạm Phú Quý¹, Đoàn Thị Kiều Tiên¹, Lê Uyển Thanh^{2*}, Nguyễn Thị Thu Nga¹, Hồ Lệ Thi¹

¹Trường Nông nghiệp – Đại học Cần Thơ, ²Trường Đại học Đồng Tháp

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT	
Ngày nhận bài: 30/9/2023	Khả năng đối kháng của <i>Bacillus velezensis</i> OM017175 đối với <i>Xanthomonas</i> spp. đã được khảo sát ở điều kiện <i>in vitro</i> và nhà lưới nhằm tìm ra mật số vi khuẩn và thời điểm xử lý có hiệu quả trong kiểm soát bệnh đốm lá vi khuẩn trên cây ớt. Kết quả khảo sát <i>in vitro</i> ghi nhận dòng <i>B. velezensis</i> được xử lý ở mật số 10 ⁸ và 10 ⁹ CFU/mL có khả năng đối kháng cao với tác nhân gây bệnh và đạt bán kính vòng vô khuẩn tương đương nhau (tương ứng 4,8 mm và 5,4 mm). Trong điều kiện nhà lưới, hai thời điểm xử lý vi khuẩn đối kháng được xác định có hiệu quả là 3 ngày trước lây bệnh và 3 ngày sau lây bệnh. Bên cạnh đó, hai nghiệm thức có xử lý vi khuẩn đối kháng với mật số 10 ⁸ và 10 ⁹ CFU/mL ở thời điểm 3 ngày sau lây bệnh vẫn có hiệu quả giảm bệnh cao và tương đương nhau, dao động từ 40,33% đến 40,57%. Ở thời điểm 3 ngày trước lây bệnh, nghiệm thức xử lý với mật số 10 ⁹ CFU/mL có hiệu quả giảm bệnh (40,65%) cao nhất. Nhìn chung, dòng <i>B. velezensis</i> OM017175 có khả năng kiểm soát bệnh đốm lá vi khuẩn, với hiệu quả tùy thuộc vào mật số và thời điểm xử lý, có triển vọng trở thành một tác nhân kiểm soát bệnh sinh học.	
Ngày hoàn thiện: 29/11/2023		
Ngày đăng: 30/11/2023		
TỪ KHÓA		
<i>B. velezensis</i>		
Bệnh đốm lá		
Mật số vi khuẩn		
Cây ớt		
Thời điểm xử lý		
<i>Xanthomonas</i> spp.		

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.8870>

* Corresponding author. Email: luthanh@dthu.edu.vn

1. Giới thiệu

Ớt là cây gia vị được trồng phổ biến ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long, là cây rau ăn trái có giá trị cao ở thị trường trong nước và xuất khẩu [1] và được ưa thích trên khắp thế giới nhờ màu sắc, hương vị và giá trị dinh dưỡng [2]. Tuy nhiên, việc trồng và canh tác với quy mô lớn còn gặp nhiều khó khăn. Hiện tại, việc áp dụng các tiến bộ kỹ thuật trong canh tác cây ớt như kỹ thuật bón phân, kỹ thuật tưới nước và quản lý độ ẩm đất ở các vùng trồng ớt còn hạn chế và ít kinh nghiệm; việc quản lý sâu, bệnh hại luôn gặp nhiều khó khăn, làm cho chất lượng và sản lượng ớt bị ảnh hưởng nghiêm trọng bởi các loại dịch bệnh như: bệnh thán thư, bệnh phấn trắng, bệnh héo xanh, bệnh héo rũ, bệnh thối đọt non, bệnh đốm lá vi khuẩn... [3]. Trong đó, bệnh đốm lá vi khuẩn do chi *Xanthomonas* gây hại nặng vào mùa mưa [4]. Người nông dân hiện nay thường sử dụng thuốc hóa học để phòng trị bệnh mỗi khi có dịch bệnh xảy ra [5]. Việc sử dụng thuốc trừ bệnh hóa học quá nồng độ và liều lượng đã dẫn đến nhiều tác động không mong muốn như ô nhiễm môi trường, ảnh hưởng sức khỏe cộng đồng, ảnh hưởng chất lượng nông sản và có thể phát sinh tính kháng thuốc của tác nhân gây bệnh. Phòng trừ sinh học là một biện pháp thay thế đầy triển vọng vì có nhiều ưu điểm về tính bền vững thân thiện và an toàn với môi trường [6]. Trong đó, kiểm soát sinh học bằng cách sử dụng vi sinh vật và các sản phẩm của chúng đã được chứng minh là có hiệu quả trong việc kiểm soát các loài *Xanthomonas* spp. [7], [8]. *Bacillus* là dòng vi khuẩn có triển vọng cao nhất cho ứng dụng trong sản xuất do chúng có khả năng hình thành nội bào tử, có thể sống sót lâu dài trong môi trường [9]. Đây là một giải pháp bảo vệ cây trồng cho hiệu quả bền vững, thân thiện với con người và môi trường [10]. Trong nghiên cứu này, việc đánh giá hiệu quả kiểm soát bệnh của dòng vi khuẩn đối kháng triển vọng *Bacillus velezensis* OM017175 [11] chống lại dòng *Xanthomonas* spp. gây bệnh đốm lá trên cây ớt đã được thực hiện ở điều kiện *in vitro* và nhà lưới nhằm chọn ra được mật số và thời điểm xử lý vi khuẩn đối kháng triển vọng nhất nhằm đạt được hiệu quả kiểm soát bệnh cao nhất trong phòng trừ bệnh đốm lá vi khuẩn trên cây ớt.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Nguồn vi khuẩn *Xanthomonas* sp. VL2 gây bệnh đốm lá trên ớt và dòng vi khuẩn đối kháng *Bacillus velezensis* OM017175 được lưu trữ tại Phòng thí nghiệm Bệnh cây, Khoa Bảo vệ Thực vật, Trường Nông nghiệp, Đại học Cần Thơ.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Khảo sát khả năng đối kháng của vi khuẩn *Bacillus velezensis* OM017175 với vi khuẩn *Xanthomonas* sp. VL2 trong điều kiện *in vitro*

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, một nhân tố, mỗi nghiệm thức gồm 5 lần lặp lại, tương ứng với mỗi đĩa Petri là một lần lặp lại. Hút 10 μ L huyền phù *Xanthomonas* sp. VL2 ở mật số 10^8 CFU/mL từ khuẩn lạc được nuôi sau 48 giờ được bổ sung vào đĩa petri, có kết hợp đổ 10 mL môi trường King's B ở 50°C, dùng dụng cụ đục 3 giếng (d=5 mm) trên đĩa. Khuẩn lạc *B. velezensis* sau nuôi cấy trong 24 giờ trên môi trường King's B được pha tạo huyền phù lần lượt ở 3 mật số 10^7 , 10^8 , 10^9 CFU/mL. Tiếp theo, hút 10 μ L huyền *B. velezensis* OM017175 ở mỗi mật số chuyển vào các giếng tương ứng. Đo bán kính vòng vô khuẩn vào các ngày thứ nhất, thứ ba sau khi chủng vi khuẩn vào giếng.

2.2.2. Khảo sát hiệu quả kiểm soát bệnh đốm lá vi khuẩn trên cây ớt của dòng *Bacillus velezensis* OM017175 theo các thời điểm xử lý ở điều kiện nhà lưới

Thí nghiệm được bố trí khối hoàn toàn ngẫu nhiên hai nhân tố, trong đó nhân tố (A) là mật số vi khuẩn đối kháng xử lý gồm ba mật số 10^7 , 10^8 , 10^9 (CFU/mL) và đối chứng không xử lý vi khuẩn, nhân tố (B) thời điểm xử lý vi khuẩn đối kháng gồm 7 ngày trước khi lây bệnh, 3 ngày

trước khi lây bệnh, 3 ngày sau khi lây bệnh và 7 ngày sau khi lây bệnh. Thí nghiệm gồm tổng cộng 16 nghiệm thức (NT), với 3 lần lặp lại, mỗi lặp lại trên 1 chậu với 3 cây/chậu.

Cách thức tiến hành:

Chuẩn bị cây ốt: Thí nghiệm được thực hiện trên giống ốt sùng vàng. Ốt được trồng trong chậu có đường kính 23 cm, chiều cao 18 cm, khi cây được 8 lá thật thì bắt đầu làm thí nghiệm.

Chuẩn bị nguồn vi khuẩn gây bệnh: Dòng *Xanthomonas* sp. VL2 được nuôi cấy trên môi trường King's B trong 48 giờ, sau đó cho nước cất vô trùng vào đĩa và thu huyền phù vi khuẩn, pha loãng để tạo huyền phù vi khuẩn đến mật số 10^8 CFU/mL.

Chuẩn bị nguồn vi khuẩn đối kháng: Dòng vi khuẩn đối kháng *B. velezensis* OM017175 được nuôi trên Nutrient agar trong 24 giờ, sau đó thu huyền phù vi khuẩn, tiến hành pha loãng về 3 mật số 10^7 , 10^8 , 10^9 CFU/mL.

Phương pháp xử lý vi khuẩn đối kháng: Phun huyền phù từng mật số tương ứng với từng nghiệm thức (mật độ và thời điểm xử lý vi khuẩn tương ứng) vào tán lá ốt (5mL/cây) vào buổi chiều sau 17 giờ.

Phương pháp lây bệnh nhân tạo: Vi khuẩn gây bệnh với mật số 10^8 CFU/mL được phun lên lá cây ốt, thể tích 5 mL/cây. Các cây sau khi lây bệnh được ủ trong phòng ủ bệnh ở 25°C trong 2 ngày, sau đó được chuyển vào nhà lưới.

Chỉ tiêu ghi nhận:

Ghi nhận mức độ bệnh theo QCVN 01– 38: 2010/BNNT (phụ lục 2, mục I, bệnh trên lá) [12]. Tỷ lệ bệnh; Chỉ số tích lũy bệnh theo thời gian AUDPC được tính theo công thức của Jeger và Viljanen-Rollinson [13]. Cụ thể như sau:

$$+ \text{Tỷ lệ bệnh (\%)} = (\text{Tổng số lá cây bị bệnh}) / (\text{Tổng số lá cây điều tra}) \times 100. \quad (1)$$

+ Tích lũy bệnh theo thời gian AUDPC (Area Under Disease Progressive Curve) được tính theo công thức như sau:

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} 0,5[(X_{i+1} + X_i)] \times (t_{i+1} - t_i) \quad (2)$$

Trong đó: i là lần theo dõi bệnh thứ i ; n là tổng số lần theo dõi bệnh; X_i là chỉ số bệnh (%) được ghi nhận ở ngày thứ i ; t_i là thời điểm đánh giá thứ i (tính bằng ngày kể từ ngày đánh giá đầu tiên).

Hiệu quả giảm bệnh được tính theo công thức [14]:

$$HQGB (\%) = [(C - T) : C] \times 100. \quad (3)$$

Trong đó: C là tỷ lệ bệnh ở nghiệm thức chỉ lây nhiễm bệnh dòng *Xanthomonas* spp.; T là tỷ lệ bệnh ở nghiệm thức thí nghiệm có xử lý vi khuẩn đối kháng và lây nhiễm bệnh dòng *Xanthomonas* spp. tương ứng.

2.2.3. Phân tích số liệu

Số liệu được tổng hợp, xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel. Phân tích thống kê ANOVA và so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức bằng phần mềm MSTATC qua phép kiểm định Duncan.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Khảo sát khả năng đối kháng của vi khuẩn *Bacillus velezensis* OM017175 với vi khuẩn *Xanthomonas* sp. VL2 trong điều kiện in vitro

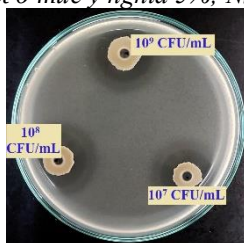
Kết quả khảo sát (Bảng 1) ghi nhận hầu hết các mật số *B. velezensis* OM017175 đều có tính đối kháng với *Xanthomonas* sp. VL2. Ở thời điểm 3 ngày sau khi cấy (NSKC), hai nghiệm thức ở mật số 10^9 CFU/mL (đạt 5,4 mm) và 10^8 CFU/mL (đạt 4,8 mm) có bán kính vòng vô khuẩn tương đương nhau. Như vậy, việc sử dụng mật số vi khuẩn đối kháng ở 10^9 CFU/mL và 10^8 CFU/mL đều cho hiệu quả đối kháng tương tự nhau. Trong khi đó, nghiệm thức với mật số 10^7 CFU/mL đạt bán kính vòng vô khuẩn là 4,4 mm, tương đương với nghiệm thức ở mật số 10^8 CFU/mL và thấp hơn nghiệm thức với mật số 10^9 CFU/mL (Hình 1). Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Lê Uyển Thanh

[11] khi ghi nhận cả ba mật số 10^7 CFU/mL, 10^8 CFU/mL và 10^9 CFU/mL đều có khả năng đối kháng cao với *Xanthomonas* spp. gây bệnh đốm lá trên cây ớt trong điều kiện *in vitro*. Như vậy, kết quả cả ba mật số đều thể hiện khả năng ức chế vi khuẩn *Xanthomonas* spp. là cơ sở tiếp tục đánh giá hiệu quả quản lý bệnh đốm lá ớt ở điều kiện nhà lưới.

Bảng 1. Bán kính vòng vô khuẩn (mm) từ 3 mật số vi khuẩn của dòng *B. velezensis* OM017175 tại hai thời điểm khảo sát

Mật số vi khuẩn <i>B. velezensis</i> OM017175 (CFU/ mL)	Bán kính vòng vô khuẩn (mm)	
	1 NSKC	3 NSKC
10^7	2,20 ^b	4,40 ^b
10^8	3,00 ^{ab}	4,80 ^{ab}
10^9	3,80 ^a	5,40 ^a
Mức ý nghĩa	*	*
CV%	26,53	10,61

Ghi chú: Các số trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi các chữ cái giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê Duncan; *: khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; NSKC: Ngày sau khi cấy.



Hình 1. Khả năng đối kháng của vi khuẩn *B. velezensis* OM017175 với *Xanthomonas* sp. ở thời điểm 3 NSKC

3.2. Khảo sát hiệu quả kiểm soát bệnh đốm lá vi khuẩn trên cây ớt của dòng *Bacillus velezensis* OM017175 theo phương pháp phun lên lá

Kết quả đánh giá hiệu quả kiểm soát bệnh đốm lá ớt sừng vàng của vi khuẩn *Bacillus velezensis* OM017175 ở ba mật số 10^7 CFU/mL, 10^8 CFU/mL và 10^9 CFU/mL với bốn thời điểm xử lý gồm phun vi khuẩn *B. velezensis* OM017175 vào 7 ngày trước khi chủng bệnh (NTLB), 3 NTLB, 3 ngày sau khi chủng bệnh (NSLB), và 7 NSLB được thể hiện qua tỷ lệ bệnh (Bảng 2), hiệu quả giảm bệnh (Bảng 3) và diện tích bên dưới đường cong tiến triển bệnh (AUDPC) (Bảng 4).

3.2.1. Tỷ lệ bệnh

Bảng 2. Tỷ lệ bệnh (%) đốm lá vi khuẩn trên ớt sừng vàng vào thời điểm 20 ngày lây bệnh của các nghiệm thức xử lý vi khuẩn đối kháng *B. velezensis* OM017175 ở các mật số và thời điểm xử lý khác nhau

Mật số vi khuẩn (CFU/mL) (A)	Thời điểm xử lý vi khuẩn đối kháng (B)				TB (A)
	7 NTLB	3 NTLB	3 NSLB	7 NSLB	
10^7	32,92 ^{bc}	26,78 ^e	26,92 ^e	29,69 ^d	29,08 ^B
10^8	34,20 ^b	24,87 ^{ef}	23,03 ^f	31,21 ^{cd}	28,33 ^{BC}
10^9	31,06 ^{cd}	22,72 ^f	22,95 ^f	31,82 ^{bcd}	27,14 ^C
ĐC	40,33 ^a	38,29 ^a	38,65 ^a	40,76 ^a	39,51 ^A
TB (B)	34,63 ^A	28,16 ^B	27,89 ^B	33,37 ^A	
Mức ý nghĩa	F(A)**; F(B) **; F(AxB) **				
CV (%)	3,67				

Ghi chú: Các số trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi các chữ cái giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê Duncan; **: khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; NTLB: Ngày trước lây bệnh; NSLB: ngày sau lây bệnh; ĐC: đối chứng có nhiễm bệnh, không xử lý đối kháng; TB (B): Trung bình thời điểm xử lý; TB (A): Trung bình mật số xử lý.

Tại thời điểm 20 ngày sau lây bệnh (NSLB), kết quả khảo sát khả năng kiểm soát bệnh đốm lá ớt ở 3 mật số của dòng *B. velezensis* OM017175 và 4 thời điểm xử lý (Bảng 2) đã ghi nhận tỷ lệ

bệnh của ba nghiệm thức tương ứng 3 mật số vi khuẩn đối kháng được xử lý đều thấp hơn so với đối chứng. Bên cạnh đó, qua trung bình thời điểm xử lý thì hai thời điểm xử lý ở 3 NTLB và 3 NSLB có tỷ lệ bệnh tương đương, thấp hơn và khác biệt với hai thời điểm xử lý còn lại. Trong đó, nghiệm thức xử lý với mật số 10^9 CFU/ mL (dao động từ 22,72 - 22,95%) và 10^8 CFU/ mL (dao động từ 23,03 - 24,87%) tại hai thời điểm xử lý vi khuẩn đối kháng là 3 NTLB và 3 NSLB có tỷ lệ bệnh thấp nhất so với các nghiệm thức xử lý tại các thời điểm và mật số còn lại. Như vậy, việc xử lý vi khuẩn đối kháng với mật số 10^9 CFU/ mL và 10^8 CFU/mL có thể giảm triệu chứng bệnh khi xử lý tại thời điểm xử lý 3 NTLB hoặc 3 NSLB.

3.2.2. Hiệu quả giảm bệnh

Kết quả phân tích hiệu quả giảm bệnh (HQGB) đã ghi nhận dòng *B. velezensis* OM017175 có thể làm giảm sự gây hại của dòng *Xanthomonas* sp. VL2 gây bệnh đốm lá trên cây ớt tại tất cả các mật số và thời điểm xử lý (Bảng 3). Trong đó, kết quả phân tích trung bình hiệu quả giảm bệnh theo thời điểm xử lý vi khuẩn đối kháng ở 3 NTLB, 3 NSLB (đạt 35,25%, 37,07%) cho thấy đạt HQGB cao nhất và cao hơn so với các nghiệm thức xử lý ở 2 thời điểm 7 NTLB (18,82%), 7 NSLB (24,16%). Như vậy, việc xử lý vi khuẩn đối kháng ở thời điểm 3 NTLB, 3 NSLB sẽ có triển vọng mang lại hiệu quả giảm bệnh nhất.

Phân tích HQGB tại hai thời điểm triển vọng nhất ghi nhận tại thời điểm 3 NTLB, nghiệm thức có xử lý vi khuẩn đối kháng với mật số 10^9 CFU/mL đạt hiệu quả cao hơn các nghiệm thức còn lại. Trong khi đó, tại thời điểm 3 NSLB, các nghiệm thức có xử lý mật số 10^8 CFU/mL và 10^9 CFU/mL đạt hiệu quả tương đương nhau và cao hơn nghiệm thức xử lý ở mật số 10^7 CFU/mL. Nhìn chung, nếu xử lý vi khuẩn đối kháng tại thời điểm 3 NTLB có thể sử dụng mật số 10^9 CFU/mL, còn tại 3 NSLB có thể sử dụng mật số 10^8 CFU/mL nhằm đạt hiệu quả cao nhất. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với nghiên cứu của Lê Uyển Thanh [11] khi ghi nhận các mật số từ 10^7 CFU/mL trở lên đều đạt hiệu quả giảm bệnh đốm lá trên cây ớt.

Bảng 3. Hiệu quả giảm bệnh (%) đốm lá vi khuẩn trên ớt sừng vàng vào thời điểm 20 ngày lây bệnh của các nghiệm thức xử lý vi khuẩn đối kháng *B. velezensis* OM017175 ở các mật số và thời điểm xử lý khác nhau

Mật số vi khuẩn (CFU/mL) (A)	Thời điểm xử lý vi khuẩn đối kháng (B)				TB (A)
	7 NTLB	3 NTLB	3 NSLB	7 NSLB	
10^7	18,33 ^{ef}	30,04 ^{bc}	30,31 ^{bc}	27,17 ^{cd}	26,46 ^B
10^8	15,17 ^f	35,04 ^{ab}	40,33 ^a	23,42 ^{de}	28,49 ^B
10^9	22,94 ^{de}	40,65 ^a	40,57 ^a	21,90 ^{de}	31,52 ^A
TB (B)	18,82 ^C	35,25 ^A	37,07 ^A	24,16 ^B	
Mức ý nghĩa	F(A)**; F(B)**; F(AxB)**				
CV (%)	8,97				

Ghi chú: Các số trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi các chữ cái giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê Duncan; **: khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; NTLB: Ngày trước lây bệnh; NSLB: ngày sau lây bệnh; DC: đối chứng có nhiễm bệnh, không xử lý đối kháng; TB (B): Trung bình thời điểm xử lý; TB (A): Trung bình mật số xử lý.

3.2.3. Chỉ số tích lũy bệnh AUDPC

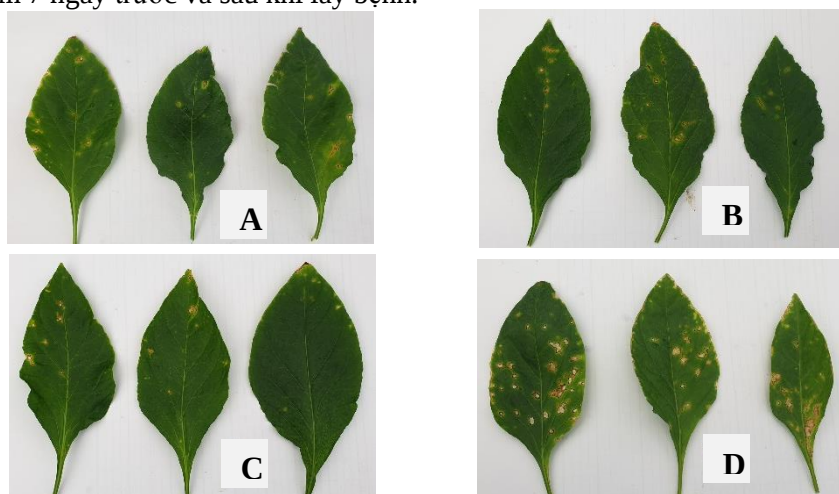
Kết quả phân tích chỉ số tích lũy bệnh (AUDPC) của các nghiệm thức ghi nhận chỉ số AUDPC của các nghiệm thức có xử lý vi khuẩn đối kháng ở ba mật số và ở bốn thời điểm khác nhau đều thấp hơn nghiệm thức đối chứng. Trong đó, trung bình AUDPC của các nghiệm thức tại thời điểm 3 NTLB (327,1), 3 NSLB (320,2) có chỉ số tương đương nhau và thấp hơn so với 2 thời điểm còn lại. Đồng thời, nghiệm thức có xử lý vi khuẩn đối kháng với mật số 10^9 CFU/mL (236,7) tại thời điểm xử lý 3 NSLB có chỉ số AUDPC thấp nhất so với nghiệm thức đối chứng và các nghiệm thức còn lại. Bên cạnh đó, tại thời điểm 3 NTLB, hai nghiệm thức xử lý vi khuẩn đối kháng ở mật số 10^8 CFU/mL và 10^9 CFU/mL đạt hiệu quả tương đương nhau và thấp hơn các nghiệm thức còn lại. Nhìn chung, có thể áp dụng việc xử lý vi khuẩn đối kháng tại 3 NTLB, 3 NSLB sẽ có triển vọng đạt được hiệu quả giảm bệnh cao nhất.

Bảng 4. Chỉ số tích lũy bệnh AUDPC của đốm lá vi khuẩn trên ớt sừng vàng của các nghiệm thức xử lý vi khuẩn đối kháng *B. velezensis* OM017175 ở các mật số và thời điểm xử lý khác nhau qua các thời điểm khảo sát

Mật số vi khuẩn (CFU/mL) (A)	Thời điểm xử lý vi khuẩn đối kháng (B)				TB (A)
	7 NTLB	3 NTLB	3 NSLB	7 NSLB	
10 ⁷	379,0 ^c	299,9 ^e	283,9 ^{ef}	351,6 ^{cd}	328,6 ^B
10 ⁸	366,1 ^c	267,4 ^f	268,5 ^f	355,5 ^{cd}	314,4 ^C
10 ⁹	333,7 ^d	260,2 ^{fg}	236,7 ^g	371,6 ^c	300,5 ^D
ĐC	484,9 ^b	480,8 ^b	491,6 ^{ab}	514,2 ^a	492,9 ^A
TB (B)	390,9 ^A	327,1 ^B	320,2 ^B	398,2 ^A	
Mức ý nghĩa CV (%)	F(A)**; F(B) **, F(AxB) **				3,30

Ghi chú: Các số trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi các chữ cái giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê Duncan; **: khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; NTLB: Ngày trước lây bệnh; NSLB: ngày sau lây bệnh; ĐC: đối chứng có nhiễm bệnh, không xử lý đối kháng; TB (B): Trung bình biện pháp xử lý; TB (A): Trung bình mật số xử lý; AUDPC: chỉ số tích lũy bệnh.

Nhìn chung, qua phân tích tỷ lệ bệnh, hiệu quả giảm bệnh và chỉ số tích lũy bệnh AUDPC ghi nhận dòng vi khuẩn đối kháng có hiệu quả kiểm soát bệnh, giúp giảm bệnh so với các nghiệm thức đối chứng không xử lý vi khuẩn đối kháng. Tuy nhiên, ở từng mật số xử lý và thời điểm xử lý khác nhau được ghi nhận sẽ đạt được hiệu quả khác nhau (Hình 2). Qua tỷ lệ bệnh và hiệu quả giảm bệnh, xử lý vi khuẩn đối kháng ở các mật số 10⁸, 10⁹ CFU/mL đạt hiệu quả tương đương nhau và cao hơn mật số 10⁷ CFU/mL. Đối với thời điểm xử lý 3 NTLB, 3 NSLB đạt hiệu quả cao hơn thời điểm 7 ngày trước và sau khi lây bệnh.



Hình 2. Mức độ bệnh đốm lá vi khuẩn do *Xanthomonas* sp. trên giống ớt sừng vàng của các nghiệm thức ở thời điểm 20 ngày sau khi lây bệnh.

A. 10⁸ CFU/mL - xử lý ở 3 NSLB

B. 10⁹ CFU/mL - xử lý 3 NTLB

C. 10⁹ CFU/mL - xử lý ở 3 NSLB

D. Đối chứng.

Kết quả ghi nhận trên phù hợp với các nghiên cứu khác khi sử dụng các dòng vi khuẩn thuộc chi *Bacillus* trong việc kiểm soát các bệnh trên lá do chi *Xanthomonas* gây ra. Các nghiên cứu này cũng chỉ ra rằng vi khuẩn thuộc chi *Bacillus* đã thể hiện tiềm năng như một tác nhân kiểm soát sinh học chống lại *X. vesicatoria* gây ra trên cây cà chua và cây [15] khi được xử lý dạng đơn lẻ hoặc kết hợp, đã tạo ra hiệu quả giảm bệnh, có thể được lựa chọn phục vụ việc kiểm soát bệnh đốm lá. Với huyền phù của dòng TKS1-1 (*B. subtilis*) nhằm kiểm soát bệnh loét (citrus canker) do *Xanthomonas citri* subsp. *citri* gây ra trên cây có múi ghi nhận có khả năng làm giảm sự phát triển của các triệu chứng bệnh, có thể do giảm sự xâm nhập của mầm bệnh do sự hình thành màng sinh học của các tế bào vi khuẩn *Bacillus* spp. này. Hiệu quả việc áp dụng nội bào tử của dòng *B. subtilis* giúp giảm tỷ lệ bệnh trên bề mặt lá [16].

4. Kết luận

Vi khuẩn *Bacillus velezensis* OM017175 ở ba mật số vi khuẩn đối kháng là 10^7 , 10^8 , 10^9 CFU/mL đều đạt khả năng đối kháng cao trong điều kiện invitro, trong đó mật số 10^9 CFU/mL đối kháng tốt hơn mật số 10^7 CFU/mL. Xử lý vi khuẩn *B. velezensis* OM017175 trên tán lá ớt ở thời điểm 3 ngày trước lây bệnh hoặc 3 ngày sau khi lây bệnh có thể đạt triển vọng kiểm soát bệnh cao nhất. Bên cạnh đó, ở mật số 10^9 CFU/mL và 10^8 CFU/mL được xử lý vào thời điểm 3 NSLB đạt hiệu quả tương tự nhau về hiệu quả giảm bệnh. Trong khi đó, khi xử lý vi khuẩn ở thời điểm 3 NTLB, mật số 10^9 CFU/mL lại cho hiệu quả kiểm soát bệnh cao nhất.

Nhìn chung, dòng *Bacillus velezensis* OM017175 là vi khuẩn đối kháng triển vọng kiểm soát bệnh đốm lá do *Xanthomonas* spp. trên cây ớt. Nghiên cứu cần tiếp tục khảo sát hiệu quả của vi khuẩn ở điều kiện ngoài đồng và tính an toàn đối với môi sinh của vi khuẩn trước khi ứng dụng thực tế.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được hỗ trợ bởi đề tài mã số B2023.SPD.05.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] A. T. P. Mai, *Vegetables and vegetable growing*. Hanoi Agriculture Publishing House, Hanoi, 1996.
- [2] L. Sahitya, D. R. Sri, and M. S. R. Krishna, "Anthracnose, a Prevalent Disease in Capsicum," *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, vol. 5, no. 3, 2014, Art. no. 1583.
- [3] N. H. Tran and T. L. T. Nguyen, "Research on production of *Trichoderma* sp. products for controlling the anthracnose disease caused by *Colletotrichum* spp. on chili (*Capsicum frutescens*)," *CTU Journal of Science*, vol. 45, pp. 86-92, 2016.
- [4] T. B. Duong, *Techniques for growing tomatoes and cucumbers*. Phuong Dong Publishing House, 2015.
- [5] T. L. Nguyen, "Isolation and selection of antagonistic bacteria from rhizosphere soil against *Colletotrichum* sp. causing anthracnose on chilli," *CTU Journal of Science*, vol. 47, pp. 16-23, 2016.
- [6] H. S. Silva, R. S. Romeiro, R. C. Filho, J. L. Pereira, E. S. Mizubuti, and A. Mounteer, "Induction of systemic resistance by *Bacillus cereus* against tomato foliar diseases under field conditions," *Journal of Phytopathology*, vol. 152, pp. 371-375, 2004.
- [7] L. S. Murate, A. G. de Oliveira, A. Y. Higashi, A. R. Barazetti, A. S. Simionato, C. S. da Silva, and G. Andrade, "Activity of secondary bacterial metabolites in the control of citrus canker," *Agricultural Sciences*, vol. 6, no. 03, 2015, Art. no. 295.
- [8] K. V. Pham, *The curriculum of general microorganisms*, College of Agriculture and applied biology, Can Tho University, p. 159, 2000.
- [9] J. W. Kloepper, C.-M. Ryu, and S. A. Zhang, "Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp.," *Phytopathology*, vol. 94, no. 11, pp. 1259-1266, 2004.
- [10] M. R. Roberts and J. E. Taylor, "Exploiting plant induced resistance as a route_ to sustainable crop protection," In D. B. Collinge (Ed.), *Plant pathogen resistance biotechnology*, 1st Edition. John Wiley & Sons, Inc., pp. 319-339, 2016.
- [11] T. U. Le, "Isolation of *Xanthomonas* spp. causing leaf spot on rose (*Rosa* spp.) and pepper (*Capsicum* spp.) in Dong Thap province and selection of antagonistic bacteria for prevention and control of these diseases," Doctoral dissertation, College of Agriculture and applied biology, Can Tho University, Can Tho, 2023.
- [12] QCVN 01-38: 2010/BNNPTNT, "National technical regulation on Surveillance method of plant pests," Ha Noi, 2010.
- [13] M. J. Jeger and S. L. H. Viljanen-Rollinson, "The use of the area under the disease progress curve (AUDPC) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars," *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 102, no. 1, pp. 32-40, 2001.
- [14] W. S. Abbott, "A method of computing the effectiveness of an insecticide," *J. econ. Entomol.*, vol. 18, no. 2, pp. 265-267, 1925.
- [15] M. Mirik, Y. Aysan, and O. Cinar, "Biological control of bacterial spot disease of pepper with *Bacillus* strains," *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, vol. 32, no. 5, pp. 381-390, 2008.
- [16] T. P. Huang, D. D. S. Tzeng, A. C. Wong, C. H. Chen, K. M. Lu, Y. H. Lee *et al.*, "DNA Polymorphisms and Biocontrol of *Bacillus* Antagonistic to Citrus Bacterial Canker with Indication of the Interference of Phyllosphere Biofilms," *PLoS ONE*, vol. 7, no. 7, 2012, Art. no. e42124, doi: 10.1371/journal.pone.0042124.