

Determination of the optimal dosage of *Bacillus* biological product for controlling peanut wilt disease in Quang Tri and Hue City

Nguyen Tien Long, Nguyen Thi Thu Thuy, Nguyen Xuan Hieu, Nguyen Duc Huy, Cao Thi Thuyet

Abstract

A study was conducted to determine the optimal dosage of *Bacillus* products for controlling wilt diseases in peanuts. The research took place in two fields: one in Huong Tra, Hue City, and the other in Hai Lang, Quang Tri province. Peanuts in these fields were treated with *Bacillus* products at dosages of 10 liters/ha, 20 liters/ha, and 30 liters/ha. Researchers then evaluated the growth, development, yield, and effectiveness of the treatments in controlling wilt diseases. The experimental results showed that applying *Bacillus* products at dosages of 20 liters/ha and 30 liters/ha led to an increase in plant height of 1.94 to 2.79 cm. Additionally, the number of nodules per plant reached 72.05 to 72.94 during the fruiting and harvesting stages. The incidence of collar rot, caused by *Aspergillus niger* Van Tiegh, was reduced by approximately 80.42% to 86.41%. For damping-off caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn, the reduction in disease incidence ranged from 91.01% to 93.77%. Meanwhile, the incidence of white mold caused by *Sclerotium rolfsii* Sacc. decreased by 93.75% to 95.72% compared to the control group. The peanut yield increased by between 5.25 and 5.28 quintals per hectare when *Bacillus* products were applied at dosages of 20 liters/ha and 30 liters/ha. The 20 liters/ha dosage was determined to be optimal based on economic efficiency and disease control effectiveness. These findings provide a solid foundation for establishing protocols for the application of *Bacillus*-based biological products in managing peanut wilt disease in peanut cultivation areas.

Keywords: Peanut, *Bacillus* products, dosage, growth, yield, peanut wilt disease incidence

Ngày nhận bài: 07/4/2026

Người phản biện: GS.TS. Phạm Văn Toàn, TS. Nguyễn Thu Hà

Ngày duyệt đăng: 11/6/2026

Ngày phản biện: 14/4/2026

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN THỰC KHUẨN THỂ TRIỂN VỌNG TRONG KIỂM SOÁT VI KHUẨN *Xanthomonas citri* GÂY BỆNH LOÉT TRÊN CÂY CAM SÀNH (*Citrus nobilis*)

Nguyễn Huy Thảo^{1,2}, Kha Thị Tường Vy¹, Trần Phan Quốc Khánh¹, Đoàn Thị Kiều Tiên¹, Nguyễn Thị Thu Nga^{1*}

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm phân lập và tuyển chọn các thực khuẩn thể bản địa có khả năng ký sinh trên vi khuẩn *Xanthomonas citri* gây bệnh loét trên cây cam Sành (*Citrus nobilis*), góp phần quản lý bệnh theo hướng sinh học. Kết quả đã phân lập được 104 dòng thực khuẩn thể và 34 chủng vi khuẩn *X. citri* từ mẫu lá, trái, cành và đất tại các vườn cây có múi ở đồng bằng sông Cửu Long. Trong đó, 28 dòng thực khuẩn thể có phổ ký sinh rộng và 22 chủng vi khuẩn thể hiện tính miễn cảm cao với nhiều dòng thực khuẩn thể. Bốn chủng vi khuẩn (*Xcc18*, *Xcc65*, *Xcc72*, *Xcc76*) được xác định có độc lực cao trong điều kiện nhà lưới và được sử dụng để tuyển chọn thực khuẩn thể trong điều kiện phòng thí nghiệm. Kết quả tuyển chọn được 8 dòng thực khuẩn thể có tiềm năng kiểm soát vi khuẩn *X. citri*; trong đó, các dòng Φ3, Φ11, Φ12, Φ13, Φ15 và Φ16 tạo đốm tan rõ rệt, còn Φ9 và Φ24 có khả năng nhân mật số cao. Đánh giá hiệu quả phòng trừ bệnh loét trên cây cam Sành ở điều kiện nhà lưới cho thấy các dòng Φ11, Φ16 và Φ24 cho chỉ số bệnh tương ứng 28,24%; 35,71% và 34,76% vào thời điểm 19 ngày sau khi xử lý, tương đương với nghiệm thức xử lý thuốc Starner 20WP (22,45%) và thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với đối chứng không xử lý (57,15%). Kết quả nghiên cứu cung cấp cơ sở khoa học cho các nghiên cứu tiếp theo về ứng dụng thực khuẩn thể trong quản lý bệnh loét trên cây có múi ngoài đồng ruộng.

Từ khóa: Bệnh loét, cam Sành, thực khuẩn thể, *Xanthomonas citri*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây có múi là nhóm cây ăn quả quan trọng, được trồng rộng rãi trên thế giới và tại Việt Nam, đặc biệt ở đồng bằng sông Cửu Long, trong đó cam Sành giữ vai trò chủ lực (Trần Thụy Ái Đông & Quan Minh Nhật, 2019; Zhong & Nicolosi, 2020). Tuy nhiên, sản xuất cây có múi đang bị đe dọa bởi bệnh loét do vi khuẩn *Xanthomonas*

citri (*X. citri*), gây thiệt hại lớn về năng suất và chất lượng (Ali *et al.*, 2023). Hiện nay, các biện pháp kiểm soát bệnh này chủ yếu dựa vào hóa chất bảo vệ thực vật và kháng sinh, tuy nhiên, những phương pháp này đang bộc lộ nhiều hạn chế như gây ô nhiễm môi trường, ảnh hưởng đến sức khỏe con người và thúc đẩy sự hình thành tính kháng thuốc (Greer *et al.*, 2025). Trong bối cảnh phát

¹ Khoa Bảo vệ Thực vật, Trường Nông nghiệp, Đại học Cần Thơ

² Chi cục Trồng trọt và Bảo vệ thực vật, Sở Nông nghiệp và Môi trường tỉnh Vĩnh Long

* Tác giả liên hệ, email: nttnga@ctu.edu.vn

triển nông nghiệp bền vững và đảm bảo an toàn thực phẩm ngày càng gia tăng, thực khuẩn thể (TKT) được xem là giải pháp tiềm năng nhờ tính đặc hiệu đối với vi khuẩn ký chủ (Hyman & Abedon, 2010; Zhang & Sun, 2025), an toàn (Nobrega *et al.*, 2015; Vu & Oh, 2020) và khả năng tiêu diệt vi khuẩn nhanh, góp phần nâng cao hiệu quả kiểm soát vi khuẩn gây bệnh (Duckworth & Gulig, 2002; Choudhary *et al.*, 2025). Trên thế giới, TKT đã được ứng dụng và thương mại hóa trong bảo vệ thực vật, đầu tiên là sản phẩm Agriphage™, được sử dụng để kiểm soát bệnh do vi khuẩn *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* và *X. campestris* pv. *vesicatoria* gây đốm lá trên cây cà và ớt. Điều này cho thấy tiềm năng thực tiễn của TKT trong nông nghiệp hiện đại trong việc kiểm soát các bệnh do vi khuẩn (Choudhary *et al.*, 2025; Kumar *et al.*, 2025). Tại Việt Nam, nghiên cứu về TKT đối với vi khuẩn *X. citri* gây bệnh loét trên cây có múi còn hạn chế. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân lập và tuyển chọn các dòng TKT bản địa có khả năng ký sinh mạnh trên vi khuẩn *X. citri* gây bệnh loét trên cây cam Sành. Đồng thời, nghiên cứu đánh giá phổ ký chủ, khả năng nhân mật số và hiệu quả kiểm soát bệnh trong điều kiện nhà lưới nhằm xác định các dòng TKT triển vọng phục vụ cho các nghiên cứu và ứng dụng tiếp theo.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các dòng TKT và các chủng vi khuẩn *X. citri* gây bệnh loét được thu thập từ các vườn cây có múi tại vùng trồng cây có múi trọng điểm thuộc khu vực đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL), bao gồm Vĩnh Long, Đồng Tháp, An Giang, Cần Thơ và Long An (nay thuộc tỉnh Tây Ninh).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập thực khuẩn thể và vi khuẩn *Xanthomonas citri* gây bệnh loét trên cây có múi ở các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long

Phương pháp phân lập vi khuẩn gây bệnh: Mẫu lá có triệu chứng bệnh loét trên cây có múi được thu thập tại các tỉnh ĐBSCL và đưa về phòng thí nghiệm để phân lập vi khuẩn. Mẫu được khử trùng, cắt lát mỏng, quan sát sự hiện diện của vi khuẩn ứa ra từ chỗ vết cắt dưới kính hiển vi, sau đó cấy lên môi trường King's B để hình thành khuẩn lạc đặc trưng. Các khuẩn lạc đơn được tách rỗng, nhân nuôi và bảo quản trong môi trường lỏng có glycerol ở - 80°C để làm nguồn vi khuẩn thuần. Thực hiện phun dịch vi khuẩn lên lá non cây cam Sành để gây bệnh nhân tạo, giữ ẩm bằng túi nylon để tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình xâm nhiễm (Burgess *et al.*, 2009).

Phương pháp phân lập thực khuẩn thể: nghiên cứu mẫu đất hoặc lá bệnh (5 g) được thu tại vườn cây có múi bị

nhễm bệnh loét và hòa trong 10 mL nước cất, trộn đều trong 30 giây, sau đó ly tâm 6.000 vòng/phút trong 5 phút để thu dịch nổi. Dịch nổi (4 mL) được xử lý với 200 μ L chloroform, trộn đều trong 30 giây, để yên 5 phút rồi ly tâm lại cùng điều kiện nhằm loại bỏ vi khuẩn. Phần dịch trong chứa TKT (3 mL) phía trên được thu, chia vào 02 ống Eppendorf và bảo quản ở 4°C trong điều kiện tối (Balogh, 2006).

Tách rỗng và nhân mật số TKT: TKT được tách rỗng bằng cách vớt thu đốm tan vào nước cất vô trùng, thực hiện pha loãng dần dãy nồng độ 10^{-1} đến 10^{-5} , sau đó thực hiện hòa với huyền phù vi khuẩn *X. citri* trong môi trường King's B 0,8% agar. Sau khi ủ 24 giờ, quan sát và chọn các đốm tan đơn lẻ để cấy truyền nhằm thu TKT thuần. Tiếp theo, TKT được thu hoạch bằng cách bổ sung nước cất vô trùng và chloroform, ly tâm để loại bỏ vi khuẩn. Phần dịch trong chứa TKT được thu và bảo quản ở 4°C trong điều kiện tối để sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

2.2.2. Đánh giá khả năng ký sinh của các dòng thực khuẩn thể trên các chủng *Xanthomonas citri* gây bệnh loét trên cây cam phân lập ở các tỉnh ĐBSCL trong điều kiện phòng thí nghiệm

Thí nghiệm kiểm tra khả năng ký sinh dựa theo phương pháp của Kutter (2009) có hiệu chỉnh. Chuẩn bị đĩa Petri thanh trùng đã được kể và đánh số nghiệm thức tương ứng, cho vào đĩa 10 mL môi trường King's B 0,8% agar hòa chung 100 μ L huyền phù vi khuẩn *X. citri*, để khô bề mặt môi trường trong khoảng 15 - 20 phút. Rút 5 μ L huyền phù từng dòng TKT nhỏ vào ô nghiệm thức tương ứng. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 01 lần lặp lại, gồm các dòng TKT và các chủng vi khuẩn *X. citri* được phân lập tại các tỉnh ĐBSCL.

Chỉ tiêu ghi nhận: xác định sự phân giải của các dòng TKT trên các chủng vi khuẩn *X. citri* khác nhau hình thành trên đĩa Petri sau 24 giờ.

2.2.3. Đánh giá khả năng gây hại của các chủng vi khuẩn *Xanthomonas citri* lẫn cảm với các dòng thực khuẩn thể phân lập trong điều kiện nhà lưới

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 03 lần lặp lại, gồm các chủng vi khuẩn *X. citri* lẫn cảm với TKT ở phần 2.2.2 và đối chứng không xử lý lây bệnh. Cây cam Sành sau khi được chăm sóc ra cơ đọt non được phun huyền phù *X. citri* ($OD_{600nm} = 0,4$; 20 mL/cây) vào chiều mát, ủ bệnh trong điều kiện tối và ẩm trong 48 giờ trong phòng ủ bệnh. Sau đó, cây được đặt trong nhà lưới có mái che. Quan sát và ghi nhận diễn tiến bệnh định kỳ 5 ngày/lần, chỉ tiêu theo dõi theo TCVN 12561:2022 (Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2022).

2.2.4. Đánh giá khả năng tiêu diệt vi khuẩn *Xanthomonas citri* của những dòng thực khuẩn thể triển vọng trong điều kiện phòng thí nghiệm

Tuyển chọn TKT dựa vào đường kính đốm tan: Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 04 lần lặp lại. Trộn 30 µL huyền phù TKT (10^3 PFU/mL) ở phần 2.2.1 với 100 µL huyền phù 04 chủng *X. citri* ($OD_{600} = 0,4$) được chọn ở phần 2.2.3, đổ đĩa bằng môi trường King's B 0,8% ($\approx 50^{\circ}C$), hòa đều đĩa bằng cách lắc nhẹ và ủ đĩa ở điều kiện phòng, sau đó quan sát và đo đường kính đốm tan. Đo đường kính trung bình của 10 đốm tan ngẫu nhiên trên mỗi đĩa Petri của từng dòng TKT vào 12, 24 và 36 giờ sau khi bố trí.

Tuyển chọn TKT dựa vào khả năng nhân mật số theo công bố của Tien và cộng sự (2022): trộn 100 µL huyền phù vi khuẩn với 100 µL huyền phù TKT ở các độ pha loãng 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , đổ đĩa với môi trường King's B 0,8% ($\approx 50^{\circ}C$), hòa đều đĩa bằng cách lắc nhẹ, và đĩa được ủ ở điều kiện phòng. Mỗi đĩa là một lần lặp lại, ủ ở điều kiện phòng trong 24 giờ, sau đó quan sát đốm tan (plaque). Đếm số lượng đốm tan của TKT hình thành trên đĩa, dựa vào hệ số pha loãng để tính mật số. Mật số TKT hình thành được trình bày chuyển sang mật số dưới đơn vị Log PFU/mL.

2.2.5. Đánh giá hiệu quả kiểm soát bệnh loét trên cây cam do *Xanthomonas citri* bằng các dòng thực khuẩn thể triển vọng trong điều kiện nhà lưới

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên một nhân tố với các dòng TKT triển vọng trên hỗn hợp vi khuẩn gây hại cao (mỗi dòng TKT đạt mật số 10^8 PFU/mL) được chọn ra từ nội dung phần 2.2.4 với 4 lần lặp lại, đối chứng âm không xử lý và đối chứng dương xử lý thuốc Starner 20WP (hoạt chất oxolinic acid 20% WP, Sumitomo Chemical, Nhật Bản). Phun huyền phù TKT lên lá (20 mL/cây) vào chiều mát, sau 1 giờ tiến hành lây bệnh bằng huyền phù hỗn hợp 4 chủng *X. citri* ($OD_{600} = 0,4$; 20 mL/cây). Cây được bao túi nylon giữ ẩm 48 giờ trong tối trong phòng ủ bệnh, sau đó cây được chuyển vào nhà lưới có mái che. Bệnh được theo dõi định kỳ 5 ngày/lần. Chỉ tiêu ghi nhận: Tỷ lệ bệnh (%).

2.2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu về chỉ số bệnh, đường kính đốm tan và mật số TKT được xử lý bằng Microsoft Excel. Dữ liệu phần trăm trước khi phân tích được chuyển đổi bằng công thức $\arcsin \sqrt{x}$. Các dữ liệu sau đó được phân tích phương sai một nhân tố (One-way ANOVA) bằng phần mềm IBM SPSS Statistics phiên bản 26. Khi kết quả ANOVA cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, trung bình các nghiệm thức được so sánh bằng phép thử Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ở mức ý nghĩa 5% ($p < 0,05$) hay 1% ($p < 0,01$).

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 9 năm 2024 đến tháng 10 năm 2025 tại Khoa Bảo vệ Thực vật, Trường Nông nghiệp, Đại học Cần Thơ.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập vi khuẩn *Xanthomonas citri* gây bệnh loét trên cây có múi và thực khuẩn thể tại các tỉnh ở ĐBSCL

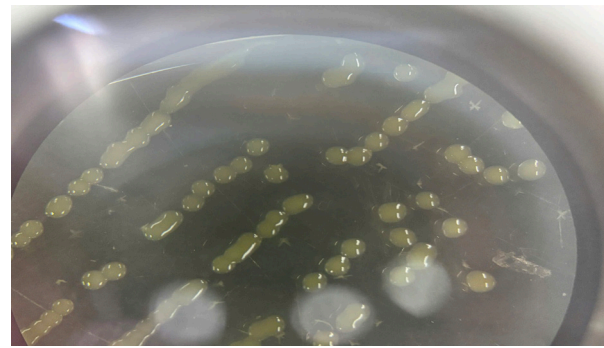
Từ các mẫu cây có múi (lá, cành, trái) bị bệnh loét thu thập tại các tỉnh ĐBSCL, đã ghi nhận bệnh xuất hiện trên nhiều giống như cam Sành, chanh không hạt, chanh bông tím và quýt hồng (Hình 1). Qua phân lập trên môi trường King's B agar 2%, thu được 34 chủng vi khuẩn (Bảng 1). Các khuẩn lạc có đặc điểm nhỏ, tròn, lồi, trơn bóng, màu vàng kem đặc trưng, phù hợp với các mô tả của các công bố trên thế giới (Hình 2) (FERENCE *et al.*, 2018; Kumar *et al.*, 2019).



Hình 1. Triệu chứng bệnh loét trên các bộ phận lá, cành và trái của cây có múi

Bảng 1. Số chủng vi khuẩn gây bệnh loét trên cây có múi được phân lập tại một số tỉnh ở ĐBSCL

STT	Tỉnh		Cây ký chủ
	Tên tỉnh	Tổng số mẫu/tỉnh	
1	Vĩnh Long	15	Cam Sành, chanh bông tím
2	Tây Ninh	13	Chanh không hạt, chanh bông tím
3	Đồng Tháp	2	Quýt hồng
4	An Giang	2	Cam Sành
5	Cần Thơ	2	Cam Sành
Tổng		34	



Hình 2. Hình thái khuẩn lạc *X. citri* trên môi trường King's B 2% agar sau 24 giờ phát triển

3.2. Phân lập thực khuẩn thể ký sinh vi khuẩn *Xanthomonas citri* gây bệnh loét trên cây có múi phân bố tại các tỉnh ở ĐBSCL

Từ các mẫu cây có múi bị bệnh loét được thu thập ở ĐBSCL, đã phân lập được 104 dòng TKT, cao hơn gấp khoảng 3 lần so với 34 chủng *X. citri*. Một mẫu bệnh có thể chứa nhiều dòng TKT khác nhau dựa trên đặc điểm đốm tan. Một số mẫu chỉ phân lập được TKT mà không có vi khuẩn ký chủ, cho thấy TKT vẫn tồn tại khi mật số vi khuẩn thấp hoặc vắng mặt, dẫn đến số lượng TKT phân lập cao hơn vi khuẩn.

Bảng 2. Danh sách các dòng TKT được phân lập ở một số tỉnh ĐBSCL

STT	Tỉnh		Vị trí phân lập TKT (mẫu)	
	Tên tỉnh	Tổng số mẫu (mẫu)	Lá	Đất
1	Vĩnh Long	65	56	9
2	Tây Ninh	21	21	
3	Đồng Tháp	10	10	
4	An Giang	3	3	
5	Cần Thơ	5	5	
	Tổng	104	95	9

Trong 104 dòng TKT phân lập được, có 09 dòng được phân lập từ mẫu đất thu dưới tán cây và 95 dòng được phân lập từ các bộ phận cây có múi (lá, trái, cành) bị bệnh loét. Sự khác biệt lớn giữa số dòng TKT phân lập từ mô bệnh so với đất có thể liên quan đến mật độ vi khuẩn ký chủ cao hơn tại vị trí biểu hiện triệu chứng bệnh. Kết quả cho thấy TKT hiện diện ở nhiều vị trí khác nhau trong tự nhiên, đặc biệt tại các mô bệnh có mật độ vi khuẩn ký chủ cao. Kết quả này phù hợp với nhận định của Chibani-Chennoufi và cộng sự (2004), sự phân bố và phát triển của TKT phụ thuộc mật thiết vào sự hiện diện và mật độ của vi khuẩn ký chủ.

3.3. Khả năng ký sinh của các dòng thực khuẩn thể đối với các chủng vi khuẩn *Xanthomonas citri* gây bệnh loét trên cây có múi phân lập tại các tỉnh ở ĐBSCL

Khả năng ký sinh của 104 dòng TKT đối với 34 chủng *X. citri* biến động từ 24 đến 34 chủng. Trong đó, 28 dòng TKT có phổ ký chủ rộng (33 - 34 chủng vi khuẩn) (Bảng 3).

Bảng 3. Khả năng ký sinh của 104 dòng TKT đối với 34 chủng vi khuẩn gây bệnh loét trên cây có múi đã phân lập được tại một số tỉnh ở ĐBSCL

Số phổ ký chủ của TKT	Số dòng TKT có khả năng ký sinh vi khuẩn <i>X. citri</i>
Phổ ký chủ ≤ 25	32
25 < Phổ ký chủ ≤ 29	23
29 < Phổ ký chủ ≤ 32	21
32 < Phổ ký chủ ≤ 34	28
Tổng	104

Kết quả cho thấy phổ ký chủ của TKT rất đa dạng, từ hẹp đến rộng. Theo Chung và cộng sự (2023), phổ ký chủ là yếu tố quan trọng quyết định hiệu quả ứng dụng

TKT, đồng thời việc phối trộn nhiều dòng TKT giúp mở rộng phổ ký chủ và hạn chế sự hình thành vi khuẩn kháng TKT. Ross và cộng sự (2016) cũng ghi nhận việc chọn TKT trên nhiều chủng vi khuẩn ký chủ làm tăng khả năng thu được các dòng TKT có phổ ký chủ rộng. Trong nghiên cứu này, nhiều dòng TKT có khả năng ly giải hầu hết các chủng *X. citri* khảo sát, cho thấy tiềm năng ứng dụng trong quản lý bệnh loét trên cây có múi.

3.4. Đánh giá khả năng gây hại của các chủng vi khuẩn *Xanthomonas citri* gây bệnh loét trên cây cam Sành trong điều kiện nhà lưới

Đánh giá khả năng gây hại của 22 chủng vi khuẩn *X. citri* mẫn cảm cao với các dòng TKT phân lập trên cây cam Sành ở điều kiện nhà lưới (Bảng 4), kết quả cho thấy ở các thời điểm 13, 18 và 23 ngày SKXL, chỉ số bệnh giữa các chủng chưa khác biệt có ý nghĩa thống kê do triệu chứng bệnh còn phát triển chậm ở giai đoạn đầu. Đến 28 ngày SKXL, chủng vi khuẩn *Xcc18* có chỉ số bệnh cao nhất (56,97%) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức khác. Các chủng vi khuẩn *Xcc65* (46,36%), *Xcc72* (40,71%), *Xcc76* (45,07%) có chỉ số bệnh tương ứng khá cao, nhưng không khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại (Bảng 4).

Bảng 4. Chỉ số bệnh loét trên cây cam Sành khi xử lý với 22 chủng vi khuẩn *X. citri*

STT	Chủng vi khuẩn	Chỉ số bệnh (%)			
		13 ngày SKXL	18 ngày SKXL	23 ngày SKXL	28 ngày SKXL
1	<i>Xcc8</i>	8,73	23,27	20,42	28,4 ^{abcde}
2	<i>Xcc17</i>	9,88	21,46	29,02	29,03 ^{abcde}
3	<i>Xcc18</i>	12,63	22,29	28,84	56,97 ^a
4	<i>Xcc19</i>	2,72	8,79	11,29	12,44 ^{de}
5	<i>Xcc20</i>	6,75	13,34	22,90	32,7 ^{abcdef}
6	<i>Xcc21</i>	6,34	13,88	17,10	41,97 ^{bcd}
7	<i>Xcc27</i>	1,78	6,18	8,37	9,04 ^{ef}
8	<i>Xcc31</i>	7,41	16,40	23,52	38,86 ^{abcde}
9	<i>Xcc42</i>	2,90	11,05	16,31	27,73 ^{abcdef}
10	<i>Xcc51</i>	3,71	10,57	10,38	13,69 ^{cdef}
11	<i>Xcc54</i>	4,29	10,11	11,70	21,71 ^{bcdef}
12	<i>Xcc58</i>	9,63	22,48	25,69	36,41 ^{abcde}
13	<i>Xcc65</i>	13,61	29,42	34,22	46,36 ^{ab}
14	<i>Xcc67</i>	4,16	16,16	19,71	12,77 ^{def}
15	<i>Xcc72</i>	8,46	22,41	27,92	40,71 ^{abcde}
16	<i>Xcc74</i>	6,51	12,79	21,48	29,66 ^{abcdef}
17	<i>Xcc76</i>	2,55	10,89	12,18	45,07 ^{abc}
18	<i>Xcc78</i>	7,62	14,03	23,52	22,4 ^{abcdef}
19	<i>Xcc82</i>	6,22	13,82	15,91	27,79 ^{bcdef}
20	<i>Xcc89</i>	4,02	12,83	15,41	10,11 ^{def}
21	<i>Xcc95</i>	5,30	12,28	15,47	15,93 ^{bcdef}
22	<i>Xcc99</i>	2,29	7,49	11,76	24,1 ^{bcdef}
Mức ý nghĩa		ns	ns	ns	*
CV (%)		44,22	32,83	30,00	24,07

Ghi chú: Số liệu được chuyển sang, giá trị 0% trước khi xử lý thống kê. Trong cùng một cột, các giá trị theo sau bởi cùng chữ cái không khác biệt có ý nghĩa thống kê theo phép thử Duncan ở mức 5%; ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê; * và **: khác biệt có ý nghĩa thống kê tương ứng ở mức 5% và 1%.

Các chủng này được phân lập từ nhiều địa phương với các vị trí địa lý khác nhau trên cây ký chủ khác nhau (cam Sành, chanh không hạt, chanh bông tím, quýt hồng), cho thấy sự đa dạng về nguồn gốc và mức độ gây hại, làm cơ sở cho việc tuyển chọn TKT hiệu quả trong phòng trừ bệnh loét.

3.5. Khả năng tiêu diệt vi khuẩn *Xanthomonas citri* của các dòng thực khuẩn thể triển vọng trong điều kiện phòng thí nghiệm

Khả năng ký sinh của các dòng thực khuẩn thể triển vọng được xác định dựa trên đường kính đốm tan và nhân mật số trên hỗn hợp vi khuẩn *Xanthomonas citri* có khả năng gây hại cao trên cây cam Sành trong điều kiện phòng thí nghiệm được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Đường kính đốm tan và khả năng nhân mật số của 28 dòng TKT trên hỗn hợp vi khuẩn *X. citri* có khả năng gây hại cao vào 36 giờ SKXL

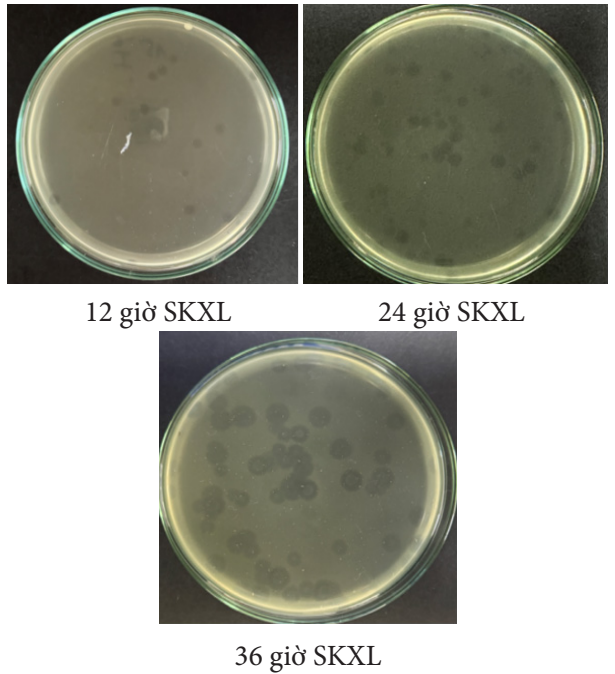
Nghiệm thức	Đường kính đốm tan (mm)	Mật số TKT (Log PFU/mL)
Φ 1	5,13 ^{bc}	7,96 ^{efgh}
Φ 2	3,63 ^{hij}	8,00 ^{defg}
Φ 3	5,48 ^{ab}	8,15 ^{cdefg}
Φ 4	4,95 ^{bcd}	7,95 ^{fgh}
Φ 5	4,75 ^{cd}	8,17 ^{bcdef}
Φ 6	4,53 ^{cde}	8,01 ^{defg}
Φ 7	3,50 ^{hijk}	8,00 ^{defg}
Φ 8	3,88 ^{efghi}	8,25 ^{bcd}
Φ 9	3,67 ^{hi}	8,90 ^a
Φ 10	3,35 ^{hijk}	7,66 ⁱ
Φ 11	5,54 ^{ab}	8,03 ^{defg}
Φ 12	6,13 ^a	8,11 ^{cdefg}
Φ 13	5,63 ^{ab}	8,01 ^{defg}
Φ 14	4,38 ^{defg}	8,20 ^{bcdef}
Φ 15	5,94 ^a	7,75 ^{hi}
Φ 16	5,52 ^{ab}	7,74 ^{hi}
Φ 17	4,42 ^{def}	8,17 ^{bcdefg}
Φ 18	3,35 ^{hijk}	8,19 ^{bcdef}
Φ 19	2,80 ^k	8,32 ^{bc}
Φ 20	3,53 ^{hij}	8,23 ^{bcde}
Φ 21	2,94 ^{jk}	7,72 ^{hi}
Φ 22	3,33 ^{hijk}	8,06 ^{defg}
Φ 23	4,00 ^{efgh}	7,91 ^{ghi}
Φ 24	3,28 ^{hijk}	8,41 ^b
Φ 25	3,43 ^{hijk}	7,02 ^j
Φ 26	3,78 ^{fghi}	8,06 ^{defg}
Φ 27	3,70 ^{ghi}	8,08 ^{cdefg}
Φ 28	3,25 ^{ijk}	8,04 ^{defg}
Mức ý nghĩa	**	**
CV (%)	6,89	1,24

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị theo sau bởi cùng chữ cái không khác biệt có ý nghĩa thống kê theo phép thử Duncan ở mức 5%; ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê; * và **: khác biệt có ý nghĩa thống kê tương ứng ở mức 5% và 1%.

3.5.1. Về đường kính đốm tan

Khả năng ký sinh của các dòng TKT triển vọng thông qua đường kính đốm tan trên hỗn hợp vi khuẩn *X. citri* (*Xcc*18, *Xcc*65, *Xcc*72 và *Xcc*76) được trình bày ở bảng 5. Kết quả ghi nhận khả năng ly giải của 28 dòng TKT trên hỗn hợp vi khuẩn *X. citri* ở thời điểm 36 giờ SKXL cho thấy 02 dòng TKT Φ12 và Φ15 có đường kính đốm tan lớn nhất (6,13 và 5,94 mm),

thể hiện khả năng ký sinh vượt trội và tương đương với các dòng TKT Φ3, Φ11, Φ13, Φ16 nhưng cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các dòng TKT còn lại (Hình 3).



Hình 3. Đường kính đốm tan của TKT Φ12 tại các thời điểm 12, 24 và 36 giờ SKXL

Kích thước đốm tan phản ánh khả năng ly giải và nhân mật số của TKT trên vi khuẩn ký chủ do mỗi đốm tan được hình thành từ một hạt TKT và phát triển thông qua nhiều chu kỳ lây nhiễm liên tiếp. Theo Gallet và cộng sự (2011), kích thước đốm tan chịu ảnh hưởng bởi nhiều đặc tính sinh học của TKT như tốc độ hấp phụ, thời gian ly giải, khả năng khuếch tán và số lượng TKT được giải phóng sau mỗi chu kỳ nhân lên. Vì vậy, sự khác biệt về kích thước đốm tan giữa các dòng TKT có thể phản ánh sự khác nhau về đặc tính sinh học và khả năng phát triển của chúng trên vi khuẩn ký chủ.

3.5.2. Về khả năng nhân mật số Thực khuẩn thể

Các dòng TKT đều có khả năng nhân mật số trên hỗn hợp các chủng vi khuẩn *X. citri* có khả năng gây hại nặng trên cây cam Sành. Trong đó, 02 dòng TKT Φ9 (mật số TKT cao nhất là 8,90 Log PFU/mL) và Φ24 (mật số TKT là 8,41 Log PFU/mL) có khả năng nhân mật số cao nhất, được ưu tiên chọn làm vật liệu cho TN đánh giá tiếp theo (Bảng 5). Kết quả trên cho thấy khả năng nhân mật số của TKT phụ thuộc vào sự tương tác giữa TKT và vi khuẩn ký chủ. Theo Abedon (2023), quá trình hấp phụ của TKT lên tế bào vi khuẩn là bước quan trọng quyết định khả năng lây nhiễm và nhân lên của TKT, phụ thuộc vào mật độ vi khuẩn ký chủ và sự tương thích giữa TKT với bề mặt tế bào vi khuẩn. Do đó, sự khác biệt về khả năng nhân mật số giữa các dòng TKT có thể liên quan đến hiệu quả hấp phụ trên vi khuẩn ký chủ.

3.6. Hiệu quả kiểm soát bệnh loét trên cây cam do *Xanthomonas citri* bằng các dòng thực khuẩn thể triển vọng trong điều kiện nhà lưới

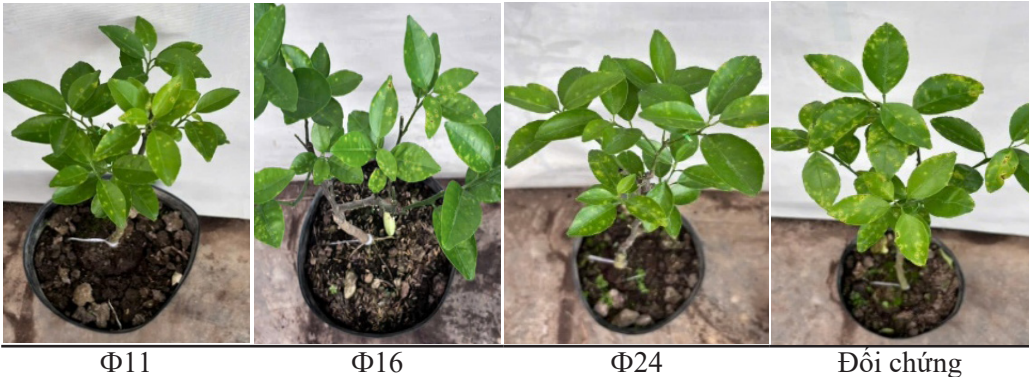
Hiệu quả kiểm soát bệnh loét trên cây cam do *Xanthomonas citri* bằng các dòng thực khuẩn thể triển vọng được trình bày ở bảng 6 và hình 4 cho thấy các dòng TKT đều thể hiện hiệu quả kiểm soát bệnh loét thông qua chỉ số bệnh thấp hơn so với không xử lý vào các thời điểm quan sát. Trong đó, vào 19 ngày SKXL, NT xử lý Φ11 có chỉ số bệnh là 28,24% thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với đối chứng không xử lý là 57,15% và tương đương với Starner 20WP (22,45%). Đồng thời, các dòng Φ16 và Φ24 cũng có chỉ số bệnh tương ứng 35,71% và 34,76%, tương đương nghiệm thức xử lý thuốc hóa học và thấp hơn so với đối chứng không xử lý. Kết quả cho thấy các dòng TKT Φ11, Φ16 và Φ24 thể hiện tiềm năng kiểm soát hiệu quả bệnh loét trong điều kiện nhà lưới. Theo Balogh và cộng sự (2010), hiệu quả ứng dụng TKT trong phòng trừ bệnh hại thực vật chịu ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố môi trường như nhiệt độ, ẩm độ và đặc biệt là bức xạ UV. Tia UV có khả năng phá hủy vật chất di truyền của TKT, làm giảm khả năng tồn tại của TKT trên bề mặt cây trồng, từ đó ảnh hưởng đến hiệu quả phòng trừ bệnh. Ngoài ra, thời điểm áp dụng TKT trên tán lá cây cũng là yếu tố quan trọng cần được quan tâm. Trong nghiên cứu

này, ba dòng TKT Φ11, Φ16 và Φ24 cho hiệu quả kiểm soát bệnh tốt hơn so với đối chứng không xử lý trong điều kiện nhà lưới có mái che. Điều kiện này góp phần hạn chế tác động trực tiếp của ánh sáng UV, qua đó hỗ trợ duy trì mật số TKT trên bề mặt lá. Vì vậy, khi áp dụng ngoài đồng ruộng, cần tiếp tục nghiên cứu các chất bảo vệ hoặc chất mang thích hợp nhằm hạn chế ảnh hưởng bất lợi của tia UV đến hiệu quả phòng trừ của TKT.

Bảng 6. Chỉ số bệnh loét trên cây cam Sành ở các nghiệm thức xử lý TKT khác nhau

Nghiệm thức	Chỉ số bệnh (%)		
	14 ngày SKXL	19 ngày SKXL	24 ngày SKXL
Φ3	27,04 ^{ab}	38,52 ^{bc}	49,63 ^{bc}
Φ9	24,44 ^b	47,41 ^{ab}	55,56 ^b
Φ11	18,48 ^b	28,24 ^{cd}	40,31 ^{bc}
Φ12	18,15 ^b	40,74 ^{bc}	49,26 ^{bc}
Φ13	21,59 ^b	37,59 ^{bc}	49,15 ^{bc}
Φ15	23,10 ^b	40,28 ^{bc}	43,94 ^{bc}
Φ16	20,02 ^b	35,71 ^{bcd}	40,35 ^{bc}
Φ24	20,31 ^b	34,76 ^{bcd}	40,99 ^{bc}
Oxolinic acid	15,42 ^b	22,45 ^d	32,73 ^c
Đối chứng	38,04 ^a	57,15 ^a	82,42 ^a
Mức ý nghĩa	**	**	**
CV (%)	21,87	15,58	13,83

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị theo sau bởi cùng chữ cái không khác biệt có ý nghĩa thống kê theo phép thử Duncan ở mức 5%; ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê, * và **: khác biệt có ý nghĩa thống kê tương ứng ở mức 5% và 1%; SKXL: sau khi xử lý.



Hình 4. Mức độ bệnh loét trên cây cam ở các nghiệm thức xử lý thực khuẩn thể Φ11, Φ16 và Φ24 so với đối chứng trong điều kiện nhà lưới vào 19 ngày SKXL

IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã phân lập được 104 dòng TKT và 34 chủng *X. citri* từ các vùng trồng cây có múi tại ĐBSCL. Trong đó, ba dòng TKT Φ11, Φ16 và Φ24 thể hiện hiệu quả kiểm soát bệnh loét cao trong điều kiện nhà lưới, tương đương với thuốc hóa học. Kết quả này cung cấp cơ sở khoa học để tiếp tục nghiên cứu hiệu quả của TKT trong quản lý bệnh loét trên cây cam Sành nói riêng và cây có múi nói chung trên đồng ruộng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Trần Thụy Ái Đông & Quan Minh Nhật, 2019. Phân tích hiệu quả lợi nhuận của nông hộ trồng cam Sành ở tỉnh

Hậu Giang. *Tạp chí Phát triển và Hội nhập*, 46 (56): 94-99.
 TCVN 12561:2022. Tiêu chuẩn Việt Nam về Thuốc bảo vệ thực vật - Khảo nghiệm hiệu lực sinh học trên đồng ruộng.
 Abedon S.T., 2023. Bacteriophage Adsorption: Likelihood of Virion Encounter with Bacteria and Other Factors Affecting Rates. *Antibiotics*, 12 (4): 723.
 Ali S., Hameed, A., Muhae-Ud-Din G., Ikhtlaq M., Ashfaq M., Atiq M., Ali F., Zia Z.U., Naqvi S.A.H., Wang Y., 2023. Citrus Canker: A Persistent Threat to the Worldwide Citrus Industry - An Analysis. *Agronomy*, 13 (4): 1112.
 Balogh B., 2006. *Characterization and use of bacteriophages associated with citrus bacterial pathogens for disease control*. Ph.D. Dissertation, University of Florida.

- Balogh B., Jones J.B., Iriarte F.B., Momol M.T., 2010. Phage therapy for plant disease control. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 11 (1): 48-57.
- Burgess L.W., Knight T.E., Tesoriero L., Phan H.T., 2009. *Cẩm nang chẩn đoán bệnh cây ở Việt Nam*. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR: Canberra), 210 pp.
- Chibani-Chennoufi S., Bruttin A., Dillmann M.L., Brüßow H., 2004. Phage-host interaction: An ecological perspective. *Journal of Bacteriology*, 186 (12): 3677-3686.
- Choudhary M., Bankole I.A., McDuffee S.T., Parajuli A., Poudel M., Balogh B., Paret M.L., Jones J.B., 2025. Bacteriophages as agents for plant disease control: Where are we after a century? *Viruses*, 17 (8): 1033.
- Chung K.M., Liao X.L., Tang S.S., 2023. Bacteriophages and their host range in multidrug-resistant bacterial disease treatment. *Pharmaceuticals*, 16 (10): 1467.
- Duckworth D.H. & Gulig P.A., 2002. Bacteriophages: Potential treatment for bacterial infections. *BioDrugs: Clinical Immunotherapeutics, Biopharmaceuticals and Gene Therapy*, 16 (1): 57-62.
- Ference C.M., Gochez A.M., Behlau F., Wang N., Graham J.H., Jones J.B., 2018. Recent advances in the understanding of *Xanthomonas citri* ssp. *citri* pathogenesis and citrus canker disease management. *Molecular Plant Pathology*, 19 (6): 1302-1318.
- Gallet R., Kannoly S., Wang I.N., 2011. Effects of bacteriophage traits on plaque formation. *BMC Microbiology*, 11 (1): 181.
- Greer S.F., Rabeiey M., Studholme D.J., Grant M., 2025. The potential of bacteriocins and bacteriophages to control bacterial disease of crops with a focus on *Xanthomonas* spp. *Journal of the Royal Society of New Zealand*, 55 (2): 302-326.
- Hyman P. & Abedon S.T., 2010. Chapter 7-bacteriophage host range and bacterial resistance. *Advances in Applied Microbiology*, 70: 217-248.
- Kumar A., Rawal R., Kumar A., Kumar N., Verma D., Talukdar D., 2019. *Xanthomonas citri*: The pathogen of citrus canker disease and its management practices. In: *Plant Pathology and Management of Plant Diseases*. Springer, pp. 1-20.
- Kumar P., Minnatullah Md., Dhakar M., Parihar P., Choudhary M.K., Rao B.S., Mehta Y.H., Meena M., Yadav A., 2025. Harnessing bacteriophages for sustainable plant disease management: A Review of their potential and market prospects. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, 28 (4): 708-728.
- Kutter E., 2009. Phage host range and efficiency of plating. In *Bacteriophages: Methods and Protocol, Volume 1: Isolation, Characterization, and Interactions* (pp. 141-149). Totowa, NJ: Humana Press.
- Nobrega F.L., Costa A.R., Kluskens L.D., Azeredo J., 2015. Revisiting phage therapy: New applications for old resources. *Trends in Microbiology*, 23 (4): 185-191.
- Ross A., Ward S., Hyman P., 2016. More is better: Selecting for broad host range bacteriophages. *Frontiers in Microbiology*, 7: 1352.
- Tien D.T.K., Thong L.C., Van Luc P., Nga N.T.T., 2022. Efficacy of bacteriophages in controlling bacterial vascular wilt caused by *Ralstonia solanacearum* Smith on eggplants. *CTU Journal of Innovation and Sustainable Development*, 14 (Special issue: CBA): 81-85.
- Vu N.T. & Oh C.S., 2020. Bacteriophage usage for bacterial disease management and diagnosis in plants. *The Plant Pathology Journal*, 36 (3): 204-217.
- Zhang Mengqi C. & Sun X., 2025. The arms race in bacteriophage interaction: Deciphering bacteria defense and phage anti-defense mechanisms through metagenomics. *Frontiers in Microbiology*, 16: 1687307.
- Zhong G. & Nicolosi E., 2020. Citrus origin, diffusion, and economic importance. In Gentile A., La Malfa S., Deng Z. (Eds.). *The Citrus Genome*. Springer International Publishing, pp.5-21.

Isolation and selection of indigenous bacteriophages for biocontrol of *Xanthomonas citri* causing citrus canker in cam Sanh (*Citrus nobilis*)

Nguyen Huy Thao, Kha Thi Tuong Vy, Tran Phan Quoc Khanh, Doan Thi Kieu Tien, Nguyen Thi Thu Nga

Abstract

This study aimed to isolate and screen indigenous bacteriophages capable of infecting *Xanthomonas citri*, the causal agent of citrus canker disease on cam Sanh orange (*Citrus nobilis*), contributing to biological disease management. A total of 104 bacteriophage isolates and 34 *X. citri* strains were isolated from leaves, fruits, twigs, and soil samples collected from citrus orchards in the Mekong Delta of Vietnam. Among them, 28 bacteriophage isolates exhibited a broad host range, while 22 bacterial strains showed high susceptibility to multiple bacteriophages. Four bacterial strains (*Xcc*18, *Xcc*65, *Xcc*72, and *Xcc*76) were identified as highly virulent under greenhouse conditions and were subsequently used for bacteriophage screening under laboratory conditions. Eight bacteriophage isolates were selected as potential candidates for controlling *X. citri*. Among these, Φ3, Φ11, Φ12, Φ13, Φ15, and Φ16 produced clear lytic plaques, whereas Φ9 and Φ24 showed high propagation ability. Greenhouse evaluation demonstrated that Φ11, Φ16, and Φ24 reduced disease severity to 28.24%, 35.71%, and 34.76%, respectively, at 19 days after treatment. These values were comparable to the chemical treatment Starner 20WP (22.45%) and significantly lower than the untreated control (57.15%). The findings provide a scientific basis for further studies on the application of bacteriophages for managing citrus canker disease under field conditions.

Keywords: citrus canker, cam Sanh, bacteriophage, *Xanthomonas citri*

Ngày nhận bài: 05/5/2026

Ngày duyệt đăng: 11/6/2026

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Vĩnh Trường, TS. Nguyễn Thị Ngọc Trúc

Ngày phản biện: 07/5/2026