

**Phân lập và tuyển chọn chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp.
có khả năng đối kháng với nấm *Colletotrichum scovillei*
gây bệnh thán thư trên cây ớt ở Lâm Đồng**

**Isolation and selection of the *Pseudomonas* sp. strain with
high antagonistic activity against the fungus *Colletotrichum scovillei*
causing chili anthracnose disease in Lam Dong Province**

Trần Thùy Trang^{1*}, Trần Thị Phấn¹, Nguyễn Thị Ánh Nguyệt¹,

Đinh Anh Hòa¹, Nguyễn Thị Thùy Dương¹, Hà Thị Loan¹, Lê Thị Mai Châu¹

¹Trung tâm công nghệ sinh học Thành Phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

*Tác giả liên hệ, Email: tranthuytrang213@gmail.com

THÔNG TIN

TÓM TẮT

DOI:10.46223/HCMCOUJS.
tech.vi.19.1.3046.2024

Ngày nhận: 02/11/2023

Ngày nhận lại: 21/03/2024

Duyệt đăng: 02/04/2024

Bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum* gây ra trên nhiều loại cây trồng. Trong đó, ớt là một trong những cây trồng bị ảnh hưởng rất lớn đến năng suất và chất lượng. Ở Việt Nam, Lâm Đồng là một trong những địa điểm trồng ớt nhiều nhất cả nước và bị ảnh hưởng nhiều do bệnh thán thư gây ra. Hiện nay, việc sử dụng chế phẩm sinh học được hướng đến trong phòng trừ bệnh hại trên cây trồng vì vừa hiệu quả vừa an toàn. Trong các đối tượng vi sinh vật, vi khuẩn *Pseudomonas* có nhiều cơ chế đối kháng với các nấm gây bệnh thán thư. Trên cơ sở đó, nghiên cứu phân lập và tuyển chọn chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp. có khả năng đối kháng tốt với nấm *Colletotrichum scovillei* gây bệnh trên cây ớt ở Lâm Đồng đã được thực hiện. Từ 12 mẫu đất thu được, nghiên cứu này đã phân lập được 19 chủng vi khuẩn có khả năng thuộc chi *Pseudomonas*. Trong đó khả năng đối kháng với nấm *Colletotrichum scovillei* của chủng LD3.1 cao nhất (60.78% sau 15 ngày). Kết quả phân tích dựa trên tự gene *16S DNA* cho thấy chủng LD3.1 tương đồng gần với vi khuẩn *Pseudomonas putida* (100%).

ABSTRACT

Anthracnose disease caused by *Colletotrichum* species has appeared in many crops, particularly chilies which have been heavily affected. In Viet Nam, Lam Dong Province is one of the most chili planting areas then it is enormously impacted on chili production. Currently, biological methods have been increasingly used in plant disease prevention due to their effectiveness and safety. Specifically, *Pseudomonas* species have been widely studied and become the great potential candidates owing to their antagonistic ability against the anthracnose causing fungi. For this reason, the research of isolation and selection of the *Pseudomonas* species strain possessing the highest inhibitory activity against the fungus *Colletotrichum scovillei*, giving rise to Chili anthracnose disease in Lam Dong Province, was conducted. From 12 soil samples, 19 isolates were initially categorized as *Pseudomonas* species. Out of all candidates, the LD3.1 strain exhibited the strongest inhibitory effectiveness on the development of *Colletotrichum scovillei* (60.78% after 15 days). The molecular identification result based on 16S ribosomal DNA revealed that LD3.1 is identical to *Pseudomonas putida* (100%).

Từ khóa:

Colletotrichum scovillei;
Pseudomonas putida; thán thư
trên ớt; vi khuẩn đối kháng

Keywords:

Colletotrichum scovillei;
Pseudomonas putida; chili
anthracnose; bacterial
antagonists

1. Đặt vấn đề

Bệnh thán thư hay còn gọi là anthracnose do nấm *Colletotrichum* gây ra (Than, Prihastuti, Phoulivong, Taylor, & Hyde, 2008). Bệnh gây hại phổ biến trên nhiều loại cây trồng. Ở nước ta, ớt là loài cây trồng có giá trị kinh tế cao, được trồng phổ biến ở nhiều nơi. Tuy nhiên, đây cũng là đối tượng bị nấm *Colletotrichum* gây thiệt hại nặng nề về năng suất cũng như chất lượng nông sản. Bệnh thán thư được ghi nhận ở hầu hết các vùng trồng ớt ở nước ta, đặc biệt vào mùa mưa, tỷ lệ bệnh có thể lên tới 70% (Bui & Vo, 2011). Bệnh gây hại ở các giai đoạn, từ giai đoạn cây con, cây trưởng thành và bảo quản sau thu hoạch. Bệnh này có thể làm giảm năng suất từ 10 - 80%, gây thiệt hại kinh tế lớn đối với người trồng ớt (Saxena, Raghuwanshi, Gupta, & Singh, 2016). Ở Việt Nam, bệnh gây thiệt hại lên đến 90% ở nhiều vườn nghiêm trọng (Bui & Vo, 2011). Hiện nay, biện pháp sinh học được nghiên cứu rất nhiều trong phòng trừ bệnh hại trên cây trồng vì vừa hiệu quả vừa an toàn. Trong các loài vi sinh vật, *Pseudomonas* là tác nhân sinh học đầy tiềm năng với hoạt tính đối kháng nấm bệnh rất tốt nhờ khả năng cạnh tranh dinh dưỡng và không gian, tiết kháng sinh, siderophores, enzyme ly giải và một số độc tố (Suresha, 2005). Đây là chủng vi khuẩn được nghiên cứu nhiều về khả năng đối kháng với các tác nhân gây bệnh trên cây trồng như: *Colletotrichum capsici* gây bệnh thán thư trên ớt (Raj, Christopher, & Suji, 2014), *Phytophthora capsici* gây bệnh chết nhanh trên cây hồ tiêu (Tran, Nguyen, Nguyen, Le, & Hoang, 2017), *Colletotrichum gloeosporioides* gây bệnh thán thư trên cây đu đủ (Rahman, Kadir, Mahmud, Rahman, & Begum, 2007), *Fusarium solani* và *Colletotrichum gloeosporioides* trên cây trồng (Truong & Le, 2020). Hiện nay, do sự thay đổi thời tiết cũng như việc quản lý dịch bệnh không hợp lý có thể dẫn đến các nấm bệnh thay đổi. Năm 2020, nhóm nghiên cứu đã khảo sát các loài nấm *Colletotrichum* gây bệnh trên cây ớt ở Lâm Đồng. Kết quả cho thấy, *Colletotrichum scovillei* là loài gây bệnh phổ biến, chiếm 69.23% trong các chủng gây bệnh đã được phân lập, định danh ở Lâm Đồng. Trên cơ sở đó, nghiên cứu “Phân lập và tuyển chọn chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp. có khả năng đối kháng tốt với nấm *Colletotrichum scovillei* gây bệnh trên cây ớt ở Lâm Đồng” được thực hiện.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nấm *Colletotrichum scovillei* từ bộ sưu tập giống vi sinh vật Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh. Các mẫu đất các vườn rau và cây ớt được thu thập ở các tỉnh Lâm Đồng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thu mẫu

Mẫu dùng để phân lập các vi khuẩn *Pseudomonas* được thu thập từ các vườn rau và cây ớt ở các tỉnh Lâm Đồng. Thu các mẫu đất vùng rẫy. Mẫu được thu và lưu trữ trong túi nilong (ghi rõ địa điểm và thời gian lấy mẫu). Ký hiệu mẫu: LDxy (x là số thứ tự vườn, y là số thứ tự mẫu thu).

Phương pháp phân lập vi khuẩn *Pseudomonas* (Agarwal, Rokkala, Tawde, Bhatia, & Rathod, 2021; Alhazmi, 2015; Cao, Phan, & Nguyen, 2008; Holt, Krieg, Sneath, Staley, & Williams, 1994; Public Health England, 2015).

Cân 10g đất cho vào erlen thủy tinh chứa 90ml nước muối sinh lý vô trùng, lắc 200 vòng/phút trong 30 phút. Pha loãng dịch huyền phù theo các nồng độ 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} rồi hút 0.1ml dịch huyền phù cấy trải vào đĩa Petri chứa môi trường King B, ủ ở 37°C cho đến khi xuất hiện khuẩn lạc. Tiến hành chọn khuẩn lạc có đặc tính giống *Pseudomonas*, như bề mặt nhô, bóng hoặc

trơn, màu vàng nhạt, trắng sữa hoặc trắng đục. Sau đó, làm thuần, nhuộm Gram và kiểm tra các đặc tính sinh hóa của các chủng phân lập. Theo mô tả của Bergey, đề tài tiến hành chọn các chủng vi khuẩn Gram âm, có khả năng sinh enzyme oxidase, không lên men glucosae.

Phương pháp sàng lọc các chủng vi khuẩn *Pseudomonas* có khả năng đối kháng tốt với nấm bệnh trên đĩa Petri (Živković & ctg., 2010)

Nấm *C. scovillei* được nuôi cấy trên môi trường PDA trong 07 - 09 ngày. Vi khuẩn được nhân nuôi trên môi trường King B trong 48 giờ. Chuyển các tản nấm *C. scovillei* với đường kính 5mm được chuyển qua đĩa Petri chứa môi trường PDA sao cho cách mép đĩa 03cm. Sau đó, ria vi khuẩn lên đĩa Petri với chiều dài 4.5cm, khoảng cách đường cấy khuẩn với tán nấm bệnh đã được cấy là 03cm. Ủ đĩa Petri ở 35°C. Theo dõi hiệu quả đối kháng với nấm bệnh trên đĩa Petri sau 05, 09, 13 ngày.

$$\text{Công thức tính: } H = (A - B) / A \times 100 \quad (1)$$

H: Hiệu quả đối kháng (%);

A: Bán kính khuẩn lạc nấm bệnh trong công thức đối chứng (mm);

B: Bán kính khuẩn lạc nấm bệnh khi được nuôi cùng với vi khuẩn (mm).

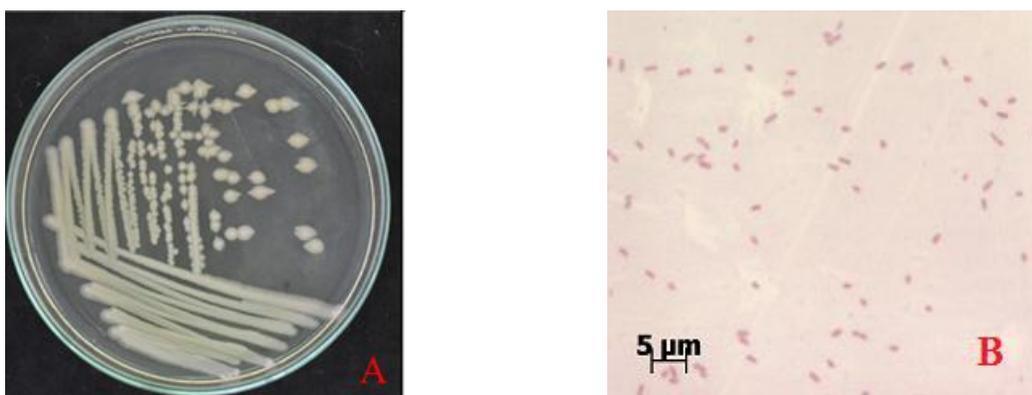
Phương pháp định danh vi khuẩn *Pseudomonas* bằng sinh học phân tử (Yamada & ctg., 2000)

Khuẩn lạc đơn *Pseudomonas* trên môi trường King B sau khi nuôi cấy 24 giờ, ở 35°C được cho vào ống 1.5ml chứa 100µL TE. Tiến hành đun ở 95°C trong 10 - 15 phút, sau đó cấp đông trong tủ -20°C. Ly tâm 10,000 vòng/phút ở 4°C trong 07 phút. Sử dụng dịch nổi cho phản ứng PCR với cặp mồi 20F (AGAGTTTGATCMTGGCTCAG) và 1500R (GGTTACCTTGTTACGACTT). Sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel agarose 1% trước khi được tinh sạch bằng bộ Isolate II PCR và Gel Kit (Bioline). Sản phẩm PCR đã tinh sạch được giải trình tự Sanger trên hệ thống ABI 3500. Dữ liệu sau đó được xử lý bằng phần mềm ATGC và sử dụng công cụ BLAST trên cơ sở dữ liệu NCBI để xác định danh pháp khoa học của các chủng vi khuẩn mục tiêu.

3. Kết quả và biện luận

3.1. Kết quả phân lập các chủng vi khuẩn *Pseudomonas*

Từ 12 mẫu đất được thu thập ở tỉnh Lâm Đồng, đã phân lập được 19 chủng vi khuẩn có khả năng là *Pseudomonas*. Khuẩn lạc *Pseudomonas* có thể không màu, màu trắng, trắng nhạt hoặc màu kem. 19 chủng vi khuẩn nhuộm gram có hình que, đứng riêng lẻ hoặc xếp thành chuỗi ngắn.



Hình 1. Đặc điểm khuẩn lạc trên môi trường King B (A) và đặc điểm vi thể (B)

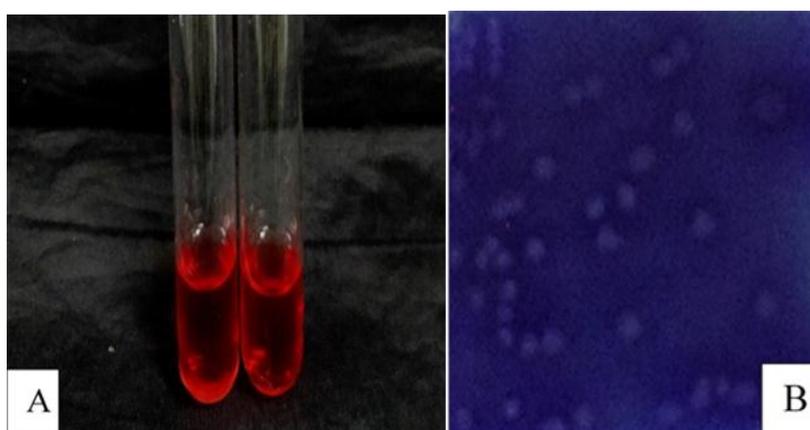
Từ 19 chủng vi khuẩn nghi ngờ là *Pseudomonas* (gram âm, hình que, tiến hành kiểm tra một số chỉ tiêu sinh hóa theo hướng dẫn xác định vi khuẩn của Bergey (Breed, Murray, & Smith, 1957) gồm khả năng tạo enzyme oxidase, khả năng lên men glucose. Kết quả thể hiện ở bảng sau:

Bảng 1

Đặc điểm sinh hóa của các chủng vi khuẩn phân lập

STT	Tên chủng	Oxidase	Lên men glucose
1	LD.1.1	+	-
2	LD1.2	+	-
3	LD1.3	+	-
4	LD2.1	+	-
5	LD2.2	+	-
6	LD3.1	+	-
7	LD4.1	+	-
8	LD5.1	+	-
9	LD6.1	+	-
10	LD7.1	+	-
11	LD8.1	+	-
12	LD9.1	+	-
13	LD10.1	+	-
14	LD10.2	+	-
15	LD11.1	+	-
16	LD11.2	+	-
17	LD11.3	+	-
18	LD12.1	+	-
19	LD12.2	+	-

Theo khóa phân loại Bergey, vi khuẩn *Pseudomonas* có khả năng tạo enzyme oxidase và không có khả năng lên men glucose. Như vậy, 19 chủng phân lập có thể là *Pseudomonas*.



Hình 2. Kết quả kiểm tra đặc điểm sinh hóa
(A) Thử nghiệm lên men glucose âm tính, (B) Khả năng sinh enzyme oxidase dương tính

3.2. Kết quả khảo sát khả năng đối kháng các chủng vi khuẩn *Pseudomonas* với nấm *Colletotrichum scovillei*

Bảng 2

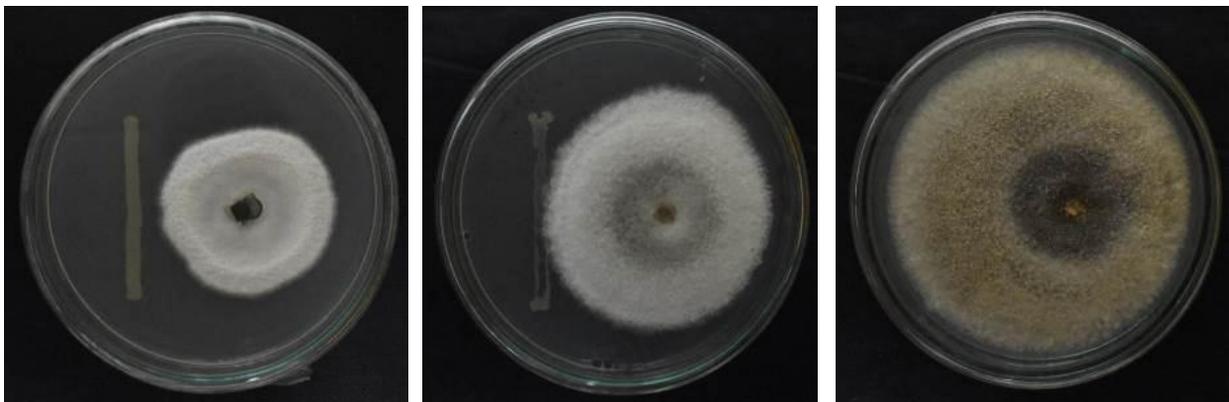
Hiệu quả đối kháng các chủng vi khuẩn *Pseudomonas* phân lập ở Lâm Đồng với nấm *C. scovillei*
Phần trăm đối kháng (%)

STT	Tên nghiệm thức	Sau 05 ngày	Sau 09 ngày	Sau 13 ngày	Trung bình
1	LD.1.1	24.89 ^f	42.63 ^g	39.62 ^f	35.71
2	LD1.2	33.74 ^b	55.75 ^{bc}	58.00 ^b	49.16
3	LD1.3	19.31 ^k	45.45 ^f	40.16 ^f	34.97
4	LD2.1	15.55 ^l	13.06 ^l	7.01 ⁿ	11.87
5	LD2.2	20.72 ^j	50.15 ^e	41.76 ^e	37.54
6	LD3.1	32.16 ^c	58.47 ^a	60.78 ^a	50.47
7	LD4.1	27.91 ^e	45.23 ^f	12.57 ^k	28.57
8	LD5.1	39.71 ^a	53.56 ^d	52.06 ^c	48.44
9	LD6.1	30.72 ^d	53.19 ^d	22.09 ⁱ	35.33
10	LD7.1	22.71 ^{hi}	41.42 ^h	8.97 ^m	24.37
11	LD8.1	18.35 ^k	38.52 ⁱ	10.22 ^l	22.36
12	LD9.1	24.47 ^{fg}	55.35 ^c	51.5 ^c	43.77
13	LD10.1	23.51 ^{gh}	34.93 ^k	15.23 ^j	24.56
14	LD10.2	22.15 ⁱ	45.67 ^f	7.14 ⁿ	24.99
15	LD11.1	25.18	45.98 ^f	36.56 ^g	35.91
16	LD11.2	24.75 ^f	50.47 ^e	51.62 ^g	42.28
17	LD11.3	28.76 ^e	52.79 ^d	45.21 ^d	42.25
18	LD12.1	22.27 ⁱ	36.78 ^j	26.79 ^h	28.61
19	LD12.2	33.29 ^c	56.41 ^b	58.43 ^b	49.38
	Trung bình	25.80	46.10	33.99	
	CV	2.56	1.18	1.64	
	P	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có kí tự theo sau giống nhau không có sự khác biệt về mặt thống kê ($P < 0.05$)

Kết quả thu được ở bảng trên cho thấy, 19 chủng *Pseudomonas* phân lập từ tỉnh Lâm Đồng đều có khả năng đối kháng với chủng nấm *C. scovillei* trong điều kiện phòng thí nghiệm. Hiệu quả của các chủng vi khuẩn tăng dần theo thời gian. Phần trăm đối kháng với nấm *C. scovillei* giữa các

nghiệm thức đều có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê tại các thời điểm lấy chỉ tiêu. Sau 05 ngày, nấm và vi khuẩn đã phát triển, tuy nhiên, khoảng cách giữa khuẩn lạc nấm và vi khuẩn còn khá xa nên không thể hiện rõ sự đối kháng. Hiệu quả đối kháng của các chủng đạt từ 15.55 - 39.71%, giá trị trung bình của 19 nghiệm thức là 25.8%. Chủng LD5.1 có khả năng đối kháng cao nhất (39.71%), chủng LD2.1 có khả năng đối kháng thấp nhất (15.55%). Tại thời điểm 09 ngày, hiệu quả đối kháng nấm đạt từ 13.06 - 58.47%. Phần trăm đối kháng trung bình đạt 46.10; tăng 1.79 lần so với ngày thứ 05. Trong đó, LD3.1 có khả năng đối kháng cao nhất (58.47%), chủng LD2.1 có hiệu quả ức chế thấp nhất 13.06%. Sau 13 ngày khảo sát, nhiều chủng vi khuẩn hiệu suất giảm xuống so với thời điểm 09 ngày, khả năng ức chế của vi khuẩn không đủ mạnh để làm giảm tốc độ tăng trưởng của nấm bệnh. 03 chủng vi khuẩn có khả năng làm kìm hãm được sự phát triển của nấm bệnh hơn so với thời điểm 09 ngày: LD1.2, LD3.1, LD12.2. Trong đó chủng LD3.1 có hiệu quả đối kháng cao nhất 60.78%. Kết quả của đề tài đạt được cũng giống với kết quả của một số nghiên cứu đã công bố. Theo nghiên cứu của Nguyen, Nguyen, Tran, và Nguyen (2016), khả năng đối kháng của các chủng vi khuẩn vùng rễ với nấm *Colletotrichum* từ 7.78 - 53.34%. Năm 2020, nhóm nghiên cứu của Truong và Le (2020) đã tiến hành phân lập và tuyển chọn được 04 chủng *Pseudomonas* có khả năng ức chế nấm *C. gloeosporioides* với hiệu suất từ 48.34 - 61.77%. Năm 2019, Bharathi, Revathy, Ebenezar, và Gnanamalar (2019) đã thực hiện đối kháng vi khuẩn *Pseudomonas fluorescens* Ps-6 với nấm *C. capsici* đạt 58.88 %. Như vậy, nhiều chủng phân lập được có khả năng đối kháng cao hơn một số chủng của các nghiên cứu nêu trên.



Hình 3. Hiệu quả đối kháng của chủng LD3.1, LD2.1 và đối chứng nấm *C. scovillei* sau 13 ngày

Như vậy, trong 19 chủng vi khuẩn phân lập được, chủng LD3.1 có hiệu quả đối kháng cao nhất sau các thời điểm 09, 11, 13 ngày và trung bình các thời điểm khảo sát (50.47%). Vì vậy, chủng này được tiến hành định danh sinh học phân tử để xác định tên loài.

3.3. Kết quả định danh vi khuẩn *Pseudomonas*

DNA tổng số sau tách chiết được tiến hành PCR nhằm khuếch đại gen 16S RNA của các chủng với cặp mồi 20F và 1500R. Kết quả điện di trên gel agarose 1% cho thấy sản phẩm mục tiêu có kích thước 1,500bp. Sản phẩm PCR sau đó được tinh sạch bằng bộ Isolate II PCR và Gel Kit (Bioline) và được giải trình tự bằng phương pháp Sanger. Kết quả giải trình tự được xử lý bằng phần mềm ATGC và BLAST trên cơ sở dữ liệu NCBI để xác định tên loài của chủng LD3.1. Kết quả thể hiện trong Bảng 3.

Bảng 3

Kết quả so sánh tương đồng của chủng LD3.1

STT	Chủng	Mã đối tượng tham chiếu	Mức tương đồng (%)	Mức bao phủ (%)	Tên loài
1	LD3.1	MG011581.1	100	100	<i>P. putida</i>

Như vậy, trình tự gene 16S RNA của LD3.1 có mức tương đồng 100% với vi khuẩn *P. putida*. *P. putida* là loài vi khuẩn được nghiên cứu và ứng dụng nhiều trong phòng trừ bệnh hại cây trồng (Karimi, Amini, Harighi, & Bahramnejad, 2012; Tran, 2017). Theo thông tư số 41/2016/TT-BYT của Bộ Y tế (2016), vi khuẩn *P. putida* thuộc chủng an toàn sinh học cấp 1 nên có thể dùng trong nghiên cứu sản xuất chế phẩm sinh học phòng trừ bệnh thán thư trên cây trồng.

4. Kết luận

Từ 12 mẫu đất thu thập được, nhóm nghiên cứu đã phân lập được 19 chủng nghi ngờ là *Pseudomonas*. Sau khi thực hiện đối kháng với nấm gây bệnh thán thư *C. scovillei*, 19 chủng vi khuẩn này đều có khả năng đối kháng với nấm gây bệnh thán thư *C. scovillei*. Trong đó, chủng LD3.1 có khả năng đối kháng cao nhất. Sau 13 ngày đối kháng, hiệu quả đối kháng đạt 60.78%. Kết quả định danh cho thấy, trình tự gene 16S RNA của LD3.1 có mức tương đồng 100% với vi khuẩn *P. putida*.

Tài liệu tham khảo

- Agarwal, D., Rokkala, D., Tawde, S., Bhatia, P., & Rathod, S. (2021). Isolation of *Pseudomonas* species from soil sample for production of Pyoverdine and evaluation of its potential as an antimicrobial agent. *International Journal of Scientific Research in Science and Technology*, 8(5), 355-361. doi:10.32628/IJSRST218555
- Alhazmi, A. (2015). *Pseudomonas aeruginosa* - Pathogenesis and pathogenic mechanisms. *International Journal of Biology*, 7(2), 44-67.
- Bakthavatchalu, S. (2013). Molecular detection of antibiotic related genes from *Pseudomonas aeruginosa* FP6, an antagonist towards *Rhizoctonia solani* and *Colletotrichum gloeosporioides*. *Turkish Journal of Biology*, 37(13), 289-295.
- Bharathi, N. K., Revathy, N., Ebenezar, E. G., & Gnanamalar, R. P. (2019). In vitro antagonistic activity of fungal and bacterial bio control agents against chilli fruit rot incited by *Colletotrichum capsici*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(5), 190-198.
- Bộ Y tế. (2016). *Thông tư số 41/2016/TT-BYT ngày 14 tháng 11 năm 2016 về Ban hành danh mục vi sinh vật gây bệnh truyền nhiễm theo nhóm nguy cơ và cấp độ an toàn sinh học phù hợp kỹ thuật xét nghiệm [Circular No. 41/2016/TT-BYT dated November 14, 2016 on Promulgating a list of microorganisms that cause infectious diseases by risk group and biosafety level appropriate to testing techniques]*. Truy cập ngày 10/05/2023 tại <https://thuvienphapluat.vn/van-ban/The-thao-Y-te/Thong-tu-41-2016-TT-BYT-danh-muc-vi-sinh-vat-gay-benh-truyen-nhiem-theo-nhom-nguy-co-302594.aspx>
- Breed, R. S., Murray, E. G. D., & Smith, N. R. (1957). *Bergey's manual determinative bacteriology* 7th (ed.). Maryland, Baltimore: The Williams & Wilkins Company.

- Bui, T. C., & Vo, O. T. T. (2011). Một số kết quả nghiên cứu bệnh thán thư hại ớt tại TP. Hồ Chí Minh [Some results of the study of anthracnose disease on chilli in Ho Chi Minh City]. *Tạp chí Khoa Học Kỹ Thuật Nông-Lâm Nghiệp*, 2011(3), 5-9.
- Cao, D. N., Phan, K. T., & Nguyen, M. T. X. (2008). Phân lập vi khuẩn *Pseudomonas stutzeri* trong đất Đồng bằng sông Cửu Long [Isolation *Pseudomonas stutzeri* from soils of the Mekong delta, Vietnam]. *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 6(2), 191-195.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H., Staley, J. T., & Williams, S. T. (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Maryland, Baltimore: The Williams & Wilkins Company.
- Karimi, K., Amini, J., Harighi, B., & Bahramnejad, B. (2012). Evaluation of biocontrol potential of *Pseudomonas* and *Bacillus* spp. against *Fusarium* wilt of chickpea. *Australian Journal of Crop Science*, 6(4), 695-703.
- Linu, M. S., & Jisha, M. S. (2013). Effect of biocontrol agents against *Colletotrichum capsici* causing anthracnose of chilli (*capsicum annum* l.). *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences*, 2(12), 2118-2223.
- Nguyen, L. T., Nguyen, N. T. Y., Tran, M. T. X., & Nguyen, P. T. (2016). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn từ đất vùng rễ ớt có khả năng đối kháng với nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên ớt [Isolation and selection of antagonistic bacteria from rhizosphere soil against *Colletotrichum* sp. causing anthracnose on chilli]. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 47(b), 16-23.
- Prusky, D., & Plumbley, R. A. (1992). Quiescent infections of *Colletotrichum* in tropical and subtropical fruits. In *Colletotrichum: Biology, pathology, and control* (pp. 289-307). Wallingford, UK: CAB International.
- Public Health England. (2015). UK Standards for microbiology investigations. Identification of *Pseudomonas* species and other non-glucose fermenters. *Bacteriology - Identification*, 3(17), 1-41.
- Rahman, M. A., Kadir, J., Mahmud, T. M. M., Rahman, A. R., & Begum, M. M. (2007). Screening of antagonistic Bacteria for Biocontrol Actives on *Colletotrichum gloeosporioides* in Papaya. *Asian Journal of Plant Sciences*, 6(1), 12-20.
- Raj, T. S., Christopher, J., & Suji, H. (2014). Efficacy of *Pseudomonas fluorescens* on control of chilli fruit rot caused by *Colletotrichum capsici*. *African Journal of Microbiology Research*, 8(29), 2772-2777.
- Saxena, A., Raghuvanshi, R., Gupta, V. K., & Singh, H. B. (2016). Chilli anthracnose: The epidemiology and management. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1527-1527.
- Suresha, D. E. (2005). Effect of *pseudomonas fluoescenson* anthracnose of chilli caused by *Colletotrichum capsici*. *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*, 18(1), 162-165.
- Than, P. P., Prihastuti, H., Phoulivong, S., Taylor, P. W., & Hyde, K. D. (2008). Chilli anthracnose disease caused by *Colletotrichum* species. *Journal of Zhejiang University: Science B*, 9(10), 764-78.
- Tran, H. T. T., Nguyen, H. T., Nguyen, C. Q., Le, C. V., & Hoang, Q. T. H. (2017). Mô hình ứng dụng chế phẩm sinh học *Pseudomonas putida* trên cây hồ tiêu kinh doanh tại Gia Lai [Pilot Application of *Pseudomonas putida* Biological Product for Black Pepper in Gia Lai]. *Tạp chí Bảo vệ thực vật*, 2017(1), 51-57.

- Truong, H. C., & Le, T. T. (2020). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn *Pseudomonas* có khả năng đối kháng in vitro với nấm *Fusarium solani* và *Colletotrichum gloeosporioides* [Isolation and selection of antagonistic bacteria *Pseudomonas* against *Fusarium solani* and *Colletotrichum gloeosporioides* under in vitro conditions]. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 56(5), 135-142.
- Yamada, Y., Katsura, K., Kawasaki, H., Widyastuti, Y., Saono, S., Seki, T., ... Komagata, K. (2000). *Asaia bogorensis* gen. nov., sp. nov., an unusual acetic acid bacterium in the alpha-Proteobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50(2), 823-829. doi:10.1099/00207713-50-2-823
- Živković, S., Stojanović, S., Ivanović, Ž., Veljko, G., Popović, T., & Balaž, J. (2010). Screening of antagonistic activity of microorganisms against *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides*. *Archives of Biological Sciences*, 62(3), 611-623. doi:10.2298/ABS1003611Z

