

ĐÁNH GIÁ HIỆU LỰC PHÒNG CHỐNG NẤM MỐC, NẤM BIẾN MÀU HẠI GỖ THÔNG NHỰA (*Pinus merkusii*) CỦA DỊCH NUÔI CẤY TỪ HAI CHỦNG VI KHUẨN *Bacillus velezensis* ĐK7 VÀ *B. vallismortis* ĐK68

Quách Đình Huy¹, Bùi Thị Thuỷ¹, Đoàn Văn Thuộc²

¹Viện Nghiên cứu Công nghiệp rừng

²Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm đánh giá hiệu lực phòng chống nấm mốc và nấm biến màu hại gỗ của dịch nuôi cấy từ hai chủng vi khuẩn đối kháng *Bacillus velezensis* ĐK7 và *Bacillus vallismortis* ĐK68 trên gỗ Thông nhựa (*Pinus merkusii*). Hiệu quả bảo quản gỗ được đánh giá đối với sự xâm nhiễm của 03 chủng nấm mốc gồm *Aspergillus niger*, *Penicillium citrinum*, *Trichoderma atroviride*, và 02 chủng nấm gây biến màu *Lasiodiplodia theobromae*, *Aureobasidium pullulans*. Kết quả cho thấy hiệu quả phòng chống nấm phụ thuộc chủ yếu vào nồng độ dịch nuôi cấy. Cấp nồng độ 10% kết hợp với lượng xử lý 100 ml/m² có hiệu quả cao hơn so với từng chủng riêng lẻ, làm giảm tỷ lệ diện tích gỗ bị nhiễm nấm xuống còn 20,83 - 24,58% sau 7 ngày khi xử lý phòng ngừa trên mẫu gỗ không khử trùng, trong khi mẫu đối chứng diện tích bị nấm xâm hại từ 84,17 - 93,33%. Hiệu lực của dịch nuôi cấy giảm dần theo thời gian, đạt cấp hiệu lực trung bình sau 14 ngày và cấp kém sau 21 ngày khảo nghiệm. Kết quả nghiên cứu cho thấy dịch nuôi cấy của hai chủng vi khuẩn có tiềm năng ứng dụng trong bảo quản gỗ theo hướng sinh học, đồng thời là cơ sở để tiếp tục tối ưu hóa chế phẩm nhằm nâng cao hiệu quả bảo quản gỗ.

Từ khoá: Bảo quản gỗ, *B. velezensis*, *B. vallismortis*, nấm mốc hại gỗ, nấm biến màu gỗ.

EVALUATION OF THE ANTIFUNGAL EFFICACY OF CULTURE BROTHS FROM TWO BACTERIAL STRAINS, *Bacillus velezensis* DK7 AND *B. vallismortis* DK68, AGAINST MOLD AND BLUE STAIN ON *Pinus merkusii* Wood

Quach Dinh Huy¹, Bui Thi Thuy¹, Doan Van Thuoc²

¹Research Institute of Forest Industry

²Faculty of Biology, Ha Noi National University of Education

ABSTRACT

This study evaluated the antifungal efficacy of culture broths of two antagonistic bacterial strains, *Bacillus velezensis* DK7 and *Bacillus vallismortis* DK68, against mold strains and blue stain strains on pine wood (*Pinus merkusii*). Wood preservation efficacy was assessed against three mold strains (*Aspergillus niger*, *Penicillium citrinum*, *Trichoderma atroviride*) and two blue stain strains (*Lasiodiplodia theobromae*, *Aureobasidium pullulans*). The results showed that antifungal efficacy was primarily dependent on the concentration of the culture broth. A 10% concentration combined with an application rate of 100 ml/m² showed inhibitory effects against wood-damaging fungi. The combination of the culture broths of *B. velezensis* DK7 and *B. vallismortis* DK68 exhibited greater antifungal activity than either individual strain, reducing the infected wood surface area to 20.83 - 24.58% after 7 days when applied preventively to non-sterilized wood samples, whereas the control samples suffered fungal infestation covering 84.17 - 93.33% of the surface area. The protective efficacy gradually declined over time, showing moderate effectiveness after 14 days and poor effectiveness after 21 days of testing. These findings suggest that the culture broths of the two bacterial strains have potential for biological wood preservation, providing a basis for further formulation optimization to enhance wood protection efficiency.

Keywords: Blue stain, *B. velezensis*, *B. vallismortis*, mold, wood preservation.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gỗ đóng vai trò chủ đạo trong chuỗi giá trị chế biến lâm sản, được ứng dụng phổ biến làm vật liệu xây dựng, trang trí và đồ nội thất. Tuy nhiên, với đặc thù khí hậu nhiệt đới gió mùa có độ ẩm cao là điều kiện lý tưởng cho các tác nhân sinh học, đặc biệt là nấm mốc và nấm biến màu, xâm nhiễm và gây suy giảm nghiêm trọng chất lượng gỗ tươi ngay sau khi khai thác (Bùi Thị Thuỷ, 2023). Việc phòng trừ các loài nấm bằng hoá chất có hiệu quả cao, tuy nhiên có thể ảnh hưởng đến môi trường. Vì vậy, nghiên cứu và phát triển các biện pháp kiểm soát sinh học sử dụng vi sinh vật đối kháng có nguồn gốc tự nhiên đang là hướng đi mang tính thời sự và cấp thiết.

Trong số các tác nhân tiềm năng, chi vi khuẩn *Bacillus* nổi bật với khả năng hình thành nội bào tử giúp duy trì sức sống và chống chịu tốt trước các điều kiện bất lợi (Parte, 2014). Trong đó, *B. velezensis* sở hữu nhiều đặc tính sinh học quý báu nhờ khả năng tổng hợp các hợp chất kháng nấm ngoại bào, nhiều loại enzyme thủy phân, đồng thời có khả năng kích hoạt hệ thống miễn dịch tự nhiên của thực vật (Wang *et al.*, 2008; Chowdhury *et al.*, 2015). Bên cạnh đó, các nghiên cứu cũng chứng minh loài *B. vallismortis* thể hiện hoạt tính đối kháng mạnh mẽ và có tiềm năng ứng dụng cao trong kiểm soát sinh học các bệnh hại thực vật (Yang L *et al.*, 2017).

Tại Việt Nam, các nghiên cứu ứng dụng vi khuẩn đối kháng đã ghi nhận những kết quả bước đầu khả quan. Trong giai đoạn 2022 - 2023, Bộ môn Bảo quản Lâm sản thuộc Viện Nghiên cứu Công nghiệp rừng đã xác định được hệ nấm hại phổ biến trên gỗ rừng trồng, bao gồm các loài chủ yếu như: *Lasiodiplodia theobromae* (21,2%), *Aspergillus niger* (11,5%), *Trichoderma atroviride* (11,5%), *Penicillium citrinum* (5,8%) và *Aureobasidium pullulans* (5,8%). Từ cơ sở dữ liệu đó, đơn vị đã phân lập và tuyển chọn thành công hai chủng vi khuẩn bản địa có hoạt tính đối kháng mạnh là *B. velezensis* ĐK7 và *B. vallismortis* ĐK68, có hiệu lực kháng *A. pullulans* của *B. velezensis*

ĐK7 và *B. vallismortis* ĐK68 lần lượt đạt 71,9% và 74,8%; đối với *A. niger*, hiệu lực tương ứng là 59,5% và 65,2% khi thử nghiệm trên môi trường thạch (Bùi Thị Thuỷ, 2023). Nhằm định hướng phát triển các chế phẩm sinh học thương mại, chúng tôi đã tiến hành lên men và thu dịch nuôi cấy của hai chủng vi khuẩn này để thử nghiệm đánh giá khả năng kháng nấm mốc, nấm biến màu trên gỗ. Nghiên cứu này góp phần hoàn thiện cơ sở khoa học về khả năng ứng dụng dịch nuôi cấy vi khuẩn đối kháng, hướng tới sản xuất các chế phẩm an toàn thay thế hóa chất độc hại để bảo quản lâm sản tại Việt Nam.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nghiên cứu sử dụng hai chủng vi khuẩn đối kháng là *B. velezensis* ĐK7 (phân lập từ gỗ Bằng lăng ổi (*Lagerstroemia calyculata*), nguyên liệu sản xuất dưa tại tỉnh Bắc Ninh) và *B. vallismortis* ĐK68 (phân lập từ ván bóc Thông nhựa tại tỉnh Lạng Sơn). Mẫu nấm thử nghiệm bao gồm hỗn hợp 5 chủng nấm hại gỗ: *Aspergillus niger* Ni, *Penicillium citrinum* GSD4.4, *Aureobasidium pullulans* Apu01, *Lasiodiplodia theobromae* GB5.3 và *Trichoderma atroviride* GT22.2. Toàn bộ các chủng vi khuẩn và nấm mốc này đều được kế thừa từ nguồn chủng của nghiên cứu trước đây (Bùi Thị Thuỷ, 2023). Mẫu gỗ thử nghiệm là gỗ Thông nhựa tươi được gia công theo kích thước tiêu chuẩn TCVN 13705: 2023.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nuôi cấy vi khuẩn và thu nhận dịch lên men

Hoạt hóa và nhân giống: Các chủng *B. vallismortis* ĐK68 và *B. velezensis* ĐK7 được hoạt hoá trên môi trường LB (cao nấm men: 5 g/l, tryptone: 10 g/l, NaCl: 10 g/l) trong 24 giờ ở 35°C, tốc độ lắc 200 vòng/phút. Sau khi kiểm tra hoạt tính, vi khuẩn được tiếp giống (tỷ lệ 5%) sang môi trường nhân giống (glucose: 15

g/l, peptone: 10 g/l, NaCl: 5 g/l) và nuôi cấy trong điều kiện tương tự. Dịch giống đạt yêu cầu (không tạp nhiễm) được sử dụng cho quá trình lên men.

Lên men thu dịch nuôi cấy: Quá trình lên men được thực hiện trên môi trường Spore Bacillus Medium (SBM) cải tiến với thành phần cho 1 lít bao gồm: Glucose (1,04 g), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,59 g), KH_2PO_4 (6 g), cao thịt (3 g), pepton (5 g), NaCl (0,1 g), $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,1 M (3,408 ml), $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,1 M (300 μ l), $CaCl_2$ 0,1 M (29,7 ml) và $MnCl_2$ 0,1 M (60 ml). Dịch giống được bổ sung vào bình lên men theo tỷ lệ 10% (v/v), pH ban đầu được điều chỉnh về 8,0. Quá trình lên men diễn ra trong 48 giờ ở 35°C, tốc độ khuấy 200 vòng/phút và sục khí 1 vvm. Kết thúc lên men, mật độ vi khuẩn được kiểm tra bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trên đĩa thạch (CFU/ml) ở độ pha loãng 10^{-7} , đảm bảo mật độ đạt trên 10^8 CFU/ml trước khi sử dụng làm dịch xử lý gỗ.

2.2.2. Nghiên cứu nồng độ, liều lượng xử lý dịch nuôi cấy trên mẫu gỗ

Thí nghiệm khảo sát hệ thống nồng độ dịch nuôi cấy pha loãng 3%, 5%, 10% và 15% bằng nước cất vô trùng, lượng xử lý (100 ml/m², 150 ml/m²), xử lý bằng phương pháp quét 2 lần cách nhau 10 phút. Mẫu đối chứng là gỗ Thông nhựa không xử lý chế phẩm. Tiến hành thử nghiệm theo TCVN 13705: 2023. Chế phẩm bảo quản gỗ - Xác định khả năng chống chịu nấm mốc gây hại trên bề mặt - Phương pháp trong phòng thí nghiệm.

- Chuẩn bị tủ khảo nghiệm nấm: Tủ kính có 6 mặt kín, chứa đất, nước và giá treo mẫu. Mẫu được đục lỗ để treo dọc theo giá và song song với nhau, mẫu khảo nghiệm được bố trí treo ngẫu nhiên trong tủ. Nuôi cấy 5 chủng nấm: *Lasiodiplodia theobromae*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma atroviride*, *Penicillium citrinum* và *Aureobasidium pullulans*. Mỗi chủng nấm lấy 1

đĩa để tạo dịch bào tử nấm. Phun dịch nấm vào đất trong khay. Tủ thử nấm được thiết lập trong 8 tuần ở nhiệt độ 25 - 28°C, độ ẩm 95%.

- Đánh giá hiệu lực phòng chống nấm mốc của các công thức khảo nghiệm theo bảng 1.

Bảng 1. Đánh giá hiệu lực phòng chống nấm mốc (theo TCVN 13705: 2023)

Cấp độ	Mô tả	Hiệu lực
1	$S1 \leq 10\%$ và $S2 \leq 5\%$	Tốt
2	$10\% < S1 \leq 30\%$ và $S2 \leq 10\%$	Khá
3	$30\% < S1 \leq 70\%$ và $S2 \leq 30\%$	Trung bình
4	$S1 > 70\%$ và $S2 \leq 100\%$	Kém

Điều kiện chấp nhận kết quả: mẫu đối chứng phải bị nấm gây hại từ cấp độ 3 trở lên sau 4 tuần thí nghiệm. Số liệu thí nghiệm được tổng hợp và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel. Phân tích thống kê mô tả (giá trị trung bình và độ lệch chuẩn) được thực hiện bằng Excel, trong khi phân tích phương sai một nhân tố (One-way ANOVA) và phép thử so sánh trung bình Tukey HSD được sử dụng để đánh giá sự sai khác giữa các nghiệm thức ở mức ý nghĩa $p < 0,05$.

2.2.3. Đánh giá ảnh hưởng của điều kiện xử lý và thời điểm xử lý đến hiệu quả phòng chống nấm trên gỗ thông

Thí nghiệm được thiết kế theo mô hình ngẫu nhiên nhằm đánh giá đồng thời ảnh hưởng của điều kiện xử lý gỗ (khử trùng - hấp mẫu gỗ ở 121°C trong 30 phút và không khử trùng), thời điểm xử lý (xử lý khi mẫu gỗ đã bị nhiễm nấm 72 giờ hoặc chưa bị nhiễm nấm) và loại dịch vi khuẩn đối kháng (*B. velezensis* ĐK7, *B. vallismortis* ĐK68 và hỗn hợp phối trộn của hai chủng). Hệ thống gồm 16 công thức thí nghiệm độc lập, mỗi công thức gồm 6 mẫu lặp lại, gỗ tươi có kích thước theo tiêu chuẩn TCVN 13705: 2023 (100 × 75 × 12,5 mm). Chi tiết về trình tự xử lý và ký hiệu mẫu được trình bày tại bảng 2.

Bảng 2. Bố trí thí nghiệm xử lý dịch nuôi cấy vi khuẩn đối kháng trên mẫu gỗ

Công thức	Ký hiệu	Điều kiện xử lý gỗ	Thời điểm xử lý	Vi khuẩn đối kháng
Công thức 1	CT1	Khử trùng	Mẫu gỗ đã bị nhiễm nấm	<i>B. velezensis</i> ĐK7
Công thức 2	CT2			<i>B. vallismortis</i> ĐK68
Công thức 3	CT3			Hỗn hợp ĐK7 + ĐK68 (1:1)
Công thức 4 - Đối chứng	CT4			Không
Công thức 5	CT5		Mẫu gỗ chưa bị nhiễm nấm	<i>B. velezensis</i> ĐK7
Công thức 6	CT6			<i>B. vallismortis</i> ĐK68
Công thức 7	CT7			Hỗn hợp ĐK7 + ĐK68 (1:1)
Công thức 8 - Đối chứng	CT8			Không
Công thức 9	CT9	Không khử trùng	Mẫu gỗ đã bị nhiễm nấm	<i>B. velezensis</i> ĐK7
Công thức 10	CT10			<i>B. vallismortis</i> ĐK68
Công thức 11	CT11			Hỗn hợp ĐK7 + ĐK68 (1:1)
Công thức 12 - Đối chứng	CT12			Không
Công thức 13	CT13		Mẫu gỗ chưa bị nhiễm nấm	<i>B. velezensis</i> ĐK7
Công thức 14	CT14			<i>B. vallismortis</i> ĐK68
Công thức 15	CT15			Hỗn hợp ĐK7 + ĐK68 (1:1)
Công thức 16 - Đối chứng	CT16			Không

Công thức đối chứng: Ở mỗi lô đều bố trí 06 mẫu gỗ đối chứng tương ứng xử lý bằng nước cất vô trùng các liều lượng tương đương.

Trong quá trình khảo nghiệm, mẫu gỗ được quan sát, đánh giá ở các thời điểm 7, 14 và 21 ngày. Hiệu lực phòng chống nấm mốc của các công thức khảo nghiệm được đánh giá theo bảng 1.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nuôi cấy vi khuẩn và thu nhận dịch lên men

Sau quá trình lên men trên môi trường SBM cải tiến, hai chủng vi khuẩn đối kháng đã phát triển ổn định. Mật độ tế bào của các chủng được kiểm tra thông qua phương pháp đếm khuẩn lạc ở độ pha loãng 10^{-7} , kết quả cụ thể được trình bày tại bảng 3.

Bảng 3. Kết quả đo mật độ tế bào ở độ pha loãng 10^{-7}

Chủng	Mật độ tế bào ($\times 10^9$ CFU/ml)
ĐK 7	$3,30 \pm 0,42$
ĐK 68	$3,75 \pm 0,35$

Kết quả ở bảng 3 cho thấy cả hai chủng vi khuẩn đối kháng đều sinh trưởng tốt trên môi trường SBM cải tiến, với mật độ tế bào đạt trên 10^9 CFU/ml. Cụ thể, mật độ của chủng *B. velezensis* ĐK7 đạt $3,30 \pm 0,42 \times 10^9$ CFU/ml, thấp hơn khoảng 12,0% so với *B. vallismortis* ĐK68 ($3,75 \pm 0,35 \times 10^9$ CFU/ml). Hình 1 và hình 2 cho thấy các khuẩn lạc của cả hai chủng có hình thái đồng nhất và không quan sát thấy dấu hiệu tạp nhiễm. Kết quả này cho thấy hai chủng có khả năng thích nghi tốt với môi trường lên men, sinh trưởng tốt và đạt được mật độ phù hợp cho quá trình thử nghiệm trên gỗ ở các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 1. Mật độ tế bào chủng ĐK7



Hình 2. Mật độ tế bào chủng ĐK68

3.2. Nghiên cứu nồng độ, liều lượng xử lý dịch nuôi cấy phòng chống nấm trên mẫu gỗ

Ảnh hưởng của nồng độ và lượng dịch nuôi cấy sau pha loãng đến khả năng bảo vệ gỗ Thông nhựa (*Pinus merkusii*) chống lại sự xâm nhiễm

của 5 chủng nấm gây hại gồm: *A. niger* Ni, *P. citrinum* GSĐ4.4, *A. pullulans* Apu01, *L. theobromae* GB5.3, *T. atroviride* GT22.2 đã được nghiên cứu. Kết quả thu được sau 14 ngày thử nghiệm được tổng hợp trong bảng 4.

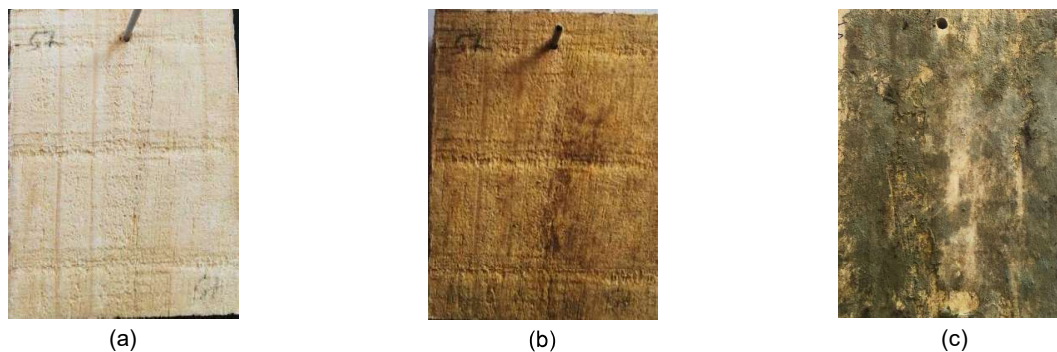
Bảng 4. Hiệu lực phòng chống nấm mốc

TT	Tên chủng	Độ ẩm gỗ (%)	Lượng xử lý (ml/m ²)	Dạng dịch			Hiệu lực
				Nồng độ (%)	% Trung bình diện tích bị nấm	% Trung bình diện tích nấm phát triển mạnh	
1	<i>B. vallismortis</i> ĐK68	90	100	3	88,75 ± 3,21 ^a	75,83 ± 3,15 ^a	Kém
2			150		86,67 ± 2,94 ^{ab}	73,33 ± 2,87 ^{ab}	Kém
3			100	5	82,92 ± 3,12 ^b	69,58 ± 2,63 ^b	Kém
4			150		79,58 ± 2,87 ^c	65,42 ± 3,01 ^c	Kém
5			100	10	52,08 ± 4,11 ^d	29,58 ± 2,87 ^d	Trung bình
6			150		47,92 ± 3,98 ^e	24,58 ± 2,63 ^e	Trung bình
7			100	15	49,17 ± 3,86 ^{de}	26,67 ± 2,74 ^{de}	Trung bình
8			150		45,83 ± 3,71 ^e	22,92 ± 2,58 ^e	Trung bình
9	Đối chứng		0	0	95,00 ± 4,17 ^a	80,00 ± 5,37 ^a	Kém
10	<i>B. velezensis</i> ĐK7		100	3	91,25 ± 3,45 ^a	77,08 ± 4,21 ^a	Kém
11			150		88,75 ± 3,28 ^{ab}	74,58 ± 3,95 ^{ab}	Kém
12			100	5	85,42 ± 3,61 ^b	71,67 ± 3,54 ^b	Kém
13			150		81,67 ± 3,26 ^c	67,92 ± 3,21 ^c	Kém
14			100	10	54,17 ± 4,56 ^d	29,92 ± 4,56 ^d	Trung bình
15			150		49,58 ± 3,87 ^e	25,42 ± 2,91 ^e	Trung bình
16			100	15	51,25 ± 4,12 ^{de}	27,92 ± 3,04 ^{de}	Trung bình
17			150		47,08 ± 3,95 ^e	23,75 ± 2,87 ^e	Trung bình
18	Đối chứng		0	0	93,33 ± 3,82 ^a	78,33 ± 4,82 ^a	Kém
19	Hỗn hợp (ĐK7 + ĐK68)		100	3	81,25 ± 3,05 ^b	66,67 ± 4,12 ^b	Kém
20			150		77,92 ± 2,92 ^c	61,67 ± 3,87 ^c	Kém
21			100	5	70,83 ± 3,44 ^d	46,25 ± 4,08 ^d	Kém
22			150		67,08 ± 3,76 ^e	42,50 ± 3,54 ^e	Kém
23			100	10	43,75 ± 3,12 ^f	21,67 ± 2,87 ^f	Trung bình
24			150		39,58 ± 2,94 ^g	18,75 ± 2,26 ^g	Trung bình
25			100	15	41,67 ± 3,08 ^{fg}	20,42 ± 2,41 ^{fg}	Trung bình
26			150		38,33 ± 2,96 ^g	17,92 ± 2,18 ^g	Trung bình
27	Đối chứng		0	0	91,67 ± 4,08 ^a	76,67 ± 4,23 ^a	Kém

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các công thức thí nghiệm đối với từng chủng vi khuẩn hoặc tổ hợp phối trộn hai chủng vi khuẩn.

Kết quả ở bảng 4 cho thấy hiệu lực phòng chống nấm mốc và nấm biến màu phụ thuộc chủ yếu vào nồng độ dịch nuôi cấy sử dụng. Khi tăng nồng độ từ 3% lên 10%, tỷ lệ diện tích nhiễm nấm và mức độ đậm màu đều giảm rõ rệt ở tất cả các công thức thí nghiệm. Công thức phối trộn hai chủng (*B. velezensis* ĐK7 + *B. vallismortis* ĐK68) cho hiệu quả cao nhất, đặc biệt ở nồng độ 10% với tỷ lệ diện tích nhiễm nấm chỉ còn 39,58 - 43,75% và diện tích đậm màu 18,75 - 21,67%, thấp hơn đáng kể so với đối chứng (hình 3). Khi tăng nồng độ lên 15%, hiệu lực cải thiện nhẹ (38,33 - 41,67% diện tích bị nấm và 17,92 - 20,42% diện tích đậm màu) và không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nồng độ 10%. Do hiệu quả bảo vệ ở nồng độ 15% không cao hơn có ý nghĩa thống kê so với 10%, trong khi lượng dịch sử dụng thấp hơn giúp giảm chi phí và lượng chế phẩm tiêu thụ, nồng độ 10% kết hợp liều lượng 100 ml/m² được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

Kết quả này phù hợp với xu hướng đã được ghi nhận trong các nghiên cứu của Bernhard Kreber và J. J. Morrell (1993) và Sonia Savluchinske Feio và đồng tác giả (2004) khi vi khuẩn *B. subtilis* 355 kìm hãm nấm đạt $3,1 \pm 0,9/4$ điểm, vòng vô khuẩn ≥ 2 mm, do các hợp chất chuyển hóa ngoại bào của vi sinh vật có khả năng hạn chế sự phát triển của nấm gây hại trên gỗ. Trên cơ sở xác định được nồng độ dịch nuôi cấy (10%) và lượng xử lý (100 ml/m²) phù hợp, các thí nghiệm tiếp theo được thiết kế nhằm đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố có thể tác động đến hiệu quả phòng chống nấm trong điều kiện thực tế, bao gồm tình trạng khử trùng của gỗ, thời điểm xử lý trước hoặc sau khi gỗ bị nhiễm nấm và loại dịch vi khuẩn đối kháng sử dụng. Việc khảo sát đồng thời các yếu tố này sẽ góp phần làm rõ điều kiện áp dụng tối ưu và nâng cao hiệu quả bảo vệ gỗ của chế phẩm sinh học.



Hình 3. Mẫu gỗ Thông nhựa xử lý dạng dịch hỗn hợp ĐK7 + ĐK68
Mẫu trước thử (a), sau thử (b) và đối chứng (c)

3.3. Nghiên cứu xác định thời điểm xử lý dịch nuôi cấy trên mẫu gỗ

Sau khi lựa chọn được nồng độ 10% và liều lượng 100 ml/m². Thí nghiệm được thiết kế theo mô hình ngẫu nhiên nhằm đánh giá đồng thời ảnh hưởng của điều kiện xử lý gỗ (khử trùng - hấp mẫu gỗ ở 121°C trong 30 phút và không khử trùng), thời điểm xử lý (xử lý khi mẫu gỗ đã bị nhiễm nấm 72 giờ hoặc chưa bị nhiễm nấm). Tiến hành thí nghiệm xử lý dịch

nuôi cấy trên mẫu gỗ, các công thức thí nghiệm được bố trí theo bảng 1. Toàn bộ các mẫu gỗ trong nghiên cứu được xử lý bằng phương pháp quét phủ dịch trên mẫu gỗ Thông nhựa. Khả năng kháng 5 chủng nấm hại gỗ (*A. niger*, *P. citrinum*, *A. pullulans*, *L. theobromae*, *T. atroviride*) của dịch nuôi cấy từ các chủng vi khuẩn đối kháng được đánh giá ở các mốc thời gian 7, 14 và 21 ngày. Kết quả được tổng hợp tại bảng 5.

Bảng 5. Kết quả hiệu lực phòng chống nấm mốc, nấm biến màu

Ký hiệu	7 ngày				14 ngày				21 ngày			
	% Trung bình diện tích bị nấm	% Trung bình diện tích nấm phát triển mạnh	Cấp hại	Hiệu lực	% Trung bình diện tích bị nấm	% Trung bình diện tích nấm phát triển mạnh	Cấp hại	Hiệu lực	% Trung bình diện tích bị nấm	% Trung bình diện tích nấm phát triển mạnh	Cấp hại	Hiệu lực
CT1	91,25 ± 4,12 ^a	74,58 ± 4,03 ^a	4	Kém	94,17 ± 3,84 ^a	79,17 ± 3,62 ^a	4	Kém	97,08 ± 2,76 ^a	83,33 ± 3,15 ^a	4	Kém
CT2	89,58 ± 4,03 ^{ab}	72,92 ± 3,67 ^{ab}	4	Kém	92,92 ± 3,56 ^a	77,50 ± 3,28 ^a	4	Kém	95,42 ± 3,41 ^a	81,67 ± 3,02 ^a	4	Kém
CT3	87,50 ± 3,67 ^{ab}	70,42 ± 3,44 ^b	4	Kém	90,42 ± 3,95 ^{ab}	75,42 ± 3,76 ^{ab}	4	Kém	93,75 ± 3,52 ^{ab}	80,00 ± 3,26 ^{ab}	4	Kém
CT4	95,83 ± 3,12 ^a	82,08 ± 3,51 ^a	4	Kém	97,08 ± 2,84 ^a	86,25 ± 2,94 ^a	4	Kém	98,75 ± 2,11 ^a	90,42 ± 2,58 ^a	4	Kém
CT5	52,08 ± 6,42 ^c	29,17 ± 2,89 ^d	3	Trung bình	70,42 ± 5,83 ^c	49,17 ± 4,76 ^d	4	Kém	82,08 ± 4,67 ^c	66,25 ± 4,11 ^d	4	Kém
CT6	49,58 ± 5,88 ^c	28,75 ± 4,22 ^d	3	Trung bình	70,42 ± 5,42 ^c	50,42 ± 4,31 ^d	4	Kém	79,58 ± 4,36 ^c	63,75 ± 3,94 ^d	4	Kém
CT7	46,67 ± 5,41 ^c	27,08 ± 3,95 ^d	3	Trung bình	71,67 ± 4,92 ^c	52,08 ± 4,02 ^d	4	Kém	76,25 ± 4,18 ^{cd}	61,67 ± 3,76 ^{de}	4	Kém
CT8	87,50 ± 3,44 ^{ab}	73,75 ± 3,11 ^{ab}	4	Kém	91,25 ± 3,11 ^{ab}	79,58 ± 2,87 ^a	4	Kém	94,17 ± 2,76 ^{ab}	84,17 ± 2,64 ^a	4	Kém
CT9	86,67 ± 3,84 ^{ab}	71,25 ± 3,42 ^b	4	Kém	90,42 ± 3,51 ^{ab}	75,83 ± 3,11 ^{ab}	4	Kém	93,33 ± 3,22 ^{ab}	79,58 ± 2,87 ^{ab}	4	Kém
CT10	84,58 ± 3,62 ^b	69,58 ± 3,28 ^b	4	Kém	88,75 ± 3,16 ^b	73,75 ± 2,94 ^{bc}	4	Kém	92,08 ± 2,87 ^b	77,92 ± 2,76 ^{bc}	4	Kém
CT11	82,92 ± 3,44 ^b	67,92 ± 3,15 ^b	4	Kém	87,08 ± 3,41 ^b	72,08 ± 3,11 ^c	4	Kém	90,83 ± 3,15 ^b	76,67 ± 2,94 ^c	4	Kém
CT12	92,50 ± 3,41 ^a	78,75 ± 3,26 ^a	4	Kém	95,42 ± 2,94 ^a	83,33 ± 2,76 ^a	4	Kém	97,08 ± 2,58 ^a	88,33 ± 2,41 ^a	4	Kém
CT13	24,58 ± 3,11 ^d	10,00 ± 3,02 ^e	2	Khá	48,75 ± 5,42 ^d	25,83 ± 3,84 ^e	3	Trung bình	70,83 ± 4,91 ^d	49,17 ± 4,26 ^e	4	Kém
CT14	22,92 ± 2,87 ^d	9,58 ± 2,26 ^e	2	Khá	45,83 ± 4,96 ^d	23,75 ± 3,51 ^e	3	Trung bình	72,08 ± 4,42 ^d	52,08 ± 3,92 ^e	4	Kém
CT15	20,83 ± 2,64 ^d	8,33 ± 2,11 ^e	2	Khá	42,92 ± 4,58 ^d	21,67 ± 3,28 ^e	3	Trung bình	71,25 ± 4,08 ^d	50,83 ± 3,67 ^e	4	Kém
CT16	84,17 ± 3,62 ^b	70,83 ± 3,26 ^b	4	Kém	89,58 ± 3,26 ^b	77,08 ± 2,94 ^{ab}	4	Kém	93,33 ± 2,91 ^{ab}	82,92 ± 2,58 ^{ab}	4	Kém

Kết quả ở bảng 5 cho thấy thời điểm xử lý gỗ có ảnh hưởng rõ rệt đến hiệu lực phòng chống nấm mốc và nấm biến màu của dịch nuôi cấy vi khuẩn đối kháng. Ở các công thức xử lý sau khi mẫu gỗ đã bị nhiễm nấm (CT1 - CT3 và CT9 - CT11), tỷ lệ diện tích bị nhiễm nấm sau 7 ngày vẫn ở mức rất cao (82,92 - 91,25%) và tiếp tục tăng lên 90,83 - 97,08% sau 21 ngày, tương ứng

mức tăng khoảng 6,4 - 9,5%. Tất cả các nghiệm thức này đều được xếp ở cấp hại 4 (kém), cho thấy dịch nuôi cấy hầu như không có khả năng kiểm soát khi nấm đã xâm nhiễm và phát triển trên bề mặt gỗ.

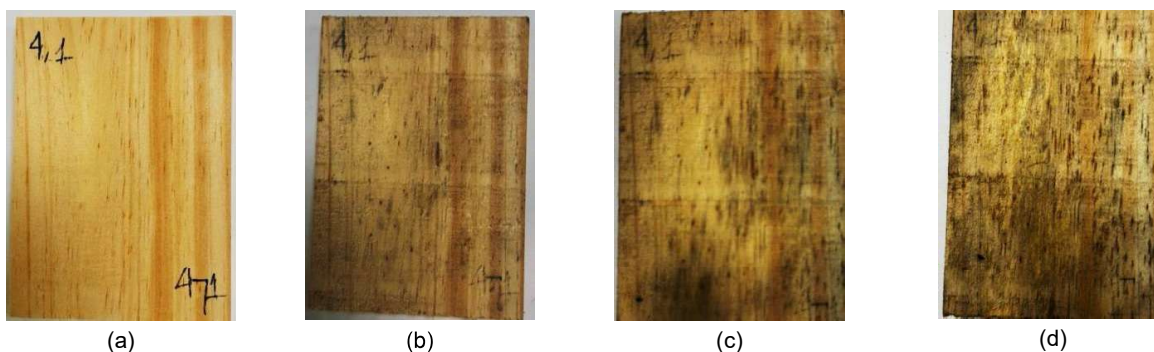
Ngược lại, ở các công thức xử lý trước khi gây nhiễm nấm (CT5 - CT7 và CT13 - CT15), tỷ lệ diện tích bị nhiễm nấm giảm đáng kể sau 7

ngày. Cụ thể, các công thức CT5 - CT7 chỉ còn 46,67 - 52,08% diện tích bị nhiễm (hình 4 - 6), trong khi CT13 - CT15 chỉ còn 20,83 - 24,58% (hình 7 - 9), thấp hơn khoảng 71 - 75% so với đối chứng tương ứng. Đáng chú ý, chỉ các công thức CT13 - CT15 đạt cấp hại 2 (hiệu lực khá), trong khi CT5 - CT7 chỉ đạt cấp hại 3 (hiệu lực trung bình). Kết quả này cho thấy, việc xử lý phòng ngừa bằng dịch nuôi cấy, đặc biệt là công thức phối trộn hai chủng vi khuẩn đối kháng, có khả năng hạn chế hiệu quả sự xâm nhập ban đầu của các chủng nấm gây hại lên bề mặt gỗ.

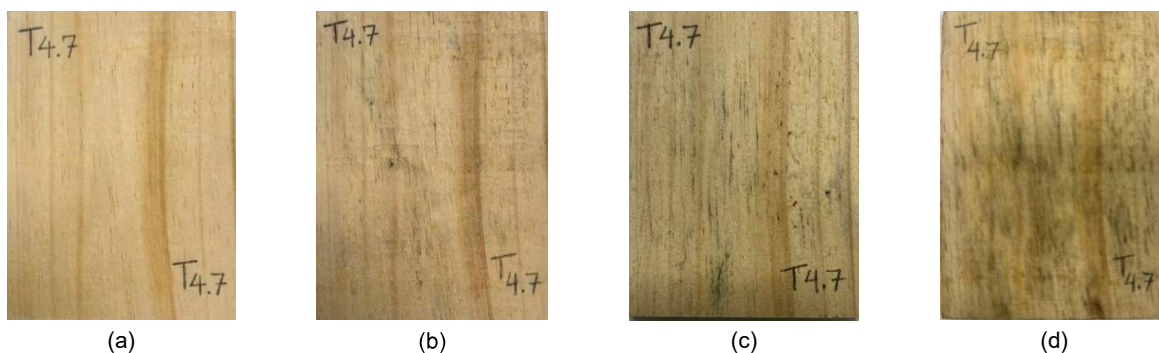
Hiệu lực bảo quản gỗ của các công thức xử lý đều có xu hướng giảm theo thời gian. Sau 14 ngày, các công thức CT13 - CT15 giảm xuống mức hiệu lực trung bình và đến ngày thứ 21 đều chuyển sang cấp hại 4 (kém), với tỷ lệ diện tích bị nhiễm đạt 70,83 - 72,08%. Tương tự, các công thức CT5 - CT7 cũng tăng từ 46,67 - 52,08% lên 76,25 - 82,08% sau 21 ngày. Xu hướng này cho thấy hoạt tính của các hợp chất kháng nấm trong dịch nuôi cấy giảm dần theo thời gian hoặc bị ảnh hưởng bởi các điều kiện môi trường trong quá trình thử nghiệm, làm giảm khả năng bảo vệ bề mặt gỗ khi thời gian tiếp xúc kéo dài. Trong thực tế sản xuất, thời gian lưu kho bãi không kéo dài, gỗ nhanh chóng được sơ chế, xẻ, sấy và điều kiện thời tiết thực tế cũng không khắc nghiệt như trong khảo nghiệm. Do vậy, với hiệu lực phòng chống nấm

mốc trong 14 ngày cũng mang lại khả năng ứng dụng trong thực tế. So sánh giữa các điều kiện xử lý cho thấy các công thức trên mẫu gỗ không khử trùng luôn đạt hiệu quả cao hơn so với các công thức tương ứng trên mẫu gỗ đã khử trùng.

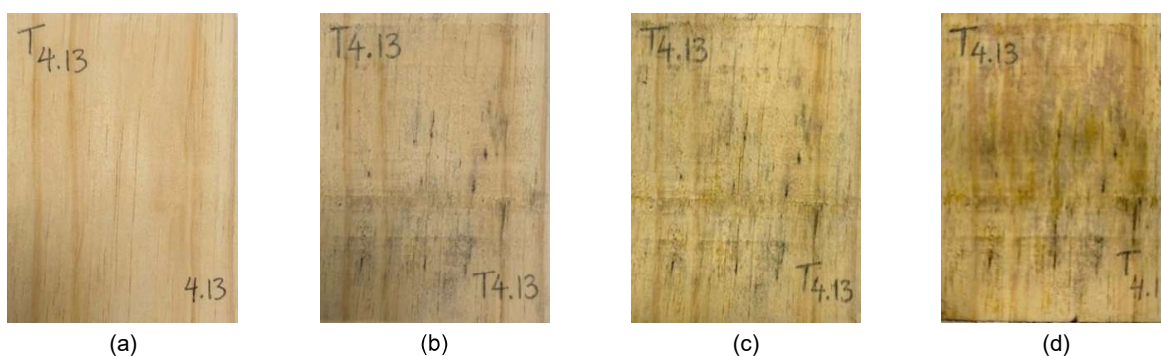
So sánh với các nghiên cứu khác cho thấy hiệu lực phòng chống nấm của dịch nuôi cấy vi khuẩn trong nghiên cứu này thấp hơn các hóa chất bảo quản gỗ tổng hợp. Cụ thể, chế phẩm NT5 ở nồng độ 3% có thể ngăn chặn hoàn toàn nấm (Nguyễn Công Tỉnh *et al.*, 2024), tương tự các báo cáo có hiệu suất duy trì cao của Michael H. West (1989) và Nguyễn Thị Bích Ngọc (2015). Tuy nhiên, khả năng ức chế nấm ở giai đoạn đầu và sự suy giảm hoạt tính theo thời gian trong nghiên cứu này hoàn toàn phù hợp với đặc thù của chế phẩm sinh học (Bernhard Kreber, J. J. Morrell, 1993). Mức độ đối kháng sinh học cũng tương đương công bố của Sonia Savluchinske Feio và đồng tác giả (2004) về vi khuẩn *B. subtilis* 355 (kìm hãm nấm đạt $3,1 \pm 0,9/4$ điểm, vòng vô khuẩn ≥ 2 mm). Điều này cho thấy dịch nuôi cấy của *B. velezensis* ĐK7 và *B. vallismortis* ĐK68, đặc biệt khi phối trộn hai chủng, có tiềm năng ứng dụng trong bảo quản gỗ theo hướng thân thiện với môi trường. Tuy nhiên, để nâng cao hiệu quả trong điều kiện sử dụng thực tế, cần tiếp tục tối ưu hóa công thức chế phẩm và nghiên cứu các giải pháp kéo dài thời gian duy trì hoạt tính sinh học trên bề mặt gỗ.



Hình 4. Hình ảnh mẫu thử CT 13 (dịch ĐK 7) qua 7, 14 và 21 ngày
Mẫu trước thử (a); Mẫu thử 7 ngày (b); Mẫu thử 14 ngày (c); Mẫu thử 21 ngày (d)



Hình 5. Hình ảnh mẫu thử CT 14 (dịch ĐK 68) qua 7, 14 và 21 ngày
Mẫu trước thử (a); Mẫu thử 7 ngày (b); Mẫu thử 14 ngày (c); Mẫu thử 21 ngày (d)



Hình 6. Hình ảnh mẫu thử CT 15 (dịch ĐK 7 + ĐK 68) qua 7, 14 và 21 ngày
Mẫu trước thử (a); Mẫu thử 7 ngày (b); Mẫu thử 14 ngày (c); Mẫu thử 21 ngày (d)



Hình 7. Hình ảnh mẫu đối chứng trước thử (a) và mẫu đối chứng sau thử (b)

IV. KẾT LUẬN

Dịch nuôi cấy phối trộn hai chủng *B. velezensis* ĐK7 và *B. vallismortis* ĐK68 ở nồng độ 10% và lượng xử lý 100 ml/m² cho hiệu quả phòng chống nấm mốc và nấm biến màu cao nhất khi được xử lý bảo quản gỗ tươi, làm giảm tỷ lệ diện tích nhiễm nấm xuống còn 20,83 - 24,58% sau 7 ngày. Xử lý bảo quản bằng dịch nuôi cấy

trước khi gỗ bị nhiễm nấm mang lại hiệu quả vượt trội so với xử lý sau khi gỗ đã bị nấm đã xâm nhiễm, trong khi hiệu quả bảo quản với mẫu gỗ không khử trùng đạt cao hơn so với mẫu gỗ đã khử trùng. Công thức phối trộn *B. velezensis* ĐK7 và *B. vallismortis* ĐK68 trên mẫu gỗ không khử trùng đạt hiệu lực khá sau 7 ngày và duy trì ở mức trung bình sau 14 ngày,

trước khi giảm xuống mức kém sau 21 ngày. Kết quả này khẳng định tiềm năng ứng dụng của dịch nuôi cấy hai chủng vi khuẩn trong bảo quản gỗ còn tươi sau khai thác theo hướng phòng ngừa và thân thiện với môi trường, đồng

thời cho thấy cần tiếp tục tối ưu hóa công thức chế phẩm nhằm kéo dài thời gian bảo vệ và nâng cao hơn nữa hiệu quả bảo quản gỗ trong điều kiện thực tế.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bùi Thị Thuý, 2023. Báo cáo chuyên đề: Tuyển chọn vi sinh vật đối kháng với nấm mốc, nấm biến màu hại gỗ. Viện Nghiên cứu Công nghiệp rừng, p.26 - 28.
2. Bernhard Kreber and J. J. Morrell, 1993. Ability of selected bacterial and fungal bioprotectants to limit fungal stain in ponderosa pine sapwood. Wood and Fiber Science, 25(1), 1993. pp. 23 - 34.
3. Chowdhury SP., Hartmann A., Gao X. and Borriss R., 2015. Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 - a review. Front Microbiol 6: 780.
4. Michael H. West., 1989. Saptain control composition and method, USA Patent No 5009937.
5. Nguyễn Thị Bích Ngọc, 2015. Nghiên cứu xác định mức độ xâm hại của sinh vật đến Mộc bản tại chùa Vĩnh Nghiêm. Báo cáo chuyên đề, đề tài: “Ứng dụng tiến bộ khoa học và công nghệ để bảo quản di sản Mộc bản chùa Vĩnh Nghiêm và chùa Bồ Đà tỉnh Bắc Giang”.
6. Nguyễn Công Tinh, Vũ Duy Nhân, Đinh Thị Thu Trang, 2024. Đánh giá hiệu lực phòng chống nấm mốc, mối cho gỗ của chế phẩm NT5. Tạp chí Khoa học và Công nghệ nhiệt đới - Số 35, 09 - 2024.
7. Parte AC., 2014. LPSN - list of prokaryotic names with standing in nomenclature, Nucleic Acids Res 42: D613 - 616.
8. Sonia Savluchinske Feio, Ana Barbosa Manuela Cabrita, Lina Nunes, Alexandra Esteves, Jose' Carlos Roseiro, Maria Joa'õ Marcelo Curto, 2004. Antifungal activity of *Bacillus subtilis* 355 against wood-surface contaminant fungi. J Ind Microbiol Biotechnol (2004) 31: 199 - 203 DOI: 10.1007/s10295 - 004 - 0133 - x.
9. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 13705:2023 Chế phẩm bảo quản gỗ - xác định khả năng chống chịu nấm mốc gây hại trên bề mặt - phương pháp phòng thí nghiệm.
10. Wang L.T., Lee F.L., Tai C.J. and Kuo H.P., 2008. *Bacillus velezensis* is a later heterotypic synonym of *Bacillus amyloliquefaciens*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 58 (3): 671 - 675.
11. Yang L., Sun Z., Han M. and Han Z., 2017. *Bacillus vallismortis* and application thereof. PhysicsWeb.https://patents.google.com/patent/CN103952329A/en. Ngày đăng: Ngày 18 tháng 01 năm 2017.

Email tác giả liên hệ: ltquachdinh Huy35@gmail.com

Ngày nhận bài: 13/07/2026

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 23/07/2026; 24/07/2026

Ngày duyệt đăng: 10/08/2026