

KHẢO SÁT KHẢ NĂNG KHÁNG VI KHUẨN *RALSTONIA SOLANACEARUM* GÂY BỆNH HÉO XANH Ở THỰC VẬT BẰNG NANO BẠC

Nguyễn Phạm Anh Thi¹, Trần Thị Ngọc Châu¹,

Trương Thị Tuyết Ngân¹, Nguyễn Tấn Tài²

TÓM TẮT

Vật liệu nano bạc đã được nghiên cứu và công bố là có tính kháng khuẩn cao và đã được ứng dụng để điều trị bệnh trong y học. Nghiên cứu được thực hiện với ba nghiệm thức nano bạc được khử trong dịch chiết từ ba loại thực vật là Ngũ Sắc, Kim Quýt, Hương Nhu nhằm mục đích khảo sát khả năng kháng vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* – một loài vi khuẩn gây bệnh héo xanh ở thực vật. Với phương pháp khoanh giấy thấm và đo quang phổ tại 4 nồng độ nano bạc 20, 40, 60, 80 ppm cả ba nghiệm thức đều cho khả năng ức chế sự phát triển của 3 dòng vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* RS5, RS7, RS9 với giá trị đường kính vòng vô khuẩn (ĐKVVK) cao nhất ở nồng độ 80 ppm lần lượt ở các nghiệm thức là Ngũ Sắc: ĐKVVK dao động từ 7 – 11,3 mm; Kim Quýt: ĐKVVK dao động từ 7 – 12,6 mm; Hương Nhu: ĐKVVK dao động từ 4,3 – 4,6 mm.

Từ khóa: Kháng khuẩn, nano bạc, *Ralstonia solanacearum*.

1. MỤC ĐẦU

Ralstonia solanacearum là vi khuẩn gây bệnh héo xanh trên nhiều cây trồng trên thế giới và được xếp thứ hai trong danh sách các loài vi khuẩn gây hại nghiêm trọng trên thực vật (John Mansfiels et al., 2012). Theo Hayward (1994), *R. solanacearum* gây hại trên 200 loài thực vật thuộc 50 họ khác nhau do sự đa dạng về kiểu hình và kiểu gen giữa các dòng. Ở Việt Nam, vi khuẩn *R. solanacearum* gây hại phổ biến trên cà chua, cà, lạc, khoai tây, thuốc lá ở vùng Hà Nội và phụ cận (Đỗ Tân Dũng, 1998). Trước tình hình đó, đã có nhiều nghiên cứu về canh tác và chọn giống cây trồng, sử dụng thuốc hóa học bảo vệ thực vật cũng như áp dụng biện pháp kiểm soát sinh học bằng cách sử dụng các chế phẩm vi sinh, phân húu cơ vi sinh chứa các chủng vi sinh vật đối kháng có khả năng ức chế và làm giảm tính độc của *R. solanacearum*. Tuy nhiên, các biện pháp vẫn còn hạn chế vì khả năng giảm tỉ lệ bệnh còn thấp, thời gian bảo quản chế phẩm ngắn, hiệu quả chưa cao nên chưa đáp ứng nhu cầu của thực tiễn,... Trong khi đó, việc sử dụng thuốc hóa học để hạn chế vi khuẩn *R. solanacearum* gây ảnh hưởng xấu tới môi trường sinh thái, chất lượng sản phẩm và sức khỏe cộng đồng.

Vật liệu nano bạc đã được sử dụng để điều trị bệnh trong y tế hơn 100 năm do thuộc tính kháng khuẩn tự nhiên của nó. Vì vậy, những nghiên cứu ứng dụng nano bạc trong vấn đề kháng khuẩn đang được quan tâm và đẩy mạnh trên thế giới. Việt Nam đã có nhiều nghiên cứu cho thấy sự hiệu quả của loại vật liệu này như ứng dụng nano bạc trong bảo quản nhằm: nâng cao chất lượng thanh long sau thu hoạch (Phạm Thị Hà Vân, 2017), trong khử trùng môi trường nuôi cấy in vitro cây hoa cúc (Đương Tấn Nhựt, 2017), trong việc gia tăng khả năng tăng trưởng của cây Cúc trong hệ thống vi thủy canh (Hoàng Thanh Tùng, 2016),...

Theo xu hướng hóa học xanh hiện nay, việc sử dụng thực vật để sản xuất các hạt nano bạc ngày càng được ứng dụng rộng rãi vì quy trình sản xuất nhanh chóng, thân thiện với môi trường hơn là phương pháp tổng hợp hóa học thông thường. Việc khử và ổn định các ion bạc bằng sự kết hợp của các phân tử sinh học như protein, axit amin, enzym, polysaccharid, alkaloid, tannin, phenol, saponin, terpinoids và vitamin trong dịch chiết thực vật đã được nghiên cứu và chứng minh có giá trị y học và lành tính với môi trường (Kulkarni N, 2014). Xuất phát từ những lí do trên, đề tài “Khảo sát khả năng kháng vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* gây bệnh héo xanh ở cây bằng nano bạc” đã được tiến hành nghiên cứu.

¹ Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

² Bộ môn Khoa học Vật liệu, Khoa Hóa học Ứng dụng, Trường Đại học Trà Vinh
Email: npathi@ctu.edu.vn

2. PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Nguồn vi khuẩn: Chín dòng vi khuẩn gây bệnh héo xanh từ Bộ môn Bảo vệ Thực vật, Khoa Nông nghiệp và Phòng thí nghiệm Sinh học Phân tử, Viện NC&PT Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.

Bảng 1. Các dòng vi khuẩn gây bệnh héo xanh

STT	Mã vi khuẩn	Nguồn phân lập
1	RS2	Vạn thọ
2	RS3	Dưa leo
3	RS4	Ớt
4	RS5	Gừng
5	RS6	Cúc
6	RS7	Cúc
7	RS8	Cúc
8	RS9	Ớt
9	RS10	Ớt

Nano bạc: Nguồn nano bạc được tổng hợp từ dịch chiết ba loại cây: Ngũ Sắc, Kim Quýt, Hương Nhu được cung cấp từ Bộ môn Khoa học Vật liệu, Trường Đại học Trà Vinh.

Bảng 2. Các nghiệm thức nano bạc

Tên nghiệm thức	Dịch chiết thực vật	Kích thước hạt nano bạc
NS	Ngũ Sắc	18 – 36 nm
KQ	Kim Quýt	18 – 50 nm
HN	Hương Nhu	36 – 63 nm

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tuyển chọn các dòng vi khuẩn gây bệnh héo xanh

Mẫu vi khuẩn *R. solanacearum* Smith được phân lập và nuôi cấy theo phương pháp của Lê Lương Tè (1997) và Hayward (1991). Trái 50 μ L chủng vi khuẩn mật số 10⁶ CFU lên môi trường đĩa thạch King'S B. King'S B có TTC, ủ ở 28°C trong 48 giờ (Kelman, 1954). Sau đó chọn các khuẩn lạc tròn nhầy có màu đỏ hoặc có phần rìa màu trắng, phần trung tâm màu đỏ để cấy truyền sang môi trường đĩa thạch King's B.

Thực hiện các test sinh hóa bao gồm catalase, oxidase và nhuộm gram để tuyển chọn lại các dòng vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* cho các thử nghiệm tiếp theo.

2.2.2. Khảo sát khả năng ức chế vi khuẩn gây bệnh của nano bạc bằng phương pháp khuếch tán giấy thấm

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm đánh giá khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh héo xanh bằng các nghiệm thức nano bạc Ngũ Sắc (NS), Kim Quýt (KQ), Hương Nhu (HN) được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, được lặp lại 3 lần với các nồng độ khác nhau 0 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm. (Hadacek *et al.*, 2000).

Tiến hành thí nghiệm: Nano bạc được pha loãng thành các nồng độ khác nhau. Các dòng vi khuẩn được nuôi tăng sinh sau 12 giờ trong môi trường King's B lỏng, pha loãng vi khuẩn đạt mật số 10⁶ CFU. Tiếp theo, tiến hành trại vi khuẩn lên môi trường King's B agar. Sau khi vi khuẩn đã được trại đều, đặt các khoanh giấy có đường kính 6 mm trên bề mặt đĩa. Nhỏ trực tiếp 40 μ L dịch nano bạc và đối chứng với các nồng độ khác nhau trên bề mặt khoanh giấy. Sau đó ủ ở 28°C, quan sát khả năng tạo vòng kháng khuẩn (nếu có).

Hiệu quả kháng khuẩn được tính theo công thức: C = D - d

Trong đó C: Đường kính vòng vô khuẩn; D: Đường kính vòng sáng xung quanh giếng thạch; d: Đường kính khoanh giấy (mm).

2.3. Xử lý số liệu

Các thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Excel và phần mềm MINITAB 16 để phân tích so sánh các giá trị trung bình theo phép thử Tukey.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tuyển chọn các dòng vi khuẩn gây bệnh héo xanh

Ralstonia solanacearum là vi khuẩn gram âm có hình que ngắn, tròn ở hai đầu. Vi khuẩn thường gấp ở dạng đơn lẻ, ghép đôi hoặc bốn, kích thước trong khoảng 1,0 – 1,5 x 0,5 – 0,6 μ m, chuyển động nhờ một đến một vài chiên mao (Mehan, 1994). Vi khuẩn *R. solanacearum* có đặc điểm dương tính với thử nghiệm catalase và oxidase. Trên môi trường King's B có thêm TTC, các dòng vi khuẩn có dạng hình tròn nhầy với phần rìa màu trắng và màu hồng ở trung tâm là các dòng vi khuẩn có tính độc, các khuẩn lạc không độc hại có màu đỏ đồng nhất (Patrick Juma, 2018).

Các dòng vi khuẩn được thực hiện các kiểm tra sinh hóa như catalase, oxidase, nhuộm gram để chọn lại những dòng có đặc điểm giống với vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* (Bảng 3).

Bảng 3. Kết quả đặc tính sinh hóa của các dòng vi khuẩn gây bệnh héo xanh

STT	Dòng	Catalase	Oxidase	Nhuộm gram	Độc tố
1	RS1	+	+	Âm	Không độc
2	RS2	+	-	Âm	Độc
3	RS3	+	+	Âm	Không độc
4	RS4	+	+	Âm	Không độc
5	RS5	+	+	Âm	Độc
6	RS6	+	+	Âm	Không độc
7	RS7	+	+	Âm	Độc
8	RS8	+	+	Âm	Không độc
9	RS9	+	+	Âm	Độc
10	RS10	+	-	Âm	Độc

Chú thích: Dấu (+) thể hiện kết quả dương tính, dấu (-) thể hiện kết quả âm tính với các test sinh hóa

Dựa vào kết quả đặc tính sinh hóa của các dòng gây bệnh héo xanh và đặc điểm hình thái khuẩn lạc tuyển chọn được 3 dòng vi khuẩn gây độc RS5, RS7, RS9 có hình dạng tròn nhầy với phần rìa màu trắng và trung tâm màu hồng (Hình 1). Ba dòng vi khuẩn RS5, RS7, RS9 được sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.



A: RS5 B: RS7 C: RS9

Hình 1. Khuẩn lạc vi khuẩn dòng RS5, RS7 RS9 dưới kính hiển vi soi nổi

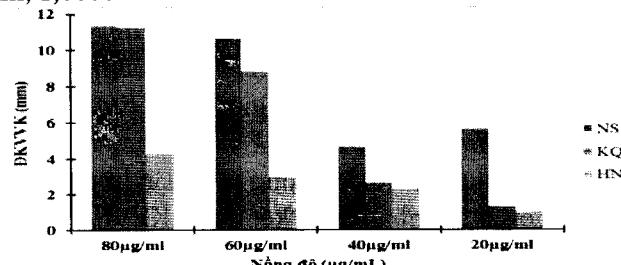
3.2. Khảo sát khả năng ức chế vi khuẩn gây bệnh héo xanh bằng phương pháp khoanh giấy thẩm

Thí nghiệm đánh giá khả năng kháng khuẩn bằng các nghiệm thức nano bạc NS, KQ, HN được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, được lặp lại 3 lần với các nồng độ khác nhau: 0 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm trên ba dòng vi khuẩn đã được tuyển chọn RS5, RS7, RS9. Trải huyền phù vi khuẩn sau khi được nuôi trong môi trường lỏng King's B trong 12 giờ lên đĩa thạch, đặt các khoanh giấy ở những vị trí của các nghiệm thức, borm 40 µL các nghiệm thức nano bạc lên từng khoanh giấy. Ủ ở 28°C sau đó quan sát giá trị đường kính vòng vô khuẩn (ĐKVVK).

3.2.1. Hiệu quả ức chế dòng vi khuẩn RS5

Sau 12 giờ khảo sát tất cả các nghiệm thức đều cho khả năng kháng vi khuẩn RS5. Khi so sánh hiệu quả ức chế của từng nghiệm thức nano bạc qua các

nồng độ 20, 40, 60, 80 ppm cho thấy ĐKVVK tăng dần theo nồng độ nano bạc; cụ thể như sau: các nghiệm thức NS, KQ, HN được ghi nhận giá trị ĐKVVK cao nhất lần lượt là 11,333 mm; 11,250 mm; 4,3333 mm ở nồng độ 80 ppm và thấp nhất ở nồng độ 20 ppm với giá trị ĐKVVK lần lượt là 5,667 mm; 1,333 mm; 1,0000 mm.

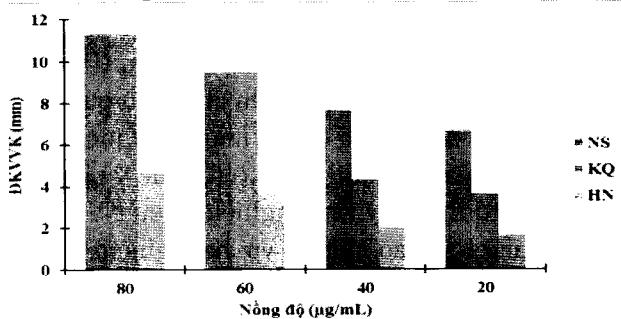


Hình 2. Biểu đồ so sánh khả năng ức chế dòng vi khuẩn RS5 của ba nghiệm thức NS, KQ, HN

Tất cả các nghiệm thức đều cho hiệu quả ức chế RS5 cao hơn đối chứng âm và khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê (ở mức ý nghĩa 5%). Trong đó có thể thấy rằng nghiệm thức NS cho khả năng kháng RS5 cao nhất so với hai nghiệm thức còn lại ở các nồng độ 60, 40 và 20 ppm. Tuy nhiên ở nồng độ 80 ppm thì giá trị ĐKVVK của nghiệm thức NS không khác biệt nhiều so với nghiệm thức KQ (Hình 2).

3.2.2. Hiệu quả ức chế vi khuẩn dòng RS7

Sau 12 giờ khảo sát tất cả các nghiệm thức đều cho khả năng kháng vi khuẩn RS7. Khi so sánh hiệu quả ức chế của từng nghiệm thức nano bạc qua các nồng độ 20, 40, 60, 80 ppm cho thấy ĐKVVK tăng dần theo nồng độ nano bạc.



Hình 3. Biểu đồ so sánh khả năng ức chế dòng vi khuẩn RS7 của ba nghiệm thức NS, KQ, HN

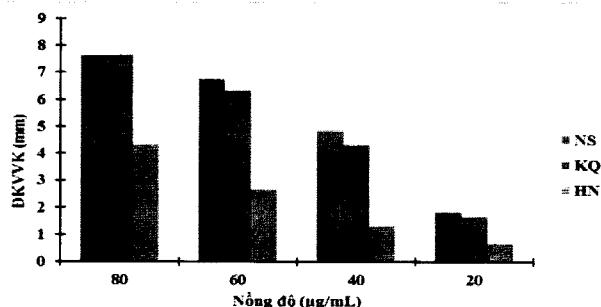
Kết quả thí nghiệm cho thấy tất cả các nghiệm thức khi tiến hành tăng nồng độ từ 20 lên 80 ppm các nghiệm thức NS, KQ, HN tăng khả năng kháng khuẩn đáng kể với giá trị ĐKVVK cao nhất lần lượt là 11,333 mm; 11,333 mm; 4,6667 mm ở nồng độ 80 ppm và thấp nhất ở nồng độ 20 ppm với giá trị

ĐKVVK lần lượt là 6,667 mm; 3,667mm; 1,6667 mm (Hình 3).

Tất cả các nghiệm thức đều cho hiệu quả ức chế RS7 cao hơn đối chứng âm là nước khử ion và khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê (ở mức ý nghĩa 5%). Trong đó có thể thấy rằng nghiệm thức NS cho khả năng kháng RS5 cao nhất so với hai nghiệm thức còn lại ở các nồng độ 60, 40 và 20 ppm tuy nhiên ở nồng độ 80 và 60 ppm thì giá trị ĐKVVK của nghiệm thức NS không khác biệt so với nghiệm thức KQ.

3.2.3. Hiệu quả ức chế vi khuẩn dòng RS9

Tương tự như với hai dòng vi khuẩn trên, sau 12 giờ khảo sát ghi nhận được kết quả ĐKVVK tăng dần theo các nồng độ 20, 40, 60, 80 ppm của nano bạc đối với dòng vi khuẩn RS9.



Hình 4. Biểu đồ so sánh khả năng ức chế dòng vi khuẩn RS9 của ba nghiệm thức NS, KQ, HN

Kết quả thí nghiệm cho thấy tất cả các nghiệm thức khi tiến hành tăng nồng độ từ 20 lên 80 ppm các nghiệm thức NS, KQ, HN tăng khả năng kháng khuẩn đáng kể với giá trị ĐKVVK cao nhất lần lượt là 7,6667 mm; 7,6667 mm; 4,333 mm ở nồng độ 80 ppm và thấp nhất ở nồng độ 20 ppm với giá trị ĐKVVK lần lượt là 1,8333 mm; 1,6667 mm; 0,6667 mm (Hình 4).

Tất cả các nghiệm thức đều cho hiệu quả ức chế RS9 cao hơn đối chứng âm là nước khử ion và khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê (ở mức ý nghĩa 5%). Trong đó có thể thấy rằng nghiệm thức NS cho khả năng kháng RS9 cao nhất so với hai nghiệm thức còn lại ở các nồng độ 60, 40 và 20 ppm tuy nhiên ở nồng độ 80 ppm thì giá trị ĐKVVK của nghiệm thức NS không khác biệt so với nghiệm thức KQ. Kết quả thí nghiệm cho thấy ĐKVVK của các nghiệm thức NS và KQ đều cho khả năng kháng khuẩn cao hơn nghiệm thức HN, song song đó hạt nano bạc trong dịch chiết HN có kích thước lớn nhất so với hạt nano bạc trong dịch chiết NS và KQ. Qua đó cho thấy điểm tương quan giữa kích thước hạt nano bạc và khả năng kháng khuẩn của nano bạc. Kích thước nano bạc càng nhỏ khả năng kháng khuẩn càng cao.

Kết quả đường kính vòng kháng khuẩn dao động từ 8 – 12 mm tương đương với kết quả của các nghiên cứu trước về khả năng kháng khuẩn từ nano bạc được khử bằng dịch chiết từ thực vật. Theo Theivasanthi và ctv. (2011) đường kính vòng vô khuẩn từ nano bạc trong dịch chiết lá cây họ Đậu *Pongamia pinnata* đối với các vi khuẩn gram âm ví dụ như đạt 8mm đối với *Escherichia coli*, 10 mm đối với *Pseudomonas aeruginosa*, 12 mm đối với *Klebsiella pneumoniae*, 12 mm đối với vi khuẩn gram dương *Staphylococcus aureus*.

Từ kết quả nghiên cứu cho thấy cả ba nghiệm thức đều cho khả năng ức chế sự phát triển của các dòng vi khuẩn *Ralstonia solanacearum*. Tuy nhiên, khả năng kháng khuẩn chưa mang lại hiệu quả cao so với các nghiên cứu sử dụng hạt nano được tổng hợp (nhỏ hơn 20 nm). Một trong những lý do ảnh hưởng đến khả năng này có thể là do kích thước các hạt nano được tạo ra bằng phương pháp khử trong dịch chiết thực vật cho kích thước các hạt to hơn các sản phẩm thử nghiệm hiện nay. Vì thế cần có những nghiên cứu sâu hơn để cải thiện kích thước các hạt nano được tạo ra, nhằm mang lại hiệu quả kháng khuẩn cao nhất. Phương pháp tạo ra hạt nano từ phản ứng khử bạc trong dịch chiết thực vật là phương pháp mới, mở ra nhiều triển vọng trong việc phát triển sản xuất các hạt nano từ thực vật trong tương lai, nhất là Việt Nam là nước có nguồn cây được liệu, nguồn thực vật phong phú và đa dạng.

4. KẾT LUẬN

Cả ba nghiệm thức nano bạc được khử trong dịch chiết của các loài Ngũ Sắc, Kim Quýt, Hương Nhu đều cho khả năng kháng vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* các nồng độ 20 – 80 ppm.

Hiệu quả ức chế tăng khi tăng nồng độ nano bạc trong dịch chiết Ngũ Sắc, Kim Quýt, Hương Nhu. Nghiệm thức nano bạc trong dịch chiết Ngũ Sắc có khả năng kháng khuẩn hiệu quả hơn hai nghiệm thức còn lại.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đỗ Tân Dũng, 2002. Bệnh héo rũ hại cây trồng cạn và biện pháp phòng chống. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
- Đương Tân Nhựt, Hoàng Thanh Tùng, Lương Thiện Nghĩa, Nguyễn Duy Anh, Nguyễn Phúc Huy, Nguyễn Bá Nam, Vũ Quốc Luận, Vũ Thị Hiền, 2017. Nano bạc trong khử trùng môi trường nuôi cấy *in vitro* cây hoa cúc (*Chrysanthemum morifolium*

ramat cv. Jimba). Vietnam Journal of Biotechnology. Vol 15, no 03. ISSN 1811 – 4989.

3. Hadacek F., Greger H., 2000. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. Phytochem Analysis, 11: 137-147.

4. Hayward A.C., 1991. "Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*", Ann Rev Phytopathol, (29), pp. 65 – 87.

5. Hayward AC, 1994. The hosts of *Pseudomonas solanacearum*. In: Hayward AC, Hartman GL, eds. Bacterial wilt: The Disease and its Causative Agent, *Pseudomonas solanacearum*. Wallingford, UK: CAB International, 9-24.

6. Hoàng Thanh Tùng, Nguyễn Phúc Huy, Nguyễn Bá Nam, Vũ Quốc Luận, Vũ Thị Hiền, Trương Thị Bích Phượng, Dương Tân Nhựt, 2016. Tác động của nano bạc lên khả năng tăng trưởng của cây cúc trong hệ thống vi thủy canh. Tạp chí Công nghệ Sinh học 14(3): 461 – 471.

7. John Mansfield 1, Stephane Genin, Shimpei Magori, Vitaly Citovsky, Malinee Sriariyanum, Pamela Ronald, Max Dow, Valérie Verdier, Steven V Beer, Marcos A Machado, Ian Toth, George Salmond, Gary D Foster, 2012. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. British Society for Plant Pathology publication. 1364-3703. DOI: 10.1111/j. PMID: 22672649. PMCID: PMC6638704.

THE INVESTIGATION OF ANTIBACTERIAL ABILITY *RALSTONIA SOLANACEARUM* BY SILVER NANOPARTICLES

Nguyen Pham Anh Thi, Tran Thi Ngoc Chau,
Truong Thi Tuyet Ngan, Nguyen Tan Tai

Summary

Silver nanoparticles have been researched and proved to have high antibacterial properties and have been used to treat diseases in medicine. This study was performed with three treatments for silver nanoparticles which were reduced in extracts of three plants: *Ageratum conyzoides*, *Fortunella japonica* and *Ocimum tenuiflorum* for the purpose of investigating the antibacterial resistance to *Ralstonia solanacearum* – bacterium causing a fusarium wilt disease. With the disk agar diffusion and the spectroscopic measurement method, study was investigated at 4 concentrations of 20, 40, 60 and 80 ppm silver nano. All three treatments showed the ability to inhibit the growth of 3 strains of *Ralstonia solanacearum* RS5, RS7, RS9, with the highest antibacterial zone value at the concentration of 80 ppm in the treatments *Ageratum conyzoides*, *Fortunella japonica*, *Ocimum tenuiflorum* ranged respectively from 7 to 11.3 mm, from 7 to 12.6 mm and from 4.3 to 4.6 mm.

Keywords: Antibacterial, Silver nanoparticles, *Ralstonia solanacearum*.

Người phản biện: GS.TS. Nguyễn Văn Tuất

Ngày nhận bài: 26/02/2021

Ngày thông qua phản biện: 26/3/2021

Ngày duyệt đăng: 02/4/2021

8. Kelman A., 1954. The relation of pathogenicity of *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance in tetrzolium medium, Phytopathology 44.

9. Kulkarni N, 2014. Biosynthesis of metal nanoparticles: a review. Muddapur U. J Nanotechnol.:1–8.

10. Lê Lương Tè, 1997. Ảnh hưởng của một số yếu tố sinh thái đối với bệnh héo rũ vi khuẩn hại lạc ở vùng đất bạc màu trung du Bắc bộ. Tạp chí Bảo vệ Thực vật, số 4, tr. 5 - 8.

11. Mehan VK, Liao BS, 1994. Groundnut bacterial wilt: past, present, and future. In: Mehan VK and McDonald D (edS) Groundnut Bacterial Wilt in Asia, proceedings of the Third Working group Meeting, OCRI, Wuhan, China, pp 67 – 88.

12. Patrick Juma, 2018. Guide on isolation, culture and inoculation of bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*). DOI: 10.13140/RG.2.2.21695.76965, pp 2.

13. Phạm Thị Hà Vân, Nguyễn Thị Thúy Liễu, Lê Sĩ Ngọc, Nguyễn Hoàng Thảo Ly, 2017. Nghiên cứu ứng dụng màng chitosan-nano bạc trong bảo quản nhằm nâng cao chất lượng thanh long sau thu hoạch. Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Sư phạm TP. Hồ Chí Minh. ISSN 1859 – 3100.

14. Theivasanthi, T. and Alagar, M, 2011. Antibacterial studies of silver nanoparticles, 5. In arXiv 1101(0348).