

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG CỦA CÁC CHỦNG XẠ KHUẨN ĐỐI VỚI VI KHUẨN *Dickeya fangzhongdai* GÂY BỆNH THỐI TRÁI MÍT SIÊU SỚM

Lê Minh Tường^{1,*}, Đinh Hoàng Kha¹, Nguyễn Văn Tập², Lý Hùng³

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện trong điều kiện Phòng thí nghiệm Bệnh cây thuộc Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ nhằm tìm ra chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng cao với vi khuẩn *Dickeya fangzhongdai* gây bệnh thối trái mít siêu sớm. Khả năng đối kháng của 26 chủng xạ khuẩn đối với vi khuẩn *D. fangzhongdai* được thực hiện với 5 lần lặp lại. Kết quả cho thấy, 4 chủng CL-TG18, CL-TG24, TP-TG6 và CB-TG29 thể hiện khả năng đối kháng với vi khuẩn *D. fangzhongdai* cao nhất với bán kính vòng vô khuẩn (BKVVK) lần lượt là: 2,54 mm; 2,85 mm; 2,41 mm; 2,17 mm ở thời điểm 7 ngày sau khi bố trí thí nghiệm (NSBT). Khả năng ức chế sự gia tăng mật số vi khuẩn của 4 chủng: CL-TG18, CL-TG24, TP-TG6 và CB-TG29 được thực hiện với 5 lần lặp lại. Kết quả cho thấy, chủng CL-TG18 vẫn thể hiện khả năng ức chế sự gia tăng mật số vi khuẩn *D. fangzhongdai* cao nhất với log mật số vi khuẩn hình thành thấp nhất là 8,24 log CFU/ml ở thời điểm 48 giờ sau khi bố trí thí nghiệm. Bên cạnh đó, khả năng tiết enzyme protease phân giải protein của 4 chủng: CL-TG18, CL-TG24, TP-TG6 và CB-TG29 cũng được thực hiện với 5 lần lặp lại. Kết quả cho thấy, 2 chủng xạ khuẩn: CL-TG18 và CL-TG24 cho khả năng tiết enzyme protease phân giải protein cao nhất với bán kính vòng phân giải lớn nhất lần lượt là: 19,70 mm và 20,20 mm ở thời điểm 9 NSBT. Mặt khác, khả năng tiết enzyme lipase phân giải lipid của 4 chủng xạ khuẩn trên cũng được thực hiện với 5 lần lặp lại. Kết quả cho thấy, 2 chủng: CL-TG18 và CL-TG24 cho khả năng tiết enzyme lipase cao nhất với bán kính vòng phân giải lipid lớn nhất lần lượt là 14,29 mm và 14,40 mm ở thời điểm 9 NSBT.

Từ khóa: Bệnh thối trái mít, *Dickeya fangzhongdai*, enzyme protease, enzyme lipase, xạ khuẩn.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh thối trái mít do vi khuẩn *Dickeya fangzhongdai* gây ra và là một trong những bệnh gây hại khá phổ biến trên mít siêu sớm. Theo Jaffar và cs (2019) [1] bệnh xuất hiện trên cả trên trái non và trái trưởng thành và bệnh nặng làm cho vỏ trái và thịt trái xuất hiện màu nâu và có mùi thối. Để đối phó với mầm bệnh thì biện pháp sử dụng thuốc hóa học luôn được người dân áp dụng vì đạt hiệu quả cao trong phòng trị. Tuy nhiên, biện pháp hóa học có nhược điểm là ảnh hưởng tới

môi trường và sức khỏe con người, làm cho dịch hại ngày càng phát triển phức tạp hơn,... Nhằm phát triển nông nghiệp theo hướng bền vững và khắc phục những nhược điểm của thuốc hóa học, quản lý dịch hại bằng biện pháp sinh học đã và đang được nghiên cứu và áp dụng rộng rãi. Trong đó, xạ khuẩn là nhóm có triển vọng với những đặc điểm nổi bật như tiết ra nhiều chất kháng sinh (streptomycin, validamycin, kasugamycin, gentamycin...), các enzyme (chitinase, glucanase, protease, lipase...), cạnh tranh, ký sinh mầm bệnh để chống lại các tác nhân gây hại cây trồng [2], [3], [4]. Trong những năm gần đây, xạ khuẩn cũng đã được sử dụng trong phòng trừ một số tác nhân vi khuẩn gây bệnh hại cây trồng như: Phòng trừ bệnh thối nhũn hại cây trồng do vi khuẩn *Erwinia*

¹ Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

² Ủy ban Nhân dân huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long

³ Chi cục Trồng trọt và Bảo vệ thực vật tỉnh Tiền Giang

* Email liên hệ: lmtuong@ctu.edu.vn

chrysanthemi gây ra [5]; phòng trừ bệnh cháy lá trên táo và lê do vi khuẩn *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* gây ra [6]; phòng trừ bệnh thối nhũn củ khoai môn do vi khuẩn *Erwinia* sp. gây ra [7]; phòng trừ bệnh thối bông huệ do vi khuẩn *Erwinia* sp. gây ra [8]. Như vậy, việc nghiên cứu và sử dụng xạ khuẩn trong phòng trừ bệnh thối trái mít siêu sớm do vi khuẩn *Dickeya fangzhongdai* là có tính khả thi.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu thí nghiệm

- Nguồn vi khuẩn: Chủng vi khuẩn *Dickeya fangzhongdai* nhận được từ Phòng thí nghiệm Bệnh cây, Khoa Bảo vệ Thực vật, Trường Đại học Cần Thơ. Đây là chủng vi khuẩn phân lập từ mẫu bệnh có triệu chứng đặc trưng của bệnh thối trái mít siêu sớm thu thập từ vườn trồng mít của nông dân tại huyện Cai Lậy, tỉnh Tiền Giang và có khả năng gây bệnh nặng nhất trong số 30 chủng vi khuẩn phân lập.

- Nguồn xạ khuẩn: Xạ khuẩn được phân lập từ đất trồng mít cùng với địa điểm thu mẫu vi khuẩn gây bệnh. Mẫu đất được lấy xung quanh vùng rễ mít và cách mặt đất 10 - 20 cm, không lấy những mẫu đất trên bề mặt và xa vùng rễ. Mẫu đất cho vào túi nylon riêng lẻ. Sau đó, mang về Phòng thí nghiệm Bệnh cây tồn trữ ở nhiệt độ phòng và được phân lập theo phương pháp của Hsu và Lockwood (1975) [9].

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đánh giá khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với *Dickeya fangzhongdai* trong điều kiện phòng thí nghiệm

- Chuẩn bị thí nghiệm: Những chủng xạ khuẩn được nuôi cấy trong môi trường MS (Bột đậu nành, D-Manitol, Agar) trong 6 ngày, xác định mật số và chuyển về huyền phù bào tử xạ khuẩn cần dùng là 10^8 cfu/ml. Vi khuẩn *D. fangzhongdai* được nuôi cấy trên đĩa petri chứa môi trường King's B trong 3 ngày, cho 5 ml nước cất thanh trùng vào đĩa, thu được huyền phù, sau đó tiến hành điều chỉnh để đưa về huyền phù có $OD_{600nm} = 0,3$ (tương đương 10^8 cfu/ml).

- Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 1 nhân tố với 5 lần lặp lại. Mỗi lặp lại là 1 chủng xạ khuẩn thí nghiệm.

- Thực hiện thí nghiệm: Hòa 1 ml huyền phù vi khuẩn *D. fangzhongdai* ($OD_{600nm} = 0,3$) cùng 9 ml môi trường King's B lỏng vào đĩa Petri, lắc đều, để nguội. Sau đó, cấy xạ khuẩn thành 2 điểm trên môi trường King's B, mỗi điểm là 1 khoanh giấy thấm (đường kính = 5 mm) có tẩm huyền phù xạ khuẩn (10^8 cfu/ml). Đĩa Petri được đặt trong điều kiện nhiệt độ phòng khoảng 27°C.

- Chỉ tiêu theo dõi: Tiến hành đo BKVVK ở các thời điểm 1, 3, 5 và 7 NSBT.

2.2.2. Đánh giá khả năng ức chế sự gia tăng mật số vi khuẩn *Dickeya fangzhongdai* của các chủng xạ khuẩn ở điều kiện phòng thí nghiệm

- Chuẩn bị thí nghiệm: Giống như mô tả chuẩn bị thí nghiệm ở mục 2.2.1.

- Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 1 nhân tố với 5 lần lặp lại và gồm 5 nghiệm thức (4 chủng xạ khuẩn và 1 nghiệm thức đối chứng).

- Thực hiện thí nghiệm: Cho 10 ml dung dịch huyền phù xạ khuẩn (mật số 10^8 cfu/ml) vào bình tam giác (v = 250 ml) chứa 89 ml môi trường King's B lỏng. Sau đó, bổ sung 1 ml huyền phù vi khuẩn *D. fangzhongdai* ($OD_{600nm} = 0,3$) đã chuẩn bị trước. Sau đó đem bình đi nuôi lắc với tốc độ 100 vòng/phút trong điều kiện phòng thí nghiệm. Đối với nghiệm thức đối chứng thì thay 10 ml dung dịch huyền phù xạ khuẩn bằng 10 ml môi trường ISP4 lỏng (Muối A, tinh bột tan, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, NaCl, $(NH_4)_2SO_4$ và $CaCO_3$).

- Chỉ tiêu theo dõi: Ghi nhận chỉ tiêu ở thời điểm 6 giờ, 12 giờ, 24 giờ và 48 giờ sau khi nuôi lắc (GSNL) bằng cách xác định chỉ số OD_{600nm} của dịch nuôi cấy vi khuẩn theo từng thời điểm bằng máy đo quang phổ.

2.2.3. Khảo sát khả năng tiết enzyme protease phân giải protein của các chủng xạ khuẩn trên môi trường thạch

- Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 5 lặp lại, mỗi nghiệm thức

là 1 chủng xạ khuẩn thí nghiệm. Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của Mitra và Chakrabartty (2005) [10]: Xạ khuẩn sau khi được nuôi cấy trong đĩa petri 6 ngày trên môi trường MS, thu huyền phù xạ khuẩn. Thực hiện phương pháp pha loãng, nuôi cấy xạ khuẩn trên môi trường MS, xác định mật số xạ khuẩn bằng cách đếm các khuẩn lạc mọc trên môi trường nuôi cấy và chuyển về mật số xạ khuẩn cần dùng là 10^8 cfu/ml. Xạ khuẩn được cấy thành 2 điểm trên đĩa Petri chứa môi trường Casein, mỗi điểm là một khoanh giấy thấm (có đường kính 5 mm) có tẩm huyền phù xạ khuẩn.

- *Chỉ tiêu theo dõi*: Tiến hành đo bán kính vòng phân giải protein ở thời điểm 3, 5, 7 và 9 NSBT. Tại mỗi thời điểm lấy chỉ tiêu thí nghiệm, tiến hành trăn dung dịch TCA (Tricloro acid) lên bề mặt đĩa Petri thí nghiệm, sau đó để khoảng 30 giây ở nhiệt độ phòng và xác định hoạt tính protease do xạ khuẩn tiết ra trên môi trường thạch bằng cách đo bán kính vùng không bắt màu với dung dịch TCA và đó chính là vùng phân giải protein.

2.2.4. Khảo sát khả năng tiết enzyme lipase phân giải lipid của các chủng xạ khuẩn trên môi trường thạch

- *Bố trí thí nghiệm*: Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 5 lặp lại, mỗi nghiệm thức là 1 chủng xạ khuẩn thí nghiệm. Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của Ertugrul và cs (2007) [11]: Xạ khuẩn sau khi được nuôi cấy trong đĩa Petri 6 ngày trên môi trường MS, thu huyền phù xạ khuẩn (mật số 10^8 cfu/ml). Xạ khuẩn được cấy thành 2 điểm, mỗi điểm là một khoanh giấy thấm (có đường kính 5 mm) có tẩm huyền phù xạ khuẩn trên đĩa Petri có chứa môi trường Tween 80 agar.

- *Chỉ tiêu theo dõi*: Tiến hành đo bán kính vòng phân giải lipid ở thời điểm 3, 5, 7 và 9 NSBT.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Office Excel. Phân tích bằng phần mềm thống kê SPSS qua phép thử Duncan.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khả năng đối kháng của xạ khuẩn đối với vi khuẩn *Dickeya fangzhongdai* gây bệnh thối trái mít siêu sớm trong điều kiện phòng thí nghiệm

Khả năng đối kháng của 26 chủng xạ khuẩn đối với vi khuẩn *D. fangzhongdai* gây bệnh thối trái mít siêu sớm trong điều kiện phòng thí nghiệm được ghi nhận thông qua BKVVK ở các thời điểm 1, 3, 5 và 7 NSBT và được thể hiện ở bảng 1. Ở thời điểm 1 NSBT, tất cả các chủng xạ khuẩn thí nghiệm đều thể hiện khả năng đối kháng với vi khuẩn *D. fangzhongdai* với nhiều mức độ khác nhau và dao động từ 0,22 - 3,87 mm và chủng CL-TG18 có BKVVK cao nhất là 3,87 mm; tiếp đến là chủng CL-TG24 có BKVVK là 3,68 mm cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại. Đến thời điểm 3 NSBT, chủng CL-TG18 vẫn có BKVVK cao là 3,75 mm; tiếp theo là chủng CL-TG24 có BKVVK là 3,12 mm và chủng TP-TG6 là 2,87 mm cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại. Đến thời điểm 5 NSBT, 2 chủng: CL-TG18 và CL-TG24 vẫn thể hiện khả năng đối kháng cao nhất thông qua BKVVK cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng thí nghiệm còn lại. Đến thời điểm 7 NSBT, chủng CL-TG18 có BKVVK cao là 2,85 mm; tiếp theo là 2 chủng CL-TG24 và TP-TG6 có BKVVK lần lượt là 2,54 mm và 2,41 mm; tiếp đến là chủng CB-TG29 có BKVVK là 2,17 mm cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng thí nghiệm còn lại.

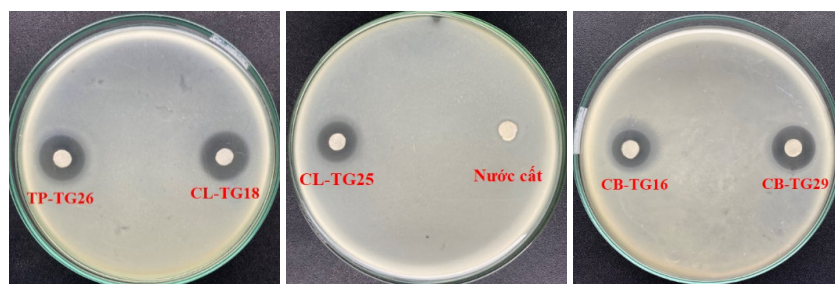
Bảng 1. Bán kính vòng vô khuẩn (mm) của các chủng xạ khuẩn đối với vi khuẩn *Dickeya fangzhongdai* qua các thời điểm khảo sát

STT	Nghiệm thức	Bán kính vòng vô khuẩn (mm) qua các thời điểm khảo sát			
		1 NSBT	3 NSBT	5 NSBT	7 NSBT
1	CB-TG8	0,38ghi	0,50gh	0,56g	1,00f
2	CB-TG12	0,32ghi	0,25h	0,22i	0,50gh
3	CB-TG14	0,85f	0,30h	0,30hi	0,30hi

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

4	CB-TG16	2,12e	2,06e	2,25c	1,75d
5	CB-TG21	0,22i	0,30h	0,48gh	0,62g
6	CB-TG29	2,87d	2,56d	2,40c	2,17c
7	CB-TG35	0,27hi	0,47gh	0,50gh	0,50gh
8	CB-TG37	0,30ghi	0,35gh	0,30hi	0,40ghi
9	CB-TG38	0,38ghi	0,50gh	0,50gh	0,62g
10	CB-TG39	0,48g	0,62g	0,50gh	0,48ghi
11	CL-TG2	0,22hi	0,32h	0,48gh	0,48ghi
12	CL-TG3	0,91f	0,93f	1,18e	1,25e
13	CL-TG8	0,38ghi	0,62g	0,43gh	0,25hi
14	CL-TG9	0,42gh	0,47gh	0,45gh	1,00ef
15	CL-TG12	0,40ghi	0,48gh	0,50gh	0,45ghi
16	CL-TG18	3,87a	3,75a	2,93a	2,85a
17	CL-TG20	0,36ghi	0,50gh	1,00f	1,00ef
18	CL-TG24	3,68b	3,12b	2,77a	2,54b
19	CL-TG26	0,26hi	0,32h	0,31hi	0,35hi
20	TP-TG3	0,91f	1,00f	1,37d	1,25e
21	TP-TG6	3,31c	2,87c	2,58b	2,41b
22	TP-TG8	0,27hi	0,30h	0,47gh	0,22i
23	TP-TG13	0,37ghi	0,50gh	0,48gh	0,45ghi
24	TP-TG17	0,22i	0,30h	0,30hi	0,27hi
25	TP-TG19	0,88f	1,03f	1,23de	1,21ef
26	TP-TG27	0,22i	0,33gh	0,50gh	0,35hi
Mức ý nghĩa		**	**	**	**
CV (%)		11,87	8,11	10,06	11,91

Ghi chú: Các giá trị ở cùng một cột dọc được theo sau bởi một hay nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa qua phép thử Duncan. **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%. NSBT: Ngày sau khi bố trí thí nghiệm.



Hình 1. Khả năng đối kháng của một số chủng xạ khuẩn với vi khuẩn *Dickeya fangzhongdai* gây bệnh thối trái mít ở thời điểm 7 ngày sau khi bố trí thí nghiệm

Kết quả bảng 1 cho thấy, 26 chủng xạ khuẩn thí nghiệm đều có khả năng đối kháng với vi khuẩn *D. fangzhongdai* gây bệnh thối trái mít siêu sớm ở những mức độ khác nhau qua các thời điểm khảo sát và 4 chủng xạ khuẩn: CL-TG18, CL-TG24, TP-TG6 và CB-TG29 thể hiện khả năng đối kháng

với vi khuẩn *D. fangzhongdai* cao nhất với BKVVK cao và thời gian duy trì khả năng đối kháng đến thời điểm 7 ngày sau khi bố trí thí nghiệm. Như vậy, 4 chủng xạ khuẩn: CL-TG18, CL-TG24, TP-TG6 và CB-TG29 được chọn cho thí nghiệm tiếp theo. Nghiên cứu của Lê Minh Tường và cs (2021) [12] đã tuyển chọn được các chủng xạ khuẩn có khả năng phòng trừ bệnh thối gốc thân lúa do vi khuẩn *D. chrysanthemi* gây ra trong điều kiện nhà lưới. Nguyễn Lê Thanh Mai (2020) [13], cũng đã tuyển chọn được các chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng cao với vi khuẩn *D. chrysanthemi* gây bệnh thối củ khoai lang.

3.2. Khả năng ức chế sự gia tăng mật số vi khuẩn *Dickeya fangzhongdai* gây bệnh thối trái

Bảng 2. Khả năng ức chế mật số vi khuẩn *Dickeya fangzhongdai* ở các nghiệm thức qua các thời điểm nuôi cấy

STT	Nghiệm thức	Log mật số vi khuẩn <i>Dickeya fangzhongdai</i>			
		6 GSNL	12 GSNL	24 GSNL	48 GSNL
1	CB-TG29	8,50a	8,59a	8,62b	8,64b
2	CL-TG18	7,82d	7,88d	8,16d	8,24e
3	CL-TG24	8,20c	8,31c	8,45c	8,49d
4	TP-TG6	8,29b	8,40b	8,45c	8,57c
5	ĐC	8,50a	8,61a	8,72a	8,81a
Mức ý nghĩa		**	**	**	**
CV(%)		0,62	0,57	0,48	0,56

*Ghi chú: Các trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một hay những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê trong phép thử Duncan. ** khác biệt mức ý nghĩa 1%; GSNL: Giờ sau khi nuôi cấy. Số liệu được chuyển sang log(x) trước khi xử lý thống kê.*

Ở thời điểm 24 GSNL, chủng CL-TG18 có log mật số vi khuẩn là 8,16 (log cfu/ml) thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại. Ở thời điểm 48 GSNL, chủng CL-TG18 vẫn thể hiện khả năng ức chế sự gia tăng mật số vi khuẩn *D. fangzhongdai* cao nhất với log mật số vi khuẩn là 8,24 log cfu/ml; tiếp đến là chủng CL-TG24 có log mật số vi khuẩn là 8,49 log cfu/ml thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức thí nghiệm còn lại.

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, 2 chủng: CL-TG18 và CL-TG24 thể hiện khả năng ức chế sự gia tăng mật số vi khuẩn cao và kéo dài đến 48 giờ sau khi

mít siêu sớm của các chủng xạ khuẩn trong điều kiện phòng thí nghiệm

Bảng 2 cho thấy, ở thời điểm 6 GSNL, 3 chủng xạ khuẩn CL-TG18, CL-TG24 và TP-TG6 đều có khả năng ức chế sự gia tăng mật số vi khuẩn *D. fangzhongdai* với nhiều mức độ khác nhau và chủng CL-TG18 có log mật số vi khuẩn là 7,82 log cfu/ml thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Ở thời điểm 12 GSNL, chủng CL-TG18 có log mật vi khuẩn là 7,88 log cfu/ml, tiếp đến là chủng CL-TG24 có log mật số vi khuẩn là 8,31 log cfu/ml thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại.

bố trí thí nghiệm so với 2 chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại.

3.3. Khả năng tiết enzyme protease phân giải protein của các chủng xạ khuẩn trên môi trường thạch

Kết quả trình bày ở bảng 3 cho thấy, ở thời điểm 3 NSBT, tất cả các chủng xạ khuẩn đều có khả năng phân giải protein và chủng TP-TG6 có khả năng tiết enzyme protease cao nhất với bán kính vòng phân giải protein lớn nhất là 8,25 mm cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với 3 chủng thí nghiệm còn lại.

Bảng 3. Khả năng tiết enzyme protease phân giải protein của 4 chủng xạ khuẩn ở các nghiệm thức qua các thời điểm khảo sát

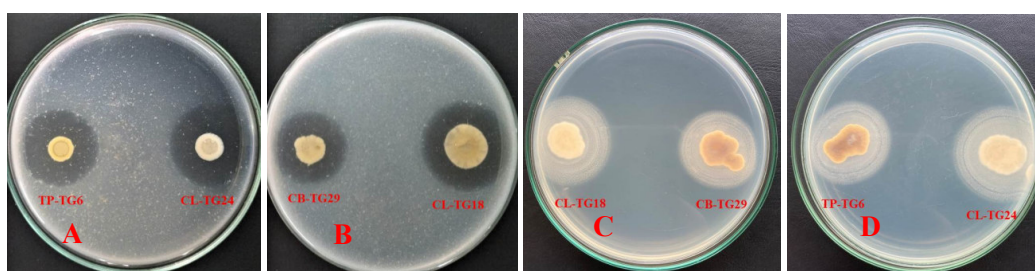
STT	Nghiệm thức	Bán kính (mm) vòng phân giải protein			
		3 NSBT	5 NSBT	7 NSBT	9 NSBT
1	CB-TG29	7,25b	12,10b	12,80d	15,85c
2	CL-TG18	4,94d	12,65ab	20,02a	19,70a
3	CL-TG24	6,17c	13,45a	18,80b	20,20a
4	TP-TG6	8,25a	9,80c	14,68c	16,05c
Mức ý nghĩa		* *	**	**	**
CV(%)		6,22	7,22	4,41	3,89

*Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê trong phép thử Duncan. (**) khác biệt ở mức ý nghĩa 1%. NSBT: Ngày sau khi bố trí thí nghiệm*

Đến thời điểm 5 NSBT, chủng xạ khuẩn CL-TG24 có bán kính vòng phân giải protein là 13,45 mm, tuy không khác biệt so với chủng CL-TG18 (12,65 mm) nhưng lớn hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với 2 chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại. Ở thời điểm 7 NSBT, khả năng phân giải protein của các chủng xạ khuẩn vẫn tiếp tục có xu hướng tăng và chủng CL-TG18 thể hiện khả năng tiết enzyme protease cao nhất thông qua bán kính vòng phân giải protein là 20,02 mm cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê với các tất cả các chủng

xạ khuẩn thí nghiệm còn lại. Ở thời điểm 9 NSBT, 2 chủng xạ khuẩn CL-TG18 và CL-TG24 có bán kính vòng phân giải protein lần lượt là 19,70 mm và 20,20 mm cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê với các 2 chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại (Hình 2A và 2B).

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, 2 chủng: CL-TG18 và CL-TG24 thể hiện khả năng tiết enzyme protease cao thông qua bán kính vòng phân giải protein cao và kéo dài đến 9 NSBT so với 2 chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại.



Hình 2. Khả năng phân giải protein (A và B) và phân giải lipid (C và D) của các chủng xạ khuẩn ở thời điểm 9 ngày sau khi bố trí thí nghiệm

3.4. Khả năng tiết enzyme lipase phân giải lipid của các chủng xạ khuẩn trên môi trường thạch

Bảng 4 cho thấy, ở thời điểm 3 NSBT, tất cả các chủng xạ đều cho khả năng phân giải lipid

với bán kính vòng phân giải lipid dao động từ 2,31 - 4,50 mm và chủng CL-TG18 có bán kính vòng phân giải lipid là 4,50 mm, cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so 3 chủng xạ khuẩn còn lại.

Bảng 4. Khả năng tiết enzyme lipase phân giải lipid của 4 chủng xạ khuẩn ở các nghiệm thức qua các thời điểm khảo sát

STT	Nghiệm thức	Bán kính (mm) vòng phân giải lipid			
		3 NSBT	5 NSBT	7 NSBT	9 NSBT
1	CB-TG29	2,31d	7,37b	8,87d	13,21b
2	CL-TG18	4,50a	8,87a	11,14b	14,29a
3	CL-TG24	3,94b	8,75a	12,00a	14,40a
4	TP-TG6	2,81c	6,44bc	9,31d	13,06b
Mức ý nghĩa		* *	**	**	**
CV(%)		7,59	10,08	3,07	1,63

*Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê trong phép thử Duncan. (**) khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.*

NSBT: Ngày sau khi bố trí thí nghiệm.

Đến thời điểm 5 NSBT, 2 chủng xạ khuẩn: CL-TG18 và CL-TG24 thể hiện khả năng tiết enzyme lipase cao thông qua bán kính vòng phân giải lipid lần lượt là 8,87 mm và 8,75 mm cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê với 2 chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại. Ở thời điểm 7 NSBT, chủng CL-TG24 có bán kính vòng phân giải lipid là 12,00 mm cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với 3 chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại. Ở thời điểm 9 NSBT (hình 2C và 2D), vòng phân giải lipid vẫn tiếp tục tăng lên và 2 chủng: CL-TG18 và CL-TG24 vẫn duy trì khả năng tiết enzyme lipase cao nhất, với bán kính vòng phân giải lipid lần lượt là 14,29 mm và 14,40 mm cao hơn và nhưng khác biệt ý nghĩa thống kê so 2 chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại.

Kết quả nghiên cứu này cho thấy, 4 chủng xạ khuẩn: CL-TG18, CL-TG24, TP-TG6 và CB-TG29 thể hiện khả năng đối kháng cao với vi khuẩn *Dickeya fangzhongdai* gây bệnh thối thối trái mít siêu sớm thể hiện qua BKVKV (Bảng 1), khả năng ức chế sự hình thành mật số vi khuẩn cao (Bảng 2), khả năng tiết enzyme protease phân giải protein cao (Bảng 3) và khả năng tiết enzyme lipase phân giải lipid cao (Bảng 4). Khả năng đối kháng của xạ khuẩn đối với vi sinh vật gây bệnh cây trồng đã được chứng minh là do xạ khuẩn tiết

ra nhiều chất chống lại vi sinh vật như chất kháng sinh (streptomycin, gentamycin...), các enzyme phân hủy vách tế bào vi sinh vật (enzyme protease, enzyme lipase,...) [2], [3], [4]. Theo kết quả nghiên cứu của Hata và cs (2015) [14], đã ghi nhận 3 chủng xạ khuẩn: TKSB1, TKSC3, SS8 có khả năng tiết ra các enzyme như: Protease, lipase, cellulase,... để đối kháng lại với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* gây bệnh sọc trong hại lúa trong điều kiện phòng thí nghiệm. Ngoài ra, nghiên cứu của Doolotkediya và Bobusheva (2017) [15] cho thấy, 3 chủng xạ khuẩn: SK-2.2, C1-4 và Pr-3 có khả năng kiểm soát hiệu quả giảm bệnh cháy lá trên táo và lê do vi khuẩn *Erwinia amylovora* gây ra do chúng tiết ra các enzyme như protease và lipase. Nguyễn Thanh Tuấn và cs (2023) [8] cho rằng, các chủng xạ khuẩn thuộc chi *Streptomyces* phân lập từ đất trồng huệ vừa có khả năng đối kháng cao với vi khuẩn *Erwinia* sp. gây bệnh thối bông huệ vừa có khả năng tiết ra enzyme protease và enzyme lipase cao.

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

- 4 chủng xạ khuẩn: CL-TG18, CL-TG24, TP-TG6 và CB-TG29 có khả năng đối kháng cao với vi khuẩn *D. fangzhongdai* gây bệnh thối thối trái mít siêu sớm trong số 26 chủng xạ khuẩn thí nghiệm.

- Chủng CL-TG18 có khả năng ức chế sự gia tăng mật số vi khuẩn *D. fangzhongdai* cao nhất

- 2 chủng: CL-TG18 và CL-TG24 vừa cho khả năng tiết enzyme protease phân giải protein cao vừa cho khả năng tiết enzyme lipase phân giải lip cao.

4.2. Kiến nghị

Định danh đến loài 2 chủng xạ khuẩn CL-TG18 và CL-TG24 và đánh giá khả năng phòng trừ bệnh thối trái mít siêu sớm của 2 chủng xạ khuẩn CL-TG18 và CL-TG24 ở điều kiện nhà lưới.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện từ nguồn kinh phí của đề tài Khoa học công nghệ cấp tỉnh Tiền Giang: “Nghiên cứu và xây dựng mô hình quản lý bệnh thối trái mít theo hướng an toàn, bền vững trên địa bàn tỉnh Tiền Giang”.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Jaffar, N., M. S. Osman and M. N. K. Koyube (2019). New bacterial fruit rot disease of jackfruit caused by *Dickeya fangzhongdai* in Malaysia. *Malaysian Journal of Microbiology*, 15 (4): 314 - 319.
2. Nguyễn Thị Thu Cúc, Lê Văn Vàng (2016). *Quản lý dịch hại cây trồng thân thiện môi trường*. Nxb Đại học Cần Thơ, tr. 203 - 217.
3. Palaniyandi, S.A., S. H. Yang, L. Zhang and J. W. Suh (2013). Effects of actinobacteria on plant disease suppression and growth promotion. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97: 9621 - 9636.
4. Doumbou C. L., M. K. H. Salove, C. Crawford and D. L. Beaulieu (2001). Actinomycetes, promising tools to control plant diseases and to promote plant growth. *Phytoprotection*, 82 (3): 85 - 102.
5. El Karkouri, A., F. Z. El Hassani, M. El Mzibri, M. Benlemlih and M. El Hassouni (2010). Isolation and identification of an actinomycete strain with a biocontrol effect on the phytopathogenic *Erwinia chrysanthemi* 3937VIII

responsible for soft rot disease. *Annals of microbiology*, 60 (2), 263 - 268.

6. Doolotkeldieva, T., S. Bobusheva and A. Suleymankisi (2016). Biological Control of *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* by *Streptomyces* Species. *Advances in Microbiology*, 6, 104 - 114.

7. Lê Minh Phương, Nguyễn Trường Sơn và Lê Minh Tường (2019). Khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với vi khuẩn *Erwinia* sp. gây bệnh thối nhũn củ khoai môn (*Colocasia esculenta*). *Tạp chí Bảo vệ thực vật*, 5: 27 - 34.

8. Nguyễn Thanh Tuấn, Lê Quốc Việt, Võ Phước Thịnh, Lê Minh Tường (2023). Đánh giá khả năng đối kháng vi khuẩn *Erwinia* sp. gây bệnh thối bông huệ của các chủng xạ khuẩn. *Tạp chí Bảo vệ thực vật*, 1: 3 - 7.

9. Hsu, S. and J. Lockwood (1975). Powered chitin agar as a selective medium for enumeration of actinomycetes in water and soil. *Applied microbiology*, 29 (3): 422 - 426.

10. Mitra, P. and P. Chakrabartty (2005). An extracellular protease with depilation activity from *Streptomyces nogalator*. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 64 (12): 978 - 983.

11. Ertuğrul, S., G. Dönmez and S. Takaç (2007). Isolation of lipase producing *Bacillus* sp. from olive mill wastewater and improving its enzyme activity. *Journal of Hazardous Materials*, 149 (3): 720 - 724.

12. Lê Minh Tường, Lê Thị Ngọc Xuân, Nguyễn Phú Dũng, Lăng Hoài Phong (2021). Đánh giá khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với vi khuẩn *Dickeya* sp. gây bệnh thối gốc lúa. *Tạp chí Bảo vệ thực vật*, 4: 9-14.

13. Nguyễn Lê Thanh Mai (2020). Xác định tác nhân vi khuẩn gây bệnh thối nhũn củ khoai lang gây hại tại huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long và tuyển chọn chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng. Luận văn tốt nghiệp Thạc sĩ ngành Bảo vệ thực vật, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ.

14. Hata, M. E., K. Sijam, M. A. Z. Ahmad, T. M. Yusof and A. N. Azman (2015). *In vitro* antimicrobial assay of Actinomycetes in rice against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* and as potential growth promoter. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 58 (6): 821 - 832.
15. Doolotkeldieva, T. and B. Saykal (2017). Fire blight disease caused by *Erwinia amylovora* on rosaceae plants in kyrgyzstan and biological agents to control this disease. *Advances in Microbiology*, 6: 831 - 851.

EVALUATION ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ACTINOMYCETES ISOLATES AGAINST *Dickeya fangzhongdai* CAUSING FRUIT ROT DISEASE ON JACKFRUIT

Le Minh Tuong¹, Dinh Hoang Kha¹, Nguyen Van Tap², Ly Hung³

¹College of Agriculture, Can Tho University

²People's Committee of Binh Tan district, Vinh Long province

³Department of Cultivation and Plant Protection of Tien Giang province

Summary

The research was carried out in Laboratory of Plant Disease, College of Agriculture, Can Tho University and the objective of this research was to examine the actinomycetes able to antagonize with *Dickeya fangzhongdai* bacteria causing fruit rot disease on Jackfruit. The antagonistic ability against *D. fangzhongdai* of 26 actinomycetes isolates was determined with 5 replications. The results found that 4 isolates: CL-TG18, CL-TG24, TP-TG6, CB-TG29 have high antagonistic ability with radius of inhibition zones reaches: 2.54 mm; 2.85 mm; 2.41 mm; 2.17 mm respectively, at 7 days after inoculation. The ability of inhibiting density of *D. fangzhongdai* by 4 isolates: CL-TG18, CL-TG24, TP-TG6, CB-TG29 was checked with 5 replications. The result showed that CL-TG18 isolate have the highest inhibition efficiency with the lowest log bacterial colonies reaches 8.24 log CFU/mL at 48 hours after testing. On the other hand, protease activity of 4 isolates: CL-TG18, CL-TG24, TP-TG6, CB-TG29 was tested with 5 replications. The results indicated that 2 isolates: CL-TG18 and CL-TG24 have expressed the highest proteinolytic activity with the protein lyses halo radius of 19.70 mm and 20.20 mm respectively, at 9 days after testing. Besides, the lipase activity assay was also checked with 5 replications. The results found that 2 isolates: CL-TG18 and CL-TG24 have expressed the lipolytic activity, with the lipid lyses halo radius of 14.29 mm and 14.40 mm respectively, at 9 days after testing.

Keywords: *Actinomycetes*, *Dickeya fangzhongdai*, fruit rot disease on Jackfruit, enzyme protease, enzyme lipase.

Người phản biện: TS. Hà Minh Thanh

Ngày nhận bài: 25/9/2023

Ngày thông qua phản biện: 19/10/2023

Ngày duyệt đăng: 26/10/2023