

KHẢO SÁT KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG CỦA XẠ KHUẨN ĐỐI VỚI NẤM *Phytophthora* sp. GÂY BỆNH NỨT THÂN, XÌ MỦ TRÊN MÍT

Đinh Thị Ngọc¹, Lê Minh Tường²

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm tìm ra chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng với nấm *Phytophthora* sp. gây bệnh nứt thân, xì mủ trên mít. Kết quả phân lập được 98 chủng xạ khuẩn từ đất vườn mít ở tỉnh Tiền Giang, Vĩnh Long và Hậu Giang. Có 37/98 chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng với nấm *Phytophthora* sp. và 5 chủng xạ khuẩn BM5 - VL, CT12 - HG, CB4 - TG, BM7 - VL và BM3 - VL có khả năng đối kháng cao với nấm *Phytophthora* sp. với bán kính vòng vô khuẩn lần lượt là 15,0 mm; 13,0 mm; 10,8 mm; 9,2 mm và 8,2 mm và hiệu suất đối kháng cao lần lượt là 64,29%; 59,52%; 56,67%; 50,81% và 49,12% ở thời điểm 9 ngày sau thí nghiệm. Khả năng phân giải β -glucan của 5 chủng xạ khuẩn trên cũng được thực hiện trong điều kiện phòng thí nghiệm với 5 lần lặp lại. Kết quả cho thấy, chủng xạ khuẩn CT12-HG có khả năng tiết ra phân giải β -glucan cao nhất với bán kính vòng phân giải là 9,8 mm và hàm lượng enzyme tiết ra là 0,36 IU/ml ở thời điểm 14 ngày sau thí nghiệm.

Từ khóa: Bệnh nứt thân xì mủ trên mít, *Phytophthora* sp., xạ khuẩn, β -glucan.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, cây mít (*Artocarpus heterophyllus*) là một loại cây ăn quả được các tỉnh thành của đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) trồng khá phổ biến và không ngừng gia tăng về diện tích. Bên cạnh đó, tình hình bệnh hại trên mít cũng diễn biến phức tạp, trong đó đặc biệt quan tâm là bệnh nứt thân, xì mủ do nấm *Phytophthora* sp. gây ra. Hiện nay, để đối phó với mầm bệnh hại cây trồng thì biện pháp sử dụng thuốc hóa học luôn được người dân áp dụng vì đạt hiệu quả phòng trị cao. Tuy nhiên, biện pháp sử dụng thuốc hóa học có nhược điểm là mầm bệnh dễ trở nên kháng thuốc, 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, biện pháp quản lý dịch hại bằng biện pháp sinh học đã và đang được nghiên cứu và áp dụng rộng rãi. Trong nhóm vi sinh vật có lợi thì 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 ngoại bào (chitinase,

glucanase, protease, lipase...), cạnh tranh, ký sinh mầm bệnh để chống lại các tác nhân gây hại cây trồng [7]. Ngoài ra, chúng còn giúp kích kháng cho cây hoặc kích thích cây trồng phát triển [9]. Do đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm tìm ra các chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng với nấm *Phytophthora* sp. gây bệnh nứt thân, xì mủ hại cây mít. Kết quả của nghiên cứu làm cơ sở cho những nghiên cứu sau này, nhằm tìm ra sản phẩm sinh học có nguồn gốc từ xạ khuẩn vừa có khả năng quản lý bệnh nứt thân, xì mủ hại cây mít nói riêng và vừa có khả năng quản lý bệnh có nguồn gốc từ đất nói chung.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Vật liệu

- **Nguồn nấm gây bệnh:** Dòng nấm *Phytophthora* sp., (*Phy-TG4*) được phân lập từ mẫu bệnh có triệu chứng điển hình của bệnh nứt thân, xì mủ trên mít Thái siêu sớm tại huyện Cái Bè, tỉnh Tiền Giang và dòng nấm *Phy-TG4* có khả năng gây hại nặng nhất trong số 9 dòng nấm phân lập được.

- **Nguồn xạ khuẩn:** xạ khuẩn được phân lập từ đất trồng mít cùng với địa điểm thu mẫu nấm gây bệnh. Mẫu đất được lấy xung quanh vùng rễ mít và cách mặt đất 10 - 25 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, Bộ môn Bảo vệ Thực vật, Trường Đại học Cần

¹ Học viên cao học ngành bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ

² Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

*Email: lmtuong@ctu.edu.vn

Thơ và được phân lập theo phương pháp của Hsu và Lockwood (1975) [5].

2.2. Phương pháp thí nghiệm

*2.2.1. Khảo sát khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với nấm *Phytophthora* sp. trong điều kiện phòng thí nghiệm*

- *Tiến hành thí nghiệm:* Những chủng xạ khuẩn được nuôi cấy trong môi trường MS trong 7 ngày, xác định mật số và chuyển về huyền phù bào tử xạ khuẩn là 10^8 cfu/ml. Chủng nấm *Phytophthora* sp. được nuôi cấy trong môi trường PDA trong 7 ngày.

- *Bố trí thí nghiệm:* Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 lần lặp lại, mỗi nghiệm thức là một chủng xạ khuẩn có triển vọng. Khoanh khuẩn ty nấm *Phytophthora* sp. có đường kính 5 mm được đặt vào giữa đĩa petri có chứa 10 ml môi trường PDA. Khoanh giấy thấm có đường kính 5 mm được tẩm huyền phù các chủng xạ khuẩn đối kháng được đặt đối xứng với khoanh khuẩn ty nấm và cách thành đĩa 1 cm. Ở nghiệm thức đối chứng thì thay khoanh giấy thấm tẩm xạ khuẩn bằng khoanh giấy thấm tẩm nước cất thanh trùng. Sau đó, các đĩa petri thí nghiệm được đặt ở điều kiện nhiệt độ khoảng 28°C.

- *Chỉ tiêu theo dõi:* Theo dõi và đánh giá khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với nấm bằng cách đo bán kính vòng vô khuẩn ở các thời điểm 3, 5, 7, 9 ngày sau khi thí nghiệm.

Tính hiệu suất đối kháng (HSDK) ở các thời điểm theo công thức Moayedí và cs (2009) [8]:

$$\text{HSDK (\%)} = \frac{(\text{BKTNđc} - \text{BKTNxk})}{\text{BKTNđc}} \times 100\%$$

Trong đó: BKTNđc: bán kính tản nấm phát triển về phía đối chứng; BKTNxk: bán kính tản nấm phát triển về phía xạ khuẩn.

2.2.2. Khảo sát khả năng phân giải β -glucan của các chủng xạ khuẩn trên môi trường thạch

- *Bố trí thí nghiệm:* thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 lần lặp lại, mỗi nghiệm thức là một chủng xạ khuẩn có triển vọng. Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của Renwick và cs (1991) [10].

- *Chuẩn bị thí nghiệm:* Các chủng xạ khuẩn thí nghiệm được nuôi cấy trong môi trường MS trong 7 ngày, xác định mật số và chuyển về huyền phù bào tử xạ khuẩn cần dùng là 10^8 cfu/ml.

- *Tiến hành thí nghiệm:* Dùng kẹp chuyên dụng cho các khoanh giấy thấm có đường kính 5 mm vào dung dịch huyền phù xạ khuẩn mật số 10^8 cfu/ml. Sau đó, đặt các khoanh giấy thấm lên đĩa petri có chứa 10 ml môi trường có chứa cơ chế β -glucan thành 3 điểm cách đều nhau. Mỗi điểm tương ứng 1 khoanh giấy thấm chứa 1 chủng xạ khuẩn. Sau đó, các đĩa petri thí nghiệm được đặt ở điều kiện nhiệt độ khoảng 28°C. Xác định khả năng phân giải β -glucan ở từng thời điểm ghi nhận chỉ tiêu bằng cách tráng dung dịch Congo-red 0,6% lên đĩa thạch, đổ bỏ phần dung dịch Congo-red thừa và tráng bề mặt với nước cất thanh trùng.

- *Chỉ tiêu ghi nhận:* Đo bán kính vùng không bắt màu thuốc nhuộm Congo-red là vòng phân giải glucan ở các thời điểm 10, 12, 14 ngày sau bố trí thí nghiệm.

2.2.3. Xác định hàm lượng enzyme β -glucanase của các chủng xạ khuẩn triển vọng

- *Bố trí thí nghiệm:* Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên một nhân tố với 5 lần lặp lại và thực hiện theo phương pháp của Gopalakrishnan và cs (2014) [4].

- *Chuẩn bị dung dịch cơ chất nền 2% laminarin:* Pha trong dung dịch 0,2M Na-acetate (pH = 5,4).

- *Chuẩn bị dung dịch 2-hydroxy-3,5-dinitrobenzoic acid (DNS):* cân 10 g DNS cho vào bình, bổ sung thêm 300 ml nước cất, khuấy đều. Thêm từ từ 400 ml dung dịch NaOH 1N vào và khuấy đều ở nhiệt độ khoảng 50°C. Thêm 300 g Tartrat K Natri vào dung dịch trên, tiếp tục khuấy đều, để nguội về nhiệt độ phòng, thêm nước cất và khuấy đều để được dung dịch đạt 1.000 ml.

- *Chuẩn bị dung dịch xạ khuẩn chứa enzyme β -glucanase:* 5 chủng xạ khuẩn được nuôi cấy trong môi trường MS trong 6 ngày, xác định mật số và chuyển về huyền phù bào tử xạ khuẩn là 10^8 cfu/ml. Cho 2 ml huyền phù xạ khuẩn đã chuẩn bị bên trên vào trong bình tam giác chứa 98 ml môi trường Czapek Dox có bổ sung 1% laminarin, sau đó đem nuôi lắc ở điều kiện nhiệt độ 28°C với tốc độ 100 vòng/phút trong 4 ngày. Tiến hành thu dịch enzyme thô bằng cách ly tâm ở tốc độ 4.500 vòng/phút trong 15 phút, lấy phần dịch trong bên là dung dịch xạ khuẩn có chứa enzyme β -glucanase.

- *Tiến hành thí nghiệm:* Cho vào ống nghiệm hỗn hợp phản ứng gồm 1 ml dung dịch 2% laminarin

và 1 ml dung dịch xạ khuẩn chứa enzyme β -glucanase và đem ủ ở nhiệt độ 40°C trong 5 phút. Tiếp theo, cho vào 0,1 ml dung dịch 2% laminarin, lắc đều và đem ủ ở nhiệt độ 40°C trong 60 phút. Thêm 3 ml dung dịch DNS vào ống nghiệm, lắc đều và đun cách thủy ở 100°C trong 10 phút, Sau đó để nguội ở điều kiện nhiệt độ phòng và đo OD ở bước sóng 530 nm. Đối với nghiệm thức đối chứng thì thay 1 ml dung dịch xạ khuẩn chứa enzyme β -glucanase bằng 1 ml nước cất thanh trùng.

- *Chỉ tiêu ghi nhận*: đo OD dịch phản ứng ở các thời điểm 10, 12, 14 ngày sau khi nuôi cấy.

Cách tính: Một đơn vị hoạt tính enzyme glucanase (IU/ml) là lượng enzyme cần thiết để giải phóng 1 μ mol glucose từ glucanasee huyền phù trong thời gian 1 phút ở nhiệt độ phản ứng (40°C).

$$HT \text{ (IU/ml)} = \Delta OD_{\text{mẫu phân tích}} * F * (1.000/180) * (1/t) * (1/v)$$

Trong đó: F là giá trị hệ số glucose trung bình (mg/ml); $\Delta OD_{\text{mẫu phân tích}} = OD_{\text{ống có dịch enzyme thử}} - OD_{\text{ống đối chứng}}$; 1.000: hệ số chuyển đổi mg thành μ g; 180: trọng lượng phân tử của glucose, đổi từ μ g sang μ mol; t là thời gian phản ứng (60 phút); v là thể tích dung dịch enzyme (1 ml).

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 VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn với nấm *Phytophthora* sp. trong điều kiện phòng thí nghiệm

Kết quả đã phân lập được 98 chủng xạ khuẩn từ đất vườn trồng cây mít Thái siêu sớm ở tỉnh Vĩnh Long, Hậu Giang và Tiền Giang. Qua đánh giá nhanh khả năng đối kháng của 98 chủng xạ khuẩn đã chọn được 37 chủng xạ khuẩn thực sự có khả năng đối kháng với nấm *Phytophthora* sp. thông qua chỉ tiêu bán kính vòng vô khuẩn (BKVVK) và hiệu suất đối kháng (HĐK). Khả năng đối kháng của 37 chủng xạ khuẩn với nấm *Phytophthora* sp. được thực hiện trong điều kiện phòng thí nghiệm với 5 lần lặp lại.

- *Bán kính vòng vô khuẩn (BKVVK) (Bảng 1)*

Ở thời điểm 3 ngày sau khi bố trí thí nghiệm (NSBT), tất cả các chủng xạ khuẩn thí nghiệm đều thể hiện khả năng đối kháng với nấm *Phytophthora* sp. thể hiện qua BKVVK dao động trong khoảng 8,0 mm - 20,6 mm và 2 chủng xạ khuẩn BM5-VL và CT12-HG thể hiện khả năng đối kháng cao với BKVVK lần lượt là 20,6 mm và 20,4 mm cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các chủng còn lại. Ở thời điểm 5 NSBT, chủng BM5-VL vẫn cho BKVVK cao nhất là 17,8 mm; tiếp đến là chủng CT12-HG với BKVVK là 16,8 mm cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các chủng còn lại. Đến 7 NSBT, chủng BM5-VL vẫn cho BKVVK cao nhất là 17,0 mm, tiếp đến là chủng CT12-HG với BKVVK là 15,8 mm, tiếp theo là chủng CB4-TG, BM3-VL và BM7-VL thể hiện khả năng đối kháng cao với BKVVK cao hơn và khác biệt ý nghĩa so với các chủng xạ khuẩn còn lại. Vào thời điểm 9 NSBT, chủng BM5-VL có BKVVK cao nhất là 15,0 mm, tiếp đến là 4 chủng CT12-HG, CB4-TG, BM7-VL và BM3-VL vẫn duy trì khả năng đối kháng cao với BKVVK lần lượt là 13,8 mm, 10,8 mm, 9,2 mm, 8,2 mm cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các chủng còn lại.

Bảng 1. Bán kính vòng vô khuẩn (mm) của các chủng xạ khuẩn đối với nấm *Phytophthora* sp. qua các thời điểm khảo sát

STT	Xạ khuẩn	BKVVK (mm) qua các thời điểm khảo sát			
		3 NSBT	5 NSBT	7 NSBT	9 NSBT
1	BM1-VL	11,4 lm	9,0 j-m	7,2 fg	5,2 ghi
2	BM3-VL	18,2 c	12,2 e	10,2 d	8,2 e
3	BM5-VL	20,6 a	17,8 a	17,0 a	15,0 a
4	BM7-VL	19,2 b	13,2 d	10,2 d	9,2 d
5	BM8-VL	14,0 fg	10,8 fg	6,2 hi	3,6 kl
6	BM9-VL	9,4 rs	7,2 pqr	3,0 op	0,6 qrs

7	BM10-VL	13,8 fgh	10,6 fgh	8,2 e	5,4 gh
8	BM12-VL	14,2 f	10,2 ghi	6,0 ij	3,0 lm
9	BM16-VL	10,8 mno	7,6 opq	3,0 op	1,6 op
10	BT2-VL	10,4 nop	8,4 l-o	6,0 ij	4,8 hij
11	BT5-VL	10,4 nop	8,4 l-o	3,4 op	2,0 o
12	CB4-TG	17,4 d	14,0 c	11,6 c	10,8 c
13	CB6-TG	14,2 f	10,2 ghi	5,4 ijk	3,2 klm
14	CB8-TG	8,0 u	5,6 s	3,2 op	1,2 pq
15	CT1-HG	11,0 mn	9,4 ijk	5,8 ij	4,6 ij
16	CT3-HG	12,4 jk	10,6 fgh	7,6 ef	5,8 fg
17	CT7-HG	8,2 tu	6,8 qr	1,4 s	0,4 rs
18	CT8-HG	10,2 opq	8,4 l-o	5,4 ijk	3,0 lm
19	CT9-HG	11,8 kl	9,8 ij	5,2 jkl	4,4 j
20	CT11-HG	9,6 qr	6,8 qr	3,2 op	0,0 s
21	CT12-HG	20,4 a	16,8 b	15,8 b	13,8 b
22	CT16-HG	13,6 fgh	8,0 nop	5,2 jkl	3,2 klm
23	CT19-HG	12,6 ij	11,2 f	7,6 ef	6,4 f
24	CT21-HG	9,4 rs	7,4 pqr	1,8 rs	0,4 rs
25	CT23-HG	14,0 fg	9,2 jkl	4,4 lmn	3,2 klm
26	CT24-HG	10,4 nop	7,2 qr	2,2 qr	1,0 pqr
27	CT25-HG	13,2 hi	9,4 jk	6,8 gh	5,8 g
28	CT28-HG	9,9 pqr	8,8 k-n	4,8 klm	2,2 no
29	CT29-HG	10,8 mno	9,0 j-m	7,2 fg	5,2 ghi
30	CT30-HG	9,2 rs	6,6 r	3,4 op	0,4 rs
31	CT31-HG	9,9 pqr	7,2 pqr	4,2 mn	3,0 lm
32	CT35-HG	8,4 tu	6,8 qr	3,8 no	0,8 qr
33	CT37-HG	8,8 st	7,6 opq	4,2 mn	2,2 o
34	CT38-HG	13,4 gh	8,6 k-n	5,2 jkl	3,2 lkm
35	CT42-HG	9,2 rs	6,8 qr	4,8 klm	2,8 mn
36	CT43-HG	10,2 opq	8,2 mno	2,8 pq	0,8 qr
37	CT45-HG	15,6 e	9,8 hij	5,4 jk	3,8 k
Mức ý nghĩa		**	**	**	**
CV (%)		4,38	6,07	9,59	11,54

*Ghi chú: Các số trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt qua phép kiểm định Duncan ** Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%. NSBT: Ngày sau khi bố trí thí nghiệm.*

- Hiệu suất đối kháng (HSDK) (Bảng 2)

Bảng 2. HSDK (%) của các chủng xạ khuẩn đối với nấm *Phytophthora* sp. qua các thời điểm khảo sát

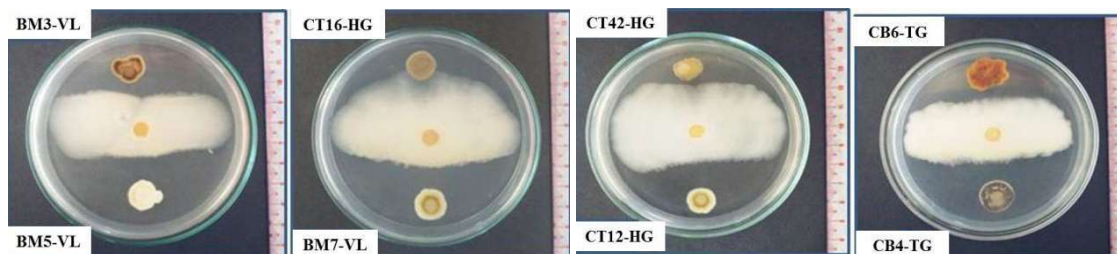
STT	Xạ khuẩn	HSDK (%) qua các thời điểm khảo sát			
		3 NSBT	5 NSBT	7 NSBT	9 NSBT
1	BM1-VL	18,43 hi	25,11 i	30,22 f	34,14 kl
2	BM3-VL	31,70 d	36,44 e	42,91 c	50,12 e
3	BM5-VL	41,15 a	44,35 b	54,71 a	64,29 a
4	BM7-VL	36,26 c	39,77 d	43,52 c	53,81 d
5	BM8-VL	13,86 mno	19,14 kl	25,34 jk	30,67 n
6	BM9-VL	8,87 t	13,97 qr	18,74 qr	24,29 tu
7	BM10-VL	21,42 f	27,76 g	32,35 e	36,27 h
8	BM12-VL	19,76 g	22,52 j	25,63 ij	32,73 m
9	BM16-VL	14,02 mn	19,75 k	24,30 klm	28,92 op
10	BT2-VL	13,01 nop	19,23 kl	25,96 ij	35,72 hi
11	BT5-VL	12,63 opq	17,40 m	23,21 m	26,08 r
12	CB4-TG	35,16 c	41,66 c	48,91 b	56,67 c
13	CB6-TG	17,19 ij	23,95 i	28,40 h	33,40 lm
14	CB8-TG	9,52 st	14,39 pqr	19,84 pq	23,43 uv
15	CT1-HG	12,43 pq	18,43 lm	24,87 jkl	34,79 ijk
16	CT3-HG	21,53 f	26,54 h	32,61 e	38,04 g
17	CT7-HG	11,54 qr	13,68 r	16,35 s	21,95 x
18	CT8-HG	16,91 jk	21,93 j	26,67 i	29,40 no
19	CT9-HG	18,62 ghi	24,98 i	30,57 f	36,16 h
20	CT11-HG	10,48 rs	14,91 n-r	18,73 qr	22,00 x
21	CT12-HG	39,64 b	51,89 a	55,58 a	59,52 b
22	CT16-HG	17,65 ij	20,18 k	23,69 lm	30,63 n
23	CT19-HG	24,01 e	30,49 f	36,27 d	39,89 f
24	CT21-HG	12,41 pq	15,55 nop	18,25 r	22,34 wx
25	CT23-HG	16,27 k	19,95 k	24,05 lm	29,02 op
26	CT24-HG	12,91 nop	16,15 n	19,00 qr	24,04 tuv
27	CT25-HG	21,15 f	27,51 gh	33,06 e	38,59 g
28	CT28-HG	13,14 nop	17,55 m	21,35 no	25,42 rs
29	CT29-HG	19,91 g	24,73 i	29,60 fg	35,39 hij
30	CT30-HG	10,27 s	15,74 no	20,51 op	23,16 vw
31	CT31-HG	14,68 lm	19,41 kl	25,61 ij	28,09 pq
32	CT35-HG	12,40 pq	14,82 o-r	19,07 qr	23,32 uvw
33	CT37-HG	13,88 mno	17,56 m	21,96 n	27,21 q
34	CT38-HG	16,76 jk	21,68 j	26,65 i	29,85 no
35	CT42-HG	15,62 kl	19,92 k	23,96 lm	27,33 q
36	CT43-HG	9,47 st	15,22 n-q	19,56 pq	24,93 st
37	CT45-HG	19,43 gh	24,32 i	28,91 gh	34,39 jkl
Mức ý nghĩa		**	**	**	**
CV (%)		5,26	3,87	3,12	2,41

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt qua phép kiểm định Duncan; ** Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%. NSBT: Ngày sau khi bố trí thí nghiệm.

Ở thời điểm 3 NSBT, 2 chủng BM5-VL có khả năng đối kháng cao với HSDK là 41,15%, tiếp đến là chủng và CT12-HG với HSDK là 39,64% cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê với các chủng còn lại. Ở thời điểm 5 NSBT, chủng CT12-HG có HSDK cao nhất là 51,89%, tiếp đến đến là chủng BM5-VL có HSDK là 44,35% cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 1% so với các chủng xạ khuẩn còn lại. Ở thời điểm 7 NSBT, 2 chủng CT12-HG và BM5-VL có HSDK cao nhất lần lượt là 55,58% và 54,71%, tiếp đến là chủng CB4-TG với HSDK là 48,91% cao hơn và khác biệt ý nghĩa so với các chủng còn lại. Ở thời điểm 9 NSBT, chủng BM5-VL có HSDK cao nhất là 64,29%, tiếp đến là chủng CT12-HG với HSDK là 59,52%, tiếp theo là 3 chủng CB4-TG, BM7-VL và BM3-VL có HSDK lần lượt là 56,67%, 53,81%, 50,12% cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các chủng xạ khuẩn còn lại (Hình 1).

Bảng 1 và 2 cho thấy, 5 chủng xạ khuẩn BM5-VL, CT12-HG, TG4, BM7-VL và BM3-VL thể hiện khả năng đối kháng cao với nấm *Phytophthora* sp. gây bệnh nứt thân, xì mủ trên mít thông qua BKVKV cao và HSDK cao, kéo dài đến thời điểm 9 ngày sau khi bố trí thí nghiệm. Khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn thí nghiệm được cho là có khả năng

đối kháng kéo dài hơn so với các nghiên cứu trước chẳng hạn như nghiên cứu của Trần Phương Dinh và cs (2019) cho rằng 6 chủng xạ khuẩn (LV.ĐT1, DH.TV5, DH.TV6, TG1, DT13 và LV.ĐT22) phân lập từ đất trồng khoai môn có khả năng đối kháng với nấm *Phytophthora* sp. gây bệnh cháy lá khoai môn đến thời điểm 7 ngày sau khi bố trí thí nghiệm [11]. Nghiên cứu của Đinh Hồng Thái và Lê Minh Tường (2016) cho thấy, 5 chủng xạ khuẩn (CM18, HG3, HG4, TG1 và BL6) có khả năng đối kháng với nấm *Phytophthora* sp. đến thời điểm 60 giờ sau khi bố trí thí nghiệm [2]. Bên cạnh đó, khả năng đối kháng của xạ khuẩn đối với nấm *Phytophthora* sp. gây hại cây trồng cũng đã được Ezziyyani và cs (2007) nghiên cứu, kết quả cho thấy, xạ khuẩn *Streptomyces rochi* có khả năng đối kháng với nấm *Phytophthora capsici* gây bệnh thối rễ trên ớt với hiệu quả giảm bệnh đến 78,9% [3]. Joo (2005) cho rằng chủng *Streptomyces halstedii* AJ-7 có khả năng đối kháng với nấm *Phytophthora capsici* gây bệnh trên cây ớt đỏ [6]. Valois và cs (1996) cho thấy, *Streptomyces* sp. chủng 5406 có khả năng phòng trị một số bệnh hại do nấm *Phytophthora* và *Pythium* gây ra trên cây họ đậu tại Trung Quốc [12].



Hình 1. Khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn với chủng nấm *Phytophthora* sp. gây bệnh nứt thân, xì mủ ở thời điểm 9 ngày sau khi bố trí thí nghiệm

3.2. Khả năng phân giải β -glucan của các chủng xạ khuẩn trong điều kiện phòng thí nghiệm

Khả năng phân giải β -glucan của các chủng xạ khuẩn được trình bày ở bảng 3. Kết quả ghi nhận được cả 5 chủng xạ khuẩn đều có khả năng tiết enzyme β -glucanase phân giải β -glucan.

Bảng 3. Khả năng phân giải β -glucan của 5 chủng xạ khuẩn ở các thời điểm quan sát

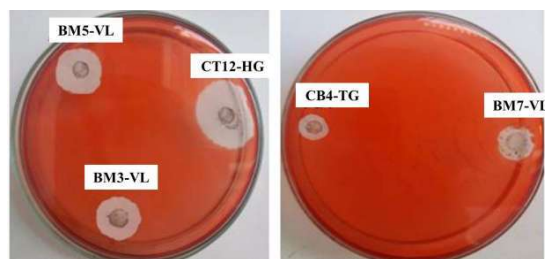
Chủng xạ khuẩn	Bán kính (mm) vòng phân giải β -glucan qua các thời điểm khảo sát		
	10 NSKC	12 NSKC	14 NSKC
BM5-VL	3,4 b	4,2 b	5,2 b
CT12-HG	7,2 a	8,0 a	9,8 a

BM7-VL	2,0 c	3,2 c	3,8 c
BM3-VL	2,2 c	3,6 bc	4,6 bc
CB4-TG	1,0 d	1,8 d	2,6 d
Mức ý nghĩa	**	**	**
CV (%)	18,45	14,82	12,76

Ghi chú: Các số trong cùng một cột theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt qua phép kiểm định Duncan. ** Khác biệt ý nghĩa ở mức 1%. NSKC: ngày sau khi cấy.

Ở thời điểm 10 NSKC, chủng CT12-HG có BKVPK là 7,2 mm lớn hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với 3 chủng xạ khuẩn còn lại. Kết quả tương tự

ở thời điểm 12 NSKC và 14 NSKC, chủng xạ khuẩn CT12-HG có BKVPG lần lượt là 8,0 mm ở 12 NSCK và 9,8 mm ở 14 NSKC lớn hơn và khác biệt ý nghĩa so với các chủng xạ khuẩn còn lại ở từng thời điểm khảo sát.



Hình 2. Khả năng phân giải β -glucan của các chủng xạ khuẩn ở thời điểm 14 NSKC

3.3. Hàm lượng enzyme β -glucanase do các chủng xạ khuẩn tiết ra

Khả năng tiết enzyme β -glucanase phân giải β -glucan được thể hiện qua hàm lượng enzyme β -glucanase do xạ khuẩn tiết ra được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Hàm lượng (IU/ml) enzyme β -glucanase do 5 chủng xạ khuẩn tiết ra qua các thời điểm khảo sát

Chủng xạ khuẩn	Hàm lượng β -glucanase (IU/ml) của 5 chủng xạ khuẩn qua các thời điểm khảo sát		
	10 NSNL	12 NSNL	14 NSNL
BM5-VL	0,38 b	0,26 bc	0,22 b
CT12-HG	0,53 a	0,42 a	0,36 a
BM7-VL	0,32 b	0,27 bc	0,21 b
BM3-VL	0,31 b	0,29 b	0,19 b
CB4-TG	0,24 c	0,23 c	0,10 c
Mức ý nghĩa	**	**	**
CV (%)	12,63	7,94	14,13

Ghi chú: Các số trong cùng một cột theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt qua phép kiểm định Duncan. ** Khác biệt ý nghĩa ở mức 1%. NSNL: ngày sau nuôi cấy.

Ở thời điểm 10 NSNL, cả 5 chủng xạ khuẩn đều tiết ra enzyme β -glucanase với hàm lượng dao động từ 0,24 - 0,53 IU/ml và chủng CT12-HG có hàm lượng enzyme β -glucanase là 0,53 IU/ml lớn hơn và khác biệt ý có nghĩa thống kê so với chủng còn lại. Kết quả tương tự ở thời điểm 12 NSNL và 14 NSNL, chủng CT12-HG vẫn cho khả năng tiết enzyme β -glucanase cao với hàm lượng tiết ra lần lượt là 0,42 IU/ml ở 12 NSNL và 0,36 IU/ml ở 14 NSNL lớn hơn

và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các chủng xạ khuẩn còn lại ở từng thời điểm khảo sát.

Như vậy, kết quả thí nghiệm ở bảng 3 và 4 cho thấy, cả 5 chủng xạ khuẩn đối kháng tốt với nấm *Phytophthora* sp. đều có khả năng tiết enzyme β -glucanase. Trong cấu tạo nấm, β -glucan có vai trò quan trọng trong sự phát triển của cấu trúc thành tế bào. Khả năng ức chế nấm bệnh của các chủng xạ khuẩn có liên quan đến khả năng tiết enzyme β -glucanase phân giải β -glucan của chúng nên khi sử dụng các chủng xạ khuẩn này trong phòng trị bệnh nứt thân, xì mủ trên mít thì enzyme β -glucanase sẽ phát huy tác dụng phân hủy β -glucan làm phá vỡ vách tế bào nấm bệnh. Đây là đặc tính quan trọng trong cơ chế đấu tranh sinh học phòng trừ nấm bệnh của xạ khuẩn góp phần tăng hiệu quả đối kháng của xạ khuẩn đối với bệnh. Nghiên cứu của Renwick và cs (1991) cho thấy, trên 50% các chủng xạ khuẩn vùng rễ thu thập được có khả năng tiết enzyme β -glucanase, chitinase và siderophores [10]. Các nghiên cứu trước đó cũng cho rằng xạ khuẩn có khả năng ức chế nấm bệnh thông qua khả năng tiết enzyme β -glucanase chẳng hạn như nghiên cứu của Arora và cs (2008) cho thấy chủng *Pseudomonas* sp. PGC2 có sản sinh hoạt tính enzyme β -glucanase cao nhất vào ngày thứ 6 sau khi bố trí với hàm lượng là 88 IU/ml và ức chế mầm bệnh do nấm *Rhizoctonia solani* và *Phytophthora capsici* [1]. Đinh Hồng Thái và Lê Minh Tường (2016) cho thấy, 5 chủng xạ khuẩn (CM18, HG3, HG4, TG1 và BL6) có khả năng đối kháng với nấm *Phytophthora* sp. nhờ đến cơ chế phân giải β -glucan làm phá vỡ vách tế bào của nấm gây bệnh, từ đó ức chế sự sinh trưởng và phát triển của nấm gây bệnh cháy lá, thối thân trên cây sen [2].

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

5 chủng xạ khuẩn BM5-VL, CT12-HG, CB4-TG, BM7-VL và BM3-VL có khả năng đối kháng với nấm *Phytophthora* sp. gây bệnh nứt thân, xì mủ trên cây mít Thái siêu sớm trong điều kiện phòng thí nghiệm.

Chủng CT12-HG thể hiện khả năng tiết enzyme β -glucanase phân giải β -glucan cao nhất trong số 5 chủng xạ khuẩn thí nghiệm.

Đề nghị tiếp tục khảo sát khả năng phòng trị bệnh nứt thân, xì mủ trên cây mít Thái siêu sớm của chủng các chủng xạ khuẩn này trong điều kiện nhà lưới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Arora, N. K., E. Khare, J. H. Oh, S. C. Kang, D. K. Maheshwar (2008). Diverse mechanisms adopted by fluorescent *Pseudomonas* PGC2 during the inhibition of *Rhizoctonia solani* and *Phytophthora capsici*. *World Journal Microbiology Biotechnology*. 24: 581 - 585.
2. Đinh Hồng Thái, Lê Minh Tường (2016). Khảo sát khả năng đối kháng của xạ khuẩn đối với nấm *Phytophthora* sp. gây bệnh cháy lá, thối thân trên cây sen. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 3: 20 - 27.
3. Ezziyyani M., M. E. Requena, C. Egea - Gilabert and M. E. Candela (2007). Biological control of *Phytophthora* root rot of Pepper using *Trichoderma harzianum* and *Streptomyces rochei* in Combination. *Journal Phytophthora*, 155: 342 - 349.
4. Gopalakrishnan, S., S. Vadlamudi, P. Bandikinda, A. Sathya, R. Vijayab - harathi, O. Rupela, B. Kudapa, K. Katta and R. K. Varshney (2014). Evaluation of *Streptomyces* strains isolated from herbal vermicompost for their plant growth-promotion traits in rice. *Microbiology Research*, 169: 40 - 48.
5. Hsu, S. and J. Lockwood. (1975). Powdered chitin agar as a selective medium for enumeration of actinomycetes in water and soil. *Applied microbiology*, 29 (3): 422 - 426.
6. Joo, G. J., (2005). Purification and characterization of an extracellular from the antifungal biocontrol agent *Streptomyces halstedii*. *Biotechnology Letters*, 27: 1483 - 1486.
7. Lê Minh Tường, Đinh Hồng Thái, Lý Văn Giang, Phạm Tuấn Vũ (2016). *Quản lý dịch hại cây trồng thân thiện môi trường*. (Chủ biên: Nguyễn Thị Thu Cúc và Lê Văn Vàng). Nxb Đại học Cần Thơ. Trang 203 - 217.
8. Moayedi, A. and N. Boyce. (2009). Study on Osmotic Stress Tolerance in Promising Durum Wheat Genotypes Using Drought Stress Indices. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 5 (5): 603 - 607.
9. 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.
10. Renwick, A., R. Campbell and S. Coe (1991). Assessment of invitro screening systems for potential biocontrol agents of *Gaeumannomyces graminis*. *Plant Pathology*, 40: 524 - 532.
11. Trần Phương Dinh, Nguyễn Phú Dũng, Lê Minh Tường (2019). Khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với nấm *Phytophthora colocasiae* gây bệnh cháy lá cây khoai môn. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, 101 - 108.
12. Valois, D., K. Fayad, T. Barasubiye, M. Garon, C. Dery, R. Brzezinski and C. Beaulieu, (1996). Glucanolytic *Actinomycetes* antagonistic to *Phytophthora fragariae* var. *rubi*, the causal agent of raspberry root rot. *Applied and environmental microbiology*, 62 (5), 1630 - 1635.

EVALUATION OF ANTOGONISTIC ACTIVITY OF ACTINOMYCETES ISOLATES ON *Phytophthora* sp. CAUSING DECLINE DISEASE ON JACKFRUIT

Dinh Thi Ngoc, Le Minh Tuong

Summary

The objective of this research was to investigate the actinomycetes isolates able to antagonize with *Phytophthora* sp. fungus caused decline disease on Jackfruit. Ninety eight actinomycetes isolates were collected from jackfruit field in Tien Giang, Vinh Long and Hau Giang provinces. There are thirty seven isolates in total presented antagonistic activity against *Phytophthora* sp. and 5 isolates BM5 - VL, CT12 - HG, CB4 - TG, BM7 - VL and BM3 - VL could reduced mycelia growth of *Phytophthora* sp. fungus with radiuses of inhibition zones reaches 15.0 mm; 13.0 mm; 10.8 mm; 9.2 mm and 8.2 mm *respectively* and antagonistic efficacy of 64.29%; 59.52%; 56.67%; 50.81% and 49.12% respectively at 9 days after co-culture. The testing β -glucanase productivity of these actinomycetes was conducted with 5 replications at laboratory. The result indicated that CB12-HG isolate showed the highest β -glucanolytic activity with the β -glucan lyse halo radius of 9.8 mm and dose of β -glucanase reach 0.36 IU/ml at 14 days after testing.

Keyword: *Actinomycetes*, *decline disease of Jackfruit*, *Phytophthora* sp., β -glucan.

Người phản biện: GS.TS. Nguyễn Văn Tuất

Ngày nhận bài: 17/5/2022

Ngày thông qua phản biện: 17/6/2022

Ngày duyệt đăng: 24/6/2022