ĐỊNH DANH XẠ KHUẨN CÓ KHẢ NĂNG PHÒNG TRỊ MỘT SỐ BỆNH HẠI CÂY KHOAI MÔN Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Lê Minh Tường[1*], Ngô Thành Trí[1],
Nguyễn Trường Sơn[2], Nguyễn Phú Dũng[3]

TÓM TẮT

Ba mẫu xạ khuẩn có khả năng phòng trị một số bệnh hại quan trọng trên khoai môn được thu thập và phân lập từ ruộng trồng khoai môn tại huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long (TTr.BT7), huyện Lai Vung, tỉnh Đồng Tháp (LV.ĐT1) và huyện Chợ Mới, tỉnh An Giang (CM.AG22) của đồng bằng sông Cửu Long. Trong nghiên cứu này, các mẫu xạ khuẩn trên được định danh dựa vào đặc điểm hình thái của khuẩn lạc nuôi cấy trên các môi trường ISP (International Streptomyces Project) và đặc tính sinh hóa. Ngoài ra, các mẫu xạ khuẩn được định danh dựa trên trình tự gen vùng 16S-rRNA. Kết quả nghiên cứu cho thấy, 2 chủng TTr.BT7 và LV.ĐT1 cùng có dạng cuống sinh bào tử dạng thẳng và chuỗi bào tử dạng thẳng, bề mặt bào tử của 2 chủng đều dạng trơn; chủng CM.AG22 có cuống sinh bào tử thuộc dạng móc câu, chuỗi bào tử dạng gợn sóng; bề mặt bào tử có dạng có gai. Màu sắc của sợi cơ chất chủng TTr.BT7 và chủng CM.AG22 thuộc phân nhóm màu xám và chủng LV.ĐT1 thuộc phân nhóm màu trắng. Chủng TTr.BT7 và CM.AG22 có khả năng tiết ra sắc tố melanin, còn chủng LV.ĐT1 không tiết ra sắc tố melanin và các chủng xạ khuẩn đều có khả năng tiết enzym protease, lipase, amylase và cellulase. Đồng thời, trình tự đoạn gene 16S-rRNA của các chủng xạ khuẩn thí nghiệm cũng đã được xác định, so sánh với trình tự gene vùng 16S-rDNA của các mẫu sẵn có trên ngân hàng gene (GenBank) và xây dựng sơ đồ phả hệ thể hiện mối tương quan di truyền giữa chúng. Kết quả cho thấy chủng TTr.BT7 là loài *Streptomyces avellaneus,* chủng LV.ĐT1 là loài *S. lavendulae* và chủng CM.AG22 là loài *S. filipinensis*.

Từ khóa: *Đặc điểm hình thái, đặc điểm sinh hóa, định danh, Streptomyces, xạ khuẩn.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhằm phát triển nông nghiệp theo hướng bền vững và khắc phục những nhược điểm của thuốc hóa học, nhiều biện pháp quản lý dịch hại bằng biện pháp sinh học được sử dụng như: kích thích tính kháng bệnh, sử dụng vi sinh vật đối kháng. Hiện nay, vai trò của xạ khuẩn trong việc phòng trị bệnh cây trồng ngày càng được quan tâm nghiên cứu và ứng dụng nhiều bởi vì những đặc điểm tốt để đối kháng với mầm bệnh thông qua nhiều cơ chế như khả năng tiết enzyme ngoại bào, tiết kháng sinh, cạnh tranh dinh dưỡng,… và cả kích thích sinh trưởng cho cây trồng để tăng sức đề kháng với mầm bệnh và góp phần gia tăng năng suất (Watve *et al.*, 2001). Theo nghiên cứu của Nguyễn Phước Triển và *ctv.* (2019) đã tuyển chọn chủng xạ khuẩn TTr.BT7 có khả năng phòng trị bệnh thối gốc thân khoai môn do nấm *Sclerotium* sp. gây ra, theo Trần Phương Dinh và *ctv.* (2019) đã tuyển chọn chủng xạ khuẩn LV.ĐT1 có khả năng phòng trị bệnh cháy lá khoai môn do nấm *Phytophthora colocasiae* gây ra và theo Lê Minh Phương và *ctv.* (2019) đã tuyển chọn chủng xạ khuẩn CM.AG22 có khả năng phòng trị bệnh thối củ khoai môn do vi khuẩn *Eriwinia* sp. gây ra. Bên cạnh đó, 3 chủng xạ khuẩn này cũng có khả năng tiết ra enzyme chitinase, β-glucanase, protease, lipase cao, một đặc tính quan trọng trong cơ chế đấu tranh sinh học phòng trừ bệnh của xạ khuẩn góp phần tăng hiệu quả đối kháng của xạ khuẩn đối với bệnh. Tuy nhiên chưa có định danh đến loài của ba chủng xạ khuẩn này. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này định danh đến loài xạ khuẩn dựa vào đặc điểm hình thái, đặc tính hóa sinh và trình tự gene vùng 16S-rRNA.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Ba mẫu xạ khuẩn TTr.BT7, LV.ĐT1 và CM.AG22 dùng tror (CM.AG22).

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đặc điểm hình thái của xạ khuẩn

[1] Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ
[2] Chi cục Trồng trọt và BVTV tỉnh Kiên Giang
[3] Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh
[*]Email: lmtuong@ctu.edu.vn

Quan sát màu sắc của hệ sợi khí sinh, hệ sợi cơ chất và sắc tố tan:

Thí nghiệm được tiến hành theo phương pháp của Shirling và Gottlieb (1966). Các chủng xạ khuẩn được nuôi cấy trên môi trường ISP2, ISP3, ISP4 và ISP5 ở điều kiện nhiệt độ phòng. Chỉ tiêu ghi nhận là quan sát màu sắc hệ sợi cơ chất, hệ sợi khí sinh và sắc tố tan tiết ra ngoài môi trường nuôi cấy ở thời điểm 7, 14 và 21 ngày sau thí nghiệm. Ghi nhận các màu: vàng nâu, vàng nâu ánh đỏ hoặc da cam, vàng nâu ánh xanh da trời hoặc tím, vàng nâu lẫn xanh lá cây (Shirling và Gottlieb, 1966).

Quan sát cuống sinh bào tử và hình dạng bề mặt bào tử:

Thí nghiệm được tiến hành theo phương pháp của Tresner *et al.* (1961). Các chủng xạ khuẩn được nuôi cấy trên môi trường MS (Mannitol Soyal medium) trong 5 ngày để nhân mật số. Chuỗi bào tử được quan sát dưới kính hiển vi quang học để xác định dạng chuỗi bào tử của xạ khuẩn như sau: dạng thẳng, dạng hình móc câu và dạng xoắn ốc... Hình dạng bào tử được quan sát dưới kính hiển vi điện tử để xác định các dạng bào tử như sau: bào tử dạng trơn, bào tử dạng gai, bào tử dạng khối u, bào tử dạng có lông…

2.2.2. Đặc tính sinh hóa

Khả năng tiết enzym protease của các chủng xạ khuẩn:

Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của Mitra và Chakrabartty (2005). Các chủng xạ khuẩn được nhân nuôi trên môi trường MS trong 5 ngày để nhân mật số. Xạ khuẩn được cấy thành 3 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 Skim milk agar (sữa bột tách béo, agar). Sau đó, tiến hành đo bán kính vòng phân giải protein ở thời điểm 2, 4, 6 và 8 ngày sau thí nghiệm.

Khả năng tiết enzym lipase của các chủng xạ khuẩn:

Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của Ertuğrul et al. (2007). Các chủng xạ khuẩn được nhân nuôi trên môi trường MS trong 5 ngày để nhân mật số. Xạ khuẩn được cấy thành 3 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. Sau đó, tiến hành đo bán kính vòng phân giải lipid ở thời điểm 3, 5 và 7 ngày sau thí nghiệm.

Khả năng tiết enzym amylase của các chủng xạ khuẩn:

Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của Santos (2012). Xạ khuẩn được nhân nuôi trên môi trường MS trong 5 ngày để nhân mật số. Xạ khuẩn được cấy thành 3 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 tinh bột. Sau đó, tiến hành đo bán kính vòng phân giải tinh bột ở thời điểm 2, 4, 6, 8 ngày sau thí nghiệm.

Sự hình thành sắc tố melanin của các chủng xạ khuẩn có triển vọng:

Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của Shirling và Gottlieb (1966). Xạ khuẩn được nuôi cấy trên môi trường ISP6 ở nhiệt độ phòng. Sau đó, quan sát màu của môi trường ở thời điểm 2, 4 ngày sau thí nghiệm. Nếu sinh sắc tố melanin, thì màu của môi trường nuôi cấy sẽ chuyển từ màu vàng sang màu nâu cho đến màu đen.

2.2.3. Định danh đến loài các chủng xạ khuẩn bằng phương pháp sinh học phân tử

Tách chiết DNA của 3 chủng xạ khuẩn được thực hiện theo phương pháp của Weisburg *et al.* (1991). Cặp mồi được sử dụng để khuếch đại đoạn gen 16S-rRNA của các chủng xạ khuẩn trong nghiên cứu là: 1492R: 5'-TACGGTTACCTTGTTACGACT-3' và 27F: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTC-3' (Weisburg *et al.*, 1991). Thành phần phản ứng PCR: hỗn hợp phản ứng PCR có thể tích 25 µl với thành phần hóa chất gồm: 13,35 µl nước; 2,5 µl buffer; $MgCl_2$ 2 µl; $dNTP_S$ 4 µl; DMSO 0,5 µl; 0,25 µl Taq polymerase; 0,25 µl mồi 27F; 0,25 µl mồi 1492R và 2 µl DNA của xạ khuẩn. Phản ứng PCR với chu kì nhiệt bắt đầu bằng giai đoạn biến tính DNA ở 95°C trong 5 phút, tiếp theo là 30 chu kỳ lặp lại của giai đoạn biến tính ở 95°C trong 1 phút, giai đoạn bắt cặp ở 53°C trong 30 giây và giai đoạn kéo dài ở 72°C trong 90 giây. Tiếp theo là giai đoạn kéo dài trong 5 phút ở 72°C để chắc chắn rằng các sợi DNA đã được bổ sung hoàn toàn bởi $dTNP_S$. Sau đó sản phẩm PCR sẽ được đưa vào bảo quản ở 10°C. Sản phẩm PCR được điện di trên agarose gel 1,5%. Tinh sạch sản phẩm PCR bằng bộ QIA quick PCR Purification Kit của QIAGEN. Mẫu

phân tích được giải trình tự tại Phòng thí nghiệm Bệnh cây, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Nông nghiệp và Công nghệ Tokyo, Nhật Bản (giải trình tự trên hệ thống máy ABI 3130XL). Phân tích kết quả bằng phần mềm sequecing analysis 6.0 và so sánh với kết quả với các trình tự có sẵn trên ngân hàng gen. Cây phả hệ được xây dựng dựa trên phần mềm MEGA v6.0, (Tamura *et al.,* 2013) sử dụng phương pháp Neighbour-joining (NJ) và mô hình khoảng cách so sánh từng đôi một (pairwise distance) từ đó xác định mối tương quan giữa các chủng xạ khuẩn dùng trong thí nghiệm.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Định danh xạ khuẩn dựa vào đặc điểm hình thái và đặc điểm sinh hóa

Kết quả về đặc điểm nuôi cấy, đặc điểm hình thái và đặc điểm sinh lý của 3 chủng xạ khuẩn thí nghiệm được trình bày ở bảng 1, hình 1 và hình 2.

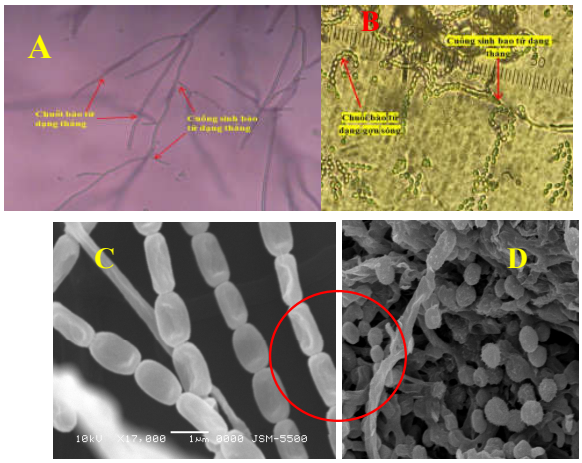
Chủng xạ khuẩn TTrBT7 có chuỗi bào tử dạng xoắn không hoàn toàn (RA), cuống sinh bào tử dạng thẳng (R) và bề mặt bào tử có dạng trơn. Chủng TTrBT7 có màu xám và không hình thành sắc tố tan trên các môi trường nuôi cấy và có khả năng sinh melanin. Bên cạnh đó dựa vào các đặc điểm chung của xạ khuẩn đã được nghiên cứu trước đây xác định các đặc điểm nhận dạng xạ khuẩn và xác định được chủng xạ khuẩn TTrBT7 thuộc Gram dương và có khả năng tiết các enzyme ngoại bào như protease, amylase, lipase và cellulase (Bảng 2).

Bảng 1. Đặc điểm về hình thái và đặc điểm sinh lý - sinh hóa của ba chủng xạ khuẩn thí nghiệm

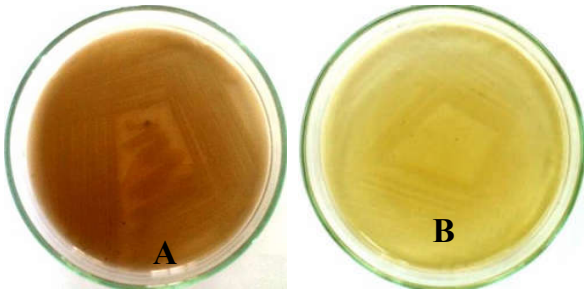
Đặc điểm	Chủng xạ khuẩn thí nghiệm		
	TTr.BT7	LV.ĐT1	CM.AG22
Chuỗi bào tử	Xoắn không hoàn toàn	Xoắn không hoàn toàn	Gợn sóng
Cuống sinh bào tử	Thẳng	Thẳng	Móc câu
Bề mặt bào tử	Trơn	Trơn	Có gai
Màu sắc	Xám	Trắng	Xám
Sắc tố tan	Không	Không	Không
Sắc tố melanin	Có	Không	Có
Tiết enzyme	Proteas, lipase, amylase, cellulase	Proteas, lipase, amylase, cellulase	Proteas, lipase, amylase, cellulase
Gram	dương	dương	dương

Chủng TTr.BT7 có chuỗi bào tử dạng xoắn không hoàn toàn, cuống sinh bào tử thuộc dạng thẳng, bề mặt bào tử trơn. Chủng TTr.BT7 có màu xám và có hình thành sắc tố tan trên các môi trường nuôi cấy và không có khả năng sinh melanin (Bảng 1). Bên cạnh đó dựa vào các đặc điểm chung của xạ khuẩn đã được nghiên cứu trước đây xác định các đặc điểm nhận dạng xạ khuẩn và xác định được chủng xạ khuẩn TTr.BT7 thuộc Gram dương và có khả năng tiết các enzyme ngoại bào như protease, amylase, lipase và cellulase (Bảng 2).

Chủng LV.ĐT1 có chuỗi bào tử dạng xoắn không hoàn toàn, cuống sinh bào tử thuộc dạng thẳng, bề mặt bào tử trơn. Chủng LV.ĐT1 có màu trắng và không hình thành sắc tố tan trên các môi trường nuôi cấy và không có khả năng sinh melanin (Bảng 1). Bên cạnh đó dựa vào các đặc điểm chung của xạ khuẩn đã được nghiên cứu trước đây xác định các đặc điểm nhận dạng xạ khuẩn và xác định được chủng xạ khuẩn LV.ĐT1 thuộc Gram dương và có khả năng tiết các enzyme ngoại bào như protease, amylase, lipase và cellulase (Bảng 2).



Hình 1. (A): Chuỗi bào tử dạng thẳng; cuống sinh bào tử dạng thẳng, (B): chuỗi bào tử dạng gợn sóng; cuống sinh bào tử dạng thẳng, (C) bề mặt bào tử dạng trơn và (D) bề mặt bào tử dạng có gai



Hình 2. Khả năng tạo sắc tố melanin (A) và không tạo sắc tố melanin (B) trên môi trường nuôi cấy ISP6 của xạ khuẩn ở 4 NSKC

Chủng CM.AG22 có chuỗi bào tử dạng gợn sóng, cuống sinh bào tử dạng móc câu và có bề mặt bào tử có gai. Chủng CM.AG22 có màu xám và không hình thành sắc tố tan trên các môi trường nuôi cấy và có khả năng sinh melanin (Bảng 1). Bên cạnh đó dựa vào các đặc điểm chung của xạ khuẩn đã được nghiên cứu trước đây xác định các đặc điểm nhận dạng xạ khuẩn và xác định được chủng xạ khuẩn CM.AG22 thuộc Gram dương và có khả năng tiết các enzyme ngoại bào như protease, amylase, lipase và cellulase (Bảng 2).

Bảng 2. Khả năng tiết enzyme amylase, lipase và protease của các chủng xạ khuẩn

Nghiệm thức	Bán kính vòng phân giải cơ chất (mm) của 3 chủng xạ khuẩn ở 7 ngày sau khi thí nghiệm			
	Amylase	Protease	Cellulase	Lipase
TTr.BT7	7,4 b	9,5 a	16,2 a	3,9 b
LV.ĐT1	8,6 a	6,9 c	13,7 b	4,1 b
CM.AG22	7,7 b	8,0 b	8,4 c	9,0 a
Mức ý nghĩa	*	*	*	*
CV (%)	10,63	5,21	7,45	13,55

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 ở mức ý nghĩa 5%.

Sau khi tiến hành so sánh các đặc điểm nuôi cấy, đặc điểm hình thái, sinh lý với khóa phân loại xạ khuẩn của International Streptomyce Project (Shirling và Gottlieb, 1972; Pridham *et al.*, 1970; Waksman, 1961) có thể xếp 3 chủng xạ khuẩn: TTr.BT7, LV.ĐT1 và CM.AG22 vào chi *Streptomyces*. Trong đó, chủng TTr.BT7 có thể là loài *Streptomyces avellaneus,* chủng LV.ĐT1 có thể là loài *Streptomyces lavendulae* và chủng CM.AG22 có thể là loài *Streptomyces filipinensis*.

Để có thể xác định chính xác đến tên loài của các chủng xạ khuẩn trên cần phải kết hợp các đặc điểm phân loại theo phương pháp truyền thống với việc xác định bằng phương pháp sinh học phân tử.

3.2. Định danh các chủng xạ khuẩn bằng phương pháp sinh học phân tử

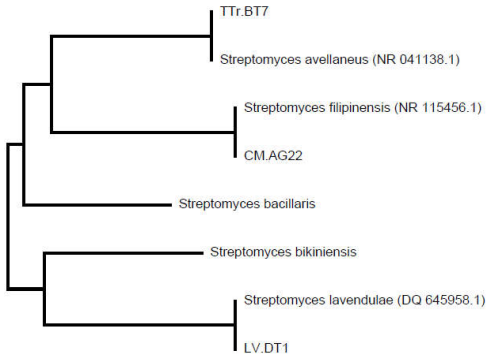
Ba chủng xạ khuẩn được ly trích DNA và thực hiện phản ứng PCR với cặp mồi là 27F và 1492R (Weisburg *et al.*, 1991). Sản phẩm PCR thu được có kích thước khoảng 1.500 bp, phù hợp với trọng lượng phân tử các chủng xạ khuẩn thuộc loài Streptomyces (Weisburg *et al.*, 1991).

Dựa vào kết quả bảng 3 cho thấy các chủng xạ khuẩn thí nghiệm có mức độ tương đồng từ 98 – 100% khi so sánh với loài chuẩn dựa vào trình tự gen vùng 16S-rRNA. Cụ thể là chủng TTr.BT7 có mức tương đồng với loài *Streptomyces avellaneus* là 100%; chủng LV.ĐT1 có mức tương đồng với loài *Streptomyces lavendulae* là 98% và chủng CM.AG22 có mức tương đồng với loài *Streptomyces filipinensis* là 100%.

Bảng 3. Kết quả xác định ba mẫu xạ khuẩn dựa trên trình tự vùng 16S-rDNA

Mẫu xạ khuẩn	Loài xác định	kích thước trình tự (bp)	Mức độ tương đồng (%)	Mã số của chủng tương đồng trên GenBank
TTr.BT7	*Streptomyces avellaneus*	1465	100	NR_041138.1
LV.ĐT1	*Streptomyces lavendulae*	1466	98	DQ_645958.1
CM.AG22	*Streptomyces filipinensis*	1366	100	NR_115456.1

Mối tương quan di truyền của 3 chủng xạ khuẩn thí nghiệm (TTr.BT7, LV.ĐT1 và CM.AG22) và 5 chủng xạ khuẩn với trình tự gen có sẵn trên ngân hàng gen (*Streptomyces avellaneus*, *S. lavendulae*, *S. filipinensis*, *S. bikiniensis* và *S. bacillaris*) cũng được xác định bằng phương pháp neighbor-joining (Hình 3). Kết quả cho thấy cây phả hệ được chia thành 5 nhóm trong đó nhóm 1 gồm chủng TTr.BT7 thí nghiệm nằm chung nhóm với loài *Streptomyces avellaneus* (có mã số trên ngân hàng gen là NR_041138.1), nhóm 2 gồm chủng CM.AG22 thí nghiệm nằm chung nhóm với loài *Streptomyces filipinensis* (có mã số trên ngân hàng gen là NR_115456.1), nhóm 3 và nhóm 4 gồm loài *Streptomyces bacillaris* (nhóm 3) và loài *Streptomyces bikiniensis* (nhóm 4) không nằm chung nhóm với 3 chủng xạ khuẩn thí nghiệm và nhóm 5 gồm chủng LV.ĐT1 thí nghiệm nằm chung nhóm với loài *Streptomyces lavendulae* (có mã số trên ngân hàng gen là DQ_645958.1).



Hình 3. Sơ đồ cây phả hệ của 3 chủng xạ khuẩn thí nghiệm và 5 chủng xạ khuẩn với trình tự gen có sẵn trên ngân hàng gen

Như vậy, dựa vào kết quả so sánh trình tự đoạn gene 16S-rRNA của 3 chủng xạ khuẩn nghiên cứu với những mẫu có sẵn trên ngân hàng gene và phân tích cây phả hệ dựa trên trình tự đoạn gene 16S-rRNA cho thấy 3 loài xạ khuẩn nghiên cứu gồm chủng TTr.BT7 là loài *Streptomyces avellaneus,* chủng LV.ĐT1 là loài *Streptomyces lavendulae* và chủng CM.AG22 là loài *Streptomyces filipinensis.* Theo kết quả nghiên cứu của Dương Thị Ngọc (2015) cho thấy chủng xạ khuẩn có khả năng phòng trị bệnh đạo ôn hại lúa ở đồng bằng sông Cửu Long có tên khoa học là *Streptomyces lavendulae*. Theo Buchanan và Gibbons (1974) cho rằng loài xạ khuẩn *Streptomyces filipinensis* có khả năng tiết kháng sinh nhóm filipin, đây là nhóm kháng sinh có hoạt tính kháng nấm mạnh.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

- Ba chủng xạ khuẩn nghiên cứu thuộc loài *Streptomyces avellaneus*, loài *Streptomyces lavendulae* và loài *Streptomyces filipinensis*.

- Đề nghị đánh giá khả năng phòng trị bệnh trên khoai môn của 3 chủng xạ khuẩn trên ở điều kiện ngoài đồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Buchanan, R. E. and N. E. Gibbons, 1974. Bergey's manual of determinative bacteriology. (Eighth edition). The Williams and Wilkins Co., Baltimore: 747 - 842.

2. Dương Thị Ngọc, 2014. Định danh các chủng xạ khuẩn có triển vọng trong quản lý một số bệnh hại lúa. Luận văn tốt nghiệp thạc sĩ ngành Bảo vệ thực vật. *Trường Đại học Cần Thơ*.

3. 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.

4. 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.

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

6. Nguyễn Phước Triển, Trần Văn Dũng và Lê Minh Tường, 2019. Khả năng đối kháng của xạ khuẩn đối với nấm *Sclerotium* sp. gây bệnh thối gốc thân cây khoai môn. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 17: 19 – 26.

7. Pridham, T. G., C. W. Hesseltin and R. G. Benedict, 1970. *A guide for the classification of streptomycetes according to selected groups.* Placement of strains in morphological sections. *Apply Microbiology*, 6: 52.

8. Santos, É. R. D., Z. N. S. Teles, N. M. Campos, D. A. J. D. Souza, A. S. D. R. Bispo and R. P. D. Nascimento, 2012. Production of α-amylase from *Streptomyces* sp. SLBA-08 strain using agro-

industrial by-products. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55(5): 793-800.

9. Shirling, E. T. and D. Gottlieb, 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International journal of systematic bacteriology,* 16(3): 313-340.

10. Shirling, E. T. and D. Gottlieb, 1972. Cooperative description of type strains of *Streptomyces* V. Additional descriptions. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 22(4): 265-394.

11. Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski and S. Kumar, 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution,* 30(12): 2725–2729.

12. Trần Phương Dinh, Nguyễn Phú Dũng và Lê Minh Tường, 2019. Khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với nấm *Phytophthora colocasiea* gây bệnh cháy lá cây khoai môn. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, số chuyên đề CNSH trong Nông nghiệp. Trang101-108.

13. Tresner, H., M. Davies and E. Backus, 1961. Electron microscopy of Streptomyces spore morphology and its role in species differentiation. *Journal of Bacteriology,* 81(1): 70-80.

14. Waksman, S. A., 1961. *The Actinomycetes: Classification, identification and descriptions of genera and species*. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 2, USA.

15. Watve, M. G., R. Tickoo, M.M. Jog and B. D. Bhole, 2001. How many antibiotics are produced by the genus Streptomyces?. *Archives of microbiology*, 176(5): 386-390.

16. Weisburg, W. G., S. M. Barns, D. A. Pelletier and D. J. Lane, 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of bacteriology*, 173(2): 697-703.

IDENTIFICATION OF ACTINOMYCETES AS POTENTIAL ANTAGONISTIC ABILITY CONTROL DISEASES ON TARO AT MEKONG DELTA

Le Minh Tuong, Ngo Thanh Tri,

Nguyen Truong Son, Nguyen Phu Dung

Summary

Three actinomycetes isolates that have controlled diseases on Taro are collected and isolated from Taro fields in Binh Tan district, Vinh Long province (TTr.BT7), Lai Vung district, Dong Thap province (LV.ĐT1) and Cho Moi district, An Giang province of the Mekong delta. In this research, the these actinomycetes isolates were identified based on morphological characteristics of cultured colony on the ISP (International Streptomyces Project) mediums and their biochemical characteristics. In addition, the these isolates were also identified based on the 16S-rRNA gene sequence. The results showed that TTr.BT7 and LV.ĐT1 isolates are straight form of spore-bearing mycelium and spore chains, surface spores was smooth; CM.AG22 isolate's spore-bearing mycelium belongs to wavy form, spore chains with hook form; surface spores was thorny. The colors of substrate of the TTr.BT7 and CM.AG22 isolates belong to grey group, LV.ĐT1 isolate belongs to white group. The TTr.BT7 and CM.AG22 isolates can product melanin pigment, the LV.ĐT1 isolate can't product melanin pigment and all isolates have ability to product extracellular enzymes such as protease, lipase, amylase. The nucleotide sequences of 16S rRNA were determined, compared with the 16S-rDNA gene sequence with existing on Gene bank and used for phylogenetic analyses. The results indicated that TTr.BT7 is *Streptomyces avellaneus* isolate, LV.ĐT1 is *Streptomyces lavendulae* isolate and CM.AG22 is *Streptomyces filipinensis* isolate.

Keywords: *Actinomycetes, biochemical characteristics, identification, morphological characteristics, Streptomyces.*

Người phản biện: PGS.TS. Hà Viết Cường

Ngày nhận bài: 27/7/2021

Ngày thông qua phản biện: 27/8/2021

Ngày duyệt đăng: 6/9/2021