

NGHIÊN CỨU TUYỂN CHỌN XẠ KHUẨN (*ACTINOMYCETES*) ĐƯỢC PHÂN LẬP TỪ ĐẤT NGẬP MẶN HUYỆN QUẢNG XƯƠNG (TỈNH THANH HÓA) CÓ KHẢ NĂNG KHÁNG NẤM *FUSARIUM OXYSPORUM*

Hà Thị Phương¹, Trần Thị Hải Yến²

TÓM TẮT

Chúng tôi đã tiến hành phân lập được 18 chủng xạ khuẩn khác nhau từ đất ngập mặn huyện Quảng Xương, tỉnh Thanh Hóa. Từ đó, xác định được 10 chủng có khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum* và tuyển chọn được 2 chủng có khả năng kháng nấm mạnh là MD17, MD18. Cả hai chủng xạ khuẩn MD17, MD18 đều có hoạt tính chitinase mạnh. Theo khóa phân loại của Gause (1983), Bergey's Manual (1989) và phương pháp phân loại của Chương trình xạ khuẩn quốc tế (ISP) cho thấy chủng xạ khuẩn MD17 có đặc điểm giống loài *Streptomyces hygroscopicus*, chủng xạ khuẩn MD18 có đặc điểm giống loài *Streptomyces albobacillus*. Các nghiên cứu đã xác định được điều kiện thích hợp cho hai chủng xạ khuẩn này sinh trưởng, phát triển và sinh chất kháng nấm là ở 30°C, pH = 7, NaCl 1%.

Từ khóa: Xạ khuẩn, đất rừng ngập mặn, hoạt tính kháng nấm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam là nước có khí hậu nhiệt đới nóng ẩm, nhiệt độ trung bình 27-30°C, độ ẩm tương đối cao là điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của nấm gây bệnh trong đó có nhóm nấm bệnh cây. Một trong các nhóm nấm có nguồn gốc từ đất gây hại cây trồng, nguy hiểm trong sản xuất là *Fusarium*. Nấm *Fusarium* có thể tồn tại nhiều năm trong đất, trong tàn dư thực vật và lan truyền qua hạt giống, cây nhiễm bệnh hoặc lan truyền theo nước và gió [13].

Để hạn chế những thiệt hại do nấm bệnh gây ra cho cây trồng, đã có nhiều công trình nghiên cứu và ứng dụng các biện pháp đấu tranh sinh học trong công tác bảo vệ thực vật. Trong bài báo này chúng tôi trình bày các kết quả nghiên cứu tuyển chọn một số chủng xạ khuẩn (*Actinomycetes*) được phân lập từ đất ngập mặn huyện Quảng Xương, tỉnh Thanh Hóa có khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum* hại cây trồng.

2. NỘI DUNG

2.1. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1.1. Vật liệu

Các giống vi sinh vật đã sử dụng.

¹ Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Hồng Đức

² Sinh viên K17 Đại học Sư phạm Sinh, Trường Đại học Hồng Đức

Nấm *Fusarium oxysporum* gây bệnh héo vàng trên cây, được cung cấp bởi Trung tâm Bệnh cây nhiệt đới - Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

Xạ khuẩn phân lập từ đất ngập mặn huyện Quảng Xương, tỉnh Thanh Hóa.

Môi trường đã sử dụng: Gause I, Gause II, Potato Dextrose Agar (PDA) [5]

2.1.2. Phương pháp nghiên cứu

Phân lập xạ khuẩn theo phương pháp đĩa thạch trên môi trường Gause I (Phương pháp của Vinogradkii (1952) [5].

Xác định hoạt tính enzyme theo phương pháp cấy chấm điểm. Các chủng xạ khuẩn nghiên cứu được cấy lặp lại 3 lần trên môi trường đĩa thạch Gause I chứa cơ chất phù hợp với từng loại enzyme: protease (cơ chất là gelatin), chitinase (cơ chất là bột vỏ tôm), cellulase (cơ chất là bột giấy lọc). Nuôi cấy xạ khuẩn trong tủ ẩm 3 - 4 ngày, xác định mức sinh trưởng của các khuẩn lạc xạ khuẩn và kiểm tra hoạt tính enzyme bằng thuốc thử ($HgCl_2$ thử hoạt tính *protease*, lugol để thử hoạt tính *kitinase* và *cellulose*) (D: đường kính vòng phân giải; cm) [10].

Xác định hoạt tính kháng nấm theo phương pháp đồng nuôi cấy và phương pháp giếng thạch (phương pháp nhỏ dịch) [3].

Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy đến khả năng sinh trưởng và hoạt tính kháng nấm của xạ khuẩn, bao gồm các yếu tố: Nhiệt độ (20, 25, 30, 35, 40, 45°C), pH ban đầu (5, 6, 7, 8, 9, 10), độ mặn với các nồng độ NaCl: 0, 1, 2, 3, 4, 5(%). Các chủng xạ khuẩn được nuôi cấy lắc trên môi trường Gause dịch thể ở các điều kiện tương ứng. Sau đó thu sinh khối và thử hoạt tính kháng nấm theo phương pháp nhỏ dịch để xác định điều kiện tối ưu cho nuôi cấy.

Phương pháp định danh xạ khuẩn

Các đặc điểm phân loại xạ khuẩn được mô tả theo Chương trình xạ khuẩn quốc tế (ISP), có so sánh với khóa phân loại của Gause (1983) [9] và Bergey's Manual (1989) [1]. Các môi trường phân loại xạ khuẩn được chuẩn bị theo ISP [6,7] và Gause [9].

Quan sát đặc điểm hình thái: Tiến hành nuôi cấy các chủng xạ khuẩn được tuyển chọn trên môi trường Gause I, quan sát các đặc điểm hình thái của xạ khuẩn.

Quan sát đại thể: Xạ khuẩn được nuôi cấy trên môi trường Gause I ở nhiệt độ phòng, sau 7 ngày lấy ra quan sát các đặc điểm: Kích thước khuẩn lạc để biết tốc độ phát triển, hình dạng, đặc điểm của bề mặt, mép khuẩn lạc, màu sắc khuẩn lạc mặt phải, mặt trái, màu sắc của môi trường do sắc tố xạ khuẩn tạo ra [7].

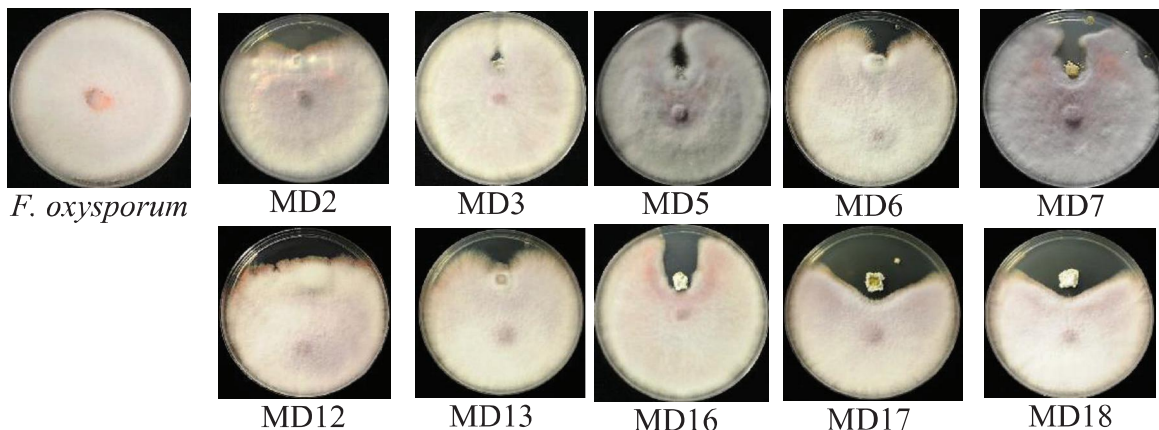
Quan sát vi thể: Xạ khuẩn được nuôi cấy trên môi trường Gause I có đặt lamel nghiêng 45° trên bề mặt môi trường. Sau 7 ngày nuôi ở nhiệt độ phòng lấy lamel ra quan sát hình dạng cuống sinh bào tử, bào tử dưới kính hiển vi [8].

2.2. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

2.2.1. Kết quả phân lập và tuyển chọn sơ bộ các chủng xạ khuẩn từ đất ngập mặn Quảng Xương có khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum*

Từ 10 mẫu đất lấy ở các khu vực khác nhau tại sông Nham, huyện Quảng Xương, tỉnh Thanh Hóa, chúng tôi đã phân lập và thuần khiết được 18 chủng xạ khuẩn kí hiệu từ MD1 đến MD18.

Tiến hành tuyển chọn sơ bộ các chủng xạ khuẩn có khả năng sinh tổng hợp chất kháng nấm *Fusarium oxysporum* theo phương pháp đồng nuôi cấy [3]. Kết quả cho thấy 10 trong số 18 chủng xạ khuẩn phân lập được có khả năng sinh tổng hợp chất kháng nấm *Fusarium oxysporum* (chiếm 55,56%). Trong đó, có 2 chủng có hoạt tính kháng nấm mạnh là MD17, MD18 (chiếm 11,11%).



Hình 1. Khả năng kháng nấm *F. oxysporum* của các chủng xạ khuẩn

2.2.2. Kết quả xác định khả năng sinh enzyme ngoại bào của các chủng xạ khuẩn

Theo Ismet Ara và cộng sự (2012), khả năng đối kháng của xạ khuẩn với nấm là do khả năng sinh tổng hợp hai nhóm hợp chất sinh trưởng. Một là, kháng sinh nhóm polyeen có tác dụng phá hủy màng sinh chất dẫn đến phá vỡ chức năng thẩm chọn lọc của tế bào. Hai là, enzyme chitinase, glucanase phá hủy thành tế bào của nấm. Mặt khác enzyme ngoại bào còn có vai trò phân giải các hợp chất hữu cơ giúp xạ khuẩn tận dụng nguồn dinh dưỡng từ môi trường cho sinh trưởng và phát triển [11].

Nhằm mục đích xác định cơ sở khả năng kháng nấm và vai trò phân giải các hợp chất hữu cơ có trong đất ngập mặn, chúng tôi đã tiến hành thử khả năng hình thành các enzyme ngoại bào: protease (cơ chất là gelatin), chitinase (cơ chất là bột vỏ tôm), cellulase (cơ chất là bột giấy lọc) theo phương pháp cấy chấm điểm trên môi trường đĩa thạch GauseI. Kết quả thu được ở bảng 1.

Bảng 1. Hoạt tính enzyme ngoại bào của các chủng xạ khuẩn

(Đơn vị: cm)

Kí hiệu chủng	Kích thước vòng phân giải		
	Protease	Cellulase	Chitinase
MD1	1,2 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,6 ± 0,1
MD2	0,7 ± 0,0	2,4 ± 0,1	2,0 ± 0,1
MD3	2,0 ± 0,2	2,1 ± 0,1	2,1 ± 0,3
MD4	1,6 ± 0,1	0,9 ± 0,4	1,8 ± 0,1

MD5	$1,8 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,3$	$2,1 \pm 0,1$
MD6	$1,7 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,3$	$2,0 \pm 0,1$
MD7	$0,9 \pm 0,2$	$1,8 \pm 0,1$	$2,0 \pm 0,2$
MD8	$1,3 \pm 0,2$	$0,6 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,1$
MD9	$1,0 \pm 0,2$	$0,6 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,1$
MD10	-	$1,3 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,1$
MD11	-	$1,4 \pm 0,1$	$2,2 \pm 0,1$
MD12	-	$1,0 \pm 0,2$	$1,8 \pm 0,1$
MD13	$2,5 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,2$	$2,0 \pm 0,1$
MD14	$2,3 \pm 0,3$	$2,2 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,3$
MD15	$2,8 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,2$
MD16	$1,6 \pm 0,2$	$1,3 \pm 0,2$	$2,2 \pm 0,1$
MD17	$0,8 \pm 0,1$	$1,1 \pm 0,2$	$2,3 \pm 0,2$
MD18	$2,6 \pm 0,2$	$1,5 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,2$

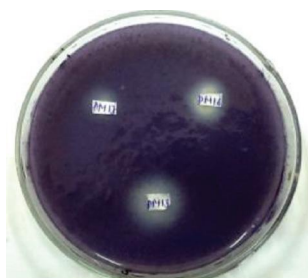
Kết quả cho thấy đa số các chủng xạ khuẩn phân lập được từ đất ngập mặn huyện Quảng Xương, tỉnh Thanh Hóa đều có khả năng sinh các enzyme ngoại bào cellulase, chitinase và protease. Kết quả này phù hợp với quan điểm của Nguyễn Lâm Dũng (2000) [4] và Biền Văn Minh (2006) [12] cho rằng xạ khuẩn có khả năng sinh nhiều loại enzyme ngoại bào.

So sánh với kết quả của Đào Thị Bưởi (2013) tuyển chọn và nghiên cứu hoạt tính sinh học của một số chủng xạ khuẩn phân lập từ đất ngập mặn huyện Tĩnh Gia, tỉnh Thanh Hóa có 13,34% chủng xạ khuẩn có hoạt tính enzyme protease mạnh, 13,34% chủng có hoạt tính enzyme cellulase mạnh, không có chủng xạ khuẩn nào có khả năng sinh enzyme amylase, khả năng sinh enzyme chitinase chưa được nghiên cứu; điều đó cho thấy tỷ lệ chủng xạ khuẩn từ đất ngập mặn huyện Quảng Xương, tỉnh Thanh Hóa có khả năng sinh enzyme ngoại bào có phần cao hơn nhiều. [2]

Khả năng sinh nhiều loại enzyme ngoại bào giúp các chủng xạ khuẩn tận dụng được nhiều nguồn dinh dưỡng trong môi trường để sinh trưởng và phát triển. Đặc biệt, các chủng có hoạt tính kháng nấm đều có hoạt tính enzyme chitinase mạnh. Như vậy có thể nói khả năng sinh tổng hợp enzyme chitinase đã góp phần tăng khả năng kháng nấm của các chủng xạ khuẩn.



a) Hoạt tính protease



b) Hoạt tính cellulase



c) Hoạt tính chitinase

Hình 2. Khả năng sinh enzyme ngoại bào của các chủng xạ khuẩn MD16, MD17, MD18

2.2.3. *Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các điều kiện nuôi cấy lên sự sinh trưởng, phát triển và khả năng kháng nấm của một số chủng xạ khuẩn phân lập được*

Từ kết quả xác định khả năng sinh enzyme ngoại bào và kết quả tuyển chọn khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum* của các chủng xạ khuẩn phân lập được ở đất ngập mặn huyện Quảng Xương, chúng tôi lựa chọn 2 chủng MD17, MD18 để tiếp tục các nghiên cứu.

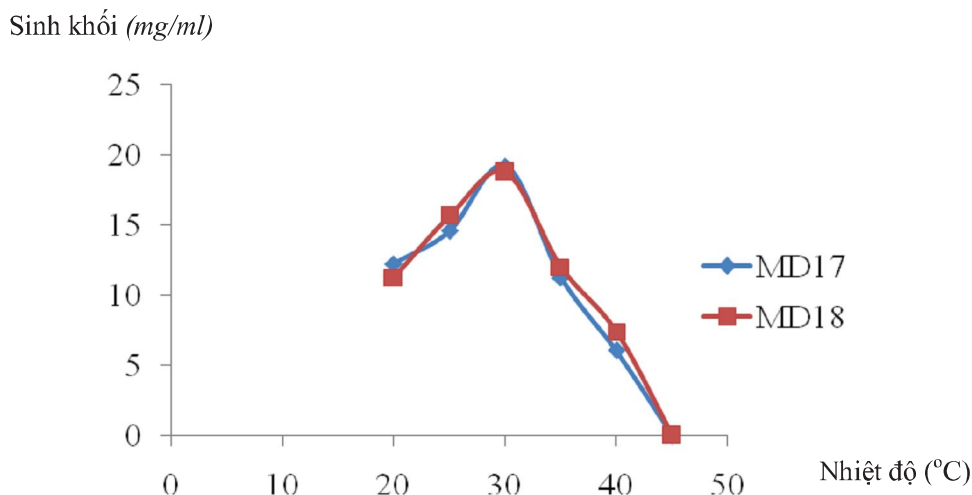
2.2.3.1. *Ảnh hưởng của nhiệt độ lên sự sinh trưởng, phát triển và khả năng kháng nấm của chủng xạ khuẩn MD17, MD18*

Để nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ lên sự sinh trưởng, phát triển và khả năng sinh chất kháng nấm của 2 chủng xạ khuẩn MD17 và MD18, chúng tôi sử dụng các thang nhiệt độ như sau: 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C. Hai chủng xạ khuẩn được nuôi cấy lắc (200 vòng/phút) trong môi trường dịch thể Gauze I với thời gian 120 giờ. Kết quả xác định sinh khối và hoạt tính kháng nấm bằng phương pháp giếng thạch được trình bày ở bảng 2 và hình 3.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên sự sinh trưởng, phát triển và khả năng sinh chất kháng nấm của 2 chủng xạ khuẩn MD17 và MD18

Nhiệt độ nuôi cấy	Sinh khối (mg/ml)		Đường kính vòng ức chế nấm <i>Fusarium oxysporum</i> (D-d) cm	
	MD17	MD18	MD17	MD18
20°C	12,24 ± 0,03	11,27 ± 0,14	1,7 ± 0,00	1,9 ± 0,06
25°C	14,56 ± 0,12	15,63 ± 0,12	2,3 ± 0,06	2,5 ± 0,00
30°C	19,20 ± 0,06	18,74 ± 0,18	3,1 ± 0,06	3,5 ± 0,06
35°C	11,27 ± 0,17	12,00 ± 0,06	1,9 ± 0,06	2,1 ± 0,12
40°C	6,04 ± 0,18	7,40 ± 0,06	1,0 ± 0,12	1,2 ± 0,12
45°C	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00

Kết quả ở bảng 2 và hình 3 cho thấy cả 2 chủng xạ khuẩn MD17 và MD18 đều sinh trưởng tốt ở nhiệt độ 20°C đến 35°C, nhưng nhiệt độ tối ưu cho sự sinh trưởng và phát triển của chúng là 30°C, phát triển yếu hơn ở 40°C và không có khả năng sinh trưởng ở nhiệt độ 45°C. Hoạt tính kháng nấm của 2 chủng xạ khuẩn MD17 và MD18 cũng phụ thuộc vào nhiệt độ nuôi cấy, cả hai chủng này đều sinh chất kháng nấm *Fusarium oxysporum* mạnh nhất khi nuôi cấy ở 30°C. Như vậy, 30°C là nhiệt độ thích hợp nhất cho sinh trưởng và khả năng sinh chất kháng nấm *F.oxysporum* của 2 chủng xạ khuẩn MD17 và MD18. Vì vậy, chúng tôi chọn nhiệt độ 30°C để nuôi cấy trong các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sinh trưởng của 2 chủng xạ khuẩn MD17 và MD18

2.2.3.2. Ảnh hưởng của pH

Để nghiên cứu ảnh hưởng của pH lên sự sinh trưởng, phát triển và khả năng sinh chất kháng nấm của 2 chủng xạ khuẩn MD17 và MD18, chúng tôi sử dụng các thang pH từ 5 đến 10. Hai chủng xạ khuẩn được nuôi cấy lắc (200 vòng/phút) trong các môi trường dịch thể Gauze I có pH ban đầu là 5, 6, 7, 8, 9, 10 ở nhiệt độ 30°C với thời gian 120 giờ. Kết quả xác định sinh khối và hoạt tính kháng nấm bằng phương pháp giếng thạch được trình bày ở bảng 3 và hình 4.

Bảng 3. Ảnh hưởng của pH lên sự sinh trưởng, phát triển và khả năng sinh chất kháng nấm của 2 chủng xạ khuẩn MD17 và MD18

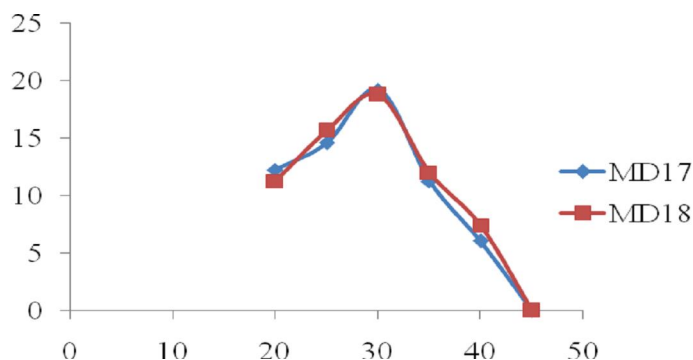
pH ban đầu	Sinh khối (mg/ml)		Đường kính vòng ức chế nấm <i>Fusarium oxysporum</i> (D-d) cm	
	MD17	MD18	MD17	MD18
5	6,94 ± 0,23	6,27 ± 0,12	1,2 ± 0,00	1,6 ± 0,06
6	14,32 ± 0,12	15,03 ± 0,06	2,0 ± 0,03	2,3 ± 0,06
7	19,97 ± 0,06	19,65 ± 0,03	3,2 ± 0,06	3,5 ± 0,06
8	15,27 ± 0,18	15,00 ± 0,18	2,6 ± 0,12	2,7 ± 0,00
9	10,24 ± 0,12	11,04 ± 0,06	1,1 ± 0,00	1,9 ± 0,12
10	3,00 ± 0,03	3,22 ± 0,12	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00

Kết quả ở bảng 4 và hình 4 cho thấy cả 2 chủng xạ khuẩn MD17 và MD18 đều có khả năng sinh trưởng và phát triển được trên môi trường kiềm hoặc axit. Tuy nhiên, các chủng xạ khuẩn này sinh trưởng và phát triển mạnh nhất ở pH = 7.

Kết quả ở bảng 4 cũng cho thấy hoạt tính kháng nấm của 2 chủng xạ khuẩn MD17 và MD18 phụ thuộc vào pH nuôi cấy, cả hai chủng này đều sinh chất kháng nấm *Fusarium*

oxysporum mạnh nhất khi nuôi cấy ở pH ban đầu là 7. Như vậy, pH = 7 là thích hợp nhất cho sinh trưởng và khả năng sinh chất kháng nấm *F. oxysporum* của 2 chủng xạ khuẩn MD17 và MD18. Từ kết quả đó, chúng tôi chọn pH ban đầu của môi trường nuôi cấy xạ khuẩn trong các nghiên cứu tiếp theo là 7.

Sinh khối (mg/ml)



Độ pH

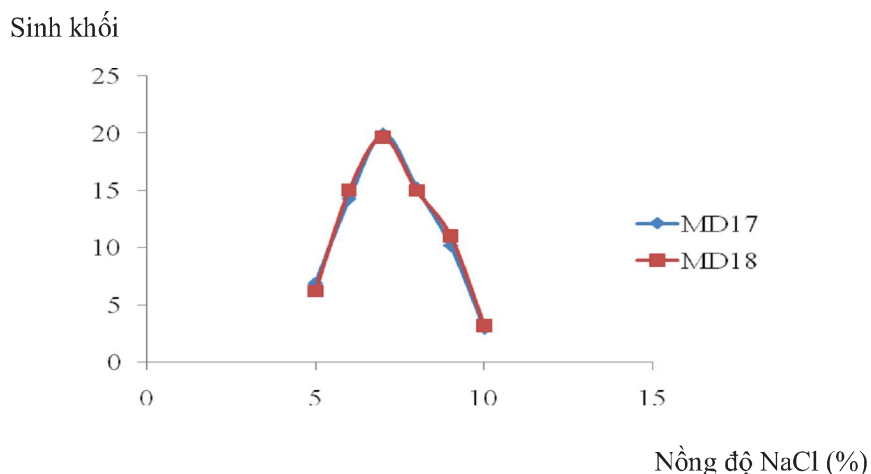
Hình 4. Ảnh hưởng của độ pH đến sinh trưởng của 2 chủng xạ khuẩn MD17 và MD18

2.2.3.3. Ảnh hưởng của nồng độ NaCl

Để nghiên cứu ảnh hưởng của độ mặn lên sự sinh trưởng, phát triển và khả năng sinh chất kháng nấm của 2 chủng xạ khuẩn MD17 và MD18, chúng tôi sử dụng các thang nồng độ NaCl 0, 1, 2, 3, 4, 5(%). Hai chủng xạ khuẩn được nuôi cấy lắc (200 vòng/phút) trong các môi trường dịch thể Gauze I có nồng độ NaCl lần lượt là 0, 1, 2, 3, 4, 5 ở nhiệt độ 30°C, pH = 7 với thời gian 120 giờ. Kết quả xác định sinh khối và hoạt tính kháng nấm bằng phương pháp giếng thạch được trình bày ở bảng 4 và hình 5.

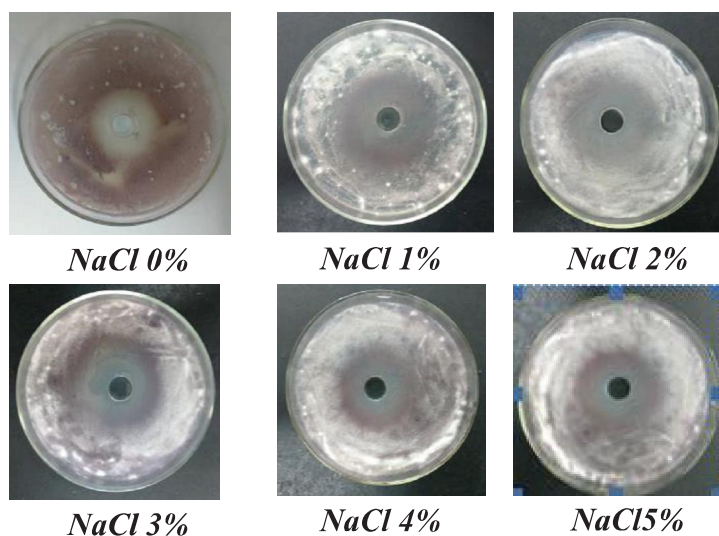
Bảng 4. Ảnh hưởng của độ mặn lên sự sinh trưởng, phát triển và khả năng sinh chất kháng nấm của 2 chủng xạ khuẩn MD17 và MD18

Nồng độ NaCl (%)	Sinh khối (mg/ml)		Đường kính vòng ức chế nấm <i>Fusarium oxysporum</i> (D-d) cm	
	MD17	MD18	MD17	MD18
0	12,74 ± 0,21	15,27 ± 0,12	2,6 ± 0,00	1,6 ± 0,06
1	19,67 ± 0,06	19,65 ± 0,03	3,3 ± 0,06	3,4 ± 0,06
2	15,32 ± 0,12	15,03 ± 0,06	2,6 ± 0,03	2,7 ± 0,06
3	11,27 ± 0,18	12,00 ± 0,18	2,0 ± 0,12	2,3 ± 0,00
4	10,24 ± 0,12	11,04 ± 0,06	1,8 ± 0,12	1,9 ± 0,12
5	9,97 ± 0,03	10,22 ± 0,12	1,7 ± 0,06	1,8 ± 0,06



Hình 5. Ảnh hưởng của nồng độ NaCl đến sự sinh trưởng của 2 chủng xạ khuẩn MD17 và MD18

Kết quả bảng 5 và hình 5 cho thấy cả hai chủng xạ khuẩn MD17, MD18 đều có khả năng sinh trưởng, phát triển trong giới hạn độ mặn rộng 0 - 5% và có thể sinh chất kháng nấm ngay cả ở độ mặn cao hơn độ mặn trung bình của nước biển là 3.5%. Tuy nhiên, cả chủng MD17, MD18 đều sinh trưởng, phát triển mạnh nhất và thể hiện khả năng kháng nấm *Fusarium* tốt nhất ở nồng độ NaCl 1%.



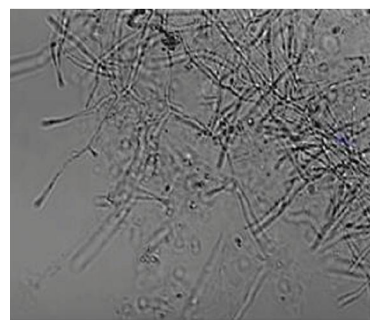
Hình 6. Hoạt tính đối kháng nấm *Fusarium oxysporum* của chủng xạ khuẩn MD18 ở nồng độ muối khác nhau

2.2.4. Kết quả phân loại chủng xạ khuẩn MD17, MD18

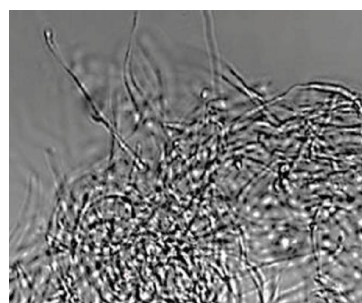
Từ kết quả quan sát đặc điểm hình thái, kết hợp với các đặc tính sinh hóa do Bảo tàng giống chuẩn vi sinh vật thuộc Trung tâm công nghệ sinh học Đại học quốc gia thực hiện, chúng tôi đã tiến hành định loại hai chủng xạ khuẩn MD17, MD18. Dựa vào khóa phân loại xạ khuẩn của Bergey 1989 [13] và so sánh với các đặc điểm phân loại xạ khuẩn chuẩn thuộc chi *Streptomyces* của ISP được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. So sánh đặc điểm phân loại của hai chủng xạ khuẩn đã tuyển chọn với các chủng xạ khuẩn chuẩn thuộc chi *Streptomyces* của ISP

Đặc điểm phân loại	<i>Streptomyces hygroscopicus</i>		<i>Streptomyces albobacillus</i>	
	MD17	ISP5578	MD18	ISP5268
Màu sắc KTKS	Ghi	Ghi, nâu	Trắng	Trắng, trắng xám
Màu sắc KTCC	Ghi sẫm	Ghi, ghi sẫm	Trắng	Trắng, hơi vàng
Hình dạng cuống sinh bào tử	Xoắn ốc	Xoắn ốc	Xoắn ốc	Xoắn ốc
Bề mặt bào tử	Xù xì	Xù xì	Nhẵn	Nhẵn
Sắc tố tan	Không có	Không có	Không có	Không có
Hình thành melanin	-	-	-	-
Khả năng đồng hóa cacbon:				
D - Glucose	+	+	+	+
L - Arabinose	+	±	+	+
D - Xylose	-	±	-	-
I - Inositol	+	±	+	+
Manitol	+	+	+	+
Raffinose	-	-	+	+
Rhamnose	-	-	-	-



(x 1.000)

Hình 7. Hình thái hệ sợi khuẩn ti và cuống sinh bào tử của chủng xạ khuẩn MD17

(x 1.000)

Hình 8. Hình thái hệ sợi khuẩn ti và cuống sinh bào tử của chủng xạ khuẩn MD18

Kết quả so sánh giữa các chủng xạ khuẩn đã tuyển chọn với các chủng xạ khuẩn chuẩn ở bảng 5 cho thấy:

Chủng MD17 mang những đặc điểm giống loài *Streptomyces hygroscopicus* Waksman and Henrici, 1948, có đặc điểm tương tự chủng ISP 5578.

Chủng MD18 mang những đặc điểm giống loài *Streptomyces albobaciens* Thirumalachar and Bhatt, 1960, có đặc điểm tương tự chủng ISP 5268.

3. KẾT LUẬN

Đã tuyển chọn được 10 chủng xạ khuẩn có khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum* gây bệnh cây, trong đó có hai chủng kháng nấm mạnh là MD17, MD18. Hai chủng MD17, MD18 có hoạt tính kháng nấm mạnh nhất, sinh trưởng và phát triển tốt nhất ở nhiệt độ 30°C, pH = 7, NaCl 1%; có khả năng sống sót ở nhiệt độ 40°C, chịu mặn đến 5%.

Các chủng xạ khuẩn phân lập được đều có khả năng sinh nhiều loại enzyme ngoại bào. Đặc biệt, các chủng kháng nấm mạnh đều có hoạt tính chitinase mạnh.

Đã định loại đến loài hai chủng kháng nấm mạnh. Chúng đều thuộc chi *Streptomyces*: chủng MD17 giống loài *Streptomyces hygroscopicus* Waksman and Henrici, chủng MD18 giống loài *Streptomyces albobaciens* Thirumalachar and Bhatt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Bergey's (1989), *Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 4. Williams Wilkins.
- [2] Đào Thị Bưởi (2013), *Bước đầu tuyển chọn và nghiên cứu hoạt tính sinh học của một số chủng xạ khuẩn phân lập từ đất ngập mặn huyện Tĩnh Gia, tỉnh Thanh Hóa*, Luận văn tốt nghiệp Trường Đại học Hồng Đức, Thanh Hóa.
- [3] Dhansekaran D., Thajuddin N., Panneerselvam A. (2012), *Application of Actinobacterial Fungicides in Agriculture and Medicine*, Fungicides for Plant and Animal Diseases, 1-27.
- [4] Nguyễn Lâm Dũng, Nguyễn Đình Quyến, Phạm Văn Ty (2010), *Vi sinh vật học*, Nxb. Giáo dục Việt Nam, Hà Nội, trang 96-147.
- [5] Nguyễn Thành Đạt (2000), *Sinh học vi sinh vật*, Nxb. Giáo dục Việt Nam, Hà Nội.
- [6] E.B. Shirling and D.Gottlieb (1966), *International Journal of Systematic Bacteriology*, 16(3), 313 - 340.
- [7] E.B. Shirling and D.Gottlieb (1968), *International Journal of Systematic Bacteriology*, 18(1), 69 - 189.
- [8] E.B. Shirling and D.Gottlieb (1972), *International Journal of Systematic Bacteriology*, 22(3), 265 - 394.
- [9] Gause G. et al. (1983), *Opredelitev actinomycetes*, Nauka, Moskva.
- [10] Gulve and Deshmukh (2011), *Enzymatic activity of Actinomycetes isolated from marine sediments*, Recent Reserch in Science and Technolory, 3(5), 80-83.

- [11] Ismet Ara, Bukhari N. A, Perveen K, Bakir M. A (2012), *Antifungal activiti of some actinomycetes isolated from Riyadh soil, Saudi Arabia: An evaluation for their abiliti to control Alternaria caused tomato blight in green house pot trial*, African Journal of Agricultural research, 7(3), 2042-2050.
- [12] Biền Văn Minh (Chủ biên), Kiều Hữu Ảnh, Phạm Ngọc Lan, Phạm Hồng Sơn, Phạm Văn Ty, Nguyễn Thị Thu Thủy (2006), *Vi sinh vật học*, Nxb. Đại học Huế, TP. Huế.
- [13] Phạm Thị Thùy (2010), *Giáo trình công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật*, Nxb. Giáo dục Việt Nam, Hà Nội.

**SCREENING OF *ACTINOMYCES* SPECIES ISOLATED FROM
MANGROVE SOIL IN QUANG XUONG DISTRICT (THANH HOA
PROVINCE) FOR ANTIFUNGAL ACTIVITY AGAINST
*FUSARIUM OXYSPORUM***

Ha Thi Phuong, Tran Thi Hai Yen

ABSTRACT

Eighteen Actinomycetes strains were isolated from mangrove soil samples collected from Quang Xuong district, Thanh Hoa province. Among them, 10 Actinomycetes strains were found to have antifungal activity against Fusarium oxysporum. Two Actinomycetes strains exhibited strongest antifungal activity named MD17 and MD18 were chosen for further studies. Both selected strains MD17 and MD18 were able to produce high chitinase activities. The two selected strain were then classified according to Gause's classification (1983), Bergey's Manual (1989) and the Classification method of International Streptomyces Program (ISP). The results showed that the two strains belonged to Streptomyces genus, strains MD17 and MD18 shared the closest relationship with Streptomyces hygroscopicus and Streptomyces anifaciens, respectively. In addition, the results of our study indicated that temperature of 30⁰C, pH = 7, and 1% NaCl was found to be favourable conditions for the growth and antifungal activity of two selected strains.

Keywords: *Actinomycetes, mangrove soil, antifungal activity.*

Ngày nộp bài: 23/10/2018; Ngày gửi phản biện: 19/11/2018; Ngày duyệt đăng: 6/8/2019.