

# Khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư hại sầu riêng

Lê Minh Tường<sup>1\*</sup>, Lê Hồng Nhiêu<sup>2</sup>, Lê Quốc Việt<sup>2</sup>, Nguyễn Quang Dũng<sup>1</sup>, Nguyễn Văn Tập<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Trường Nông Nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ, khu 2, đường 3/2, phường Xuân Khánh, quận Ninh Kiều, TP Cần Thơ, Việt Nam

<sup>2</sup>Sinh viên ngành Bảo vệ Thực vật, Trường Đại học Cần Thơ, khu 2, đường 3/2, phường Xuân Khánh, quận Ninh Kiều, TP Cần Thơ, Việt Nam

<sup>3</sup>UBND huyện Bình Tân, thị trấn Tân Quới, huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long, Việt Nam

Ngày nhận bài 18/11/2022; ngày chuyển phân biện 22/11/2022; ngày nhận phân biện 14/12/2022; ngày chấp nhận đăng 16/12/2022

## Tóm tắt:

Nghiên cứu được thực hiện tại Trường Đại học Cần Thơ với mục tiêu tìm ra các chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng cao với nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư hại sầu riêng. Kết quả cho thấy, trong số 28 chủng xạ khuẩn được đánh giá, 6 chủng có ký hiệu là BT19, BL10, TG19, BT16, ĐT15 và VL9 thể hiện khả năng đối kháng cao với nấm *Colletotrichum* sp., bán kính vòng vô khuẩn (BKVVK) ghi nhận lần lượt là 12,4; 9,4; 10,1; 9,8; 9,7 và 9,2 mm, hiệu suất đối kháng (HSDK) lần lượt là 63,22, 58,62, 55,86, 53,56, 52,64 và 53,79% tại 7 ngày sau khi bố trí thí nghiệm. Khả năng phân giải  $\beta$ -glucanase của 6 chủng BT19, BL10, TG19, BT16, ĐT15 và VL9 được thực hiện trong điều kiện phòng thí nghiệm cho thấy, chủng BT19 có khả năng tiết ra enzyme  $\beta$ -glucanase cao nhất, với bán kính vòng phân giải  $\beta$ -glucan là 8,53 mm và hàm lượng  $\beta$ -glucanase tiết ra là 0,678 IU/ml ở thời điểm 14 ngày sau khi bố trí thí nghiệm. Kết quả của nghiên cứu này làm cơ sở cho những nghiên cứu tiếp theo nhằm góp phần tìm ra biện pháp phòng trị bệnh thán thư hại cây sầu riêng một cách có hiệu quả.

**Từ khóa:** bệnh thán thư,  $\beta$ -glucanase, *Colletotrichum* sp., xạ khuẩn.

**Chỉ số phân loại:** 4.6

## 1. Đặt vấn đề

Trong những năm gần đây, theo xu hướng chuyển dịch cơ cấu cây trồng, sầu riêng là loại cây ăn trái được bà con nông dân ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long lựa chọn trồng nhiều do giá trị kinh tế cao. Bên cạnh sự gia tăng diện tích thì tình hình sinh vật hại trên cây sầu riêng cũng ngày càng phức tạp, trong đó có bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum* spp. gây ra. Bệnh xuất hiện ở hầu hết các vườn trồng sầu riêng và gây hại quanh năm. Bệnh thán thư phát triển mạnh trong mùa mưa, điều kiện nhiệt độ, ẩm độ. Nấm bệnh gây hại chủ yếu trên lá, làm lá bị khô cháy từng phần và rụng sớm, cành trơ trụi, cành nhỏ chết khô làm ảnh hưởng đến năng suất và chất lượng trái sầu riêng [1].

Hiện nay, người nông dân quản lý bệnh này chủ yếu bằng biện pháp hóa học. Tuy nhiên, sử dụng thuốc hóa học liên tục sẽ dẫn đến mầm bệnh hình thành tính kháng, phát sinh loài mới, ảnh hưởng đến môi trường, sức khỏe con người [1, 2]. Vì vậy, việc nghiên cứu, áp dụng các biện pháp sinh học trong phòng trừ dịch hại đang được quan tâm [3-6]. Các nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng, xạ khuẩn có tiềm năng rất lớn trong quản lý bệnh thán thư trên nhiều loại cây trồng như hồ tiêu [3, 4], sen [5, 7], khoai môn [6, 8], xoài [7-10], cây có múi [8, 11]... Do đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm tìm ra chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng với nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư hại sầu riêng; tạo cơ sở cho những nghiên cứu tiếp theo nhằm tìm ra sản phẩm sinh học góp phần phòng trị bệnh thán thư hại sầu riêng một cách có hiệu quả.

\*Tác giả liên hệ: Email: lmtuong@ctu.edu.vn

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu

- Nguồn nấm: Dòng nấm *Colletotrichum* sp. (dòng Co.BT1) được cung cấp từ Phòng Thí nghiệm bệnh cây, Khoa Bảo vệ Thực vật, Trường Đại học Cần Thơ. Dòng nấm này được thu thập ở huyện Chợ Lách, tỉnh Bến Tre, trên triệu chứng điển hình của bệnh thán thư và có độc tính cao nhất trong tổng số 11 dòng nấm đã phân lập.

- Thu thập và phân lập xạ khuẩn: Thu mẫu đất tại những vườn trồng sầu riêng có diện tích lớn hơn 1.000 m<sup>2</sup>, chọn mẫu đất ở những gốc cây khỏe (cùng vườn với thu mẫu bệnh), ở độ sâu 10-25 cm. Các mẫu đất ở vườn khác nhau được cho vào túi nilon riêng, sau đó mang về phòng thí nghiệm để phân lập theo phương pháp của S.C. Hsu và cs (1975) [9].

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư hại sầu riêng trong phòng thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 lần lặp lại, mỗi nghiệm thức là một chủng xạ khuẩn thí nghiệm. Các chủng xạ khuẩn thử nghiệm được nuôi cấy trên môi trường MS trong 6 ngày, xác định mật số và chuyển về huyền phù với mật số xạ khuẩn cần dùng là 10<sup>8</sup> cfu/ml. Dòng nấm *Colletotrichum* sp. được nuôi cấy trên môi trường PDA trong 6 ngày.

# Antagonistic potential of actinomycete strains against *Colletotrichum* sp. causes anthracnose disease in durian

Minh Tuong Le<sup>1\*</sup>, Hong Nhiều Le<sup>2</sup>, Quoc Viet Le<sup>2</sup>, Quang Dung Nguyen<sup>1</sup>, Van Tap Nguyen<sup>3</sup>

<sup>1</sup>College of Agriculture, Can Tho University,

Campus 2, 3/2 Street, Xuan Khanh Ward, Ninh Kieu District, Can Tho City, Vietnam

<sup>2</sup>Undergraduate Students Majoring in Plant Protection, Can Tho University,

Campus 2, 3/2 Street, Xuan Khanh Ward, Ninh Kieu District, Can Tho City, Vietnam

<sup>3</sup>People's Committee of Binh Tan District,

Tan Quoi Town, Binh Tan District, Vinh Long Province, Vietnam

Received 18 November 2022; revised 14 December 2022; accepted 16 December 2022

## Abstract:

The research was carried out at Can Tho University with the aim of investigating the ability of actinomycetes isolates to antagonise *Colletotrichum* sp. fungus causing anthracnose disease in durian. The results showed that among the 28 actinomycete strains evaluated, 6 actinomycetes including BT19, BL10, TG19, BT16, DT15, and VL9 had stronger antagonism with a radius of inhibition zone reaches 12.4, 9.4, 10.1, 9.8, 9.7, and 9.2 mm, respectively and antagonistic efficacy of 63.22, 58.62, 55.86, 53.56, 52.64, and 53.79%, respectively at 7 days after co-inoculation. The ability to degrade  $\beta$ -glucanase of 6 strains BT19, BL10, TG19, BT16, DT15, and VL9 performed under laboratory conditions showed that the BT19 isolate had the highest  $\beta$ -glucanolytic activity with the  $\beta$ -glucan lyse halo radius of 8.53 mm and secreted  $\beta$ -glucanase content reached 0.678 IU/ml at 14 days after testing. The results of this study will be the basis for further research to contribute to finding effective methods to control anthracnose disease in durian.

**Keywords:** actinomycetes, anthracnose disease,  $\beta$ -glucanase, *Colletotrichum* sp.

**Classification number:** 4.6

Khoanh khuẩn ty nấm *Colletotrichum* 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 chủng xạ khuẩn thí nghiệm được đặt đối xứng với khoanh khuẩn ty nấm và cách thành đĩa 1 cm (mỗi đĩa sử dụng 2 chủng xạ khuẩn đặt đối xứng với nấm). 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 28°C.

Chỉ tiêu ghi nhận: Đo BKT<sub>VK</sub> ở các thời điểm 3, 5 và 7 ngày sau khi bố trí thí nghiệm.

Tính HSDK ở các thời điểm 3, 5 và 7 ngày sau khi bố trí thí nghiệm theo công thức của S.A. Palaniyandi và cs (2013) [10] như sau:

$$\text{HSDK (\%)} = (\text{BKT}_{\text{dc}} - \text{BKT}_{\text{xk}}) / \text{BKT}_{\text{dc}} \times 100$$

trong đó BKT<sub>dc</sub> là bán kính tán nấm phát triển về phía đối chứng; BKT<sub>xk</sub> là bán kính tán nấm phát triển về phía xạ khuẩn.

### 2.2.2. Khảo sát khả năng phân giải $\beta$ -glucanase của các chủng xạ khuẩn trên môi trường thạch

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 lần lặp lại, mỗi nghiệm thức là một chủng xạ khuẩn thí nghiệm và mật số xạ khuẩn sử dụng trong thí nghiệm là 10<sup>8</sup> cfu/ml. Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của S. Gopalakrishnan và cs (2014) [11].

Dùng kẹp chuyên dụng cho các khoanh giấy thấm có đường kính 5 mm vào dung dịch huyền phù xạ khuẩn mật số 10<sup>8</sup> cfu/ml. Sau đó, đặt các khoanh giấy thấm lên đĩa petri có chứa 10 ml môi trường glucan agar thành 2 điểm cách đều nhau. Mỗi điểm tương ứng một khoanh giấy thấm chứa một chủng xạ khuẩn. Sau đó, các đĩa petri thí nghiệm được đặt ở điều kiện nhiệt độ 28°C. Xác định khả năng phân giải 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 agar lại với nước cất.

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 và 14 ngày sau bố trí thí nghiệm.

### 2.2.3. Xác định hoạt độ của enzyme $\beta$ -glucanase sản sinh từ các chủng xạ khuẩn

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 lần lặp lại, mỗi nghiệm thức là một chủng xạ khuẩn thí nghiệm.

- Chuẩn bị dung dịch cơ chất nền 2% laminarin: Pha trong dung dịch 0,2 M 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 1 N 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 1000 ml.

- Chuẩn bị dung dịch xạ khuẩn chứa enzyme glucanase: 6 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 4500 vòng/phút trong 15 phút, lấy phần dịch trong bên là dung dịch xạ khuẩn có chứa enzyme  $\beta$ -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 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 mật độ quang (OD) ở bước sóng 530 nm. Đối với nghiệm thức đối chứng thì thay 1 ml dung dịch xạ khuẩn chứa enzyme chitinase bằng 1 ml nước cất thanh trùng.

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

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

$$HT \text{ (IU/ml)} = \Delta OD_{\text{mẫu phân tích}} \times F \times (1000/180) \times (1/t) \times (1/v)$$

trong đó F là giá trị hệ số glucose trung bình (mg/ml);  $\Delta OD_{\text{mẫu phân tích}} = OD_{\text{ống có dịch enzyme thô}} - OD_{\text{ống đối chứng}}$ ; 1000: hệ số chuyển đổi mg thành  $\mu$ g; 180: trọng lượng phân tử của glucose (đổi từ  $\mu$ g sang  $\mu$ mol); t: thời gian phản ứng (60 phút); v: thể tích dung dịch enzyme (1 ml).

### 2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý với phần mềm Microsoft office Excel và phân tích bằng phần mềm MSTATC qua phép thử Duncan.

## 3. Kết quả và bàn luận

### 3.1. Khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư hại sầu riêng trong điều kiện phòng thí nghiệm

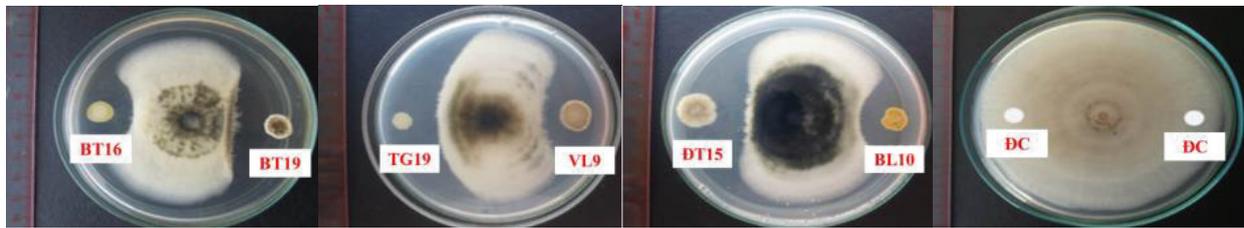
**Bán kính vòng vô khuẩn (BKVVK):** Kết quả thử nghiệm cho thấy, tại thời điểm 3 ngày sau bố trí thí nghiệm hầu hết các chủng xạ khuẩn đều thể hiện khả năng đối kháng với nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư hại sầu riêng

với nhiều mức độ khác nhau. Trong đó, 4 chủng xạ khuẩn TG19, VL9, BL10 và BL19 có BKVVK cao nhất lần lượt là 14,4, 15,4, 14,6 và 14,6 mm, có sự khác biệt ý nghĩa so với các chủng còn lại (bảng 1).

**Bảng 1. BKVVK của các chủng xạ khuẩn đối với nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư hại sầu riêng.**

Thứ tự	Chủng xạ khuẩn	BKVVK (mm) của các nghiệm thức qua các thời điểm khảo sát		
		3 NSBT	5 NSBT	7 NSBT
1	VL13	11,0 <sup>c-f</sup>	5,5 <sup>gh</sup>	5,1 <sup>e-j</sup>
2	VL11	12,0 <sup>bcd</sup>	7,0 <sup>def</sup>	5,0 <sup>f-j</sup>
3	VL18	11,8 <sup>b-e</sup>	7,6 <sup>de</sup>	5,2 <sup>d-j</sup>
4	VL17	10,8 <sup>def</sup>	4,8 <sup>ghi</sup>	2,1 <sup>mn</sup>
5	CT03	12,6 <sup>b</sup>	8,5 <sup>cde</sup>	7,3 <sup>cd</sup>
6	CT07	7,6 <sup>g</sup>	3,0 <sup>ijk</sup>	2,8 <sup>k-n</sup>
7	CT11	12,0 <sup>bcd</sup>	7,4 <sup>def</sup>	6,2 <sup>d-h</sup>
8	CT15	6,4 <sup>g</sup>	2,9 <sup>ijk</sup>	2,2 <sup>mn</sup>
9	CT17	11,2 <sup>b-e</sup>	6,9 <sup>def</sup>	3,9 <sup>i-m</sup>
10	BT02	10,8 <sup>def</sup>	5,6 <sup>gh</sup>	4,3 <sup>h-l</sup>
11	BT05	9,6 <sup>f</sup>	4,0 <sup>h-k</sup>	3,3 <sup>i-n</sup>
12	ĐT9	10,4 <sup>ef</sup>	4,6 <sup>hij</sup>	1,7 <sup>n</sup>
13	TG09	10,8 <sup>def</sup>	6,7 <sup>efg</sup>	5,7 <sup>d-i</sup>
14	TG19	14,4 <sup>a</sup>	9,9 <sup>c</sup>	10,1 <sup>b</sup>
15	TG22	11,2 <sup>b-e</sup>	2,2 <sup>k</sup>	1,7 <sup>n</sup>
16	ĐT24	11,7 <sup>b-e</sup>	8,6 <sup>cde</sup>	4,4 <sup>g-k</sup>
17	ĐT16	14,4 <sup>a</sup>	8,8 <sup>cd</sup>	7,2 <sup>cde</sup>
18	ST02	11,4 <sup>b-e</sup>	6,6 <sup>efg</sup>	5,5 <sup>d-i</sup>
19	BT16	12,1 <sup>bcd</sup>	12,0 <sup>b</sup>	9,8 <sup>b</sup>
20	ĐT15	12,10 <sup>bcd</sup>	9,9 <sup>c</sup>	9,7 <sup>b</sup>
21	AG4	9,6 <sup>f</sup>	3,6 <sup>ijk</sup>	2,3 <sup>mn</sup>
22	HG17	9,6 <sup>f</sup>	2,7 <sup>jk</sup>	2,3 <sup>lmn</sup>
23	VL9	15,4 <sup>a</sup>	11,8 <sup>b</sup>	9,2 <sup>b</sup>
24	HG21	12,4 <sup>bc</sup>	6,6 <sup>efg</sup>	5,3 <sup>d-j</sup>
25	BL10	14,6 <sup>a</sup>	12,2 <sup>b</sup>	9,4 <sup>b</sup>
26	BT19	14,6 <sup>a</sup>	14,0 <sup>a</sup>	12,4 <sup>a</sup>
27	ĐT5	10,9 <sup>def</sup>	8,6 <sup>cde</sup>	6,5 <sup>e-g</sup>
28	HG4	10,7 <sup>def</sup>	8,8 <sup>cd</sup>	6,7 <sup>e-f</sup>
Mức ý nghĩa	*	*	*	*
CV (%)	8,4	18,9	25,6	

Các giá trị ở cùng một cột được theo sau bởi cùng một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 1% qua phép thử Duncan; \*: khác biệt ở mức ý nghĩa 1; NSBT: ngày sau bố trí thí nghiệm.



Hình 1. Khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư hại sầu riêng ở thời điểm 7 ngày sau khi bố trí thí nghiệm.

Bảng 2. HSDK của các chủng xạ khuẩn đối với *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư hại sầu riêng.

Thứ tự	Chủng xạ khuẩn	HSDK (%) của các nghiệm thức qua các thời điểm khảo sát		
		3 NSBT	5 NSBT	7 NSBT
1	VL13	8,49 <sup>hi</sup>	28,39 <sup>gh</sup>	47,13 <sup>g-k</sup>
2	VL11	17,64 <sup>cde</sup>	30,32 <sup>fg</sup>	45,75 <sup>l</sup>
3	VL18	9,51 <sup>ghi</sup>	29,68 <sup>gh</sup>	45,29 <sup>kl</sup>
4	VL17	8,49 <sup>hi</sup>	27,10 <sup>ghi</sup>	42,53 <sup>lmn</sup>
5	CT03	10,52 <sup>fgh</sup>	27,74 <sup>ghi</sup>	47,82 <sup>g-j</sup>
6	CT07	4,43 <sup>i</sup>	16,13 <sup>j</sup>	38,62 <sup>op</sup>
7	CT11	13,57 <sup>e-h</sup>	34,19 <sup>ef</sup>	49,43 <sup>f-i</sup>
8	CT15	14,08 <sup>d-g</sup>	18,71 <sup>j</sup>	40,23 <sup>mno</sup>
9	CT17	9,51 <sup>ghi</sup>	23,23 <sup>i</sup>	42,76 <sup>lm</sup>
10	BT02	10,52 <sup>fgh</sup>	25,81 <sup>ghi</sup>	45,52 <sup>l</sup>
11	BT05	9,51 <sup>ghi</sup>	17,10 <sup>j</sup>	38,85 <sup>nop</sup>
12	ĐT9	11,54 <sup>fgh</sup>	25,16 <sup>hi</sup>	43,45 <sup>klm</sup>
13	TG09	15,61 <sup>def</sup>	33,55 <sup>ef</sup>	49,34 <sup>e-j</sup>
14	TG19	19,17 <sup>cd</sup>	38,06 <sup>cde</sup>	55,86 <sup>bc</sup>
15	TG22	21,2 <sup>bc</sup>	34,19 <sup>ef</sup>	38,85 <sup>op</sup>
16	ĐT24	22,73 <sup>bc</sup>	36,13 <sup>de</sup>	46,21 <sup>h-l</sup>
17	ĐT16	24,76 <sup>b</sup>	36,13 <sup>de</sup>	49,20 <sup>f-j</sup>
18	ST02	9,51 <sup>ghi</sup>	27,74 <sup>ghi</sup>	48,51 <sup>g-j</sup>
19	BT16	18,66 <sup>cde</sup>	41,94 <sup>bc</sup>	53,56 <sup>c</sup>
20	ĐT15	12,05 <sup>fgh</sup>	37,42 <sup>cde</sup>	52,64 <sup>c</sup>
21	AG4	9,51 <sup>ghi</sup>	14,84 <sup>j</sup>	37,47 <sup>op</sup>
22	HG17	15,61 <sup>def</sup>	14,19 <sup>j</sup>	36,09 <sup>p</sup>
23	VL9	22,72 <sup>bc</sup>	40,0 <sup>cd</sup>	53,79 <sup>c</sup>
24	HG21	9,51 <sup>ghi</sup>	25,16 <sup>hi</sup>	43,68 <sup>klm</sup>
25	BL10	21,71 <sup>bc</sup>	43,87 <sup>b</sup>	58,62 <sup>b</sup>
26	BT19	29,85 <sup>a</sup>	54,19 <sup>a</sup>	63,22 <sup>a</sup>
27	ĐT5	8,49 <sup>hi</sup>	35,16 <sup>de</sup>	49,88 <sup>e-h</sup>
28	HG4	10,52 <sup>fgh</sup>	36,13 <sup>de</sup>	49,20 <sup>f-j</sup>
Mức ý nghĩa	*	*	*	
CV (%)	25,5	11,3	5,8	

Các giá trị ở cùng một cột được theo sau bởi cùng một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 1% qua phép thử Duncan; \*: khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.

Ở thời điểm 5 ngày sau bố trí thí nghiệm (hình 1), chủng BT19 có BKVVK cao nhất là 14,0 mm, sau đó là 3 chủng BT16, VL9 và BT10 có BKVVK lần lượt là 12,0, 11,8 và 12,2 mm, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng còn lại. Ở thời điểm 7 ngày sau bố trí thí nghiệm, chủng BT19 vẫn cho khả năng đối kháng cao nhất với BKVVK là 12,4 mm; tiếp theo là 5 chủng TG19, BT16, ĐT15, VL9 và BT10 có BKVVK lần lượt là 11,1, 9,8, 9,7, 9,2 và 9,4 mm, cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng còn lại (bảng 1).

**Hiệu suất đối kháng (HSDK):** HSDK của các chủng xạ khuẩn thí nghiệm đối với nấm *Colletotrichum* sp. được thể hiện ở bảng 2. Ở thời điểm 3 ngày sau bố trí thí nghiệm, tất cả các chủng xạ khuẩn đều thể hiện HSDK đối với nấm, chủng BT19 có HSDK cao nhất là 29,85%, khác biệt ý nghĩa so với các chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại. Ở thời điểm 5 ngày sau bố trí thí nghiệm, chủng BT19 vẫn có khả năng đối kháng cao nhất qua HSDK là 54,19%. Đến 7 ngày sau bố trí thí nghiệm, chủng BT19 có HSDK cao nhất là 63,22%, tiếp theo là 2 chủng BL10 và TG19 với HSDK lần lượt là 58,62 và 55,86%; sau đó là 3 chủng BT16, ĐT15 và VL9 có HSDK lần lượt là 53,56, 52,64 và 53,79%, cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại.

Từ kết quả bảng 1 và 2 cho thấy, 28 chủng xạ khuẩn thí nghiệm đều có khả năng đối kháng với nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư hại sầu riêng ở các mức độ khác nhau thể hiện qua BKVVK cao và HSDK. Trong đó, 6 chủng xạ khuẩn thuộc chi *Streptomyces* là BT19, BL10, TG19, BT16, ĐT15 và VL9 thể hiện khả năng đối kháng cao nhất và kéo dài đến thời điểm 7 ngày sau khi bố trí thí nghiệm.

### 3.2. Khả năng phân giải $\beta$ -glucanase của các chủng xạ khuẩn trong môi trường thạch

Khả năng phân giải  $\beta$ -glucanase của các chủng xạ khuẩn thí nghiệm được trình bày tại bảng 3. Ở thời điểm 10 ngày sau bố trí thí nghiệm, chủng BT19 thể hiện khả năng phân giải  $\beta$ -glucanase cao nhất là 6,95 mm và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại (riêng chủng ĐT15 không thể hiện khả năng phân giải  $\beta$ -glucanase

với bán kính vòng phân giải (BKVPG) là 0 mm). Ở thời điểm 12 ngày sau bố trí thí nghiệm, chủng BT19 cho khả năng phân giải  $\beta$ -glucanase cao nhất với BKVPG là 7,73 mm. Đến thời điểm 14 ngày sau bố trí thí nghiệm, 2 chủng BT19 và BL10 cho BKVPG cao nhất lần lượt là 8,53 và 8,30 mm, cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại, riêng chủng ĐT15 vẫn không thể hiện khả năng phân giải  $\beta$ -glucanase với BKVPG là 0 mm.

**Bảng 3. Bán kính vòng phân giải  $\beta$ -glucanase của 6 chủng xạ khuẩn.**

Chủng xạ khuẩn	Bán kính (mm) vòng phân giải $\beta$ -glucanase		
	10 NSNL	12 NSNL	14 NSNL
TG19	5,63 <sup>c</sup>	7,18 <sup>b</sup>	7,88 <sup>b</sup>
BT19	6,95 <sup>a</sup>	7,73 <sup>a</sup>	8,53 <sup>a</sup>
BT16	3,50 <sup>e</sup>	4,30 <sup>d</sup>	4,93 <sup>d</sup>
BL10	6,30 <sup>b</sup>	7,30 <sup>b</sup>	8,30 <sup>a</sup>
VL9	5,00 <sup>d</sup>	6,01 <sup>c</sup>	6,25 <sup>c</sup>
ĐT15	0,00 <sup>f</sup>	0,00 <sup>e</sup>	0,00 <sup>e</sup>
Mức ý nghĩa	**	**	**
CV (%)	4,10	2,43	2,01

Các giá trị ở cùng một cột được theo sau bởi cùng một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 1% qua phép thử Duncan. Số liệu được chuyển sang log(x) trước khi thống kê. \*\*: khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; NSNL: ngày sau khi nuôi cấy.

### 3.3. Hàm lượng enzyme $\beta$ -glucanase sản sinh từ các chủng xạ khuẩn

Kết quả xác định hàm lượng enzyme  $\beta$ -glucanase của các chủng xạ khuẩn qua các thời điểm khảo sát được trình bày ở

**Bảng 4. Hàm lượng enzyme  $\beta$ -glucanase (IU/ml) sản sinh từ các chủng xạ khuẩn.**

Chủng xạ khuẩn	Hàm lượng enzyme $\beta$ -glucanase (IU/ml)		
	10 NSNL	12 NSNL	14 NSNL
TG19	0,325 <sup>e</sup>	0,375 <sup>e</sup>	0,29 <sup>e</sup>
BT19	0,420 <sup>a</sup>	0,483 <sup>a</sup>	0,678 <sup>a</sup>
BT16	0,100 <sup>e</sup>	0,065 <sup>e</sup>	0,050 <sup>e</sup>
BL10	0,360 <sup>b</sup>	0,395 <sup>b</sup>	0,318 <sup>b</sup>
VL9	0,195 <sup>d</sup>	0,145 <sup>d</sup>	0,095 <sup>d</sup>
ĐT15	0,005 <sup>f</sup>	0,005 <sup>f</sup>	0,007 <sup>f</sup>
Mức ý nghĩa	**	**	**
CV (%)	3,38	2,63	3,01

Các giá trị ở cùng một cột được theo sau bởi cùng một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 1% qua phép thử Duncan. Số liệu được chuyển sang log(x) trước khi thống kê. \*\*: khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; NSNL: ngày sau khi nuôi cấy.

bảng 4. Ở thời điểm 10 ngày sau khi nuôi cấy, chủng BT19 thể hiện khả năng phân giải  $\beta$ -glucanase cao nhất thông qua hàm lượng enzyme  $\beta$ -glucanase tiết ra lớn nhất là 0,420 (IU/ml). Đến thời điểm 12 và 14 NSNL, chủng BT19 vẫn cho hàm lượng enzyme  $\beta$ -glucanase tiết ra lớn nhất lần lượt là 0,483 (IU/ml) ở 12 NSNL và 0,678 (IU/ml) ở 14 NSNL cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các thí nghiệm còn lại ở cùng thời điểm thí nghiệm.

Kết quả bảng 3 và 4 cho thấy, cả 6 chủng xạ khuẩn thí nghiệm đều có khả năng phân giải và sản sinh enzyme  $\beta$ -glucanase với nhiều mức độ khác nhau. Trong đó, chủng BT19 thể hiện khả năng phân giải và sản sinh  $\beta$ -glucanase cao nhất thông qua bán kính vòng phân giải và hàm lượng enzyme.

Như vậy, khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn thí nghiệm đối với nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư hại sầu riêng có thể được giải thích là do khả năng sản sinh các chất đối kháng với nấm bệnh như các enzyme phân hủy vách tế bào nấm gây bệnh (ví dụ như enzyme  $\beta$ -glucanase).  $\beta$ -glucan là thành phần quan trọng trong vách tế bào nấm thật, vì vậy, khả năng sản sinh enzyme  $\beta$ -glucanase phân giải  $\beta$ -glucan là chỉ tiêu quan trọng nhằm đánh giá triển vọng của xạ khuẩn trong phòng trị bệnh cây trồng do nấm gây ra. Xạ khuẩn thuộc chi *Streptomyces* là một tác nhân phòng trừ sinh học có khả năng đối kháng lại với nấm bệnh thông qua việc sản sinh các enzyme phân giải thành phần quan trọng của cấu tạo vách tế bào nấm như  $\beta$ -1,3-glucanase [3, 6]. Nghiên cứu cho thấy, enzyme  $\beta$ -glucanase được sinh tổng hợp từ chủng xạ khuẩn *Streptomyces hygroscopicus* có khả năng đối kháng cao thông qua khả năng phá hủy và làm biến dạng vách tế bào của nấm *Colletotrichum gloeosporioides* và *Sclerotium rolfisii* [12, 13]. Chủng xạ khuẩn *Streptomyces cavourensis* SY224 có khả năng quản lý bệnh thán thư hồ tiêu tiêu do nấm *Colletotrichum* sp. gây ra một phần là do sản sinh enzyme glucanase [13, 9]. Theo nghiên cứu của D.T. Ngọc và cs (2022) [14], chủng xạ khuẩn CT12-HG có khả năng ức chế được nấm *Phytophthora* sp. gây bệnh nứt thân, xì mù trên cây mít thông qua khả năng tiết ra enzyme  $\beta$ -glucanase.

## 4. Kết luận

6 chủng xạ khuẩn ký hiệu BT19, BL10, TG19, BT16, ĐT15 và VL9 có khả năng đối kháng cao với nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư hại sầu riêng trong điều kiện phòng thí nghiệm.

Chủng xạ khuẩn BT19 có khả năng tiết enzyme  $\beta$ -glucanase cao nhất thể hiện qua bán kính vòng phân giải lớn và lượng enzyme sản sinh nhiều nhất.

Đề nghị nghiên cứu định danh các loài xạ khuẩn có tiềm năng, đánh giá an toàn sinh học và tiếp tục thử nghiệm khả năng kiểm soát bệnh trong điều kiện nhà lưới của chủng xạ khuẩn BT19.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] V.T. Man (2007), *Specialized Plant Disease Textbook*, Vietnam National University of Agriculture, 164pp (in Vietnamese).
- [2] P.A. Backman, M. Wilson, J.F. Murphy (1997), *Bacteria for Biological Control of Plant Diseases*, Lewis Publishers, pp.95-109.
- [3] L.M. Tuong, D.H. Thai, L.V. Giang, et al. (2016), *Actinomycetes and Their Roles in Plant Disease Management*, Environmentally Friendly Crop Pest Management, Cantho University, pp.203-215.
- [4] D.K. Hao, T.T.T. Thuy, L.M. Tuong (2021), “Evaluation antibacterial activity of actinomycetes isolates on *Colletotrichum* sp. causing anthracnose disease on pepper”, *Vietnam Journal of Agriculture And Rural Development*, **2**, pp.13-19 (in Vietnamese).
- [5] L.M. Tuong, N.P. Trien, T.X. Viet (2022), “The antagonistic ability of actinomycetes isolates against *Colletotrichum* sp. fungus causing anthracnose disease on lotus seed”, *Vietnam Journal of Agriculture and Rural Development*, **10**, pp.34-40 (in Vietnamese).
- [6] L.Y. Nhi, T.T.M. Hanh, L.M. Tuong (2020), “Assessment of antibacterial activity of actinomycetes isolates on *Colletotrichum* sp. causing anthracnose disease on taro”, *Vietnam Journal of Agriculture and Rural Development*, **22**, pp.60-67 (in Vietnamese).
- [7] N.H. Qui, L.M. Tuong (2016), “Determination of the actinomycete isolates as potential antagonistic ability in controlling anthracnose diseases caused by *Colletotrichum* sp. on mango”, *Can Tho University Journal of Science*, **3**, pp.120-127, DOI: 10.22144/ctu.jsi.2016.079.
- [8] N.H. Qui, L.M. Tuong (2018), “Determination antibacterial activity of actinomyces isolates on *Colletotrichum* sp. causing anthracnose disease on citrus in Mekong delta”, *Vietnam Journal of Agriculture and Rural Development*, **5**, pp.50-59 (in Vietnamese).
- [9] S.C. Hsu, J.L. Lockwood (1975), “Powdered chitin agar as a selective medium for enumeration of actinomycetes in water and soil”, *Apply Microbiology*, **29(3)**, pp.422-426, DOI: 10.1128/am.29.3.422-426.1975.
- [10] S.A. Palaniyandi, S.H. Yang, L. Zhang, et al. (2013), “Effects of actinobacteria on plant disease suppression and growth promotion”, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **97**, pp.9621-9636, DOI: 10.1007/s00253-013-5206-1.
- [11] S. Gopalakrishnan, S. Pande, M. Sharma, et al. (2014), “Evaluation of actinomycete isolates obtained from herbal vermicompost for the biological control of *Fusarium* wilt of chickpea”, *Crop Protection*, **30**, pp.1070-1078, DOI: 10.1016/j.cropro.2011.03.006.
- [12] B. Prapagdee, C. Kuekulvong, S. Mongkolsuk (2008), “Antifungal potential of extracellular metabolites produced by *Streptomyces hygrosopicus* against phytopathogenic fungi”, *International Journal of Biological Sciences*, **4**, pp.330-337, DOI: 10.7150/ijbs.4.330.
- [13] S.Y. Lee, H. Tindwa, Y.S. Lee, et al. (2012), “Biocontrol of anthracnose in pepper using chitinase,  $\beta$ -1,3 glucanase and 2-furancarboxaldehyde produced by *Streptomyces cavourensis* SY224”, *Journal Microbiology Biotechnology*, **22(10)**, pp.1359-1366, DOI: 10.4014/jmb.1203.02056.
- [14] D.T. Ngoc, L.M. Tuong (2022), “Evaluation of antagonistic activity of actinomycetes isolates on *Phytophthora* sp. causing decline disease on jackfruit”, *Vietnam Journal of Agriculture and Rural Development*, **13**, pp.29-36 (in Vietnamese).