

KHẢO SÁT KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG CỦA CÁC CHỦNG XẠ KHUẨN ĐỐI VỚI VI KHUẨN *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* GÂY BỆNH SỌC TRONG TRÊN LÚA

Tăng Kim¹, Trần Văn Dũng², Lê Minh Tường²

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện tại phòng thí nghiệm thuộc Bộ môn Bảo vệ Thực vật, Trường Đại học Cần Thơ nhằm tìm ra chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* gây bệnh sọc trong trên lúa. Có 18 trong tổng số 87 chủng xạ khuẩn thí nghiệm được xác định có khả năng đối kháng với vi khuẩn gây bệnh sọc trong trên lúa trong điều kiện phòng thí nghiệm. Thí nghiệm về khả năng đối kháng của 18 chủng xạ khuẩn được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 lần lặp lại. Kết quả cho thấy 4 chủng CT4, ĐT24, TV4 và ĐT12 thể hiện khả năng đối kháng cao với vi khuẩn *X. oryzae* pv. *oryzicola* đến thời điểm 7 ngày sau khi nuôi cấy với bán kính vòng vô khuẩn là 5,0 mm; 4,8 mm; 4,6 mm và 4,8 mm. Bên cạnh đó, khả năng phân giải lipid của 4 chủng xạ khuẩn trên cũng được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 lần lặp lại. Kết quả cho thấy tất cả 4 chủng xạ khuẩn thí nghiệm đều có khả năng tiết enzyme lipase và 3 chủng ĐT24, CT4 và ĐT12 thể hiện khả năng phân giải lipid cao với bán kính vòng phân giải lần lượt là 14,00 mm; 14,90 mm và 15,20 mm ở thời điểm 9 ngày sau khi nuôi cấy. Mặt khác, khả năng phân giải protein của 4 chủng xạ khuẩn trên cũng được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 lần lặp lại. Kết quả cho thấy tất cả các chủng xạ khuẩn thí nghiệm đều có khả năng tiết enzyme protease và chủng ĐT24 thể hiện khả năng phân giải protein cao nhất với bán kính vòng phân giải là 17,58 mm ở thời điểm 9 ngày sau khi nuôi cấy.

Từ khóa: Bệnh sọc trong trên lúa, lipid, protein, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*, xạ khuẩn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh sọc trong lá lúa do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (Xoc) là bệnh hại quan trọng trên lúa, bệnh gây thiệt hại năng suất đáng kể trong khoảng 17,5 - 30% và ghi nhận phổ biến ở các nước Châu Á (Wonni *et al.*, 2014). Biện pháp phòng trị bệnh chủ yếu hiện nay là sử dụng các loại thuốc hóa học. Tuy nhiên, biện pháp hóa học có tác động xấu như ảnh hưởng đến sức khỏe con người, gây ô nhiễm môi trường, lưu tồn trên sản phẩm và tạo ra tính kháng thuốc của mầm bệnh. Nhằm hướng đến một nền nông nghiệp bền vững, phòng trừ sinh học là một hướng đi mang tính hiệu quả và thân thiện với môi trường. Trong đó, xạ khuẩn là nhóm vi sinh vật được nghiên cứu có nhiều tiềm năng lớn trong phòng trừ sinh học bệnh cây chẳng hạn xạ khuẩn có thể ức chế mầm bệnh với nhiều cơ chế như: tiết kháng sinh, cộng sinh và ký sinh... Ngoài ra, xạ khuẩn còn có khả năng tiết ra các enzyme ngoại bào (lipase, protease, chitinase, glucanase,...) giúp phân hủy vách tế bào vi sinh vật gây bệnh. Theo nghiên cứu của Yan-Min và cộng tác viên (2000), đã cho thấy hoạt tính đối kháng của 26 chủng *Streptomyces* sp. chống lại vi khuẩn *Erwinia carotovora* trên cải bắp ở Trung Quốc là chất kháng sinh. Gần đây, trong nhiều nghiên cứu đã công bố cũng cho rằng xạ khuẩn có khả năng quản lý bệnh do vi khuẩn gây hại cây trồng như vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* gây bệnh héo xanh trên cây khoai lang (Huỳnh Trường Giang, 2017),

vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây bệnh cháy bìa lá lúa (Nguyễn Thị Mỹ Ngân, 2014), vi khuẩn *Xanthomonas campestris* pv. *citri* gây bệnh loét trên cam, quýt (Huỳnh Hào Quang, 2018), vi khuẩn *Erwinia* sp. gây bệnh thối củ khoai môn (Lê Minh Phương và *ctv.*, 2019). Do đó, việc nghiên cứu xạ khuẩn trong phòng trị bệnh sọc trong trên lúa là một trong những biện pháp sinh học đầy tiềm năng, hướng đến nền nông nghiệp an toàn bền vững.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nguồn xạ khuẩn: Thu mẫu đất trên những ruộng trồng lúa có diện tích lớn hơn 1,000m² chọn đất ở những gốc lúa khỏe và thu ở độ sâu từ 10 - 25 cm. Các mẫu đất ở những ruộng khác nhau được cho vào từng túi nilon riêng và mang về phòng thí nghiệm tiến hành phân lập theo phương pháp của Hsu và Lockwook (1975).

Nguồn vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* là chủng vi khuẩn nhận từ Bộ môn Bảo vệ Thực vật, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ. Chủng vi khuẩn này đã được ghi nhận có đặc điểm hình thái, màu sắc khuẩn lạc, đặc điểm sinh hóa và triệu chứng điển hình của vi khuẩn gây bệnh sọc trong trên lúa từ huyện Vị Thủy, tỉnh Hậu Giang và có khả năng xâm nhiễm và gây hại nặng nhất trên lúa trong số 8 chủng vi khuẩn thu thập được.

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

² Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đánh giá khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* trong điều kiện phòng thí nghiệm

a) Thu thập và phân lập xạ khuẩn

Thu mẫu đất trên những ruộng trồng lúa có diện tích lớn hơn 1.000 m² ở một số tỉnh ĐBSCL như: Cần Thơ, Trà Vinh, Hậu Giang và Đồng Tháp. Chọn đất ở những gốc cây lúa khỏe và thu ở độ sâu từ 10 - 25 cm. Các mẫu đất được phân lập theo phương pháp của Hsu và Lockwood (1975) như sau: Hòa 4 gram đất vào 40 mL nước cất thanh trùng cho vào ống Falcon 50 mL. Lắc trong 30 phút. Pha loãng ở 4 nồng độ: 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴. Rút 50 µL huyền phù ở nồng độ 10⁻³ và 10⁻⁴ cho vào đĩa petri chứa môi trường ISP4 và chà đĩa. Đĩa được ủ trong 2 - 3 ngày, sau đó tách rỗng xạ khuẩn trên môi trường MS. Các chủng xạ khuẩn phân lập được tồn trữ ở 8°C để sử dụng cho các thí nghiệm.

b) Chuẩn bị thí nghiệm

Những chủng xạ khuẩn được nuôi cấy trong môi trường MS trong 6 ngày, xác định mật số và chuyển về huyền phù xạ khuẩn là 10⁸ cfu/mL. Vi khuẩn *X. oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*) được nuôi cấy trên đĩa petri chứa môi trường King's B trong 48 giờ, cho 5 mL nước cất thanh trùng vào đĩa, xác định mật số và chuyển về huyền phù vi khuẩn có mật số 10⁸ cfu/mL.

c) Thực hiện thí nghiệm

Hòa 50 mL huyền phù vi khuẩn *Xoc* (mật số 10⁸ cfu/mL) cùng 10 mL môi trường King's B lỏng (Khoảng 50°C) vào đĩa Petri, lắc đều, để nguội. Sau đó tạo giếng trên đĩa petri bằng dụng cụ đục tròn có đường kính 5 mm, dùng micropipet hút 10 µL huyền phù xạ khuẩn (mật số 10⁸ cfu/mL) cho vào giếng vừa đục, mỗi giếng là 1 chủng xạ khuẩn khác nhau. Đĩa Petri thí nghiệm được đặt trong điều kiện nhiệt độ phòng.

d) Chỉ tiêu theo dõi

Tiến hành đo bán kính vòng vô khuẩn ở các thời điểm 1, 3, 5 và 7 sau ngày sau khi nuôi cấy.

2.2.2. Khảo sát khả năng tiết enzyme protease của các chủng xạ khuẩn trên môi trường thạch

a) Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 lặp lại, mỗi nghiệm thức là 1 chủng xạ khuẩn thí nghiệm. Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của Mitra và Chakrabartty (2005): Xạ khuẩn sau khi được nuôi cấy trong đĩa petri 6 ngày trên môi trường MS, xác định mật số và chuyển về huyền phù

xạ khuẩn là 10⁸ cfu/mL. Khoanh giấy thấm (đường kính 5 mm) có tấm xạ khuẩn (mật số 10⁸ cfu/mL) được cấy thành 3 điểm trên môi trường chứa cơ chất casein. Xác định hoạt tính protease do xạ khuẩn tiết ra trên môi trường thạch bằng cách trán dung dịch TCA (Tricloro acid) 10% lên đĩa petri trong 30 giây.

b) Chỉ tiêu theo dõi

Tiến hành đo bán kính vòng phân giải protein sau 3, 5, 7 và 9 ngày sau khi nuôi cấy là vùng không ăn màu với thuốc nhuộm TCA.

2.2.3. Khảo sát khả năng tiết enzyme lipase của các chủng xạ khuẩn trên môi trường thạch

a) Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 lặp lại, mỗi nghiệm thức là 1 chủng xạ khuẩn thí nghiệm. Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của (Ertugrul *et al.*, 2007): Xạ khuẩn sau khi được nuôi cấy trong đĩa petri 6 ngày trên môi trường MS, xác định mật số và chuyển về huyền phù xạ khuẩn là 10⁸ cfu/mL. Khoanh giấy thấm (đường kính 5 mm) có tấm xạ khuẩn (mật số 10⁸ cfu/mL) được cấy thành 3 điểm trên môi trường có chứa Tween 80 agar.

b) Chỉ tiêu theo dõi

Tiến hành đo bán kính vòng phân giải lipid ở các thời điểm 3, 5, 7 và 9 ngày sau khi nuôi cấy là vùng trong suốt.

2.2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được tổng hợp, xử lý sơ bộ bằng phần mềm Excel. Thống kê phân tích ANOVA và so sánh sự khác biệt giữa các trung bình nghiệm thức theo từng cách bố trí thí nghiệm bằng phần mềm MSTATC.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 8 năm 2019 đến tháng 02 năm 2020 tại phòng thí nghiệm bệnh cây và nhà lưới thuộc Bộ môn Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ, thành phố Cần Thơ.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập xạ khuẩn

Kết quả phân lập được 87 chủng xạ khuẩn từ đất trồng lúa, dựa vào đặc điểm hình thái của khuẩn lạc và đặc tính sinh hóa như hình dạng khuẩn lạc, màu sắc khuẩn ty cơ chất, màu sắc khuẩn ty khí sinh, sắc tố khuếch tán trên môi trường nuôi cấy... đã xác định các chủng xạ khuẩn phân lập thuộc chi *Streptomyces* (Nguyễn Lâm Dũng và *ctv.*, 2002).

3.2. Khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* trong điều kiện phòng thí nghiệm

Kết quả đánh giá nhanh khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với vi khuẩn *X. oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*) gây bệnh sọc trong trên lúa cho thấy có 18 chủng xạ khuẩn thực sự có khả năng đối kháng trong tổng số 87 chủng xạ khuẩn phân lập. Tiếp tục sử dụng 18 chủng xạ khuẩn này để đánh giá khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xoc* trong điều kiện phòng thí nghiệm với 5 lần lặp lại. Kết quả được ghi nhận thông qua bán kính vòng vô khuẩn (BKVVK) ở các thời điểm 1, 3, 5 và 7 ngày sau khi cấy (NSKC) và được trình bày ở bảng 1.

Ở thời điểm 1 NSKC, đa số các chủng xạ khuẩn đều có khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn *X. oryzae* pv. *oryzicola* ở các mức độ khác nhau. Trong đó, 4 chủng CT4, ĐT24, ĐT12 và TV4 thể hiện khả năng ức chế vi khuẩn *Xoc* cao với BKVVK lần lượt 5,0 mm; 4,6 mm; 4,6 mm và 4,4 mm và có khác biệt ý nghĩa so với các chủng còn lại. Đến thời điểm 3 NSKC khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn gây bệnh của các chủng xạ khuẩn đều có xu hướng tăng lên với BKVVK dao động trong khoảng 0,2 - 5,2 mm. Trong đó, chủng CT4 vẫn có BKVVK cao nhất là 5,2 mm, kế đến là chủng ĐT24 và TV4 với BKVVK 4,8 mm, tiếp theo là chủng ĐT12 với BKVVK là 4,6 mm và có sự khác biệt ý nghĩa với các chủng còn lại. Đến thời điểm 5 NSKC khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xoc* của các chủng xạ khuẩn có xu hướng giảm. Tuy nhiên, 4 chủng CT4, ĐT24, TV4 và ĐT12 vẫn duy trì được khả năng đối kháng cao nhất với BKVVK là 5,6 mm; 5,3 mm; 5,1 mm và 4,9 mm khác biệt có ý nghĩa với các chủng còn lại. Đến thời điểm 7 NSTN, 4 chủng CT4, ĐT24, TV4 và ĐT12 vẫn duy trì được khả năng đối kháng cao nhất với BKVVK là 5,0 mm; 4,8 mm; 4,6 mm và 4,8 mm và khác biệt có ý nghĩa với các chủng còn lại.

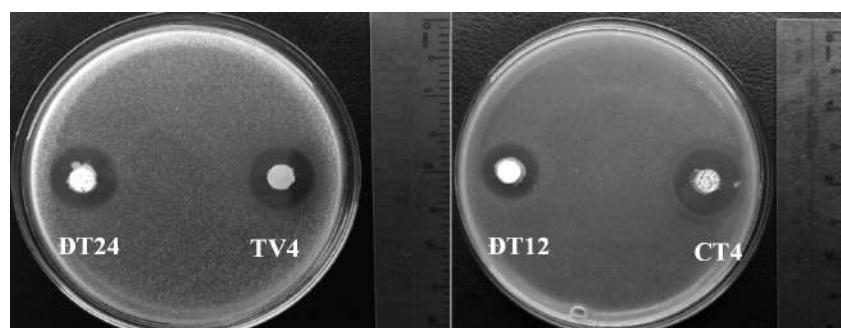
Nhìn chung, 18 chủng xạ khuẩn đều có khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xoc* gây bệnh sọc trong trên lúa ở những mức độ khác nhau qua các thời điểm

khảo sát. Nổi bật nhất là 4 chủng xạ khuẩn CT4, ĐT24, TV4 và ĐT12 thể hiện khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xoc* tốt nhất với BKVVK cao và thời gian duy trì khả năng đối kháng bền vững đến thời điểm 7 ngày sau thí nghiệm.

Bảng 1. Bán kính vòng vô khuẩn (mm) của các chủng xạ khuẩn đối với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* ở các thời điểm 1, 3, 5 và 7 ngày sau khi nuôi cấy (NSKC)

STT	Chủng xạ khuẩn	Bán kính vòng vô khuẩn (mm) qua các thời điểm			
		1 NSKC	3 NSKC	5 NSKC	7 NSKC
1	CT4	5,0 a	5,2 a	5,6 a	5,0 a
2	ĐT24	4,6 ab	4,8 b	5,3 ab	4,8 ab
3	TV4	4,4 b	4,8 b	5,1 b	4,6 b
4	ĐT12	4,6 ab	4,6 bc	4,9 b	4,8 ab
5	CT3	3,6 c	2,8 cd	2,2 c	1,5 c
6	CT7	2,6 d	1,1 f	1,1 de	1,1 d
7	CT12	2,6 d	1,2 e	1,1 de	1,1 d
8	ĐT5	3,6 c	2,9 c	2,2 c	1,5 c
9	ĐT31	2,1 de	2,8 cd	3,1 bc	1,5 d
10	ĐT27	2,6 d	2,9 c	2,2 c	1,5 d
11	ĐT30	2,8 cd	2,9 c	3,1 bc	1,1 d
12	ĐT32	2,1 de	1,6 de	1,2 d	0,9 e
13	HG13	0,8 e	1,5 d	1,0 e	0,7 ef
14	HG11	0,6 ef	1,1 f	1,0 e	0,9 e
15	HG20	0,6 ef	1,4 de	1,1 de	0,5 fg
16	TV5	0,2 fg	0,5 g	0,7 ef	0,3 gh
17	TV6	0,1 g	0,5 g	1,0 e	0,5 fg
18	TV15	0,0 hi	0,2 gh	0,7 ef	0,1 h
	Mức ý nghĩa	*	*	*	*
	CV (%)	19,71	16,38	22,40	26,62

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê trong phép thử Duncan. * khác biệt ở mức ý nghĩa 5%.



Hình 1. Khả năng đối kháng của xạ khuẩn đối với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* ở thời điểm 5 ngày sau khi nuôi cấy

Khả năng đối kháng của xạ khuẩn đối với vi khuẩn gây bệnh cây trồng đã được nhiều nghiên cứu trước đây chứng minh chẳng hạn như Nguyễn Thị Mỹ Ngân (2014) đã phân lập và tuyển chọn 23 trong tổng số 268 chủng xạ khuẩn phân lập từ đất trồng lúa có khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây bệnh cháy bìa lá lúa. Trong đó, 5 chủng DT24, ST42, TV4, VL6 và CT45 với bán kính vô khuẩn cao nhất lần lượt là 4,00 mm; 4,00 mm; 4,06 mm; 4,18 mm và 5,10 mm ở thời điểm 6 ngày sau thí nghiệm. Đồng thời 5 chủng xạ khuẩn này cũng có khả năng tiết ra các enzyme ngoại bào như protease, cellulase, lipase... Theo Phạm Minh Lý (2016), cũng ghi nhận 6 chủng xạ khuẩn LV-ĐT1, LM-HG6, TÔ-VL5, TS-AG4, BT-CT1, BT-CT5 có khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây bệnh cháy bìa lá lúa thông qua cơ chế tiết enzyme ngoại bào là protease, lipase và cellulase.

Như vậy, 4 chủng CT4, ĐT24, TV4 và ĐT12 có khả năng đối kháng với vi khuẩn gây bệnh gây bệnh sọc trong trên lúa cao nhất trong tổng số 18 chủng xạ khuẩn thí nghiệm và 4 chủng xạ khuẩn này sẽ được tiếp tục sử dụng trong các thí nghiệm tiếp theo.

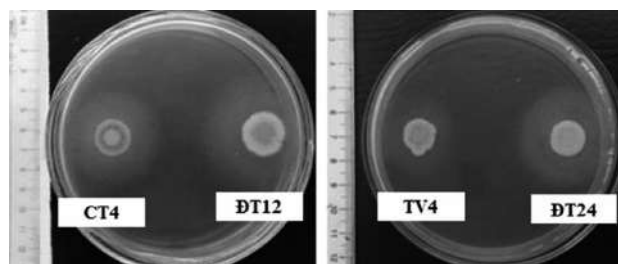
3.3. Khả năng tiết enzyme lipase và enzyme protease của các chủng xạ khuẩn

Khả năng tiết enzyme lipase và enzyme protease của 4 chủng xạ khuẩn trên môi trường thạch được đánh giá qua các thời điểm 3, 5, 7 và 9 ngày sau khi nuôi cấy (NSKC) và được trình bày ở Bảng 2.

3.3.1. Khả năng tiết enzyme lipase

Khả năng tiết enzyme lipase của các chủng xạ khuẩn thí nghiệm được trình bày ở bảng 2. Kết quả cho thấy cả 4 chủng xạ khuẩn thí nghiệm đều thể

hiện khả năng tiết enzyme lipase phân giải lipid. Thời điểm 3 NSKC, tất cả các chủng xạ khuẩn đều thể hiện khả năng phân giải lipid với bán kính vòng phân giải dao động trong từ 2,80 - 7,10 mm, trong đó chủng ĐT24 có bán kính phân giải cao nhất là 7,10 mm; kể đến là chủng CT4 có bán kính phân giải là 4,80 mm và có sự khác biệt thống kê với 2 chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại. Ở thời điểm 5 NSKC bán kính vòng phân giải của các chủng xạ khuẩn đều gia tăng và dao động trong từ 7,63 - 9,88 mm và 3 chủng ĐT24, CT4 và ĐT12 có bán kính vòng phân giải lần lượt là 9,88 mm, 9,88 mm và 9,48 mm không khác biệt ý nghĩa với nhau và khác biệt có ý nghĩa so với các chủng TV4 còn lại. Ở thời điểm 7 NSKC, 3 chủng ĐT24, CT4, ĐT12 tiếp tục có khả năng phân giải lipid cao và không khác biệt thống kê với nhau với bán kính vòng phân giải lần lượt là 13,10, 11, 90 và 12,38 mm và khác biệt thống kê với chủng TV4 ở mức ý nghĩa 5%. Thời điểm 9 NSKC, vòng phân giải lipid vẫn tiếp tục tăng và 3 chủng ĐT24, CT4, ĐT12 vẫn duy trì khả năng phân giải lipid cao với bán kính vòng phân giải lần lượt là 14,00 mm; 14,90 mm và 15,20 mm cao hơn và khác biệt thống kê với chủng TV4 ở mức ý nghĩa 5%.



Hình 2. Khả năng phân giải lipid của 4 chủng xạ khuẩn ở thời điểm 9 NSKC

Bảng 2. Khả năng phân giải lipid và protein của 4 chủng xạ khuẩn thí nghiệm qua các thời điểm 3, 5, 7 và 9 ngày sau khi nuôi cấy (NSKC)

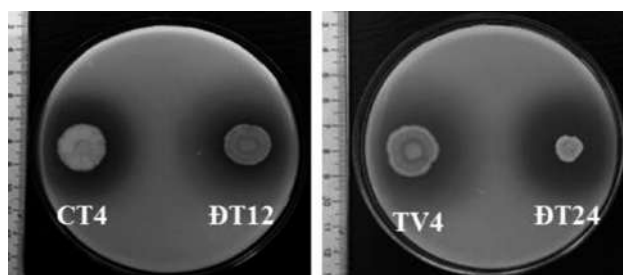
Thí nghiệm	Bán kính vòng phân giải lipid (mm)				Bán kính vòng phân giải protein (mm)			
	3 NSKC	5 NSKC	7 NSKC	9 NSKC	3 NSKC	5 NSKC	7 NSKC	9 NSKC
ĐT24	7,10 a	9,88 a	13,10 a	14,0 a	6,40 a	12,38 a	14,35 a	17,58 a
CT4	4,80 b	9,88 a	11,90 a	14,9 a	2,56 c	7,90 c	11,05 b	14,95 b
ĐT12	3,10 c	9,48 a	12,38 a	15,20 a	5,35 b	9,85 b	11,55 b	14,55 b
TV4	2,80 d	7,63 b	10,43 b	11,28 b	3,10 c	9,70 b	10,67 b	11,88 c
Mức ý nghĩa	*	*	*	*	*	*	*	*
CV (%)	25,82	7,41	8,86	6,85	14,37	6,76	8,64	4,58

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê trong phép thử Duncan; * khác biệt ở mức ý nghĩa 5%.

3.3.2. Khả năng tiết enzyme protease

Khả năng tiết enzyme protease của các chủng xạ khuẩn thí nghiệm được trình bày ở bảng 2.

Thời điểm 3 NSKC, tất cả 4 chủng xạ khuẩn thí nghiệm đều thể hiện khả năng phân giải protein với bán kính vòng phân giải dao động từ 2,56 - 6,40 mm, trong đó chủng ĐT24 có bán kính vòng phân giải lớn nhất là 6,40 mm và khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5% so với các chủng xạ khuẩn thí nghiệm còn lại. Thời điểm 5 NSKC, mức độ phân giải protein của các chủng xạ khuẩn đều gia tăng với bán kính vòng phân giải dao động trong khoảng 7,90 mm đến 12,38 mm và chủng ĐT24 vẫn có bán kính vòng phân giải là 12,38 mm cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê với các chủng còn lại. Thời điểm 7 NSKC, bán kính vòng phân giải dao động trong khoảng 10,67 - 14,35 mm và chủng ĐT24 vẫn có bán kính vòng phân giải cao nhất là 14,35 mm và khác biệt ý nghĩa thống kê với các chủng còn lại. Thời điểm 9 NSKC, bán kính vòng phân giải của các chủng xạ khuẩn vẫn tiếp tục tăng và dao động từ 11,88 - 17,58 mm và chủng ĐT24 vẫn duy trì khả năng phân giải protein cao nhất với bán kính vòng phân giải là 17,58 mm và khác biệt ý nghĩa thống kê với các chủng còn lại.



Hình 3. Khả năng phân giải protein của 4 chủng xạ khuẩn ở thời điểm 9 NSKC

Nhìn chung, 4 chủng xạ khuẩn thí nghiệm đều có khả năng tiết enzyme lipase phân giải lipid và enzyme protease phân giải protein với nhiều mức độ khác nhau và chủng ĐT24 có khả năng tiết enzyme lipase và enzyme protease cao và kéo dài đến thời điểm 9 ngày sau khi nuôi cấy.

Theo Nguyễn Lâm Dũng và cộng tác viên (2002), lipid là thành phần quan trọng của màng sinh chất hay màng tế bào chất (Cytoplasmic membrane, CM) và protein là một trong những thành phần cấu tạo của vách tế bào ở vi khuẩn. Như vậy, việc ức chế và tiêu diệt mầm bệnh thông qua cơ chế tiết enzyme lipase phân giải lipid và enzyme protease phân giải protein trên vách tế bào của mầm bệnh của xạ khuẩn là có khả năng và đáng xem xét và kết quả thí nghiệm đã chứng minh rằng 4 chủng xạ khuẩn có khả năng

đổi kháng với tác nhân gây bệnh sọc trong trên lúa thông qua cơ chế tiết enzyme lipase và enzyme protease và khả năng tiết ra các enzyme này của xạ khuẩn cũng là một hướng triển vọng trong phòng trị bệnh cây trồng do vi khuẩn gây ra. Theo nghiên cứu của Huỳnh Trường Giang (2017) cho rằng 6 chủng TT9, TT11, TT15, TTr44, TĐ16 và TT17 đều có khả năng tiết enzyme lipase và enzyme protease để đổi kháng bệnh héo xanh trên khoai lang do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* gây ra. Tương tự, Lê Minh Phương và cộng tác viên (2019) cho rằng 4 chủng LV-ĐT15, CM-AG22, DH-TV4, LV-ĐT24 có đổi kháng đối kháng cao với vi khuẩn *Erwinia* sp. gây bệnh thối nhũn trên khoai môn đều có khả năng tiết enzyme lipase và enzyme protease.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Bốn (04) chủng xạ khuẩn CT4, ĐT24, TV4 và ĐT12 có khả năng đổi kháng cao với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* gây bệnh sọc trong trên lúa đồng thời cũng thể hiện khả năng tiết enzyme lipase và protease cao trong điều kiện phòng thí nghiệm.

4.2. Đề nghị

Khảo sát khả năng phòng trị bệnh sọc trong trên lúa của 4 chủng xạ khuẩn này trong điều kiện nhà lưới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Huỳnh Hào Quang**, 2018. *Khảo sát một số cơ chế đổi kháng với vi khuẩn Xanthomonas campestris* pv. *citri* gây bệnh loét trên cam, quýt của các chủng xạ khuẩn triển vọng. Luận văn tốt nghiệp cao học ngành bảo vệ thực vật, Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ.
- Huỳnh Trường Giang**, 2017. *Khảo sát khả năng phòng trị bệnh héo xanh trên khoai lang do vi khuẩn Ralstonia solanacearum của các chủng xạ khuẩn*. Luận văn tốt nghiệp cao học chuyên ngành bảo vệ thực vật, Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ.
- Lê Minh Phương, Nguyễn Trường Sơn và Lê Minh Tường**, 2019. Khả năng đổi 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.
- Nguyễn Lâm Dũng, Nguyễn Đình Quyển và Phạm Văn Ty**, 2002. *Vi sinh vật học*. Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam. Hà Nội.
- Nguyễn Thị Mỹ Ngân**, 2014. *Khảo sát khả năng phòng trị của xạ khuẩn đối với vi khuẩn Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Luận văn tốt nghiệp cao học ngành bảo

vệ thực vật. Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ.

Phạm Minh Lý, 2016. *Khảo sát một số cơ chế đối kháng với vi khuẩn Xanthomonas oryzae pv. oryzae gây bệnh cháy bìa lá của các chủng xạ khuẩn triển vọng*. Luận văn tốt nghiệp kỹ sư chuyên ngành bảo vệ thực vật, Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ.

Ertugrul, 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.

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

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

Wonni, I., B. Cottyn, L. Detemmerman, S. Dao, L. Ouedraogo, S. Sarra and V. Verdier, 2014. Analysis of *Xanthomonas oryzae pv. oryzicola* Population in Mali and Burkina Faso Reveals a High Level of Genetic and Pathogenic Diversity. *Phytopathology*, 104(5): 520-531.

Yan-Min. V., T. Da Quun, T. Shi Min and Z. Ding, 2000. The antagonism of 26 strains *Streptomyces* sp. against several vegetables pathogens. *Hebaei Agric. Univ.*, 23: 65-68.

Evaluation of antagonistic ability of actinomycetes for *Xanthomonas oryzae pv. oryzicola* causing bacterial leaf streak disease on rice

Tang Kim, Tran Van Dung, Le Minh Tuong

Abstract

The research was conducted in the laboratory of Plant Protection Department, Can Tho University to screen actinomycetes to control bacterial leaf streak disease on rice caused by *Xanthomonas oryzae pv. oryzicola*. Eighteen of 87 strains in total were able to resist against *X. oryzae pv. oryzicola* in laboratory condition. The experiments for antagonistic ability of 18 actinomycetes strains in controlling *X. oryzae pv. oryzicola* arranged in completely randomized design with 5 replications. The results found that 4 strains CT4, ĐT24, TV4 and ĐT12 had high antagonistic ability with a radius of inhibition zones reaching 5.0 mm; 4.8 mm; 4.6 mm and 4.8 mm respectively at 7 days after inoculation. On the other hand, the lipolytic ability was also checked with 5 replications by completely randomized design. The results indicated that 4 testing strains could produce lipase and 3 strains ĐT24, CT4 and ĐT12 expressed the lipolytic activity, with the lipolytic halo radius of 14.00 mm; 14.90 mm and 15.20 mm respectively at 9 days after testing. Beside, protease activity assay was tested with 5 replications by completely randomized design. The results found that 4 strains could produce protease and the ĐT24 isolate expressed the highest proteinolytic activity with proteinolytic halo radius of 17.58 mm at 9 days after testing.

Keywords: Actinomycetes, bacterial leaf streak on rice, lipid, protein, *Xanthomonas oryzae pv. Oryzicola*

Ngày nhận bài: 13/4/2020

Ngày phản biện: 22/4/2020

Người phản biện: TS. Trần Đình Giới

Ngày duyệt đăng: 29/4/2020

NGHIÊN CỨU KỸ THUẬT NHÂN GIỐNG NGẢI ĐEN (*Kaempferia parviflora*) BẰNG CHỒI CỦ

Đào Thùy Dương¹, Nguyễn Thị Thu¹, Trần Ngọc Lân¹,
Nguyễn Đắc Bình Minh¹, Nguyễn Việt Trung²

TÓM TẮT

Ngải đen là một loại dược liệu quý hiếm của Việt Nam, được nhân giống từ chồi củ, khối lượng củ giống từ 30 g - 40 g/1 nhánh cho tỷ lệ nảy mầm cao 100%, khi trồng nên chọn loại củ giống 1 nhánh to khỏe không nên chọn củ nhiều nhánh nhỏ. Thành phần giá thể đất + trấu hun (1 : 1) hoặc cát 100% cho tỷ lệ nảy mầm đạt 100%, thời gian ươm tới khi xuất vườn 45 - 46 ngày. Bổ sung chất kích thích sinh trưởng GA3 ở nồng độ 150 ppm, N3M hoặc ROOTS NEW (pha theo khuyến cáo) đều cho tỷ lệ nảy mầm cao 100%, thời gian ươm tới khi xuất vườn giảm từ 8 - 12 ngày so với đối chứng. Chế độ che bóng thích hợp là 60 - 70% cây có tỷ lệ sống sót 100%, tăng khả năng phát triển cây con.

Từ khóa: Ngải đen (*Kaempferia parviflora*), chồi củ, kỹ thuật nhân giống

¹ Viện Nghiên cứu và Phát triển Vùng, Bộ Khoa học và Công nghệ; ² Trường THPT Thạch Bàn, Hà Nội