

at bonds involving hydrophobic amino acid residues. *Biochem. Biophys*, 200: 981-985.

Patrícia Domingues Pires-Bouças, Erika Izumi, Luciana Furlaneto-Maia, Leonardo Sturion and Sérgio Suzart, 2010. Effects of environmental and nutritional factors on gelatinolytic activity by *Enterococcus faecalis* strains isolated from clinical sources. *African Journal of Microbiology Research* Vol. 4 (10), p 969-976.

Paulina Ducka, Ulrich Eckhard, Esther Schönauer, Stefan Kofler, Gerhard Gottschalk, Hans Brandstetter, Dorota Nüss, 2009. A universal

strategy for high-yield production of soluble and functional clostridial collagenases in *E. coli*. *Appl Microbiol Biotechnol* (2009) 83: 1055-1065.

Shanmugasundaram Senthil Balan, Rajendiran Nethaji, Sudalayandi Sankar, Singaram Jayalakshmi, 2012. Production of gelatinase enzyme from *Bacillus spp* isolated from the sediment sample of Porto Novo Coastal sites. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, S1811-S1816.

Tran LH, Nagano H., 2002. Isolation and Characteristics of *Bacillus subtilis* CN2 and its Collagenase Production. *J. of Food Science* 2002, 67(3): 1184-1187.

Survey on culture conditions of recombinant bacteria *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE* synthesizing gelatinase

Pham My Dung, Pham Cong Hoat,
Pham Thi Tam, Le Huy Ham

Abstract

The investigation of carbon, nitrogen sources, temperature, pH and culture time was conducted to evaluate the effects of culture conditions on growth and gelatinase biosynthesis of *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE* strain. The results showed that: Nitrogen, carbon sources supplemented to the recombinant breeding medium were *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE*, yeast extract or peptone 1% + glucose 1%. Simultaneously, the suitable culture condition for this recombinant strain was at 30 ÷ 37°C and pH = 7 ÷ 8. The appropriate culture time for recombinant bacteria *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE* was in 24 hours.

Keywords: Gelatinase, recombinant bacteria, *E. coli*

Ngày nhận bài: 14/10/2017
Ngày phản biện: 20/10/2017

Người phản biện: TS. Nguyễn Thanh Hải
Ngày duyệt đăng: 10/11/2017

XÁC ĐỊNH ĐIỀU KIỆN NUÔI CẤY CỦA CHỦNG XẠ KHUẨN *Streptomyces variegatus* NN1 NHẪM NÂNG CAO HIỆU QUẢ KHÁNG NẤM *Aspergillus flavus* GÂY BỆNH TRÊN CAM QUÝT

Nguyễn Xuân Cảnh¹, Lê Hoàng Anh¹, Cấn Thị Mai Hương¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được tiến hành với mục tiêu xác định điều kiện nuôi cấy thích hợp của chủng xạ khuẩn *Streptomyces variegatus* NN1 nhằm nâng cao hiệu quả kháng nấm *Aspergillus flavus* gây bệnh trên cam quýt. Các thí nghiệm được thiết kế và thực hiện tập trung vào nghiên cứu đánh giá khả năng sinh chất kháng nấm trong các điều kiện lên men khác nhau của chủng xạ khuẩn *Streptomyces variegatus* NN1. Kết quả thu được cho thấy môi trường tối ưu cho sự lên men là môi trường A4-H, thời gian sinh chất kháng nấm nhiều nhất là sau 5 ngày trong điều kiện nuôi lắc 200 vòng/phút, pH 7 - 8, nhiệt độ 30 - 35°C, tỷ lệ thể tích môi trường nuôi/thể tích bình nuôi cấy khoảng 10%. Khi áp dụng các điều kiện trên trong nuôi cấy thu sinh khối chủng xạ khuẩn *Streptomyces variegatus* NN1 cho thấy cam quýt sau khi được phun dịch xạ khuẩn đã hạn chế được khả năng bị tấn công bởi nấm *Aspergillus flavus*.

Từ khóa: *Aspergillus flavus*, *Streptomyces variegatus*, xạ khuẩn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các loại quả thuộc chi cam quýt là một trong những mặt hàng có nhu cầu tiêu thụ cao trong nước đồng thời cũng là nhóm quả xuất khẩu chủ lực do

giá trị dinh dưỡng cao, cây thích nghi tốt với hầu hết các khu vực sinh thái của nước ta (Hoàng Ngọc Thuận, 2004). Vấn đề là trong tất cả các giai đoạn sinh trưởng và phát triển, cam quýt rất dễ bị hại do

¹ Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

sự tấn công của nấm mốc, đặc biệt ở giai đoạn sau thu hoạch. Để hạn chế thiệt hại do nấm mốc đồng thời kéo dài thời gian bảo quản, cam quýt cần được bảo quản trong điều kiện lạnh. Tuy nhiên một số chủng nấm mốc thuộc chi *Aspergillus* bao gồm cả *Aspergillus flavus* có khả năng phát triển ở nhiệt độ thấp nên gây bệnh được trên cả các loại trái cây bảo quản lạnh. Theo một số nghiên cứu đã công bố, hơn 50% hư hại do bệnh mốc xanh trên các quả thuộc chi cam quýt có nguyên nhân từ các chủng *Aspergillus flavus* (Akhtar *et al.*, 2013).

Trong các tác nhân sinh học thường được dùng để ức chế vi sinh vật gây bệnh, xạ khuẩn là nhóm có nhiều tiềm năng nhất vì tỷ lệ loài có khả năng sinh chất kháng sinh cao. Cho tới nay, có khoảng hơn 8000 chất kháng sinh được biết trên thế giới thì có tới 80% là do xạ khuẩn sinh ra (Dhanasekaran *et al.*, 2012). Trong nghiên cứu sàng lọc và xác định các chủng xạ khuẩn có khả năng kháng nấm mốc *A. flavus* gây bệnh trên chi cam quýt đã phát hiện được chủng xạ khuẩn *Streptomyces variegatus* NN1 (NN1) thể hiện hoạt tính tương đối cao. Nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu đánh giá các ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy lên khả năng đối kháng nấm *A. flavus* của chủng xạ khuẩn NN1 và xác định các điều kiện nuôi cấy thích hợp nhằm nâng cao khả năng sinh chất kháng sinh có hoạt tính kháng nấm *A. flavus* của chủng xạ khuẩn NN1. Từ đó làm cơ sở cho việc phát triển sản xuất chế phẩm sinh học trong bảo quản nông sản sau thu hoạch nói chung và cam quýt nói riêng.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chủng nấm *A. flavus* gây bệnh trên chi cam quýt, chủng xạ khuẩn *Streptomyces variegatus* NN1 có hoạt tính kháng *A. flavus* được phân lập, xác định và bảo quản tại phòng thí nghiệm Khoa Công nghệ Sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường và điều kiện nuôi cấy

a) Ảnh hưởng của môi trường lên men

Xạ khuẩn được nuôi trong các môi trường: SCA (Tinh bột 10 g; casein 10 g; KH_2PO_4 0,5 g; MgSO_4 0,5 g; NaCl 3 g; nước cất 1000 ml; pH 7,5 - 7,8), A4-H

(Glucose 15 g; bột đậu tương 15 g; NaCl 5 g; CaCO_3 1 g; nước cất 1000 ml; pH 7,5 - 7,8), ISP2 (Cao nấm men 4 g; dịch chiết malt 10 g; glucose 4 g; nước cất 1000 ml; pH = 7,3), M1ASW (Tinh bột 15 g; glucose 5 g; pepton 5 g; nước cất 1000 ml; pH 7,5 - 7,8). Hút 5 ml mỗi môi trường vào mỗi ống nghiệm, sau đó nuôi lắc ở 30°C với tốc độ 200 vòng/phút. Sau 3 - 5 ngày dịch nuôi cấy xạ khuẩn được cấy vào đĩa petri chứa môi trường PDA đã được cấy trái nấm, ủ ở 4°C trong 2 giờ, sau đó cho vào tủ nuôi. Đường kính vòng ức chế sinh trưởng của nấm được xác định sau 5 ngày nuôi cấy ở 30°C. Chọn môi trường cho hiệu quả sinh chất kháng nấm cao nhất phục vụ các nghiên cứu tiếp theo.

b) Ảnh hưởng của thời gian và trạng thái nuôi cấy

Xạ khuẩn được nuôi 3 ngày trong môi trường nhân giống cấp 1 có thành phần: cao nấm men 10 g, dextrose 10 g, nước cất 1000 ml với pH 6.8. Sau đó hút 10 ml dịch nuôi bổ sung vào 90 ml môi trường lên men thích hợp đã được lựa chọn đựng trong các bình tam giác. Các bình này được nuôi tại 30°C ở hai trạng thái nuôi tĩnh và nuôi lắc 200 vòng/phút, kiểm tra khả năng hoạt tính kháng nấm sau mỗi ngày nuôi cấy theo phương pháp đã mô tả như trên.

c) Ảnh hưởng của pH và nhiệt độ

Sau khi xác định được môi trường nuôi cấy, trạng thái nuôi cấy và thời gian nuôi cấy thích hợp, tiến hành nuôi các chủng xạ khuẩn trong các điều kiện pH môi trường ban đầu là: 5, 6, 7, 8, 9, 10; các điều kiện nhiệt độ khác nhau ở 25, 30, 35, 40, 50°C. Sau khoảng thời gian lên men thích hợp, tiến hành kiểm tra hoạt tính kháng nấm của dịch lên men bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch như đã mô tả.

d) Ảnh hưởng của độ thông khí

Chủng xạ khuẩn được nuôi trong môi trường thích hợp trong các bình tam giác 250ml với các thể tích dịch nuôi tương ứng với 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40% thể tích bình nuôi, ở trạng thái, nhiệt độ và pH tối ưu. Sau thời gian thích hợp được xác định từ thí nghiệm trước, tiến hành thử hoạt tính kháng nấm bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch.

2.2.2. Đánh giá hiệu quả ức chế nấm *Aspergillus flavus* của chủng xạ khuẩn NN1 trong điều kiện *in vivo*

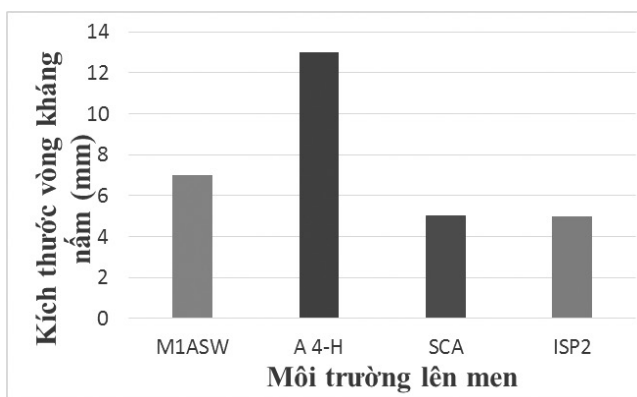
Chủng nấm gây bệnh *A. flavus* được nuôi trên môi trường thạch PDA trong đĩa petri sau 3 - 4 ngày.

Lấy phần sợi nấm cho vào 100 ml nước vô trùng. Chủng xạ khuẩn NN1 được nuôi cấy trong các điều kiện đã xác định sau đó ly tâm, thu dịch nuôi cấy, pha loãng dịch này 10 lần bằng nước cất vô trùng.

Quyết thí nghiệm: Chọn những quả còn tươi, không dập, úng, không bị tổn thương lớp vỏ, sau đó tiến hành xịt côn, ngâm javen trong vòng 5 phút và rửa lại bằng nước cất vô trùng. Các mẫu quyết thí nghiệm được nhúng qua dung dịch nuôi cấy xạ khuẩn đã chuẩn bị, mẫu đối chứng nhúng qua nước cất vô trùng. Tiến hành lây nhiễm nhân tạo nấm gây bệnh cho các mẫu quyết bằng cách phun dịch bào tử lên bề mặt quả, để khô, cho vào túi nilon, duy trì ở 30 - 32°C, quan sát vết bệnh sau 5 - 10 ngày.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại phòng thí nghiệm khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam từ 01/2016 đến 01/2017.



Hình 1. Ảnh hưởng của môi trường lên men đến khả năng sinh chất kháng nấm của chủng xạ khuẩn NN1

3.1.2. Ảnh hưởng của thời gian và trạng thái nuôi cấy

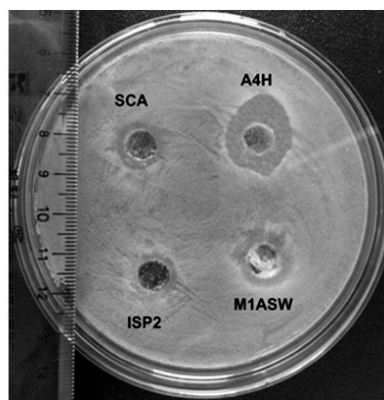
Nhằm khảo sát ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy, chủng xạ khuẩn NN1 được nuôi trong môi trường Gause I lỏng. Sau 3 ngày nuôi, hút 10 ml dịch nuôi bổ sung vào 90 ml môi trường A4-H đựng trong bình tam giác được nuôi ở nhiệt độ 30°C trong cả hai trạng thái tĩnh và lắc 200 vòng/phút, sau đó xác định khả năng kháng nấm. Kết quả cho thấy ở trạng thái nuôi lắc sau 5 ngày nuôi, chủng NN1 có hoạt tính kháng nấm lớn nhất với kích thước vòng kháng nấm là 14 mm, sau đó có sự biến thiên theo chiều hướng giảm dần và vẫn giữ được hoạt tính kháng nấm sau 9 ngày nuôi (Hình 2). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có sự tương đồng với công bố của

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

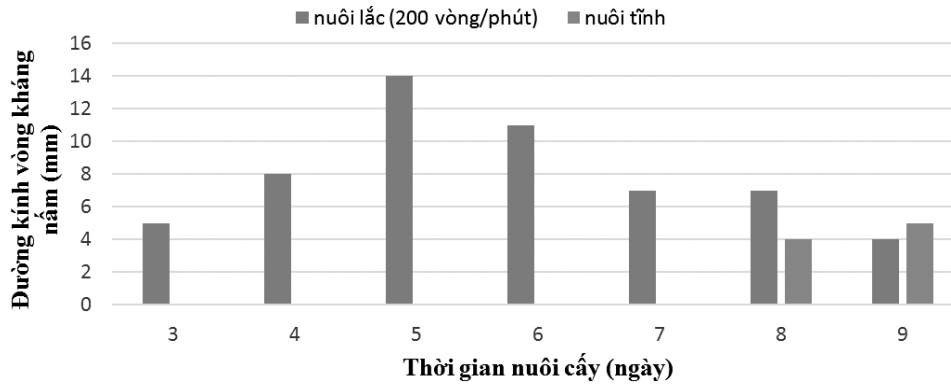
3.1. Xác định ảnh hưởng của môi trường và điều kiện nuôi cấy đến khả năng sinh chất kháng nấm

3.1.1. Ảnh hưởng của môi trường lên men

Chủng xạ khuẩn NN1 được tiến hành nuôi trong 4 môi trường cơ sở là SCA, ISP2, A 4-H và M1ASW. Sau 5 ngày nuôi, hoạt tính kháng nấm của chủng NN1 được xác định bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch. Kết quả cho thấy chủng NN1 đều có hoạt tính kháng nấm khi được nuôi trong cả 4 môi trường lên men cơ sở, nhưng hoạt tính kháng nấm biểu hiện mạnh nhất khi nuôi trong môi trường A4-H với kích thước vòng kháng nấm khoảng 13 mm (Hình 1). Các kết quả này cũng hoàn toàn phù hợp với kết quả nghiên cứu khi xác định môi trường lên men thích hợp của chủng *Streptomyces albogriseolus* VD111 (Phạm Thu Trang và *ctv.* 2014). Căn cứ vào kết quả này, đã sử dụng môi trường A4-H cho các thí nghiệm tiếp theo.



Gulve và Deshmukh (2012). Khi nghiên cứu về hoạt tính kháng sinh của các chủng xạ khuẩn biến các tác giả này đã khẳng định thời gian thu chất kháng sinh của đa số các chủng xạ khuẩn là 4 - 5 ngày. Tuy nhiên, nếu so với thời gian thu chất kháng sinh khi lên men chủng *Streptomyces* sp. MS-266 Dm4 được nghiên cứu bởi Ababutain (2013) là sau 7 ngày nuôi thì thời gian thu chất kháng nấm từ chủng xạ khuẩn NN1 sớm hơn. Kết quả thí nghiệm cũng cho thấy khả năng sinh chất kháng nấm của chủng NN1 có sự sai khác khi nuôi cấy ở các trạng thái khác nhau. Chủng NN1 thể hiện hoạt tính kháng nấm mạnh khi nuôi cấy ở môi trường lỏng trong trạng thái lắc (200 vòng/phút).



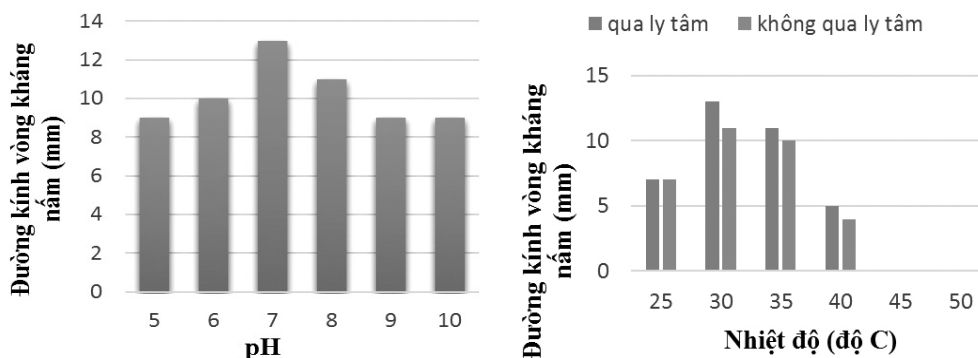
Hình 2. Ảnh hưởng của thời gian và điều kiện nuôi cấy đến khả năng sinh chất kháng nấm của chủng xạ khuẩn NN1

3.1.3. Ảnh hưởng của pH và nhiệt độ

Độ pH của môi trường không chỉ ảnh hưởng đến sự sinh trưởng, phát triển của xạ khuẩn mà còn ảnh hưởng tới quá trình sinh tổng hợp chất kháng nấm. Kết quả xác định ảnh hưởng của pH cho thấy trong dải pH từ 5 - 10, chủng NN1 đều có thể sinh trưởng và biểu hiện hoạt tính kháng nấm tương đối mạnh với đường kính vòng kháng nấm từ 9 - 13 mm (Hình 3). Ở pH 7 - 8, thì chủng NN1 biểu hiện khả năng kháng nấm trội hơn hẳn, khi pH môi trường lớn hơn 8 hoạt tính kháng nấm giảm dần. Như vậy có thể thấy chủng xạ khuẩn NN1 sinh trưởng tốt hơn cả là trong điều kiện pH môi trường trung tính đến hơi kiềm. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu đã công bố xạ khuẩn thuộc nhóm vi sinh vật phát triển tốt ở môi trường trung tính hoặc hơi kiềm (Lê Thị Thanh Xuân và Tăng Thị Chính, 2007). Tiếp đó, chủng xạ khuẩn NN1 được nuôi trong môi trường A4-H ở trạng thái lắc 200 vòng/phút, pH 7 ở các mức nhiệt độ khác nhau 25, 30, 35, 40, 45, 50°C. Trong dải nhiệt độ nghiên cứu, chúng tôi nhận

thấy chủng NN1 có khả năng phát triển và sinh chất kháng nấm ở nhiệt độ từ 25 - 35°C; ở 30°C chủng xạ khuẩn có khả năng sinh trưởng và sinh chất kháng nấm mạnh nhất với đường kính vòng kháng nấm tương ứng là 13 mm. Với mức nhiệt 40°C thì chủng NN1 sinh trưởng yếu; ở nhiệt độ 45 - 50°C thì chủng NN1 ngừng sinh trưởng. Đồng thời khi lấy dịch nuôi ở các nhiệt độ thí nghiệm tiến hành ly tâm lạnh ở 4°C, 10.000 vòng/phút trong 10 phút sau đó thu dịch và không ly tâm để thử hoạt tính kháng nấm, chúng tôi thấy đường kính vòng kháng nấm của dịch nuôi không qua ly tâm khá tương đồng kích thước vòng kháng nấm của dịch nuôi qua ly tâm.

Như vậy, để thu được chất kháng nấm với hàm lượng cao cần nuôi chủng NN1 ở 30°C và pH 7. Giá trị pH tối ưu cho khả năng sinh hoạt chất kháng nấm của chủng NN1 bằng giá trị pH thích hợp cho lên men thu hợp chất kháng nấm của chủng *Streptomyces sp.* KGG32 được nghiên cứu bởi Mustafa (2011) và cao hơn pH 6 khi lên men thu hợp chất kháng nấm của chủng *S. rimosus* MY02 được nghiên cứu bởi Yu (2008).



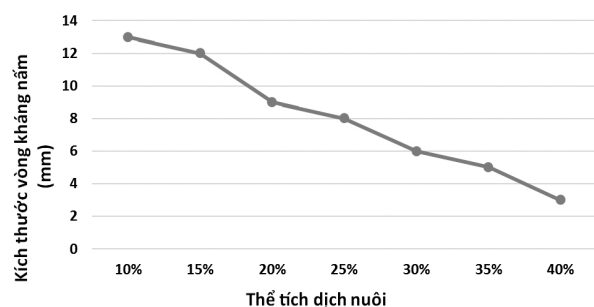
Hình 3. Ảnh hưởng của pH và nhiệt độ đến khả năng sinh chất kháng nấm của chủng xạ khuẩn NN1

3.2.4. Ảnh hưởng của độ thông khí

Chủng xạ khuẩn NN1 được cấy vào môi trường A4-H, pH 7 đựng trong bình hình tam giác 250 ml

với tỷ lệ dịch nuôi tương ứng là 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40% thể tích bình. Nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C, tốc độ lắc 200 vòng/phút, sau 5 ngày nuôi kiểm tra khả

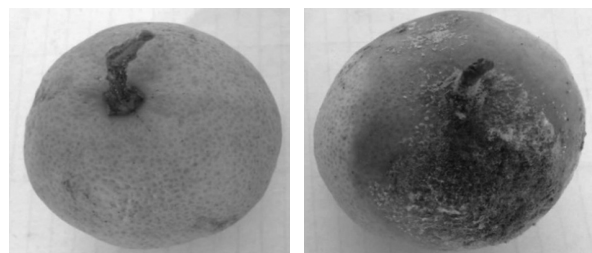
năng sinh chất kháng nấm. Kết quả thí nghiệm cho thấy với lượng môi trường lên men chiếm 10% thể tích bình sẽ cho hiệu quả tổng hợp chất kháng nấm cao nhất, vòng kháng nấm là 13 mm. Kết quả này tương ứng với nghiên cứu thu nhận rapamycin của chủng *S. hygroscopicus* ATCC29253 được nghiên cứu bởi Hamdy (2011). Vì vậy, điều kiện nuôi lắc 200 vòng/phút, thể tích dịch nuôi 10% thể tích bình là điều kiện tốt nhất để nuôi cấy chủng xạ khuẩn NN1.



Hình 4. Ảnh hưởng của thể tích dịch nuôi đến khả năng kháng nấm của chủng NN1

3.3. Đánh giá hiệu quả kháng nấm *A. flavus* của chủng NN1 trong điều kiện *in vivo*

Để đánh giá hiệu quả kháng nấm của chủng xạ khuẩn NN1 trong thực tế, các thí nghiệm thử hoạt tính sơ bộ trong điều kiện *in vivo* đã được tiến hành. Dịch lên men chủng xạ khuẩn được chuẩn bị theo các điều kiện tối ưu đã xác định. Quá trình xử lý và lây nhiễm nhân tạo trên quả quýt được thực hiện như mô tả trong phần phương pháp. Sau 5 ngày lây nhiễm, ở mẫu thí nghiệm không thấy xuất hiện các vết bệnh trong khi đó nấm *A. flavus* mọc lên rất nhiều trên mẫu đối chứng (Hình 5). Kết quả của thí nghiệm này cho thấy dịch nuôi cấy của chủng xạ khuẩn NN1 có khả năng ức chế sự tấn công của nấm *A. flavus*. Như vậy có thể nhận thấy việc sử dụng chủng NN1 trong phòng trừ nấm bệnh hại cam quýt là rất có tiềm năng trong sản xuất ở quy mô lớn hơn.



Thí nghiệm

Đối chứng

Hình 5. Kết quả khả năng đối kháng nấm bệnh *Aspergillus flavus* của chủng xạ khuẩn NN1 trực tiếp trên quýt

IV. KẾT LUẬN

- Môi trường lên men thích hợp để nâng cao khả năng kháng nấm bệnh *Aspergillus flavus* của chủng xạ khuẩn *Streptomyces variegatus* NN1 là môi trường A4-H. Hoạt tính kháng nấm của chủng NN1 biểu hiện ở ngày nuôi cấy thứ 3 và đạt cực đại sau 5 ngày nuôi trong điều kiện nuôi lắc 200 vòng/phút ở nhiệt độ 30°C và pH 7 chủng NN1. Trong điều kiện nuôi lắc trong bình tam giác, hoạt tính kháng nấm cao nhất khi duy trì thể tích nuôi cấy ở 10% thể tích bình nuôi.

- Dịch nuôi cấy xạ khuẩn trong các điều kiện đã xác định có khả năng ức chế sự phát triển của nấm bệnh *Aspergillus flavus* trên quả quýt trong điều kiện thí nghiệm *in vivo*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hoàng Ngọc Thuận, 2004. Kỹ thuật chọn tạo và trồng cây cam quýt. Nhà xuất bản Nông nghiệp. Hà Nội.
- Phạm Thu Trang, Phạm Thanh Huyền, Lê Gia Hy, Phí Quyết Tiến, Hồ Tuyên, Nguyễn Văn Giang, Nguyễn Phương Huệ, 2014. Đặc điểm sinh học của chủng xạ khuẩn biến VD111 sinh chất kháng nấm. Tạp chí Khoa học và Phát triển 2014, 12(8): 1258-1265.
- Lê Thị Thanh Xuân, Tăng Thị Chính, 2007. Ảnh hưởng của các điều kiện lên men lên khả năng sinh chất kháng sinh kháng nấm Fusarium oxysporum của hai chủng xạ khuẩn *Streptomyces cyaneogriseus* HD54 và *Streptomyces hygroscopicus* HD58. Tạp chí Sinh học, 29(1): 89-94.
- Ababutain IM, Aziz ZKA, AL-Meshhen NA, 2013. Optimization of environmental and nutritional conditions to improve growth and antibiotic productions by *Streptomyces sp.* Isolated from Saudi Arabia Soil. Int. Res. J. Microbiol., 4(8): 179-187.
- Akhatar, N., T. Anjum and R. Jabeen, 2013. Isolation and identification of storage fungi from citrus sampled from major growing areas of Punjab, Pakistan. Int. J. Agric. Biol., 15: 1283-1288.
- Dhanasekaran D., Thajuddin N., Panneerselvam A., 2012. Applications of Actinobacterial Fungicides in Agriculture and Medicine. Fungicides for Plant and Animal Diseases, pp. 1-27.
- Gulve RM, Deshmukh AM, 2012. Antimicrobial activity of the marine actinomycetes. Int Multidisciplin Res J., 2(3): 16-22.
- Hamdy, A. A., El-Refai, A. F., Sallam, L. A. R., Osman, M. E., Om Kalthoum, H. K., Mohamed, M. A., 2011. Seed stage manipulation as a tool for improving rapamycin production by *Streptomyces hygroscopicus* ATCC 29253. Australian Journal of

Basic and Applied Sciences, 5(2): 1-7.

Oskay Mustafa, 2011. Effects of some Environmental Conditions on Biomass and Antimicrobial Metabolite Production by *Streptomyces sp.*, KGG32. *International Journal of Agriculture & Biology*, 13: 317-324.

Yu J., Liu Q., Liu X., Sun Q., Yan J., Qi X., Fan S., 2008. Effect of liquid culture requirements on antifungal antibiotic production by *Streptomyces rimosus* MY02. *Bioresour Technol*, 99: 2087-2091.

Determination of culture conditions for *Streptomyces variegatus* NN1 to improve anti-fungal effect on *Aspergillus flavus* causing disease on Citrus fruits

Nguyen Xuan Canh, Le Hoang Anh, Can Thi Mai Huong

Abstract

This study aimed to determine appropriate culture conditions for *Streptomyces variegatus* NN1 for improving antifungal effect on *Aspergillus flavus* causing disease on citrus fruits. The experiments were designed and focused on evaluation of producing antibiotics ability of *Streptomyces variegatus* NN1 under different fermentation conditions. The results showed that the optimal medium for fermentation was A4-H, pH 7 - 8; the best temperature was at 30 - 35°C and the ratio of culture volume/vessel volume was 10%. Then the culture medium was shaken with speed of 200 rpm. The time for *Streptomyces variegatus* NN1 producing the most antifungal agents was after 5 shacking days. After using above conditions, the inhibition of NN1 strain to *A. flavus* was tested and it showed a strong antifungal activity.

Keywords: *Aspergillus flavus*, *Streptomyces variegatus*, Actinomycetes

Ngày nhận bài: 9/10/2017

Ngày phản biện: 15/10/2017

Người phản biện: TS. Nguyễn Văn Giang

Ngày duyệt đăng: 10/11/2017

HIỆU QUẢ CỦA VI KHUẨN NỘI SINH THỰC VẬT LÊN NĂNG SUẤT KHOAI MỠ TÍM TRỒNG TRÊN ĐẤT PHÈN

Lý Ngọc Thanh Xuân¹, Lê Phước Toàn²,
Tất Anh Thư², Lê Văn Dang², Ngô Ngọc Hưng²

TÓM TẮT

Thí nghiệm trong chậu và thí nghiệm đồng ruộng được thực hiện qua hai vụ Xuân Hè và Thu Đông 2015 nhằm đánh giá ảnh hưởng của chủng vi khuẩn nội sinh kết hợp với các liều lượng phân đạm lên năng suất của khoai mỡ tím trồng trên đất phèn ở Hậu Giang. Cả hai thí nghiệm được bố trí theo thể thức hai nhân tố trong khối hoàn toàn ngẫu nhiên gồm nhân tố (A): các liều lượng phân đạm (0 N, 25 N, 50 N, 75 N) và nhân tố (B): các dòng vi khuẩn (không vi khuẩn, *Azospirillum* X1, *Azospirillum* X2) với 4 lần lặp lại. Kết quả cho thấy vi khuẩn *Azospirillum* X2 đã làm gia tăng đường kính củ và năng suất củ khoai mỡ. Khi bón 75 kg N ha⁻¹ kết hợp chủng vi khuẩn *Azospirillum* X2 cho năng suất củ khoai mỡ cao hơn so với bón 75 kg N ha⁻¹ không chủng vi khuẩn.

Từ khóa: Cố định đạm, đất phèn, khoai mỡ tím, vi khuẩn nội sinh

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Khoai mỡ (*Dioscorea alata* Linn) có giá trị dinh dưỡng cao nên có thể dùng làm lương thực ở các nước đang phát triển (Olorede *et al.*, 2013). Trong công nghiệp chế biến, khoai mỡ có thể được sấy khô làm món ăn nhanh, làm kem, chế biến thành bột, làm nguyên liệu sản xuất cồn và rượu (O'Sullivan *et al.*, 2008). Hơn thế nữa, khoai mỡ là loài cây lấy củ ít bị sâu hại và thích nghi tốt trên những vùng đất chua phèn nên thích hợp để canh tác ở những vùng

đất trồng lúa không hiệu quả trên đất phèn. Sự canh tác liên tục các loài cây trồng và lạm dụng quá mức phân hóa học có thể làm giảm độ phì nhiêu tự nhiên của đất. Nhiều nghiên cứu cho thấy vi khuẩn nội sinh có vai trò quan trọng đối với cây trồng và được ứng dụng trong sản xuất phân vi sinh, chúng có những đặc tính tốt như có khả năng cố định đạm cho cây trồng, hòa tan lân khó tan giúp cho cây trồng hấp thu tốt chất dinh dưỡng, tổng hợp kích thích tố sinh trưởng IAA, tăng hàm lượng các chất

¹ Trường Đại học An Giang; ² Trường Đại học Cần Thơ