



PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN CÁC CHỦNG XẠ KHUẨN ĐỐI KHÁNG *in vitro* VỚI NẤM *Sclerotium rolfii* VÀ *Fusarium solani*

Lê Thanh Toàn¹, Võ Thị Hương Dương², Trần Minh Khang¹

¹Trường Đại học Cần Thơ

²Trường Đại học An Giang, ĐHQG-HCM

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 20/05/2020

Ngày nhận kết quả bình duyệt:
08/10/2020

Ngày chấp nhận đăng: 03/2022

Title:

Isolation and selection of antagonistic actinomycete isolates against *Sclerotium rolfii* and *Fusarium solani* at *in vitro* conditions

Keywords:

Antagonistic ability, *Fusarium solani*, *Sclerotium rolfii*, actinomycete isolates

Từ khóa:

Đối kháng, *Fusarium solani*, *Sclerotium rolfii*, xạ khuẩn

ABSTRACT

Using biological agents on managing plant pathogens is a tendency of performing a safe and sustainable agriculture. Therefore, research isolated and selected actinomycete isolates having high antagonistic ability to *Fusarium solani* and *Sclerotium rolfii* that are plant pathogens. From 150 soil samples at gardens of vegetables and fruits in Can Tho, Vinh Long and Dong Thap, 42 actinomycete samples were isolated and purified. Among them, 10 actinomycete isolates had antagonistic ability. The isolate of CTND-10 had highest antagonistic ability, with antagonistic efficacy to *S. rolfii* at approximately 57.8%; to *F. solani* at approximately 51.7%. The actinomycete isolates could stimulate germination growth of mung bean, with high effectiveness at CTND-03, next CTND-10, CTND-14, CTND-04 and CTND-02.

TÓM TẮT

Việc sử dụng tác nhân sinh học quản lý mầm bệnh đang là xu hướng giúp xây dựng nền nông nghiệp an toàn và bền vững. Do đó, nghiên cứu đã phân lập và tìm ra chủng xạ khuẩn đối kháng mạnh với nấm *Fusarium solani* và *Sclerotium rolfii* gây bệnh cây trồng. Từ 150 mẫu đất thu thập ở các vườn rau và cây ăn trái ở Cần Thơ, Vĩnh Long và Đồng Tháp, 42 chủng xạ khuẩn được phân lập và làm thuần. Trong đó, 10 chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng. Chủng xạ khuẩn CTND-10 đối kháng mạnh nhất, với hiệu suất đối kháng nấm *S. rolfii* là 57,8%, nấm *F. solani* là 51,7%. Các chủng xạ khuẩn có khả năng kích thích sinh trưởng đậu xanh ở giai đoạn nảy mầm, tốt nhất là CTND-03, kế đến là CTND-10, CTND-14, CTND-04 và CTND-02.

1. MỞ ĐẦU

Đồng bằng Sông Cửu Long nằm trong khu vực khí hậu nhiệt đới gió mùa với 6 tháng mùa mưa tạo điều kiện rất thuận lợi cho vi sinh vật (VSV) phát

triển, đặc biệt là các VSV gây bệnh thực vật. Bhuiyan và cs., (2012) cho biết nấm *Sclerotium rolfii* là mầm bệnh trong đất, gây ra bệnh trầm trọng trên nhiều loại cây ở khu vực nhiệt đới và cận

nhiệt đới. Theo Viện nghiên cứu rau quả quốc tế (2018), bệnh vàng lá thối rễ là do nhiều tác nhân, trong đó có nấm *Fusarium solani*. Bệnh không xuất hiện ngay mùa mưa, lúc đất bị oi nước mà thường gây hại nghiêm trọng trong đầu mùa nắng. Khi bị bệnh nặng, tất cả rễ đều bị thối đen và chết, cuối cùng là chết toàn cây.

Vì vậy, việc sử dụng hoá chất trong bảo vệ thực vật phổ biến ở Việt Nam, dẫn tồn dư trong đất, nước và nông sản, ảnh hưởng nghiêm trọng tới sức khoẻ con người, gây ô nhiễm môi trường và mất cân bằng sinh thái. Hội nghị tư vấn khu vực châu Á Thái Bình Dương của FAO năm 1992 đã khẳng định đấu tranh sinh học là nền tảng của chương trình Quản lý dịch hại tổng hợp, với chiến lược là sử dụng tác nhân sinh học hạn chế sự phát triển của các quần thể VSV gây bệnh thực vật (Vreysen et al., 2007; Trương Thanh Thảo và cs., 2019). Trong các tác nhân sinh học thường được sử dụng để ức chế vi sinh vật gây bệnh, xạ khuẩn là nhóm có tiềm năng nhất vì tỷ lệ loài có khả năng sinh chất kháng sinh cao như kasugamycin từ xạ khuẩn *Streptomyces kasugaensis*, blastixidin từ xạ khuẩn *Streptomyces griseochromogenes*, validamicin từ *Streptomyces hygroscopicus*, chống lại sinh trưởng của nấm và vi khuẩn gây bệnh mạnh (Nguyễn Đắc Khoa và cs., 2010; Boukaew và cs., 2013). Prapagdee và cs. (2008) đã phân lập và xác định chủng SRA14 là *Streptomyces hygroscopicus* có khả năng kháng lại *Colletotrichum gloeosporioides* và *Sclerotium rolfsii* trên nhiều loại cây công nghiệp. Chủng SRA14 thể hiện khả năng ức chế nấm bằng cách tiết ra các enzyme ngoại bào chitinase và β -1,3-glucanase làm biến dạng sợi nấm. Cùng năm 2008, Lu và cs. phân lập được chủng xạ khuẩn A01 được xác định là *Streptomyces lydicus*. Trong điều kiện nhà lưới, dịch trích từ chủng nấm A01 thể hiện hiệu quả kiểm soát bệnh nấm mốc trên cà chua tốt hơn so với thuốc hóa học trừ nấm gốc Pyrimethanil và Polyoxin. Theo nghiên cứu của Arafat và cs. (2012), trong 7 chủng xạ khuẩn vùng rễ cây chà là ở Aswan (Ai Cập), 3 chủng A1, A3 và A6 cho kết quả đối kháng với nấm gây thối rễ thường gặp như

Fusarium oxysporum, *Fusarium moniliforme* và *Thielaviopsis paradoxa*.

Một vấn đề rất quan trọng đối với hiệu quả đối kháng được trình bày trong các nghiên cứu là tùy thuộc vào dòng vi sinh vật đối kháng, nguồn gốc của chúng và điều kiện môi trường. Khi chọn một tác nhân đối kháng, thường áp dụng và nguồn gốc mầm bệnh cần được quan tâm (Kubicek and Harman, 1998). Nấm *Sclerotium* và *Fusarium* có đặc điểm sinh trưởng rất mạnh và khó phòng trừ. Hiện nay, trên thị trường, dòng xạ khuẩn đối kháng tốt với hai loại nấm này vẫn chưa nhiều. Do đó, nghiên cứu đã được thực hiện nhằm phân lập, tìm ra các chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng mạnh với các loại nấm *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium solani* và đánh giá khả năng kích thích sinh trưởng cây trồng của các chủng vi khuẩn đó.

2. PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Nguồn nấm bệnh

Các nguồn nấm bệnh *S. rolfsii* CT27 và *F. solani* AG52 (đều có độc tính cao) được cung cấp từ phòng thí nghiệm Phòng trừ Sinh học, bộ môn Bảo vệ Thực vật, Trường Đại học Cần Thơ. Các nguồn nấm được nuôi cấy trên môi trường PDA khoảng 7 ngày trước khi thực hiện thí nghiệm.

2.2 Thu mẫu xạ khuẩn

Mẫu đất được lấy xung quanh rễ cây rau hoặc cây ăn trái, cách mặt đất từ 5 – 20 cm, khoảng 250g/mẫu đất. Từng mẫu được cho vào túi nylon riêng biệt, ghi địa điểm, đem về phòng thí nghiệm để phân lập theo phương pháp của Hsu và Lockwood (1975), Jiang và cs. (2016): 4 gam đất được cân và thêm 40 ml nước cất thanh trùng cho vào ống Falcon 50 ml, lắc đều trong 30 phút. Sau đó, huyền phù đất được pha loãng ở bốn mức là 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} . Tiếp theo, 50 μ l huyền phù ở hai mức độ là 10^{-3} và 10^{-4} được cho vào đĩa petri chứa môi trường ISP4. Đĩa petri được ủ từ 2 - 3 ngày, sau đó khuẩn lạc xạ khuẩn được nhận dạng và dùng que cấy vi khuẩn tách rỗng đơn khuẩn lạc lên đĩa chứa môi trường MS. Khuẩn lạc xạ khuẩn được nhận dạng dựa theo mô tả chi tiết và hình ảnh trong Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Vol

5, The Actinobacteria) (Whitman và cs., 2012), The prokaryotes – Actinobacteria (Rosenberg và cs., 2014), Digital Atlas of Actinomycetes (2019) và Sapkota et al. (2020). Việc cấy truyền đơn khuẩn lạc này được thực hiện cho đến khi nguồn được thuần thì nguồn xạ khuẩn được trừ ở 4 °C.

2.3 Đánh giá khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với *S. rolfsii* CT27 trong điều kiện phòng thí nghiệm

Khảo sát nhanh khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn thuần đối với *S. rolfsii* trong điều kiện phòng thí nghiệm được thực hiện với 2 lặp lại, từ đó tuyển chọn ra chủng xạ khuẩn đối kháng triển vọng. Khi nấm *S. rolfsii* phát triển và sinh hạch nấm màu nâu thì dùng kẹp gấp hạch nấm, đặt vào giữa đĩa Petri chứa 10 ml môi trường PDA. Sau đó, khoan giấy thấm ($\phi = 5$ mm) có tẩm huyền phù xạ khuẩn được đặt đối diện với hạch nấm *S. rolfsii* và cách thành đĩa 1 cm. Đĩa Petri được đặt trong điều kiện nhiệt độ phòng và khả năng đối kháng của xạ khuẩn với nấm được đánh giá bằng cách đo bán kính vòng vô khuẩn và tính hiệu suất đối kháng ở thời điểm 7 ngày sau khi đặt hạch nấm (NSĐHN). Hiệu suất đối kháng (HSDK) được tính theo công thức như sau $HSDK = [(G1-G2)/G1] \times 100\%$, trong đó G1 là bán kính vùng sợi nấm về phía đối chứng, G2 là bán kính vùng sợi nấm về phía xạ khuẩn.

Các chủng xạ khuẩn triển vọng từ thí nghiệm khảo sát nhanh đã được đánh giá tính kháng đối với nấm *S. rolfsii*. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên (HTNN) một nhân tố, với 4 lần lặp lại. Các bước thực hiện và ghi nhận chỉ tiêu tương tự thí nghiệm trước. Chỉ tiêu được ghi nhận ở 3, 5 và 7 NSĐHN.

2.4 Đánh giá khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với *F. solani* AG52 trong điều kiện phòng thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí HTNN một nhân tố và 4 lặp lại. Khi nấm *F. solani* phát triển được khoảng 10 – 14 ngày, khoan nấm đường kính 7 mm được đục bằng dụng cụ đục lỗ và đặt vào giữa đĩa Petri chứa 10 ml môi trường PDA. Sau đó, khoan giấy thấm ($\phi = 5$ mm) có tẩm huyền phù xạ khuẩn được đặt

đối diện với khoan nấm *Fusarium solani* và cách thành đĩa 1 cm. Các bước thực hiện và ghi nhận chỉ tiêu tương tự thí nghiệm trước. Chỉ tiêu được ghi nhận ở 3, 5 và 7 ngày sau khi đặt khoan nấm (NSĐKN). Thí nghiệm được lặp lại hai lần.

2.5 Đánh giá khả năng kích thích ra rễ và chồi của các chủng xạ khuẩn triển vọng ở giai đoạn nảy mầm của cây đậu xanh

Thí nghiệm bố trí theo thể thức HTNN một nhân tố, mỗi nghiệm thức với 3 lần lặp lại, mỗi lặp lại có 10 hạt. Hạt đậu xanh được khử trùng bề mặt bằng cách xử lý với Ethanol 95% trong 2 phút, sau đó được rửa sạch lại bằng nước cất vô trùng 5 lần (Buensanteai et al., 2011). Hạt đậu xanh được ngâm trong từng huyền phù xạ khuẩn (10^8 cfu/ml) và nước cất (đối chứng) trong 6 giờ ở nhiệt độ phòng. Mẫu rễ và chồi tương ứng được thu ở 24, 48 và 72 giờ để đo chiều dài chồi và chiều dài rễ. Thí nghiệm được thực hiện lặp lại hai lần.

2.6 Xử lý số liệu

Tất cả số liệu của các thí nghiệm được ghi nhận, xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel. Thực hiện thống kê bằng phần mềm SPSS 20 và được kiểm định bằng phép thử Duncan.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả sơ khởi khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn phân lập từ đất

Từ 150 mẫu đất được thu thập từ các vườn rau và cây ăn trái ở tỉnh Cần Thơ, Vĩnh Long và Đồng Tháp, 42 chủng xạ khuẩn đã được phân lập. Kết quả đánh giá nhanh đã xác định được 10 chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng với nấm *S. rolfsii* thông qua chỉ tiêu HSDK (số liệu không được trình bày). Mười chủng xạ khuẩn triển vọng là CTND-01, CTND-02, CTND-03, CTND-04, CTND-10, CTND-14, VLND-06, VLND-10, VLND-11, ĐTND-03 được tiếp tục sử dụng để đánh giá khả năng đối kháng ở các thí nghiệm tiếp theo. Đặc điểm khuẩn ty, chuỗi bào tử và sắc tố tan của các chủng xạ khuẩn này được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Một số đặc điểm hình thái của 10 chủng xạ khuẩn đã phân lập

Tên chủng	Khuẩn ty khí sinh	Khuẩn ty cơ chất	Chuỗi bào tử	Sắc tố tan
CTND-01	Xám	Tím	Xoắn	Tím
CTND-02	Vàng xám	Vàng	Xoắn	Vàng
CTND-03	Vàng xám	Vàng	Xoắn	-
CTND-04	Xám	Xám	Xoắn	Vàng tím
CTND-10	Vàng hơi nâu	Vàng	Xoắn	Tím
CTND-14	Xám	Tím	Xoắn	-
VLND-06	Xám	Tím	Xoắn	-
VLND-10	Vàng nâu	Vàng	Xoắn	Vàng
VLND-11	Xám	Vàng	Xoắn	-
ĐTND-03	Vàng xám	Vàng	Xoắn	Vàng

3.2 Khả năng đối kháng của mười chủng xạ khuẩn được chọn đối với nấm *S. rolfisii* CT27

Trong thời điểm ghi nhận đầu tiên, cả 10 chủng xạ khuẩn đều có khả năng đối kháng với nấm *Sclerotium rolfisii* trong đó 3 chủng xạ khuẩn CTND-10, CTND-14 và CTND-02 thể hiện khả năng đối kháng sớm và cao, với HSDK đều trên 50%. Ở thời điểm 5 NSĐHN, hiệu suất đối kháng của 10 chủng xạ khuẩn dao động từ 33,3% đến 58,3%, trong đó chủng CTND-10 đạt HSDK cao và có khác biệt ý nghĩa thống kê với tất cả các

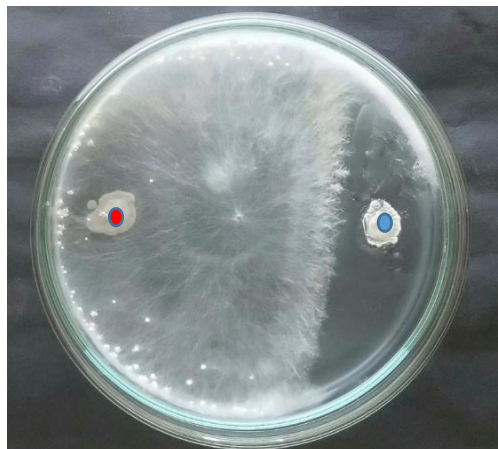
chủng xạ khuẩn còn lại, ngoại trừ chủng CTND-02. Trong lần ghi nhận chi tiêu cuối cùng (7 NSĐHN), chủng xạ khuẩn CTND-10 cho thấy khả năng đối kháng kéo dài với nấm *S. rolfisii* với HSDK vẫn ở mức cao đạt 47,5%. Ở chi tiêu trung bình hiệu suất đối kháng qua ba thời điểm, HSDK trên 50% được ghi nhận ở CTND-10 (57,8%), trên 40% bao gồm các nghiệm thức CTND-01 (43,6%), CTND-02 (48,1%), CTND-03 (46,7%), CTND-14 (49,4%), VLND-06 (41,2%), VLND-11 (40,1%); trên 30% có VLND-10 (39,6%), CTND-04 (25,2%) và DTND-03 (31,4%) (Bảng 2).

Bảng 2. Hiệu suất đối kháng của 10 chủng xạ khuẩn được chọn đối với nấm *S. rolfisii* CT27 qua các thời điểm

Nghiệm thức	Ngày sau đặt hạch nấm			Trung bình 3 thời điểm
	3 ^{1/}	5 ^{1/}	7 ^{1/}	
CTND-01	45,5 cd	47,5 c	37,9 bc	43,6 d
CTND-02	50,0 bc	55,4 ab	38,8 bc	48,1 bc
CTND-03	49,8 bc	54,2 b	36,3 c	46,7 c
CTND-04	34,0 e	41,7 e	30,0 d	35,2 f
CTND-10	67,7 a	58,3 a	47,5 a	57,8 a
CTND-14	54,0 b	52,5 b	41,7 b	49,4 b

Nghiệm thức	Ngày sau đặt hạch nấm						Trung bình 3 thời điểm	
	3 ^{1/}		5 ^{1/}		7 ^{1/}			
VLND-06	45,1	cd	42,5	de	35,8	c	41,2	e
VLND-10	39,8	de	45,0	c-e	34,2	cd	39,6	e
VLND-11	43,1	cd	45,8	cd	32,9	d	40,1	e
ĐTND-3	40,1	de	33,3	f	20,8	e	31,4	g
Mức ý nghĩa	**		**		**		**	
CV (%)	10,27%		13,93%		9,08%		8,03%	

^{1/} Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau mang một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa 1% trong phép thử Duncan.



Hình 1. Khả năng đối kháng của chủng CTND-10 với nấm *S. rolfisii* CT27 ở thời điểm 7 ngày sau đặt hạch nấm.

Chấm xanh : chủng CTND-10, Chấm đỏ: chủng CTND-09 (đối chứng – không đối kháng)

Như vậy, chủng CTND-10 luôn thể hiện khả năng đối kháng cao với nấm *S. rolfisii* và duy trì đến ngày thứ 7 với HSDK đạt 47,5% (Hình 1). Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Errakhi và cs. (2009). Các tác giả cho biết HSDK *in vitro* của các chủng xạ khuẩn phân lập từ đất trồng dao động trong khoảng 20-50%. Cơ chế đối kháng có thể do xạ khuẩn tiết ra các enzyme ngoại bào chitinase và β -1,3-glucanase làm biến dạng sợi nấm *S. rolfisii* (Prapagdee et al., 2008). Tương tự đối với tác nhân phòng trừ sinh học là *Trichoderma harzianum*, Benhamou and Chet (1996) cho biết nấm *Trichoderma* đã tiết ra các enzyme proteases, lipases, glucanases và chitinases giúp sợi nấm xâm nhập được qua các lớp vỏ hạch và phân giải hạch nấm *Slerotium*.

3.3 Khả năng đối kháng của mười chủng xạ khuẩn đối với nấm *F. solani* AG52

Hiệu suất đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với nấm *F. solani* được ghi nhận ở các thời điểm 3, 5 và 7 NSKC (Bảng 3). Ở thời điểm 3 NSĐKN, 10 chủng xạ khuẩn đều thể hiện khả năng đối kháng với nấm *F. solani* với hiệu suất đối kháng đạt từ 15,3 đến 69,6%, trong đó chủng CTND-10 thể hiện khả năng đối kháng cao nhất. Lần ghi nhận chỉ tiêu thứ hai (5 NSĐKN), các chủng xạ khuẩn vẫn giữ khả năng đối kháng cao với nấm *F. solani* (9 chủng hiệu suất đối kháng > 35%), 2 chủng CTND-02 và CDND-10 thể hiện khả năng đối kháng cao nhất với hiệu suất đối kháng đạt 51,3% và 60,0%. Đến ngày thứ 7, hiệu suất đối kháng của các chủng xạ khuẩn dao động từ 21,7 đến 51,7% và chủng

CTND-10 đạt HSDK cao nhất với 51,7% khác biệt ý nghĩa thống kê với tất cả các chủng xạ khuẩn còn lại. Về chỉ tiêu trung bình HSDK ba thời điểm, HSDK cao trên 60% có nghiệm thức CTND-10 (60,4%), trên 40% có CTND-02 (42,3%), CTND-04 (42,6%), CTND-14 (43,3%) và VLND-10 (40,8%), các chủng còn lại có HSDK trên 20% (Bảng 3, Hình 2). Kết quả này tương tự một số nghiên cứu trước đó. Theo Gopalakrishnan và cs. (2013), trong 137 chủng xạ khuẩn phân lập đã phát hiện 5 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* (CAI-24, CAI-121, CAI-127, KAI32 và KAI-90) có khả năng đối kháng cao với nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. Bên cạnh khả năng tiết enzyme ngoại

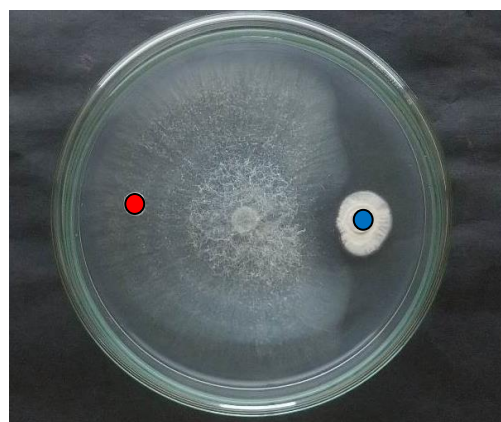
bào để phân giải vách tế bào mầm bệnh, xạ khuẩn còn có khả năng sản sinh các actinomycetaproteins, có vai trò quan trọng trong ức chế sinh trưởng của nấm gây hại cây trồng. Vernekar và cs. (1999) đã cho biết xạ khuẩn sản sinh alkaline protease inhibitor là một loại protein kháng nấm, có khả năng ức chế sự phát triển của nấm *Fusarium*.

Từ kết quả thí nghiệm này, 5 chủng xạ khuẩn triển vọng là CTND-02, CTND-04, CTND-10, CTND-14 và VLND-10 được chọn để thực hiện khảo sát ảnh hưởng đến sự nảy mầm của hạt đậu xanh.

Bảng 3. Hiệu suất đối kháng (%) của 10 chủng xạ khuẩn đã chọn đối với nấm *F. solani* AG52 qua các thời điểm

Nghiệm thức	Ngày sau đặt khoanh nấm						Trung bình 3 thời điểm
	3 ^{1/}		5 ^{1/}		7 ^{1/}		
CTND-01	44,9	cd	38,8	f	34,2	cd	39,3 d
CTND-02	44,8	cd	51,3	b	30,8	d	42,3 bc
CTND-03	30,8	f	37,1	f	32,5	cd	33,4 e
CTND-04	49,0	b	45,8	d	32,9	cd	42,6 bc
CTND-10	69,6	a	60,0	a	51,7	a	60,4 a
CTND-14	38,1	e	48,8	c	42,9	b	43,3 b
VLND-06	27,3	g	42,9	e	31,7	cd	33,9 e
VLND-10	42,4	d	45,0	de	35,0	c	40,8 cd
VLND-11	47,3	bc	39,2	f	32,5	cd	39,6 d
ĐTND-3	15,3	h	25,0	g	21,7	e	20,6 f
Mức ý nghĩa	**		**		**		**
CV (%)	8,53%		7,34%		12,5%		7,2%

^{1/} Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau mang một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa 1% trong phép thử Duncan.



Hình 2. Khả năng đối kháng của chủng xạ khuẩn với nấm *F. solani* AG52 ở thời điểm 7 NSKC.

Chấm xanh: xạ khuẩn; Chấm đỏ: đối chứng

3.4 Khả năng kích thích sinh trưởng của 5 chủng xạ khuẩn với đậu xanh ở giai đoạn nảy mầm

Chỉ tiêu về chiều dài rễ được ghi nhận vào thời điểm 24, 48 và 72 giờ sau khi xử lý (GSKXL) và được trình bày ở Bảng 4. Ở thời điểm ghi nhận đầu tiên lúc 24 GSKXL, các chủng xạ khuẩn đều thể hiện khả năng kích thích sinh trưởng cây đậu xanh. Tất cả các nghiệm thức được xử lý với xạ khuẩn (trừ chủng CTND-02) đều phát triển khác biệt ý nghĩa thống kê với đối chứng, chiều dài rễ dao động từ 4,64 đến 6,23 cm, trong đó chủng CTND-14 thể hiện khả năng kích thích sinh trưởng cao nhất. Đến thời điểm 48 GSKXL, hai chủng xạ khuẩn CTND-10 và CTND-03 thể hiện khả năng kích thích sinh trưởng cao nhất với chiều dài rễ các nghiệm thức lần lượt đạt 13,89 cm và 14,05 cm khác biệt ý nghĩa thống kê với tất cả các nghiệm thức còn lại. Trong lần ghi nhận chỉ tiêu cuối cùng ở 72 GSKXL, tất cả các nghiệm thức đều thể hiện khả năng kích thích sinh trưởng khác biệt ý nghĩa thống kê với đối chứng, trong đó nghiệm thức được xử lý với chủng xạ khuẩn CTND-03 đạt chiều dài rễ cao nhất (20,76 cm) (Bảng 4, Hình 3). Chỉ tiêu về chiều cao chồi của các nghiệm thức đậu xanh được xử lý với các chủng xạ khuẩn được ghi nhận song song thời điểm với chỉ tiêu chiều dài rễ, kết quả được trình bày ở Bảng 5. Ở thời điểm 24 GSKXL, tất cả các chủng

xạ khuẩn đều thể hiện khả năng kích thích sinh trưởng với chiều cao chồi của các nghiệm thức xử lý từ 3,06 đến 9,87 cm. Lần ghi nhận chỉ tiêu kế tiếp ở 48 GSKXL, chủng CTND-03 thể hiện khả năng kích thích sinh trưởng cao nhất với chiều cao chồi của nghiệm thức được xử lý với CTND-03 đạt 17,50 cm, khác biệt ý nghĩa thống kê với tất cả các nghiệm thức còn lại. Lần ghi nhận chỉ tiêu sau cùng ở 72 GSKXL, nghiệm thức được xử lý với chủng CTND-03 vẫn thể hiện khả năng kích thích cao nhất với chiều cao chồi đạt 20,77 cm và cho hiệu quả lâu dài (Bảng 5, Hình 3). Kết quả này tương tự một số nghiên cứu trước. Khamana và cs. (2009, 2010) ghi nhận trên 36 chủng xạ khuẩn, chủng *Streptomyces viridis* CMU-H009 giúp tăng tỷ lệ nảy mầm cũng như chiều dài rễ của bắp và đậu được xử lý. Ngoài ra, nghiên cứu của Trịnh Thới An (2014) cho biết ở nồng độ pha loãng 1% dịch trích của chủng xạ khuẩn *Streptomyces pseudogriseolus* có khả năng kích thích sự nảy mầm của hạt đậu và sự sinh trưởng của cây. Bloemberg và cs. (2001) và Persello-Cartieaux và cs. (2003) cho biết các loài xạ khuẩn khác nhau có khả năng tiết ra các chất khác nhau kích thích sinh trưởng cây trồng. Các chất này có thể là auxin hoặc gibberellin, giúp tăng số lượng lông tơ ở rễ, tăng chiều dài rễ và chiều cao cây, tăng khả năng hút nước và khoáng của cây (Paciorek và cs., 2006).

Bảng 4. Chiều dài rễ (cm) của cây đậu xanh giai đoạn nảy mầm được xử lý với 5 chủng xạ khuẩn chọn lọc qua các thời điểm

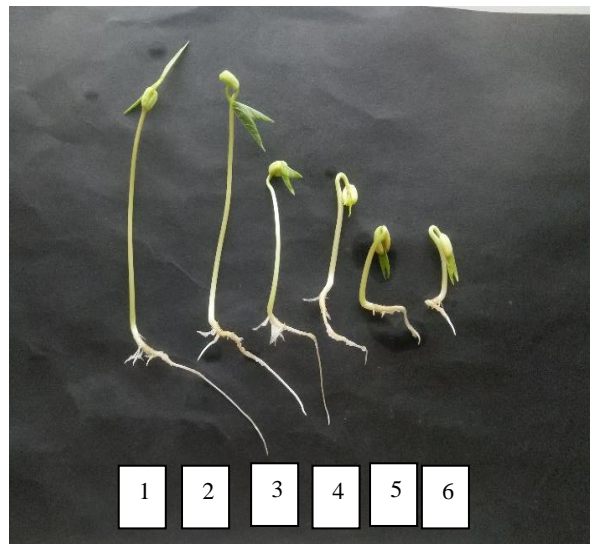
Nghiệm thức	Giờ sau khi xử lý		
	24 ^{1/}	48 ^{1/}	72 ^{1/}
CTND-14	6,23 a	10,75 b	16,93 b
VLND-10	5,83 ab	14,05 a	20,76 a
CTND-10	4,64 b	13,89 a	20,83 a
CTND-04	6,11 ab	7,49 c	17,14 b
CTND-02	2,61 c	7,35 c	15,06 c
Đối chứng	2,27 c	6,92 c	13,24 d
Mức ý nghĩa	**	**	**
CV (%)	16,4%	18,5%	20,9%

^{1/} Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau mang một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa 1% trong phép thử Duncan.

Bảng 5. Chiều cao chồi (cm) của cây đậu xanh giai đoạn nảy mầm được xử lý với 5 chủng xạ khuẩn chọn lọc qua các thời điểm

Nghiệm thức	Giờ sau khi xử lý		
	24 ^{1/}	48 ^{1/}	72 ^{1/}
CTND-14	9,10 b	15,22 b	19,01 b
VLND-10	9,87 a	17,50 a	20,77 a
CTND-10	4,96 c	14,41 c	17,83 c
CTND-04	5,15 c	11,38 d	17,62 c
CTND-02	3,06 d	10,88 d	16,03 d
Đối chứng	2,37 e	9,13 e	15,46 d
Mức ý nghĩa	**	**	**
CV (%)	13,25%	14,7%	16,3%

^{1/} Trong cùng một cột các số trung bình theo sau mang một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa 1% trong phép thử Duncan.



Hình 3. Khả năng kích thích sinh trưởng cây đậu xanh ở giai đoạn nảy mầm của 5 chủng xạ khuẩn ở thời điểm 72 giờ sau xử lý xạ khuẩn.

Ghi chú: 1. CTND-03, 2. CTND-14, 3. CTND-10, 4. CTND-04, 5. CTND-02 và 6. Đối chứng.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Kết quả đánh giá nhanh khả năng đối kháng của 42 chủng xạ khuẩn phân lập từ 150 mẫu đất đã xác định được 10 chủng là CTND-01, CTND-02,

CTND-03, CTND-04, CTND-10, CTND-14, VLND-06, VLND-10, VLND-11, ĐTND-03 có khả năng đối kháng. Đối với nấm *S. rolfsii*, trong 10 chủng xạ khuẩn trên, chủng CTND-10 đối

kháng mạnh với HSDK là 47,5% ở 7 NSĐHN. Đối với nấm *F. solani*, trong 10 chủng xạ khuẩn này, chủng CTND-10 có khả năng đối kháng cao nhất với KSDK là 51,7% tại thời điểm 7 NSĐKN. Tất cả 5 chủng xạ khuẩn là CTND-02, CTND-04, CTND-10, CTND-14 và VLND-10 đều có khả năng kích thích lên sự sinh trưởng của cây đậu xanh ở giai đoạn nảy mầm. Chủng xạ khuẩn CTND-03 cho thấy khả năng kích thích ổn định và duy trì qua các thời điểm ghi nhận chỉ tiêu, kể đến là CTND-10, CTND14, CTND-04 và CTND-02.

Năm chủng xạ khuẩn CTND-02, CTND-04, CTND-10, CTND-14 và VLND-10 tiếp tục được thực hiện việc định danh loài cụ thể và đánh giá hiệu quả phòng trừ bệnh thối rễ cây đậu xanh và cây cam quýt do *S. rolfisii* và *F. solani* ở điều kiện nhà lưới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Arafat, K.H., Mohamed, A.M. & Elsharabasy, S. (2012). Biological control of date palm root rots disease using Egyptian isolates of *Streptomyces*. *Research Journal of Agriculture & Biological Sciences*, 8(2), 224.
- Benhamou, N. & Chet, I. (1996). Parasitism of Sclerotia of *Sclerotium rolfisii* by *Trichoderma harzianum*: ultrastructural and cytochemical aspects of the interactions. *Biochemistry and Cell Biology*, 86(4), 405-416
- Bhuiyan, M.A.H.B., Rahman, M.T. & Bhuiyan, K.A. (2012). *In vitro* screening of fungicides and antagonists against *Sclerotium rolfisii*. *African Journal of Biotechnology*, 11(82), 14822-14827.
- Bloemberg, G.V. & Lugtenberg, B.J.J. (2001). Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 4, 343-352.
- Boukaew, S., Klinmanee, C. & Prasertsan, P. (2013). Potential for the integration of biological and chemical control of sheath blight disease caused by *Rhizoctonia solani* on rice. *World J. Microbiol Biotechnol*, 29(10), 1885-1893.
- Buensanteai, N., Thumanu, K., Sompong, M., Athinuwat, D. & Prathuangwong, S. (2011). The FTIR spectroscopy investigation of the cellular components of cassava after sensitization with plant growth promoting rhizobacteria, *Bacillus subtilis* CaSUT007. *Afri. J. Microbiol. Res*, 6(3), 603-610.
- Digital Atlas of Actinomycetes (2019). Digital Atlas of Actinomycetes. Source: <http://www.actino.jp/DigitalAtlas/> (accessed on Feb, 2019).
- Errakhi, R., Lebrhi, A. & Barakate, M. (2009). *In vitro* and *in vivo* antagonism of actinomycetes isolated from Moroccan rhizospheric soils against *Sclerotium rolfisii*: A causal agent of root rot on sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Journal of Applied Microbiology*, 107, 672–681.
- Gopalakrishnan, S., Pande, S., Sharma, M., Humayun, P., Kiran, B.K., Sandeep, D., Vidya, M.S., Deepthi, K. & Rupela, O. (2011). Evaluation of *Actinomycete* isolates obtained from herbal vermicompost for the biological control of *Fusarium* wilt of chickpea. *Crop Protection*, 30, 1070- 1078.
- Hsu, S. & Lockwood, J. (1975). Powdered chitin agar as a selective medium for enumeration of *Actinomycetes* in water and soil. *Applied Microbiology*, 29(3), 422 – 426.
- Khamana, S., Yokota, A. & Lumyyong, S. (2009). *Actinomycetes* isolated from medicinal plant rhizospheric soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(4), 649 – 655.
- Khamana, S., Yokota, A., Peberdy, J.F. & Lumyyong, S. (2010). Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces* sp. isolated from

- some Thai medicinal plant rhizospher soils. *EurAsia Journal BioSciences*, 4, 23 – 32.
- Kubicek, C.P. & Harman, G. E. (1998). *Trichoderma and Gliocladium: basic biology, taxonomy and genetics* (Vol. 1). London, Taylor & Francis. 278p
- Nguyễn Đắc Khoa, Dương Minh & Phạm Văn Kim. (2010). Sản xuất các sản phẩm sinh học để quản lý bệnh hại lúa, cây ăn quả và rau màu theo hướng bền vững và không ô nhiễm môi trường. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ* 16b, 117 – 126.
- Paciorek, T. & Friml, J. (2006). Auxin signaling. *J. Cell Sci.*, 119, 1199-1202.
- Persello-Cartieaux, F., Nussaume, L. & Robaglia, C. (2003). Tales from the underground: Molecular plant–rhizobacteria interactions. *Review. Plant, Cell Environ.*, 26, 189-199.
- Prapagdee, B., Kuekulvong, C. & Mongkolsuk, S. (2008). Antifungal potential of extracellular metabolites produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic Fungi. *Int J Biol Sci*, 4(5), 330–337.
- Rosenberg, E., DeLong, E.F., Lory, S., Stackebrandt, E., Thompsom, F. (2014). *The prokaryotes: Actinobacteria* (4th Eds). Berlin, Gemany, Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 1061p.
- Sapkota, A., Thapa, A., Budhathoki, A., Sainju, M., Shrestha, P. & Aryal, S. (2020). Isolation, characterization, and screening of antimicrobial-producing actinomycetes from soil samples. *Hindawi International Journal of Microbiology*, Article ID 2716584, 1-7.
- Trịnh Thới An. (2014). Phân lập và tuyển chọn chủng xạ khuẩn có khả năng sinh chất kháng nấm *Pythium* sp. *Tạp chí Khoa học Đại học Sư phạm, TP Hồ Chí Minh*, 61, 113-121.
- Trương Thanh Thảo, Võ Quốc Cảnh & Nguyễn Thị Thu Nga. (2019). Phân lập và tuyển chọn những chủng vi khuẩn triền vọng đối kháng với tuyến trùng *Pratylenchus* sp. trong điều kiện phòng thí nghiệm. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 55(2B), 19-27.
- Vernekar J.V., Ghatge, M.S. & Deshpande V.V. (1999). Alkaline protease inhibitor: a novel class of antifungal proteins against phytopathogenicfungi. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 262, 702-707.
- Viện Nghiên Cứu Rau Quả Quốc Tế. (2018). Bệnh vàng lá thối rễ trên cây có múi. Truy cập từ <http://www.favri.org.vn/index.php/vi/tin-ta-c/tha-ng-tin-khoa-ha-c/689-ba-nh-va-ng-la-tha-i-ra-tra-n-ca-y-ca-ma-i>.
- Vreysen, M.J.B., Robinson, A.S. & Hendrichs, J. (2007). Lessons from area-wide integrated pest management (AW-IPM) programmes with an SIT component: an FAO//IAEA perspective. *Area-Wide Control of Insect Pests*, 723-744.
- Whitman, W., Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.J., Trujillo, M., Ludwig, W., Suzuki, K.I. & Parte, A. (2012). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Vol 5, The Actinobacteria). New York, USA, Springer-Verlag New York.