

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA MỘT SỐ CHỦNG VI SINH VẬT CÓ HOẠT TÍNH KHÁNG NẤM PHÂN LẬP TỪ CÂY SÂM NGỌC LINH

Trần Thị Hoa¹, Nguyễn Thị Hồng Hà¹, Lương Văn Hào³, Phạm Bích Ngọc^{1,2}, Chu Hoàng Hà^{1,2}, Đỗ Tiến Phát^{1,2*}

¹ Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

² Học viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³ Vườn Quốc Gia Hoàng Liên

TÓM TẮT

Từ bộ sưu tập vi sinh vật phân lập từ cây Sâm Ngọc Linh (SNL) của Phòng Công nghệ tế bào thực vật - Viện CNSH, chúng tôi đã lựa chọn được hai chủng xạ khuẩn X12, NL2 và một chủng vi khuẩn 61-2 tiềm năng trong phát triển chế phẩm sinh học cho cây sâm Ngọc Linh. Dựa trên kết quả phân tích trình tự 16S-rDNA, chúng tôi ký hiệu tên các chủng vi sinh vật bao gồm *Streptomyces sp.*X12, *Streptomyces sp.*NL2 và *Enterobacter sp.*61-2. Hai chủng xạ khuẩn X12 và NL2 có khả năng kháng lại một số loại nấm như *Fumigatus Aspergilus*, *Fusarium solani*,... gây bệnh trên cây sâm Ngọc Linh đồng thời có khả năng sinh một số hoạt chất enzyme hữu ích như amylaza, cellulaza, proteaza... Chủng vi khuẩn 61-2 ngoài khả năng kháng nấm còn sản sinh hàm lượng IAA cao, khả năng cố định N₂, phân giải P₂O₅ tốt. Đây là 3 chủng vi sinh vật tiềm năng để phát triển sử dụng trong kiểm soát nấm bệnh, kích thích sinh trưởng đối với cây Sâm ngọc linh đồng thời có tiềm năng ứng dụng trên các loại cây trồng khác.

Từ khóa: *Enterobacter*, hoạt tính kháng nấm, 16S-rDNA, sâm Ngọc Linh, vi sinh vật, *Streptomyces*.

MỞ ĐẦU

Cây Sâm Ngọc Linh (SNL) là một loại dược liệu quý đặc hữu của Việt Nam, sinh trưởng trong điều kiện khí hậu nhiệt đới, trên những cánh rừng nguyên sinh tại các vùng núi cao tới 1.500m (Cam Lu, Trương Hiệu, 2003). Đây là loại sâm rất giàu dinh dưỡng, nó chứa lượng đáng kể axit amin, khoáng chất, vitamin cùng hơn 50 hoạt chất Saponin (Võ Văn Mạnh, 2011). SNL được coi là loại nhân sâm thứ 20 được tìm thấy trên thế giới với giá trị y dược cũng như hiệu quả kinh tế cao (Thanh Hải, 2017). Tuy nhiên, việc mở rộng phát triển nguồn dược liệu quý này gặp rất nhiều khó khăn do những trở ngại về khí hậu cũng như tác động của bệnh hại. Chính vì vậy, bên cạnh việc nâng cao khả năng thích nghi với môi trường sống, việc phòng trừ bệnh hại trên SNL đang là yêu cầu cấp bách nhằm mở rộng thâm canh loại dược liệu này. Do khí hậu đất đai các vùng trồng SNL hiện nay thường có độ ẩm cao là điều kiện thích hợp cho các loại nấm bệnh phát triển, gây ra hiện tượng thối củ, héo lá chết cây non... Các loài nấm bệnh này đều có khả năng phát triển rất nhanh gây tổn thất lớn, thiệt hại lớn kinh tế, thậm chí một số loài có thể tiết ra các độc tố ảnh hưởng tới chất lượng dược liệu và sức khỏe người dùng (Nguyễn Thị Nguyệt, 2014). Việc sử dụng các thuốc hóa học trong phòng trừ bệnh cho SNL có hiệu quả không cao đồng thời tiềm ẩn nhiều rủi ro cho chất lượng nguồn dược liệu quý. Chính vì vậy, việc kiểm soát bệnh trên SNL do nấm gây ra thông qua các biện pháp sinh học đang thu hút được sự chú ý của nhiều nhà nghiên cứu.

Xuất phát từ yêu cầu trên, chúng tôi chọn lọc, phân tích đặc điểm hình thái, đặc điểm sinh hóa, định danh một số chủng VSV được phân lập từ cây SNL tại các vùng đặc hữu Ngọc Lâm, huyện Tư Mờ Rông, tỉnh Kon Tum của Việt Nam. Đồng thời, khả năng kháng nấm cả các chủng vi sinh vật này cũng được đánh giá nhằm lựa chọn được các chủng tiềm năng có tác dụng kháng nấm, kích thích sinh trưởng, sản sinh các enzyme có hoạt chất sinh học để bảo vệ và nâng cao khả năng sinh trưởng, phát triển của cây sâm Ngọc Linh.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Các chủng vi khuẩn, xạ khuẩn (X12, NL2 và 61-2) được phân lập từ cây sâm Ngọc Linh, một số chủng nấm gây thối củ trên sâm Ngọc Linh và 02 chủng nấm *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* được lưu giữ tại Phòng Công nghệ tế bào thực vật, Viện Công nghệ sinh học.

Môi trường nuôi cấy và phân loại: Các môi trường theo ISP International *Streptomyces* Project (Nomomura, 1974) và khóa phân loại Bergey (W Wilkinset *et al.*, 1989) được sử dụng để nuôi cấy và phân loại xạ khuẩn; môi trường thạch khoai tây (PDA) được sử dụng để nuôi cấy nấm kiểm định; Môi trường thạch dinh dưỡng Lysogeny Broth (LB) được sử dụng để nuôi cấy vi khuẩn.

Phương pháp

Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học của chủng vi khuẩn, xạ khuẩn

Nghiên cứu đặc điểm sinh học theo phương pháp trong ISP (1974) và khóa phân loại Bergey (Nomomura, 1974; Wilkins *et al.*, 1989). Màu sắc của khuẩn ty cơ chất (KTCC), khuẩn ty khí sinh (KTKS) và sắc tố tan tiết ra môi trường được đánh giá theo (Shirling, Gottlieb, 1966) trên bảng màu của Tresner & Backus. Hình dạng cuống sinh bào tử và bào tử được quan sát và chụp ảnh dưới kính hiển vi quang học Olympus, vật kính 10x, vật kính 100x. Các đặc điểm sinh lý sinh hoá bao gồm nguồn đường, pH, nhiệt độ, khả năng sinh các enzyme ngoại bào (William, 1983; Puente *et al.*, 2004).

Xác định hàm lượng IAA: Vi khuẩn được nuôi trong môi trường Nutrient Agar (NA) bổ sung 100 mg/l tryptophan và định lượng IAA bằng thuốc thử Salkowski (Gordon, Weber, 1951).

Phân tích trình tự gene 16S rRNA

DNA được tách chiết theo phương pháp của (Sambrook and Russell., 2001). DNA tổng số của chủng được sử dụng trong phản ứng PCR nhằm nhân dòng các gene quan tâm thông qua các cặp mồi đặc hiệu: 16S2_63F: CAGGCCTAACACATGCAAGTC; 16S2_1387R: GGGCGGWTGTACAAGRC

Đánh giá khả năng đối kháng với nấm gây bệnh SNL

Sử dụng phương pháp đồng nuôi cấy *in vitro* (Dhanasekaran *et al.*, 2012). Nấm bệnh được cấy ở trung tâm đĩa petri chứa môi trường Potato Dextrose Agar (PDA), chủng xạ khuẩn hoặc vi khuẩn được cấy ở 4 góc bao quanh nấm bệnh cách tâm đĩa 3cm. Đường kính vòng ức chế sinh trưởng được xác định sau 4 - 7 ngày nuôi cấy ở 28°C.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Một số các đặc điểm hình thái, sinh lý, sinh hoá



X12 và 61-2 trên ISP5

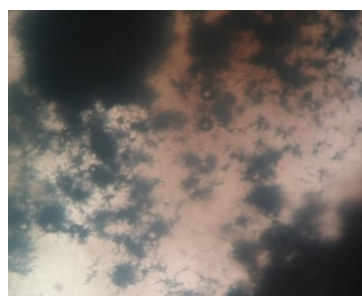


NL2 và 61-2 trên ISP5

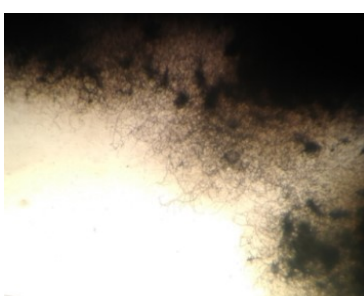


X12, NL2 và 61-2 trên Gauze 1

Hình 1. Kiểm tra tính đối kháng giữa 3 chủng bằng phương pháp đồng nuôi cấy



Hình thái tế bào X12 dưới kính hvq ở vật kính 10x

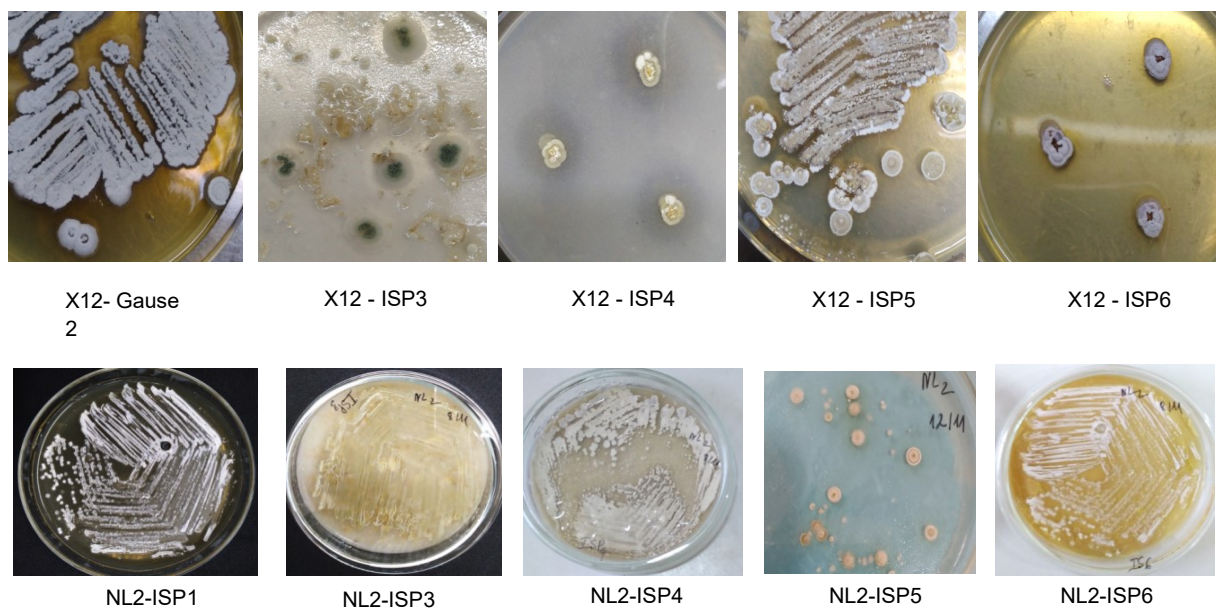


Hình thái tế bào NL2 dưới kính hvq ở vật kính 10x



Hình thái tế bào 61-2 dưới kính hvq ở vật kính dầu 100x

Hình 2. Hình thái tế bào dưới kính hiển vi



Hình 3. Đặc điểm hình thái X12, NL2 trên hệ thống phân loại ISP

Bảng 1. Đặc điểm sinh lý sinh hoá của 3 chủng X12, NL2, 61-2

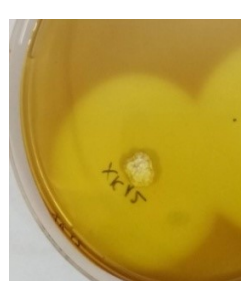
STT	Đặc điểm	X12	NL2	61-2
1	Gram	+	+	-
2	Hình dạng, màu sắc, kích thước	KL dẹt xấp tròn, viền ngoài màu trắng, trong màu ghi trên ISP5. Có những lớp vành tròn đồng tâm. Nhân trắng, vành tròn sát tâm màu vàng. 10-15mm sau 7 ngày, 28°C	KL tròn, tâm nổi, Viền ngoài trắng sữa, vành trong lỗ chỗ những khoang trống. Tâm lỗ chỗ nổi, màu socola sữa trên ISP5. Bề mặt chia thùy. Sinh sắc tố melamin sau 6 ngày 28°C, 2-7mm	Khuẩn lạc tròn nhầy bóng, trắng sữa, mép trơn trên LB, 28°C, 1-3 mm sau 48h
3	Khả năng đồng hoá	D-maltose, sucrose, inositol, glucose, mannitol, CMC	D-maltose, sucrose, inositol, glucose, CMC	D-maltose, sucrose, inositol, glucose, mannitol, CMC
4	Sinh axit	Không	Có	Không
5	Nhiệt độ thích hợp	22 - 28°C	22 - 30°C	22 - 28°C
6	Sinh enzyme và các hoạt chất khác	amylase, cellulase, protease	amylase, cellulase, protease	Phân giải Lân, cố định đạm, sinh IAA cao, catalase (+), oxidase(+)
7	Tính đối kháng	3 chủng không đối kháng nhau trong đồng nuôi cấy		
8	%NaCl	0 - 7%; 9 - 11% yếu	0 - 5%; 7 - 9%: yếu; 11% không sinh trưởng	0 - 7%; 9 - 11% không sinh trưởng
9	pH đầu	Thích hợp pH kiềm	Thích hợp pH kiềm	Thích hợp pH kiềm



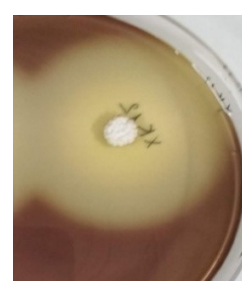
Hoạt tính amylase NL2



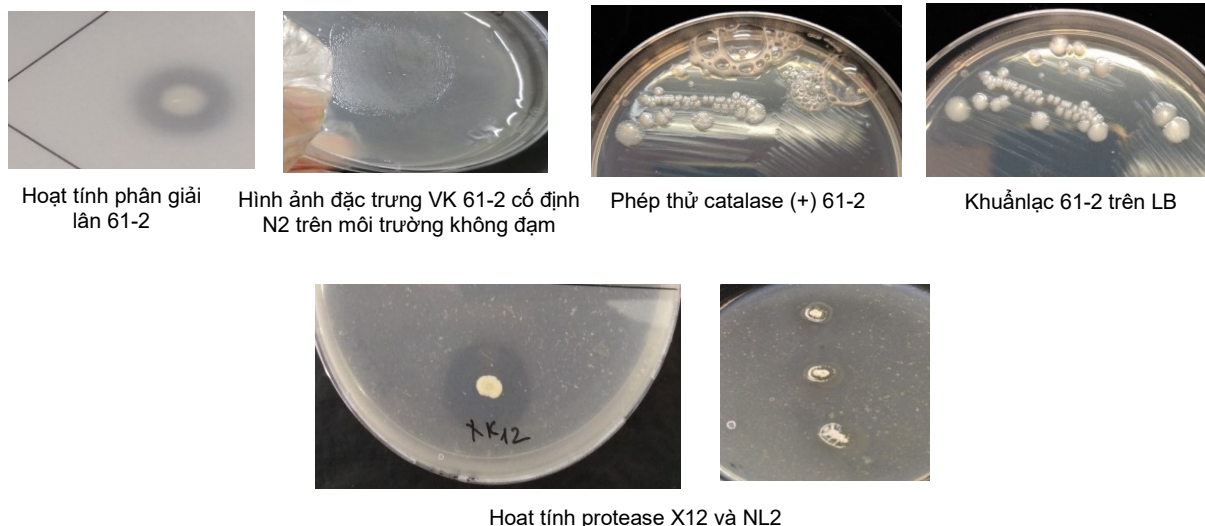
Hoạt tính cellulase



Hoạt tính amylase



Hoạt tính cellulase



Hình 4. Hoạt tính sinh enzyme ngoại bào của các chủng

Bảng 2. Hoạt tính sinh enzyme ngoại bào của các chủng X12, NL2, 61-2

STT	Chủng	Hoạt tính sinh enzyme ngoại bào (Đường kính vòng phân giải, mm)				
		Cellulase	Amylase	Protease	cố định N2	phân giải P2O5
1	X12	47	38	22	-	-
2	NL2	35	25	15	-	-
3	61-2	-	-	-	+	10

Ghi chú: (+): Thể hiện hoạt tính, (-): Không thể hiện hoạt tính

Kết quả cho thấy hai chủng xạ khuẩn X12, NL2 sinh cả 3 hoạt tính Cellulase, amylase, protease khá cao và có sự khác nhau dao động từ 15 - 47 mm. Tuy nhiên, hai chủng này không thể hiện hoạt tính khi thử khả năng phân giải P_2O_5 cũng như không phát triển trên môi trường không đậm. Trong khi đó, chủng vi khuẩn 61-2 sinh trưởng tốt trên môi trường không đậm đồng thời có khả năng phân giải P_2O_5 tốt. Tuy nhiên, ở chủng này các hoạt tính Cellulase, amylase, protease lại không thể hiện.

Như vậy từ các đặc điểm về hình thái cũng thấy rõ sự khác nhau cơ bản giữa xạ khuẩn và vi khuẩn. Với 2 chủng xạ khuẩn có khuẩn lạc khô xù xì, khuẩn ti khí sinh nổi trên mặt thạch còn khuẩn ti cơ chất ăn sâu vào mặt thạch, gram dương, chủng NL2 sinh sắc tố melamin sau 6 ngày, khi nuôi cấy trên hệ thống ISP với nguồn dinh dưỡng khác nhau cho hình thái màu sắc khác nhau. Trong khi đó, chủng vi khuẩn 61-2 là vi khuẩn gram âm không sinh sắc tố và khuẩn lạc nhầy bóng, phát triển rất nhanh sau 24 - 48h.

Quan sát hình thái tế bào dưới kính hiển vi quang học ở vật kính 10x cho thấy 2 chủng xạ khuẩn sinh bào tử từ từ thành sợi khí sinh. Cuống sinh bào tử của NL2 lượn sóng xoắn, có móc tạo bụi. Cuống sinh bào tử của X12 có dạng que ngắn, phân nhánh. Chủng vi khuẩn 61-2 quan sát dưới vật kính dầu 100x cho thấy tế bào hình que, không sinh bào tử.

Kết hợp với đặc điểm sinh lý sinh hoá và dựa trên khoá phân loại Bergey chúng tôi thấy rằng cả 2 chủng xạ khuẩn X12 và NL2 có nhiều điểm tương đồng với loài *Streptomyces* sp. Với chủng vi khuẩn 61-2, việc kết hợp đặc điểm hình thái dưới kính hiển vi quang học và các đặc điểm sinh lý sinh hoá như khả năng cố định đạm cùng với phép thử catalase (+), cho thấy có nhiều điểm tương đồng với họ *Enterobacteriaceae*. Tuy nhiên cần phân loại sâu hơn dựa trên kỹ thuật sinh học phân tử để nâng cao tính chính xác trong định danh loài của 3 chủng này.

Định danh chủng vi sinh vật bằng kỹ thuật sinh học phân tử

Vùng gene 16S của 3 chủng X12, NL2, 61-2 có số nucleotide tương ứng là 1079, 1056, 1020. Kết quả trình tự gene được so sánh với cơ sở dữ liệu trên Genbank (NCBI) bằng công cụ BLAST SEARCH, cho thấy 2 trình tự X12, NL2 cùng có độ tương đồng cao nhất với loài *Streptomyces* sp tương ứng 98,79% (MT540570.1) và 98,83% (KJ494332.1). Chủng vi khuẩn 61-2 có độ tương đồng 98,63% cao nhất với loài *Enterobacter* sp (AB921261.1) đã được đăng ký trong Genbank.

Kết hợp giữa kết quả nghiên cứu về hình thái, sinh lý sinh hoá và phân tích trình tự gene 16S-rDNA, các chủng vsv được đặt tên là *Streptomyces* sp.X12, *Streptomyces* sp.NL2 và *Enterobacter* sp.61-2.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Streptomyces sp. NTS4 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence	1843	1843	97%	0.0	98.48%	AB920600.2
Streptomyces exfoliatus strain USC068 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1841	1841	96%	0.0	98.11%	KX358681.1
Streptomyces exfoliatus strain USC065 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1841	1841	96%	0.0	98.11%	KX358688.1
Streptomyces sp. m1-lav 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1838	1838	96%	0.0	98.01%	KJ494332.1
Nocardopsis sp. 11035 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1838	1838	96%	0.0	98.01%	EJ432553.1
Streptomyces sp. strain MG24 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1836	1836	95%	0.0	98.73%	MH813381.1
Streptomyces exfoliatus strain USC049 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1836	1836	96%	0.0	98.01%	KX358672.1
Streptomyces resistomycifolius strain YBO122 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1834	1834	97%	0.0	98.28%	MH287108.1

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Streptomyces sp. strain HBUM206419 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1901	1901	99%	0.0	98.79%	MT540570.1
Streptomyces sp. strain HBUM206352 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1901	1901	99%	0.0	98.79%	MT540264.1
Streptomyces sp. strain HBUM206360 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1901	1901	99%	0.0	98.79%	MT540253.1
Streptomyces sp. strain VSP3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1901	1901	99%	0.0	98.79%	MT176507.1
Streptomyces sp. strain BCA3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1901	1901	99%	0.0	98.79%	MT176504.1
Streptomyces paulus strain CA01 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1901	1901	99%	0.0	98.79%	MK574832.1
Streptomyces hydrogenans strain CA04 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1901	1901	99%	0.0	98.79%	MK530175.1
Streptomyces sp. strain RST 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1901	1901	99%	0.0	98.79%	MT012002.1

Hình 5. Kết quả search Blast trình tự gen 16S rRNA của 2 chủng X12 và NL2 trên GenBank

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Enterobacter sp. NA11013 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence	1807	1807	100%	0.0	98.63%	AB921261.1
Klebsiella aerogenes strain 18-2341 chromosome, complete genome	1807	14368	100%	0.0	98.63%	CP049600.1
Klebsiella aerogenes strain AUH-KAM-9 chromosome, complete genome	1807	14429	100%	0.0	98.63%	CP048598.1
Klebsiella aerogenes strain Y1 chromosome, complete genome	1807	14390	100%	0.0	98.63%	CP045870.1
Klebsiella aerogenes strain Y3 chromosome, complete genome	1807	14390	100%	0.0	98.63%	CP045869.1
Klebsiella aerogenes strain Y6 chromosome, complete genome	1807	14390	100%	0.0	98.63%	CP045868.1
Klebsiella aerogenes strain 77 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1807	1807	100%	0.0	98.63%	MF462979.1
Klebsiella aerogenes strain C9 chromosome, complete genome	1807	14357	100%	0.0	98.63%	CP042530.1
Klebsiella aerogenes strain FDAARGOS_641 chromosome, complete genome	1807	14385	100%	0.0	98.63%	CP044083.1
Klebsiella aerogenes strain yy12 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1807	1807	100%	0.0	98.63%	MN177204.1
Klebsiella aerogenes strain LU2 chromosome, complete genome	1807	12594	100%	0.0	98.63%	CP035466.1
Klebsiella sp. strain HGS6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1807	1807	100%	0.0	98.63%	MK602386.1

Hình 6. Kết quả search Blast trình tự gen 16S rRNA của chủng 61-2 trên GenBank

Khả năng đối kháng nấm bệnh của 3 chủng lựa chọn *in vitro*

Bằng việc đồng nuôi cấy 3 chủng vi sinh vật nêu trên với nấm bệnh trên môi trường thạch, chúng tôi nhận thấy cả 2 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp.X12, *Streptomyces* sp.NL2 có khả năng đối kháng nấm bệnh gây thối củ SNL và 2 chủng nấm bệnh kiểm định *Fusarium oxysporum* gây bệnh héo vàng, *Rhizoctonia solani* gây bệnh lở cổ rễ héo cây non lên tới 15 đến 20 ngày. Theo (Theunis, 2005) sự đa dạng của các vi khuẩn nội sinh đối kháng lại *R. solanacearum* thuộc nhiều chi khác nhau như *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Corynebacterium* và *Proteus*. Chủng *Enterobacter* sp.61-2 có khả năng kháng yếu hơn, tuy nhiên chủng này với khả năng sinh chất kích thích sinh trưởng IAA (75,29 µg/mL), phân giải lân và cố định đạm tốt lại rất cần thiết để bổ xung đầy đủ các đặc điểm sinh học quan trọng trong việc kết hợp 3 chủng tạo nên một chế phẩm sinh học. Để lý giải sự ức chế các tác nhân gây bệnh, theo (Amaresan, 2012) dựa trên tác động bảo vệ ở vùng rễ chống lại các vi sinh vật gây bệnh thực vật thông qua sinh tổng hợp các chất chuyển hoá như biosurfactants-chất hoạt động bề mặt, các enzyme phân cắt như β -1,3 glucanase và protease, hormone thực vật và chất kích thích sinh trưởng thực vật như auxin, IAA.

Bộ ba chủng VSV lựa chọn trong nghiên cứu này đã đối kháng tốt với các nấm gây bệnh trên SNL, ngoài ra sinh các enzyme hữu ích, sản sinh IAA cao. Đây là các chất trao đổi thứ cấp có thể tác động đến hoạt tính đối kháng bởi chức năng như là một tín hiệu trung gian giữa vi khuẩn nội sinh và cây chủ (Amaresan, 2012).

Bảng 3. Hoạt tính đối kháng mốc của 3 chủng X12, NL2, 61-2

Mốc thối củ SNL (MS)	Hoạt tính đối kháng sau 7 ngày			Hoạt tính đối kháng sau 9 -11 ngày			Hoạt tính đối kháng sau 15-20 ngày		
	X12	NL2	61-2	X12	NL2	61-2	X12	NL2	61-2
MS1	+	+	-	-	-	-	-	-	-
MS2	+	+	+	-	-	+	-	-	+
MS3	+	+	+	+	+	-	+-	+	-
MS4	+	+	+	+	+	-	-	-	-
MS5	+	+	+	+	+	+	+	+-	+
MS6	+	+	-	+	+	-	+	-	-
MS7	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MS8	+	+	-	+	+	-	-	-	-
MS9	+	+	+	+	-	+	+	-	+

MS10	+	+	-	+-	-	-	-	-	-
MS11	+	+	-	+	+	-	+	-	-
MS12	+	+	-	+	+	-	+-	-	-
MS13	+	+	+	+	+	-	-	-	-
MS 14	+	+	+	+	+	-	+	+	-
<i>Fusarium oxysporum</i>	+	+	-	+	+	+	+	+	+-
<i>Rhizoctonia solani</i>	+	+	-	+	+	+	+	+	+-

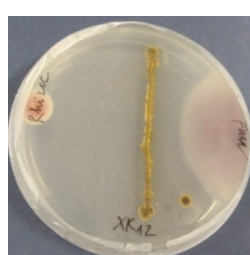
Ghi chú: (-) không đối kháng; (+) đối kháng; (+-): đối kháng yếu



X12 đối kháng MS3 (MS1.4) trên PDA sau 9 ngày, 28°C



X12 đối kháng mốc MS14(SNLsc), MS7(MS2.5) trên PDA sau 20 ngày, 28°C



X12 đối kháng *Fusarium oxysporum* và *Rhizoctonia solani* trên PDA sau 15-20 ngày



61-2 đối kháng một số nấm mốc SNL trên PDA sau 7-9 ngày



NL2 đối kháng MS3 (MS1.4) trên PDA sau 9 ngày, 28°C



NL2 đối kháng MS14 (SNLsc) trên PDA sau 15 - 20 ngày, 28°C



NL2 đối kháng một số nấm SNL trên PDA sau 10 - 15 ngày, 28°C



NL2 đối kháng *Fusarium oxysporum* và *Rhizoctonia solani* trên PDA sau 15 - 20 ngày

Hình 7. Hoạt tính đối kháng mốc của 3 chủng X12, NL2, 61-2

KẾT LUẬN

Đã xác định được một số đặc điểm sinh học của 3 chủng X12, NL2, 61-2. Trong đó 2 chủng xạ khuẩn có hoạt tính sinh học tốt như khả năng sinh các enzyme ngoại bào cellulase, protease, amylase cao. Chủng vi khuẩn 61-2 có khả năng phân giải lân, cố định đạm, có khả năng sinh IAA (75,29 µg/ml).

Ba chủng VSV nghiên cứu đều có khả năng kháng mốc phân lập từ mẫu sâm Ngọc Linh. Đây là tiền đề cho việc tạo chế phẩm vi sinh vật đa chức năng phục vụ sự phát triển bền vững cây SNL.

Các chủng được tuyển chọn lần lượt có mức tương đồng trên 98% với các loài *Streptomyces* sp, *Enterobacter* sp và được đặt tên *Streptomyces* sp.X12, *Streptomyces* sp.NL2 và *Enterobacter* sp.61-2.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Amaresan N, Jayakumar V, Kumar K, Thajuddin N (2012). Endophytic bacteria from tomato and chili, their diversity and antagonistic potential against *Ralstonia solanacearum*. *Arch Phytopathol Plant Protect* 45(3): 344-355.

Cam Lu, Trương Hiệu (2003). Truy cập ngày 5 tháng 9 năm 2011. "Ngọc Linh, từ cây sâm quý đến thương hiệu quý".

- Dhanasekaran D, Thajuddlin N, Panneerselvam (2012). Applications of Actinobacterial Fungicides in Agriculture and Medicine. Fungicides for Plant and Animal Diseases, InTech.
- Shirling EB, Gottlieb D (1966). Cooperatedescription of type culture of *Streptomyces* species, *Int J Sys Bacteriol* 19(4): 391.
- Gordon SA, Weber RP (1951). Clorrimetric Estimation of Indoleacetic Acid. *Plant Physiol* 26(1): 192-195.
- Nomomura H (1974). Key for classification and identification of 458 species of the *Streptomyces* included in ISP, *J Ferment Technol* 52(2): 78.
- Sambrook J, Russell DW (2001). *Molecular cloning*. Alaboratory manual, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York.
- Nguyễn Thị Nguyệt (2014). Nghiên cứu công nghệ đặc chế và bảo quản dược liệu hoài sơn sau thu hoạch. Luận văn thạc sĩ. Học Viện Nông Nghiệp Việt Nam. Hà Nội.
- Puente ME, Bashan Y, Li CY, Lebsky VI (2004). Microbial populations and activities in the rhizoplane of rock-weathering desert plants. I. Root colonization and weathering of igneous rocks, *Plant Biol* 6: 629-642.
- Thanh Hải (2003). Truy cập ngày 19 tháng 3 năm 2017. “Sâm ngọc linh thoát khỏi nguy cơ tuyệt chủng!”.
- Theunis M (2005). IAA biosynthesis in rhizobia and its potential role in symbiosis, PhD thesis, Universiteit Antwerpen.
- Võ Văn Mạnh (2010). Truy cập ngày 13 tháng 9 năm 2011. “Thu hút đầu tư nhằm bảo tồn và phát triển sâm Ngọc Linh - Kon Tum”. “Thành phần hóa học của Sâm Ngọc Linh – Kon Tum” Trung tâm Xúc tiến đầu tư miền Trung, Cục Đầu tư nước ngoài, Bộ Kế hoạch và Đầu tư Việt Nam.
- Wilkins W (1989). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 2-4. Publisher Springer-Verlag, New York.
- William S (1983). Staining reaction for detection of hemicelluloses degrading. *FEMS Microbiol Lett* 20: 253-258.

STUDY ON BIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF SOME MICROORGANISM STRAINS SHOWING FUNGAL ANTAGONISTIC ACTIVITY ISOLATED FROM NGOC LINH GINSENG

Tran Thi Hoa¹, Nguyen Thi Hong Ha¹, Luong Van Hao³, Pham Bich Ngoc¹², Chu Hoang Ha¹², Do Tien Phat^{12*}

¹ Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology (VAST)

² Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology (VAST)

³ Hoang Lien National Park

SUMMARY

From the collection of microorganism strains isolated from Ngoc Linh ginseng plants from the laboratory of plant cell biotechnology, we selected two actinomyces and one bacteria strain for further effective microorganism development. From the 16S sequencing data, these strains were named as *Streptomyces* sp.X12, *Streptomyces* sp.NL2 and *Enterobacter* sp.61-2. Of which, two actinomyces strains X12, NL2 showed the antagonistic activity to pathogenic fungal strains such as *Fumigatus Aspergillus*, *Fusarium solani*... caused disease on Ngoc Linh ginseng as well as the hydrolytic enzyme activities including amylase, cellulase, protease... In addition to providing antagonistic activity to fungi, the bacteria strain 61-2 also exhibited the capacity in IAA synthesis, N-fixation and phosphorus solubilization. These three microorganism strains are safe and potential for fungal disease control and plant growth enhancement of Ngoc Linh ginseng and other important plants.

Keywords: *Enterobacter*, antagonistic activity, 16S rDNA, Ngoc Linh ginseng, microorganism, *Streptomyces*.

* Author for correspondence: Tel: +84-374212304; Email: dtphat@ibt.ac.vn