

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN NHỮNG CHỦNG XẠ KHUẨN TRIỂN VỌNG CÓ KHẢ NĂNG SINH ENZYME NGOẠI BÀO TỪ ĐẤT VÙNG RỄ CÂY TRỒNG VÀ THỬ NGHIỆM KHẢ NĂNG HẠN CHẾ TUYẾN TRÙNG

Trịnh Thị Sen¹, Nguyễn Thị Hoài¹, Lê Văn Chánh¹, Ngô Thị Diễm My², Nguyễn Quang Cơ^{3*}

¹Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

²Trường Cao đẳng Sư phạm Đăk Lăk

³Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế

TÓM TẮT

Xạ khuẩn là vi sinh vật đóng vai trò quan trọng trong việc tạo ra nhiều loại kháng sinh, enzyme được sử dụng nhiều trong nông nghiệp. Trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành phân lập nhằm tìm ra các chủng xạ khuẩn bản địa từ 3 tỉnh Thừa Thiên Huế, Quảng Trị và Nghệ An. Kết quả thu được 18 chủng xạ khuẩn có khả năng sinh chitinase, trong đó có 4 chủng có khả năng sinh chitinase mạnh với đường kính vòng phân giải lớn hơn 20mm. 3 chủng xạ khuẩn NR1, QC1 và QC2 có khả năng sinh đồng thời chitinase và protease được lựa chọn để thử nghiệm khả năng diệt tuyến trùng. Kết quả cho thấy, dịch xạ khuẩn của các chủng tiềm năng đều có khả năng tiêu diệt tuyến trùng, trong đó hỗn hợp dịch xạ khuẩn NR1 + QC1 + QC2 có khả năng diệt tuyến trùng lên tới 75% ở thời điểm 48 giờ sau khi xử lý. Đây là những chủng xạ khuẩn có tiềm năng ứng dụng trong phòng trừ sinh học và sản xuất các chế phẩm vi sinh.

Từ khóa: Chitinase, dịch xạ khuẩn, protease, enzyme ngoại bào, tuyến trùng.

MỞ ĐẦU

Xạ khuẩn là các vi sinh vật quan trọng trong hệ sinh thái đất, với nhiều vai trò và đóng góp đáng kể trong việc sản xuất ra các enzyme ngoại bào như: protease, lipase, amylase, cellulase, urease ... Các enzyme này có khả năng phân hủy các hợp chất hữu cơ phức tạp thành các chất đơn giản hơn để xạ khuẩn và các sinh vật khác trong đất có thể hấp thu và sử dụng (Sharma *et al.*, 2019). Nhiều nghiên cứu đã chứng minh xạ khuẩn có khả năng ức chế các tác nhân gây bệnh thực vật như nấm và vi khuẩn gây hại trên cây trồng. Xạ khuẩn *Streptomyces rochei* kết hợp với *Trichoderma harzianum* được sử dụng để kiểm soát bệnh thối rễ trên cây ớt do *Phytophthora* sp. (Ezziymani *et al.*, 2007). *Streptomyces lavendulae* và *Streptomyces coelicolor* kháng vi khuẩn *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* gây bệnh thối củ hành (Abdallah *et al.*, 2013). Bên cạnh đó, xạ khuẩn còn được ứng dụng trong hạn chế bệnh thán thư trên cây ớt cho hiệu quả cao (Nguyễn Thị Yến *et al.*, 2016). Tiềm năng của xạ khuẩn là rất lớn do xạ khuẩn có khả năng sinh ra các enzyme ngoại bào trong đó có chitinase. Chitinase từ xạ khuẩn *Streptomyces sporovirgulis* cũng được sản xuất và có tác dụng ngăn ngừa bệnh đốm lá bắp cải (Swiontek Brzezinska *et al.*, 2013) và được xem là tác nhân kiểm soát sinh học hiệu quả.

Hiện nay, tuyến trùng đang được quan tâm nghiên cứu do những tác hại mà chúng gây ra cho sản xuất nông nghiệp. Tuyến trùng tấn công hệ thống mạch rễ gây ra sự thiếu hụt chất dinh dưỡng và cản trở quá trình vận chuyển nước dẫn đến cây bị vàng lá và làm giảm năng suất cây trồng, cây bị nhiễm tuyến trùng nặng có thể chết (Bertrand *et al.*, 2000). Việc phòng tuyến trùng khá phức tạp do khả năng di chuyển và đặc tính có thể tồn tại lâu trong đất của tuyến trùng, nên sử dụng thuốc hóa học thường phải dùng nhiều lần và chi phí cao (Lê Đức Khánh, 2015). Một trong những giải pháp có tiềm năng thay thế cho các thuốc hoá học chính là sử dụng các biện pháp sinh học trong đó có sử dụng các chất ức chế sinh sản, phá vỡ thành tế bào của tuyến trùng. Vì vậy, việc phân lập và chọn lọc các chủng có khả năng sinh tổng hợp enzyme ngoại bào mạnh từ các nguồn xạ khuẩn bản địa đóng vai trò quan trọng trong việc tạo tiền đề sản xuất các chế phẩm vi sinh an toàn cho sản xuất nông nghiệp.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Phương pháp phân lập xạ khuẩn

Các mẫu đất vườn ở tầng đất 5 - 20 cm được thu thập tại 3 tỉnh Thừa Thiên Huế, Quảng Trị và Nghệ An để tuyển chọn các chủng xạ khuẩn Sau khi thu thập, các mẫu đất được cho vào túi nilon và mang về phòng thí nghiệm để tiến hành phân lập theo phương pháp của Biền Văn Minh (2012) 10 g đất được hoà tan hoàn toàn bằng máy lắc trong 90 mL nước cất đã hấp vô trùng; Lấy 100 µL dung dịch đất sau pha loãng được trải đều lên đĩa Petri có chứa môi trường Gause cải tiến (tinh bột 20,0 g/L; KNO₃ 1,0 g/L; K₂HPO₄.3H₂O 3,0 g/L; MgSO₄.7H₂O 3,0 g/L; FeSO₄ 0,01 g/L; NaCl 0,5 g/L; agar 20,0 g/L) và ủ ở nhiệt độ 35 °C từ 5 – 7 ngày. Khi các khuẩn lạc xuất hiện, quan sát và nhận diện các khuẩn lạc đặc trưng của xạ khuẩn, tiến hành tuyển chọn các khuẩn lạc mọc tách biệt,

hình dạng to để cấy chuyển vào các ống thạch nghiêng để bảo quản (Nguyễn Lâm Dũng *et al.*, 2012). Các chủng xạ khuẩn được bảo quản ở 4°C để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

Đánh giá khả năng sinh tổng hợp enzyme ngoại bào của xạ khuẩn

Khả năng sinh tổng hợp enzyme ngoại bào của các chủng xạ khuẩn được đánh giá thông qua đường kính vòng phân giải cơ chất trên môi trường agar (Nguyễn Thị Diệu Hạnh *et al.*, 2021). Môi trường Gause cải tiến có chứa 1% chitin được sử dụng để đánh giá khả năng sinh tổng hợp chitinase ngoại bào. Nguồn chitin trong nghiên cứu này được cung cấp từ hãng Himedia, Ấn Độ. Chitin huyền phù 1% được chuẩn bị như sau: 1g bột chitin được cho từ từ vào 20 mL HCl đậm đặc, khuấy đều và để qua đêm ở 4 o C. Thêm vào hỗn hợp 200 mL ethanol lạnh, khuấy đều và ủ qua đêm. Ly tâm hỗn hợp ở 5000 vòng/phút trong 20 phút, thu lấy kết tủa và rửa bằng nước cất cho đến khi pH trung tính. Thêm nước cất vào tủa cho đủ thể tích 100 mL. Các chủng xạ khuẩn được nuôi cấy trong môi trường thích hợp ở 37°C trong 7 ngày. Sau thời gian nuôi ủ, đường kính vòng phân giải thể hiện hoạt tính chitinase được kiểm tra bằng thuốc thử lugol. Đánh giá và ghi nhận khả năng sinh chitinase của các chủng xạ khuẩn ở thời điểm 7 ngày sau khi cấy.

Các chủng xạ khuẩn có khả năng tổng hợp chitinase cao được lựa chọn nhằm khảo sát tiềm năng sản xuất enzyme protease. Môi trường Gause cải tiến được bổ sung casein 1%. Enzyme protease ngoại bào được đánh giá ở các mốc thời gian 5 ngày thông qua phương pháp khuếch tán vòng phân giải casein và được nhận diện bằng dung dịch TCA 5% (Trichloroacetic Acid).

Thử nghiệm khả năng diệt tuyến trùng của dịch xạ khuẩn

Chuẩn bị dịch của xạ khuẩn

Các dòng xạ khuẩn có khả năng sinh tổng hợp chitinase và protease mạnh được nuôi cấy trên môi trường Gause cải tiến trong vòng 7 ngày. Sau khi thu hoạch huyền phù xạ khuẩn, thực hiện đếm và đưa về mật số 10⁸ CFU/mL. 1 mL huyền phù xạ khuẩn được chuyển vào bình tam giác chứa 100 mL môi trường lỏng, nuôi lắc ở 150 vòng/phút trong vòng 7 ngày. Dịch nuôi cấy chứa các enzyme ngoại bào của xạ khuẩn được ly tâm ở 5.000 vòng/phút trong vòng 5 phút và được bảo quản ở 4°C để chuẩn bị cho các thí nghiệm tiếp theo.

Nguồn tuyến trùng được thu thập từ vùng rễ của những cây cà phê bị vàng lá ở huyện Hướng Hóa, tỉnh Quảng Trị. Tuyến trùng được tách lọc từ mẫu đất và mẫu rễ đã thu thập theo phương pháp tách lọc, định danh hình thái tuyến trùng theo mô tả bởi Nguyễn Ngọc Châu (2003).

Sử dụng các ống có dung tích 2 mL để đánh giá khả năng diệt tuyến trùng của các dịch xạ khuẩn. Đánh giá khả năng diệt tuyến trùng của dịch xạ khuẩn theo phương pháp mô tả của Huỳnh Văn Nghi và đồng tác giả (2022). Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên gồm có 5 lần lặp lại với 4 công thức trong đó công thức đối chứng được xử lý bằng nước cất, công thức xử lý dịch xạ khuẩn lần lượt là NR1, QC1, QC2 và hỗn hợp NR1, QC1 và QC2. Khả năng tiêu diệt tuyến trùng bằng dịch xạ khuẩn được xác định bằng cách: Bổ sung 100 µL dịch xạ khuẩn vào 900 µL nước cất chứa 200 con tuyến trùng và ủ trong khoảng thời gian 48 giờ ở mức nhiệt độ phòng. Thực hiện đếm mật số tuyến trùng ở 3 thời điểm 24, 36 và 48 giờ sau khi xử lý để xác định số lượng tuyến trùng còn sống ở các công thức thí nghiệm. Thu dung dịch chứa tuyến trùng, cho vào lam kính đếm tuyến trùng dưới kính hiển vi và đếm số lượng tuyến trùng còn di chuyển. Xác định độ hữu hiệu của dịch xạ khuẩn bằng công thức sau:

$$\text{Độ hữu hiệu (\%)} = [(C-T)/C] \times 100$$

Trong đó: C: Số lượng tuyến trùng sống ở công thức đối chứng. T: Số lượng tuyến trùng sống ở công thức xử lý.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

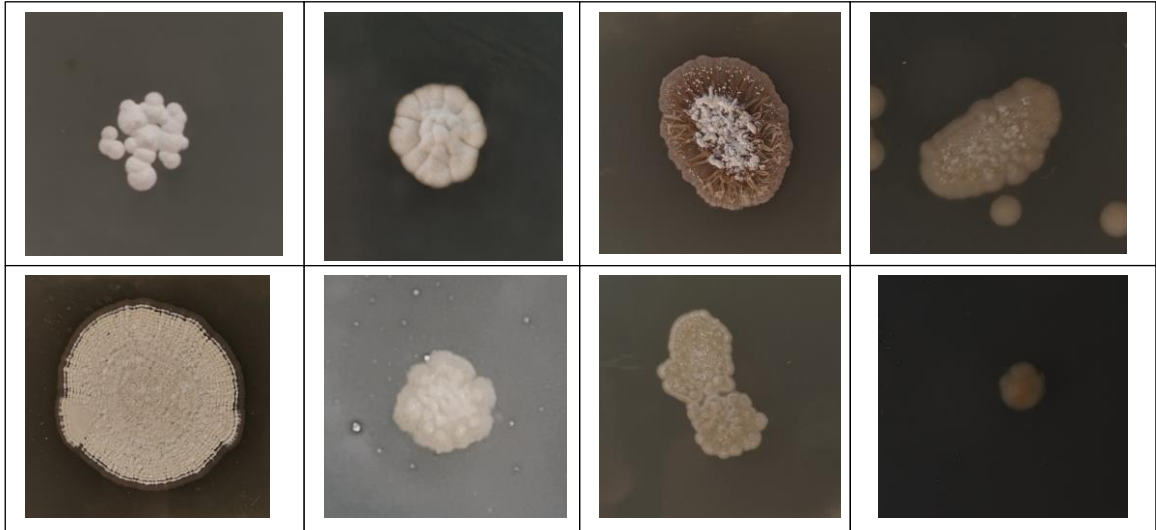
Phân lập xạ khuẩn

Từ 12 mẫu đất lấy ở 3 tỉnh: Thừa Thiên Huế, Quảng Trị và Nghệ An, sau khi phân lập đã thu được 54 chủng xạ khuẩn. Số lượng chủng xạ khuẩn và đặc điểm hình thái được thể hiện ở Bảng 1 và Hình 1.

Bảng 1. Phân bố của xạ khuẩn ở các mẫu đất khác nhau

Địa điểm	Loại đất	Số lượng mẫu	Số chủng xạ khuẩn phân lập (chủng)	Tỉ lệ phân bố chủng xạ khuẩn (%)
Thừa Thiên Huế	Đất trồng cà phê	2	5	9,3
	Đất trồng rừng	1	6	11,1
Quảng Trị	Đất vườn cà phê	3	18	33,3
	Đất trồng cây ăn quả	2	8	14,8
Nghệ An	Đất trồng cà phê	2	10	18,5
	Đất trồng rau	1	7	13,0
Tổng số		11	54	100,0

Sự phân bố xạ khuẩn trong mẫu đất khá phong phú và phụ thuộc vào đặc điểm, tính chất của từng loại đất. Xạ khuẩn thường phân bố nhiều ở các loại đất tơi xốp, thoáng khí, giàu chất hữu cơ. Số lượng xạ khuẩn gặp nhiều ở đất trồng cà phê nhất là trồng cà phê hữu cơ chiếm tới 33,3%, tiếp theo là đất trồng cây ăn quả (14,8%), đất trồng rau (13,0%) và trồng rừng (11,1%). Trong tự nhiên, xạ khuẩn phân bố rộng rãi trong đất, nước, rác, bùn, phân chuồng. Trong đất, xạ khuẩn chiếm khoảng 20 - 40% tổng số vi sinh vật trong đất, tập trung nhiều ở lớp đất bề mặt (Mitra *et al.*, 2008). Từ các mẫu đất khác nhau, 54 chủng xạ khuẩn đã được phân lập với các đặc điểm hình thái và màu sắc khuẩn lạc khác nhau. Màu sắc của các chủng xạ khuẩn phân lập có màu như xám, trắng, đen (Hình 1). Bề mặt khuẩn lạc khô ráo, hình dạng chủ yếu hình tròn, một số chủng tạo thành vòng tròn đồng tâm, hệ sợi cơ chất phát triển ăn sâu vào môi trường và đây cũng là đặc điểm giúp phân biệt giữa xạ khuẩn với vi khuẩn và nấm (Nguyễn Lâm Dũng *et al.*, 2002).



Hình 1. Hình thái của một số chủng xạ khuẩn phân lập từ vùng rễ cây trồng

Khảo sát khả năng sinh enzyme chitinase của các chủng xạ khuẩn

Sơ tuyến khả năng sinh chitinase được thực hiện trên 54 chủng xạ khuẩn cho thấy: Có 18 chủng có khả năng sinh chitinase. Đánh giá khả năng sinh chitinase được thực hiện ở ngày thứ 7 sau khi cấy được ghi nhận ở Bảng 2.

Bảng 2. Khả năng sinh chitinase của một số chủng xạ khuẩn phân lập từ vùng rễ cây trồng

STT	Tên chủng	Vòng phân giải chitin (mm)	STT	Tên chủng	Vòng phân giải chitin (mm)
1	HC1	9,20 ± 0,52	10	QC1	22,18 ± 0,33
2	HC3	9,82 ± 0,17	11	QC2	35,73 ± 0,27
3	HC4	17,18 ± 0,25	12	QC3	14,45 ± 0,30
4	NR1	26,32 ± 0,54	13	QR1	11,70 ± 0,16
5	NR2	11,54 ± 0,16	14	QR4	10,35 ± 0,75
6	NR3	25,42 ± 0,50	15	QR5	12,03 ± 0,17
7	NV1	9,45 ± 0,63	16	QR6	14,47 ± 0,34
8	NV3	15,30 ± 0,22	17	QC7	15,03 ± 0,47
9	NV5	16,40 ± 0,53	18	QC11	12,06 ± 0,63

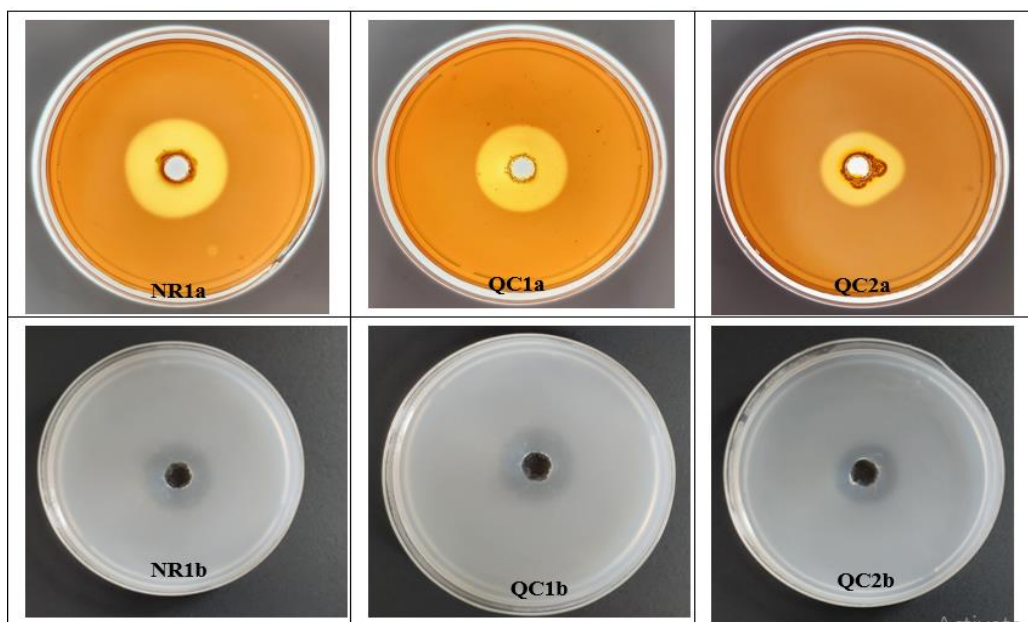
Ở thời điểm 7 ngày, thực hiện đo đường kính vòng phân giải chitin của các chủng xạ khuẩn thông qua hiệu số: $V (mm) = D$ (kích thước vòng phân giải cơ chất) – d (kích thước lỗ thạch) để chọn các chủng có hoạt tính enzyme mạnh. Chỉ số V càng lớn cho thấy hoạt lực của enzyme càng cao. Kết quả khảo sát khả năng sinh enzyme chitinase từ các chủng xạ khuẩn phân lập từ đất vùng rễ cây trồng được thể hiện ở Bảng 2, cho thấy tỷ lệ chủng xạ khuẩn sinh enzyme chitinase chiếm hơn 33%. Trong đó, các chủng có đường kính vòng phân giải < 10 mm chiếm 16,7%. Có 11 chủng có đường kính vòng phân giải từ 10 – 20 mm chiếm 61,1%, và có 4 chủng có đường kính vòng phân giải trên 20 mm, chiếm 22,2%. Các chủng NR1, NR3, QC1 và QC2 có khả năng sinh chitinase cao hơn so với các chủng xạ khuẩn còn lại. So sánh với kết quả nghiên cứu của Lê Minh Tường và Trần Thị Thu Em (2014); Trương Thanh Thảo và đồng tác giả (2019) về phân lập xạ khuẩn cho thấy, 4 chủng xạ khuẩn này có khả năng sinh tổng hợp chitinase mạnh, nhất là chủng NR1 (26,32 mm) và QC2 (35,73 mm). 4 chủng xạ khuẩn tiềm năng này được lựa chọn để đánh giá khả năng sinh protease.

Khả năng phân giải protein của các chủng xạ khuẩn chọn lọc

Bảng 3. Khả năng sinh protease của các chủng xạ khuẩn chọn lọc

STT	Tên chủng	Vòng phân giải protein (mm)
1	NR1	17,40 ± 0,15
2	NR3	11,43 ± 0,27
3	QC1	16,82 ± 0,43
4	QC2	19,50 ± 0,17

Đánh giá khả năng sinh protease của các chủng xạ khuẩn được thể hiện ở Bảng 2 và Hình 2. Xác định đường kính vòng phân giải ở thời điểm 5 ngày sau khi cấy cho thấy: Các chủng xạ khuẩn đều có khả năng phân giải protein với đường kính vòng phân giải protein từ 11,43 – 19,7 mm. Nhìn chung, các chủng có khả năng phân giải protein với các mức độ khác nhau. Đường kính phân giải protein của chủng xạ khuẩn QC1 là 16,82 mm, chủng xạ khuẩn NR1 là 17,4 mm, chủng xạ khuẩn QC2 là 19,5 mm. So sánh hoạt tính phân giải protease của các chủng xạ khuẩn được Nguyễn Thị Diệu Hạnh và đồng tác giả (2021), Nguyễn Thị Đông Phương và đồng tác giả (2023) cho thấy, 3 chủng xạ khuẩn trong nghiên cứu có khả năng sinh tổng hợp protease ngoại bào thấp hơn so với chủng xạ khuẩn CXNK28.1 (đường kính vòng phân giải là 24± 2 mm), chủng xạ khuẩn Q5 (đường kính vòng phân giải là 3,05± 0,07cm) và N7 (đường kính vòng phân giải là 3,55± 0,21 cm).



Hình 2. Vòng phân giải chitin và phân giải protein của một số chủng xạ khuẩn phân lập từ đất vùng rễ cây trồng. a: thể hiện hoạt tính chitinase; b: thể hiện hoạt tính protease

Đánh giá khả năng gây chết tuyến trùng của dịch nuôi cấy từ xạ khuẩn được chọn lọc

3 chủng xạ khuẩn có khả năng sinh đồng thời chitinase và protease cao được nuôi cấy để lấy dịch và thử nghiệm khả năng tiêu diệt tuyến trùng trong điều kiện phòng thí nghiệm. Xác định số lượng tuyến trùng còn sống và hiệu lực phòng trừ tuyến trùng của dịch nuôi cấy từ xạ khuẩn ở các công thức thí nghiệm xác định vào thời điểm 24, 36 và 48 giờ sau khi xử lý. Kết quả thu được ở Bảng 4 cho thấy:

Bảng 4. Hiệu lực của dịch xạ khuẩn đối với tuyến trùng trong phòng thí nghiệm

Chủng xạ khuẩn	Mức độ hữu hiệu (%)		
	Sau xử lý 24 giờ	Sau xử lý 36 giờ	Sau xử lý 48 giờ
NR1	33,23 ^b	46,93 ^b	67,47 ^b
QC1	32,41 ^b	57,87 ^a	70,99 ^b
QC2	44,22 ^{ab}	50,86 ^b	52,73 ^c
NR1 + QC1 + QC2	51,70 ^a	60,04 ^a	75,24 ^a

Ghi chú: a, b, c biểu thị mức độ sai khác giữa các công thức ở mức ý nghĩa 0,05; các công thức có cùng chữ cái thì không có sự sai khác.

Dịch xạ khuẩn đều có khả năng tiêu diệt tuyến trùng và thể hiện mức độ hữu hiệu ở 24, 36 và 48 giờ sau khi xử lý. Ở thời điểm 24h sau khi xử lý, hiệu lực của xạ khuẩn QC2 tốt hơn so với 2 chủng xạ khuẩn còn lại. Tuy nhiên sau 48 giờ, hiệu lực của dịch xạ khuẩn QC2 tăng thấp hơn với 2 chủng xạ khuẩn còn lại và hỗn hợp xạ khuẩn.

Hiệu lực phòng trừ tuyến trùng của hỗn hợp dịch xạ khuẩn tăng từ 51,7% đến 75,24% và thể hiện hiệu lực cao nhất ở thời điểm 48 giờ sau khi xử lý. Hiệu lực phòng trừ của hỗn hợp dịch xạ khuẩn thể hiện giá trị cao hơn so với dịch của từng chủng xạ khuẩn. Vì vậy, có thể đề xuất phối trộn dịch xạ khuẩn để làm tăng khả năng hạn chế tuyến trùng trên cây trồng. So với thuốc bảo vệ thực vật, dịch xạ khuẩn tuy có hiệu lực phòng trừ chậm hơn nhưng hiệu quả gây chết kéo dài qua các thời điểm khảo sát (Huỳnh Văn Nghi *et al.*, 2022; Trương Thành Thảo *et al.*, 2019). Ba chủng xạ khuẩn NR1, QC1 và QC2 đều có khả năng tiết đồng thời chitinase và protease cao sẽ phá hủy thành tế bào của tuyến trùng. Đây là cơ sở để sản xuất các chế phẩm sinh học có hoạt tính enzyme cao dùng trong sản xuất nông nghiệp.

KẾT LUẬN

4 chủng xạ khuẩn NR1, NR3, QC1, QC2 thể hiện khả năng sinh enzyme ngoại bào cao hơn trong 54 chủng xạ khuẩn đã được phân lập. Bên cạnh đó 3 chủng xạ khuẩn NR1, QC1 và QC2 thể hiện khả năng sinh chitinase và protease cao hơn so với các chủng còn lại.

Dịch xạ khuẩn của các chủng NR1, QC1 và QC2 và hỗn hợp dịch xạ khuẩn của NR1 + QC1 + QC2 đều có khả năng tiêu diệt tuyến trùng, trong đó dịch hỗn hợp xạ khuẩn thể hiện hiệu quả cao hơn và khả năng diệt trừ tuyến trùng lên tới 75,24% sau 48 giờ xử lý.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được hỗ trợ bởi Bộ Giáo dục và Đào tạo Việt Nam (Mã số đề tài: CT-2022-09-DHH-02).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abdallah ME, Haroun SA, Gomah AA, El-Naggar NE, Badr HH (2013). Application of actinomycetes as biocontrol agents in the management of onion bacterial rot diseases. *Arch Phytopathol Pfl*, 46 (15): 1797-1808.
- Bertrand B, Nunez C, Sarah JL (2000). Disease complex in coffee involving *Meloidogyne arabicida* and *Fusarium oxysporum*. *Plant Pathol*, 49 (3): 383-388.
- Nguyễn Ngọc Châu (2003). *Tuyến trùng thực vật và cơ sở phòng trừ*. Nhà xuất bản khoa học kỹ thuật.
- Nguyễn Lân Dũng, Nguyễn Đình Quyến, Phạm Văn Ty, 2002. *Vi sinh vật học*. Nhà xuất bản Giáo Dục, Hà Nội.
- Ezziyyani M, Requena ME, Egea-Gilbert C, Candela ME (2007). Biological control of *Phytophthora* root rot of pepper using *Trichoderma harzianum* and *Streptomyces rochei* in combination. *J Phytopathol* 155 (6): 342-349.
- Nguyễn Thị Diệu Hạnh, Hứa Trường Chinh, Đặng Bích Ngân, Nguyễn Thị Thanh Thúy, Nguyễn Ngọc Ân, Phạm Tấn Việt, 2021. Phân lập và tuyển chọn xạ khuẩn có khả năng sinh các hợp chất có hoạt tính cao. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, số 53B.
- Lê Đức Khánh (2015). Nghiên cứu tuyến trùng hại cây hồ tiêu, cá phê và các giải pháp khoa học và công nghệ phòng trừ hiệu quả ở các vùng sản xuất trọng điểm. *Báo cáo tổng hợp kết quả khoa học công nghệ đề tài cấp Bộ*.
- Biền Văn Minh (2012). Phương pháp phân lập xạ khuẩn chi *Streptomyces*. (https://csdlkhoahoc.hueuni.edu.vn/data/article/pp_phanlaphaxkhuon.pdf).
- Mitra A, Santra SC, Mukherjee J (2008). Distribution of Actinomycetes, their antagonistic behavior and physico-chemical characteristics of worlds largest tidal mangrove forest. *Appl Microbiol Biotechnol*, 80: 685-695.
- Huỳnh Văn Nghi, Nguyễn Xuân Hòa, Trần Vũ Phấn, Nguyễn Hữu Quảng, Sylvia Hui Xue, Tim Thoden, John Wiles (2022). Hiệu quả của SalibroTM (Fluazaindolizine) trong phòng trừ tuyến trùng *Pratylenchus coffeae* trên cây cà phê trong điều kiện phòng thí nghiệm và nhà lưới. *Tạp chí khoa học trường Đại học Cần Thơ*, 58 (2B): 205-212.
- Nguyễn Thị Đông Phương, Nguyễn Trần Huyền Anh, Nguyễn Hoàng Trung Hiếu (2023). Isolation and screening for *Streptomyces* strain capable of efficient feather degradation. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Đà Nẵng*, 21(8.2).
- Sharma M, Dangi P and Choudhary M (2019). Actinomycetes: Source, Identification, and Their Applications. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*, 3 (2): 801-832.
- Swiontek Brzezinska M, Jankiewicz U, Lisiecki K (2013). Optimization of cultural conditions for the production of antifungal chitinase by *Streptomyces sporovirgulus*. *Applied biochemistry and microbiology*, 49: 154-159.
- Trương Thành Thảo, Võ Quốc Cảnh, Nguyễn Thị Thu Nga (2019). Phân Lập và tuyển chọn những chủng xạ khuẩn triển 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.
- Lê Minh Tường và Trần Thị Thu Em (2014). Khảo sát khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với nấm *Pyricularia oryzae* gây bệnh đạo ôn hại lúa. *Tạp chí khoa học trường đại học Cần Thơ*, (4): 120 – 126.
- Nguyễn Thị Yến, Trương Văn Tươi, Trần Hoàn Nhân, Lưu Thái Danh và Nguyễn Thị Thu Nga (2016). Nghiên cứu xạ khuẩn và thuốc hóa học trong phòng trừ bệnh thán thư trên ớt. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. (3): 153-159.

ISOLATION AND SELECTION OF STREPTOMYCES STRAINS WITH POTENTIAL TO PRODUCE EXTRACELLULAR ENZYMES FROM RHIZOSPHER AND TESTING THEIR ABILITY TO SUPPRESS NEMATODES

Trinh Thi Sen¹, Nguyen Thi Hoai¹, Le Van Chanh¹, Ngo Thi Diem My², Nguyen Quang Co^{3*}

¹*University of Agriculture and Forestry, Hue University*

²*Dak Lak College of Pedagogy*

³*Institute of Biotechnology, Hue University*

SUMMARY

Actinomycetes are microorganisms that play a crucial role in producing a wide variety of antibiotics and enzymes that are widely used in agriculture. This study involved isolating indigenous actinomycete strains from Thua Thien Hue, Quang Tri, and Nghe An provinces. The results revealed 18 actinomycete strains capable of producing chitinase, with 4 strains showing strong chitinase production, exhibiting chitinase activities greater than 20 mm. Among these, the strains NR1, QC1, and QC2 were able to simultaneously produce chitinase and protease. These strains were then tested for their ability to kill nematodes, and the results indicated that the extract from these potential strains effectively killed nematodes. The mixture of extracts NR1 + QC1 + QC2 showed the efficacy up to 75% after 48 hours treatment. Overall, these actinomycete strains show great potential for applications in biological pest control and the production of microbial preparations..

Keywords: Chitinase, streptomyces extract, protease, extracellular enzymes, nematodes.

* Author for correspondence: Tel: 0914848365; Email: nguyenquangco@hueuni.edu.vn