

NGHIÊN CỨU ĐẶC TÍNH KHÁNG NẤM GÂY BỆNH THỰC VẬT CỦA CHỦNG XẠ KHUẨN NỘI SINH *Streptomyces xylanilyticus* MC5

Quách Ngọc Tùng¹, Nguyễn Trần Khánh Chi¹, Lê Hoàng Nguyệt Minh¹, Phạm Thuỳ Dương², Vũ Thị Hạnh Nguyên¹, Phí Quyết Tiến^{1*}

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

²Trường Đại học Phương Đông

TÓM TẮT

Kiểm soát sinh học nấm gây bệnh hại cây trồng sử dụng xạ khuẩn đối kháng hiện đang nhận được sự quan tâm của các nhà khoa học trên thế giới. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá đặc tính kháng nấm *Magnaporthe oryzae* PO gây bệnh đạo ôn trên cây lúa và *Phytophthora* sp. NL gây thối rễ trên cây sâm Ngọc Linh của chủng xạ khuẩn nội sinh MC5. Sử dụng phương pháp đồng nuôi cấy, chủng MC5 lần lượt thể hiện khả năng đối kháng mạnh với *M. oryzae* PO và *Phytophthora* sp. NL với tỷ lệ ức chế đạt $71,11 \pm 1,11\%$ và $77,41 \pm 0,64\%$, tương ứng. Chủng MC5 có hệ khuẩn ty khí sinh màu trắng, không sinh sắc tố tan và có khả năng đồng hoá các nguồn cacbon khác nhau như glucose, fructose, sucrose, mannitol, galactose, maltose và inositol. Phân tích hình thái, đặc điểm sinh hóa và kết hợp với cây phát sinh loài dựa trên trình tự 16S rRNA đã định danh chủng nghiên cứu là *Streptomyces xylanilyticus* MC5. Hơn nữa, cao chiết etyl axetat của chủng MC5 ức chế mạnh sự phát triển của sợi nấm *M. oryzae* PO ($72,8 \pm 0,4\%$) và *Phytophthora* sp. NL ($75,5 \pm 0,3\%$) ở nồng độ $180 \mu\text{g/mL}$ sau 7 ngày nuôi cấy. Thử nghiệm khả năng ức chế sự nảy mầm bào tử cho thấy, $7 \mu\text{g/mL}$ cao chiết MC5 ức chế sự nảy mầm của bào tử *M. oryzae* PO và *Phytophthora* sp. NL tới $85,1 \pm 3,7\%$ và $88,3 \pm 5,6\%$, tương ứng. Chính vì vậy, *S. xylanilyticus* MC5 là chủng tiềm năng giúp phòng trừ bệnh trên cây lúa và sâm Ngọc Linh đạt hiệu quả cao.

Từ khóa: Đạo ôn, kháng nấm, *Streptomyces xylanilyticus*, thối rễ, xạ khuẩn nội sinh.

MỞ ĐẦU

Việt Nam có lợi thế cạnh tranh về phát triển nông nghiệp nhiệt đới với điều kiện sinh thái đa dạng, số giờ nắng nhiều, nguồn nước dồi dào và nông dân có kỹ năng, cần cù chịu khó. Tuy nhiên, trong quá trình phát triển nông nghiệp có rất nhiều tác nhân gây hại ảnh hưởng đến năng suất và chất lượng nông sản. Đặc biệt, nấm bệnh là một trong những nhóm tác nhân quan trọng nhất, một số loại nấm gây bệnh phổ biến trên cây công nghiệp có thể kể ra như nấm gây thối rễ, thán thư, đốm lá, cháy lá. Trong số này, bệnh đạo ôn do nấm *Magnaporthe oryzae* gây ra gây thiệt hại lớn về sản lượng và chất lượng lúa gạo trên toàn thế giới. Khi bệnh đạo ôn bùng phát, năng suất lúa giảm 10–30%, thậm chí giảm 40–50% khi bệnh nặng (Tan, Zhao, Li, Gong & Li, 2023). Tương tự như nhiều mầm bệnh thực vật khác, *M. oryzae* không chỉ lây nhiễm trên cây lúa mà còn lây nhiễm sang các cây trồng khác như lúa mạch, lúa mì, lúa miến, ngô và kê. Bên cạnh đó, nấm *Phytophthora* spp. đã gây rất nhiều bệnh trên nhiều loại cây trồng khác nhau như thối thân và trái đu đủ, thối rễ và tàn lụi trên cam quýt, thối chồi trên bơ, sọc đen trên cao su, thối rễ, loét thân sầu riêng, ... (Joo, 2005). Gần đây, chủng nấm này còn được ghi nhận là tác nhân gây thối củ, rễ, lở cổ rễ trên cây sâm Ngọc Linh. Biện pháp chủ yếu để diệt nấm bệnh hiện nay là dùng thuốc diệt nấm có nguồn gốc hóa học nhưng chưa có hiệu quả triệt để và dẫn đến nhiều hệ quả như dư lượng thuốc diệt nấm còn lại trên sản phẩm nông sản, ô nhiễm môi trường, rủi ro về hiện tượng kháng kháng sinh. Do đó, cần áp dụng các biện pháp sinh học để có thể khống chế được nguồn bệnh này mà vẫn đảm bảo năng suất cây trồng, không gây hại đến sức khỏe con người và động vật.

Hiện nay, xạ khuẩn *Streptomyces* là nhóm có nhiều tiềm năng nhất trong biện pháp sinh học sử dụng. *Streptomyces* spp. phân bố phổ biến trong nhiều loại môi trường khác nhau như đất, nước, núi lửa, ngậm mặn (Quach *et al.*, 2023). Trong quá trình sống xạ khuẩn tiết ra nhiều chất có hoạt tính sinh học cao có khả năng kháng lại các loài vi sinh vật khác nhau bao gồm cả nấm và vi khuẩn. Trong số 23.000 hợp chất có hoạt tính sinh học được sản xuất từ vi sinh vật, hơn 10.000 hợp chất được phân lập từ xạ khuẩn (Zou *et al.*, 2021). Trong khoảng hơn 8.000 chất kháng sinh được biết trên thế giới hiện nay thì có hơn 80% trong số đó có nguồn gốc từ xạ khuẩn *Streptomyces*. Các hợp chất kháng nấm đóng vai trò quan trọng trong việc bảo vệ thực vật khỏi sự tấn công của các tác nhân gây bệnh. Bệnh khô vằn ở lúa được điều trị đặc hiệu bởi validamycin A từ *Streptomyces hygroscopicus*. Xạ khuẩn nội sinh trên thực vật được định nghĩa là nhóm vi sinh vật cư trú bên trong các mô tế bào thực vật mà không cạnh tranh dinh dưỡng hay gây hại tới cây chủ (Kandel, Joubert & Doty, 2017). Gần đây, nghiên cứu tạo chế phẩm hay phân bón sinh học ức chế nấm bệnh với thành phần là xạ khuẩn nội sinh đang bắt đầu được quan tâm. *Streptomyces griseofuscus* và *Streptomyces hygroscopicus* được phân lập từ lúa thể hiện hoạt tính đối kháng với *M. oryzae* với tỉ lệ ức chế lần lượt là 54,5% và 21,8% (Tian *et al.*, 2004b). Ở nghiên cứu trước, chúng tôi đã

chứng minh xạ khuẩn *Streptomyces albus* RC2 nội sinh trên cây lúa ức chế mạnh nấm gây bệnh *Lasiodiplodia theobromae*, *Fusarium fujikuroi* và *Scopulariopsis gossypii* nhờ khả năng sinh một loạt các chất kháng nấm (Quach *et al.*, 2023). Trong bài báo này, chúng tôi tập trung đánh giá tiềm năng kháng nấm *M. oryzae* PO gây bệnh đạo ôn trên cây lúa và *Phytophthora* sp. NL gây thối rễ trên cây sâm Ngọc Linh của xạ khuẩn nội sinh MC5.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Chủng giống

Chủng xạ khuẩn MC5 nội sinh trên cây mầm được lưu giữ và cung cấp bởi Trung tâm giống và Bảo tồn nguồn gen Vi sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Chủng nấm *M. oryzae* PO gây bệnh đạo ôn trên cây lúa và *Phytophthora* sp. NL gây thối rễ trên cây sâm Ngọc Linh được cung cấp bởi Phòng Công nghệ tế bào thực vật, Viện Công nghệ sinh học và Công ty cổ phần đầu tư Panax Việt Nam.

Phương pháp nghiên cứu

Khảo sát khả năng đối kháng của chủng xạ khuẩn MC5

Hoạt tính kháng nấm của chủng xạ khuẩn MC5 được đánh giá bằng phương pháp đồng nuôi cấy trên đĩa thạch dextrose khoai tây (PDA) (Zou *et al.*, 2021). Chủng xạ khuẩn MC5 được cấy đối xứng cách tâm đĩa PDA khoảng 2 cm của đĩa PDA và một cục thạch nấm bệnh với đường kính 5 mm được đặt ở tâm đĩa thạch PDA. Đĩa không cấy xạ khuẩn MC5 được sử dụng làm đối chứng. Sau 5 - 7 ngày nuôi cấy ở 28 °C, tỉ lệ phần trăm ức chế sự phát triển của nấm bệnh (GI) tính theo công thức: $GI = [(R - R1)/R] \times 100 \%$. Trong đó: R và R1 là đường kính phát triển sợi nấm trong đĩa đối chứng và đĩa thí nghiệm đã cấy xạ khuẩn MC5.

Định danh chủng xạ khuẩn MC5

Dựa vào đặc điểm hình thái: Khuẩn ty khí sinh, khuẩn ty cơ chất và sắc tố của chủng xạ khuẩn MC5 được đánh giá theo mô tả của Khoá phân loại ISP (Shirling & Gottlieb, 1966).

Sinh học phân tử: Chủng MC5 được nuôi cấy trên môi trường ISP9 lỏng qua đêm ở 28 °C trên máy lắc với tốc độ 180 vòng/phút. DNA tổng số của chủng MC5 được tách chiết bằng G-spin™ Total DNA Extraction Mini Kit (Intron Bio, Korea) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Trình tự gen 16S rRNA được khuếch đại bằng phản ứng PCR sử dụng cặp mồi 27F (5'-TAACACATGCAAGTCGAACG-3') và 1429R (5'-GGTGTGACGGCGGTGTGTA-3') theo như mô tả trước đây (Quach *et al.*, 2022). Kết quả giải trình tự gen hai chiều được kiểm tra bằng phần mềm BioEdit 7.2 và so sánh với các gen tham chiếu trên ngân hàng cơ sở dữ liệu GenBank (NCBI) bằng công cụ BLAST. Cây phân loại được xây dựng dựa trên mức độ tương đồng của trình tự nucleotide giữa các loài được tính toán thống kê bằng phần mềm MEGA 11.0.

Dựa vào đặc điểm hóa sinh: Đánh giá khả năng đồng hoá nguồn cacbon và nitơ của xạ khuẩn được thực hiện trên môi trường ISP9 có bổ sung 1,0 % (w/v) các nguồn đường như glucose, fructose, sucrose, mannitol, galactose, maltose và inositol và rhamnose. Khả năng sinh enzym ngoại bào của chủng MC5 được đánh giá trên môi trường ISP9 có bổ sung 1 % (w/v) các nguồn cơ chất như chitin, CMC và sữa gầy.

Tách chiết chất kháng nấm từ chủng MC5

Phương pháp tách chiết chất kháng nấm từ chủng xạ khuẩn MC5 được tiến hành theo quy trình được mô tả trước đây của Quach và đồng tác giả (2022): Chủng MC5 được nuôi cấy trong môi trường lỏng PDB ở 28 °C với tốc độ lắc 180 vòng/phút trong 7 ngày. Dịch nuôi cấy được ly tâm ở tốc độ 8000 vòng/phút trong 10 phút để thu dịch trong và sau đó chiết bằng ethyl axetat theo tỉ lệ 1:3 (v/v). Phần dung môi chứa chất trao đổi thứ cấp được cô quay ở 45 °C, làm khô đến khối lượng không đổi và cân. Cao chiết thô thu nhận được bảo quản ở 4 °C cho các thí nghiệm tiếp theo.

Đánh giá tác động của cao chiết thô MC5 tới sự phát triển sợi nấm gây bệnh

Ảnh hưởng của cao chiết thô đối với sự phát triển của sợi nấm *M. oryzae* PO gây bệnh đạo ôn trên cây lúa và *Phytophthora* sp. NL gây thối rễ trên cây sâm Ngọc Linh được đánh giá theo phương pháp trước đây (Wei *et al.*, 2020). Cao chiết thô MC5 được pha loãng bằng 5 % (v/v) dimethylsulfoxide (DMSO) và được bổ sung vào môi trường thạch PDA tới nồng độ cuối là 45, 90 và 180 µg/mL. Cục thạch nấm với đường kính 5 mm được đặt ở giữa đĩa PDA chứa cao chiết thô MC5 và đĩa bổ sung 5 % (v/v) DMSO được sử dụng làm đối chứng. Các đĩa được ủ ở 28 °C và thí nghiệm được dừng khi nấm bệnh mọc bao phủ toàn đĩa đối chứng. Đường kính của sợi nấm ở đĩa đối chứng và đĩa thí nghiệm được ghi nhận và tỉ lệ phần trăm ức chế sự phát triển của nấm được tính toán theo công thức ở trên.

Đánh giá tác động của cao chiết thô MC5 đến sự nảy mầm của bào tử nấm

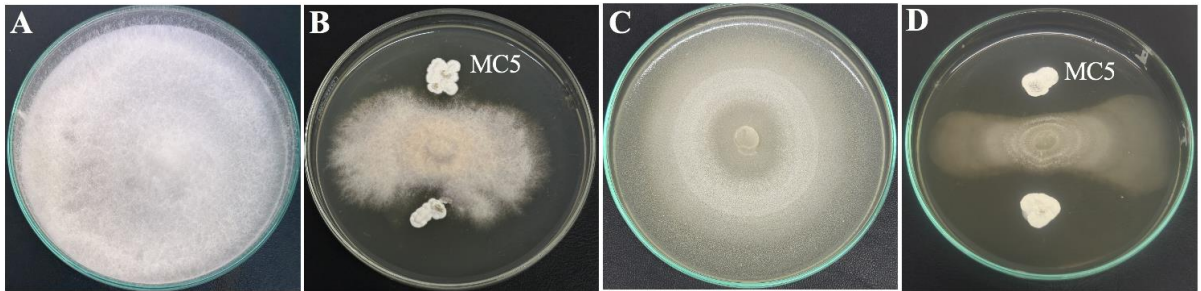
Khảo sát ảnh hưởng của cao chiết thô đến sự nảy mầm của bào tử nấm được thực hiện theo mô tả bởi Zou và đồng tác giả (2021). Chủng nấm *M. oryzae* PO và *Phytophthora* sp. NL được nuôi cấy trên môi trường thạch PDA ở 28 °C. Sau 9 ngày nuôi cấy, bào tử được thu và hòa vào nước cất khử trùng. Mật độ bào tử được xác

định bằng buồng đếm và được điều chỉnh đến nồng độ cuối cùng là 10^5 CFU/mL. Cao chiết thô ở nồng độ 7 $\mu\text{g/mL}$ được bổ sung vào môi trường lỏng PDB chứa bào tử nấm và ủ ở 28 °C trong 72 giờ. Môi trường lỏng PDB không bổ sung cao chiết thô được sử dụng làm đối chứng. Sự nảy mầm của 100 bào tử nấm ở buồng đếm được quan sát bằng kính hiển vi quang học (Carson, Mỹ) ở thời điểm sau 72 giờ (Zou *et al.*, 2021).

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đánh giá đặc tính kháng nấm của chủng xạ khuẩn MC5

Xạ khuẩn với khả năng sinh các hợp chất trao đổi thứ cấp được đánh giá là có nhiều tiềm năng để sử dụng làm tác nhân kiểm soát sinh học trong trồng trọt. Ngoài ra, nhiều hợp chất kháng nấm thương mại đã được tách chiết từ xạ khuẩn. Trong nghiên cứu này, đặc tính kháng nấm của chủng xạ khuẩn nội sinh MC5 được đánh giá bằng phương pháp đối kháng trực tiếp.

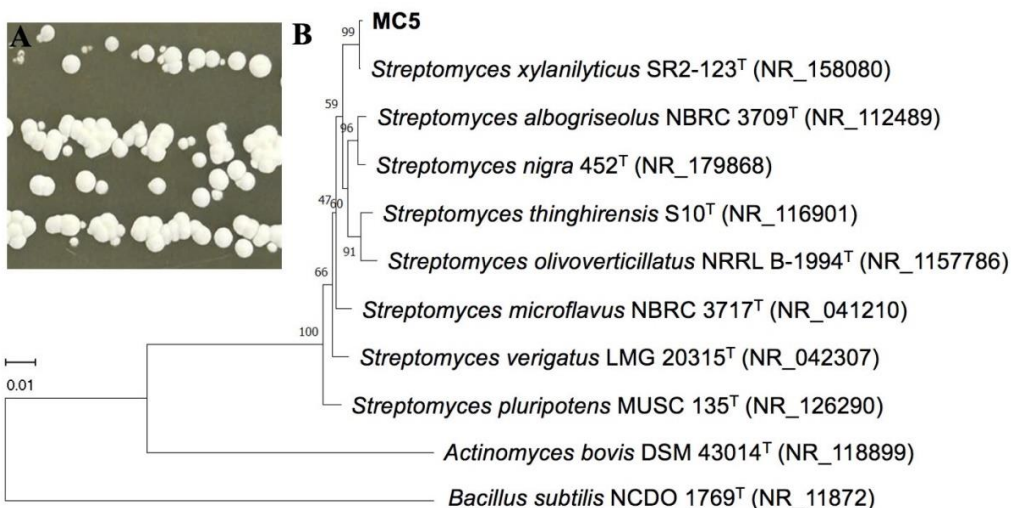


Hình 1. Hoạt tính kháng nấm *M. oryzae* PO (A,B) và *Phytophthora* sp. NL (C,D) của chủng xạ khuẩn nội sinh MC5

Kết quả Hình 1 cho thấy, chủng MC5 có khả năng ức chế nấm *M. oryzae* PO và *Phytophthora* sp. NL gây bệnh. Tỷ lệ phần trăm ức chế nấm bệnh cao nhất của chủng MC5 được ghi nhận với chủng nấm *M. oryzae* PO ($71,11 \pm 1,11\%$), tiếp theo là *Phytophthora* sp. NL ($77,41 \pm 0,64\%$). Đặc biệt, chủng xạ khuẩn MC5 duy trì hoạt tính kháng *M. oryzae* PO và *Phytophthora* sp. NL đến 20 ngày nuôi cấy. Khác biệt với kết quả trên, *M. oryzae* bị ức chế bởi *Streptomyces griseofuscus* và *Streptomyces hygroscopicus* nội sinh trên cây lúa với tỷ lệ ức chế đạt 54,5% và 21,8%, tương ứng (Tian *et al.*, 2004a). *Streptomyces halstedii* AJ-7 có khả năng đối kháng với nấm *Phytophthora capsici* gây bệnh thối rễ trên ớt với hiệu quả giảm bệnh lên đến 78,9% (Joo, 2005). Do vậy, đặc tính kháng nấm của chủng xạ khuẩn MC5 là khá tiềm năng.

Định danh chủng xạ khuẩn MC5

Kết quả sau 4 ngày nuôi cấy trên các môi trường ISP cho thấy chủng MC5 sinh trưởng tốt trên các môi trường ISP1-7 nghiên cứu. Khuẩn ty khí sinh chủ yếu thuộc nhóm màu trắng (Hình 2A). Khác với khuẩn ty khí sinh, khuẩn ty cơ chất có dải màu từ trắng đến vàng nhạt trên các môi trường ISP1-7. Sắc tố tan hay melanin không được ghi nhận trên các môi trường nghiên cứu. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc khẳng định chủng xạ khuẩn MC5 thuộc chi *Streptomyces*.



Hình 2. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc (A) và cây phát sinh loài (B) biểu diễn mối quan hệ giữa chủng MC5 với các chủng có quan hệ gần dựa trên phân tích trình tự gen 16S rRNA

Để phân loại đến loài, chủng MC5 được giải trình tự gen 16S rRNA bằng phản ứng PCR với cặp mồi 1492R và 27F. Kết quả phân tích trình tự 16S rRNA và so sánh với trình tự gen đã công bố trên GenBank bằng công cụ BLAST (NCBI) cho thấy: chủng MC5 có trình tự tương đồng cao nhất với trình tự gen của chủng tham chiếu chuẩn *Streptomyces xylanilyticus* SR2-123^T (99,53 %). Cây phát sinh loài khẳng định chủng MC5 tạo thành nhóm riêng biệt với các chủng thuộc loài *S. xylanilyticus* với giá trị bootstrap đạt 99 % (Hình 2B).

Về đặc điểm sinh hoá, chủng MC5 có khả năng đồng hoá các nguồn cacbon khác nhau như glucose, fructose, sucrose, mannitol, galactose, maltose và inositol. Nguồn cacbon không thể sử dụng là rhamnose (Bảng 1). Bên cạnh đó, chủng MC5 có thể sinh các enzym ngoại bào quan trọng như: chitinase, CMCase và protease, đây là điều kiện thuận lợi cho lựa chọn thành phần môi trường lên men rế tiền khi sản xuất ở quy mô công nghiệp. Đối chiếu với phương pháp phân loại truyền thống của ISP, chủng MC5 có đặc điểm tương đồng với *S. xylanilyticus* được công bố trước đây. Dựa vào kết quả nghiên cứu về đặc điểm sinh học và phân tích trình tự gen 16S rRNA, chủng xạ khuẩn nghiên cứu được định danh là *S. xylanilyticus* MC5.

Bảng 1. Đặc điểm sinh hoá của chủng xạ khuẩn MC5

Đặc điểm sinh hoá	Kết quả
Glucose	+
Fructose	+
Sucrose	+
Rhamnose	-
Mannitol	+
Galactose	+
Maltose	+
Inositol	+
Sinh enzym ngoại bào	
Chitinase	+
CMCase	+
Protease	+

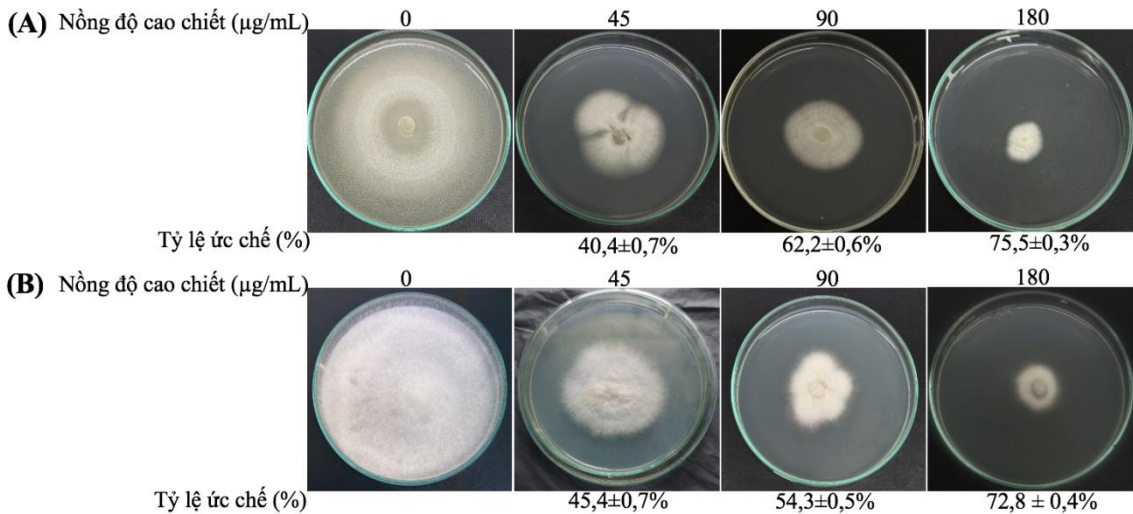
Ghi chú: (+) dương tính; (-) âm tính

Streptomyces xylanilyticus SR2-123^T là chủng xạ khuẩn mới được công bố vào năm 2017 (Moonmangmee *et al.*, 2017). Chủng xạ khuẩn này được phân lập từ mẫu đất thu thập từ Trạm nghiên cứu môi trường Sakaerat, Viện nghiên cứu khoa học và công nghệ Thái Lan, tỉnh Nakhon Ratchasima, Thái Lan. Tổng quan nghiên cứu cho thấy hiện chưa có nghiên cứu nào nghiên cứu khả năng ức chế nấm của *S. xylanilyticus*.

Đánh giá hoạt tính ức chế nấm từ cao chiết thô của chủng MC5

Để đánh giá rõ hơn đặc tính kháng nấm của chủng MC5, dịch nuôi cấy chủng MC5 được tách chiết bằng dung môi etyl axetat nhằm thu cao chiết thô và sau đó bổ sung vào môi trường thạch PDA để thử nghiệm khả năng ức chế nấm *M. oryzae* PO và *Phytophthora* sp. NL. Kết quả Hình 3 cho thấy hoạt tính kháng 2 loại nấm bệnh tuyến tính với nồng độ cao chiết thô MC5 sử dụng. Tại nồng độ 45 µg/mL, tỉ lệ ức chế nấm bệnh *Phytophthora* sp. NL đạt 40,4 ± 0,7 % (Hình 3A). Sử dụng 90 µg/mL cao chiết ức chế nấm bệnh tới 62,2±0,6 % sau 7 ngày nuôi cấy. Tại nồng độ 180 µg/mL, sợi nấm *Phytophthora* sp. NL bị ức chế tới 75,5±0,3 %. Đối với mỗi đối chứng, nấm bệnh *Phytophthora* sp. NL phát triển mạnh trên môi trường PDA không bổ sung cao chiết thô sau 7 ngày nuôi cấy.

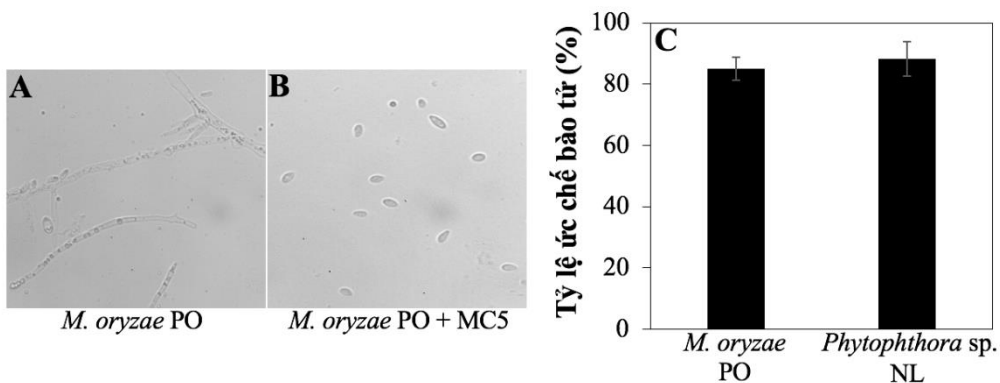
Đối với nấm *M. oryzae* PO gây bệnh đạo ôn, 45 µg/mL cao chiết thô MC5 ức chế sợi nấm tới 45,4±0,7 % sau 7 ngày nuôi cấy. Tại nồng độ 180 µg/mL, tỷ lệ ức chế được ghi nhận là 72,8±0,4 %, thấp hơn so với nấm *Phytophthora* sp. NL (Hình 3B). *Streptomyces* sp. UPMRS4 được chứng minh thể hiện hoạt tính kháng nấm *M. oryzae* lên tới 88,73%, trong khi đó chủng *Streptomyces* sp. H3-2 ở nồng độ 200 µg/mL ức chế mạnh nấm *F. oxyspoum* f. sp. *cubense* (Zou *et al.*, 2021). Do vậy, *S. xylanilyticus* AM5 có nhiều tiềm năng sử dụng làm tác nhân kiểm soát sinh học không chỉ nấm *M. oryzae* và *Phytophthora* spp. mà còn với các nấm bệnh trên thực vật khác.



Hình 3. Ảnh hưởng của dải nồng độ cao chiết thô từ chủng xạ khuẩn MC5 tới sự phát triển hệ sợi của chủng nấm *Phytophthora sp. NL* (A) và *M. oryzae PO* (B)

Đánh giá ảnh hưởng của cao chiết thô MC5 tới sự nảy mầm của bào tử nấm

Thử nghiệm đánh giá khả năng ức chế sự nảy mầm của bào tử *M. oryzae PO* cho thấy, 7 µg/mL cao chiết MC5 ức chế sự nảy mầm của bào tử *M. oryzae PO* lên tới 85,1±3,7 % (Hình 4A,B). Với mẫu đối chứng, tỉ lệ nảy mầm của *M. oryzae PO* được ghi nhận đạt 93,5 ± 2,1 %. Tương đồng với nghiên cứu này, tỷ lệ nảy mầm bào tử của *Phytophthora sp. NL* bị ức chế tới 88,3 ± 5,6 %. Nhiều nghiên cứu trên thế giới đã chứng minh rằng cơ chế ức chế sự nảy mầm của bào tử nấm là do chất kháng nấm phá hủy màng tế bào, làm thành tế bào dày hơn, gia tăng liposome, hạt điện tử và cuối cùng dẫn tới sự phá hủy của tế bào nấm. Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu chứng minh khả năng ức chế sự nảy mầm của bào tử *M. oryzae PO* bởi xạ khuẩn, tuy nhiên chưa có nhiều nghiên cứu thực nghiệm trên tế bào *Phytophthora sp. NL*. Nghiên cứu tinh sạch và xác định cấu trúc các chất kháng nấm cần được tiến hành tương lai nhằm khẳng định tiềm năng kiểm soát sinh học và sinh tổng hợp các chất kháng nấm mới từ *S. xylanilyticus*.



Hình 4. Tác động của của cao chiết thô MC5 tới sự nảy mầm bào tử của chủng nấm *M. oryzae PO* được quan sát trên kính hiển vi quang học 40X (A) và tỷ lệ ức chế bào tử của 2 chủng nấm (B)

KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, chủng xạ khuẩn nội sinh MC5 được chứng minh có khả năng đối kháng trực tiếp mạnh với nấm *M. oryzae PO* và *Phytophthora sp. NL* trên đĩa thạch PDA tới 71,11 ± 1,11% và 77,41 ± 0,64%, tương ứng. Dựa trên đặc điểm hình thái, sinh hoá và phân tích trình tự gen 16S rRNA, chủng xạ khuẩn MC5 này được phân loại là *S. xylanilyticus* MC5. Trên môi trường thạch PDA bổ sung 180 µg/mL cao chiết thô chủng MC5, hệ sợi của *M. oryzae PO* bị ức chế tới 72,8±0,4 % sau 7 ngày nuôi cấy, trong khi đó cao chiết thô MC5 cũng ức chế mạnh bào tử *Phytophthora sp. NL* tới 75,5±0,3 %. Ngoài ra, bào tử nấm *M. oryzae PO* và *Phytophthora sp. NL* cũng bị ức chế mạnh bởi 7 µg/mL cao chiết MC5 trong môi trường PDB lỏng. Kết quả nghiên cứu cho thấy tiềm năng sử dụng *S. xylanilyticus* MC5 làm chế phẩm sinh học hoặc phân bón vi sinh trong phòng trừ và kiểm soát nấm bệnh trên cây lúa và sâm Ngọc Linh. Trong tương lai, cần có những nghiên cứu chuyên sâu để phân tích thành phần chất kháng nấm trong điều kiện phòng thí nghiệm và tương tác với cây chủ trong điều kiện nhà lưới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Joo G-J (2005). Production of an anti-fungal substance for biological control of *Phytophthora capsici* causing phytophthora blight in red-peppers by *Streptomyces halstedii*. *Biotechnol Lett* 27: 201-205.
- Kandel SL, Joubert PM, & Doty SL (2017). Bacterial endophyte colonization and distribution within plants. *Microorganisms* 5: 77 - 89.
- Moonmangmee D, Kanchanasin P, Phongsopitanun W, Tanasupawat S, & Moonmangmee S (2017). *Streptomyces xylanilyticus* sp. nov., isolated from soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 67: 4189-4194.
- Quach NT, Vu THN, Nguyen TTA, Ha H, Ho PH, Chu-Ky S, *et al.* (2022). Structural and genetic insights into a poly-γ-glutamic acid with in vitro antioxidant activity of *Bacillus velezensis* VCN56. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 38: 173.
- Quach NT, Vu THN, Nguyen TTA, Le PC, Do HG, Nguyen TD, *et al.* (2023). Metabolic and genomic analysis deciphering biocontrol potential of endophytic *Streptomyces albus* RC2 against crop pathogenic fungi. *Braz J Microbiol* 54: 2617-2626.
- Shirling EB, & Gottlieb D (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 16: 313-340.
- Tan J, Zhao H, Li J, Gong Y, & Li X (2023). The devastating rice blast airborne pathogen *Magnaporthe oryzae*-A review on genes studied with mutant analysis. *Pathogens* (Basel, Switzerland) 12.
- Tian XL, Cao LX, Tan HM, Zeng QG, Jia YY, Han WQ, *et al.* (2004a). Study on the communities of endophytic fungi and endophytic actinomycetes from rice and their antipathogenic activities in vitro. *World J Microbiol Biotechnol* 20: 303-309.
- Tian XL, Cao LX, Tan HM, Zeng QG, Jia YY, Han WQ, *et al.* (2004b). Study on the communities of endophytic fungi and endophytic actinomycetes from rice and their antipathogenic activities *in vitro*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 20: 303-309.
- Wei Y, Zhao Y, Zhou D, Qi D, Li K, Tang W, *et al.* (2020). A newly isolated *Streptomyces* sp. YYS-7 with a broad-spectrum antifungal activity improves the banana plant resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense tropical race 4. *Front Microbiol* 11.
- Zou N, Zhou D, Chen Y, Lin P, Chen Y, Wang W, *et al.* (2021). A novel antifungal actinomycete *Streptomyces* sp. strain H3-2 effectively controls banana *Fusarium* Wilt. *Front Microbiol* 12.

ANTAGONISTIC PROPERTY OF *Streptomyces xylanilyticus* MC5 AGAINST PLANT PHYTOPATHOGENIC FUNGI

Quach Ngoc Tung¹, Nguyen Tran Khanh Chi¹, Le Hoang Nguyet Minh¹,
Pham Thuy Duong², Vu Thi Hanh Nguyen¹, Phi Quyet Tien^{1*}

¹Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology

²Phuong Dong University

SUMMARY

Biological control of plant pathogens by antagonistic actinomycetes has been paid attention from scientists around the world. The present study is focused on evaluation antifungal potential of endophytic strain MC5 against rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* PO and *Phytophthora* sp. NL causing root rot of Ngoc Linh ginseng. Using the dual culture method, endophytic strain MC5 showed strong antagonistic ability against *M. oryzae* PO and *Phytophthora* sp. NL with the mycelium inhibition rates of $71.11 \pm 1.11\%$ and $77.41 \pm 0.64\%$, respectively. Strain MC5 has white aerobic mycelium, does not produce soluble pigments and is capable of assimilating different carbon sources such as glucose, fructose, sucrose, mannitol, galactose, maltose and inositol. Strain MC5 has white aerial mycelium, no soluble pigment and ability to assimilate different carbon sources such as glucose, fructose, sucrose, mannitol, galactose, maltose, and inositol. Morphological analysis, biochemical characteristics, and phylogenetic tree based on 16S rRNA sequence identified the strain as *Streptomyces xylanilyticus* MC5. Furthermore, the ethyl acetate extract of strain MC5 strongly inhibited the growth of *M. oryzae* PO ($72.8 \pm 0.4\%$) and *Phytophthora* sp. NL ($75.5 \pm 0.3\%$) at a concentration of 180 µg/mL after 7 days. Treatment with 7 µg/mL MC5 extract inhibited the growth of *M. oryzae* PO and *Phytophthora* sp. NL to $85.1 \pm 3.7\%$ and $88.3 \pm 5.6\%$, respectively. Therefore, *S. xylanilyticus* MC5 holds potential to prevent diseases in rice and Ngoc Linh ginseng with high efficiency.

Keywords: Antifungal, endophytic actinomycetes, rice blast, root rot, *Streptomyces xylanilyticus*.

* Author for correspondence: Tel: +84-2437917973; Email: tienpq@ibt.ac.vn