

Phân lập và tuyển chọn các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* có khả năng đối kháng vi khuẩn *Ralstonia pseudosolanacearum* T2C-Rasto gây bệnh héo xanh trên cây dưa leo

Lê Thanh Bình^{1, 2, 3*}, Trương Minh Ngọc³, Võ Đình Quang³, Phan Thị Phụng Trang^{1, 2}

¹Trung tâm Khoa học và Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, 227 Nguyễn Văn Cừ, phường 4, quận 5, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, 227 Nguyễn Văn Cừ, phường 4, quận 5, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Chi nhánh Viện Ứng dụng Công nghệ tại TP Hồ Chí Minh, 366A Trường Chinh, phường 13, quận Tân Bình, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 30/7/2024; ngày chuyển phân biện 2/8/2024; ngày nhận phân biện 19/8/2024; ngày chấp nhận đăng 22/8/2024

Tóm tắt:

Dưa leo là cây rau ăn quả ngắn ngày, được canh tác phổ biến ở Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL), mang lại kinh tế ổn định cho nhiều hộ nông dân. Bệnh héo xanh do vi khuẩn *Ralstonia pseudosolanacearum* gây ra, là bệnh xảy ra phổ biến và gây hại nặng trên cây dưa leo. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục tiêu phân lập và tuyển chọn một số chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng vi khuẩn bệnh ở điều kiện phòng thí nghiệm. Trong nghiên cứu này, 125 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* phân lập từ các mẫu đất thu thập ở ĐBSCL được sử dụng để đánh giá khả năng đối kháng vi khuẩn *R. pseudosolanacearum*. Bằng phương pháp đối kháng trực tiếp và gián tiếp trên đĩa thạch, 03 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* DS18.2, DS30.6, DS32.8 thể hiện khả năng đối kháng mạnh chống lại vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto gây bệnh héo xanh trên cây dưa leo, với đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt tương ứng là 22,67; 24,44; 21,56 mm. Trong đó, chủng xạ khuẩn *Streptomyces* DS30.6 có đường kính vòng kháng khuẩn lớn nhất được định danh thông qua giải trình tự gen 16S rRNA và xác định thuộc loài *Streptomyces noursei* DS30.6. Chủng DS30.6 được đánh giá là vi sinh tiềm năng để nghiên cứu sản xuất chế phẩm sinh học phòng trị bệnh héo xanh trên cây dưa leo.

Từ khóa: bệnh héo xanh, dưa leo, hoạt tính kháng khuẩn, *Ralstonia solanacearum*, *Streptomyces noursei*.

Chỉ số phân loại: 1.6, 4.1, 4.6

Isolation and selection of *Streptomyces* strains with antagonistic activity against the *Ralstonia pseudosolanacearum* T2C-Rasto causing bacterial wilt disease in cucumber plants

Thanh Binh Le^{1, 2, 3*}, Minh Ngoc Truong³, Dinh Quang Vo³, Thi Phuong Trang Phan^{1, 2}

¹Center for Bioscience and Biotechnology, University of Science, Vietnam National University - Ho Chi Minh City, 227 Nguyen Van Cu Street, Ward 4, District 5, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Vietnam National University - Ho Chi Minh City, 227 Nguyen Van Cu Street, Ward 4, District 5, Ho Chi Minh City, Vietnam

³Branch of National Center for Technological Progress in Ho Chi Minh City, 366A Truong Chinh Street, Ward 13, Tan Binh District, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 30 July 2024; revised 19 August 2024; accepted 22 August 2024

Abstract:

Cucumbers are short-term fruit vegetables that are widely cultivated in the Mekong delta, providing a stable income for many farming households. Bacterial wilt disease caused by *Ralstonia pseudosolanacearum* is a common and severely damaging disease in cucumber plants. This study was conducted to isolate and select some *Streptomyces* strains capable of resisting pathogenic bacteria under laboratory conditions. In this study, 125 *Streptomyces* strains were isolated from soil samples collected in the Mekong delta and used to test the antibacterial ability against *R. pseudosolanacearum*. By direct and indirect antagonism methods on agar dish, three *Streptomyces* strains, including DS18.2, DS30.6, and DS32.8, exhibited to be highly effective against *R. Pseudosolanacearum* T2C-Rasto, which causes bacterial wilt disease in cucumber plants, with inhibition zone diameters of 22.67, 24.44, and 21.56 mm, respectively. Among them, the *Streptomyces* DS30.6 strain with the best antagonistic activity was identified to be *Streptomyces noursei* by 16S rRNA gene sequencing. Strain DS30.6 is a potential microorganism for research and production of biological products to prevent and treat bacterial wilt disease in cucumber plants.

Keywords: antibacterial activity, bacterial wilt disease, cucumber plants, *Ralstonia solanacearum*, *Streptomyces noursei*.

Classification numbers: 1.6, 4.1, 4.6

*Tác giả liên hệ: Email: thanhbinhbio99@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Dưa leo là cây rau ăn quả ngắn ngày, được canh tác phổ biến ở ĐBSCL, mang lại kinh tế ổn định cho nhiều hộ nông dân [1]. Tuy nhiên, bệnh héo xanh do vi khuẩn *R. solanacearum* gây hại là mối đe dọa đáng kể đối với năng suất dưa leo [2, 3]. Phương pháp xử lý bằng hóa học được sử dụng tạm thời để hạn chế tác hại bệnh nhưng không hiệu quả và gây hại môi trường, nên việc tìm kiếm các phương pháp kiểm soát bệnh bằng vi sinh vật được đánh giá cao [4]. Một số nghiên cứu cho thấy, xạ khuẩn thuộc chi *Streptomyces* có tiềm năng kiểm soát bệnh héo xanh và bệnh vi khuẩn khác trên nhiều loại cây trồng. *Streptomyces* UP1A-1 và *S. physcomitrii* có khả năng kiểm soát bệnh héo xanh do vi khuẩn *R. solanacearum* gây ra trên cây cà chua với hiệu quả phòng trị bệnh lần lượt là 96,80% và 63,60% [5, 6]. *S. alboflavus* TD-1 và *S. rochei* BT02 có khả năng đối kháng vi khuẩn *R. solanacearum* ở nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) lần lượt là 3,125 mg/ml và 15,00 mg/ml [7, 8]. *S. maritimus* MSQ21 đối kháng vi khuẩn *R. solanacearum* cao nhất với đường kính vòng kháng khuẩn là 18,00 mm [9]. Ở Việt Nam, H.T. Giang và cs (2017) [10] đã tuyển chọn được 03 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* TT44, TT9 và TT11 có khả năng đối kháng với vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh trên khoai lang với đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt là 9,02; 6,74; 6,50 mm. Theo N.T.N. Bích và cs (2020) [11], chủng xạ khuẩn *S. diastaticus* CC3.2 đối kháng vi khuẩn *Erwinia carotovora* cao nhất ở môi trường ISP3 sau 5 ngày nuôi lắc 200 vòng/phút ở nhiệt độ 30°C với đường kính vòng kháng khuẩn đạt 15,22 mm. Theo N.T.N. Anh và cs (2020) [12], chủng xạ khuẩn *S. virginiae* TT8.4 có khả năng đối kháng 3 loại vi sinh vật kiểm định *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, và *Escherichia coli* với đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt là 20, 18 và 16 mm.

Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng, xạ khuẩn *Streptomyces* là tác nhân sinh học tiềm năng để kiểm soát bệnh do vi khuẩn, vi nấm gây hại trên cây trồng thông qua tiết kháng sinh, hoạt chất kích kháng thực vật, cộng sinh với thực vật [13, 14]. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào công bố về chủng xạ khuẩn *Streptomyces* đối kháng vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* gây bệnh héo xanh trên dưa leo ở ĐBSCL.

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm phân lập và tuyển chọn được một số chủng xạ khuẩn thuộc chi *Streptomyces* có khả năng đối kháng chống lại vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto gây bệnh héo xanh trên dưa leo ở ĐBSCL.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Chủng vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto gây bệnh héo xanh trên dưa leo ở ĐBSCL do phòng thí nghiệm thuộc Chi nhánh Viện Ứng dụng Công nghệ tại TP Hồ Chí Minh cung cấp [15]. Các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* được phân lập từ các mẫu đất rừng nguyên sinh, đất vườn dưa leo khỏe mạnh và đất không canh tác lâu năm ở ĐBSCL.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phân lập các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* từ các mẫu đất thu thập ở ĐBSCL: Pha loãng mẫu đất và cấy trải trên đĩa petri có chứa môi trường Gause-I. Nuôi ủ ở nhiệt độ 28°C trong 4-7 ngày để thu được các khuẩn lạc riêng lẻ. Trên mỗi mẫu đất, khuẩn lạc của xạ khuẩn được cấy 3 pha sang đĩa petri chứa môi trường Gause-I để làm thuần. Sau đó nuôi ở nhiệt độ 28°C trong 4-7 ngày, từ các khuẩn lạc được làm thuần cấy truyền sang ống thạch nghiêng chứa môi trường thạch nghiêng Gause-I, tiếp tục nuôi ở điều kiện trên trong 10-14 ngày. Xác nhận dòng xạ khuẩn *Streptomyces* dựa trên các đặc điểm hình thái và cấu trúc dưới kính hiển vi [16].

Đối kháng trực tiếp đặt thời thạch: Các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* được cấy rìa trên môi trường thạch Gause-I, ủ sau 7 ngày ở nhiệt độ 28°C. Sau đó đục thời thạch chứa khuẩn lạc xạ khuẩn với đường kính 7 mm. Nuôi cấy vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto trong môi trường SPA lỏng, pha loãng nồng độ 10^5 CFU/ml, hút 0,1 ml dịch nuôi cấy chứa vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto trải đều trên đĩa petri chứa môi trường SPA. Tạo những giếng nhỏ có đường kính khoảng 7 mm. Đặt các thời thạch chứa khuẩn lạc chủng xạ khuẩn *Streptomyces* vào tương ứng với các giếng đã đục từ trước trên đĩa môi trường. Sau đó ủ ở nhiệt độ 28°C trong 72 giờ cho vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto phát triển. Xác định các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* tạo được vòng kháng khuẩn. Từ kết quả sàng lọc hoạt tính đối kháng, các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* có khả năng ức chế mạnh vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto được tiến hành khảo sát sự đối kháng gián tiếp [3].

Đối kháng gián tiếp đục lỗ thạch: Chủng vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto được nuôi cấy trong môi trường SPA lỏng, pha loãng nồng độ 10^5 CFU/ml, hút 0,1 ml dịch nuôi cấy chứa vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto trải đều trên đĩa petri chứa môi trường SPA. Các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* được cấy trên môi trường Gause-I lỏng, nuôi lắc 14 ngày ở nhiệt độ 28°C. Tạo những giếng nhỏ có đường kính 7 mm. Nhỏ 0,1 ml dịch nuôi cấy

chủng xạ khuẩn *Streptomyces* đã loại bỏ tế bào. Ủ đĩa ở 4°C trong 15 phút cho dịch trong giếng khuếch tán. Sau đó ủ ở nhiệt độ 28°C trong 48 giờ để vi khuẩn *R. pseudolanacearum* T2C-Rasto phát triển. Đo đường kính vòng kháng khuẩn xung quanh giếng. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần đối với mỗi chủng chọn lọc và kết quả là giá trị trung bình cộng của các lần lặp lại. Tính kích thước vòng kháng khuẩn theo công thức: Kích thước vòng kháng khuẩn = D-d; trong đó: D là đường kính vòng kháng khuẩn (mm); d là đường kính lỗ (mm) [17].

Định danh chủng xạ khuẩn *Streptomyces* được tuyển chọn bằng giải trình tự gen 16S rRNA: Chủng xạ khuẩn *Streptomyces* được tiến hành giải trình tự gen 16S rRNA

bằng thiết bị ABI 3130/3500 tại Công ty TNHH Dịch vụ Thương mại Nam Khoa. So sánh độ tương đồng của trình tự 16S rRNA với dữ liệu trên GenBank bằng chương trình BLAST [18].

Xử lý số liệu: Sử dụng phương pháp thống kê phân tích ANOVA để đánh giá các số liệu thí nghiệm. Sử dụng phương pháp trắc nghiệm Duncan để so sánh trung bình. Các số liệu ghi nhận được xử lý bằng phần mềm SPSS phiên bản 19.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Phân lập các chủng có khả năng thuộc chi *Streptomyces* từ mẫu đất thu thập ở Đồng bằng sông Cửu Long

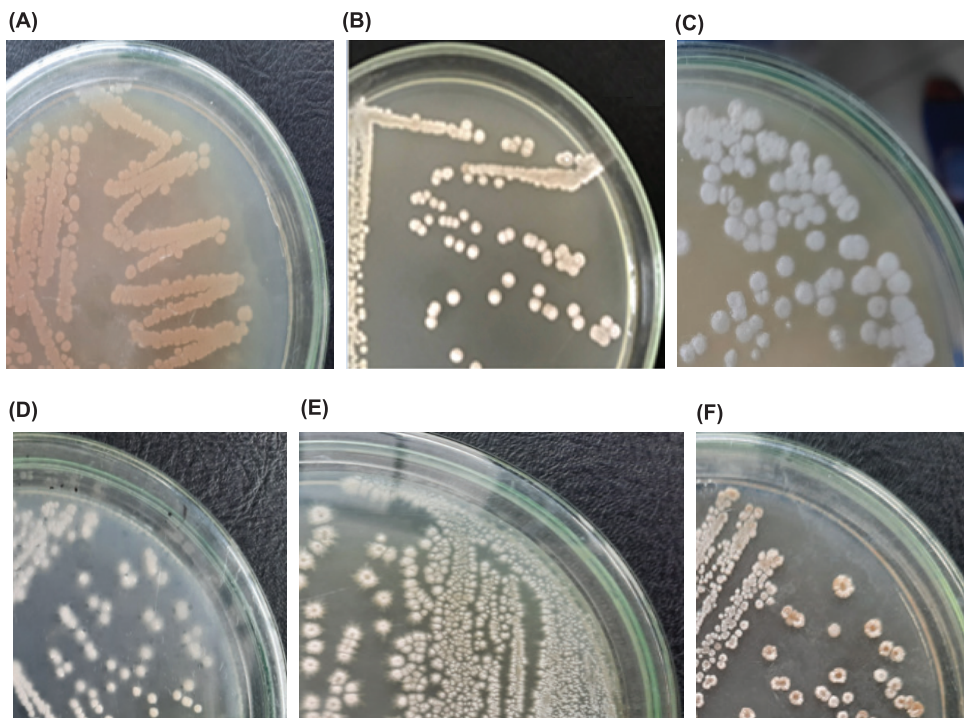
Bảng 1. Kết quả phân lập các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* từ các mẫu đất thu thập ở Đồng bằng sông Cửu Long.

TT	Địa điểm lấy mẫu	Số lượng mẫu	Loại đất	Số lượng xạ khuẩn (CFU/g đất)	Số chủng phân lập được
1	An Giang	40	Đất rừng nguyên sinh, đất vườn dưa leo khỏe mạnh, đất không canh tác lâu năm	$6,5 \times 10^6$	101
2	Đồng Tháp	5	Đất vườn dưa leo khỏe mạnh, đất không canh tác lâu năm	$3,2 \times 10^5$	12
3	Tiền Giang	3	Đất vườn dưa leo khỏe mạnh, đất không canh tác lâu năm.	$4,1 \times 10^5$	8
4	Long An	2	Đất vườn dưa leo khỏe mạnh, đất không canh tác lâu năm.	$1,3 \times 10^5$	4
Tổng cộng		50			125

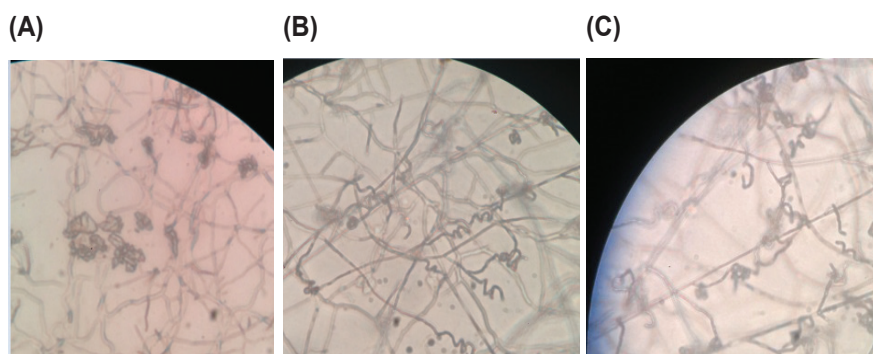
Từ 50 mẫu đất rừng nguyên sinh, đất vườn trồng dưa leo khỏe mạnh và đất không canh tác lâu năm thu thập ở ĐBSCL, đã phân lập và làm thuần được 125 chủng mang đặc điểm hình thái của xạ khuẩn như khuẩn lạc khô, bề mặt thô ráp, hơi xốp và có nhiều hình dạng và màu sắc đa dạng như màu xám nâu, vàng-cam, hồng... (bảng 1) [16].

Đối với màu sắc sợi khuẩn khí sinh, nhóm màu trắng có số lượng cao nhất 53/125 chủng chiếm 42,40%, tiếp đến nhóm màu xám 45/125 chủng chiếm 36%, nhóm màu nâu 20/125 chủng chiếm 16%, nhóm màu vàng - cam 5/125 chủng chiếm 4%, nhóm màu hồng 2/125 chủng chiếm 1,6% (hình 1).

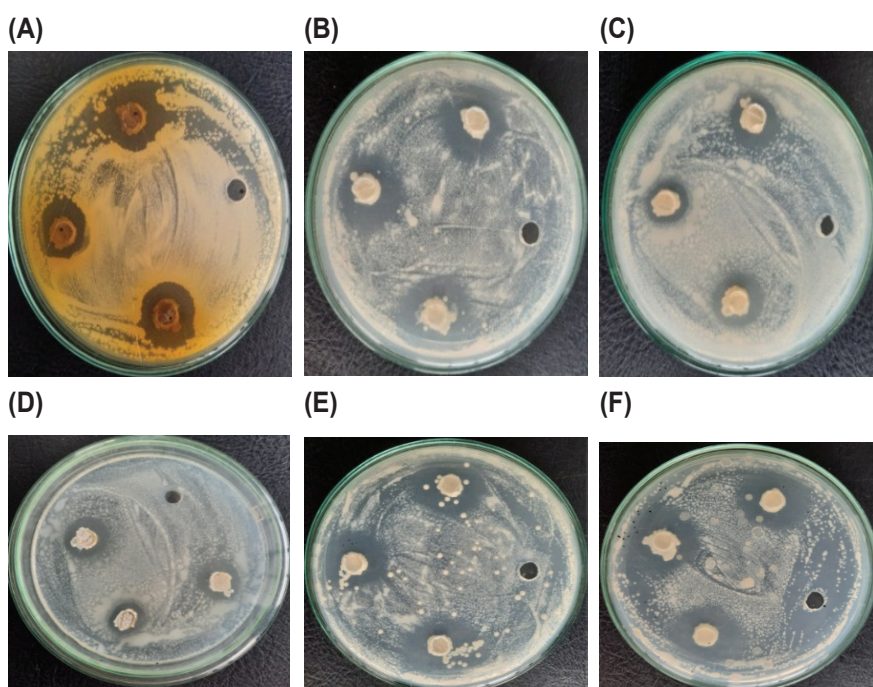
Tiến hành quan sát các chủng phân lập sau 7 ngày nuôi cấy trên môi trường Gause-I dưới kính hiển vi quang học có độ phóng đại vật kính 100 lần. Nhận thấy các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* phân lập được có đặc điểm hình dạng khuẩn ty, cuống sinh bào tử, hình dạng bào tử đặc trưng của xạ khuẩn. Đa số cuống sinh bào tử dạng thẳng, xoắn và bào tử được phát sinh bằng phân đốt (hình 2).



Hình 1. Kết quả phân lập một số chủng xạ khuẩn *Streptomyces*. (A) DS18.2, (B) DS30.6, (C) DS32.8, (D) DS12.5, (E) DS32.2, (F) DS33.19.



Hình 2. Sợi khuẩn khí sinh của một số chủng xạ khuẩn trên môi trường Gause-I sau 7 ngày nuôi cấy quan sát ở vật kính x100. (A) DS18.2; (B) DS30.6; (C) DS32.8.



Hình 3. Kết quả đối kháng trực tiếp của các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* phân lập với vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto trên môi trường SPA sau 72 giờ ở 28°C. (A) Chủng DS18.2, (B) DS30.6, (C) DS32.8, (D) DS12.5, (E) DS32.2, (F) DS33.19.

Bảng 2. Kết quả đối kháng trực tiếp của một số chủng xạ khuẩn *Streptomyces* phân lập được với vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto.

TT	Ký hiệu	Kích thước vòng kháng khuẩn (mm) (phương pháp đối kháng trực tiếp)
1	DS18.2	15,78 ^b ±1,06
2	DS30.6	18,44 ^a ±0,41
3	DS32.8	12,00 ^c ±0,53
4	DS12.5	12,67 ^c ±0,78
5	DS32.2	16,00 ^b ±0,78
6	S33.19	17,00 ^{ab} ±0,91

^{abcd}: Các ký tự theo hàng dọc khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa $p \leq 0,05$.

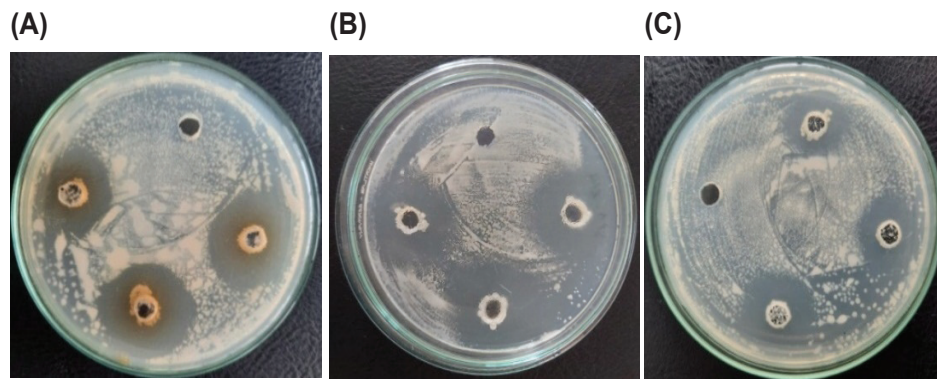
3.2. Kết quả đối kháng trực tiếp của các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* với vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto

Các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* phân lập được nuôi cấy ở 28°C trong 7 ngày bằng phương pháp cấy ria trên môi trường Gause-I, sau đó được sử dụng để tiến hành thử đối kháng *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto bằng phương pháp đối kháng trực tiếp đặt thời thạch trên môi trường SPA. Kết quả sàng lọc cho thấy, có 82/125 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* phân lập được không có khả năng đối kháng chống lại vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto chiếm tỉ lệ là 65,6%, có 43 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* có khả năng đối kháng vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* chiếm tỉ lệ là 34,4%. Trong đó, 6 chủng xạ khuẩn *Streptomyces*: DS18.2; DS30.6; DS32.8; DS12.5; DS32.2 và DS33.19 có khả năng đối kháng vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto mạnh được tiếp tục sàng lọc qua phương pháp đối kháng gián tiếp (bảng 2, hình 3).

Kết quả thí nghiệm (bảng 2) cho thấy, cả 6 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* đều có khả năng đối kháng mạnh với vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto và có sự khác biệt rõ rệt về khả năng đối kháng của từng chủng. Trong đó, 03 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* có khả năng đối kháng mạnh hơn với vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto là chủng DS30.6, DS33.19, DS32.2 với kích thước vòng kháng khuẩn lần lượt tương ứng là 18,44; 17,00; 16,00 mm. Trong đó, chủng xạ khuẩn *Streptomyces* DS30.6 có khả năng đối kháng trực tiếp với vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto mạnh nhất, có sự khác biệt hoàn toàn về mặt thống kê so với các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* còn lại. Các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* còn lại có kích thước vòng kháng khuẩn dao động 12,00-15,78 mm.

3.3. Kết quả đối kháng gián tiếp của các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* với vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto

Cả 6 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* được tuyển chọn trong đối kháng trực tiếp được đánh giá khả năng sinh hoạt chất đối kháng vi khuẩn *R. pseudosolanacearum*



Hình 4. Kết quả sinh hoạt chất đối kháng của các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* với vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto trên môi trường SPA sau 48 giờ ở 28°C. (A) Chủng DS18.2, (B) DS30.6, (C) DS32.8.

Descriptions	Graphic Summary	Alignments	Taxonomy					
Sequences producing significant alignments								
Download Select columns Show 100								
☐ select all 15 sequences selected								
GenBank Graphics Distance tree of results MSA Viewer								
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☐ Streptomyces sp. strain AH11801 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Streptomyces sp.	2619	2619	100%	0.0	100.00%	1436	MH128096.1
☒ Streptomyces noursei strain CK-15 chromosome, complete genome	Streptomyces n...	2619	18332	100%	0.0	100.00%	9336218	CP026094.1
☐ Streptomyces sp. strain XT34 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Streptomyces sp.	2619	2619	100%	0.0	100.00%	1455	PP218372.1
☒ Streptomyces noursei strain XAS3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Streptomyces n...	2619	2619	100%	0.0	100.00%	1526	OR889528.1
☒ Streptomyces noursei strain C27 chromosome, complete genome	Streptomyces n...	2619	18188	100%	0.0	100.00%	9827936	CP119144.1

Hình 5. Mức độ tương đồng trình tự nucleotide gen 16S rRNA của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* DS30.6 trên GenBank (NCBI).

T2C-Rasto bằng phương pháp khuếch tán qua lỗ thạch thông qua dịch tiết ra của các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* trên môi trường Gause-I lỏng được nuôi ở 28°C trong 14 ngày. Kết quả thí nghiệm (bảng 3) cho thấy, cả 6 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* đều có khả năng sinh hoạt chất đối kháng mạnh với vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto và có sự khác biệt rõ rệt ở từng chủng. Trong đó, 03 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sinh hoạt chất đối kháng mạnh nhất là chủng DS30.6, DS32.8, DS18.2 với kích thước vòng kháng khuẩn lần lượt là 24,44; 21,56; 22,67 mm (hình 4). Các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* còn lại có kích thước vòng kháng khuẩn dao động 13,00-17,78 mm.

Bảng 3. Kết quả đối kháng gián tiếp của một số chủng xạ khuẩn *Streptomyces* với vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto.

STT	Ký hiệu	Kích thước vòng kháng khuẩn (mm) (phương pháp đối kháng gián tiếp)
1	DS12.5	14,67 ^a ±0,53
2	DS18.2	22,67 ^{cd} ±0,65
3	DS30.6	24,44 ^d ±0,60
4	DS32.2	17,78 ^b ±1,13
5	DS32.8	21,56 ^{cd} ±0,69
6	DS33.19	13,00 ^a ±0,58

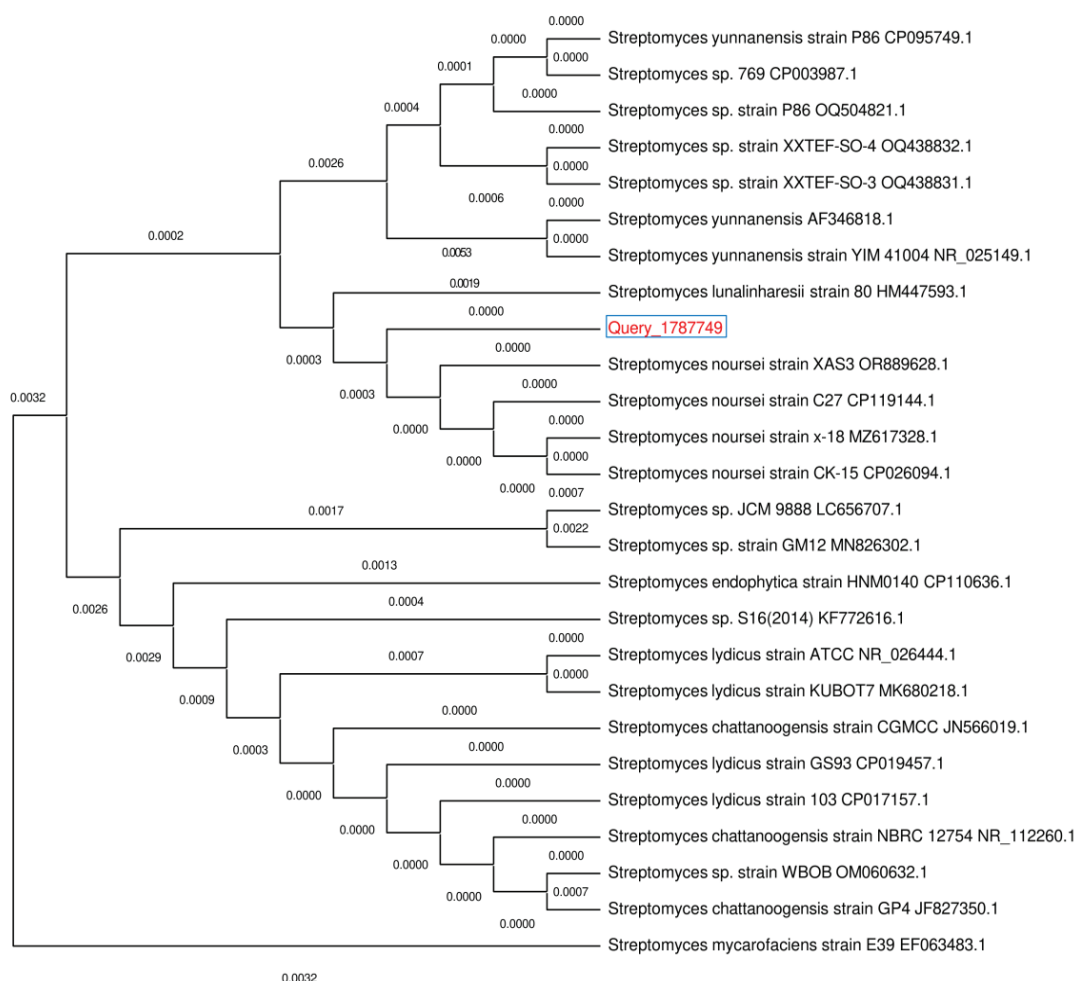
abcd: Các ký tự theo hàng dọc khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa $p \leq 0,05$.

Kết quả trên cho thấy, chủng xạ khuẩn *Streptomyces* DS30.6 có đường kính vòng kháng khuẩn cao nhất ở cả 02 thử nghiệm đánh giá đối kháng trực tiếp, gián tiếp và có sự khác biệt hoàn toàn về mặt thống kê. Đối chiếu với kết quả nghiên cứu của H.T. Giang và cs (2017) [10], đường kính vòng kháng vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh trên khoai lang của chủng *Streptomyces* TT44, TT9 và TT11 (lần lượt là 9,02; 6,74 và 6,50 mm) nhỏ hơn đường kính vòng kháng

vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto gây ra ở dưa leo của chủng *Streptomyces* DS30.6 (24,44 mm). Kết quả đối chiếu tương tự, đường kính vòng kháng vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh trên cà chua của chủng *Streptomyces maritimus* MSQ21 là 18,00 mm [8] và của chủng *Streptomyces* UT4A49 là 19,83 mm [18] nhỏ hơn đường kính vòng kháng vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto gây ra ở dưa leo của chủng *Streptomyces* DS30.6. Ngược lại, đối chiếu với kết quả của R. Rado và cs (2015) [19], đường kính vòng kháng vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh trên cây khoai tây của 03 chủng *Actinomycetes* E7, E13, S25 23,00-40,00 mm cao hơn nhiều so với đường kính vòng kháng vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto gây ra ở dưa leo của chủng *Streptomyces* DS30.6.

3.4. Kết quả định danh chủng xạ khuẩn *Streptomyces* DS 30.6 thông qua giải trình tự gen 16S rRNA

Từ kết quả trên, chủng xạ khuẩn *Streptomyces* DS30.6 có hoạt tính đối kháng cao nhất trong số các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* tuyển chọn, được tiến hành giải trình tự gen mã hóa 16S rRNA. Sau đó so sánh trình tự gen mã hóa 16S rRNA thu được với các trình tự gen mã hóa 16S rRNA trên



Hình 6. Cây phát sinh loài từ gen mã hóa trình tự 16S rRNA trên GenBank.

ngân hàng gen NCBI GenBank. Kết quả cho thấy, trình tự gen 16S rRNA của chủng *Streptomyces* S30.6 tương đồng với trình tự gen 16S rRNA của 03 chủng *S. noursei* CK-15, *S. noursei* XAS3 và *S. noursei* C27 với độ tương đồng là 100% (trình tự 1418 bp được dùng để so sánh) (hình 5). Vì vậy chủng xạ khuẩn *Streptomyces* DS 30.6 được đặt tên là *S. noursei* DS30.6.

Để làm rõ mối quan hệ giữa chủng xạ khuẩn *S. noursei* DS30.6 với các loài thuộc dòng này, cây phát sinh loài được thiết lập bằng phần mềm MEGA11, dựa vào trình tự gen 16S rRNA của các chủng thuộc loài *S. noursei*, lấy từ ngân hàng gen NCBI. Kết quả cho thấy, chủng xạ khuẩn *S. noursei* DS30.6 thu thập tại ĐBSCL nằm hoàn toàn trong nhánh tiến hóa của loài *S. noursei*, với khoảng cách khác biệt đáng tin cậy <0,005 (hình 6).

Chủng xạ khuẩn *S. noursei* được cho là tác nhân sinh học tiềm năng kiểm soát nấm *Aspergillus niger* trên cây thuốc và thảo mộc [20], kiểm soát 02 loại vi nấm *Colletotrichum*

acutatum và *Colletotrichum gloeosporioides* gây hại trên họ cây có múi [21]. Do đó, có thể xác định chủng *S. noursei* DS30.6 là chủng có ích, có tiềm năng trong việc kiểm soát bệnh héo xanh do vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto gây ra trên dưa leo ở ĐBSCL.

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, 125 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* được phân lập, trong đó 43 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* có khả năng đối kháng vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto. Tuyển chọn được 03 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* có khả năng đối kháng vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto mạnh là chủng *Streptomyces* S30.6, S18.2, S32.8 với kích thước vòng kháng khuẩn lần lượt là 24,44; 22,67; 21,56 mm. Chủng xạ khuẩn *Streptomyces* DS30.6 đối kháng mạnh nhất với vi khuẩn *R. pseudosolanacearum* T2C-Rasto, được xác định thuộc loài *Streptomyces noursei* dựa trên phân tích trình tự gen 16S rRNA.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] T.T.T. Giang, H.K. Toan, N.D. Thi, et al. (2021), “Study on the growth, development, yield and quality of some cucumber varieties in Thua Thien Hue province”, *Hue University of Agriculture and Forestry Journal of Agricultural Science and Technology*, **5(3)**, pp.2555-2564 (in Vietnamese).
- [2] T.T.H. Hai, D.T. Thuy, N.T.T. Thuy, et al. (2018), “Aggressiveness and genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains from tomato in Vietnam”, *Indian Phytopathol*, **71(4)**, pp.599-610, DOI: 10.1007/s42360-018-0084-1.
- [3] L.T. Binh, N.B. Tho, T.M. Ngoc, et al. (2021), “Isolation and selection of antagonistic *Bacillus* sp. against *Ralstonia solanacearum* causing bacterial wilt disease in cucumber”, *Journal of Science Technology & Food - Ho Chi Minh City University of Food Industry*, **21(4)**, pp.85-93 (in Vietnamese).
- [4] R. Saputra, T. Arwiyanto, A. Wibowo (2020), “Biological control of *Ralstonia solanacearum* causes of bacterial wilt disease with *Pseudomonas putida* and *Streptomyces* spp. on some tomato varieties”, *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, **515**, pp.1-6, DOI 10.1088/1755-1315/515/1/012007.
- [5] M. Kaari, J. Joseph, R. Manikkam, et al. (2022a), “Anti-biofilm activity and biocontrol potential of *Streptomyces* cultures against *Ralstonia solanacearum* on tomato plants”, *Indian Journal of Microbiology*, **62(1)**, pp.32-39, DOI: 10.1007/s12088-021-00963-1.
- [6] X. Zhuang, C. Gao, C. Peng, et al. (2020), “Characterization of a novel endophytic actinomycete, *Streptomyces physcomitrii* sp. nov., and its biocontrol potential against *Ralstonia solanacearum* on tomato”, *Microorganisms*, **8(12)**, DOI: 10.3390/microorganisms8122025.
- [7] Y. Xue, M. Yang, S. Li, et al. (2019), “The antibiotic activity and mechanisms of active metabolites (*Streptomyces alboflavus* TD-1) against *Ralstonia solanacearum*”, *Biotechnology Letters*, **41**, pp.1213-1222, DOI: 10.1007/s10529-019-02726-x.
- [8] H.N.T. Nguyen, T.T.M. Ha, T.T.D. Luong, et al. (2023), “Biological characteristics and ability of *Streptomyces rochei* BT02 to inhibit the *Ralstonia solanacearum* causing bacterial wilt disease”, *Vietnam Journal of Science and Technology - MOST*, **65(7)**, pp.67-72, DOI: 10.31276/VJST.65(7).67-72 (in Vietnamese).
- [9] M.A Zaki, E.S.A. Saleh, M.M. Zaki, et al. (2022), “Antibacterial activity of a new strain of *Streptomyces maritimus* MSQ21 against *Ralstonia solanacearum*”, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **25(7)**, pp.642-653, DOI: 10.3923/pjbs.2022.642.653.
- [10] H.T. Giang, L.M. Tuong (2017), “Evaluation antibacterial activity of actinomycetes isolates on *Ralstonia solanacearum* causing bacterial wilt disease on sweet potato (*Ipomoea batatas*)”, *CTU Journal of Innovation and Sustainable Development*, **3**, pp.34-39 (in Vietnamese).
- [11] N.T.N. Bich, L.T.M. Cham, H.T. Loan, et al. (2020), “Screening for *Streptomyces* strains have the ability to antagonize *Erwinia carotovora* causing soft rot disease”, *2020 National Biotechnology Conference, Microbiological and Fermentation Technology*, pp.581-587 (in Vietnamese).
- [12] N.T.N. Anh, N.T.P. Thao, V.K. Thoa, et al. (2020), “Studying on biological characteristics and classification biodiversity radiation TT8.4 isolated from arable land in Quoc Oai, Hanoi”, *2020 National Biotechnology Conference, Microbiological and Fermentation Technology*, pp.402-408 (in Vietnamese).
- [13] O.S. Olanrewaju, O.O. Babalola (2019), “*Streptomyces*: Implications and interactions in plant growth promotion”, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **103(15)**, pp.1179-1188, DOI: 10.1007/s00253-018-09577-y.
- [14] R.E.D.L. Procópio, I.R.D. Silva, M.K. Martins, et al. (2012), “Antibiotics produced by *Streptomyces*”, *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, **16(5)**, pp.466-471, DOI: 10.1016/j.bjid.2012.08.014.
- [15] L.T. Binh, T.M. Ngoc, N.B. Tho, et al. (2023), “Draft genome sequencing data of the bacterial wilt, *Ralstonia pseudosolanacearum* T2C-Rasto, from *Cucumis sativus*, in An Giang province, Mekong delta - Southwest Vietnam”, *Data in Brief*, **48**, DOI: 10.1016/j.dib.2023.109252.
- [16] N.L. Dung, N.D. Quyen, P.V. Ty (2012), “Microbiology”, *Vietnam Education Publishing House*, pp.38-41 (in Vietnamese).
- [17] M. Kaari, J. Joseph, R. Manikkam, et al. (2022b), “Biological control of *Streptomyces* sp. UT4A49 to suppress tomato bacterial wilt disease and its metabolite profiling”, *Journal of King Saud University - Science*, **34**, DOI: 10.1016/j.jksus.2021.101688.
- [18] N.C. Minh, N.T. Thong, N.T.T. Hai, et al. (2023), “Isolation and identification of bacterial strains from moulted shrimp shells for chitosan degradation”, *Journal of Fisheries Science and Technology, Nha Trang University*, **2023(4)**, pp.45-53 (in Vietnamese).
- [19] R. Rado, B. Andrianarisoa, S. Ravelomanantsoa, et al. (2015), “Biocontrol of potato wilt by selective rhizospheric and endophytic bacteria associated with potato plant”, *Ajifand*, **15(1)**, pp.9762- 9776, DOI: 10.18697/ajifand.68.15005.
- [20] N.G. Allam, A.E.R. El-Shanshoury, H.A. Emara, et al. (2012), “Biological activity of *Streptomyces noursei* against ochratoxin A producing *Aspergillus niger*”, *African Journal of Biotechnology*, **11(3)**, pp.666-677.
- [21] S. Živković, S. Stojanović, Ž. Ivanović, et al. (2010), “Screening of antagonistic activity of microorganisms against *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides*”, *Archives of Biological Sciences, Belgrade*, **62(3)**, pp.611-623.