

NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG CHỨNG XẠ KHUẨN *Streptomyces griseus* VTCC 41724 TRONG PHÒNG CHỐNG BỆNH THỐI GỐC LÚA DO VI KHUẨN *Dickeya zae*

NGUYỄN THỊ HIẾU THU⁽¹⁾, NGUYỄN THỊ VÂN⁽¹⁾, NGUYỄN THỊ MỸ LỆ⁽¹⁾,
LẠI TIẾN DŨNG⁽²⁾, NGUYỄN KIM NỮ THẢO⁽³⁾, ĐINH THUÝ HẰNG⁽¹⁾

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh thối gốc lúa do *Dickeya zae* (trước đây là *Erwinia chrysanthemi* pv. *zae*) được phát hiện lần đầu tiên vào năm 1965 tại Indonesia. Năm 1977, bệnh tiếp tục xuất hiện tại Nhật Bản và nguyên nhân gây bệnh được xác định do vi khuẩn *Erwinia chrysanthemi* [1]. Biểu hiện đặc trưng của bệnh là phần gốc thân chuyển màu nâu sẫm có mùi thối, khiến cho cả khóm lúa bị thối nhũn và dễ bị nhổ khỏi đất. Bệnh thường gây chết rụi vào giai đoạn đẻ nhánh tối đa, lây lan nhanh, có thể bùng phát thành dịch và gây tổn thất nghiêm trọng [2, 3]. Bệnh thối gốc lúa khiến năng suất giảm từ 10% đến 30%, thậm chí trên 60% ở Trung Quốc và đe dọa các khu vực trồng lúa khác ở nhiều nước Đông Nam Á và châu Âu [4, 5]. Độ lực của các loài *Dickeya* chủ yếu do khả năng tiết các enzyme phân huỷ thành tế bào thực vật dẫn đến thối rữa [6]. *D. zae* có thể tồn tại trong nước tưới với mật độ dưới 10 tế bào/mL và nhanh chóng tăng lên 10^3 - 10^4 tế bào/mL khi có mặt tảo lam hoặc khi trời mưa [2]. Mầm bệnh có khả năng lây lan qua nước, tồn tại trên cỏ dại và tồn dư thực vật, làm tăng khó khăn trong việc phòng chống và kiểm soát bệnh. Ngoài cây lúa, *D. zae* còn có khả năng gây bệnh thối thân ngô và thối nhũn trên chuối, gây thiệt hại nặng nề cho ngành trồng ngô và chuối ở nhiều quốc gia [4, 5]. Nghiên cứu của Aeny *et al.* (2020) đã chứng minh *D. zae* cũng có thể gây bệnh ở nhiều loài thực vật khác, bao gồm: cần tây, xà lách xoăn, lô hội, đậu xanh, hành, ổi, cà chua, cà tím... [7]. Tại Việt Nam, bệnh thối gốc lúa do *D. zae* xuất hiện lần đầu tiên tại Trà Vinh và một số tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long từ năm 2009. Bệnh thường xuất hiện ở những ruộng lúa cấy dày và thừa đạm, làm cho gốc và rễ lúa bị thối, ngả màu nâu đen khiến cả bụi lúa bị chết khô, ảnh hưởng nghiêm trọng đến năng suất và sản lượng [3].

Các bệnh hại lúa do vi sinh vật (VSV) gây thiệt hại lớn về kinh tế cho các quốc gia trồng lúa, trong đó có Việt Nam [8]. Sử dụng các thuốc hoá học trong phòng trừ bệnh hại lúa là biện pháp được áp dụng rộng rãi tại nhiều vùng canh tác, tuy nhiên có tác động tiêu cực đến môi trường sinh thái và con người. Áp dụng kiểm soát sinh học là hướng phát triển nông nghiệp bền vững được quan tâm gần đây. Xạ khuẩn là nhóm vi sinh vật có khả năng sinh ra nhiều hoạt chất kháng khuẩn, bao gồm cả VSV gây bệnh thực vật. Một số loài xạ khuẩn có thể tồn tại ở môi trường khắc nghiệt, xâm nhiễm hiệu quả vùng rễ của nhiều loài thực vật, sản sinh các chất kích thích sinh trưởng thực vật, giúp cây tăng trưởng tốt và chống chịu với điều kiện bất lợi của môi trường [9].

Nhiều nghiên cứu về xạ khuẩn đối kháng các tác nhân gây bệnh thực vật đã được công bố [8, 9], tuy nhiên các nghiên cứu này chủ yếu tập trung vào khả năng kháng nấm bệnh, ít đề cập đến hoạt tính kháng vi khuẩn gây bệnh [10, 11]. Lưu Trần Đông và cs. (2020) đã điều tra khả năng đối kháng của 245 chủng xạ khuẩn bản địa

đối với năm loài nấm gây bệnh ở thực vật là *Colletotrichum gloeosporioides*, *Alternaria* sp., *Phytophthora capsici*, *Botrytis cinerea* và *Fusarium* sp. với tỷ lệ các chủng có hoạt tính khá cao, lần lượt là 22,5%, 15,9%, 9,8%, 8,6% và 3,7% [12]. Trong một nghiên cứu khác, khả năng kháng ba loại vi khuẩn gây bệnh thực vật bao gồm *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) gây bệnh bạc lá lúa, *Pseudomonas syringae* gây bệnh đốm lá và *Dickeya zeae* (Dz) gây bệnh thối gốc đã được điều tra ở trên 500 chủng xạ khuẩn bản địa lại cho tỷ lệ các chủng có hoạt tính đối kháng thấp hơn nhiều, tương ứng với mỗi loài vi khuẩn gây bệnh chỉ ở mức 3,6%, 1,4% và 0,8% [13]. Đáng chú ý là chủng xạ khuẩn *Streptomyces griseus* VTCC 41724 có khả năng kháng tốt cả ba loài vi khuẩn gây bệnh thực vật nói trên với đường kính vòng kháng lần lượt là 17, 11 và 13 mm, là đặc tính hiếm thấy ở xạ khuẩn.

Trong nghiên cứu này, hoạt tính kháng Dz của chủng VTCC 41724 được đánh giá chi tiết, do đặc tính này ở xạ khuẩn còn chưa được khai thác. Bên cạnh đó, khả năng kháng một số loài VSV gây bệnh ở thực vật khác của chủng này cũng được khảo sát để xác định phổ đối kháng, làm cơ sở để ứng dụng chủng trong kiểm soát sinh học.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Chủng xạ khuẩn *Streptomyces griseus* VTCC 41724, gọi tắt là chủng VTCC 41724 (trình tự gen 16S rDNA có mã GenBank là MW350041) được phân lập từ thối lá mục tại Vườn Quốc gia Phong Nha - Kẻ Bàng (Quảng Bình).

Các chủng VSV gây bệnh thực vật sử dụng trong nghiên cứu gồm chủng vi khuẩn *Dickeya zeae* DZ2Q do Phòng thí nghiệm Vi khuẩn học (Trung tâm Quốc tế về Kỹ thuật di truyền và Công nghệ sinh học ICGEB, Italia) cung cấp, và 04 chủng nấm gây bệnh thực vật là *Alternaria* sp. VTCC 31702, *Phytophthora capsici* VTCC 31701, *Colletotrichum gloeosporioides* VTCC 31705 và *Fusarium* sp. VTCC 31704 do Trung tâm nguồn gen VSV Quốc gia (VTCC) cung cấp.

Chế phẩm sinh học SGB chứa chủng *Streptomyces griseus* VTCC 41724 với mật độ $7,1 \times 10^8$ CFU/g. Giống lúa Bắc Thơm số 7 do Viện Bảo vệ thực vật cung cấp. Thuốc hoá học Kasumin 2L (thành phần hoạt chất kasugamycin 2%) do công ty Arysta (Nhật Bản) sản xuất.

Thí nghiệm đánh giá hiệu quả phòng trừ bệnh thối gốc lúa của chế phẩm SGB được thực hiện tại hệ thống nhà lưới thuộc Viện Bảo vệ thực vật trong thời gian từ ngày 26 tháng 2 đến ngày 8 tháng 6 năm 2021.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Đánh giá ảnh hưởng của các điều kiện nuôi cấy đến sinh trưởng và hoạt tính kháng vi khuẩn Dz

Các môi trường nuôi cấy được khảo sát gồm có môi trường YS (g/L: cao nấm men 2, tinh bột 10), môi trường SKS (g/L: glucose 10, bột yến mạch 10, bột đậu tương 10, tinh bột 10, peptone 5, CaCO₃ 3), môi trường ISP2 (g/L: cao nấm men 4,

cao malt 10, glucose 4), môi trường 2M (g/L: cao nấm men 2, bột đậu tương 15, tinh bột 10, CaCO_3 4) và môi trường 301 (g/L: cao nấm men 5, glucose 1, tinh bột 20, peptone 3, cao thịt 3, CaCO_3 4). Chuồng VTCC 41724 được nuôi trong các bình tam giác thể tích 250 mL chứa 75 mL một trong các môi trường trên ở dạng dịch thể, nhiệt độ nuôi cấy 28 - 30°C, lắc 160 vòng/phút, thời gian 5 ngày. Dịch nuôi cấy được lấy mẫu để xác định mật độ tế bào và đánh giá hoạt tính kháng vi khuẩn *Dz* bằng phương pháp khuếch tán trên thạch [14].

Khảo sát thời gian nuôi cấy: chủng VTCC 41724 được nuôi trong môi trường dịch thể phù hợp, lắc 160 vòng/phút ở 28 - 30°C và đánh giá mật độ tế bào và hoạt tính kháng vi khuẩn *Dz* trong dịch nuôi của ngày thứ 3 đến ngày thứ 6.

Khảo sát tỷ lệ tiếp giống: chủng VTCC 41724 được cấy vào môi trường dịch thể phù hợp với các tỷ lệ tiếp giống 1, 3, 5, 7%, nuôi lắc 160 vòng/phút ở 28-30°C. Lấy mẫu dịch nuôi ở thời điểm thích hợp, đã xác định trước, để đánh giá mật độ tế bào và hoạt tính kháng vi khuẩn *Dz*.

2.2.2. Đánh giá khả năng phòng chống bệnh thối gốc lúa do vi khuẩn *Dz* của chế phẩm SGB trong điều kiện nhà lưới

Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được thực hiện trong nhà lưới chống côn trùng trên giống lúa Bắc Thơm số 7. Mỗi công thức thí nghiệm gồm 02 ô (diện tích mỗi ô là 1 m², chiều dài × chiều rộng là 1 m × 1 m). Giống lúa thí nghiệm được cấy với mật độ 30 dảnh/m², khoảng cách cây cách cây là 15×15 cm, hàng cách hàng là 15×15 cm. Chế độ phân bón và chăm sóc theo quy trình thường quy đối với giống lúa Bắc Thơm số 7. Mực nước ô thí nghiệm được duy trì liên tục là 5 cm ở tất cả các ô trong suốt thời gian thí nghiệm.

Thí nghiệm được thực hiện với 3 công thức: CTTN - Bón chế phẩm sinh học SGB chứa chủng *Streptomyces griseus* VTCC 41724; CTHH - Phun thuốc Kasumin 2L theo khuyến cáo của nhà sản xuất (40 mL/bình 16 L); CTĐC - Đối chứng phun nước lã. Đối với lô thí nghiệm, hạt lúa đã nứt nanh được ngâm trong nước pha chế phẩm SGB theo tỷ lệ 1/5 (w/v) trong 30 phút trước khi gieo. Cây mạ 7 - 10 ngày tuổi được cấy vào các ô thí nghiệm đã được xử lý chế phẩm SGB theo tỷ lệ 1 g/m² trước khi cấy 2 ngày (mật độ VSV đạt 10⁸ CFU/m² đất). Bón bổ sung chế phẩm vào đất theo cùng tỷ lệ trên trước và sau khi nhiễm *Dz* hai ngày.

Lây bệnh nhân tạo cho cây

Khi cây lúa 25 ngày tuổi, tiến hành lây nhiễm *Dz*. Chủng vi khuẩn gây bệnh thối gốc lúa *Dickeya zeae* DZ2Q được nuôi lắc trên môi trường TSB ½ (g/L: tryptone 8,5; soytone 1,5; glucose 1,25; NaCl 2,5; K₂HPO₄ 1,25) ở nhiệt độ 30°C trong 24 giờ. Chính OD₆₀₀ tới 1 bằng cách pha loãng với môi trường TSB ½. Dùng kim tiêm vô trùng nhúng vào dịch nuôi *Dz* đã pha loãng và chích nhẹ vào thân gốc cây (phần thân sát mặt nước).

Đánh giá khả năng phòng bệnh thối gốc lúa

Đánh giá được tiến hành vào các ngày thứ 7, 11 và 15 sau khi lây nhiễm nhân tạo vi khuẩn *Dz* theo phương pháp 5 điểm chéo góc, mỗi điểm điều tra 1 khóm, không điều tra trên các khóm lúa cạnh mép ô thí nghiệm (số khóm điều tra/m² là 5 khóm). Đo đếm chiều dài vết bệnh và phân cấp theo cấp bệnh để tính toán tỷ lệ và chỉ số bệnh theo phương pháp điều tra phát hiện dịch hại lúa QCVN 01-38:2010/BNNT [15] (Cấp 1: < 1/4 diện tích thân lúa bị hại; Cấp 3: > 1/4 đến 1/2 diện tích thân lúa bị hại; Cấp 5: > 1/4 đến 1/2 diện tích thân lúa bị hại, cộng lá thứ 3, thứ 4 bị bệnh nhẹ; Cấp 7: > 1/2 đến 3/4 diện tích thân lúa bị hại và lá phía trên bị hại; Cấp 9: vết bệnh leo tới đỉnh cây lúa, các lá nhiễm nặng, một số cây chết).

Các chỉ tiêu đánh giá

$$\text{Tỷ lệ bệnh (\%)} = \frac{\text{Số thân lúa bị bệnh}}{\text{Số thân lúa điều tra}} \times 100$$

$$\text{Chỉ số bệnh CSB (\%)} = \frac{(n_1 * 1 + 3 * n_3 + 5 * n_5 + 7 * n_7 + 9 * n_9)}{N * K} \times 100$$

Trong đó: $n_1, n_3, \dots, n_9$ lần lượt là số thân bị bệnh trên các khóm ở các cấp bệnh. N là tổng số thân điều tra. K là cấp bệnh cao nhất quan sát được.

$$\text{Hiệu lực phòng trừ theo Abbot [16]: } H (\%) = \frac{(D_c - D_t)}{D_c} \times 100$$

Trong đó: H là hiệu lực ức chế vi khuẩn gây bệnh. D_c là chiều dài vết bệnh ở công thức đối chứng. D_t là chiều dài vết bệnh ở công thức thí nghiệm. Chiều dài vết bệnh (màu đen) được đo từ vết chích ban đầu đến điểm cuối của vết bệnh dọc theo thân cây lúa lên phía đầu mút lá sau 7, 11 và 15 ngày.

2.2.3. Đánh giá hoạt tính kháng vi nấm gây bệnh thực vật

Hoạt tính kháng nấm gây bệnh thực vật được đánh giá bằng phương pháp thời thạch [14], tóm tắt như sau: Chủng xạ khuẩn VTCC 41724 được nuôi cấy trên môi trường thạch đĩa YS (g/L: cao nấm men 2, tinh bột 10, agar 15) trong 5 ngày ở 28 - 30°C. Chuẩn bị đĩa petri chứa môi trường PDA (khoai tây 200 g, glucose 20 g, thạch 15 g, nước cất 1 L). Lấy 1 thời thạch (đường kính 5 mm) từ khuẩn lạc vi nấm kiểm định (*Alternaria* sp. VTCC 31702, *C. gloeosporioides* VTCC 31705, *Fusarium* sp. VTCC 31704, *P. capsici* VTCC 31701) đặt vào giữa đĩa petri theo tư thế úp để sợi nấm và bào tử tiếp xúc với môi trường. Sau đó, một thời thạch (đường kính 5 mm) có sinh khối của chủng xạ khuẩn VTCC 41724 được đặt vào vị trí cách tâm đĩa 2 cm. Ủ đĩa trong 2 ngày ở 25°C. Tỷ lệ kháng của chủng xạ khuẩn đối với chủng nấm được tính theo công thức:

$$S = \frac{R - r}{R} \times 100\%$$

Trong đó: S là phần trăm ức chế, R là bán kính khuẩn lạc nấm ở phía đối diện vị trí đặt thời thạch xạ khuẩn, r là bán kính khuẩn lạc nấm ở phía đặt thời thạch xạ khuẩn.

2.2.4. Xử lý số liệu

Số liệu thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Excel và IRRISTAT 5.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

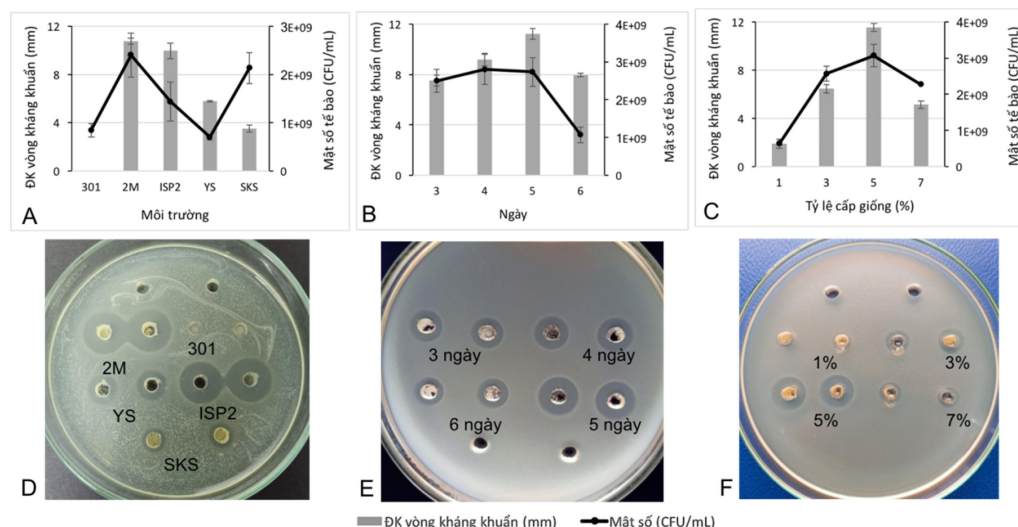
3.1. Ảnh hưởng của các điều kiện nuôi cấy đến sinh trưởng và hoạt tính kháng *Dz* của chủng VTCC 41724

Trong số các môi trường thử nghiệm YS, SKS, ISP2, 2M và 301, hai môi trường 2M và ISP2 là phù hợp nhất, cho chủng VTCC 41724 có hoạt tính kháng khuẩn cao nhất với đường kính vòng kháng đạt tương ứng 10,8 mm và 10 mm. Hoạt tính kháng *Dz* của chủng VTCC 41724 thấp hơn khi nuôi cấy ở các môi trường YS, SKS và không có ở môi trường 301. Mật độ tế bào của chủng khi nuôi trong môi trường 2M đạt $2,4 \times 10^9$ CFU/mL, cao hơn khi nuôi trong môi trường ISP2 ($1,4 \times 10^9$ CFU/mL) (hình 1A, 1D). Tuy nhiên, môi trường 2M gồm các thành phần chính là bột đậu tương và tinh bột có giá thành thấp hơn môi trường ISP2 (cao malt, glucose). Do đó, môi trường 2M được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

Trong thí nghiệm xác định thời gian nuôi cấy thích hợp nhất, chủng VTCC 41724 được nuôi trong môi trường 2M với thời gian từ 3 đến 6 ngày. Kết quả cho thấy, ở thời điểm 5 ngày chủng VTCC 41724 đạt mật độ tế bào $2,7 \times 10^9$ CFU/mL và kích thước vòng kháng *Dz* là 11,2 mm, cao nhất trong các mức thời gian khảo sát (hình 1B, 1E).

Tỷ lệ tiếp giống 5% được xác định là thích hợp nhất đối với chủng VTCC 41724, theo đó chủng đạt mật độ tế bào $3,1 \times 10^9$ CFU/mL và đường kính vòng kháng *Dz* là 11,7 mm (hình 1C, 1F).

Dựa trên các kết quả thu được, chủng VTCC 41724 đã được sử dụng để tạo chế phẩm sinh học SGB dạng bột với mật độ tế bào $7,1 \times 10^8$ CFU/g và tiến hành thử nghiệm khả năng kiểm soát bệnh thối gốc lúa do *Dz* trong điều kiện nhà lưới.

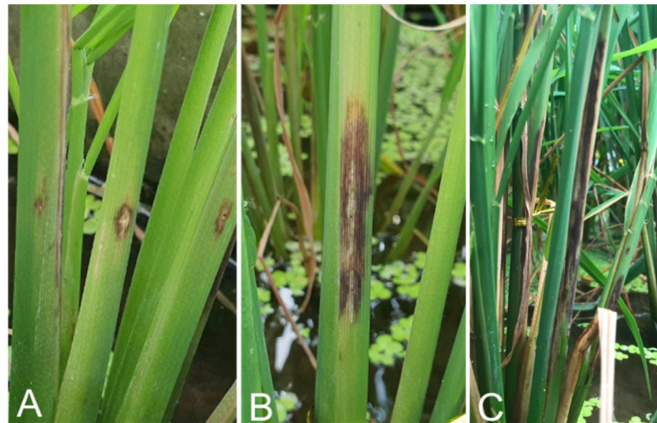


Hình 1. Ảnh hưởng của các điều kiện nuôi cấy tới mật độ tế bào và hoạt tính kháng *Dz* của chủng VTCC 41724: A, D - Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy; B, E - Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy; C, F - Ảnh hưởng của tỷ lệ tiếp giống

3.2. Đánh giá hiệu quả kiểm soát bệnh thối gốc lúa của chế phẩm SGB trong điều kiện nhà lưới

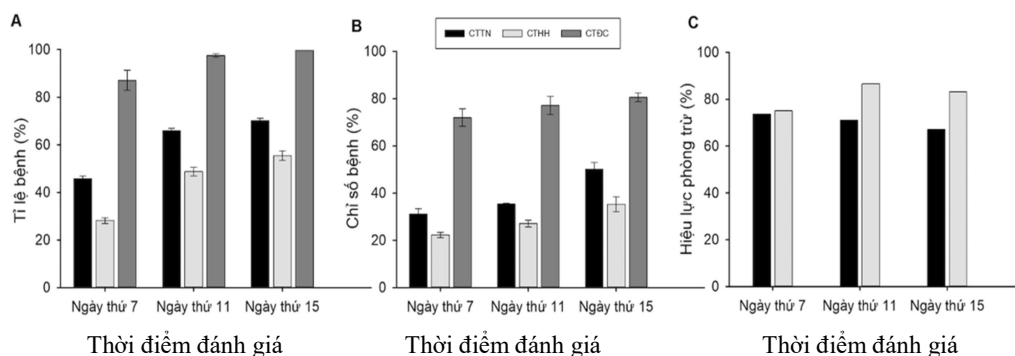
Thí nghiệm nhà lưới được theo dõi trong 15 ngày sau khi lây bệnh nhân tạo, tiến triển của bệnh thối gốc được đánh giá dựa trên các biểu hiện đặc trưng của bệnh là vết màu tối trên thân, chuyển sang sẫm màu và lan dọc theo thân lúa (định tính) và đo chiều dài vết tổn thương (định lượng). Nhìn chung, bệnh tiến triển nhanh trong điều kiện thời tiết nắng nóng với triệu chứng bệnh xuất hiện nhanh và rõ ràng. Điều này phù hợp với các nghiên cứu của Perombelon và Hyman khi cho rằng nhiệt độ là yếu tố quan trọng nhất đối với khả năng gây bệnh của các loài *Dickeya* [17]. Bên cạnh đó, sự vận chuyển chất nhanh trong các hệ thống của cây cũng là điều kiện thuận lợi cho *Dickeya* spp. gây bệnh [18].

Sau 4 ngày nhiễm *Dz*, biểu hiện bệnh thối gốc lúa đã xuất hiện ở cả ba công thức với triệu chứng điển hình là vết nâu nâu sẫm đến thâm đen dọc theo thân cây và có xu hướng lan nhanh về phía ngọn cây (hình 2). Đó là do *Dz* có khả năng tiết các enzyme gây phân hủy thành tế bào thực vật, tạo màu thâm đen và có mùi thối đặc trưng.



Hình 2. Biểu hiện của bệnh thối gốc lúa do *Dz* trong thí nghiệm nhà lưới: đốm nhỏ màu nâu sẫm (A) lan theo chiều dọc thân cây (B) khiến cho hầu như toàn bộ thân cây chuyển sang màu thâm đen (C)

Sau 7 ngày gây nhiễm *Dz*, tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh được ghi nhận cao nhất là 87,09% và 72,09% ở công thức đối chứng, tăng lên 100% và 80,59% sau 15 ngày theo dõi. Không những vậy, vết bệnh lan nhanh và rộng với trên 20% số thân lúa ở cấp số bệnh cao nhất. Ở CTHH sử dụng thuốc hóa học, tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh ở mức thấp nhất so với hai công thức còn lại, tương ứng là 55,38% và 35,32% sau 15 ngày theo dõi (hình 3A). Đối với CTTN bón chế phẩm sinh học SGB chứa chủng VTCC 41724, khoảng 70% số dảnh lúa có biểu hiện bệnh. Tuy nhiên, sự có mặt của xạ khuẩn đối kháng đã hạn chế tốc độ lây lan của bệnh, chỉ số bệnh duy trì ở mức 50% sau 15 ngày theo dõi (hình 3B).



Hình 3. Hiệu quả phòng trừ bệnh thối gốc lúa do *Dz* trong thí nghiệm nhà lưới: CTTN (công thức thí nghiệm), CTHH (công thức hoá học), CTĐC (công thức đối chứng)

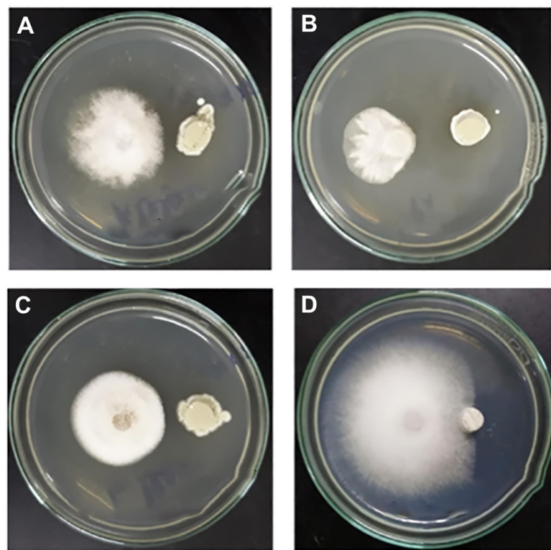
Hiệu quả phòng trừ bệnh cao nhất là ở CTHH xử lý bằng thuốc Kasumin 2L, đạt 75,12% ở thời điểm 7 ngày sau nhiễm và duy trì tốt trong suốt quá trình điều tra (hình 3C). CTTN xử lý bằng chế phẩm SGB cho khả năng kiểm soát bệnh thối gốc lúa đạt hiệu quả 73,56%, gần tương đương với CTHH, tuy nhiên hiệu quả giảm nhẹ ở ngày thứ 11 và 15 sau khi lây nhiễm bệnh nhân tạo (hình 3C).

Kết quả này gợi mở phương thức áp dụng các tác nhân kiểm soát sinh học từ giai đoạn đầu và ở tần suất cao hơn trong giai đoạn cây nhiễm bệnh để đạt hiệu quả phòng trừ bệnh cho tới khi cây lúa vượt qua giai đoạn dễ tổn thương và có khả năng chống chịu bệnh.

3.3. Đánh giá hoạt tính kháng vi nấm gây bệnh thực vật của chủng VTCC 41724

Chủng VTCC 41724 có khả năng ức chế tất cả 4 chủng vi nấm gây bệnh sử dụng trong thí nghiệm. Chủng có hoạt tính đối kháng rất mạnh đối với loài *P. capsici* gây bệnh thối nhũn gốc (tỷ lệ giảm kích thước khuẩn lạc nấm là $75\% \pm 1$) và *Alternaria* sp. gây bệnh đốm lá (tỷ lệ giảm kích thước khuẩn lạc nấm là $50\% \pm 1$). Đối với loài *C. gloeosporioides* gây bệnh thán thư và *Fusarium* sp. gây bệnh thối thân trên cây măng tây, chủng này thể hiện hoạt tính đối kháng thấp hơn, với tỷ lệ giảm kích thước khuẩn lạc nấm lần lượt là $32\% \pm 0,5$ và $29\% \pm 1,4$ (hình 4).

Loài *S. griseus* được ghi nhận trong một vài công bố trước đây về khả năng đối kháng với một số loài nấm gây bệnh thực vật như *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Alternaria alternate*, *Pythium* spp., *Aspergillus* spp.,..., ức chế sự nảy mầm và phát triển của bào tử *Penicillium chrysogenum* và *Botrytis cinerea* nhờ sinh ra các chất kháng khuẩn, enzymes và các hợp chất dễ bay hơi [8]. Cụ thể, chủng *S. griseus* MTCC-4734 có khả năng kháng các vi nấm gây bệnh trên cà chua bao gồm *Fusarium oxysporum* (61%), *A. alternate* (72%), *R. solani* (52%) và *Fusarium solani* (77%) [19]. Nguyen *et al.* (2012) đã phân lập từ mẫu đất chủng *S. griseus* H7602 có khả năng kháng *P. capsici*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopescici* và *R. solani* với tỷ lệ kháng lần lượt là 53%, 42% và 30% [20].



Hình 4. Hoạt tính kháng các loài vi nấm gây bệnh thực vật của chủng VTCC 41724: (A) *Alternaria* sp.; (B) *Phytophthora capsici*; (C) - *Colletotrichum gloeosporioides*; (D) *Fusarium* sp.

Từ các kết quả đã thu được cho thấy, chủng VTCC 41724 có khả năng kháng một số loại vi nấm gây bệnh thực vật khá cao. Đặc biệt là chủng VTCC 41724 ngoài khả năng kháng vi nấm còn kháng các vi khuẩn gây bệnh thực vật như *Xoo*, *Dz*, *P. syringae* [13]. Với đặc tính sinh học quý này, chủng *S. griseus* VTCC 41724 có tiềm năng ứng dụng cao trong kiểm soát sinh học đối với các bệnh hại do vi sinh vật gây ra ở cây trồng.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Chủng xạ khuẩn *Streptomyces griseus* VTCC 41724 có hoạt tính kháng phổ rộng đối với các vi nấm và vi khuẩn gây bệnh trên thực vật, trong đó có vi khuẩn *Dickeya zeae* gây bệnh thối gốc lúa. Điều kiện thích hợp nhất cho chủng *S. griseus* VTCC 41724 sinh trưởng và sinh hoạt chất kháng *Dickeya zeae* là được nuôi trong môi trường dịch thể 2M với tỷ lệ tiếp giống 5%, lắc 160 vòng/phút trong thời gian 5 ngày, ở nhiệt độ 28-30°C. Thử nghiệm chế phẩm sinh học SGB chứa chủng *Streptomyces griseus* VTCC 41724 ở mật độ tế bào $7,1 \times 10^8$ CFU/g để kiểm soát bệnh thối gốc lúa trong điều kiện nhà lưới cho hiệu quả kiểm soát 73,56% so với công thức đối chứng, gần tương đương với công thức sử dụng thuốc hóa học Kasumin 2L áp dụng trong điều kiện tương tự.

4.2. Đề nghị

Nghiên cứu hoàn thiện quy trình tạo chế phẩm sinh học từ chủng *Streptomyces griseus* VTCC 41724 và tiếp tục thử nghiệm đánh giá hiệu quả trong điều kiện nhà lưới và đồng ruộng để tiến tới áp dụng chế phẩm vào sản xuất.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được thực hiện bởi nhiệm vụ Điều tra cơ bản năm 2020 “Điều tra tiềm năng hoạt tính sinh học của nguồn gen xạ khuẩn của Việt Nam nhằm khai thác phục vụ nền nông nghiệp hữu cơ: phát triển chế phẩm vi sinh kháng vi khuẩn gây bệnh thực vật”.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Goto M., *Bacterial foot rot of rice caused by a strain of erwinia chrysanthemi*, Phytopathology, 1979, **69**(3):213.
2. Goto M., *Fundamentals of bacterial plant pathology*, Academic Press, 1992.
3. Trần Hưng Minh, Ngô Văn Chí, Phạm Minh Phú, Nguyễn Thị Thu Nga, *Phân lập và bước đầu đánh giá hiệu quả của thực khuẩn thể trong phòng trừ bệnh thối gốc lúa do vi khuẩn Erwinia chrysanthemi*, Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, 2016, Số chuyên đề: Nông nghiệp (Tập 3), tr.185-192.
4. Hu M., Li J., Chen R., Li W., Feng L., Shi L., Xue Y., Feng X., Zhang L., Zhou J., *Dickeya zae strains isolated from rice, banana and clivia rot plants show great virulence differentials*, BMC Microbiol., 2018, **18**:136.
5. Li J., Hu M., Xue Y., Chen X., Lu G., Zhang L., Zhou J., *Screening, identification and efficacy evaluation of antagonistic bacteria for biocontrol of soft rot disease caused by Dickeya zae*, Microorganisms, 2020, **8**:697.
6. Feng L., Schaefer A. L., Hu M., Chen R., Greenberg E. P., Zhou J., *Virulence factor identification in the banana pathogen Dickeya zae MS2*, Appl. Environ. Microbiol., 2019, **85**:e1611-e1619.
7. Aeny T. N., Suharjo R., Ginting C., Hapsoro D., Niswati A., *Characterization and host range assessment of Dickeya zae associated with pineapple soft rot disease in East Lampung, Indonesia*, Biodiversitas, 2020, **21**:587-595.
8. Newitt J. T., Prudence S. M. M., Hutchings M. I., Worsley S. F., *Biocontrol of cereal crop diseases using Streptomyces*, Pathogens, 2019, **8**(2):78.
9. Chaurasia A., Meena B. R., Tripathi A. N., Pandey K. K., Rai A. B., Singh B., *Actinomycetes: An unexplored microorganism for plant growth promotion and biocontrol in vegetable crops*, World J. Microbiol Biotechnol, 2018, **34**:132.
10. Hop D. V., Phuong H. T., Quang N. D., Ton P. H., Ha T. H., Hung N. V., Quy N. T. K., Dao N. T. A., Thom V. T., *Biological control of Xanthomonas oryzae pv. oryzae causing rice bacterial blight disease by Streptomyces toxytricini VN08-A-12, isolated from soil and leaf-litter samples in Vietnam*, Biocontrol Sci., 2014, **19**:103-111.
11. Aeny T. N., Prasetyo J., Suharjo R., Dirmawati S. R., Efri, Niswati A., *Isolation and Identification of actinomycetes potential as the antagonist of Dickeya zae pineapple soft rot in Lampung, Indonesia*, Biodiversitas, 2018, **19**:2052-2058.
12. Lưu Trần Đông, Vũ Sơn Tùng, Nguyễn Thị Vân, Đinh Thị Ngọc Mai, Nguyễn Hồng Minh, Nguyễn Kim Nữ Thảo, *Sàng lọc các chủng kháng nấm gây bệnh thực vật và mô tả chi tiết chủng Streptomyces hydrogenans VTCC 41117 có hoạt tính cao*, Tạp chí Khoa học và Công nghệ nhiệt đới, 2019, **18**:70-81.

13. Phạm Thị Huệ, Nguyễn Thị Vân, Đinh Thị Ngọc Mai, Nguyễn Hồng Minh, Nguyễn Kim Nữ Thảo, *Nghiên cứu hoạt tính kháng một số vi khuẩn gây bệnh thực vật của các chủng xạ khuẩn phân lập ở Việt Nam*, Tạp chí Khoa học và Công nghệ nhiệt đới, 2020, **5**:60-67.
14. Dhanasekaran D., Thajuddin N., Panneerselvam A., *Applications of actinobacterial fungicides in agriculture and medicine. In: Fungicides for plant and animal diseases*, In Tech Rijeka, 2012, pp.29-54.
15. Quy chuẩn Việt Nam QCVN 01-38:2010/BNNPTNT, *Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây trồng*, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2010.
16. Abbott W. S., *A method of computing the effectiveness of an insecticide*, J. Am. Mosq. Control Assoc., 1987, **3**(2):302-303.
17. Perombelon M. C. M., Hyman L. J., *A rapid method for identifying and quantifying soft rot erwinias directly from plant material based on their temperature tolerance and sensitivity to erythromycin*, J. Appl. Bacteriol., 1986, **60**:61-66.
18. Toth I., Van Der Wolf J., Saddler G., Lojkowska E., Hélias V., Pirhonen M., Tsrer Lahkim L., Elphinstone J., *Dickeya species: an emerging problem for potato production in Europe*, Plant Pathol., 2011, **60**(3):385-399.
19. Anitha A., Rebeeth M., *In vitro antifungal activity of Streptomyces griseus against phytopathogenic fungi of tomato field*, Acad. J. Plant. Sci., 2009, **2**(2):119-123.
20. Nguyen X. H., Naing K. W., Lee Y. S., Tindwa H., Lee G. H., Jeong B. K., Ro H. M., Kim S. J., Jung W. J., Kim K. Y., *Biocontrol potential of Streptomyces griseus H7602 against root rot disease (Phytophthora capsici) in pepper*, Plant Pathol. J., 2012, **28**:282-289.

SUMMARY

STUDY ON APPLICATION OF *Streptomyces griseus* VTCC 41724 IN CONTROLLING THE RICE FOOT ROT CAUSING BY *Dickeya zeae*

Foot rot disease caused by *Dickeya zeae* in rice has been recently concerned in Vietnam, though there has not been a specific prevention and treatment measure. *Streptomyces griseus* strain VTCC 41724 has been previously reported for the antagonistic properties against *Dickeya zeae* and other plant pathogenic bacteria, it is therefore investigated for the capability of controlling this disease. Thus, the strain is selected for further studies aiming to application in organic rice cultivation. In this study, the appropriate culture conditions for strain VTCC 41724 to grow and release bioactive substances inhibiting *D. zeae* were determined, i.e. 2M medium, 5 days, 5% inoculum, and shaking at 160 rpm at 30°C. A microbial formulation SGB was created from biomass of strain VTCC 41724 (7.1×10^8 CFU/g) and tested for its

effectiveness in controlling the foot rot disease caused by *Dickeya zeae* under net house conditions. The experiment was carried out on Bac Thom No.7 rice variety, applied the SGB formulation in the soil before the seed and during the disease symptoms, has resulted in a protective efficiency as high as 73.56%. In addition, strain *Streptomyces griseus* VTCC 41724 also showed the antagonistic activity against harmful fungi including *Phytophthora capsici*, *Alternaria* sp., *Colletotrichum gloeosporioides* and *Fusarium* sp. This preliminary results showed the potential application of actinomycetes in biological control of foot rot caused by *D. zeae*, and other microbially mediated plant diseases.

Keywords: Biocontrol, *Dickeya zeae*, Foot rot disease, *Streptomyces griseus*; Bệnh thối gốc lúa, kiểm soát sinh học.

Nhận bài ngày 26 tháng 7 năm 2021

Phản biện xong ngày 09 tháng 8 năm 2021

Hoàn thiện ngày 20 tháng 8 năm 2021

⁽¹⁾ Viện Vi sinh vật và Công nghệ sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội

⁽²⁾ Viện Bảo vệ thực vật, Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn

⁽³⁾ Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội