Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn
pISSN: 2588-1191; eISSN: 2615-9708
Tập 133, Số 3B, 2024, Tr. 143–153, DOI: 10.26459/hueunijard.v133i3B.7442

KHẢ NĂNG KHÁNG NẤM *Colletotrichum* sp. GÂY BỆNH THÁN THƯ TRÊN XOÀI SAU THU HOẠCH CỦA DỊCH NGOẠI BÀO *Streptomyces murinus* NARZ

Lê Thanh Long*, Nguyễn Thị Thuỷ Tiên, Nguyễn Thy Đan Huyền, Nguyễn Hiền Trang

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, 102 Phùng Hưng, Huế, Việt Nam

* Tác giả liên hệ: Lê Thanh Long <lethanhlong@huaf.edu.vn>
(Ngày nhận bài: 2-3-2024; Ngày chấp nhận đăng: 3-6-2024)

Tóm tắt. Bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum* sp. là bệnh gây hại phổ biến trên xoài sau thu hoạch. Trong nghiên cứu này, chủng xạ khuẩn *Streptomyces murinus* NARZ được sử dụng để đánh giá khả năng kháng nấm *Colletotrichum gloeosporioides* D3 được phân lập từ quả xoài nhiễm bệnh thán thư thông qua đường kính tản nấm ở điều kiện *in vitro*. Kết quả cho thấy, dịch ngoại bào của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ ở tỷ lệ từ 20-50% có tác dụng kháng nấm *C. gloeosporioides* D3 tốt hơn mẫu bổ sung thuốc diệt nấm Nystatin (10 µg/mL) hay kháng sinh Erythromycin (30 µg/mL) trong môi trường PDA, và đạt hiệu lực ức chế 74,46% ở tỷ lệ 50%. Khả năng kháng nấm *C. gloeosporioides* D3 của dịch ngoại bào chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ duy trì khi xử lý ở nhiệt độ từ 30 ˚C đến 121 ˚C và pH từ 3 đến 9. Dịch ngoại bào của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ được xử lý ở 30 ˚C và pH = 5 có tác dụng kháng nấm *C. gloeosporioides* D3 tốt nhất.

Từ khóa: *Colletotrichum gloeosporioides*, kháng nấm, *Streptomyces*, xoài, thán thư

Antifungal ability of *Streptomyces murinus* NARZ against *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose on postharvest mango

Le Thanh Long*, Nguyen Thi Thuy Tien, Nguyen Thy Dan Huyen, Nguyen Hien Trang

University of Agriculture and Forestry, Hue University, 102 Phung Hung St., Hue, Vietnam

* Correspondence to Le Thanh Long <lethanhlong@huaf.edu.vn>
(Submitted: March 2, 2024; Accepted: June 3, 2024)

Abstract. Anthracnose, caused by *Colletotrichum* spp., is among the most prevalent postharvest diseases affecting mango fruit. In this study, the strain *Streptomyces murinus* NARZ was used to assess its antifungal efficacy against *Colletotrichum gloeosporioides* D3, which was isolated from mango fruit infected by anthracnose, by measuring the fungal colony diameter *in vitro*. The results demonstrated that cell free

culture of *S. murinus* NARZ, at ratio ranging from 20% to 50%, exhibited a superior antifungal effect against *C. gloeosporioides* D3 in PDA medium, achieving a 74.46% inhibitory effect at the ratio of 50%, surpassing the performance of Nystatin (10 µg/mL) or Erythromycin (30 µg/mL). The antifungal ability of cell free culture of *S. murinus* NARZ against *C. gloeosporioides* D3 is maintained when treated at temperatures from 30 ˚C to 121 ˚C and pH from 3 to 9. Cell free culture of *S. murinus* NARZ treated at 30 ˚C and pH = 5 has the best antifungal effect against *C. gloeosporioides* D3.

Key words: anthracnose, antifungal, *Colletotrichum gloeosporioides*, mango, *Streptomyces*

1 Đặt vấn đề

Xoài (*Mangifera indica* L.) là một loại quả cận nhiệt đới có hương vị thơm ngon, giá trị dinh dưỡng cao và là đối tượng có tiềm năng xuất khẩu lớn. Tuy nhiên xoài rất dễ hư hỏng do vi khuẩn, nấm mốc gây hại từ đó ảnh hưởng đến năng suất và chất lượng quả sau thu hoạch. Trong đó, bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum* spp. là bệnh sau thu hoạch phổ biến ở nhiều vùng trồng xoài ở Việt Nam và trên thế giới, nhất là trong mùa mưa có độ ẩm và nhiệt độ cao [1]. Bệnh thán thư thường xâm nhiễm và duy trì trạng thái tiềm ẩn từ giai đoạn cây ra hoa, trên bề mặt quả non, phát triển mạnh ở giai đoạn thu hoạch, bảo quản và vận chuyển. Hiện nay, để khống chế bệnh thán thư phát triển trên xoài sau thu hoạch, bên cạnh xử lý được khuyến cáo trước thu hoạch bằng các loại thuốc diệt nấm thì việc sử dụng các hoạt chất sinh học từ vi sinh vật như là giải pháp kiểm soát thay thế tác nhân gây bệnh do nấm sau thu hoạch đầy triển vọng [2].

Trong số các tác nhân kiểm soát sinh học, xạ khuẩn *Streptomyces* spp. được thừa nhận rộng rãi nhờ khả năng sản xuất kháng sinh, hoạt chất kháng nấm, enzyme (chitinase, glucanase, proteinase) và các chất chuyển hóa có hoạt tính sinh học khác giúp ức chế sự phát triển của vi sinh vật gây bệnh thực vật và an toàn khi xử lý trên trái cây và rau quả [3, 4]. Chính những đặc điểm khác biệt này đã có nhiều nghiên cứu theo hướng sử dụng xạ khuẩn *Streptomyces* spp. như những tác nhân đối kháng ứng dụng trong bảo vệ cây trồng, ức chế bệnh sau thu hoạch [5, 6].

Kết quả ban đầu của chúng tôi cho thấy, chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ được sàng lọc từ 56 chủng *Streptomyces* sp. phân lập từ đất ở các vùng khác nhau ở miền Trung có hoạt tính kháng nấm đáng kể trên đối tượng chủng nấm *C. acutatum* gây bệnh thán thư điển hình trên quả thanh long [7]. Dịch ngoại bào từ chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ với nồng độ thấp cho thấy khả năng ức chế rõ rệt sự sinh trưởng nấm bệnh thán thư trong môi trường nhân tạo PDA. Tuy nhiên, việc đánh giá khả năng kháng nấm của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ ở điều kiện *in vitro* trên đối tượng nấm bệnh thán thư chưa khảo sát đầy đủ các điều kiện môi trường xử lý dịch ngoại bào khác nhau làm cơ sở cho việc đánh giá khả năng kháng nấm ở điều kiện *in vivo*.

Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả phân lập và định danh chủng nấm *C. gloeosporioides* sp. gây bệnh thán thư trên quả xoài sử dụng làm đối tượng nghiên cứu. Đồng thời đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố đến hiệu quả kháng nấm của dịch ngoại bào chủng xạ khuẩn *Streptomyces murinus* NARZ ở điều kiện *in vitro* đối với chủng nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên quả xoài.

2 Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Vật liệu nghiên cứu

Mẫu quả thuộc giống xoài vỏ dày LĐ12 có vết bệnh thán thư điển hình được thu thập ở các chợ trên địa bàn thành phố Huế. Chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ được cung cấp bởi phòng thí nghiệm Vi sinh Khoa Cơ khí và Công nghệ, Đại học Nông Lâm, Đại học Huế.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Phân lập, định danh nấm C. gloeosporioides gây bệnh thán thư hại xoài

Môi trường PDA (Potato Dextrose Agar, dịch chiết của 250 g khoai tây, 20 g dextrose, 20 g agar, 1 lít nước) được sử dụng để phân lập nấm mốc từ vết bệnh thán thư điển hình trên xoài. Khuẩn lạc thuần chủng nấm *C. gloeosporioides* được ủ ở 28 ± 2 °C trong 5–7 ngày. Dựa vào hình thái và màu sắc khuẩn lạc, đặc điểm bào tử khi soi dưới kính hiển vi so với đối chứng [8], sơ bộ tuyển chọn ra chủng nấm gây bệnh thán thư trên xoài nghi ngờ là *C. gloeosporioides.* Chủng nấm nghi ngờ *C. gloeosporioides* được tiến hành định danh bằng phương pháp khuếch đại, giải trình tự gene mã hoá 28S rRNA bởi Viện Công nghệ ADN & Phân tích Di truyền (Genlab) Hà Nội. So sánh trình tự thu được với các trình tự loài tương tự trên ngân hàng gene bằng công cụ BLAST (NCBI) [9].

Phương pháp thu dịch nổi từ canh trường nuôi cấy của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ

Chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ được nuôi cấy trên đĩa thạch sau 8–10 ngày ở 28 ± 2 °C, thu bào tử vào ống eppendorf có chứa sẵn nước muối sinh lý tiệt trùng. Huyền phù bào tử (100 µL) được nuôi cấy trong 100 mL môi trường ISP-3 có lắc (180 vòng/phút) ở nhiệt độ 28 ± 2 °C trong 7 ngày. Dịch nuôi cấy được ly tâm lạnh (10.000 vòng/phút) ở 4 °C trong 15 phút, lọc qua màng lọc có kích thước 0,2 µm [10]. Phần dịch ngoại bào (CFS - cell free supernatant) được dùng để xác định khả năng kháng nấm của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ đã chọn.

Xác định ảnh hưởng của tỷ lệ CFS từ nuôi cấy chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ đến sự phát triển của chủng nấm *C. gloeosporioides*

Ảnh hưởng của CFS *từ nuôi cấy* chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ đến sự phát triển của nấm bệnh *C. gloeosporioides* được xác định thông qua đường kính tản nấm theo phương pháp của Al-Hetar và đồng tác giả [11]. Sau khi thanh trùng, môi trường PDA được làm nguội đến 40–50 °C, bổ sung dịch CFS của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ với các tỷ lệ khác nhau theo thể tích và tiến hành đổ đĩa Petri (đường kính 9 cm) với cùng một thể tích (18 mL). Tản nấm có kích thước 2 mm^2 cắt ra từ rìa đĩa khuẩn lạc nấm *C. gloeosporioides* thuần (nuôi 7 ngày ở 28 ± 2 °C) được đặt vào tâm các đĩa môi trường PDA đã chuẩn bị sẵn. Thí nghiệm được thực hiện với 8 công thức (1 đối chứng (ĐC) 0% CFS; 1 ĐC có bổ sung kháng sinh Erythromycin nồng độ 30 µg/mL; 1 ĐC có bổ sung thuốc diệt nấm Nystatin nồng độ 10 µg/mL, và 5 công thức thí nghiệm (TN) với các tỷ lệ CFS: 10%, 20%, 30%, 40% và 50%. Mỗi công thức là một đĩa và lặp lại 3 lần. Các đĩa được ủ ở 28 ± 2 °C, theo dõi và đo đường kính tản nấm (ĐKTN), 2 ngày/lần.

Hiệu lực ức chế được xác định theo tỷ lệ phần trăm (%) ức chế tốc độ phát triển của đường kính tản nấm PIRG % (Percentage Inhibition of Radial Growth).

$$\text{PIRG (\%)} = \frac{(R_1 - R_2) \times 100}{R_1} \qquad (1)$$

trong đó: R_1 là đường kính tản nấm ở công thức ĐC, R_2 là đường kính tản nấm ở công thức TN.

Xác định ảnh hưởng của nhiệt độ xử lý CFS của chủng xạ khuẩn S. murinus NARZ đến sự phát triển của chủng nấm C. gloeosporioides

CFS của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ ở tỷ lệ có khả năng kháng nấm tốt nhất được điều chỉnh về pH = 7. Tiến hành ủ CFS ở các nhiệt độ khác nhau trước khi được bổ sung vào môi trường PDA và đổ đĩa Petri tương tự như trên. TN được thực hiện với 5 công thức (1 ĐC với 0% CFS, và 4 công thức TN với CFS được ủ ở các nhiệt độ 30 °C, 60 °C, 90 °C và 121 °C trong 15 phút. Nuôi các đĩa ở 28 ± 2 °C, đo ĐKTN 2 ngày/lần.

Xác định ảnh hưởng của pH xử lý CFS của chủng xạ khuẩn S. murinus NARZ đến sự phát triển của chủng nấm C. gloeosporioides

CFS của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ ở tỷ lệ có khả năng kháng nấm tốt nhất được điều chỉnh pH ở các mức khác nhau bằng NaOH 1N và HCl 1N vô trùng trong vòng 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Tiến hành bổ sung vào môi trường PDA và đánh giá ảnh hưởng của CFS đến sự phát triển của chủng nấm *C. gloeosporioides* tương tự như trên. TN được thực hiện với 8 công thức (1 ĐC với 0% CFS, và 7 công thức TN với CFS được điều chỉnh ở các mức pH là 3; 4; 5; 6; 7; 8 và 9). Nuôi các đĩa ở 28 ± 2 °C, đo ĐKTN 2 ngày/lần.

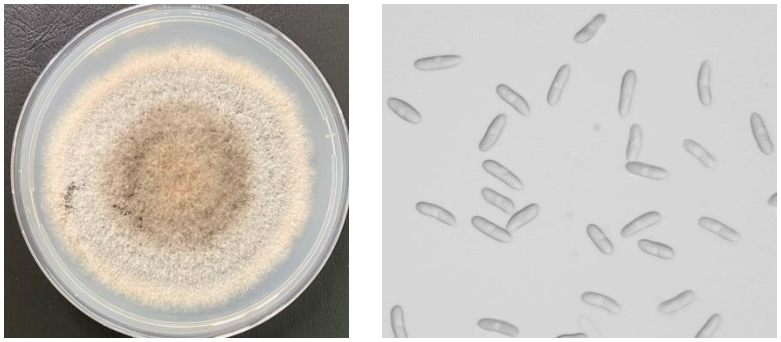
2.3 Phương pháp xử lý số liệu

Kết quả thí nghiệm được phân tích phương sai ANOVA một nhân tố (one-way ANOVA) và so sánh các giá trị trung bình bằng phương pháp DUNCAN (*Duncan's Multiple Range Test*) trên phần mềm thống kê SAS, phiên bản 9.13.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Kết quả phân lập, định danh nấm gây bệnh thán thư hại xoài

Sau 7 ngày ủ các mẫu xoài có vết bệnh điển hình ở 28 ± 2 °C, kết quả phân lập bước đầu thu được 4 chủng nấm khác nhau ký hiệu là D1, D2, D3, D4. Tiến hành quan sát đại thể và vi thể trên môi trường PDA và so sánh với chủng nấm *C. gloeosporioides* đối chứng theo mô tả của Snowdon [12] và Vũ Triệu Mân [2]. Trong đó, chủng D3 có mức tương đồng cao nhất về hình thái, màu sắc khuẩn lạc cũng như đặc điểm sinh bào tử. Trên môi trường PDA, tản nấm mọc đều, xốp phồng có màu nâu xám ở giữa và mỏng dần màu trắng đốm cam nhạt ở phần rìa khuẩn lạc. Sợi nấm phân nhánh, bào tử hình trụ đầu hơi tù, cuống hẹp trong suốt, không có vách ngăn hình trên các cành bảo tử phân sinh hình trụ trong (Hình 1).



Hình 1. Hình thái tản nấm chủng D3 phân lập trên môi trường PDA và bào tử phân sinh

Chủng nấm mốc D3 được định danh bằng phương pháp giải trình tự một phần gene mã hoá cho tiểu phần ribosome 28S (28S rRNA) và so sánh mức độ tương đồng giữa các đoạn gene với dữ liệu đã công bố trong ngân hàng gene thông qua công cụ BLASTn. Kết quả cho thấy trình tự gene của chủng D3 tương đồng 100% với chủng *C. gloeosporioides* CBS127555 (Hình 2). Do đó, chúng tôi xác định được chủng nấm D3 thuộc loài *C. gloeosporioides* và ký hiệu là *C. gloeosporioides* D3.

3.2 Ảnh hưởng tỷ lệ CFS từ nuôi cấy chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ đến sự phát triển của nấm *C. gloeosporioides* D3

Ảnh hưởng tỷ lệ CFS từ nuôi cấy chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ đến sự phát triển của nấm *C. gloeosporioides* D3 trên môi trường PDA thông qua hiệu lực ức chế (%) sự phát triển ĐKTN được thể hiện qua Bảng 1 và Hình 3.

Sequences producing significant alignments Download Select columns Show 100

select all *100 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
Colletotrichum gloeosporioides culture CBS:127555 strain CBS 127555 large subunit ribosomal RNA gene, parti...	Colletotrichum gl...	948	948	100%	0.0	100.00%	897	MH876003.1
Colletotrichum gloeosporioides culture CBS:125353 strain CBS 125353 large subunit ribosomal RNA gene, parti...	Colletotrichum gl...	948	948	100%	0.0	100.00%	899	MH875028.1
Colletotrichum sp. 1 NVL-2017 genomic DNA sequence contains 28S rRNA gene	Colletotrichum s...	948	948	100%	0.0	100.00%	890	LT965982.1
Colletotrichum gloeosporioides isolate G10_Contig_consensus_sequence internal transcribed spacer 1, partial s...	Colletotrichum gl...	948	948	100%	0.0	100.00%	1078	OP510138.1
Colletotrichum gloeosporioides isolate F4_Contig_consensus_sequence internal transcribed spacer 1, partial se...	Colletotrichum gl...	948	948	100%	0.0	100.00%	1078	OP510123.1

Hình 2. Kết quả so sánh trình tự nucleotide của đoạn gene 28S rRNA của chủng D3 và trình tự nucleotide công bố trên ngân hàng gene theo cơ sở dữ liệu của NCBI

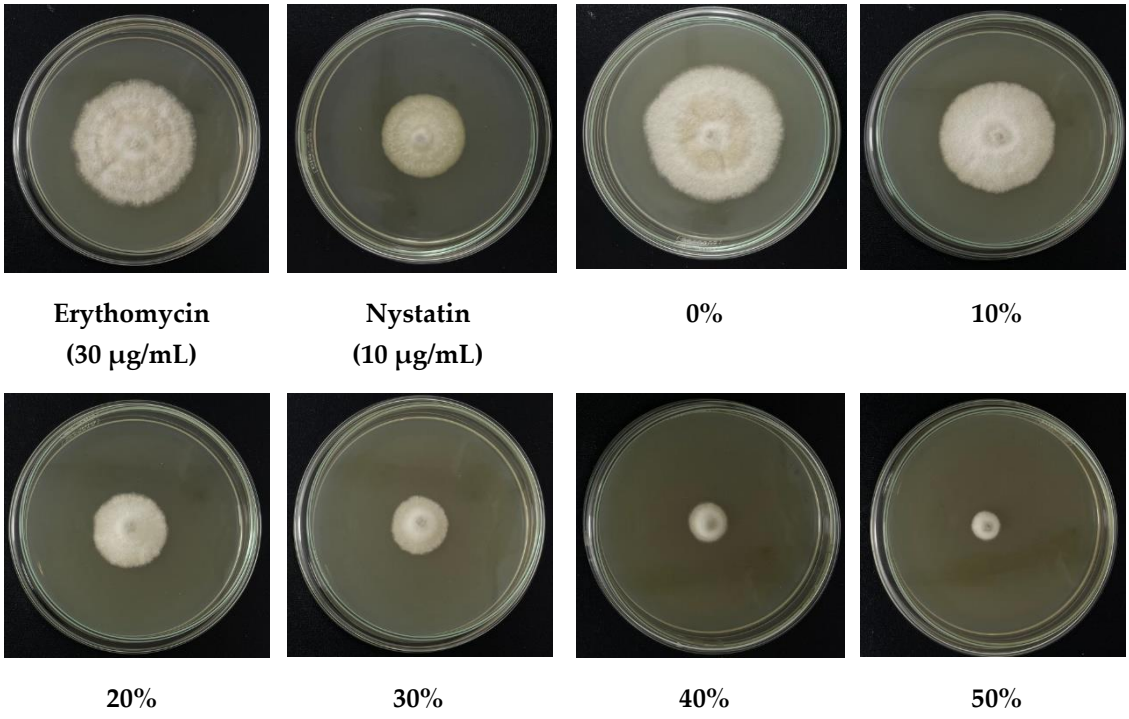
Bảng 1. Ảnh hưởng tỷ lệ CFS từ nuôi cấy chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ đến hiệu lực ức chế (%) sự phát triển của nấm *C. gloeosporioides* D3

Nồng độ CFS (%)	Hiệu lực ức chế (%)		
	3 ngày	5 ngày	7 ngày
0	$0,00^{hA} \pm 0,00$	$0,00^{hA} \pm 0,00$	$0,00^{hA} \pm 0,00$
10	$29,84^{fA} \pm 0,70$	$25,92^{fB} \pm 0,36$	$21,18^{fC} \pm 0,38$
20	$68,14^{dA} \pm 0,83$	$63,00^{dB} \pm 0,28$	$47,99^{dC} \pm 0,32$
30	$77,69^{cA} \pm 0,23$	$70,61^{cB} \pm 0,36$	$62,36^{cC} \pm 0,64$
40	$82,52^{bA} \pm 0,62$	$75,83^{bB} \pm 0,37$	$66,81^{bC} \pm 0,24$
50	$90,32^{aA} \pm 0,41$	$82,26^{aB} \pm 0,41$	$74,46^{aC} \pm 0,62$
Erythromycin (30 μg/mL)	$16,8^{gA} \pm 0,62$	$14,03^{gB} \pm 0,43$	$10,21^{gC} \pm 0,36$
Nystatin (10 μg/mL)	$33,47^{eA} \pm 0,41$	$31,15^{eB} \pm 0,52$	$28,54^{eC} \pm 0,55$

Chú thích: Các giá trị trung bình hiệu lực ức chế theo cột có cùng chữ cái in thường là không sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$). Các giá trị trung bình hiệu lực ức chế theo hàng có cùng chữ cái in hoa là không sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$).

Kết quả nghiên cứu ở Bảng 1 cho thấy, hiệu lực ức chế sự phát triển của nấm *C. gloeosporioides* D3 tăng khi tăng tỷ lệ CFS trong môi trường PDA và giảm dần theo thời gian nuôi cấy. Sau 7 ngày theo dõi, hiệu lực ức chế ở các công thức TN bổ sung CFS với tỷ lệ 20–50% cao hơn so với ĐC (bổ sung kháng sinh Erythromycin nồng độ 30 μg/mL hoặc bổ sung thuốc diệt nấm Nystatin nồng độ 10 μg/mL) và đạt hiệu lực ức chế đạt cao nhất (74,46%) ở tỷ lệ CFS 50%. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy, việc bổ sung kháng sinh Erythromycin (30 μg/mL) vào môi trường PDA cho hiệu lực ức chế sự phát triển của nấm *C. gloeosporioides* D3 thấp nhất so với thuốc diệt nấm Nystatin (10 μg/mL), chỉ đạt 10,21% sau 7 ngày nuôi cấy.

Ảnh hưởng của tỷ lệ CFS đến khả năng kháng nấm bệnh của các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* cũng đã được khảo sát trong một số nghiên cứu. Trong một khảo sát kiểm soát nấm *C. gloeosporioides* gây bệnh thán thư trên cao su bằng dịch nuôi cấy từ xạ khuẩn *S. deccanensis* cho thấy, ở tỷ lệ 10% có khả năng ức chế cao với *C. gloeosporioides và C. musae*, với hiệu lực ức chế lần lượt là 87,4% và 88,9% [13]. Bên cạnh đó, khi nghiên cứu về hiệu quả kiểm soát sinh học của dịch ngoại bào từ xạ khuẩn *S. philanthi* RL-1-178 và acetic acid trên đối tượng nấm *Penicillium digitatum* gây bệnh mốc xanh trên cam trong điều kiện *in vitro* và *in vivo* cho thấy, hiệu quả ức chế của dịch ngoại bào RL-1-178 ở các tỷ lệ khác nhau tỷ lệ thuận với hiệu lực ức chế sự phát triển của sợi nấm *P. digitatum*. Nấm *P. digitatum* bị ức chế phát triển hoàn toàn khi tỷ lệ dịch ngoại bào RL-1-178 ở 2,5 mL/10 mL PDA (25%) [14].



Hình 3. Ảnh hưởng tỷ lệ CFS từ nuôi cấy chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ đến sự phát triển của nấm *C. gloeosporioide D3* sau 7 ngày trên môi trường PDA

Kết quả nghiên cứu của Prapagdee và đồng tác giả [15] cũng chỉ ra rằng với tỷ lệ 20% dịch nuôi cấy xạ khuẩn *S. hygroscopicus* có khả năng ức chế sự phát triển của *C. gloeosporioides* và *Sclerotium rolfsii*. Trong khi đó, dịch CFS từ nuôi cấy chủng xạ khuẩn *S. pulcher* và *S. canescens* ở tỷ lệ 80% ức chế đáng kể sự phát triển của *Fusarium oxysporum* f. sp., *Verticillium alboatrurn* và *Alternaria solani* [16]. Như vậy, kết quả TN kháng nấm *C. gloeosporioides* D3 của chúng tôi bằng CFS của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ trên môi trường PDA thu được hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu khả năng kháng nấm của xạ khuẩn *Streptomyces* của các tác giả đã công bố.

Căn cứ vào kết quả nghiên cứu trên, chúng tôi chọn tỷ lệ 50% dịch CFS từ nuôi cấy chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.3 Ảnh hưởng của nhiệt độ xử lý dịch CFS của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ đến sự phát triển của nấm *C. gloeosporioides* D3

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ xử lý dịch CFS của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ đến sự phát triển của nấm *C. gloeosporioides* D3 được trình bày ở Bảng 2.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, nhiệt độ xử lý CFS có ảnh hưởng nhất định đến khả năng ức chế phát triển của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ đến nấm *C. gloeosporioides* D3 thông qua ĐKTN trong môi trường PDA. Nhiệt độ xử lý CFS càng cao, khả năng ức chế phát triển nấm bệnh của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ càng giảm ở tất cả các thời điểm theo dõi. Tuy vậy sau 7

Bảng 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ xử lý CFS của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ đến sự phát triển của chủng nấm *C. gloeosporioides* D3

Nhiệt độ (℃)	Đường kính tản nấm (mm)		
	3 ngày	5 ngày	7 ngày
30℃	$2,37^{dA} \pm 0,37$	$3,83^{dB} \pm 0,26$	$4,77^{dC} \pm 0,48$
60℃	$3,23^{cA} \pm 0,16$	$4,73^{cB} \pm 0,15$	$6,23^{cC} \pm 0,22$
90℃	$4,00^{bA} \pm 0,18$	$5,67^{bB} \pm 0,22$	$7,03^{bC} \pm 0,16$
121℃	$10,00^{aA} \pm 0,20$	$22,67^{aB} \pm 0,29$	$29,77^{aC} \pm 0,25$

Chú thích: Các giá trị trung bình đường kính tản nấm theo cột có cùng chữ cái in thường là không sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$). Các giá trị trung bình đường kính tản nấm theo hàng có cùng chữ cái in hoa là không sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$).

ngày nuôi cấy, ở nhiệt độ xử lý 121 °C, CFS của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ vẫn cho biểu hiện kháng nấm *C. gloeosporioides* D3 tương ứng với ĐKTN đạt được là 29,77 mm, thấp hơn so với ĐC. Điều này chứng tỏ, các hoạt chất kháng nấm *C. gloeosporioides* D3 của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ khá bền nhiệt.

Độ bền nhiệt của các chất có hoạt tính kháng nấm trên đối tượng bệnh thán thư thu được từ xạ khuẩn *Streptomyces* đã được một số tác giả công bố. Dịch ngoại bào chủng xạ khuẩn *S. angustmyceticus* NR8-2 được xử lý ở các nhiệt độ 28 °C, 50 °C và 100 °C đã thể hiện khả năng kháng nấm với hiệu lực ức chế tương ứng là 43,21%; 43,58% và 38,35% sự phát triển của *Colletotrichum* sp. trên bắp cải [17]. Trên đối tượng nấm *C. gloeosporioides* gây bệnh thán thư ở ớt và cà chua, dịch ngoại bào xạ khuẩn *Streptomyces* sp. A1022 thể hiện hoạt tính kháng nấm cao nhất (100%) trong môi trường PDA khi được xử lý ở nhiệt độ 60 ℃ trong vòng 15 phút, nhưng chỉ đạt hoạt tính là 94,8%; 93,1% và 72% tương ứng với các nhiệt độ xử lý 25 °C, 90 °C và 121 °C [18]. Bên cạnh đó, Prapagdee và cs. cho rằng, hoạt tính kháng nấm của ngoại bào xạ khuẩn *Streptomyces* liên quan đến sự hiện diện của các hợp chất kháng nấm có tính chịu nhiệt hơn là các do enzyme thủy phân, thường rất nhạy cảm với nhiệt độ và dễ dàng mất hoạt tính ở nhiệt độ cao trên 50 °C [15]. Do đó, khi gia nhiệt CFS của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ đến nhiệt độ 121 °C vẫn giữ được hoạt tính kháng nấm *C. gloeosporioides* D3 có thể lý giải với đặc tính chất kháng tương tự như các kết quả đã công bố.

3.4 Ảnh hưởng của pH xử lý dịch CFS của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ đến đến sự phát triển của nấm *C. gloeosporioides* D3

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của pH xử lý dịch CFS tỷ lệ 50% của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ đến sự phát triển của nấm *C. gloeosporioides* được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của độ bền pH của CFS thu được chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ đến sự phát triển của nấm *C. gloeosporioides* D3

Giá trị pH	Đường kính tản nấm (mm)		
	3 ngày	5 ngày	7 ngày
3	$6,07^{dA} \pm 0,21$	$14,87^{dB} \pm 0,15$	$32,57^{dC} \pm 0,15$
4	$6,53^{cA} \pm 0,11$	$16,63^{cB} \pm 0,25$	$24,47^{cB} \pm 0,21$
5	$5,50^{fA} \pm 0,33$	$12,70^{hB} \pm 0,23$	$15,80^{hC} \pm 0,30$
6	$5,73^{eA} \pm 0,29$	$13,37^{fB} \pm 0,16$	$16,93^{fC} \pm 0,25$
7	$5,80^{eA} \pm 0,20$	$14,30^{eB} \pm 0,13$	$21,80^{eC} \pm 0,20$
8	$8,33^{bA} \pm 0,28$	$22,67^{bB} \pm 0,15$	$42,63^{bC} \pm 0,25$
9	$8,83^{aA} \pm 0,16$	$28,80^{aB} \pm 0,20$	$47,43^{aC} \pm 0,15$

Chú thích: Các giá trị trung bình đường kính tản nấm theo cột có cùng chữ cái in thường là không sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$). Các giá trị trung bình đường kính tản nấm theo hàng có cùng chữ cái in hoa là không sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$).

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy, ở các giá trị pH khác nhau khi xử lý dịch CFS của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ ảnh hưởng đến sự phát triển của nấm *C. gloeosporioides* D3 thông qua ĐKTN trong môi trường PDA là khác nhau. Khả năng kháng nấm của dịch CFS của chủng *S. murinus* NARZ cho biểu hiện rõ so với ĐC khi xử lý ở khoảng pH trung tính - acid nhẹ. Trong đó, sau 7 ngày nuôi cấy chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ có khả năng kháng nấm *C. gloeosporioides* D3 cao nhất ở pH = 5.

Độ bền pH của các chất kháng nấm, kháng khuẩn thu được từ vi sinh vật đã được một số tác giả công bố. Theo kết quả nghiên cứu của Akond và cs trên chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. JUBM-35-NS-1 cho thấy, chủng này bền trong khoảng pH từ 5,5 đến 7,5 và tối thích ở pH từ 6,0 đến 6,5 [19]. Trong khi đó, ở pH = 6,5 dịch ngoại bào của chủng xạ khuẩn *S. albidoflavus* C247 có hiệu lực ức chế khả năng phát triển của nấm *Rhiz°Ctonia solani* AG2-2 lên đến 62,89% [20]. Ở một công bố khác, Gu và đồng tác giả đã chỉ ra rằng dịch ngoại bào từ môi trường nuôi cấy của chủng xạ khuẩn *S. deccanensis* QY-3 có độ ổn định tốt trong khoảng pH từ 2 đến 10. Dịch ngoại bào của *S. deccanensis* QY-3 có thể phá vỡ cấu trúc sợi nấm và ức chế sự nảy mầm của bào tử nấm thán thư *C. gloeosporioides* được phân lập trên cao su [13]. Từ kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, dịch ngoại bào của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ có độ bền nhất định với pH với biểu hiện kháng nấm trên đối tượng nấm thán thư *C. gloeosporioides* D3 là khá phù hợp với các tác giả đã công bố.

Như vậy dịch CFS của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ khá bền ở nhiệt độ và pH khảo sát, cho khả năng kháng nấm *C. gloeosporioides* D3 tốt nhất khi xử lý ở 30 °C và ở pH = 5. Đây chính là tiền đề cho các nghiên cứu về sản xuất chế phẩm sinh học trong việc kiểm soát nấm bệnh thán thư sau thu hoạch ở điều kiện *in vivo*.

4 Kết luận

Dựa trên những kết quả đạt được trong nghiên cứu này cho thấy dịch CFS của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ đóng vai trò như là một hoạt chất kháng nấm hiệu quả trên đối tượng thán thư hại xoài sau thu hoạch. Tỷ lệ 50% dịch CFS của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ có khả năng ức chế 74,46% sự phát triển của nấm *C. gloeosporioides* D3 ở điều kiện *in vitro*. Khả năng kháng nấm *C. gloeosporioides* D3 của dịch CFS từ nuôi cấy chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ duy trì khi xử lý ở nhiệt độ từ 30 °C đến 121 °C và pH từ 3 đến 9, tốt nhất ở 30 °C và pH = 5.

Tài liệu tham khảo

1. Ren, Y., Xue, Y., Tian, D., Zhang, L., Xiao, G. & He, J. (2020), Improvement of postharvest anthracnose resistance in mango fruit by nitric oxide and the possible mechanisms involved, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(52), 15460–15467.
2. Vũ Triệu Mân (2007), *Giáo trình bệnh cây chuyên khoa,* Đại học Nông nghiệp I Hà Nội.
3. Chen, Y., Zhou, D., Qi, D., Gao, Z., Xie, J & Luo, Y. (2018), Growth promotion and disease suppression ability of a *Streptomyce*s sp. CB-75 from banana rhizosphere soil, *Frontiers in Microbiology*, 8. doi.org/10.3389/fmicb.2017.02704.
4. Panneerselvam, P., Selvakumar, G., Ganeshamurthy, A. N., Mitra, D., & Senapati, A. (2021), Enhancing pomegranate (*Punica granatum* L.) plant health through the intervention of a *Streptomyces consortium*, *Biocontrol Science and Technology*, 31(4), 430–442.
5. Martinez, Z.E., Erika, A.C., Luis, F.C. & Elida, G.M. (2020), Biocontrol potential of *Streptomyces* sp. CACIS-1.5CA against phytopathogenic fungi causing postharvest fruit. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30, 117. doi.org/10.1186/s41938-020-00319-9.
6. Zou, N., Zhou, D., Chen, Y., Lin, P., Chen, Y., Wang, W. & Wang, M. (2021), A novel antifungal actinomycete *Streptomyces* sp. strain H3-2 effectively controls banana *Fusarium* Wilt, *Frontiers in Microbiology*, 2226 (1), 1–10.
7. Nguyễn Thị Thủy Tiên, Nguyễn Hiền Trang, Nguyễn Thụ Đan Huyền, Lê Thanh Long (2022), Đánh giá khả năng kháng nấm *Colletotrichum* gây bệnh thán thư trên quả thanh long bởi các chủng *Streptomyces* sp., *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 20(12), 1591–1598.
8. Burgess, L. W., Knight, T. E., Tesoriero. L. & Phan. H. T. (2008), Diagnostic manual for plant diseases in Vietnam. *Australian Centre for International Agricultural Research*, *ACIAR*, 7(3), 1–10.
9. Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W. & Lipman, D. J. (1990), Basic l°Cal alignment search tool, *Journal of Molecular Biology*, 215, 403–410.
10. Tendulkar, S., Patkar, A. & Chattoo, B. (2003), A simple protocol for isolation of fungal DNA, *Biotechnology Letters,* 25, 1941–1944.
11. Al-Hetar M. Y., Abidin M. A. Z., Sariah M. & Wong M. Y. (2011), Antifungal activity of chitosan against *Fusarium oxysporum* f. sp. Cubense, *Journal of Applied Polymer Science*, 120,

2434–2439.

12. Snowdon, A. L. (1990), A color atlas of post-harvest diseases and disorders of fruits and vegetables, *Wolfe Publishing,* Volume 1.
13. Gu, L., Zhang, K., Zhang, N., Li, X., & Liu, Z. (2020), Control of the rubber anthracnose fungus *Colletotrichum gloeosporioides* using culture filtrate extract from *Streptomyces deccanensis* QY-3. *Antonie van Leeuwenhoek,* 113(11), 1573–1585.
14. Boukaew, S., Petlamul, W., & Prasertsan, P. (2020), Comparison of the biocontrol efficacy of culture filtrate from *Streptomyces philanthi* RL-1-178 and acetic acid against *Penicillium digitatum*, *in vitro* and *in vivo*, *European Journal of Plant Pathology*, 158(4), 939–949.
15. Prapagdee, B., Kuekulvong, C., & Mongkolsuk, S. (2008), Antifungal potential of extracellular metabolites produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi, *International Journal of Biological Sciences*, 4(5), 330–337.
16. El-abyad, M. S., El-sayed, M. A., El-Shanshoury, A. R. & El-sabbagh, S. M. (1993), Towards the biological control of fungal and bacterial diseases of tomato using antagonistic *Streptomyces* spp., *Plant and Soil*, 149, 185–195.
17. Wonglom, P., Suwannarach, N., Lumyong, S., Ito, S.I., Matsui, K., & Sunpapao, A. (2019), *Streptomyces angustmyceticus* NR8-2 as a potential microorganism for the biological control of leaf spots of *Brassica rapa* subsp. *pekinensis* caused by *Colletotrichum* sp. and *Curvularia lunata*, *Biological Control*, 138, 104046.
18. Kim, H. J., Lee, E. J., Park, S. H., Lee, H. S., & Chung, N. (2014), Biological control of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) in pepper and cherry tomato by *Streptomyces sp.* A1022, *Journal of Agricultural Science*, 6(2), 54–62.
19. Akond, M. A., Jahan, M. N., Sultana, N., & Rahman, F. (2016), Effect of temperature, pH and NaCl on the isolates of actinomycetes from straw and compost samples from Savar, Dhaka, Bangladesh, *American Journal of Microbiology and Immunology*, 1(2), 10–15.
20. Islam, M. R., Jeong, Y. T., Ryu, Y. J., Song, C. H., & Lee, Y. S. (2009), Isolation, identification and optimal culture conditions of *Streptomyces albidoflavus* c247 producing antifungal agents against *Rhizoctonia solani* AG2-2, *Mycobiology*, 37(2), 114–120.