

SÀNG LỌC XẠ KHUẨN *Actinomyces* sp. CÓ KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG VỚI NẤM GÂY BỆNH KHÔ VÀN LÚA *Rhizoctonia solani*

Nguyễn Hoài Nam, Nguyễn Minh Trang, Đặng Phú Hoàng, Nguyễn Văn Hùng,
Nguyễn Xuân Cảnh, Tống Văn Hải, Nguyễn Đức Bách *

Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Email*: ndbach@gmail.com

Ngày gửi bài: 10.05.2015

Ngày chấp nhận: 01.12.2015

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, 10 mẫu nấm khô vằn (KV1, KV6, KV8, KV10-KV16) đã được phân lập từ 20 mẫu bệnh khô vằn ở các tỉnh Hà Nội, Hải Dương, Thái Bình, Hà Nam và Hưng Yên. Mẫu nấm bệnh được đánh giá dựa vào các đặc điểm nuôi cấy, đặc điểm hình thái, phân tích PCR-RFLP và so sánh trình tự nucleotide rDNA-ITS. Kết quả phân tích cho thấy các chủng phân lập đều thuộc loài *Rhizoctonia solani* (*R. solani*). Lây nhiễm nhân tạo các mẫu nấm phân lập trên các giống lúa Xi 23, Q5, Khang dân, BC15, Nếp TK90 và Nếp 87 cho thấy biểu hiện bệnh và vết bệnh đặc trưng của bệnh khô vằn chứng tỏ các mẫu nấm bệnh thuộc *R. solani* thuộc nhóm AG1- type 1 (AG1- IA). Trong số 10 chủng, chủng KV13 có độc tính mạnh nhất. Kết quả sàng lọc khả năng đối kháng của 80 mẫu xạ khuẩn đã phát hiện được 10 mẫu có khả năng đối kháng với mẫu KV13, trong đó mẫu L2.5 có hoạt tính đối kháng mạnh nhất. Dựa vào kết quả này, chủng L2.5 có thể được sử dụng để nghiên cứu nhằm phát triển chế phẩm kháng bệnh khô vằn hại lúa.

Từ khóa: Bệnh khô vằn lúa, đối kháng, *Rhizoctonia solani*, xạ khuẩn.

Screening of *Actinomyces* ssp. for Antagonistic Activity against Rice Sheath Blight, *Rhizoctonia solani* Kuhn

ABSTRACT

In this study, 10 isolates of the rice sheath blight fungus (KV1, KV6, KV8, KV10-KV16) were isolated from 20 different diseased samples collected in Ha Noi, Hai Duong, Thai Binh, Ha Nam and Hung Yen provinces. They were characterized based on cultural, morphological and physiological properties. In addition, PCR-RFLP and rDNA-ITS sequence analyses were also used to identify these isolates. Inoculation of 10 isolates on four non-glutinous cultivars Xi23, Q5, Khang dan and, BC15 and 2 glutinous rice cultivars, TK90 and 87 showed that 100% infection rate was achieved and the most virulent isolate was KV13. *In vitro* screening of 80 *Actinomyces* isolates for antagonistic capability against the KV13 showed that 10 isolates of *Actinomyces* had strong antagonistic activity. Of these, the *Actinomyces* isolate L2.5 showed the highest antagonistic activity against the isolate KV13. This isolate can be used for further study to develop products for sheath blight control in rice.

Keywords: Antagonistic activity, *Actinomyces*, rice sheath blight, *Rhizoctonia solani*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ¹

Bệnh khô vằn lúa do nấm *R. solani* Kuhn gây ra là một trong những bệnh gây hại chính ở các vùng trồng lúa trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Cho đến nay chưa phát hiện được giống lúa có khả năng kháng bệnh khô vằn hiệu quả

(Nguyễn Đắc Khoa và cs., 2010). Để phòng trừ bệnh cần kết hợp các biện pháp canh tác, vệ sinh đồng ruộng và sử dụng thuốc trừ bệnh. Hiện nay, thuốc hoá học bảo vệ thực vật được sử dụng phổ biến vì có hiệu quả nhanh nhưng gây ô nhiễm môi trường và ảnh hưởng tới sức khỏe con người. Gần đây nghiên cứu sử dụng các vi

sinh vật để tạo ra các chế phẩm sinh học đã góp phần quan trọng trong việc kiểm soát bệnh đồng thời không gây tác hại tới môi trường (Lê Minh Tường và cs., 2014). Việc sàng lọc và phát hiện các chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng với nấm bệnh là bước quan trọng để phát triển chế phẩm sinh học. Xạ khuẩn là một nhóm vi sinh vật đất quan trọng có khả năng tổng hợp các hợp chất thứ cấp có hoạt tính sinh học kháng vi khuẩn, kháng nấm trong đó chủ yếu là các chất kháng sinh. Việc sử dụng chất kháng sinh trong bảo vệ thực vật ngày càng được áp dụng trên thế giới và đang dần thay thế cho việc sử dụng các loại chất hoá học độc hại. Nhiều loại chất kháng sinh chống bệnh ở thực vật đã được sử dụng phổ biến như kasugamycin từ xạ khuẩn *Streptomyces kasugaensis*, blastixidin từ xạ khuẩn *Streptomyces griseochromogenes*, validamicin từ *Streptomyces hygroscopicus*... các chất kháng sinh này có độc tính thấp và có khả năng chống bệnh đạo ôn, khô vằn ở lúa (Nguyễn Đắc Khoa và cs., 2010; Boukaew et al., 2010, 2013). Gần đây một số chủng *Streptomyces* sp. có khả năng sinh chất kháng sinh mới z-methylheptyl isonicotinate, chất này có khả năng kháng được nhiều loại nấm gây bệnh (Boukaew et al., 2013; Taheri et al., 2007). Chính vì vậy xạ khuẩn đã được sử dụng để phát triển các chế phẩm đối kháng nấm gây bệnh cây trồng trên cơ sở mối cân bằng giữa các vi sinh vật và các sản phẩm tự nhiên của chúng để tìm hãm, ức chế vi sinh vật gây bệnh (Lê Minh Tường và cs., 2014). Để phát triển được các chế phẩm vi sinh đối kháng với các nguồn vi khuẩn, nấm bệnh, việc sàng lọc và phát hiện các chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng mạnh là bước khởi đầu cần thiết. Hiện nay, do chưa có giống lúa kháng bệnh khô vằn hiệu quả và bền vững nên việc sàng lọc được các chủng xạ khuẩn có khả năng ức chế sự phát triển của nấm khô vằn sẽ làm cơ sở để phát triển chế phẩm phòng chống bệnh (El-Tarabily et al., 2006; Boukaew et al., 2014). Xuất phát từ cơ sở trên, nghiên cứu này tập trung vào phân lập mẫu nấm bệnh khô vằn từ nhiều mẫu bệnh trên các giống lúa khác nhau đang trồng ở các tỉnh Hà Nội, Hải Dương, Thái Bình, Hà Nam, Hưng Yên trong vụ mùa 2014, đồng thời sàng lọc các chủng xạ khuẩn có

khả năng đối kháng với các mẫu nấm bệnh khô vằn phân lập được. Nghiên cứu góp phần sàng lọc và phát hiện được các chủng xạ khuẩn mới làm cơ sở để phát triển chế phẩm vi sinh phòng trừ bệnh khô vằn.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu nghiên cứu

20 mẫu bệnh khô vằn có triệu chứng điển hình được thu thập từ một số giống lúa trồng trong vụ mùa 2014 ở các tỉnh Hà Nội, Hải Dương, Thái Bình, Hưng Yên và Hà Nam. Bộ sưu tập gồm 80 mẫu xạ khuẩn được phân lập và lưu giữ tại Phòng thí nghiệm Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập nấm *Rhizoctonia solani* gây bệnh khô vằn lúa

Nấm *R. solani* được phân lập từ các vết bệnh đặc trưng. Các mẫu có vết bệnh mới được rửa bằng nước vô trùng sau đó nhúng vào dung dịch Ethanol 70% trong 30 giây sau đó rửa lại bằng nước cất vô trùng và cắt nhỏ thành những mẫu có kích thước từ 0,5-1,0 cm và đặt lên môi trường WA (water agar) và ủ ở 28°C trong 2-3 ngày. Các mẫu nấm mọc trên môi trường WA được cấy chuyển lên môi trường PDA (Potato dextrose agar/khoai tây 200 g, đường 20 g, nước 1 lít) và ủ ở 28°C. Sau 5-6 ngày sau khi cấy, xuất hiện hạch nấm. Các hạch nấm được tách riêng và cấy tiếp trên môi trường PDA trong điều kiện như mô tả, quá trình này được lặp lại nhiều lần cho tới khi các mẫu nấm thuần khiết. Các mẫu nấm này sau đó được nuôi cấy trên môi trường PDA và bảo quản trong ống thạch nghiêng ở nhiệt độ 4°C (Vincelli et al., 1989; Pa et al., 2008).

2.2.2. Lây bệnh nhân tạo

Các mẫu nấm được cấy trong môi trường PDA ở nhiệt độ 28°C, sau 3 ngày nuôi cấy, cắt thạch thành những thỏi có kích thước 0,5 cm (chứa cả thạch và nấm đang phát triển). Trong thí nghiệm này 4 giống lúa tẻ Xi 23, Q5, Khang dân, BC15 và 2 giống lúa nếp TK90, nếp 87

đang ở giai đoạn trổ (sau 10 tuần kể từ ngày gieo mạ) được sử dụng để lây nhiễm nhân tạo. Các thối thạch được đặt vào bẹ lá lúa sau đó được bọc trong giấy nhôm để giữ ẩm. Các mẫu đối chứng được thực hiện tương tự nhưng sử dụng môi trường PDA không cấy nấm. Sau 3 ngày các giấy nhôm được tháo ra để quan sát vết bệnh (Park et al., 2008).

2.2.3. Tách chiết ADN

Các mẫu nấm được nuôi trong môi trường PDA lỏng ở nhiệt độ 28°C, tốc độ lắc 100 vòng/phút. Sau 3 ngày nuôi cấy sợi nấm được thu bằng cách li tâm với tốc độ 1000 g trong 5 phút. Sợi nấm được nghiền mịn trong cối có nitơ lỏng sau đó cho vào ống eppendorf và trộn đều trong 500 µl đệm chiết (Tris-HCl 50 mM, EDTA 0,25 mM, NaCl 0,3 M, SDS 2%, pH 8,0). Hỗn hợp mẫu được ủ ở 65°C trong 1 giờ, thỉnh thoảng trộn đều bằng cách đảo ngược ống nhẹ nhàng. Sau đó thêm 500 µl dung dịch Phenol: Chloroform: Isoamyl alcohol (25:24:1), đảo nhẹ, li tâm 12.000 vòng/phút trong vòng 5 phút ở 4°C. Hút phần dịch lớp trên chuyển sang ống eppendorf mới và bổ sung hỗn hợp chloroform: isoamyl alcohol (24:1), đảo nhẹ, li tâm 12.000 g trong 10 phút ở 4°C. Phần dịch lớp trên được chuyển sang ống mới và ADN được rửa bằng Ethanol tuyệt đối theo tỉ lệ thể tích 2:1. Mẫu được đảo nhẹ nhàng sau đó giữ ở -20°C trong 30 phút. Sau khi ly tâm, thu rửa ADN và rửa bằng Ethanol 70%. DNA được hoàn tan bằng nước cất khử ion và bảo quản ở -20°C.

2.2.4. Xác định nấm *Rhizoctonia solani* Kuhn AG1- IA bằng kỹ thuật PCR-RFLP

Vùng rDNA-ITS (internal transcribed space) của nấm *R. solani* được nhân bằng PCR sử dụng cặp mồi đặc hiệu RS1 (5'-CCTGTGCACCTGTGAGACAG-3') và RS4 (5'-TGTCCAAGTCAATGGACTAT-3') (Taheri et al., 2007). Sản phẩm PCR được cắt bằng enzyme *MunI* theo hướng dẫn của Biolabs Inc (New England). Sản phẩm cắt được chạy điện di trên gel agarose 2% và quan sát trên máy soi gel (Molecular Imager Gel Doc™ XR System, Biorad).

2.2.5. Phân tích trình tự vùng rDNA-ITS

Sản phẩm PCR nhân vùng rDNA-ITS của mẫu KV13 với cặp mồi RS1, RS2 có kích thước khoảng 500 bp được xác định trình tự trực tiếp. Trình tự được so sánh với ngân hàng CSDL bằng công cụ BLAST để xác định loài (Taheri et al., 2007).

2.2.6. Sàng lọc xạ khuẩn đối kháng với mẫu nấm KV13

Khả năng đối kháng của các mẫu xạ khuẩn được xác định bằng phương pháp thối thạch và thử dịch nuôi cấy. Theo phương pháp thối thạch, các mẫu xạ khuẩn được nuôi trên môi trường YS đặc (Yeast extract-Soluble starch agar) sau khi xạ khuẩn mọc lên bề mặt môi trường, các thối thạch tròn có kích thước 1 cm có chứa xạ khuẩn được cắt và đặt trên môi trường PDA đã cấy mẫu nấm KV13 ở chính giữa và ủ ở nhiệt độ 28°C trong 3 ngày. Khả năng đối kháng được xác định dựa vào đường kính vòng vô nấm. Theo phương pháp thử dịch nuôi cấy, xạ khuẩn được nuôi trong 10 ml môi trường YS lỏng ở 28°C. Sau 7 ngày nuôi, 100 µl dịch môi trường được nhỏ vào 4 góc của môi trường PDA đã cấy mẫu nấm KV13 ở chính giữa và ủ ở nhiệt độ 28°C. Sau 3 ngày khả năng đối kháng của xạ khuẩn đối với mẫu nấm khô vằn KV13 được đánh giá bằng cách đo vòng vô nấm (D-d) trong đó D là đường kính vòng phân giải (mm), d là đường kính lỗ thạch (mm). Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Đối với phương pháp thối thạch, mẫu đối chứng sử dụng là thối thạch lấy trực tiếp từ môi trường PDA (không cấy xạ khuẩn). Đối với phương pháp thử dịch nuôi cấy mẫu đối chứng là môi trường YS lỏng (không cấy xạ khuẩn).

2.3. Phân tích thống kê

Các số liệu trong bài báo được hiển thị bằng giá trị trung bình và độ lệch chuẩn (standard deviation/SD). Phần mềm SPSS Version 16.0 được sử dụng cho các phân tích thống kê. Phân tích ANOVA và kiểm định đa khoảng (Duncans Multiple Range Test) được sử dụng để phân tích sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các cặp giá trị trung bình.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập nấm khô vằn lúa

Mẫu bệnh khô vằn có đặc điểm đặc trưng được thu thập tại các tỉnh Hà Nội, Hải Dương, Thái Bình, Hà Nam, Hưng Yên. Từ 20 mẫu bệnh đã phân lập và làm thuần được 10 mẫu nấm. Các mẫu phân lập được đều có đặc điểm đặc trưng của nấm khô vằn bao gồm sợi nấm có màu trắng khi non, chuyển màu đậm khi già, phân nhánh vuông góc, chỗ phân nhánh hơi thắt, gần chỗ phân nhánh có vách ngăn (Hình 1). Hạch nấm hình thành rõ rệt sau 5-6 ngày trên môi trường PDA. Hạch nấm có kích thước từ khoảng 1-6 mm và không có hình dạng nhất định. Hạch nấm xốp, lúc đầu có màu trắng sau chuyển sang màu nâu hoặc nâu đậm. Tất cả các đặc điểm hình thái của các chủng phân lập đều giống như nghiên cứu trước đây (Ou, 1985). Các mẫu nấm phân lập được bảo quản bằng cách cấy trên ống thạch PDA, sau 6 ngày nuôi cấy bảo quản ở tủ 4°C, thời gian cấy chuyển là 6 tháng.

3.2. Lây nhiễm nhân tạo

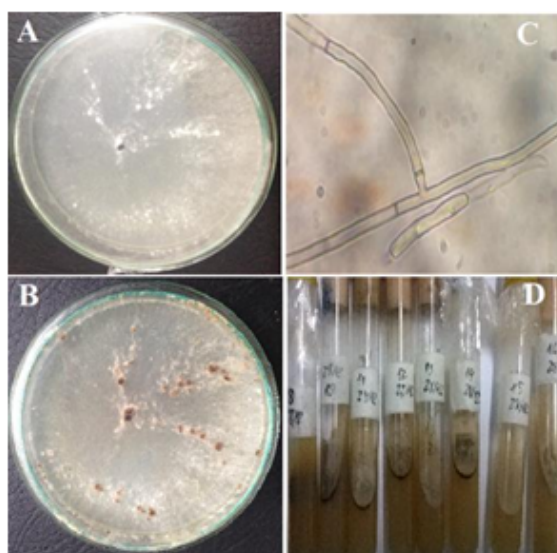
Các mẫu nấm phân lập được tiến hành lây nhiễm nhân tạo trên các giống lúa Xi 23, Q5, Khang dân, BC15, Nếp TK90 và Nếp 87. Trong thí nghiệm này cả 10 mẫu phân lập được biểu

hiện vết bệnh 100% ở tất cả các giống sau 3-5 ngày lây nhiễm. Mẫu đối chứng (chỉ sử dụng thỏi thạch của môi trường PDA) không biểu hiện vết bệnh. Ở giai đoạn đầu lây nhiễm, xuất hiện các vết đốm hình bầu dục màu lục tối, xám nhạt sau đó các vết này lan rộng thành dạng vết vằn da hổ dạng đám mây. Các đặc điểm này rất giống với mẫu bệnh điển hình đã thu thập ngoài đồng ruộng và các mô tả trước đây về triệu chứng khô vằn lúa (Lê Minh Tường và cs., 2014; Park et al., 2008). Mặc dù có sự khác biệt về mức độ phản ứng với nấm bệnh giữa các giống lúa nhưng kết quả thu được chỉ nhằm đánh giá được khả năng lây nhiễm và biểu hiện vết bệnh đặc trưng của các mẫu nấm bệnh phân lập.

3.3. Xác định nấm *Rhizoctonia solani* Kuhn AG1- IA

3.3.1. Phân tích PCR-RFLP

Vùng rDNA-ITS của 10 mẫu nấm phân lập được nhân lên bằng PCR với cặp mồi RS1 và RS4. Sản phẩm phản ứng PCR có kích thước khoảng 500 bp được cắt bằng enzyme *MunI* trong thời gian 3 giờ ở 37°C. Sản phẩm của phản ứng cắt được phân tách bằng điện di trên gel agarose 2%. Kết quả cho thấy sản phẩm PCR của 10 mẫu nấm phân lập đều bị cắt thành 2 vệt băng có

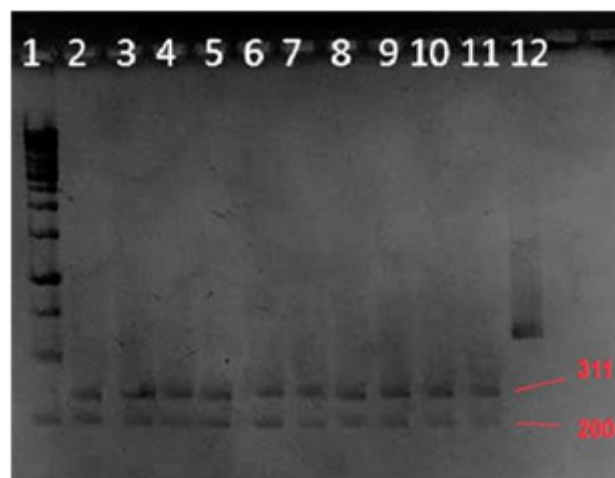


Hình 1. Phân lập và bảo quản các mẫu nấm khô vằn trong môi trường PDA

Ghi chú: A: Nấm KV13 sau 3 ngày nuôi cấy; B: Nấm KV13 sau 6 ngày nuôi cấy; C: Hình ảnh sợi nấm quan sát dưới kính hiển vi (độ phóng đại 400 lần); D: Hạch nấm của các mẫu được cấy bảo quản trong môi trường PDA và giữ ở 4°C.



Hình 2. Biểu hiện bệnh sau khi lây nhiễm KV13 trên các giống lúa



Hình 3. Phản ứng cắt sản phẩm PCR bằng enzyme *MunI*

Ghi chú: 1. Marker 1Kb, 2-11: các mẫu nấm khô vằn phân lập, 12: sản phẩm PCR không xử lý bằng *MunI*

chiều dài 311 bp và 200 bp (Hình 3). Kết quả này hoàn toàn giống với mô tả của tác giả Taheri (Taheri et al., 2007). Như vậy, 10 mẫu nấm phân lập là nấm khô vằn lúa *R. solani* AG1-IA.

3.3.2. Phân tích trình tự rDNA-ITS

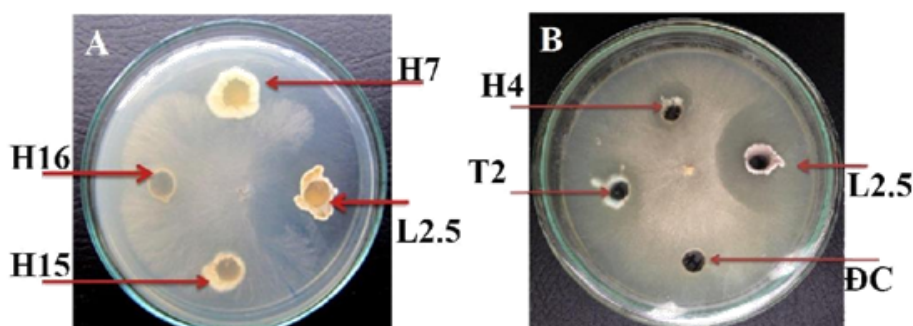
Sản phẩm PCR nhân vùng rDNA-ITS bằng cặp mồi RS1 và RS4 của mẫu KV13 được đọc trình tự trực tiếp. Trình tự DNA có kích thước 494 bp được so sánh với ngân hàng cơ sở dữ liệu nucleotide bằng công cụ Blastn. Kết quả cho thấy trình tự của mẫu nấm phân lập KV13 giống 99% so với trình tự các chủng *R. solani* AG1-IA trong ngân hàng cơ sở dữ liệu (Bảng 1). Cùng với các kết quả lây nhiễm nhân tạo và kết quả phân tích PCR-RFLP chứng tỏ mẫu nấm KV13 là nấm khô vằn *R. solani* AG1-IA.

3.4. Sàng lọc xạ khuẩn đối kháng với nấm gây bệnh khô vằn KV13

Bằng phương pháp thổi thạch, 80 mẫu xạ khuẩn từ ngân hàng mẫu giống đã được sàng lọc khả năng đối kháng nấm bệnh. Kết quả đã phát hiện được 10 mẫu phân lập biểu hiện khả năng đối kháng với mẫu KV13 (L2.4, L2.5, H13, H17, H4, H7, X, T2, C4.1 và KH25) trong đó mẫu L2.5 biểu hiện hoạt tính đối kháng mạnh nhất (Hình 5A). Nghiên cứu sử dụng dịch nuôi cấy (không chứa tế bào) của các chủng biểu hiện khả năng đối kháng cho thấy vòng kháng nấm biểu hiện rất rõ ràng. Đối với mẫu L2.5 các sợi nấm hoàn toàn không phát triển lan rộng ra khỏi hạch nấm ở giữa đĩa môi trường (Hình 5B). Mức độ đối kháng (tính theo

Bảng 1. Kết quả Blast trình tự rDNA-ITS với ngân hàng cơ sở dữ liệu

Mô tả	Điểm cao nhất (Max score)	Điểm tổng số (Total core)	Độ che phủ (Query cover) (%)	Giá trị kỳ vọng (E value)	Mức độ giống nhau (Ident) (%)	Số truy cập (Accession)
<i>Rhizoctonia solani</i> strain AG1-1AKA 18S ribosomal DNA	843	843	84	0,0	99	KJ577141.1
<i>Rhizoctonia solani</i> strain AG1-IA isolate CTCR02-2	843	843	84	0,0	99	KF907715.1
<i>Rhizoctonia solani</i> strain AG1-IA isolate CTCR02-3	843	843	84	0,0	99	KF907713.1
<i>Rhizoctonia solani</i> strain AG1-IA isolate HNDD01-3	843	843	84	0,0	99	KF907712.1
<i>Rhizoctonia solani</i> strain AG1-IA isolate STMX03-2	843	843	84	0,0	99	KF907711.1
<i>Rhizoctonia solani</i> strain AG1-IA isolate STMX03-1	843	843	84	0,0	99	KF907710.1
<i>Rhizoctonia solani</i> strain AG1-IA isolate STMX02-3	843	843	84	0,0	99	KF907709.1
<i>Rhizoctonia solani</i> strain AG1-IA isolate STMX01-4	843	843	84	0,0	99	KF907708.1
<i>Rhizoctonia solani</i> strain AG1-IA isolate STMX01-1	843	843	84	0,0	99	KF907707.1
<i>Rhizoctonia solani</i> strain AG1-IA isolate HNGL01-3	843	843	84	0,0	99	KF907706.1



Hình 5. Đánh giá khả năng đối kháng của xạ khuẩn với mẫu nấm KV13

Ghi chú: A. Phương pháp thổi thạch (mẫu xạ khuẩn L2.5 biểu hiện khả năng đối kháng mạnh; H16, H15 và H7 không biểu hiện khả năng đối kháng), B. Phương pháp thử dịch nuôi cấy (các chủng đều biểu hiện khả năng đối kháng)

Bảng 2. Khả năng đối kháng của các mẫu xạ khuẩn với chủng KV13 bằng phương pháp thử dịch nuôi cấy

Mẫu xạ khuẩn	Vòng vô nấm (mm)	STT	Mẫu xạ khuẩn	Vòng vô nấm (mm)
L2.5	32 ± 4	6	H7	15 ± 2
L2.4	24 ± 3	7	X	10 ± 2
H13	25 ± 3	8	T2	21 ± 3
H17	19 ± 3	9	C4.1	27 ± 3
H4	12 ± 2	10	KH25	26 ± 4

đường kính vòng vô nấm) của 10 mẫu xạ khuẩn được trình bày ở bảng 2.

Kết quả thu được cho thấy các mẫu xạ khuẩn biểu hiện khả năng đối kháng theo phương pháp thổi thạch đều có hoạt đối kháng theo phương pháp thử dịch nuôi cấy. Điều này chứng tỏ khả năng đối kháng là do những chất tiết ngoại bào của xạ khuẩn đã ức chế sự phát triển của nấm KV13. Trong cùng điều kiện thí nghiệm, dịch nuôi cấy của các mẫu L2.4, L2.5, H13, KH25, C4.1 và T2 đều biểu hiện khả năng kháng nấm. Kết quả phân tích ANOVA cho thấy có sự khác biệt về giá trị trung bình (đường kính vòng vô nấm) của các mẫu xạ khuẩn và không có sự khác biệt về phương sai (Sig. < α , 0,05). Tiếp tục phân tích sâu ANOVA sử dụng kiểm định Duncan cho thấy mẫu phân lập L2.5 biểu hiện khả năng kháng nấm khô vằn mạnh nhất và khác biệt so với các mẫu còn lại. Mẫu xạ khuẩn phân lập L2.5 được bảo quản trong môi trường YS ở 4°C để tiếp tục cho các nghiên cứu xác định tên và phát triển chế phẩm phòng trừ.

4. KẾT LUẬN

Bằng cách sử dụng các phương pháp quan sát đặc điểm hình thái trên đồng ruộng, phân tích PCR-RFLP và xác định vùng trình tự rDNA ITS1 kết hợp với lấy nhiễm nhân tạo trên các giống lúa đã phân lập và định tên được 10 mẫu nấm *R. solani* gây bệnh khô vằn hại lúa thuộc nhóm *R. solani* Kuhn AG1- IA. Dựa vào kết quả lấy nhiễm nhân tạo, mẫu nấm khô vằn biểu hiện độc tính mạnh nhất là KV13 đã được xác định. Dựa vào phân tích đối kháng, từ 80 mẫu xạ khuẩn phân lập đã sàng lọc được 10 chủng biểu hiện khả năng đối kháng với mẫu nấm khô vằn KV13. Mẫu xạ khuẩn biểu hiện khả năng kháng nấm bệnh mạnh nhất L2.5 có

thể được sử dụng cho các nghiên cứu nhằm phát triển chế phẩm xạ khuẩn kháng bệnh khô vằn hại lúa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Boukaew S, Klinmanee C, Prasertsan P (2013). Potential for the integration of biological and chemical control of sheath blight disease caused by *Rhizoctonia solani* on rice. *World J Microbiol Biotechnol.*, 29(10): 1885-1893.
- Boukaew S, Prasertsan P (2014). Factors affecting antifungal activity of *Streptomyces philanthi* RM-1-138 against *Rhizoctonia solani*. *World J Microbiol Biotechnol.*, 30(1): 323-329.
- El-Tarabily, Sivasithamparam K (2006). Non-streptomycete actinomycete as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Soil Biology and Biochemistry*, 38: 1505-1520.
- Lê Minh Tường, Ngô Thị Kim Ngân (2014). Phân lập và xác định khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với nấm *Rhizoctonia solani* Kuhn gây bệnh đốm vằn trên lúa. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, 4: 113-119.
- Nguyễn Đắc Khoa, Dương Minh, Phạm Văn Kim (2010). Sản xuất các sản phẩm sinh học để quản lý bệnh hại lúa, cây ăn quả và rau màu theo hướng bền vững và không ô nhiễm môi trường. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, 16b: 117-126.
- Ou, S. H. (1985). Fungus diseases- foliage diseases. *Rice diseases* (2nd Ed.), pp. 109-201.
- Park D. S., Sayler, R. J., Hong, Y.-G., Nam, M.-H., Yang, Y (2008). A method for inoculation and evaluation of rice sheath blight disease. *Plant Dis.*, 92: 25-29.
- Taheri P., Gnanamanickam, S. S., Hofte, M (2007). Characterization, genetic structure and pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. associated with rice sheath diseases in India. *Phytopathology*, 97: 373-383.
- Vincelli P., Beaupre', C. M. S (1989). Comparison of media for isolating *Rhizoctonia solani* from soil. *Plant Disease*, 73: 1014-1017.