



ĐỊNH DANH XẠ KHUẨN CÓ TRIỂN VỌNG TRONG PHÒNG TRỪ BỆNH CHÁY BÌA LÁ HẠI LÚA

Lê Minh Tường, Phạm Tuấn Vũ và Lý Văn Giang

Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 07/04/2015

Ngày chấp nhận: 21/12/2015

Title:

Identification of actinomycetes as potential antagonistic ability against bacterial leaf blight disease of rice

Từ khóa:

đặc điểm hình thái, đặc điểm sinh lý, đặc điểm sinh hóa, định danh, Xạ khuẩn

Keywords:

Actinomycete, biochemical, identification, morphology, physiology

ABSTRACT

The objective of study was to identify the actinomycete isolates, as a basis for further research, contributing in applications of actinomycetes as biocontrol agents for bacterial leaf blight disease on rice. Eight actinomycete isolates were capable in inhibiting *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolated from the rice fields in the Mekong Delta provinces. In the experiment of culture traits, biochemical characteristics, physiological characteristics and sequence analysis, the RNA sequence of bacterial 16S-rRNA gene has been sequenced and compared with the genome of *Streptomyces* species have been identified in GenBank. The results showed that the isolates: CT1 had 99% similarity with *Streptomyces kanamyceticus*, CT5 had 99% similarity with *Streptomyces morei*, HG37 had 100% similarity with *Streptomyces bacillaris*, ST10 and ST12 had 98% similarity with *Streptomyces campoamus* isolate, VL4 showed 100% similarity with *Streptomyces lipmanii*, VL10 had 99% similarity with *Streptomyces bikiniensis* and VL-TO21 had 99% similarity with *Streptomyces ostreogriseus*.

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm xác định đến loài các chủng xạ khuẩn có triển vọng trong quản lý bệnh cháy bìa lá lúa, làm cơ sở cho những nghiên cứu tiếp theo góp phần ứng dụng xạ khuẩn vào biện pháp phòng trừ sinh học đối với bệnh cháy bìa lá lúa. Tám chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* được phân lập trên những ruộng lúa tại các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long. Bằng phương pháp khảo sát đặc điểm nuôi cấy, hình thái và sinh lý cũng như phương pháp phân tích trình tự gen 16S-rRNA và so sánh với bộ gen của các loài vi khuẩn trên GenBank đã xác định được: Chủng CT1 có mức tương đồng với loài *Streptomyces kanamyceticus*, là 99%; chủng CT5 có mức tương đồng với loài *Streptomyces willmorei* là 99%, chủng HG37 có mức tương đồng với loài *Streptomyces bacillaris* là 100%, chủng ST10 và ST12 có mức tương đồng với loài *Streptomyces campoamus* là 98%, chủng VL4 có mức tương đồng với loài *Streptomyces lipmanii* là 100%, chủng VL10 có mức tương đồng với loài *Streptomyces bikiniensis* là 99%, chủng VL9 có mức tương đồng với loài *Streptomyces ostreogriseus* là 99%.

1 GIỚI THIỆU

Bệnh cháy bìa lá lúa do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) là một trong những bệnh gây hại nặng, ảnh hưởng rất lớn đến năng suất và là dịch bệnh nghiêm trọng ở những vùng trồng lúa trên thế giới (Agarwal *et al.*, 1989). Việc thâm canh tăng vụ, sử dụng các giống lúa nhiễm bệnh cháy bìa lá lúa, sử dụng thừa phân đạm, lạm dụng thuốc hóa học... làm cho bệnh cháy bìa lá lúa gây hại ngày càng nghiêm trọng hơn. Hiện nay, người nông dân thường sử dụng các biện pháp phòng trị là thuốc hóa học nhưng không có hiệu quả cao mà còn ảnh hưởng đến môi trường và sức khỏe con người (Tuzun và Kloeppe, 1995). Nhằm phát triển nền nông nghiệp theo hướng bền vững và khắc phục những nhược điểm của thuốc hóa học, nhiều biện pháp quản lý dịch hại bằng những biện pháp sinh học được sử dụng như: dịch trích thực vật để kích thích tính kháng bệnh, giống kháng, vi sinh vật đối kháng. Trong nhóm vi sinh vật có lợi thì xạ khuẩn là một nhóm có triển vọng với những đặc điểm nổi bật như có khả năng tiết ra nhiều chất kháng sinh (streptomycin, validamycin, kasugamycin, gentamycin...) và các enzyme ngoại bào (chitinase, glucanase, protease, lipase...) để chống lại các tác nhân gây hại cây trồng (Doumbou *et al.*, 2001). Hiện nay, 80 % chất kháng sinh hiện có đều được sản xuất từ *Streptomyces*, một chi quan trọng của xạ khuẩn (Watve *et al.*, 2001). Ngoài ra, theo Hastuti *et al.* (2012) xạ khuẩn không những có khả năng đối kháng lại với tác nhân gây bệnh trên lúa mà còn có khả năng kích thích tăng trưởng giúp tăng chiều cao cây lúa. Ngày nay, vai trò của xạ khuẩn trong việc phòng trị bệnh cây trồng ngày càng được quan tâm nghiên cứu và ứng dụng nhiều. Theo kết quả nghiên cứu của Lê Minh Tường (2014), đã tìm ra 8 chủng xạ khuẩn thí nghiệm có khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây bệnh cháy bìa lá hại. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu: (1) Định danh đến loài xạ khuẩn bằng phương pháp truyền thống như khảo sát đặc điểm nuôi cấy, đặc điểm hình thái và đặc điểm sinh lý và (2) phương pháp sinh học phân tử dựa vào trình tự gene vùng 16S-rRNA.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu

Tám chủng xạ khuẩn thí nghiệm có khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây bệnh cháy bìa lá hại lúa (Lê Minh Tường, 2014). Kết quả thí nghiệm cho thấy khả

năng đối kháng của 8 chủng xạ khuẩn thí nghiệm thể hiện qua bán kính vòng vô khuẩn từ 2,18 mm đến 4,20 mm.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Khảo sát đặc tính hình thái

a. *Thí nghiệm 1 Quan sát màu sắc của hệ sợi khí sinh, hệ sợi cơ chất và sắc tố tan*

Mục tiêu: Ghi nhận màu sắc các chủng xạ khuẩn trên nhiều loại môi trường nuôi cấy khác nhau.

Tiến hành thí nghiệm: Thí nghiệm được tiến hành theo phương pháp của Shirling và Gottlieb (1966).

b. *Thí nghiệm 2 Quan sát cuống sinh bào tử và hình dạng bề mặt bào tử*

Mục tiêu: Quan sát và ghi nhận hình dạng cuống sinh bào tử và bề mặt bào tử của tám chủng xạ khuẩn

Tiến hành thí nghiệm: Thí nghiệm được tiến hành theo phương pháp của Shirling và Gottlieb (1966).

2.2.2 Khảo sát đặc tính sinh hóa

a. *Thí nghiệm 3 Khảo sát khả năng tiết enzyme protease của các chủng xạ khuẩn*

Mục tiêu: Nhằm xác định khả năng tiết enzyme protease của các chủng xạ khuẩn triển vọng.

Tiến hành thí nghiệm: Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của Mitra và Chakrabartty (2005).

b. *Thí nghiệm 4 Khảo sát khả năng tiết enzyme lipase của các chủng xạ khuẩn*

Mục tiêu: Nhằm xác định khả năng tiết enzyme lipase của tám chủng xạ khuẩn.

Tiến hành thí nghiệm: Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của (Ertugrul *et al.*, 2007)

c. *Thí nghiệm 5 Khảo sát khả năng tiết enzyme amylase của các chủng xạ khuẩn*

Mục tiêu: Nhằm xác định khả năng tiết enzyme amylase của tám chủng xạ khuẩn.

Tiến hành thí nghiệm: Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của Santos (2012).

d. *Thí nghiệm 6 Khảo sát sự hình thành sắc tố melanin của các chủng xạ khuẩn có triển vọng*

Mục tiêu: Nhằm xác định khả năng tiết melanin của các chủng xạ khuẩn triển vọng

Tiến hành thí nghiệm: Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của Shirling and Gottlieb, 1966.

2.2.3 Thí nghiệm 7 Định danh đến loài các chủng xạ khuẩn bằng phương pháp sinh học phân tử

Tách chiết DNA của các chủng xạ khuẩn

Chọn 10 khuẩn lạc rỗng, cho vào tube 2,2 ml (ưu tiên chọn những khuẩn lạc lẻ, rời). Sau đó, cho 1 viên bi sắt vào tube và lắc bằng máy lắc. Tiếp tục cho vào 1 ml Lysis buffer, lắc đều, ủ ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Ly tâm 13000 vòng/5 phút, lấy phần dung dịch chuyển sang tube mới. Sau đó, cho một lượng tương đương Ethanol 95%, ly tâm 13000 vòng/5 phút, bỏ phần dung dịch phía trên. Rửa phần tủa bằng 500 ul Ethanol 70%, ly tâm 13000 rpm/5 phút. Sấy khô chân không trong 10 phút (45°C). Hòa tan trong 100 ul TE 0.1X.

Khuếch đại đoạn gen 16S-rRNA của các chủng xạ khuẩn với cặp mồi được sử dụng trong nghiên cứu là (Weisburg et al., 1991):

1492R 5'-TACGGTTACCTTGTTACGACT-3'

27F 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTC-3'

Thành phần phản ứng PCR: hỗn hợp phản ứng PCR có thể tích 25 µl được cho vào tuýp 0,5 ml với thành phần hóa chất gồm: 13,35 µl nước; 2,5 µl buffer; MgCl₂ 2 µl; dNTPs 4 µl; DMNSO 0,5 µl; 0,25 µl Taq polymerase; 0,25 µl mồi 27F; 0,25 µl mồi 1492R và 2 µl DNA của xạ khuẩn.

Phản ứng PCR: hỗn hợp PCR của mỗi chủng xạ khuẩn sau khi pha xong sẽ được cho vào máy PCR với chu kỳ nhiệt bắt đầu bằng giai đoạn biến tính DNA ở 95°C trong 5 phút, tiếp theo là 30 chu kỳ lặp lại của giai đoạn biến tính ở 95°C trong 1 phút, giai đoạn bắt cặp ở 53°C trong 30 giây và giai đoạn kéo dài ở 72°C trong 90 giây. Tiếp theo là giai đoạn kéo dài trong 5 phút ở 72°C để chắc chắn rằng các sợi DNA đã được bổ sung hoàn toàn bởi dNTPs. Sau đó sản phẩm PCR sẽ được đưa vào bảo quản ở 10°C.

Điện di: Pha 0,3 gam agarose với 20 ml TBE 1X, đun nóng dung dịch trong lò vi sóng cho agarose tan hoàn toàn trong TBE. Dung dịch được đổ vào khuôn có gắn một thanh nhựa hình răng lược để tạo các giếng trên bề mặt gel, sản phẩm PCR sẽ được đưa vào những giếng này để điện di.

Một lượng 7 µl sản phẩm PCR của mỗi chủng xạ khuẩn được nhuộm với 5 µl thuốc nhuộm và được cho vào các giếng nhỏ. Sau đó, gel được điện di trong môi trường TBE 1X ở 100V trong thời gian 60 phút.

– Chụp hình gel: Gel sau khi được điện di được nhuộm với ethidium bromide trong 30 phút và được đưa vào máy có chiếu tia UV để chụp hình.

– Tinh sạch sản phẩm bằng kit PCR SEQ

– Mẫu phân tích được gửi đi giải trình tự tại công ty Macrogen, Hàn Quốc (Giải trình tự trên hệ thống máy ABI 3130XL).

– Phân tích kết quả bằng phần mềm sequencing analysis 5.3, và so sánh với kết quả trên ngân hàng gen để xác định tên của xạ khuẩn.

– Dùng phần mềm MEGA 6.0 để vẽ cây phả hệ

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Định danh xạ khuẩn dựa vào đặc điểm nuôi cấy, đặc điểm hình thái và đặc điểm sinh lý

Kết quả về đặc điểm nuôi cấy, đặc điểm hình thái và đặc điểm sinh lý của 8 chủng xạ khuẩn thí nghiệm được trình bày ở Bảng 1.

Chủng CT1 có chuỗi bào tử dạng thẳng (R), bề mặt bào tử dạng tròn, chủng này có màu trắng trên môi trường nuôi cấy. Chủng CT1 không hình thành sắc tố tan trên các môi trường nuôi cấy và không có khả năng sinh melanin. Bên cạnh đó, dựa vào các đặc điểm chung của xạ khuẩn đã được nghiên cứu trước đây xác định các đặc điểm nhận dạng xạ khuẩn và xác định được chủng xạ khuẩn CT1 thuộc Gram dương và có khả năng tiết các enzyme ngoại bào như protease, amylase và lipase.

Chủng CT5 có chuỗi bào tử dạng thẳng và hơi gợn sóng (RF), bề mặt bào tử dạng tròn, trên môi trường nuôi cấy có màu trắng. Chủng CT5 không hình thành sắc tố tan trên các môi trường nuôi cấy và không có khả năng sinh melanin. Bên cạnh đó, dựa vào các đặc điểm chung của xạ khuẩn đã được nghiên cứu trước đây xác định các đặc điểm nhận dạng xạ khuẩn và xác định được chủng xạ khuẩn CT5 thuộc Gram dương và có khả năng tiết các enzyme ngoại bào như protease, amylase và lipase.

Bảng 1: Đặc điểm về hình thái, nuôi cấy và đặc điểm sinh lý-sinh hóa của tám chủng xạ khuẩn thí nghiệm

Đặc điểm	Chủng xạ khuẩn thí nghiệm							
	CT1	CT5	HG37	ST10	VL4	ST12	VL10	VL9
Màu sắc	Trắng	Trắng	Xám nâu	Xám	Trắng	Xám	Xám nâu	Xám
Cuống sinh bào tử	Thẳng (R)	Thẳng-Rợn sóng (RF)	Thẳng-Rợn sóng (RF)	Móc câu (RA)	Thẳng-Rợn sóng (RF)	Móc câu (RA)	Thẳng-Rợn sóng (RF)	Thẳng-Rợn sóng (RF)
Bề mặt bào tử	Trơn	Trơn	Trơn	Trơn	Trơn	Trơn	Trơn	Trơn
Sắc tố tan	không	không	không	không	không	không	không	không
Sắc tố melanin	Không có	Không có	Nâu vàng	Nâu vàng	Không có	Nâu vàng	Nâu đen	Nâu vàng
Tiết enzyme	Proteas, lipase, amylase	Proteas, lipase, amylase	Proteas, lipase, amylase	Proteas, lipase, amylase	Proteas, lipase, amylase	Proteas, lipase, amylase	Proteas, lipase, amylase	Proteas, lipase, amylase
Gram	dương	dương	dương	dương	dương	dương	dương	dương

Chủng HG37 có chuỗi bào tử dạng thẳng và hơi gợn sóng (RF), bề mặt bào tử dạng trơn, trên môi trường nuôi cấy có màu xám nâu. Chủng HG37 không hình thành sắc tố tan trên các môi trường nuôi cấy tuy nhiên có khả năng sinh sắc tố melanin (màu nâu vàng). Bên cạnh đó, dựa vào các đặc điểm chung của xạ khuẩn đã được nghiên cứu trước đây xác định các đặc điểm nhận dạng xạ khuẩn và xác định được chủng xạ khuẩn HG37 thuộc Gram dương và có khả năng tiết các enzyme ngoại bào như protease, amylase và lipase.

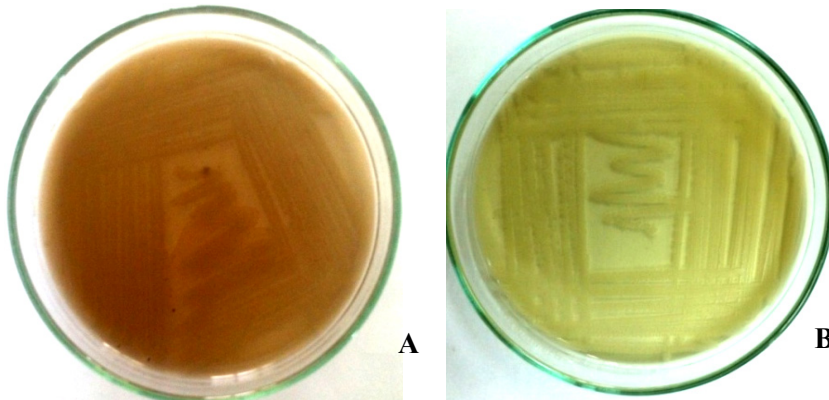
Chủng ST10 có chuỗi bào tử dạng móc câu (RA), bề mặt bào tử dạng trơn, trên môi trường nuôi cấy có màu xám. Chủng ST10 không hình thành sắc tố tan trên các môi trường nuôi cấy và có sinh sắc tố melanin (nâu vàng). Ngoài ra, dựa vào các đặc điểm chung của xạ khuẩn đã được nghiên cứu trước đây xác định các đặc điểm nhận dạng xạ khuẩn và xác định được chủng xạ khuẩn ST10 thuộc Gram dương và có khả năng tiết các enzyme ngoại bào như protease, amylase và lipase.

Chủng VL4 có chuỗi bào tử dạng thẳng và hơi gợn sóng (RF), bề mặt bào tử dạng trơn, trên môi trường nuôi cấy có màu trắng. Chủng VL4 không hình thành sắc tố tan trên các môi trường nuôi cấy và không có khả năng sinh melanin. Thêm vào đó, dựa vào các đặc điểm chung của xạ khuẩn đã được nghiên cứu trước đây xác định các đặc điểm nhận dạng xạ khuẩn và xác định được chủng xạ khuẩn VL4 thuộc Gram dương và có khả năng tiết các enzyme ngoại bào như protease, amylase và lipase.

Chủng ST12 có chuỗi bào tử dạng móc câu (RA), bề mặt bào tử dạng trơn, trên môi trường nuôi cấy có màu xám. Chủng ST12 không hình thành sắc tố tan trên các môi trường nuôi cấy và có sinh sắc tố melanin (nâu vàng). Dựa vào các đặc điểm chung của xạ khuẩn đã được nghiên cứu trước đây xác định các đặc điểm nhận dạng xạ khuẩn và xác định được chủng xạ khuẩn ST12 thuộc Gram dương và có khả năng tiết các enzyme ngoại bào như protease, amylase và lipase.



Hình 1: Hình dạng cuống sinh bào tử dạng rợn sóng (A) và bề mặt bào tử trơn (B) được quan sát dưới kính hiển vi quang học (A) và kính hiển vi điện tử (B)



Hình 2: Khả năng tạo sắc tố melanin (A) và không tạo sắc tố melanin (B) trên môi trường nuôi cấy ISP6 của xạ khuẩn ở 4 NSKC

Chủng VL10 có chuỗi bào tử dạng thẳng và hơi gợn sóng (RF), bề mặt bào tử dạng trơn, trên môi trường nuôi cấy có màu xám nâu. Chủng VL10 không hình thành sắc tố tan trên các môi trường nuôi cấy đồng thời chủng này có sinh sắc tố melanin (nâu đen). Bên cạnh đó dựa vào các đặc điểm chung của xạ khuẩn đã được nghiên cứu trước đây xác định các đặc điểm nhận dạng xạ khuẩn và xác định được chủng xạ khuẩn VL10 thuộc Gram dương và có khả năng tiết các enzyme ngoại bào như protease, amylase và lipase.

Chủng VL9 có chuỗi bào tử dạng thẳng và hơi gợn sóng (RF), bề mặt bào tử dạng trơn, trên môi trường nuôi cấy có màu xám. Chủng VL9 không hình thành sắc tố tan trên các môi trường nuôi cấy đồng thời chủng này có sinh sắc tố melanin trên môi trường nuôi cấy (nâu vàng). Bên cạnh đó dựa vào các đặc điểm chung của xạ khuẩn đã được nghiên cứu trước đây xác định các đặc điểm nhận dạng xạ khuẩn và xác định được chủng xạ khuẩn VL9 thuộc Gram dương và có khả năng tiết các

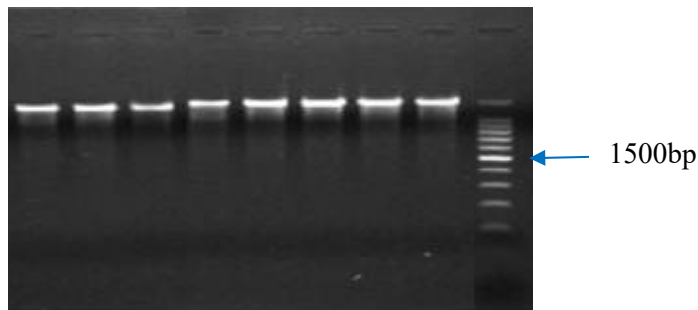
enzyme ngoại bào như protease, amylase và lipase.

Sau khi tiến hành so sánh các đặc điểm nuôi cấy, hình thái, sinh lý - hóa với khoa phân loại xạ khuẩn của International Streptomyces Project (Shirling và Gottlieb, 1972; Pridham *et al.*, 1958; Waksman, 1961) ta có thể xếp 8 chủng xạ khuẩn : CT1, CT5, HG37, ST10, VL4, ST12, VL10, VL9 vào chi *Streptomyces*.

Để có thể xác định chính xác đến tên loài của các chủng xạ khuẩn trên cần phải kết hợp các đặc điểm phân loại theo phương pháp truyền thống với việc xác định bằng phương pháp sinh học phân tử.

3.2 Định danh các chủng xạ khuẩn bằng phương pháp sinh học phân tử

Tám chủng xạ khuẩn được ly trích DNA và thực hiện phản ứng PCR với đoạn mồi thuộc vùng 16S-rRNA. Kết quả cho thấy tám chủng xạ khuẩn có trọng lượng phân tử khoảng 1500 bp (Hình 3), phù hợp với trọng lượng phân tử các chủng xạ khuẩn thuộc loài *Streptomyces*.



Hình 3: Sản phẩm PCR được khuếch đại với đoạn mồi thuộc vùng 16S-rRNA của 8 chủng xạ khuẩn nghiên cứu

Dựa vào kết quả Bảng 2 cho thấy các chủng xạ khuẩn thí nghiệm có mức độ tương đồng từ 98 –

100% khi so sánh với loài chuẩn dựa vào trình tự gen vùng 16S rRNA. Cụ thể là chủng CT1 có mức

tương đồng với loài *Streptomyces kanamyceticus* là 99%; chủng CT5 có mức tương đồng với loài *Streptomyces willmorei* là 99%, chủng HG37 có mức tương đồng với loài *Streptomyces bacillaris* là 100%, 2 chủng ST10 và ST12 có mức tương đồng với loài *Streptomyces campoamus* là

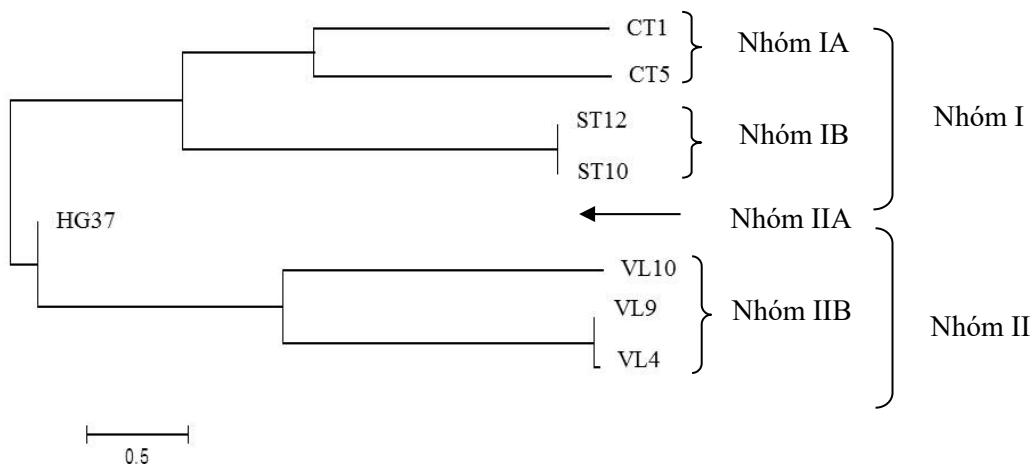
98%, chủng VL4 có mức tương đồng với loài *Streptomyces lipmanii* là 100%, chủng VL10 có mức tương đồng với loài *Streptomyces bikiniensis* là 99% và chủng VL9 có mức tương đồng với loài *Streptomyces ostreogriseus* là 99%

Bảng 2: Mức độ tương đồng (%) trình tự gene của 8 chủng xạ khuẩn thí nghiệm với trình tự gene của các chủng xạ khuẩn có sẵn trên ngân hàng gene dựa vào trình tự gen vùng 16S-rRNA

Chủng xạ khuẩn	Xác định loài trên ngân hàng gen	Mức độ tương đồng (%)
CT1	<i>Streptomyces kanamyceticus</i>	99
CT5	<i>Streptomyces willmorei</i>	99
HG37	<i>Streptomyces bacillaris</i>	100
ST10	<i>Streptomyces campoamus</i>	98
VL4	<i>Streptomyces lipmanii</i>	100
ST12	<i>Streptomyces campoamus</i>	98
VL10	<i>Streptomyces bikiniensis</i>	99
VL9	<i>Streptomyces ostreogriseus</i>	99

Mặt khác, kết quả trình bày ở cây phả hệ (Hình 4) cho thấy, khả năng phân nhóm của các chủng xạ khuẩn thí nghiệm rất rõ ràng phân theo vùng địa lý và chia thành 2 nhóm lớn. Nhóm I gồm 4 chủng xạ khuẩn và chia thành 2 nhóm nhỏ: nhóm IA gồm 2 chủng xạ khuẩn CT1 và CT5 có nguồn gốc từ thành phố Cần Thơ và mức độ tương đồng của chúng là 99%; nhóm IB gồm 2 chủng ST12 và

ST10 có nguồn gốc từ tỉnh Sóc Trăng và mức độ tương đồng của chúng là 100%. Nhóm II gồm 4 chủng xạ khuẩn và chia thành 2 nhóm nhỏ: nhóm IIA gồm chủng HG37 có nguồn gốc từ tỉnh Hậu Giang và nhóm IIB gồm 3 chủng VL10; VL9 và VL4 có nguồn gốc từ tỉnh Vĩnh Long và mức độ tương đồng của chúng là 98%.



Hình 4: Cây phả hệ của 8 chủng xạ khuẩn có khả năng phòng trị bệnh cháy bìa lá lúa dựa vào trình tự gen vùng 16S-rRNA

4 KẾT LUẬN

Tám chủng xạ khuẩn nghiên cứu thuộc loài *Streptomyces kanamyceticus*, loài *Streptomyces willmorei*, loài *Streptomyces bacillaris*, loài *Streptomyces capoamus*, loài *Streptomyces lipmanii*, loài *Streptomyces capoamus*, loài *Streptomyces bikiniensis* và loài *Streptomyces ostreogriseus*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Agarwal, P.C., C.N. Mortensen and S.B. Mathur (1989). Seed-borne diseases and seed health testing of rice. *Phytopathological Papers*, 30.

Doumbou, C.L., M.H. Salove, D.L. Crawford and C. Beaulieu (2001). Actinomycetes, promising tools to control plant diseases and

- to promote plant growth. *Phytoprotection*, 82(3): 85-102.
- Ertuğrul, S., G. Dönmez and S. Takaç (2007). Isolation of lipase producing *Bacillus* sp. from olive mill wastewater and improving its enzyme activity. *Journal of Hazardous Materials*, 149(3): 720-724.
- Hastuti, R.D., L. Yulin, R. Saraswati, A. Suwanto and Chaerani (2012). Capability of *Streptomyces* spp. in Controlling Bacterial Leaf Blight Disease in Rice Plants. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 7 (2): 217-223.
- Lê Minh Tường. (2014). Tuyển chọn xạ khuẩn *Actinomycetes* sp. có khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây bệnh bạc lá (cháy bìa lá) lúa ở Đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*. Tháng 12.2014: 50 – 54.
- Mitra, P., and P. Chakrabartty (2005). An extracellular protease with depilation activity from *Streptomyces nogalator*. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 64(12): 978.
- Pridham, T. G., Hesseltin, C. W., and Benedict, R. G. (1970). A guide for the classification of streptomycetes according to selected groups. Placement of strains in morphological sections. *App. Microbiol.* 6: 52.
- Santos, É.R.D., Z.N.S. Teles, N.M. Campos, D.A.J.D. Souza, A.S.D.R. Bispo and R.P.D. Nascimento (2012). Production of α -amylase from *Streptomyces* sp. SLBA-08 strain using agro-industrial by-products. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55(5): 793-800.
- Shirling, E.T. and D. Gottlieb (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International journal of systematic bacteriology*, 16(3): 313-340.
- Shirling, E.T. and Gottlieb, D. (1972). Cooperative description of type strains of *Streptomyces* V. Additional descriptions. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 22(4): 265-394.
- Tuzun, S. and J. Kloepper (1995). Practical application and implementation of induced resistance. In *Induced Resistance to Disease in Plants: 152-168*. Springer Netherlands.
- Waksman, S.A. (1961). *The Actinomycetes: Classification, identification and descriptions of genera and species*. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 2, USA.
- Watve, M.G., R. Tickoo, M.M. Jog and B.D. Bhole (2001). How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces*?. *Archives of microbiology*, 176(5): 386-390.
- Weisburg, W.G., S.M. Barns, D.A. Pelletier, and D.J. Lane (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of bacteriology*, 173(2), 697-703.