

NGHIÊN CỨU PHÂN LẬP MỘT SỐ VI SINH VẬT GÂY BỆNH Ở THỰC VẬT VÀ THỬ NGHIỆM HOẠT TÍNH KHÁNG CỦA MỘT SỐ CHẾ PHẨM CÓ NGUỒN GỐC SINH HỌC

Phạm Thị Thanh Nhân*, Phạm Quang Sơn, Cao Thị Phương Thảo, Lê Hữu Thiêng
Trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên

TÓM TẮT

Cây trà hay chè (*Camellia sinensis*), quýt Bắc Sơn (*Citrus reticulata Blanco*) và trám nếp đen (*Canarium tramdenum*) là những loại cây mang lại giá trị kinh tế cao cho người dân. Tuy nhiên, Việt Nam có khí hậu nhiệt đới gió mùa, thời tiết thường xuyên nồm ẩm. Đây chính là điều kiện cho các loài vi sinh vật gây bệnh ở thực vật phát triển. Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu phân lập một số vi sinh vật gây bệnh ở cây trà, cây quýt và cây trám nếp đen và thử nghiệm hoạt tính kháng của một số chế phẩm có nguồn gốc sinh học. Kết quả phân lập được 05 chủng vi khuẩn và 02 chủng nấm gây bệnh ở chè, quýt và trám nếp đen. Cao chiết từ các bộ phận cây Thanh ngâm (*Picria felterrae Lour*) bằng ethanol trong 72 giờ có khả năng ức chế chủng vi khuẩn Q2 ở quýt (nồng độ 200 g/l) và chủng nấm N1 ở chè (nồng độ 150 g/l). Phức chất $\text{Er(Asp)}_3\text{phenCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (nồng độ 10 $\mu\text{g/ml}$) có khả năng ức chế 5 chủng vi khuẩn phân lập được gồm: vi khuẩn C1 ở chè, vi khuẩn T1 và T2 ở trám, vi khuẩn Q1 và Q2 ở quýt.

Từ khóa: Cao chiết; hoạt tính kháng; phân lập; phức chất; vi sinh vật gây bệnh.

Ngày nhận bài: 07/10/2019; Ngày hoàn thiện: 15/6/2020; Ngày đăng: 10/7/2020

ISOLATION OF SOME PATHOGENETIC MICROORGANISMS IN PLANTS AND TESTING THE RESISTANCE ACTIVITY OF SOME BIOLOGICAL PRODUCTS

Phạm Thị Thanh Nhân*, Phạm Quang Sơn, Cao Thị Phương Thảo, Lê Hữu Thiêng
TNU - University of Education

ABSTRACT

Tea tree (*Camellia sinensis*), Bac Son tangerine (*Citrus reticulata Blanco*) and black sticky canarium (*Canarium tramdenum*) are the plants bringing the high economic value to farmers. However, Vietnam has a tropical climate, it is often damp. This is the favourable condition for growth of pathogenic microorganisms in plants. This paper presents the research results about isolation of some pathogenic microorganisms in tea, tangerine and black sticky canarium trees and testing the resistance activity of some biological products. There are 05 strains of bacteria and 02 strains of fungi causing disease in tea, tangerine and black sticky canarium isolated. The extract from different parts of *Picria felterrae Lour* by ethanol for 72 hours has ability to inhibit Q2 bacterial strains in tangerines (concentration of 200 g/l) and N1 fungi strain in tea (concentration of 150 g/l). The complex $\text{Er(Asp)}_3\text{phenCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (concentration of 10 $\mu\text{g/ml}$) is capable of inhibiting 5 bacterial strains isolated including: C1 strain in tea, T1 and T2 strains in black sticky canarium, Q1 and Q2 strains in tangerine.

Keywords: Extract; resistance activity; isolation; complex; pathogenic microorganisms.

Received: 07/10/2019; Revised: 15/6/2020; Published: 10/7/2020

* Corresponding author. Email: ptnhanbio@tnue.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Cây trà (chè) được biết đến là một thức uống có nhiều giá trị về dược học như: hỗ trợ các chức năng của não, giảm nguy cơ mắc bệnh Alzheimer và Parkinson, chống oxy hóa, giảm nguy cơ mắc bệnh ung thư; tiểu đường tuýp 2. Ngoài ra, trà xanh tăng đốt chất béo và cải thiện hoạt động thể chất... [1]. Quả quýt giàu kali, canxi, betacarotene, vitamin C... cần thiết cho việc duy trì chức năng của khớp xương, cơ và hệ mạch, giảm viêm. Quả và lá trám có tác dụng thanh lọc, giải độc, chữa phong thấp, đau lưng... [2].

Hàng năm trên thế giới và ở Việt Nam, cây trồng bị mắc hàng loạt các loại bệnh. Nguyên nhân gây bệnh có nguồn gốc từ nấm, vi khuẩn và virus, như nhóm *Phytophthora*, *Fusarium*, *Xanthomonas*, *Erwinia*... Ước tính khoảng 40% cây trồng các loại bị hủy hoại bởi bệnh dịch. Theo thống kê của Tổ chức Nông Lương Liên Hiệp Quốc (FAO), thiệt hại trong nông nghiệp do các bệnh vi nấm gây ra tới 537,3 triệu tấn các loại nông sản, chiếm khoảng 11,6% tổng sản lượng nông nghiệp thế giới... [3]. Việc chẩn đoán chính xác những tác nhân gây bệnh phụ thuộc vào quá trình phân lập và giám định sau đó trong phòng thí nghiệm.

Bệnh do nấm gây ra thường rất khó phòng trừ vì chúng có khả năng tồn tại lâu trong đất. Hơn nữa, nhiều loại nấm có thể phát triển trong khoảng pH rất rộng. Việc sử dụng các hóa chất bảo vệ thực vật làm ô nhiễm môi trường, tăng tính kháng của vật gây bệnh và tiêu diệt cả những loài có ích [4], [5]. Xu hướng hiện nay trên thế giới cũng như ở Việt Nam là hạn chế sử dụng thuốc bảo vệ thực vật, tăng sử dụng các chế phẩm có nguồn gốc sinh học. Các chế phẩm sinh học có thành phần chính là các cơ thể sống hoặc có nguồn gốc từ cơ thể sống nên dễ bị phân hủy thành các chất không độc sau một thời gian ngắn sử dụng, do đó chúng không gây ô nhiễm môi trường và ảnh hưởng đến sức khỏe con người. Các chế phẩm được chọn lọc để tác dụng đến từng loài vật gây hại nhất định [6].

Nghiên cứu về phức chất là hướng nghiên cứu được nhiều nhà khoa học quan tâm. Nhiều phức chất hỗn hợp của nguyên tố đất hiếm có hoạt tính sinh học rất mạnh, trong đó có hoạt tính kháng vi sinh vật. Trong nông nghiệp, phức chất đất hiếm với hỗn hợp phối tử amino axit dùng làm phân vi lượng, thức ăn cho gia súc [6]. Chính vì vậy, việc tìm hiểu, phát hiện các hợp chất có nguồn gốc sinh học có hoạt tính kháng vi sinh vật gây bệnh, dễ phân hủy và bảo quản được nông sản sau thu hoạch là mục tiêu phấn đấu của một nền nông nghiệp sạch và bền vững. Bài báo này trình bày kết quả bước đầu về phân lập một số vi sinh vật gây bệnh ở thực vật và thử nghiệm hoạt tính kháng của chế phẩm sinh học từ cao chiết cây Thanh ngâm và phức chất $\text{Er(Asp)3phenCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu và hóa chất nghiên cứu

Các mẫu quả trám nếp đen bị thối, nấm được thu tại Thái Nguyên, lá chè bị nấm thu tại Yên Bái, quả quýt bị thối, nấm thu tại Bắc Sơn, Lạng Sơn.

Hóa chất sử dụng trong thí nghiệm đều ở dạng tinh khiết gồm: *Cao nấm men (Đức)*, pepton (Canada), thạch agrobacto (Merk), NaCl (Trung Quốc), Glucose, Khoai tây (Việt Nam)...

Các thí nghiệm được thực hiện tại phòng thí nghiệm của Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp phân lập vi khuẩn gây bệnh ở thực vật [7]

Cân 1 g mẫu bị bệnh, nghiền mẫu và cho vào bình nón 50 ml chứa 9 ml nước cất vô trùng, hòa tan mẫu. Dùng pipet vô trùng hút 0,5 ml dịch mẫu sang ống nghiệm có chứa 4,5 ml nước vô trùng và tiếp tục pha loãng đến 10^{-2} , 10^{-3} ... 10^{-6} . Từ mỗi nồng độ pha loãng, nhỏ 0,1 ml dịch mẫu sang đĩa petri chứa môi trường LB đặc. Dùng que gạt vô trùng chà đều, sau đó nuôi ở nhiệt độ 37°C. Sau 4-7 ngày, các khuẩn lạc xuất hiện và được tách nuôi riêng

đến khi thu nhận được khuẩn lạc đồng nhất về mặt hình thái, màu sắc. Các mẫu khuẩn thu được được nhuộm Gram để phân loại.

Phương pháp phân lập nấm gây bệnh ở thực vật [8]

Từ các mẫu thực vật bị thối, có nấm mọc được thu về để phân lập nấm. Dùng que cấy vô trùng lấy các sợi nấm mọc trên mẫu và cấy ria trên đĩa môi trường PDA, để vào tủ ẩm 3-4 ngày ở nhiệt độ 30°C. Thí nghiệm được thực hiện nhiều lần để tạo thành chủng nấm đồng nhất về hình thái và màu sắc trên đĩa thạch.

Phương pháp tạo cao chiết từ cây Thanh ngâm (Picria felterrae Lour) [9]

Thanh ngâm còn có tên gọi khác là Mật đất, Thảm ngấm đất, thuộc họ Hoa mồm chó (Scrophulariaceae), có thành phần hóa học chính là glucosid. Cây Thanh ngâm có tác dụng chống viêm: Viêm họng, viêm tuyến hạch, viêm phổi và viêm bạch hầu.

Rễ, thân, lá cây Thanh ngâm được rửa sạch, để ráo nước, sau đó đem sấy khô ở 50°C đến khối lượng không đổi. Nguyên liệu sau khi sấy khô sẽ được nghiền chung các bộ phận thành bột dạng mịn. Bột khô được pha với dung môi ethanol (tỉ lệ 20 g: 100 ml), sau đó cho vào máy lắc với tần số 200 vòng/phút. Sau các khoảng thời gian khác nhau (48 và 72 giờ), hỗn hợp được lọc qua giấy lọc, 80 ml dịch lọc được cô đặc bằng máy sấy khô ở nhiệt độ 50-70°C đến khi có khối lượng khô không đổi, và được bảo quản ở 4°C để sử dụng trong các nghiên cứu về khả năng kháng nấm và kháng vi khuẩn.

Pha cao chiết: Các nồng độ hoạt chất sinh học được sử dụng để khảo sát hoạt tính kháng vi sinh vật gây bệnh ở thực vật là 150 g/l và 200 g/l. Mỗi nồng độ cao chiết được hòa tan bằng cách lắc với dung môi DMS (Dimethyl Sulfoxide) trong 48 giờ (kí hiệu tương ứng là M1, M2) và 72 giờ (kí hiệu M3, M4).

Phương pháp thử hoạt tính kháng vi khuẩn bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch [8]

Dùng pipetman hút 50 µl vi khuẩn mỗi loại (mật độ tế bào 10^6 tế bào/ml), sau đó chang

đều trên đĩa LB đặc đã khô ổn định cho đến khi khô bề mặt. Đục 4-5 giếng trên môi trường thạch với đường kính 7,5 mm (hoặc 9 mm), mỗi giếng cách nhau 2-3 cm. Mỗi giếng thạch được nhỏ 100 µl các dịch chiết hoặc phức chất $\text{Er(Asp)}_3\text{phenCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ở các nồng độ 10 µg/ml (H); 30 µg/ml (F); 50 µg/ml (G). Sử dụng đối chứng là dung môi DMS và nước cất (đã khử trùng). Các đĩa thạch được đặt trong tủ lạnh 4°C trong 4-8 giờ để dịch chiết khuếch tán ra môi trường nuôi cấy vi khuẩn, sau đó nuôi cấy trong tủ ẩm 37°C. Sau 24 giờ, các đĩa khuẩn được lấy ra để đo kích thước vòng vô khuẩn. Hoạt tính kháng khuẩn được xác định bằng cách đo kích thước vòng vô khuẩn (ΔD) bằng công thức: $\Delta D = D - d$

Trong đó: D: là đường kính vòng vô khuẩn; d: là đường kính giếng thạch; $\Delta D \geq 25$ mm: hoạt tính rất mạnh; $\Delta D \geq 20$ mm: hoạt tính mạnh; $\Delta D \geq 10$ mm: hoạt tính trung bình; $\Delta D < 10$ mm: hoạt tính yếu.

Phương pháp thử hoạt tính kháng nấm với cao chiết từ cây Thanh ngâm (Picria felterrae Lour) [10]

Các thao tác được thực hiện trong tủ cấy vô trùng. Dịch cao chiết cây Thanh ngâm được bổ sung vào 20 ml môi trường PDA ở 40°C, trộn đều và đổ vào mỗi đĩa petri. Khoanh nấm bệnh từ thực vật được nuôi 4 ngày tuổi được đặt ngay chính giữa mặt đĩa môi trường và ủ ở 30°C. Sau 3-5 ngày kiểm tra sự sinh trưởng bằng cách đo đường kính tán nấm với thước kẻ có phân độ mm. Thí nghiệm đối chứng được tiến hành song song. Hoạt tính ức chế tương đối sinh trưởng nấm của cao chiết cây Thanh ngâm được tính theo công thức:

$$I = \frac{(S_{\text{ĐC}} - S_{\text{ST}})}{S_{\text{ĐC}}} \times 100$$

Trong đó: I là phần trăm ức chế sinh trưởng nấm; $S_{\text{ĐC}}$: là diện tích tán nấm trên môi trường PDA không chứa enzyme (cm); S_{ST} : là diện tích tán nấm trên môi trường PDA chứa dịch enzyme (cm).

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả từ phân lập vi sinh vật gây bệnh

Kết quả phân lập vi khuẩn gây bệnh bằng phương pháp nhuộm Gram

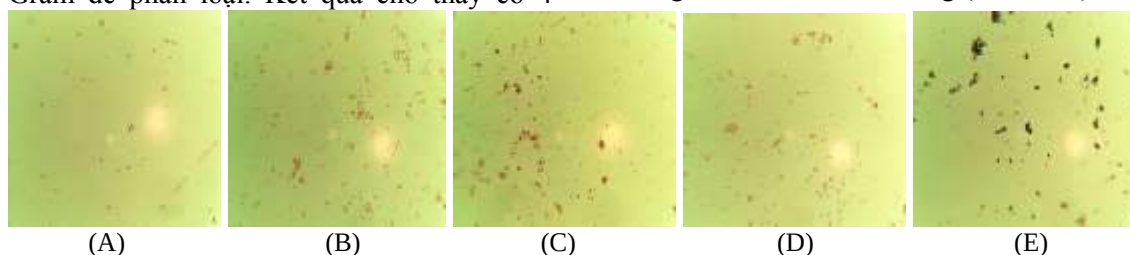
Từ các mẫu chè, quýt và trám bị bệnh thu thập ở các nơi khác nhau, sau khi cấy trải trên đĩa thạch có chứa môi trường LB đã thu được các khuẩn lạc khác nhau về màu sắc và hình thái. Mỗi khuẩn lạc cấy sang một đĩa khác. Sau 3 ngày nuôi cấy ở 37°C, mỗi đĩa LB sẽ có từng chủng vi khuẩn thuần chủng phát triển. Kết quả thu được 05 khuẩn lạc với các đặc điểm hình thái và màu sắc khác nhau gồm khuẩn chẻ C, khuẩn quýt Q1, khuẩn quýt Q2, khuẩn trám T, khuẩn trám T2.

Sau khi phân lập được các chủng vi khuẩn thuần chủng, chúng tôi tiến hành nhuộm Gram để phân loại. Kết quả cho thấy có 4

chủng thuộc nhóm Gram âm là các chủng: khuẩn chẻ C (Hình 1.A), khuẩn quýt Q2 (Hình 1.B), khuẩn trám T1 (Hình 1.C), khuẩn trám T2 (Hình 1.D) và có 1 chủng thuộc nhóm Gram dương là chủng khuẩn quýt Q1 (Hình 1.E).

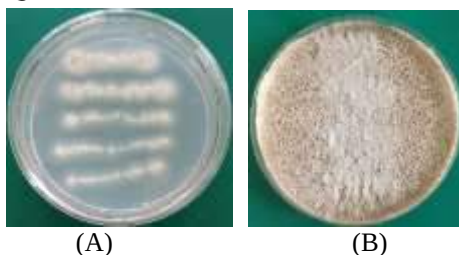
Kết quả phân lập nấm gây bệnh

Từ mẫu chè bị bệnh, sau khi cấy trải trên đĩa thạch có chứa môi trường PDA đã thu được các khuẩn lạc khác nhau về màu sắc. Kết quả chúng tôi được 02 mẫu nấm đồng nhất (Hình 2). Hai chủng nấm chè thu được có đặc điểm hình thái sơ bộ khác nhau. Nấm chè N1 có sợi màu trắng phía trên sợi nấm khi sinh hình thành bào tử trần (Hình 2.A). Đối với nấm chè N2 sợi nấm màu nâu, bào tử trên đỉnh cuống dính liền có màu trắng (Hình 2.B).



Hình 1. Hình ảnh nhuộm Gram các chủng khuẩn từ các mẫu bị bệnh

A: Khuẩn chẻ C; B: Q2; C: Khuẩn trám T1; D: Khuẩn trám T2; E: Khuẩn quýt Q1



Hình 2. Hình ảnh phân lập các chủng nấm từ mẫu chè bị bệnh

A: Nấm chè N1; B: Nấm chè N2

3.2. Kết quả thử hoạt tính kháng vi khuẩn gây bệnh của cao chiết cây Thanh ngâm

Kết quả về thử hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết cây Thanh ngâm với vi khuẩn Q2

Kết quả về thử hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết cây Thanh ngâm ở các nồng độ khác nhau trên chủng khuẩn Q2 được thể hiện ở bảng 1. Trong nghiên cứu này, hoạt tính kháng vi khuẩn được đánh giá qua vòng ức chế vi sinh vật được tạo ra xung quanh các giếng trên đĩa thạch có bổ sung dịch chiết thử. Quan sát kết quả thí nghiệm, chúng tôi nhận thấy hoạt động các chất làm đổi chứng (nước cất, dung môi DMS) hoàn toàn không có vòng ức chế vi sinh vật xuất hiện. Tuy nhiên, cao chiết cây Thanh ngâm bằng ethanol có khả năng ức chế chủng khuẩn Q2 phát triển. Các chủng khuẩn khác vẫn phát triển trên môi trường có cao chiết.

Bảng 1. Hoạt tính ức chế chủng khuẩn Q2

Mẫu	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)
M1	10,5
M2	12,5
M3	12,5
M4	14,5
DMS	(-)
H ₂ O	(-)

Ghi chú:

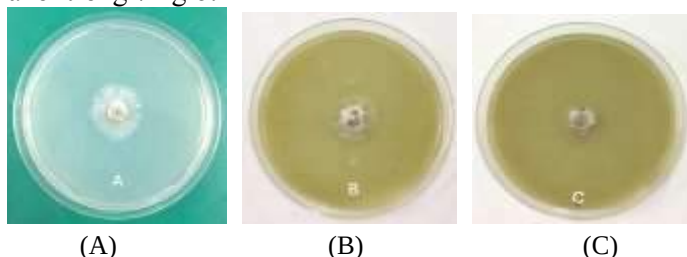
- Đường kính vùng ức chế (ΔD) = $D - d$ (với $d = 9$ mm). Các giá trị đường kính vùng ức chế sinh trưởng của vi khuẩn được tính trung bình của 3 lần lặp lại thí nghiệm.

- Kí hiệu (-): Vi khuẩn không bị ức chế

Đối với dịch được chiết bằng ethanol sau 48 giờ, dịch chiết có nồng độ 150 g/l (M1) và 200 g/l (M2) có hoạt tính ức chế trung bình với chủng khuẩn Q2. Đường kính vòng vô khuẩn lần lượt là 10,5 mm và 12,5 mm (Hình 3.A và bảng 1).

Đối với dịch được chiết bằng ethanol sau 72 giờ, dịch chiết có nồng độ 150 g/l (M3) và 200 g/l (M4) có hoạt tính ức chế trung bình với chủng khuẩn Q2. Đường kính vòng vô khuẩn lần lượt là 12,5 mm và 14,5 mm (Hình 3.B và bảng 1).

Như vậy, cùng một nồng độ nhưng trong điều kiện thời gian chiết bằng ethanol khác nhau thì sự ức chế vi khuẩn của các mẫu khác nhau, theo thứ tự tăng dần là: ĐC < M₁ < M₂, M₃ < M₄. Kết quả này cho thấy, cao chiết Thanh ngâm có khả năng ức chế sự phát triển vi khuẩn Q2 mạnh nhất ở nồng độ 200 g/l được chiết bằng ethanol trong 72 giờ.

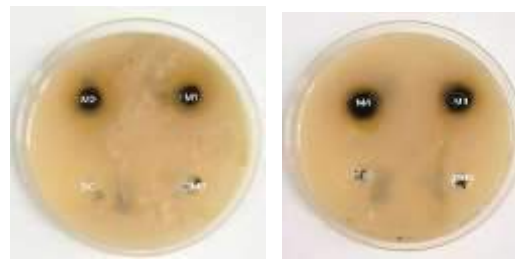
**Hình 4.** Kết quả hoạt tính kháng nấm chèn N1 của cây Thanh Ngâm

(A): Đối chứng; (B): đường kính nấm N1 ở nồng độ M3; (C): đường kính nấm N1 ở nồng độ M4

Kết quả thử hoạt tính với phức chất $Er(Asp)_3phenCl_3.3H_2O$

Trong phạm vi của đề tài, hoạt tính kháng vi sinh vật gây bệnh được đánh giá thông qua vòng ức chế được tạo ra xung quanh các giếng trên đĩa thạch có bổ sung phức chất. Kết quả thí nghiệm cho thấy, giếng của các chất làm đối chứng hoàn toàn không có vòng ức chế vi sinh vật xuất hiện. Kết quả thử hoạt tính kháng 5 chủng vi sinh vật phân lập được (Bảng 2) cho thấy, phức chất $Er(Asp)_3phenCl_3.3H_2O$ có khả năng ức chế cả 5 chủng (khuẩn chèn C, khuẩn trám T1, khuẩn trám T2, khuẩn quýt Q1, khuẩn quýt Q2).

Theo hướng nghiên cứu này, Đái Thị Xuân Trang và đồng tác giả (2015) đã chứng minh hoạt tính kháng khuẩn *E. coli* của cao methanol cây Hà thủ ô trắng ở nồng độ 16 μ g/ml (kính vòng kháng khuẩn đạt 25,3 mm) [11]. Trong khi, cao chiết của lá Chiêu điều nghệ (*Terminalia nigrovenulosa*) ức chế vi khuẩn *E. coli* ở nồng độ 312 μ g/ml [9].

**Hình 3.** Vòng vô khuẩn của dịch chiết cây Thanh ngâm với chủng khuẩn Q2

M₁: Vòng vô khuẩn mẫu 1; M₃: Vòng vô khuẩn mẫu 3
M₂: Vòng vô khuẩn mẫu 2; M₄: Vòng vô khuẩn mẫu 4

Kết quả thử hoạt tính kháng của cao chiết cây Thanh ngâm với nấm chèn N1

Trên đĩa đối chứng, sợi nấm của chủng nấm chèn N1 phát triển với đường kính là 2,3 cm. Trong khi, ở đĩa có bổ sung dịch chiết cao cây Thanh ngâm ở nồng độ M₃; M₄ thì có đường kính sợi nấm phát triển chủng nấm N1 lần lượt là 1,5 cm và 0,9 cm. Như vậy, dịch chiết cây Thanh ngâm có khả năng ức chế chủng nấm chèn N1, hoạt tính ức chế lần lượt đạt 34,7% và 60,86% (Hình 4).

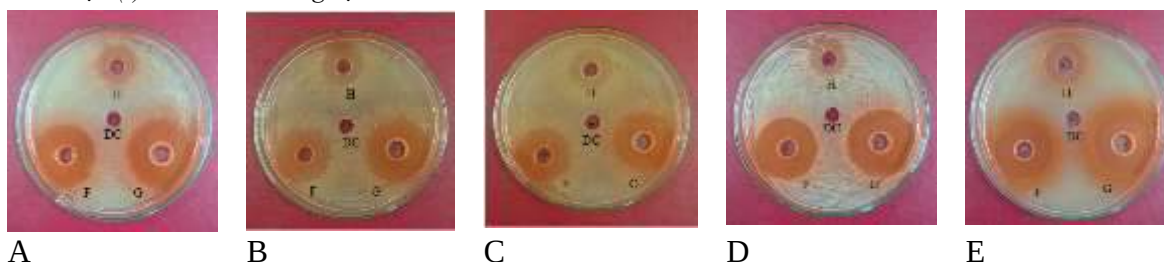
Bảng 2. Hoạt tính ức chế 5 chủng vi sinh vật của phức chất

Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)	Đường kính vòng vô khuẩn (cm)				
	Khuẩn chèo C	Khuẩn trám T1	Khuẩn trám T2	Khuẩn quýt Q1	Khuẩn quýt Q2
10	0,9	1,2	1,4	1,2	2,1
30	1,4	1,6	1,6	2,2	2,6
50	1,6	1,8	1,8	2,5	2,8
H ₂ O	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Ghi chú:

- Đường kính vùng ức chế $\Delta D = D - d$ (với $d = 0,9$ cm). Các giá trị đường kính vùng ức chế sinh trưởng của vi khuẩn được tính trung bình của 3 lần lặp lại thí nghiệm.

- Kí hiệu (-): Vi khuẩn không bị ức chế

**Hình 5.** Vòng vô khuẩn của phức $\text{Er(ASP)}_3\text{phenCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ với:

(A): khuẩn chèo C; (B): khuẩn trám T1; (C): khuẩn trám T2; (D): khuẩn quýt Q1; (E): khuẩn quýt Q2

Đối với khuẩn chèo C, phức chất có nồng độ 10 $\mu\text{g/ml}$ (H) có hoạt tính ức chế yếu (đường kính vòng vô khuẩn là 0,9 cm), ở nồng độ 30 $\mu\text{g/ml}$ (F) và 50 $\mu\text{g/ml}$ (G) có khả năng ức chế trung bình (đường kính vòng vô khuẩn lần lượt là 1,4; 1,6 cm) (Hình 5.A).

Đối với khuẩn trám T1, phức chất có nồng độ 10 $\mu\text{g/ml}$ (H); 30 $\mu\text{g/ml}$ (F) và 50 $\mu\text{g/ml}$ (G) có hoạt tính trung bình (đường kính vòng vô khuẩn lần lượt là 1,2; 1,6 và 1,8 cm) (Hình 5.B).

Đối với khuẩn trám T2, phức chất có nồng độ 10 $\mu\text{g/ml}$ (H); 30 $\mu\text{g/ml}$ (F) và 50 $\mu\text{g/ml}$ (G) có hoạt tính ức chế trung bình (đường kính vòng vô khuẩn lần lượt là 1,4; 1,6; 1,8 cm) (Hình 5.C).

Đối với khuẩn quýt Q1, phức chất có nồng độ 10 $\mu\text{g/ml}$ (H) có hoạt tính ức chế trung bình (đường kính vòng vô khuẩn là 1,2 cm), ở nồng độ 30 $\mu\text{g/ml}$ (F) có hoạt tính ức chế mạnh (đường kính vòng vô khuẩn là 2,2 cm) và ở nồng độ 50 $\mu\text{g/ml}$ (G) có khả năng ức chế rất mạnh (đường kính vòng vô khuẩn là 2,5 cm) (Hình 5.D).

Đối với khuẩn quýt Q2, phức chất có nồng độ 10 $\mu\text{g/ml}$ (H) có hoạt tính ức chế mạnh (đường kính vòng vô khuẩn là 2,1 cm), ở

nồng độ 30 $\mu\text{g/ml}$ (F) và 50 $\mu\text{g/ml}$ (G) có khả năng ức chế rất mạnh (đường kính vòng vô khuẩn lần lượt là 2,6 và 2,8 cm) (Hình 5.E).

Khi nghiên cứu về khả năng kháng vi sinh vật của phức chất, Nguyễn Hữu Quân và cộng sự đã chứng minh phức chất $\text{Tb(Asp)}_3\text{PhenCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ở nồng độ từ 20 $\mu\text{g/ml}$ ức chế sự phát triển của vi khuẩn *B. Subtilis*, *S. macescens*. Trong khi, ở nồng độ 40-60 $\mu\text{g/ml}$ phức chất lại kích thích sự phát triển của vi khuẩn *B. Subtilis*. Nghiên cứu của Vũ Trọng Lượng và đồng tác giả (2015) nhận thấy, prodigiosin có khả năng ức chế 75% nấm *R. solani* và *F. oxysporum* ở nồng độ 40 $\mu\text{g/ml}$ [6]. So sánh hoạt tính kháng vi khuẩn cho thấy, nồng độ ức chế phát triển của phức chất thấp hơn nhiều so với cao chiết cây Thanh ngâm.

4. Kết luận

Kết quả phân lập được 05 chủng vi khuẩn và 02 chủng nấm gây bệnh ở chè, quýt và trám nếp đen. Cao chiết từ các bộ phận cây Thanh ngâm (*Picria felterrae* Lour) bằng ethanol trong 72 giờ có khả năng ức chế chủng vi khuẩn Q2 ở quýt (nồng độ 200 g/l) và chủng nấm N1 ở chè (nồng độ 150 g/l).

Phức chất $\text{Er}(\text{Asp})_3\text{phenCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (nồng độ 10 $\mu\text{g/ml}$) có khả năng ức chế 5 chủng vi khuẩn phân lập được gồm: vi khuẩn C1 ở chè, vi khuẩn T1 và T2 ở trám, vi khuẩn Q1 và Q2 ở quýt.

Lời cảm ơn

Các tác giả xin trân trọng cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí từ Đề tài nghiên cứu khoa học cấp đại học (mã số ĐH2018- TN04- 02).

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1]. S. Reuter, S. C. Gupta, M. M. Chaturvedi, and B. B. Aggarwal, "Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked?," *Free Radic Biol Med.* 1, vol. 49, no. 11, pp. 1603-1616, 2010.
- [2]. V. C. Vo, *Vietnam medicinal plant dictionary*. Medicine Publishing House, 1997.
- [3]. T. V. H. Bui, "Study on actinomycetes synthesizing antibiotics against plant pathogenic fungi in Vietnam," PhD thesis in biology, VNU University of Science, 2006.
- [4]. R. W. Mwanauta, K. M. Mtei, and P. A. Ndakidemi, "Potential of Controlling Common Bean Insect Pests (Bean Stem Maggot (*Ophiomyia phaseoli*), *Ootheca* (*Ootheca bennigseni*) and Aphids (*Aphis fabae*)) Using Agronomic, Biological and Botanical Practices in Field," *Agricultural Sciences*, vol. 06, no. 05, pp. 489-497, 2015.
- [5]. D. Pimentel, H. Acquay, M. Biltomen, P. Rice, M. Silva, J. Nelson, V. Lipner, S. Giordana, A. Horowitz, and M. D'amore, *The Pesticide Question: Assesment of environmentsal and economic impacts of pesticide use*. Springer, Boston, MA Publisher, 1993, pp. 47-84.
- [6]. H. Q. Nguyen, *Study on effect of complexes and enzyme systems on the growth ability of some pathogenic microorganisms*, Report of technological and scientific project at the grassroots level, Thai Nguyen University of Education, 2016.
- [7]. T. M. D. Vu, *Microbiology Practice*. Vietnam National University Press, 2001.
- [8]. F. Hadacek, and H. Greger, "Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice," *Phytochem Anal.*, vol. 11, pp. 137-147, 2000.
- [9]. V. N. Quang, and B. E. Jong, "Antimicrobial activity of some Vietnamese medicinal plants extracts," *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 7, no. 35, pp. 2597-2605, 2013.
- [10]. J. Huber, H. Bochow, and H. Junge, "Selektion und biotechnische Herstellung von Kulturlösungen mikrobieller Antagonisten zur Unterdrückung phytopathogener Bodenpilze," *Journal of Basic Microbiology*, vol. 27, no. 9, pp. 497-503, 1987.
- [11]. T. X. T. Dai, H. B. N. Lam, and T. T. A. Vo, "Studies on antibacterial and antioxidant activities of methanolic extract from *Streptocaulon juventas* Merr," *Can Tho University Journal of Science*, vol. 40, pp. 1-6, 2015.