

## NGHIÊN CỨU MỘT SỐ ĐẶC TÍNH SINH HỌC CỦA *ACTINOMYCES* VÀ *BACILLUS* PHÂN LẬP ĐƯỢC Ở VÙNG TRỒNG CHÈ TẠI THÁI NGUYÊN

Nguyễn Quang Tuyên\*, Đỗ Bích Duệ,  
Phạm Thị Phương Lan, Nguyễn Thị Liên, Nguyễn Mạnh Cường  
Viện Khoa học Sự sống - ĐH Thái Nguyên

### TÓM TẮT

Từ các mẫu đất vùng trồng chè ở tỉnh Thái Nguyên đã phân lập, chọn lọc được chủng xạ khuẩn TNA12 và *Bacillus* TNB8. Chủng xạ khuẩn TNA12 có hoạt tính kháng nấm thử nghiệm, hoạt tính mạnh với nấm gây bệnh đốm nâu, đốm xám ở lá chè và có đặc điểm sinh học và di truyền tương đồng với chi *Streptomyces*. Chủng *Bacillus* TNB8 có khả năng sinh tinh thể độc và diệt sâu cao sau 24, 48, 72 giờ với tỷ lệ tương ứng là 30; 50; 90% và có đặc điểm sinh học và di truyền tương đồng chi *Bacillus* như các tài liệu đã mô tả. Hai chủng trên được đăng ký trên ngân hàng gen thế giới với mã số truy cập là *Bacillus thuringiensis* TNB8: MG471390 và *Streptomyces* TNA12: MG471391.

**Từ khóa:** Phân lập, xạ khuẩn, *Bacillus*, bào tử, tinh thể, hoạt tính

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây chè là cây công nghiệp có tiềm năng và chủ lực trong tăng thu nhập, giải quyết việc làm cho người dân ở các tỉnh miền núi nói chung và ở tỉnh Thái Nguyên nói riêng nên đang được quan tâm, định hướng trở thành cây trồng mũi nhọn trong phát triển kinh tế của tỉnh [4].

Tuy nhiên, khi canh tác lâu năm, ngoài sâu bệnh hại chè phát sinh như rầy xanh, nhện đỏ, bọ xít... còn một số bệnh phổ biến do nấm như bệnh phòng lá, thối búp, đốm xám, đốm nâu... cũng gây ra nhiều thiệt hại. Việc dùng thuốc hóa học để phòng trừ sâu bệnh đã làm giảm chất lượng chè, gây ô nhiễm môi trường sinh thái và ảnh hưởng tới sức khỏe con người. Ngày nay, người ta chú trọng hơn đến yếu tố sinh học ức chế vi sinh vật gây bệnh, hạn chế dần thuốc trừ sâu hóa học, trong đó xạ khuẩn là nhóm có khả năng sinh chất kháng sinh cao, nhiều chất có khả năng chống nấm (Kiều Hữu Ảnh và cs., 2003) [1] và thuốc trừ sâu sinh học được chế tạo từ *Bacillus thuringiensis* có khả năng diệt sâu cuốn lá, sâu tơ, sâu khoang và một số côn trùng bộ hai cánh. Xuất phát từ yêu cầu của thực tiễn sản xuất, nhằm góp phần khai thác nguồn gen vi sinh vật bản địa để nghiên cứu chế tạo chế phẩm sinh học diệt sâu bệnh hại

chè và phát triển vùng canh tác chè đặc sản an toàn, chúng tôi đã triển khai nghiên cứu một số đặc điểm sinh học và phân loại của các chủng *Actinobacillus* spp. và *Bacillus* spp. phân lập được tại vùng thâm canh chè thuộc tỉnh Thái Nguyên.

### NỘI DUNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### Nội dung

- Xác định một số đặc điểm sinh học của *Streptomyces* spp. và *Bacillus* spp. phân lập tại vùng trồng chè thuộc tỉnh Thái Nguyên.
- Xác định hoạt tính diệt nấm gây bệnh của chủng *Streptomyces* spp. và sâu gây bệnh của *Bacillus* spp. phân lập.
- Xác định trình tự gen 16S-rARN của chủng *Streptomyces* spp. và *Bacillus* spp. phân lập.

#### Vật liệu nghiên cứu

- Chủng *Streptomyces* spp. và *Bacillus* spp. phân lập từ đất trồng chè và lá chè.
- Chủng nấm gây bệnh đốm nâu (*Pestalotzia theae* Sawada) và sâu tơ (*Plutella xylostella*), sâu cuốn lá (*Gracillaria theivora*) kiểm định do Viện Bảo vệ thực vật, Viện Khoa học và Nông nghiệp Việt Nam cung cấp.
- Các chủng nấm gây bệnh trên chè gồm: ĐN (do nấm *Colletotrichum camelliae* Masse gây bệnh đốm nâu); ĐX (do nấm *Pestalotzia theae* gây bệnh đốm xám); KB (do nấm *Colletotrichum theae* Petch gây bệnh khô

\* Email: nqtuyen901@gmail.com

búp) và PR (do nấm *Esobasidium vexans* Mase gây bệnh phỏng rộp lá chè) được lưu giữ tại phòng thí nghiệm Viện Khoa học Sự sống, Đại học Thái Nguyên và chủng *B. thuringiensis* đối chứng từ Viện bảo tàng giống chuẩn vi sinh vật Việt Nam.

#### Phương pháp nghiên cứu

- Xác định một số đặc điểm sinh học của các chủng *Streptomyces* spp. theo Waksman S. A. (1961) [15], Shirling E. B., Gotlieb D. (1972) [14], Gause G. F. và cs., (1983) [9] và *Bacillus* spp. phân lập được (Bajac D., Frachon E., 1990, [7]; Phạm Văn Ty, Vũ Nguyên Thành, 2007 [5]).

- Xác định hoạt tính kháng sinh của các chủng *Streptomyces* spp. theo Nguyễn Lâm Dũng và cs. (1978) [2] và hoạt tính diệt sâu của các chủng *Bacillus* spp. phân lập theo phương pháp của Abbott (1925) [6], Thiery và Frachon E. (1997) [16].

- Dựa trên trình tự gen *16SrRNA* được công bố trên Genbank (Mã số từ EU352912 đến EU357802). Cặp mồi 341F và 907R được lựa chọn để phân lập đoạn gene *16S-rRNA* của *Streptomyces* spp. (Morales S. E. and Holben, W. E., 2009 [12]).

341F: 5' – CCTACGGGAGGCAGCAG-3'

907R: 5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3'

- Dựa trên trình tự gen *16SrRNA* được công bố trên Genbank (Mã số: AF355771). Cặp mồi 16S Bt F, 16S Bt R được lựa chọn để phân lập đoạn gene *16S-rRNA* của *Bacillus* spp. Cặp mồi Cry 1 F, Cry 1 R, Cry 2 F và Cry 2 R được chọn để phân lập gen Cry 1 và Cry 2 của *Bacillus* spp. (Gomaa O. M., Momtaz O. A., 2007 [10]).

16S Bt F: 5'-

AACTGGAGGAAGGTGGGGAT-3'

16S Bt R: 5'-

AGGAGGTGATCCAACCGCA-3'

- Trình tự cặp mồi phân lập gen Cry

Cry 1 F: 5'-

AGGACCAGGATTTACAGGAGG-3'

Cry 1 R: 5'-

GTCGTGACAGAAGGATATAGCCAC-3'

Cry 2 F: 5'-

CAATGCGTACAATTGTTTAAGTAAT-3'

Cry 2 R: 5'-

CCTCCTGTAAATCCTGGTCCT-3'

- Giải trình tự gen *16S-rRNA* của các chủng *Streptomyces* spp. và *Bacillus* spp. phân lập theo phương pháp PCR (Polymearase Chain Reaction) theo Bernard R. G., Jack J. P. (1994) [8].

- Xử lý số liệu theo toán học thông dụng và trên phần mềm Excel.

#### KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

##### Kết quả xác định khả năng kháng nấm gây bệnh và phân loại chủng xạ khuẩn phân lập

##### Khả năng kháng nấm gây bệnh trên chè của chủng xạ khuẩn TNA12 phân lập

Chủng xạ khuẩn TNA12 được chọn lọc từ 29 chủng xạ khuẩn có hoạt tính kháng nấm, phân lập từ đất trồng chè Thái Nguyên đem thử nghiệm với 4 loại nấm gây bệnh trên lá chè non được phân lập tại phòng thí nghiệm Viện Khoa học Sự sống, gồm chủng ĐN (gây bệnh đốm nâu); chủng ĐX (gây bệnh đốm xám); chủng KB (gây bệnh khô búp) và chủng PR (gây bệnh phỏng rộp lá chè). Chủng TNA12 có hoạt phổ rộng, đặc biệt khả năng kháng cả 4 loại nấm gây bệnh trên cây chè. Kết quả kháng nấm được thể hiện qua bảng 1.

**Bảng 1.** Khả năng kháng nấm kiểm định của chủng xạ khuẩn phân lập

| Ký hiệu chủng | Hoạt tính kháng sinh (D-d, mm, X ± mx)                |           |           |          |           |
|---------------|-------------------------------------------------------|-----------|-----------|----------|-----------|
|               | Chủng kiểm định<br>( <i>Pestalozzia theae</i> Sawada) | Chủng ĐN  | Chủng ĐX  | Chủng KB | Chủng PR  |
| TNA 12        | 7,5 ± 1,1                                             | 9,2 ± 1,5 | 8,3 ± 1,3 | +        | 6,3 ± 1,2 |

Chú thích: +: Hoạt tính yếu ≤ 4 mm

Kết quả bảng 1 cho thấy chủng TNA12 sinh chất kháng sinh có hoạt phổ rộng, có khả năng kháng nấm gây bệnh phân lập được từ lá chè non bị nhiễm bệnh. Trong đó, cao nhất là đối với nấm gây bệnh đốm nâu (9,2 ± 1,5), tiếp đến là với nấm gây bệnh đốm xám (8,3 ± 1,3) và thấp

nhất là đối với chủng nấm gây bệnh khô búp. Kết quả của chúng tôi cũng phù hợp với kết quả của Bùi Thị Việt Hà (2006) [3] nghiên cứu về xạ khuẩn sinh chất kháng sinh chống nấm gây bệnh thực vật ở Việt Nam. Bệnh đốm nâu và đốm xám là những bệnh gặp phổ biến trên các vùng trồng chè ở nước ta, trong đó có Thái Nguyên. Với hướng nghiên cứu tuyển chọn những chủng xạ khuẩn có khả năng kháng nấm cao, có khả năng ứng dụng vào thực tiễn, chúng tôi lựa chọn chủng TNA12 để tiếp tục nghiên cứu đặc điểm phân loại và di truyền.

**Bảng 2.** Đặc điểm nuôi cấy của chủng xạ khuẩn TNA12 tuyển chọn

| Môi trường | Đặc điểm nuôi cấy |            |            |            |
|------------|-------------------|------------|------------|------------|
|            | Sinh trưởng       | Màu KTKS   | Màu KTCC   | Sắc tố     |
| Gause 1    | +++               | Xám        | Nâu        | Vàng chanh |
| Gause 2    | ++                | Vàng       | Nâu        | Vàng chanh |
| ISP1       | +++               | Nâu nhạt   | Trắng      | Không màu  |
| ISP2       | ++                | Nâu        | Trắng      | Không màu  |
| ISP3       | ++                | Vàng chanh | Vàng chanh | Không màu  |
| ISP4       | +                 | Trắng      | Trắng      | Không màu  |
| ISP5       | +                 | Trắng      | Trắng      | Không màu  |
| ISP6       | ++                | Vàng       | Vàng       | Không màu  |

Ghi chú: (+++): Phát triển tốt, (++): Phát triển trung bình, (+): Phát triển yếu, (-): Không phát triển.

#### **Kết quả phân loại chủng xạ khuẩn TNA12**

- **Đặc điểm hình thái:** Sau khi nuôi cấy chủng xạ khuẩn TNA12 trên vào môi trường Gause1 từ 5 đến 9 ngày rồi tiến hành quan sát thấy hình thành khuẩn lạc hình tròn đều, màu trắng, viền hơi dẹt, bề mặt xù xì thô, kích thước từ 0,5 - 1,0 cm. So sánh với mô tả của Waksman S. A. (1961) [15], chúng tôi thấy chủng TNA12 phân lập có đặc điểm hình thái khuẩn lạc tương đồng với chi *Streptomyces*.

- **Đặc điểm nuôi cấy của chủng xạ khuẩn tuyển chọn**

Chủng xạ khuẩn TNA12 tuyển chọn được nuôi cấy trên các môi trường cơ bản theo tiêu chuẩn của ISP để quan sát khả năng sinh trưởng của chúng, màu sắc của các hệ khuẩn ty khí sinh (KTKS) và khuẩn ty cơ chất (KTCC) cũng như sắc tố hòa tan của các chủng xạ khuẩn. Kết quả thu được trình bày ở bảng 2.

Qua bảng 2 chúng tôi thấy chủng xạ khuẩn TNA12 có đa dạng màu sắc khi nuôi cấy ở các môi trường khác nhau. Tùy theo thành phần của môi trường nuôi cấy mà màu khuẩn ty khí sinh và khuẩn ty cơ chất hoặc sắc tố hòa tan tiết ra môi trường cũng có sự khác nhau. Chủng TNA12 khi nuôi cấy ở môi trường Gause 1 phát triển khuẩn ty khí sinh màu xám; ở Gause 2 có khuẩn ty khí sinh màu vàng, nhưng cũng ở các môi trường này thì cả hai chủng đều có khuẩn ty cơ chất màu

nâu và sắc tố vàng chanh, mọc tốt trên môi trường Gause1, Gause 2, ISP1, ISP2, ISP6 và mọc kém trên môi trường ISP4, ISP5. Dựa vào các đặc điểm phân loại, khả năng sinh trưởng, màu của khuẩn ty khí sinh, khuẩn ty cơ chất và sắc tố trên các môi trường nuôi cấy. So sánh với mô tả của Waksman S. A. (1961) [15], Gause G. F. và cộng sự (1983) [9] chúng tôi thấy chủng TNA12 có nhiều đặc điểm nuôi cấy, đặc điểm hình thái, đặc tính sinh học giống với chi *Streptomyces*.

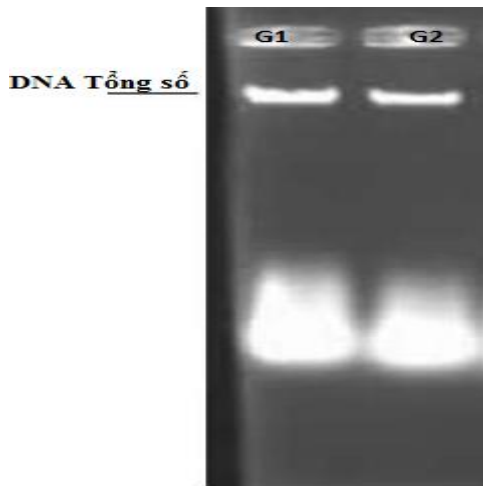
#### **Kết quả phân tích trình tự gen 16S-rARN của chủng xạ khuẩn TNA12**

Để có thêm căn cứ phân loại thì cần nghiên cứu sâu hơn về xác định trình tự gen 16S rRNA của chủng và so sánh với trình tự gen 16s của các loài đã biết trên Genbank. Chúng tôi tiến hành phân tích trình tự gen của chủng xạ khuẩn TNA12 theo phương pháp PCR. DNA tổng số được tách chiết theo Kit của hãng QIAapm DNA Mini có cải tiến, sử dụng DNA tổng số làm khuôn và sử dụng cặp mồi đặc hiệu (341F, 907R), trình tự mồi được mô tả như ở phương pháp nghiên cứu. Sản phẩm PCR thu được là 1 băng có kích thước 1.500 bp đúng theo tính toán lý thuyết. Sản phẩm PCR đoạn gene mã hóa 16S rRNA của chủng được làm sạch bằng bộ Kit AccuPrep Gel Purification.

Một phần đoạn gene mã hóa 16S rRNA được giải trình tự trực tiếp từ sản phẩm PCR trên

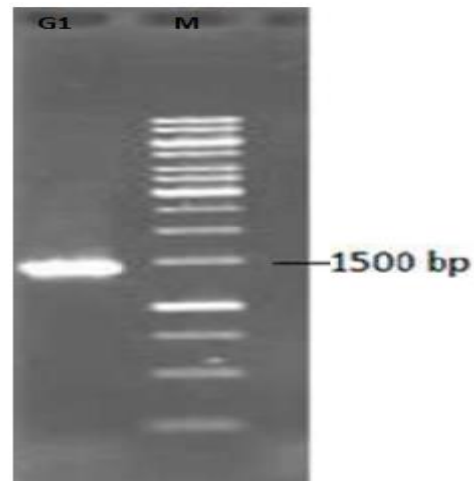
máy đọc trình tự tự động, kết quả so sánh với các trình tự trên genbank cho thấy trình tự một phần đoạn gen 16S rRNA có độ tương đồng 99% với trình tự gen tương ứng của chủng *Streptomyces amritsarensis*. Trình tự

gen mã hóa 16S rRNA của chủng này được đăng ký trên ngân hàng gen thế giới (Wolrd Genbank) với mã số truy cập *Streptomyces* TNA12: MG 471391.



Hình 1. DNA tổng số

G1, G2: Giếng 1, Giếng 2; M: Maker 1Kb



Hình 2. Sản phẩm nhân gen bằng PCR

### Kết quả xác định khả năng sinh tinh thể diệt sâu và phân loại chủng *Bacillus* TNB8 phân lập

#### *Khả năng sinh tinh thể diệt sâu của chủng Bacillus TNB8 phân lập*

Chủng TNB8 được chọn lọc từ 26 chủng thuộc chi *Bacillus* phân lập tại một số vùng trồng chè Thái Nguyên, có tế bào dạng hình que và hình thành bào tử, sinh tinh thể độc. Chúng tôi tiến hành thử nghiệm với sâu gây bệnh và sâu bộ cánh vảy, bằng cách pha loãng dịch lên men của chủng *Bacillus* spp. tuyển chọn đến nồng độ  $10^9$  bào tử/ml, mỗi chủng *Bacillus* spp. được thử hoạt lực với 10 con sâu tơ tương đối đồng đều về kích thước và độ tuổi trong các đĩa petri theo phương pháp của Abbott (1925) [6] và đánh giá kết quả hoạt lực diệt sâu ở các thời điểm sau 24; 48 và 72 giờ. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả xác định hoạt lực diệt sâu của chủng *Bacillus* TNB8

| Chủng <i>Bacillus</i> spp. | Số sâu thử nghiệm | Số sâu chết |           |          |           |          |           |
|----------------------------|-------------------|-------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|
|                            |                   | 24 giờ      |           | 48 giờ   |           | 72 giờ   |           |
|                            |                   | Số lượng    | Tỷ lệ (%) | Số lượng | Tỷ lệ (%) | Số lượng | Tỷ lệ (%) |
| TNB8                       | 10                | 3           | 30,0      | 5        | 50,0      | 9        | 90,0      |

Kết quả ở bảng 3 cho thấy chủng TNB8 có khả năng diệt sâu tơ thời gian sau 24 giờ với tỷ lệ là 30%, sau 48 giờ là 50% và sau 72 giờ là 90% sâu chết. Kết quả của chúng tôi cũng tương đồng với kết quả của một số tác giả như Maher O. và cs. (2004) [11], Shahram A. và cs. (2010) [13] khi nghiên cứu đặc điểm hoạt lực diệt sâu của *Bacillus* spp. Chúng tôi đã lựa chọn chủng TNB8 để nghiên cứu phân loại ở bước cao hơn.

Bảng 4. Kết quả giám định một số đặc tính sinh học của chủng *Bacillus* TNB8 phân lập sinh tinh thể độc

| Đặc tính sinh học        | Kết quả giám định |                   |           |
|--------------------------|-------------------|-------------------|-----------|
|                          | Số lần kiểm tra   | Số lần dương tính | Tỷ lệ (%) |
| Nhuộm màu Gram (+)       | 3                 | 3                 | 100       |
| Tính di động             | 3                 | 3                 | 100       |
| Phản ứng oxidase         | 3                 | 3                 | 100       |
| Phản ứng lên men glucose | 3                 | 3                 | 100       |

### Kết quả phân loại chủng *Bacillus TNB8*

#### Đặc điểm hình thái

Chủng *Bacillus TNB8* có tế bào dạng hình que và hình thành bào tử, xuất hiện tinh thể độc. Khuẩn lạc có hình tròn, màu trắng, bề mặt nhẵn, có viền nhẵn; tế bào có dạng hình que, đầu hơi tù, bào tử chính tâm; tinh thể có hình lập phương. Sự khác nhau về cấu trúc cũng như hình dạng tinh thể độc là do thành phần protein cấu tạo nên và có thể dẫn tới sự đa dạng về gen độc tố, là cơ sở tạo nên phổ diệt côn trùng rộng cho các chủng *Bacillus thuringiensis* trong nghiên cứu. Do vậy, các kết quả nghiên cứu trên là khảo sát bước đầu làm cơ sở cho hướng nghiên cứu ứng dụng tiếp theo nhằm tuyển chọn các chủng *Bacillus* spp. có đặc tính diệt sâu cao để chế tạo chế phẩm sinh học phòng trừ sâu bệnh hại chè.

#### - Đặc điểm sinh học của chủng *Bacillus TNB8* tuyển chọn

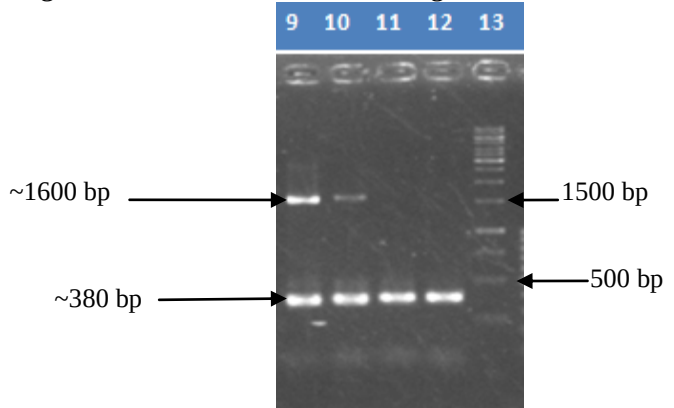
Chúng tôi tiến hành khảo sát một số đặc tính sinh học của chủng *Bacillus TNB8* sinh tinh thể độc trên về tính chất nhuộm màu Gram, khả năng di động, khả năng sinh enzyme catalase và khả năng sinh một số sản phẩm trung tính acetone trong quá trình lên men glucose. Kết quả được trình bày ở bảng 4.

Kết quả sau ba lần khảo sát cho thấy chủng *TNB8* đều bắt màu Gr (+), mọc lan ra đường cây và làm đục môi trường xung quanh, có khả năng di động trong môi trường thạch mềm nhờ roi và vi mao, các phản ứng oxidase và lên men glucose đều cho kết quả dương tính. So sánh với mô tả của Bajac D., Frachon E. (1990) [7], Theiry và Franchon E. (1997) [16], chúng tôi thấy các chủng *Bacillus* spp. phân lập khảo sát trên có nhiều đặc điểm sinh vật, hóa học giống với chi *Bacillus*. Để thêm căn cứ phân loại thì cần có nghiên cứu sâu hơn về xác định trình tự gen 16S-rRNA của chủng và so sánh với trình tự của các loài đã biết trên Genbank.

#### Kết quả phân tích trình tự gen 16S-rARN của chủng *Bacillus TNB8*

Chúng tôi tiến hành phân tích trình tự gen của chủng *Bacillus TNB8* theo phương pháp PCR. Trong đó, DNA tổng số được tách chiết theo Kit của hãng QIAapm DNA Mini có cải

tiến, sản phẩm PCR thu được là băng có kích thước 380 bp tương ứng gen *Cry* và kích thước 1600 bp tương ứng kích thước đoạn gen mã hóa 16S- r RNA của chủng *Bacillus*.



**Hình 3.** Sản phẩm PCR đa môi các mẫu *Bacillus* spp.

(G9,G10: Có gen *cry*; G11, G12: Không có gen *cry*, G13: Thang DNA chuẩn 1 kb)

Một phần đoạn gene mã hóa 16S rRNA được giải trình tự trực tiếp từ sản phẩm PCR trên máy đọc trình tự tự động, kết quả so sánh với các trình tự trên Genbank cho thấy, trình tự một phần đoạn gen 16S rRNA có độ tương đồng cao (99%) với trình tự gen tương ứng của chủng *Bacillus thuringiensis*. Trình tự của chủng này được đăng ký trên Ngân hàng gen thế giới (Wolrd Genebank) với mã số *Bacillus thuringiensis TNB8*: MG 471390.

#### KẾT LUẬN

Từ các kết quả nghiên cứu thu được như trên, chúng tôi có một số kết luận sau:

- Chủng xạ khuẩn TNA12 phân lập từ vùng trồng chè Thái Nguyên có hoạt tính kháng bốn chủng nấm thử nghiệm và có hoạt tính mạnh với nấm gây bệnh đốm nâu, đốm xám ở lá chè. Chủng xạ khuẩn TNA12 có đặc điểm sinh học và di truyền tương đồng với chi *Streptomyces*, được đăng ký trên Ngân hàng gen thế giới với mã số truy cập là *Streptomyces TNA 12*: MG471391.

- Chủng *Bacillus TNB8* phân lập có khả năng sinh tinh thể độc và diệt sâu cao sau 24, 36, 72 giờ với tỷ lệ tương ứng là 30; 50 và 90%. Chủng *Bacillus TNB8* có đặc điểm sinh học và di truyền tương đồng chi *Bacillus*, được đăng ký trên Ngân hàng gen thế giới với mã số truy cập là *Bacillus thuringensis TNB8*: MG471390.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kiều Hữu Ảnh, Phạm Văn Ty, Lê Gia Hy, Bùi Thị Việt Hà, Nguyễn Thanh Huyền (2003), “Tách chiết chất kháng sinh từ chủng xạ khuẩn *Streptomyces hygroscopicus* TC-54 có hoạt tính cao chống nấm gây bệnh”, *Tạp chí Sinh học*, 25 (2A), tr. 85 - 91.
2. Nguyễn Lâm Dũng, Phạm Thị Trân Châu, Nguyễn Thanh Hiền, Lê Đình Lương, Đoàn Xuân Muộn, Phạm Văn Ty (1978), *Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học*, Tập III, Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
3. Bùi Thị Việt Hà (2006), *Nghiên cứu xạ khuẩn thuộc chi Streptomyces sinh chất kháng sinh chống nấm gây bệnh thực vật ở Việt Nam*, Luận án tiến sĩ Sinh học, Đại học quốc gia Hà Nội.
4. Quyết định số 2629/QĐ-UBND ngày 31/10/2010 của Ủy ban Nhân dân tỉnh Thái Nguyên về “Quy hoạch vùng nông nghiệp chè an toàn tỉnh Thái Nguyên đến năm 2020”.
5. Phạm Văn Ty, Vũ Nguyên Thành (2007), *Giáo trình Công nghệ sinh học*, (5), Nxb Giáo dục, Hà Nội.
6. Abbott (1925), “A method of computing the effectiveness of an insecticide”, *Journal of Economic Entomology*, 18, U.S. pp. 265- 267.
7. Bajac D., Frachon E. (1990), “Classification of *Bacillus thuringiensis* strains”, *Entomophaga*, Vol. 35(2), pp. 233-240.
8. Bernard R. G., Jack J. P. (1994), *Molecular Biotechnology*, ASM Press D.C. Washington.
9. Gause G. F., Preobrazhenskaya T. P., Sveshnikova M. A., Terekhova L. P., Maximova T. S. (1983), “A guide for the determination of actinomycetes”, *Genera Streptomyces, Streptoverticillium and Chaina*, USA.
10. Gomaa O. M., Momtaz O. A. (2007), “16S rRNA characterization of a *Bacillus* isolate and its tolerance profile after subsequent subculturing”, *Arab. J. Biotech*, 10, pp.107-116.
11. Maher O., Dhia H., Ihab G. (2004), “Characterization of *Bacillus thuringiensis* strains from Jordan and their toxicity to the Lepidoptera”, *Ephestia kuehniella Zeller, Aplican Journal of Biotechnology*, Vol. 3(11), pp. 622-626.
12. Morales S. E. and Holben W. E. (2009), “Empirical testing of 16S rRNA gene PCR primer pairs reveals variance in target specificity and efficacy not suggested by in silico analysis”, *Applied and Environmental Microbiology*, 75(9), pp. 2677-2683.
13. Shahram A., Mohammad H. S., Ali A. P., Mahmud R. B., Mansureh K. and Mahdi M. (2010), “Isolation and identification native *Bacillus thuringiensis* in different habitat from west azerbaijan and evaluate effects on indian moth plodia interpunctella (hubner) (lepidoptera pyralidae)”, *Mun. Ent. Zool*, Vol. 5, pp.1034-1037.
14. Shirling E. B., Gottlieb D. (1972), “Cooperative derivation of type cultures of *Streptomyces*” *Additional descriptions International journal of systematic Bacteriology*, Vol. 22, pp. 265-394.
15. Theyry and Franchon E. (1997), *Identification, isolation, culture and preservation entomopathogenic bacteria*, Biotechniques Manual of Technology in insect Pathology, Edited by Lawrence A. Lacey, Academic Press, pp. 55 – 57.
16. Waksman S. A. (1961), *The Actinomycetes: Classification, identification and descriptions of genera and species*, The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 2, USA.

## SUMMARY

# INVESTIGATION SOME BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ACTINOMYCETES AND BACILLUS ISOLATED ON THE LANDS OF TEA IN THAI NGUYEN

Nguyễn Quang Tuyền\*, Do Bích Due,  
Phạm Thị Phương Lan, Nguyễn Thị Lien, Nguyễn Mạnh Cuong

TNU - Institute of Life Sciences

From samples of land of tea in some areas of Thai Nguyen province that have been isolated, selected strains of *Actinomycetes* TNA12 and *Bacillus* TNB8. The *Actinomycetes* TNA12 strain has had abilities for inhibition all fungus strains experiment and strong ability for fungicides that cause brown spot, gray spot diseases on tea leaves, have biological and genetic characteristics similar to *Streptomyces* genus. The *Bacillus* TNB8 strain has the ability to form spores, poison crystals and insecticidal activeness highly after 24, 48, 72 hours with the correct respective rates as 30; 50; 90% and have biological, genetic characteristics similar to the *Bacillus* genus as described. Two strains have been published in the World Gene Bank with the number of accession as *Bacillus thuringiensis* TNB8: MG471390 và *Streptomyces* TNA12: MG471391.

**Key words:** Isolate, *Streptomyces*, *Bacillus*, spore, crystals, activeness

**Ngày nhận bài:** 14/3/2018; **Ngày phản biện:** 21/3/2018; **Ngày duyệt đăng:** 27/4/2018

\* Email: nqtuyen901@gmail.com