



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0036319

(51)⁷ C12N 1/20

(13) B

(21) 1-2020-00074

(22) 06/01/2020

(45) 25/07/2023 424

(43) 25/02/2020 383A

(73) Viện Vi sinh vật và Công nghệ Sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội (VN)
Nhà E2, 144 Xuân Thủy, quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội

(72) Nguyễn Kim Nữ Thảo (VN); Nguyễn Hồng Minh (VN); Nguyễn Thị Vân (VN).

(54) CHỦNG STREPTOMYCES HYDROGENANS VTCC 41117 THUẦN KHIẾT VỀ
MẶT SINH HỌC CÓ HOẠT TÍNH KHÁNG NẤM GÂY BỆNH THỰC VẬT

(57) Sáng chế đề xuất chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 thuần khiết về mặt sinh học có hoạt tính kháng nấm gây bệnh thực vật, trong đó chủng này được lưu trữ tại Bảo tàng giống chuẩn Vi sinh vật (VTCC), Viện Vi sinh vật và Công nghệ Sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội; Chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 theo sáng chế có hoạt tính kháng với 5 loại nấm gây bệnh thực vật bao gồm *P. capsici*, *Alternaria* sp., *B. cinerea*, *Fusarium* sp. và *C. gloeosporioides*.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế thuộc lĩnh vực vi sinh bảo vệ thực vật, cụ thể là sáng chế đề cập đến chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 thuần khiết về mặt sinh học có hoạt tính kháng nấm gây bệnh thực vật.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Nấm là tác nhân gây ra nhiều bệnh thực vật, làm giảm đáng kể năng suất cây trồng, đặc biệt ở các vùng khí hậu nhiệt đới và cận nhiệt đới. Mỗi lo ngại liên quan đến việc sử dụng các hóa chất nông nghiệp để kiểm soát bệnh nấm ngày càng tăng do những ảnh hưởng độc hại của thuốc diệt nấm đến môi trường và sức khỏe con người. Nhiều nghiên cứu nhằm tìm kiếm các phương pháp kiểm soát và phòng trừ nấm gây bệnh thực vật đảm bảo và ít nguy hại hơn đến môi trường sinh thái đã được thực hiện. Trong đó, biện pháp không chế sinh học sử dụng vi sinh vật đối kháng với nấm gây bệnh cho thấy vừa mang lại hiệu quả, vừa đảm bảo sự thân thiện với môi trường và đặc biệt là an toàn cho con người, phù hợp với nguyên tắc canh tác nông nghiệp hữu cơ hiện nay.

Xạ khuẩn được sử dụng hữu hiệu để chống nấm gây bệnh thực vật nhờ khả năng sinh chất kháng sinh và các chất có hoạt tính sinh học rất đa dạng. Xạ khuẩn là nguồn sản xuất các loại enzym như chitinaza, proteaza, peptidaza và xenlulaza, trong đó chitinaza có vai trò quan trọng nhất trong kiểm soát bệnh nấm. Khả năng đối kháng nấm của xạ khuẩn được hình thành bởi hai yếu tố: chitin ở thành tế bào nấm bị phá hủy bởi enzym, sau đó chất kháng sinh và các chất có hoạt tính sinh học khác được hình thành sẽ tác động vào trong tế bào nấm, kìm hãm sự sinh trưởng của các loài nấm gây bệnh.

Trước đây, loài *Streptomyces hydrogenans* cũng đã được tìm thấy có khả năng kháng nấm, côn trùng cũng như có tiềm năng kích thích sinh trưởng thực vật. Trong nghiên cứu của Manhas và cộng sự, chủng *S. hydrogenans* DH16 có khả năng kháng chủng nấm *Alternaria brassicicola* gây bệnh đốm vòng trên cải củ. Còn trong nghiên cứu của Kaur và cộng sự, chủng *S. hydrogenans* DH16 này được chứng minh có khả năng kháng nhiều loại nấm gây bệnh khác nhau bao gồm *Colletotrichum acutatum*, *Cladosporium herbarum*, *Alternaria brassicicola*, *Exserohilum* sp., *Alternaria mali*, *Colletotrichum gleosporioides*, *Alternaria alternata*, *Cercospora* sp., *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* và *Fusarium moniliformae*. Ngoài ra, dịch chiết etyl axetat của chủng này còn có khả năng diệt côn trùng. Chủng xạ khuẩn này cũng sinh IAA, có khả

năng kích thích sinh trưởng ở thực vật. Các kết quả trên cho thấy tiềm năng rất lớn của loài *S. hydrogenans* trong lĩnh vực bảo vệ thực vật.

Ở Việt Nam, các nghiên cứu về khả năng đối kháng của xạ khuẩn đối với một số loài nấm đã được công bố trong nhiều năm nay. Đỗ Thu Hà đã công bố kết quả nghiên cứu về chủng *Streptomyces globosus* ĐN-5 phân lập từ đất tỉnh Quảng Nam có hoạt tính kháng mạnh với nấm *Aspergillus niger*. Trong nghiên cứu của Biền Văn Minh (2009), 62/145 chủng xạ khuẩn được phân lập biểu hiện hoạt tính kháng vi sinh vật, trong đó có 2 chủng cho hoạt tính kháng mạnh với cả nấm *Fusarium oxysporum*, vi khuẩn Gram dương *Staphylococcus aureus* và vi khuẩn Gram âm *Escherichia coli*. Nguyễn Hoài Nam và cộng sự đã sàng lọc được 10 chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng với nấm gây bệnh khô vằn lúa (*Rhizoctonia solani*). Nguyễn Thị Kim Cúc và cộng sự đã phân lập được một số chủng xạ khuẩn từ đất và rễ cây tiêu bị bệnh ở Quảng Trị có khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Phytophthora* sp.. Nguyễn Thị Phong Lan đã tuyển chọn được 6 chủng *Streptomyces* spp. có khả năng đối kháng nấm gây bệnh đạo ôn hại lúa *Pyricularia grisea*.

Tuy nhiên, nhu cầu sàng lọc, tìm kiếm phân lập các chủng xạ khuẩn hoạt tính đối kháng cao và ức chế được nhiều chủng nấm gây bệnh ở thực vật vẫn là rất lớn.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là để giải quyết các vấn đề nêu trên. Để đạt được mục đích này, sáng chế đề xuất chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 thuần khiết về mặt sinh học có hoạt tính kháng nấm gây bệnh thực vật. Chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 được lưu trữ tại Bảo tàng giống chuẩn Vi sinh vật (VTCC), Viện Vi sinh vật và Công nghệ Sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội. Chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 có trình tự rADN 16S như nêu trong SEQ ID No: 1. Dữ liệu về trình tự này đã được công bố trên ngân hàng dữ liệu ADN của Nhật Bản (DDBJ) với mã số LC493176 ngày 22/7/2019.

Theo một phương án, chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 có hoạt tính kháng các nấm gây bệnh thực vật phổ rộng, trong đó các nấm này được chọn từ *Phytophthora capsici*, *Alternaria* sp., *Botrytis cinerea*, *Collectotrichum gloeosporioides*, và *Fusarium* sp..

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 A-F: là các hình ảnh khuẩn lạc của chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 nuôi cấy ở 30°C sau 7 ngày trên môi trường thạch YS (A), ISP1 (B), ISP2 (C), ISP3 (D), ISP4 (E), ISP5 (F).

Hình 2 A-B: là cấu trúc chuỗi bào tử và bào tử của chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117. (A) Hình dạng bào tử chụp dưới kính hiển vi có độ phóng đại 1.000 lần. (B) Hình ảnh cấu trúc chuỗi bào tử chụp dưới kính hiển vi điện tử quét có độ phóng đại 5.000 lần.

Hình 3: thể hiện khả năng sinh trưởng của chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 trên môi trường YS có bổ sung các lượng muối khác nhau.

Hình 4: thể hiện khả năng sinh trưởng của chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 trên môi trường YG ở các độ pH khác nhau.

Hình 5: thể hiện khả năng sinh trưởng của chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 trên môi trường YS ở các nhiệt độ khác nhau.

Hình 6: thể hiện khả năng đồng hóa đường của chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 trên các loại đường khác nhau 1- L-Arabinosa, 2- D-Lactosa, 3- D-Raffinosa, 4- D-Galactosa, 5- D-Sorbitol, 6- L-Rhamnosa, 7- Maltosa, 8- D-Xyloza, 9- D-Fructosa, 10- D-Glucosa, 11- D-Mannitol, 12- Xenluloza, 13- Đối chứng âm.

Hình 7: thể hiện khả năng phân giải tinh bột, CMC, casein, urea và gelatin của chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117.

Hình 8: thể hiện khả năng đối kháng của chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 đối với *Alternaria* sp. (A), *C. gloeosporioides* (B), *P. capsici* (C), *B. cinerea* (D) và *Fusarium* sp. (E)

Hình 9: thể hiện hoạt tính kháng *C. gloeosporioides* của chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 khi nuôi cấy trong các môi trường và thời gian nuôi cấy khác nhau.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả một cách chi tiết có tham khảo các hình vẽ kèm theo.

Theo một phương án, chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 được phân lập từ lá mục thu gom từ Ba Bể, Bắc Kạn. Chủng này được phân lập bằng phương pháp RC (Rehydration and Centrifugation method) trên môi trường axit humic - vitamin agar có thành phần (g/L): axit humic- 1, CaCO_3 - 0,02, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,01, KCl- 1,71, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,05, Na_2HPO_4 - 0,5, cycloheximide- 0,5, axit nalidixic- 0,02, thạch- 18, hỗn hợp vitamin nhóm B- 5 ml, pH 7,2). Hỗn hợp vitamin nhóm B (mg/ml: Thiamine-HCl- 10, Riboflavin- 10, Niacin- 10, Pyridoxin-HCl- 10, Inositol- 10, Ca-Pantothenat- 10, Axit p-Aminobenzoic- 10, Biotin- 10). Chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 được phân lập như sau: Mẫu lá mục từ Vườn Quốc gia Ba Bể, Bắc Kạn được để

khô tự nhiên trong 5 ngày, sau đó được nghiền nhỏ; Lấy 0,5 g mẫu cho vào 50 ml đệm photphat 10 mM- 5% cao nấm men (pH 7); Loại bỏ phần nổi trên bề mặt, giữ ở 28°C trong 1,5 giờ; Chuyển 8 ml lớp dịch phía trên sang ống ly tâm, ly tâm với tốc độ 1500 x g trong 20 phút; Giữ ở nhiệt độ phòng trong 30 phút; Chuyển 3 ml lớp dịch trên sang ống khác; Lấy 1 ml pha loãng với nước cất để đạt nồng độ pha loãng 10^{-3} ; Trải trên môi trường HV; Nuôi cấy ở nhiệt độ 28°C trong 14 ngày; Các khuẩn lạc riêng rẽ được ria lại trên môi trường YS (g/L: tinh bột- 10, cao men- 2, thạch- 18) và nuôi cấy ở nhiệt độ 28°C trong 7 ngày.

Chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 có khả năng sinh trưởng trên các môi trường: YS, ISP1, ISP2, ISP3, ISP4, và ISP5; độ pH 7-9, tốt nhất là độ pH 7; nhiệt độ: 25-37°C; trong điều kiện sống hiếu khí. Trong đó, các môi trường YS, ISP1, ISP2, ISP3, ISP4, và ISP5 có thành phần cụ thể như sau:

- Môi trường YS (g/L): tinh bột- 10, cao men- 2, thạch 18;
- Môi trường ISP1 (g/L): casein- 5, cao men- 3, thạch 18, pH 7,2;
- Môi trường ISP2 (g/L): cao malt- 10, cao men- 4, glucoza- 4, thạch- 18, pH 7,3;
- Môi trường ISP3 (g/L): oatmeal- 20, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,001, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - 0,001, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,001, thạch- 18;
- Môi trường ISP4 (g/L): glucoza- 20, tinh bột- 10, CaCO_3 - 2, $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$ - 2, K_2HPO_4 - 1, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 1, NaCl- 1, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,001, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - 0,001, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,001, thạch 18, pH 7,2;
- Môi trường ISP5 (g/L): glyxerol- 10, L- Asparagin- 1, K_2HPO_4 - 1, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,001, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - 0,001, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,001, thạch- 18, pH 7,2.

Theo một khía cạnh, chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 có khuẩn lạc như được thể hiện trên Hình 1, trong đó: Bào tử hình thành chậm trên môi trường ISP4. Bào tử có màu trắng xám trên môi trường ISP3 và ISP4 nhưng có màu trắng ngà trên môi trường YS và ISP5. Khuẩn lạc có kích thước lớn nhất khi phát triển trên môi trường YS. Chuỗi bào tử của chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 có dạng chuỗi thẳng, bề mặt bào tử nhẵn (Hình 2).

Kết quả nghiên cứu đặc tính sinh lý, sinh hóa của chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 được trình bày trong bảng 1.

Chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 sinh trưởng tốt trên môi trường có nồng độ muối 3-5% (3% và 5%, Hình 3). Ở nồng độ muối cao trên 5%, khuẩn ty khí sinh có xu hướng chuyển sang màu trắng đục so với màu trắng ngà ở nồng độ muối thấp và khả năng hình thành bào tử cũng giảm dần. Chủng phát triển tốt ở pH 7 - 9 trên môi

trường YG (g/L: cao men- 10, glucoza- 10, thạch- 18) (Hình 4), sinh trưởng tốt ở nhiệt độ 25°C - 37°C (Hình 5).

Khả năng đồng hóa đường: Chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 có khả năng sinh trưởng tốt trên nguồn đường L-Arabinoza, D-Lactoza, D-Raffinoza, D-Galactoza, L-Rhamnoza, Maltoza, D-Xyloza, D-Fructoza, D-Glucoza, D-Mannitol, Xenluloza, sinh trưởng yếu trên D-Sorbitol (Hình 6).

Khả năng sinh enzyme: Chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 có khả năng phân giải xenluloza, tinh bột và urea (Hình 7).

Bảng 1

	Điều kiện	Khả năng sinh trưởng
Nguồn cacbon hydrat	L-Arabinoza	+
	D-Lactoza	+
	D-Raffinoza	++
	D-Galactoza	++++
	D-Sorbitol	-
	L-Rhamnoza	+
	Maltoza	+++
	D-Xyloza	++
	D-Fructoza	+++
	D-Glucoza	++++
	D-Mannitol	++++
	Xenluloza	+++
pH	5	-
	7	+++
	9	+
Nhiệt độ (°C)	20	+
	25	++
	30	+++
	37	++
	45	-
Nồng độ muối NaCl (%)	0	++++
	3	++
	5	++
	7	+

Ghi chú: - không sinh trưởng; + sinh trưởng rất yếu; ++ sinh trưởng yếu; +++ sinh trưởng tốt; ++++ sinh trưởng rất tốt

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được làm rõ hơn thông qua các ví dụ thử nghiệm sau đây.

Ví dụ 1

Khảo sát hoạt tính đối kháng của chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 với 5 loại nấm gây bệnh thực vật bao gồm *P. capsici*, *Alternaria* sp., *B. cinerea*, *Fusarium* sp. và *C. gloeosporioides*.

Các chủng xạ khuẩn được nuôi trên môi trường thạch YS (g/L: tinh bột- 10; cao men- 2; thạch- 18) trong 7 ngày ở 28°C. 05 chủng nấm được nuôi trên môi trường thạch PDA (Himedia) trong 7 ngày ở 25°C. Cắt thỏi thạch ($\Phi = 5$ mm) của từng chủng nấm đặt vào tâm đĩa petri ($\Phi = 6$ cm) chứa môi trường PDA. Sau đó, cắt thỏi thạch ($\Phi = 5$ mm) của từng chủng xạ khuẩn đã sinh trưởng trên môi trường YS và đặt vào vị trí cách tâm đĩa 2 cm, ủ đĩa trong 2 ngày ở 25°C. Tỷ lệ kháng nấm của các chủng xạ khuẩn tính theo công thức: $S = (R-r)/R \times 100\%$. Trong đó, S: Phần trăm ức chế, R: bán kính khuẩn lạc nấm ở phía đối diện vị trí đặt thỏi thạch xạ khuẩn, r: bán kính khuẩn lạc nấm ở phía đặt thỏi thạch xạ khuẩn. Mỗi thí nghiệm đều được lặp lại 3 lần.

Khả năng đối kháng của chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 với 5 chủng nấm gây bệnh được thể hiện trong hình 8A- E. Tỷ lệ ức chế nấm *P. capsici*, *Alternaria* sp., *B. cinerea*, *Fusarium* sp. và *C. gloeosporioides* của chủng VTCC 41117 lần lượt là 42, 55, 55, 55 và 40%.

Ví dụ 2

Khảo sát hoạt tính kháng nấm của chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 trong các môi trường và thời gian nuôi cấy khác nhau

Hoạt tính kháng nấm của chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 thể hiện mạnh nhất đối với chủng nấm *C. gloeosporioides*. Vì thế, để lựa chọn được môi trường và thời gian nuôi cấy thích hợp cho chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 sinh hoạt chất kháng nấm mạnh, hoạt tính của chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 được khảo sát thông qua hoạt tính kháng nấm *C. gloeosporioides*. Kết quả hoạt tính kháng *C. gloeosporioides* của chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 khi nuôi cấy trong 6 loại môi trường và thời gian nuôi cấy khác nhau được thể hiện trên hình 9.

Sáu loại môi trường được khảo sát bao gồm:

- Môi trường YS (g/L): tinh bột- 10, cao men- 2;
- Môi trường SKS (g/L): tinh bột- 10, glucoza- 10, bột đậu tương- 10, pepton- 5, CaCO_3 - 3;
- Môi trường ISP2 (g/L): cao malt- 10, cao men- 4, glucoza- 4;
- Môi trường 2M (g/L): tinh bột- 20, bột đậu tương- 15, cao men- 2, CaCO_3 - 4;
- Môi trường A16 (g/L): glucoza- 20, Pharmamedia- 10, CaCO_3 - 5;

- Môi trường 301 (g/L): tinh bột- 20, glucoza- 1, pepton- 3, cao thịt- 3, cao men- 5, CaCO₃- 4.

Chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 được nuôi cấy trong các bình tam giác 250 mL chứa 75 mL của 06 môi trường dịch thể, tốc độ lắc 160 rpm, nhiệt độ 30°C trong 7 ngày. Dịch nuôi cấy xạ khuẩn từ 06 môi trường này được xác định hoạt tính kháng nấm theo phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch, thời gian khảo sát với tần suất 01 lần/ ngày. Phương pháp này được thực hiện như sau: Thỏi thạch ($\Phi = 5$ mm) của nấm *C. gloeosporioides* đã được nuôi trên môi trường thạch PDA (Himedia) trong 7 ngày ở 25°C được đặt vào tâm đĩa petri ($\Phi = 6$ cm) chứa môi trường PDA. 50 μ l dịch nuôi cấy xạ khuẩn sau ly tâm và được nhỏ vào trong giếng thạch ($\Phi = 5$ mm) đã được đục sẵn cách tâm đĩa 2 cm, ủ đĩa trong 2 ngày ở 25°C. Tỷ lệ kháng nấm của các chủng xạ khuẩn được tính theo công thức: $S = (R-r)/R \times 100\%$. Trong đó, S: Phần trăm ức chế, R: bán kính khuẩn lạc nấm ở phía đối diện vị trí giếng nhỏ dịch nuôi xạ khuẩn, r: bán kính khuẩn lạc nấm ở phía có giếng nhỏ dịch nuôi xạ khuẩn.

Kết quả cho thấy, chủng VTCC 41117 có hoạt tính kháng *C. gloeosporioides* cao nhất đạt 50% khi được nuôi cấy trong môi trường ISP2, môi trường 301 ở ngày nuôi thứ 5 và môi trường SKS ở ngày nuôi cấy thứ 6. Mặt khác hoạt tính kháng *C. gloeosporioides* của chủng VTCC 41117 luôn được phát hiện ở cả 6 loại môi trường tại thời điểm từ 3 đến 7 ngày (đạt mức độ trong khoảng 25 đến 50%) đã cho thấy khả năng sinh hoạt chất kháng nấm sớm, ổn định và lâu dài của chủng xạ khuẩn này. Đây là một ưu điểm cho thấy khả năng phát triển chế phẩm sinh học phòng chống nấm gây bệnh thực vật từ chủng xạ khuẩn *S. hydrogenans* VTCC 41117 so với các chủng xạ khuẩn thường chỉ có hoạt tính tốt ở một số loại môi trường nhất định và hoạt tính bắt đầu giảm từ ngày nuôi cấy thứ 7.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

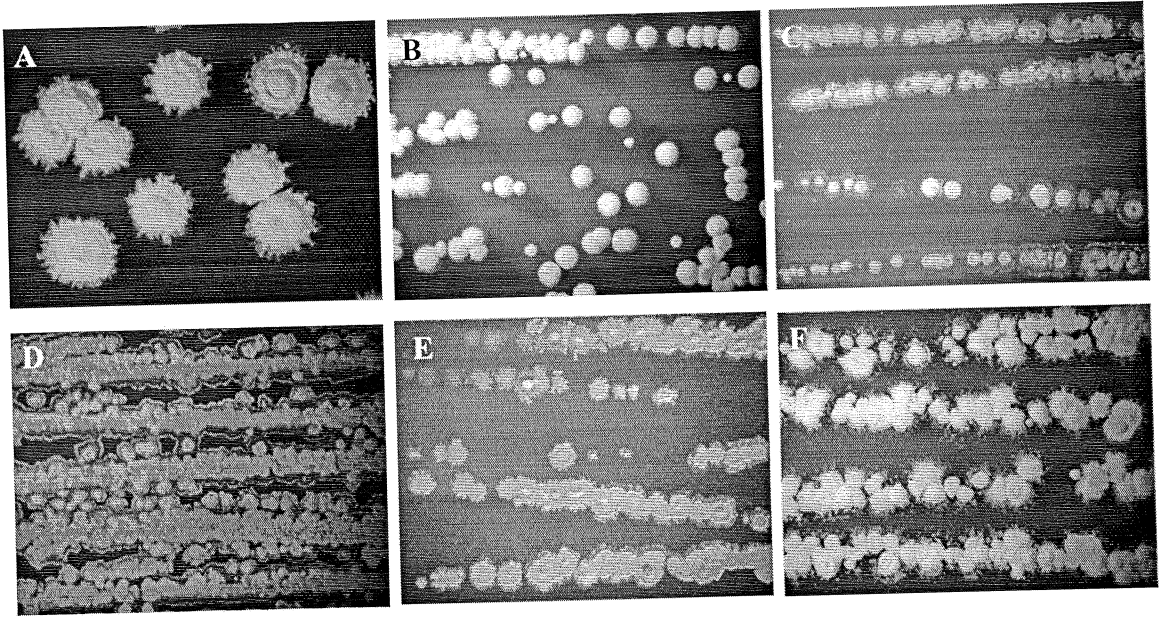
Sáng chế đã tuyển chọn và định danh được chủng xạ khuẩn *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 có khả năng kháng đồng thời 5 chủng nấm gây bệnh bao gồm *P. capsici*, *Alternaria* sp., *B. cinerea*, *C. gloeosporioides* và *Fusarium* sp.. Chủng xạ khuẩn VTCC 41117 có khả năng sinh hoạt chất kháng nấm mạnh trên nhiều loại môi trường ngay sau 3 ngày nuôi cấy, cho thấy tiềm năng ứng dụng để phát triển chế phẩm sinh học phòng chống các bệnh do nấm gây ra trên thực vật. Đây là đóng góp mới cho VTCC nói riêng và cho các bộ sưu tập giống của cả nước nói chung, vì cho đến nay chưa có công bố nào về các chủng xạ khuẩn kháng cả 5 loại nấm nêu trên.

YÊU CẦU BẢO HỘ

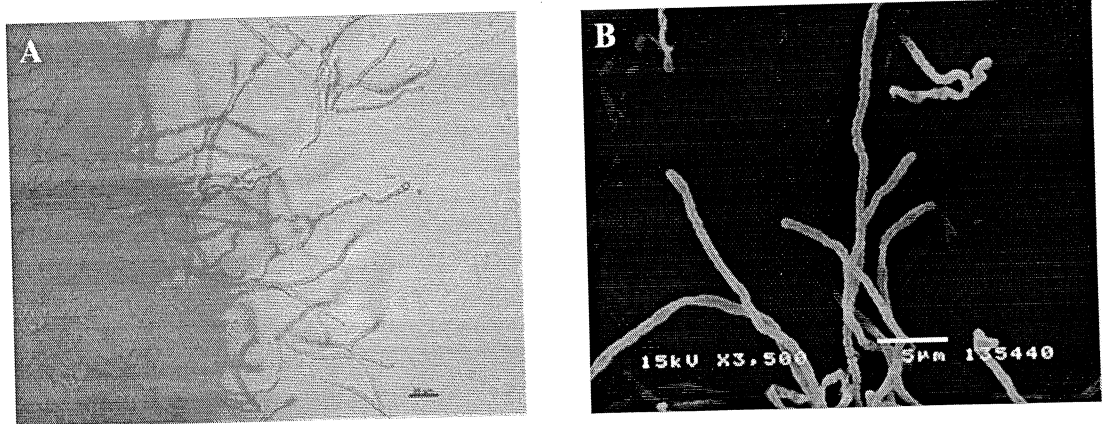
1. Chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 thuần khiết về mặt sinh học có hoạt tính kháng nấm gây bệnh thực vật, trong đó chủng này được lưu trữ tại Bảo tàng giống chuẩn Vi sinh vật (VTCC), Viện Vi sinh vật và Công nghệ Sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội; chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 có trình tự rADN 16S như nêu trong SEQ ID No: 1, khác biệt ở chỗ, chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 có đặc tính sau:

- có khả năng sinh trưởng trên các môi trường được chọn từ nhóm bao gồm: YS, ISP1, ISP2, ISP3, ISP4, và ISP5; có nồng độ muối 3-5%; độ pH 7-9; nhiệt độ 25-37°C, trong điều kiện sống hiếu khí;
- có khả năng phân giải xenluloza, tinh bột và urea; và
- có hoạt tính kháng với 5 loại nấm gây bệnh thực vật bao gồm *P. capsici*, *Alternaria* sp., *B. cinerea*, *Fusarium* sp. và *C. gloeosporioides*.

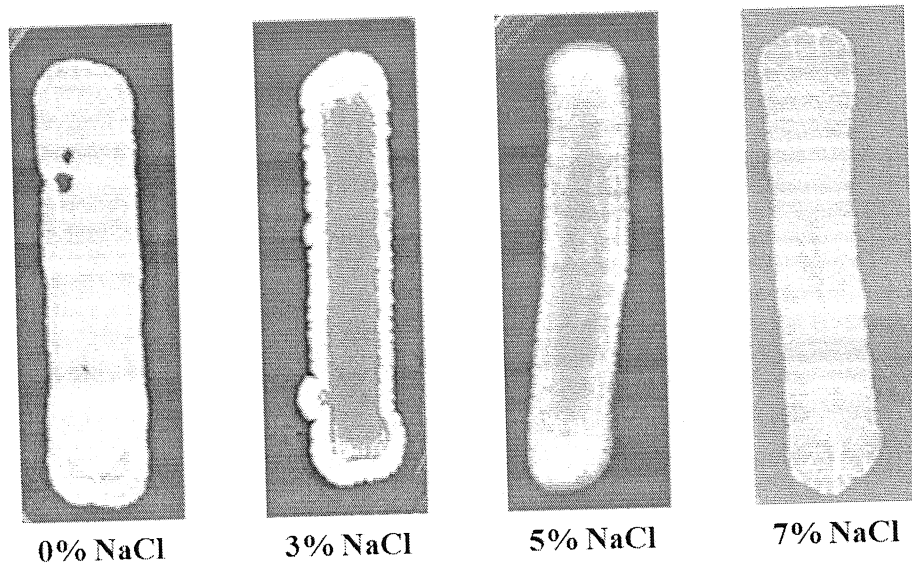
Hình 1



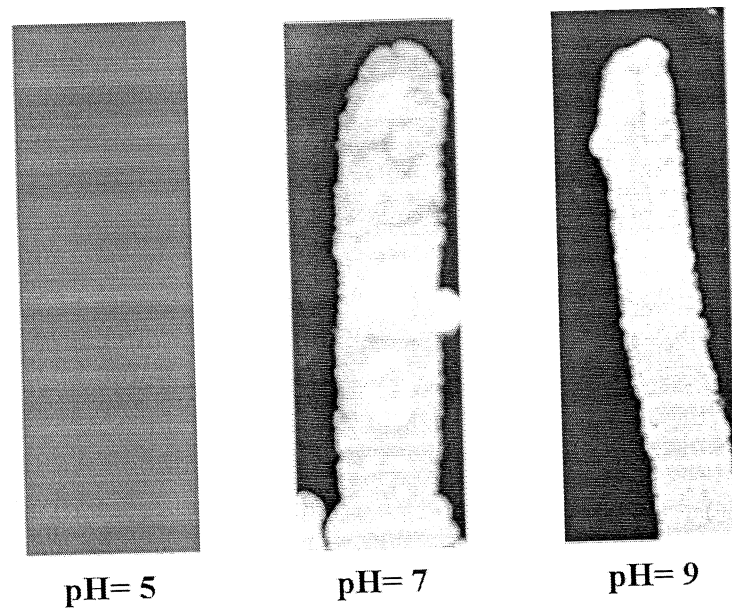
Hình 2



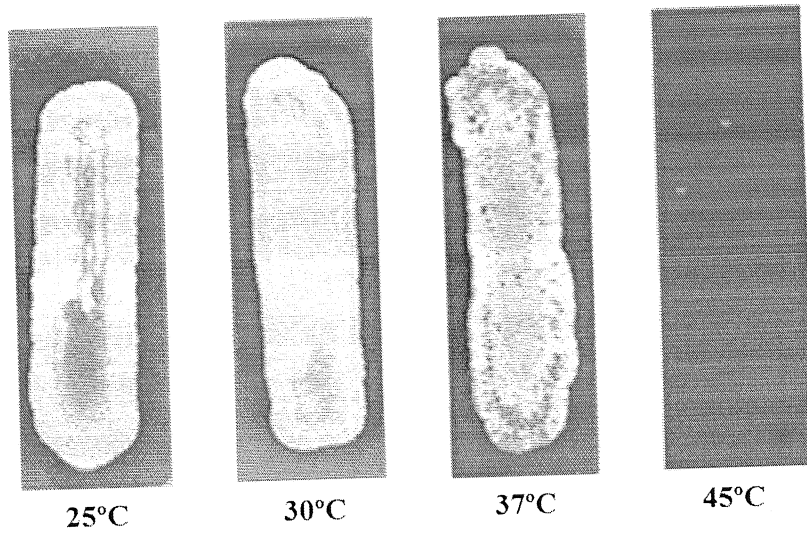
Hình 3



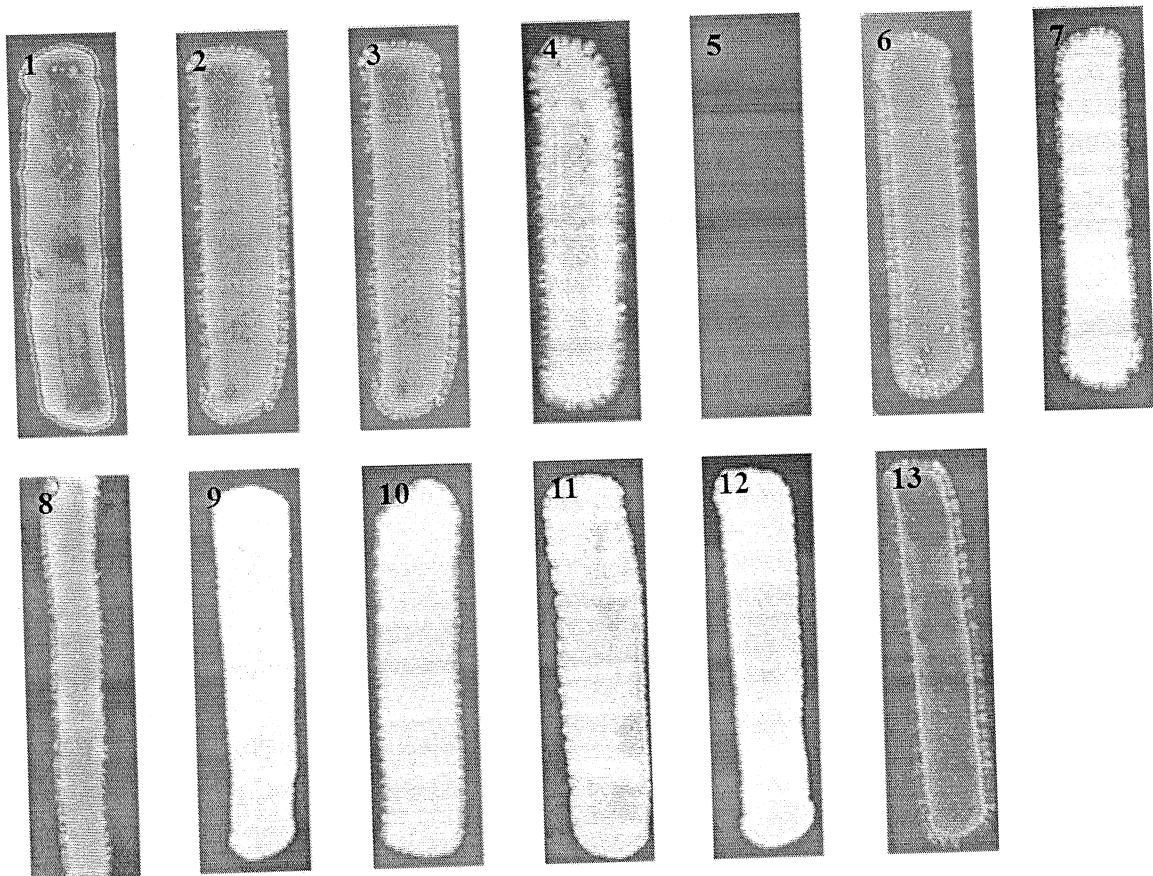
Hình 4



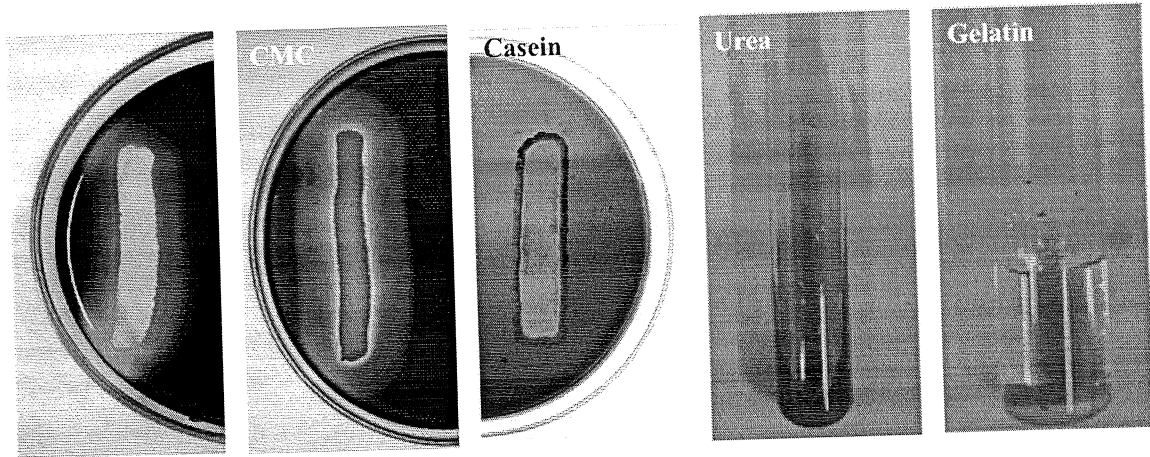
Hình 5



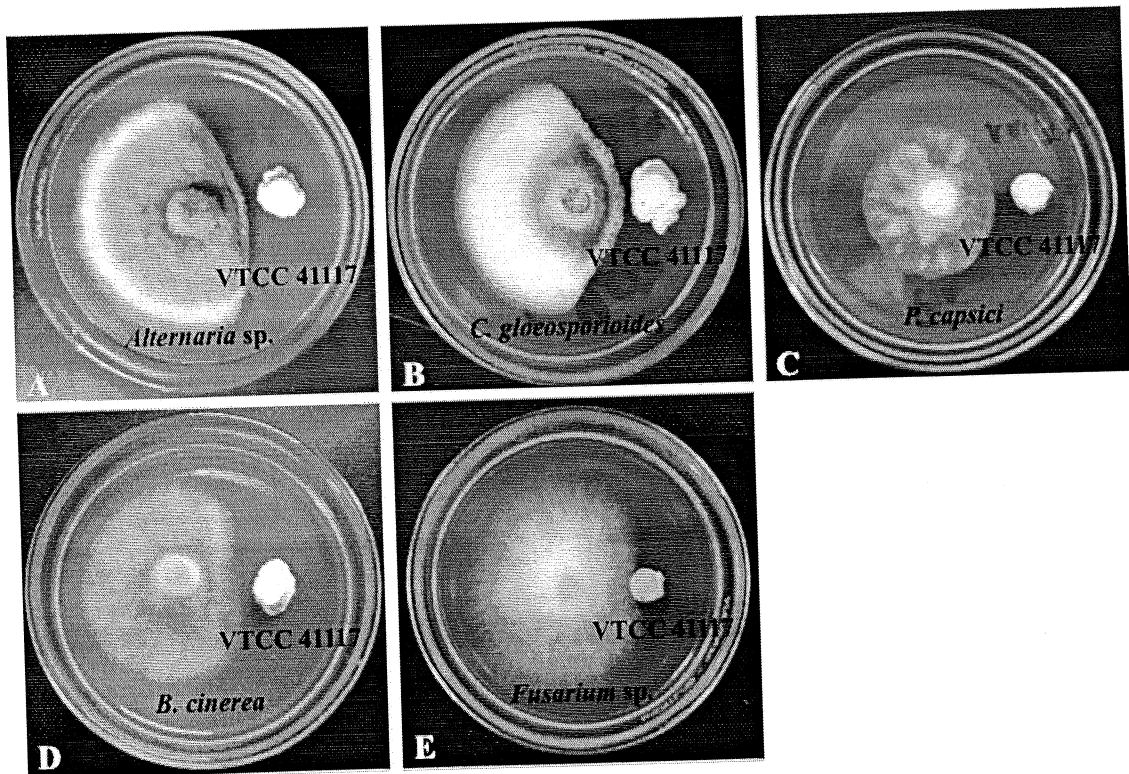
Hình 6



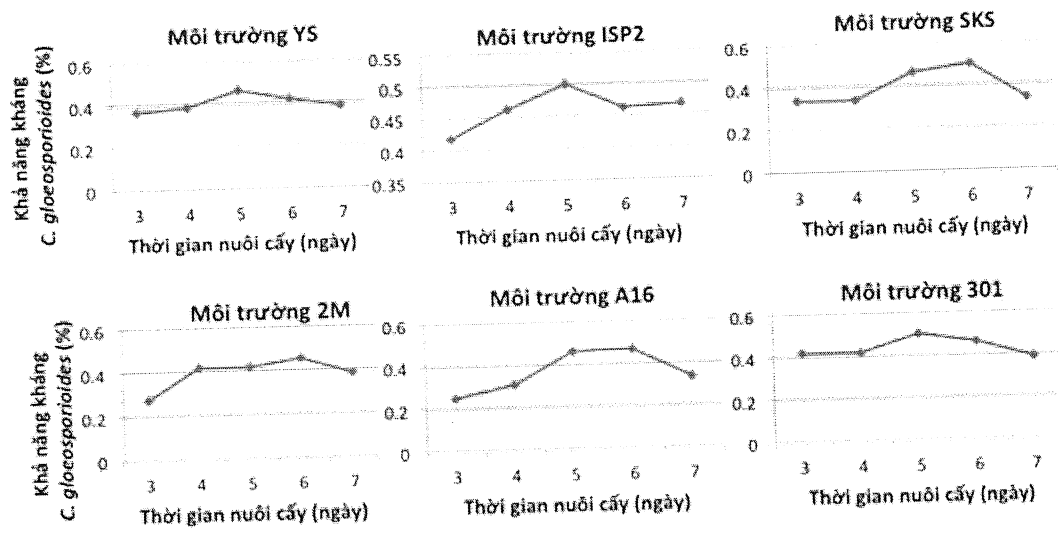
Hình 7



Hình 8



Hình 9



Danh mục trình tự

- <110> Viện Vi sinh vật và Công nghệ Sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội
 <120> Chủng *Streptomyces hydrogenans* VTCC 41117 thuần khiết về mặt sinh học có hoạt tính kháng nấm gây bệnh thực vật

<130>

<160> 1

<170>

<210> 1

<211> 1396

<212> ADN

<213> *Streptomyces hydrogenans*

<220>

<223> rADN 16S

<400> 1

GGCTTCGGGTGTTACCGACTTTCGTGACGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACG	60
TATTCACCGCAGCAATGCTGATCTGCGATTACTAGCGACTCCGACTTCATGGGGTCGAGT	120
TGCAGACCCCAATCCGAAGTACGACCGGCTTTTGTAGATTTCGCTCCACCTCGCGGTATCG	180
CAGCTCATTGTACCGGCCATTGTAGCACGTGTGCAGCCCCAAGACATAAGGGGCATGATGA	240
CTTGACGTTCGTCCTCCACCTTCTCCGAGTTGACCCCGGCGGTCTCCCGTGAGTCCCCAGC	300
ACCACAAGGGCCTGCTGGCAACACGGGACAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCA	360
ACATCTCACGACACGAGCTGACGACAGCCATGCACCACCTGTACACCGACCACAAGGGGG	420
CGCCTGTCTCCAGACGTTTCCGGTGTATGTCAAGCCTTGGAAGGTTCTTCGCGTTGCGT	480
CGAATTAAGCCACATGCTCCGCCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTTAG	540
CCTTGCGGCCGTAATCCCCAGGCGGGGCACTTAATGCGTTAGCTGCGGCACGGACAACGT	600
GGAATGTTGCCCCACACCTAGTGCCACCGTTTACGGCGTGGAATACCAGGGTATCTAATC	660
CTGTTTCGCTCCCCACGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTATCGGCCCAGAGATCCGCCTTCG	720
CCACCGGTGTTTCTCCTGATATCTGCGCATTTACCGCTACACCAGGAATTCGATCTCC	780
CCTACCGAAGTCTAGCCTGCCCCGATCGACTGCAGACCCGGGGTTAAGCCCCGGGCTTTC	840
ACAACCGACGTGACAAGCCGCTACGAGCTCTTTACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTT	900
GCGCCCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGGCGCTTCTTCTGCAGGTA	960
CCGTCACTTTCGCTTCTTCCCTGCTGAAAGAGGTTTACAACCCGAAGGCCGTCATCCCTC	1020
ACGCGGCGTCGCTGCATCAGGCTTTCGCCCATTGTGCAATATTCCTCCACTGCTGCCTCCC	1080
GTAAGAGTCTGGGCGGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGGTCGCCCTCTCAGGCCGGGCTAC	1140
CCGTGCTCGCCTTGGTGAGCCACTACCTCACCAACAAGCTGATAGGCCGCGGGCTCATCC	1200
TGCACCGCCGGAGCTTTACACCATCCACCATGCGATGGACAGTCATATCCGGTATTAGAC	1260
CCCGTTTCCAGGGCTTGTCCCAGAGTGCAGGGCAGATTGCCACGTGTTACTCACCCGTT	1320
CGCCACTAATCCCCGCCCGAAAGCGGTTTCATCGTTGCACTTGCATGTGTTAAGCACGCCG	1380
CCAGCGTTCGTCCTGA	1396