

## NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG KHÁNG NẤM *Colletotrichum truncatum* GÂY BỆNH THÁN THƯ Ở QUẢ ĐU ĐỦ BẰNG *Streptomyces murinus* NARZ

Nguyễn Hiền Trang\*, Nguyễn Thị Thủy Tiên, Nguyễn Thị Đan Huyền, Lê Thanh Long

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

\*Tác giả liên hệ: nguyenhientrang@huaf.edu.vn

Nhận bài: 19/09/2023 Hoàn thành phản biện: 04/11/2023 Chấp nhận bài: 06/11/2023

### TÓM TẮT

Bệnh thán thư trên quả đu đủ là một trong những bệnh sau thu hoạch gây tổn thất nghiêm trọng. Nghiên cứu này đã phân lập, định danh nấm gây bệnh thán thư trên quả đu đủ thông qua đặc điểm hình thái và kỹ thuật sinh học phân tử; xác định ngưỡng gây bệnh của nấm trên quả đu đủ bằng lấy bệnh nhân tạo trong phòng thí nghiệm, đồng thời tiến hành sàng lọc khả năng kháng nấm của 56 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* spp. bằng phương pháp cấy vệt vuông góc. Trên cơ sở đó, đánh giá hiệu lực ức chế (%) sự phát triển đường kính tán nấm *Colletotrichum* sp. trên môi trường PDA bằng dịch nuôi cấy (CFS) chủng xạ khuẩn *Streptomyces murinus* NARZ. Kết quả đã xác định tác nhân gây bệnh thán thư trên quả đu đủ là do nấm *Colletotrichum truncatum* M2 gây ra. Ngưỡng gây bệnh nhân tạo của nấm *C. truncatum* M2 trên quả đu đủ thích hợp nhất với nồng độ là  $10^6$  bào tử/mL. Trong số 56 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* spp. sử dụng để sàng lọc khả năng kháng nấm bằng phương pháp cấy vệt vuông góc, chủng *S. murinus* NARZ đã thể hiện khả năng kháng mạnh nhất đối với nấm *C. truncatum* M2. Chủng *S. murinus* NARZ ức chế hoàn toàn sự phát triển của nấm *C. truncatum* M2 và được lựa chọn để đánh giá hoạt tính kháng nấm ở điều kiện *in vitro*. CFS của chủng *S. murinus* NARZ ở nồng độ 50% có hiệu lực ức chế nấm *C. truncatum* M2 cao nhất đạt 56,72%, cao hơn hiệu lực ức chế của các chất đối chứng dương (erythromycin và nystatin).

**Từ khóa:** *Colletotrichum truncatum*, Đu đủ, Kháng nấm, *Streptomyces murinus*

## STUDY ON ANTIFUNGAL ABILITY OF *Streptomyces murinus* NARZ AGAINST *Collectotrichum truncatum* CAUSING ANTHRACNOSE DISEASE ON PAPAYA FRUIT

Nguyen Hien Trang\*, Nguyen Thi Thuy Tien, Nguyen Thy Dan Huyen, Le Thanh Long

University of Agriculture and Forestry, Hue University

### ABSTRACT

Anthracnose on papaya fruit is one of the postharvest diseases that leads to serious losses of papaya fruit. This study isolated and identified the fungus causing anthracnose on papaya through morphological characteristics and molecular biology techniques; determined the pathogenic threshold of fungi on papaya fruit by artificial infection under *in vitro* condition; screened the antifungal ability of 56 strains of *Streptomyces* spp. by streak culture method. On that basis, evaluated the percentage inhibitory radial (%) of *Colletotrichum* sp. base on the growth of colony diameter on PDA medium using cell-free supernatant (CFS) of *Streptomyces murinus* NARZ. The results indicated that anthracnose disease on papaya fruit is caused by the fungal strain *C. truncatum* M2. The most appropriate artificial pathogenic threshold of *C. truncatum* M2 on papaya fruit was at a concentration of  $10^6$  spores/mL. Out of the 56 strains of *Streptomyces* spp. used to screen for antifungal ability by streak culture method, *S. murinus* NARZ strain showed the strongest antifungal activities against *C. truncatum* M2. The *S. murinus* NARZ strain completely inhibited the growth of *C. truncatum* M2 and was selected to determine the antagonistic activity under *in vitro* conditions. At concentration of 50% CFS obtained from *S. murinus* NARZ, the percentage inhibitory radial growth of *C. truncatum* M2 reached 56,72%, higher than those of positive controls (erythromycin and nystatin).

**Keywords:** Antifungal, *Colletotrichum truncatum*, *Streptomyces murinus*, Papaya fruit

## 1. MỞ ĐẦU

Đu đủ (*Carica papaya*) là cây ăn quả cho thu hoạch nhanh, đạt sản lượng cao, thích hợp với đa dạng các loại đất. Quả đu đủ chín chứa khoảng 85 – 90% nước, 10 – 13% các loại đường glucose, fructose và sucrose, một ít protein, chất béo và muối vô cơ (Annegowda và cs., 2016). Chính vì có hàm lượng nước cao nên đu đủ dễ bị dập nát, chảy dịch tạo điều kiện cho hàng loạt mầm bệnh phát sinh sau thu hoạch, gây tổn thất kinh tế nặng nề. Một số chủng vi sinh vật gây bệnh thường gặp ở đu đủ là *Helminthosporium rostratum*, *Colletotrichum* sp., *Oidium caricae*, *Phyllosticta sulata*,... Trong đó, nấm *Colletotrichum* sp. là một trong những tác nhân gây tổn hại nghiêm trọng nhất, làm quả bị tổn thương bề mặt, thối nhũn và có mùi hôi (Nguyễn Thành Hối, 2000; Vũ Triệu Mân, 2007). Các chủng *Colletotrichum* spp. gây bệnh thán thư trên đu đủ đã được ghi nhận bao gồm *C. chrysophilum*, *C. fruticola*, *C. gloeosporioides*, *C. karsti*, *C. okinawense*, *C. plurivorum*, *C. queenslandicum*, *C. siamense*, *C. theobromicola* và *C. truncatum* (Aktaruzzaman và cs., 2018; Santos và cs., 2022).

Hiện nay, phương pháp đơn giản, phổ biến nhất để kiểm soát bệnh sau thu hoạch trên rau quả là sử dụng hóa chất diệt khuẩn, diệt nấm. Tuy nhiên việc sử dụng hóa chất gây ra sự lo ngại về vấn đề sức khỏe con người, có thể tạo ra sự phát triển của các chủng kháng thuốc và gây ô nhiễm môi trường (Kanini và cs., 2013). Kiểm soát sinh học bằng cách sử dụng các chủng vi sinh vật đối kháng như vi khuẩn, nấm men, nấm mốc và xạ khuẩn được coi là một phương pháp không ảnh hưởng đến sức khỏe người tiêu dùng và thân thiện với môi trường (Abbas và cs., 2020). Trong đó, xạ khuẩn được xem là đối tượng có tiềm năng nhất bởi khả năng

sinh tổng hợp lớn các chất chuyển hóa thứ cấp có hoạt tính sinh học (Jose và cs., 2021). Gần 80% chất kháng sinh được sản xuất bởi xạ khuẩn chi *Streptomyces* (Yun và cs., 2018). Nhiều loại thuốc trừ sâu, thuốc diệt cỏ sinh học và thuốc chống nấm cũng được sản xuất từ *Streptomyces* (Barka và cs., 2016). Một số nghiên cứu đã sử dụng xạ khuẩn để thu nhận các hợp chất sinh học có khả năng ức chế phát triển nấm gây bệnh và ứng dụng trong bảo quản rau quả sau thu hoạch (Martinez và cs., 2020; Zou và cs., 2021; Nguyễn Thị Thủy Tiên và cs., 2022; Ge và cs., 2023)

Đã có nhiều nghiên cứu chứng minh khả năng kháng nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên quả sau thu hoạch của các chủng *Streptomyces* spp. Chủng xạ khuẩn *S. angustmyceticus* C12 được phân lập từ cam Hàm Yên thể hiện hoạt tính kháng nấm *C. truncatum* (Phan Thị Hồng Thảo và cs., 2016). Các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. ký hiệu A1022, *Streptomyces* sp. ký hiệu CH15, *S. malaysiensis* HSL-9B được xác định có khả năng kháng nấm *C. gloeosporioides* gây bệnh thán thư trên tiêu, cà chua, ớt và xoài (Kim và cs., 2014; Piyaboon, 2017; Zhou và cs., 2022). Nấm *C. siamense*, *C. acutatum* gây bệnh thán thư ở xoài, táo được kiểm soát sự lây nhiễm bằng các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* spp. khác nhau như *Streptomyces* sp. ký hiệu AGS-58, *S. coelicolor*, *S. diastatochromogenes*, *Streptomyces* sp. ký hiệu 2R (Martinez và cs., 2022; Jepsen và cs., 2022). Ngoài ra, bệnh thán thư trên đu đủ do nấm *C. gloeosporioides* cũng đã được phòng trừ bằng biện pháp sinh học an toàn từ chủng xạ khuẩn *S. violascens* MT7 và nấm men *Anthracoystis grodzinskae* (Bharti và cs., 2015; Ferreira và cs., 2018). Tuy nhiên, việc sử dụng các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* spp. khác nhau để kiểm soát bệnh thán thư ở quả đu đủ do nấm

*Colletotrichum* sp. chưa được nghiên cứu nhiều ở trong và ngoài nước. Bài báo này trình bày kết quả sàng lọc khả năng kháng nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên đu đủ của 56 chủng *Streptomyces* spp. và đánh giá hiệu quả kháng nấm của chủng được chọn dựa trên hiệu lực ức chế sự phát triển đường kính tán nấm *Colletotrichum* sp. ở điều kiện *in vitro*.

## 2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nguyên vật liệu

- Mẫu đu đủ có vết bệnh thán thư điển hình và mẫu đu đủ tươi không có vết bệnh được thu mua tại các chợ trên địa bàn thành phố Huế để sử dụng cho quá trình phân lập nấm *Colletotrichum* sp. và xác định ngưỡng gây bệnh của nấm *Colletotrichum* sp.

- 56 chủng *Streptomyces* spp. được cung cấp bởi Phòng thí nghiệm Khoa Cơ Khí và Công Nghệ, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Phân lập và định danh nấm *Colletotrichum* sp.

Nấm *Colletotrichum* sp. được phân lập từ quả đu đủ có vết bệnh thán thư điển hình theo phương pháp của Abera và cs. (2016). Quả sau khi thu mua được rửa sạch dưới vòi nước chảy đến khi sạch bề mặt, rửa lại bằng cồn 70% và cuối cùng rửa lại bằng nước cất. Mẫu được lau khô, đặt trong hộp nhựa có đặt mẫu giấy đã tiệt trùng, bọc lại bằng màng bọc thực phẩm. Mẫu được ủ ở nhiệt độ 28°C và theo dõi trong 2 đến 4 ngày. Khi trên quả xuất hiện bào tử nấm tại vết bệnh, dùng tăm vô trùng chấm vào vết bệnh và cấy lên đĩa môi trường 1/2PDA, ủ trong 2 đến 4 ngày ở 28°C. Kiểm tra sự phát triển của sợi nấm và cấy chuyển sang môi trường 1/5 PDA cho đến khi thu được mẫu khuẩn lạc nấm thuần. Việc định danh sơ bộ nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh dựa vào

các đặc tính hình thái và màu sắc tán nấm, hình thái bào tử theo mô tả của Burgess và cs. (2008) và khóa phân loại của Sutton (1980).

Mẫu nấm nghi ngờ là *Colletotrichum* sp. được gửi đến công ty sinh hóa Phù Sa, Cần Thơ để giải trình tự gen 28S rRNA. So sánh trình tự gene thu được với Ngân hàng gene bằng công cụ BLASTn (National Center for Biotechnology Information) để biết mức độ tương đồng của chủng đã phân lập với các chủng đã có. Xây dựng cây phát sinh loài được xây dựng dựa trên chuỗi trình tự thu được với các trình tự tham chiếu trên Ngân hàng gene bằng công cụ MEGA11 (Maximum Likelihood method) để định danh ở cấp độ loài nấm *Colletotrichum* sp. đã phân lập.

#### 2.2.2. Sàng lọc sơ bộ các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* spp. có khả năng kháng nấm *C. truncatum* M2

Khả năng kháng nấm *C. truncatum* M2 của 56 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* spp. được sàng lọc bằng kỹ thuật cấy vệt vuông góc. Các chủng *Streptomyces* spp. được cấy vệt vuông góc ở tâm đĩa Petri có chứa môi trường PDA, ủ ở 28°C trong 4 ngày. Cắt hai tán nấm có kích thước khoảng 2 mm từ phía rìa của khuẩn lạc nấm *C. truncatum* M2 7 ngày tuổi, đặt vào hai vị trí ở giữa thành đĩa Petri và rìa khuẩn lạc *Streptomyces* sp.. Tiếp tục ủ đĩa ở 28°C và đánh giá khả năng kháng nấm *C. truncatum* M2 của *Streptomyces* sp. bằng cách quan sát khoảng cách từ khuẩn lạc nấm đến rìa của vạch *Streptomyces* sp. (Dezfully và cs., 2015).

Thí nghiệm đơn yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 56 công thức ứng với 56 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* spp., các công thức thí nghiệm được thực hiện trên đĩa Petri Φ9, mỗi công thức lặp lại 3 lần, 1 lần 3 đĩa Petri.

Khả năng kháng nấm *C. truncatum* M2 của các chủng *Streptomyces* spp. được đánh giá ở 3 mức:

- Kháng mạnh (++) : Khi chủng *Streptomyces* sp. ức chế gần như hoàn toàn sự phát triển của nấm *C. truncatum* M2, hầu như không có sự phát triển của đường kính tản nấm.

- Kháng yếu (+) : Khi chủng *Streptomyces* sp. ức chế một phần sự phát triển của nấm *C. truncatum* M2, tản nấm vẫn có thể phát triển về phía vạch *Streptomyces* hoặc phía hướng ra ngoài đĩa.

- Không kháng (-) : Khi chủng *Streptomyces* sp. không có khả năng kháng sự phát triển của nấm *C. truncatum* M2, tản nấm mọc lan rộng thậm chí xâm lấn về phía vạch *Streptomyces* hoặc phía hướng ra ngoài đĩa.

Chủng *Streptomyces* sp. có khả năng kháng nấm *C. truncatum* M2 tốt nhất sẽ được chọn để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

### 2.2.3. Thu dịch nuôi cấy không chứa tế bào từ chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp.

Chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. đã chọn được nuôi cấy trong môi trường ISP4 (International Streptomyces Project 4) trên máy lắc với tốc độ 180 vòng/phút ở nhiệt độ  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  trong 7 ngày. Dịch nuôi cấy được ly tâm với tốc độ 10.000 vòng/phút trong 10 phút ở  $4^\circ\text{C}$ , loại bỏ tế bào. Dịch nổi được lọc qua màng lọc 0,2  $\mu\text{m}$ , thu dịch nổi không có tế bào (CFS\_Cell Free Supernatant) để sử dụng cho việc kháng nấm *C. truncatum* M2 (Jacob và cs., 2017).

### 2.2.4. Xác định ngưỡng gây bệnh của nấm *C. truncatum* M2 bằng lây bệnh nhân tạo trong phòng thí nghiệm

Thu bào tử của nấm *C. truncatum* M2 sau 7 ngày nuôi cấy trên môi trường PDA ở  $28^\circ\text{C}$  vào ống Eppendorf. Điều chỉnh nồng

độ bào tử để đạt các nồng độ: 0 bào tử/mL (ĐC),  $10^3$  bào tử/mL (CT1),  $10^4$  bào tử/mL (CT2),  $10^5$  bào tử/mL (CT3) và  $10^6$  bào tử/mL (CT4) bằng buồng đếm hồng cầu.

Phương pháp lây bệnh nhân tạo được tiến hành như sau: cố định mẫu và tạo vết thương trên quả đu đủ bằng kim vô trùng với đường kính rộng 1 mm, sâu 2 mm. Dùng pipetman hút 10  $\mu\text{L}$  huyền phù bào tử cho vào mỗi vết thương theo từng công thức thí nghiệm. Mỗi quả lây 3 vết, đồng đều ở tất cả các quả. Mẫu đu đủ lây bệnh được ủ ở nhiệt độ  $28^\circ\text{C}$ . Sau 1 - 2 ngày khi vết bệnh bắt đầu hình thành, đo đường kính các vết bệnh (mm) (Xiangchun và cs., 2012).

Thí nghiệm đơn yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 công thức (CT) ứng với 1 công thức đối chứng (ĐC) và 4 công thức có xử lý nồng độ bào tử nấm *C. truncatum* M2, các công thức được thực hiện lây bệnh nhân tạo trên quả đu đủ lành bệnh và mỗi công thức lặp lại 3 lần, mỗi lần thực hiện trên 3 quả.

Chi tiêu theo dõi: Tốc độ phát triển và đường kính các vết bệnh (mm)

### 2.2.5. Đánh giá khả năng kháng nấm *C. truncatum* M2 bằng dịch nuôi cấy (CFS) của *Streptomyces* sp. ở điều kiện *in vitro*

Thí nghiệm đơn yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 8 công thức (CT) ứng với 3 công thức đối chứng và 5 công thức xử lý nồng độ dịch nuôi cấy (CFS) của *Streptomyces* sp., các công thức thí nghiệm được tiến hành trên đĩa Petri  $\Phi 9$  và mỗi công thức lặp lại 3 lần, 1 lần 3 đĩa Petri.

Các công thức thí nghiệm theo nồng độ CFS sau: 10% (CT1), 20% (CT2), 30% (CT3), 40% (CT4) và 50% (CT5). Đối với mẫu đối chứng (ĐC), thí nghiệm bố trí 2 công thức là đối chứng dương: erythromycin (nồng độ 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) có tác dụng kháng vi khuẩn, nystatin (nồng độ 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) có tác dụng

kháng nấm và 1 công thức là đối chứng âm: nước cất (0%) (Vineetha và cs., 2023).

Hút CFS đã chuẩn bị vào môi trường PDA để đạt được các nồng độ cần khảo sát. Cho 18 mL môi trường lần lượt vào các đĩa Petri Ø9. Từ khuẩn lạc nấm *C. truncatum* M2 đã nuôi sau 7 ngày, cắt tản nấm có kích thước 2 x 2 mm đặt lên tâm các đĩa môi trường đã chuẩn bị sẵn. Ủ ở nhiệt độ 28°C, sau 3 ngày bắt đầu theo dõi hình thái tản nấm và đo đường kính tản nấm (mm) ở từng công thức thí nghiệm (Al - Hetar và cs., 2011).

Hiệu lực ức chế được tính theo tỷ lệ phần trăm (%) ức chế tốc độ phát triển của đường kính tản nấm, PIRG (%) (Percentage Inhibition of Radial Growth).

$$PIRG = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100$$

Trong đó:

R<sub>1</sub>: Đường kính tản nấm ở công thức đối chứng (mm).

R<sub>2</sub>: Đường kính tản nấm ở công thức thí nghiệm (mm).

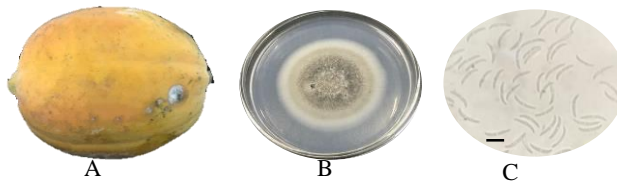
### 2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần, số liệu được xử lý theo phương sai một nhân tố ANOVA để đánh giá sự khác biệt giữa chúng bằng thử nghiệm Duncan trên phần mềm SPSS 20.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Kết quả phân lập, tuyển chọn và định danh nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên đu đủ

Kết quả phân lập nấm bệnh trên quả đu đủ thu được 4 chủng nấm khác nhau (T1, T2, M1 và M2). Các chủng này được quan sát đại thể và vi thể, so sánh với đặc điểm của chi nấm *Colletotrichum* sp. theo mô tả của Sutton (1980), Vũ Triệu Mân (2007) và Burgess và cs. (2008). Kết quả cho thấy mẫu M2 (Hình 1) có những đặc điểm tương đồng với chi *Colletotrichum* sp., các khuẩn lạc nấm trên đĩa PDA ban đầu có màu trắng nhưng chuyển dần sang màu xám đến xám nhạt với sợi nấm khí sinh màu trắng mỏng, bào tử xuất hiện thưa thớt trên bề mặt. Bào tử nấm M2 có hình lưỡi liềm, không có vách ngăn, có giọt dầu ở giữa tâm bào tử.



**Hình 1.** Hình ảnh đại thể và vi thể của nấm M2

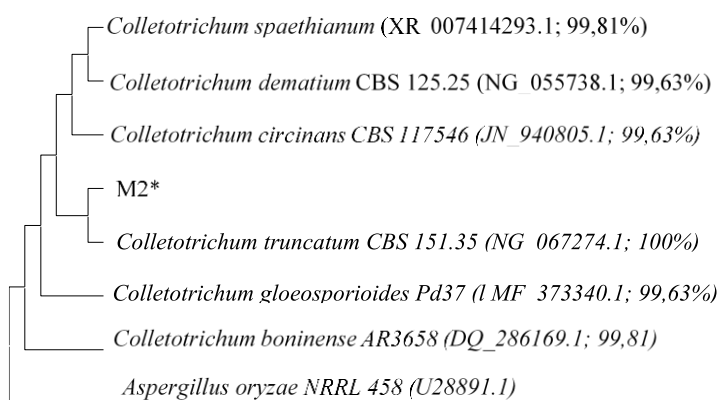
(A) Mẫu đu đủ có vết bệnh điển hình; (B) Tản nấm M2 trên môi trường 1/2 PDA; (C) Bào tử (kích thước chuẩn, thanh ngang = 10 μm)

Do đó, nấm M2 được lựa chọn để định danh ở cấp độ loài dựa trên trình tự gen 28S rRNA ở công ty sinh hóa Phù Sa (Cần Thơ). Cặp mồi đặc hiệu (primer) được sử dụng cho phản ứng PCR có trình tự NL1 (5'- GCA TAT CAA TAA GCG GAG GAA AAG - 3') và NL4 (5'- GGT CCG TGT TTC AAG ACG G - 3'). Kết quả giải trình tự thu được đoạn gene có kích thước

536 bp. So sánh trình tự này với Ngân hàng gen (Standard database/Nucleotide collection) bằng công cụ BLASTn cho thấy trình tự gen của chủng M2 tương đồng 100% với nấm *C. truncatum* CBS 151.35. Để khẳng định đến mức độ loài của chủng M2, cây phát sinh loài (Hình 2) đã được xây dựng dựa trên trình tự của chủng M2 và các chủng tham chiếu khác.

Cây phát sinh loài chỉ ra nấm M2 có quan hệ gần gũi nhất với chủng *C. truncatum* CBS 151.35. Bào tử chủng này có bào tử hình lưỡi liềm. Ngoài ra, chủng *C. demantium*, *C. speathianum* và *C. circinans* cũng có bào tử hình lưỡi liềm, hình thuyền hoặc hình trụ (Sutton, 1980) nhưng mức độ tương đồng thấp hơn so với *C. truncatum* CBS 151.35 và hầu như chưa được ghi nhận gây bệnh thán thư trên quả đu đủ sau thu hoạch (Aktaruzzaman và cs., 2018; Santos

và cs., 2022). Chủng *C. gloeosporioides* và *C. boninense* có bào tử dạng thẳng cùn ở đầu, hình trụ (Sutton, 1980), do đó, chắc chắn nấm M2 không phải là 2 chủng này. Như vậy, kết hợp với kết quả đánh giá mức độ tương đồng dựa trên trình tự gene, cây phát sinh loài và hình thái, chúng tôi kết luận nấm M2 đã phân lập thuộc *C. truncatum* và ký hiệu là *C. truncatum* M2.



**Hình 2.** Cây phát sinh loài của chủng M2

Mã số truy cập và mức độ tương đồng của các chủng tham chiếu được đặt trong dấu ngoặc đơn

### 3.2. Kết quả xác định ngưỡng gây bệnh của nấm *C. truncatum* M2 bằng lây bệnh nhân tạo trong phòng thí nghiệm

Bảng 1 thể hiện kết quả xác định ngưỡng gây bệnh của nấm *C. truncatum* M2 trên quả đu đủ ở các nồng độ khác nhau.

**Bảng 1.** Sự phát triển của đường kính (mm) vết bệnh trên đu đủ ở các mức bào tử khác nhau

Công thức	Nồng độ (bào tử/mL)	Đường kính vết bệnh (mm)		
		3 ngày	5 ngày	7 ngày
ĐC	0	0,00±0,00 <sup>dA</sup>	0,00±0,00 <sup>eA</sup>	0,00±0,00 <sup>eA</sup>
I	10 <sup>3</sup>	1,73 ± 0,40 <sup>cC</sup>	3,66 ± 0,56 <sup>dB</sup>	6,43 ± 0,81 <sup>dA</sup>
II	10 <sup>4</sup>	2,20 ± 0,45 <sup>cC</sup>	6,13 ± 0,25 <sup>cB</sup>	10,86 ± 0,41 <sup>cA</sup>
III	10 <sup>5</sup>	5,33 ± 0,75 <sup>bC</sup>	7,66 ± 0,47 <sup>bB</sup>	13,63 ± 0,92 <sup>bA</sup>
IV	10 <sup>6</sup>	7,30 ± 0,20 <sup>aC</sup>	10,70 ± 0,24 <sup>aB</sup>	21,67 ± 0,31 <sup>aA</sup>

Các giá trị trung bình đường kính vết bệnh của từng nồng độ bào tử ở các thời gian khảo sát khác nhau có cùng chữ cái in hoa (theo hàng) là không sai khác có ý nghĩa thống kê ( $p \leq 0,05$ ). Các giá trị trung bình đường kính vết bệnh của các nồng độ bào tử ở từng ngày khảo sát có cùng chữ cái in thường (theo cột) là không sai khác có ý nghĩa thống kê ( $p \leq 0,05$ ).

Bảng 1 cho thấy đường kính và mức độ phát triển bệnh tăng dần theo nồng độ bào tử gây bệnh và thời gian lây bệnh. Kết quả xử lý thống kê cho thấy có sự khác nhau về đường kính vết bệnh ở các công thức

theo các nồng độ gây bệnh (theo cột) và theo ngày nuôi cấy (theo hàng). Công thức IV với mức 10<sup>6</sup> bào tử/mL có khả năng gây bệnh trên quả đu đủ lớn nhất so với các công thức khác (7,30 mm ở 3 ngày). Mức độ phát

triển mạnh của nấm ở nồng độ  $10^6$  bào tử/mL vẫn được tiếp tục thể hiện ở những ngày tiếp theo, đạt 21,67 mm sau 7 ngày (CTIV). Nếu ngưỡng gây bệnh ở nồng độ thấp thì khả năng gây bệnh yếu, vết bệnh không rõ ràng, nếu ngưỡng gây bệnh quá cao thì tốc độ gây bệnh lan nhanh, quả dễ hư hỏng nên sẽ khó xác định các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng kháng nấm của các tác nhân kiểm soát bệnh khi thực hiện các thí nghiệm ở điều kiện *in vivo*. Như vậy, với kết quả như trên, chọn ngưỡng gây bệnh ở nồng độ  $10^6$  bào tử/mL để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo. Kết quả này cũng tương đồng với

Torres – Calzada và cs. (2018) khi nghiên cứu về đặc điểm gây bệnh của *C. truncatum* trên đu đủ, hạt tiêu và hạt dẻ. Ngưỡng gây bệnh nhân tạo đã được xác định là  $10^6$  bào tử/mL với đường kính vết bệnh trên đu đủ sau 7 ngày là 21,14 mm.

**3.3. Kết quả tuyển chọn, sàng lọc chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. có khả năng kháng nấm *C. truncatum* M2**

Kết quả sàng lọc sơ bộ khả năng kháng nấm *C. truncatum* M2 của 56 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* spp. được được thể hiện ở Bảng 2.

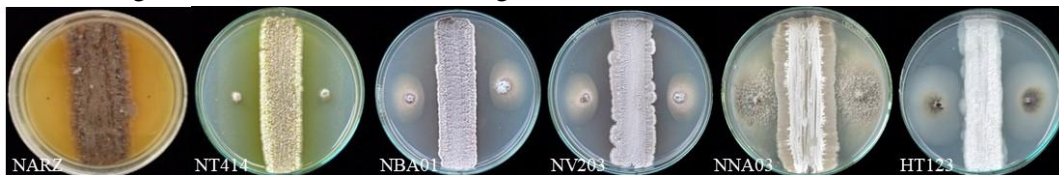
**Bảng 2.** Kết quả sàng lọc sơ bộ khả năng kháng nấm *C. truncatum* M2 của các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* spp. đã phân lập

STT	Xạ khuẩn	CM2	STT	Xạ khuẩn	CM2	STT	Xạ khuẩn	CM2	STT	Xạ khuẩn	CM2
1	N2R3	++	15	N2R4	+	29	G125105	+	43	ND212	-
2	N4R1	++	16	HTD03	+	30	HT125	+	44	NN201	-
3	NARZ	++	17	NBY05	+	31	N4B5	+	45	NN203	-
4	ND203	++	18	NBA05	+	32	HC6	+	46	NN401	-
5	ND401	++	19	N2B1	+	33	NV406	+	47	NNA03	-
6	NT414	++	20	NV203	+	34	HDM01	+	48	NNA04	-
7	NTY03	++	21	NV204	+	35	NBA03	+	49	NNY01	-
8	NTA03	+	22	HN111	+	36	H12	-	50	NNY02	-
9	NBY08	+	23	NBY01	+	37	HN211	-	51	NNY03	-
10	NT415	+	24	NVA01	+	38	HT123	-	52	NNY08	-
11	NV404	+	25	NYD01	+	39	ISP5069	-	53	NT201	-
12	HC111	+	26	HDM122	+	40	NB201	-	54	NT403	-
13	NNA08	+	27	HDM32	+	41	NBY03	-	55	NT413	-
14	NBA01	+	28	NTA01	+	42	NBA02	-	56	NTY04	-

Kháng mạnh (++); kháng yếu (+); không kháng (-)

Kết quả đối kháng đại diện của một số chủng xạ khuẩn *Streptomyces* spp. thuộc nhóm kháng mạnh (2 hình bên trái), kháng

yếu (2 hình giữa) và không kháng (2 hình bên phải) thể hiện ở Hình 3.



**Hình 3.** Hình ảnh kháng nấm *C. truncatum* M2 của một số chủng *Streptomyces* spp. đại diện

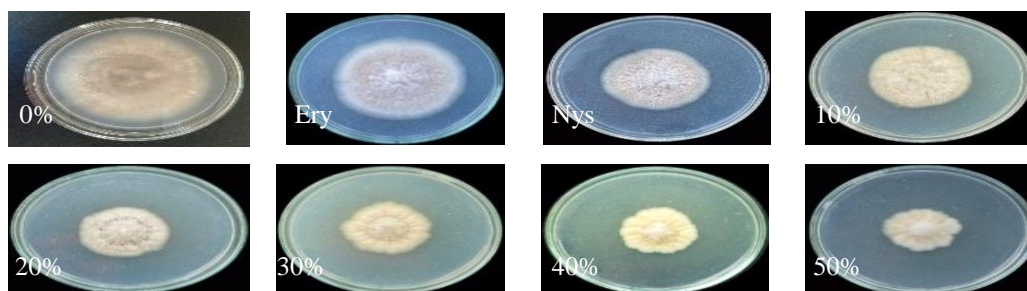
Bảng 2 cho thấy, trong 56 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* spp. có 7 chủng có tính kháng mạnh (++) , 28 chủng thể hiện tính kháng yếu (+) và 21 chủng không thể hiện tính kháng (-) đối với nấm *C. truncatum* M2.

7 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* spp. có khả năng kháng mạnh bao gồm N2R3, N4R1, NARZ, ND203, ND401, NT414, NTY03. Trong đó, chủng NARZ thể hiện tính kháng nấm tốt nhất, có khả năng ức chế hoàn toàn sự phát triển của nấm *C. truncatum* M2, đường kính tản nấm không phát triển sau 7 ngày nuôi cấy, tản nấm khô và teo lại (Hình 3). Trong khi đó, trên các đĩa của các chủng có khả năng kháng mạnh khác, nấm *C. truncatum* M2 vẫn còn phát triển mặc dù rất yếu (Hình 3, chủng NT414). Do đó, chủng NARZ được chọn để đánh giá đặc tính kháng nấm *C. truncatum* M2. Chủng này đã được định danh trong

nghiên cứu trước của chúng tôi, có tên là *Streptomyces murinus* NARZ (Nguyễn Thị Thủy Tiên và cs., 2022).

### 3.4. Kết quả đánh giá khả năng kháng nấm *C. truncatum* M2 gây bệnh trên đu đủ bằng CFS của *S. murinus* NARZ ở điều kiện invitro

Sau 7 ngày nuôi cấy, hình thái và đường kính của tản nấm có sự khác biệt và giảm dần theo chiều tăng dần của nồng độ CFS (Hình 4). Nồng độ CFS càng cao, kích thước đường kính tản nấm càng nhỏ. Ở công thức đối chứng bằng nước cất và erythromycin, tản nấm có màu xám nhạt, sợi nấm mọc lan rộng ra về phía rìa của đĩa Petri. Ở các công thức có nồng độ CFS từ 10 đến 50%, tản nấm có màu trắng đến xám nhạt, sợi nấm ngắn, dày và khuẩn lạc mọc co lại. Điều này chứng tỏ rằng CFS chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ có khả năng ức chế sự phát triển của nấm *C. truncatum* M2.



**Hình 4.** Ảnh hưởng của nồng độ CFS từ *S. murinus* NARZ đến sự sinh trưởng và phát triển của nấm *C. truncatum* M2 sau 7 ngày nuôi cấy  
Ery: Erythromycin; Nys: Nystatin



**Bảng 3.** Ảnh hưởng nồng độ CFS từ *S. murinus* NARZ đến đường kính tán nấm *C. truncatum* M2

Nồng độ CFS của <i>S. murinus</i> NARZ (%)	Thời gian theo dõi (ngày)			PIRG (sau 7 ngày, %)
	3	5	7	
0	19,43 ± 0,55 <sup>aC</sup>	35,73 ± 0,71 <sup>aB</sup>	58,83 ± 0,30 <sup>aA</sup>	0,00 <sup>h</sup>
<i>Erythromycin</i>	17,53 ± 0,35 <sup>bC</sup>	34,93 ± 0,25 <sup>aB</sup>	50,76 ± 0,25 <sup>bA</sup>	13,72 <sup>g</sup>
<i>Nystatin</i>	17,05 ± 0,25 <sup>bC</sup>	27,20 ± 0,26 <sup>bB</sup>	38,87 ± 0,32 <sup>dA</sup>	33,93 <sup>e</sup>
10	16,76 ± 0,51 <sup>bC</sup>	26,76 ± 0,30 <sup>bB</sup>	42,30 ± 0,75 <sup>cA</sup>	28,10 <sup>f</sup>
20	14,50 ± 0,27 <sup>cC</sup>	23,46 ± 0,76 <sup>cB</sup>	36,96 ± 0,50 <sup>eA</sup>	37,17 <sup>d</sup>
30	13,40 ± 0,43 <sup>dC</sup>	22,63 ± 0,80 <sup>cB</sup>	33,06 ± 0,15 <sup>fA</sup>	43,80 <sup>c</sup>
40	11,63 ± 0,70 <sup>eC</sup>	20,40 ± 0,79 <sup>dB</sup>	30,86 ± 0,45 <sup>gA</sup>	47,54 <sup>b</sup>
50	9,36 ± 0,55 <sup>fC</sup>	17,90 ± 0,80 <sup>eB</sup>	25,46 ± 0,35 <sup>hA</sup>	56,72 <sup>a</sup>

Các giá trị trung bình đường kính khuẩn lạc nấm *C. truncatum* M2 ở các thời gian khảo sát khác nhau có cùng chữ cái in thường (theo hàng) là không sai khác có ý nghĩa thống kê ( $p \leq 0,05$ ). Các giá trị trung bình đường kính khuẩn lạc ở các nồng độ CFS của *S. murinus* NARZ ở từng ngày khảo sát có cùng chữ cái in hoa (theo cột) là không sai khác có ý nghĩa thống kê ( $p \leq 0,05$ ).

Theo thời gian nuôi cấy (3, 5 và 7 ngày), đường kính tán nấm ở các công thức đều tăng dần, tuy nhiên tốc độ tăng là không đồng đều. Cụ thể, ở công thức đối chứng nước cất (0%), đường kính tán nấm tăng rất lớn, từ 19,43 mm đến 58,83 mm. Tiếp đó là đối chứng erythromycin với đường kính tán nấm tăng từ 17,53 mm đến 50,76 mm. Trong 3 mẫu đối chứng, nystatin là đối chứng có đường kính tán nấm tăng lên ít nhất từ 17,05 mm đến 38,87 mm. Đối với công thức có bổ sung CFS của xạ khuẩn *S. murinus* NARZ, đường kính tán nấm có tăng nhưng tăng chậm hơn so với các mẫu đối chứng nước cất và erythromycin. Điển hình như ở nồng độ 20%, đường kính tán nấm từ 14,50 mm lên đến 36,96 mm sau 7 ngày nuôi cấy, trong khi ở nồng độ 30% đường kính tán nấm tăng ít hơn từ 13,40 mm đến 33,06 mm. Đáng chú ý, ở nồng độ 50% thì đường kính tán nấm tăng ít nhất, từ 9,36 mm ở ngày thứ 3 lên 25,46 mm ở ngày thứ 7.

Khả năng kháng nấm *C. truncatum* M2 còn thể hiện rõ qua hiệu lực ức chế sau 7 ngày nuôi cấy (Bảng 3). Kết quả xử lý thống kê cho thấy, hiệu lực ức chế khi bổ sung CFS của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ ở các nồng độ khác nhau có sự sai khác. Nồng độ CFS ở 50% có hiệu lực ức

chế nấm *C. truncatum* M2 tốt nhất, đạt 56,72%. Trong các công thức đối chứng thì nystatin có hiệu lực ức chế nấm *C. truncatum* M2 tốt hơn so với nước cất (0%) và erythromycin. Điều này có thể lý giải do kháng sinh nystatin có hiệu quả kháng nấm trong khi erythromycin có hiệu quả kháng vi khuẩn (Vineetha và cs., 2023). Mặc dù nystatin là đối chứng có hiệu lực ức chế nấm *C. truncatum* M2 tốt hơn khi so sánh với công thức bổ sung nồng độ CFS của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ ở 10% (33,93% so với 28,10%) nhưng lại thấp hơn rất nhiều so với các công thức có bổ sung CFS của *S. murinus* NARZ với nồng độ từ 20 % đến 50%.

Công bố của Martinez và cs. (2020) đã chứng minh chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. ký hiệu CACIS-1.5CA tương tự như chủng thương mại *Streptomyces lydicus* WYEC 108 có khả năng đối kháng và ức chế rộng rãi đối với các loại nấm gây bệnh thực vật ảnh hưởng đến trái cây (nhò, xoài, cà chua, ớt habanero, đu đủ, cam ngọt và chuối) trong giai đoạn sau thu hoạch bao gồm *Colletotrichum* sp., *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Botrytis* sp., *Rhizoctonia* sp. và *Rhizopus* sp.. Mười bốn hợp chất hóa học từ dịch chiết của chủng *Streptomyces* sp. ký

hiệu H3-2 chủ yếu là các hợp chất phenolic thể hiện cao hoạt tính kháng nấm *Fusarium*

Trong nghiên cứu của Ge và cs. (2023), chủng xạ khuẩn *S. murinus* JKTJ-3 thể hiện khả năng kháng nấm *Pythium aphanidermatum* gây bệnh thối gốc trên cây dưa hấu. Kết quả phân tích thành phần chuyển hóa thứ cấp chất chiết từ môi trường nuôi cấy của chủng *S. murinus* JKTJ-3 cho thấy sự hiện diện của  $\beta$ -1,3-glucanase, chitinase và chất kháng sinh actinomycin D, là những thành phần góp phần vào khả năng kiểm soát sinh học bệnh thối gốc trên dưa hấu. Nghiên cứu của Vineetha và cs. (2023) đã phát hiện dịch nuôi cấy thô của chủng xạ khuẩn *S. murinus* THV12 có nguồn gốc từ rừng nước mặn cho hoạt tính kháng khuẩn đối với vi khuẩn Gram dương và *Candida albicans*. Dịch nuôi cấy của chủng này có chứa các hợp chất như actinomycin D và pentamycin. Dựa trên cơ sở đó, với cùng một loài *S. murinus*, chúng tôi cho rằng khả năng kháng nấm *C. truncatum* M2 của chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ có cơ chế tương tự với hoạt tính kháng nấm của các chủng *S. murinus* JKTJ-3 và *S. murinus* THV12.

#### 4. KẾT LUẬN

Kết quả phân lập và định danh đã xác định được nấm gây bệnh thán thư trên quả đu đủ sau thu hoạch ở Thừa Thiên Huế là loài *C. truncatum*, ký hiệu *C. truncatum* M2. Trong số 56 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* spp. sử dụng để sàng lọc tính kháng nấm, chủng *S. murinus* NARZ thể hiện khả năng kháng nấm *C. truncatum* M2 gây bệnh thán thư trên quả đu đủ tốt nhất, ức chế hoàn toàn sự phát triển của nấm. Ngưỡng gây bệnh thích hợp trong điều kiện lây bệnh nhân tạo ở phòng thí nghiệm của nấm *C. truncatum* M2 trên quả đu đủ là  $10^6$  bào tử/mL. CFS của chủng *S. murinus* NARZ ở nồng độ 50% có hiệu lực ức chế nấm *C. truncatum* M2 tốt nhất (56,72%) so

*oxyspoum* f. sp. *cubense* (Foc TR4) gây bệnh héo trên chuối (Zou và cs., 2021).

với các nồng độ khác và đối chứng. Trên cơ sở kết quả đạt được có thể ứng dụng chủng xạ khuẩn *S. murinus* NARZ vào bảo quản quả đu đủ sau thu hoạch.

#### LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ của Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế về điều kiện thực hiện và tài trợ kinh phí nghiên cứu trong khuôn khổ đề tài nghiên cứu mạnh cấp trường, mã số NCM.ĐHNL.2021-04.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

##### 1. Tài liệu tiếng Việt

- Nguyễn Thành Hối. (2000). Kỹ thuật trồng đu đủ. NXB Nông Nghiệp.
- Vũ Triệu Mân. (2007). Giáo trình bệnh cây chuyên khoa. Trường Đại học Nông Nghiệp I Hà Nội.
- Phan Thị Hồng Thảo, Nguyễn Vũ Mai Linh, Nguyễn Văn Hiếu. (2016). Phân lập xạ khuẩn trên cây cam Hàm Yên – Tuyên Quang và đặc điểm sinh học của *Streptomyces angustmyceticus* C12. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, 2, 25-31.
- Nguyễn Thị Thủy Tiên, Nguyễn Hiền Trang, Nguyễn Thy Đan Huyền, Lê Thanh Long. (2022). Đánh giá khả năng kháng nấm *Colletotrichum* gây bệnh thán thư trên quả thanh long bởi các chủng *Streptomyces* sp.. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 20(12), 1591-1598.

##### 2. Tài liệu tiếng nước ngoài

- Abbas, E., Osman, A., & Sitohy, M. (2020). Biochemical control of *Alternaria tenuissima* infecting post-harvest fig fruit by chickpea vicilin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(7), 2889-2897. DOI:10.1002/jsfa.10314
- Abera, A., Lemessa, F., Adunga, G. (2016). Morphological characteristics of *Colletotrichum* species associated with mango (*Mangifera indica* L.) in Southwest Ethiopia. *Food Science and Quality Management*, 48, 106-115.
- Aktaruzzaman, M., Afroz, T., Lee, Y. G., & Kim, B. S. (2018). Post-harvest anthracnose of papaya caused by *Colletotrichum truncatum*

- in Korea. *European journal of Plant Pathology*, 150(1), 259-265.
- Al-Hetar, M.Y., Abidin, M.A.Z., Sariah, M., Wong, M.Y. (2011). Antifungal activity of chitosan against *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. *Journal of Applied Polymer Science*, 120(4), 2434-2439.
- Annegowda, H. V., & Bhat, R. (2016). Composition of Papaya Fruit and Papaya Cultivars. *Nutritional Composition of Fruit Cultivars*, 497-516. DOI: 10.1016/B978-0-12-408117-8.00021-0.
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., & Klenk, H. P. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(1), 1-43. DOI: 10.1128/mmbr.00 019-15
- Bharti, C., Anand, N., & Rajinder, K. G. (2015). Biological control of toxigenic citrus and papaya-rotting fungi by *Streptomyces violascens* MT7 and its extracellular metabolites. *Journal of Basic Microbiology*, 55(12), 1343-1356. DOI: 10.1002/jobm.201500323.
- Burgess, L.W., Knight, T.E., Tesoriero, L., Phan, H.T. (2008). Diagnostic manual for plant diseases in Vietnam. *Australian Centre for International Agricultural Research, ACIAR*, 7(3), 1-10.
- Dezfully, N. K., & Ramanayaka, J. G. (2015). Isolation, Identification and Evaluation of Antimicrobial Activity of *Streptomyces flavogriseus*, strain ACTsK2 from Soil Sample of Kodagu, Karnataka State (India). *Jundishapur journal of microbiology*, 8(2), 1-10.
- Ferreira, E. M. S., Malta, C. M., Bicalho, J. O., & Pimenta, R. S. (2018). A safe method to control the anthracnose in papaya. *Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal*, 40(3). <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452018683>.
- Ge, M., Cai, X., Wang, D., Liang, H., Zhu, J., Li, G., & Shi, X. (2023). Efficacy of *Streptomyces murinus* JKTJ-3 in Suppression of Pythium Damping-Off of Watermelon. *Microorganisms*, 11(6), 1360. DOI: 10.3390/microorganisms11061360.
- Jacob, J., Rajendran, R. U., Priya, S. H., Purushothaman, J., & Saraswathy Amma, D. K. B. N. (2017). Enhanced Antibacterial Metabolite Production through the Application of Statistical Methodologies by a *Streptomyces nogalater* NIIST A30 Isolated from Western Ghats Forest Soil. *PLoS ONE*, 12(4), 1-21.
- Jepsen, T., Jensen, B., & Jørgensen, N. O. G. (2022). Volatiles produced by *Streptomyces* spp. delay rot in apples caused by *Colletotrichum acutatum*. *Current Research in Microbial Sciences*, 3, 100121. DOI: 10.1016/j.crmicr.2022.100121.
- Jose, P. A., Maharshi, A., & Jha, B. (2021). Actinobacteria in natural products research: progress and prospects. *Microbiological Research*, 246, 126708. doi: 10.1016/j.micres.2021.126708
- Kanani, G. S., Katsifas, E. A., Savvides, A. L., & Karagouni, A. D. (2013). *Streptomyces rochei* ACTA1551, an indigenous greek isolate studied as a potential biocontrol agent against *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. *BioMed Research International*, 387230. DOI:10.1155/2013/387230.
- Kim, H. J., Lee, E. J., Park, S. H., Lee, H. A. & Chung, N. (2014). Biological Control of Anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) in Pepper and Cherry Tomato by *Streptomyces* sp. A1022. *Journal of Agricultural Science*, 6(2), 54-62.
- Koichiro, T., Glen, S., & Sudhir, K. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022-3027. DOI: 10.1093/molbev/msab120
- Martinez, Z.E., Erika, A.C., Luis, F.C., & Elida, G.M. (2020). Biocontrol potential of *Streptomyces* sp. CACIS-1.5CA against phytopathogenic fungi causing postharvest fruit. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30(117). doi.org/10.1186/s41938-020-00319-9.
- Martinez, Z. E., Abigail, E. C., Claudia, T. C., Alberto, U. V. (2022). Potential of *Streptomyces* sp. strain AGS-58 in controlling anthracnose-causing *Colletotrichum siamense* from post-harvest mango fruits. *Journal of Plant Pathology*, 104(2), 553-563.
- Piyaboon, O. (2017). Evaluation of crude extract substances from *Streptomyces* spp. for controlling *Colletotrichum gloeosporioides* caused anthracnose of chili. *International Journal of Agricultural Technology*, 13(4), 545-552.
- Santos, V. W. A. D., Silva Veloso, J. S., Silva, A. C. D., Santos N. A. D., Vinson P. D., Lisa A. C., Saraiva. C. M. P. (2022). Elucidating the

- Colletotrichum* spp. diversity responsible for papaya anthracnose in Brazil. *Fungal Biology*, 126(10), 623-630. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2022.08.001>.
- Sutton, B. C. (1980). The Coelomyces. Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. *Commonwealth Mycological Institute: Kew, UK*.
- Torres – Calzada C., Tapia – Tussell R., Higuera – Ciapara I., Huchin – Poot E., Martin – Mex R., Nexticapán – Garcez A. and Perez – Brito D. (2017). Characterization of *Colletotrichum truncatum* from papaya, pepper and physic nut based on phylogeny, morphology and pathogenicity. *Plant Pathology*, 67(4), 821-830.
- Vineetha D., Niladri, S. C., Prinetha, U. P. (2023). Exploration of Natural Product Repository by Combined Genomics and Metabolomics Profiling of Mangrove-Derived *Streptomyces murinus* THV12 Strain. *Fermentation*, 9(6), 576. <https://doi.org/10.3390/fermentation9060576>
- Xiangchun, M., Yanxia, T., Aiyu, Z., Xuemei, H., & Zhaoqi, Z. (2012). Effect of oligochitosan on development of *Colletotrichum musae* in vitro and in situ and its role in protection of banana fruits. *Fruits*, 67(3), 147-155.
- Yun, T. Y., Feng, R. J., Zhou, D. B., Pan, Y. Y., Chen, Y. F., Wang, F., Yin, L. Y., Zhang, Y. D., Xie, Y. H. (2018). Optimization of fermentation conditions through response surface methodology for enhanced antibacterial metabolite production by *Streptomyces* sp. 1-14 from cassava rhizosphere. *PLoS One*, 3(11), 206497. DOI: 10.1371/journal.pone.0206497.
- Zhou Dengbo, Jing, T., Chen, Y., Yun, T., Qi, D., Zang, X., Zhang, M., Wei, Y., Li K., Zhao, Y., Wang, W., & Xie, J. (2022). Biocontrol potential of a newly isolated *Streptomyces* sp. HSL-9B from mangrove forest on postharvest anthracnose of mango fruit caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Food Control*, 135, 108836. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108836>.
- Zou, N., Zhou, D., Chen, Y., Lin, P., Chen, Y., Wang, W., Wang, M. (2021). A Novel Antifungal Actinomycete *Streptomyces* sp. Strain H3-2 Effectively Controls Banana Fusarium Wilt. *Frontiers in microbiology*, 2226(1), 1-10.