

PHÒNG TRỪ NẤM BỆNH BẰNG VI KHUẨN PSEUDOMONAD HUỖNH QUANG (fluorescent pseudomonads)

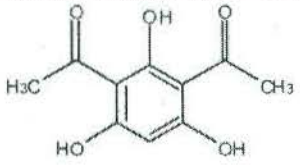
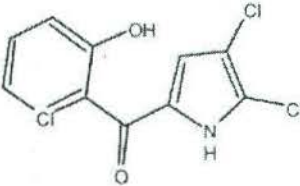
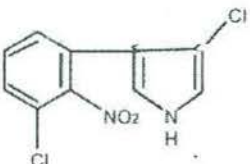
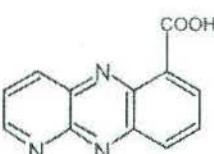
PGs. Ts. CAO NGỌC ĐIẾP

Viện Công nghệ sinh học, Đại học Cần Thơ

Vi khuẩn Pseudomonads là nhóm vi khuẩn cư trú vùng rễ của nhiều loài thực vật, giống (chi) *Pseudomonas* gồm có các loài *Pseudomonas aeruginosa*, *P. aureofaciens*, *P. chlororaphis*, *P. fluorescens* (có 4 loài phụ), *P. putida* (2 loài phụ) và những loài gây bệnh như *P. cichorii* và *P. syringae* và một số lớn các loài không xác định.

Sở dĩ, người ta đặt tên là loài *Pseudomonas fluorescens* ý nghĩa là vi khuẩn Pseudomoad huỳnh quang là vì chúng có khả năng tạo màu huỳnh quang dưới ánh sáng tia cực tím ở bước sóng 254 nm (<http://www.textbookbacteriology.net/Pseudomonas.ect.html>), chúng thuộc nhóm có thành phần G+C biến thiên từ 58 đến 68%; hầu hết chúng là vi khuẩn có ích, thuộc dạng hình que ngắn hay trung bình, hiếu khí, lên men tự nhiên với các nguồn carbon dễ tìm. Ngoài những đặc tính như tổng hợp các acid hữu cơ, kích thích tố tăng trưởng thực vật... vi khuẩn nhóm này có khả năng tổng hợp ra những hợp chất ngăn cản sự phát triển của nấm bệnh tương tự như những chất kháng sinh như phenazines, pyrroles và hợp chất pyo cùng những dẫn xuất từ indole (hợp chất dị vòng chứa N) và acetylphloroglucinols (hợp chất dị vòng không chứa N) thường sử dụng để phòng trừ nấm *Gaeummanomyces graminis tritici* gây nên bệnh quần rễ lúa mì (bảng 1).

Bảng 1. Một số kháng sinh chính được tổng hợp từ vi khuẩn pseudomonad huỳnh quang

Gene	Product	Size (kb)	Antibiotic
<i>phIABCD</i> ²⁸	2,4-Diacetyl phloroglucinol	6.5	
<i>phIFABCDEFG</i> ⁶⁷	Pyoluteorin	6	
<i>prnABCD</i> ⁴⁴	Pyrrrolnitrin	5.8	
<i>phzFABCD</i> ⁵¹	Phenazine	6.8	

Product = sản phẩm, size = kích thước, antibiotic = kháng sinh

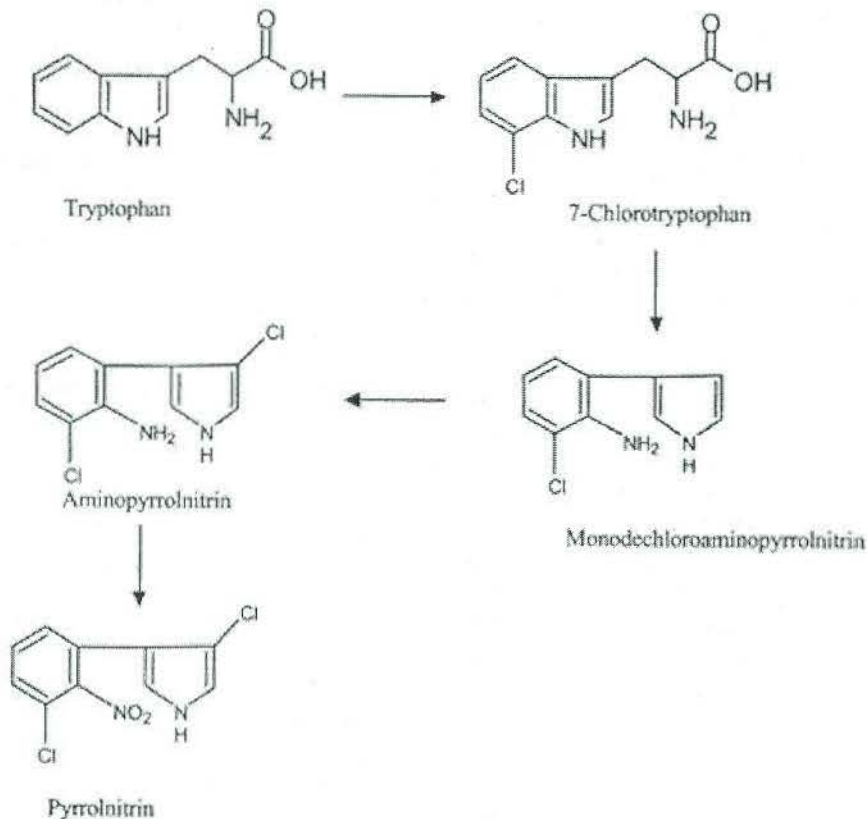
Phl (Phloroglucinol)

Phl là một kháng sinh phổ rộng bao gồm một phân tử phenolic sản xuất từ nhiều loài pseudomonad huỳnh quang và có thể ngăn chặn được sự phát triển của nhiều loài nấm bệnh, vi khuẩn gây hại, các nhóm ký sinh cũng như các độc tố khác (Gaur, 2002; Abbar, 2002; Harrison et al, 1993). Hơn nữa, gốc 2,4-D (bảng 1) còn có khả năng diệt cỏ, Phl là một đa vòng (polyketide) được tổng hợp từ sự đồng hóa của 3 phân tử acetyl-coA và một phân tử malonyl-coA để tạo tiền chất monoacetyl phloroglucinol (MAPG) sau đó chuyển hóa thành diacetyl phloroglucinol (DAPG).

Raaijmaker và Weller (1998) chứng minh các loài vi khuẩn *Pseudomonas* spp. có khả năng tổng hợp ra Phl để chống lại các loài nấm gây hại rễ, *Pseudomonas fluorescens* CHAO chống lại các bệnh rỉ than ở thuốc lá do *Thielaviopsis basicola* gây ra và *Pseudomonas fluorescens* F113 chống lại bệnh thối rễ do củ cải đường do *Pythium ultimum* gây ra. Nguồn carbon và các khoáng vi lượng (Zn^{2+} , Cu^{2+} , Mo^{2+}) ảnh hưởng đến *Pseudomonas fluorescens* sản xuất ra Phl, mặc dù cơ chế hoạt động của DAPG chưa rõ nhưng điều chắc chắn là vi khuẩn pseudomonad huỳnh quang sản xuất Phl để ngăn chặn nấm bệnh có thể hoạt động như một chất tiêu độc thực vật (phytoalexin) và những phân tử tương tự khác. Tổng số có 6 gen điều khiển sự tổng hợp Phl trong đó 5 gen liên kết với nhau và 1 gen độc lập chiếm 6,8 kb trong bộ gen (genome) của vi khuẩn pseudomonad huỳnh quang.

Prn (Pyrrolnitrin)

Pyrrolnitrin [3-chloro-4-2 (2'-nitro-3'-chlorophenyl) pyrrol] là một chất chống nấm phổ biến được sản xuất bởi nhiều vi khuẩn pseudomonad huỳnh quang hay không huỳnh quang (Kirner et al, 1998). Nó được phát hiện và mô tả bởi Arima et al (1964) và có tác động mạnh ở các loài nấm bệnh trên da, đặc biệt là giống (chi) *Trichophyton*. Một dẫn xuất của Prn là phenyl pyrrol được nghiên cứu sản xuất thành thuốc trừ nấm trong nông nghiệp; Pyrrolnitrin tồn tại và tác động trong đất kéo dài ít nhất là 30 ngày, không khuếch tán mà chỉ phóng thích khi vỏ tế bào vỡ ra, đặc biệt là nó chống nấm *Rhizoctonia solani* rất hiệu quả.



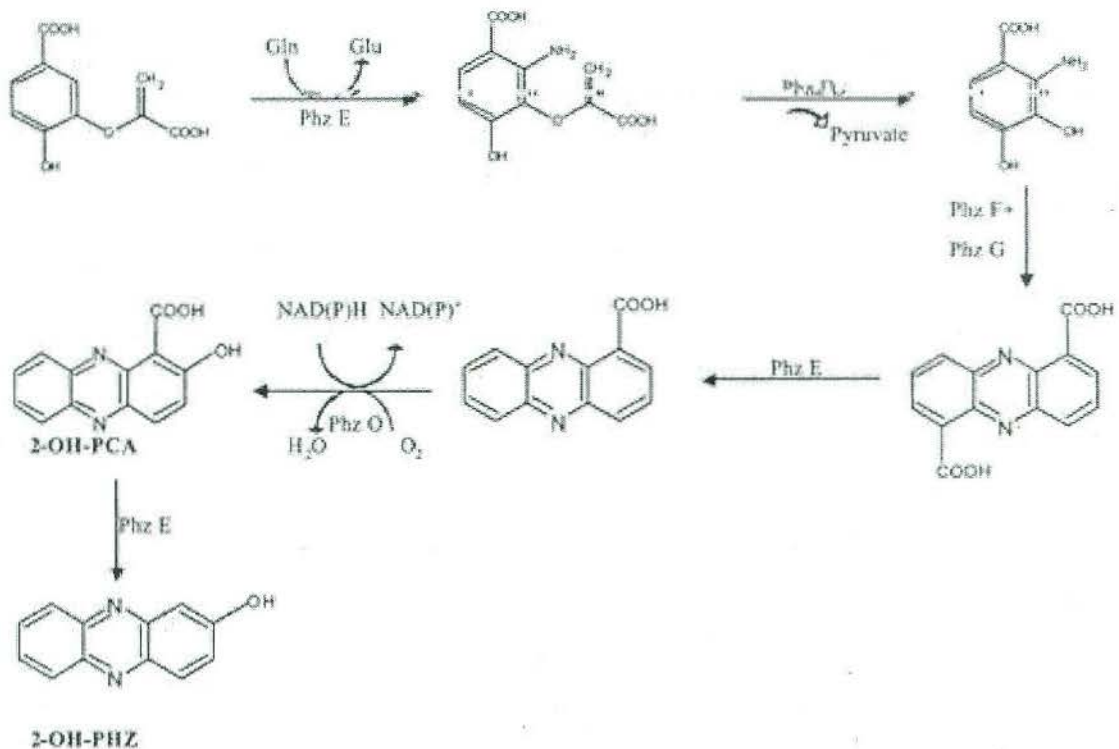
Hình 1. Sơ đồ sinh tổng hợp pyrrolnitrin từ vi khuẩn pseudomonad (Kirner et al, 1998)

NGHIÊN CỨU - TRAO ĐỔI

Pseudomonas fluorescens BL915 chứa 4 nhóm có 4 gen liên quan đến tổng hợp Prn từ tiền chất tryptophan (Chang et al, 1981), nhóm 4 gen được giải mã hoàn toàn *prn* ABCD (ORFs, *prn* A, *prn* B, *prn* C, *prn* D) chiếm 5,8 kb DNA (hình 1).

Phz (Phenarines)

Phz là những sắc tố dị vòng chứa N tổng hợp bởi vi khuẩn *Brevibacterium*, *Burkholderia*, *Pseudomonas* và *Streptomyces* (Budrikiwicz, 1993). Hơn 50 hỗn hợp Phz được mô tả và hợp chất của 10 dẫn xuất Phz khác nhau có thể xuất hiện đồng thời trong một sinh vật (Mavrodi et al, 1998) trong đó điều kiện phát triển, số lượng và loại Phz tổng hợp được tùy thuộc từng chủng nhất định, ví dụ: *Pseudomonas fluorescens* 2-79 sản xuất chủ yếu PCA (phenazine 1-carboxylic acid), *Pseudomonas aureofaciens* 30.84 không chỉ sản xuất PCA mà còn sinh tổng hợp một lượng 2-OH-phenazines (hình 2); loại Phz chính tổng hợp bởi *Pseudomonas aeruginosa* là pyocyanin (1-OH-5-methyl Phz) và chính những chủng này giúp bảo vệ hạt giống lúa mì chống lại nấm *G. graminis tritici*.

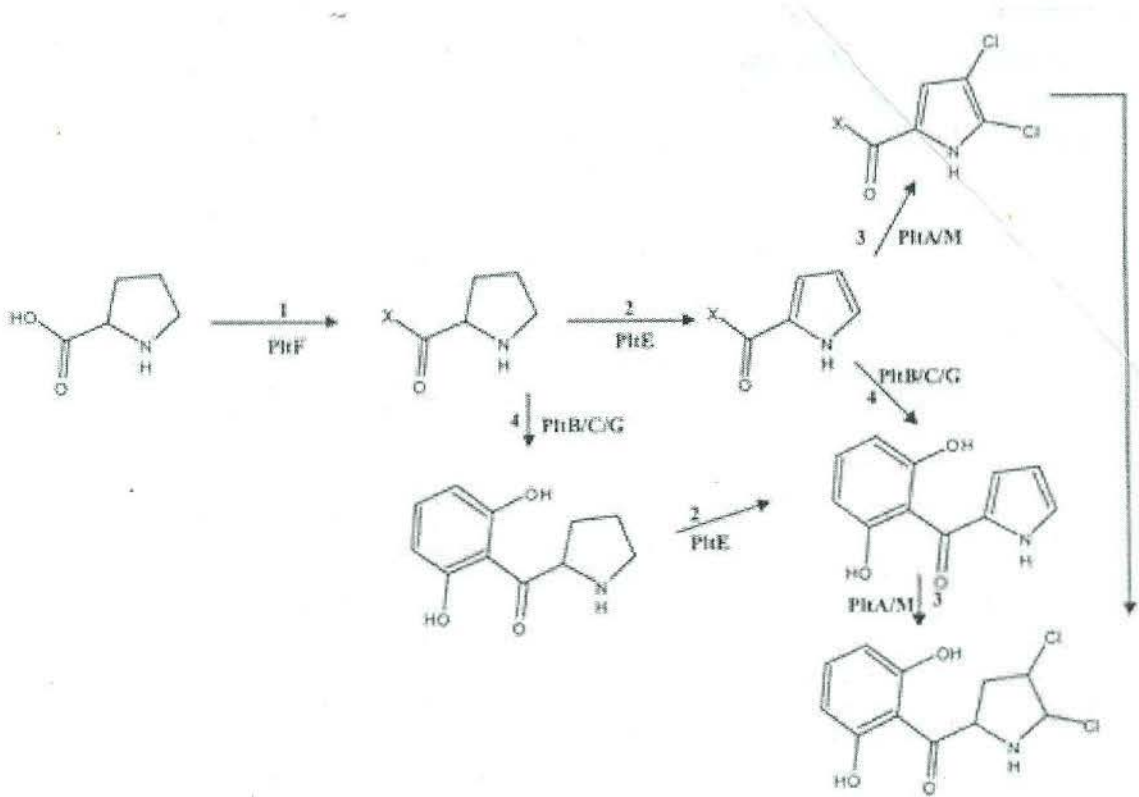


Hình 2. Cơ chế tổng hợp PCA và 2-OH-PHZ

Phân tích cấu trúc và nhiệm vụ của 7 gen, *phz* ABCDEFG liên quan đến tổng hợp PCA, các gen này nằm trong một đoạn có kích thước 6,8 kb trong bộ gen (genome) của *Pseudomonas fluorescens* 2-79 (Mavrodi et al, 1998).

Plt (Pyoluteorin)

Plt là một kháng sinh đa vòng thơm bao gồm một vòng resorcinol được sản xuất từ một số chủng *Pseudomonas* spp. và những chủng ức chế một số nấm bệnh gây ra; Plt chủ yếu ngăn chặn nhóm Nấm trứng (lớp Oomycetes) bao gồm *Pythium ultimum* và khi chủng vào hạt giống, các chủng pseudomonad này sẽ giảm sự thiệt hại do nấm *Pythium* gây ra trên rễ. Plt sinh tổng hợp từ prolin hay một phân tử liên hệ với một loạt 3 phân tử acetat kết nối bằng sự clorin hóa hay oxi hóa với prolin là tiền chất chủ yếu của dichloropyrrol của Plt, sự hình thành và tạo vòng chuỗi carbon sẽ do một hệ enzym gồm nhiều enzym (hình 3).



Hình 3. Lộ trình sinh tổng hợp pyoluteorin; vị trí x biểu thị đồng giá trị gắn prolin vào coA hay adenosin. 1 = enzym Acyl CoA synthetase, 2 = enzym AcylCoA dehydrogenase, 3 = enzym Halogenase, 4 = enzym Polyketide synthetase, 5 = enzym Polyketide synthase (Nowak-Thompson et al, 1999).

Sinh tổng hợp Plt do 10 gen, *plt* ABCDEFG điều khiển, chiếm 24kb trên bộ gen (genome) của *Pseudomonas fluorescens* Pf-5.

Một hệ thống 2-thành phần (two-component system) được tìm thấy có chức năng tổng hợp kháng sinh trong những loài vi khuẩn Gram âm bao gồm vi khuẩn *Pseudomonas* (Meyer et al, 2002), hệ thống này gồm một loại protein xuyên màng (transmembrane protein) với nhiệm vụ như một enzym cảm thụ Gac S kinase và protein Gac A trung gian truyền tín hiệu tới những gen liên quan, Gac S cảm thụ kích hoạt Gac A bằng cách phosphoryl hóa, sau đó Gac A điều khiển sự phiên mã của những gen chính (target genes), tuy nhiên những điều kiện ngoại cảnh bao gồm những yếu tố sinh học và phi sinh học của môi trường tác động đến hệ thống 2- thành phần này để chúng kích hoạt những gen của những vi khuẩn này tổng hợp ra những kháng sinh chống lại nấm ký sinh.

Vi khuẩn pseudomonad huỳnh quang sản xuất những phân tử kháng sinh có phổ rộng để chống lại nhiều loài nấm bệnh khác nhau và chúng được xem như một chất kiểm soát sinh học hữu hiệu.

Trong tương lai, phân sinh học được sản xuất phục vụ cho nông nghiệp sẽ phải có mặt những nhóm vi khuẩn này trong hỗn hợp nhiều nhóm vi sinh vật có ích, tuy nhiên để chúng có thể hòa hợp với những nhóm vi sinh vật khác cần có nhiều việc phải làm để có một kết luận chính xác về sự tương tác giữa chúng với nhau ■

Trích dẫn chủ yếu từ tài liệu:

Deepti Dwivedi và B.N. Johri. 2003. Antifungals from fluorescens pseudomonads: Biosynthesis and regulation. Current Science 85(12): 1693-1703