

<https://doi.org/10.59459/1859-1655/JMM.400>

# HOẠT TÍNH ĐỐI KHÁNG VỚI VI SINH VẬT GÂY BỆNH CHO NGƯỜI CỦA CHỦNG XẠ KHUẨN *Streptomyces* MIP\_GN36 PHÂN LẬP TỪ ĐẤT VÙNG RỄ CÂY GỪNG

Chu Thanh Bình<sup>1\*</sup>

## TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Sàng lọc chủng xạ khuẩn từ đất vùng rễ cây Gừng (*Zingiber officinale*) nhằm tìm kiếm các chất có hoạt tính kháng vi khuẩn, kháng nấm và hoạt tính sinh học tiềm năng, làm cơ sở cho những nghiên cứu tiếp theo.

**Đối tượng và phương pháp:** Thử nghiệm hoạt tính đối kháng của 8 chủng xạ khuẩn (*Streptomyces* MIP\_GN34, GN35, GN36, GN37, GN38, GN39, GN40, GN41) phân lập từ đất vùng rễ cây Gừng (khu vực huyện Khoái Châu, tỉnh Hưng Yên) với 2 chủng vi sinh vật gây bệnh (*Bacillus cereus* ATCC11778 và *Candida albican* ATCC12031) bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch.

**Kết quả:** *Streptomyces* MIP\_GN36 có hoạt tính đối kháng với 2 chủng vi sinh vật gây bệnh *Bacillus cereus* ATCC11778 và *Candida albican* ATCC12031 với đường kính vòng vô khuẩn lần lượt là 13 mm và 10,5 mm ± 2 mm, có khả năng sinh trưởng ở dải nhiệt độ từ 25-50°C, pH 6,5-7,5. Trên môi trường ISP4, khuẩn lạc có màu trắng ngà, bào tử xuất hiện sau 5-7 ngày nuôi cấy. MIP\_GN36 sử dụng các nguồn carbon là tinh bột tan, rỉ đường; nguồn ni tơ là cao nấm men, pepton. Khảo sát các cụm gen liên quan đến quá trình sinh tổng hợp kháng sinh, *Streptomyces* MIP\_GN36 mang gen mã hóa enzyme PKSII. Xác định đặc điểm hình thái kết hợp với trình tự 16S rRNA, MIP\_GN36 có độ tương đồng 99,54% với loài *Streptomyces thermocarboxydus* trên Genbank, do đó được đặt tên là *Streptomyces thermocarboxydus* MIP\_GN36.

**Từ khóa:** Đối kháng, chất kháng sinh, MIP\_GN36, *Streptomyces*.

## ABSTRACT

**Objectives:** Screening actinomycete strains from ginger root zone soil (*Zingiber officinale*) to study for compounds with antibacterial, antifungal and potential biological activities, a basis for further research.

**Subjects and methods:** Testing the antagonistic activity of 8 *Streptomyces* strains (*Streptomyces* MIP\_GN34, GN35, GN36, GN37, GN38, GN39, GN40, GN41) isolated from the soil of the root zone of Ginger trees, Khoai Chau district, Hung Yen province with two strains of pathogenic microorganisms (*Bacillus cereus* ATCC11778 and *Candida albican* ATCC12031) by agar well diffusion method.

**Results:** *Streptomyces* MIP\_GN36 had antagonistic activity against two pathogenic microbial strains *Bacillus cereus* ATCC11778 and *Candida albican* ATCC12031 with the ring of 13 mm and 10.5 mm ± 2 mm, respectively, temperature from 25-50°C, pH 6.5-7.5. On ISP4 medium, colonies are milky white and spores appear after 5-7 days of culture. MIP\_GN36 assimilates carbon sources such as soluble starch and molasses; Nitrogen sources are yeast extract and peptone. Based on classification according to morphological, physiological, combined with the results of 16S rRNA gene sequencing, MIP\_GN36 has 99.54% similarity with *Streptomyces thermocarboxydus* on Genbank, hence named *Streptomyces thermocarboxydus* MIP\_GN36. These results are the basis for future applied research of strain MIP\_GN36.

**Keywords:** Antagonist, antibiotic, MIP\_GN36, *Streptomyces*.

Chịu trách nhiệm nội dung: Chu Thanh Bình, Email: chuthanhbinhvn@gmail.com

Ngày nhận bài: 19/2/2024; mời phản biện khoa học: 3/2024; chấp nhận đăng: 25/3/2024.

<sup>1</sup>Viện Y học dự phòng Quân đội.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tình trạng kháng kháng sinh của các vi khuẩn gây bệnh ảnh hưởng lớn đến sức khỏe cộng đồng.

Mỗi năm, các bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn đa kháng đã cướp đi sinh mạng của nhiều người trên toàn thế giới. Việc tìm kiếm các nguồn kháng sinh

mới luôn được các nhà khoa học quan tâm nghiên cứu. Những tiến bộ gần đây trong khoa học y dược đã thúc đẩy việc khám phá các loại thuốc điều trị hiệu quả từ nguồn vi sinh vật.

Trong số các xạ khuẩn, chi *Streptomyces* có tầm quan trọng đặc biệt vì sản phẩm trao đổi chất của chúng tiềm ẩn nhiều hợp chất mới và các hoạt tính sinh học đa dạng. Mặc dù, gần 2/3 số kháng sinh tự nhiên trên thị trường có nguồn gốc từ *Streptomyces*, nhưng đó chỉ là phần nổi của tảng băng chìm đã được khám phá [1]. Do đó, để chống lại tình trạng kháng thuốc và tìm kiếm nguồn kháng sinh mới, giới khoa học cần nghiên cứu, sàng lọc các chủng thuộc chi *Streptomyces* từ những nguồn tài nguyên chưa được khám phá. Đất vùng rễ cây dược liệu là một trong những mục tiêu hướng tới của các nhà khoa học.

Theo thống kê của Viện Dược liệu, nước ta hiện có trên 5.000 loài cây dược liệu. Gừng (*Zingiber officinale*) là loại cây dược liệu cổ truyền có củ (vị cay) phát triển từ thân rễ trong đất. Vùng rễ cây Gừng tiết ra một số chất như  $\beta$ -zingiberen; lượng nhỏ các hợp chất alcon... nên hệ vi sinh vật ở đất vùng rễ có vai trò quan trọng trong quá trình sinh trưởng của cây.

Trên cơ sở đó, chúng tôi nghiên cứu khai thác nguồn xạ khuẩn từ đất vùng rễ cây Gừng nhằm tìm kiếm các chất có hoạt tính kháng vi khuẩn, kháng nấm và các chất có hoạt tính sinh học tiềm năng là cơ sở cho những nghiên cứu tiếp theo.

## 2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Chủng giống vi sinh vật: 8 chủng xạ khuẩn, gồm *Streptomyces* MIP\_GN34, GN35, GN36, GN37, GN38, GN39, GN40, GN41 phân lập từ đất vùng rễ cây Gừng, khu vực huyện Khoái Châu, tỉnh Hưng Yên.

- Chủng vi khuẩn và vi nấm kiểm định: *Bacillus cereus* ATCC11778; *Candida albican* ATCC12031.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Xác định hoạt tính đối kháng với vi khuẩn và vi nấm gây bệnh cho người: phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch [2], [3].

+ Cây trải 50  $\mu$ L dịch nuôi cấy *B. cereus* trên môi trường thạch BHI (Oxoid) và *C. albican* trên môi trường SDA (Merck) (OD ở bước sóng 600 nm = 0,8).

+ Các chủng xạ khuẩn được nuôi cấy trên môi trường ISP4 dịch thể (g/l) tinh bột tan 5; cao nấm men 2; NaCl 1. Dung dịch M  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (0,64%);

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,11%);  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (0,79%);  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,15%), nước cất 100 ml.

+ Sau 7 ngày nuôi cấy, lắc 200 vòng/phút trên máy lắc ở 37°C - 45°C, li tâm 5.000 vòng/phút loại bỏ sinh khối. Nhỏ 100 $\mu$ L dịch li tâm vào giếng với đường kính 8 mm, ủ ở 30°C, sau 24 giờ quan sát đường kính vòng kháng khuẩn.

+ Hoạt tính kháng khuẩn được tính bằng hiệu số đường kính vòng kháng khuẩn (D) và đường kính giếng thạch (d = 8 mm). Mẫu đối chứng: nhỏ 100  $\mu$ L dung dịch môi trường ISP4.

- Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học của chủng xạ khuẩn tiềm năng: đặc điểm hình thái của chủng xạ khuẩn MIP\_GN36 được xác định dựa trên các đặc điểm nuôi cấy, gồm màu sắc của khuẩn ty; màu sắc của chuỗi bào tử [4]. Quan sát chuỗi bào tử dưới kính hiển vi Zeiss, độ phóng đại 400x sau thời gian nuôi cấy 7 ngày.

- Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng sinh trưởng: chủng xạ khuẩn được nuôi cấy trên môi trường ISP4, tốc độ lắc 200 vòng/phút ở các dải nhiệt độ 25°C, 30°C, 37°C, 45°C và 50°C. Cấy 50  $\mu$ L dịch bào tử chủng xạ khuẩn với OD  $\lambda$  600 nm = 0,6 vào 50 ml môi trường ISP4. Sau thời gian 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ, 120 giờ. Sinh khối hình thành sau thời gian nuôi cấy được tính bằng cách dùng giấy lọc thu sinh khối, sấy khô 50°C trong 5 giờ, cân sinh khối và đánh giá.

- Đánh giá khả năng sử dụng các nguồn cacbon và nitơ: nuôi cấy chủng xạ khuẩn trong bình tam giác có chứa 50 ml môi trường ISP4 có bổ sung lần lượt 1% các nguồn cacbon khác nhau Rỉ đường, Tinh bột tan, Cao Malt và 0,5% các nguồn nitơ Cao nấm men, Pepton,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Khả năng đồng hóa các nguồn cacbon và nitơ được xác định thông qua sinh khối được hình thành sau thời gian nuôi cấy bằng cách dùng giấy lọc thu sinh khối, sấy khô 50°C trong 5 giờ, cân sinh khối và đánh giá.

- Nghiên cứu động thái của quá trình lên men: chủng xạ khuẩn được nuôi cấy lắc trên môi trường ISP4 đã được lựa chọn để xác định động thái của quá trình lên men. Các thông số được nghiên cứu bao gồm sinh khối và hoạt tính đối kháng với chủng *Bacillus cereus*, từ đó, xác định thời điểm thích hợp để thu hồi chất kháng sinh [5].

- Xác định gen mã hóa các enzyme poliketide synthase I, II (PKSI, PKSII) và non ribosom peptide synthetases (NRPS) - bảng bên:

Gen	Tên mỗi	Trình tự (5' - 3')	Độ dài (bp)
PKSI	K1	TSAAGTCSAACATCGGBCA	1100
	M6R	CGCAGGTTSCSGTACCAGTA	
PKSII	IIPF6	TSGCSTGCTTCGAYGCSATC	600-700
	IIPR6	TGGAANCCGCCGAABCCGCT	
NRPS	A3	GCSTACSYSATSTACACSTCSGG	700
	A7R	SASGTCVCCSFTSCGGTAS	

Chủng xạ khuẩn MIP\_GN36 được nuôi cấy trên môi trường ISP4 dịch thể. Sau 96 giờ, tiến hành li tâm 3.000 vòng/phút, trong 10 phút, ở 4°C, thu tế bào. DNA tổng số được tách và các đoạn gen mã hóa cho các enzyme PKS I, II, NRPS được khuếch đại với các cặp mồi đặc hiệu có trình tự như sau: Mồi được tổng hợp bởi Công ty Phù Sa, tỉnh Cần Thơ, Việt Nam. Phản ứng được thực hiện theo chu trình nhiệt: 95°C: 5 phút, 35 chu kỳ (95°C: 30s, 58°C: 30s, 72°C: 4 phút), 72°C: 10 phút. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 0,8% (Invitrogen), xác nhận các gen sinh PKS I, PKS II, NRPS.

- Định danh chủng xạ khuẩn MIP\_GN36 thông qua giải trình tự 16S rRNA: đoạn 16S rRNA được khuếch đại từ DNA tổng số bằng phương pháp PCR sử dụng cặp mồi 27F (mồi xuôi) 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3'; 1492R (mồi ngược) 5'-TACGGYTACCTGTTACGACTT-3' (Phù Sa). Phản ứng được thực hiện theo chu trình nhiệt như sau: 94°C: 5 phút, 25 chu kỳ (94°C: 30s, 55°C: 30s; 72°C: 1 phút). Sản phẩm của phản ứng PCR được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 0,8% (Invitrogen). Kích thước của đoạn DNA thu được sau phản ứng PCR được so sánh với thang DNA chuẩn (10 Kb Plus DNA ladder Marker - Thermo Scientific). Sản phẩm PCR được tinh sạch và giải trình tự tại Apical Scientific Sequencing (Singapore). So sánh trình tự gen tương ứng trên cơ sở dữ liệu Genbank nhờ công cụ BLAST ([www.ncbi.nih.gov](http://www.ncbi.nih.gov)).

- Xử lý số liệu: thu thập, xử lý và vẽ biểu đồ bằng phần mềm GraphPad Prism 9. Kết quả của mỗi thí nghiệm được thể hiện là giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (SD) sau 3 lần lặp lại ngẫu nhiên.

### 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

#### 3.1. Khảo sát khả năng đối kháng vi khuẩn gây bệnh trên người của các chủng xạ khuẩn

8 chủng xạ khuẩn thuộc chi *Streptomyces* phân lập từ đất vùng rễ cây Gừng được sàng lọc khả năng đối kháng với vi khuẩn *B. cereus* và vi nấm *C. albican*, kết quả được trình bày ở bảng 1.

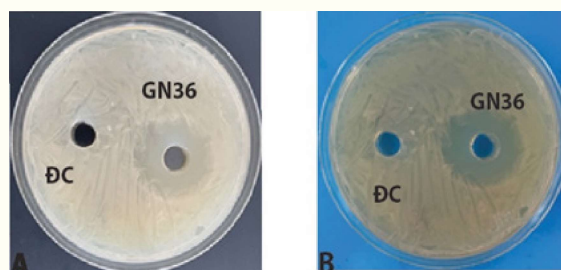
**Bảng 1. Hoạt tính đối kháng với chủng vi sinh vật gây bệnh của các chủng xạ khuẩn**

Kí hiệu chủng	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)	
	<i>B. cereus</i>	<i>C. albican</i>
GN34	4,5 ± 1,2	-
GN35	-	-
GN36	13 ± 2,0	10,5 ± 2,3
GN37	-	-
GN38	-	7,5 ± 1,7
GN39	3,5 ± 2,4	-
GN40	10 ± 1,5	5,5 ± 2,0
GN41	-	-

Ghi chú: (-): không có khả năng đối kháng

Kết quả bảng 1 cho thấy, MIP\_GN36 và MIP\_GN39 có khả năng đối kháng với cả 2 chủng vi sinh vật gây bệnh, tuy nhiên MIP\_GN36 có hoạt tính đối kháng cao hơn MIP\_GN39. Do đó, MIP\_GN36 sẽ được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

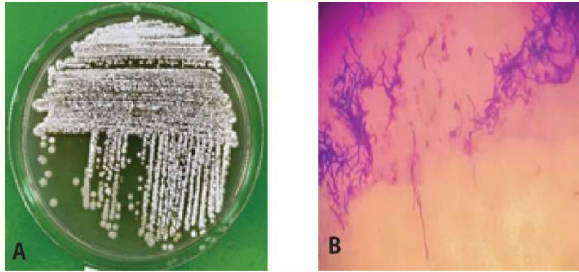
- Hoạt tính đối kháng với *B. Cereus* và *C. Albican* của chủng GN36:



**Hình 1. Hoạt tính đối kháng của chủng GN36.**  
A: đối kháng với *B. Cereus*;  
B: đối kháng *C. Albican*.

### 3.2. Đặc điểm hình thái của chủng xạ khuẩn MIP\_GN36

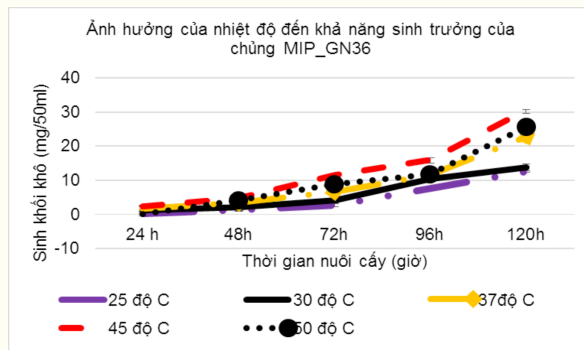
MIP\_GN36 được nuôi cấy trên môi trường ISP4 có khuẩn lạc màu trắng ngà, sau 7 ngày nuôi cấy bào tử xuất hiện và chuyển từ màu trắng ngà sang màu nâu nhạt, bào tử dạng chuỗi, lượn sóng, hệ sợi phân nhánh, khuẩn lạc dạng bột, khô, đường kính khuẩn lạc 3 mm (hình 2).



Hình 2. A: Hình thái khuẩn lạc; B: Hệ sợi của chủng MIP\_GN36.

### 3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng sinh trưởng của chủng

Một trong những yếu tố ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng của chủng vi sinh vật là nhiệt độ. Nhằm sử dụng chủng xạ khuẩn MIP\_GN36 cho lên men sinh tổng hợp chất kháng sinh cũng như tham gia vào các chu trình chuyển hóa vật chất, chúng tôi tiến hành khảo sát nhiệt độ nuôi cấy chủng MIP\_GN36. Kết quả thu được:



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng sinh trưởng của chủng.

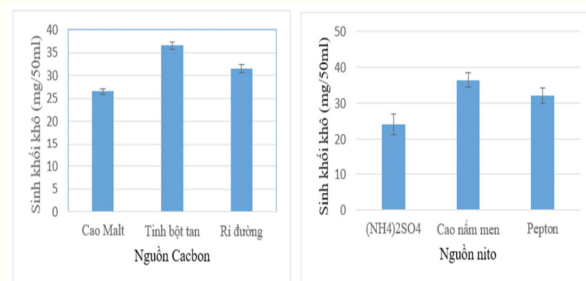
Chủng MIP\_GN36 sinh trưởng tốt ở nhiệt độ 45°C, đường cong sinh trưởng cho thấy, sinh khối sau 96 giờ nuôi cấy đạt 16 mg/50 ml, trong đó, ở 37°C là 11,5 mg/50 ml; 45°C là 15,97 mg/50 ml; 50°C là 11,7 mg/50 ml. Như vậy, 45°C được cho là nhiệt độ tối ưu cho chủng MIP\_GN36 tăng trưởng trong môi trường dịch thể. Từ kết quả nghiên cứu trên cho thấy, chủng MIP\_GN36 ưa nhiệt.

Theo những công bố của Mariana Avalos và cs (2014), chủng *Streptomyces* K-155 có khả năng

sinh trưởng từ 30-50°C, có khả năng đối kháng với các chủng thuộc chi *Bacillus* gây bệnh, đối kháng với chủng nấm men gây bệnh, là chủng ưa nhiệt và được định danh là *S. thermocarboxydus* [6]. Chủng xạ khuẩn KSA-2 được phân lập từ các mẫu trầm tích nước ngọt của sông Kali, Karwar, Karnataka, Ấn Độ, bởi nhóm nghiên cứu Sreenivasa Nayaka và cs (2020) sinh trưởng tốt nhất ở 45°C, có khả năng đối kháng với nấm *Aspergillus sp.* gây bệnh, vi khuẩn *Staphylococcus spp.*, *Bacillus...*, ngoài ra, chủng KSA-2 đối kháng với vi khuẩn gây bệnh đường ruột, như *Shigella*, *Samonella...* KSA-2 là chủng xạ khuẩn ưa mặn, có thể chịu được nồng độ NaCl đến 3%. Các kết quả này cho thấy chủng xạ khuẩn ưa nhiệt có khả năng đối kháng với nhiều vi sinh vật gây bệnh cho người với phổ rộng [7].

### 3.4. Đánh giá khả năng sử dụng các nguồn cacbon và nitơ

Dựa trên các kết quả về phổ nhiệt độ sinh trưởng của chủng MIP\_GN36, nhóm tiếp tục nghiên cứu tối ưu môi trường lên men sinh tổng hợp chất kháng sinh. Hai nguồn dinh dưỡng quan trọng nhất trong sinh trưởng cũng như tạo cấu trúc khung của kháng sinh đó là nguồn cacbon và nguồn nitơ. Nguồn cacbon được lựa chọn cho nghiên cứu là Tinh bột tan, ri đường, cao Malt; nguồn nitơ là cao nấm men, Pepton, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Kết quả (trình bày ở Hình 4) cho thấy, chủng MIP\_GN36 sử dụng các nguồn cacbon đã lựa chọn, trong đó tinh bột tan là nguồn cacbon cho sinh khối cao nhất.



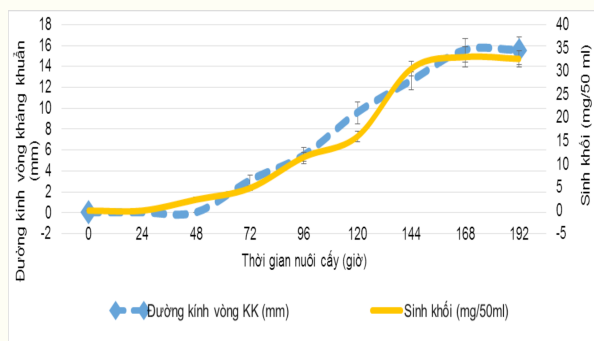
Hình 4. Khả năng sử dụng của các nguồn cacbon và nitơ của chủng MIP\_GN36.

Al-Ansari và cộng sự (2020) đã chứng minh hiệu quả của lựa chọn nguồn cacbon và nitơ khi lên men từ chủng xạ khuẩn *Streptomyces* AS11 phân lập từ môi trường biển thuộc Ả rập Xê Út. Sau khi lựa chọn nguồn cacbon là tinh bột, nguồn nitơ là NaNO<sub>3</sub> cho hoạt tính đối kháng với *Staphylococcus aureus* tăng lên gấp 2 lần so với ban đầu [8]. Nghiên

cứu của Nisha Selvaraj và CS (2023) về lựa chọn nguồn cacbon và nitơ sinh tổng hợp kháng sinh từ chủng xạ khuẩn *Streptomyces* CMSTAAHAL-3 sử dụng phương pháp đáp ứng bề mặt Response Surface Method (RSM), kết quả lựa chọn nguồn cacbon là tinh bột, nguồn nitơ là ure, dịch lên men cho hiệu quả đối kháng với *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* và *Pseudomonas aeruginosa* tăng lên rõ rệt [9]. Nguồn ni tơ rất quan trọng trong quá trình sinh tổng hợp kháng sinh, bởi nó liên quan đến quá trình phiên mã, ở chủng *S. roseosporus*, cao nấm men là nguồn ni tơ thích hợp nhất cho sinh tổng hợp daptomycin, nó mang lại hàm lượng daptomycin là 53,7 mg/L [10]. Với kết quả ở Hình 4, MIP\_GN36 sử dụng nguồn ni tơ là cao nấm men cho sinh khối khô với hàm lượng cao hơn pepton và  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .

### 3.5. Nghiên cứu động thái quá trình lên men

Từ kết quả trên (mục 3.4), môi trường lựa chọn để tiếp tục nghiên cứu, gồm nguồn cacbon là tinh bột tan, nguồn nitơ là cao nấm men. Nhằm đánh giá hoạt tính đối kháng với chủng *B. cereus* và thời gian kết thúc quá trình lên men sinh tổng hợp kháng sinh, thời gian nuôi cấy được tiến hành từ 0-192 giờ (8 ngày). Sau mỗi 24 giờ, lấy mẫu (như mục 2.2) và đánh giá kết quả (hình 5).



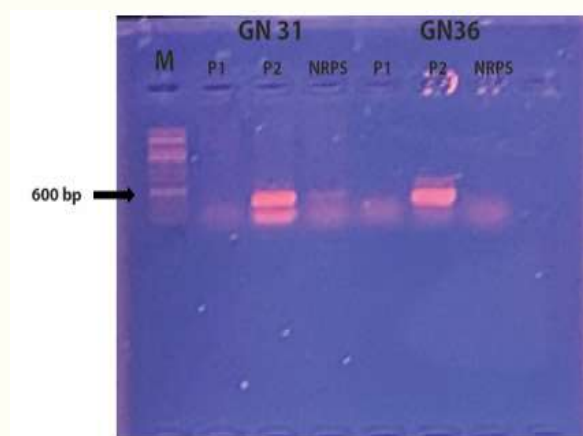
Hình 5. Động thái quá trình lên men của chủng MIP\_GN36.

Hình 5 cho thấy, dịch lên men MIP\_GN36 cho hoạt tính đối kháng tốt nhất ở thời điểm 168 giờ (07 ngày) nuôi cấy đường kính vòng vô khuẩn là 15,533 mm, đồng thời, sinh khối khô thu được khoảng 33 mg/50 ml. Theo Nghiên cứu của Hong-Jin Ni và cs (2021), khi lên men chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. 891 có thời gian là 168 giờ, dịch lên men có khả năng đối kháng cao với *Staphylococcus aureus* kháng methicillin [11]. Như vậy, việc kết thúc thời

gian lên men đối với chủng MIP\_GN36 là 168 giờ nuôi cấy.

### 3.6. Khuếch đại các gen mã hóa enzyme tham gia quá trình sinh tổng hợp chất kháng sinh

Nhằm xác nhận các cụm gen mã hóa enzyme tham gia vào quá trình sinh tổng hợp chất kháng sinh PKS I & PKS II, NRPS, chúng tôi sử dụng các đoạn mỗi đặc hiệu như đã trình bày ở mục 2.2. Kết quả cho thấy, chủng MIP\_GN36 mang gen PKSII với độ dài khoảng 600bp (Hình 6); không mang gen PKS I và NRPS. Như vậy, MIP\_GN36 sẽ được định hướng nghiên cứu những nhóm chất kháng sinh được kiểm soát bởi gen PKSII.



Hình 6. Khuếch đại các gen PKS I, PKS II, NRPS của chủng MIP\_GN36 (P1: PKS I; P2: PKS II; M: marker).

### 3.7. Định danh chủng MIP\_GN36

Với mục tiêu sử dụng chủng MIP\_GN36 là chủng tiềm năng cho sản xuất kháng sinh cũng như các sản phẩm trao đổi chất thứ cấp, chúng tôi tiến hành định danh chủng xạ khuẩn nêu trên bằng giải trình tự 16S rRNA kết hợp với đặc tính sinh lí, sinh hóa, đặc điểm hình thái của chủng. Trình tự 16S rRNA được so sánh với dữ liệu trên Genbank. Từ kết quả giải trình tự kết hợp với khóa phân loại ISP và Bergey [4] cho thấy, chủng MIP\_GN36 có nhiều điểm tương đồng với loài *Streptomyces thermocarboxydus* với hệ số tương đồng 99,54%, do đó, MIP\_GN36 được gọi là *S. thermocarboxydus* MIP\_GN36 (bảng 2).

Kết quả bảng 2 cho thấy, MIP\_GN36 thuộc loài *Streptomyces thermocarboxydus* với độ tương đồng 99,54%, phù hợp với các nghiên cứu về nhiệt độ sinh trưởng của chủng ở mục 3.3.

**Bảng 2. So sánh trình tự gene 16S rRNA của chủng MIP\_GN36 với gene tương ứng của các chủng xạ khuẩn được đăng kí trên GenBank**

Trình tự 16S rRNA của chủng xạ khuẩn được so sánh	Acc No.	Độ tương đồng
<i>Streptomyces thermocarboxydus</i> strain 72	MH910176.1	99,54%
<i>Streptomyces thermocarboxydus</i> strain TY190-18	MT083968.1	99,44%
<i>Streptomyces althioticus</i> strain PD43	KU377723.1	99,35%
<i>Streptomyces chartreusis</i> strain Act26	KT619139.1	99,35%

Theo nghiên cứu của W. Khangkhachit và CS (2021), *S. thermocarboxydus* ME742 có khả năng sinh trưởng ở nhiệt độ từ 20°C đến 55°C, sinh trưởng tốt ở nhiệt độ cao (55°C)[12]. Kim S.B và cs (1998) đã phân lập 2 chủng xạ khuẩn từ đất là AT37 và AT52 đều thuộc chi *Streptomyces* trong đó AT37 thuộc loài *S. thermocarboxydus* có khả năng sinh trưởng ở nhiệt độ 50°C, đối kháng với một số loại vi sinh vật gây bệnh [13].

#### 4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu hoạt tính đối kháng của 8 chủng xạ khuẩn (*Streptomyces* MIP\_GN34, GN35, GN36, GN37, GN38, GN39, GN40, GN41) phân lập từ đất vùng rễ cây Gừng, khu vực huyện Khoái Châu, tỉnh Hưng Yên với 2 chủng vi sinh vật gây bệnh (*B. cereus* ATCC11778 và *C. albican* ATCC12031) bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch. Kết quả bước đầu đã xác định được chủng MIP\_GN36 có khả năng đối kháng với chủng vi khuẩn và vi nấm gây bệnh, với đường kính vòng vô khuẩn lần lượt là 13 mm và 10,5 mm; sinh trưởng ở nhiệt độ từ 25-50°C, pH 6,5-7,5. Chủng MIP\_GN36 mang gen PKSII, được định danh là *S. thermocarboxydus* MIP\_GN36.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Donadio S, Maffioli S, Monciardini P, Sosio M, Jabes D (2010), "Antibiotic discovery in the twenty-first century: current trends and future perspectives", *J Antibiot (Tokyo)*, 63: 423-430.
2. Jan Hudzicki (2009), "Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol", *American Society for Microbiology*.
3. Nguyễn Lâm Dũng (dịch, 1983), *Thực tập vi sinh vật học*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, tr. 73-81.
4. Tresner H. D, Bergey E.J (1963), *System of Color Wheels for Streptomyces Taxonomy*, *Appl. Microbiol*, 11: 8.
5. Nguyễn Văn Cách (2004), *Công nghệ lên men các chất kháng sinh*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
6. Mariana Avalos et al (2014), "Isolation and characterization of antibiotic produced by *Streptomyces* K-155", *Biomedical and Biology*, 25:5.
7. Sreenivasa Nayaka et al. (2020), "A potential bioactive secondary metabolites and antimicrobial efficacy of *Streptomyces thermocarboxydus* strain KSA-2 isolated from Kali river Karwar", *Current Research in Microbiology and Infection*, 1 (1): 5-13.
8. Al-Ansari et al (2020), "Optimization of medium components for the production of antimicrobial and anticancer secondary metabolites from *Streptomyces* sp. AS11 isolated from the marine environment", *Science*, 32 (3): 1993-1998.
9. Nisha Selvaraj et al (2023), "Statistical optimization of media components for antibiotic production in *Streptomyces* sp. CMSTAAHAL-3", *Electronic Journal of Biotechnology*, 65: 1-13.
10. I son Ng. et al (2013), "Daptomycin antibiotic production processes in fed-batch fermentation by *Streptomyces roseosporus* NRRL 11379 with precursor effect and medium optimization", *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 37 (3).
11. Hong-Jin Ni et al (2021), *Optimization of fermentation conditions and medium compositions for the production of chrysomycin a by a marine-derived strain Streptomyces sp. 891*, *Prep Biochem Biotechnol*, 51 (10): 998-1003.
12. W. Khangkhachit et al (2021), "Production of thermostable xylanase using *Streptomyces thermocarboxydus* ME742 and application in enzymatic conversion of xylan from oil palm empty fruit bunch to xylooligosaccharides", *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 37.
13. Kim S.B et al (1998), "*Streptomyces thermocarboxydovorans* sp. nov. and *Streptomyces thermocarboxydus* sp. nov., two moderate thermophilic carboxydophilic species from soil", *International Journal of Systematic Bacteriology*, 48 (1): 59-68. □