

# ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA CHỦNG XẠ KHUẨN *Streptomyces* MIP\_SN16 PHÂN LẬP TỪ ĐẤT VÙNG RỄ CÂY NGHỆ (*Curcuma longa* L.) KHU VỰC TỈNH HƯNG YÊN

Chu Thanh Bình<sup>1\*</sup>

## TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Mô tả đặc điểm sinh học của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* MIP\_SN16 bao gồm đặc điểm hình thái, màu sắc khuẩn lạc, cấu trúc sinh bào tử, hoạt tính đối kháng với vi khuẩn Gram dương *Bacillus cereus* và Gram âm *Escherichia coli*, phân tích sự có mặt của các cụm gen sinh tổng hợp chất kháng sinh.

**Đối tượng và phương pháp:** Chủng xạ khuẩn *Streptomyces* MIP\_SN16 được hoạt hóa từ bộ sưu tập chủng vi sinh vật tại Khoa Vi sinh vật - Viện Y học Dự phòng Quân đội. Đặc điểm hình thái, màu sắc khuẩn lạc, cấu trúc sinh bào tử được mô tả theo phương pháp của Tresner (1963); Hoạt tính đối kháng với vi khuẩn *B. cereus* và *E. coli* được thực hiện theo phương pháp của Kirby-Bauer (2009). Sử dụng phương pháp PCR với các cặp mồi đặc hiệu, các gen *pksl*, *pkslII*, *nrps* được khuếch đại nhằm phát hiện sự có mặt của chúng trong hệ gen chủng xạ khuẩn *Streptomyces* MIP\_SN16.

**Kết quả:** Xạ khuẩn *Streptomyces* MIP\_SN16 thuộc nhóm màu xám, sinh trưởng ở nhiệt độ 25-35°C; pH môi trường 7; Chủng *Streptomyces* MIP\_SN16 đối kháng với *B. cereus*, *E. coli*, với đường kính vòng vô khuẩn lần lượt là 22 mm và 18 ± 2 mm. Dựa vào nghiên cứu đặc điểm sinh học và phân tích trình tự gen mã hóa 16S rRNA, chủng MIP\_SN16 có độ tương đồng 100% với chủng *Streptomyces albogriseolus* IR-SGS-T10 trên GenBank, do đó được đặt tên là *S. albogriseolus* MIP\_SN16. Phân tích sự có mặt của gen chức năng liên quan đến sinh tổng hợp kháng sinh cho thấy chủng *S. albogriseolus* MIP\_SN16 mang hai gen mã hóa enzyme Polyketide Synthase (PKS) I và II. Như vậy, chủng *S. albogriseolus* MIP\_SN16 có tiềm năng cao trong nghiên cứu sinh tổng hợp kháng sinh.

**Từ khóa:** Đặc điểm sinh học, đối kháng, *Streptomyces*, MIP\_SN16.

## ABSTRACT

**Objectives:** These studies present the biological characteristics of the *Streptomyces* MIP\_SN16 including morphological characteristics, colony color, spore-forming structure and antagonistic activity against Gram-positive bacteria *Bacillus cereus*, Gram-negative bacteria *Escherichia coli* and analyzing of the presence of antibiotic biosynthesis gene.

**Subjects and methods:** *Streptomyces* MIP\_SN16 was activated from the Microbial Type Collection of the Department of Microbiology/Military Institute of Preventive Medicine. Morphological characteristics, colony color and spore-forming structure were described according to the method of Tresner (1963); Antagonistic activity of MIP\_SN16 against *B. cereus* and *E. coli* bacteria was performed according to the method of Kirby-Bauer (2009). Using PCR with specific primer, *pksl*, *pkslII*, *nrps* genes were amplified to detect their presence in *Streptomyces* MIP\_SN16.

**Results:** *Streptomyces* MIP\_SN16 belongs to the gray group, grows at temperatures of 25-35°C; pH 7; Strain *Streptomyces* MIP\_SN16 showed antagonistic activity against *B. cereus*, *E. coli* with inhibition ring diameters of 22 mm and 18 ± 2 mm, respectively. Based on biological characteristics and analysis of the 16S rRNA gene of strain MIP\_SN16 has 100% similarity to gene of strain *Streptomyces albogriseolus* IR-SGS-T10, so it named *S. albogriseolus* MIP\_SN16. Analysis of the presence of functional genes related to antibiotic biosynthesis showed that *S. albogriseolus* MIP\_SN16 carries two genes encoding enzymes Polyketide Synthase (PKS) I and II. Thus, *S. albogriseolus* MIP\_SN16 strain has high potential the biosynthesis of antibiotics study.

**Keywords:** Biological characteristics, antagonism, *Streptomyces albogriseolus*, MIP\_SN16.

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

Ngày nhận bài: 20/5/2024; mời phản biện khoa học: 6/2024; chấp nhận đăng: 06/8/2024.

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

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Xạ khuẩn là một nhóm vi sinh vật phân bố rộng rãi trong môi trường tự nhiên. Chúng đóng vai trò quan trọng trong việc sản xuất ra các hợp chất chuyển hóa thứ cấp (như chất có hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, chống ung thư, chống nguyên sinh động vật, kháng virus) và sinh tổng hợp vitamin, enzyme... [1]. Trong môi trường đất, chi *Streptomyces* chiếm tỉ lệ 90% trong tổng số quần thể xạ khuẩn, được phát hiện lần đầu tiên bởi Waksman [2]. Chúng hiếu khí bắt buộc, có cấu trúc dạng sợi phân nhánh và sinh trưởng trong nhiều môi trường khác nhau [3]. Ban đầu, việc xác định chi *Streptomyces* được thực hiện qua quan sát hình thái. Mặc dù hình thái học vẫn là một đặc điểm quan trọng cần xem xét khi mô tả các đơn vị phân loại, nhưng nó không đủ để phân biệt giữa nhiều loài. Do đó, việc sử dụng trình tự 16s rRNA là công cụ quan trọng để định danh các loài thuộc chi *Streptomyces*.

Cây Nghệ (*Curcuma longa* L.) thuộc họ Gừng, được biết đến là một dược liệu cổ truyền và có giá trị về mặt kinh tế. Với khí hậu và thổ nhưỡng phù hợp, năm 2023, toàn tỉnh Hưng Yên có trên 300 ha trồng nghệ với giá trị xuất khẩu cao. Củ nghệ có thành phần hóa học đáng quan tâm là nhóm các hợp chất curcuminoid, với 3 chất: curcumin (diferuloylmethane), demethoxycurcumin và bisdemethoxycurcumin. Curcumin là chất có hoạt tính sinh học giúp chống oxy hóa, hỗ trợ điều trị các bệnh tim mạch và là thành phần quan trọng trong nhiều bài thuốc y học cổ truyền... Hệ vi sinh vật đất vùng rễ cây nghệ có những thích nghi, hỗ trợ cây nghệ sinh trưởng và tạo ra củ nghệ có hàm lượng curcumin cao.

Chúng tôi trình bày một số kết quả nghiên cứu về hoạt tính đối kháng, đặc tính sinh học của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* MIP\_SN16, là cơ sở cho phát hiện chất kháng sinh cũng như các hợp chất mới khác từ chủng xạ khuẩn này.

## 2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Chủng xạ khuẩn *Streptomyces* MIP\_SN16 (sau đây gọi tắt là chủng xạ khuẩn MIP\_SN16), phân lập từ đất vùng rễ cây Nghệ, khu vực huyện Khoái Châu, tỉnh Hưng Yên, được lưu giữ trong bộ sưu tập vi sinh vật, tại Khoa Vi sinh vật, Viện Y học dự phòng Quân đội. Các chủng vi khuẩn kiểm định *B. cereus* và *E. coli* tại Khoa Vi sinh vật.

- Môi trường sử dụng trong nuôi cấy: ISP4 (tinh bột tan 5g/l; cao nấm men 2g/l; NaCl 1g/l; agar 20g/l); nguồn cacbon (glucose, saccarose, tinh bột), nguồn nitơ (pepton, cao nấm men,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ).

- Môi trường nuôi cấy các chủng vi khuẩn kiểm định: môi trường LB (pepton 10g/l; cao nấm men 5g/l; NaCl 2g/l; pH7, agar 20g/l).

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Xác định hoạt tính đối kháng với vi khuẩn: phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch [4, 5]: vi sinh vật kiểm định được nhân giống trên môi trường LB dịch thể 24 giờ ở nhiệt độ 37°C, xác định số lượng. Cấy trải 50  $\mu\text{L}$  dịch nuôi cấy *B. cereus* và *E. coli* trên môi trường thạch LB (OD 600nm = 0,01). Chủng xạ khuẩn MIP\_SN16 được nuôi cấy trên môi trường ISP4 dịch thể. Sau 7 ngày nuôi cấy, lắc 200 vòng/phút trên máy lắc ở nhiệt độ 30°C, li tâm 5000 vòng/phút loại bỏ sinh khối. Nhỏ 100 $\mu\text{L}$  dịch li tâm vào giếng thạch đục lỗ đường kính 8 mm, 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  $\mu\text{L}$  dung dịch môi trường ISP4 khử trùng.

- Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học của chủng MIP\_SN16: nghiên cứu đặc điểm bào tử và chuỗi bào tử khi nuôi xạ khuẩn trên môi trường ISP4 ở nhiệt độ 30°C bằng cách đặt lamên nghiêng một góc 45° với bề mặt đĩa môi trường nuôi cấy và vuông góc với đường cấy, sau 7 ngày quan sát dưới kính hiển vi quang học [6, 7, 8]. Đặc điểm hình thái, màu sắc khuẩn lạc, cấu trúc sinh bào tử của chủng xạ khuẩn MIP\_SN16 được mô tả theo phương pháp của Tresner (1963) [9]. Đồng thời, dựa trên các đặc điểm nuôi cấy theo Đề án xạ khuẩn quốc tế (ISP) dựa trên sự phát triển và màu sắc của sợi nấm, cũng như sắc tố hòa tan [10].

- Đánh giá khả năng sử dụng các nguồn cacbon và nitơ: nuôi cấy chủng xạ khuẩn trong bình tam giác chứa 50ml môi trường ISP4 có bổ sung 1% các nguồn đường khác nhau là glucose, tinh bột, saccarose 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.

- Xác định gen mã hóa các enzyme polyketide synthase I, II (PKSI, PKSII) và non ribosom peptide synthetases (NRPS): chủng xạ khuẩn MIP\_SN16 được nuôi cấy trên môi trường YE-ME dịch thể, sau 96 giờ tiến hành li tâm 3.000 vòng/phút, trong 10 phút, 4°C, thu tế bào. DNA tổng số được tách và các đoạn gen mã hóa cho các enzyme PKSI, II, NRPS được khuếch đại với các cặp mồi đặc hiệu có trình tự như sau:

| Gen   | Tên mồi | 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     |             |

Mỗi được tổng hợp bởi Công ty Phù Sa. Phản ứng 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.- 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 FD1 (mồi xuôi) 5'- ACAGTTTGATCCTGGCTCAG - 3'; RP1 (mồi ngược) 5'- ACGGTTACCTTGTTACGACTT - 3' (Phù Sa). Phản ứng thực hiện theo chu trình nhiệt: 94°C: 5 phút, 25 chu kỳ (94°C: 30s, 52°C: 30s, 72°C: 1 phút), 72°C: 10 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 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), sử dụng phần mềm Bioedit để xử lý. Cây phả hệ thiết lập trên cơ sở khoảng cách di truyền theo Kimura bằng việc sử dụng phương pháp Neighbor-joining.

- Xử lý số liệu: số liệu được 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.

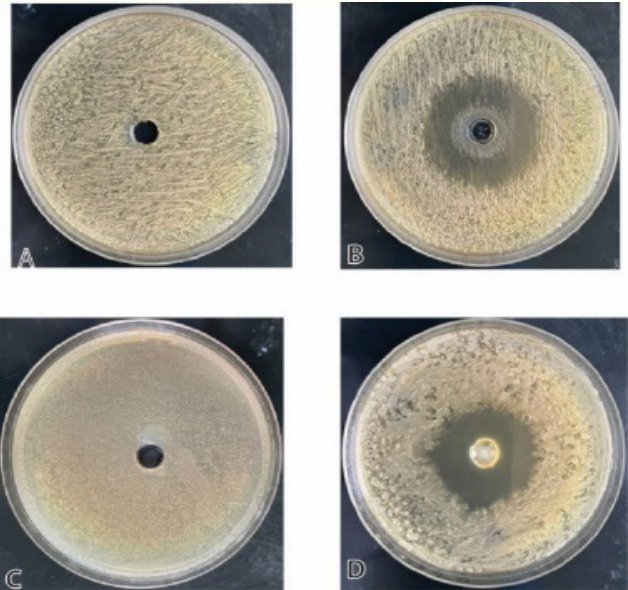
### 3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

#### 3.1. Hoạt tính đối kháng với vi khuẩn kiểm định

Chủng xạ khuẩn MIP\_SN16 được thử nghiệm khả năng đối kháng với vi khuẩn Gram dương *B. cereus* và Gram âm *E.coli*. Kết quả Hình 1 cho thấy, chủng MIP\_SN16 có khả năng đối kháng với cả 2 vi khuẩn với đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt là 22mm và 18 mm ± 2 mm.

Chủng xạ khuẩn MIP\_SN16 biểu hiện tính kháng tốt với các chủng vi khuẩn kiểm định đại diện cho nhóm Gram dương và Gram âm. Đây là kết quả rất đáng chú ý, mở ra tiềm năng ứng dụng trong y dược của hoạt chất thu được từ xạ khuẩn đất vùng rễ cây dược liệu nói chung và chủng xạ khuẩn MIP\_SN16 nói riêng. Với kết quả như trên, cần có

nghiên cứu sâu hơn về đặc điểm sinh lí, sinh hóa, khả năng sử dụng nguồn cacbon và nitơ của chủng MIP\_SN16 cũng như cải tạo chủng giống, nghiên cứu tối ưu các điều kiện lên men sinh tổng hợp chất kháng khuẩn.



Hình 1. Hoạt tính đối kháng với vi khuẩn *B.cereus* (B) và *E. coli* (D). A: đối chứng *B.cereus*; C: đối chứng *E. Coli*.

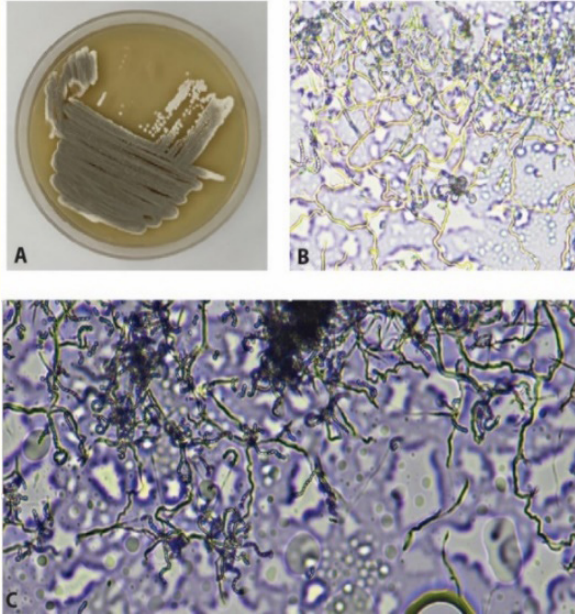
#### 3.2. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học của chủng MIP\_SN16

Khi nuôi cấy chủng xạ khuẩn MIP\_SN16 trên môi trường ISP4, khuẩn lạc bề mặt khô, màu sắc trắng xám đến xám, không sinh sắc tố melanin. Khuẩn ty cơ chất chuyển từ trắng sang vàng nhạt, phân nhánh (hình 2.B). Hình thái chuỗi bào tử của chủng dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 1.000 lần cho thấy chuỗi bào tử bắt màu đậm, có dạng lượn sóng, số lượng bào tử trên chuỗi > 8 và xuất hiện một vài chuỗi dài, cuống sinh bào tử dạng thẳng (hình 2.C).

Chủng *Streptomyces* MIP\_SN16 có nhiệt độ sinh trưởng trung bình trong khoảng từ 25°-30°C, pH môi trường nuôi cấy là 7. Khoảng pH 6,5-8 được coi là thích hợp cho *Streptomyces* sinh trưởng và sinh tổng hợp chất kháng sinh [11]. Như vậy, điều kiện sinh trưởng của chủng xạ khuẩn MIP\_SN16 có



nhệt độ, pH nuôi cấy tương tự như kết quả nghiên cứu S Khamna và cộng sự (2009); K Shaheen và cộng sự (2022) khi phân lập xạ khuẩn từ đất vùng rễ cây Nghệ [12, 13]. Thông số về nhiệt độ và pH này sẽ được sử dụng cho những nghiên cứu tiếp theo cụ thể là nghiên cứu sử dụng nguồn cacbon và nitơ của chủng MIP\_SN16.



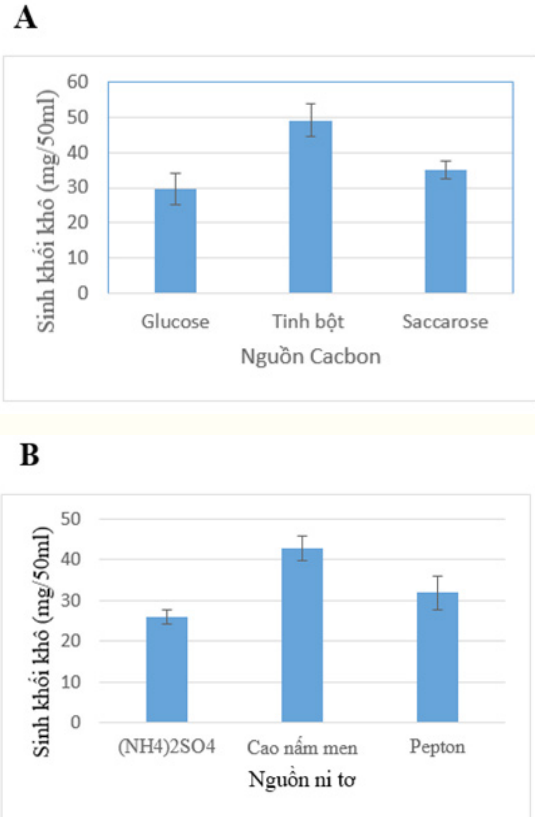
Hình 2. A: Hình thái, màu sắc khuẩn lạc; B: Cấu trúc hệ sợi; C: Hình thái chuỗi bào tử dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 1.000x.

### 3.3. Khả năng sử dụng các nguồn cacbon và nitơ

Cacbon và nitơ là những nguyên tố thiết yếu quan trọng nhất cho sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật, trong đó có xạ khuẩn. *Streptomyces* có thể sử dụng nguồn cacbon là tinh bột, glucose, sucrose, maltose, lactose trong chu trình trao đổi chất và sử dụng sodium nitrate, amoni sunfat, cao nấm men, pepton, bột đậu tương làm nguồn nitơ cho sinh trưởng và sinh tổng hợp chất kháng sinh. Mỗi loài *Streptomyces* sử dụng nguồn dinh dưỡng cacbon và nitơ không giống nhau. Thực tế, các nguồn cacbon và nitơ khác nhau ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và hiệu suất sinh tổng hợp chất kháng sinh cũng khác nhau. Nồng độ các cơ chất thiết yếu như cacbon và nitơ cũng có những ngưỡng giới hạn đối với từng loài vi sinh vật. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng nguồn cacbon và nitơ như ở mục 2.2.

Kết quả (trình bày ở hình 3) cho thấy chủng MIP\_SN16 sử dụng nguồn cacbon là tinh bột với lượng sinh khối khô là 49,1 mg/50ml, cao hơn so với nguồn cacbon là glucose và saccarose. Như vậy, mỗi loài xạ khuẩn sử dụng nguồn cacbon khác nhau, như *Streptomyces chilikensis* ACITM-1 sử

dụng nguồn cacbon là tinh bột, không sử dụng lactose, sử dụng ít glucose theo Charu Singh và cộng sự (2017) [14]; *Streptomyces kanamyceticus* ATCC 12853 sử dụng nguồn cacbon là galactose cho sinh khối cao hơn các nguồn cacbon khác như dextrin, tinh bột tan và tinh bột khoai tây [15].



Hình 3. Khảo sát khả năng sử dụng nguồn cacbon và nitơ của chủng MIP\_SN16 (A: nguồn cacbon; B: nguồn nitơ).

Chủng MIP\_SN16 sử dụng cao nấm men là nguồn nitơ cho sinh khối khô cao hơn pepton và (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Tương tự như nguồn cacbon, chủng xạ khuẩn khác nhau sử dụng nguồn nitơ khác nhau và liên quan đến sinh tổng hợp chất kháng sinh của chủng này. Ví dụ như xạ khuẩn phân lập từ trầm tích Kenya sử dụng nguồn nitơ tốt nhất là ure sau đó đến NaNO<sub>3</sub> [16]. Trong nghiên cứu của A Pandrey và cộng sự (2005), *Streptomyces kanamyceticus* M27 sử dụng cao nấm men là nguồn nitơ thích hợp cho sinh trưởng đồng thời hàm lượng kháng sinh kanamycin cao nhất [17].

### 3.4. Xác định gen mã hóa các enzyme polyketide synthase I, II (PksI, PksII) và non ribosom peptide synthetases (Nrps)

Kết quả khuếch đại gen *pks* bằng phản ứng PCR với các cặp mồi đặc hiệu, hình 4 cho thấy chủng MIP\_SN16 mang 2 gen *pksI* và *pksII* với kích thước lần lượt là 1100 bp và 600 bp. Polyketide là những chất chuyển hóa thứ cấp

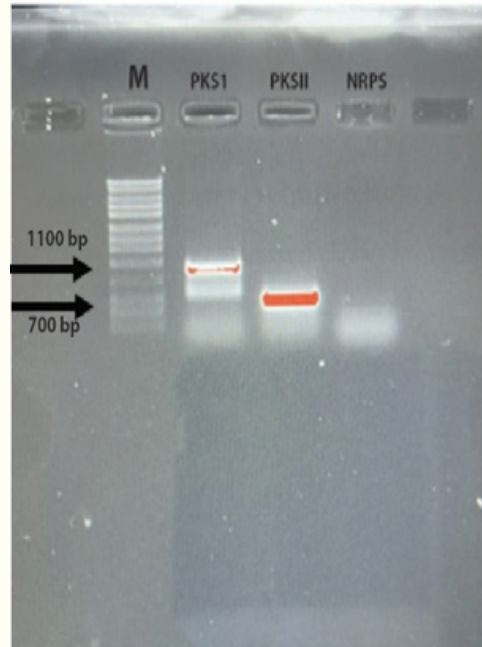
đa dạng về cấu trúc đã được ứng dụng rộng rãi trong dược phẩm, đặc biệt là kháng sinh. Theo O Cédric và cộng sự (2013) [18], enzyme polyketide synthase II (PKS-II) tham gia tổng hợp cấu trúc cơ bản chuỗi polyketide và polyketide synthase I (PKS-I) chịu trách nhiệm tạo khung polyketide hoàn chỉnh. Qua kết quả PCR, chủng xạ khuẩn MIP\_SN16 mang cả 2 gen *Pks-I* và *Pks-II*, điều này chứng tỏ chủng có tiềm năng trong tổng hợp các chất kháng sinh, cần tiếp tục được nghiên cứu làm rõ.

**3.5. Xây dựng cây phát sinh loài dựa trên trình tự 16s rRNA**

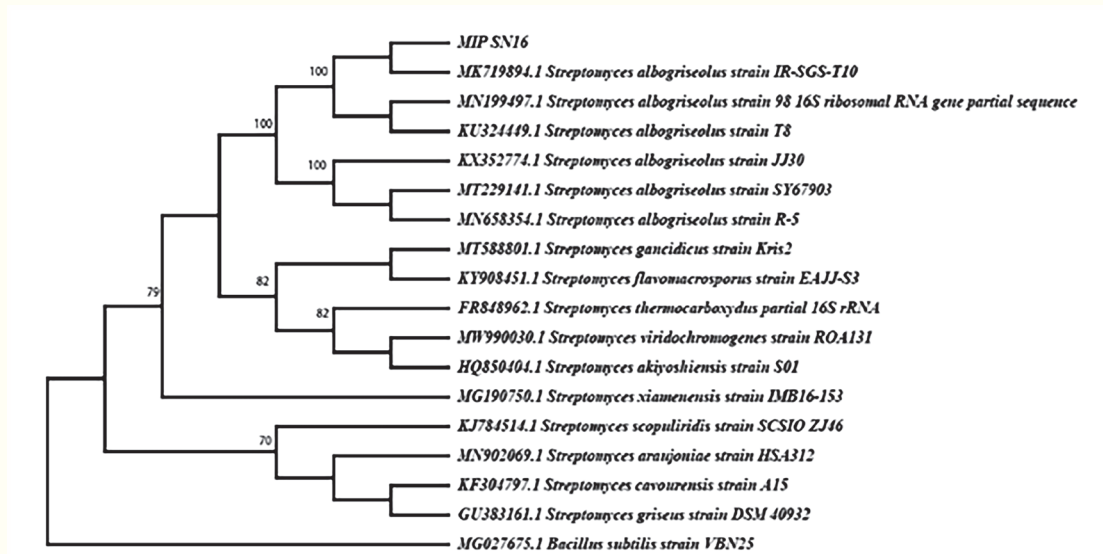
Sau khi giải trình tự đoạn 16s rRNA của chủng MIP\_SN16, kết quả trình bày ở hình 5 cho thấy chủng xạ khuẩn MIP\_SN16 thuộc loài *Streptomyces albogriseolus* với mức độ tương đồng là 100% với chủng *Streptomyces albogriseolus* IR-SGS-T10 trên GenBank. Do vậy, chủng xạ khuẩn MIP\_SN16 được đặt tên là *Streptomyces albogriseolus* MIP\_SN16. Theo các nghiên cứu của D Thirumurugan và cộng sự (2018), *Streptomyces albogriseolus* ECR64 được phân lập từ vùng đất Ấn Độ có khả năng sinh chất kháng khuẩn, đối kháng với *Pseudomonas fluorescens*, *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* và *Aeromonas hydrophila*. Các nhà khoa học phân tích hợp chất kháng khuẩn bằng phương pháp sắc kí cột thu hợp chất methyl-4,8-dimethylundecanate được sử dụng sản xuất thuốc kháng sinh [19]. *Streptomyces albogriseolus* A1, phân lập từ trầm tích khu vực biển Đỏ, sử dụng nguồn cacbon là glucose, saccharose, có hoạt tính kháng khuẩn và được tối ưu lên men đồng thời xác định cấu trúc của hợp chất kháng khuẩn [20].

Các nhà khoa học Ai Cập đã thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn của chủng *S. albogriseolus* với *Bacillus subtilis*, đồng thời sử dụng tác nhân gây đột biến NTG (N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine) với chủng *S. albogriseolus* cho thể đột biến T-40-22 có hoạt tính đối kháng với *B. subtilis* cho vòng kháng khuẩn lên tới 25 mm, đạt hiệu quả 166,67% so với chủng *S. albogriseolus* đại ban đầu [21].

Như vậy, chủng xạ khuẩn *S. albogriseolus* MIP\_SN16 có nhiều tiềm năng ứng dụng trong y dược và công nghệ sinh học. Tuy nhiên, chủng MIP\_SN16 cần phải tiến hành nhiều nghiên cứu tiếp theo để cải tiến từ chủng ban đầu thành chủng sản xuất, cũng như tối ưu hóa thành phần môi trường nuôi cấy sinh tổng hợp các chất có hoạt tính.



Hình 4. Xác định khả năng mang Gen *pksI*, *pksII* của chủng MIP\_SN16.



Hình 5. Xây dựng cây phát sinh loài dựa trên trình tự 16s rRNA.

#### 4. KẾT LUẬN

Bước đầu xác định chủng xạ khuẩn MIP\_SN16 có khả năng đối kháng với vi khuẩn Gram dương là *B.cereus*, Gram âm là *E. coli*; đường kính vòng vô khuẩn lần lượt là 22 mm và 18 ± 2 mm. Phân tích sự có mặt của gen chức năng liên quan đến sinh tổng hợp kháng sinh cho thấy chủng *S. albogriseolus* MIP\_SN16 mang hai gen mã hóa enzyme Polyketide Synthase (PKS) I và II.

Dựa vào nghiên cứu đặc điểm sinh học và phân tích trình tự gen mã hóa 16S rRNA, chủng MIP\_SN16 có độ tương đồng 100% với loài *Streptomyces albogriseolus*, do đó được đặt tên là *S. albogriseolus* MIP\_SN16.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Priya, et al (2012), "Detection of antioxidant and antimicrobial activities in marine actinomycetes isolated from Puducherry coastal region", *Journal of Modern Biotechnology*, 1: 63-69.
- Waksman, Henrici, et al (1943), "The nomenclature and classification of the Actinomycetes", *Journal of Bacteriology*, 46: 337-341.
- Nayaka, Babu, et al (2014), "Isolation, identification and characterization of keratin degrading *Streptomyces albus*", *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3: 419-431.
- Jan Hudzicki (2009), "Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol", *American Society for Microbiology*.
- Nguyễn Lân Dũng (dịch, 1983), "Thực tập vi sinh vật học", *Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật*, Hà Nội, tr. 73-81.
- Nonomura H (1974), "Key for classification and identification of 458 species of the *Streptomyces* included in ISP", *Technol*, 52, 78-92.
- Pridham T.G, Gottlieb D (1948), "The utilization of carbon compounds by some Actinomycetales as an aid for species determination", *J. Bacterol*, 56: 107-114.
- Williams S.T, et al (1989), "Bergey's manual of systematic bacteriology", *Williams & Wilkins*, 4: 2451-2492.
- Tresner H.D, Bergey E.J (1963), "System of color wheels for Streptomycece Taxonomy", *Appl. Micorbiol.*, 11: 8-16.
- Shirling E.B, Gottlieb D (1966), "Methods for characterization of streptomycetes sp", *Int J Syst Bacteriol*, 16: 313-40.
- F.A Ripa, et al (2009), "Optimal conditions for antimicrobial metabolites production from a new *Streptomyces* sp. RUPA-08PR isolated from Bangladeshi soil", *Mycobiology*, 37: 211-214.
- Sutthinan Khamna, et al (2009), "Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: Diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production", *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25: 649-655.
- Khullakpam Shaheen, et al (2022), "Isolation and bioactivity screening of *Streptomyces* spp. associated with *Curcuma caesia* (Yaimu) from Manipur, India", *Flora and fauna*, 28: 177-190.
- Charu Singh, et al. (2017), "Optimization of Cultural Conditions for Production of Antifungal Bioactive Metabolites by *Streptomyces* spp. Isolated from Soil", *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6: 386-396.
- Basak, et al (1973), "Utilization of carbon and nitrogen sources by *Streptomyces kanamyceticus* for kanamycin production", *Antimicrob. Agents Chemother*, 4: 6-10.
- Shikuku, et al (2023), "Effect of pH, Carbon and Nitrogen Sources on Antibiotic Production by Actinomycetes Isolates from River Tana and Lake Elementaita, Kenya", *Asian Journal of Research in Biochemistry*, 13.
- Pandey, et al (2005), "Utilization of carbon and nitrogen sources by *Streptomyces kanamyceticus* M 27 for the production of an Anti bacterial antibiotic", *African Journal of Biotechnology*, 4: 909-910.
- O Cédric, et al (2013), "Tool for characterizing bacterial protein synthesis inhibitors", *Antimicrob. Agent Chemother*, 57: 5994-6004.
- Thirumurugan, et al (2018), "Isolation, structure elucidation and antibacterial activity of methyl-4,8-dimethylundecanate from the marine actinobacterium *Streptomyces albogriseolus* ECR64", *Microbial Pathogenesis*, 121: 166-172.
- Mohamed S Abdel-Aziz, et al (2013), "Bioactive Secondary Metabolites from Marine *Streptomyces albogriseolus* Isolated from Red Sea Coast", *Journal of Applied Sciences Research*, 9: 996-1003.
- Shaza, et al (2019), "Molecular characterization of *Streptomyces albogriseolus* excellent mutants for neomycin production", *J Pure Appl Microbiol*, 13: 1489-1498. □