

PHÂN LOẠI VÀ NGHIÊN CỨU HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA, KHÁNG SINH CỦA CHỦNG XẠ KHUẨN *Streptomyces tubercidicus* PCS11 NỘI SINH TRÊN CÂY TRINH NỮ HOÀNG CUNG (*Crinum latifolium* L.)

Nguyễn Văn Thế¹, Quách Ngọc Tùng^{1,2}, Vũ Thị Hạnh Nguyễn^{1,2},
Lê Thị Thanh Xuân¹, Nguyễn Thị Thanh Lợi¹, Phí Quyết Tiến^{1,2,*}

¹Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

TÓM TẮT

Xạ khuẩn nội sinh cũng có thể sinh tổng hợp các chất chuyên hóa thứ cấp tương tự như các hoạt chất từ cây chủ. Xạ khuẩn nội sinh đã được chứng minh là nguồn cung cấp các hợp chất hoạt tính sinh học tự nhiên, trong số đó là chất kháng sinh, chống oxy hóa. Mục đích của nghiên cứu này là sàng lọc các chủng xạ khuẩn nội sinh trên cây trinh nữ hoàng cung (*Crinum latifolium* L.) có hoạt tính kháng sinh và khảo sát hoạt tính chống oxy hóa từ chủng tuyển chọn. Kết quả sàng lọc 16 chủng xạ khuẩn nội sinh cho thấy, chủng *Streptomyces tubercidicus* PCS11 thể hiện phổ kháng khuẩn rộng khi ức chế sự phát triển của tất cả 6 chủng vi sinh vật gây bệnh thử nghiệm với đường kính vòng ức chế lần lượt đạt $16 \pm 0,01$ mm; $16 \pm 0,02$ mm; $23,33 \pm 1,53$ mm; $19,67 \pm 0,58$ mm; $14,33 \pm 1,15$ mm; $19,67 \pm 2,89$ mm. Phân tích đặc điểm hình thái kết hợp với cây phát sinh chủng loài dựa trên trình tự vùng gen 16S rDNA đã định danh chủng nghiên cứu là *S. tubercidicus* PCS11 (mã số GenBank OP881434). Đáng chú ý, cao chiết thô của chủng *S. tubercidicus* PCS11 thể hiện hoạt tính trung hòa các gốc tự do hydroxyl ($89,13 \pm 3,1\%$) và superoxide ($45,19 \pm 1,3\%$) ở nồng độ 1 mg/mL. Đặc biệt, khả năng trung hòa gốc tự do DPPH đạt $85,71 \pm 2,3\%$, tại nồng độ cao chiết thô 0,1 mg/mL. Kết quả từ nghiên cứu này cho thấy chủng xạ khuẩn *S. tubercidicus* PCS11 có nhiều tiềm năng khai thác để ứng dụng trong lĩnh vực y dược.

Từ khóa: Chống oxy hóa, hoạt tính kháng sinh, xạ khuẩn nội sinh, 16S rDNA, *Streptomyces tubercidicus*.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngày nay, xã hội phát triển kéo theo sự phát sinh nhiều vấn đề như môi trường ô nhiễm, gia tăng chất phụ gia trong thức ăn và các chất có hại trong mỹ phẩm, kèm theo chế độ ăn mất cân bằng và lạm dụng các chất kích thích như thuốc lá, rượu bia, hoặc căng thẳng thần kinh (stress). Các yếu tố này có thể là những tác nhân gây gia tăng gốc tự do trong cơ thể. Các gốc tự do là các chất hoạt động chứa oxy (reactive oxygen species, ROS) và nitơ (reactive nitrogen species, RNS), tồn tại dưới dạng khử của oxy và nitơ phân tử, gây ra nhiều bệnh nguy hiểm cho con người như ung thư, bệnh tim mạch, đục thủy tinh thể, hen suyễn, viêm gan, tổn thương gan và các bệnh suy giảm miễn dịch (Lee *et al.*, 2014). Những nghiên cứu trên thế giới đã khẳng định vai trò của xạ khuẩn trong sinh tổng hợp chất kháng sinh. Trong số 8.000 chất kháng sinh đã được biết đến trên thế giới thì trên 75% là do xạ khuẩn sinh ra (Berdy, 2005). Nhiều loại xạ khuẩn nội sinh, đặc biệt là những loài được phân lập từ cây dược liệu có khả năng ức chế hoặc tiêu diệt nhiều loại vi sinh vật gây bệnh như vi khuẩn, nấm và virus, có tiềm năng để phát triển các loại thuốc kháng sinh mới (Christina *et al.*, 2013). Vi khuẩn đa kháng thuốc (MDR) gồm các mầm bệnh (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Enterobacter*) đang là mối đe dọa toàn cầu với sức khỏe con người dẫn đến các bệnh nhiễm trùng nặng khó điều trị, có thể dẫn đến tử vong. Các hợp chất chuyên hóa thứ cấp có nguồn gốc từ vi sinh vật đã trở thành nguồn chính để sản xuất các loại kháng sinh và được sử dụng thường xuyên trong phòng và điều trị bệnh.

Năm 2018, Vu và đồng tác giả (2020) đã phân lập được 105 chủng xạ khuẩn nội sinh trên cây quế, trong đó 36 chủng có hoạt tính kháng khuẩn chống lại ít nhất 1/9 chủng vi khuẩn gây bệnh thử nghiệm. Trong số đó, chủng *Streptomyces cavourensis* YBQ59 ức chế được 7/9 chủng vi khuẩn gây bệnh và có vùng ức chế dao động từ 20-25 mm, cao chiết thô từ chủng YBQ59 thể hiện giá trị MIC là 10,5-22,5 µg/mL (Vu *et al.*, 2018). Tới nay, tại Việt Nam chưa có công bố nào liên quan đến khả năng sinh các chất có hoạt tính kháng sinh và chống oxy hóa từ chủng xạ khuẩn *Streptomyces tubercidicus* nội sinh trên cây trinh nữ hoàng cung. Chính vì vậy, trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành phân loại, phân tích hoạt tính kháng sinh và hoạt tính chống oxy hóa từ cao chiết thô của chủng xạ khuẩn *S. tubercidicus* phân lập từ cây trinh nữ hoàng cung.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Tổng số 16 chủng xạ khuẩn nội sinh trên cây trinh nữ hoàng cung (*Crinum latifolium* L.) thu thập tại tỉnh Bắc Ninh ($21^{\circ}8'41''$ B, $106^{\circ}1'51''$ Đ) và tỉnh Phú Thọ ($21^{\circ}5'89''$ B, $105^{\circ}1'76''$ Đ) nhận từ Bộ sưu tập giống của Trung tâm

Giống và Bảo tồn nguồn gen Vi sinh vật, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Môi trường ISP2 (g/L): Cao nấm men 3; cao malt 10; dextrose 4; agar 20; H₂O đủ thể tích 1000 mL; pH 7-7,2.

Phương pháp nghiên cứu

Đánh giá hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định

Dựa vào sự khuếch tán của chất ức chế trong dịch nuôi cấy xạ khuẩn vào môi trường thạch, hoạt tính ức chế dịch nuôi cấy xạ khuẩn là tạo vòng vô khuẩn quanh lỗ đục (Damayanti *et al.*, 2014).

Nghiên cứu đặc điểm sinh học của chủng xạ khuẩn PCS11

Quán sát đặc điểm hình thái của xạ khuẩn PCS11 thông qua màu sắc khuẩn ty kí sinh và cơ chất, sắc tố dựa trên Khoá phân loại ISP (Shirling *et al.*, 1966). Hình dạng chuỗi bào tử được quan sát dưới kính hiển vi điện tử quang học sau 10 ngày nuôi cấy.

Nghiên cứu đặc điểm sinh lý của chủng PCS11 trên môi trường ISP2 gồm các yếu tố: dải nhiệt độ (20, 25, 30, 37, 40, 45 và 50°C), dải pH ban đầu (3-10) và dải nồng độ muối (0-8%) (Shirling *et al.*, 1966). Đánh giá khả năng đồng hoá nguồn cacbon trên môi trường ISP2 có bổ sung 1,0% các nguồn đường (Vu *et al.*, 2018).

Phân loại chủng PCS11 bằng phương pháp giải trình tự và phân tích vùng 16S rDNA

DNA tổng số được tách chiết bằng G-spin™ Total DNA Extraction Mini Kit (Intron Bio, Korea) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Vùng 16S rDNA được khuếch đại bằng phản ứng PCR, sử dụng cặp mồi 27F (5'-TAACACATGCAAGTCGAACG-3') và 1429R (5'-GGTGTGACGGGCGGTGTGTA-3') (Quach *et al.*, 2022). Sản phẩm PCR được kiểm tra, tinh sạch và gửi đến First BASE Laboratories Sdn. Bhd. (Malaysia) để giải trình tự. Kết quả giải trình tự gen hai chiều được kiểm tra bằng phần mềm BioEdit 7.2, so sánh với các gen tương ứng đăng ký trên ngân hàng cơ sở dữ liệu GenBank bằng công cụ BLAST trên NCBI. Cây phân loại được xây dựng dựa trên mức độ tương đồng của trình tự nucleotide giữa các loài được tính toán thống kê bằng phần mềm MEGA 7.0.

Tách chiết các hoạt chất sinh học thô từ dịch lên men xạ khuẩn nội sinh

Chủng xạ khuẩn được nuôi cấy trong môi trường ISP2 ở 30°C với tốc độ lắc 150 vòng/phút trong 8 ngày. Sau đó, dịch nuôi được ly tâm với tốc độ 8.000 vòng/10 phút để thu dịch lên men. Dịch lên men được chiết 3 lần với ethyl acetate theo tỉ lệ 1:1 (dịch lên men : dung môi). Phần dung môi phía trên được thu lại và cô quay để thu được cao chiết thô tổng số và được bảo quản ở 4°C cho các thí nghiệm tiếp theo (Qi *et al.*, 2019).

Hoạt tính chống oxy hóa *in vitro*

Khả năng kháng oxy hóa của cao chiết thô từ chủng xạ khuẩn được xác định theo sự chuyển màu của 2,2-diphenyl-1-picrylhy drazyl (DPPH). Cao chiết thô được hòa tan trong ethanol 70% ở nồng độ 0,1 mg/mL chủng xạ khuẩn và dải nồng độ cao chiết thô chủng PCS11 từ 0,01 – 0,1 mg/mL và được phản ứng với 0,2 mL DPPH ở nồng độ 0,1 mM sau đó là 2,0 mL nước khử ion. Phản ứng được ủ trong bóng tối 30 phút và độ hấp thụ sau đó được đo ở bước sóng 517 nm. Hoạt động khử gốc DPPH của cao chiết thô PCS11 được tính theo công thức: $I\% = 1 - [(As-A0)/Ab] \times 100\%$, trong đó As: độ hấp thụ của hỗn hợp bao gồm cao chiết thô PCS11, A0: độ hấp thụ của ethanol 70% và dung dịch 0,1 mM DPPH, Ab: độ hấp thụ của ethanol 70% (Quach *et al.*, 2022).

Cao chiết thô chủng PCS11 dải nồng độ từ 0,1 - 1 mg/mL được bổ sung vào phản ứng chứa 0,75 mM 1,10-phenanthroline, 0,75 mM FeSO₄, 0,01% H₂O₂, 0,15 M đệm sodium phosphate (pH 7,4). Hỗn hợp được ủ ở 37°C trong 30 phút và đo ở bước sóng 536 nm. Hoạt tính ức chế gốc hydroxyl được tính theo công thức: $I\% = [(As-Ab)/(Ao-Ab)] \times 100\%$. Trong đó: Ao: giá trị mật độ quang của phản ứng không bổ sung cao chiết thô và H₂O₂; As: giá trị mật độ quang của mẫu thử; Ab: giá trị mật độ quang của mẫu nước cất.

Hoạt tính loại bỏ gốc tự do superoxide được xác định bằng phản ứng màu dựa trên sự oxy hoá của pyrogallol (Quach *et al.*, 2022). Hỗn hợp phản ứng gồm 0,05 M Tris-HCl (pH 8,2), 2,5 mM pyrogallol và cao chiết thô của chủng PCS11 dải nồng độ từ 0,1 - 1 mg/mL. Phản ứng được ủ ở nhiệt độ phòng trong 20 phút và đo ở bước sóng 299 nm. Hoạt tính loại bỏ gốc tự do superoxide được tính theo công thức: $I\% = [(Ab-As)/Ab] \times 100\%$. Trong đó: Ab và As là giá trị mật độ quang của mẫu không có cao chiết thô và mẫu thử, tương ứng (Quach *et al.*, 2022). Các thí nghiệm thử hoạt tính chống oxy hóa sử dụng chất chống oxy hoá ascorbic acid làm đối chứng dương và thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả nghiên cứu được xử lý và lấy số liệu trung bình theo lý thuyết thống kê sinh học trên phần mềm Excel 2010 (Microsoft Office, Mỹ).

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Sàng lọc xạ khuẩn nội sinh có hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định

Kết quả sàng lọc khả năng kháng vi sinh vật gây bệnh của 16 chủng xạ khuẩn nội sinh trên cây trinh nữ hoàng cung (Bảng 1). Tất cả các chủng đều có khả năng kháng ít nhất 1 chủng vi sinh vật kiểm định. Trong đó, 2 chủng kháng 1 loại vi sinh vật gây bệnh, 4 chủng kháng 2 loại vi sinh vật gây bệnh, 3 chủng kháng 3 loại vi sinh vật gây bệnh; 2 chủng kháng 4 loại vi sinh vật gây bệnh và 4 chủng kháng 5 loại vi sinh vật gây bệnh. Riêng chủng PCS11 ức chế sự phát triển của tất cả 6 chủng vi sinh vật gây bệnh gồm *P. aeruginosa* ATCC 9027, *E. coli* ATCC 8739, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *S. aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis* ATCC 12228 và *Candida albicans* ATCC 10231 với đường kính vòng ức chế trong khoảng 14,33-23,33 mm (Bảng 1). Nghiên cứu của Vu và cộng sự (2020), chủng *S. tubercidicus* HBQ07 có khả năng kháng 6/9 chủng vi sinh vật kiểm định thử nghiệm đồng thời ghi nhận sự hiện diện của các gen sinh tổng hợp chuyển hóa thứ cấp mã hóa cho polyketide synthase (*pkc-I* và *pkc-II*) (Vu et al., 2020). Chi *Streptomyces* có tiềm năng trong việc sản xuất các chất chuyển hóa thứ cấp, bao gồm các chất kháng sinh, chống ung thư, chống oxy hóa, kháng khuẩn và ức chế miễn dịch (Rammali et al., 2022).

Bảng 1. Sàng lọc khả năng kháng vi sinh vật kiểm định của 16 chủng xạ khuẩn nội sinh trên cây trinh nữ hoàng cung

STT	Ký hiệu chủng	Đường kính vòng kháng khuẩn (D-d, mm)					
		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>E. coli</i> ATCC 8739	<i>E. aerogenes</i> ATCC 13048	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
1	BCF2	-	-	16 ± 1	8,33 ±0,58	9,67 ±0,155	-
2	BCF6	-	18,3 ±0,58	23,3 ±2,31	25 ±0	-	14,67 ±3,51
3	PCF1	-	10 ±0	17,67 ±2,08	-	18,67 ±0,58	-
4	PCF2	-	14,67 ±1,53	-	-	13,67 ±0,58	-
5	PCF6	-	-	-	-	15,67 ±0,58	-
6	PCF7	-	-	-	-	14,33 ±0,58	-
7	PCF10	-	22,33 ±1,15	25,67 ±1,53	8 ±0	17 ±1,73	16,33 ±0,58
8	PCF12	-	-	14,33 ±1,53	8 ±0	-	-
9	PCS8	-	21,33 ±0,58	21,67 ±4,04	24,33 ±1,53	-	-
10	PCS11	16 ±0,01	16 ±0,02	23,33 ±1,53	19,67 ±0,58	14,33 ±1,15	19,67 ±2,89
11	PCS13	-	-	-	-	16,33 ±2,89	8,33 ±0,58
12	PCS14	23 ±1	20,33 ±3,21	22 ±1,73	16 ±1	15 ±1	-
13	PCS17	16 ±1	-	15,67 ±2,31	-	-	-
14	PCS19	14,33 ±0,58	12 ±1,73	12,67 ±0,58	23,33 ±2,52	10,33 ±1,15	-
15	PCT2	11,33 ±0,58	9 ±0	-	10,33 ±0,58	11 ±0	15 ±1
16	PCT7	13,33 ±0,58	13,33 ±0,58	19 ±3	-	12,33 ±1,15	-

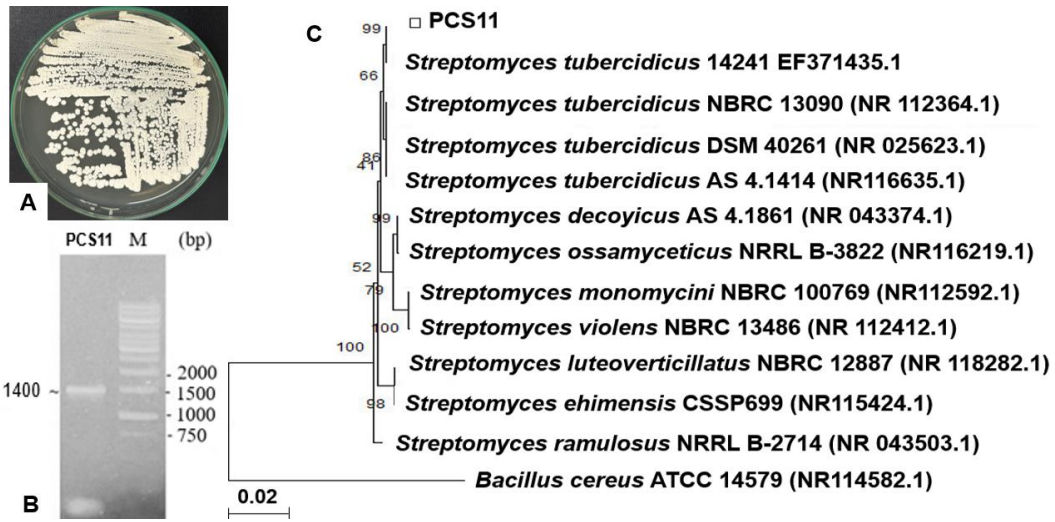
Ghi chú: (-) không xác định.

Theo nghiên cứu của Ratti và đồng tác giả (2011), chủng *S. tubercidicus* được nuôi cấy trên môi trường ISP2 có khả năng ức chế 3 chủng vi sinh vật gây bệnh *S. aureus* ATCC 25923; *E. coli* ATCC 25922 và *C. albicans* ATCC 10231 với đường kính lần lượt đạt 35 mm; 40 mm và 19 mm. Có thể thấy rằng chủng xạ khuẩn PCS11 lựa chọn trong nghiên cứu này có phổ kháng khuẩn rộng hơn (06 chủng vi sinh vật kiểm định) so với nghiên cứu của Ratti và đồng tác giả (2011). Chính vì vậy, chủng PCS11 được chọn để tiến hành phân loại và nghiên cứu hoạt tính chống oxy hóa *in vitro*.

Phân loại chủng xạ khuẩn PCS11

Sau 5 ngày nuôi cấy trên môi trường thạch ISP2, chủng xạ khuẩn PCS11 hình thành khuẩn ty hình tròn, màu trắng, dạng phấn, đường kính khuẩn lạc 2-4 mm (Hình 1A). Quan sát dưới kính hiển vi có độ phóng đại 100x, cho thấy các sợi chủng PCS11 uốn cong và sự sắp xếp của các bào tử trong một chuỗi bên trong sợi dạng hơi cong. Chủng PCS11 thuộc nhóm ưa ẩm, sinh trưởng ở dải nhiệt độ 25-45°C và tối ưu ở 30°C. Chủng có khả năng phát triển ở dải pH trung tính (pH 5,0-8,0) tối ưu ở pH 7,0 và chịu được NaCl 5%, tối ưu ở 1% NaCl. Kết quả này khá phù hợp với các công bố về xạ khuẩn nội sinh trên thực vật (Nguyen et al., 2018). Chủng xạ khuẩn PCS11 có khả năng sinh một số enzyme ngoại bào quan trọng như catalase, amylase, oxidase, protease,

cellulase. Ngoài ra, chủng đồng hóa 5/9 nguồn carbon nghiên cứu như glucose, fructose, xylose, maltose, galactose. Có thể kết luận chủng xạ khuẩn PCS11 thuộc chi *Streptomyces*.

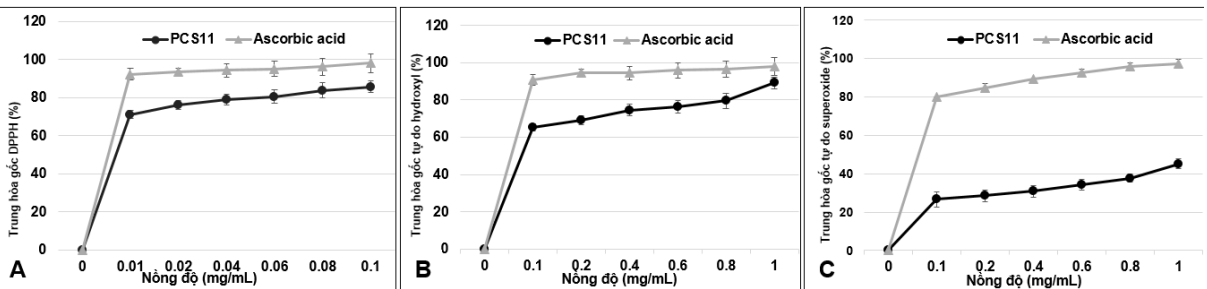


Hình 1. Hình thái khuẩn lạc trên môi trường ISP2 của chủng PCS11 (A), Điện di đồ sản phẩm PCR khuếch đại gen 16S rDNA của chủng PCS11 (B) và cây phát sinh loài biểu diễn mối quan hệ giữa chủng nghiên cứu với các loài có quan hệ gần dựa trên phân tích trình tự vùng 16S rDNA (C)

Để phân loại chủng PCS11 tới loài, vùng gen 16S rDNA được khuếch đại với sản phẩm PCR có băng sáng, rõ nét với kích thước khoảng 1500 bp (Hình 1B). Phân tích trình tự vùng gen 16S rDNA và so sánh với các trình tự gen tham chiếu từ ngân hàng GenBank bằng công cụ BLAST (NCBI) cho thấy trình tự vùng gen 16S rDNA của chủng PCS11 có độ tương đồng cao nhất với gen tương ứng của chủng *S. tubercidicus* 14241 (>99,99%) và *S. tubercidicus* NBRC 13090 (99,99%). Cây phát sinh loài khẳng định chủng PCS11 tạo thành nhánh riêng biệt với các chủng thuộc loài *S. tubercidicus* (Hình 1C). Dựa vào kết quả nghiên cứu đặc điểm hình thái, sinh lý, sinh hóa và phân tích trình tự gen 16S rDNA, chủng xạ khuẩn PCS11 được định danh là *S. tubercidicus* PCS11 (mã số GenBank OP881434).

Hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* của chủng *S. tubercidicus* PCS11

Các chất chống oxy hóa đóng vai trò quan trọng trong quá trình bảo vệ tế bào khỏi những tác động tiêu cực từ các gốc tự do như phá hủy DNA, protein và các phân tử sinh học khác. Hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết thô thu nhận từ *S. tubercidicus* PCS11 được đánh giá qua trung hòa gốc tự do DPPH. Kết quả cho thấy khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH của cao chiết thô PCS11 tăng dần khi tăng dần nồng độ (Hình 2A). Khi nồng độ cao chiết tăng từ 0,01 - 0,08 mg/mL, hoạt tính trung hòa gốc tự do DPPH tăng dần từ 0 - 83,90%. Tại nồng độ 0,1 mg/mL, hoạt tính trung hòa gốc DPPH đạt cao nhất với $85,71 \pm 2,3\%$, chỉ thấp hơn 12,5 % so với chất chống oxy hóa ascorbic acid. Điều này gợi ý rằng khi nồng độ cao chiết thô tăng, hoạt tính có thể sẽ tiếp tục được cải thiện và đạt mức tương đương với ascorbic acid.



Hình 2. Hoạt tính trung hòa các gốc tự do DPPH (A), gốc hydroxyl (B), gốc superoxide (C) của cao chiết thô từ dịch lên men của chủng *S. tubercidicus* PCS11

Trong số các loại gốc oxy phản ứng, gốc hydroxyl là gốc phản ứng mạnh nhất và là nguyên nhân tiềm tàng dẫn đến viêm, ung thư, hoặc lão hoá. Gốc hydroxyl được sinh ra từ phản ứng Fenton và phản ứng Haber - Weiss thông qua sự chuyển hoá của ion sắt (Quach *et al.*, 2022). Tương tự phản ứng với DPPH, kết quả thử hoạt tính trung hòa gốc hydroxyl cho thấy hoạt tính trung hòa gốc hydroxyl tỷ lệ thuận với nồng độ cao chiết thô. Hoạt tính trung hòa hydroxyl tăng từ 0 đến $79,55 \pm 2,1\%$ ở dải nồng độ từ 0 - 0,8 mg/mL (Hình 2B). Khi tăng đến 1 mg/mL cao chiết thô, hoạt tính đạt mức cao nhất với $89,13 \pm 3,1\%$ gốc hydroxyl bị trung hòa. Đối với gốc superoxide, xu

hướng tăng dần hoạt tính cũng được quan sát thấy, tuy nhiên, hoạt tính chống oxy hóa chỉ đạt $45,19 \pm 1,3\%$ ở nồng độ thử nghiệm cao nhất tại 1 mg/mL (Hình 2C). Nghiên cứu của nhóm tác giả Tan và đồng tác giả (2019) cho thấy, cao chiết thô của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. MUM265 thể hiện hoạt tính oxa gốc tự do ABTS tăng từ $9,40 \pm 3,17\%$ đến $88,50 \pm 0,37\%$ ở nồng độ cao chiết từ $0,125 - 4 \text{ mg/mL}$ và hoạt tính trung hòa gốc superoxide tăng từ $9,73 \pm 5,72\%$ đến $55,99 \pm 1,03\%$ khi tăng nồng độ cao chiết từ $0,0625 - 4 \text{ mg/mL}$ (Tan *et al.*, 2019), có thể thấy hoạt tính trung hòa gốc tự do của chủng PCS11 cao hơn so với chủng *Streptomyces* sp. MUM265. Trong ba thử nghiệm, cao chiết thô từ *S. tubercidicus* PCS11 nhạy cảm với gốc DPPH hơn hydroxyl và superoxide, tuy nhiên hoạt tính oxy hóa đều rõ rệt trên cả ba gốc tự do. Tại Việt Nam, chúng tôi chưa tìm được tài liệu nào liên quan tới việc chủng xạ khuẩn *S. tubercidicus* thể hiện hoạt tính chống oxy hóa từ cao chiết thô.

KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, chúng tôi chứng minh hoạt tính chống oxy hóa, kháng khuẩn của chủng xạ khuẩn *S. tubercidicus* PCS11 phân lập từ cây trinh nữ hoàng cung (*C. latifolium* L.). Đánh giá khả năng ức chế vi sinh vật gây bệnh, chủng PCS11 thể hiện phổ kháng khuẩn rộng trên tất cả 6 chủng vi sinh vật gây bệnh thử nghiệm với đường kính vòng ức chế lần lượt đạt $16 \pm 0,01 \text{ mm}$; $16 \pm 0,02 \text{ mm}$; $23,33 \pm 1,53 \text{ mm}$; $19,67 \pm 0,58 \text{ mm}$; $14,33 \pm 1,15 \text{ mm}$; $19,67 \pm 2,89 \text{ mm}$. Đáng chú ý, hoạt tính chống oxy hóa trong điều kiện *in vitro* cho thấy cao chiết thô từ dịch lên men của chủng PCS11 thể hiện hoạt tính trung hòa các gốc tự do hydroxyl và superoxide lần lượt đạt $89,13 \pm 3,1\%$ và $45,19 \pm 1,3\%$ ở nồng độ cao chiết thô 1 mg/mL . Khả năng trung hòa gốc tự do DPPH đạt $85,71 \pm 2,3\%$, tại nồng độ cao chiết thô $0,1 \text{ mg/mL}$. Trong tương lai, cần nghiên cứu điều kiện thích hợp nhằm nâng cao hoạt tính chống oxy hóa của PCS11 và kết hợp giải trình tự hệ gen nhằm dự đoán con đường sinh tổng hợp các chất chống oxy hóa và chống ung thư để khai thác ứng dụng trong y dược.

Lời cảm ơn: Công trình được thực hiện nhờ kinh phí của Nhiệm vụ cơ sở cho cán bộ trẻ năm 2022 cấp Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam và hỗ trợ của Trung tâm Giống và Bảo tồn nguồn gen vi sinh vật, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (www.vccm.vast.vn).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Berdy J (2005). Bioactive microbial metabolites. *The Journal of antibiotics*, 58(1): 1-26.
- Christina A, Christappper V, Bhore SJ (2013). Endophytic bacteria as a source of novel antibiotics: an overview. *Pharmacognosy Reviews* 7(13): 11-16.
- Damayanti E, Julendra H, Sofyan A, Hayati SN (2014). Bile salt and acid tolerant of lactic acid bacteria isolated from proventriculus of broiler chicken. *Tropical Animal science journal*, 37(2): 80-80.
- Lee DR, Lee SK, Choi BK, Cheng J, Lee YS, Yang SH, & Suh JW (2014). Antioxidant activity and free radical scavenging activities of *Streptomyces* sp. strain MJM 10778. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7(12): 962-967.
- Qi D, Zou I, Zhou D, Chen Y, Gao Z, Feng R, Wang W (2019). Taxonomy and broad-spectrum antifungal activity of *streptomyces* sp. Sca3-4 isolated from rhizosphere soil of *Opuntia stricta*. *Frontiers in Microbiol*, 10: 1390.
- Quach NT, Vu THN, Nguyen TTA, Ha H, Ho PH, Chu-Ky S, Lan-Huong N, Nguyen HV, Thanh TTT, Nguyen NA, Chu HH, Phi QT (2022). Structural and genetic insights into a poly-γ-glutamic acid with in vitro antioxidant activity of *Bacillus velezensis* VCN56. *World Journal microbiology and Biotechnology*, 38: 173.
- Rammali S, Hilali L, Dari K, Bencharik B, Rahim A, Timinouni M, & Khattabi A (2022). Antimicrobial and antioxidant activities of *Streptomyces* species from soils of three different cold sites in the Fez-Meknes region Morocco. *Scientific Reports*, 12(1): 17233.
- Ratti RP, Piza AT, Granato AC, Hokka CO, Dubreuil JD, & de Sousa CP (2011). Growing kinetics and antimicrobial activity of *Streptomyces tubercidicus* crude extracts. In *Microorganisms In Industry And Environment: From Scientific and Industrial Research to Consumer Products* (pp. 589-592).
- Shirling ET and Gottlieb D (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 16(3): 313-340.
- Tan LTH, Chan KG, Pusparajah P, Yin WF, Khan TM, Lee LH, & Goh BH (2019). Mangrove derived *Streptomyces* sp. MUM265 as a potential source of antioxidant and anticolon-cancer agents. *BMC microbiology*, 19: 1-16.
- Vu HNT, Nguyen DT, Nguyen HQ, Chu HH, Chu SK, Chau MV & Phi QT (2018). Antimicrobial and cytotoxic properties of bioactive metabolites produced by *Streptomyces cavourensis* YBQ59 isolated from *Cinnamomum cassia* Presl in Yen Bai Province of Vietnam. *Current microbiology*, 75: 1247-1255.
- Vu THN, Nguyen QH, Dinh TML, Quach NT, Khieu TN, Hoang H, & Phi QT (2020). Endophytic actinomycetes associated with *Cinnamomum cassia* Presl in Hoa Binh province, Vietnam: Distribution, antimicrobial activity and, genetic features. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 66(1): 24-31.

IDENTIFICATION AND ANALYSIS OF ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF AN ENDOPHYTIC ACTINOMYCETE *Streptomyces tubercidicus* PCS11 ISOLATED FROM *Crinum latifolium* L.

Nguyen Van The¹, Quach Ngoc Tung^{1,2}, Vu Thi Hanh Nguyen^{1,2}, Le Thi Thanh Xuan¹,
Nguyen Thi Thanh Loi¹, Phi Quyet Tien^{1,2*}

¹Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology (VAST)

²Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology

SUMMARY

Endophytic actinomycetes are known for their ability to synthesize various antioxidant compounds with great potential for applications in the field of medicine and pharmacy. Their secondary metabolites have been shown to have antibacterial, antifungal and antioxidant properties. The objective of the study was to evaluate the antibacterial and antioxidant activities of an endophytic actinomycete isolated from *Crinum latifolium* L.. The results showed that *Streptomyces tubercidicus* PCS11 exhibited a broad spectrum of antibacterial activity with inhibition against all 6 tested strains of pathogenic microorganisms with the diameter of the inhibition zone of $16 \pm 0,01$ mm; $16 \pm 0,02$ mm; $23,33 \pm 1,53$ mm; $19,67 \pm 0,58$ mm; $14,33 \pm 1,15$ mm; $19,67 \pm 2,89$ mm, respectively. Analysis of morphological characteristics combined with phylogenetic tree based on 16S rDNA sequence identified the strain as *S. tubercidicus* PCS11 (GenBank accession number OP881434). Notably, the crude extract of *S. tubercidicus* PCS11 strain showed scavenging activity against hydroxyl radicals ($89,13 \pm 3,1\%$) and superoxide ($45,19 \pm 1,3\%$) at a concentration of 1 mg/mL. Moreover, the ability to neutralize DPPH free radicals reached $85,71 \pm 2,3\%$, at a crude extract concentration of only 0.1 mg/mL, comparable to that of the ascorbic acid. Results from this study show that the actinomycete strain *S. tubercidicus* PCS11 has great potential for exploitation in medicinal and pharmaceutical applications.

Keywords: Crude extract, antioxidant, actinomycetes, 16s rDNA, *Streptomyces tubercidicus*.

* Author for correspondence: Tel: 2437917973; Email: tienpq@ibt.ac.vn