



DOI:10.22144/ctujos.2024.362

## KHẢO SÁT KHẢ NĂNG KHÁNG OXY HÓA VÀ ĐỐI KHÁNG SINH HỌC CỦA VI KHUẨN NỘI SINH PHÂN LẬP TỪ CÂY MẮC CỖ TÀN DỪ (*Biophytum sensitivum* L.)

Võ Hoàng Long<sup>1</sup>, Trần Chí Linh<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Kim Ngân<sup>1</sup>, Trần Nguyễn Kim Ngân<sup>1</sup>, Nguyễn Hữu Thoại<sup>2</sup>, Tô Hoàng Duy<sup>2</sup> và Đái Thị Xuân Trang<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup>Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

\*Tác giả liên hệ (Corresponding author): dtxtrang@ctu.edu.vn

### Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 10/04/2024

Sửa bài (Revised): 18/06/2024

Duyệt đăng (Accepted): 24/07/2024

**Title:** Investigation of antioxidant and biological antagonism of endophytic bacteria isolated in *Biophytum sensitivum* L.

**Author(s):** Vo Hoang Long<sup>1</sup>, Tran Chi Linh<sup>2</sup>, Nguyen Thi Kim Ngan<sup>1</sup>, Tran Nguyen Kim Ngan<sup>1</sup>, Nguyen Huu Thoai<sup>2</sup>, To Hoang Duy<sup>2</sup> and Dai Thi Xuan Trang<sup>2\*</sup>

**Affiliation(s):** Can Tho University

### TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm phân lập vi khuẩn nội sinh trong cây mắc cỡ tàn dừ (*Biophytum sensitivum* L.) có khả năng kháng oxy hóa và khả năng đối kháng *in vitro*. Khả năng kháng oxy hóa được xác định bằng phương pháp định lượng polyphenol, flavonoid, kháng oxy hóa tổng và khả năng khử sắt. Kết quả cho thấy tổng cộng có 30 dòng vi khuẩn nội sinh được phân lập từ cây mắc cỡ tàn dừ và đều có khả năng kháng oxy hóa. Trong 30 dòng vi khuẩn đã phân lập có 3 dòng cho thấy khả năng sản sinh hợp chất kháng oxy hóa và khả năng kháng khuẩn hiệu quả nhất được ký hiệu là BS-R1, BS-L1 và BS-F8. Sau khi sàng lọc và định danh thì kết quả cho thấy dòng BS-R1 và BS-L1 tương đồng với chi *Bacillus* với độ tương đồng là 99,93%, với dòng BS-F8 thì cho thấy độ tương đồng với chi *Calidifontibacillus* là 100%.

**Từ khóa:** *Bacillus*, kháng oxy hóa, kháng khuẩn, mắc cỡ tàn dừ, vi khuẩn nội sinh

### ABSTRACT

The investigation was carried out to isolate endophytic bacteria and evaluate their antioxidative activities *in vitro*. The antioxidant capacity was determined by total polyphenols, flavonoids, antioxidation capacity, and reducing power. The results revealed that 30 endophytic bacterial strains from the *Biophytum sensitivum* plant were found, exhibiting antioxidant activity. BS-R1, BS-L1, and BS-S8 have shown the ability to produce the most effective antioxidants and antagonistic efficacy. The BS-R1 and BS-L1 strains belong to the genus *Bacillus* with a similarity of 99.93%, while the BS-F8 strain has a similarity of 100% with the genus *Calidifontibacillus*.

**Keywords:** *Bacillus*, antioxidant, antagonistic efficacy, *Biophytum sensitivum* L., endophytic bacteria

## 1. GIỚI THIỆU

Stress oxy hóa là một khái niệm được sử dụng rộng rãi trong ba thập kỷ qua. Stress oxy hóa tham

gia mạnh mẽ tích cực vào sinh lý của các bệnh rất phổ biến, như đái tháo đường, huyết áp cao, tiền sản giật, xơ vữa động mạch, suy thận cấp, Alzheimer và

Parkinson (Lan et al. 2021). Các tế bào thông qua chuyển hóa oxy tạo ra các gốc oxy hoạt động (Reactive Oxygen Species, ROS) có khả năng gây hại. Trong trường hợp bình thường, quá trình tạo chất oxy hóa được cân bằng với sự tạo ra chất kháng oxy hóa. Sự mất cân bằng giữa chất oxy hóa và chất chống oxy hóa dẫn đến stress oxy hóa (Munteanu & Apetrei, 2021). Các sản phẩm có khả năng kháng oxy hóa có nguồn gốc thiên nhiên được nghiên cứu trong một thời gian dài đã được chứng minh có hoạt tính dược lý và an toàn, ít tác dụng phụ (Raza & Sood, 2014). Nhiều loài thực vật đã được tìm thấy có khả năng trung hòa ROS đáng kể, có liên quan đến độc tính tế bào đối với các tế bào ung thư, do đó có thể được sử dụng như các tác nhân điều trị và phòng ngừa (Abu-Lafi et al., 2019). Các nghiên cứu trước đây chỉ ra rằng hoạt tính kháng oxy hóa ít nhiều có mối tương quan trực tiếp với lượng polyphenol tổng số. Nghiên cứu của Basu and Maier (2016) cho thấy mối tương quan giữa hàm lượng polyphenol tổng số và hoạt động kháng oxy hóa và chỉ ra rằng các hợp chất phenolic có trong các loại thực vật được khảo sát có thể liên quan đến các đặc tính kháng oxy hóa này.

Tầm quan trọng của vi khuẩn nội sinh đã được chứng minh trong một thời gian dài như một nguồn hợp chất có hoạt tính sinh học, nhiều vi khuẩn nội sinh đã được chứng minh là có thể tạo ra các chất chuyển hóa có khả năng kháng khuẩn, kháng nấm, kháng virus, kháng ung thư, kháng oxy hóa, kháng viêm và thuốc ức chế miễn dịch (Anjum & Chandra, 2015). Cụ thể, có nhiều chất chuyển hóa được sản xuất bởi vi khuẩn nội sinh có hoạt tính kháng khuẩn như munumbicins A-D, celastramycins A-B, kakadumycine và dimethy novobiocins (Beiranvand et al., 2017). Nghiên cứu của Seo et al. (2010) phát hiện ra rằng một số vi khuẩn nội sinh được phân lập từ củ cải non có thể được sử dụng làm tác nhân kiểm soát sinh học chống lại mầm bệnh ở người và thực vật. Castillo et al. (2002) phát hiện ra rằng *Streptomyces* sp. NRRL 30562 nội sinh thu được từ Snakevine (*Kennedia nigricans*) tạo ra kháng sinh peptide mới có hoạt tính phổ rộng chống lại nhiều loại nấm và vi khuẩn gây bệnh.

Theo Võ Văn Chi (2012) trong quyển “Từ điển thực vật Việt Nam” và “Thực vật An Giang”, cây mắc cỡ tàn dư được sử dụng làm rau ăn và dùng làm gia vị. Cây mắc cỡ tàn dư cũng là loại rau ăn dùng làm gia vị thuộc Chi Sinh diệp (Biophytum). Ở Việt Nam, hiện biết có 4 loài, phân bố rải rác khắp cả nước là *B. umbraculum*, *B. adiantoides* và *B. fruticosum* và *B. Sensitivum*, nhưng trong đó chỉ có một loài được ghi nhận làm thuốc trong các tài liệu

của Việt Nam (*B. sensitivum* – Mắc cỡ tàn dư) (Nguyễn Thị Sao Mai et al., 2013). Ở Việt Nam, việc nghiên cứu về cây mắc cỡ tàn dư còn hạn chế chỉ dừng lại ở mức mô tả và đánh giá đa dạng loại. Còn trên thế giới, các nghiên cứu về cây mắc cỡ tàn dư cũng chỉ dừng lại ở cao chiết và tập trung vào phân tích các chất chuyển hóa thứ cấp có hoạt tính sinh học ở trong cây (Sakthivel & Guruvayoorappan, 2012), nhưng riêng nghiên cứu về vi khuẩn nội sinh còn rất hạn chế. Do đó, nghiên cứu đã tiến hành “Khảo sát một số hoạt tính sinh học của vi khuẩn nội sinh từ cây mắc cỡ tàn dư (*Biophytum sensitivum* L.)” với mong muốn tìm kiếm và củng cố nguồn nguyên liệu tiềm năng trong việc khai thác nguồn nguyên liệu có khả năng kháng oxy hóa. Từ đó có thể tạo một cơ sở dữ liệu đầy đủ cho việc phát triển nguồn tài nguyên này tại địa phương.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

#### 2.1.1. Vật liệu nghiên cứu

Mắc cỡ tàn dư là cây thân thảo cao khoảng 20 cm, thân không phân nhánh, thường có màu đỏ tím, phủ lông mềm hướng về phía dưới. Lá tập trung ở ngọn thân thành một bó 15 – 20 lá, dài 7 – 12 cm, kép lông chim chẵn, gồm 10 – 14 đôi lá chét không cuống, mỏng, cứng, nhẵn, có kích thước lớn dần từ dưới lên trên, lá có thể cuộn lại khi bị va chạm, tương tự như lá mắc cỡ. Cụm hoa có cuống dài ở ngọn thân, thường ngắn hơn lá. Hoa màu vàng, có cuống ngắn. Quả nang mang đài tồn tại, có 5 ô. Hạt nhỏ, màu đen, hình cầu (Võ Văn Chi, 1991).



**Hình 1. Cây mắc cỡ tàn dư (*Biophytum sensitivum*)**

Ghi chú: Võ Hoàng Long-ngày 05/08/2022-chụp tại Khoa Khoa học Tự nhiên-Trường Đại học Cần Thơ

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Phân lập các dòng vi khuẩn nội sinh trong cây mắc cỡ tàn dư thu tại An Giang.

Cây mắc cỡ tàn dư sau khi thu về được tách riêng các bộ phận rễ, thân, lá và rửa sạch với nước. Mẫu được rửa lại bằng nước cất vô trùng và cắt mẫu thành các đoạn ngắn 3-4 cm. Các mẫu vật tiếp tục được khử trùng bằng ethanol 70% trong 30 giây, được rửa lại bằng nước cất vô trùng 3-4 lần. Cuối cùng mẫu được ngâm trong hydrogen peroxide 3% trong 3 phút và được rửa lại với nước cất vô trùng 4-5 lần để loại bỏ các hóa chất còn dư. Các mẫu vật sau khi khử trùng được giã nhuyễn và cho thêm 2-3 mL nước cất, trộn đều và để lắng trong khoảng 10-12 phút. Phần dịch bên trên được rút lấy 100  $\mu$ L cho vào ống nghiệm chứa 900  $\mu$ L môi trường potato dextrose agar (PDA) bán đặc đã được chuẩn bị trước đó. Sau đó các ống nghiệm được ủ trong 48 giờ ở 30°C. Sự xuất hiện của màng mỏng trắng đục (vòng pellicle) bên dưới cách mặt môi trường 2-4 mm (thể hiện sự phát triển của vi khuẩn nội sinh) được theo dõi. Vi khuẩn từ vòng trắng đục, được thu lấy nuôi cấy và tách riêng cho đến khi thuần chủng, sau đó được tiến hành quan sát và ghi nhận đặc điểm khuẩn lạc về (hình dạng, kích thước, màu sắc, dạng bia và độ nổi) (Cao Ngọc Diệp, 2010).

### 2.2.2. Phương pháp nhuộm Gram

Lam kính và lame được khử trùng bằng ethanol và nhỏ 30  $\mu$ L nước cất vô trùng lên lam kính. Một ít khuẩn lạc được lấy bằng que cấy rồi được trải đều lên giọt nước trên lam kính và hơ trên ngọn lửa đèn cồn. Thuốc nhuộm crystal violet được nhỏ lên lam phủ kín vệt vi khuẩn trong 1 phút. Sau đó, tiêu bản được rửa dưới vòi nước. Thuốc nhuộm lugol tiếp tục được nhỏ phủ kín vệt vi khuẩn trong 30 giây và tiêu bản được rửa ủa dưới vòi nước. Tiếp tục, ethanol 90° được nhỏ lên tiêu bản, khi màu tím trên lam kính vừa phai hết thì được rửa nước ngay, loại bỏ hết cồn dưới vòi nước chảy nhẹ. Thuốc nhuộm safranin được nhỏ một lượng vừa đủ lên tiêu bản, để yên trong khoảng 30 giây và được rửa dưới vòi nước chảy nhẹ. Cuối cùng, tiêu bản được quan sát dưới kính hiển vi quang học. Kết quả thu được nếu màu xanh tím là Gram dương, màu hồng là Gram âm (Chính, 2007).

### 2.2.3. Khảo sát khả năng đối kháng sinh học và khả năng sản sinh chất có khả năng kháng oxy hóa

Các dòng vi khuẩn nội sinh được nuôi tăng sinh trên môi trường potato dextrose broth (PDB) để thu lấy dịch tăng sinh bằng cách chủng 1 mL dịch của

vi khuẩn nội sinh với mật số  $10^8$  CFU/mL ( $OD_{600}=0,5$ ) vào 9 mL môi trường PDB. Sau đó, vi khuẩn được nuôi tăng sinh ở nhiệt độ 30°C trên máy lắc ngang 200 vòng/phút. Sau 24 giờ, dịch tăng sinh thu được sử dụng cho các khảo sát tiếp theo.

### Định lượng polyphenol tổng

Hàm lượng polyphenol tổng (TFC) được xác định theo phương pháp của Singleton et al. (1999) có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 250  $\mu$ L dịch tăng sinh của vi khuẩn nội sinh trong 250  $\mu$ L nước khử ion và 250  $\mu$ L thuốc thử Folin-Ciocalteu, được lắc đều. Sau đó, 250  $\mu$ L  $Na_2CO_3$  10% được thêm vào hỗn hợp, ủ 30 phút ở 40°C trong bể điều nhiệt. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 765 nm. Gallic acid được sử dụng như chất đối chứng dương để xây dựng phương trình đường chuẩn. Hàm lượng polyphenol trong dịch ngoại bào được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn gallic acid.

### Định lượng flavonoid tổng

Hàm lượng flavonoid toàn phần (TFC) được xác định bằng phương pháp so màu  $AlCl_3$  của Sultana et al. (2007) có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 1 mL dịch ngoại bào pha trong 1 mL nước rồi được lắc đều. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được thêm vào 200  $\mu$ L  $NaNO_2$  5%, sau 5 phút tiếp tục được thêm 200  $\mu$ L  $AlCl_3$  10% và được lắc đều. Hỗn hợp phản ứng sau khi ủ 6 phút sẽ được thêm 2 mL NaOH 1 M. Cuối cùng, nước được thêm vào cho đủ 5 mL và đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 510 nM. Quercetin được sử dụng như chất đối chứng dương. TFC toàn phần trong dịch ngoại bào được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn quercetin (QE).

### Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa tổng số (Total antioxidant capacity, TAC)

Hoạt tính kháng oxy hóa tổng số của dịch tăng sinh vi khuẩn được đánh giá theo thử nghiệm được báo cáo bởi Nazir et al. (2020) được sử dụng để kiểm tra khả năng chống oxy hóa tổng thể của các mẫu. Trong thí nghiệm, 100  $\mu$ L mẫu dịch ngoại bào và 900 mL thuốc thử TAC (acid sunfuric 0,6 M, sodium phosphate 28 mM và amonium molybdate 4 mM) được cho vào các ống eppendorf. Hỗn hợp phản ứng được đặt trong bể ủ nhiệt ở 90°C trong 90 phút, sau đó được làm mát ở nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ của các mẫu được đo ở bước sóng 695nm. Hàm lượng chất kháng oxy hóa tổng được xác định là tương đương với miligam vitamin C trên một mL dịch ngoại bào (mg vitamin C/mL dịch ngoại bào).

### Khảo sát năng lực khử (Reducing Power, RP)

Khả năng khử (RP) của dịch ngoại bào từ vi khuẩn nội sinh được thực hiện theo mô tả bởi Chaves et al., (2020), có hiệu chỉnh. 500 µL dịch ngoại bào được cho vào 500 µL đệm phosphate (0,2 mM, pH 6,6), tiếp theo, 500 µL potassium ferrocyanide 1% được cho vào hỗn hợp, hỗn hợp được giữ 20 phút ở 50°C trong bể ủ. Sau đó, 500 µL trichloroacetic acid 10% được bổ sung, hỗn hợp được ly tâm 3000 vòng/10 phút; 500 µL lớp trên được lấy cho vào eppendorf, 500 µL nước cất được bổ sung và 100 µL FeCl<sub>3</sub> 0,1%. Hỗn hợp phản ứng được đo độ hấp thụ ở bước sóng 700 nm. Hàm lượng chất có năng lực khử được xác định là tương đương với miligam vitamin C trên một mL dịch ngoại bào (mg vitamin C/mL dịch ngoại bào).

*Khảo sát khả năng đối kháng sinh học*

Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết được xác định bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch theo mô tả của Oonmetta-Aree et al. (2006). Dịch nuôi vi khuẩn được pha loãng trong nước muối sinh lý tương đương độ đục ≥0,5 Mc Farland (mật số vi khuẩn là 10<sup>7</sup>), được trải đều trên môi trường LB. Đĩa thạch được để khô 15 phút trước khi đục lỗ giếng thạch có đường kính 6 mm. Dịch tăng sinh của vi khuẩn được bổ sung vào giếng thạch với thể tích 100 µl. Kháng sinh tetracycline được sử dụng như đối chứng dương và được pha loãng bằng nước thành nồng độ 80 µg/mL. Các đĩa thạch được ủ ở 37°C trong 24 - 48 giờ. Đường kính vùng ức chế được đo bằng thước đo đơn vị mm. Bên cạnh đó, khả năng đối kháng sinh học của các dòng vi khuẩn được đánh giá theo quy ước của Galindo (2004). Theo đó vòng vô khuẩn ≥20 mm thì được xem là có khả năng đối kháng mạnh, ≥6 mm có khả năng đối kháng trung bình và ≥1 mm là đối kháng yếu.

*2.2.4. Định danh một số dòng vi khuẩn nội sinh trong cây mắc cỡ tàn dư.*

Các dòng vi khuẩn nội sinh có khả năng sản sinh các hợp chất kháng oxy hóa mạnh được lựa chọn để xác định tên khoa học bằng cách áp dụng một số kỹ thuật sinh học phân tử nhằm giải trình tự gene *16S rRNA*. Kết hợp với các đặc điểm hình thái khuẩn lạc để xác định tên khoa học của các dòng vi khuẩn nội sinh. So sánh với cơ sở dữ liệu *16S rRNA* trên ngân hàng gene (Genbank) để xây dựng sơ đồ phả hệ của những vi khuẩn đã tuyển chọn. Các chủng vi khuẩn nội sinh được ly trích DNA và giải trình tự gene *16S rRNA* tại Công ty TNHH DNA SEQUECING (địa chỉ: U34C Đường số 6, KĐT Hưng Phú, phường Hưng Thạnh, quận Cái Răng, TP. Cần Thơ). Đoạn môi được sử dụng để giải trình tự gene *16S rRNA* có trình tự xác định như sau:

27F (5'-AGAGGTTTGATCCTGGCTC-3') và 1492R (5'-TACGGTTACCTTGTTAACGACT-3') (Frank et al., 2008)

**2.3. Phân tích và xử lý số liệu**

Dữ liệu thu được xử lý bằng phần mềm Excel và xử lý thống kê bằng phần mềm Minitab 16. Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ±SE (sai số chuẩn). Các giá trị trung bình được kiểm định bằng phép thử Tukey's để kiểm tra sự khác biệt (p<0,05).

**3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1. Kết quả phân lập các dòng vi khuẩn nội sinh trong cây mắc cỡ tàn dư.**

Cây mắc cỡ tàn dư được thu tại núi Cẩm, huyện Tịnh Biên, tỉnh An Giang. Từ các bộ phận của cây gồm lá, thân, hoa và rễ phân lập được 30 dòng vi khuẩn. Từ lá phân lập được 10 dòng vi khuẩn, từ hoa phân lập được 10 dòng vi khuẩn và từ rễ phân lập được 10 dòng vi khuẩn, kết quả được trình bày trong Bảng 1.

**Bảng 1. Kết quả phân lập các dòng vi khuẩn nội sinh trong cây mắc cỡ tàn dư**

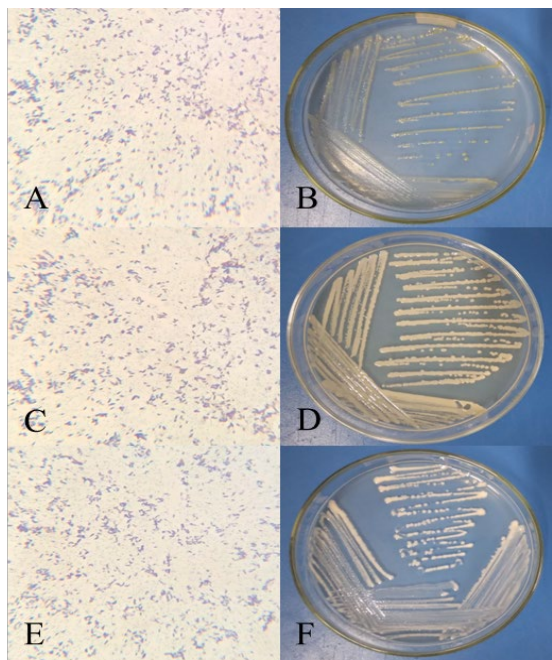
Địa điểm	Mẫu	Ký hiệu	Số dòng
An Giang	Lá (Leaf)	BS-L	10
	Hoa (Flower)	BS-F	10
	Rễ (Root)	BS-R	10
<b>Tổng</b>			<b>30</b>

**Bảng 2. Bảng mô tả đặc điểm hình thái của các dòng vi khuẩn phân lập được**

Chỉ tiêu	Mô tả	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Hình dạng khuẩn lạc	Tròn nhỏ (<2mm)	16	53,33
	Tròn lớn (≥2mm)	14	46,67
Hình dạng tế bào	Que	30	100
Gram	Âm	25	83,33
	Dương	5	16,67
Màu sắc	Trắng	27	90
	Vàng	3	10
Độ nổi	Mô	20	66,67
	Lài	10	33,33
Bìa	Nguyên	25	83,33
	Răng cưa	5	16,67

Trong 30 dòng vi khuẩn được phân lập thì tế bào dạng hình que chiếm 100% dòng vi khuẩn, vi khuẩn Gram dương chiếm 16,67% và vi khuẩn Gram âm chiếm 83,33%. Tất cả vi khuẩn phân lập được đều có khuẩn lạc dạng tròn chiếm 100%. Các dòng vi khuẩn phân lập được có 2 màu gồm trắng và vàng,

trong đó có 27 dòng vi khuẩn có màu trắng chiếm 90% và có 3 dòng vi khuẩn có màu vàng chiếm 10%. Tóm lại, kết quả phân lập vi khuẩn cho thấy các dòng vi khuẩn trong cây mắc cỡ tàn dư khá đa dạng. Hình 2 dưới đây trình bày một số đặc điểm hình thái của một số dòng vi khuẩn đặc trưng được phân lập trong cây mắc cỡ tàn dư. Ở hình 2A và 2B mô tả đặc điểm của dòng BS-R1 cho thấy một số đặc điểm như là màu trắng, khuẩn lạc hình tròn và Gram dương. Hình 2C và 2D mô tả đặc điểm của dòng BS-F8 cho thấy khuẩn lạc có màu vàng, hình tròn và Gram dương. Cuối cùng là hình 2E và 2F mô tả đặc điểm dòng BS-L1 cho ta thấy khuẩn lạc màu trắng, hình tròn và cũng là Gram dương.



**Hình 2. Một số dòng vi khuẩn nội sinh đặc trưng trên môi trường PDA**

Ghi chú: A-B: hình nhuộm Gram (+) và đặc điểm hình thái của dòng vi khuẩn BS-R1; C-D: hình nhuộm Gram (+) và đặc điểm hình thái của dòng vi khuẩn BS-F8; E-F: hình nhuộm Gram (+) và đặc điểm hình thái của dòng vi khuẩn BS-L1.

### 3.2. Khảo sát khả năng sản sinh chất kháng oxy hóa

Kết quả về hàm lượng TPC và TFC được thể hiện ở Bảng 4 cho thấy các dòng vi khuẩn đều có thể sản sinh ra polyphenol và flavonoid. Tuy nhiên, hàm lượng polyphenol tổng số giữa các dòng vi khuẩn cho thấy không đồng đều nhau. Năng lực khử (RP) của dòng BS-L1 cho hàm lượng polyphenol cao nhất đạt 5210,4±103,3 mg GAE/mL dịch ngoại bào. Kế

đến là dòng BS-R1 và BS-F8 lần lượt cho hàm lượng polyphenol vượt ngưỡng các dòng khác là 4380,7±95,0 và 4306,7±94,3 mg GAE/mL dịch ngoại bào. Bên cạnh những dòng cho hàm lượng polyphenol khác biệt hơn những dòng còn lại, cũng có những dòng cho thấy khả năng sản sinh polyphenol có phần kém hơn là dòng BS-F2 với số liệu cho thấy là 388,1±55,1 mg GAE/mL dịch ngoại bào, BS-F7 với 380,7±55,0 mg GAE/mL dịch ngoại bào và thấp nhất là dòng BS-F9 với 336,3±54 mg GAE/mL dịch ngoại bào. Bên cạnh đó, hàm lượng flavonoid cũng cho thấy điều tương tự như hàm lượng polyphenol của các dòng vi khuẩn này. Cụ thể với sự khác biệt ở độ tin cậy 95% thì hàm lượng flavonoid đạt cao nhất ở các dòng BS-F8, BS-R1 và cao nhất là dòng BS-L1 lần lượt là 145,75±2,15, 149,74±1,27 và 166,51±2,36 mg QE/mL dịch ngoại bào. Các dòng BS-F9, BS-F10 và BS-L4 thì cho thấy hàm lượng flavonoid sinh ra là thấp nhất trong các dòng được khảo sát là 7,33±0,44, 7,08±0,76 và 6,13±0,75 mg QE/mL dịch ngoại bào

Bên cạnh khả năng sản sinh polyphenol và flavonoid, xét về khả năng kháng oxy hóa của các dòng vi khuẩn nội sinh, có thể thấy cụ thể với sự khác biệt ở độ tin cậy 95% cho thấy hàm lượng chất kháng oxy hóa ở phương pháp TAC và RP của dòng BS-L1 ở các giá trị lần lượt là 569,94±7,84 và 1287,6±20,1. Bên cạnh đó dòng vi khuẩn có khả năng sản sinh hàm lượng chất kháng oxy hóa thấp nhất lần lượt tương ứng với phương pháp TAC và RP là BS-L9 và BS-L5 với hàm lượng ở giá trị 17,53±2,32 và 44,4±7,6 mg vitamin C/mL dịch ngoại bào. Khi so sánh giữa các dòng, có thể nhận thấy hàm lượng chất kháng oxy hóa tổng (TAC) tạo ra ở dòng BS-L1 cao gấp 32 lần so với dòng BS-L9 và cao gấp 29 lần so với dòng BS-R5. Ngoài dòng vi khuẩn BS-L1 từ cây mắc cỡ tàn dư có khả năng sản sinh chất kháng oxy hóa cao nhất thì còn có 2 dòng vi khuẩn có khả năng sinh chất kháng oxy hóa cao là dòng BS-R1, với giá trị hàm lượng chất kháng oxy hóa tạo ra lần lượt là 494,15±7,08 và 1193,5±19,1 mg vitamin C/mL dịch ngoại bào. Dòng vi khuẩn còn lại là BS-F8 với giá trị lần lượt là 496,67±7,11 và 1187,6±19,1 mg vitamin C/mL dịch ngoại bào. Qua quá trình phân tích khả năng sản sinh các hợp chất kháng oxy hóa của các dòng vi khuẩn nội sinh trong cây mắc cỡ tàn dư, dòng vi khuẩn BS-R1, BS-L1 và BS-F8 thể hiện hoạt tính cao hơn các dòng vi khuẩn còn lại của nghiên cứu, vì thế 3 dòng BS-R1, BS-L1 và BS-F8 được tuyển chọn và định danh để phục vụ tiếp các nghiên cứu sau này.

**Bảng 4. Kết quả khả năng sản sinh chất có khả năng kháng oxy hóa của các dòng vi khuẩn nội sinh trong cây mắc cỡ tàn dư**

Dòng vi khuẩn	Hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương chất chuẩn (mg/mL dịch ngoại bào)			
	TPC	TFC	TAC	RP
BS-R1	4380,7±95,0 <sup>b</sup>	149,74±1,27 <sup>b</sup>	494,15±7,08 <sup>b</sup>	1193,5±19,1 <sup>b</sup>
BS-R2	2758,5±78,8 <sup>e</sup>	25,94±0,95 <sup>ij</sup>	411,67±6,26 <sup>c</sup>	800,1±15,2 <sup>c</sup>
BS-R3	3114,1±82,4 <sup>d</sup>	25,00±0,94 <sup>ik</sup>	349,62±5,64 <sup>f</sup>	218,7±9,4 <sup>hi</sup>
BS-R4	3714,1±88,4 <sup>c</sup>	26,89±0,96 <sup>ij</sup>	354,79±5,69 <sup>ef</sup>	119,7±8,4 <sup>o</sup>
BS-R5	1432,9±38,0 <sup>h</sup>	15,57±0,85 <sup>no</sup>	369,41±5,84 <sup>de</sup>	118,8±4,9 <sup>o</sup>
BS-R6	1128,9±62,5 <sup>i</sup>	41,04±1,10 <sup>fg</sup>	168,14±3,82 <sup>jk</sup>	207,1±9,3 <sup>hijk</sup>
BS-R7	1240,0±63,6 <sup>hi</sup>	65,57±1,35 <sup>d</sup>	137,25±3,52 <sup>l</sup>	212,2±5,4 <sup>hij</sup>
BS-R8	1077,0±62,0 <sup>i</sup>	53,30±1,23 <sup>e</sup>	116,60±3,31 <sup>n</sup>	132,3±8,5 <sup>no</sup>
BS-R9	1240,0±63,6 <sup>hi</sup>	11,79±0,81 <sup>pqr</sup>	179,41±3,94 <sup>j</sup>	487,8±12,1 <sup>d</sup>
BS-R10	1396,0±37,8 <sup>h</sup>	22,17±0,92 <sup>kl</sup>	124,34±3,39 <sup>lmn</sup>	140,5±8,6 <sup>no</sup>
BS-F1	2921,5±80,4 <sup>de</sup>	8,02±0,77 <sup>stu</sup>	153,79±3,68 <sup>k</sup>	265,4±9,9 <sup>fg</sup>
BS-F2	388,1±55,1 <sup>lmn</sup>	18,40±0,88 <sup>mn</sup>	159,87±3,74 <sup>k</sup>	150,0±8,7 <sup>lmno</sup>
BS-F3	1225,2±63,5 <sup>hi</sup>	9,91±0,79 <sup>rst</sup>	217,65±4,32 <sup>i</sup>	491,4±12,1 <sup>d</sup>
BS-F4	573,3±57,0 <sup>klm</sup>	13,68±0,83 <sup>opq</sup>	282,79±4,97 <sup>g</sup>	274,9±9,9 <sup>f</sup>
BS-F5	521,5±56,4 <sup>klmn</sup>	39,15±1,08 <sup>g</sup>	249,67±4,64 <sup>h</sup>	474,9±6,9 <sup>d</sup>
BS-F6	603,0±57,3 <sup>kl</sup>	13,96±0,48 <sup>opq</sup>	136,68±3,51 <sup>lm</sup>	215,5±5,4 <sup>hi</sup>
BS-F7	380,7±55,0 <sup>mn</sup>	10,17±0,46 <sup>rst</sup>	137,93±3,52 <sup>l</sup>	156,9±8,8 <sup>lmn</sup>
BS-F8	4306,7±94,3 <sup>b</sup>	145,75±2,15 <sup>c</sup>	496,67±7,11 <sup>b</sup>	1187,6±19,1 <sup>b</sup>
BS-F9	336,3±54,6 <sup>n</sup>	7,33±0,44 <sup>tu</sup>	121,26±3,36 <sup>n</sup>	239,9±9,6 <sup>gh</sup>
BS-F10	706,7±58,3 <sup>jk</sup>	7,08±0,76 <sup>tu</sup>	130,79±3,45 <sup>lmn</sup>	180,1±9,0 <sup>ikl</sup>
BS-L1	5210,4±103,3 <sup>a</sup>	166,51±2,36 <sup>a</sup>	569,94±7,84 <sup>a</sup>	1287,6±20,1 <sup>a</sup>
BS-L2	1780,7±69,0 <sup>g</sup>	21,23±0,91 <sup>lm</sup>	287,65±5,02 <sup>g</sup>	220,4±9,4 <sup>hi</sup>
BS-L3	2180,7±73,0 <sup>f</sup>	10,85±0,80 <sup>qrs</sup>	120,56±3,35 <sup>n</sup>	387,1±11,1 <sup>e</sup>
BS-L4	1847,4±69,7 <sup>g</sup>	6,13±0,75 <sup>u</sup>	289,62±5,04 <sup>g</sup>	194,4±9,1 <sup>ijk</sup>
BS-L5	847,4±59,7 <sup>l</sup>	12,74±0,82 <sup>opqr</sup>	296,39±5,11 <sup>g</sup>	44,4±7,6 <sup>p</sup>
BS-L6	647,4±57,7 <sup>jk</sup>	33,49±1,03 <sup>h</sup>	370,61±5,85 <sup>d</sup>	142,3±8,6 <sup>mno</sup>
BS-L7	672,5±33,6 <sup>jk</sup>	42,92±1,12 <sup>f</sup>	122,09±3,36 <sup>mn</sup>	219,4±5,4 <sup>hi</sup>
BS-L8	724,1±33,9 <sup>jk</sup>	19,34±0,89 <sup>lm</sup>	127,92±3,42 <sup>lmn</sup>	178,6±9,0 <sup>ikl</sup>
BS-L9	712,0±67,8 <sup>jk</sup>	28,77±0,98 <sup>i</sup>	17,53±2,32 <sup>p</sup>	174,8±8,9 <sup>klm</sup>
BS-L10	623,7±66,8 <sup>k</sup>	14,62±0,84 <sup>op</sup>	36,33±2,5 <sup>o</sup>	66,0±7,9 <sup>p</sup>

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng một cột có cùng ký tự thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở độ tin cậy 95% ( $p < 0,05$ )

**3.3. Kết quả khảo sát khả năng đối kháng sinh học**

Ba mươi dòng vi khuẩn nội sinh đã phân lập được tiến hành đánh giá khả năng kháng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus* và *Listeria innocua* bằng phương pháp đĩa thạch sau 24 giờ ủ ở 37°C, quan sát kết quả ở Bảng 5. Khả năng tạo vòng vô khuẩn của dịch nuôi tăng sinh vi khuẩn nội sinh có hoạt tính tốt nhất được trình bày trong Hình 3.

Trong tổng số 30 dòng vi khuẩn nội sinh phân lập được, có 20/30 dòng (66,67%) có khả năng kháng vi khuẩn *V. parahaemolyticus*, tạo vòng vô khuẩn >1 mm xung quanh khoanh đĩa thạch có trải vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Kết quả này cho thấy

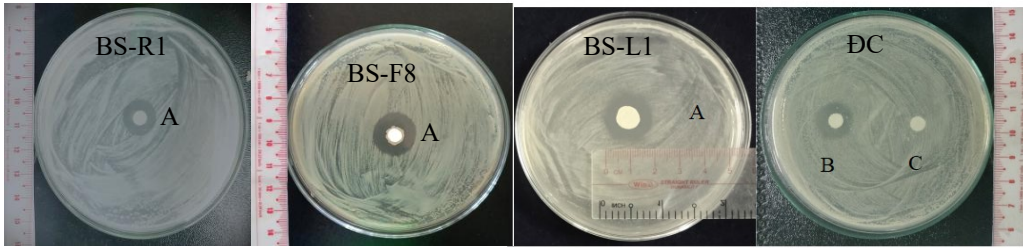
các dòng vi khuẩn nội sinh trên có thể trở thành đối tượng tiềm năng trong các nghiên cứu được ứng dụng vào điều trị các bệnh hoặc các tổn hại do vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây ra, hoặc nếu tốt hơn là ứng dụng vào điều trị các bệnh do chi khuẩn *Vibrio* gây ra.

Trong tổng số 30 dòng vi khuẩn nội sinh phân lập được, có 10/30 (33,33%) có khả năng kháng vi khuẩn *S. aureus* tạo vòng vô khuẩn > 1 mm xung quanh đĩa thạch có trải vi khuẩn *S. aureus*.

Có 21/30 dòng vi khuẩn, chiếm 70% có khả năng kháng vi khuẩn *L. innocua*, tạo vòng vô khuẩn > 1 mm xung quanh đĩa thạch có trải vi khuẩn *L. innocua*.

Kháng sinh tetracyclin 80 µg/mL có khả năng kháng trên vi khuẩn *V. parahaemolyticus* với đường kính vòng vô khuẩn là 17,0±0,38 (mm), đối với vi

khẩn *S. aureus* với đường kính vòng vô khuẩn là 14,0±0,5 (mm), đối với vi khuẩn *L. innocua* với đường kính vòng vô khuẩn là 14,0±0,7 (mm).



**Hình 3. Đường kính vòng vô khuẩn của dòng vi khuẩn nội sinh BS-R1, BS-F8 và BS-L1 ở cây mắc cở tàn dư trên vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus***

Ghi chú: A- Đường kính vòng vô khuẩn của dịch tăng sinh; B- Đường kính vòng vô khuẩn của đối chứng dương; C- Đường kính vòng vô khuẩn của đối chứng âm PDB.

**Bảng 5. Đường kính vòng vô khuẩn của các dòng vi khuẩn nội sinh với 3 dòng vi khuẩn bệnh *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus* và *Listeria innocua***

STT	Mẫu tự	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)		
		<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. innocua</i>
1	BS-R1	10,0±0,4 <sup>a</sup>	17,0±0,75 <sup>b</sup>	10,0±0,5 <sup>b</sup>
2	BS-R2	-	4,0±0,2 <sup>ef</sup>	3,2±0,16 <sup>gh</sup>
3	BS-R3	3,0±0,15 <sup>fg</sup>	4,4±0,22 <sup>e</sup>	3,0±0,15 <sup>gh</sup>
4	BS-R4	-	-	-
5	BS-R5	-	-	-
6	BS-R6	-	-	4,0±0,2 <sup>f</sup>
7	BS-R7	3,6±0,18 <sup>ef</sup>	-	-
8	BS-R8	4,3±0,22 <sup>d</sup>	3,1±0,16 <sup>g</sup>	3,0±0,15 <sup>gh</sup>
9	BS-R9	-	3,0±0,15 <sup>g</sup>	-
10	BS-R10	-	-	-
11	BS-F1	5,1±0,26 <sup>e</sup>	-	3,0±0,15 <sup>gh</sup>
12	BS-F2	4,0±0,2 <sup>de</sup>	-	3,3±0,17 <sup>fg</sup>
13	BS-F3	2,0±0,10 <sup>h</sup>	-	2,0±0,10 <sup>i</sup>
14	BS-F4	3,0±0,15 <sup>fg</sup>	-	2,5±0,13 <sup>hi</sup>
15	BS-F5	-	-	-
16	BS-F6	4,1±0,21 <sup>de</sup>	3,0±0,15 <sup>g</sup>	5,3±0,27 <sup>de</sup>
17	BS-F7	4,1±0,21 <sup>de</sup>	3,3±0,17 <sup>fg</sup>	3,7±0,19 <sup>fg</sup>
18	BS-F8	8,0±0,35 <sup>b</sup>	7,0±0,35 <sup>d</sup>	5,8±0,29 <sup>d</sup>
19	BS-F9	4,0±0,2 <sup>de</sup>	-	4,0±0,20 <sup>f</sup>
20	BS-F10	4,2±0,21 <sup>de</sup>	3,3±0,17 <sup>fg</sup>	3,4±0,17 <sup>fg</sup>
21	BS-L1	7,0±0,35 <sup>b</sup>	10,0±0,5 <sup>c</sup>	9,0±0,45 <sup>c</sup>
22	BS-L2	3,0±0,15 <sup>fg</sup>	-	3,0±0,15 <sup>gh</sup>
23	BS-L3	3,2±0,16 <sup>f</sup>	-	3,5±0,18 <sup>fg</sup>
24	BS-L4	2,5±0,13 <sup>gh</sup>	-	2,0±0,1 <sup>i</sup>
25	BS-L5	-	-	3,0±0,15 <sup>gh</sup>
26	BS-L6	5,3±0,27 <sup>c</sup>	-	-
27	BS-L7	-	-	-
28	BS-L8	5,0±0,25 <sup>c</sup>	-	3,1±0,16 <sup>gh</sup>
29	BS-L9	-	-	-
30	BS-L10	4,0±0,2 <sup>de</sup>	-	5,0±0,25 <sup>e</sup>
ĐC	Tetracyclin 80µg/mL	17,0±0,375 <sup>ab</sup>	14,0±0,5 <sup>a</sup>	14,0±0,7 <sup>a</sup>
ĐC	PDB	-	-	-

Ghi chú: Các ký tự theo sau trong cùng một cột giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa ở mức 5% ( $p > 0,05$ ); (-) không ức chế.

Qua quá trình phân tích khả năng đối kháng sinh học của các dòng vi khuẩn nội sinh trong cây mắc cỡ tàn dư với vi khuẩn gây bệnh, dòng vi khuẩn BS-L1, BS-F8 và BS-R1 thể hiện hoạt tính đối kháng hiệu quả đối với ba dòng vi khuẩn *S. aureus*, *L. innocua* và *V. parahaemolyticus*; có khả năng tạo vòng vô khuẩn có đường kính to hơn các chủng vi khuẩn còn lại ở dòng vi khuẩn BS-L1; có khả năng tạo vòng vô khuẩn ở ba dòng vi khuẩn gây bệnh *S. aureus*, *L. innocua* và *V. parahaemolyticus*. Đường kính vòng vô khuẩn lần lượt là  $7,0 \pm 0,35$ ;  $10,0 \pm 0,5$ ;  $9,0 \pm 0,45$  (mm). Dòng vi khuẩn BS-F8 có khả năng tạo vòng vô khuẩn ở ba dòng vi khuẩn gây bệnh *S. aureus*, *L. innocua* và *V. parahaemolyticus*, đường kính vòng vô khuẩn lần lượt là  $8,0 \pm 0,35$ ;  $7,0 \pm 0,35$ ;  $5,8 \pm 0,29$  (mm). Ở vòng vi khuẩn BS-R1 có khả năng tạo vòng vô khuẩn ở ba dòng vi khuẩn gây bệnh *S. aureus*, *L. innocua* và *V. parahaemolyticus*, đường kính vòng vô khuẩn lần lượt là  $10,0 \pm 0,4$ ;

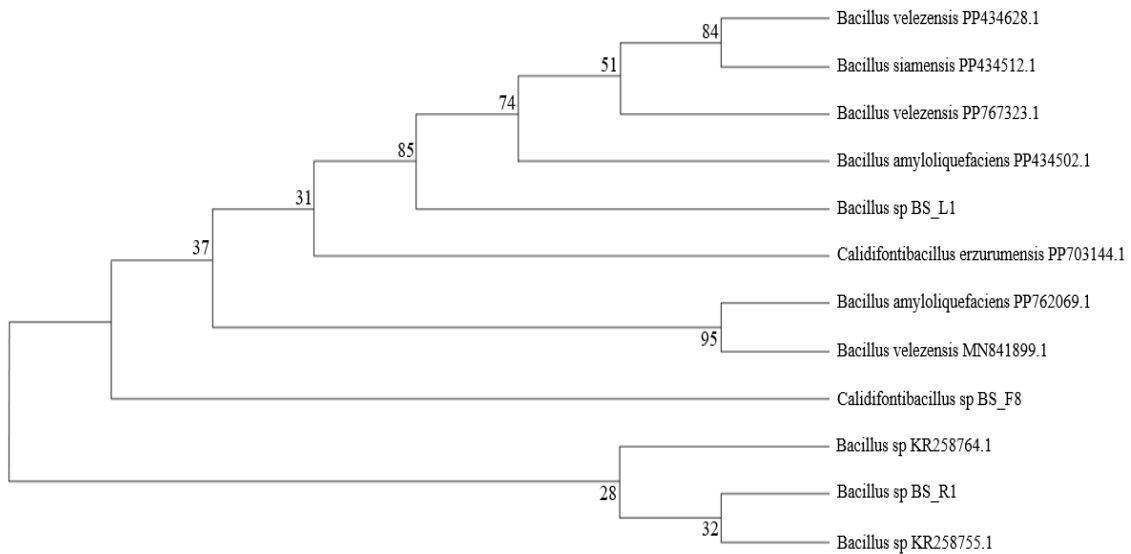
$17,0 \pm 0,75$ ;  $10,0 \pm 0,5$  (mm) và cho thấy quá trình sinh trưởng ổn định hơn so với các chủng vi khuẩn nội sinh còn lại. Dịch tăng sinh của ba dòng vi khuẩn nội sinh BS-L1, BS-F8 và BS-R1 đều có khả năng đối kháng tốt với dòng vi khuẩn gây bệnh được thể hiện ở Bảng 5.

**3.4. Kết quả định danh một số dòng vi khuẩn nội sinh trong cây mắc cỡ tàn dư.**

Dựa vào các nghiên cứu trên, có 3 dòng vi khuẩn BS-R1, BS-L1 và BS-F8 thể hiện hoạt tính mạnh hơn các dòng vi khuẩn còn lại trong nghiên cứu nên đã được chọn để trích DNA và giải trình tự đoạn gene *16S rRNA*. Dựa vào các đặc điểm về hình thái khuẩn lạc và tế bào của vi khuẩn kết hợp với kết quả giải trình tự đoạn gene *16S rRNA*, xác định chủng vi khuẩn BS-R1 và BS-L1 thuộc chi *Bacillus*, BS-F8 thuộc chi *Calidifontibacillus*. Kết quả so sánh trình tự gene *16S rRNA* của 3 dòng vi khuẩn với ngân hàng gene được tóm tắt ở Bảng 6.

**Bảng 6. Kết quả định danh các dòng vi khuẩn có khả năng kháng oxy hóa cao trong cây mắc cỡ tàn dư**

Chủng vi khuẩn	Loài tương đồng	Độ dài đoạn gene	Độ phủ (%)	Mức độ tương đồng (%)	Accession number
BS-R1	<i>Bacillus</i> sp.	1550	99	99,93	NR_075005,2
BS-F8	<i>Calidifontibacillus</i> sp.	1401	99	100	NR_180225,1
BS-L1	<i>Bacillus</i> sp.	1472	99	99,93	NR_041155,1



**Hình 4. Cây phả hệ các dòng vi khuẩn nội sinh ở cây mắc cỡ tàn dư có hoạt tính mạnh**

Kết quả phân tích mối quan hệ di truyền của các dòng vi khuẩn nội sinh (Hình 4), phân tích phát sinh loài và đánh giá bằng Neighbor-Joining với 1,000 lần phân tích bootstrap, xác định các dòng vi khuẩn được định danh là *Bacillus* sp. BS-L1, *Calidifontibacillus* sp. BS-F8 và *Bacillus* sp. BS-R,

cho thấy cây phả hệ có mối di truyền giữa các dòng vi khuẩn dựa vào một phần trình tự *16s RNA* được vẽ bằng phần mềm mega11.

Kết quả cho thấy dòng vi khuẩn BS-R1, BS-L1 và BS-F8 có độ tương đồng lần lượt là 99,93%, 99,93% và 100% với các chi vi khuẩn *Bacillus* sp.



và *Calidifontibacillus* sp. Vi khuẩn thuộc chi *Bacillus* đã có nghiên cứu chứng minh liên quan đến tổng hợp các chất chuyển hóa thứ cấp, ngăn chặn mầm bệnh và thúc đẩy tăng trưởng thực vật (Logan & Vos, 2015). Bên cạnh đó thì có nghiên cứu về khả năng kháng khuẩn và kháng nấm của vi khuẩn thuộc chi *Bacillus* để ứng dụng trong việc bảo quản thực phẩm (Tran et al., 2022). Vi khuẩn *Calidifontibacillus* sp. đã được nghiên cứu nhiều về khả năng kháng khuẩn, bao gồm *Escherichia coli* và *Staphylococcus aureus* (Adiguzel et al., 2020). Từ các kết quả trên có thể thấy cây mắc cỡ tàn dư mang các vi khuẩn nội sinh có thể phân lập và nuôi cấy trong điều kiện *in vitro*. Dịch tăng sinh sau quá trình nuôi cấy có chứa các hoạt chất polyphenol và flavonoid, thể hiện hoạt tính đối kháng sinh học trên một số loài vi khuẩn. Bên cạnh đó, nghiên cứu này còn cung cấp thêm dữ liệu về tiềm năng ứng dụng của nhóm vi khuẩn nội sinh, như một nhân tố có khả năng tổng hợp các chất đối kháng tự nhiên hoặc có thể nhân mật số ngoài cơ thể cây chủ để thu nhận các hợp chất thứ cấp tiềm năng.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abu-Lafi, S., Rayan, B., Kadan, S., Abu-Lafi, M., & Rayan, A. (2019). Anticancer activity and phytochemical composition of wild *Gundelia tournefortii*. *Oncology Letters*, 17(1), 713-717. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.9602>
- Adiguzel, A., Ay, H., Baltaci, M. O., Akbulut, S., Albayrak, S., & Omeroglu, M. A. (2020). Genome-based classification of *Calidifontibacillus erzurumensis* gen. nov., sp. nov., isolated from a hot spring in Turkey, with reclassification of *Bacillus azotoformans* as *Calidifontibacillus azotoformans* comb. nov. and *Bacillus oryzae* as *Calidifontibacillus oryzae* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(12), 6418-6427. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004549>
- Anjum, N., & Chandra, R. (2015). Endophytic bacteria: optimization of isolation procedure from various medicinal plants and their preliminary characterization. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8(4), 233-238.
- Basu, P., & Maier, C. (2016). In vitro antioxidant activities and polyphenol contents of seven commercially available fruits. *Pharmacognosy Research*, 8(4), 258. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.188875>
- Beiranvand, M., Amin, M., Hashemi-Shahraki, A., Romani, B., Yaghoubi, S., & Sadeghi, P. (2017). Antimicrobial activity of endophytic bacterial

#### 4. KẾT LUẬN

Từ cây mắc cỡ tàn dư đã phân lập được 30 dòng vi khuẩn nội sinh có khả năng kháng oxy hóa và đối kháng sinh học. Các dòng vi khuẩn BS-R1, BS-L1 và BS-F8 có khả năng kháng oxy hóa và đối kháng vượt trội so với các dòng vi khuẩn khác phân lập được. Kết quả so sánh đoạn gene 16S rRNA cho thấy dòng BS-R1 và BS-L1 tương đồng với chi *Bacillus* với độ tương đồng là 99,93%, dòng BS-F8 tương đồng với chi *Calidifontibacillus* với chỉ số tương đồng là 100%. Kết quả nghiên cứu là tiền đề cho các nghiên cứu ứng dụng vi khuẩn nội sinh khai thác hợp chất thiên nhiên có hoạt tính kháng oxy hóa và kháng khuẩn bên cạnh nguồn tài nguyên thực vật được sử dụng rộng rãi hiện nay.

#### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được hỗ trợ một phần kinh phí từ Bộ Giáo dục và Đào tạo Việt Nam, thông qua đề tài mã số B2023-TCT-02.

populations isolated from medical plants of Iran. *Iranian Journal of Microbiology*, 9(1), 11. <http://ijm.tums.ac.ir/index.php/ijm/article/view/1018/695>

- Castillo, U. F., Strobel, G. A., Ford, E. J., Hess, W. M., Porter, H., Jensen, J. B., ... & Yaver, D. (2002). Munumbicins, wide-spectrum antibiotics produced by *Streptomyces NRRL 30562*, endophytic on *Kennedia nigricans*. *Microbiology*, 148(9), 2675-2685. <https://doi.org/10.1099/00221287-148-9-2675>
- Chang, H. C., Huang, G. J., Agrawal, D. C., Kuo, C. L., Wu, C. R., & Tsay, H. S. (2007). Antioxidant activities and polyphenol contents of six folk medicinal ferns used as "Gusuibu". *Botanical Studies*, 48(4), 397-406.
- Chaves, N., Santiago, A., & Alías, J. C. (2020). Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: Analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used. *Antioxidants*, 9(1), 76. <https://doi.org/10.3390/antiox9010076>
- Điệp, C. N., & Dũng, N. T. (2010). Đặc tính vi khuẩn nội sinh phân lập trong cây khóm trồng trên đất phèn vĩnh thuận, tỉnh kiên giang. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, (15a), 54-63.
- Frank, J.A., Reich, C.I., Sharma, S., Weisbaum, J.S., Wilson, B.A., and Olsen, G.J., 2008. Critical evaluation of two primers commonly used for amplification of bacterial 16S rRNA genes. *Applied*

- and *Environmental Microbiology*, 74(8), 2461-2470. <https://doi.org/10.1128/AEM.02272-07>
- Galindo, A. B. (2004). *Lactobacillus plantarum 44A as a live feed supplement for freshwater fish*. Wageningen University and Research.
- Lan, B. N., Nam, N. H., & Khanh, N. C. (2021). STRESS OXY HÓA VỚI UNG THƯ. *Tạp chí Nhi khoa*, 14(4). <https://doi.org/10.52724/tcnk.v14i4>
- Chính, H. L. (2007). *Vi sinh vật Y học*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
- Logan, N. A., & Vos, P. D. (2015). *Bacillus*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-163. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00530>
- Luis, M., M., Marcela, A., S., Salette, R., José, L., F., C., L., & António, O., S., S., R. (2006). Automatic method for the determination of Folin-Ciocalteu reducing capacity in food products. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 54, 5241-5246. <https://doi.org/10.1021/jf060324s>
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- Nazir, S., Jan, H., Tungmunnithum, D., Drouet, S., Zia, M., Hano, C., & Abbasi, B. H. (2020). Callus culture of Thai basil is an effective biological system for the production of antioxidants. *Molecules*, 25(20), 4859. <https://doi.org/10.3390/molecules25204859>
- Nguyễn Thị Sao Mai, Dương Thị Thanh Thảo và Đỗ Thị Xuyên. 2013. *Chi sinh diệp – Biophytum DC. (Oxalidaceae) ở Việt Nam*. Hội nghị khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên lần thứ 5, 5: 159-160.
- Oonmetta-aree, J., Suzuki, T., Gasaluck, P., & Eumkeb, G. (2006). Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*. *LWT-Food Science and Technology*, 39(10), 1214-1220. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.06.015>
- Raza, A., & Sood, G. K. (2014). Hepatocellular carcinoma review: current treatment, and evidence-based medicine. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 20(15), 4115. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i15.4115>
- Sakthivel, K. M., & Guruvayoorappan, C. (2012). *Biophytum sensitivum*. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 3(2), 83-91. <https://doi.org/10.4103/2231-4040.97279>
- Seo, W. T., Lim, W. J., Kim, E. J., Yun, H. D., Lee, Y. H., & Cho, K. M. (2010). Endophytic bacterial diversity in the young radish and their antimicrobial activity against pathogens. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 53, 493-503. <https://doi.org/10.3839/jksabc.2010.075>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in Enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178). Academic press. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Sultana, B., Anwar, F., & Przybylski, R. (2007). Antioxidant activity of phenolic components present in barks of *Azadirachta indica*, *Terminalia arjuna*, *Acacia nilotica*, and *Eugenia jambolana* Lam. trees. *Food Chemistry*, 104(3), 1106-1114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.019>
- Surveswaran, S., Cai, Y. Z., Corke, H., & Sun, M. (2007). Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry*, 102(3), 938-953. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.033>
- Tran, C., Cock, I. E., Chen, X., & Feng, Y. (2022). Antimicrobial *Bacillus*: metabolites and their mode of action. *Antibiotics*, 11(1), 88. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11010088>
- Võ Văn Chi. 1991. *Cây thuốc An Giang*. Nxb. Ủy ban khoa học – kỹ thuật An Giang, trang 94 - 95. <https://doi.org/10.22144/ctu.jsi.2018.072>
- Võ Văn Chi. 1991. *Cây thuốc An Giang*. Nxb. Ủy ban khoa học – kỹ thuật An Giang.