

**Phân lập, tuyển chọn chủng *bacillus* có khả năng tổng hợp
Poly gamma glutamic acid từ đất trồng rau màu ở Thái Bình**

**Đào Văn Minh^{1*}, Nguyễn Đắc Bình Minh¹, Đào Thùy Dương¹, Nguyễn Chí Dũng², Trần Liên Hà³,
Nguyễn Thị Thu¹, Tạ Thu Hằng⁴, Phan Thị Vân Anh¹, Vũ Thị Út⁵, Nguyễn Trần Dinh⁶**

¹Viện Nghiên cứu và Phát triển Vùng, Bộ KH&CN

²Trung tâm Ứng dụng tiến bộ Khoa học và Công nghệ Hà Nội

³Trường Hóa và Khoa học Sự sống – Đại học Bách Khoa Hà Nội

⁴Viện Khoa học Khí tượng Thủy văn và Biến đổi khí hậu

⁵Sở Khoa học và Công nghệ Thái Bình

⁶Công ty Cổ phần Âu Lạc Đại Hưng

**Isolation and selection Of *bacillus* ssp bacterial having the capable of
producing Poly gamma glutamic acid from vegetable soil in Thai Binh province**

**Dao Van Minh^{1*}, Nguyen Dac Binh Minh¹, Dao Thuy Duong¹, Nguyen Chi Dung², Tran Lien Ha³,
Nguyen Thi Thu¹, Ta Thu Hang⁴, Phan Thi Van Anh¹, Vu Thi Ut⁵, Nguyen Tran Dinh⁶**

¹Institute of Regional Research and Development, Ministry of Science and Technology

²Hanoi Center for Science and Technology Application

³School of Chemistry and Life Sciences, Hanoi University of Science and Technology

⁴Vietnam Institute of Meteorology, Hydrology and Climate Change

⁵Thaibinh department of Science and technology

⁶Au Lac Dai Hung joint stock company

*Corresponding author: minhdaovan87@gmail.com

<https://doi.org/10.55250/jo.vnuf.13.5.2024.003-010>

TÓM TẮT

Poly gamma glutamic acid (PGA) là một polymer có khả năng phân hủy sinh học, hòa tan trong nước và không gây độc, đơn phân gồm D và L – glutamic. PGA được tổng hợp chủ yếu từ *Bacillus*, được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực như thực phẩm, y học, chất dẻo, đặc biệt là nông nghiệp. Nghiên cứu này nhằm mục đích phân lập, tuyển chọn chủng vi khuẩn có khả năng sinh tổng hợp Poly gamma glutamic acid. Từ 30 mẫu đất canh tác rau màu thu thập tại tỉnh Thái Bình, sau khi gia nhiệt (80°C, thời gian 40 phút), đã phân lập được 14 chủng vi khuẩn trong đó 9 chủng được xác định sơ bộ thuộc chi *Bacillus* theo khoá phân loại của Bergey (1957) và kí hiệu từ TB1 đến TB9. Kết quả nghiên cứu cho thấy 9 chủng này đều có khả năng sinh PGA bằng phương pháp đo quang phổ hấp thụ. Trong đó sàng lọc được chủng TB2 có khả năng tổng hợp PGA cao nhất đạt 17,43 (mg/ml). Chủng TB2 được định danh bằng trình tự gen 16S RNA có sự tương đồng 97,73% với chủng *Bacillus velezensis* AY603658, 97,30% với chủng *Bacillus siamensis* AJVF01000043 và 97,15% với *Bacillus subtilis* ABQL01000001.

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 26/04/2024

Ngày phản biện: 28/05/2024

Ngày quyết định đăng: 19/06/2024

Từ khóa:

Bacillus ssp, phân lập,
poly gamma glutamic acid,
tuyển chọn.

Keywords:

Bacillus ssp, isolation, poly
gamma glutamic acid, selection.

ABSTRACT

Polygamma glutamic acid (PGA) is a biodegradable, water-soluble, and non-toxic polymer composed of D- and L-glutamic acid monomers. PGA is primarily synthesized by *Bacillus* species and finds applications in various sectors such as food, medicine, plastics, and notably agriculture. This study aims to isolate and screen bacterial strains capable of synthesizing Poly gamma glutamic acid. From 30 vegetable cultivation soil samples collected in Thai Binh province, following heat treatment (80°C for 40 minutes), 14 distinct bacterial

strains were isolated. Among these, 9 strains were preliminarily identified as belonging to the genus *Bacillus* based on *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (1957) and were designated as TB1 through TB9. The research findings indicated that all 9 strains could synthesize PGA, as measured by spectrophotometric absorbance. Among these, strain TB2 exhibited the highest PGA production, reaching 17.43 mg/ml. Strain TB2 was further identified through 16S rRNA gene sequencing, showing 97.73% similarity to *Bacillus velezensis* AY603658, 97.30% similarity to *Bacillus siamensis* AJVF01000043, and 97.15% similarity to *Bacillus subtilis* ABQLO1000001.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

PGA là một polymer sinh học có khả năng phân hủy sinh học, hòa tan trong nước, không độc hại, đơn phân là D và L glutamic được trùng hợp bởi các liên kết nhóm α -amino với nhóm γ -carboxyl, [1-3]. PGA được tổng hợp bởi một số trực khuẩn *Bacillus* sp. [4]. Các trực khuẩn này được phân lập từ nhiều nguồn như: thực phẩm lên men, đất và nước [3].

Poly gamma glutamic acid được ứng dụng phổ biến trong nhiều lĩnh vực như: công nghệ thực phẩm, mỹ phẩm, dược phẩm, xử lý môi trường nước và nông nghiệp. Nghiên cứu năm 2011 của NalingBai và cộng sự cho thấy PGA có thể tăng cường hiệu quả sử dụng phân bón, tăng sự đa dạng của lợi khuẩn trong đất dẫn đến thúc đẩy tăng trưởng, cải thiện năng suất bắp cải [5]. Nghiên cứu năm 2019 của Liang và cộng sự cho thấy khi bổ sung PGA lượng 80 kg/ha đã cải thiện khả năng giữ nước trong đất, thúc đẩy tăng trưởng dẫn đến năng suất bông tăng [6]. Kết quả này là do PGA tác động lên hệ thống chống chịu hạn bằng cách thúc đẩy tích lũy ABA. Nghiên cứu của Doran và Zeiss cho thấy PGA có khả năng cân bằng hiệu quả độ chua và độ kiềm của đất do sử dụng phân bón hóa học [7].

Đây là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam tập trung phân lập các chủng *Bacillus* spp từ đất canh tác rau màu có khả năng tổng hợp PGA để hướng tới mục đích ứng dụng trong lĩnh vực trồng trọt.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

2.1.1. Nguồn phân lập

30 mẫu đất vùng rễ trồng rau màu ở các xã An Mỹ - Quỳnh Phụ; Thụy Trường – Thái Thụy; Quỳnh Giao – Quỳnh Phụ, tỉnh Thái Bình. Mỗi

xã lấy mẫu tại 5 điểm, mỗi điểm lấy 2 mẫu, thời gian lấy mẫu tháng 2 năm 2022. Phương pháp lấy mẫu theo TCVN 7538 - 2:2005.

2.1.2. Hóa chất

+ Môi trường E - môi trường tổng hợp PGA [8, 9]: L-glutamic 20 (g/l); citric 12 (g/l); glycerol 20 (g/l); NH_4Cl 7 (g/l); $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 (g/l); $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,04 (g/l); K_2HPO_4 0,5 (g/l); $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,15 (g/l); $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,04 (g/l).

+ Môi trường LB - phân lập vi khuẩn: Peptone (10 g/l); cao nấm men 5 g/l; NaCl 10 g/l.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập vi khuẩn

Lấy 10 g/mẫu đất được nghiền mịn, bổ sung 90 ml nước cất vô trùng sau đó gia nhiệt ở 80°C trong 30 phút nhằm loại bỏ tế bào sinh dưỡng và các chủng vi sinh vật không sinh bào tử. Sau khi gia nhiệt, mẫu được pha loãng đến 10^{-6} bằng nước cất vô trùng, lấy 100 μl mỗi mẫu cấy trên môi trường thạch LB tiến hành nuôi cấy trong điều kiện hiếu khí, nhiệt độ 35°C trong thời gian từ 24-48 giờ. Chọn lọc các khuẩn lạc đơn được thuần khiết trên môi trường LB rắn. Các chủng vi khuẩn thuần khiết được lưu trữ trong dung dịch glycerol 30% ở -20°C và duy trì trong các ống thạch nghiêng chứa môi trường LB bằng cách cấy chuyển 4 tuần/lần [10, 11].

2.2.2. Tuyển chọn chủng có khả năng sinh tổng hợp PGA

Các chủng vi khuẩn được tăng sinh trên môi trường LB (35°C, pH=7, tốc độ lắc 150 vòng/phút (v/p), thời gian nuôi 24 giờ). Sau đó cấy 2% giống sang môi trường E để tổng hợp PGA, điều kiện nuôi cấy: nhiệt độ 35°C, pH=7, thời gian 120 giờ, nuôi tĩnh. Thu nhận PGA bằng cách dịch lên men được lắc 180 v/p, nhiệt độ 40°C, 60 phút, sau đó ly tâm 8000 v/p trong 15

phút ở 4°C và thu dịch nổi. Bổ sung ethanol (96%) với tỷ lệ 1: 3 (dịch nổi: ethanol) ủ ở -20°C, thời gian 24 giờ, tiến hành ly tâm 10.000 v/p trong 15 phút tại 4°C thu cặn sau đó xác định hàm lượng PGA tại bước sóng 216 nm [11].

2.2.3. Định danh chủng *Bacillus* ssp bằng phương pháp sinh học phân tử

Các chủng thu được sau khi sàng lọc được tiến hành định danh sơ bộ bằng phương pháp giải trình tự 16S rRNA: tách chiết bộ gen vi khuẩn bằng bộ kit của QIAgen, khuếch đại trình tự 16S rRNA bằng phản ứng PCR với cặp mồi có trình tự như sau: 8F (5'-AGAGTTTGATCCCTCAG-3') và 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') [12]. Sản phẩm PCR được tinh chế và giải trình tự. Các trình tự nucleotide hoàn chỉnh được so sánh với ngân hàng dữ liệu gen của NCBI bằng cách sử dụng công cụ BLAST và phần mềm Mega 11.

2.2.4. Đặc điểm sinh trưởng của chủng phân lập được

Khả năng chịu pH: nuôi cấy các chủng *Bacillus* tuyển chọn được trong môi trường LB (điều chỉnh pH bằng HCl và NaOH) theo các giá trị pH: 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10. Nuôi cấy ở 150 v/p, nhiệt độ 37°C, đo OD600 nm để xác định khả năng phát triển của vi khuẩn trong 18 giờ [10, 11].

Khả năng chịu mặn: cấy các chủng *Bacillus* tuyển chọn được trong môi trường LB bổ sung thêm NaCl với các nồng độ: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10% (w/v). Nuôi cấy ở 150 v/p, nhiệt độ 37°C,

đo OD600 nm để xác định khả năng phát triển của vi khuẩn trong 18 giờ [10, 11].

Xác định đặc điểm sinh hóa của chủng tuyển chọn bao gồm nguồn đường, khả năng sinh các enzyme ngoại bào như: amylase, protease, cellulase, chitinase, amylase, phytase [13, 14].

2.2.5. Phân tích số liệu

Kết quả thí nghiệm được phân tích phương sai một nhân tố (one-way ANOVA) trên phần mềm Minitab 16 và phần mềm Microsoft Excel. Sự khác biệt của giá trị trung bình giữa các công thức được đánh giá nhờ phép so sánh Tukey với mức tin cậy 95%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập các chủng *Bacillus* từ mẫu đất

Từ 30 mẫu đất trồng rau màu tại Thái Bình, đã phân lập được 14 chủng vi khuẩn khác nhau trên môi trường LB sau 24-48 giờ nuôi cấy ở 30°C trong điều kiện hiếu khí. Các chủng được làm thuần trên môi trường LB rắn sau đó tiến hành quan sát hình thái khuẩn lạc dưới kính hiển vi soi nổi, nhuộm gram và nhuộm quan sát nội bào tử dưới kính hiển vi quang học, thử hoạt tính catalase và oxidase. Sau khi đối chiếu với khoá phân loại vi khuẩn của Bergey (1957), 9 trong số 14 chủng được kết luận sơ bộ thuộc chi *Bacillus* và được kí hiệu từ TB1 đến TB9 (Bảng 1). Kết quả tương tự nghiên cứu năm 2021 của Thapa P và cộng sự khi phân lập mẫu đất cho thấy chi *Bacillus* chiếm 66,6% trong tổng số loài thu được [12].

Bảng 1. Đặc điểm của các chủng *Bacillus* sp. phân lập được

Chủng	Hình dạng tế bào	Vị trí nội bào tử	Gram (+/-)	Catalase (+/-)	Oxidase (+/-)
TB1	Que	Giữa	+	+	+
TB2	Que	Giữa	+	+	+
TB3	Que	Giữa	+	+	+
TB4	Que	Giữa	+	+	+
TB5	Que	Giữa	+	+	+
TB6	Que	Lệch tâm	+	+	+
TB7	Que	Giữa	+	+	+
TB8	Que	Lệch tâm	+	+	+
TB9	Que	Giữa	+	+	+

Ghi chú: (-) Gram âm/không có khả năng; (+) Gram dương/có khả năng.

Khuẩn lạc của đa số các chủng có bề mặt nhẵn, một số có bờ rìa răng cưa, màu sắc khuẩn lạc trắng đục hoặc trắng sữa, kích thước từ rất

nhỏ khoảng 2 mm đến 1 cm, có màng nhầy thể hiện các đặc điểm điển hình của chi *Bacillus* [10, 12]. Tất cả 9 chủng phân lập là trực khuẩn hình

que vị trí bào tử nằm giữa hoặc lệch tâm tế bào, gram dương, catalase và oxidase dương tính.

3.2. Chọn lọc các chủng có khả năng sinh tổng hợp PGA cao

Môi trường E được đưa ra bởi Leonard và cộng sự, từ đó đến nay rất nhiều các nghiên cứu đã sử dụng môi trường này làm môi trường cơ bản để sàng lọc và tổng hợp PGA [9]. Do môi trường E có hàm lượng chất khô và áp suất thẩm thấu rất lớn, những chủng vi sinh vật có

khả năng tổng hợp PGA để duy trì áp suất thẩm thấu tế bào mới có khả năng sinh trưởng và phát triển [15]. Vì vậy, các chủng vi sinh vật phân lập được tăng sinh trên môi trường LB, sau 24 giờ pha loãng canh trường tới nồng độ 10^{-4} , hút 100 µl dịch pha loãng cấy chang trên môi trường E, tiến hành quan sát khả năng phát triển của từng chủng. Kết quả thu được thể hiện trong Bảng 2.

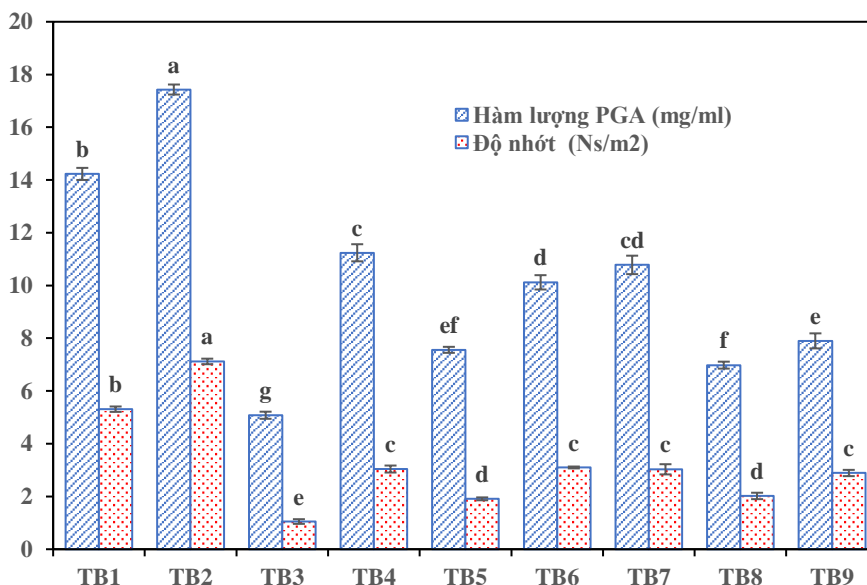
Bảng 2. Khả năng phát triển của các chủng vi sinh vật trên môi trường đặc hiệu (E đặc)

Chủng	Thời gian (giờ)			
	24	48	72	96
TB1	+	++	++	+++
TB2	+	++	++	+++
TB3	-	+	++	++
TB4	+	++	+	++
TB5	-	+	++	++
TB6	+	++	++	+++
TB7	+	++	++	+++
TB8	-	+	+	+
TB9	-	+	++	++

Ghi chú: (-) không thấy sự phát triển, không có khuẩn lạc; (+) có phát triển, ít khuẩn lạc, không tạo màng nhầy; (++) phát triển, khuẩn lạc, tạo màng nhầy; (+++) phát triển mạnh, lớp màng nhầy nhiều.

Kết quả cho thấy cả 9 chủng vi sinh vật đều phát triển trên môi trường E, tuy nhiên có sự khác biệt về đặc điểm nuôi cấy giữa các chủng. Chủng TB1, TB2, TB4, TB6, TB7 phát triển mạnh, trong khi đó các chủng TB3, TB5, TB8, TB9 và

TB6 lại phát triển chậm trên môi trường này tại thời điểm 96 giờ nuôi cấy. Để khẳng định chủng có khả năng tổng hợp PGA cao, tiến hành xác định hàm lượng PGA trên môi trường đặc hiệu E và đo độ nhớt canh trường nuôi cấy.

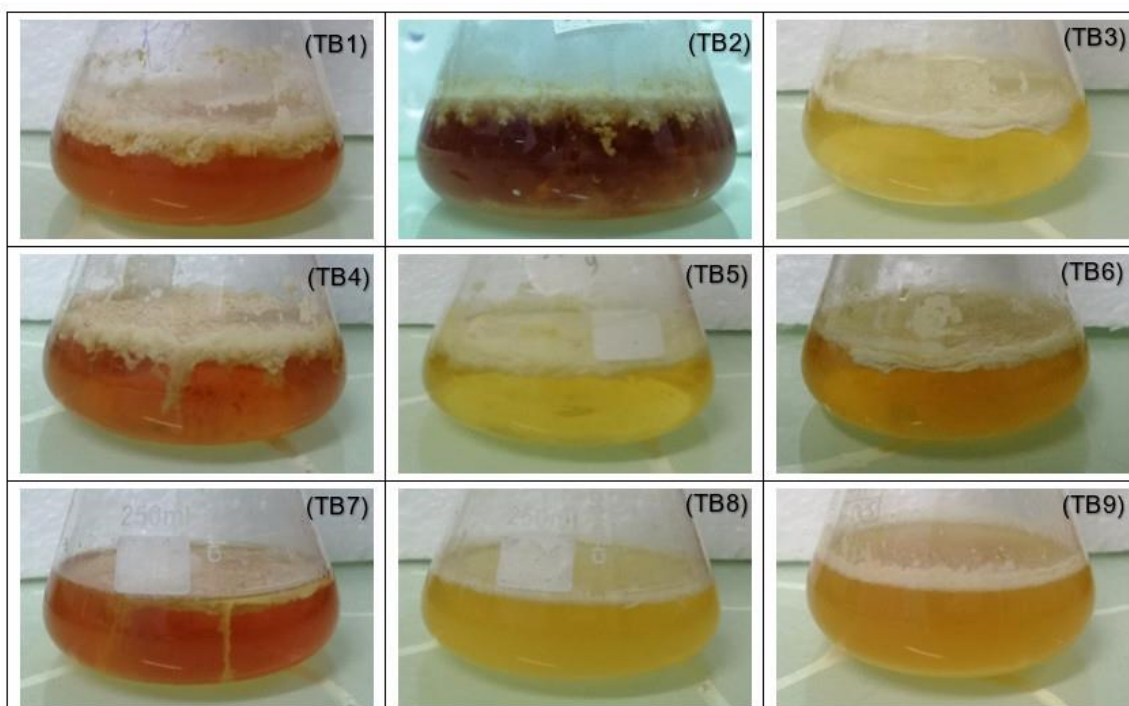


Hình 1. Hàm lượng PGA và độ nhớt canh trường nuôi cấy của 9 chủng phân lập được

Ở Hình 2 sau 96 giờ nuôi cấy trong điều kiện tĩnh, sinh khối chủng TB2 nổi trên bề mặt tạo lớp váng, khả năng sinh tổng hợp PGA cao thì lớp váng càng dày. PGA tổng hợp trong tế bào sau đó được tiết ra ngoài bào. Hàm lượng PGA trong canh trường nuôi cấy, kết quả Hình 1 nhận thấy toàn bộ 9 chủng phân lập được đều có khả năng tổng hợp PGA. Trong đó, khả năng sinh tổng hợp PGA thấp nhất ở chủng TB3 hàm lượng PGA chỉ đạt 5,08 (mg/ml). Hai chủng TB1, TB2 có khả năng tổng hợp PGA cao nhất với giá trị lần lượt là 14,23 (mg/ml) và 17,43 (mg/ml). Nhận thấy khi hàm lượng PGA cao thì canh trường nuôi cấy có độ nhớt tăng lên đồng thời canh trường sẽ chuyển đổi từ màu vàng sáng tới màu nâu sậm (Hình 2), Bosworth LA và cộng sự [16], đã giải thích do nồng độ polymer cao thì số lượng các chuỗi polyme xuất hiện nhiều

hơn, làm tăng số lượng chuỗi liên kết với các phân tử dung môi từ đó làm tăng độ nhớt của dung dịch. Kết quả cho thấy tại canh trường nuôi cấy chủng TB2 khi hàm lượng PGA cao nhất thì độ nhớt canh trường cũng lớn nhất là $7,12 \pm 0,105$ (Ns/m²). Khả năng tổng hợp PGA giảm thì độ nhớt cũng giảm, giá trị thấp nhất ở canh trường nuôi cấy chủng TB3 đạt $1,05 \pm 0,088$ (Ns/m²).

Khả năng tổng hợp PGA của chủng TB2 cao hơn so với công bố của Le Thanh NS và cộng sự [17] khi phân lập, sàng lọc từ mẫu đất được chủng *Bacillus* 20.2 có khả năng tổng hợp PGA cao nhất đạt 15,2 mg/ml. Khả năng tổng hợp PGA của chủng TB2 cũng tương tự công bố của của Punam Thapa và cộng sự [12]. Do vậy, chủng TB2 được tuyển chọn phục vụ cho các nghiên cứu tiếp theo.



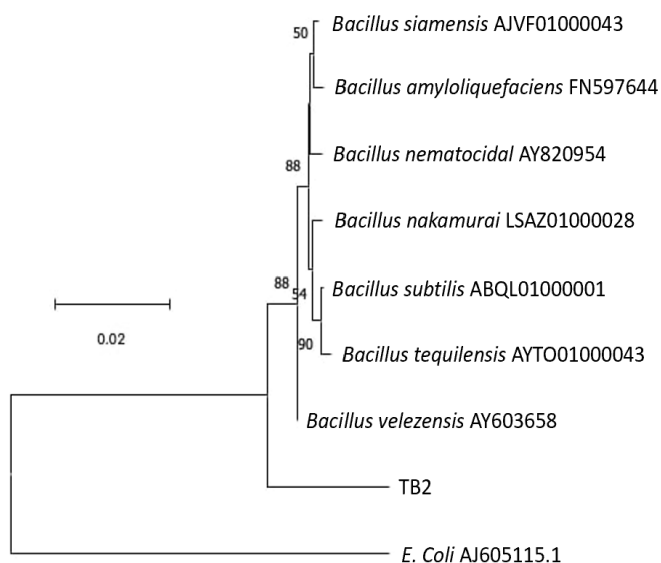
Hình 2. Khả năng tổng hợp PGA của 9 chủng *Bacillus* trên môi trường đặc hiệu E

3.3. Định tên chủng *Bacillus* phân lập được

Sau khi tách DNA tổng số chủng TB2, tiến hành phản ứng PCR với cặp mồi 8F và 1492R. Sản phẩm PCR sau đó được tinh sạch và tiến hành giải trình tự. Kết quả trình tự thu được có

chiều dài 1349bp được so sánh với cơ sở dữ liệu Genbank. Công cụ BLAST cho thấy trình tự 16S RNA của chủng TB2 có độ tương đồng cao nhất 97,73% với loài *Bacillus velezensis* AY603658; 97,30% với loài *Bacillus siamensis*

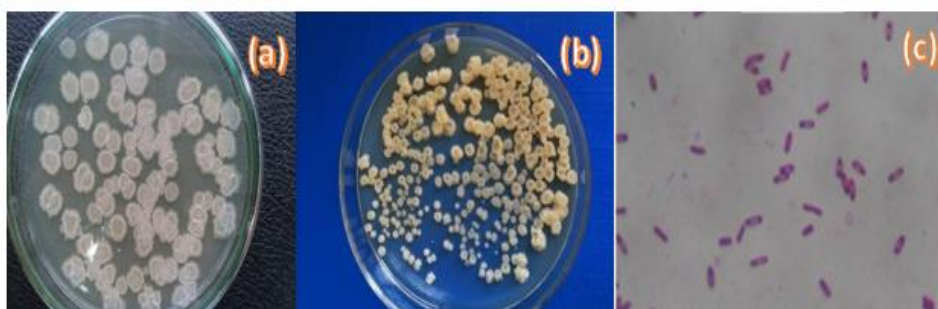
AJVF01000043 và 97,15% với *Bacillus subtilis* ABQL01000001. Cây phát sinh loài cũng được xây dựng bằng phần mềm Mega 11 (Hình 3).



Hình 3. Vị trí phân loại của chủng TB2 dựa vào trình tự đoạn gen 16S rARN

Kết hợp giữa kết quả nghiên cứu về hình thái (Hình 4), sinh hóa và phân tích trình tự gene 16S-RNA, có thể khẳng định chủng TB2 phân lập được thuộc chi *Bacillus* có quan hệ gần với *Bacillus velezensis*, *Bacillus subtilis* được đặt tên là *Bacillus sp.*TB2, đây là các chủng an toàn (không gây bệnh, không gây hại cho môi trường, con người, động vật...) nên chủng phân

lập được có là chủng an toàn sinh học, từ đó thực hiện các nghiên cứu về tối ưu tổng hợp PGA và ứng dụng trong nông nghiệp. Để định tên, xác định loài chính xác cho chủng TB2 cần có nghiên cứu tiếp theo sử dụng trình tự mỗi 16S RNA đặc hiệu riêng cho 2 loài *Bacillus velezensis*, *Bacillus subtilis* để xác định chính xác độ tương đồng.



Hình 4. Hình thái chủng TB2

(a: Khuẩn lạc trên môi trường LB, b: Khuẩn lạc trên môi trường E, c: Nhuộm Gram)

3.4. Xác định đặc tính sinh hóa chủng TB2

Sau khi đã chọn được chủng TB2 có khả năng tổng hợp PGA cao nhất. Để có thể nghiên cứu thu nhận và ứng dụng PGA trong nông nghiệp. Chủng TB2 phải cần được xác định đặc tính sinh lý sinh hóa. Bên cạnh đó thông tin về đặc điểm

nuôi cấy của chủng vi sinh vật sẽ góp phần hỗ trợ cho các nghiên cứu về thiết kế và tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy, đồng thời bổ sung thêm vào cơ sở dữ liệu về nguồn gen vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp PGA, kết quả được thể hiện qua Bảng 3.

Bảng 3. Đặc tính sinh hóa của chủng TB2

Phép thử	Khả năng sử dụng (+/-)	Phép thử	Khả năng sử dụng (+/-)
Glucose	+	Sinh trưởng ở nồng độ NaCl (1-9%)	+
Fructose	+	Glycerol	+
Mannose	+	Xylitol	-
Protease	+	Cellulase	+
Chitinase	+	Amylase	+
Phytase	+	Catalase	+
Tinh bột	+	Citric acid	+
Sinh trưởng ở pH (3-9)	+		

Ghi chú: (+) chủng có khả năng phát triển; (-) chủng không có khả năng phát triển.

Kết quả Bảng 3 cho thấy chủng TB2 có khả năng sử dụng đa dạng nguồn cacbon bao gồm glucose, fructose, mannose. Chủng TB2 có khả năng sinh enzyme (protease, chitinase, amylase, cellulase, Phytase) điều này cho thấy có thể ứng dụng sản xuất sinh khối và PGA từ nhiều nguồn các bon khác nhau. Kết quả cũng tương tự nghiên cứu của Sapkota và cộng sự [18] đã báo cáo rằng *Bacillus* sp. có khả năng lên men các loại đường khác nhau như glucose, mannose, fructose. Chủng TB2 có khả năng sinh trưởng ở nồng độ muối rộng và chịu mặn tới 9%, do PGA được chủng tổng hợp sẽ liên kết với ion Na⁺ làm giảm lượng muối quanh vi khuẩn dẫn đến chủng sinh trưởng phát triển bình thường [2]. Không những giúp vi khuẩn chịu mặn, PGA còn giúp cây trồng thích nghi và phát triển tốt trong môi trường có độ mặn cao, do khi bổ sung PGA sẽ tăng cường tích lũy proline, K⁺ dẫn đến áp suất thẩm thấu tế bào sẽ tăng để cân bằng với nồng độ muối của môi trường [2, 15]. Chủng TB có khả năng sinh trưởng ở pH phổ rộng từ 3-9. Kết quả này cũng tương tự như công bố của Đỗ Quang Trung và cộng sự [3], khi xác định đặc tính sinh hóa các chủng *Bacillus* phân lập ở khu vực ven biển.

4. KẾT LUẬN

Từ 30 mẫu đất trồng rau tại tỉnh Thái Bình, đã phân lập được 14 chủng, trong đó có 9 chủng là trực khuẩn hình que thuộc chi *Bacillus*

được ký hiệu từ TB1-TB9 có khả năng tổng hợp PGA. Từ đó đã tuyển chọn được chủng TB2 có khả năng tổng hợp PGA cao nhất đạt 17,43 (mg/ml). Sử dụng trình tự mồi 16S RNA định danh chủng tuyển chọn được, chủng TB2 có độ tương đồng 97,73% với chủng *Bacillus velezensis* AY603658. Chủng TB2 có khả năng đồng hóa các nguồn cacbon, bao gồm glucose, mannose, fructose, xylitol. Chủng TB2 có khả năng sinh một số enzyme ngoại bào như protease, chitinase, phytase, cellulase, amylase, catalase. Chủng TB2 phân lập được có thể là tác nhân đầy hứa hẹn để tối ưu sản xuất thương mại PGA ở quy mô công nghiệp hướng đến ứng dụng trong nông nghiệp. Nghiên cứu sâu hơn là bắt buộc để định lượng, tinh chế và mô tả đặc tính của PGA được tổng hợp.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí từ đề tài nghiên cứu ứng dụng và phát triển công nghệ cấp tỉnh Thái Bình, mã số TB-CT/NN05/22-23.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Ishwar Bajaj & Rekha Singhal (2011). Poly (glutamic acid)—an emerging biopolymer of commercial interest. *Bioresource technology*. 102(10): 5551-5561.
- [2]. Xiaoyu Liu, Haikuan Ji, Chengxun Zhang, Na Sun, Tao Xia, Zhenhua Wang & Xiaohan Wang (2024). The poly-γ-glutamic acid-producing bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* W25 enhanced the salt tolerance of lettuce by regulating physio-biochemical processes and influencing the rhizosphere soil microbial community. *Environmental Experimental Botany*. 220: 105679.

- [3]. Đỗ Quang Trung, Trần Thị Tuyết Thu & Lưu Thế Anh (2022). Vi khuẩn *Bacillus* sp. nội sinh phân lập từ cỏ màn trâu (*Eleusine indica*) cải thiện hiệu quả khả năng loại bỏ amoni trong nước nuôi tôm. Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam. 20(3): 359-369.
- [4]. Hidetoshi Kubota, Toshio Matsunobu, Kazumichi Uotani, Hidehi Takebe, Atsuyuki Satoh, Toshio Tanaka & Makoto Taniguchi (1993). Production of poly (γ -glutamic acid) by *Bacillus subtilis* F-2-01. *Bioscience, biotechnology and biochemistry*. 57(7): 1212-1213.
- [5]. Naling Bai, Hanlin Zhang, Shuangxi Li, Xianqing Zheng, Juanqin Zhang, Lina Sun & Weiguang Lv (2020). Effects of application rates of poly- γ -glutamic acid on vegetable growth and soil bacterial community structure. *Applied Soil Ecology*. 147: 103405.
- [6]. Jiaping Liang, Wenjuan Shi, Zijian He, Linna Pang & Yanchao Zhang (2019). Effects of poly- γ -glutamic acid on water use efficiency, cotton yield, and fiber quality in the sandy soil of southern Xinjiang, China. *Agricultural Water Management*. 218: 48-59.
- [7]. John W Doran & Michael R Zeiss (2000). Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Applied soil ecology*. 15(1): 3-11.
- [8]. Trần Liên Hà, Nguyễn Văn Cách, Nguyễn Chí Dũng & Đào Văn Minh (2015). Nâng cao sản lượng axit poly glutamic của chủng *Bacillus subtilis* B5 bằng nguồn cacbon và nitơ. Tạp chí Khoa học và Công nghệ. 28: 48-50.
- [9]. C Gomez Leonard, Riley D Housewright & Curtis B Thorne (1958). Effects of some metallic ions on glutamyl polypeptide synthesis by *Bacillus subtilis*. *Journal of bacteriology*. 76(5): 499-503.
- [10]. Muhammet Arici, B Bilgin, Osman Sagdic & Cihat Ozdemir (2004). Some characteristics of *Lactobacillus* isolates from infant faeces. *Food Microbiology*. 21(1): 19-24.
- [11]. Trần Thùy Trang, Nguyễn Thị Ánh Nguyệt, Nguyễn Tấn Đức, Phạm Nguyễn Đức Hoàng & Dương Hoa Xô (2020). Phân lập và tuyển chọn chủng vi khuẩn thuộc nhóm *Bacillus subtilis* có khả năng đối kháng tốt với nấm *Colletotrichum scovillei* gây bệnh thán thư trên ớt ở Thành phố Hồ Chí Minh. Tạp chí Khoa học Đại học Mở Thành phố Hồ Chí Minh - Kỹ thuật và Công nghệ. 15(1): 72-86.
- [12]. Punam Thapa, Alina Thapa, Sujan Khadka, Sanjeep Sapkota, Om Prakash Panta, Suprina Sharma, Tika Bahadur Karki & Pramod Poudel (2021). Screening and characterization of potent poly glutamic acid producing *Bacillus* sp. isolated from Kinema, water and soil samples. *Heliyon*. 7(8): e07715. DOI: 10.1016/j.heliyon.2021.e07715
- [13]. ME Puente, Y Bashan, CY Li & VK Lebsky (2004). Microbial populations and activities in the rhizoplane of rock-weathering desert plants. I. Root colonization and weathering of igneous rocks. *Plant Biology*. 6(5): 629-642.
- [14]. Alan G Williams (1983). Staining reactions for the detection of hemicellulose-degrading bacteria. *FEMS microbiology letters*. 20(2): 253-258.
- [15]. Peng Lei, Zongqi Xu, Jinfeng Liang, Xiaohui Luo, Yunxia Zhang, Xiaohai Feng & Hong Xu (2016). Poly (γ -glutamic acid) enhanced tolerance to salt stress by promoting proline accumulation in *Brassica napus* L. *Plant Growth Regulation*. 78: 233-241.
- [16]. L Bosworth & S Downes (2009). Biocompatible three-dimensional scaffolds for tendon tissue engineering using electrospinning. *Cellular Response to Biomaterials*. Elsevier. 3-27.
- [17]. Sy Le Thanh Nguyen, Keitarou Kimura, Thi Tuyen Do & Thi Ngoc Anh Le (2018). Isolation, characterization of *Bacillus* sp. producing heavy metal absorption γ -PGA. *Journal of Vietnamese Environment*. 9(1): 49-54.
- [18]. Susmita Sapkota, Sujan Khadka, Aava Gautam, Rojina Maharjan, Ruby Shah, Sandhya Dhakal, Om Prakash Panta, Santosh Khanal & Pramod Poudel (2019). Screening and optimization of thermo-tolerant *Bacillus* sp. For amylase production and antifungal activity. *Journal of Institute of Science Technology*. 24(1): 47-56.