

Tuyển chọn và đánh giá một số đặc điểm của chủng vi khuẩn có hoạt tính cao về khả năng sinh acid 1-aminocyclopropane-1-carboxylic deaminase từ đất trồng chè tại Tuyên Quang

Trần Văn Chí^{1*}, Nguyễn Thị Giang¹, Nguyễn Mạnh Tuấn²

¹Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên

²Viện Khoa học Sự sống – Đại học Thái Nguyên

Selection and characterization of bacterial strains with high 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase activity from green tea cultivation soil in Tuyen Quang

Tran Van Chi^{1*}, Nguyen Thi Giang¹, Nguyen Manh Tuan²

¹Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry

²Institute of Life Sciences – Thai Nguyen University

*Corresponding author: tranvanchi@tuaf.edu.vn

<https://doi.org/10.55250/jo.vnuf.15.5.2026.003-012>

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu là tuyển chọn chủng vi khuẩn tiềm năng có khả năng sinh enzyme acid 1-aminocyclopropane-1-carboxylic (ACC) deaminase và đánh giá được một số đặc điểm hóa sinh, điều kiện nuôi cấy của chúng. Từ 10 mẫu đất trồng chè thu thập tại tỉnh Tuyên Quang đã phân lập được 06 chủng vi khuẩn có khả năng sinh ACC deaminase, từ đó tuyển chọn được chủng TQ-TL-C32 có hoạt tính cao nhất (đạt 1.481,12 nmol α -ketobutyrate/mg/giờ). Vị trí của TQ-TL-C32 trên sơ đồ cây phân loại cùng nhánh đơn và có trình tự 16S rRNA tương đồng 99,93% với *Stenotrophomonas muris* DSM 28631^T (JANKBX01000024), do đó chủng TQ-TL-C32 được đặt tên là *Stenotrophomonas muris* TQ-TL-C32. Chủng TQ-TL-C32 sở hữu phổ enzyme ngoại bào tương đối đa dạng, như khả năng sinh esterase (C4, C8, C14), trypsin, valine arylamidase, acid phosphatase và naphthol-AS-BI-phosphohydrolase. Đồng thời thể hiện hoạt tính sinh nhiều glycosidase như β -galactosidase, β -glucosidase, N-acetyl- β -glucosaminidase và α -mannosidase. Trong môi trường ADF với các điều kiện phù hợp (pH = 7,5; 35°C) sau 48 giờ nuôi cấy, hoạt tính ACC deaminase của chủng TQ-TL-C32 đạt 1.498,58 nmol α -ketobutyrate/mg/giờ. Với những đặc điểm đã thể hiện, chủng TQ-TL-C32 rất có tiềm năng ứng dụng tạo chế phẩm sinh học cho cây chè chống lại các stress phi sinh học, ổn định năng suất và góp phần phát triển nền nông nghiệp bền vững.

ABSTRACT

The objective of this study was to select a potential bacterial strain capable of producing the enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase and to evaluate several of its biochemical characteristics and cultivation conditions. From ten green tea cultivation soil samples collected in Tuyen Quang Province, six bacterial strains capable of producing ACC deaminase were isolated. Among them, strain TQ-TL-C32 exhibited the highest activity, reaching 1,481.12 nmol α -ketobutyrate.mg⁻¹.h⁻¹. Phylogenetic analysis indicated that strain TQ-TL-C32 clustered in the same branch and shared 99.93% 16S rRNA gene sequence similarity with *Stenotrophomonas muris* DSM 28631^T (JANKBX01000024). Therefore, the strain was designated as *Stenotrophomonas muris* TQ-TL-C32. The strain possessed a relatively diverse spectrum of extracellular enzymes, including

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 06/03/2026

Ngày phản biện: 05/04/2026

Ngày quyết định đăng: 04/05/2026

Từ khóa:

ACC deaminase, đất trồng chè, *Stenotrophomonas*, tuyển chọn, vi khuẩn.

Keywords:

ACC deaminase, bacteria, green tea cultivation soil, selection, *Stenotrophomonas*.

esterases (C4, C8, and C14), trypsin, valine arylamidase, acid phosphatase, and naphthol-AS-BI-phosphohydrolase. It also exhibited glycosidase activities such as β -galactosidase, β -glucosidase, N-acetyl- β -glucosaminidase, and α -mannosidase. When cultured in ADF medium under suitable conditions (pH 7.5 and 35°C), the ACC deaminase activity of strain TQ-TL-C32 reached 1,498.58 nmol α -ketobutyrate.mg⁻¹.h⁻¹ after 48h of incubation. Based on these characteristics, strain TQ-TL-C32 shows considerable potential for application in the development of microbial bioformulations for tea plants to enhance tolerance to abiotic stresses, stabilize yield, and contribute to sustainable agricultural development.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chè là cây công nghiệp mũi nhọn của một số tỉnh khu vực Trung du miền núi phía Bắc [1], trong đó Tuyên Quang là tỉnh nổi bật với những tiềm năng phong phú cho sự phát triển của loại cây trồng này [2]. Tuy nhiên, trong quá trình trồng chè, việc lạm dụng phân bón và thuốc bảo vệ thực vật có nguồn gốc hóa học quá mức đã làm cho đất dần trở nên bị thoái hóa [3]. Ngoài ra, việc này có thể tác động xấu đến môi trường như làm ô nhiễm nguồn nước, giảm dinh dưỡng của đất, giảm đa dạng sinh học [4-7] và có nguy cơ ảnh hưởng không tốt đến sức khỏe con người [8]. Để khắc phục những hạn chế trên, việc sử dụng chế phẩm vi sinh cải tạo đất trồng là xu hướng thích hợp cho sự phát triển bền vững cho ngành chè [9]. Bên cạnh đó, ngày nay những biến đổi bất lợi của môi trường đã tạo ra các stress phi sinh học đang trở thành vấn đề lớn làm giảm sản lượng nông nghiệp. Theo Vũ Thị Ngọc Diệp và cộng sự (2021), hầu như các stress phi sinh học đều dẫn đến tổng hợp ethylene từ tiền chất acid 1-aminocyclopropane-1-carboxylic (ACC) trong thực vật, gây bất lợi đến sự sinh trưởng và phát triển của cây [10]. Glick (2014) đã đề xuất rằng vi khuẩn vùng rễ sinh ACC deaminase (ACB) có thể làm giảm mức ethylene nội sinh của rễ cây bằng cách hạn chế lượng ACC sẵn có, điều này sẽ ngăn chặn sự ức chế tăng trưởng của rễ do ethylene gây ra và do đó thúc đẩy sự phát triển của cây [11]. Nhiều tác dụng có lợi của ACB đối với sự phát triển của thực vật, đặc biệt liên quan đến khả năng chống chịu stress, như giúp làm giảm tính nhạy cảm với stress của thực vật trong thời gian hạn hán [12], hạn chế sự lão hóa của hoa [13, 14], ức chế mầm bệnh [11]. Ngoài

ra, Ma và cộng sự (2003) đã báo cáo rằng sự hiện diện của ACC deaminase có thể làm tăng hiệu suất cộng sinh của các chủng vi khuẩn nốt sần [15].

Đối với cây chè, theo công bố của Liu và cộng sự (2022) [16] cho biết, khi bón vi khuẩn ACB đã làm tăng đáng kể chiều cao chồi và đường kính thân của cây chè từ 15-18%. Ngoài ra, những chủng thể hiện hoạt tính ACC deaminase còn thích nghi tốt với điều kiện pH và nhiệt độ rộng, cho thấy tiềm năng áp dụng làm phân bón sinh học. Tại Việt Nam, những nghiên cứu cơ bản và ứng dụng để sản xuất chế phẩm chứa ACB cho cây chè còn rất hạn chế. Do vậy, tuyển chọn được những chủng có hoạt tính ACC deaminase cao rất có ý nghĩa khoa học và thực tiễn sản xuất.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Các chủng ACB được phân lập từ mẫu đất trồng chè tại tỉnh Tuyên Quang.

2.2. Hóa chất, môi trường

Môi trường 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid - Dworkin and Foster (ADF) gồm: KH₂PO₄: 4 g; Na₂HPO₄: 6 g; MgSO₄.7H₂O: 0,2 g; FeSO₄.7H₂O: 0,1 g; Glucose: 2 g; Gluconic acid: 2 g; Citric acid: 2 g; 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC): 3,0 mmol (tương ứng 0,3033 g/lít); H₃BO₃: 10 μ g; MnSO₄.H₂O: 11,19 μ g; ZnSO₄.7H₂O: 124,6 μ g; CuSO₄.5H₂O: 78,22 μ g; MnO₃: 10 μ g, nước cất: 1.000 mL; agar: 20 g; pH: 7,5 [17].

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thu mẫu đất

Tại các đồi chè chuyên canh, cây chè từ 2-3 tuổi, tiến hành thu mẫu đất theo hướng dẫn của Tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN) 7538 – 6:2010

[18]. Đào sâu 15 cm, loại bỏ lớp đất mặt khoảng 5 cm và lấy phần đất còn lại. Tổng số 10 mẫu (được đánh số thứ tự từ 1-10) đã được thu thập tại các xã Thượng Lâm và xã Tân Trào – mỗi xã 05 mẫu.

2.3.2. Phân lập vi khuẩn ACB

Phân lập các chủng ACB từ các mẫu đất bằng môi trường chọn lọc ADF, được thực hiện theo mô tả bởi Penrose và cộng sự (2003) [17]; Patil và cộng sự (2016) [19], cụ thể: cân 1 g đất mẫu pha loãng với 100 mL nước cất vô trùng, lắc 15 phút sau đó hút 50 μ L trải đều trên môi trường thạch đĩa chọn lọc ADF, nuôi ủ trong 5-7 ngày ở 30°C. Quan sát những khuẩn lạc mọc lên làm thay đổi màu của môi trường xung quanh (từ đỏ cam đến đỏ) sẽ được làm thuần và được bảo quản ở -80°C trong 20% glycerol.

2.3.3. Định lượng ACC deaminase

Hoạt tính sinh enzyme ACC deaminase của vi khuẩn được thực hiện theo phương pháp của Honma và cộng sự (1978) [20] thông qua xác định α -ketobutyrate, với đường chuẩn thể hiện mối tương quan tuyến tính giữa nồng độ α -ketobutyrate và độ hấp thụ tia UV ở bước sóng 540 nm có dạng: $y = 0,8415x + 0,0227$ (giá trị $R^2 = 0,9993$).

2.3.4. Định danh vi khuẩn tuyển chọn

Chủng tuyển chọn được hoạt hóa trong môi trường dịch thể ADF ở 30°C với tốc độ lắc 150 vòng/phút trong 48 giờ. Thu nhận sinh khối tế bào của chủng tuyển chọn và tách chiết DNA tổng số theo mô tả của Sambrook và Russell (2001) [21]. Sử dụng cặp mồi 27F 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3' và 1492R 5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3' để khuếch đại trình tự gen 16S rRNA với thành phần và chu trình phản ứng PCR như mô tả của Klindworth và cộng sự (2013) [22]. Trình tự gen 16S rRNA của chủng tuyển chọn được đọc thông qua hệ thống Applied Biosystems 3730 xl DNA analyzer sử dụng Big Dye terminator cycle sequencing kit v.3.1 (Macrogen, Hàn Quốc). Dữ liệu trên Genbank và MEGA v.12 [23] được sử dụng đồng thời để xác định phân loại của chủng tuyển chọn.

2.3.5. Đánh giá đặc điểm sinh hóa và đặc điểm nuôi cấy của chủng tuyển chọn

Xác định đặc điểm sinh hóa của chủng tuyển chọn bằng kit API (ZYM, 32GN) của Biomérieux được hướng dẫn bởi nhà sản xuất. Sau khi hoạt hóa, 1-3 giọt dịch giống được bơm vào các giếng trên kit thử, mỗi thí nghiệm được thực hiện 3 lần, quan sát và ghi nhận kết quả.

Các đặc điểm nuôi cấy chủng tuyển chọn được khảo sát gồm: pH môi trường, nhiệt độ và thời gian nuôi. Chỉ tiêu theo dõi để lựa chọn đặc điểm nuôi cấy thích hợp là hoạt tính ACC deaminase thực hiện chuyển hóa ACC thành nmol α -ketobutyrate/mg/giờ. Chuẩn bị các bình tam giác chứa 50 mL môi trường ADF, pH môi trường được thiết kế từ 5,0 – 9,0 (bước nhảy 0,5). Môi trường có pH thích hợp khi hoạt tính ACC deaminase cao nhất và sẽ được sử dụng để nghiên cứu các điều kiện tiếp theo.

Môi trường ADF có pH thích hợp nhất (là kết quả thử nghiệm ở trên) được sử dụng để khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi chủng tuyển chọn. Trong máy lắc ổn nhiệt với tốc độ lắc ổn định 150 vòng/phút, các mức nhiệt độ được khảo sát từ 25 – 50°C (bước nhảy 5°C). Ở mức nhiệt độ nuôi cho hoạt tính ACC deaminase cao nhất sẽ được lựa chọn để nghiên cứu thời gian nuôi phù hợp. Với các điều kiện pH môi trường và nhiệt độ nuôi thích hợp đã lựa chọn được ở trên, tiến hành nuôi chủng tuyển chọn và kiểm tra hoạt tính ACC deaminase ở các mốc thời gian 12-96 giờ (bước nhảy 12 giờ).

2.3.6. Xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả nghiên cứu được tổng hợp và xử lý thống kê bởi phần mềm JASP 0.19.3.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

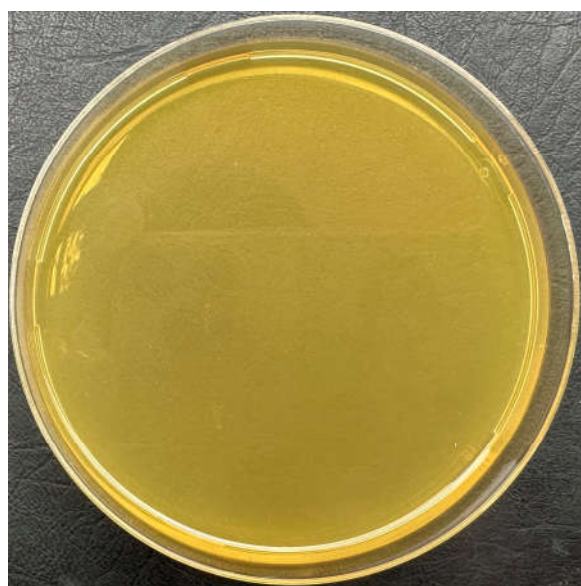
3.1. Phân lập và tuyển chọn chủng vi khuẩn sinh ACC deaminase

Từ 10 mẫu đất thu thập tại xã Thượng Lâm và xã Tân Trào, tỉnh Tuyên Quang đã phân lập được 6 chủng vi khuẩn mà khuẩn lạc của chúng có khả năng làm đổi màu môi trường từ vàng cam sang đỏ cam đến đỏ. 6 chủng này được kết luận sơ bộ là có khả năng sinh ACC deaminase, đặc điểm được trình bày tại Bảng 1.

Bảng 1. Đặc điểm của 06 chủng vi khuẩn ACB mới phân lập

TT	Ký hiệu chủng	Địa điểm phân lập	Tính chất Gram	Hình thái tế bào	Hoạt tính sinh ACC deaminase (nmol α -ketobutyrate/mg/giờ)
1	TQ-TL-C24	Xã Thượng Lâm	Âm	Que	32,29 ^a
2	TQ-TL-C31	Xã Thượng Lâm	Âm	Que	655,32 ^d
3	TQ-TL-C32	Xã Thượng Lâm	Âm	Que	1.481,12 ^e
4	TQ-TT-C59	Xã Tân Trào	Âm	Que	594,71 ^c
5	TQ-TT-C10	Xã Tân Trào	Âm	Que	46,35 ^a
6	TQ-TT-C4	Xã Tân Trào	Âm	Que	138,56 ^b

Ghi chú: các chữ trong cùng một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha \leq 0,05$.



(A)



(B)

Hình 1. Sự biến đổi màu sắc của môi trường khi cấy vi khuẩn ACB

A – Môi trường ADF đối chứng

B – Môi trường ADF khi cấy chủng TQ-TL-C32

Khi cấy ria trên môi trường DAF chỉ có 1 nguồn protein duy nhất là ACC, các chủng mọc lên khuẩn lạc riêng rẽ và tạo màu sắc đặc trưng xung quanh khuẩn lạc từ đỏ cam nhạt đến đỏ. Theo Patil và cộng sự (2016) [19] đây là dấu hiệu cho thấy các chủng mới phân lập đều thuộc nhóm ACB. Kết quả ở Bảng 1 cho thấy, hoạt tính ACC deaminase chênh lệch nhau khá lớn giữa các chủng (từ 32,29 - 1.481,12 nmol α -ketobutyrate/mg/giờ). Trong đó chủng TQ-TL-C24 thể hiện hoạt tính yếu nhất (32,29 nmol α -ketobutyrate/mg/giờ), chủng TQ-TL-C32 mạnh nhất (đạt 1.481,12 nmol α -ketobutyrate/mg/giờ). Vì chủng TQ-TL-C32 khi được cấy trên môi trường DAF xuất hiện màu

sắc xung quanh khuẩn lạc đỏ đậm nhất (Hình 1) tuyến tính thuận với hoạt tính ACC deaminase nên chủng này sẽ được chọn để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

3.2. Định danh chủng tuyển chọn

Trình tự gen 16S rRNA của chủng TQ-TL-C32 có chiều dài 1499 bp và được truy nhập trên ngân hàng GenBank với mã số PX866542. Kết quả so sánh trình tự gen 16S rRNA của chủng TQ-TL-C32 được thể hiện ở Bảng 2, bộc lộ sự tương đồng 99,93% với *Stenotrophomonas muris* DSM 28631^T (JANKBX01000024), 99,80% với *Stenotrophomonas pavanii* DSM 25135^T (LDJN01000038), 99,73% với *Stenotrophomonas maltophilia* MTCC 434^T

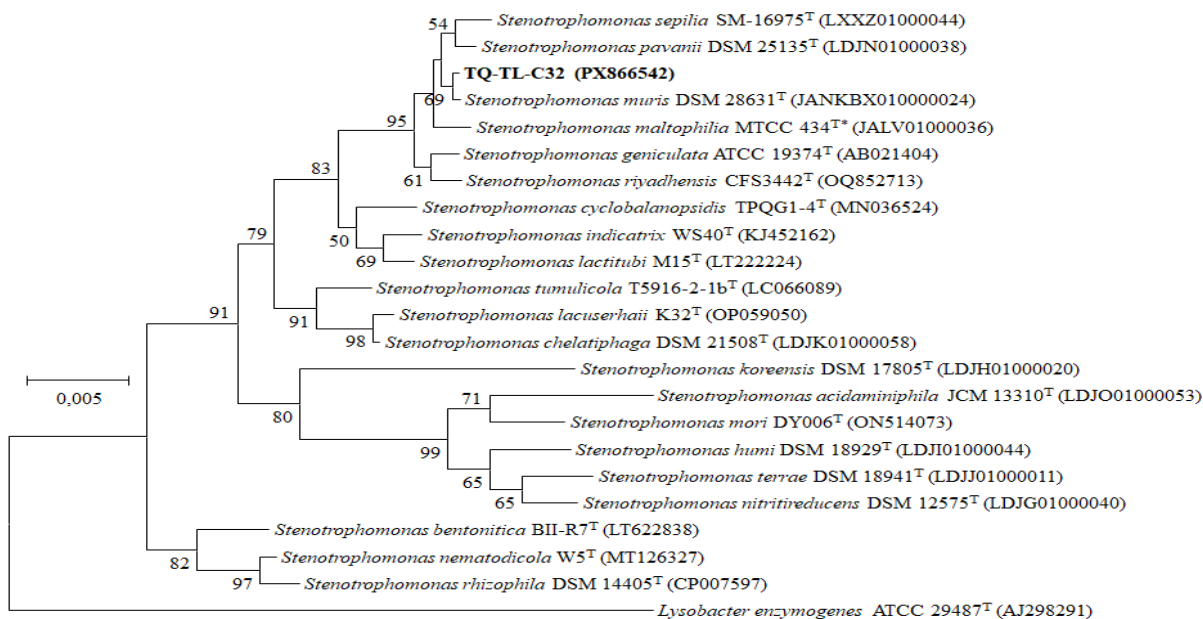
(JALV01000036) và từ 97,14-99,66% với thành viên khác thuộc chi *Stenotrophomonas*. Phân tích sơ đồ phả hệ (Hình 2) cho thấy chủng TQ-TL-C32 thuộc nhóm của chi *Stenotrophomonas* với sự có mặt của loài đại diện của chi (*Stenotrophomonas maltophilia* MTCC 434^T (JALV01000036)). Vị trí của TQ-TL-C32 cùng nhánh đơn với *Stenotrophomonas muris* DSM 28631^T (JANKBX010000024) ở giá trị tin cậy (Bootstrap) 69%. Từ dữ liệu phân tích trình tự gen 16S rRNA và sơ đồ phả hệ, chủng TQ-TL-C32 được phân loại là *Stenotrophomonas muris* TQ-TL-C32 [24]. Theo Tuong và cộng sự (2022) [25], *Stenotrophomonas* được mô tả là một chi có tiềm năng ứng dụng cao trong sản xuất nông nghiệp. Tuy nhiên, cho đến nay, chưa có công bố nào về khả năng sinh ACC deaminase của loài *Stenotrophomonas muris*, các báo cáo về hoạt tính ACC deaminase trong chi *Stenotrophomonas*

tập trung ở loài *Stenotrophomonas maltophilia*, như công bố của Singh và cộng sự(2017) [26] khi nghiên cứu về hoạt tính tăng cường khả năng kháng bệnh đối với các tác nhân gây hại sinh học và phi sinh học của chủng *Stenotrophomonas maltophilia* SBP-9 cho cây lúa mì, theo đó chủng SBP-9 có khả năng sinh ACC deaminase ở mức 361,37 nmol α -ketobutyrate/mg/giờ. Trong khi đó, Wozniak và cộng sự (2023) [27] khi nghiên cứu về tiềm năng ứng dụng của các chủng vi khuẩn nội sinh làm chế phẩm sinh học đã báo cáo rằng: chủng *Stenotrophomonas maltophilia* ES2 có hoạt tính sinh ACC deaminase đạt ở mức khá thấp (khoảng 16,138 nmol α -ketobutyrate/mg/giờ). Bên cạnh đó, một loài khác trong chi này được ghi nhận có hoạt tính ACC deaminase khá cao, đó là *Stenotrophomonas rhizophila*, với chủng G44 có khả năng sản sinh tới 1.477,2 nmol α -ketobutyrate/mg/giờ [28].

Bảng 2. So sánh mức độ tương đồng giữa chủng TQ-TL-C32 và các chủng chuẩn dựa vào trình tự gen 16S rRNA thông qua dữ liệu GenBank

Loài gần nhất	Độ tương đồng (%)	Sai lệch/ Tổng số nucleotide
<i>Stenotrophomonas muris</i> DSM 28631 ^T (JANKBX010000024)	99,93	1/1467
<i>Stenotrophomonas pavanii</i> DSM 25135 ^T (LDJN01000038)	99,80	3/1467
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> MTCC 434 ^T (JALV01000036)	99,73	4/1467
<i>Stenotrophomonas sepiolia</i> SM-16975 ^T (LXXZ01000044)	99,66	5/1467
<i>Stenotrophomonas riyadhensis</i> CFS3442 ^T (OQ852713)	99,59	6/1467
<i>Stenotrophomonas geniculata</i> ATCC 19374 ^T (AB021404)	99,51	7/1420
<i>Stenotrophomonas cyclobalanopsidis</i> TPQG1-4 ^T (MN036524)	99,10	13/1437
<i>Stenotrophomonas lactitubi</i> M15 ^T (LT222224)	98,98	15/1467
<i>Stenotrophomonas indicatrix</i> WS40 ^T (KJ452162)	98,77	18/1467
<i>Stenotrophomonas tumulicola</i> T5916-2-1b ^T (LC066089)	98,50	22/1467
<i>Stenotrophomonas chelatiphaga</i> DSM 21508 ^T (LDJK01000058)	98,43	23/1467
<i>Stenotrophomonas bentonitica</i> BII-R7 ^T (LT622838)	97,98	28/1385
<i>Stenotrophomonas lacuserhaii</i> K32 ^T (OP059050)	97,87	32/1499
<i>Stenotrophomonas nematodicola</i> W5 ^T (MT126327)	97,75	33/1467
<i>Stenotrophomonas mori</i> DY006 ^T (ON514073)	97,75	33/1467
<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> DSM 14405 ^T (CP007597)	97,61	35/1467
<i>Stenotrophomonas nitritireducens</i> DSM 12575 ^T (LDJG01000040)	97,34	39/1467
<i>Stenotrophomonas humi</i> DSM 18929 ^T (LDJI01000044)	97,27	40/1467
<i>Stenotrophomonas koreensis</i> DSM 17805 ^T (LDJH01000020)	97,21	41/1467
<i>Stenotrophomonas acidaminiphila</i> JCM 13310 ^T (LDJO01000053)	97,14	42/1467

^T: Type strain (chủng chuẩn).



T: type strain (chủng chuẩn); *: Loài chuẩn của chi *Stenotrophomonas*

Hình 2. Sơ đồ phả hệ của TQ-TL-C32 và các loài gần nhất dựa vào trình tự gen 16S rRNA (*Lysobacter enzymogenes* ATCC 29487^T (AJ298291) được sử dụng ngoài chi *Stenotrophomonas*; Bar: 0,005)

3.3. Đánh giá đặc điểm sinh hóa của chủng tuyển chọn

Việc khảo sát các đặc tính sinh hóa và hoạt tính enzyme của vi sinh vật được xem là bước quan trọng nhằm đánh giá tiềm năng chuyển

hóa cũng như ứng dụng của các chủng nghiên cứu [29]. Kết quả đánh giá khả năng đồng hóa các nguồn hydrocacbon và sinh một số loại enzyme của chủng TQ-TL-C32 được trình bày tại Bảng 3.

Bảng 3. Một số đặc điểm sinh hóa của chủng TQ-TL-C32

Khả năng đồng hóa các nguồn hydrocacbon (<i>ID 32 GN Kit</i>)	Biểu hiện hoạt tính của chủng TQ-TL-C32	Khả năng sinh enzyme (<i>API ZYM Kit</i>)	Biểu hiện hoạt tính của chủng TQ-TL-C32
L-rhamnose	-	Alkaline phosphatase	-
N-acetyl-glucosamine	+	Esterase (C4)	+
D-ribose	-	Esterase lipase (C8)	+
Inositol	-	Lipase (C14)	+
D-saccharose	+	Leucine arylamidase	-
D-maltose	+	Valine arylamidase	+
Itaconic acid	-	Cystine arylamidase	-
Suberic acid	-	Trypsin	+
Sodium malonate	-	α-chymotrypsin	-
Sodium acetate	-	Acid phosphatase	-
Lactic acid	+	Naphthol-AS-BI-phosphohydrolase	+
L-alanine	+	α-galactosidase	-
Glycogen	-	β-galactosidase	-
D-manitol	-	β-glucuronidase	+
D-glucose	+	α-glucosidase	-
Salicin	+	β-glucosidase	+
D-melibiose	+	N-acetyl-β-glucosaminidase	-
D-sorbitol	+	α-mannosidase	+
L-arabinose	-	α-fucosidase	-

Ghi chú: + có khả năng; - không có khả năng.

Kết quả phân tích sinh hóa bằng bộ kit API ZYM và 32GN cho thấy chủng TQ-TL-C32 sở hữu phổ enzyme ngoại bào tương đối đa dạng, nổi bật ở các nhóm lipase, protease và phosphatase. Cụ thể, chủng biểu hiện hoạt tính esterase (C4, C8, C14), trypsin, valine arylamidase, acid phosphatase và naphthol-AS-BI-phosphohydrolase. Sự hiện diện đồng thời của nhiều glycosidase như β -galactosidase, β -glucosidase, N-acetyl- β -glucosaminidase và α -mannosidase cho thấy khả năng phân giải polysaccharide phức tạp, góp phần khoáng hóa nguồn carbon hữu cơ trong vùng rễ, từ đó hỗ trợ cây trồng tiếp cận dinh dưỡng hiệu quả hơn. Ngược lại, chủng không biểu hiện một số enzyme như alkaline phosphatase, leucine arylamidase, cystine arylamidase, α -chymotrypsin, α -galactosidase, α -glucosidase và α -fucosidase. Điều này phản ánh tính chọn lọc trong hệ enzyme thủy phân và cho thấy cơ chế sử dụng cơ chất đặc thù của chủng.

Những đặc điểm trên phù hợp với cơ chế thường gặp ở vi khuẩn kích thích sinh trưởng thực vật (PGPR). Theo Reddy và cộng sự (2022) [30] nhiều PGPR tiết enzyme thủy phân như protease, lipase và glycosidase, góp phần khoáng hóa chất hữu cơ và tham gia cơ chế đối kháng sinh học đối với nấm bệnh. Tương tự,

Yao và cộng sự (2024) [31] đã sàng lọc PGPR từ đồng cỏ vùng núi cao cũng ghi nhận hoạt tính enzyme thủy phân là yếu tố quan trọng trong việc ức chế *Fusarium oxysporum* và thúc đẩy sinh trưởng cho cây. Do vậy, kết quả nghiên cứu đặc điểm sinh hóa cho thấy TQ-TL-C32 thể hiện ưu thế nhờ kết hợp đồng thời lipase, protease, phosphatase và glycosidase.

3.4. Ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy đến hoạt tính ACC deaminase của chủng tuyển chọn

Hoạt tính của ACC deaminase của vi khuẩn chịu ảnh hưởng mạnh mẽ bởi các yếu tố môi trường, trong đó pH là một yếu tố quan trọng, vì sự thay đổi pH môi trường có thể ảnh hưởng đến cấu trúc enzyme, quá trình trao đổi chất của vi khuẩn và khả năng biểu hiện các đặc tính thúc đẩy sinh trưởng thực vật [32]. Vì vậy, nghiên cứu ảnh hưởng của pH môi trường đến hoạt tính sinh ACC deaminase của vi khuẩn là cần thiết nhằm hiểu rõ cơ chế sinh lý của vi khuẩn, đồng thời có định hướng xác định điều kiện thích hợp để ứng dụng chủng tuyển chọn trong sản xuất chế phẩm sinh học và cải thiện năng suất cây trồng trong điều kiện môi trường bất lợi. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của pH môi trường đến hoạt tính ACC deaminase của TQ-TL-C32 được thể hiện tại Bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của pH môi trường đến hoạt tính ACC deaminase của TQ-TL-C32

TT	pH môi trường	Hoạt tính ACC deaminase (nmol α -ketobutyrate/mg/giờ)
1	5,0	32,18 ^a \pm 1,66
2	5,5	155,26 ^b \pm 1,16
3	6,0	654,63 ^d \pm 0,95
4	6,5	1.105,46 ^e \pm 0,55
5	7,0	1.332,35 ^g \pm 1,35
6	7,5	1.481,15ⁱ \pm 0,95
7	8,0	1.416,25 ^h \pm 0,27
8	8,5	1.235,72 ^f \pm 0,71
9	9,0	325,48 ^c \pm 1,21

Ghi chú: các chữ trong cùng một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha \leq 0,05$.

Kết quả cho thấy hoạt tính ACC deaminase phụ thuộc rõ rệt vào pH môi trường. Hoạt tính tăng tỷ lệ thuận khi pH tăng từ 5,0 - 7,5 và đạt cực đại trong khoảng trung tính đến kiềm yếu (7,0 - 8,0), với giá trị cao nhất tại pH 7,5 (1.481,15 nmol α -ketobutyrate/mg/giờ) có ý nghĩa thống kê với các công thức còn lại. Ở pH axit (5,0 - 6,5) và pH kiềm cao hơn (8,5 - 9,0), hoạt tính giảm đáng kể. Kết quả này khá phù

hợp với các nghiên cứu trước đây. Shahid và cộng sự (2023) [33] cùng Verma và cộng sự (2020) [34] đều ghi nhận ACC deaminase của nhiều chủng vi khuẩn có pH tối ưu xấp xỉ 7,0; tương ứng với điều kiện đất trung tính - môi trường điển hình của vùng rễ. Như vậy, pH 7,5 được xác định là thích hợp cho hoạt tính enzyme ACC deaminase của chủng TQ-TL-C32.

Nhiệt độ là một trong những yếu tố môi

trường quan trọng chi phối hoạt tính enzyme cũng như sự sinh trưởng và biểu hiện gen của vi khuẩn, bởi khi nhiệt độ quá thấp hoặc quá cao có thể làm giảm hoạt tính enzyme do ảnh hưởng đến cấu trúc protein và quá trình trao đổi chất của tế bào vi khuẩn [33]. Vì vậy, nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến hoạt tính sinh ACC deaminase của vi khuẩn là cần thiết nhằm

xác định điều kiện thích hợp cho sự biểu hiện enzyme này, đồng thời tạo cơ sở khoa học cho việc ứng dụng chủng vi khuẩn tuyển chọn phục vụ nông nghiệp bền vững. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy đến hoạt tính ACC deaminase của TQ-TL-C32 được trình bày tại Bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy đến hoạt tính ACC deaminase của TQ-TL-C32

TT	Nhiệt độ nuôi cấy (°C)	Hoạt tính ACC deaminase (nmol α -ketobutyrate/mg/giờ)
1	25	1.422,73 ^d \pm 1.325
2	30	1.481,1^e \pm 0,971
3	35	1.482,99^e \pm 1.73
4	40	1.331,21 ^c \pm 1.095
5	45	263,57 ^b \pm 1.44
6	50	0,00 ^a \pm 0,00

Ghi chú: Các chữ trong cùng một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha \leq 0,05$.

Hoạt tính ACC deaminase tăng dần từ 25 - 35°C và cao nhất trong khoảng 30-35°C (1.481,1-1.482,99 nmol α -ketobutyrate/mg/giờ ở mức sai khác không có ý nghĩa thống kê). Khi nhiệt độ tăng lên 40-45°C hoạt tính giảm mạnh và hoàn toàn mất ở 50°C. Kết quả này tương đồng với các công bố của Glick (2014) [11]; Verma và cộng sự (2020) [34], các tác giả trên đều ghi nhận hoạt tính ACC deaminase của nhiều chủng vi khuẩn có nhiệt độ thích hợp trong khoảng 30–37°C, tương ứng với điều kiện sinh học tự nhiên của vi khuẩn đất. Ngoài ra, Shahid và cộng sự (2023) [33] cũng ghi nhận enzyme này bị bất hoạt nhanh khi vượt quá 45–50°C. Tuy nhiên, theo Rafi và cộng sự (2022) [35] trong điều kiện nhiệt độ

cao hơn, nếu ứng dụng các vi khuẩn sinh ACC deaminase có thể giúp cây trồng giảm phát thải ethylene và tăng khả năng chịu stress nhiệt. Do đó, 35°C được xác định là nhiệt độ thích hợp, đảm bảo phù hợp cho ứng dụng thực tiễn.

Thời gian nuôi cấy có ảnh hưởng đến mức độ biểu hiện và hoạt tính ACC deaminase [11, 17]. Vì vậy, việc nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến hoạt tính ACC deaminase của TQ-TL-C32 là cần thiết nhằm tạo cơ sở khoa học cho việc ứng dụng chúng trong phát triển chế phẩm vi sinh phục vụ sản xuất nông nghiệp bền vững. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến hoạt tính ACC deaminase của TQ-TL-C32 được trình bày tại Bảng 6.

Bảng 6. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến hoạt tính ACC deaminase của TQ-TL-C32

TT	Nhiệt độ nuôi cấy (giờ)	Hoạt tính ACC deaminase (nmol α -ketobutyrate/mg/giờ)
1	12	256,38 ^b \pm 1.68
2	24	844,15 ^d \pm 1.23
3	36	1.312,23 ^f \pm 0.29
4	48	1.498,58^h \pm 0.58
5	60	1.426,16 ^g \pm 1.86
6	72	1.104,28 ^e \pm 2.02
7	84	423,61 ^c \pm 7.69
8	96	146,15 ^a \pm 1.04

Ghi chú: các chữ trong cùng một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha \leq 0,05$.

Kết quả ở Bảng 6 cho thấy, hoạt tính ACC deaminase tăng theo thời gian nuôi cấy và lớn nhất sau 48 giờ nuôi (1.498,58 nmol α -ketobutyrate/mg/giờ). Sau 60 giờ, hoạt tính

giảm dần có thể do vi khuẩn chuyển sang pha ổn định và suy vong. Kết quả này phù hợp với công bố của Glick (2014) [11] đã chỉ ra rằng ACC deaminase thường đạt hoạt tính cao nhất ở

pha sinh trưởng, giảm ở pha cân bằng. Verma và cộng sự (2020) [34] cũng khẳng định enzyme này có cực đại ở khoảng 36–48 giờ nuôi cấy, sau đó giảm do thiếu dinh dưỡng và tích lũy sản phẩm. Tương tự, Shahid và cộng sự (2023) [33] nhấn mạnh rằng sự cảm ứng ACC deaminase liên quan chặt chẽ đến điều kiện sinh trưởng và thời gian nuôi cấy, phù hợp với dữ liệu thí nghiệm. Như vậy, 48 giờ là thời gian nuôi cấy phù hợp cho hoạt tính ACC deaminase, vừa đảm bảo hiệu quả xúc tác cao, vừa duy trì độ bền enzyme.

4. KẾT LUẬN

Từ 10 mẫu đất trồng chè thu thập tại tỉnh Tuyên Quang đã phân lập được 06 chủng ACB, từ đó tuyển chọn được chủng TQ-TL-C32 có hoạt tính sinh ACC deaminase cao nhất (đạt 1.481,12 nmol α -ketobutyrate/mg/giờ). Vị trí của TQ-TL-C32 trên sơ đồ cây phân loại cùng nhánh đơn và có trình tự 16S rRNA tương đồng cao nhất (99,93%) với *Stenotrophomonas muris* DSM 28631^T nên chủng TQ-TL-C32 được đặt tên là *Stenotrophomonas muris* TQ-TL-C32, chủng TQ-TL-C32 sở hữu phổ enzyme ngoại bào tương đối đa dạng, như khả năng sinh esterase (C4, C8, C14), trypsin, valine arylamidase, acid phosphatase và naphthol-AS-BI-phosphohydrolase. Đồng thời thể hiện hoạt tính sinh nhiều glycosidase như β -galactosidase, β -glucosidase, N-acetyl- β -glucosaminidase và α -mannosidase. Trong môi trường ADF có pH = 7,5 với nhiệt độ nuôi 35°C và sau 48 giờ, hoạt tính ACC deaminase của chủng TQ-TL-C32 đạt 1.498,58 nmol α -ketobutyrate/mg/giờ.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí từ đề tài khoa học công nghệ cấp quốc gia của Bộ Khoa học và Công nghệ, mã số KC.12.12/21-30. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn Chương trình đã hỗ trợ thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Đỗ Quang Giám & Trần Quang Trung (2013). Đánh giá khả năng tham gia sản xuất theo hợp đồng của hộ nông dân vùng trung du miền núi Đông Bắc: Nghiên cứu với cây chè ở Tuyên Quang. Tạp chí Khoa học và Phát triển. 11(3): 447-457.

[2]. Nguyễn Thị Minh Thu, Vũ Tiến Vượng, Đặng Nam Phương, Trần Hương Giang, Mai Tiến Huy & Nguyễn Trung Đức (2025). Hiệu quả kỹ thuật trong sản xuất chè của các hộ nông dân: nghiên cứu trường hợp tại huyện Yên Sơn, tỉnh Tuyên Quang. Tạp chí Khoa học Nông

NGHIỆP VIỆT NAM. 23(7): 981-992.

[3]. Gu S., Hu Q., Cheng Y., Bai L., Liu Z., Xiao W., Gong Z., Wu Y., Feng K., Deng Y. & Tan L. (2019). Application of organic fertilizer improves microbial community diversity and alters microbial network structure in tea (*Camellia sinensis*) plantation soils. Soil and Tillage Research. 195: 104356. DOI: 10.1016/j.still.2019.104356.

[4]. Yadav A. K., Saraswat S., Sirohi P., Rani M., Srivastava S., Pratap. M, Singh & Singh N. K. (2017). Antimicrobial Action of Methanolic Seed Extracts of *Syzygium cumini* Linn. on *Bacillus subtilis*. AMB Express. 7: 1-10. DOI: 10.1186/s13568-017-0500-4.

[5]. Bhaduri J., Kundu P., Mitra D. & Roy S. K. (2016). Isolation and characterisation of nitrogen fixing bacteria (*Azotobacter sp.*) from tea field soil of Dooars and Darjeeling region of North Bengal, India. International Journal of Engineering Science Invention. 5(8): 46-51.

[6]. Gao G. & Tao R. (2001). Experiment studies on the hygienics of As, Ba, Cd, Pb in tea. Chinese Journal of Food Hygiene. 6: 12-14.

[7]. Arafat Y., Wei X., Jiang Y., Chen T., Saqib H. S. A., Lin S. & Lin W. (2017). Spatial distribution patterns of root-associated bacterial communities mediated by root exudates in different aged ratooning tea monoculture systems. International Journal of Molecular Sciences. 18(8): 17-27. DOI: 10.3390/ijms18081727.

[8]. Ladha J.K., Himanshu P., Timothy J.K, Six J. & Chris V. K. (2005). Efficiency of fertilizer Nitrogen in cereal production: Retrospects and prospects. Advances in Agronomy. 87: 85-156.

[9]. Nguyễn Thị Kim Oanh, Nguyễn Hải Yến, Phạm Huy Quang & Nguyễn Hồng Chiên (2025). Nghiên cứu sản xuất chế phẩm vi sinh từ nấm bản địa phục vụ cải tạo đất trồng chè bị thoái hóa trên địa bàn tỉnh Phú Thọ. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam. 8(168): 71-77.

[10]. Vũ Thị Ngọc Diệp, Phạm Khánh Huyền, Nguyễn Văn Giang, Khuất Hữu Trung & Trần Đăng Khánh (2021). Vai trò của vi khuẩn sinh tổng hợp ACC deaminase trong giảm thiểu stress phi sinh học ở cây trồng. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam. 9: 56- 59.

[11]. Glick B.R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. Microbiological Research. 169(1): 30–39. Doi: 10.1016/j.micres.2013.09.009.

[12]. Shimon M., Tirosh T. & Glick B. R. (2004). Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. Plant Science. 166(2): 525-530. DOI: 10.1016/j.plantsci.2003.10.025

[13]. Nayani S., Mayak S. & Glick B.R. (1998). Effect of plant growth-promoting rhizobacteria on senescence of flower petals. Indian Journal of Experimental Biology. 36: 836–839.

[14]. Ali S., Charles T.C., Glick B.R. (2012). Delay of flower senescence by bacterial endophytes expressing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. Applied Microbiology. 113(5): 1139-1144. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2012.05409.x

- [15]. Ma W., Guinel F. C. & Glick B. R. (2003). Rhizobium leguminosarum biovar viciae 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase promotes nodulation of pea plants. Applied and Environmental Microbiology. 69(8): 4396-4402. DOI: 10.1128/AEM.69.8.4396-4402.2003.
- [16]. Liu H., Chen G-H., Sun J-J., Chen S., Fang Y. & Ren J-H. (2022). Isolation, Characterization, and Tea Growth-Promoting Analysis of JW-CZ2, a Bacterium With 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic Acid Deaminase Activity Isolated From the Rhizosphere Soils of Tea Plants. Frontiers in Microbiology. 13:792876. DOI: 10.3389/fmicb.2022.792876.
- [17]. Penrose D. M. & Glick B. R. (2003). Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. Physiologia Plantarum. 118: 10-15
- [18]. Bộ Khoa học và Công nghệ Việt Nam: TCVN 7538-6:2010 (2010). Phần 6: Hướng dẫn về thu thập, xử lý và bảo quản mẫu đất ở điều kiện hiếu khí để đánh giá các quá trình hoạt động, sinh khối và tính đa dạng của vi sinh vật trong phòng thí nghiệm.
- [19]. Patil C., Suryawanshi R., Koli S. & Patil S. (2016). Improved method for effective screening of ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylate) deaminase producing microorganisms. Journal of Microbiological Methods. 131: 102-104. DOI: 10.1016/j.mimet.2016.10.009.
- [20]. Honma M. & Shimomura T. (1978). Metabolism of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. Agricultural and Biological Chemistry. 42: 1825–1831.
- [21]. Sambrook J. & Russell D.W. (2001). Molecular Cloning: a Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1-170.
- [22]. Klindworth A., Pruesse E., Schweer T., Peplies J., Quast C., Horn M., & F. Glöckner F.O. (2013). Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next generation sequencing-based diversity studies. Nucleic Acids Res. 41 (1) : 1-11.
- [23]. Kumar S., Stecher G., Suleski M., Sanderford M., Sharma S. & Tamura K. (2024). MEGA12: Molecular Evolutionary Genetic Analysis Version 12 for Adaptive and Green Computing. Molecular Biology Evolution. 12(41): msae263. DOI: 10.1093/molbev/msae263
- [24]. Browne H.P., Forster S.C., Anonye B.O., Kumar N., Neville B.A., Stares M.D., Goulding D. & Lawley T.D. (2016). Culturing of 'unculturable' human microbiota reveals novel taxa and extensive sporulation. Nature. 533(7604): 543-546.
- [25]. Tuong H.M., Garcia M.S., Vandecasteele M., Willems A., Lua D., Beirinckx S. & Goormachtig S. (2022) *Stenotrophomonas* sp. SRS1 promotes growth of *Arabidopsis* and tomato plants under salt stress conditions. Plant and Soil. 473(1): 547–571. DOI: 10.1007/s11104-022-05304-9.
- [26]. Singh R. P. & Jha P. N. (2017). The PGPR *Stenotrophomonas maltophilia* SBP-9 Augments Resistance against Biotic and Abiotic Stress in Wheat Plants. Frontiers in Microbiology. 8(1945): 1-15. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01945.
- [27]. Woźniak M., Tyśkiewicz R., Siebielec S., Gałazka A. & Jolanta J-S. (2023). Metabolic Profiling of Endophytic Bacteria in Relation to Their Potential Application as Components of Multi-Task Biopreparations. Microbial Ecology. 86:2527–2540. DOI: 10.1007/s00248-023-02260-4.
- [28]. Beijing Agricultural Biotechnology Research Center (2021). *Stenotrophomonas rhizophila* strain promoting lily growth and/or antagonizing lily pathogens and application thereof (CN112592850A). China National Intellectual Property Administration. <https://patents.google.com/patent/CN112592850A>
- [29]. Atlas R. M., & Bartha R. (1998). Microbial Ecology: Fundamentals and Applications. Benjamin/Cummings Publishing Company. Menlo Park, California, USA.
- [30]. Reddy E. C., Reddy G. S., Goudar V., Sriramula A., Swarnalatha G. V., Al Tawaha A. R. M. & Sayyed R. Z. (2022). Hydrolytic Enzyme Producing Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) in Plant Growth Promotion and Biocontrol. In Secondary Metabolites and Volatiles of PGPR in Plant-Growth Promotion. Springer Nature. 303–312. DOI: 10.1007/978-981-19-4150-0_16.
- [31]. Yao X., Lan X., Jin Y. & Li C. (2024). Screening, Identification, and Characterization of Plant Growth-Promoting Rhizobacterium Strains from Alpine Grassland as Biocontrol Agents Against *Fusarium oxysporum*. Agronomy. 14(12): 2856. Agronomy. DOI: 10.3390/agronomy14122856.
- [32]. Sagar A., Sayyed R. Z., Ramteke P. W., Sharma S., Najat Marraiki, Abdallah M. E. & Asad Syed (2020). ACC deaminase and antioxidant enzymes producing halophilic *Enterobacter* sp. PR14 promotes the growth of rice and millets under salinity stress. Physiology and Molecular Biology of Plants. 26(9): 1847-1854. DOI: 10.1007/s12298-020-00852-9.
- [33]. Shahid M., Singh U. B., Khan M. S., Singh P., Kumar R., Singh R. N., Kumar A. & Singh H. V. (2023). Bacterial ACC deaminase: Insights into enzymology, biochemistry, genetics, and potential role in amelioration of environmental stress in crop plants. Frontiers in Microbiol. 14:1132770. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1132770.
- [34]. Verma P. P., Sharma S. G. & Kaur M. (2020). Microbial ACC-Deaminase Attributes: Perspectives and Applications in Stress Agriculture. In: Yadav, A., Rastegari, A., Yadav, N., Kour, D. (eds) Advances in Plant Microbiome and Sustainable Agriculture. Microorganisms for Sustainability. 20. Springer. Singapore. DOI: 10.1007/978-981-15-3204-7_4.
- [35]. Rafi A., Chaudhary H. J., Ali J., Kutawa A. B., Amna, Khan M., Aslam N. & Rehman S. U. (2022). Evaluation of the Effect of ACC Deaminase and Exopolysaccharides Producing Bacteria in Maize (*Zea mays*) under Heat Stress. Trends in Sciences. 19(21): 6311. DOI: 10.48048/tis.2022.6311.