

trên đồng ruộng hiệu lực của các loại thuốc phòng trừ bệnh thán thư, đốm lá.

Vũ Ngọc Quý, 2016. Một số kết quả nghiên cứu về kỹ thuật canh tác trong sản xuất ngô ở Việt Nam. *Kỷ yếu kết quả nghiên cứu khoa học công nghệ cây ngô 2011- 2016*. NXB Nông nghiệp.

Viện Nghiên cứu Ngô, 2010. Nghiên cứu áp dụng quản lý cây trồng tổng hợp (ICM) trên ngô lai. *Báo cáo tổng kết Đề tài "Nghiên cứu áp dụng quản lý cây trồng tổng hợp (ICM) trên ngô lai"*. Hà Nội, 2010.

Viện Nghiên cứu Ngô, 2015. Nghiên cứu chọn tạo

giống ngô cho vùng thâm canh. *Báo cáo tổng kết Đề tài "Nghiên cứu Chọn tạo giống ngô cho vùng Thâm canh" giai đoạn 2011 - 2015*.

Viện Nghiên cứu Ngô, 2015. Nghiên cứu xây dựng gói kỹ thuật nâng cao năng suất và hiệu quả của sản xuất ngô ở các tỉnh phía Bắc. *Báo cáo kết quả nghiên cứu đề tài năm 2015*.

Viện Nghiên cứu Ngô, 2016. Nghiên cứu xây dựng gói kỹ thuật nâng cao năng suất và hiệu quả của sản xuất ngô ở các tỉnh phía Bắc. *Báo cáo kết quả nghiên cứu đề tài năm 2016*.

Study on pesticide utilization for maize production in Mai Son district, Son La province in 2015 and 2016

Nguyen Van Tao, Le Quoc Thanh, Dang Ngoc Ha, Luong Van Vang, Vu Ngoc Quy, Le Van Vuong, Nguyen Xuan Sinh, Tran Trung Kien, Vu Hong Trang, Lo Thi Ngoc Minh

Abstract

The results of survey on maize cultivating area in Maison district, Sonla province, Viet Nam in 2015 and 2016 showed the presence of full target pests on maize including insect pest, weeds and diseases. The chemicals containing *Atrazin* as active ingredient was the most effective herbicide to control dicot weeds after two growing seasons of pesticide and herbicide testing. The herbicide containing *Simazine* as active ingredient was the most effective to control monocot weeds. Among four active ingredients including *Ethyl Chlorpyrifos*, *Acetamprid*, *Abamectin* and *Fenitrothion*, the *Ethyl Chlorpyrifos* was not as much effective as the others. Among the active ingredient group *Cholorothanotil*, *Carbendazim* and *Thiram*, *Cholorothanotil* was more effective than others.

Keywords: Disease herbicide, pest, insect, insecticides, maize, weed

Ngày nhận bài: 6/9/2017

Ngày phản biện: 14/9/2017

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Thủy

Ngày duyệt đăng: 10/11/2017

KHẢO SÁT ĐIỀU KIỆN NUÔI CẤY CHŨNG VI KHUẨN TÁI TỔ HỢP *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE* SINH GELATINASE

Phạm Mỹ Dung¹, Phạm Công Hoạt²,
Phạm Thị Tâm³, Lê Huy Hàm⁴

TÓM TẮT

Nghiên cứu khảo sát các nguồn các bon, ni tơ, nhiệt độ, pH, thời gian nuôi cấy được tiến hành để đánh giá ảnh hưởng của một số điều kiện nuôi cấy đến khả năng sinh trưởng và sinh tổng hợp gelatinase của chủng *E. coli* BL21-*pET22b(+)-gelE*. Kết quả cho thấy nguồn ni tơ và các bon bổ sung vào môi trường tăng sinh chủng tái tổ hợp là *E. coli* BL21-*pET22b(+)-gelE*, yeast extract hoặc pepton 1% + glucose 1%. Đồng thời, nuôi cấy ở điều kiện nhiệt độ 30 ÷ 37°C, pH 7 ÷ 8 là phù hợp cho chủng tái tổ hợp này. Thời gian nuôi cấy phù hợp để tăng sinh vi khuẩn tái tổ hợp *E. coli* BL21-*pET22b(+)-gelE* là 24 giờ.

Từ khóa: Gelatinase, vi khuẩn tái tổ hợp, *E. coli*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gelatinase là một loại protease đa dạng, một endopeptidase ngoại bào hoặc metalloproteinase có

khả năng thủy phân gelatin và các chất khác các hợp chất như pheromone, collagen, casein và fibrinogen (Makinen *et al.*, 1989, 1994). Gelatinase được sử

¹ Viện Nông nghiệp và Tài nguyên, Trường Đại học Vinh

² Khoa Công nghệ Sinh học, Viện Đại học Mở Hà Nội

³ Bộ Khoa học và Công nghệ; ⁴ Viện Di truyền Nông nghiệp

dụng rộng rãi không chỉ trong ngành công nghiệp hóa chất và y tế mà còn trong lĩnh vực thực phẩm và khoa học sinh học cơ bản (Hisano *et al.*, 1989).

Gelatinase là một loại enzyme do vi sinh vật sản sinh ra, có hoạt tính thủy phân gelatin thành các hợp chất của nó như polypeptide, peptide và axit amin. Có thể tách chiết enzyme này từ các chủng vi khuẩn như *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Marcescens Serratia*, *Bacillus*, *Enterococcus faecalis*. ... (Shanmugasundaram *et al.*, 2012). Hơn thế, sử dụng các chủng *E.coli* trong biểu hiện collagenase, gelatinase tái tổ hợp không gây bệnh, dễ dàng xử lý và sự hiểu biết về quá trình lên men của chủng này, dẫn đến năng suất biểu hiện cao gấp nhiều lần so với chủng tự nhiên (Hesse *et al.*, 1995; Paulina Ducka *et al.*, 2009).

Tuy nhiên, hiện nay nhu cầu sử dụng về gelatinase trong y học, công nghiệp chế biến rất lớn, do vậy việc nghiên cứu tạo ra chủng vi sinh vật tái tổ hợp sinh gelatinase là cần thiết. Hơn thế, khi có chủng vi sinh vật tái tổ hợp rồi thì việc nghiên cứu điều kiện nuôi cấy thích hợp cho chúng là rất quan trọng góp phần mang lại hiệu quả thu nhận enzyme cao hơn.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chủng vi khuẩn tái tổ hợp *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE* từ Viện Đại học Mở Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nuôi cấy vi khuẩn

Chủng vi khuẩn tái tổ hợp *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE* được nuôi cấy tăng sinh trong môi trường LB có thành phần gồm: 10 g tryptone, 10 g yeast extract, 10 g NaCl, ampicillin 100 µg/ml, pH = 7.

2.2.2. Phương pháp xác định hoạt tính của gelatinase

Phương pháp định tính (Ball, 1997): Hoạt tính enzyme của các chủng vi khuẩn được xác định bằng cách đo kích thước vòng phân giải (D - d) (mm), trong đó, (D) là đường kính vòng phân giải, (d) là đường kính lỗ thạch. Hiệu số (D - d) của chủng vi khuẩn nào càng lớn thể hiện hoạt tính enzyme gelatinase do chủng vi khuẩn đó sinh ra càng mạnh.

Phương pháp định lượng (Tran and Nagano, 2002): 0,3 ml gelatin 0,2%, 0,2 ml Tris-HCl 150 mM, pH 7,5, 12 mM CaCl₂, 0,1ml gelatinase. Hỗn hợp được ủ ở 30 °C trong 30 phút. Phản ứng enzyme được dừng bằng 0,6 ml HCl 0,1 N. Hoạt lực của gelatinase được tính bằng số µmol leucine tạo ra trong dịch lọc trong 1 phút/ml. Hỗn hợp tương tự nhưng không chứa gelatin được sử dụng làm mẫu đối chứng.

2.2.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của thành phần môi trường nuôi cấy lên khả năng sinh trưởng và tổng hợp gelatinase của chủng tái tổ hợp *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE*

Để xác định nguồn nito và các bon phù hợp cho quá trình sinh tổng hợp gelatinase, các loại cơ chất được lựa chọn, bao gồm: 10 g/L glucose, lactose, sucrose và 10 g/L peptone, yeast extract, urea, ammonium chloride và ammonium sulphate.

2.2.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy lên khả năng sinh trưởng và tổng hợp gelatinase của chủng tái tổ hợp *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE*

Chủng vi khuẩn tái tổ hợp *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE* được nuôi cấy trong môi trường LB có thành phần gồm: 10 g tryptone, 10 g yeast extract, 10 g peptone, 10 g NaCl, ampicillin 100 µg/ml; pH = 7; ở các nhiệt độ là 28°C, 30°C và 37°C.

2.2.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của pH nuôi cấy lên khả năng sinh trưởng và tổng hợp gelatinase của chủng tái tổ hợp *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE*

Chủng vi khuẩn tái tổ hợp *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE* được nuôi cấy trong môi trường LB có thành phần gồm: 10 g tryptone, 10 g yeast extract, 10 g peptone, 10 g NaCl, ampicillin 100 µg/ml, nhiệt độ 37°C với các mức pH = 6; 7 và 8.

2.2.6. Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy lên khả năng sinh trưởng và tổng hợp gelatinase của chủng tái tổ hợp *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE*

Chủng vi khuẩn tái tổ hợp *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE* được nuôi cấy tăng sinh trong môi trường LB có thành phần gồm: 10 g Tryptone, 10g yeast extract, 10 g peptone, 10 g NaCl, ampicillin 100 µg/ml, pH = 7. Thời gian tăng sinh chủng biểu hiện trong 24 giờ ở nhiệt độ 37°C.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian: Từ tháng 11/2015 đến 08/2016.
- Địa điểm: Phòng thí nghiệm công nghệ sinh học - Khoa Công nghệ sinh học - Viện Đại học Mở Hà Nội.

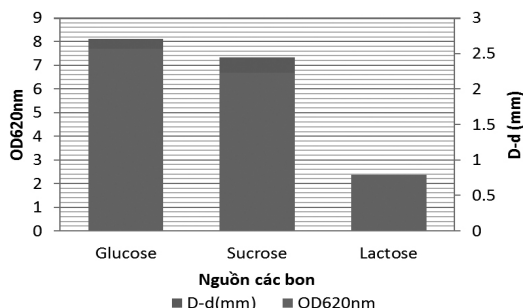
III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy lên sinh trưởng của chủng tái tổ hợp *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE* và sinh tổng hợp gelatinase

3.1.1. Nguồn các bon

Kết quả ở hình 1 cho thấy các nguồn các bon khác nhau ảnh hưởng đến sinh trưởng của chủng *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE* cũng như khả năng sinh gelatinase. Cụ thể, với nguồn các bon là glucose cho mật độ sinh khối OD620 và hoạt độ gelatinase cao

nhất (2,57 và 8,12 mm), tiếp đến là nguồn Sacrose đạt 2,23 và 7,33 mm, thấp nhất là nguồn Lactose đạt 0,79 và 1,34 mm. Kiểm định Duncan cho thấy sự sai khác giữa các nguồn các bon khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê đối với sự sinh trưởng và hoạt tính gelatinase của chủng *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE* ($p < 0,05$).



Hình 1. Khả năng sử dụng nguồn các bon khác nhau của chủng *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE*

Bảng 1. Khả năng sử dụng nguồn ni tơ khác nhau của chủng *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE*

Thông số	Ni tơ				
	Yeast extract	Peptone	NH ₄ Cl	NH ₄ (SO ₂) ₄	Urea
Mật độ sinh khối (OD _{600nm})	3,17 ± 0,03 ^c	3,18 ± 0,01 ^c	1,23 ± 0,008 ^b	1,25 ± 0,14 ^b	0,41 ± 0,01 ^a
Hoạt độ gelatinase (UI/ml)	0,49 ± 0,012 ^d	0,65 ± 0,017 ^e	0,34 ± 0,006 ^c	0,42 ± 0,006 ^b	0,18 ± 0,005 ^a

Ghi chú: Số liệu trong cùng một hàng có ký hiệu chữ mũ khác nhau thì thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy lên khả năng sinh trưởng và tổng hợp gelatinase của chủng tái tổ hợp *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE*

Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự sinh trưởng của chủng *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE* được thể hiện ở bảng 2 cho thấy: chủng tái tổ hợp sinh trưởng tốt nhất ở nhiệt độ 30°C và 37°C đạt mật độ sinh khối 2,30 và 2,98, còn ở nhiệt độ 22°C đạt 1,97 và thấp nhất là 0,85 ở nhiệt độ 45°C ($p < 0,05$). Kết quả kiểm định Duncan cho thấy mật độ sinh khối giữa nhiệt độ 30°C và 37°C không có sự sai khác ($p > 0,05$). Như vậy, nhiệt độ 30-37°C thích hợp cho sinh trưởng của chủng tái tổ hợp.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự sinh trưởng và sinh tổng hợp gelatinase của chủng tái tổ hợp

Nhiệt độ (°C)	Sinh trưởng OD _{600nm}	Hoạt tính gelatinase (U/ml)
22°C	1,97 ± 0,083 ^b	0,42 ± 0,012 ^b
30°C	2,30 ± 0,100 ^c	0,55 ± 0,017 ^c
37°C	2,98 ± 0,100 ^c	0,61 ± 0,021 ^c
45°C	0,85 ± 0,100 ^a	0,24 ± 0,058 ^a

Chú thích: Bảng 2, 3: Số liệu trong cùng một cột có ký hiệu chữ mũ khác nhau thì thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

3.1.2. Ảnh hưởng của nguồn Ni tơ

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nguồn ni tơ đến sự sinh trưởng và sinh tổng hợp gelatinase của chủng tái tổ hợp thu được ở bảng 1 cho thấy: Nguồn ni tơ là pepton cho mật độ sinh khối và hoạt độ gelatinase cao nhất là 3,18 và 0,65 UI/ml; tiếp đến là yeast extract đạt 3,17 và 0,49 UI/ml, sau đó là NH₄Cl, NH₄(SO₂)₄ lần lượt là 1,23 và 0,34 UI/ml; 1,25 và 0,42 UI/ml; thấp nhất là Urea đạt 0,41 và 0,18 U/ml. Khi tiếp hành phép kiểm định Duncan cho thấy với mật độ sinh khối (OD_{600nm}) từ nguồn ni tơ là pepton có sai khác có ý nghĩa với các nguồn ni tơ khác ($p < 0,05$) và không sai khác với nguồn ni tơ là yeast extract ($p > 0,05$). Vì vậy, điều này nói rằng có thể sử dụng nguồn ni tơ là pepton hoặc yeast extract để nuôi cấy chủng tái tổ hợp này.

Bên cạnh đó, hoạt độ gelatinase của chủng tái tổ hợp thu được cho thấy: với điều kiện nhiệt độ nuôi cấy là 30°C, 37°C, hoạt tính gelatinase của chủng tái tổ hợp lần lượt là 0,55 U/ml; 0,61 U/ml. Khi tăng nhiệt độ lên 45°C hay giảm nhiệt độ xuống còn 22°C thì hoạt tính phân giải gelatin của chủng tái tổ hợp giảm đi rõ rệt. Cụ thể, ở nhiệt độ 22°C đạt 0,42 UI/ml và nhiệt độ 45°C đạt 0,24 UI/ml. Khi kiểm định Duncan cho thấy sự sai khác hoạt độ gelatinase giữa nhiệt độ 30°C, 37°C là không có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$). Ngược lại, giữa nhiệt độ 30°C, 37°C với 22°C và 45°C có sự sai khác có ý nghĩa thống kê về hoạt độ gelatinase ($p < 0,05$). Theo Shanmugasundaram và cộng tác viên (2012), *B. subtilis* nuôi cấy ở nhiệt độ 35°C có khả năng sinh gelatinase cao nhất.

3.3. Ảnh hưởng của yếu tố pH lên khả năng sinh trưởng và tổng hợp gelatinase của chủng tái tổ hợp *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE*

Để xác định khả năng sinh tổng hợp gelatinase trong môi trường có pH thích hợp, chủng *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE* được nuôi trên môi trường LB có bổ sung gelatin và lactose (10 gelatin,

10 g yeast extract, 1,5 g anhydrous K_2HPO_4 , 5 mL 1M $MgSO_4$, lactose 10 g) với độ pH bằng 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 điều chỉnh bằng HCl 1N hoặc NaOH 1N.

Bảng 3. Ảnh hưởng của pH đến sự sinh trưởng và sinh tổng hợp gelatinase của chủng tái tổ hợp

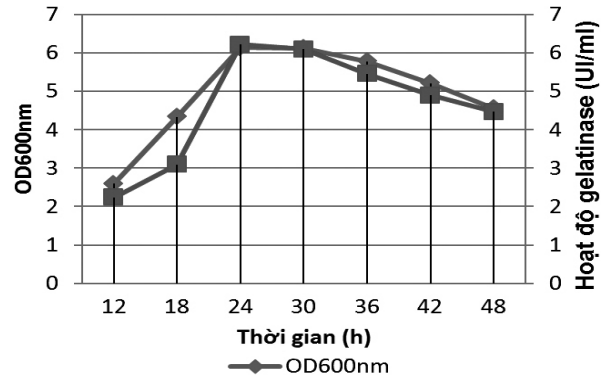
pH	OD600nm	Hoạt độ gelatinase (U/ml)
4	1,52 ± 0,028 ^b	0,19 ± 0,058 ^a
5	1,97 ± 0,037 ^c	0,32 ± 0,040 ^b
6	2,26 ± 0,022 ^d	0,43 ± 0,058 ^c
7	2,89 ± 0,010 ^e	0,62 ± 0,058 ^e
8	2,68 ± 0,050 ^f	0,59 ± 0,032 ^e
9	2,38 ± 0,008 ^e	0,38 ± 0,029 ^d
10	1,46 ± 0,028 ^a	0,18 ± 0,058 ^a

Từ kết quả thu được ở bảng 3 cho thấy: sự sinh trưởng của chủng tái tổ hợp đạt tốt nhất ở mức pH7, tiếp đến lần lượt là pH8, pH9, pH6, pH5, pH4 và pH10 với giá trị mật độ sinh khối đo được là 2,89; 2,68; 2,38; 2,26; 1,97; 1,52 và 1,46. Sự sai khác mật độ sinh khối vi khuẩn ở các mức pH có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$). Tương tự, đối với khả năng sinh gelatinase của chủng tái tổ hợp cũng đạt cao nhất ở pH7, tiếp đến lần lượt là pH8, pH9, pH6, pH5, pH4 và pH10 ($p < 0,05$). Tuy nhiên, không có sự sai khác ý nghĩa về hoạt độ gelatinase của chủng tái tổ hợp ở mức pH7 và pH8 ($p > 0,05$). Patricia và cộng tác viên (2010) nghiên cứu ảnh hưởng của pH đến hoạt tính gelatinase cho thấy phạm vi pH rộng với độ pH tối ưu là 8. Điều này nói lên rằng, có thể nuôi chủng tái tổ hợp trong điều kiện pH 7 ÷ 8 sẽ cho hoạt độ gelatinase là cao nhất (0,62 UI/ml và 0,59 UI/ml).

3.4. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy lên khả năng sinh trưởng và tổng hợp gelatinase của chủng tái tổ hợp *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE*

Vi khuẩn *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE* được tăng sinh trong 3 bình nuôi cấy trong 48 giờ, sau 12 giờ bắt đầu đo mật độ sinh khối đồng thời kiểm tra hoạt độ gelatinase được sinh ra, sau đó cứ cách 6 giờ kiểm tra một lần. Kết quả thu được ở hình 2.

Kết quả thu được ở hình 2 cho thấy mật độ sinh khối vi khuẩn bắt đầu đạt đến mức cực đại sau hơn 24 giờ nuôi cấy, sau đó giảm dần. Bên cạnh đó, hoạt độ gelatinase xác định được ở các mốc thời gian biểu hiện khác nhau là khác nhau. Cụ thể, sau khoảng từ 12 giờ đến 24 giờ nuôi cấy hoạt độ gelatinase tăng lên theo tỷ lệ thuận với mật độ sinh khối vi khuẩn tái tổ hợp. Nhưng sau 30 giờ thì hoạt độ gelatinase bắt đầu giảm dần. Điều này, có thể nói lên rằng việc sản sinh ra gelatinase liên quan đến sinh khối vi khuẩn sinh tổng hợp ra nó.



Hình 2. Sự ảnh hưởng của thời gian đến khả năng sinh tổng hợp gelatinase của chủng *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE*

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

- Nguồn ni tơ và các bon bổ sung vào môi trường tăng sinh chủng tái tổ hợp là *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE* là yeast extract hoặc pepton 1% + glucose 1%. Nuôi cấy ở điều kiện nhiệt độ 30 ÷ 37°C, pH 7 ÷ 8 là phù hợp cho chủng tái tổ hợp này.

- Thời gian nuôi cấy phù hợp để tăng sinh vi khuẩn tái tổ hợp *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE* là 24 giờ.

4.2. Kiến nghị

Tiếp tục nghiên cứu các điều kiện tăng sinh chủng biểu hiện để thu được gelatinase có hoạt tính cao nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ball, A. S., 1997. *Bacterial Cell Culture (Essential Data)*. John Wiley & Sons Ltd. UK, p.64.
- Hisano T, Abe S, Wakashiro M, Kimura A, Murata K, 1989. Isolation and properties of a collagenase with caseinolytic activity from a *Pseudomonas* sp. *J Ferment Bioeng*, 68 (6): 399-403.
- Hesse F, Burtscher H, Popp F, Ambrosious D, 1995. Recombinant enzymes for istet isolation: purification of collagenase from *Clostridium histolyticum* and cloning/expression of the gene. *Transplant Proc* 27: 3287-3289.
- Makinen P, Clewell F, Makinen KK., 1989. Purification and substrate specificity of a strongly hydrophobic extracellular metalloendopeptidase ("gelatinase") from *Streptococcus faecalis* (strain OG1-10). *J. Biol. Chem* 1989, 264: 3325-3334.
- Makinen P, Makinen KK, 1994. The *Enterococcus faecalis* extracellular metalloendopeptidase (EC 3.4.24.30; coccolysin) inactivates human endothelin

at bonds involving hydrophobic amino acid residues. *Biochem. Biophys*, 200: 981-985.

Patrícia Domingues Pires-Bouças, Erika Izumi, Luciana Furlaneto-Maia, Leonardo Sturion and Sérgio Suzart, 2010. Effects of environmental and nutritional factors on gelatinolytic activity by *Enterococcus faecalis* strains isolated from clinical sources. *African Journal of Microbiology Research* Vol. 4 (10), p 969-976.

Paulina Ducka, Ulrich Eckhard, Esther Schönauer, Stefan Kofler, Gerhard Gottschalk, Hans Brandstetter, Dorota Nüss, 2009. A universal

strategy for high-yield production of soluble and functional clostridial collagenases in *E. coli*. *Appl Microbiol Biotechnol* (2009) 83: 1055-1065.

Shanmugasundaram Senthil Balan, Rajendiran Nethaji, Sudalayandi Sankar, Singaram Jayalakshmi, 2012. Production of gelatinase enzyme from *Bacillus spp* isolated from the sediment sample of Porto Novo Coastal sites. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, S1811-S1816.

Tran LH, Nagano H., 2002. Isolation and Characteristics of *Bacillus subtilis* CN2 and its Collagenase Production. *J. of Food Science* 2002, 67(3): 1184-1187.

Survey on culture conditions of recombinant bacteria *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE* synthesizing gelatinase

Pham My Dung, Pham Cong Hoat,
Pham Thi Tam, Le Huy Ham

Abstract

The investigation of carbon, nitrogen sources, temperature, pH and culture time was conducted to evaluate the effects of culture conditions on growth and gelatinase biosynthesis of *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE* strain. The results showed that: Nitrogen, carbon sources supplemented to the recombinant breeding medium were *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE*, yeast extract or peptone 1% + glucose 1%. Simultaneously, the suitable culture condition for this recombinant strain was at 30 ÷ 37°C and pH = 7 ÷ 8. The appropriate culture time for recombinant bacteria *E. coli* BL21- pET22b(+)-*gelE* was in 24 hours.

Keywords: Gelatinase, recombinant bacteria, *E. coli*

Ngày nhận bài: 14/10/2017
Ngày phản biện: 20/10/2017

Người phản biện: TS. Nguyễn Thanh Hải
Ngày duyệt đăng: 10/11/2017

XÁC ĐỊNH ĐIỀU KIỆN NUÔI CẤY CỦA CHỦNG XẠ KHUẨN *Streptomyces variegatus* NN1 NHẪM NÂNG CAO HIỆU QUẢ KHÁNG NẤM *Aspergillus flavus* GÂY BỆNH TRÊN CAM QUÝT

Nguyễn Xuân Cảnh¹, Lê Hoàng Anh¹, Cấn Thị Mai Hương¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được tiến hành với mục tiêu xác định điều kiện nuôi cấy thích hợp của chủng xạ khuẩn *Streptomyces variegatus* NN1 nhằm nâng cao hiệu quả kháng nấm *Aspergillus flavus* gây bệnh trên cam quýt. Các thí nghiệm được thiết kế và thực hiện tập trung vào nghiên cứu đánh giá khả năng sinh chất kháng nấm trong các điều kiện lên men khác nhau của chủng xạ khuẩn *Streptomyces variegatus* NN1. Kết quả thu được cho thấy môi trường tối ưu cho sự lên men là môi trường A4-H, thời gian sinh chất kháng nấm nhiều nhất là sau 5 ngày trong điều kiện nuôi lắc 200 vòng/phút, pH 7 - 8, nhiệt độ 30 - 35°C, tỷ lệ thể tích môi trường nuôi/thể tích bình nuôi cấy khoảng 10%. Khi áp dụng các điều kiện trên trong nuôi cấy thu sinh khối chủng xạ khuẩn *Streptomyces variegatus* NN1 cho thấy cam quýt sau khi được phun dịch xạ khuẩn đã hạn chế được khả năng bị tấn công bởi nấm *Aspergillus flavus*.

Từ khóa: *Aspergillus flavus*, *Streptomyces variegatus*, xạ khuẩn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các loại quả thuộc chi cam quýt là một trong những mặt hàng có nhu cầu tiêu thụ cao trong nước đồng thời cũng là nhóm quả xuất khẩu chủ lực do

giá trị dinh dưỡng cao, cây thích nghi tốt với hầu hết các khu vực sinh thái của nước ta (Hoàng Ngọc Thuận, 2004). Vấn đề là trong tất cả các giai đoạn sinh trưởng và phát triển, cam quýt rất dễ bị hại do

¹ Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam