



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0024929

(51)⁷ C12N 1/20

(13) B

(21) 1-2016-04712

(22) 01/12/2016

(45) 25/08/2020 389

(43) 25/06/2018 363A

(73) Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VN)
18 Hoàng Quốc Việt, quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội

(72) Phan Thị Hồng Thảo (VN); Nguyễn Văn Hiếu (VN); Nguyễn Thị Hồng Liên (VN);
Nguyễn Mỹ Hằng (VN); Phạm Thị Vân Anh (VN); Phạm Kim Anh (VN).

(54) CHŨNG XẠ KHUẨN NỘI SINH STREPTOMYCES SP. TQR8-1 THUẦN KHIẾT
VỀ MẶT SINH HỌC CÓ KHẢ NĂNG SINH TỔNG HỢP IAA NGOẠI BÀO

(57) Sáng chế đề cập đến chủng xạ khuẩn nội sinh *Streptomyces* sp. TQR8-1 thuần khiết về mặt sinh học sinh tổng hợp IAA ngoại bào. Chủng xạ khuẩn được phân lập từ rễ cây cam Hàm Yên-Tuyên Quang đặc sản của Việt Nam, được nghiên cứu đặc điểm hình thái, sinh học, phân tích trình tự gen 16S rADN và nghiên cứu sinh tổng hợp IAA đạt 211 mg/L trên môi trường thích hợp AH4 (glucoza: 10; bột đậu nành: 10; NaCl: 5; CaCO₃: 1; tryptophan: 5; pH 7,0) và nhiệt độ nuôi 37°C, lắc 150 vòng/phút.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế thuộc lĩnh vực công nghệ sinh học. Cụ thể, sáng chế đề cập đến chủng xạ khuẩn nội sinh *Streptomyces* sp. TQR8-1 thuần khiết về mặt sinh học sinh tổng hợp IAA ngoại bào, thu nhận trên cây có múi ở miền Bắc Việt Nam và khảo sát môi trường, điều kiện sinh tổng hợp IAA của xạ khuẩn nội sinh TQR8-1, nhằm ứng dụng trong thu nhận hoạt chất IAA ứng dụng trong kích thích tăng trưởng thực vật.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Cây có múi là tên gọi chung của nhóm cây cam, chanh, quýt, bưởi, v.v., cùng họ *Rutaceae*. Cây ăn trái có múi được trồng ở hơn 100 quốc gia. Đây là loại quả có tầm quan trọng hàng đầu thế giới, với sản lượng năm 2009 đạt hơn 120 triệu tấn, trong đó cam chiếm 54% (Sarma *et al.*, 2011; Snoussi *et al.*, 2012). Tuy nhiên, việc trồng cây có múi phải đối mặt với một số vấn đề là cây tăng trưởng chậm, côn trùng, sâu bệnh, các nguy cơ khác gây tổn thất trước và sau thu hoạch, mùa cung cấp và thời gian bảo quản ngắn (Sarma *et al.*, 2011). Chính vì vậy, hiện nay nhiều nước trên thế giới đã tiến hành nhiều hướng nghiên cứu để tăng năng suất và chất lượng cây và quả có múi (Sarma *et al.*, 2011; Kandpal *et al.*, 2012; Shutsrirung *et al.*, 2013; Snoussi *et al.*, 2012). Trong các hướng nghiên cứu đó, nghiên cứu và sử dụng vi sinh vật nội sinh, trong đó có xạ khuẩn nội sinh, trên họ cây có múi và các loại cây trồng khác đang được quan tâm do ưu thế của xạ khuẩn nội sinh trong cạnh tranh dinh dưỡng và nơi cư trú so với các vi sinh vật khác của chế phẩm sinh học thông thường. Hơn nữa, xạ khuẩn nội sinh có vai trò quan trọng trong sự phát triển của cây chủ, do chúng có thể ảnh hưởng đến sinh trưởng của cây bằng con đường đồng hóa các chất dinh dưỡng (ví dụ, sự tương hỗ về thu nhận các vi lượng như Fe hoặc Mo hòa tan trong đất (Tokala *et al.*, 2002), cố định nitơ tự do (Conn and Franco, 2004; Coombs *et al.*, 2003; Tian *et al.*, 2004, Kandpal *et al.*, 2012) hoặc sản xuất các chất chuyển hóa thứ cấp (kích thích sinh trưởng của cây chủ bằng cách sinh ra các phytohormon), giúp cây chủ hạn chế bệnh bằng cách chúng sinh ra các chất kháng khuẩn (Kumar *et al.*, 2011; Janso *et al.*, 2010; Taechowisan *et al.*, 2014; Kafur, Khan, 2011), các enzym phân hủy thành tế bào của nấm bệnh (Shimizu, 2011). Chúng thực sự là các ứng cử viên cho tương lai trong nghiên cứu kiểm soát sinh học nông nghiệp và thúc đẩy tăng trưởng thực vật.

Trong nước, tình hình sản xuất cây có múi trong một số năm gần đây đang dần bị thu hẹp do dịch bệnh (bệnh vàng lá do vi khuẩn, bệnh virus và tương tự virus, v.v.),

thoái hóa giống và đất, khiến sản lượng và chất lượng quả bị giảm sút. Các giống đặc sản ở miền Bắc đang bị bệnh làm suy thoái như cam sành và quýt chum Hà Giang, bưởi Đoan Hùng (Phú Thọ), cam Bó Hạ (Bắc Giang), cam Canh và bưởi Diễn (Hà Nội), quýt hương Lý Nhân (Hà Nam) v.v., dẫn đến giảm năng suất, chất lượng và diện tích trồng bị thu hẹp. Trong khi đó, việc phát triển diện tích trồng mới gặp không ít khó khăn. Ngoài nguyên nhân dịch bệnh, chất lượng đất trồng của nhiều vùng cây có múi đặc sản đã suy giảm, dinh dưỡng cạn kiệt nhưng không có biện pháp chăm sóc, phục hồi đất phù hợp nên cây sinh trưởng và phát triển kém, năng suất và chất lượng quả đều sụt giảm mạnh. Hiện nay, hầu hết các hộ gia đình trồng cây có múi đặc sản ở miền Bắc Việt Nam vẫn áp dụng biện pháp trồng và chăm sóc theo kinh nghiệm, một số nơi quá lạm dụng hóa chất nông nghiệp. Để phát triển và nâng cao chất lượng, giá trị sản phẩm cây có múi đặc sản trong nước, ngoài các chính sách hỗ trợ về đầu tư, nhân giống cây có múi sạch bệnh, cần có các biện pháp bảo vệ cây phát triển tốt từ bên trong, ổn định và lâu dài, hạn chế sử dụng các hóa chất nông nghiệp gây ảnh hưởng xấu cho sản xuất, môi trường và chất lượng đất.

Vi sinh vật nội sinh (endophyte) là các chủng vi sinh vật cư trú trong mô thực vật sống (lá, cành, rễ) của nhiều loại cây trồng nông nghiệp và các cây thân gỗ (Kandpal1 *et al.*, 2012). Theo định nghĩa được thừa nhận rộng rãi nhất của Bacon và White (2000) thì “các thể nội sinh (endophytes) là những vi sinh vật sinh trưởng ở các mô sống bên trong thực vật, mà không gây ra hiệu ứng xấu rõ ràng và trực tiếp nào cho cây”. Theo Bacon và While (2000) thì định nghĩa này hàm chứa một ý nghĩa rất quan trọng: vì bản chất không gây triệu chứng bệnh cho cây nên việc các thể nội sinh chiếm cứ mô thực vật đã khiến chúng ta nghĩ đến mối quan hệ hỗ sinh (mutualistic) giữa thể nội sinh và cây chủ của chúng. Theo Kandpal1 và cộng sự (2012), trong số gần 300.000 loài thực vật tồn tại trên trái đất thì mỗi loại cây là cây chủ cho một hoặc nhiều loài vi sinh vật nội sinh. Chúng không những không gây bệnh cho cây chủ mà còn có khả năng thúc đẩy sự phát triển của cây bằng cách sản xuất các chất kích thích tăng trưởng và bảo vệ thực vật. Do đó, vi sinh vật nội sinh được coi là nguồn gen quý để sản xuất các sản phẩm tự nhiên sử dụng trong y học, nông nghiệp và công nghiệp, có hiệu quả cao, độc tính thấp và thân thiện với môi trường. Nhiều cây có ý nghĩa kinh tế quan trọng có chứa các thể nội sinh giúp cây tăng trưởng, chống chịu các stress bên ngoài như khô hạn, đồng thời cũng như giúp cây chống lại côn trùng, nấm bệnh, v.v., (Bacon, While, 2000).

Khi đã ổn định trong cây, vi sinh vật nội sinh có thể tác động tích cực đến sự sinh trưởng và phát triển của cây một cách trực tiếp (kích thích sinh trưởng) hoặc

thông qua kiểm soát bệnh dịch. Vi sinh vật nội sinh trực tiếp kích thích sinh trưởng nhờ cung cấp dinh dưỡng cho cây, hay sinh tổng hợp hoặc điều hòa các phytohormone, đặc biệt là IAA. Nhiều chủng vi sinh vật nội sinh sinh tổng hợp IAA (indole-3- acetic acid đồng thời cũng có khả năng giảm lượng ethylene trong cây... Khả năng kiểm soát bệnh dịch của vi sinh vật nội sinh dựa trên một số cơ chế như đối kháng (antibiosis), cạnh tranh về dinh dưỡng và nơi cư trú, và kích thích tính chống chịu hệ thống của cây chủ. Theo một số tác giả (Shutsrirung *et al.*, 2013; Ghodhbane-Gtari *et al.*, 2010; Nimnoi *et al.*, 2010), tương tự các loài vi sinh vật khác, sự sinh ra hormone thực vật như IAA ở xạ khuẩn nội sinh là một trong những cơ chế để kích thích sự tăng trưởng của cây chủ, tăng trọng lượng khô của lá, rễ và chiều dài rễ khiến cho cây phát triển khỏe mạnh hơn. Mối liên hệ giữa xạ khuẩn nội sinh với cây chủ và việc sản sinh ra các sản phẩm tự nhiên có hoạt tính sinh học tạo ra cơ hội tìm ra các loại chế phẩm đặc hiệu có tiềm năng ứng dụng trong bảo vệ thực vật và kiểm soát nấm bệnh.

Ở Việt Nam, các nghiên cứu về vi sinh vật nội sinh mới chỉ dừng lại ở một số nấm và vi khuẩn nội sinh, nấm nội sinh và xạ khuẩn nội sinh trên các đối tượng cây thông đỏ, cây cao su, cây quế, cây dược liệu, cây cúc xuyên chi, cây khóm (Nguyễn Sỹ Giao, 1971; Lê Thị Xuân, Lê Mai Hương, 1997; Lê Mai Hương và cộng sự, 2005; Cao Ngọc Diệp và Phan Thị Nhã, 2011; Lương Thị Hồng Hiệp và Cao Ngọc Diệp, 2011; Nguyễn Văn Minh và cộng sự, 2014). Tuy nhiên các nghiên cứu về xạ khuẩn trên cây có múi (cam Hàm Yên -Tuyên Quang, Cam Cao Phong-Hòa Bình; bưởi Diễn Hà Nội) cho sinh tổng hợp IAA nhằm ứng dụng cho kích thích tăng trưởng thực vật trên cây có múi là chưa có ngoài các nghiên cứu của nhóm chúng tôi.

Trên thế giới và Việt Nam chưa có công bố nào về xạ khuẩn nội sinh trên cây có múi ở Việt Nam sinh tổng hợp chất kích thích tăng trưởng thực vật IAA đạt 211 mg/L.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất chủng xạ khuẩn nội sinh *Streptomyces* sp TQR8-1 có khả năng sinh tổng hợp indole-3- acetic acid (IAA) ngoại bào. Cụ thể, sáng chế đề cập đến chủng xạ khuẩn nội sinh *Streptomyces* sp TQR8-1 phân lập trên mô rễ của cây cam Hàm Yên-Tuyên Quang có khả năng sinh tổng hợp IAA ngoại bào đạt 211 mg/L. Việc phân lập và xác định chủng do Phòng Vi sinh vật đất-Viện Công nghệ sinh học-Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam tiến hành.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1. Ảnh chụp SEM của chuỗi sinh bào tử và bào tử của xạ khuẩn nội sinh *Streptomyces* sp. TQR8-1.

Hình 2. Trình tự gen đoạn bảo thủ 16S rADN của chủng xạ khuẩn nội sinh *Streptomyces* sp. TQR8-1 thuần khiết về mặt sinh học.

Hình 3. Hình ảnh chạy HPLC của mẫu IAA chuẩn (a) và IAA thu nhận từ *Streptomyces* sp. TQR8-1 thuần khiết về mặt sinh học (b).

Mô tả chi tiết sáng chế

Trong phạm vi của sáng chế, chủng xạ khuẩn nội sinh *Streptomyces* sp. TQR8-1 sẽ được bộc lộ rõ ràng ở đây thông qua các phương án thực hiện sáng chế.

Sáng chế đề cập đến chủng xạ khuẩn nội sinh *Streptomyces* sp. TQR8-1 sinh tổng hợp IAA ngoại bào. Chủng *Streptomyces* sp. TQR8-1 được phân lập từ mô rễ của cây cam Hàm Yên-Tuyên Quang, được mô tả và định danh bởi Phòng Vi sinh vật đất-Viện Công nghệ sinh học-Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Chủng *Streptomyces* sp. TQR8-1 được phân lập từ mô rễ như sau: Mẫu thực vật (rễ, cành và lá) thu thập từ cây cam Hàm Yên Tuyên Quang được rửa dưới vòi nước sạch trong 30 phút đảm bảo loại bỏ toàn bộ phần đất và bụi bám trên mẫu thực vật thu được. Sau đó, các mẫu thực vật được cắt thành các mẫu có kích thước (lá: 1×1 cm), mẫu cành và rễ dài 1cm. Các mẫu này được lacer và ngâm ngập trong 1% natri hypoclorit (NaOCl) trong 1 phút, tiếp đến là trong 70% etanol, 5 phút. Mẫu sau xử lý được rửa lại trong dung dịch 20% Tween 80 trong 5 phút. Cuối cùng được rửa vô trùng với nước cất vô trùng 4 đến 5 lần. Mẫu sau khi đã được khử trùng bề mặt được giã trong cối vô trùng và bổ sung một lượng nước nhỏ. Toàn bộ phần đã giã và nước được chuyển vào và gặt trên đĩa có chứa môi trường thạch axit humic vitamin vô trùng. Chú ý môi trường trên đĩa đã được bổ sung nistatin và axit nalidixic có nồng độ 100 mg/L và 10 mg/L tương ứng. Các đĩa này được ủ ở 30°C trong 2 tháng và phân lập xạ khuẩn xuất hiện. Các chủng xạ khuẩn tách và phân lập được đánh số và kiểm tra khả năng sinh IAA trên môi trường ISP2 lỏng. Chủng TQR8-1 thu nhận từ rễ cây cam Hàm Yên- Tuyên Quang số 8, bước đầu sinh tổng hợp IAA đạt 20µg/ml được lựa chọn phân loại dựa trên đặc điểm hình thái và trình tự gen 16S rADN dựa trên cặp môi 27F (5'-TAACACATGCAAGTCGAACG-3') và 1492R (5'-GG(C/T)TACCTTGTTACGACTT-3') theo chu trình nhiệt: 94°C trong 5 phút, 30 chu trình (94°C trong 60 giây, 60°C trong 60 giây, 72°C trong 90 giây), 72°C trong 10 phút, giữ mẫu ở 4°C. Tác giả tiến hành, nghiên cứu đặc điểm sinh học của xạ khuẩn TQR8-1 và tối ưu hóa môi trường sinh tổng hợp IAA, lựa chọn môi trường sinh tổng hợp IAA ngoại bào cao nhất và có hiệu quả nhất. Hiện tại, chủng *Streptomyces* sp. TQR8-1 này đang được lưu giữ tại Phòng Vi sinh vật đất, Viện Công nghệ sinh học. Chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. TQR8-1 là chủng xạ khuẩn được xếp vào nhóm vàng xám nhạt, chuỗi bào tử dạng xoắn chứa dưới 30 bào tử dạng nhẫn trên một chuỗi,

kích thước bào tử 5-10 nm. Trên môi trường thạch, khuẩn lạc *Streptomyces* sp. TQR8-1 có kích thước 1-2 mm, dạng bột, khô và vôi.; trong môi trường lỏng tạo thành các pillet có kích thước dưới 1,5 mm. Theo sáng chế chủng *Streptomyces* sp. TQR8-1 khác biệt ở chỗ, là chủng xạ khuẩn nội sinh phân lập trên cây cam Hàm Yên-Tuyên Quang, có khả năng sinh tổng hợp IAA đạt 211 mg/L trên môi trường và điều kiện thích hợp là môi trường AH4 (glucoza:10; bột đậu nành: 10; NaCl: 5; CaCO₃: 1; tryptophan: 5) và pH 7,0 và nhiệt độ nuôi 37°C.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ dưới đây chỉ nhằm minh họa các phương án thực hiện sáng chế mà không làm hạn chế phạm vi yêu cầu bảo hộ của sáng chế.

Ví dụ 1: Phân lập xạ khuẩn nội sinh và chụp ảnh SEM bào tử chủng xạ khuẩn nội sinh *Streptomyces* sp. TQR8-1

Mẫu rễ cây cam Hàm Yên-Tuyên Quang, 7 tuổi thu tại hai thôn Đèo Ảng, xã Bình Xa, huyện Hàm Yên và thôn Hốc Trai, TP Tuyên Quang.

+ Phân lập xạ khuẩn nội sinh TQR8-1:

Mẫu thực vật rễ thu thập từ cây cam Hàm Yên Tuyên Quang số 8 được rửa dưới vòi nước sạch trong 30 phút đảm bảo loại bỏ toàn bộ phần đất và bụi bẩn bám trên mẫu thực vật thu được. Sau đó, mẫu thực vật được cắt thành các mẫu có kích thước dài 1cm. Mẫu rễ này được lacer và ngâm ngập trong 1% sodium hypochlorit (NaOCl) trong 1 phút, tiếp đến là trong 70% etanol, 5 phút. Mẫu tiếp tục được xử lý lại trong dung dịch 20% Tween 80 trong 5 phút. Cuối cùng được rửa vô trùng với nước cất vô trùng 4 đến 5 lần. Mẫu sau khi đã được khử trùng bề mặt được giã trong cối vô trùng và bổ sung một lượng nước vô trùng nhỏ, 500 µl. Toàn bộ phần đã giã và nước được đưa lên và gạt trên đĩa có chứa môi trường thạch axit humic vitamin vô trùng. Chú ý môi trường trên đĩa đã được bổ sung nistatin và axit nalidixic có nồng độ 100 mg/L và 10 mg/L tương ứng. Các đĩa này được ủ ở 30°C trong 2 tháng và phân lập xạ khuẩn xuất hiện. Thu được xạ khuẩn TQR8-1.

+ Kiểm tra đặc điểm sinh học theo khóa phân loại ISP và Bergey, chụp kính hiển vi điện tử quét SEM. Xạ khuẩn *Streptomyces* sp. TQR8-1 là chủng xạ khuẩn được xếp vào nhóm vàng xám nhạt, chuỗi bào tử dạng xoắn chứa dưới 30 bào tử dạng nhẵn trên một chuỗi, kích thước bào tử 5-10 nm. Trên môi trường thạch, khuẩn lạc *Streptomyces* sp. TQR8-1 có kích thước 1-2 mm, dạng bột, khô và vôi.; trong môi trường lỏng tạo thành các pillet có kích thước dưới 1,5 mm. Kết quả được thể hiện trên hình 1.

+ Xác định trình tự gen chủng xạ khuẩn nội sinh TQR8-1:

DNA tổng số của chủng TQR8-1 được tách chiết theo kit tách chiết DNA tổng số (NucleoSpin® Tissue extraction kit, Macherey-Nagel, Germany) theo hướng dẫn của

nhà sản xuất. Gen mã hóa 16S rRNA của chủng xạ khuẩn được khuếch đại bằng phản ứng PCR từ DNA tổng số sử dụng cặp mồi 27F (5'-TAACACATGCAAGTCGAACG-3') và 1492R (5'-GG(C/T)TACCTTGTACGACTT-3') theo chu trình nhiệt: 94°C trong 5 phút, 30 chu trình (94°C trong 60 giây, 60°C trong 60 giây, 72°C trong 90 giây), 72°C trong 10 phút, giữ mẫu ở 4°C. Sản phẩm của phản ứng PCR được phân tích trên máy đọc trình tự ABI PRISM 3100 Avant Genetic Analyzer, xử lý bằng phần mềm SeqAssem version 01/2005 và Sequencher version 4.0.5. Gen 16S rADN của chủng xạ khuẩn nội sinh TQR8-1 có độ tương đồng cao (99%) với các gen tương ứng của một số xạ khuẩn thuộc chi *Streptomyces*: Dựa trên đặc điểm sinh học và phân tích trình tự gen 16S rADN, chủng xạ khuẩn nội sinh TQR8-1 có đặc điểm rất gần gũi và có độ tương đồng cao với các loài thuộc chi *Streptomyces* và được đặt tên là *Streptomyces* sp. TQR8-1.

Trình tự gen đoạn bảo thủ 16S rADN của chủng *Streptomyces* sp TQR8-1 thuần khiết về mặt sinh học được thể hiện trên hình 2 và SED ID NO: 1.

Ví dụ 2: Xác định khả năng sinh tổng hợp IAA

+ Chủng *Streptomyces* sp. TQR8-1 thuần khiết về mặt sinh học được nuôi trên môi trường ISP2 lỏng sau 5 ngày, ly tâm thu dịch nổi và kiểm tra hàm lượng IAA sinh ra bằng phương pháp đo quang với thuốc thử Salkowski, đạt 20 µg/ml. Khi nghiên cứu thay đổi pH (từ 5 đến 9), nhiệt độ nuôi (24, 33, 37 và 40°C) và nồng độ tryptophan bổ sung (0 đến 7 g/L) và kéo dài thời gian lên men từ 1 đến 14 ngày. Sau đó hút ly tâm (13000 vòng/phút) thu dịch nổi và kiểm tra IAA. Chủng xạ khuẩn trình bày có khả năng sinh tổng hợp IAA đạt 211 mg/L trên môi trường và điều kiện thích hợp là môi trường AH4 (glucoza:10; bột đậu nành: 10; NaCl: 5; CaCO₃: 1; tryptophan: 5) và pH 7,0 và nhiệt độ nuôi 37°C, lắc 150 vòng/phút. Dịch IAA được kiểm tra bằng phương pháp HPLC đạt hàm lượng 54 mg/L và TLC với chất IAA chuẩn.

Kết quả chạy HPLC chất IAA nhận được thể hiện trên hình 3.

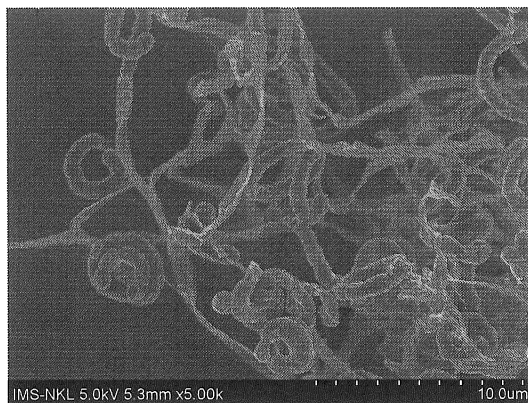
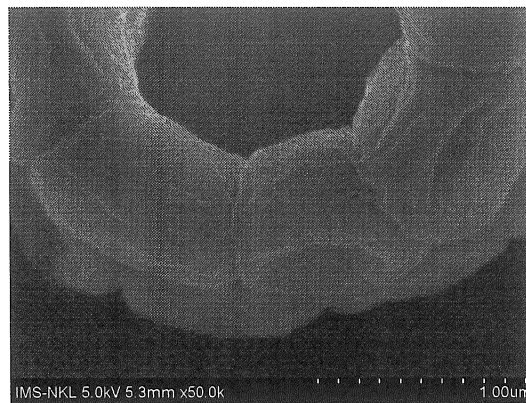
Hiệu quả đạt được của sáng chế

Chủng xạ khuẩn nội sinh *Streptomyces* sp. TQR8-1 thuần khiết về mặt sinh học theo sáng chế được phân lập từ rễ cây cam Hàm Yên-Tuyên Quang, Việt Nam có khả năng tổng hợp IAA ngoại bào đạt 211 mg/L. Việc tách chiết dễ dàng và IAA cao thu được có hoạt tính cao có thể ứng dụng trong nông nghiệp và công nghiệp. Trong nông nghiệp, chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. TQR8-1 thuần khiết về mặt sinh học sinh tổng hợp IAA và IAA có thể bổ sung vào trong nhân giống cây trong bầu giống, ngâm

hom cành, v.v., làm tăng quá trình phát triển rễ, mầm chồi cho cây con. Trong công nghiệp, sản xuất IAA tạo thành sản phẩm thương mại bán ra thị trường.

YÊU CẦU BẢO HỘ

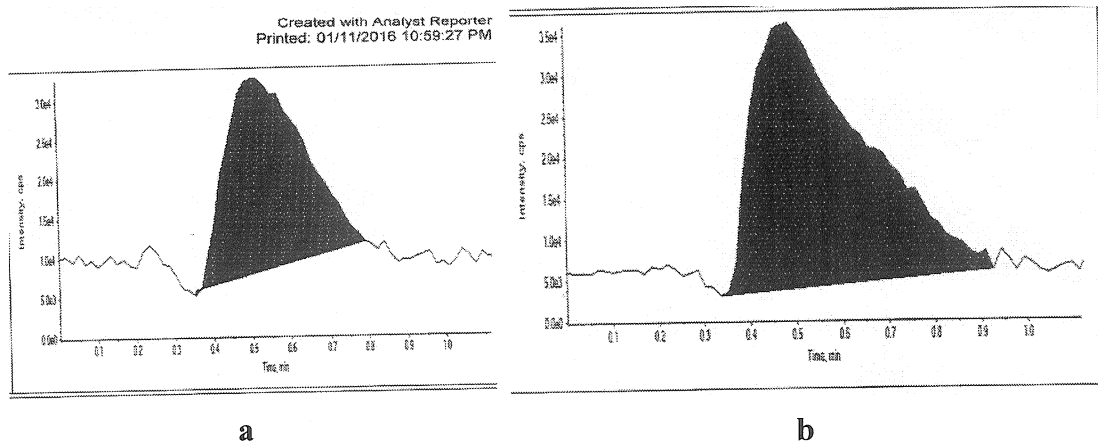
1. Chủng xạ khuẩn nội sinh *Streptomyces* sp. TQR8-1 thuần khiết về mặt sinh học có khả năng sinh tổng hợp IAA ngoại bào, khác biệt ở chỗ, chủng này là xạ khuẩn nội sinh được phân lập từ rễ cây cam Hàm Yên-Tuyên Quang ở Việt Nam, có trình tự đoạn 16S rADN là SEQ ID NO:1, và có khả năng sinh tổng hợp IAA đạt 211 mg/L trên môi trường thích hợp AH4 có thành phần (mg/l) là glucoza: 10; bột đậu nành: 10; NaCl: 5; CaCO₃: 1; tryptophan: 5; độ pH = 7,0; và nhiệt độ nuôi 37°C, lắc 150 vòng/phút.

Hình 1**a****b**

Hình 2.

GATGAACCACATTTCGGTGGGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTG
 CCCTGCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATACCAGTTTCGCAG
 GCATCTGTGATTCTGGAAAGCTCCGGCGGTGCAGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCTTG
 TTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGG
 CCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTG
 CACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTG
 TAAACCTCTTTTCAGCAGGGAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGC
 TAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTG
 GGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTCGCGTCGGTTGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCC
 CGGGTCTGCAGTCGATACGGGCAGGCTAGAGTTCGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGT
 GTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGG
 CCAATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTA
 GTCCACGCCGTAAACGGTGGGCACTAGGTGTGGGCGACATTCCACGTCGTCCGTGCCGC
 AACTAACGCATTAAAGTGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACTCACAGGA
 ATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGA
 ACCTTACCAAGGCTTGACATACACCGGAAAGCATTAGAGATAGTGCCCCCATGGTGGTC
 GGTGTACAGGTGGTCCATGGCGGTGCTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCC
 CGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCTCGTGTGCCAGCAGGCCTTTGTGGTGATGGGGACTC
 ACGGGAGACCGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGCC
 CCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATACCGT
 GAGGTGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACC
 CCATGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCC
 GGGCCTTGTAACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCG

Hình 3



DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Viện Công nghệ sinh học - Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<120> CHŨNG XẠ KHUẨN NỘI SINH STREPTOMYCES SP. TQR8-1 THUẦN KHIẾT VỀ MẶT SINH HỌC
CÓ KHẢ NĂNG SINH TỔNG HỢP IAA NGOẠI BÀO

<160> 1

<210> 1

<211> 1346

<212> ADN

<213> *Streptomyces* sp.

<400> 1

```

1 gatgaaccac attcgggtggg gattagtgcc gaacgggtga gtaacacgtg ggcaatctgc
61 cctgcactct gggacaagcc ctggaaacgg ggtctaatac cggataaccag ttctgcaggc
121 atctgtgatt ctggaaagct cccggcgggtg aggatgagcc cgcggcctat cagcttggtg
181 gtgaggtaac ggctcaccaa ggcgacgacg ggtagccggc ctgagagggc gaccggccac
241 actgggactg agacacggcc cagactccta cgggaggcag cagtggggaa tattgcacaa
301 tgggcgaaaag cctgatgcag cgacgccggc tgagggatga cggccttcgg gttgtaaaac
361 tctttcagca gggaagaagc gaaagtgcag gtacctgcag aagaagccgc ggctaactac
421 gtgccagcag ccgcggtaat acgtaggggc caagcgttgt ccggaattat tgggcgtaaa
481 gagctcgtag gcggcttgct gcgtcgggtg tgaaagcccg gggcttaacc ccgggtctgc
541 agtcgatacg ggcaggctag agttcggtag gggagatcgg aattcctggg gtagcggtag
601 aatgcgcaga tatcaggagg aacacccgtg gcgaaggcgg atctctgggg caatactgac
661 gctgaggagc gaaagcgtgg ggagcgaaca ggattagata ccctggtagt ccacgccgta
721 aacgggtggc actagggtgt ggcgacattc cacgtcgtcc gtgccgcaac taacgcatta
781 agtgcccccgc ctggggagta cggccgcaag gctaaaactc acaggaattg accggggccc
841 gcacaagcgg cggagcatgt ggcttaattc gacgcaacgc gaagaacctt accaaggctt
901 gacatacacc ggaaagcatt agagatagtg ccccatggg ggtcgggtga caggtgggtc
961 atggcgggtc tcagctcgtg tcgtgagatg ttgggttaag tcccgcacag agcgcaaccc
1021 ttgtcccggtg tcgccagcag gcctttgtgg tgatggggac tcacgggaga ccgcgggggt
1081 caactcggag gaaggtgggg acgacgtcaa gtcacatgac cccttatgtc ttgggctgca
1141 cacgtgctac aatggccggg acaatgagct gcgataccgt gaggtggagc gaatctcaaa
1201 aagccgggtc cagttcggat tggggctctg aactcgaccc catgaagtcg gagtgcgtag
1261 taatgcgaga tcagcattgc tgccgtgaat acgttcccg gccttgtaga caccgcccgt
1321 cacgtcacga aagtcggtaa caccgc

```