

TUYỂN CHỌN MỘT SỐ CHỦNG NẤM MỐC SINH TỔNG HỢP CHITINASE PHÂN LẬP TỪ ĐẤT

Phạm Thị Ngọc Lan*, Võ Thị Thanh Nhân

Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Huế

*E-mail: ngoclanz@yahoo.com

TÓM TẮT

Enzyme chitinase có rất nhiều ứng dụng trong nông nghiệp, công nghiệp và y học. Hiện nay, người ta đã nghiên cứu chiết tách enzyme chitinase từ các nguồn động vật, thực vật, đặc biệt là vi sinh vật với các đặc tính ưu việt như hoạt tính cao, ổn định với nhiệt độ và pH.

Trong số 120 chủng nấm mốc phân lập từ môi trường đất ở 15 địa điểm khác nhau thuộc các huyện Phú Vang, Hương Trà và thành phố Huế, chúng tôi đã tiến hành tuyển chọn được hai chủng có khả năng sinh tổng hợp chitinase mạnh nhất là M15 và M71. Tiến hành định danh bằng giải trình tự gen 28S rRNA cho kết quả, chủng M15 là *Aspergillus fumigatus* và chủng M71 là *Aspergillus oryzae*.

Từ khóa: chitinase, nấm mốc, tuyển chọn

1. MỞ ĐẦU

Enzyme chitinase có rất nhiều ứng dụng trong nông nghiệp, công nghiệp và y học. Khả năng khử chitin làm cho chitinase có giá trị trong phòng trừ dịch bệnh, giảm ô nhiễm môi trường. Chitinase được khai thác sử dụng như là tác nhân phòng trừ sinh học. Chúng cũng có vai trò quan trọng trong sự hình thành thể nguyên sinh nấm, phòng trừ muỗi, sản xuất các chitooligosaccharide hoạt hóa. Những thí nghiệm thử hoạt tính kháng nấm bằng cách sử dụng *Trichoderma harzianum* phân hủy thành tế bào của nấm gây bệnh *Colletotrichum gloeosporioides* đã được áp dụng trên thực nghiệm [1].

Hiện nay, người ta đã nghiên cứu chiết tách enzyme chitinase phân giải chitin từ các nguồn khác nhau: động vật, thực vật, đặc biệt là vi sinh vật với các đặc tính ưu việt như hoạt tính cao, ổn định với nhiệt độ và pH.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Phương pháp phân lập và đếm số lượng tế bào [2]

Sử dụng phương pháp Koch để phân lập nấm mốc có khả năng phân giải chitin trên môi trường Czapek thạch đĩa nhưng nguồn saccharose được thay bằng chitin.

Xác định số lượng tế bào nấm mốc trong mẫu đất bằng phương pháp đếm gián tiếp thông qua số lượng khuẩn lạc mọc trên môi trường thạch đĩa.

- Xác định khả năng phân giải chitin của các chủng nấm mốc [3]

Phương pháp xác định sơ bộ hoạt lực phân giải chitin

Nguyên tắc: Trong môi trường chứa cơ chất thích hợp, vi sinh vật sẽ tiết ra enzyme ngoại bào để phân hủy cơ chất làm cho độ đục của môi trường trở nên trong hơn. Độ lớn của môi trường trong suốt phản ánh hoạt lực của enzyme.

Phương pháp tiến hành: Từ ống giống thuần khiết, cấy vạch từng chủng nấm mốc đã thuần khiết lên các đĩa Petri chứa môi trường Czapek cơ sở nhưng thay nguồn carbon bằng chitin, nuôi ở thời gian và nhiệt độ thích hợp. Sau khi nấm mốc mọc tiền hành nhuộm bằng thuốc thử Lugol và đo kích thước vạch phân giải (đường kính khuẩn lạc).

Xác định hoạt tính enzyme bằng phương pháp khuếch tán trên thạch

Nguyên tắc: Khi chitinase có mặt trong môi trường chứa chitin nó sẽ phân giải chitin thành N-acetyl glucosamine và các cấu trúc mạch ngắn hơn không bắt màu với thuốc thử Lugol. Độ lớn của phần môi trường trong suốt (vòng phân giải) phản ánh hoạt tính chitinase của chủng nghiên cứu. Đo đường kính vòng phân giải để xác định hoạt tính chitinase.

Phương pháp tiến hành: Nuôi cấy nấm mốc trong môi trường Czapek dịch thể với điều kiện thích hợp, thu dịch lọc để xác định hoạt tính chitinase.

- Phương pháp phân loại chủng nấm mốc

Quan sát hình thái: Quan sát đại thể trên môi trường thạch đĩa. Sử dụng phương pháp nuôi cấy nấm mốc trên phiến kính để quan sát cơ quan sinh sản.

Giải trình tự gene

Nguyên tắc: Giải trình tự gene 28S rRNA và tra cứu trên Blast search để xác định loài nấm mốc.

Phương pháp tiến hành: Tách chiết DNA tổng số của nấm mốc theo protocol của Sambrook và Russell (2001) và nhân đoạn gene mã hóa 28S rRNA bằng kỹ thuật PCR. Xác định trình tự đoạn gene mã hóa 28S rRNA theo phương pháp của Sanger, sử dụng máy đọc trình tự tự động ABI PRISM 3100 Avant Data Collection v1.0 và Sequence Analysis [4]. Trình tự của đoạn gene mã hóa 28S rRNA của mẫu được so sánh với các đoạn gene mã hóa 28S rRNA đã được công bố trên Blast Search. Sử dụng phần mềm Clustal X, Bioedit để phân loại chủng nấm mốc [5].

- Xử lý số liệu

- Thí nghiệm được lặp lại 3 lần

- Số liệu được tính giá trị trung bình và phân tích ANOVA (Duncans'test $p < 0,05$) bằng chương trình SAS.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

3.1. Phân lập và tuyển chọn các chủng nấm mốc có khả năng phân giải chitin

3.1.1. Phân lập và kiểm tra số lượng nấm mốc

Chúng tôi đã tiến hành lấy mẫu đất ở 15 địa điểm trên địa bàn huyện Phú Vang, Hương Trà và thành phố Huế, tỉnh Thừa Thiên Huế. Từ các mẫu đất đã tiến hành phân lập, đếm số lượng khuẩn lạc nấm mốc có khả năng phân giải chitin trên môi trường thạch đĩa chứa nguồn carbon là chitin. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Số lượng nấm mốc phân giải chitin trong các mẫu đất phân lập

STT	Kí hiệu mẫu	Địa điểm lấy mẫu	Loại mẫu	pH đất	CFU*/g đất khô (x10 ⁶)
1	M1	Phú An (ao đất)	Bùn	6,93	3,68
2	M2	Phú An (ao đất)	Bùn	5,97	7,34
3	M3	Phú Mỹ (ven bờ)	Bùn	7,04	4,49
4	M4	Hương Long	Đất vườn	6,80	5,96
5	M5	An Cựu	Đất vườn	6,20	6,83
6	M6	Hải Dương (ao đất)	Bùn	6,50	10,44
7	M7	Phú Thuận (ven bờ)	Bùn	6,90	3,87
8	M8	Hải Dương (ao đất)	Bùn	6,90	3,23
9	M9	Phú Mỹ (ven bờ)	Bùn	7,00	5,39
10	M10	Hương Long	Đất vườn	6,78	5,54
11	M11	An Cựu	Đất vườn	6,30	6,55
12	M12	Phú An (ao đất)	Bùn	7,09	5,20
13	M13	Phú An (ao đất)	Bùn	6,25	5,96
14	M14	Phú Mỹ (ven bờ)	Bùn	6,30	6,89
15	M15	Phú Mỹ (ven bờ)	Bùn	6,30	7,12

*CFU: *Colonie Forming Unit*

Kết quả phân tích cho thấy, số lượng nấm mốc phân giải chitin trong đất dao động trong phạm vi 3,23-10,44 x 10⁶ CFU/g đất khô. Số lượng nấm mốc nhiều nhất ở mẫu M6, thu tại ao đất ở Hải Dương, Hương Trà (10,44 x 10⁶ CFU/g đất khô). Mẫu M2 thu ở ao đất tại Phú An, Phú Vang cũng có số lượng nấm mốc phân giải chitin khá cao (7,34 x 10⁶ CFU/g đất khô). Trong khi đó, ở mẫu M8 (Hải Dương, Hương Trà), số lượng nấm mốc chỉ đạt 3,23 x 10⁶ CFU/g đất khô. Sự khác nhau về số lượng nấm mốc phân giải chitin trong đất có thể do nhiều yếu tố như: pH mẫu, điều kiện thời tiết khi lấy mẫu, loại đất, chế độ canh tác...

3.1.2. Đánh giá sơ bộ khả năng phân giải chitin của nấm mốc

Bảng 2. Khả năng phân giải chitin của các chủng nấm mốc phân lập

Khả năng phân giải	Đường kính vạch phân giải (mm)	Số chủng nấm mốc	Tỷ lệ (%)
Yếu	<10	50	41,66
Trung bình	10–15	44	36,67

Mạnh	>15–20	20	16,67
Rất mạnh	>20	06	5,00

Từ 15 mẫu đất và bùn, chúng tôi đã thuần khiết được 120 chủng nấm mốc có khả năng phân giải chitin. Qua đánh giá sơ bộ khả năng phân giải chitin trên môi trường thạch đĩa cho thấy, các chủng nấm mốc có khả năng phân giải yếu và trung bình chiếm tỷ lệ rất cao (41,66% và 36,67%) trong khi các chủng nấm mốc phân giải chitin mạnh và rất mạnh chỉ chiếm tỷ lệ 16,67% và 5,00%.

Theo nghiên cứu của Nguyễn Thị Hà (2012) về nấm mốc phân giải chitin từ rừng ngập mặn Cần Giờ (thành phố Hồ Chí Minh), trong số 60 chủng nấm mốc phân lập có 10 chủng có khả năng phân giải chitin mạnh và rất mạnh, chiếm tỷ lệ 16,67% [6].

3.1.3. Tuyển chọn chủng nấm mốc có khả năng sinh trưởng phát triển và phân giải chitin mạnh

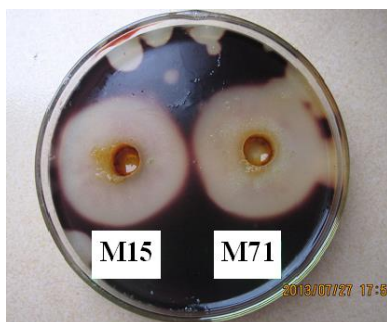
Trong 120 chủng nấm mốc phân lập được chúng tôi chọn ra 8 chủng là M15, M16, M33, M36, M65, M66, M68, M71 có kích thước khuẩn lạc lớn, sinh trưởng phát triển mạnh trên môi trường thạch đĩa để nuôi cấy dịch thể, thu sinh khối và xác định hoạt tính chitinase. Kết quả trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Khả năng tích lũy sinh khối và phân giải chitin của các chủng nấm mốc

STT	Chủng nấm mốc	Kích thước vòng phân giải (mm)	Sinh khối khô (mg/mL)
1	M15	37,7 ^a	30,80 ^b
2	M16	32,4 ^d	15,80 ^f
3	M33	33,2 ^c	20,40 ^e
4	M36	36,2 ^b	26,40 ^c
5	M65	33,0 ^c	26,40 ^c
6	M66	27,0 ^e	23,20 ^d
7	M68	36,4 ^b	23,30 ^d
8	M71	38,0 ^a	37,40 ^a

Sự sai khác giữa các chữ cái trên cùng một cột biểu hiện sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (Duncans' test)

Qua kết quả nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy cả 8 chủng nấm mốc đều sinh trưởng, phát triển tốt trên môi trường Czapek dịch thể có nguồn cơ chất là chitin, với sinh khối khô đạt từ 15,80 mg/mL đến 37,40 mg/mL. Trong đó, hai chủng có khả năng phân giải chitin mạnh nhất là M15 (kích thước vòng phân giải 37,7 mm và sinh khối khô đạt 30,80 mg/mL) và chủng M71 (kích thước vòng phân giải 38,0 mm và sinh khối khô đạt 37,40 mg/mL). So với một số kết quả nghiên cứu về vi khuẩn phân giải chitin thì hai chủng M15 và M71 có hoạt tính chitinase mạnh hơn nhiều với kích thước vòng phân giải lớn gấp 1,5 lần trong khi sinh khối khô cũng cao hơn nhiều [7].



Hình 1. Vòng phân giải chitin của các chủng nấm mốc M15 và M71

3.2. Đặc điểm hình thái và phân loại của các chủng nấm mốc M15 và M71

Chủng M15: khuẩn lạc có màu xanh rêu đậm, bờ tròn, mịn. Trên môi trường Czapek, M15 mọc ăn sâu vào môi trường và tiết ra sắc tố thay đổi màu của môi trường sang màu mận chín. Bào tử đính tron, không màu, thể bình thứ cấp (hình 2).



Hình 2. Đặc điểm hình thái chủng nấm mốc M15

Kết quả giải trình tự gene 28S rRNA:

Bảng 4. Trình tự đoạn gen 28S rRNA của chủng M15

Query 1	CCCACCCGTGTCTATCGTACCTTGTTGCTTcggcggggccccgcggtttcgacggccgcgcg	60
Sbjct 4	CCCACCCGTGTCTATCGTACCTTGTTGCTTTCGGCGGGCCCGCCGTTTCGACGGCCGCCG	63
Query 61	ggaggccttgcgcccccgggcccgcgcccgccgAAGACCCCAACATGAACGCTGTTCTG	120
Sbjct 64	GGAGGCCCTTGC GCCCCCGGGCCCGCGCCCGCCGAAGACCCCAACATGAACGCTGTTCTG	123
Query 121	AAGTATGCAGTCTGAGTTGATTATCGTAATCAGTTAAACTTTCAACAACGGATCTCTT	180
Sbjct 124	AAGTATGCAGTCTGAGTTGATTATCGTAATCAGTTAAACTTTCAACAACGGATCTCTT	183
Query 181	GTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTC	240
Sbjct 184	GTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTC	243
Query 241	GTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCT	300
Sbjct 244	GTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCT	303
Query 301	TCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGCACGGCTTGTGTGTTGGGCCCCCGTCCCCCTCTC	360
Sbjct 304	TCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGCACGGCTTGTGTGTTGGGCCCCCGTCCCCCTCTC	363
Query 361	CGGGGGACGGGCCCCGAAAGGCAGCGGCGGCACCGCTCCGGTCCTCGAGCGTATGGGGC	420
Sbjct 364	CGGGGGACGGGCCCCGAAAGGCAGCGGCGGCACCGCTCCGGTCCTCGAGCGTATGGGGC	423
Query 421	TTGTCACCTGCTCTGTAGGCCCGGCCGGCGCCAGCCGACACCCAACTTTATTTTCTAA	480
Sbjct 424	TTGTCACCTGCTCTGTAGGCCCGGCCGGCGCCAGCCGACACCCAACTTTATTTTCTAA	483
Query 481	GTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA	540
Sbjct 484	GTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA	543

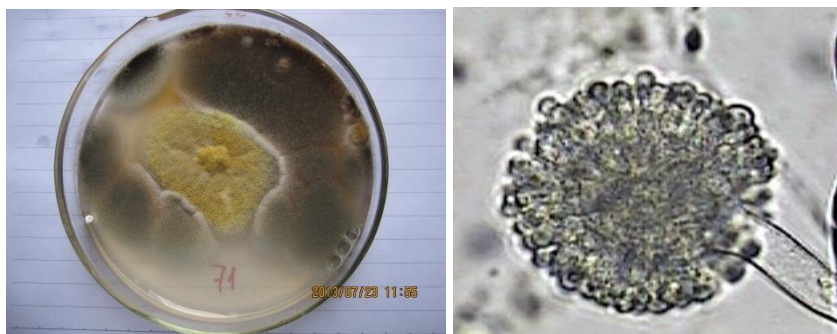
Query 541 AAGAAACCAACAGGGATTGCCTCAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAAGAGCTCAAATTTG 600
 Sbjct 544 AAGAAACCAACAGGGATTGCCTCAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAAGAGCTCAAATTTG 603
 Query 601 AAGCTGGCCCCCTTCGGGGTCCGCGTTGTAATTTGCAGAGGATGCTTCGGGTGCAGCCCC 660
 Sbjct 604 AAGCTGGCCCCCTTCGGGGTCCGCGTTGTAATTTGCAGAGGATGCTTCGGGTGCAGCCCC 663
 Query 661 GTCTAAGTGCCCTGGAACGGGCCGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTCTGGGACGGGGTG 720
 Sbjct 664 GTCTAAGTGCCCTGGAACGGGCCGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTCTGGGACGGGGTG 723
 Query 721 TCTGCGTCCGTGTGAAGCTCCTTCGACGAGTCGA 754
 Sbjct 724 TCTGCGTCCGTGTGAAGCTCCTTCGACGAGTCGA 757

Bảng 5. Đánh giá mức độ tương đồng của trình tự đoạn gen 28S rRNA của chủng M15 với GenBank database sử dụng công cụ BLAST

Tên loài	Tên chủng	Mã số truy cập	Độ tương đồng (%)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	ITS2	HF677588.1	100

Qua kết quả nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy trình tự đoạn gen 28S rRNA của chủng M15 là tương đồng 100 % với trình tự đoạn gen 28S rRNA của chủng *Aspergillus fumigatus* ITS2, mã số truy cập HF677588.1. Chủng M15 được xếp vào chi *Aspergillus*, loài *Aspergillus fumigatus*.

Chủng M71: khuẩn lạc có màu vàng hoa cau, bờ không tròn đều, độ dày khuẩn lạc lớn hơn chủng M15. Trên môi trường Czapek, khuẩn lạc mọc sâu vào môi trường và tiết ra sắc tố làm chuyển màu môi trường sang màu vàng cam. Khuẩn ty từ màu trắng xám sau đó chuyển sang màu vàng hoa cau. Bào tử dính hình cầu, màu sắc thay đổi từ xanh vôi sang xanh thẫm (hình 3).



Hình 3. Đặc điểm hình thái chủng M71

- Kết quả giải trình tự gene 28S:

Bảng 6. Trình tự đoạn gen 28S rRNA của chủng M71

Query 1 TTTGTACACACCGCCCGTCGCTACTACCGATTGAATGGCTCGGTGAGGCCCTTCGGACTGG 60
 Sbjct 2188 TTTGTACACACCGCCCGTCGCTACTACCGATTGAATGGCTCGGTGAGGCCCTTCGGACTGG 2247
 Query 61 CCCAGGAGGGTTGGCAACGACCCCCCAGGGCCGGAAAGTTGGTCAAACCCGGTCATTTAG 120
 Sbjct 2248 CCCAGGAGGGTTGGCAACGACCCCCCAGGGCCGGAAAGTTGGTCAAACCCGGTCATTTAG 2307
 Query 121 AGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAG 180
 Sbjct 2308 AGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAG 2367
 Query 181 TGTAGGGTTCTTAGCGAGCCCAACCTCCCACCCGTGTTTACTGTACCTTAGTTGCTTCGG 240
 Sbjct 2368 TGTAGGGTTCTTAGCGAGCCCAACCTCCCACCCGTGTTTACTGTACCTTAGTTGCTTCGG 2427

Query	241	CGGGCCCGCCATTCATGGCCGCCGGGGGCTCTCAGCCCCGGGCGCGCCCGCGGAGAC	300
Sbjct	2428	CGGGCCCGCCATTCATGGCCGCCGGGGGCTCTCAGCCCCGGGCGCGCCCGCGGAGAC	2487
Query	301	ACCACGAACTCTGTCTGATCTAGTGAAGTCTGAGTTGATTGTATCGCAATCAGTTAAAC	360
Sbjct	2488	ACCACGAACTCTGTCTGATCTAGTGAAGTCTGAGTTGATTGTATCGCAATCAGTTAAAC	2547
Query	361	TTTCAACAATGGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACT	420
Sbjct	2548	TTTCAACAATGGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACT	2607
Query	421	AGTGTGAATTGCAGAATTCCTGTAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGG	480
Sbjct	2608	AGTGTGAATTGCAGAATTCCTGTAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGG	2667
Query	481	TATTCGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCATCAAGCACGGCTTGTGTGT	540
Sbjct	2668	TATTCGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCATCAAGCACGGCTTGTGTGT	2727
Query	541	TGGGTCGTCGTCCCTCTCCGggggggACGGGCCCCAAAGGCAGCGCGGCACCGCGTCC	600
Sbjct	2728	TGGGTCGTCGTCCCTCTCCGggggggACGGGCCCCAAAGGCAGCGCGGCACCGCGTCC	2787
Query	601	GATCCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTACCCGCTCTGTAGGCCCGCGCGCTTGCCGAA	660
Sbjct	2788	GATCCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTACCCGCTCTGTAGGCCCGCGCGCTTGCCGAA	2847
Query	661	CGCAAATCAATCTTTTTCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACCTAA	720
Sbjct	2848	CGCAAATCAATCTTTTTCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACCTAA	2907
Query	721	GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACCGGGATTGCCTCAGTAACGGCGAGTGAA	780
Sbjct	2908	GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACCGGGATTGCCTCAGTAACGGCGAGTGAA	2967
Query	781	GCGGCAAGAGCTCAAATTTGAAAGCTGGCTCCTTCGGGGTCCGCATTGTAATTTGCAGAG	840
Sbjct	2968	GCGGCAAGAGCTCAAATTTGAAAGCTGGCTCCTTCGGGGTCCGCATTGTAATTTGCAGAG	3027
Query	841	GATGCTTCGGGTGCGGCCCTGTCTAAGTGCCCTGGAACGGGCCGTGAGAGGGTGAGA	900
Sbjct	3028	GATGCTTCGGGTGCGGCCCTGTCTAAGTGCCCTGGAACGGGCCGTGAGAGGGTGAGA	3087
Query	901	ATCCCGTCTGGGATGGGGTGTCGCGCCCGTGTGAAGCTCCTTCGACGAGTCGAGTT	957
Sbjct	3088	ATCCCGTCTGGGATGGGGTGTCGCGCCCGTGTGAAGCTCCTTCGACGAGTCGAGTT	3144

Bảng 7. Đánh giá mức độ tương đồng của trình tự đoạn gen 28S rRNA của chủng M71 với GenBank database sử dụng công cụ BLAST

Tên loài	Tên chủng	Mã số truy cập	Độ tương đồng (%)
<i>Aspergillus oryzae</i>	RIB40	AP007172.1	100
<i>Aspergillus oryzae</i>	RIB40	AP007173.1	100

Qua kết quả nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy trình tự đoạn gen 28S rRNA của chủng M71 là tương đồng 100% với trình tự đoạn gen 28S rRNA ở hai chủng *Aspergillus oryzae* RIB40, AP007172.1 và *Aspergillus oryzae* RIB40, AP007173.1. Chủng M15 được xếp vào chi *Aspergillus*, loài *Aspergillus oryzae*.

4. KẾT LUẬN

Từ 15 mẫu đất phân lập được 120 chủng nấm mốc phân giải chitin. Số lượng nấm mốc trong các mẫu đất đạt $3,23-10,44 \times 10^6$ CFU/g đất khô. Tuyển chọn hai chủng nấm mốc có khả năng phân giải chitin mạnh với kích thước vòng phân giải chitin đạt 37,7-38,0 mm và sinh khối khô đạt 30,80-37,40 mg/mL.

Định danh hai chủng nấm mốc tuyển chọn là *Aspergillus fumigatus* M15 và *Aspergillus oryzae* M71.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Lý Thị Thanh Hà, Phạm Đức Ngọc, Phạm Văn Ty (2007). Nghiên cứu nấm mốc phân giải chitin phân lập từ vườn quốc gia Tam Đảo. *Tạp chí Di truyền học và ứng dụng*, số 2, tr.523-529.
- [2]. Nguyễn Lâm Dũng, Nguyễn Đăng Đức, Đặng Hồng Miên, Nguyễn Vĩnh Phước, Nguyễn Đình Quyển, Nguyễn Phùng Tiến, Phạm Văn Ty (1976). *Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học*, Tập II, Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
- [3]. Nguyễn Lâm Dũng, Phạm Thị Trân Châu, Nguyễn Thanh Hiền, Lê Đình Lương, Đoàn Xuân Mượu (1978). *Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học*, Tập III, Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
- [4]. Sambrook J. and Russell D.W. (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.
- [5]. Verschuere L., Rombaut G., Sorgeloos P. and Verstraete W. (2000). Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology & Molecular Biology Reviews*, Vol.64, pp. 655-671.
- [6]. Nguyễn Thị Hà (2012). Tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy chủng *Aspergillus protuberus* sinh tổng hợp enzyme chitinase được phân lập từ rừng ngập mặn Cần Giờ. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, Tập 22b, tr.26-35.
- [7]. Phạm Thị Ngọc Lan, Hoàng Quốc Anh (2010). Tuyển chọn chủng vi khuẩn phân hủy chitin và khảo sát điều kiện sinh tổng hợp chitinase. *Tạp chí Công nghệ sinh học* 8, Số 3B, tr.1639-1643.

SELECTION OF SOME CHITINASE BIO-SYNTHESIZING MOLD STRAINS

ISOLATED SOIL

Phạm Thị Ngọc Lan*, Vo Thị Thanh Nhan

Department of Biology, Hue University of Sciences

*E-mail: ngoclanz@yahoo.com

ABSTRACT

Chitinases have many applications in agriculture, industry and medicine. Nowadays, chitinases are extracted from different organisms such as mammals, plants, especially from microorganisms with high activity and stability over temperature and pH range.

*Among 120 mold strains isolated from soils at 15 different locations of Phu Vang, Huong Tra districts and Hue city, two strains termed M15 and M71 with the highest ability to bio-synthesize chitinases were selected. Based on the nucleotide sequences of 28S rRNA, M15 and M17 mold strains were identified as *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus oryzae*, respectively.*

Keywords: chitinase, mold, selection