

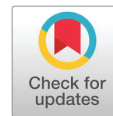


ISSN : 1859-1779

Nghiên cứu Dược học

Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh - Dược học;29(1):52-60

<https://doi.org/10.32895/hcjm.p.2026.01.06>



Khảo sát hoạt tính kháng methicillin - resistant *Staphylococcus aureus* của vi nấm nội sinh phân lập từ cây Mã đề

Nguyễn Vũ Giang Bắc^{1,*}, Đỗ Mai Xuân Diệu¹

¹Trường Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Kháng thuốc của vi sinh vật gây bệnh, đặc biệt là *Staphylococcus aureus* kháng methicillin (MRSA), đang là vấn đề thách thức trong điều trị bệnh nhiễm khuẩn trên toàn cầu. Nấm nội sinh được xem là nguồn sinh học tiềm năng cho việc phát hiện các hợp chất tự nhiên mới có hoạt tính kháng khuẩn. Cây Mã đề (*Plantago major* L.) là dược liệu quen thuộc trong y học cổ truyền, chứa nhiều hợp chất sinh học, tuy nhiên hệ nấm nội sinh của cây này vẫn chưa được nghiên cứu sâu về khả năng sinh hoạt chất kháng khuẩn.

Mục tiêu: Phân lập và khảo sát hoạt tính kháng MRSA của vi nấm nội sinh từ cây Mã đề (*Plantago major* L.).

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: cây Mã đề được thu hái tại Vườn Dược liệu, Trường Dược - Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh. Vi nấm nội sinh được phân lập từ các bộ phận của cây, định danh bằng đặc điểm hình thái và sinh học phân tử. Hoạt tính kháng khuẩn được khảo sát bằng phương pháp khuếch tán qua thạch. Các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng sinh hoạt chất được đánh giá bao gồm nguồn carbon, nguồn nitơ, mật độ vi nấm ban đầu và điều kiện thông khí.

Kết quả: Đã phân lập được bốn chủng vi nấm nội sinh từ cây Mã đề, trong đó chủng MD - T2 (định danh là *Xylaria feejeensis*) thể hiện hoạt tính kháng MRSA. Kết quả khảo sát điều kiện nuôi cấy cho thấy glucose, dịch chiết khoai tây và điều kiện lắc 150 vòng/phút giúp tăng cường khả năng sinh hoạt chất kháng khuẩn và tiết kiệm chi phí. Mật độ cấy ban đầu không ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả sinh hoạt chất.

Kết luận: *Xylaria feejeensis* MD - T2 là chủng nấm nội sinh có tiềm năng sinh hợp chất kháng khuẩn tự nhiên, đặc biệt hiệu quả đối với MRSA. Kết quả nghiên cứu góp phần định hướng khai thác và ứng dụng nguồn vi sinh vật nội sinh bản địa trong phát triển dược phẩm tự nhiên và nông nghiệp sinh học bền vững.

Từ khóa: nấm nội sinh; *Plantago major*; *Xylaria feejeensis*; MRSA; hoạt tính kháng khuẩn

Abstract

INVESTIGATION OF THE ANTI - METHICILLIN - RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ACTIVITY OF ENDOPHYTIC FUNGI FROM *PLANTAGO MAJOR* L.

Nguyen Vu Giang Bac, Do Mai XuanDieu

Background: Antimicrobial resistance, particularly Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), poses a major global health challenge in the treatment of bacterial infections. Endophytic fungi are recognized as promising biological sources for discovering new natural antimicrobial compounds. *Plantago major* L., a common medicinal herb, contains various bioactive constituents; however, its endophytic fungi remain poorly studied for antibacterial potential.

Ngày nhận bài: 12-11-2025 / Ngày chấp nhận đăng bài: 08-01-2026 / Ngày đăng bài: 15-01-2026

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Vũ Giang Bắc. Trường Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam.

E-mail: nguyenvugiangbac@ump.edu.vn

© 2026 Bản quyền thuộc về Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh.

Objectives: Isolation and evaluation of the anti-MRSA activity of endophytic fungi from *Plantago major* L..

Materials and Methods: *P. major* samples were collected from the Medicinal Plant Garden, School of Pharmacy - University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City. Endophytic fungi were isolated from plant tissues and identified through morphological and molecular analyses. Antibacterial activity was evaluated using the agar diffusion method. The effects of carbon and nitrogen sources, inoculum density, and aeration conditions on metabolite production were also investigated.

Results: Four endophytic fungal strains were successfully isolated from *Plantago* sp., among which strain MD-T2, identified as *Xylaria feejeensis*, exhibited notable anti-MRSA activity. Investigation of culture conditions indicated that glucose, potato extract and agitation at 150 rpm significantly enhanced the production of antibacterial metabolites while reducing cultivation costs. In contrast, the initial inoculum density did not have a significant effect on metabolite production efficiency.

Conclusions: *Xylaria feejeensis* MD - T2 demonstrates notable antibacterial potential, particularly against MRSA. The findings highlight its promise as a native microbial resource for developing natural antimicrobial agents and for sustainable biopharmaceutical and agricultural applications.

Keywords: Endophytic fungi; *Plantago major*; *Xylaria feejeensis*; MRSA; antibacterial activity

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Kháng thuốc ở vi sinh vật gây bệnh đang trở thành thách thức đối với y học hiện đại, thúc đẩy nhu cầu tìm kiếm các nguồn hoạt chất tự nhiên mới có khả năng ức chế vi sinh vật đa kháng. *Staphylococcus aureus* kháng methicillin (MRSA) là tác nhân thường gặp gây nhiễm khuẩn bệnh viện và cộng đồng, với đặc điểm đề kháng với hầu hết các kháng sinh nhóm β -lactam [1]. Sự gia tăng tỷ lệ nhiễm MRSA làm hạn chế lựa chọn điều trị, kéo dài thời gian nằm viện và làm tăng nguy cơ tử vong [2]. Do đó, việc nghiên cứu và tìm kiếm các tác nhân kháng khuẩn mới có khả năng ức chế MRSA là cần thiết. Trong bối cảnh đó, nấm nội sinh - nhóm vi sinh vật sống cộng sinh bên trong mô thực vật mà không gây hại cho cây chủ - đang được xem là một trong những nguồn sinh học tiềm năng nhất cho phát hiện hợp chất tự nhiên mới [3,4]. Các nghiên cứu gần đây cho thấy nấm nội sinh có thể tổng hợp nhiều nhóm chất chuyển hóa thứ cấp quan trọng như alkaloid, phenol, terpenoid, polyketid và quinon, với phổ hoạt tính sinh học đa dạng bao gồm kháng khuẩn, kháng nấm, chống oxy hóa, kháng ung thư, kháng viêm và điều hòa miễn dịch [5-7]. Tiềm năng này đã đưa nấm nội sinh trở thành một hướng nghiên cứu trọng tâm trong khai thác hợp chất sinh học tự nhiên phục vụ dược phẩm và nông nghiệp sinh học bền vững [8].

Trong số các loài thực vật được sử dụng phổ biến trong y học cổ truyền Việt Nam, cây Mã đề (*Plantago major* L.) là một dược liệu có giá trị, được ghi nhận với nhiều tác dụng

được lý như kháng viêm, lợi tiểu, cầm máu, chống oxy hóa và kháng khuẩn [6]. Nhiều nghiên cứu đã xác định các hợp chất hoạt tính sinh học chủ yếu của cây như plantamajosid, acteosid, flavonoid và acid phenolic, có liên quan đến các tác dụng bảo vệ tế bào và kháng vi sinh vật [6,8]. Tuy nhiên, phần lớn các công trình hiện nay mới tập trung vào dịch chiết trực tiếp từ thực vật, trong khi nấm nội sinh sống trong mô cây Mã đề - vốn có khả năng sinh ra những hợp chất tương tự hoặc bổ sung cho cây chủ - vẫn còn ít được nghiên cứu một cách có hệ thống [4,7].

Trên cơ sở đó, nghiên cứu này tập trung khảo sát khả năng sinh hoạt chất kháng khuẩn của chủng nấm nội sinh, đã được phân lập và định danh từ mô lá cây Mã đề (*P. major*). Mục tiêu cụ thể của nghiên cứu là đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết nấm đối với một số vi khuẩn gây bệnh thường gặp, đồng thời khảo sát ảnh hưởng của các điều kiện và thành phần môi trường nuôi cấy đến khả năng tạo hợp chất có hoạt tính sinh học. Kết quả nghiên cứu kỳ vọng góp phần làm rõ tiềm năng sinh học của hệ nấm nội sinh trên cây Mã đề, đồng thời mở rộng ứng dụng nguồn vi sinh vật bản địa trong phát triển dược phẩm tự nhiên [3,5,8].

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Cây Mã đề được thu hái tại Vườn dược liệu, Trường Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh năm 2025.

Chủng vi sinh vật thử nghiệm: Methicillin - resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 44300 (American Type Culture Collection - ATCC; Manassas, Hoa Kỳ) được lưu trữ tại Bộ môn Vi sinh - Ký sinh, Trường Dược - Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập vi nấm nội sinh từ cây Mã đề

Chuẩn bị mẫu thực vật và tiệt trùng bề mặt

Cây Mã đề sau khi thu hái được rửa sạch bụi bẩn và đất dính dưới vòi nước. Sau đó, cây được để khô ở nhiệt độ phòng và xử lý bề mặt trong vòng 24 giờ sau khi thu hái. Tiến hành cắt cây thành từng đoạn nhỏ 4 - 5 cm. Tiệt trùng bề mặt để loại bỏ các vi sinh vật bề mặt bằng cách nhúng mẫu thực vật trong các dung dịch khử trùng lần lượt là ethanol 75% (tt/tt) trong 2 phút, dung dịch Javel 25% (tt/tt) trong 2 phút và nước cất trong 2 phút. Sau đó mẫu thực vật được phơi ở tủ an toàn sinh học cấp 2 trong 2 giờ để khô nước [7].

Phân lập vi nấm nội sinh

Mẫu thân, lá, rễ và hoa Mã đề được cắt nhỏ bằng dao vô trùng thành những đoạn ngắn 1 - 2 cm, cắt bọc lộ mô tế bào bên trong thực vật và đặt lên môi trường thạch khoai tây (Potato Dextrose Agar - PDA) có bổ sung chloramphenicol 5 mg/100 ml (HiMedia, Ấn Độ). Ủ ở nhiệt độ phòng trong 5 - 7 ngày. Quan sát đĩa thạch hằng ngày. Khi có bất cứ sự phát triển của nấm sợi từ mô tế bào thì tiến hành cấy sang đĩa thạch mới. Vi nấm được lưu giữ trong dung dịch glycerol 50% ở nhiệt độ - 80 °C cho những thử nghiệm sau [7,9].

2.2.2. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của vi nấm nội sinh

Nuôi cấy vi nấm nội sinh

Vi nấm nội sinh được cấy lên 3 môi trường dinh dưỡng khác nhau là thạch sabouraud (Sabouraud Dextrose Agar - SDA; HiMedia, Ấn Độ), PDA và thạch Czapek Dox (Czapek Dox Agar - CDA; HiMedia, Ấn Độ). Ủ ở nhiệt độ phòng trong 5 ngày. Dùng một ống thép vô trùng có đường kính trong 6 mm để đục khóm nấm thành những khoanh thạch tròn.

Chuẩn bị huyền dịch vi khuẩn

Chủng MRSA lưu trữ trong tủ -80 °C của Bộ môn Vi sinh - Ký sinh, được hoạt hóa lên đĩa thạch Tryptic Soy Agar (TSA; HiMedia, Ấn Độ) và ủ ở 37 °C trong 12 giờ.

Lấy 3-5 khóm vi khuẩn thuần trên đĩa thạch chuyển vào 4 - 5 ml môi trường TSB, ủ ở 37 °C trong 2 - 6 giờ hoặc cho đến khi có độ đục lớn hơn hay bằng McFarland 0,5. Hiệu chỉnh dịch treo vi khuẩn đến mật độ vi khuẩn vào khoảng $1 - 2.10^8$ CFU/ml. Xác định mật độ bằng cách đo OD₆₀₀ thì độ hấp thụ A phải nằm trong khoảng 0,08 - 0,12 hay soi trực tiếp trên nền trắng với vạch đen đạt độ đục tương ứng dung dịch chuẩn McFarland 0,5 [10].

Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của vi nấm nội sinh

Chuẩn bị hộp thạch chứa 15 ml môi trường TSA, làm khô bề mặt thạch trong tủ an toàn sinh học cấp 2. Sau đó dùng tăm bông vô trùng thấm ướt huyền dịch vi khuẩn đã được chuẩn bị ở trên và trải đều lên trên bề mặt thạch TSA. Đặt khoanh vi nấm nội sinh ở phía trên lên bề mặt hộp thạch. Ủ các hộp thạch ở 37 °C trong 24 giờ. Trong quá trình ủ, chất kháng khuẩn từ vi nấm (nếu có) sẽ khuếch tán từ khoanh vi nấm ra hộp thạch và ức chế sự phát triển của vi khuẩn, tạo thành vòng không có vi khuẩn mọc (gọi là vòng ức chế) xung quanh khoanh vi nấm. Đo đường kính vòng ức chế [10].

2.2.3. Định danh vi nấm nội sinh bằng phương pháp sinh học phân tử và đặc điểm hình thái

Định danh bằng phương pháp sinh học phân tử

Quy trình chiết tách DNA từ vi nấm được điều chỉnh dựa trên phương pháp của Zhang và cộng sự (2010). Sợi nấm sau khi được xử lý bằng dung dịch CTAB 2X, tiến hành phá vỡ cấu trúc tế bào bằng máy đồng hóa BeadBug 6 (Merck, Hoa Kỳ) với bi thủy tinh đường kính 6 mm, sau đó, ủ ở nhiệt độ 65 °C trong 1 giờ. Protein tạp được kết tủa bằng hỗn hợp chloroform:isoamyl alcohol (tỷ lệ 1:1) và ly tâm ở 13.000 vòng/phút trong 10 phút tại nhiệt độ phòng. Chuyển phần dịch nổi sang ống eppendorf mới chứa isopropanol lạnh với tỷ lệ 1:1 và ủ ở -80 °C trong 30 phút để kết tủa DNA. Ly tâm ở 4 °C với tốc độ 13.000 vòng/phút trong 10 phút. Rửa cặn DNA thu bằng ethanol 70 % (tt/tt) lạnh. Sau khi loại bỏ ethanol thì hòa tan DNA lại trong 10 µl nước cất [9].

PCR được tiến hành sử dụng enzym MyTaq™ ADN polymerase (Meridian Biocience - Bioline, Inc.) cùng với

cặp mồi ITS1-F (TCCGTAGGTGAACCTGCGG) và ITS2-R (GCTGCGTTCTTCATCGATGC). Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng phương pháp điện di để xác định sự hiện diện của các đoạn DNA mục tiêu. Giải trình tự và so sánh với cơ sở dữ liệu trên NCBI bằng công cụ BLAST.

Định danh bằng quan sát đặc điểm hình thái

Quan sát đặc điểm khóm nấm: khóm nấm trên môi trường SDA, PDA và CDA sau 7 ngày được quan sát và mô tả một số đặc điểm như màu sắc, tốc độ mọc, có hay không sự hình thành sắc tố và giọt tiết.

Quan sát đặc điểm vi thể: tiến hành quan sát đặc điểm vi nấm bằng kính hiển vi quang học ở vật kính $10\times$ và $40\times$.

2.2.4. Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến khả năng sinh hoạt tính kháng khuẩn

Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng sinh hoạt chất kháng MRSA của vi nấm nội sinh, từ đó đề nghị quy trình nuôi cấy. Các yếu tố được khảo sát bao gồm: nguồn carbon, nguồn nitơ, nồng độ vi nấm ban đầu và điều kiện thông khí. Điều kiện khảo sát ban đầu là môi trường PDB cơ bản (200g khoai tây, 20 g glucose/1 lít), nồng độ vi nấm ban đầu là 10^3 và điều kiện thông khí là 150 vòng/phút. Tiến hành thay đổi các yếu tố khảo sát dựa trên điều kiện khảo sát ban đầu.

Chuẩn bị huyền dịch vi nấm nội sinh

Vi nấm được hoạt hoá trên ống thạch nghiêng PDA ở nhiệt độ phòng trong 7 ngày. Dùng pipet Pasteur cho nước muối sinh lý vào ngập khóm nấm, cạo nhẹ bề mặt khóm nấm để lấy bào tử, cho huyền dịch nấm vào ống nghiệm vô trùng, lắc rung dịch nấm 20 - 30 giây. Điều chỉnh dịch treo nấm bằng máy UV-VIS (Ultrospec 3100 *pro* - Amersham Biosciences),

$OD_{530} \approx 0,1$ (trong khoảng 0,08 - 0,12), tương đương $1 - 5.10^6$ tế bào/ml.

Nuôi cấy vi nấm nội sinh

Thêm 1 ml huyền dịch vi nấm nội sinh vào 100 ml các môi trường nuôi cấy khảo sát trong bình erlen 250 ml. Nuôi cấy vi nấm nội sinh ở điều kiện thích hợp, sau 5 ngày nuôi cấy ở nhiệt độ phòng thì tiến hành khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của dịch nuôi cấy.

Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của dịch nuôi cấy

Chuẩn bị hộp thạch chứa 15 ml môi trường TSA, làm khô bề mặt thạch trong tủ an toàn sinh học cấp 2. Sau đó dùng tấm bông vô trùng thấm ướt huyền dịch vi khuẩn đã được chuẩn bị ở trên và trải đều lên trên bề mặt thạch TSA. Dùng ống thép không rỉ có đường kính trong 6 mm tạo 3 giếng trên hộp thạch TSA. Bơm 50 μ l dịch nuôi cấy cần khảo sát vào mỗi giếng, đặt hộp thạch ở nhiệt độ 4°C trong 2 giờ để dịch nuôi cấy khuếch tán vào môi trường xung quanh. Sau đó, ủ hộp thạch ở 37°C trong 24 giờ. Đọc kết quả và ghi nhận đường kính vòng kháng khuẩn [10].

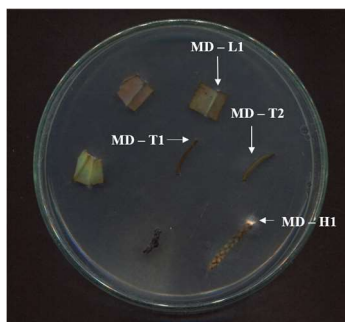
3. KẾT QUẢ

3.1. Phân lập vi nấm nội sinh từ cây Mã đề

Chúng tôi đã thu nhận được 4 chủng vi nấm nội sinh từ lá, hoa, thân và rễ cây Mã đề (Hình 1), được ký hiệu lần lượt là MD - L1, MD - T1, MD - T2, MD - H1 (Hình 2). Từ đó nuôi cấy 4 chủng vi nấm nội sinh trên 3 môi trường dinh dưỡng khác nhau và khảo sát hoạt tính kháng MRSA của 4 chủng vi nấm nội sinh này.



Hình 1. Cây Mã đề dùng trong nghiên cứu

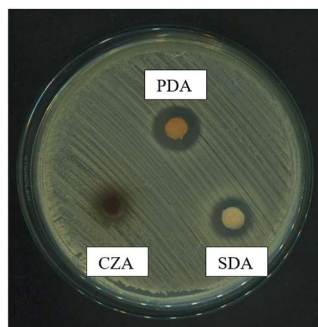


Hình 2. Kết quả phân lập vi nấm nội sinh từ cây Mã đề

3.2. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của vi nấm nội sinh phân lập từ cây Mã đề

Tiến hành khảo sát hoạt tính kháng MRSA của các chủng vi nấm nội sinh bằng phương pháp khuếch tán qua thạch, chỉ có chủng MD - T2 thể hiện hoạt tính kháng

MRSA khi được nuôi cấy trên môi trường SDA và PDA, và không có hoạt tính khi nuôi cấy trên môi trường CDA. Kết quả thử nghiệm được thể hiện ở hình 3. Đường kính vòng kháng khuẩn trên môi trường SDA là 8 ± 1 cm, trên môi trường PDA là 12 ± 3 mm (Hình 3).



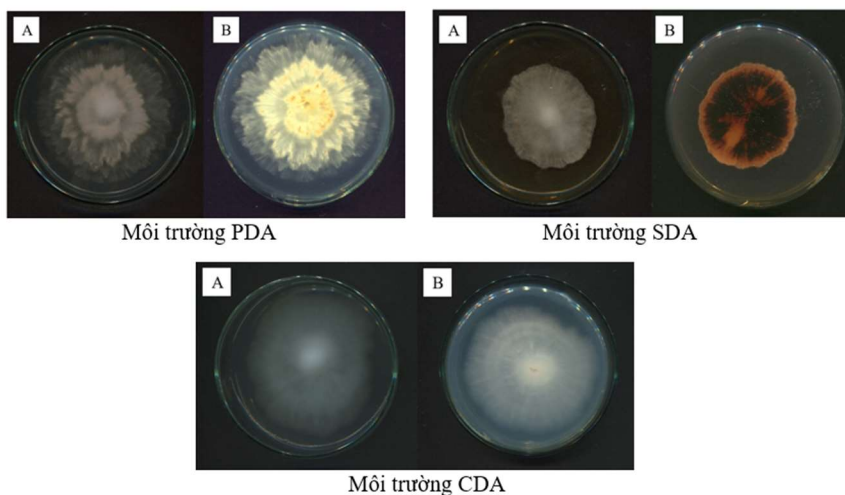
Hình 3. Thử nghiệm khảo sát hoạt tính kháng MRSA của chủng MD - T2

3.3. Định danh chủng vi nấm nội sinh MD - T2

3.3.1. Đặc điểm hình thể khóm nấm

Vi nấm MD - T2 có tốc độ phát triển từ trung bình đến nhanh trên 3 môi trường dinh dưỡng (SDA, PDA và CDA)

với đường kính khóm nấm từ 5,5 - 8 cm sau 7 ngày. Khóm nấm có dạng nhung, mặt trên có màu trắng đến vàng nhạt. Mặt dưới có màu vàng nhạt, sau chuyển sang màu nâu đậm trên môi trường SDA. Không ghi nhận có sự xuất hiện của giọt tiết hay thể quả sau 7 ngày (Hình 4).



Hình 4. Khóm nấm MD - T2 sau 7 ngày trên 3 môi trường dinh dưỡng (A) Mặt trên, (B) Mặt dưới

3.3.2. Đặc điểm hình thể vi nấm dưới kính hiển vi

Vi nấm MD - T2 trên các môi trường dinh dưỡng khác nhau cho đặc điểm vi thể tương tự nhau. Sợi tơ nấm có vách ngăn, không màu với những đoạn sợi nấm phình to, hình chùy. Ngoài ra còn không thấy sự xuất hiện của túi sinh bào tử, cuống bào tử, bào tử đính lớn hay bào tử đính nhỏ trên các môi trường khảo sát (Hình 5).

3.3.3. Kết quả giải trình tự vùng ITS1 của vi nấm MD - T2

Kết quả so sánh trình tự ITS1 của MD - T2 với *Xylaria feejeensis* Xylariaceae với số tham khảo là ON810367.1 trên ngân hàng dữ liệu NCBI được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Bảng dữ liệu truy vấn công cụ BLAST

Tên khoa học	Độ tương đồng lớn nhất	Tổng độ tương đồng	Độ che phủ	Giá trị E	Phần trăm xác định	Chiều dài đoạn	Mã số so sánh
<i>Xylaria feejeensis</i>	948	948	100%	0	99,24%	524	ON810367.1

3.4. Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng khả năng sinh hoạt tính kháng khuẩn

Tiến hành khảo sát ảnh hưởng của nguồn carbon và hàm lượng nguồn carbon; nguồn nitơ và hàm lượng nguồn nitơ; mật độ vi nấm nội sinh ban đầu và điều kiện thông khí đến khả năng sinh chất kháng khuẩn của vi nấm nội sinh MD - T2.

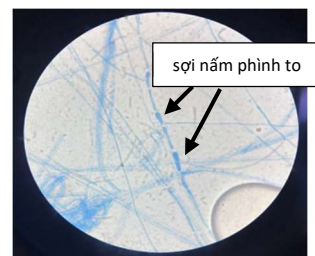
3.4.1. Nguồn carbon

MD - T2 sử dụng được cả đường đơn (glucose) và đường đôi (lactose), tuy nhiên, glucose vẫn là nguồn carbon tốt hơn so với lactose. Đường kính vòng kháng khuẩn khi nuôi cấy trong glucose lớn hơn lactose (Hình 6). Do đó, tiến hành thay đổi nồng độ glucose từ 10 - 30 g cho 1 lít môi trường nuôi cấy. Kết quả cho thấy đường kính vòng kháng khuẩn khi thay đổi nồng độ glucose có sự chênh lệch. Do đó, lựa chọn nồng độ glucose là 10 g/L cho môi trường nuôi cấy thu hoạt chất kháng khuẩn.

3.4.2. Nguồn nitơ

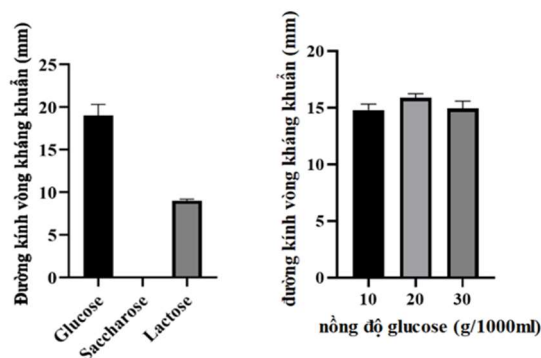
Tiến hành khảo sát nguồn nitơ là khoai tây, cao nấm men và trypton. MD - T2 chỉ sử dụng được nguồn nitơ là khoai tây. Dịch nuôi cấy MD - T2 với cao nấm men và trypton không sinh chất chuyển hóa kháng MRSA. Sau đó, tiến hành thay đổi nồng độ khoai tây từ 100 đến 300 g trong 1 lít môi trường nuôi cấy. Kết quả cho thấy đường kính vòng kháng

Kết hợp kết quả so sánh dữ liệu với chủng ON810367.1 và các đặc điểm hình thái khóm nấm có dạng tỏa tia trên thạch PDA, vi nấm không sinh bào tử và có sợi tơ nấm hình vệt, chủng vi nấm MD - T2 được phân loại là *Xylaria feejeensis* Xylariaceae.

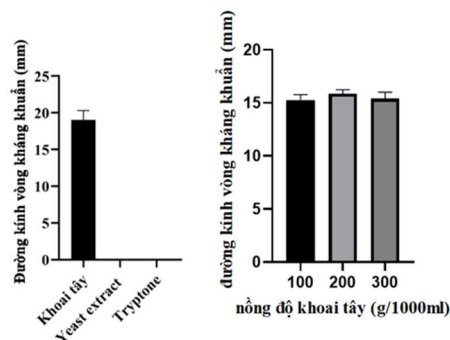


Hình 5. Đặc điểm sợi nấm MD - T2 dưới kính hiển vi quang học ở vật kính 40X

khuẩn khi thay đổi nồng độ khoai tây có sự chênh lệch (Hình 7). Do đó, lựa chọn nồng độ khoai tây là 100 g/L cho môi trường nuôi cấy thu hoạt chất kháng khuẩn.



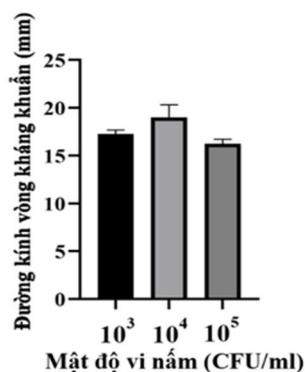
Hình 6. Kết quả khảo sát nguồn carbon của môi trường nuôi cấy



Hình 7. Kết quả khảo sát nguồn nitơ của môi trường nuôi cấy

3.4.3. Mật độ vi nấm nội sinh ban đầu

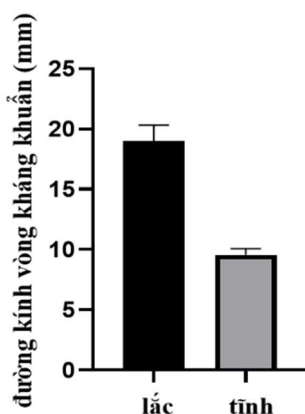
Tiến hành khảo sát mật độ vi nấm nội sinh ban đầu cho vào môi trường nuôi cấy từ 10^3 đến 10^5 CFU/ml. Mật độ vi nấm ban đầu được xác định bằng máy đo quang phổ UV - Vis ở bước sóng 530 nm. Kết quả cho thấy tuy có sự khác biệt về đường kính vòng kháng khuẩn ở 3 mật độ vi nấm khảo sát. Do đó, mật độ vi nấm cho vào ban đầu không ảnh hưởng đến tốc độ sinh trưởng và khả năng sinh hoạt chất của MD - T2 trong điều kiện khảo sát (Hình 8).



Hình 8. Kết quả khảo sát mật độ vi nấm nội sinh ban đầu

3.4.4. Điều kiện thông khí

Tiến hành khảo sát khả năng sinh hoạt chất kháng khuẩn của vi nấm MD - T2 ở điều kiện nuôi cấy tĩnh và lắc 150 vòng/phút. Kết quả cho thấy MD - T2 có thể sinh hoạt chất kháng khuẩn ở cả điều kiện nuôi cấy tĩnh hay lắc 150 vòng/phút, tuy nhiên đường kính vòng kháng khuẩn trong điều kiện lắc lớn hơn trong điều kiện tĩnh. Vì vậy chọn điều kiện lắc 150 vòng/phút để nuôi cấy thu hoạt chất kháng khuẩn (Hình 9).



Hình 9. Kết quả khảo sát điều kiện thông khí

4. BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu này, từ các bộ phận khác nhau của cây Mã đề (*Plantago major* L.), chúng tôi đã phân lập được bốn chủng vi nấm nội sinh, trong đó chủng MD - T2 thể hiện hoạt tính kháng khuẩn đối với MRSA. Kết quả này cho thấy sự đa dạng sinh học của hệ nấm nội sinh thực vật có thể là nguồn cung cấp hợp chất sinh học mới, phù hợp với nhiều nghiên cứu khẳng định mỗi loài cây thuốc thường mang quần xã nấm nội sinh đặc trưng với hoạt tính sinh học riêng biệt [3-5]. Trong bối cảnh gia tăng nhanh các chủng vi khuẩn đa đề kháng, việc khai thác vi nấm nội sinh từ dược liệu được xem là hướng tiếp cận chiến lược trong nghiên cứu kháng sinh mới.

Việc định danh phân tử và hình thái cho thấy MD - T2 thuộc chi *Xylaria*, cụ thể là *Xylaria feejeensis*. Chi *Xylaria* là một trong những nhóm nấm nội sinh nổi bật với khả năng tổng hợp hợp chất thứ cấp phong phú như xylariol, cytochalasin, griseofulvin và xylarenon - các chất đã được chứng minh có tác dụng ức chế vi khuẩn Gram dương và nấm gây bệnh [6-8]. Một số báo cáo gần đây cũng ghi nhận *Xylaria polymorpha* và *Xylaria hypoxylon* có khả năng ức chế mạnh *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* và *S. aureus*, củng cố vai trò tiềm năng của chi này trong nguồn kháng sinh tự nhiên thay thế [11,12].

Về yếu tố môi trường nuôi cấy, kết quả nghiên cứu cho thấy nguồn carbon và nitơ có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng sinh hợp chất kháng khuẩn. Cụ thể, glucose là nguồn carbon tạo ra mức hoạt tính kháng khuẩn cao hơn so với lactose. Cơ chế điều hòa chuyển hóa carbon ở nấm sợi hiện chưa được nghiên cứu cụ thể và thay đổi tùy thuộc chi nấm. Tuy nhiên, có nhiều nghiên cứu loại carbon có khả năng ảnh hưởng biểu hiện các cụm gen sinh tổng hợp chất chuyển hóa thứ cấp [13-14]. Ngoài ra, theo nghiên cứu của Han và cộng sự năm 2023, glucose cũng thúc đẩy sinh tổng hợp polyketid trong nấm *Aspergillus* thông qua việc tăng cường biểu hiện gen *PKS* liên quan đến chuỗi tổng hợp khung carbon [15].

Đối với nguồn nitơ, môi trường chứa dịch chiết khoai tây cho hoạt tính kháng khuẩn cao hơn các nguồn nitơ khác như yeast extract và tryptone. Dịch chiết khoai tây là nguồn dinh dưỡng phức, có chứa cả carbohydrat, acid amin tự do và peptid ngắn, vitamin nhóm B và khoáng vi lượng. Một số nghiên cứu trước đây đã cho thấy môi trường phức có nguồn

gốc thực vật thường thúc đẩy biểu hiện đa dạng các chất chuyển hóa thứ cấp, do đóng vai trò như tín hiệu sinh lý kích hoạt các cụm gen sinh tổng hợp hoạt chất thứ cấp. Quan sát này đã được ghi nhận ở nhiều loài nấm nội sinh, bao gồm các đại diện thuộc chi *Xylaria* [16,17]. Trong khi đó, yeast extract với tryptone là nguồn nitơ giàu acid amin và peptide dạng ngắn, thuận lợi cho tăng trưởng tế bào và sản xuất enzym. Một số nghiên cứu đã chứng minh rằng nguồn nitơ này tăng sinh khối nhưng không tương ứng với tăng sản lượng chất biến dưỡng thứ cấp [18,19].

Đối với điều kiện thông khí, MD - T2 thể hiện hoạt tính kháng khuẩn cao hơn khi được nuôi trong điều kiện lắc (150 vòng/phút) so với nuôi tĩnh. Điều này có thể giải thích do sự gia tăng nồng độ oxy hòa tan, giúp kích hoạt các enzym oxy-phụ thuộc trong đường tổng hợp polyketid hoặc terpenoid [20].

Về mật độ cấy ban đầu, kết quả cho thấy trong khoảng $10^3 - 10^5$ CFU/mL, sự tăng trưởng của MD - T2 không bị giới hạn bởi mật độ giống mà phụ thuộc chủ yếu vào dinh dưỡng và trao đổi khí. Như vậy, glucose và khoai tây trong điều kiện lắc 150 vòng/phút được xem là điều kiện nuôi cấy để thu được nhiều hoạt chất kháng MRSA từ chủng MD - T2.

5. KẾT LUẬN

Chủng nấm nội sinh MD - T2, được định danh là *Xylaria feejeensis* phân lập từ mô thân cây Mã đề (*Plantago major* L.), thể hiện hoạt tính kháng MRSA. Khả năng tạo chất biến dưỡng thứ cấp phụ thuộc vào thành phần môi trường nuôi cấy và điều kiện thông khí, trong đó, glucose (10g/l) và khoai tây (100g/l) và điều kiện lắc 150 vòng/phút giúp tăng cường khả năng sinh hợp chất kháng khuẩn và giảm chi phí nuôi cấy ban đầu.

Kết quả nghiên cứu không chỉ góp phần làm rõ tiềm năng sinh học của *Xylaria feejeensis* nội sinh trên cây Mã đề, mà còn cung cấp dữ liệu ban đầu cho tối ưu hóa môi trường nuôi cấy và định hướng khai thác hợp chất kháng khuẩn tự nhiên. Việc tiếp tục tách chiết, tinh sạch và xác định cấu trúc hóa học của hoạt chất sẽ giúp định danh cụ thể các phân tử chịu trách nhiệm cho hoạt tính này.

Nguồn tài trợ

Nghiên cứu không nhận nguồn tài trợ.

Xung đột lợi ích

Không có xung đột lợi ích nào liên quan đến nghiên cứu này.

ORCID

Nguyễn Vũ Giang Bắc

<https://orcid.org/0000-0003-4510-2660>

Đỗ Mai Xuân Diệu

<https://orcid.org/0009-0007-5328-2514>

Đóng góp của các tác giả

Ý tưởng nghiên cứu: Nguyễn Vũ Giang Bắc.

Đề cương và phương pháp nghiên cứu: Nguyễn Vũ Giang Bắc.

Thu thập dữ liệu: Đỗ Mai Xuân Diệu.

Giám sát nghiên cứu: Nguyễn Vũ Giang Bắc.

Nhập dữ liệu: Đỗ Mai Xuân Diệu.

Quản lý dữ liệu: Đỗ Mai Xuân Diệu.

Phân tích dữ liệu: Đỗ Mai Xuân Diệu.

Viết bản thảo đầu tiên: Nguyễn Vũ Giang Bắc.

Góp ý bản thảo và đồng ý cho đăng bài: Nguyễn Vũ Giang Bắc, Đỗ Mai Xuân Diệu.

Cung cấp dữ liệu và thông tin nghiên cứu

Tác giả liên hệ sẽ cung cấp dữ liệu nếu có yêu cầu từ Ban biên tập.

Chấp thuận của Hội đồng Đạo đức

Nghiên cứu này miễn trừ Hội đồng Đạo đức.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Turner NA, Sharma-Kuinkel BK, Maskarinec SA, Eichenberger EM, Shah PP, Carugati M, Holland TL, Fowler VG Jr. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. *Nat Rev Microbiol.* 2019;17(4):203-218. Doi:10.1038/s41579-018-0147-4.
2. World Health Organization. Antimicrobial resistance. 2023. [cited 2025 Dec 16]. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>.

3. Hashem AH, Attia MS, Kandil EK, Fawzi MM, Abdelrahman AS, Khader MS, Khodaira MA, Emam AE, Goma MA, Abdelaziz AM. Bioactive compounds and biomedical applications of endophytic fungi: a recent review. *Microb Cell Fact*. 2023;22(1):107. Doi: 10.1186/s12934-023-02118-x.
4. Jha P, Kaur T, Chhabra I, Panja A, Paul S, Kumar V, Malik T. Endophytic fungi: hidden treasure chest of antimicrobial metabolites interrelationship of endophytes and metabolites. *Front Microbiol*. 2023;14:1227830. doi:10.3389/fmicb.2023.1227830.
5. Ancheeva E, Daletos G, Proksch P. Bioactive secondary metabolites from endophytic fungi. *Curr Med Chem*. 2020;27(11):1836-1854.
6. Gakuubi MM, Munusamy M, Liang Z-X, Ng SB. Fungal endophytes: a promising frontier for discovery of novel bioactive compounds. *J Fungi*. 2021;7(10):786. Doi:10.3390/jof7100786.
7. Zhakipbekov K, Turgumbayeva A, Issayeva R, Kipchakbayeva A, Kadyrbayeva G, Tleubayeva M, et al. Antimicrobial and other biomedical properties of extracts from *Plantago major*, Plantaginaceae. *Pharmaceuticals*. 2023;16(8):1092. doi:10.3390/ph16081092.
8. Chandra H, Sinha M, Mohan R. Fungal endophytes from medicinal plants acting as natural therapeutic reservoir. *The Microbe*. 2024;3(10073):1-11. Doi: 10.1016/j.microb.2024.100073.
9. Zhang YJ, Zhang S, Liu XZ, Wen HA, Wang M. A simple method of genomic DNA extraction suitable for analysis of bulk fungal strains. *Letters in Applied Microbiology*. 2010;51:114-118.
10. Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda SK. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: a review. *J Pharm Anal*. 2016;6(2):71-79.
11. Macías-Rubalcava ML, Sánchez-Fernández RE. Secondary metabolites of endophytic *Xylaria* species with potential applications in medicine and agriculture. *World J Microbiol Biotechnol*. 2017;33(1):15. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2174-5>.
12. Palanichamy P, Krishnamoorthy G, Kannan S, Marudhamuthu M, Bioactive potential of secondary metabolites derived from medicinal plant endophytes, *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2018;5(4):303-312.
13. Fasoyin OE, Wang B, Qiu M, Han X, Chung KR, Wang S. Carbon catabolite repression gene *creA* regulates morphology, aflatoxin biosynthesis and virulence in *Aspergillus flavus*. *Fungal Genet Biol*. 2018;115:41-51. Doi: 10.1016/j.fgb.2018.04.008.
14. Ruiz-Villafán B, Cruz-Bautista R, Manzo-Ruiz M, Passari AK, Villarreal-Gómez K, Rodríguez-Sanoja R, Sánchez S. Carbon catabolite regulation of secondary metabolite formation, an old but not well-established regulatory system. *Microb Biotechnol*. 2022;15(4):1058-1072. Doi: 10.1111/1751-7915.13791.
15. Han H, Zhang Y, Wang S, Liu X, Chen Y, Li Z, et al. High-efficient production of mushroom polyketide orsellinic acid and o-orsellinaldehyde using *Aspergillus oryzae* heterologous expression system. *Microb Cell Fact*. 2023;22(1):210. Doi: 10.1186/s12934-023-02071-9.
16. Hewage RT, Aree T, Mahidol C, Ruchirawat S, Kittakoop P. One strain-many compounds (OSMAC) approach for production of polyketides and azaphilones from an endophytic fungus. *Phytochemistry*. 2014;108:87-94.
17. Becker K, Stadler M. Recent progress in biodiversity research on the Xylariales and their secondary metabolism. *J Antibiot*. 2021;74:1-23.
18. Marzluf GA. Regulation of nitrogen metabolism and gene expression in fungi. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1997;61(1):17-32.
19. Boruta T. Uncovering secondary metabolites from microbial sources: strategies and challenges. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2018;102:7927-7938. Doi: 10.1007/s00253-018-9225-3.
20. Kaiser D, Onken U, Sattler I, Zeeck A. Influence of increased dissolved oxygen concentration on the formation of secondary metabolites by manumycin-producing *Streptomyces parvulus*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 1994;41(3):309-12. Doi: 10.1007/BF00221224. PMID: 7764965.