

Khảo sát một số đặc tính sinh học của chủng xạ khuẩn biển có khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh

Trần Thị Trinh¹, Trần Thị Huế², Chu Đức Hà³,
Phạm Phương Thu⁴, Nguyễn Văn Giang^{1*}

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

²Viện Thổ nhưỡng Nông hóa, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

³Viện Di truyền Nông nghiệp, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

⁴Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2

Ngày nhận bài 8/5/2018; ngày chuyển phản biện 11/5/2018; ngày nhận phản biện 18/6/2018; ngày chấp nhận đăng 22/6/2018

Tóm tắt:

Nghiên cứu được tiến hành với mục tiêu phân lập và chọn chủng xạ khuẩn biển có khả năng đối kháng với một số vi khuẩn gây bệnh. Từ các mẫu nước biển và trầm tích biển tại Hải Phòng, Thanh Hóa, Nghệ An, 35 mẫu xạ khuẩn biển đã được phân lập thành công. 16 chủng xạ khuẩn biển đã được xác định có hoạt tính kháng khuẩn *Staphylococcus aureus* ATCC 12222, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 25923. Trong đó, chủng TH7 có khả năng ức chế mạnh nhất. Khuẩn lạc của TH7 tròn, khô, có các hạt nhỏ ở tâm, xù xì, màu xám trắng, khuẩn ty cơ chất màu nâu, trong khi khuẩn ty khí sinh dạng thẳng, phân nhánh, không phân đốt, có xoắn tròn và xoắn móc câu ở đầu. Chủng TH7 biểu hiện hoạt tính enzyme cellulase, amylase và protease, đồng hóa tốt nhiều nguồn C khác nhau và chịu nồng độ muối tới 7%, sinh trưởng tốt tại pH 5-9. Đây được xem là nguồn giống có tiềm năng trong nghiên cứu sản xuất các chất kháng khuẩn và các enzyme ngoại bào.

Từ khóa: enzyme, hoạt tính kháng khuẩn, khả năng chịu muối, xạ khuẩn biển.

Chỉ số phân loại: 1.6

Đặt vấn đề

Hiện nay ở Việt Nam cũng như trên thế giới, tỷ lệ người mắc bệnh truyền nhiễm do tác nhân vi sinh vật gây ra hay các bệnh nguy hiểm ngày càng gia tăng [1]. Sử dụng các chất kháng sinh không hợp lý được khuyến cáo có thể làm nảy sinh hiện tượng kháng kháng sinh, dẫn đến việc điều trị bằng thuốc kháng sinh không mang lại hiệu quả như mong muốn. Vì vậy, nghiên cứu tìm kiếm thuốc kháng sinh mới, đặc biệt là các được chất có nguồn gốc từ vi sinh vật luôn thu hút sự quan tâm hiện nay. Trong đó, các loài thuộc chi *Streptomyces* spp được biết đến như những đối tượng có khả năng sinh tổng hợp chất kháng sinh có hoạt phổ kháng khuẩn rộng [2].

Gần đây, phân tích chất kháng sinh mới từ xạ khuẩn có nguồn gốc từ đất ngày càng trở nên hiếm và khó khăn. Phân lập *Streptomyces* spp từ nước biển và các lớp trầm tích biển được quan tâm nhiều hơn cả, bởi lẽ đại dương bao phủ khoảng 70% diện tích trái đất và chứa một tiềm năng đa dạng sinh học rất phong phú [3, 4]. Đặc biệt, rất nhiều hợp chất trao đổi thứ cấp có hoạt tính sinh học quý, như polyketide, macrolide, indole, aminoglycoside và terpene đã được ghi nhận từ các chủng xạ khuẩn này [5]. Tại Việt

Nam, ứng dụng vi sinh vật trong những năm gần đây tập trung vào việc sử dụng các chế phẩm vi sinh trong nông nghiệp, cải thiện môi trường và y tế. Tuy nhiên, những ghi nhận về vai trò của xạ khuẩn còn rất ít. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành khảo sát một số đặc tính sinh học của chủng xạ khuẩn biển mới phân lập có khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu

Mẫu nước biển và trầm tích biển được thu thập tại khu vực bờ biển Thanh Hóa, Nghệ An, Hải Phòng.

Ba chủng vi sinh vật kiểm định: *Staphylococcus aureus* ATCC 12222 gây bệnh tụ cầu, *Escherichia coli* ATCC 25922 gây bệnh tiêu chảy và *Bacillus cereus* ATCC 25923 gây ngộ độc thực phẩm được cung cấp từ Bộ môn Công nghệ vi sinh, Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

Phương pháp nghiên cứu

Các chủng xạ khuẩn biển được phân lập theo phương pháp của Lê Thị Hiền [4], Mohseni và cs [6]. Mẫu nước biển pha loãng với nước cất đến 10^{-6} được cấy trải trên đĩa

*Tác giả liên hệ: Email: nvgiang@vnua.edu.vn

Characterisation of marine-derived *Streptomyces* spp against pathogenic bacteria

Thi Trinh Tran¹, Thi Hue Tran², Duc Ha Chu³,
Phuong Thu Pham⁴, Van Giang Nguyen^{1*}

¹Faculty of Biotechnology, Vietnam National University of Agriculture

²Soils and Fertilizers Research Institute, Vietnam Academy of Agricultural Sciences

³Agricultural Genetics Institute, Vietnam Academy of Agricultural Sciences

⁴Hanoi Pedagogical University 2

Received 8 May 2018; accepted 22 June 2018

Abstract:

The aim of this study was to isolate and evaluate marine *Streptomyces* strains with an antibacterial activity against some pathogenic bacteria. From marine water and sediment samples collected from Hai Phong, Thanh Hoa, and Nghe An provinces, 35 *Streptomyces* strains were successfully isolated. Sixteen strains showed the antagonistic ability against *Staphylococcus aureus* ATCC 12222, *Escherichia coli* ATCC 25922, and *Bacillus cereus* ATCC 25923. Among them, 'TH7' strain had the highest antagonistic level. Morphological observation indicated that the colony of 'TH7' strain is round, dried, grey-white color with small particles in the center; substrate mycelia are brown; and aerial mycelia are linear, branched, but non-segmented with a cicullar hook at the top of mycelium. This strain has the ability to produce extracellular enzymes as cellulase, amylase and protease, the salt tolerance up to 7%, and the good growth on the medium with different C resources and pH 5-9. In brief, this *Streptomyces* strain has the potential to produce not only extracellular enzymes but also antibacterial substances.

Keywords: antibacterial activity, enzyme, marine *Streptomyces*, salt tolerance.

Classification number: 1.6

petri chứa môi trường Starch Casein Agar (SCA) có bổ sung 25 µg/ml nystatin và 10 µg/ml nalidixic acid. Khuẩn lạc được quan sát sau 4-7 ngày nuôi cấy ở 30°C.

Hình thái khuẩn lạc, hình dạng tế bào và các đặc tính cơ bản của chủng xạ khuẩn được quan sát dựa theo hướng dẫn của Tresner và cs (1963) [7]. Phân loại xạ khuẩn theo hệ thống phân loại vi sinh vật Bergey trên các môi trường International Streptomyces Project (ISP) [8]. Hoạt tính đối kháng của chủng xạ khuẩn nghiên cứu được tiến hành theo phương pháp của Dhanasekaran và cs (2012) [9]. Hoạt tính sinh enzyme ngoại bào được xác định theo Lekshmi và cs (2014) [10].

Khả năng đồng hóa nguồn C được xác định trên môi trường ISP-9 có bổ sung 1% *D*-glucose, *L*-arabinose, *D*-xylose, sorbitol, mannitol, dextrose, galactose, ribose, lactose, fructose và maltose. Khả năng chịu muối và pH được khảo sát trên môi trường ISP có bổ sung lần lượt NaCl từ 1 đến 15%, pH 1-13 dựa theo nghiên cứu của Lê Thị Hiền và cs (2014) [4].

Hoạt tính đối kháng vi khuẩn gây bệnh của các chủng xạ khuẩn biến được thực hiện theo phương pháp khuếch tán đĩa thạch được mô tả trong nghiên cứu của Dhanasekaran và cs (2012) [9]. Xạ khuẩn được nuôi cấy trong môi trường Gause ISP lỏng, lắc 200 vòng/phút ở 30°C. Dịch trong được thu tách từ sinh khối sau 7 ngày nuôi cấy bằng cách ly tâm với 10⁴ vòng/phút. Khả năng đối kháng được xác định định tính thông qua vòng sáng xuất hiện quanh giếng thạch (mm).

Kết quả và thảo luận

Kết quả phân lập xạ khuẩn tại vùng biển ở Việt Nam

Các mẫu nước biển và trầm tích biển thu thập tại Thanh Hóa, Hải Phòng và Nghệ An đã pha loãng được sử dụng để cấy trải trên đĩa thạch chứa môi trường SCA. Sau 4-7 ngày nuôi cấy, dựa vào đặc điểm hình thái khuẩn lạc, 35 chủng xạ khuẩn biến đã được phân lập thành công. Trong đó, 18 chủng xạ khuẩn được phân lập từ mẫu tại vùng biển Thanh Hóa, 10 chủng được tìm thấy từ mẫu tại Hải Phòng, trong khi 7 chủng đã được phát hiện từ mẫu tại Nghệ An (bảng 1). Tên của 35 chủng xạ khuẩn được ký hiệu đại diện cho từng vùng thu thập, TH1÷TH18 (Thanh Hóa), HP1÷HP10 (Hải Phòng) và NA1÷NA7 (Nghệ An). Các chủng xạ khuẩn tiếp tục được cấy truyền trên môi trường SCA để phân tích những thí nghiệm tiếp theo.

Căn cứ màu sắc khuẩn ty khí sinh, 35 chủng xạ khuẩn được chia thành 4 nhóm chính với số lượng và tỷ lệ khác nhau (bảng 1). Cụ thể, 14 chủng xạ khuẩn có khuẩn lạc màu trắng, chiếm tỷ lệ 40%. Nhóm xạ khuẩn màu xám và nâu lần lượt chiếm tỷ lệ 28,5% (10 chủng) và 22,9% (8 chủng). 3 chủng xạ khuẩn có khuẩn lạc màu vàng đã được quan

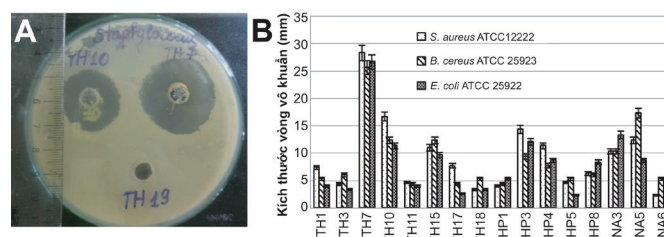
Bảng 1. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc của 35 chủng xạ khuẩn biển.

TT	Ký hiệu	Hình thái khuẩn lạc	Mặt sau khuẩn lạc	Sắc tố
1	TH1	Màu nâu, bề mặt xù xì	Màu nâu vàng	-
2	TH2	Màu trắng, viền màu vàng	Màu vàng	-
3	TH3	Màu trắng, bề mặt dạng vôi	Màu vàng	Vàng
4	TH4	Màu trắng, bề mặt trơn	Màu xám	-
5	TH5	Màu trắng, bề mặt xù xì	Màu trắng	-
6	TH6	Màu nâu, bề mặt có hạt	Màu nâu, viền trắng	-
7	TH7	Màu xám trắng, xù xì	Màu nâu	Nâu
8	TH8	Màu trắng, bề mặt dạng nhung	Màu trắng	-
9	TH9	Màu nâu đen, tâm xạ khuẩn nhỏ cao	Màu nâu	Nâu
10	TH10	Màu trắng, bề mặt xù xì	Màu vàng	-
11	TH11	Màu nâu đen, tâm xạ khuẩn hơi lõm	Màu nâu	Nâu
12	TH12	Màu trắng, bề mặt nhẵn	Màu trắng	-
13	TH13	Màu vàng, bề mặt xù xì	Màu vàng nhạt	-
14	TH14	Màu trắng, viền phóng xạ	Màu trắng	-
15	TH15	Màu nâu, viền trắng	Màu nâu	-
16	TH16	Màu nâu nhạt, bề mặt xù xì, viền vàng	Màu vàng	-
17	TH17	Màu nâu vàng	Màu nâu	-
18	TH18	Màu xám, bề mặt xù xì	Màu nâu	-
19	HP1	Màu xám nâu, bề mặt xù xì	Màu xám	-
20	HP2	Màu xám, viền trắng	Màu xám	-
21	HP3	Màu trắng, bề mặt trơn, tâm lõm	Màu trắng	-
22	HP4	Màu xám đen, bề mặt dạng vôi	Màu xám	-
23	HP5	Màu nâu, viền xám	Màu nâu	Nâu
24	HP6	Màu vàng, viền nâu	Màu vàng nhạt	-
25	HP7	Màu trắng, bề mặt xù xì	Màu trắng	-
26	HP8	Màu xám, tâm nâu	Màu xám	-
27	HP9	Màu trắng, viền phóng xạ, tâm nhỏ cao	Màu hơi vàng	-
28	HP10	Màu trắng, bề mặt nhung, tâm nhỏ cao	Màu trắng	-
29	NA1	Màu xám đen, viền trắng	Màu nâu	Vàng
30	NA2	Màu trắng, tâm xạ khuẩn lõm	Màu xám	-
31	NA3	Màu trắng, dạng vôi, viền phóng xạ	Màu nâu	Nâu
32	NA4	Màu xám, viền trắng	Màu xám	-
33	NA5	Màu xám, bề mặt trơn nhẵn	Màu nâu đỏ	Nâu đỏ
34	NA6	Màu xám, có các hạt nhỏ trên bề mặt	Màu xám trắng	-
35	NA7	Màu vàng nhạt, viền trắng	Màu trắng	-

sát, chiếm tỷ lệ 8,6%. Trước đó, Attimarad và cs (2012) đã phân lập thành công 17 chủng xạ khuẩn, hầu hết là nhóm có khuẩn lạc màu trắng và màu nâu, tại các khu vực vùng ven biển Gokharna và Muradeshwara (Ấn Độ) [11]. Nguyễn Văn Hiếu và cs (2013) cũng đã phân lập được chủng *Streptomyces* tại vùng biển Hạ Long, Quảng Ninh với màu sắc khuẩn ty khí sinh tương tự như trong nghiên cứu này [12]. Những kết quả đã cho thấy các chủng xạ khuẩn phân bố ở vùng biển rất đa dạng, điều này được giải thích do sự biến thiên liên tục về điều kiện môi trường trong nước biển và các lớp trầm tích biển.

Kết quả sàng lọc chủng xạ khuẩn biển có khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh

35 chủng xạ khuẩn biển đã được đánh giá khả năng đối kháng với 3 chủng vi khuẩn gây bệnh thường gặp ở động vật, *S. aureus* ATCC 12222, *E. coli* ATCC 25922, *B. cereus* ATCC 25923 bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch (hình 1). Dựa vào kích thước vòng vô khuẩn cho thấy, 16 chủng xạ khuẩn, gồm 8 chủng tại Thanh Hóa, 5 chủng tại Hải Phòng và 3 chủng tại Nghệ An có hoạt tính kháng khuẩn với các mức độ khác nhau (hình 1B). Đáng chú ý, chủng TH7, với khuẩn lạc khí sinh màu xám trắng đã thể hiện khả năng đối kháng mạnh nhất (hình 1A). Do đó, chủng TH7 được lựa chọn để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

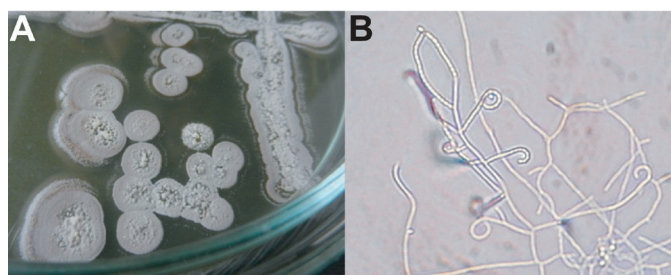


Hình 1. Hoạt tính kháng khuẩn của 16 chủng xạ khuẩn biển. (A) Khả năng đối kháng của chủng xạ khuẩn TH7 và TH10 với *S. aureus* ATCC 12222; (B) Khả năng kháng khuẩn của 16 chủng xạ khuẩn biển thể hiện bằng kích thước vòng vô khuẩn (mm).

Phạm Thu Trang và cs (2014) đã báo cáo về hoạt tính kháng khuẩn của chủng *S. albogriseolus* VD111 với 6 vi sinh vật gây bệnh điển hình. Trong đó, kích thước vòng vô khuẩn của *S. albogriseolus* VD111 với các vi sinh vật gây bệnh này dao động từ $16,8 \pm 0,1$ đến $19,5 \pm 0,1$ (mm) [13]. Trước đó, chủng xạ khuẩn HLD3.16 phân lập tại Quảng Ninh cũng cho kết quả kháng mạnh 4 chủng vi sinh vật gây bệnh, bao gồm *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 15224, *Sarcina lutea* M5 và *Aspergillus niger* 114 với đường kính vòng vô khuẩn đạt $10,2 \div 17,5$ (mm) [12]. Chủng TH7 phân lập được trong nghiên cứu này có hoạt tính kháng khuẩn rất mạnh, đường kính vòng vô khuẩn đều lớn hơn 25 mm. Đây được xem là một nguồn giống xạ khuẩn biển rất có ý nghĩa hướng tới sản xuất thuốc trong tương lai.

Kết quả phân tích đặc điểm sinh học của chủng xạ khuẩn TH7

Phân tích hình thái cho thấy, chủng TH7 có khuẩn lạc tròn, khô, có các hạt nhỏ ở tâm, xù xì, màu xám trắng (hình 2A). Khuẩn ty cơ chất có màu nâu, khuẩn ty khí sinh dạng thẳng, phân nhánh, không phân đốt, có xoắn tròn và xoắn móc câu ở đầu (hình 2B). Chủng TH7 khi nuôi cấy trên các môi trường Gause I và ISP7, khuẩn ty khí sinh và khuẩn ty cơ chất đều có màu trắng xám sau 21 ngày, trong khi đó trên môi trường Gause II, ISP1 và ISP5 khuẩn ty khí sinh và khuẩn ty cơ chất của chủng TH7 đều có màu vàng sau 7, 14 và 21 ngày nuôi cấy. Trên môi trường ISP2, ISP3 và ISP4 sau 7, 14 và 21 ngày nuôi cấy, chủng TH7 đều có khuẩn lạc màu xám trắng và khuẩn ty cơ chất màu nâu hoặc đen (bảng 2).

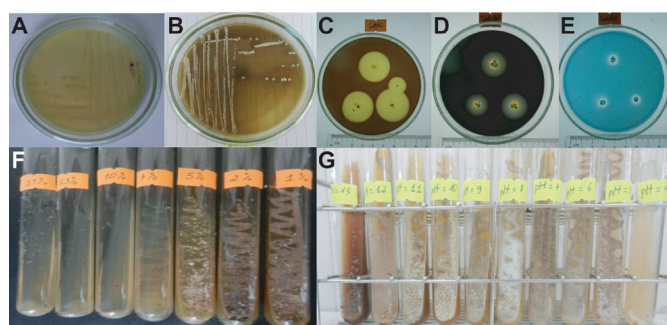


Hình 2. Hình thái khuẩn lạc và hệ sợi khí sinh của chủng TH7. (A) Hình thái khuẩn lạc; (B) Hệ sợi khí sinh.

Bảng 2. Đặc điểm nuôi cấy của chủng TH7 trên các môi trường Gause và ISP.

Môi trường	Sau 7 ngày		Sau 14 ngày		Sau 21 ngày	
	Màu KTKS	Màu KTCC	Màu KTKS	Màu KTCC	Màu KTKS	Màu KTCC
Gause I	Trắng xám	Trắng xám	Trắng xám	Trắng xám	Trắng xám	Trắng xám
Gause II	Vàng	Vàng	Vàng	Vàng	Vàng	Vàng
ISP1	Vàng	Vàng	Vàng	Vàng	Vàng	Vàng
ISP2	Xám trắng	Nâu	Xám trắng	Nâu	Xám trắng	Nâu
ISP3	Xám trắng	Nâu	Xám trắng	Nâu	Xám trắng	Nâu
ISP4	Xám trắng	Đen	Xám	Đen	Xám	Đen
ISP5	Vàng	Vàng	Vàng	Vàng	Vàng	Vàng
ISP6	Vàng	Vàng	Xám trắng	Nâu	Xám trắng	Nâu
ISP7	Trắng xám	Trắng xám	Trắng xám	Trắng xám	Trắng xám	Trắng xám

Chú thích: KTKS: Khuẩn ty khí sinh; KTCC: Khuẩn ty cơ chất.



Hình 3. Khảo sát một số đặc tính của chủng xạ khuẩn TH7.

Bên cạnh đó, nuôi cấy chủng TH7 trên môi trường ISP-6 đã ghi nhận hiện tượng chuyển màu môi trường từ vàng nhạt sang nâu đậm (hình 3A, 3B), chứng tỏ chủng TH7 có khả năng tổng hợp sắc tố melanin và giải phóng ra môi trường xung quanh. Đây được xem là một đặc tính quý của chủng TH7 do melanin được biết đến như một hợp chất có tính chống oxy hóa cao và có thể giúp tế bào chống lại ảnh hưởng tia cực tím [14]. Mặt khác, kiểm tra sự có mặt của enzyme cellulase, protease và amylase đã cho thấy chủng TH7 đều tổng hợp được cả 3 loại enzyme trên, rõ rệt nhất là hoạt tính của cellulase (hình 3C, 3D, 3E).

Khảo sát khả năng sinh trưởng của chủng TH7 trên môi trường ISP-9 bổ sung nguồn C khác nhau cho thấy, chủng TH7 có khả năng đồng hóa được đường maltose, galactose, mannitol, cellobiose, nhưng không thể hấp thụ được *L*-arabinose và sorbitol. So sánh với một số nghiên cứu trước đây cho thấy, các chủng xạ khuẩn phân lập ở vùng biển Việt Nam đều có khả năng phân giải hầu hết các loại đường khác nhau. Cụ thể, chủng *S. albogriseolus* VD111 đều phân giải được các loại đường phổ thông, không đồng hóa được raffinose [13].

Chủng TH7 được phân lập từ khu vực biển nên khả năng chịu muối và pH được xem là một đặc tính quan trọng trong nghiên cứu này. Để đánh giá mức độ chịu mặn, chủng TH7 được nuôi cấy trên môi trường ISP-2 ở dải nồng độ NaCl 1÷15% và pH 1÷13. Sau 7 ngày nuôi cấy, chủng TH7 có khả năng chịu mặn với nồng độ NaCl lên đến 7% (hình 3F), thuộc nhóm chịu mặn trung bình. Lê Thị Hiền và cs (2014) [4] đã tuyển chọn được chủng xạ khuẩn chịu muối tới 7%. Điều này có thể được giải thích do khu vực thu thập mẫu nước và trầm tích thuộc vùng nước nông, độ mặn không cao. Chủng TH7 có khả năng sinh trưởng tốt ở phổ pH rộng, từ 5 đến 9 (hình 3G).

Kết luận

16 chủng trong 35 chủng xạ khuẩn phân lập từ mẫu nước biển và trầm tích biển thu tại Nghệ An, Hải Phòng và Thanh Hóa có khả năng ức chế sinh trưởng của 3 loại vi khuẩn gây bệnh: *S. aureus* ATCC 12222, *E. coli* ATCC 25922, *B.*

cereus ATCC 25923. Trong đó, chủng xạ khuẩn TH7 có khả năng ức chế mạnh nhất, đường kính vòng vô khuẩn lớn hơn 25 mm. Chủng TH7 có khuẩn lạc tròn, khô, có các hạt nhỏ ở tâm, xù xì, màu xám trắng, khuẩn ty cơ chất có màu nâu, khuẩn ty khí sinh dạng thẳng, phân nhánh, không phân đốt, có xoắn tròn và xoắn móc câu ở đầu, sử dụng tốt các nguồn đường: maltose, galactose, mannitol, cellobiose và không có khả năng đồng hóa *L-arabinose* và sorbitol, sinh sắc tố melanin, sinh enzyme cellulose, amylase và protease, có thể sinh trưởng tại pH từ 5 đến 9 và nồng độ muối tới 7% và có tiềm năng sử dụng trong phòng bệnh do vi khuẩn gây ra.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] J. Beardsley, et al. (2015), "Estimating the burden of fungal disease in Vietnam", *Mycoses*, **58**(5), pp.101-106.
- [2] R.E. De Lima Procopio, et al. (2012), "Antibiotics produced by *Streptomyces*", *Braz. J. Infect. Dis.*, **16**(5), pp.466-471.
- [3] D.S. Dalisay, et al. (2013), "Marine sediment-derived *Streptomyces* bacteria from British Columbia, Canada are a promising microbiota resource for the discovery of antimicrobial natural products", *PLOS ONE*, **8**(10), pp.e77078.
- [4] Lê Thị Hiền, Đinh Văn Lợi, Vũ Thị Vân, Nguyễn Văn Giang (2014), "Phân lập và tuyển chọn các chủng xạ khuẩn (*Streptomyces* spp) đối kháng nấm bệnh cây", *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, **12**(5), tr.656-664.
- [5] J.W. Blunt, et al. (2012), "Marine natural products", *Nat. Prod. Rep.*, **29**(2), pp.144-222.
- [6] M. Mohseni, et al. (2013), "Screening of antibacterial producing actinomycetes from sediments of the caspian sea", *Int. J. Mol. Cell. Med.*, **2**(2), pp.64-71.
- [7] H.D. Tresner, E.J. Backus (1963), "System of color wheels for *Streptomyces* taxonomy", *Appl. Microbiol.*, **11**(4), pp.335-338.
- [8] D.H. Bergey, et al. (2012), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Springer.
- [9] D. Dhanasekaran, et al. (2012), "Applications of actinobacterial fungicides in agriculture and medicine", *Fungicides Plant Animal Dis.*, pp.1-27.
- [10] M. Lekshmi, et al. (2014), "Isolation and screening of actinomycetes from marine samples for enzyme production", *Inter. J. Sci. Engineer. Res.*, **5**(12), pp.199-204.
- [11] S.L. Attimarad, et al. (2012), "Screening, isolation and purification of antibacterial agents from marine actinomycetes", *Int. Cur. Pharm. J.*, **1**(12), pp.394-402.
- [12] Nguyễn Văn Hiếu, Nguyễn Phương Nhuệ, Vũ Thị Hạnh Nguyên, Phan Thị Hồng Thảo, Phạm Thanh Huyền, Phí Quyết Tiến, Lê Gia Hy (2013), "Nghiên cứu chủng xạ khuẩn HLD 3.16 có hoạt tính kháng khuẩn phân lập từ vùng ven bờ biển Việt Nam", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, **51**(1), tr.29-41.
- [13] Phạm Thu Trang, Lê Gia Hy, Phí Quyết Tiến, Hồ Tuyên, Nguyễn Văn Giang, Nguyễn Phương Nhuệ (2014), "Đặc điểm sinh học của chủng xạ khuẩn biển VD111 sinh chất kháng khuẩn", *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, **12**(8), tr.1258-1265.
- [14] D.J. Newman, G.M. Cragg (2016), "Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014", *J. Nat. Prod.*, **79**(3), pp.629-661.