

# Phân lập, định danh và khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết sinh khối nấm thuộc chi *Pycnoporus*

Trương Nguyễn Thuận Thiên, Ngô Nguyên Vũ\*

Viện Kỹ thuật Công nghệ cao NTT, Đại học Nguyễn Tất Thành.

\*nvvu@ntt.edu.vn

## Tóm tắt

Các loài nấm thuộc chi *Pycnoporus* đã được nhiều nghiên cứu chứng minh có thể ức chế được nhiều loại vi khuẩn gây bệnh khác nhau, tuy nhiên đến nay chưa có nghiên cứu đi sâu khai thác các hợp chất kháng khuẩn của các loài nấm này tại Việt Nam. Nghiên cứu này đã chọn lọc và phân lập một chủng nấm thuộc chi *Pycnoporus* tại Việt Nam. Kết quả định danh cho thấy chủng nấm thu thập được thuộc loài *Pycnoporus sanguineus*, đồng thời chủng nấm này cũng đã được nuôi cấy trên cơ chất rắn bao gồm mùn cưa và thóc trong điều kiện phòng thí nghiệm để thu phần sinh khối. Sinh khối nấm được chiết xuất bằng methanol để lấy cao tổng và kiểm tra hoạt tính kháng khuẩn bằng phương pháp đĩa giấy kháng sinh, kết quả cho thấy 150 mg cao chiết tiêu diệt được 6 chủng vi khuẩn gây bệnh bao gồm *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* và *Vibrio parahaemolyticus*. Kết quả nghiên cứu tạo tiền đề để có thể đi sâu nghiên cứu về các chế phẩm hoạt tính kháng khuẩn của các loài nấm này trong tương lai.

Nhận 05.10.2020

Được duyệt 15.10.2020

Công bố 30.10.2020

## Từ khóa

hoạt tính kháng khuẩn, *Pycnoporus sanguineus*, kháng sinh, nấm

© 2020 Journal of Science and Technology - NTTU

## 1 Mở đầu

Các loài nấm hoại gỗ từ ngành Basidiomycota vốn được biết đến với khả năng tổng hợp các loại hợp chất có hoạt tính sinh học cao, tiêu biểu là hoạt tính chống vi rút, kháng khuẩn, chống oxi hóa và chống ung thư. Trong đó Chi *Pycnoporus* là một chi nấm thuộc họ Polyporaceae, ngành Ascomycota, và thuộc nhóm nấm mục gỗ trắng (white rot fungi) cũng được biết đến với khả năng tổng hợp các chất có hoạt tính sinh học đáng lưu ý [1]. Các loài nấm thuộc chi *Pycnoporus* có thể được tìm thấy trên thân cây gỗ hoặc các phần gỗ mục tại các khu vực nhiệt đới ẩm ở nhiều nơi trên toàn thế giới, phổ biến nhất là các loài *Pycnoporus sanguineus* và *Pycnoporus cinnabarinus* [2]. Các loài nấm này, bao gồm các loài *Pycnoporus cinnabarinus*, *Pycnoporus coccineus* và *Pycnoporus sanguineus*, có thể tự tổng hợp sắc tố màu đỏ tươi, đỏ thẫm hoặc đỏ cam trong quá trình sinh trưởng, và màu đỏ cam được coi là đặc điểm đặc trưng của từng loài thuộc chi này [1]. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh sắc tố đỏ của các loài nấm *Pycnoporus* có thành phần chính bao gồm các hợp chất cinnabarin, cinnabarinic acid và tramesanguin, các hợp chất này thể hiện hoạt tính chống oxi hóa, khả năng tẩy gốc tự do, kháng nấm, kháng ung thư, tính điều hòa miễn dịch, kháng

khẩn, và hoạt tính chống viêm [1]. Hoạt tính kháng khuẩn của các loài nấm *Pycnoporus* đã được nhiều nghiên cứu tiến hành tìm hiểu với khả năng ức chế được nhiều loại vi khuẩn gây bệnh khác nhau, tiêu biểu là vi khuẩn thuộc nhóm cầu khuẩn gram dương và liên cầu khuẩn *Streptococcus* [2]. Tuy nhiên cho đến nay vẫn chưa có nghiên cứu nào thật sự đi sâu vào khai thác khả năng sản xuất hợp chất kháng sinh của các loài nấm này, cũng như chưa có đánh giá cụ thể về tiềm năng kháng khuẩn của chúng tại Việt Nam. Việc đánh giá tiềm năng kháng khuẩn và khả năng phát triển của các loài nấm thuộc chi *Pycnoporus* trong điều kiện nuôi cấy nhân tạo có thể tạo tiền đề phát triển các loại kháng sinh mới sản xuất từ loài nấm này trong tương lai.

## 2 Vật liệu và phương pháp

### 2.1 Vật liệu:

Các chủng vi khuẩn sử dụng trong nghiên cứu được mua từ bộ sưu tập vi khuẩn sử dụng trong nghiên cứu được mua từ bộ sưu tập vi khuẩn American Type Culture Collection ATCC, bao gồm 3 loài vi khuẩn gram dương (*Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 và *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615) và 3 chủng vi khuẩn gram âm (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027,



*Escherichia coli* ATCC 25922 và *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802).

Các loại môi trường Czapez, môi trường thạch Potato dextrose agar (PDA), môi trường Sabouraud, môi trường Tryptic soy agar (TSA), cao nấm men và glucose được cung cấp bởi Công ty Himedia, Ấn Độ.

## 2.2 Phân lập mẫu nấm

Các quả nấm hình tai màu đỏ tươi hoặc đỏ thẫm được thu thập trong thời điểm từ tháng 6 đến tháng 9 (thời điểm có lượng mưa nhiều) từ các thân cây mục tại khu vực Thủ Đức, Bình Dương và Đồng Nai. Các tai nấm sau khi thu thập được bảo quản trong điều kiện khô thoáng cho đến khi được đưa về phòng thí nghiệm thuộc Viện Kỹ thuật Công nghệ cao, Đại học Nguyễn Tất Thành để tiến hành phân lập, định danh và lưu trữ giống. Mẫu tai nấm tươi được ghi nhận và chụp ảnh hình thái, màu sắc và kích thước trong vòng 1 ngày kể từ thời điểm được thu thập trên thân cây gỗ. Hình thái bào tử của mẫu nấm được quan sát và ghi nhận bằng kính hiển vi quang học ở độ phóng đại 40x. Sau khi xác định hình thái mẫu nấm trùng khớp với các mô tả [3], mẫu nấm được phân lập dòng thuần theo phương pháp cấy truyền tơ nấm. Các tai nấm khi mang về phòng thí nghiệm được lau sơ bằng khăn giấy thấm nước cất cho sạch bột đất cát và các bào tử mốc trên bề mặt. Một phần mô nấm kích thước khoảng 1 x 1 mm được cắt trực tiếp từ tai nấm, sau đó được rửa bằng dung dịch ethanol 70% trong 5 giây, dung dịch canxi hypoclorit 5% trong 5 giây và rửa lại nhiều lần bằng nước cất trước khi được cấy trên bề mặt của một đĩa môi trường chọn lọc để phát triển sợi tơ nấm. Các đĩa cấy mô nấm được ủ ở nhiệt độ phòng (25°C - 26°C) trong 3 ngày cho đến khi sợi nấm bắt đầu phát triển từ phần mô nấm được cấy. Các sợi nấm được quan sát mỗi 24 giờ và được cấy chuyển nhiều lần qua các đĩa môi trường mới cho đến khi thu được thể sợi đồng nhất và thuần, không còn lẫn với mốc và vi khuẩn. Dòng tơ nấm sau khi đạt được độ thuần được gửi đi định danh bằng phương pháp sinh học phân tử và giải trình tự tại Công ty Macrogen, Hàn Quốc.

## 2.3 Khảo sát nhu cầu dinh dưỡng.

Để chọn ra thành phần dinh dưỡng phù hợp với nhu cầu chủng nấm, chủng được khảo sát tốc độ sinh trưởng trên môi trường Czapez, môi trường thạch Potato dextrose agar (PDA), môi trường PDA bổ sung 1% cao nấm men, môi trường Sabouraud, môi trường Tryptic soy agar (TSA), môi trường thạch glucose 2%. Chủng nấm được cấy lên các đĩa thạch tại cùng một thời điểm và được ủ ở 26°C. Mỗi 24 tiếng, chiều dài phát triển của tơ nấm trên mặt đĩa thạch được đo ở 3 chiều khác nhau và lấy chỉ số trung bình, lặp lại mỗi ngày trong suốt 7 ngày liên tục.

2.4 Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết sinh khối nấm trong dung môi hữu cơ

*Nuôi cấy và thu thập sinh khối nấm:* Cơ chất rắn được chuẩn bị để nuôi cấy nấm *Pycnoporus* sp. được chuẩn bị

bằng cách phối trộn hai loại nguyên liệu thông dụng để nuôi nấm thuộc nhóm nấm hoại gỗ là thóc và mùn cưa. Hạt thóc được ngâm nước 1 tiếng đồng hồ và giữ lại các hạt nguyên, loại bỏ các hạt lép hoặc các hạt có dấu hiệu bị mọt cắn. Mùn cưa được sàng lọc để loại bỏ các mảnh lớn và rác vụn, sau đó mang đi ngâm trong dung dịch nước pha CaCO<sub>3</sub> 2%. Sau 12 tiếng, mùn cưa được vắt ráo nước và phối trộn với thóc theo các tỉ lệ 1:1. Cơ chất sau phối trộn được bổ sung nước đến độ ẩm 60% và được mang đi hấp khử trùng 3 lần trước khi được cấy mẫu tơ nấm vào. Các bịch cơ chất được nuôi trong điều kiện độ ẩm không khí 80%, nhiệt độ 25°C trong 30 ngày cho đến khi tơ nấm phủ kín toàn bộ cơ chất. Các bịch cơ chất sau đó được đưa vào điều kiện chiếu sáng đều theo chu kỳ 12 giờ sáng 12 giờ tối cho đến các khối sinh khối có sắc tố đỏ được hình thành.

*Chiết xuất và tạo cao chiết tổng từ sinh khối nấm:* Cao chiết tơ nấm được sử dụng làm chất kháng khuẩn trong thí nghiệm này được chiết xuất từ phần tơ nấm trồng trên cơ chất rắn sử dụng dung môi methanol. Cụ thể, các cụm sinh khối nấm sau khi thu hoạch được nghiền trong chai chứa methanol với hạt thủy tinh cho đến khi sinh khối được nghiền nát hoàn toàn. Sau đó, dung môi methanol được cho thêm vào hỗn hợp cho đến khi đạt tỉ lệ 1 gram sợi nấm: 2 mL dung môi. Các bình đựng hỗn hợp nghiền nấm trong dung môi được đậy kín để ngăn không cho dung môi bay hơi và được giữ trong máy lắc liên tục. Sau 48 giờ, sợi nấm ngâm trong hỗn hợp được ép để tất cả dịch chiết ra khỏi sinh khối và thay bằng dung môi mới. Quy trình này được lặp lại 3 lần. Hỗn hợp ngâm sinh khối nấm sau đó được lọc bỏ cặn và được gia nhiệt trong máy cô quay ở 55°C để thu cao chiết. Phần cao chiết tơ nấm được hòa tan lại trong trong DMSO với nồng độ 50 mg/mL.

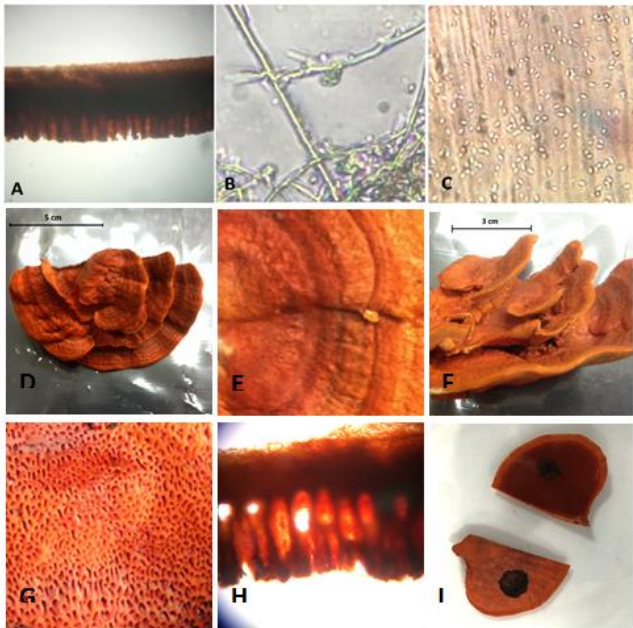
*Thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết nấm:* Quy trình kiểm tra hoạt tính kháng khuẩn bằng đĩa giấy kháng sinh được thực hiện tương tự quy trình chuẩn của EUCAST [4]. Các chủng vi khuẩn được pha loãng trong môi trường Mueller Hinton (Mueller Hinton Broth - MHB) đến nồng độ 10<sup>8</sup> CFU/mL. Dịch khuẩn sau khi đo OD với nồng độ tương đương 10<sup>8</sup> CFU/mL được cấy trải lên bề mặt đĩa petri có chứa môi trường MHA agar sao cho vi khuẩn được phết kín bề mặt thạch. Đĩa thạch chứa vi khuẩn được đặt lên các mảnh giấy tròn đường kính 6 mm đã tẩm 150 mg cao chiết nấm. Sau đó, các đĩa thạch được đặt vào tủ ẩm 37°C trong 24 giờ. Đối chứng âm là DMSO. Hoạt tính ức chế khuẩn được đánh giá bằng cách đo đường kính các vòng ức chế vi sinh vật. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần và lấy giá trị đường kính trung bình.

## 3 Kết quả và thảo luận

### 3.1 Hình thái và định danh mẫu nấm

Quả thể nấm chi *Pycnoporus* được chọn mang hình thái đẹp, hình dạng tổng quan gần như vỏ sò, không có cuống nấm, tai nấm mỏng ở viền và dày dần đến tới gốc, có thể

phẳng hoặc uốn lượn tùy vị trí phát sinh. Từ một gốc có thể mọc phát sinh nhiều tai nấm chen nhau. Mặt trên tai nấm xù xì và có phần hơi lồi lõm.



**Hình 1** Đặc điểm quả thể mẫu nấm *Pycnoporus* sp. thu thập được. A: Mặt cắt ngang quả thể. B: Hình thái tơ nấm dưới kính hiển vi quang học độ phóng đại 100x. C: Hình thái bào tử. D: Mặt trên quả thể. E: Vân nấm. F: Kích thước tai nấm. G: Mặt thụ tầng. H: Mặt cắt ngang quả thể cho thấy ống bào tử ở phần thụ tầng. I: Phản ứng hóa đen với 5% KOH.

Tai nấm có độ ẩm cao, khi tiếp xúc nhẹ bằng tay có thể thu được một lượng nhỏ dịch chứa sắc tố đỏ cam tiết ra từ tai nấm. Màu đỏ cam, thiên về màu đỏ. Tai nấm có vân màu đỏ, cam và màu trắng xen kẽ theo hình vòng cung dọc theo bề ngang. Kích thước tai nấm khoảng 2 x 3 cm, dày 1 – 3 mm đối với tai nhỏ và 4 x 7 cm, dày 2 - 8 mm đối với tai lớn. Phần thụ tầng có màu đỏ cam, sậm hơn mặt trên của tai nấm, chứa các lỗ bào tử đều nhau với kích thước 0,5 - 1 mm, phân bố từ phần trong

tới rìa tai nấm. Mặt cắt ngang quả nấm cho thấy tầng thụ tầng chứa các lỗ bào tử hình trụ dài khoảng 3 - 5 mm, chiếm khoảng 50% độ dày quả thể. Khi thử nghiệm sinh hóa bằng KOH 5%, giọt dung dịch KOH làm quả nấm hóa đen sau 3 giây tiếp xúc (Hình 1).

Phản ứng PCR khuếch đại vùng ITS của mẫu nấm bằng cặp mồi ITS1 và ITS4 tạo được sản phẩm có kích thước gần bằng 500 bps. Sản phẩm PCR được gửi đến Công ty Macrogen (Hàn Quốc) để tinh chế và giải trình tự. Trình tự được giải tại vùng ITS của chủng nấm phân lập được như sau:

```
3'_GCTTCGAGTCTGAGGGGTTGTAGCTGGCCTTCC
GGGGCATGTGCACACCCTGCTCATCCACTCTACAC
CTGTGCACTTACTGTAGGTTTGGCGTGGGCTTCGG
GGCCTCCGGGCTCTGAGGCATTCTGCCGGCCTATG
TACTACTACAAACACATAAAGTAACAGAATGTATT
CGCGTCTAACGCATCTAAATACAACCTTTCAGCAAC
GGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAG
CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCA
GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTC
CTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGAGTGTG
ATGGAATTCTCAACCCACACGTCCTTGTGATGTTG
CGGGCTTGGATTTGGAGGCTTGCTGGCCCTCTGCG
GTCGGCTCCTCTTGAATGCATTAGCTTGATTCCGTG
CGGATCGGCTCTCAGTGTGATAATTGTCTACGCTG
TGACCGTGAAGCGTTTGGCGAGCTTCTAACCGTCC
TGTATGGGACAACCTTCTTGACATCTGACCTCAAAT
CAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAA
AAAAACGGGGATAAGAAA_5'
```

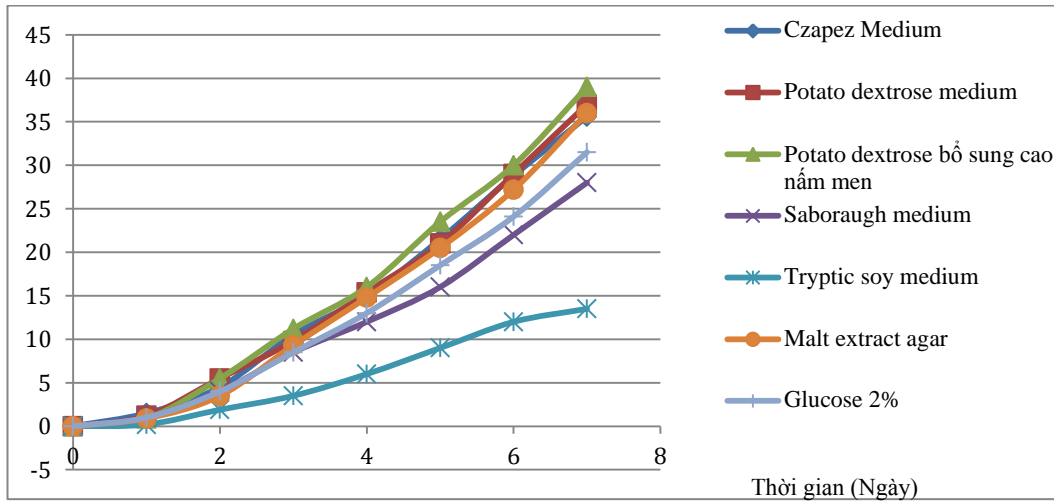
Kết quả BLAST với ngân hàng trình tự NCBI (Trung tâm Thông tin Công nghệ Sinh học Quốc gia, Thư viện Y khoa Quốc gia Mỹ) cho kết quả trùng khớp tới 99,9% với loài *Trametes sanguinea*, hay ngày nay là *Pycnoporus sanguineus* (L.) Murrill (1904).

3.2 Tốc độ sinh trưởng của tơ nấm trên môi trường thạch dinh dưỡng

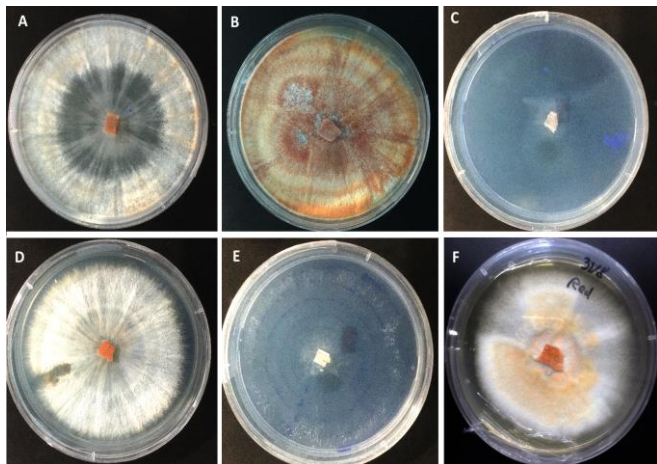
Tốc độ tăng trưởng của loài nấm *Pycnoporus sanguineus* khảo sát trong vòng 7 ngày được trình bày trong Bảng 1 và Hình 2 dưới đây:

**Bảng 1** Tốc độ phát triển của tơ nấm *Pycnoporus sanguineus* trên các loại thạch môi trường (đơn vị: mm)

Ngày	0	1	2	3	4	5	6	7
<b>Loại môi trường</b>								
Czapek Medium	0	1,5	4,5	10,5	15	21,5	28,8	35,6
Potato dextrose medium	0	1,2	5,5	9,8	15,4	21	29	37
Potato dextrose bổ sung cao nấm men	0	0,9	5,5	11,2	16	23,5	30	39
Saborough medium	0	1	4	8,5	12	16	22	28
Tryptic soy medium	0	0,2	1,9	3,5	6	9	12	13,5
Malt extract agar	0	0,9	3,5	9,3	14,8	20,5	27,2	36
Glucose 2%	0	1	4	8,5	13	18,5	24,1	31,5



**Hình 2** So sánh tốc độ phát triển của chủng *Pycnoporus sanguineus* trên các loại thạch môi trường khác nhau. Kết quả khảo sát tốc độ tăng trưởng của loài nấm *Pycnoporus sanguineus* trên 7 loại môi trường dinh dưỡng cho thấy loài nấm này phát triển nhanh nhất trên môi trường thạch khoai tây PDA và PDA bổ sung cao nấm men, kế đến là Malt extract agar, Crapez, Saborough và môi trường glucose 2%. Môi trường Tryptic soy agar (TSA) cho kết quả mọc tơ nấm chậm nhất trong 7 loại. Tuy nhiên, tốc độ mọc lan của tơ nấm nhanh chưa hẳn đã chứng minh loại môi trường đó tốt cho quá trình sinh trưởng và phát triển bình thường của loài nấm này.



**Hình 3.** Hình thái tơ nấm *Pycnoporus sanguineus* trên các môi trường dinh dưỡng khác nhau sau 7 ngày phát triển. A: Môi trường Malt extract agar. B: Môi trường PDA bổ sung cao nấm men. C: Môi trường Czapez. D: Môi trường Saborough. E: Môi trường glucose 2%. F: Môi trường PDA không cao nấm men.

Kết quả đánh giá hình thái và sắc tố của tơ nấm sau 7 ngày phát triển trên đĩa thạch (Hình 3) cho thấy bên cạnh tốc độ mọc lan của tơ nấm, thành phần dinh dưỡng của môi trường cũng có ảnh hưởng nhất định đến khả năng sinh sắc tố và độ dày và mật độ tơ nấm phát triển. Môi trường PDA bổ sung cao nấm men (hình 3B) cho *Pycnoporus sanguineus* khả năng phát triển tốt nhất với mật độ tơ nấm dày và hình thành sắc tố rõ ràng nhất trong các loại môi trường thử nghiệm. Tuy tốc độ phát triển của chủng nấm trên môi trường thạch glucose 2% (Hình 3E) tương đương tốc độ phát triển trên PDA, lớp tơ nấm này vẫn rất mỏng sau 7 ngày, gần như trong suốt và không hề có sắc tố được sinh ra. Có thể quan sát thấy glucose đơn thuần không đủ cho loài nấm này phát

triển bình thường. Từ đó có thể nhận định loài nấm này chuộng thành phần dinh dưỡng với nguồn carbon là tinh bột và cao nấm men có thể sử dụng như nguồn nitrogen bổ sung. 3.3 Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết sinh khối nấm trong dung môi hữu cơ:



**Hình 4** Bịch cơ chất nuôi cấy *Pycnoporus sanguineus*. A: Bịch cơ chất sau khi được cấy tơ nấm *Pycnoporus sanguineus*. B: Khối sinh khối nấm mang sắc tố đỏ hình thành sau 2 tháng phát triển trên cơ chất.

Để thu được sinh khối có hoạt tính kháng khuẩn, mẫu tơ nấm được cấy vào các bịch cơ chất phối trộn 50% thóc và 50% mùn cưa, độ ẩm 60% (Hình 4A). Các bịch cơ chất được ủ trong tối trong 30 ngày cho đến khi tơ nấm phủ kín cơ chất, sau đó được mở miệng bịch và đưa ra sáng trong 30 ngày tiếp theo để thúc đẩy phát triển sinh khối tiền quả thể và hình thành sắc tố (Hình 4B).

Sau một tháng, phần sinh khối nấm được tách ra khỏi cơ chất và chiết xuất bằng dung môi methanol. Phần cao chiết được hòa vào DMSO và được sử dụng cho thí nghiệm kiểm tra hoạt tính kháng khuẩn. Kết quả vòng kháng khuẩn từ cao chiết sinh khối nấm được trình bày ở Bảng 2.

**Bảng 2** Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết nấm *Pycnoporus sanguineus* bằng phương pháp đĩa giấy kháng sinh trên 6 chủng vi khuẩn.

Chủng vi khuẩn	Gram	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	+	16,8 ± 0,74
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	+	17,3 ± 2,51
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	+	23,5 ± 0,5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	10 ± 0,00
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> ATCC 17802	-	14 ± 1,12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	-	13,3 ± 0,57

Bước đầu thử nghiệm bằng phương pháp tẩm đĩa giấy cho thấy 150 mg cao chiết nấm *Pycnoporus sanguineus* thể hiện hoạt tính kháng khuẩn chống lại cả 6 loài khuẩn sử dụng trong thí nghiệm này. Đặc biệt, hoạt tính của *Pycnoporus sanguineus* có hiệu quả diệt khuẩn chống lại các chủng vi khuẩn gram dương tốt hơn vi khuẩn gram âm, với *Staphylococcus aureus* nhạy cảm nhất trong nhóm gram dương, và *Escherichia coli* có sức chống chịu cao chiết nấm nhất trong nhóm gram âm. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết từ nấm *Pycnoporus sanguineus* cho thấy qui trình nuôi cấy loài nấm này trên cơ chất thóc

vẫn bảo tồn khả năng sinh hoạt chất kháng khuẩn của chúng cho dù chưa đến thời điểm hình thành quả thể. Do đó có thể kết luận hoạt tính kháng khuẩn của loài nấm này phụ thuộc rất nhiều vào khả năng sản xuất sắc tố của chúng, đại diện cho màu đỏ cam đặc trưng của quả thể.

#### 4 Kết luận và kiến nghị

Nghiên cứu này đã thành công trong việc phân lập, định danh, nuôi cấy và khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của loài nấm *Pycnoporus sanguineus* chủng mọc hoang đại tại Việt Nam. *Pycnoporus sanguineus* vốn được biết là chủng nấm có hoạt tính phổ rộng, với khả năng ức chế nhiều loại vi khuẩn gây bệnh, đặc biệt là các loài cầu khuẩn gram dương thuộc chi *Streptococcus* [6]. Loài nấm *Pycnoporus sanguineus* đã được nghiên cứu có khả năng sản xuất ra nhiều hợp chất hoạt tính khác nhau với nhiều ứng dụng tiềm năng như men laccase, các hợp chất chống oxi hóa, và Cinnabarine có hoạt tính kháng khuẩn và thậm chí là kháng viêm [6, 7]. Qua bước đầu nuôi cấy và kiểm tra thành công khả năng sinh hoạt chất kháng khuẩn của sinh khối nấm *Pycnoporus sanguineus* trong phòng thí nghiệm, nghiên cứu này tạo tiền đề để tiến hành các nghiên cứu sâu hơn về tiềm năng sản xuất kháng sinh từ loài nấm này trong tương lai.

#### Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ phát triển Khoa học và Công nghệ - Đại học Nguyễn Tất Thành, mã số đề tài 2020.01.008/HĐ-KHCN.

#### Tài liệu tham khảo

- Kuang LM, Lin HO, Hsu FL, Lin YL (2010). *Anti-inflammatory principles of cultivated Pycnoporus sanguineus*. Journal Chinese Medical 21, 75–83.
- V Sharma, AK Jaitly (2017), *Optimization of Growth of Two Wild Species of Pycnoporus Collected from Foothill of Uttarakhand*. International Journal of Agriculture Innovations and Research Volume 6, Issue 1, 2319-1473.
- Télez-Télez M, Villegas E3, Rodríguez A, Acosta-Urdapilleta ML, O'Donovan A, Díaz-Godínez G (2016). *Mycosphere Essay 11: Fungi of Pycnoporus: Morphological and molecular identification, worldwide distribution and biotechnological potential*. Mycosphaera. 7.10.5943.
- Matuschek E, Brown DF, Kahlmeter G (2014). *Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories*. Clin Microbiol Infect. 2014 Apr;20(4):O255-66.
- Suay I, Arenal F, Asensio FJ, Basilio A, Cabello MA, Díez MT, García JB, del Val AG, Gorrochategui J, Hernández P, Peláez F, Vicente MF. 2000. *Screening of basidiomycetes for antimicrobial activities*. Antonie Van Leeuwenhoek. 2000 Aug;78(2):129-39.
- Smânia EF, Smaünia A, Loguercio-Leite C. (1997). *Optimal parameters for cinnabarin synthesis by Pycnoporus sanguineus*. Journal of Chemical Technology & Biotechnology 70, 57–59.
- Kuang LM, Lin HO, Hsu FL, Lin YL (2010). *Anti-inflammatory principles of cultivated Pycnoporus sanguineus*. Journal Chinese Medical 21, 75–83.



## Isolation, identification and investigation of antibacterial activity of biomass crude extract from *Pycnoporus fungi*

Truong Nguyen Thuan Thien, Ngo Nguyen Vu\*

Nguyen Tat Thanh Institute of High Tech, Nguyen Tat Thanh University

\*nnavu@ntt.edu.vn

**Abstract** Genus *Pycnoporus* has been known to have antimicrobial activities against numerous pathogenic bacteria, but so far there have been no in-depth studies to exploit the antibacterial compounds of these fungi in Vietnam. This study selected and successfully isolated one fungus sample that belongs to genus *Pycnoporus* in Vietnam. The fungi sample was identified as *Pycnoporus sanguineus* and was successfully cultured in laboratory in solid substrate of rice bran and sawdust. The fungal biomass was extracted with methanol for crude extract and then its antibacterial activity was tested via disc diffusion method. The *Pycnoporus sanguineus* crude extract at 150 mg showed antibacterial activity against 6 strains of bacteria, including *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Vibrio parahaemolyticus*. This result opens a premise for further in-depth research on the antimicrobial active compounds from fungi in the future.

**Keywords** Antibacterial activity, *Pycnoporus sanguineus*, antibiotic, fungus