

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA CHỦNG VI KHUẨN VK124 PHÂN LẬP TỪ ĐẤT RỪNG NGẬP MẶN CÓ KHẢ NĂNG SINH TỔNG HỢP ECTOINE

Đoàn Văn Thuộc¹ và Lê Văn Dũng²

¹Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội

²Bộ môn Vi sinh Kí sinh trùng, Học viện Y dược học Cổ truyền Việt Nam

Tóm tắt. Từ các mẫu đất thu thập được từ rừng ngập mặn huyện Giao Thủy, tỉnh Nam Định chúng tôi đã phân lập được khoảng 200 khuẩn lạc vi khuẩn. Năm khuẩn lạc khác nhau đã được lựa chọn ngẫu nhiên để đánh giá khả năng sinh tổng hợp ectoine. Bốn trong số năm chủng được lựa chọn có khả năng sinh tổng hợp ectoine, trong đó chủng sản sinh ectoine mạnh nhất (VK124) đã được lựa chọn để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy và hàm lượng NaCl đến khả năng sinh trưởng và sinh tổng hợp ectoine đã được chúng tôi nghiên cứu. Khi nuôi chủng VK124 trên môi trường HM với nồng độ 15,5% NaCl, chúng tôi thu được hàm lượng ectoine cao nhất (13,5% khối lượng tế bào khô). Trình tự đoạn gen 16S rDNA và một số đặc điểm hóa sinh của chủng VK124 cũng đã được nghiên cứu. Kết quả cho thấy chủng VK124 có đoạn trình tự gen 16S rDNA tương đồng trên 99% với các loài vi khuẩn thuộc chi *Yangia*, do vậy chủng này được đặt tên là *Yangia* sp. VK124.

Từ khóa: Ectoine, hợp chất tương thích, rừng ngập mặn, *Yangia*.

1. Mở đầu

Việt Nam là nước có đường bờ biển dài khoảng 3260 km, đây chính là tiền đề hình thành hệ sinh thái rừng ngập mặn trải dài từ Bắc vào Nam. Hệ sinh thái đặc biệt này là nơi giao thoa giữa các sinh vật nước ngọt và nước mặn. Rất nhiều nhóm vi sinh vật (ưa mặn và chịu mặn) có vai trò quan trọng trong hệ sinh thái rừng ngập mặn và có khả năng sinh tổng hợp các chất hoạt tính đã được phân lập từ hệ sinh thái này [1-3].

Hàm lượng muối trong đất và nước của hệ sinh thái rừng ngập mặn thay đổi thường xuyên theo từng thời điểm trong ngày và theo các mùa trong năm [3]. Sự thay đổi về hàm lượng muối của môi trường sẽ dẫn đến sự thay đổi về áp suất thẩm thấu. Thích nghi với các điều kiện môi trường luôn thay đổi là một đặc tính quan trọng của sinh vật nói chung và vi sinh vật nói riêng. Tích lũy các hợp chất tương thích là một ví dụ về khả năng thích ứng của sinh vật với môi trường có áp suất thẩm thấu luôn thay đổi. Hợp chất tương thích có thể là các phân tử đường, các polyol, các axit amin và đồng phân, ectoines, và betaine. Các hợp chất tương thích thường trung hòa điện tích và có khả năng hòa tan lớn. Tích lũy các hợp chất tương thích giúp vi sinh vật cân bằng áp suất thẩm thấu và thích nghi với điều kiện môi trường luôn thay đổi. Ectoines (ectoine và dẫn xuất hydroxyl của nó, hydroxyectoine) là các hợp chất tương thích phổ biến được tìm thấy trong tế bào của nhiều vi khuẩn ưa mặn và chịu mặn [4]. Bên cạnh chức năng giúp tế bào cân bằng áp suất thẩm,

Ngày nhận bài: 6/3/2019. Ngày sửa bài: 22/3/2019. Ngày nhận đăng: 29/3/2019.

Tác giả liên hệ: Đoàn Văn Thuộc. Địa chỉ e-mail: thuocdv@hnue.edu.vn

rất nhiều nghiên cứu trên thế giới đã chứng minh rằng các hợp chất tương thích nói chung và đặc biệt là ectoines nói riêng có khả năng bảo vệ enzyme, DNA, và tế bào chống lại các điều kiện môi trường bất lợi như tia UV, nhiệt độ cao, nhiệt độ thấp, khô hạn và pH bất lợi [5-7].

Những nghiên cứu về vi sinh vật sinh tổng hợp ectoine được phân lập từ rừng ngập mặn gần như chưa có. Một số nghiên cứu gần đây chỉ ra rằng gen sinh tổng hợp ectoine được tìm thấy trong bộ gen của một số vi khuẩn phân lập được từ rừng ngập mặn như *Microbulbifer* sp. CCM-MM1 [8], *Hahella* sp. CCB-MM4 [9], và *Streptomyces mangrovisoli* MUSC 149^T [10]. Phân lập tìm kiếm các chủng vi khuẩn có khả năng sinh tổng hợp ectoine, nghiên cứu đặc điểm sinh học qua đó định hướng khai thác các nguồn gen là hướng nghiên cứu mới ở Việt Nam. Trong bài báo này chúng tôi tiến hành nghiên cứu khả năng sinh tổng hợp ectoine và các đặc điểm sinh học của chủng vi khuẩn ưa mặn được phân lập từ đất rừng ngập mặn huyện Giao Thủy, tỉnh Nam Định.

2. Nội dung nghiên cứu

2.1. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

* Vật liệu nghiên cứu

Các mẫu đất được lấy ở lớp đất bề mặt ở các vị trí khác nhau tại rừng ngập mặn huyện Giao Thủy, tỉnh Nam Định. Mỗi mẫu đất lấy khoảng 30 g cho vào túi nilông đã vô trùng, trên túi ghi rõ địa điểm thu mẫu và độ sâu lấy mẫu. Mẫu được bảo quản trong đá lạnh và chuyển về phòng thí nghiệm, bảo quản mẫu ở nhiệt độ 4 - 5°C và tiến hành phân lập ngay trong 48 giờ.

* Phân lập vi sinh vật

Mẫu đất được pha loãng với dung dịch 3% NaCl đã khử trùng sau đó cấy trải trên đĩa Petri có chứa môi trường MPA với thành phần (g/L): cao thịt, 5; peptone, 5; NaCl, 30; thạch, 20. Sau 48 giờ ủ ở 30 °C, lựa chọn các khuẩn lạc to để cấy chuyển vào đĩa Petri chứa môi trường MPA để giữ giống và tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

* Tuyển chọn vi khuẩn sinh tổng hợp ectoines

Các khuẩn lạc vi khuẩn tuyển chọn được nuôi cấy trong môi trường MPA lỏng chứa 10% NaCl ở nhiệt độ 30°C với tốc độ 180 vòng/phút. Sau 30 giờ nuôi cấy, thu mẫu để xác định khối lượng tế bào khô (CDW) và phân tích hàm lượng ectoines tích lũy trong tế bào.

* Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến sự sinh trưởng và tích lũy ectoines của chủng tuyển chọn

Hoạt hóa chủng vi khuẩn tuyển chọn trên môi trường MPA có chứa 3% NaCl trong 15 giờ. Bổ sung 5% (v/v) giống vi khuẩn đã hoạt hóa vào các bình tam giác 250 mL chứa 50 mL môi trường MPA hoặc HM [11] có chứa 10% NaCl. Nuôi trong máy lắc với tốc độ 180 vòng/phút ở 30 °C trong 30 giờ. Thu mẫu để xác định CDW và xác định hàm lượng ectoines tích lũy trong tế bào của chủng vi khuẩn nghiên cứu.

* Ảnh hưởng của nồng độ muối đến sự sinh trưởng và tích lũy ectoines của chủng tuyển chọn

Hoạt hóa chủng vi khuẩn tuyển chọn trên môi trường MPA có chứa 3% NaCl trong 15 giờ. Bổ sung 5% (v/v) giống vi khuẩn đã hoạt hóa vào trong bình tam giác 250 mL chứa 50 mL môi trường MPA có các nồng độ muối khác nhau: 7,5%, 10% và 12,5%. Nuôi trong máy lắc với tốc độ 180 vòng/phút ở 30 °C trong 30 giờ. Thu mẫu để xác định CDW và xác định hàm lượng ectoines tích lũy trong tế bào của chủng vi khuẩn nghiên cứu.

* Nghiên cứu đặc điểm hóa sinh của chủng vi khuẩn tuyển chọn

Đặc điểm sinh hóa của chủng vi khuẩn tuyển chọn được xác định dựa vào bộ kit ID 32 E (Biomérieux, Pháp). Quy trình kiểm tra được tiến hành theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

* Định loại vi khuẩn bằng kỹ thuật di truyền phân tử

Nuôi cấy chủng tuyển chọn trên môi trường MPA lỏng trong 13 giờ. Thu sinh khối và tách chiết DNA tổng số, DNA tổng số được sử dụng để tiến hành phản ứng PCR nhằm khuếch đại đoạn trình tự gen 16S rRNA với cặp mồi: 27F 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'; 1492R 5'-

GGTTACCTTGTTACGACTT-3'. Sản phẩm PCR được gửi tới công ty 1st Base (Singapore) để giải trình tự. Trình tự gen sau đó được so sánh với ngân hàng gen để xác định chủng loại phát sinh của chủng vi khuẩn tuyển chọn. Cây phát sinh chủng loại được xây dựng dựa vào phần mềm Mega 6 [12].

** Các phương pháp phân tích*

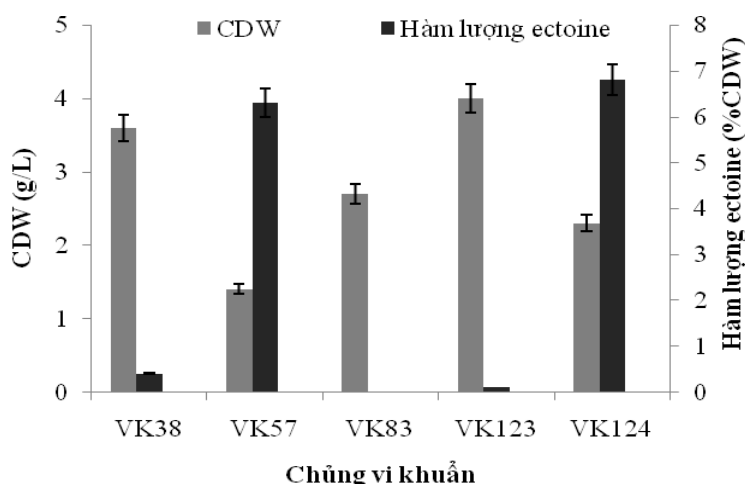
- Phương pháp xác định sinh khối khô: Sinh khối vi sinh vật được sấy ở 105°C đến khối lượng không đổi, sau đó cân để xác định khối lượng, mỗi mẫu lặp lại 3 lần để lấy giá trị trung bình [11].

- Phương pháp xác định hàm lượng ectoine: Ectoine trong tế bào được tách chiết theo phương pháp đã được mô tả bởi Kunte *et al.* [13]. Hàm lượng ectoine tích lũy trong tế bào được xác định bằng máy sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) sử dụng cột Aminex HPX-87C, dung dịch chạy là 5mM CaCl₂ tốc độ dòng chảy là 0,3 L/phút, nhiệt độ cột 65°C [11]. Ectoine tinh sạch (code: 96702-03-3) được sử dụng để xây dựng đồ thị chuẩn.

2.2. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

2.2.1. Phân lập và tuyển chọn chủng vi khuẩn sinh tổng hợp ectoine

Từ các mẫu đất thu thập được tại huyện Giao Thủy, tỉnh Nam Định chúng tôi tiến hành phân lập và thu được khoảng 200 khuẩn lạc vi khuẩn. Ectoine là sản phẩm tích lũy nội bào nên hàm lượng ectoine phụ thuộc nhiều vào số lượng tế bào. Do vậy, 5 khuẩn lạc vi khuẩn có khả năng sinh trưởng nhanh và khác nhau về màu sắc khuẩn lạc đã được lựa chọn để nghiên cứu đánh giá khả năng sinh tổng hợp ectoine.



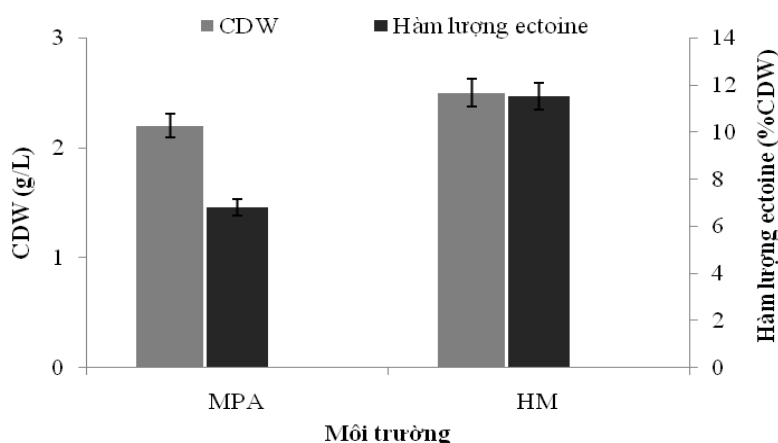
Hình 1. Khả năng sinh trưởng và sinh tổng hợp ectoine của 5 chủng vi khuẩn tuyển chọn

Kết quả ở Hình 1 cho thấy cả 5 chủng tuyển chọn đều phát triển khá tốt trên môi trường MPA có nồng độ muối 10%, khối lượng tế bào khô (CDW) dao động từ 1,4 g/L (chủng VK57) đến 4,0 g/L (chủng VK123). Tuy nhiên, khả năng sinh tổng hợp ectoine của các chủng vi khuẩn tuyển chọn là rất khác nhau. Chủng VK83 không tổng hợp ectoine, chủng VK123 có khả năng sinh trưởng mạnh nhất (4,0 g/L) nhưng lại tích lũy ectoine rất kém (hàm lượng ectoine tích lũy chỉ khoảng 0,2% khối lượng tế bào khô). Có 2 chủng có khả năng tích lũy ectoine cao là VK57 (6,3%) và VK124 (6,8%), trong đó chủng VK124 có khả năng sinh trưởng và sinh tổng hợp ectoine cao hơn nên đã được lựa chọn để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo (Hình 1).

2.2.2. Ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng đến sinh trưởng và sinh tổng hợp ectoine

Môi trường dinh dưỡng và thành phần của môi trường dinh dưỡng là một trong những yếu tố ảnh hưởng nhiều đến sự sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật. Nhiều nghiên cứu trước đây cho

thấy môi trường HM là môi trường có ảnh hưởng lớn đến sự sinh trưởng và sinh tổng hợp ectoine của vi khuẩn ưa mặn [11, 14]. Vì vậy chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu so sánh ảnh hưởng của môi trường HM và MPA (môi trường thường dùng để nuôi cấy vi khuẩn). Kết quả nghiên cứu cho thấy, chủng vi khuẩn VK124 sinh trưởng tốt trên cả 2 loại môi trường này, tuy nhiên khả năng sinh tổng hợp ectoine trên môi trường HM (11,5% khối lượng tế bào khô) cao hơn rất nhiều so với môi trường MPA (6,8% khối lượng tế bào khô) (Hình 2). Cả môi trường MPA và môi trường HM đều là môi trường tổng hợp, môi trường này có chứa các chất dinh dưỡng cần thiết cho sự phát triển của chủng vi khuẩn tuyển chọn, tuy nhiên để hình thành ectoine thì cần có thêm khoáng chất và tiền chất tham gia con đường sinh tổng hợp ectoine ví dụ như natri glutamate. Nhiều nghiên cứu trước đây đã cho thấy khi môi trường nuôi cấy được bổ sung natri glutamate thì hàm lượng ectoine tích lũy sẽ tăng lên đáng kể [14, 15]. Đây có lẽ là lý do chính giải thích tại sao môi trường HM lại cho lượng ectoine gần gấp đôi môi trường MPA.

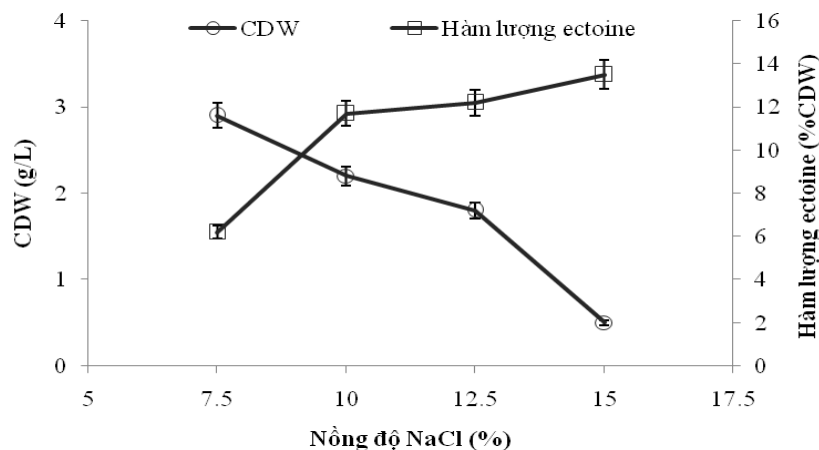


Hình 2. Ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng đến đến trưởng và sinh tổng hợp ectoine của chủng vi khuẩn tuyển chọn

2.2.3. Ảnh hưởng của nồng độ NaCl đến sinh trưởng và sinh tổng hợp ectoine của chủng tuyển chọn

Ectoine là hợp chất tương thích được tổng hợp để giúp tế bào vi khuẩn thích ứng với điều kiện môi trường bất lợi. Do vậy, hàm lượng của ectoine tích lũy trong tế bào phụ thuộc khá lớn vào điều kiện của môi trường nuôi cấy. Nhiều nghiên cứu cho thấy, hàm lượng NaCl trong môi trường nuôi cấy ảnh hưởng khá lớn đến sự sinh trưởng và sinh tổng hợp ectoine [11, 15]. Do vậy, ảnh hưởng của hàm lượng NaCl đến sự sinh trưởng và sinh tổng hợp ectoine của chủng VK124 đã được nghiên cứu. Kết quả ở hình 3 cho thấy, nồng độ NaCl trong môi trường có tác động tích cực đến sự hình thành ectoine nhưng lại có tác động tiêu cực đến sự sinh trưởng của chủng VK124. Sinh khối tế bào giảm dần từ 2,9 g/L xuống chỉ còn 0,5 g/L khi tăng nồng độ NaCl từ 7,5% lên 15%. Ngược lại, hàm lượng ectoine tích lũy trong tế bào tăng từ 6,2% (ở nồng độ 7,5% NaCl) lên 13,5% (ở nồng độ 15% NaCl) (Hình 3). Hàm lượng ectoine tối đa đạt được trong nghiên cứu này (13,5%) vẫn thấp hơn một chút so với hàm lượng ectoine đạt được của chủng vi khuẩn hiện đang được sử dụng để sản xuất ectoine ở qui mô công nghiệp là *Halomonas elongata* (15,5%) [16]. Tuy nhiên, nếu tiếp tục tiến hành

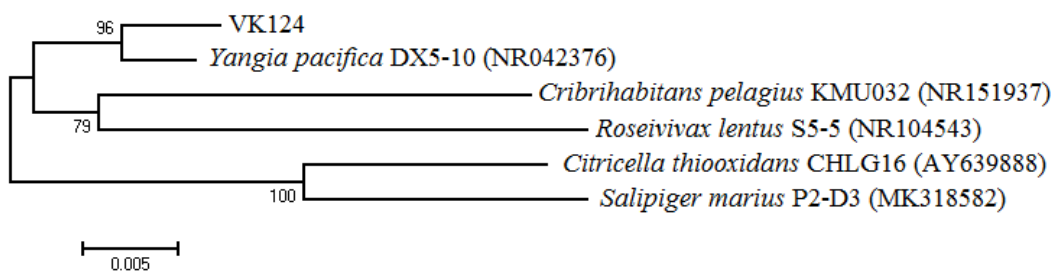
nghiên cứu tối ưu các điều kiện nuôi cấy thì khả năng sinh tổng hợp ectoine của chủng VK124 có thể được nâng cao hơn nữa.



Hình 3. Ảnh hưởng của hàm lượng NaCl đến sự sinh trưởng và sinh tổng hợp ectoine của chủng VK124

2.2.4. Nghiên cứu đặc điểm sinh hóa và định loại chủng vi khuẩn tuyển chọn

Trình tự đoạn gen 16S rDNA của chủng vi khuẩn VK124 đã được phân lập và giải trình tự, kết quả so sánh trình tự này (khoảng 1340 bp) với các trình tự có trong ngân hàng gen thế giới (NCBI) cho thấy: trình tự đoạn gen 16S rDNA của chủng VK124 tương đồng trên 99% với trình tự gen của các chủng vi khuẩn thuộc chi *Yangia*, ví dụ như tương đồng đến 99,8% với trình tự của chủng *Yangia pacifica* DX5-10 (Hình 4). Chủng *Yangia pacifica* DX5-10 là vi khuẩn ưa mặn phân lập ở vùng biển của Trung Quốc, đây là chủng vi khuẩn Gram âm, dạng trực khuẩn, phát triển tốt ở nhiệt độ 35-37°C, pH 7-7,5 và 5% NaCl, các điều kiện này đều tương đồng với chủng VK124 [17].



Hình 4. Cây phát sinh chủng loại thể hiện quan hệ gần gũi giữa chủng VK124 với loài thuộc chi *Yangia*

Một số đặc điểm hóa sinh của chủng VK124 cũng đã được chúng tôi xác định bằng bộ kit ID 32 E (Biomérieux, Pháp), đặc điểm sinh hóa của chủng VK124 được so sánh với chủng có trình tự gen 16S rDNA gần gũi là *Yangia pacifica* DX5-10. Bảng 1 cho thấy, rất nhiều đặc điểm hóa sinh của chủng VK124 cũng tương đồng với chủng *Yangia pacifica* DX5-10 ví dụ như đều có khả năng sinh tổng hợp urease, không có khả năng sử dụng một số nguồn các bon như: manitol, glucose, saccharose, arabinose, inositol và sorbitol. Bên cạnh đó cũng có một số điểm khác biệt

như khả năng sử dụng maltose và khả năng hình thành Indole. Dựa trên sự tương đồng về đoạn trình tự gen 16S rDNA và các đặc điểm hóa sinh, chúng tôi đặt tên cho chủng VK124 là *Yangia* sp. VK124.

Bảng 1. Kết quả kiểm tra đặc điểm hóa sinh của chủng vi khuẩn VK124, so sánh với loài *Yangia pacifica* DX5-10 [17]

Đặc điểm hóa sinh	VK124	<i>Yangia pacifica</i> DX5-10
Ornithine decarboxylase	+	NR
Arginine dihydrolase	+	NR
Lysine decarboxylase	-	NR
Urease	+	+
L-arabitol	-	NR
Galacturonate	-	NR
5-ketogluconate	+	NR
Lipase	-	NR
Phenol đỏ	-	NR
Beta-glucosidase	+	NR
D-manitol	-	-
D-maltose	-	+
Adonitol	-	NR
Palatinose	-	NR
Beta-glucoronidase	-	NR
Manonate	-	NR
Hình thành Indole	+	-
N-acetyl-beta-glucosaminidase	-	NR
Beta-galactosidase	-	NR
D-glucose	-	-
Sucrose	-	-
L-arabinose	-	-
D-arabitol	-	NR
Alpha-glucosidase	+	NR
Alpha-galactosidase	+	NR
D-trehalose	-	NR
L-rhamnose	-	NR
Inositol	-	-
D-cellobiose	-	NR
D-sorbitol	-	-
Alpha-maltosidase	-	NR
L-aspartic acid arylamidase	+	NR

Ghi chú: (+) có khả năng sinh tổng hợp enzyme và sử dụng, (-) không có khả năng sử dụng, (NR) không có trong báo cáo

3. Kết luận

Từ các mẫu đất rừng ngập mặn Giao Thủy, tỉnh Nam Định chúng tôi đã phân lập và tuyển chọn được chủng vi khuẩn VK124 có khả năng sinh tổng hợp ectoine. Chủng VK124 sinh tổng hợp ectoine cao trong môi trường HM, hàm lượng ectoine cực đại khoảng 13,5% khối lượng tế bào khô khi nuôi trong môi trường có chứa 15% NaCl. Kết quả so sánh trình tự đoạn gen 16S

rDNA và các đặc điểm hóa sinh cho thấy, chủng vi khuẩn VK124 có nhiều đặc điểm tương đồng với các loài thuộc chi *Yangia* nên được đặt tên là *Yangia* sp. VK124.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí từ Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (Nafosted) (đề tài mã số 106-NN.04-2016.11) và Bộ Giáo dục và Đào tạo (đề tài mã số B2007-SHP-32).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] G. Holguin, P. Vazquez and Y. Bashan, 2001. *The role of sediment microorganisms in the productivity, conservation, and rehabilitation of mangrove ecosystems: an overview*. Biol. Fertil. Soils., 33, pp. 265-278.
- [2] D. Van-Thuoc, T. Huu-Phong, N. Thi-Binh, N. Thi-Tho, D. Minh-Lam and J. Quillaguamán, 2012. *Polyester production by halophilic and halotolerant bacterial strains obtained from mangrove soil samples located in Northern Vietnam*. Microbiology Open., 1, pp. 395-406.
- [3] S. Costa-Böddeker, L. X. Thuyen, A. Schwarz and H. D. Huy, 2017. *Diatom assemblages in surface sediments along nutrient and salinity gradients of Thi Vai estuary and Can Gio mangrove forest, Southern Vietnam*. Estuar. Coast., 40, pp. 479-492.
- [4] M. F. Roberts, 2005. *Organic compatible solutes of halotolerant and halophilic microorganism*. Saline Systems (On-line Journal), 1.5.
- [5] G. Lippert and E. A. Galinski, 1992. *Enzyme stabilization by ectoine-type compatible solutes: protection against heating, freezing and drying*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 37, pp. 61-65.
- [6] D. Van-Thuoc, S. O. Hashim, R. Hatti-Kaul and G. Mamo, 2013. *Ectoine mediated protection of enzyme from the effect of pH and temperature stress: a study using Bacillus halodurans xylanase as a model*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 97, pp. 6271-6278.
- [7] M. A. Schröter, S. Meyer, M. B. Hahn, T. Solomun, H. Sturm and H. J. Kunte, 2017. *Ectoine protects DNA from damage by ionizing radiation*. Sci. Rep., 7, 15272.
- [8] T. H. Moh, N. S. Lau, G. Furusawa and A. A. A. Amirul, 2017. *Complete genome sequence of Microbulbifer sp. CCB-MM1, a halophile isolated from Matang mangrove forest, Malaysia*. Stand. Genomic Sci., 12:36.
- [9] K. K. Sam, N. S. Lau, G. Furusawa and A. A. A. Amirul, 2018. *Draft genome sequence of halophilic Halobacterium sp. strain CCB-MM4, isolated from Matang mangrove forests in Perak, Malaysia*. Genome Announc., 5:e01147-17.
- [10] H. L. Ser, W. S. Tan, N. S. A. Mutalib, W. F. Yin, 2018. *Genome sequence of Streptomyces mangrovisoli MUSC 149T isolated from intertidal sediments*. Braz. J. Microbiol., 49:13-15.
- [11] D. Van-Thuoc, H. Guzmán, M. Thi-Hang and R. Hatti-Kaul, 2010. *Ectoine production by Halomonas boliviensis: Optimization using response surface methodology*. Mar. Biotechnology., 12, pp. 586-593.
- [12] K. Tamura, G. Stecher, D. Peterson and A. Filipski. 2013. *MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0*. Mol. Bio. Evol., 30, pp. 2725-2729.
- [13] H. J. Kunte, E. A. Galinski and H. G. Trüper, 1993. *A modified FMOC-method for the detection of amino acid type osmolytes and tetrahydropyrimidines (ectoines)*. J. Microbiol. Meth., 17, pp. 129-136.
- [14] D. Van-Thuoc, H. Guzmán, J. Quillaguamán and R. Hatti-Kaul, 2010. *High productivity of ectoines by Halomonas boliviensis using a combined two-step fed-batch culture and milking process*. J. Biotechnol., 147, pp. 46-51.

- [15] A. E. Onraedt, B. A. Walcarius, W. K. Soetaert and E. J. Vandamme, 2005. *Optimization of ectoine synthesis through fed-batch fermentation of Brevibacterium epidermis*. Biotechnol. Prog., 21, pp. 1206-1212.
- [16] T. Sauer and E. D. Galinski, 1998. *Bacterial milking: a novel bioprocess for production of compatible solutes*. Biotechnol. Bioeng. 57, pp. 306-313.
- [17] X. Dai, B. J. Wang, Q. X. Yang, N. Z. Jiao and S. J. Liu, 2006. *Yangia pacifica* gen. nov., sp. nov., a novel member of the Roseobacter clade from coastal sediment of East China Sea. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 56, pp. 529-533.

ABSTRACT

Identification and characterization of an ectoine producing bacterium strain VK124 isolated from mangrove soil samples

Doan Van Thuoc¹ and Le Van Dung²

¹Faculty of Biology, Hanoi National University of Education

²Department of Microbiology and Parasits, Vietnam University of Traditional Medicine

In this study, about 200 bacterial colonies were isolated from mangrove soil samples collected from Giao Thuy district, Nam Dinh province. Five colonies were randomly chosen for the evaluation of ectoine production. Among them, four strains can produce ectoine; the highest ectoine producer (strain VK124) was selected for further study. The effect of different media and NaCl concentrations on bacterial cell growth and ectoine accumulation was investigated. Maximum ectoine content of 13.5% was obtained when strain VK124 grown on HM medium containing 15% NaCl. The sequence of 16S rDNA gene and some biochemical characteristics of strain VK124 were also analysed. The results showed that the bacterial strain VK124 belongs to genus *Yangia* and named as *Yangia* sp. VK124.

Keywords: Ectoine, compatible solute, mangrove, *Yangia*.