

TỔNG QUAN

TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU PHÁT HIỆN CÁC LOÀI VI KHUẨN MỚI TRONG ĐẤT TRỒNG NHÂN SÂM (*PANAX L.*) TRÊN THẾ GIỚI

Trần Bảo Trâm¹, Nguyễn Ngọc Lan², Phạm Hương Sơn¹, Phạm Thế Hải³, Lê Thị Thu Hiền², Nguyễn Thị Hiền¹, Nguyễn Thị Thanh Mai¹, Trương Thị Chiên¹

¹Viện Ứng dụng Công nghệ, Bộ Khoa học và Công nghệ

²Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

✉ Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: tbt1974@gmail.com

Ngày nhận bài: 21.11.2016

Ngày nhận đăng: 25.5.2017

TÓM TẮT

Với hàm lượng mùn cao (2-10%), độ ẩm tốt (40-60%), pH hơi chua (khoảng 5-6), đất trồng sâm được coi là một trong những môi trường thích hợp cho vi khuẩn phát triển. Quần xã vi khuẩn trong đất trồng sâm rất đa dạng với nhiều loài mới đã được phát hiện và phân loại. Cho đến nay đã có 152 loài vi khuẩn mới được phân lập từ đất trồng sâm được công bố, chủ yếu ở Hàn Quốc (141 loài), tiếp theo là Trung Quốc (09 loài) và Việt Nam (02 loài). Các loài mới phát hiện được phân loại và xếp nhóm vào 5 ngành lớn gồm: *Proteobacteria* (48 loài), *Bacteroidetes* (49 loài), *Actinobacteria* (34 loài), *Firmicutes* (20 loài) và *Armatimonadetes* (01 loài). Ngoài tính mới, những loài được phát hiện còn có tiềm năng ứng dụng trong việc hạn chế các bệnh cây do nấm gây ra, tăng hàm lượng hoạt chất trong củ sâm hay sản xuất chất kích thích sinh trưởng thực vật... Trong đó các nghiên cứu đặc biệt quan tâm đến những loài có đặc tính chuyển hóa các ginsenoside chính (Rb1, Rb2, Rc, Re, Rg1) - chiếm tới 80% tổng số ginsenoside trong củ sâm sang dạng các ginsenoside chiếm lượng nhỏ (Rd, Rg3, Rh2, CK, F2) nhưng lại có hoạt tính dược học cao hơn. Sâm Ngọc Linh hay còn được gọi là Sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) – loài đặc hữu của Việt Nam đang được quan tâm phát triển và mở rộng vùng trồng. Tuy nhiên, việc tập trung nghiên cứu sâu về đặc điểm thổ nhưỡng, đặc biệt là hệ vi sinh đất trồng sâm Ngọc Linh chưa có nhiều. Chính vì vậy, bài viết này tổng quan nghiên cứu loài mới trong đất trồng sâm trên thế giới là nguồn tư liệu cần thiết trong việc định hướng nghiên cứu về quần xã vi khuẩn cũng như phát hiện các loài vi khuẩn mới trong đất trồng sâm Ngọc Linh có khả năng ứng dụng và phát triển ở Việt Nam.

Từ khóa: Đất trồng sâm, định danh, loài mới, phân lập, sâm Ngọc Linh, vi khuẩn

MỞ ĐẦU

Chi Nhân sâm (*Panax L.*) là một chi nhỏ trong họ Ngũ gia bì (Araliaceae) được tìm thấy ở phía Bắc bán cầu từ trung tâm dãy Himalaya đến Bắc Mỹ qua Trung Quốc, Triều Tiên và Nhật Bản. Tất cả các loài thuộc chi *Panax* đều có giá trị làm thuốc, đặc biệt một số loài là những cây thuốc dùng nhiều trong y học cổ truyền Phương Đông cũng như trên thế giới: Nhân sâm (*P. ginseng*), giả nhân sâm (*P. pseudoginseng*), sâm Mỹ (*P. quinquefolius*) và tam thất (*P. notoginseng*) (Nguyễn Tập, 2005).

Do điều kiện phân bố và sinh trưởng đặc thù của nhân sâm nên đất trồng sâm cũng được Hàn Quốc và

Trung Quốc tập trung nghiên cứu, đặc biệt là các nghiên cứu về hệ vi sinh vật đất nhằm phát hiện các loài vi khuẩn mới có tiềm năng ứng dụng (Im *et al.*, 2005; An *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2010; Nguyen *et al.*, 2013). Loài vi khuẩn mới đầu tiên được công bố trong đất trồng sâm vào năm 2005 (Yang *et al.*, 2005), đến tháng 10/2016 đã có 152 loài vi khuẩn mới được công bố, điều này cho thấy tính đa dạng về số loài vi khuẩn mới trong đất trồng sâm (Bảng 1).

Bài báo này sẽ cung cấp những thông tin tổng hợp về quá trình phân lập, phân loại và định danh cũng như giới thiệu một số ứng dụng chính của các loài vi khuẩn mới đã được phân lập từ đất trồng sâm

ở các nước sản xuất sâm chính trên thế giới là Hàn Quốc và Trung Quốc.

THÔNG TIN VỀ CÁC LOÀI VI KHUẨN MỚI ĐƯỢC PHÂN LẬP TỪ ĐẤT TRỒNG SÂM

Kết quả thống kê tính đến tháng 10/2016 đã có 152 loài vi khuẩn mới phân lập từ đất trồng sâm được công bố trên các tạp chí quốc tế có uy tín như *Antonie van Leeuwenhoek* (Im *et al.*, 2012; Son *et al.*, 2013b; Kang *et al.*, 2015), *Archive of Microbiology* (Hoang *et al.*, 2013a; Sukweenadhi *et al.*, 2015; Jung *et al.*, 2016), *International Journal of Systematics and Evolutionary Microbiology* (Cui *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2008a; Nguyen *et al.*, 2015d), *Journal of Microbiology* (Choi *et al.*, 2010; Kim *et al.*, 2011a; Kim *et al.*, 2013a), *Journal of Microbiology and Biotechnology* (Lee *et al.*, 2008a;

Liu *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2012), *Systematic and Applied Microbiology* (Kim *et al.*, 2012b), *The Journal of General and Applied Microbiology* (Kim *et al.*, 2011b; Yang *et al.*, 2012; Jin *et al.*, 2014).

Trong số 152 loài mới đã công bố có tới 141 loài được phân lập từ đất trồng sâm ở Hàn Quốc, 9 loài được phân lập từ đất trồng sâm ở Trung Quốc và 2 loài được phân lập từ đất trồng sâm ở Việt Nam. Điều này cho thấy có một sự chênh lệch lớn về nghiên cứu đa dạng và phát hiện loài mới trong đất trồng sâm giữa Hàn Quốc – cường quốc trồng và chế biến nhân sâm trên thế giới so với các nước khác, do đó tiềm năng khám phá tính đa dạng về loài mới ở các khu vực khác ngoài Hàn Quốc còn khá lớn, trong đó có Việt Nam cũng như ở Bắc Mỹ - một trong những khu vực trồng sâm lớn của thế giới nhưng chưa có nghiên cứu nào được công bố.

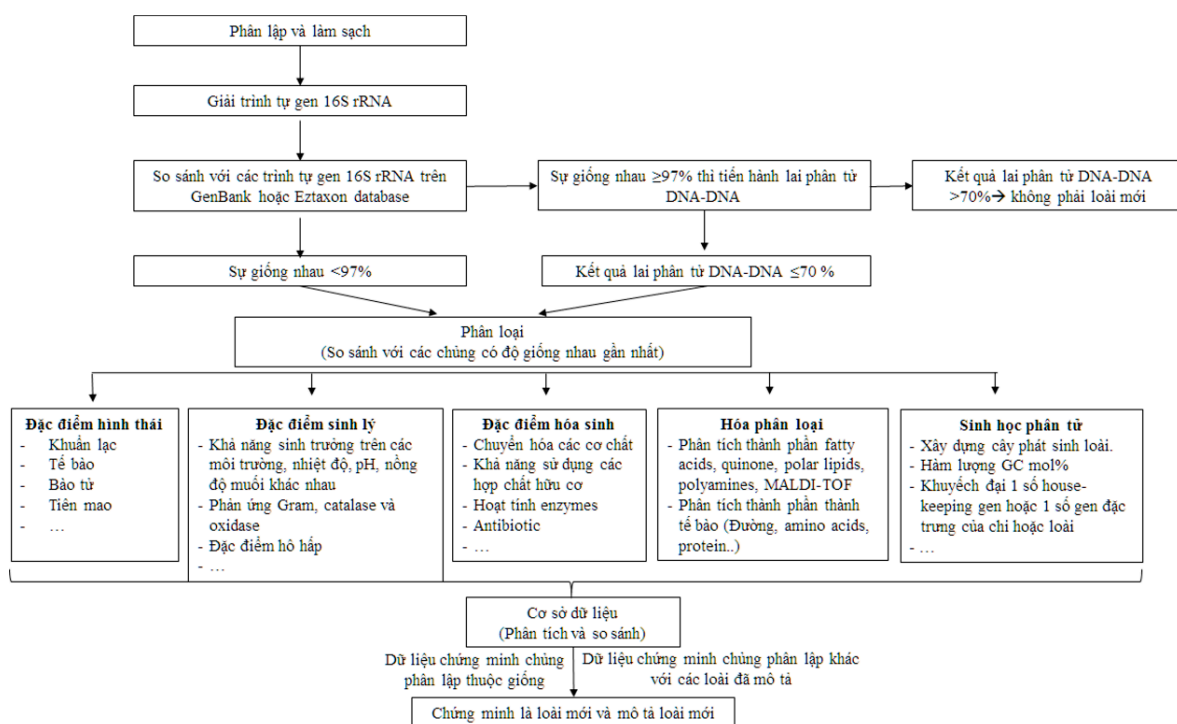
Bảng 1. Các loài mới được phân lập từ đất trồng sâm (Công bố tính đến tháng 10/2016).

TT	Ngành (số loài)	Tài liệu tham khảo
1	<i>Proteobacteria</i> (48)	Park <i>et al.</i> , 2005; Yang <i>et al.</i> , 2005; Kim <i>et al.</i> , 2006a; Kim <i>et al.</i> , 2006b; Lee <i>et al.</i> , 2006; Kim <i>et al.</i> , 2007a; Weon <i>et al.</i> , 2007; Yoo <i>et al.</i> , 2007a; Yoo <i>et al.</i> , 2007b; Yoon <i>et al.</i> , 2007a; Jung <i>et al.</i> , 2008; Lee <i>et al.</i> , 2008a; Lee <i>et al.</i> , 2008b; Weon <i>et al.</i> , 2008; An <i>et al.</i> , 2009; Jung <i>et al.</i> , 2009; Kim <i>et al.</i> , 2009a; Ten <i>et al.</i> , 2009a; Ten <i>et al.</i> , 2009b; Bui <i>et al.</i> , 2010; Im <i>et al.</i> , 2010a; Im <i>et al.</i> , 2010b; Kim <i>et al.</i> , 2010a; Liu <i>et al.</i> , 2010; Srinivasan <i>et al.</i> , 2010a; Srinivasan <i>et al.</i> , 2010b; Srinivasan <i>et al.</i> , 2010c; Yi <i>et al.</i> , 2010; Jung <i>et al.</i> , 2011; Kim <i>et al.</i> , 2011a; Wang <i>et al.</i> , 2011a; Wang <i>et al.</i> , 2012; Kim <i>et al.</i> , 2013a; Choi <i>et al.</i> , 2014; Ahn <i>et al.</i> , 2015a; Cheng <i>et al.</i> , 2015; Farh Mel <i>et al.</i> , 2015; Kang <i>et al.</i> , 2015; Nguyen <i>et al.</i> , 2015a; Nguyen <i>et al.</i> , 2015b; Singh <i>et al.</i> , 2015a; Siddiqi & Im, 2016a; Zhang <i>et al.</i> , 2016; Zhao <i>et al.</i> , 2016; Siddiqi & Im, 2016b.
2	<i>Bacteroidetes</i> (49)	Liu <i>et al.</i> , 2006; Ten <i>et al.</i> , 2006a; Weon <i>et al.</i> , 2006; Yang <i>et al.</i> , 2006; An <i>et al.</i> , 2007a; An <i>et al.</i> , 2007b; Lee <i>et al.</i> , 2007a; Yoon & Im, 2007; Yoon <i>et al.</i> , 2007b; Kim <i>et al.</i> , 2008a; Liu <i>et al.</i> , 2008; Wang <i>et al.</i> , 2008; Ten <i>et al.</i> , 2009c; Weon <i>et al.</i> , 2009; Choi <i>et al.</i> , 2010; Kim <i>et al.</i> , 2011b; Yang <i>et al.</i> , 2011; Hoang <i>et al.</i> , 2012; Yang <i>et al.</i> , 2012; An <i>et al.</i> , 2013; Hoang <i>et al.</i> , 2013a; Hoang <i>et al.</i> , 2013b; Hoang <i>et al.</i> , 2013c; Kim <i>et al.</i> , 2013b; Kim <i>et al.</i> , 2013c; Nguyen <i>et al.</i> , 2013a; Son <i>et al.</i> , 2013a; Son <i>et al.</i> , 2013b; Son <i>et al.</i> , 2013c; Yang <i>et al.</i> , 2013; Jin <i>et al.</i> , 2014; Lee & Whang, 2014; Son <i>et al.</i> , 2014a; Son <i>et al.</i> , 2014b; Ahn <i>et al.</i> , 2015b; Hoang <i>et al.</i> , 2015a; Singh <i>et al.</i> , 2016a; Sukweenadhi <i>et al.</i> , 2015; Zhang <i>et al.</i> , 2015; Zhao <i>et al.</i> , 2015; Siddiqi <i>et al.</i> , 2015; Singh <i>et al.</i> , 2016b; Jung <i>et al.</i> , 2016.
3	<i>Actinobacteria</i> (34)	An <i>et al.</i> , 2007c; Cui <i>et al.</i> , 2007; Kim <i>et al.</i> , 2007b; An <i>et al.</i> , 2008; Kim <i>et al.</i> , 2008b; Kim <i>et al.</i> , 2008c; Kim <i>et al.</i> , 2008d; Park <i>et al.</i> , 2008; Cui <i>et al.</i> , 2009; Kim & Jung, 2009; Kim <i>et al.</i> , 2009b; Cho <i>et al.</i> , 2010; Cui <i>et al.</i> , 2010; Im <i>et al.</i> , 2010c; Kim <i>et al.</i> , 2010b; Srinivasan <i>et al.</i> , 2010d; An <i>et al.</i> , 2011; Wang <i>et al.</i> , 2011b; Cui <i>et al.</i> , 2012; Kim <i>et al.</i> , 2012a; Kim <i>et al.</i> , 2012b; Lee <i>et al.</i> , 2012; Kim <i>et al.</i> , 2013d; Hoang <i>et al.</i> , 2014; Lee <i>et al.</i> , 2014; Siddiqi <i>et al.</i> , 2014; Zhang <i>et al.</i> , 2014; Hoang <i>et al.</i> , 2015b; Kim <i>et al.</i> , 2015; Nguyen <i>et al.</i> , 2015c; Lee <i>et al.</i> , 2016.
4	<i>Firmicutes</i> (20)	Baek <i>et al.</i> , 2006; Ten <i>et al.</i> , 2006b; Ten <i>et al.</i> , 2006c; Lee <i>et al.</i> , 2007b; Park <i>et al.</i> , 2007; Ten <i>et al.</i> , 2007; Yoon <i>et al.</i> , 2007c; Yoon <i>et al.</i> , 2007d; Kim <i>et al.</i> , 2008e; Kim <i>et al.</i> , 2009c; Baek <i>et al.</i> , 2010; Kim <i>et al.</i> , 2010c; Baek <i>et al.</i> , 2011; Lee <i>et al.</i> , 2011; Nguyen <i>et al.</i> , 2013b; Choi & Cha, 2014; Huq <i>et al.</i> , 2015; Nguyen <i>et al.</i> , 2015d; Choi <i>et al.</i> , 2016.
5	<i>Armatimonadetes</i> (1)	Im <i>et al.</i> , 2012

Các loài mới phát hiện được phân loại và xếp nhóm vào 5 ngành lớn, bao gồm: *Proteobacteria* (48 loài – 31,6%), *Bacteroidetes* (49 loài – 32,2%), *Actinobacteria* (34 loài – 22,4%), *Firmicutes* (20 loài – 13,2%) và *Armatimonadetes* (01 loài - 0,7%). Trong đó, các ngành *Proteobacteria* và *Actinobacteria* có số loài được phát hiện nhiều nhất và đa dạng nhất trong đất (Aislabie *et al.*, 2013), thể hiện rõ nhất ở khả năng có thể nuôi cấy trên nhiều loại môi trường khác nhau.

Proteobacteria là nhóm vi sinh vật chuyển hóa và đều là các vi khuẩn Gram âm. Nhóm vi khuẩn đa dạng này bao gồm nhiều loài vi khuẩn cố định nitơ, vi khuẩn sulphat, vi khuẩn khử sắt. Trong khi đó, nhóm *Actinobacteria* là những vi khuẩn Gram dương, nuôi cấy được trên môi trường thuần khiết và trao đổi chất đa dạng. Xạ khuẩn và vi khuẩn dạng hạt thuộc nhóm *Actinobacteria* hầu hết được phân lập từ đất. Điểm đặc biệt là các loài mới được phát hiện thuộc ngành *Bacteroidetes* có rất nhiều trong đất

trồng sâm mặc dù ngành *Bacteroidetes* chỉ chiếm phần nhỏ trong đất nói chung (Aislabie *et al.*, 2013), điều đó chứng tỏ đất trồng sâm ở Hàn Quốc là môi trường thích hợp cho một số loài thuộc ngành *Bacteroidetes* phát triển và những loài này khá dễ phân lập trên các môi trường nuôi cấy giàu dinh dưỡng. Đặc điểm quan trọng nhất của các loài mới thuộc ngành *Bacteroidetes* là chúng có khả năng chuyển hóa ginsenosides – hoạt chất chính trong rễ củ sâm. *Bacteroidetes* là nhóm có sinh khối phân tử cao, một số thành viên của nhóm này có thể là các vi khuẩn hiếu khí, kỵ khí hay kỵ khí không bắt buộc, chính vì vậy số lượng loài thuộc nhóm này khi phân lập phụ thuộc vào lượng oxy có mặt trong đất (Jane, 2006). Các loài mới thuộc ngành *Firmicutes* được công bố trong đất trồng sâm đều thuộc nhóm vi khuẩn hình que và dễ phân lập. *Firmicutes* là nhóm vi khuẩn Gram dương có thành phần G+C thấp, nuôi cấy được trên môi trường thuần khiết và trao đổi chất đa dạng. Nhóm này chứa vi khuẩn dạng nội bào tử, vi khuẩn lactic và cầu khuẩn (Zhang, Xu, 2008).



Hình 1. Quy trình chung trong phân loại và định danh loài vi khuẩn mới phân lập từ đất trồng sâm. MALDI-TOF (Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization- Time of Flight): ion hóa mẫu hấp thụ dựa trên sự hỗ trợ của các chất nền và năng lượng laser với đầu dò khối phổ thời gian bay. GC mol%: tỷ lệ hàm lượng của guanine và cytosine trên tổng lượng DNA của bộ gen.

PHÂN LẬP VÀ ĐỊNH DANH LOÀI VI KHUẨN MỚI TỪ ĐẤT TRỒNG SÂM

Để nghiên cứu vi khuẩn từ đất trồng sâm, các nhà khoa học đã sử dụng phương pháp tiếp cận nhiều pha để tiến hành xác định phân loại chính xác chủng phân lập (Ten *et al.*, 2006b; Ten *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2007a; Kim *et al.*, 2008c; Kim *et al.*, 2009a,c; Liu *et al.*, 2009; Weon *et al.*, 2009; Nguyen *et al.* 2013b; Siddiqi *et al.*, 2016). Quy trình thực hiện được thể hiện trong Hình 1.

Sự kết hợp các kết quả nghiên cứu về đặc điểm hình thái khuẩn lạc/tế bào, đặc điểm sinh hóa, chuyên hóa, giải mã trình tự gen 16S rRNA... là cơ sở xác định loài mới phân lập được.

Môi trường phân lập

Môi trường thường được sử dụng trong nuôi cấy phân lập vi khuẩn trong đất trồng sâm bao gồm môi trường nguyên hoặc pha loãng Reasoner's 2A agar (R2A), Luria-Bertani agar (LB), marine agar (MA), nutrient agar (NA), tryptic soy agar (TSA), xylan nutrient agar và glucose yeast peptone agar (GYPA). Thành phần môi trường được miêu tả cụ thể trong Bảng 2.

Trong các môi trường được sử dụng để phân lập vi khuẩn từ đất trồng sâm thì môi trường pha loãng R2A được dùng nhiều hơn cả. Môi trường R2A được phát triển từ năm 1985 (Reasoner, Geldreich, 1985), lợi thế của môi trường này là nghèo về lượng nhưng đủ thành phần chất dinh dưỡng cho nhiều loại vi khuẩn có thể phát triển. Vi khuẩn mọc trên môi trường pha loãng R2A đa dạng về hình thái hơn so với các môi trường khác.

Bảng 2. Môi trường sử dụng trong nuôi cấy phân lập vi khuẩn từ đất trồng sâm.

TT	Môi trường	Thành phần (g/L)	TLTK
1	R2A	Proteose peptone - 0,5; casamino acids - 0,5; cao nấm men - 0,5; dextrose - 0,5; tinh bột hòa tan - 0,5; K ₂ HPO ₄ - 0,3; MgSO ₄ .7H ₂ O - 0,005; sodium pyruvate - 0,3; thạch - 15,0	Yang <i>et al.</i> , 2005; Lee <i>et al.</i> , 2006; Kim <i>et al.</i> , 2011a; Siddiqi <i>et al.</i> , 2015; Zhao <i>et al.</i> , 2016.
	R2A pha loãng 5 lần		Liu <i>et al.</i> , 2006; Yoon & Im, 2007; Jin <i>et al.</i> , 2014; Nguyen <i>et al.</i> , 2015a; Zhang <i>et al.</i> , 2016.
	R2A pha loãng 10 lần		Ten <i>et al.</i> , 2006a; Kim <i>et al.</i> , 2008c; Srinivasan <i>et al.</i> , 2010a; Lee <i>et al.</i> , 2011; Kim <i>et al.</i> , 2013b.
2	Luria-Bertani (LB)	tryptone - 10,0; cao nấm men - 5,0; NaCl - 5,0; thạch - 15,0	Zhang <i>et al.</i> , 2015
3	Marine agar (MA)	peptone - 5,0; cao nấm men - 1,0; ferric citrate - 0,1; NaCl - 19,45; MgCl ₂ - 8,8; Na ₂ SO ₄ - 3,24; CaCl ₂ - 1,8; KCl - 0,55; NaHCO ₃ - 0,16; KBr - 0,08; SrCl ₂ - 34,0mg; H ₃ BO ₃ - 22,0mg; Na ₂ O ₃ Si - 4,0mg; NaF 2,4mg; NaNO ₃ - 1,6mg; Na ₂ HPO ₄ - 8,0mg	Zhang <i>et al.</i> , 2015
4	Nutrient agar (NA):	cao thịt - 3,0; peptone - 5,0; thạch - 15,0	Park <i>et al.</i> , 2005; Hoang <i>et al.</i> , 2015a; Singh <i>et al.</i> , 2016a.
	Nutrient agar (NA) pha loãng 10 lần		Kim <i>et al.</i> , 2012b; Lee & Whang 2014.
5	Tryptic soy agar (TSA)	tryptone - 17,0; soytone - 3,0; dextrose - 2,5; NaCl - 5,0; K ₂ HPO ₄ - 2,5; thạch - 15,0.	Hoang <i>et al.</i> , 2014; Son <i>et al.</i> , 2014a; Zhang <i>et al.</i> , 2014.
6	Xylan nutrient agar	tryptone - 0,02; cao nấm men - 0,02; cao mạch nha - 0,02; cao thịt bò - 0,02; casamino acid - 0,02; soytone - 0,02; xylan - 1,0; sodium pyruvate - 0,1; K ₂ HPO ₄ - 0,3; MgSO ₄ - 0,05; CaCl ₂ - 0,05; thạch - 15,0.	An <i>et al.</i> , 2011; Zhang <i>et al.</i> , 2014.
7	Glucose peptone agar (GYPA)	yeast glucose - 4,0; cao nấm men - 5,0; peptone - 10,0; thạch - 20,0; bổ sung thêm 150 mg/l cycloheximide; pH 4,5	Farh Mel <i>et al.</i> , 2015

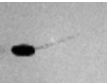
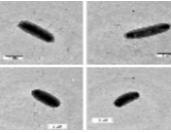
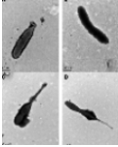
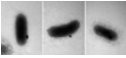
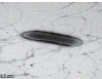
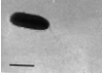
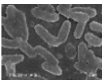

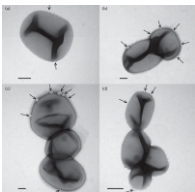
Đặc điểm kiểu hình và sinh hóa của các loài vi khuẩn mới phân lập từ đất trồng sâm

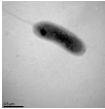

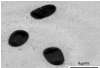
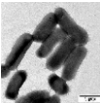
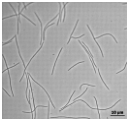

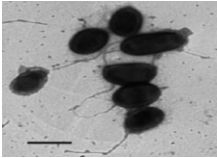
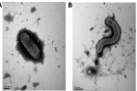
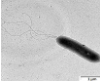

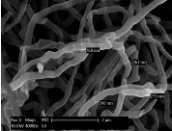
Hình thái khuẩn lạc, tế bào và tiên mao

Đặc điểm hình thái điển hình của một số chủng được tổng kết trong Bảng 3. Đặc điểm khuẩn lạc được quan sát bằng mắt thường về hình dạng, màu sắc, mặt chiếu, trạng thái bề mặt (trơn bóng hay thô ráp xù xì), đặc điểm quang học hay kích thước sau

một thời gian nuôi cấy xác định trên một môi trường nhất định. Hình thái tế bào: có dạng hình cầu, que ngắn đến hình que dài. Các tế bào sắp xếp đơn, đôi, chuỗi hoặc nhóm, hoặc có trường hợp đặc biệt như tế bào của *Caulobacter ginsengisoli* Gsoil317^T có cuống ở cực của tế bào (Liu *et al.*, 2010). Trong các loài phân lập từ đất trồng sâm thì có rất ít loài có lông roi mọc quanh tế bào, có một chùm lông roi mọc ở một cực hay có một lông roi phân cực.

Bảng 3. Hình thái khuẩn lạc và tế bào của một số chủng vi khuẩn phân lập từ đất trồng sâm.

Chủng	Hình thái khuẩn lạc	Hình thái tế bào
<i>Burkholderia ginsengisoli</i> KMY03 ^T (Kim <i>et al.</i> , 2006b)	Tròn lồi, có màu kem trên môi trường R2A	Hình que ngắn, di chuyển bởi tiên mao loại lophotrichous 
<i>Castellaniella ginsengisoli</i> DCY36 ^T (Kim <i>et al.</i> , 2009a)	Tròn lồi, trơn, có màu vàng trên môi trường R2A.	Hình que ngắn và dài, có lông roi loại peritrichous. 
<i>Caulobacter ginsengisoli</i> Gsoil 317 ^T (Liu <i>et al.</i> , 2010)	Tròn lồi, trong suốt, có màu vàng trên môi trường R2A.	Hình que thẳng hoặc hơi uốn cong, lưỡng hình, có các tế bào di chuyển bởi lông roi loại monotrichous, hoặc các tế bào có cuống ở cực tế bào 
<i>Chryseobacterium panacis</i> DCY107 ^T (Singh <i>et al.</i> , 2016a)	Tròn lồi, trơn, đục, có màu vàng trên môi trường R2A.	Hình que ngắn và dài, không có lông roi 
<i>Cohnella saccharovorans</i> CJ22 ^T (Choi <i>et al.</i> , 2016).	Tròn lồi, mép nhẵn, màu trắng kem trên môi trường R2A.	Hình que, có tiên mao loại peritrichous. 
<i>Dokdonella ginsengisoli</i> Gsoil 191 ^T (Ten <i>et al.</i> , 2009a)	Tròn lồi, trơn, màu vàng.	Hình que ngắn 
<i>Flavisolibacter ginsenosidimutans</i> Gsoil 492 ^T (Zhao <i>et al.</i> , 2015)	Tròn lồi, trơn, đục, màu vàng trên môi trường R2A	Hình que ngắn 
<i>Flavobacterium notoginsengisoli</i> SYP-B540 ^T (Zhang <i>et al.</i> , 2015)	Tròn, mép phân thủy, màu vàng trên môi trường LB.	Hình que dài 
<i>Labrys soli</i> DCY64 ^T (Nguyen <i>et al.</i> , 2015b)	Tròn dẹt, mép nguyên, trắng đục.	Hình cầu hoặc que ngắn, có các bọt xung quanh tế bào. Tế bào xếp dạng đơn, đôi, hoặc dạng budding. 

<i>Lysobacter panacisoli</i> CJ29 ^T (Choi <i>et al.</i> , 2014)	Tròn, mép nhẵn, trơn, đục, màu vàng tươi trên môi trường R2A.	Hình que	
<i>Luteimonas notoginsengisoli</i> SYP-B804 ^T (Cheng <i>et al.</i> , 2015)	Màu vàng	Hình que thẳng hoặc cong, có 1 lông roi loại monotrichous.	
<i>Microbacterium ginsengiterrae</i> DCY37 ^T (Kim <i>et al.</i> , 2010b)	Tròn, hơi lồi, vàng nhạt trên môi trường R2A.	Hình que ngắn	
<i>Niabella ginsengisoli</i> GR10-1 ^T (Weon <i>et al.</i> , 2009)	Tròn lồi, mép nhẵn, màu vàng đến màu cam nhạt.	Hình que ngắn hoặc dài, có lớp nhung mao bao quanh tế bào.	
<i>Niastella koreensis</i> G20-10 ^T (Weon <i>et al.</i> , 2006)	Màu vàng nhạt	Tế bào dạng sợi.	
<i>Paenibacillus panacisoli</i> Gsoil 1411 ^T (Ten <i>et al.</i> , 2006b)	Tròn lồi, mép gợn sóng, không bóng, màu vàng nhạt trên môi trường R2A.	Hình que dài, có tiên mao dạng peritrichous.	
<i>Panacagrionas perspica</i> Gsoil 142 ^T (Im <i>et al.</i> , 2010a)	Hình dạng bất định, dẹt, trơn, màu trắng trên môi trường R2A.	Hình que ngắn, có tiên mao loại monotrichous.	
<i>Ramlibacter ginsenosidimutans</i> BXN5-27 ^T (Wang <i>et al.</i> , 2012)	Tròn, trơn, màu vàng trên môi trường 1/10 TSA.	Hình que thẳng hoặc cong, có tiên mao loại peritrichous.	
<i>Rhodanobacter soli</i> DCY45 ^T (Bui <i>et al.</i> , 2010)	Tròn, màu vàng nâu trên môi trường R2A.	Hình que, có tiên mao loại lophotrichous	
<i>Sinomonas notoginsengisoli</i> SYP-B575 ^T (Zhang <i>et al.</i> , 2014)	Tròn lồi, màu vàng nhạt trên môi trường LB.	Hình que cong.	
<i>Streptomyces panacagri</i> Gsoil 519 ^T (Cui <i>et al.</i> , 2012)	Màu mù tạt và sản sinh khuẩn ty bề mặt, khuẩn ty khí sinh sau 7 ngày trên môi trường ISP 2.	Cuống bào tử thẳng hoặc lượn sóng, bề mặt bào tử nhẵn.	

Khả năng sinh bào tử

Một số nghiên cứu đã cho thấy nhiều chủng mới phân lập có khả năng sinh bào tử. Bào tử chỉ thấy có dạng hình ovan nằm tự do hoặc nội bào tử nằm ở vị

trí trung tâm hoặc phần đầu của tế bào trong túi bào tử phồng ra như *Bacillus* (Ten *et al.*, 2006c; Ten *et al.*; 2007; Nguyen *et al.*, 2013b; Choi & Cha, 2014), *Brevibacillus* (Baek *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2009c),

Paenibacillus (Ten *et al.*, 2006b; Lee *et al.*, 2007b; Park *et al.*, 2007; Yoon *et al.*, 2007d; Kim *et al.*, 2008e; Baek *et al.*, 2010; Huq *et al.*, 2015; Nguyen *et al.*, 2015c), *Cohnella* (Yoon *et al.*, 2007c; Kim *et al.*, 2010c; Choi *et al.*, 2016), *Fontibacillus* (Lee *et al.*, 2011) và *Tumebacillus* (Baek *et al.*, 2011).

Đặc điểm sinh lý

Các đặc điểm sinh lý của vi khuẩn được kiểm tra dựa trên: phản ứng nhuộm Gram; kiểu hô hấp; loại môi trường (cơ chất) sử dụng, khoảng pH, khoảng nhiệt độ và nồng độ muối mà vi khuẩn có thể sinh trưởng và phát triển. Ngoài ra còn có một số phản ứng khác như tạo chất màu huỳnh quang tan trong nước (Park *et al.*, 2005) hay khả năng sử dụng môi trường King's B agar.

Đặc điểm sinh hóa

Việc nghiên cứu về các đặc điểm sinh hóa được thực hiện đồng thời với loài phân lập và loài đã biết để so sánh nhằm đánh giá mức độ tương đồng và khác nhau.

Phản ứng sinh hóa cơ bản được tiến hành riêng rẽ bao gồm phản ứng oxidase, catalase, Voges-Proskauer, khả năng thủy phân một số cơ chất như

esculine, DNA, cellulose, gelatin, casein, tinh bột, tyrosine, carboxymethylcellulose, chitin, xylan, pectin, ure, Tween 20, 40, và 80.

Các phản ứng sinh hóa khác được tiến hành với các bộ kit như API 50CH, API 20E, API 20NE, API 32GN, API ZYM (bioMérieux) hoặc Biolog GN2 (Biolog). Ngoài ra, khả năng kháng kháng sinh của loài phân lập thường được kiểm tra bằng một số loại kháng sinh thông dụng.

Hóa phân loại

Các nghiên cứu đã tiến hành phân tích các thành phần hóa của tế bào vi khuẩn như quinone, acid béo, lipid phân cực, đường tế bào, peptidoglycan và polyamine. Thông thường mỗi họ hoặc giống có những đặc điểm hóa phân loại chung nhất định, do vậy chúng phân lập khi đã phân loại sơ bộ thuộc cùng một giống thì phải có những đặc điểm chung đó. Tuy nhiên chúng phân lập được coi là loài mới khi có những đặc điểm riêng biệt của nó. Để thuận lợi cho những nghiên cứu sau này đối chiếu kết quả, chúng tôi tổng kết đặc điểm hóa phân loại của một số giống chính (có từ 3 loài mới trở lên) trong Bảng 4.

Bảng 4. Tổng hợp một số thành phần chính trong hóa phân loại của một số giống vi khuẩn chính được phân lập trong đất trồng sấm.

Chi	Quinone	Acid béo	Lipid phân cực	Đường tế bào	Peptidoglycan	Polyamine	%G+C
<i>Bacillus</i> (Ten <i>et al.</i> , 2006c; Choi & Cha, 2014)	MK-7	iso-C _{14:0} , iso-C _{15:0} , iso-C _{16:0} , anteiso-C _{15:0} , và anteiso-C _{17:0}	DPG, PG, PE.	ND	Loại A4a L-Lys-D-Glu, meso-DAP	ND	35.1-49.9
<i>Burkholderia</i> (Kim <i>et al.</i> , 2006b; Yoo <i>et al.</i> , 2007a; Farh <i>et al.</i> , 2015)	Q-8	C _{16:0} , C _{17:0} cyclo, C _{18:1} ω7c, C _{19:0} cyclo ω8c, C _{14:0} 3-OH và/hoặc C _{16:1} iso I, C _{16:1} ω6c và/hoặc iso-C _{15:0} 2-OH	PE, AL, PL.	ND	ND	Putrescine.	59.4-66.0
<i>Chitinophaga</i> (An <i>et al.</i> , 2007c; Lee & Whang, 2014)	MK-7	iso-C _{15:0} , C _{16:1} ω5c	PE, APL, PL.	ND	ND		43.2-48.4
<i>Chryseobacterium</i> (Nguyen <i>et al.</i> , 2013a; Singh <i>et al.</i> , 2016a)	MK-6, MK7	C _{16:0} , iso-C _{15:0} , iso-C _{17:0} 3-OH, C _{16:1} ω7c và/hoặc C _{16:1} ω6c, iso-C _{17:1} ω9c và/hoặc C _{16:0} 10-methyl	PE, AL.	ND	ND	sym-homospermidine.	31.6-36.1
<i>Cohnella</i> (Yoon <i>et al.</i> , 2007c; Choi <i>et al.</i> , 2016)	MK-7, MK-6	Anteiso-C _{15:0} , iso-C _{16:0} , C _{16:0}	DPG, PG, PE, lysyl-PG, APL, PL.	ND	meso-DAP	ND	53.4-63.1
<i>Flavisolibacter</i> (Yoon & Im, 2007; Zhao <i>et al.</i> , 2015)	MK-7	iso-C _{15:0} , iso-C _{17:0} 3-OH, C _{16:1} ω7c và/hoặc C _{16:1} ω6c	ND	ND	ND	ND	42.7-48.9

<i>Flavobacterium</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2015; Jung <i>et al.</i> , 2016)	MK-6	C _{15:0} , C _{16:0} , iso-C _{15:0} 3-OH, C _{17:0} 3-OH, C _{16:1} ω7c và/hoặc C _{16:1} ω6c	PE, AL.	ND	ND	Homospermidine	32.1-36.1
<i>Lysobacter</i> (Lee <i>et al.</i> , 2006; Ten <i>et al.</i> , 2009b; Choi <i>et al.</i> , 2014)	Q-8	iso-C _{15:0} , iso-C _{16:0} , iso-C _{17:0} , iso-C _{17:1} ω9c	DPG, PG, PE, APL.	ND	ND	ND	65.4-69.3
<i>Microbacterium</i> (Park <i>et al.</i> , 2008; Kim <i>et al.</i> , 2010b; Hoang <i>et al.</i> , 2015b)	MK-10, MK-11, MK-12 MK13	iso-C _{15:0} , iso-C _{16:0} , anteiso-C _{15:0} , anteiso-C _{17:0}	DPG, PG, AL, GL.	Rhamnose, ribose, xylose, galactose, glucose	Orn, ala, gly, glu, ser, asp.	ND	63.6-70.2
<i>Niastella</i> (Weon <i>et al.</i> , 2006)	MK-7	iso-C _{15:0} , iso-C _{15:1} G, iso-C _{17:0} 3-OH	ND	ND	ND	ND	43.0-45.8
<i>Nocardiooides</i> (An <i>et al.</i> , 2007b; Cho <i>et al.</i> , 2010; Kim <i>et al.</i> , 2013)	MK-8(H4)	C _{16:0} , C _{18:0} , iso-C _{16:0} , iso-C _{17:0} , C _{18:1} ω9c, C _{17:1} ω8c	DPG, PG, PI.	ND	LL-DAP	ND	70.2-73.0
<i>Paenibacillus</i> (Ten <i>et al.</i> , 2006b; Kim <i>et al.</i> , 2008e; Nguyen <i>et al.</i> , 2015c)	MK-7	C _{16:0} , iso-C _{15:0} , iso-C _{16:0} , anteiso-C _{15:0} , anteiso-C _{17:0}	DPG, PE, APL, PL.	ribose, mannose, glucose	meso-DAP, ala, glu.	ND	48.1-60.7
<i>Pedobacter</i> (Yoon <i>et al.</i> , 2007b; Yang <i>et al.</i> , 2013; Singh <i>et al.</i> , 2016b)	MK-7	C _{16:0} , iso-C _{15:0} 2-OH, iso-C _{17:0} 3-OH.	PE, APGL.	ND	ND	ND	39.0-44.2
<i>Pseudoxanthomonas</i> (Yang <i>et al.</i> , 2005; Yoo <i>et al.</i> , 2007b)	Q-8	iso-C _{15:0} , iso-C _{16:0} , iso-C _{17:0} , iso-C _{17:1} ω9c, iso-C _{11:0} 3-OH	ND	ND	ND	ND	63.4-69.5
<i>Rhodanobacter</i> (An <i>et al.</i> , 2009; Wang <i>et al.</i> , 2011; Kim <i>et al.</i> , 2013a)	Q-8	iso-C _{15:0} , iso-C _{16:0} , iso-C _{17:0} , iso-C _{17:1} ω9c, 10-methyl C _{16:0}	ND	ND	ND	ND	61.0-65.6
<i>Sphingomonas</i> (Choi <i>et al.</i> , 2010; Son <i>et al.</i> , 2013; Ahn <i>et al.</i> , 2015b)	Q-10	C _{16:0} , C _{14:0} 2-OH, C _{17:1} ω6c, C _{18:1} ω7c, C _{16:1} ω6c và/hoặc iso-C _{15:0} 2-OH, C _{16:1} ω7c và/hoặc C _{16:1} ω6c C _{18:1} ω7c và/hoặc C _{18:1} ω6c	DPG, PG, PE, SGL, PC, AL, GL, PL.	ND	ND	sym-Homospermidine	63.9-72.2
<i>Sphingopyxis</i> (Lee <i>et al.</i> , 2008a; Srinivasan <i>et al.</i> , 2010c)	Q-10	C _{16:0} , C _{14:0} 2-OH, C _{17:1} ω6c, C _{18:1} ω7c, C _{16:1} ω7c và/hoặc iso-C _{15:0} 2-OH, C _{16:1} ω6c và/hoặc iso-C _{15:0} 2-OH, C _{19:1} ω6c và/hoặc 18.864	DPG, PG, PE, PC, SGL, GL.	ND	ND	ND	62.3-69.2

Chú thích: MK, menaquinone; Q, ubiquinone; PE, phosphatidylethanolamine; DPG, diphosphatidylglycerol; PG, phosphatidylglycerol; AL, aminolipid; APL, aminophospholipid; APGL, aminophosphoglycolipid; GL, glycolipid; lysyl-DPG, lysyl-diphosphatidylglycerol; PL, phospholipid; PI, phosphatidylinositol; PC, phosphatidylcholine; SGL, sphingoglycolipid; L-Lys, L-lysine; D-Glu, D-glutamic acid; meso-DAP, meso-diaminopimelic acid; orn, ornithine; ala, alanine; gly, glycine; ser, serine; asp, aspartic acid; LL-DAP, LL- diaminopimelic acid. ND, không xác định.

Phân tích hợp chất quinone

Isoprenoid quinone là thành phần cấu tạo của màng tế bào sinh vật nhân sơ với chức năng quan trọng là vận chuyển electron. Có 2 loại quinone là

menaquinone và ubiquinone. Menaquinone là hợp chất 2-methyl-3-phytyl-1,4-naphthoquinone có 1 nhánh thẳng polyprenyl có chiều dài khác nhau và được viết tắt là MK-n (trong đó n là số đơn vị isoprenyl). Sự bão hòa hay sự hydrogen hóa

menaquinone được thể hiện dưới dạng viết tắt MK- $n(H_n)$ trong đó n là số hydro trong mạch nhánh. Ubiquinone là hợp chất 2,3-dimethoxy-5-methyl-1,4-benzoquinone có 1 nhánh thẳng polyprenyl có chiều dài khác nhau và được viết tắt là Q- n (trong đó n là số đơn vị isoprenyl). Quinone được tách chiết theo phương pháp của Collins & Jones (1981) hoặc Hiraishi *et al.* (1996) và phân tích bằng HPLC theo phương pháp của Shin *et al.* (1996). Đặc điểm quinone của các loài rất đa dạng, ví dụ loài *Chitinophaga ginsengihumi* (Lee & Whang, 2014) có MK7 nhưng loài *Microbacterium ginsengiterrae* có MK12 và MK13 (Kim *et al.*, 2010b).

Phân tích thành phần lipid phân cực/các acid béo

Các lipid phân cực có mặt trong tất cả các sinh vật nhân sơ. Các vi khuẩn thường chứa các phospholipid, aminolipid, glycolipid... Các lipid phân cực được tách chiết và chạy sắc kí bản mỏng 2 chiều theo phương pháp của Minnikin *et al.* (1977). Một số loài có Sphingolipids thì được chiết tách và phân tích theo phương pháp của Dees *et al.* (1985). Thông thường người ta tiến hành phân tích các lipid phân cực của loài phân lập cùng với một số loài đã biết gần nó nhất để so sánh.

Các acid béo là thành phần cấu tạo chính của lipid và lipopolysaccharide và được sử dụng rộng rãi trong mục đích phân loại. Có hơn 300 cấu trúc các acid béo được xác định. Vi khuẩn có lượng lớn các chuỗi acyl béo bao gồm các acid béo mạch thẳng no và không no, các chất béo có nhánh iso- và anteiso, các chất béo có nhánh trong, các chất béo có nhóm hydroxy, cyclopropane, nhóm vòng omega... Các acid béo được saponin hóa, methyl hóa và tách chiết theo phương pháp chuẩn chung Sherlock Microbial Identification System (Sasser, 1990) hoặc có một số thay đổi như phương pháp của Kämpfer & Kroppenstedt (1996), sau đó được phân tích bằng hệ thống GC với hệ thống thư viện các acid béo để có thể xác định các loại acid béo có trong vi khuẩn.

Việc tiến hành phân tích các acid béo có trong thành phần của loài phân lập và các loài gần nó phải được tiến hành đồng thời từ môi trường nuôi cấy đến saponin hóa, methyl hóa, tách chiết và chuyển hóa.

Phân tích đường tế bào và peptidoglycan

Peptidoglycan là hình thức lớp ngoài của màng nguyên sinh, có chức năng định dạng hình dạng của tế bào và ngăn chặn hiện tượng thẩm thấu. Peptidoglycan chiếm khoảng 30-70% thành tế bào của vi khuẩn Gram dương và rất đa dạng, chính vì vậy phân tích

thành phần peptidoglycan rất quan trọng khi phân loại các vi khuẩn Gram dương. Trước hết peptidoglycan được tách từ màng tế bào rồi được thủy phân thành các amino acid, các amino acid được phát hiện bằng cách chạy trên tấm sắc kí bản mỏng với các chất chuẩn (Komagata & Suzuki, 1987) hoặc bằng hệ thống GC và GC-MS (MacKenzie, 1986). Ví dụ: chủng *Cohnella saccharovorans* CJ22^T chứa acid meso-diaminopimelic trong peptidoglycan (Choi *et al.*, 2016), chủng *Microbacterium ginsengiterrae* DCY37^T có peptidoglycan dạng B2 β chứa amino acid đôi là ornithine (Kim *et al.*, 2010b), chủng *Microbacterium ginsengisoli* Gsoil 633^T có chứa acid LL-2,6-diaminopimelic trong thành peptidoglycan tế bào (Cui *et al.*, 2007).

Trong dịch thủy phân toàn tế bào vi khuẩn có rất nhiều loại đường. Các đường này cấu tạo nên polysaccharides thành tế bào. Đường tế bào được tách chiết và phân tích theo phương pháp của Stanek & Roberts (1974). Ví dụ: chủng *Paenibacillus panaciterrae* DCY95^T có ribose, mannose và glucose cấu tạo nên đường tế bào (Nguyễn Ngọc Lan *et al.*, 2015c), chủng *Microbacterium rhizomatis* DCY100^T có thành phần đường tế bào bao gồm glucose, galactose, rhamnose và ribose (Hoang *et al.*, 2015b).

Phân tích đường tế bào và peptidoglycan được tiến hành chủ yếu với vi khuẩn Gram dương vì chúng có lớp peptidoglycan dày hơn nhiều so với vi khuẩn Gram âm.

Polyamine

Các polyamine được phát hiện trong tế bào vi khuẩn bao gồm putrescine, spermidine, spermine, 2-hydroxyputrescine, và sym-homospermidine... Polyamines được tách chiết và phân tích theo phương pháp của (Busse & Auling, 1988; Taibi *et al.*, 2000) hoặc Schenkel *et al.* (1995). Mỗi một giống lại có thành phần các polyamine đặc trưng. Các loài khác nhau thì tỷ lệ các polyamine có thể giống nhau hoặc khác nhau. Chủng *Chryseobacterium ginsengisoli* DCY63^T có sym-homospermidine là thành phần polyamine chính (Nguyen *et al.*, 2013a). Chủng *Paracoccus panacisoli* DCY94^T có thành phần polyamine chính là putrescine và spermidine (Nguyen *et al.*, 2015a).

Phân tích protein bằng kỹ thuật MALDI-TOF (ion hóa mẫu hấp thụ dựa trên sự hỗ trợ của các chất nền và năng lượng laser)

MALDI-TOF là một kỹ thuật quan trọng trong

phân loại vi khuẩn thời gian gần đây, được thực hiện bằng cách ghi nhận các dải quang phổ và phân tích các dải quang phổ với cơ sở dữ liệu có sẵn. MALDI-TOF sẽ cung cấp một mô hình dạng m/z của protein, trong đó m là khối, z là phân cực điện của protein. Quá trình chuẩn bị mẫu và phân tích MALDI-TOF được tiến hành theo Mellmann *et al.* (2008). Một số nghiên cứu (Hoang *et al.*, 2013c; Kim *et al.*, 2013b; Nguyen *et al.*, 2013b; Nguyen *et al.*, 2015d) đã tiến hành phân tích MALDI-TOF của chủng phân lập với chủng tham khảo gần nó nhất thì đều cho kết quả là dữ liệu protein khác nhau.

Định danh các loài vi khuẩn phân lập từ đất trồng sâm sử dụng phương pháp sinh học phân tử

Giải mã trình tự gen 16S rRNA

Trước hết gen 16S rRNA được khuếch đại với các cặp mồi phổ thông như 9F hoặc 27F và 1492R (Lane, 1991), hoặc 9F và 1512R (Weisburg *et al.*, 1991), hoặc A8-27f và B1523-1504r (Cui *et al.*, 2001). Sản phẩm của quá trình khuếch đại được tinh sạch và xác định trình tự trực tiếp hoặc qua bước tạo dòng trong vector.

Sau khi giải mã trình tự và so sánh cặp đôi với các đoạn gen của các loài đã được công bố trên GenBank sử dụng chức năng BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) (Johnson *et al.*, 2008) hoặc trên cơ sở dữ liệu của Eztaxon-e server (<http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>) (Kim *et al.*, 2012c), dựa trên mức độ tương đồng trình tự gen và kết quả lai phân tử DNA-DNA sẽ xác định tính mới của loài phân lập được (Wayne *et al.*, 1987).

Xây dựng cây phát sinh chủng loại

Xây dựng cây phát sinh chủng loại thường được thực hiện trên chương trình MEGA (hiện tại chương trình này đã có vesion MEGA7). Trong chương trình MEGA, có nhiều cách tính khoảng cách tiến hóa như Jukes Cantor (1969), Kimura two-parameter model (Kimura, 1980), Tamura-Nei model (Tamura & Nei, 1993)... Phương pháp tiến hóa được sử dụng xây dựng cây phát sinh chủng loại thường dùng bao gồm phương pháp Neighbour-joining (Saitou & Nei, 1987), Maximum-likelihood (Felsenstein, 1993), Maximum-parsimony (Fitch, 1972). Phân tích bootstrap thường với 1000 sự lặp lại được thực hiện nhằm kiểm tra tính chính xác và độ tin cậy cho từng nhánh trong cây phát sinh chủng loại (Felsenstein, 1985).

Tính hàm lượng % G+C

Thành phần % G+C được xác định theo phương

pháp biến tính nhiệt (Marmur & Doty, 1962) hoặc theo phương pháp sử dụng các enzyme và HPLC của Mesbah *et al.* (1989) hoặc Tamaoka & Komagata (1984) với *E. coli* K-12 làm đối chứng. Mỗi một giống có một dải thành phần % G+C giới hạn nhất định được miêu tả ở dạng loài của giống. Nếu loài phân lập có giá trị % G+C nằm trong hoặc gần khoảng giới hạn hoặc của giống hoặc của nhóm loài gần nhất với loài phân lập thì có thể chấp nhận được. Ví dụ dải % G+C của giống *Fontibacillus* là từ 41,9 đến 45,8 (Lee *et al.*, 2011).

Lai DNA

Lai phân tử DNA là phép so sánh thô toàn bộ hệ gen của các loài để xác định sự giống nhau của chúng. Lai phân tử được coi là chìa khóa vàng trong định danh vi khuẩn. Lai phân tử DNA được thực hiện theo phương pháp huỳnh quang của Ezaki *et al.* (1989) hoặc phương pháp lai lọc Seldin & Dubnau (1985). Giá trị lai phân tử DNA nhỏ hơn ngưỡng phân tách 2 loài 70% (theo mức giá định của Wayne *et al.*, 1987) thì chủng phân lập được coi là loài riêng biệt với các loài đã biết. Ví dụ, kết quả lai DNA của chủng *Chitinophaga ginsengihumi* SR18^T với các chủng gần nó nhất có giá trị từ 29-32% (Lee & Whang, 2014), hoặc của chủng *Kribbella ginsengisoli* Gsoil 001^T với các chủng khác của chi *Kribella* là 5-45% (Cui *et al.*, 2010).

Giải trình tự một số gen đặc trưng

Đối với một số giống, người ta còn giải trình tự các gen giữ nhà (house-keeping gene) để so sánh mức độ tương đồng giữa chủng phân lập với các chủng đã biết. Kim và cs (2006b) đã khuếch đại gen *nifH* (có định ni tơ) của chủng vi khuẩn *Burkholderia ginsengisoli* KMY03^T sử dụng mồi PolF-PolR (Poly *et al.*, 2001). Các gen *recA* và *gyrB* được khuếch đại từ các loài thuộc giống *Burkholderia* (Farh Mel *et al.*, 2015). Khuếch đại gen *rpoB* đối với các loài của giống *Nakamurella* (Kim *et al.*, 2012b) và *Paenibacillus* (Nguyen *et al.*, 2015c).

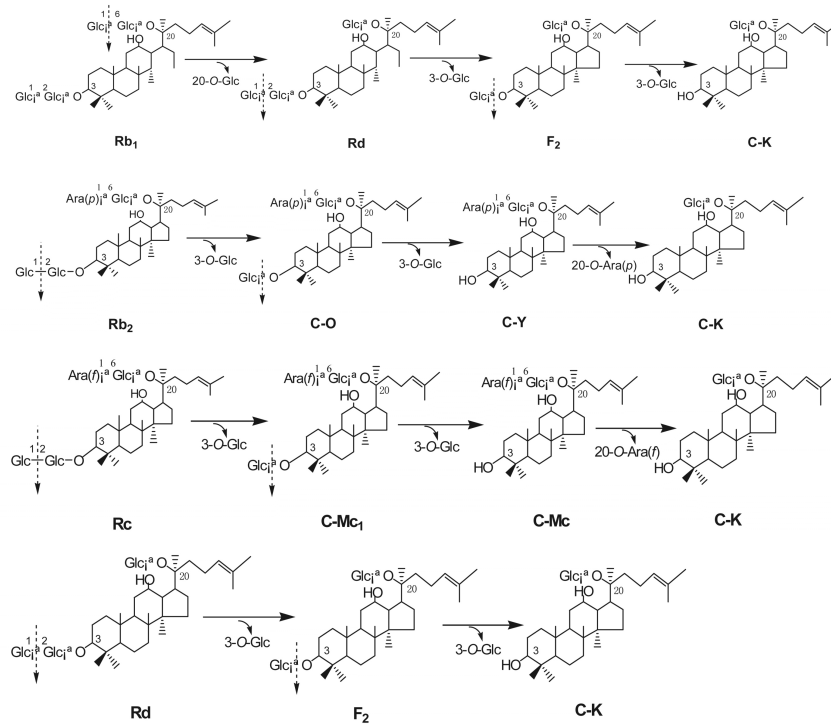
MỘT SỐ ỨNG DỤNG CỦA CÁC LOÀI VI KHUẨN MỚI ĐƯỢC PHÂN LẬP TỪ ĐẤT TRỒNG SÂM

Chuyển hóa ginsenoside

Nhân sâm (*Panax ginseng*) là một trong những dược liệu quý theo y học cổ truyền phương Đông. Trong nghiên cứu Nhân sâm, người ta tập trung vào nghiên cứu tác dụng của các saponin Nhân sâm hay được gọi là các ginsenoside. Củ (thân rễ) sâm Ngọc

Linh có 26 loại ginsenoside (Le *et al.*, 2015). Các ginsenoside Rb1, Rb2, Rc, Re và Rg1 là các ginsenoside chính có trong củ sâm, chiếm tới 80% tổng số ginsenoside (Kim *et al.*, 1987). Trong khi đó các ginsenoside chiếm phần nhỏ như Rd, Rg3, Rh2, ginsenoside CK, F2 lại có hoạt tính dược học cao

hơn nhiều so với các ginsenoside chính. Có nhiều phương pháp chuyển hóa ginsenoside chính sang ginsenoside phụ, trong đó có phương pháp sử dụng vi sinh vật ví dụ như sử dụng enzyme từ chủng *Aspergillus niger* g.848 để chuyển hóa PPD-ginsenoside sang ginsenoside phụ (Liu *et al.*, 2015).



Hình 2. Con đường chuyển hóa các ginsenoside (Liu *et al.*, 2015).

Bảng 5. Các loài mới có khả năng chuyển hóa các dạng ginsenoside phân lập từ đất trồng sâm.

TT	Loài	Dạng ginsenoside chuyển hóa	Tài liệu tham khảo
1	<i>Anseongella ginsengsidimutans</i> Gsoil 524 ^T		(Siddiqi <i>et al.</i> , 2015)
2	<i>Novosphingobium ginsenosidimutans</i> FW-6 ^T		(Kim <i>et al.</i> , 2013)
3	<i>Paenibacillus ginsengiterrae</i> DCY89 ^T	Rb1 → Rd	(Huq <i>et al.</i> , 2015)
4	<i>Rhodanobacter panaciterrae</i> LnR5-47 ^T		(Wang <i>et al.</i> , 2011)
5	<i>Ramlibacter ginsenosidimutans</i> BXN5-27 ^T		(Wang <i>et al.</i> , 2012)
6	<i>Flavisolibacter ginsenosidimutans</i> G soil 636 ^T	Rb1 → F2	(Zhao <i>et al.</i> , 2015)
7	<i>Sphingobacterium ginsenosidimutans</i> THG 07 ^T	Rb1 → Rd → CK	(Son <i>et al.</i> , 2013)
8	<i>Chryseobacterium yeoncheonense</i> DCY67 ^T	Rb1 → F2 → CK	(Hoang <i>et al.</i> , 2013)
9	<i>Flavobacterium ginsenosidimutans</i> THG 01 ^T		(Yang <i>et al.</i> , 2011)
10	<i>Flavobacterium kyungheensis</i> THG-107 ^T		(Son <i>et al.</i> , 2013)
11	<i>Nocardioides panaciterrulae</i> Gsoil 958 ^T	Rb1/Rd → Gyp17 và F2	(Kim <i>et al.</i> , 2013)
12	<i>Flavobacterium panaciterrae</i> DCY69 ^T		(Jin <i>et al.</i> , 2014)
13	<i>Phycococcus ginsenosidimutans</i> BXN5-13 ^T	Rb1 → Rd và F2	(Wang <i>et al.</i> , 2011)
14	<i>Solirubrobacter ginsenosidimutans</i>		(An <i>et al.</i> , 2011)
15	<i>Mucilagibacter pocheonensis</i> Gsoil 032 ^T	PPD (Rb1, Rb2, Rc, và Rd) → CK	(Zhao <i>et al.</i> , 2016)
16	<i>Sphingomonas kyungheensis</i> THG-B283 ^T	Rb1 → Rd, F2 và CK	(Son <i>et al.</i> , 2013)

Các nghiên cứu phát hiện loài vi khuẩn mới có khả năng chuyển hóa các dạng ginsenoside được tổng kết trong Bảng 5. Con đường chuyển hóa các ginsenoside của các chủng này tương tự như miêu tả của Liu và cs (2015) (Hình 2). Sự hiện diện của các chủng vi khuẩn này trong đất trồng sâm có thể liên quan đến khả năng tăng hàm lượng các ginsenoside hoạt tính cao trong củ sâm.

Sinh chất kích thích sinh trưởng thực vật

Vi khuẩn có khả năng sinh chất kích thích sinh trưởng thực vật được chú ý nhiều trong các nghiên cứu về vi sinh vật đất. Tuy nhiên vấn đề này mới được quan tâm trong nghiên cứu về vi khuẩn phân lập từ đất trồng sâm trong thời gian gần đây. Các chủng *Microbaterium panaciterrae* DCY56^T, *Sphingomonas panaciterrae* DCY91^T có khả năng sinh IAA, siderophore và hòa tan phosphate. Đặc biệt chủng *Paracoccus panacisoli* DCY94^T (Nguyen *et al.*, 2015a) phân lập từ đất trồng sâm Việt Nam có khả năng sản xuất IAA rất cao (134,4±0,58 µg/ml) và còn có thể sản sinh siderophore.

Loại nấm gây bệnh phổ biến và gây tác hại lớn đối với cây sâm là *Cylindrocarpon destructans*. Nghiên cứu của Farh Mel *et al.* (2015) cho thấy có 2 chủng *Burkholderia ginsengiterrae* DCY85^T và *Burkholderia panaciterrae* DCY85-1^T có khả năng ngăn ngừa sự sinh trưởng của nấm *Cylindrocarpon destructans*.

Ngoài ra có chủng *Burkholderia ginsengisoli* KMY03^T có gen *nifH* và có khả năng sinh trưởng tốt trong môi trường không có nitơ (Kim *et al.*, 2006b).

TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU VÀ TRIỂN VỌNG ỨNG DỤNG Ở VIỆT NAM

Hiện nay các nghiên cứu về sâm Ngọc Linh chủ yếu tập trung vào việc xác định thành phần và cấu trúc hóa học các dạng saponin trong phần rễ củ cũng như đặc tính hóa dược của chúng, hay các nghiên cứu về nhân giống (vô tính, nuôi cấy mô tế bào) phục vụ việc mở rộng vùng trồng. Do đó hướng nghiên cứu các loài vi khuẩn phân lập từ đất trồng sâm Ngọc Linh có hoạt tính ứng dụng là cần thiết và mới được tiếp cận nghiên cứu ở Việt Nam, trong đó nhóm nghiên cứu của Viện Ứng dụng Công nghệ (Bộ KH và CN) đã có công bố bước đầu về nhóm các vi khuẩn phân lập từ đất trồng sâm Ngọc Linh có hoạt tính phân giải cellulose (Trần Bảo Trâm *et al.*, 2016) hay phát hiện loài mới (Nguyen *et al.*, 2015a). Trong nghiên cứu của Trần Bảo Trâm và cộng sự

(2016), có 5 chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp. QN1, *Bacillus* sp. QN2, *Bacillus* sp. QN3, *Pseudomonas* sp. QN4, *Roseomonas* sp. QN5 có khả năng phân giải cellulose. Việc phát triển hướng nghiên cứu này sẽ là cơ sở tạo tiền đề cho việc sản xuất phân bón vi sinh phục vụ nghiên cứu di thực sâm Ngọc Linh bền vững đáp ứng cho sản xuất thương mại sâm Ngọc Linh ở Việt Nam trong thời gian tới.

Ngoài ra, do sâm Ngọc Linh là loài đặc hữu của Việt Nam nên việc phát hiện và công bố các loài vi khuẩn mới phân lập được từ đất rừng vùng phân bố sâm Ngọc Linh rất tiềm năng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ahn JH, Kim BC, Joa JH, Kim SJ, Song J, Kwon SW, Weon HY (2015a) *Mucilaginibacter ginsengisoli* sp. nov. isolated from a ginseng-cultivated soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 65: 3933-3937.
- Ahn JH, Kim BC, Kim SJ, Lee GH, Song J, Kwon SW, Weon HY (2015b) *Sphingomonas parvus* sp. nov. isolated from a ginseng-cultivated soil. *J Microbiol (Seoul, Korea)* 53: 673-677.
- Aislabie J, Deslippe JR, Dymond J (2013) Soil microbes and their contribution to soil services. In: Dymond JR. ed. *Ecosystem services in New Zealand: conditions and trends* Manaaki Whenua Press, Lincoln, New Zealand. 143-161.
- An DS, Lee HG, Im WT, Liu QM, Lee ST (2007a) *Segetibacter koreensis* gen. nov., sp. nov., a novel member of the phylum Bacteroidetes, isolated from the soil of a ginseng field in South Korea. *Int J Syst Evol Microbiol* 57: 1828-1833.
- An DS, Im WT, Lee ST, Yoon MH (2007b) *Nocardioides panacihumi* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 57: 2143-2146.
- An DS, Im WT, Lee ST, Choi WY, Yoon MH (2007c) *Chitinophaga soli* sp. nov. and *Chitinophaga terrae* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field in Pocheon Province, Korea. *J Microbiol Biotechnol* 17: 705-711.
- An DS, Im WT, Yoon MH (2008) *Microlunatus panaciterrae* sp. nov., a beta-glucosidase-producing bacterium isolated from soil in a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 2734-2738.
- An DS, Lee HG, Lee ST, Im WT (2009) *Rhodanobacter ginsenosidimutans* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field in South Korea. *Int J Syst Evol Microbiol* 59: 691-694.
- An DS, Wang L, Kim MS, Bae HM, Lee ST, Im WT (2011) *Solirubrobacter ginsenosidimutans* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 61: 2606-2609.

- An DS, Liu QM, Lee HG, Jung MS, Kim SC, Lee ST, Im WT (2013) *Sphingomonas ginsengisoli* sp. nov. and *Sphingomonas sediminicola* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 63: 496-501.
- Baek SH, Im WT, Oh HW, Lee JS, Oh HM, Lee ST (2006) *Brevibacillus ginsengisoli* sp. nov., a denitrifying bacterium isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 56: 2665-2669.
- Baek SH, Yi TH, Lee ST, Im WT (2010) *Paenibacillus pocheonensis* sp. nov., a facultative anaerobe isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 60: 1163-1167.
- Baek SH, Cui Y, Kim SC, Cui CH, Yin C, Lee ST, Im WT (2011) *Tumebacillus ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 61: 1715-1719.
- Bui TP, Kim YJ, Kim H, Yang DC (2010) *Rhodanobacter soli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 60: 2935-2939.
- Busse J, Auling G (1988) Polyamine pattern as a chemotaxonomic marker within the *Proteobacteria*. *Syst Appl Microbiol* 11: 1-8.
- Cheng J, Zhang MY, Wang WX, Manikprabhu D, Salam N, Zhang TY, Wu YY, Li WJ, Zhang YX (2015) *Luteimonas notoginsengisoli* sp. nov., isolated from rhizosphere soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 66: 946-950.
- Cho CH, Lee JS, An DS, Whon TW, Kim SG (2010) *Nocardioides panacisoli* sp. nov., isolated from the soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 60: 387-392.
- Choi TE, Liu QM, Yang JE, Sun S, Kim SY, Yi TH, Im WT (2010) *Sphingomonas ginsenosidimutans* sp. nov., with ginsenoside converting activity. *J Microbiol (Seoul, Korea)* 48: 760-766.
- Choi JH, Cha CJ (2014) *Bacillus panacisoli* sp. nov., isolated from ginseng soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 64: 901-906.
- Choi JH, Seok JH, Cha JH, Cha CJ (2014) *Lysobacter panacisoli* sp. nov., isolated from ginseng soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 64: 2193-2197.
- Choi JH, Seok JH, Jang HJ, Cha JH, Cha CJ (2016) *Cohnella saccharovorans* sp. nov., isolated from ginseng soil in Anseong, Korea. *Int J Syst Evol Microbiol* 66: 1713-1717.
- Collins MD, Jones D (1981) Distribution of isoprenoid quinone structural types in bacteria and their taxonomic implication. *Microbiol Rev* 45: 316-354.
- Cui XL, Mao PH, Zeng M, Li WJ, Zhang LP, Xu LH, Jiang CL (2001) *Streptimonospora salina* gen. nov., sp. nov., a new member of the family *Nocardiopsaceae*. *Int J Syst Evol Microbiol* 51: 357-363.
- Cui YS, Im WT, Yin CR, Yang DC, Lee ST (2007) *Microclunatus ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 57: 713-716.
- Cui YS, Lee ST, Im WT (2009) *Nocardioides ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 59: 3045-3050.
- Cui YS, Lee JS, Lee ST, Im WT (2010) *Kribbella ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 60: 364-368.
- Cui Y, Baek SH, Wang L, Lee HG, Cui C, Lee ST, Im WT (2012) *Streptomyces panacagri* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 62: 780-785.
- Dees S, Carlone G, Hollis D, Moss C (1985) Chemical and phenotypic characteristics of *Flavobacterium thalophilum* compared with those of other *Flavobacterium* and *Sphingobacterium* species. *Int J Syst Evol Microbiol* 35: 16-22.
- Ezaki T, Hashimoto Y, Yabuuchi E (1989) Fluorometric deoxyribonucleic acid-deoxyribonucleic acid hybridization in microdilution wells as an alternative to membrane filter hybridization in which radioisotopes are used to determine genetic relatedness among bacterial strains. *Int J Syst Evol Microbiol* 39: 224-229.
- Farh Mel A, Kim YJ, Van An H, Sukweenadhi J, Singh P, Huq MA, Yang DC (2015) *Burkholderia ginsengiterrae* sp. nov. and *Burkholderia panaciterrae* sp. nov., antagonistic bacteria against root rot pathogen *Cylindrocarpon destructans*, isolated from ginseng soil. *Arch Microbiol* 197: 439-447.
- Felsenstein J (1981) Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *J Mol Evol* 17: 368-376.
- Felsenstein J (1985) Confidence limit on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Fitch WM (1971) Toward defining the course of evolution: minimum change for a specific tree topology. *Syst Zool* 20: 406-416.
- Hiraishi A, Ueda Y, Ishihara J, Mori T (1996) Comparative lipoquinone analysis of influent sewage and activated sludge by high-performance liquid chromatography and photodiode array detection. *J Gen Appl Microbiol* 42: 457-469.
- Hoang VA, Kim YJ, Nguyen NL, Yang DC (2012) *Sphingomonas ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *J Gen Appl Microbiol* 58: 421-428.
- Hoang VA, Kim YJ, Nguyen NL, Yang DC (2013a) *Chryseobacterium yeoncheonense* sp. nov., with ginsenoside converting activity isolated from soil of a ginseng field. *Arch Microbiol* 195: 463-471.
- Hoang VA, Kim YJ, Nguyen NL, Yang DC (2013b)

- Hymenobacter ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 63: 661-666.
- Hoang VA, Kim YJ, Nguyen NL, Min JW, Yang DC (2013c) *Pedobacter ginsengiterrae* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 63: 1273-1279.
- Hoang VA, Kim YJ, Nguyen NL, Yang DC (2014) *Brachybacterium ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 64: 3063-3068.
- Hoang VA, Kim YJ, Ponnuraj SP, Nguyen NL, Hwang KH, Yang DC (2015a) *Epilithonimonas ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 65: 122-128.
- Hoang VA, Kim YJ, Nguyen NL, Kang CH, Kang JP, Singh P, Farh Mel A, Yang DU, Yang DC (2015b) *Microbacterium rhizomatis* sp. nov., a beta-glucosidase-producing bacterium isolated from rhizome of Korean mountain ginseng. *Int J Syst Evol Microbiol* 65: 3196-3202.
- Huq MA, Kim YJ, Hoang VA, Siddiqi MZ, Yang DC (2015) *Paenibacillus ginsengiterrae* sp. nov., a ginsenoside-hydrolyzing bacteria isolated from soil of ginseng field. *Arch Microbiol* 197: 389-396.
- Im WT, Jung HM, Cui YS, Liu QM, Zhang SL, Lee ST (2005) Cultivation of the three hundreds of bacterial species from the soil of the ginseng field and mining the novel lineage bacteria. In *Proceedings of the International Meeting of the Federation of Korean Microbiological Societies*, abstract A035: 169. Seoul: Federation of Korean Microbiological Societies.
- Im WT, Liu QM, Yang JE, Kim MS, Kim SY, Lee ST, Yi TH (2010a) *Panacagrmonas perspica* gen. nov., sp. nov., a novel member of Gammaproteobacteria isolated from soil of a ginseng field. *J Microbiol (Seoul, Korea)* 48: 262-266.
- Im WT, Liu QM, Lee KJ, Kim SY, Lee ST, Yi TH (2010b) *Variovorax ginsengisoli* sp. nov., a denitrifying bacterium isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 60: 1565-1569.
- Im WT, Kim SY, Liu QM, Yang JE, Lee ST, Yi TH (2010c) *Nocardioides ginsengisegetis* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *J Microbiol (Seoul, Korea)* 48: 623-628.
- Im WT, Hu ZY, Kim KH, Rhee SK, Meng H, Lee ST, Quan ZX (2012) Description of *Fimbriimonas ginsengisoli* gen. nov., sp. nov. within the *Fimbriimonadia* class nov., of the phylum *Armatimonadetes*. *Antonie van Leeuwenhoek* 102: 307-317.
- Jane PH (2006) Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. *Appl Environ Microbiol* 72(3): 1719-1728.
- Jin Y, Kim YJ, Hoang VA, Young Jung S, Nguyen NL, Woo Min J, Wang C, Yang DC (2014) *Flavobacterium panaciterrae* sp. nov., a beta-glucosidase producing bacterium with ginsenoside-converting activity isolated from the soil of a ginseng field. *J Gen Appl Microbiol* 60: 59-64.
- Johnson M, Zaretskaya I, Raytselis Y, Merezhuk Y, McGinnis S, Madden TL (2008) NCBI BLAST: a better web interface. *Nucleic Acids Res* 36: W5-9.
- Jukes TH, Cantor CR (1969) *Evolution of protein molecules* in Mammalian protein metabolism, (H.N Munro, ed.), Academic Press, New York, 21-132.
- Jung HM, Ten LN, Im WT, Yoo SA, Lee ST (2008) *Lysobacter ginsengisoli* sp. nov., a novel species isolated from soil in Pocheon Province, South Korea. *J Microbiol Biotechnol* 18: 1496-1499.
- Jung HM, Ten LN, Kim KH, An DS, Im WT, Lee ST (2009) *Dyella ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field in South Korea. *Int J Syst Evol Microbiol* 59: 460-465.
- Jung HM, Lee JS, Bae HM, Yi TH, Kim SY, Lee ST, Im WT (2011) *Inquilinus ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 61: 201-204.
- Jung SY, Kim Y-J, Hoang VA, Jin Y, Nguyen NL, Oh KH, Yang DC (2016) *Flavobacterium panacisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Arch Microbiol* 198: 645-651.
- Kämpfer P, Kroppenstedt RM (1996) Numerical analysis of fatty acid patterns of coryneform bacteria and related taxa. *Can J Microbiol* 42: 989-1005.
- Kang JP, Nguyen NL, Kim YJ, Hoang VA, Bae KS, Yang DC (2015) *Paracaligens ginsengisoli* sp. nov., isolated from ginseng cultivated soil. *Antonie van Leeuwenhoek* 108: 619-626.
- Kim M, Ko S, Choi K, Kim S (1987) Distribution of saponin in various sections of *Panax ginseng* root and changes of its contents according to root age. *Korean J Ginseng Sci* 11: 10-16.
- Kim MK, Im WT, In JG, Kim SH, Yang DC (2006a) *Thermomonas koreensis* sp. nov., a mesophilic bacterium isolated from a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 56: 1615-1619.
- Kim HB, Park MJ, Yang HC, An DS, Jin HZ, Yang DC (2006b) *Burkholderia ginsengisoli* sp. nov., a beta-glucosidase-producing bacterium isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 56: 2529-2533.
- Kim MK, Kim YJ, Cho DH, Yi TH, Soung NK, Yang DC (2007a) *Solimonas soli* gen. nov., sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 57: 2591-2594.

- Kim MK, Na JR, Lee TH, Im WT, Soung NK, Yang DC (2007b) *Solirubrobacter soli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 57: 1453-1455.
- Kim MK, Kim YA, Kim YJ, Soung NK, Yi TH, Kim SY, Yang DC (2008a) *Parapedobacter soli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 337-340.
- Kim MK, Park MJ, Im WT, Yang DC (2008b) *Aeromicrobium ginsengisoli* sp. nov., isolated from a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 2025-2030.
- Kim MK, Kim YJ, Kim HB, Kim SY, Yi TH, Yang DC (2008c) *Curtobacterium ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 2393-2397.
- Kim MK, Pulla RK, Kim SY, Yi TH, Soung NK, Yang DC (2008) *Sanguibacter soli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 538-541.
- Kim MK, Kim YA, Park MJ, Yang DC (2008e) *Paenibacillus ginsengihumi* sp. nov., a bacterium isolated from soil in a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 1164-1168.
- Kim MK, Jung HY (2009) *Pseudoclavibacter soli* sp. nov., a β -glucosidase-producing bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol* 59: 835-838.
- Kim MK, Srinivasan S, Kim YJ, Yang DC (2009a) *Castellaniella ginsengisoli* sp. nov., a beta-glucosidase-producing bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol* 59: 2191-2194.
- Kim MK, Srinivasan S, Park MJ, Sathiyaraj G, Kim YJ, Yang DC (2009b) *Nocardioides humi* sp. nov., a beta-glucosidase-producing bacterium isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 59: 2724-2728.
- Kim MK, Sathiyaraj S, Pulla RK, Yang DC (2009c) *Brevibacillus panacihumi* sp. nov., a beta-glucosidase-producing bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol* 59: 1227-1231.
- Kim HB, Srinivasan S, Sathiyaraj G, Quan LH, Kim SH, Bui TP, Liang ZQ, Kim YJ, Yang DC (2010a) *Stenotrophomonas ginsengisoli* sp. nov., isolated from a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 60: 1522-1526.
- Kim YJ, Kim MK, Bui TP, Kim HB, Srinivasan S, Yang DC (2010b) *Microbacterium ginsengiterrae* sp. nov., a beta-glucosidase-producing bacterium isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 60: 2808-2812.
- Kim SJ, Weon HY, Kim YS, Anandham R, Jeon YA, Hong SB, Kwon SW (2010c) *Cohnella yongneupensis* sp. nov. and *Cohnella ginsengisoli* sp. nov., isolated from two different soils. *Int J Syst Evol Microbiol* 60: 526-530.
- Kim SJ, Yoo SH, Weon HY, Kim YS, Anandham R, Suh JS, Kwon SW (2011a) *Paralcaligenes ureilyticus* gen. nov., sp. nov. isolated from soil of a Korean ginseng field. *J Microbiol (Seoul, Korea)* 49: 502-507.
- Kim SR, Kim YJ, Nguyen NL, Min JW, Jeon JN, Yang DU, Yang DC (2011b) *Flavobacterium ginsengiterrae* sp. nov., isolated from a ginseng field. *J Gen Appl Microbiol* 57: 341-346.
- Kim KK, Lee KC, Lee JS (2012a) *Patulibacter ginsengiterrae* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field, and an emended description of the genus *Patulibacter*. *Int J Syst Evol Microbiol* 62: 563-568.
- Kim KK, Lee KC, Lee JS (2012b) *Nakamurella panacisegetis* sp. nov. and proposal for reclassification of *Humicoccus flavidus* Yoon et al., 2007 and *Saxeibacter lacteus* Lee et al., 2008 as *Nakamurella flavida* comb. nov. and *Nakamurella lactea* comb. nov. *Syst Appl Microbiol* 35: 291-296.
- Kim O-S, Cho Y-J, Lee K, et al. (2012c) Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gen sequence database with phylotypes that represent uncultured species. *Int J Syst Evol Microbiol* 62: 716-721.
- Kim YS, Kim SJ, Anandham R, Weon HY, Kwon SW (2013a) *Rhodanobacter umsongsensis* sp. nov., isolated from a Korean ginseng field. *J Microbiol (Seoul, Korea)* 51: 258-261.
- Kim YJ, Nguyen NL, Weon HY, Yang DC (2013b) *Sediminibacterium ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field, and emended descriptions of the genus *Sediminibacterium* and of *Sediminibacterium salmonicum*. *Int J Syst Evol Microbiol* 63: 905-912.
- Kim YJ, Kim SR, Nguyen NL, Yang DC (2013c) *Flavobacterium ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 63: 4289-4293.
- Kim JK, Liu QM, Park HY, Kang MS, Kim SC, Im WT, Yoon MH (2013d) *Nocardioides panaciterrulae* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field, with ginsenoside converting activity. *Antonie van Leeuwenhoek* 103: 1385-1393.
- Kim EK, Hoang VA, Kim YJ, Nguyen NL, Sukweenadhi J, Kang JP, Yang DC (2015) *Humibacter ginsengiterrae* sp. nov., and *Humibacter ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 65: 2734-2740.
- Kimura M (1980) A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol* 16: 111-120.
- Komagata K, Suzuki K-I (1987) Lipid and cell-wall analysis in bacterial systematics. *Methods Microbiol* 19: 161-207.
- Lane D (1991) 16S/23S rRNA sequencing. In

- Stackebrandt E & Goodfellow M. ed. *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*. 115-175.
- Le TH, Lee GJ, Vu HK, Kwon SW, Nguyen NK, Park JH, Nguyen MD (2015) Ginseng saponins in different parts of *Panax vietnamensis*. *Chem Pharm Bull* 63: 950-954.
- Lee JW, Im WT, Kim MK, Yang DC (2006) *Lysobacter koreensis* sp. nov., isolated from a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 56: 231-235.
- Lee HG, An DS, Im WT, Liu QM, Na JR, Cho DH, Jin CW, Lee ST, Yang DC (2007a) *Chitinophaga ginsengisegetis* sp. nov. and *Chitinophaga ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field in South Korea. *Int J Syst Evol Microbiol* 57: 1396-1401.
- Lee M, Ten LN, Baek SH, Im WT, Aslam Z, Lee ST (2007b) *Paenibacillus ginsengisoli* sp. nov., a novel bacterium isolated from soil of a ginseng field in Pocheon Province, South Korea. *Antonie van Leeuwenhoek* 91: 127-135.
- Lee HW, Ten IL, Jung HM, Liu QM, Im WT, Lee ST (2008a) *Sphingopyxis panaciterrae* sp. nov., isolated from soil from ginseng field. *J Microbiol Biotechnol* 18: 1011-1015.
- Lee M, Ten LN, Lee HW, Oh HW, Im WT, Lee ST (2008b) *Sphingopyxis ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field in South Korea. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 2342-2347.
- Lee KC, Kim KK, Eom MK, Kim MJ, Lee JS (2011) *Fontibacillus panacisegetis* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 61: 369-374.
- Lee SH, Liu QM, Lee ST, Kim SC, Im WT (2012) *Nocardioides ginsengagri* sp. nov., isolated from the soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 62: 591-595.
- Lee HJ, Cho GY, Chung SH, Whang KS (2014) *Streptomyces panaciradicis* sp. nov., a beta-glucosidase-producing bacterium isolated from ginseng rhizosphere. *Int J Syst Evol Microbiol* 64: 3816-3820.
- Lee JC, Whang KS (2014) *Chitinophaga ginsengihumi* sp. nov., isolated from soil of ginseng rhizosphere. *Int J Syst Evol Microbiol* 64: 2599-2604.
- Lee HY, Liu Q, Kang MS, Kim SK, Lee SY, Im WT (2016) *Marmoricola ginsengisoli* sp. nov. and *Marmoricola pocheonensis* sp. nov. isolated from ginseng cultivating field. *Int J Syst Evol Microbiol*. Published online.
- Liu QM, Im WT, Lee M, Yang DC, Lee ST (2006) *Dyadobacter ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 56: 1939-1944.
- Liu QM, Ten LN, Yu HS, Jin FX, Im WT, Lee ST (2008) *Emticicia ginsengisoli* sp. nov., a species of the family 'Flexibacteraceae' isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 1100-1105.
- Liu QM, Ten LN, Im WT, Lee ST, Yoon MH (2010) *Caulobacter ginsengisoli* sp. nov., a novel stalked bacterium isolated from ginseng cultivating soil. *J Microbiol Biotechnol* 20: 15-20.
- Liu CY, Zhou RX, Sun CK, Jin YH, Yu HS, Zhang TY, Xu LQ, Jin FX (2015) Preparation of minor ginsenosides C-Mc, CY, F2, and CK from American ginseng PPD-ginsenoside using special ginsenosidase type-I from *Aspergillus niger* g. 848. *J Ginseng Res* 39(3):221-229.
- MacKenzie S (1986) Gas chromatographic analysis of amino acids as the N-heptafluorobutyl isobutyl esters. *J Assoc Off Anal Chem* 70: 151-160.
- Marmur J, Doty P (1962) Determination of the base composition of deoxyribonucleic acid from its thermal denaturation temperature. *J Mol Biol* 5: 109-118.
- Mellmann A, Cloud J, Maier T, Keckevoet U, Ramminger I, Iwen P, Dunn J, Hall G, Wilson D, Lasala P (2008) Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry in comparison to 16S rRNA gen sequencing for species identification of nonfermenting bacteria. *J Clin Microbiol* 46: 1946-1954.
- Mesbah M, Premachandran U, Whitman Wb (1989) Precise measurement of the G+C content of deoxyribonucleic acid by high-performance liquid chromatography. *Int J Syst Evol Microbiol* 39: 159-167.
- Minnikin D, Patel P, Alshamaony L, Goodfellow M (1977) Polar lipid composition in the classification of *Nocardia* and related bacteria. *Int J Syst Evol Microbiol* 27: 104-117.
- Nguyen NL, Kim YJ, Hoang VA, Yang DC (2013a) *Chryseobacterium ginsengisoli* sp. nov., isolated from the rhizosphere of ginseng and emended description of *Chryseobacterium gleum*. *Int J Syst Evol Microbiol* 63: 2975-2980.
- Nguyen NL, Kim YJ, Hoang VA, Min JW, Liang ZQ, Yang DC (2013b) *Bacillus ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 63: 855-860.
- Nguyen NL, Kim YJ, Hoang VA, Tran BT, Pham HS, Yang DC (2015a) *Paracoccus panacisoli* sp. nov., isolated from a forest soil cultivated with Vietnamese ginseng. *Int J Syst Evol Microbiol* 65: 1491-1497.
- Nguyen NL, Kim YJ, Hoang VA, Kang JP, Wang C, Zhang J, Kang CH, Yang DC (2015b) *Labrys soli* sp. nov., isolated from the rhizosphere of Korean ginseng. *Int J Syst Evol Microbiol* 65:3913-3919.
- Nguyen NL, Kim YJ, Hoang VA, Kang JP, Singh P, Yang DC (2015c) *Paenibacillus panaciterrae* sp. nov., isolated from ginseng cultivated soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 65: 4080-4086.
- Nguyen NL, Kim YJ, Hoang VA, Min JW, Hwang KH,

- Yang DC (2015d) *Microbacterium panaciterrae* sp. nov., isolated from the rhizosphere of ginseng. *Int J Syst Evol Microbiol* 65: 927-933.
- Nguyễn Tập (2005). Các loài thuộc chi *Panax* L. ở Việt Nam. *Tạp chí Dược liệu* 10(3): 71-76.
- Palleroni N, Krieg N, Holt J (1984) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 1. Krieg NR, Holt JG. ed. The Williams and Wilkins Co, Baltimore.
- Park YD, Lee HB, Yi H, Kim Y, Bae KS, Choi JE, Jung HS, Chun J (2005) *Pseudomonas panacis* sp. nov., isolated from the surface of rusty roots of Korean ginseng. *Int J Syst Evol Microbiol* 55: 1721-1724.
- Park MJ, Kim HB, An DS, Yang HC, Oh ST, Chung HJ, Yang DC (2007) *Paenibacillus soli* sp. nov., a xylanolytic bacterium isolated from soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 57: 146-150.
- Park MJ, Kim MK, Kim HB, Im WT, Yi TH, Kim SY, Soung NK, Yang DC (2008) *Microbacterium ginsengisoli* sp. nov., a beta-glucosidase-producing bacterium isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 429-433.
- Poly F, Monrozier LJ, Bally R (2001) Improvement in the RFLP procedure for studying the diversity of *nifH* genes in communities of nitrogen fixers in soil. *Res Microbiol* 152:95-103.
- Reasoner DJ, Geldreich EE (1985) A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. *Appl Environ Microbiol* 49: 1-7.
- Saitou N, Nei M (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 4: 406-425
- Sasser M (1990) Identification of bacteria by gas chromatography of cellular fatty acids, MIDI Technical Note 101. Newark, DE: MIDI Inc.
- Schenkel E, Berlaimont V, Dubois J, Helson-Cambier M, Hanocq M (1995) Improved high-performance liquid chromatographic method for the determination of polyamines as their benzoylated derivatives: application to P388 cancer cells. *J Chromatogr B Biomed Appl* 668: 189-197.
- Seldin L, Dubnau D (1985) Deoxyribonucleic acid homology among *Bacillus polymyxa*, *Bacillus macerans*, *Bacillus azotofixans*, and other nitrogen-fixing *Bacillus* strains. *Int J Syst Evol Microbiol* 35: 151-154.
- Shin YK, Lee J, Chun C, Kim H, Park Y (1996) Isoprenoid quinone profiles of the *Leclercia adecarboxylata* KCTC 1036^T. *J Microbiol Biotechnol* 6: 68-69.
- Siddiqi MZ, Kim YJ, Hoang VA, Siddiqi MH, Huq MA, Yang DC (2014) *Arthrobacter ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Arch Microbiol* 196: 863-870.
- Siddiqi MZ, Liu Q, Kang MS, Kim MS, Im WT (2015) *Anseongella ginsenosidimutans* gen. nov., sp. nov., isolated from ginseng cultivating soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 66: 1125-1130.
- Siddiqi MZ, Im WT (2016a) *Lysobacter pocheonensis* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Arch Microbiol* 198(6): 551-557.
- Siddiqi MZ, Im WT (2016b). *Pseudobacter ginsenosidimutans* gen. nov., sp. nov., isolated from ginseng cultivating soil. *Int J Syst Evol Microbiol*. doi: 10.1099/ijsem.0.001216
- Singh P, Kim YJ, Nguyen NL, Hoang VA, Sukweenadhi J, Farh Mel A, Yang DC (2015a) *Cupriavidus yeoncheonense* sp. nov., isolated from soil of ginseng. *Antonie van Leeuwenhoek* 107: 749-758.
- Singh P, Kim YJ, Hoang VA, Farh Mel A, Yang DC (2015b) *Sphingomonas panacis* sp. nov., isolated from rhizosphere of rusty ginseng. *Antonie van Leeuwenhoek* 108: 711-720.
- Singh P, Kim YJ, Farh Mel A, Dan WD, Kang CH, Yang DC (2016a) *Chryseobacterium panacis* sp. nov., isolated from ginseng soil. *Antonie van Leeuwenhoek* 109: 187-196.
- Singh P, Singh H, Kim YJ, Yang DC (2016b) *Pedobacter panacis* sp. nov., isolated from *Panax ginseng* soil. *Antonie van Leeuwenhoek*. doi:10.1007/s10482-016-0794-2
- Son HM, Kook M, Park SY, Mavlonov GT, Yi TH (2013a) *Flavobacterium kyungheensis* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Antonie van Leeuwenhoek* 104: 1029-1037.
- Son HM, Yang JE, Kook MC, Shin HS, Park SY, Lee DG, Yi TH (2013b) *Sphingobacterium ginsenosidimutans* sp. nov., a bacterium with ginsenoside-converting activity isolated from the soil of a ginseng field. *J Gen Appl Microbiol* 59: 345-352.
- Son HM, Yang JE, Park Y, Han CK, Kim SG, Kook M, Yi TH (2013c) *Sphingomonas kyungheensis* sp. nov., a bacterium with ginsenoside-converting activity isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 63: 3848-3853.
- Son HM, Kook M, Kim JH, Yi TH (2014a) *Taibaiella koreensis* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 64: 1018-1023.
- Son HM, Kook M, Tran HT, Kim KY, Park SY, Kim JH, Yi TH (2014b) *Sphingomonas kyeonggiense* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Antonie van Leeuwenhoek* 105: 791-797.

- Srinivasan S, Kim MK, Sathiyaraj G, Kim HB, Kim YJ, Yang DC (2010a) *Lysobacter soli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 60: 1543-1547.
- Srinivasan S, Kim MK, Sathiyaraj G, Kim YJ, Yang DC (2010b) *Pusillimonas ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 60: 1783-1787.
- Srinivasan S, Kim MK, Sathiyaraj G, Veena V, Mahalakshmi M, Kalaiselvi S, Kim YJ, Yang DC (2010c) *Sphingopyxis panaciterrulae* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 60: 2358-2363.
- Srinivasan S, Kim MK, Sathiyaraj G, Kim YJ, Jung SK, In JG, Yang DC (2010d) *Microbacterium soli* sp. nov., an alpha-glucosidase-producing bacterium isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 60: 478-483.
- Staneck JL, Roberts GD (1974) Simplified approach to identification of aerobic actinomycetes by thin-layer chromatography. *Appl Microbiol* 28: 226-231.
- Sukweenadhi J, Kim YJ, Kang CH, Farh Mel A, Nguyen NL, Hoang VA, Choi ES, Yang DC (2015) *Sphingomonas panaciterrae* sp. nov., a plant growth-promoting bacterium isolated from soil of a ginseng field. *Arch Microbiol* 197: 973-981.
- Taibi G, Schiavo M, Gueli M, Rindina PC, Muratore R, Nicotra C (2000) Rapid and simultaneous high-performance liquid chromatography assay of polyamines and monoacetyl polyamines in biological specimens. *J Chromatogr B Biomed Appl* 745: 431-437.
- Tamaoka J, Komagata K (1984) Determination of DNA base composition by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *FEMS microbiology letters* 25: 125-128.
- Tamura K, Nei M (1993) Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol Biol Evol* 10: 512-526
- Ten LN, Liu QM, Im WT, Lee M, Yang DC, Lee ST (2006a) *Pedobacter ginsengisoli* sp. nov., a DNase-producing bacterium isolated from soil of a ginseng field in South Korea. *Int J Syst Evol Microbiol* 56: 2565-2570.
- Ten LN, Baek SH, Im WT, Lee M, Oh HW, Lee ST (2006b) *Paenibacillus panacisoli* sp. nov., a xylanolytic bacterium isolated from soil in a ginseng field in South Korea. *Int J Syst Evol Microbiol* 56: 2677-2681.
- Ten LN, Baek SH, Im WT, Liu QM, Aslam Z, Lee ST (2006c) *Bacillus panaciterrae* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 56: 2861-2866.
- Ten LN, Baek SH, Im WT, Larina LL, Lee JS, Oh HM, Lee ST (2007) *Bacillus pocheonensis* sp. nov., a moderately halotolerant, aerobic bacterium isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 57: 2532-2537.
- Ten LN, Jung HM, Im WT, Oh HW, Yang DC, Yoo SA, Lee ST (2009a) *Dokdonella ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil from a ginseng field, and emended description of the genus *Dokdonella*. *Int J Syst Evol Microbiol* 59: 1947-1952.
- Ten LN, Jung HM, Im WT, Yoo SA, Oh HM, Lee ST (2009b) *Lysobacter panaciterrae* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 59: 958-963.
- Ten LN, Xu JL, Jin FX, Im WT, Oh HM, Lee ST (2009c) *Spirosoma panaciterrae* sp. nov., isolated from soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 59: 331-335.
- Tindall BJ, Rosselló-Móra R, Busse H-J, Ludwig W, Kämpfer P (2010) Notes on the characterization of prokaryote strains for taxonomic purposes. *Int J Syst Evol Microbiol* 60: 249-266.
- Trần Bảo Trâm, Phạm Hương Sơn, Nguyễn Thị Hiền, Ngô Thị Hoa, Nguyễn Thu Hiền, Nguyễn Huy Hoàng (2016) Phân lập và xác định một số đặc điểm sinh học của vi khuẩn phân giải cellulose từ đất trồng sâm Ngọc Linh tại tỉnh Quảng Nam. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 14(1): 55-61.
- Vandamme P, Pot B, Gillis M, de Vos P, Kersters K, Swings J (1996) Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol Rev* 60: 407-438.
- Wang L, Ten LN, Lee HG, Im WT, Lee ST (2008) *Olivibacter soli* sp. nov., *Olivibacter ginsengisoli* sp. nov. and *Olivibacter terrae* sp. nov., from soil of a ginseng field and compost in South Korea. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 1123-1127.
- Wang L, An DS, Kim SG, Jin FX, Lee ST, Im WT (2011a) *Rhodanobacter panaciterrae* sp. nov., a bacterium with ginsenoside-converting activity isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 61: 3028-3032.
- Wang L, An DS, Jin FX, Lee ST, Im WT, Bae HM (2011b) *Phycoccus ginsenosidimutans* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 61: 524-528.
- Wang L, An DS, Kim SG, Jin FX, Kim SC, Lee ST, Im WT (2012) *Ramlibacter ginsenosidimutans* sp. nov., with ginsenoside-converting activity. *J Microbiol Biotechnol* 22: 311-315.
- Wayne LG, Brenner DJ, Colwell RR, *et al.* (1987) Report of the Ad Hoc Committee on Reconciliation of Approaches to Bacterial Systematics. *Int J Syst Evol Microbiol* 37: 463-464.
- Weisburg WG, Barns SM, Pelletier DA, Lane DJ (1991)

- 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J Bacteriol* 173: 697-703.
- Weon HY, Kim BY, Yoo SH, Lee SY, Kwon SW, Go SJ, Stackebrandt E (2006) *Niastella koreensis* gen. nov., sp. nov. and *Niastella yeongjuensis* sp. nov., novel members of the phylum *Bacteroidetes*, isolated from soil cultivated with Korean ginseng. *Int J Syst Evol Microbiol* 56: 1777-1782.
- Weon HY, Kim BY, Hong SB, Jeon YA, Kwon SW, Go SJ, Koo BS (2007) *Rhodanobacter ginsengisoli* sp. nov. and *Rhodanobacter terrae* sp. nov., isolated from soil cultivated with Korean ginseng. *Int J Syst Evol Microbiol* 57: 2810-2813.
- Weon HY, Kim BY, Son JA, Song MH, Kwon SW, Go SJ, Stackebrandt E (2008) *Nevskia soli* sp. nov., isolated from soil cultivated with Korean ginseng. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 578-580.
- Weon HY, Yoo SH, Kim BY, Son JA, Kim YJ, Kwon SW (2009) *Niabella ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil cultivated with Korean ginseng. *Int J Syst Evol Microbiol* 59: 1282-1285.
- Yang DC, Im WT, Kim MK, Lee ST (2005) *Pseudoxanthomonas koreensis* sp. nov. and *Pseudoxanthomonas daejeonensis* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 55: 787-791.
- Yang DC, Im WT, Kim MK, Ohta H, Lee ST (2006) *Sphingomonas soli* sp. nov., a beta-glucosidase-producing bacterium in the family *Sphingomonadaceae* in the alpha-4 subgroup of the *Proteobacteria*. *Int J Syst Evol Microbiol* 56: 703-707.
- Yang JE, Kim SY, Im WT, Yi TH (2011) *Flavobacterium ginsenosidimutans* sp. nov., a bacterium with ginsenoside converting activity isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 61: 1408-1412.
- Yang JE, Shin JY, Park SY, T Mavlonov M, Yi EJ, Lee EH, Lee JM, Yi TH (2012) *Pedobacter kyungheensis* sp. nov., with ginsenoside converting activity. *J Gen Appl Microbiol* 58: 309-316.
- Yang JE, Son HM, Lee JM, Shin HS, Park SY, Lee DG, Kook M, Yi TH (2013) *Pedobacter ginsenosidimutans* sp. nov., with ginsenoside-converting activity. *Int J Syst Evol Microbiol* 63: 4396-4401.
- Yi H, Srinivasan S, Kim MK (2010) *Stenotrophomonas panacihumi* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *J Microbiol (Seoul, Korea)* 48: 30-35.
- Yoo SH, Kim BY, Weon HY, Kwon SW, Go SJ, Stackebrandt E (2007a) *Burkholderia soli* sp. nov., isolated from soil cultivated with Korean ginseng. *Int J Syst Evol Microbiol* 57: 122-125.
- Yoo SH, Weon HY, Kim BY, Kim JH, Baek YK, Kwon SW, Go SJ, Stackebrandt E (2007b) *Pseudoxanthomonas yeongjuensis* sp. nov., isolated from soil cultivated with Korean ginseng. *Int J Syst Evol Microbiol* 57: 646-649.
- Yoon MH, Im WT (2007) *Flavisolibacter ginsengiterrae* gen. nov., sp. nov. and *Flavisolibacter ginsengisoli* sp. nov., isolated from ginseng cultivating soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 57: 1834-1839.
- Yoon MH, Ten LN, Im WT, Lee ST (2007a) *Methylibium fulvum* sp. nov., a member of the *Betaproteobacteria* isolated from ginseng field soil, and emended description of the genus *Methylibium*. *Int J Syst Evol Microbiol* 57: 2062-2066.
- Yoon MH, Ten LN, Im WT, Lee ST (2007b) *Pedobacter panaciterrae* sp. nov., isolated from soil in South Korea. *Int J Syst Evol Microbiol* 57: 381-386.
- Yoon MH, Ten LN, Im WT (2007c) *Cohnella panacarvi* sp. nov., a xylanolytic bacterium isolated from ginseng cultivating soil. *J Microbiol Biotechnol* 17: 913-918.
- Yoon MH, Ten LN, Im WT (2007d) *Paenibacillus ginsengarvi* sp. nov., isolated from soil from ginseng cultivation. *Int J Syst Evol Microbiol* 57: 1810-1814.
- Zhang MY, Xie J, Zhang TY, Xu H, Cheng J, Li SH, Li WJ, Zhang YX (2014) *Sinomonas notoginsengisoli* sp. nov., isolated from the rhizosphere of *Panax notoginseng*. *Antonie van Leeuwenhoek* 106: 827-835.
- Zhang MY, Xu H, Zhang TY, Xie J, Cheng J, Nimaichand S, Li SH, Li WJ, Zhang YX (2015) *Flavobacterium notoginsengisoli* sp. nov., isolated from the rhizosphere of *Panax notoginseng*. *Antonie van Leeuwenhoek* 108: 545-552.
- Zhang J, Kim YJ, Hoang VA, Lan Nguyen N, Wang C, Kang JP, Wang D, Yang DC (2016) *Duganella ginsengisoli* sp. nov., isolated from ginseng soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 66: 56-61.
- Zhang L and Xu Z (2008) Assessing bacterial diversity in soil. *J Soils Sediments* 8: 379-388.
- Zhao Y, Liu Q, Kang MS, Jin F, Yu H, Im WT (2015) *Flavisolibacter ginsenosidimutans* sp. nov., with ginsenoside-converting activity isolated from soil used for cultivating ginseng. *Int J Syst Evol Microbiol* 65: 4868-4872.
- Zhao Y, Lee HG, Kim SK, Yu H, Jin F, Im WT (2016) *Mucilagibacter pocheonensis* sp. nov., with ginsenoside converting activity isolated from soil of ginseng-cultivating field. *Int J Syst Evol Microbiol* 66: 2862-2868.

STUDYING ON DETECTION OF NOVEL BACTERIA IN THE GINSENG-CULTIVATED SOIL (*PANAX*L.) IN THE WORLD

Tran Bao Tram¹, Nguyen Ngoc Lan², Pham Huong Son¹, Pham The Hai³, Le Thi Thu Hien², Nguyen Thi Hien¹, Nguyen Thi Thanh Mai¹, Truong Thi Chien¹

¹National Center for Technological Progress, Ministry of Science and Technology

²Institute of Genome Research, Vietnam Academy of Science and Technology

³University of Science, Vietnam National University

SUMMARY

With high humic content (2-10%), humidity (40-60%), slightly acidic pH (5-6), the ginseng-cultivated soil has been considered as one of the favourable habitats for bacteria to grow. Bacterial community in the ginseng-cultivated soil is diverse with numerous novel species that have been discovered and classified. Up to now, 152 novel bacterial species isolated from the ginseng field have been recognized and reported, predominant distribution in Korea (141 species), followed by China (09 species) and Vietnam (02 species). These novel bacterial species were classified into 5 phyla such as *Proteobacteria* (48 species), *Bacteroidetes* (49 species), *Actinobacteria* (34 species), *Firmicutes* (20 species) và *Armatimonadetes* (01 species). Beside the new characteristics, these bacteria are capable to prevent fungal diseases, increase the ginsenoside contents or produce plant growth promoting substances... Among them, bioconversion of main ginsenosides (Rb1, Rb2, Rc, Re, Rg1) which account up to 80% total ginsenosides of ginseng root to minor ginsenosides (Rd, Rg3, Rh2, CK, F2) which have more pharmacological activities than major one was paid attention. Ngoc Linh ginseng is also known as Vietnamese ginseng (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) – the endemic ginseng species of Vietnam that is being highly interested in developing and expanding growing areas. However, in-depth studies on the characteristics of the soil, especially the microbial communities in the soil on which Ngoc Linh ginseng is cultivated, have been limited and inadequate. Therefore, this paper reviews current works on novel species in the ginseng soils worldwide and can be an essential source for future studying on microbial communities as well as discovering novel bacteria from the Ngoc Linh ginseng cultivating soil – the bacteria that are capable of application and development in Vietnam.

Keywords: classification, bacteria, Ngoc Linh ginseng, novel species, isolation, ginseng growing soil