

PHÂN LẬP VÀ ĐỊNH DANH VI KHUẨN VÙNG RỄ MỘT SỐ LOÀI LAN CÓ KHẢ NĂNG SINH TỔNG HỢP IAA (Indole-3-Acetic Acid)

Huỳnh Thị Minh Thư^{1,2}, Huỳnh Nguyễn Thuỳ Dương^{1,2}, Huỳnh Thị Hồng Phấn^{1,2},
Nguyễn Thị Mỹ Ngọc^{1,2}, Thạch Bá Thiên^{1,2}, Lê Đình Đôn^{1,2}, Bùi Cách Tuyến^{2,*}

¹ Khoa Khoa học Sinh học, Trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh

² Viện Nghiên cứu Công nghệ Sinh học và Môi trường,

Trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh

* Email: buicachtuyen@gmail.com

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, 44 dòng vi khuẩn đã được phân lập từ rễ của 7 loài lan bản địa trồng tại thành phố Hồ Chí Minh và tỉnh Lâm Đồng. Trong đó, 10 dòng vi khuẩn được xác định có khả năng tổng hợp IAA bằng phương pháp so màu với thuốc thử Salkowski. Hàm lượng IAA cao nhất được ghi nhận là $86,21 \pm 1,72$ mg/L do dòng vi khuẩn 1306.5 tổng hợp được. Bên cạnh đó, thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của vi khuẩn sinh IAA đối với cây lan *Dendrobium* sp. nuôi cấy mô cho thấy, cả 10 dòng vi khuẩn đều có khả năng thúc đẩy sự phát triển hệ rễ trong 30 ngày theo dõi tốt hơn so với đối chứng. Trong đó, 1306.5 là dòng vi khuẩn mang đến hiệu quả nổi trội và được xác định thuộc chi *Pseudomonas* và có quan hệ gần gũi nhất với *Pseudomonas putida* thông qua kết quả định danh bằng phân tử và sinh hoá. Kết quả này mở ra hướng nghiên cứu ứng dụng các dòng vi khuẩn vùng rễ sinh IAA như một tác nhân hỗ trợ sinh trưởng và phát triển cây lan theo hướng bền vững, góp phần nâng cao hiệu quả canh tác và bảo tồn nguồn gen thực vật quý.

Từ khoá: IAA, lan bản địa Việt Nam, *Pseudomonas putida*, vi khuẩn vùng rễ.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lan (*Orchidaceae*) là một trong những họ thực vật đa dạng nhất trên thế giới với khoảng 28.000 loài [1]. Bên cạnh vẻ đẹp, sự phong phú về màu sắc và hình thái hoa, lan còn có nhiều giá trị được liệu như: Khả năng kháng khuẩn, kháng nấm, chống oxy hóa, chống viêm, chống ung thư và bảo vệ thần kinh [2].

Trên thị trường quốc tế, dù chịu ảnh hưởng từ đại dịch Covid-19, nhu cầu buôn bán hoa lan vẫn chiếm tỷ trọng đáng kể. Năm 2019, kim ngạch nhập khẩu hoa lan toàn cầu đạt khoảng 214 triệu USD, trong đó Nhật Bản và Hoa Kỳ là những thị trường tiêu thụ lớn nhất, còn Thái Lan, Hà Lan, Đài Loan (Trung Quốc) và Việt Nam là các quốc gia xuất khẩu chủ lực [3]. Riêng tại Việt Nam, giá trị xuất khẩu lan cắt cành đạt từ 10 - 15 triệu USD mỗi năm [3]. Sự gia tăng sản xuất loài hoa này

theo quy mô công nghiệp đặt ra nhu cầu cấp thiết về nâng cao năng suất và chất lượng hoa lan theo hướng bền vững, đồng thời giảm dần sự phụ thuộc vào phân bón hóa học. Một trong những hướng tiếp cận đầy tiềm năng là ứng dụng các vi khuẩn vùng rễ có khả năng thúc đẩy sinh trưởng thực vật (PGPR) vào quá trình canh tác, giúp cây phát triển. Các vi khuẩn này giúp thúc đẩy sinh trưởng thực vật thông qua khả năng cố định đạm, phân giải lân, sản xuất siderophore, sản xuất các phytohormone giúp kích thích sinh trưởng thực vật [4]. Trong đó, IAA là một phytohormone quan trọng, giúp kích thích sự phát triển hệ rễ, tăng cường khả năng hấp thu dinh dưỡng và nước, từ đó cải thiện sức sống và năng suất cây trồng. Mặc dù vi khuẩn vùng rễ sinh IAA đã được tìm hiểu trên nhiều loài cây khác nhau nhưng các nghiên cứu về nhóm vi sinh vật này ở cây lan, đặc biệt là các loài

lan bản địa tại Việt Nam vẫn còn hạn chế. Vì vậy, nghiên cứu này được tiến hành nhằm phân lập, tuyển chọn và định danh các dòng vi khuẩn vùng rễ của một số loài lan có khả năng sinh tổng hợp IAA. Kết quả nghiên cứu không chỉ góp phần làm sáng tỏ đặc điểm hệ vi sinh vật vùng rễ lan mà còn tạo cơ sở khoa học cho việc ứng dụng các chủng vi khuẩn bản địa vào sản xuất hoa lan theo hướng bền vững, thân thiện môi trường và giảm phụ thuộc vào phân bón hóa học.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các loài lan thu thập được gồm có: Giáng hương tam bảo sắc (*Aerides falcata*), *Vanda tessellate semi alba x Vanda denisoniana* được thu ở xã Đông Thạnh, thành phố Hồ Chí Minh và các loài lan Giáng thu (*Aerides rubescens*), Hoàng nhạn (*Aerides odorata x houlletiana*), Vũ nữ (*Oncidium* sp.), Cát lan (*Cattleya* sp.) được thu thập tại tỉnh Lâm Đồng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập vi khuẩn vùng rễ lan bản địa Việt Nam

Rễ lan sau thu thập được làm sạch bằng nước vô trùng. Nghiền mẫu rễ trong nước vô trùng và cấy trang trên môi trường TSA để hình thành các khuẩn lạc đơn lẻ. Sau 48 giờ ủ, tiến hành phân lập vi khuẩn dựa vào sự khác biệt về đặc điểm hình thái khuẩn lạc như kích thước, màu sắc, hình dạng rìa, độ nhô và bề mặt khuẩn lạc.

2.2.2. Đánh giá khả năng sinh tổng hợp IAA của các dòng vi khuẩn

Khả năng sinh IAA của vi khuẩn được đánh giá bằng phương pháp so màu với thuốc thử Salkowski [5]. Vi khuẩn được nuôi trong môi trường TSB bổ sung 0,1% L-Tryptophan và ủ tối trong 7 ngày. Trộn 1 mL dịch nuôi cấy không chứa tế bào vi khuẩn với 4 mL thuốc thử. Sự chuyển màu từ vàng sang đỏ cho thấy có mặt IAA. Hỗn hợp được đo độ hấp thụ quang (OD) ở bước sóng 530 nm. Hàm lượng IAA được xác định dựa theo đường chuẩn được dựng từ các nồng độ IAA chuẩn (0, 20, 40, 60, 80, 100 µg/mL).

2.2.3. Kiểm tra tác động của vi khuẩn lên cây lan *Dendrobium* nuôi cấy mô

Cây lan *Dendrobium* nuôi cấy mô 1 tháng tuổi chưa có rễ được nhúng phần gốc vào dịch huyền phù vi khuẩn có mật độ 10^6 CFU/mL trong 30 phút. Sau khi tiếp xúc với vi khuẩn, cây được cấy trên môi trường MS [6] có bổ sung 2 mg/L L-Tryptophan và bố trí các điều kiện thí nghiệm dựa theo Shah và cs (2021) [7]. Thí nghiệm lặp lại 5 lần ở mỗi dòng vi khuẩn, mỗi lần lặp lại gồm 5 cây trong một bình. Bố trí nghiệm thức đối chứng bao gồm các cây được nhúng vào nước vô trùng. Sau 30 ngày nuôi cấy, các chỉ tiêu sinh trưởng được thu thập bao gồm: Chiều dài rễ (cm), số lượng rễ hình thành trên mỗi cây và tỷ lệ cây tạo rễ (%).

2.2.4. Định danh vi khuẩn bằng phân tích vùng gene 16S - rRNA

Tiến hành ly trích ADN của vi khuẩn theo phương pháp của Nakayashiki và cs (1999) [8]. Phản ứng PCR được thực hiện nhằm khuếch đại vùng gene 16S rRNA của vi khuẩn bằng cặp mồi 27F 5'AGAGTTTGATCMTGGCTCAG3' và 1492R 5'TACGGYTACCTTGTTACGACTT3' [9]. Sản phẩm của phản ứng PCR được giải trình tự 2 chiều tại Công ty 1st BASE có địa chỉ website là: <https://base-asia.com/> và được so sánh với dữ liệu trên NCBI thông qua công cụ BLAST.

Về mặt hình thái và đặc điểm sinh hoá, vi khuẩn được thực hiện các thử nghiệm bao gồm: Nhuộm Gram, thử nghiệm catalase, oxidase, khả năng phát quang, VP, citrate và khả năng phân giải tinh bột theo phương pháp của Somasegaran và Hoben (2012) [10]. Kết quả được so sánh với các mô tả về khuẩn vùng rễ (Rhizobia) của Bergey (1994) [11].

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý thống kê ANOVA một nhân tố bằng phần mềm Minitab 17.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

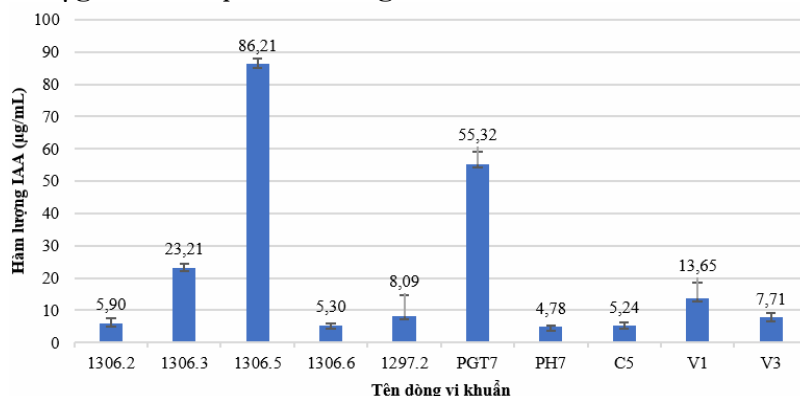
3.1. Kết quả phân lập vi khuẩn sinh tổng hợp IAA

Tổng cộng có 44 dòng vi khuẩn đã được phân lập từ các mẫu rễ lan. Trong số này ghi nhận được 10 dòng vi khuẩn có khả năng sinh IAA khi làm đổi màu thuốc thử Salkowski.

Hàm lượng IAA tổng hợp được ở các dòng vi khuẩn được tính toán dựa trên phương trình đường

chuẩn $y = 0,108x + 0,0662$. Các dòng vi khuẩn sinh tổng hợp được lượng IAA có nhiều khác biệt. Đa số các dòng vi khuẩn (5/10) có hàm lượng IAA được sinh ra dưới 10 $\mu\text{g/mL}$ và thấp nhất là dòng

PH7 với $4,8 \pm 0,44$ $\mu\text{g/mL}$ và hàm lượng IAA cao nhất được ghi nhận ở dòng vi khuẩn 1306.5 với $86,21 \pm 1,72$ $\mu\text{g/mL}$.



Hình 1. Hàm lượng IAA các dòng vi khuẩn vùng rễ lan sinh tổng hợp

Mức $86,21 \pm 1,72$ $\mu\text{g/mL}$ được ghi nhận ở dòng vi khuẩn 1306.5 trong nghiên cứu này là một hàm lượng IAA cao đáng kể so với các nghiên cứu tương tự trên cây lan ở Việt Nam cũng như trên thế giới. Hàm lượng này cao gần gấp đôi mức IAA cao nhất được ghi nhận trong nghiên cứu của Nguyễn Xuân Trường và cs (2022) [12] trên các loài lan Việt Nam là 48,01 $\mu\text{g/mL}$ và cao hơn 11 lần so với mức IAA cao nhất là 7,43 $\mu\text{g/mL}$ mà Herrera và cs (2020) [13] đã ghi nhận được khi nghiên cứu cây lan ở Chi Lê.

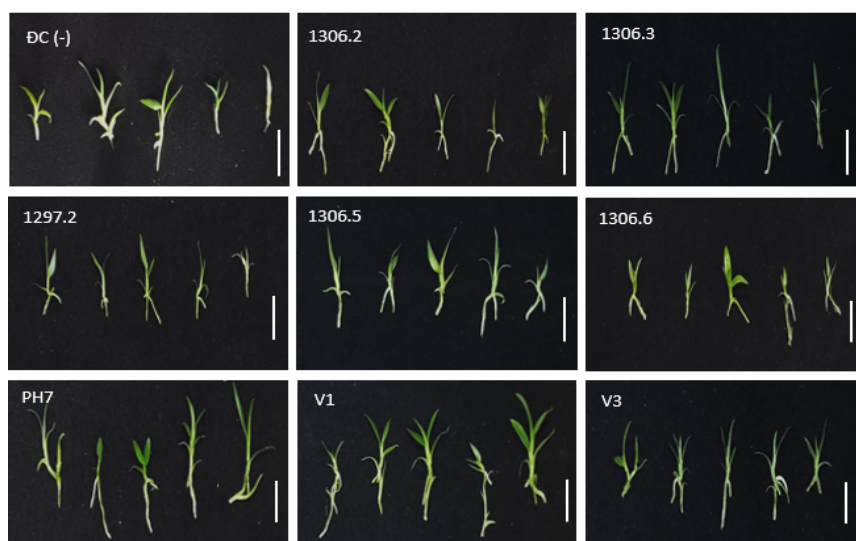
3.2. Kiểm tra tác động của vi khuẩn lên cây lan *Dendrobium* nuôi cấy mô

Thông qua kết quả thí nghiệm ở bảng 1 có thể thấy, cả 10 dòng vi khuẩn sinh tổng hợp IAA đều có khả năng thúc đẩy sự phát triển rễ ở cây lan nuôi cấy mô một cách rõ rệt so với đối chứng (không tiếp xúc vi khuẩn). Tỷ lệ cây ra rễ ở các nghiệm thức xử lý vi khuẩn trung bình đạt 76%, cao hơn đáng kể so với đối chứng chỉ đạt 68%. Ngoài ra, chiều dài rễ của cây cũng tăng đáng kể ở các nghiệm thức có sự hiện diện của vi khuẩn sinh IAA. Cụ thể, chiều dài rễ khi xử lý vi khuẩn dao động từ $4,40 \pm 3,58$ mm (C5) đến $7,84 \pm 4,50$ mm (PGT7), gấp từ 1,3 đến hơn 2,2 lần so với chiều dài rễ trung bình ở nghiệm thức đối chứng chỉ đạt 3,52 mm và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Bảng 1. Kết quả kiểm tra tác động của vi khuẩn sinh IAA lên cây lan *Dendrobium* nuôi cấy mô

Tên nghiệm thức	Số rễ	Chiều dài rễ (mm)	Tỷ lệ tạo rễ (%)
Đối chứng (-)	$1,1 \pm 0,9$	$3,5^b \pm 3,1$	68
1306.2	$1,6 \pm 0,7$	$6,0^{ab} \pm 3,4$	96
1306.3	$1,8 \pm 0,7$	$6,8^{ab} \pm 3,4$	96
1306.5	$1,8 \pm 0,9$	$6,7^{ab} \pm 3,2$	92
1306.6	$1,4 \pm 1,1$	$5,2^{ab} \pm 4,5$	72
1297.2	$1,6 \pm 0,9$	$5,7^{ab} \pm 4,1$	84
PGT7	$1,5 \pm 0,7$	$7,8^a \pm 4,7$	92
PH7	$1,2 \pm 0,7$	$6,5^{ab} \pm 4,0$	88
V1	$1,7 \pm 0,9$	$6,9^{ab} \pm 4,5$	84
V3	$1,2 \pm 0,9$	$4,4^{ab} \pm 3,6$	76
C5	$1,1 \pm 0,8$	$4,4^{ab} \pm 4,0$	76

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có chữ cái khác nhau thì sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.



Hình 2. Kết quả kiểm tra tác động của các dòng vi khuẩn sinh IAA lên cây lan *Dendrobium* nuôi cấy mô

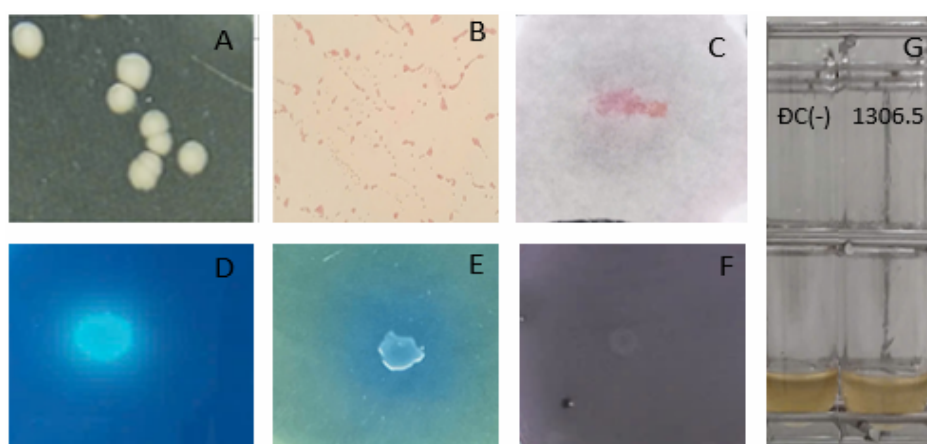
Ghi chú: Thanh tỷ lệ = 10 mm.

3.3. Kết quả định danh vi khuẩn

Bảng 3. Kết quả sinh hoá của dòng vi khuẩn 1306.5

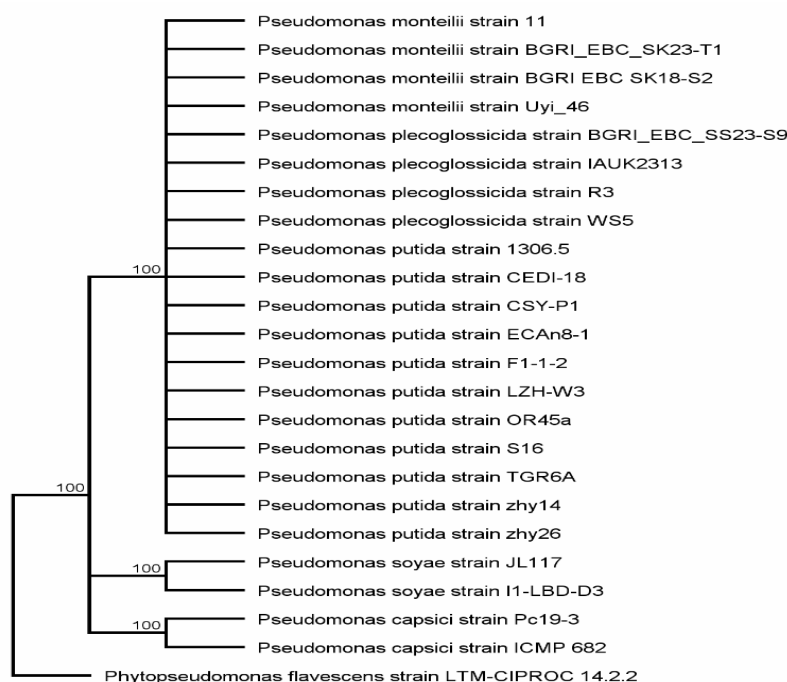
Mô tả khuẩn lạc	Hình dạng tế bào	Gram	Thử nghiệm catalase	Thử nghiệm oxidase	VP	Khả năng phát quang	Phân giải tinh bột	Thử nghiệm citrate
Hình tròn, màu trắng sữa, có rìa nhẵn màu trắng trong	Que	-	+	+	-	+	-	+

Ghi chú: “-” thể hiện âm tính; “+” thể hiện dương tính.



Hình 3. Kết quả một số phản ứng sinh hoá của dòng vi khuẩn 1306.5

A - Hình thái khuẩn lạc; B - Hình nhuộm Gram, C - Phản ứng oxidase, D - Thử nghiệm khả năng phát quang; E - Thử nghiệm citrate, F - Thử nghiệm phân giải tinh bột, G - Thử nghiệm VP.



Hình 4. Cây phân nhóm tương đồng trình tự vùng gene 16S rRNA của dòng vi khuẩn 1306.5. Số tại các nút thể hiện giá trị Bootstrap (%) với 1.000 lần lặp

Dựa vào kết quả phân tích vùng gene 16S - rRNA sau khi so sánh với cơ sở dữ liệu NCBI cho thấy, dòng vi khuẩn 1306.5 có độ tương đồng cao lên đến 99,5% với loài *Pseudomonas putida* (AY741156). Kết quả này cũng được củng cố thêm bởi các đặc điểm về hình thái và sinh hoá của vi khuẩn cũng rất phù hợp với loài vi khuẩn này như: Hình que, Gram âm, phát quang trên môi trường King'B, dương tính phản ứng citrate, oxidase, catalase, âm tính phản ứng VP hay không phân giải tinh bột. Tuy nhiên, cây phát sinh chủng loại được xây dựng từ trình tự 16S rRNA cho thấy, dòng vi khuẩn 1306.5 nằm trong một nhánh có độ tin cậy cao (bootstrap value 100%) bao gồm: Các loài có quan hệ gần gũi trong chi *Pseudomonas*, cụ thể là *P. putida*, *P. monteilii* và *P. plecoglossicida*. Sự sắp xếp của các loài trong nhánh này cho thấy gene 16S - rRNA không đủ khả năng phân giải để phân biệt rõ ràng giữa các loài này. Vì vậy, cần có sự phân tích và so sánh các vùng trình tự khác như *rpoB* hoặc *gyrB* để có thêm bằng chứng khẳng định về loài.

Các nghiên cứu trước đây đã từng ghi nhận hiệu quả kích thích sinh trưởng của *P. putida* ở các loài cây khác nhau bao gồm: Cà chua (*Solanum*

lycopersicum) [14], cải dầu (*Brassica juncea*) [15] và dưa chuột (*Cucumis sativus* L.) [16]. Đối với các nghiên cứu trên lan, chi *Pseudomonas* cũng đã từng được phát hiện với khả năng sản sinh IAA và thúc đẩy sinh trưởng cho cây trong kết quả nghiên cứu Tsavkelova và cs (2007) [9]. Trong khi đó, kết quả nghiên cứu của Wilkinson và cs (1994) [17] khẳng định, IAA do *P. putida* sinh ra giúp thúc đẩy sự nảy mầm ở lan *Pterostylis vittata*. Những dẫn chứng này gợi mở về tiềm năng nghiên cứu, khai thác *P. putida* trong thực tiễn trồng và chăm sóc lan. Bên cạnh đó, việc ứng dụng vi khuẩn này ở giai đoạn nhân giống lan như một tác nhân kích thích ra rễ và hỗ trợ cây con sớm thích ứng với hệ vi sinh vật bản địa cũng là một hướng đi mới mẻ đầy triển vọng cần được đánh giá và nghiên cứu nhiều hơn.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy, hệ vi khuẩn có khả năng sinh IAA và kích thích sinh trưởng rễ ở lan khá đa dạng, đồng thời thể hiện tiềm năng ứng dụng cao như những tác nhân sinh học hỗ trợ phát triển cây lan theo hướng bền vững. Trong số các dòng vi khuẩn được khảo sát, dòng 1306.5 tạo ra lượng IAA cao nhất và cho hiệu quả kích thích rễ

vượt trội trên cây lan *Dendrobium* nuôi cấy mô và đã được xác định thuộc chi *Pseudomonas* và có quan hệ gần gũi nhất với *P. putida*. Những phát hiện này gợi mở tiềm năng lớn của *P. putida* trong việc phát triển các chế phẩm sinh học kích thích sinh trưởng cho lan nói riêng và cây trồng nói chung.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Givnish T. J., Spalink D., Ames M., Lyon S. P., Hunter S. J., Zuluaga A., Doucette A., Caro G. G., McDaniel J., Clements M. A. (2016). Orchid historical biogeography, diversification, Antarctica and the paradox of orchid dispersal. *Journal of Biogeography*, 43(10): 1905 - 1916.
2. Choudhary D., Mashkey V. K., Goutam E., Shrivastava M., Rawat M., Kumari A., Tripathi V. (2023). Medicinal orchids: Traditional uses and recent advances. *Ann. Phytomed*, 12(1): 1 - 9.
3. Yuan S. -C., Lekawatana S., Amore T. D., Chen F. -C., Chin S. -W., Vega D. M., Wang Y. -T. (2021). The global orchid market, *Springer*, 1 - 28.
4. Mehmood U., Inam-ul-Haq M., Saeed M., Altaf A., Azam F., Hayat S. (2018). A brief review on plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A key role in plant growth promotion. *Plant Prot*, 2(2): 77 - 82.
5. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 10784:2015. Vi sinh vật - Xác định khả năng sinh tổng hợp axit 3-indol-acetic (IAA).
6. Murashige T., Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3).
7. Shah S., Chand K., Rekadwad B., Shouche Y. S., Sharma J., Pant B. (2021). A prospectus of plant growth promoting endophytic bacterium from orchid (*Vanda cristata*). *BMC biotechnology*, 21(1): 16.
8. Nakayashiki H., Kiyotomi K., Tosa Y., Mayama S. (1999). Transposition of the retrotransposon MAGGY in heterologous species of filamentous fungi. *Genetics*, 153(2): 693 - 703.
9. Tsavkelova E. A., Cherdyntseva T. A., Botina S. G., Netrusov A. I. (2007). Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin. *Microbiological research*, 162(1): 69 - 76.
10. Somasegaran P., Hoben H. J. (2012). Handbook for rhizobia: Methods in legume-Rhizobium technology, *Springer Science & Business Media*.
11. Bergey, D. H. (1994). Bergey's manual of determinative bacteriology. *Lippincott Williams & Wilkins*.
12. Nguyễn Xuân Trường, Đinh Trường Sơn, Nguyễn Thị Thuỷ, Nguyễn Thị Sơn, Phạm Thị Hải (2022). Phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn nội sinh có khả năng cố định đạm, phân giải lân, tổng hợp IAA từ các loài lan tại Việt Nam. *Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc năm 2022*.
13. Herrera H., Sanhueza T., Novotná A., Charles T. C., Arriagada C. (2020). Isolation and identification of endophytic bacteria from mycorrhizal tissues of terrestrial orchids from Southern Chile. *Diversity*, 12(2): 55.
14. Hernández-Montiel L. G., Chiquito Contreras C. J., Murillo Amador B., Vidal Hernández L., Quiñones Aguilar E. E., Chiquito Contreras R. G. (2017). Efficiency of two inoculation methods of *Pseudomonas putida* on growth and yield of tomato plants. *Journal of soil Science and Plant nutrition*, 17(4): 1003 - 1012.
15. Mishra I., Fatima T., Egamberdieva D., Arora N. K. (2020). Novel bioformulations developed from *Pseudomonas putida* BSP9 and its biosurfactant for growth promotion of *Brassica juncea* (L.). *Plants*, 9(10): 1349.
16. Kakbra R. F. (2024). Effect of seaweed, moringa leaf extract and biofertilizer on growth, yield and fruit quality of cucumber (*Cucumis sativus* L.) under greenhouse condition. *arXiv preprint arXiv. 2403.17984*.
17. Wilkinson K., Dixon K., Sivasithamparam K., Ghisalberti E. (1994). Effect of IAA on symbiotic germination of an Australian orchid and its production by orchid-associated bacteria. *Plant and soil*, 159(2): 291 - 295.

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF IAA (Indole-3-Acetic Acid) - PRODUCING *Rhizobacteria* FROM ORCHID NATIVE SPECIES

**Huynh Thi Minh Thu^{1,2}, Huynh Nguyen Thuy Duong^{1,2}, Huynh Thi Hong Phan^{1,2},
Nguyen Thi My Ngoc^{1,2}, Thach Ba Thien^{1,2}, Le Dinh Don^{1,2}, Bui Cach Tuyen^{2,*}**

¹*Faculty of Biological Sciences, Nong Lam University, Ho Chi Minh city*

²*Institute of Biotechnology and Environment, Nong Lam University, Ho Chi Minh city*

Abstract

In this study, 44 bacterial strains were isolated from the roots of seven native orchid species cultivated in Ho Chi Minh city and Lam Dong province. Among them, 10 strains were identified as indole-3-acetic acid (IAA)-producing bacteria using the colorimetric method with Salkowski reagent. The highest IAA concentration was recorded at 86.21 ± 1.72 mg/L, produced by strain 1306.5. In addition, the experiment evaluating the effect of IAA-producing bacteria on tissue-cultured *Dendrobium* sp. plantlets showed that all 10 strains significantly promoted root development within 30 days of observation compared to the untreated control. Among them, strain 1306.5 exhibited the most remarkable effectiveness and was identified as belonging to the genus *Pseudomonas*, showing the closest relationship to *Pseudomonas putida* based on molecular identification and biochemical characterization. This opens up a promising direction for applying these bacterial strains as bioagents to support sustainable orchid growth and development, contributing to improved cultivation efficiency and the conservation of valuable plant genetic resources.

Keywords: IAA, native orchids, *Pseudomonas putida*, symbiotic bacteria.

Ngày nhận bài: 24/8/2025

Ngày chuyển phản biện: 13/11/2025

Ngày thông qua phản biện: 01/12/2025

Ngày duyệt đăng: 12/12/2025