

PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN VÀ ĐỊNH DANH VI KHUẨN CỐ ĐỊNH ĐẠM NỘI SINH TỪ CÂY KHÓM TRỒNG TRÊN ĐẤT PHÈN VỊ THANH, HẬU GIANG

Ngô Vĩnh Tường¹, Lê Thị Mỹ Thu²,
Lý Ngọc Thanh Xuân³, Nguyễn Quốc Khương^{2,*}

TÓM TẮT

Mục tiêu nghiên cứu nhằm tìm ra dòng vi khuẩn nội sinh bản địa có khả năng cung cấp đạm từ cây khóm trồng trên đất phèn. Hai mươi mẫu rễ và thân cây khóm được thu thập tại xã Hòa Tiến và Tân Tiến, thành phố Vị Thanh, tỉnh Hậu Giang. Kết quả phân lập được 42 dòng vi khuẩn nội sinh từ rễ và thân cây khóm trên môi trường LGI và NFB. Trong đó, tuyển chọn được 13 dòng vi khuẩn có khả năng cố định đạm trong điều kiện chua. Dòng vi khuẩn L - VT08c cố định đạm tốt nhất với hàm lượng đạm 0,67 mg NH_4^+ L⁻¹ từ môi trường LGI, dòng vi khuẩn N - VT01 cố định lượng đạm 2,62 mg NH_4^+ L⁻¹ từ môi trường NFB. Hai dòng vi khuẩn L-VT08c và N-VT01 có khả năng cung cấp IAA lần lượt là 33,1 và 11,9 mg L⁻¹ và bị giới hạn sinh trưởng bởi độc chất Al^{3+} là 9,68 và 20,7%, độc chất Fe^{2+} là 75,4 và 10,1%, theo cùng thứ tự. Hai dòng vi khuẩn L-VT08c và N-VT01 được định danh bằng kỹ thuật 16S rDNA là *Burkholderia tropica*, với tỷ lệ tương đồng 100%.

Từ khóa: Cố định đạm, đất phèn, độc chất nhôm, độc chất sắt, vi khuẩn nội sinh.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Khóm (*Ananas comosus* L. Merrill) là loại trái cây phổ biến trên thị trường thế giới, với hương vị dễ chịu và được đánh giá cao vì giàu các thành phần dinh dưỡng như đường (sucrose, fructose và glucose), axit hữu cơ, chất xơ, khoáng chất (kali, canxi, magie, phospho, sắt và mangan), vitamin (A, B và C) [1]. Theo thống kê năm 2019, diện tích sản xuất khóm trên thế giới là 1.125.307 ha với sản lượng 28.179.348 tấn và năng suất là 25,05 tấn ha⁻¹. Trong đó, ở Việt Nam diện tích canh tác chiếm 39.158 ha với sản lượng 707.880 tấn và năng suất là 18,08 tấn ha⁻¹ [2]. Đối với tỉnh Hậu Giang diện tích canh tác khóm được báo cáo đến tháng 10 năm 2021 là 2.908 ha với sản lượng là 33.000 tấn và năng suất là 11,35 tấn ha⁻¹ [3]. Đạm là một chất dinh dưỡng cần thiết cho sự phát triển của cây trồng, nên lượng lớn phân đạm được sử dụng để đạt năng suất cây trồng tối đa, tuy nhiên, sử dụng phân đạm hóa học dẫn đến bất lợi cho môi trường như phát thải khí nhà kính, đất bạc màu và đồng thời cũng ảnh hưởng đến chất lượng nông sản [4]. Để khắc phục những bất lợi từ phân đạm hóa

học, cần phải tìm một nguồn đạm sinh học cung cấp cho cây trồng. Trong đó, chủng vi khuẩn nội sinh được chứng minh là biện pháp triển vọng thông qua khả năng cố định đạm để thay thế một phần nguồn phân bón hóa học và thúc đẩy sự phát triển của cây trồng [5]. Các chi vi khuẩn nội sinh *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum* và *Paenibacillus* đã được chứng minh là thúc đẩy sinh trưởng và phát triển cây trồng [6]. Vi khuẩn nội sinh cố định đạm được tìm thấy trên nhiều loại cây gồm khoai lang như *B. vietnamiensis* [7], mía như dòng *Kosakonia radicincitans* [8] và đã được ứng dụng để giúp tăng khối lượng khô của rễ và chồi, hàm lượng đạm và nâng cao năng suất sinh khối. Trên cây khóm, các dòng vi khuẩn cố định đạm, hòa tan lân và tổng hợp IAA như *B. tropica* và *E. hormaechei* được phân lập từ mẫu cây thu tại huyện Vĩnh Thuận, tỉnh Kiên Giang [9]. Ngoài ra, theo nghiên cứu của Trần Thanh Phong, Cao Ngọc Diệp (2011) cho thấy, hai dòng Burk.7 (TL1-1R) và Burk.8 (MP-L) đều có cả ba đặc tính tốt nhất như cố định đạm, hòa tan lân và tổng hợp IAA trong chín dòng *Burkholderia* được phân lập từ cây khóm tại huyện Tân Phước, tỉnh Tiền Giang [10]. Do đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm tuyển chọn vi khuẩn nội sinh cố định đạm trên cây khóm trồng trên đất phèn ở thành phố Vị Thanh, tỉnh Hậu Giang.

¹ Học viên cao học ngành Khoa học cây trồng khóa 27, Trường Đại học Cần Thơ

² Bộ môn Khoa học cây trồng, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

* Email: ngkhuong@ctu.edu.vn

³ Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP**2.1. Vật liệu**

Mẫu rễ và thân cây khóm được thu tại ruộng nông dân chuyên canh khóm tại xã Hòa Tiến và Tân Tiến, thành phố Vị Thanh, tỉnh Hậu Giang.

Các môi trường được dùng để nuôi cấy vi khuẩn bao gồm môi trường LGI và NFB dùng để phân lập vi khuẩn nội sinh cố định đạm và đánh giá khả năng tiết IAA, môi trường Burk's được dùng để đánh giá khả năng cố định đạm.

Môi trường NFB (g L^{-1}) với thành phần gồm: 5 axit malic, 0,5 K_2HPO_4 , 0,2 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,1 NaCl, 0,02 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 4,5 KOH, 2 mL vi lượng, 2 mL bromothymol blue (5% trong KOH 0,2 N), 4 mL FeEDTA (1,64%), 1 mL vitamin và 20 thạch cho môi trường rắn và điều chỉnh pH 6,5.

Thành phần môi trường Burk's (g L^{-1}) gồm: 0,41 KH_2PO_4 , 0,52 K_2HPO_4 , 0,05 Na_2SO_4 , 0,2 CaCl_2 , 0,1 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,005 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,0025 $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 10 sucrose và 20 thạch.

Hóa chất để pha 1 L môi trường TYGA gồm: 5 g tryptone, 3 g yeast extract, 1 g glucose và 15 g thạch.

Môi trường LGI (g L^{-1}) có thành phần gồm: 10 sucrose, 0,01 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,02 $\text{Na}_2\text{MnO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5 mL bromothymol blue (0,5% trong KOH 0,2 N), 10 mL Stock LGI (0,2 g K_2HPO_4 , 0,6 g KH_2PO_4 , 0,2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,02 g CaCl_2) và 20 thạch cho môi trường rắn và điều chỉnh pH môi trường là 5,5 - 6,0.

Nồng độ Al^{3+} 2.500 mg L^{-1} được chuẩn bị từ hợp chất $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ và nồng độ Fe^{2+} 5.000 mg L^{-1} từ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

2.2. Phương pháp**2.2.1. Thu mẫu rễ và thân**

Mẫu rễ và thân khóm được chọn từ cây không bị bệnh và phát triển tốt ở giai đoạn 8 tháng tuổi. Sau đó, mẫu được trữ lạnh và đem về phòng thí nghiệm để phân lập vi khuẩn. Trong đó, thu 10 mẫu ở mỗi địa điểm tại xã Hòa Tiến và Tân Tiến.

2.2.2. Phân lập vi khuẩn nội sinh cố định đạm từ cây khóm

Mẫu rễ và thân khóm được rửa sạch bằng nước máy, cắt thành từng đoạn nhỏ. Cân 2 g mẫu cho vào bình tam giác 250 mL và thêm 10 mL cồn 96%, mẫu được lắc nhẹ trong 10 phút, rửa sạch mẫu bằng nước cất vô trùng 3 lần, mỗi lần rửa trong 5 phút. Tiếp

theo, bổ sung 5 mL calcium hypochloride 2%, lắc trong 10 phút, sau đó, rửa lại mẫu bằng nước cất vô trùng 4 lần (5 phút lần⁻¹). Hút 200 μL nước rửa lần thứ 4 trải đều trên môi trường TYGA, ủ 30°C, 48 giờ. Các đĩa môi trường không xuất hiện khuẩn lạc cho thấy mẫu đã đạt yêu cầu. Sau đó, mẫu được giã nhuyễn bằng cối sứ, thêm 1 mL nước cất vô trùng và khuấy đều. Hút 500 μL dịch trích mẫu cho vào ống nghiệm chứa môi trường LGI và NFB bán đặc, với 3 lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức. Đậy kín các ống nghiệm và ủ 30°C trong 2 - 4 ngày đến khi xuất hiện lớp màng mỏng trên bề mặt môi trường. Lớp màng mỏng chứa vi khuẩn nội sinh được trải sang môi trường LGI và NFB rắn không đậm và ủ ở nhiệt độ 30°C trong 48 giờ. Sau khi xuất hiện khuẩn lạc tiến hành cấy chuyển sang các đĩa môi trường tương ứng 2 - 3 lần cho đến khi khuẩn lạc đạt thuần. Trong trường hợp, trong cùng 1 đĩa, các khuẩn lạc có hình thái khác nhau được chuyển sang 1 đĩa khác với ký hiệu a, b, c và d.

2.2.3. Tuyển chọn vi khuẩn nội sinh sống trong điều kiện chua

Tất cả 42 dòng vi khuẩn nội sinh thuần được nuôi trong điều kiện pH 4,50. Sử dụng 10% (2 mL) dịch khuẩn có giá trị OD_{660} là 0,5 cho vào ống nghiệm 50 mL có chứa 18 mL dung dịch môi trường LGI hoặc NFB lỏng, mỗi dòng được thực hiện với 3 lần lặp lại. Tất cả các ống nghiệm được lắc trên máy lắc ở tốc độ 120 vòng phút⁻¹ ở điều kiện tối trong 48 giờ. Sau đó, các dung dịch này được đo trên máy so màu ở bước sóng 660 nm. Các dòng vi khuẩn đạt giá trị OD_{660} lớn hơn 0,5 sau 48 giờ ủ được sử dụng để tuyển chọn vi khuẩn có khả năng cố định đạm.

2.2.4. Tuyển chọn vi khuẩn nội sinh cố định đạm

Tất cả 21 dòng vi khuẩn nội sinh cây khóm phân lập từ môi trường LGI và NFB chịu được điều kiện chua thử ở điều kiện 4°C và được sử dụng đánh giá khả năng cố định đạm và tổng hợp IAA.

Định lượng khả năng cố định đạm: 21 dòng vi khuẩn chịu được điều kiện pH thấp được nuôi trong môi trường Burk's lỏng không đậm để đánh giá khả năng cố định đạm. Hút 1,0 mL dung dịch mỗi dòng vi khuẩn đã được điều chỉnh $\text{OD}_{660} = 0,5$ cho vào ống nghiệm chứa 9 mL môi trường Burk's lỏng không đậm, mỗi dòng vi khuẩn tương ứng với 3 lần lặp lại. Sau đó dung dịch được lắc với tốc độ 120 vòng phút⁻¹ ở điều kiện tối. Dung dịch môi trường Burk's không

có vi khuẩn được sử dụng làm mẫu đối chứng. Sau 48 giờ ủ, 1,0 mL dung dịch vi khuẩn được hút để ly tâm ở tốc độ 10.000 vòng phút⁻¹ trong 15 phút. Phương pháp hiện màu blue phenol được sử dụng để định lượng đậm dung dịch sau ly tâm ở bước sóng 640 nm trên máy quang phổ [11].

Định lượng IAA: Tất cả 10 dòng vi khuẩn có khả năng chịu được môi trường chua và khả năng cố định đạm được sử dụng để đánh giá khả năng cung cấp IAA trong môi trường LGI và NFB với pH 4,50. Bổ sung tiền chất tryptophan (100 µg L⁻¹) nhằm hỗ trợ tổng hợp IAA. Hút 1,0 mL dung dịch các dòng vi khuẩn có giá trị OD₆₆₀ ở 0,5 cho vào ống nghiệm có chứa sẵn 9,0 mL môi trường LGI và NFB đã có tryptophan và ủ trong 48 giờ, mỗi dòng vi khuẩn tương ứng với 3 lặp lại. Đối với mẫu đối chứng, sử dụng dung dịch môi trường có tryptophan mà không có bổ sung vi khuẩn. Tiếp đến là 1,0 mL dung dịch vi khuẩn được hút để ly tâm ở tốc độ 10.000 vòng phút⁻¹ trong 15 phút. Hàm lượng IAA được xác định bằng phương pháp so màu Salkowski và được thực hiện như sau: 0,75 mL dung dịch trích đã được ly tâm được trộn với 3,0 mL tác chất Salkowski (4,5 g L⁻¹ FeCl₃ trong 10,8 M H₂SO₄) và ủ ở nhiệt độ phòng trong 20 phút. Sau đó, hàm lượng IAA được đo ở bước sóng 535 nm [12].

2.2.5. Đánh giá khả năng chịu được môi trường chua

Lấy 10% dịch nuôi cấy có giá trị OD₆₆₀ = 0,5 thêm vào ống nghiệm có chứa 90% môi trường LGI và NFB pH 4,50, đã được điều chỉnh nồng độ Al³⁺ cuối cùng là 68 mg Al³⁺ L⁻¹. Tương tự, thực hiện đối với mẫu không có bổ sung Al³⁺, với ba lần lặp lại cho mỗi dòng vi khuẩn. Sau 72 giờ ủ, sự phát triển của vi khuẩn được xác định bằng cách đo độ đục trên máy quang phổ ở bước sóng 660 nm. Tính sự giới hạn của vi khuẩn dựa trên hiệu trong điều kiện không có bổ sung Al³⁺ so với có bổ sung Al³⁺. Tương tự, xác định sự giới hạn sinh trưởng của vi khuẩn trong điều kiện độc chất Fe²⁺ ở ngưỡng 250 mg Fe²⁺ L⁻¹.

2.2.6. Định danh vi khuẩn nội sinh cố định đạm

Hai dòng vi khuẩn đã tuyển chọn được nuôi 48 giờ trong môi trường LGI và NFB. Sau đó, 2 mL khuẩn lạc được hút để ly tâm ở tốc độ 10.000 vòng phút⁻¹ trong 5 phút nhằm thu được tế bào để trích DNA bằng Genomic DNA Prep Kit (BioFACTTM), theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Nồng độ và độ

thuần được kiểm tra trên 1,0% w/v agarose gel bằng điện di. Sản phẩm DNA được khuếch đại gen mã hóa 16S rRNA bằng kỹ thuật PCR với cặp mồi P515FPL và P13B [13] như mô tả trong iProofTM High-Fidelity PCR Kit - Bio - Rad (BioRad, Hercules, CA) bởi T100TM thermo cycler (BioRad) cho vi khuẩn nội sinh. Kích thước của sản phẩm PCR được so với thang DNA chuẩn để xác nhận vị trí các band kích thước 1.500 bp đối với vi khuẩn nội sinh. Sản phẩm PCR được tinh sạch bằng TIANquick Midi Purification Kit (Tiangen Biotech Ltd., Beijing, China) theo hướng dẫn nhà sản xuất. Sau đó độ thuần được kiểm tra lại trên 1,0% w/v agarose gel bằng điện di. Sản phẩm PCR đã tinh sạch được giải trình tự bằng máy giải trình tự động tại Macrogen DNA Sequencing Service (Macrogen, Seoul, Korea). Phần mềm BioEdit, phiên bản 7.0.5.3 và phần mềm ChromasPro, phiên bản 1.7 được sử dụng để phân tích kết quả giải trình tự với sắc phổ [14]. Giải trình tự các dòng vi khuẩn được so sánh với các trình tự có sẵn trong ngân hàng gen bằng công cụ Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) của National Center for Biotechnology Information (NCBI) để xác định mức độ tương đồng.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được phân tích thống kê bằng phần mềm SPSS phiên bản 13.0, so sánh các giá trị trung bình giữa các dòng vi khuẩn bằng phép kiểm định Duncan.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập vi khuẩn nội sinh cố định đạm từ rễ và thân cây khóm trồng trên đất phèn tại thành phố Vị Thanh, tỉnh Hậu Giang

3.1.1. Phân lập vi khuẩn từ rễ và thân cây khóm

Kết quả phân lập và làm thuần được 26 dòng vi khuẩn nội sinh trên môi trường LGI và 16 dòng vi khuẩn trên môi trường NFB từ 20 mẫu rễ và thân cây khóm. Đặc tính của các khuẩn lạc được thể hiện ở bảng 1. Trong đó, dòng vi khuẩn được phân lập trên môi trường LGI và NFB chủ yếu là màu trắng đục với tỷ lệ lần lượt 65,4 và 62,5%. Dòng vi khuẩn phân lập có hình dạng tròn và dạng bìa nguyên chiếm ưu thế ở cả hai môi trường LGI (với tỷ lệ 73,1 và 92,3%) và NFB (với tỷ lệ 87,5 và 68,8%). Độ nổi mô dao động từ 30,8 đến 69,2% số dòng trên môi trường LGI và khoảng 6,20 - 75,0% trên môi trường NFB. Bên cạnh đó, các dòng vi khuẩn có kích thước chủ yếu 1 - 2 mm chiếm tỷ lệ 76,9% (LGI) và 81,3% (NFB).

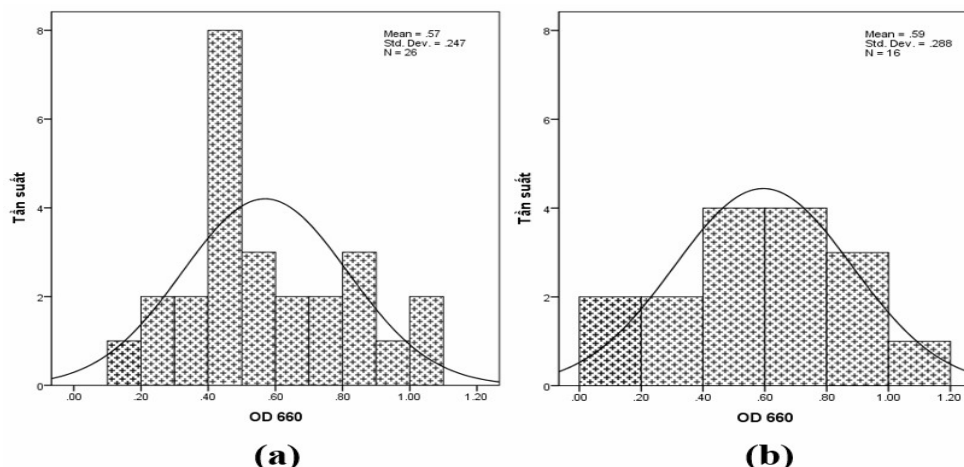
Bảng 1. Đặc tính khuẩn lạc nội sinh từ rễ và thân khóm trên môi trường LGI và NFB

Đặc tính		LGI		NFB	
		Số dòng vi khuẩn (dòng)	Tỷ lệ (%)	Số dòng vi khuẩn (dòng)	Tỷ lệ (%)
Màu sắc	Trắng đục	17	65,4	10	62,5
	Trắng trong	3	11,5	3	18,8
	Vàng	5	19,2	2	12,5
	Hồng	1	3,90	1	6,20
Dạng bìa	Bìa nguyên	24	92,3	11	68,8
	Bìa răng cưa	2	7,70	5	31,2
Độ nổi mô	Ít mô	18	69,2	12	75,0
	Mô vừa	8	30,8	3	18,8
	Mô cao	0	0	1	6,20
Hình dạng khuẩn lạc	Tròn	19	73,1	14	87,5
	Que	0	0	0	0
	Ovan	7	26,9	2	12,5
Kích thước (mm)	< 1	4	15,4	1	6,20
	1-2	20	76,9	13	81,3
	> 2	2	7,70	2	12,5

3.1.2. Khả năng chịu môi trường chua của các dòng vi khuẩn

Trong 42 dòng vi khuẩn nội sinh được làm thuần, có 13 dòng vi khuẩn phân lập trên môi trường LGI và 8 dòng vi khuẩn phân lập trên môi trường

NFB có giá trị OD_{660} lớn hơn 0,5 ở ngưỡng pH 4,50. Trong đó, trên môi trường LGI và NFB số dòng vi khuẩn có giá trị OD_{660} lớn hơn 1,0 là 2 và 1, theo thứ tự (Hình 1).



Hình 1. Khả năng chịu được môi trường chua của các dòng vi khuẩn phân lập từ môi trường (a) LGI và (b) NFB

3.2. Tuyển chọn vi khuẩn nội sinh cố định đạm từ rễ và thân cây khóm trồng trên đất phèn tại thành phố Vị Thanh, tỉnh Hậu Giang

3.2.1. Khả năng cố định đạm và tổng hợp IAA của vi khuẩn nội sinh được phân lập từ môi trường LGI

Bảng 2 cho thấy, hàm lượng đạm cố định của các dòng vi khuẩn nội sinh phân lập từ rễ và thân cây

khóm trên môi trường LGI khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. Hàm lượng đạm cố định ở dòng vi khuẩn L-VT05a đạt cao nhất (0,80 $\text{mg NH}_4^+ \text{L}^{-1}$), tiếp đến là các dòng vi khuẩn L-VT02, L-VT03, L-VT05b và L-VT09, đạt lần lượt là 0,74, 0,75, 0,73 và 0,75 $\text{mg NH}_4^+ \text{L}^{-1}$. Bên cạnh đó, hàm lượng đạm cố định thấp được ghi nhận ở các dòng vi khuẩn L-VT04 và VT10 lần lượt là 0,47 và 0,49 $\text{mg NH}_4^+ \text{L}^{-1}$.

Bảng 2. Hàm lượng đạm và IAA của các dòng vi khuẩn nội sinh phân lập từ rễ và thân cây khóm trên môi trường LGI

Dòng vi khuẩn	Hàm lượng đạm (mg NH ₄ ⁺ L ⁻¹)	Hàm lượng IAA (mg L ⁻¹)
L-VT01	0,58 ^{ef} ± 0,01	-
L-VT02	0,74 ^{abc} ± 0,01	-
L-VT03	0,75 ^{ab} ± 0,06	-
L-VT04	0,47 ^g ± 0,01	-
L-VT05a	0,80 ^a ± 0,03	17,0 ^c ± 0,90
L-VT05b	0,73 ^{abc} ± 0,03	26,2 ^b ± 0,95
L-VT05c	0,53 ^{fg} ± 0,04	-
L-VT08a	0,72 ^{bc} ± 0,10	30,1 ^{ab} ± 2,75
L-VT08b	0,63 ^{de} ± 0,01	33,5 ^a ± 2,75
L-VT08c	0,67 ^{cd} ± 0,05	33,1 ^a ± 2,80
L-VT08d	0,53 ^{fg} ± 0,04	31,3 ^a ± 2,08
L-VT09	0,75 ^{ab} ± 0,03	30,1 ^{ab} ± 2,08
L-VT10	0,49 ^g ± 0,01	-
Mức ý nghĩa	*	*
LSD _{0,05}	0,04	2,20
CV (%)	6,90	7,59

Ghi chú: Những ký tự theo sau chữ số khác nhau là khác biệt có ý nghĩa thống kê; *: khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Hàm lượng IAA của các dòng vi khuẩn nội sinh phân lập từ rễ và thân cây khóm trên môi trường LGI khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. Hàm lượng IAA được tổng hợp ở dòng vi khuẩn L-VT08a, L-VT08b, L-VT08c, L-VT08d và L-VT09 đạt tương đương so với nhau, với 30,1, 33,5, 33,1, 31,3 và 30,1 mg L⁻¹, theo thứ tự. Tuy nhiên, các dòng vi khuẩn L-VT05b, L-VT08a và L-VT09 có hàm lượng IAA tổng hợp tương đương với nhau, với 26,2, 30,1 và 30,1 mg L⁻¹. Hàm lượng IAA tổng hợp ở dòng vi khuẩn L-VT05a đạt 17,0 mg L⁻¹ (Bảng 2).

3.2.2. Khả năng cố định đạm và tổng hợp IAA của vi khuẩn nội sinh phân lập từ môi trường NFB

Bảng 3 cho thấy, hàm lượng đạm được cố định bởi các dòng vi khuẩn nội sinh phân lập từ rễ và thân cây khóm trên môi trường NFB khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. Trên môi trường NFB hàm lượng đạm được cố định cao nhất ở dòng vi khuẩn N-VT03, với 9,10 mg NH₄⁺ L⁻¹ và thấp nhất là dòng vi khuẩn N-VT06, với 0,23 mg NH₄⁺ L⁻¹. Hàm lượng đạm cố định của các dòng vi khuẩn N-VT01, N-VT04, N-VT05, N-VT07, N-VT07a và N-VT08 dao động từ 2,31 đến 7,30 mg NH₄⁺ L⁻¹.

Bảng 3 cho thấy, hàm lượng IAA được tổng hợp bởi các dòng vi khuẩn phân lập trên môi trường NFB

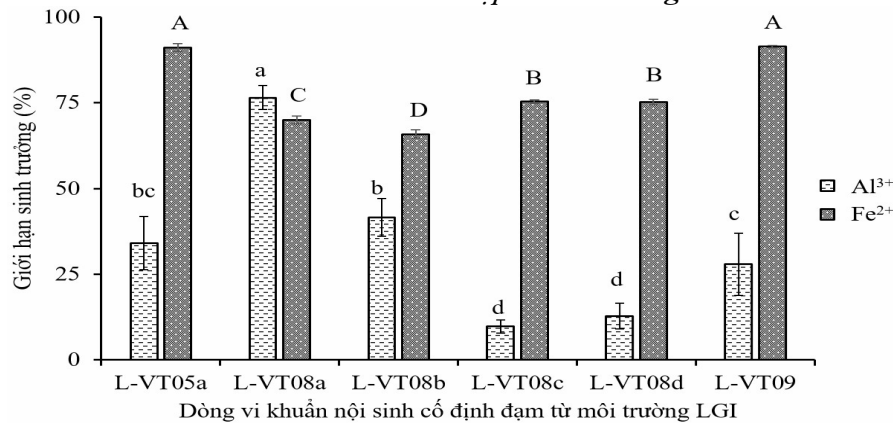
khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. Hàm lượng IAA tổng hợp của dòng vi khuẩn N-VT01 và N-VT06 cao tương đương nhau, với 11,9 và 15,2 mg L⁻¹, theo cùng thứ tự. Hàm lượng IAA tổng hợp thấp nhất ở dòng vi khuẩn N-VT04 (6,99 mg L⁻¹).

Bảng 3. Hàm lượng đạm và IAA của các dòng vi khuẩn nội sinh phân lập từ rễ và thân cây khóm trên môi trường NFB

Dòng vi khuẩn	Hàm lượng đạm (mg NH ₄ ⁺ L ⁻¹)	Hàm lượng IAA (mg L ⁻¹)
N-VT01	2,62 ^d ± 0,39	11,9 ^a ± 2,11
N-VT03	9,10 ^a ± 0,61	-
N-VT04	2,31 ^d ± 0,50	6,99 ^b ± 1,83
N-VT05	5,13 ^c ± 1,75	-
N-VT06	0,23 ^e ± 0,00	15,2 ^a ± 0,92
N-VT07	5,88 ^{bc} ± 0,33	-
N-VT07a	7,30 ^b ± 0,77	-
N-VT08	6,75 ^{bc} ± 1,45	-
Mức ý nghĩa	*	*
LSD _{0,05}	0,91	1,96
CV (%)	18,6	14,9

Ghi chú: Những ký tự theo sau chữ số khác nhau là khác biệt có ý nghĩa thống kê; *: khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

3.3. Sự giới hạn sinh trưởng của vi khuẩn nội sinh cố định đạm trong điều kiện độc chất Al^{3+} và Fe^{2+}



Hình 2. Ảnh hưởng của Al^{3+} và Fe^{2+} đến sinh trưởng của vi khuẩn nội sinh cố định đạm được phân lập từ môi trường LGI.

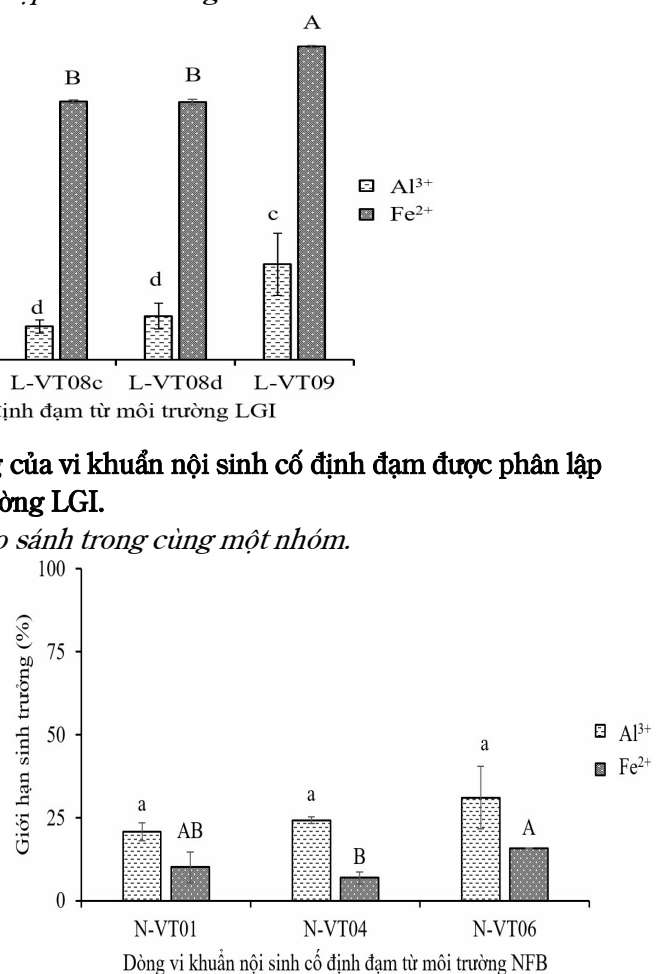
Ghi chú: các ký tự in thường/in hoa thường được so sánh trong cùng một nhóm.

Hình 2 cho thấy, giới hạn sinh trưởng của vi khuẩn nội sinh bị ảnh hưởng bởi độc chất Al^{3+} và Fe^{2+} được phân lập trên môi trường LGI khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. Giới hạn sinh trưởng của dòng vi khuẩn bị ảnh hưởng bởi Al^{3+} cao nhất là L-VT08a, với 76,5% trong khi đó dòng vi khuẩn L-VT08c và L-VT08d bị ảnh hưởng thấp hơn, với 9,68 và 12,7%. Các dòng vi khuẩn L-VT05a, L-VT08b và L-VT09 có tỷ lệ ảnh hưởng dao động 27,9 - 41,5%. Bên cạnh đó, giới hạn sinh trưởng của dòng vi khuẩn L-VT05a và L-VT09 bị ảnh hưởng bởi Fe^{2+} cao tương đương nhau, với 91,2 và 91,4%, theo cùng thứ tự, dòng vi khuẩn chịu ảnh hưởng của Fe^{2+} thấp nhất là L-VT08b, với 65,9%. Các dòng vi khuẩn L-VT08a, L-VT08c và L-VT08d có tỷ lệ bị ảnh hưởng khoảng 70,0 - 75,4%.

3.3.2. Ảnh hưởng của Al^{3+} và Fe^{2+} đến sinh trưởng của vi khuẩn nội sinh cố định đạm được phân lập từ môi trường NFB

Độc chất Al^{3+} gây ra sự giới hạn sinh trưởng đối với các dòng vi khuẩn N-VT01, N-VT04 và N-VT06 là tương đương nhau, với tỷ lệ bị ảnh hưởng đến sinh trưởng dao động từ 20,7 - 31,0%. Tuy nhiên, giới hạn sinh trưởng của vi khuẩn bị ảnh hưởng bởi Fe^{2+} được phân lập từ môi trường NFB khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. Dòng vi khuẩn N-VT06 bị ảnh hưởng bởi Fe^{2+} đến giới hạn sinh trưởng, với tỷ lệ 15,7% cao hơn so với dòng vi khuẩn N-VT04 (6,89%) và tương đương với dòng vi khuẩn N-VT01 (10,1%) (Hình 3).

3.3.1. Ảnh hưởng của Al^{3+} và Fe^{2+} đến sinh trưởng của vi khuẩn nội sinh cố định đạm được phân lập từ môi trường LGI



Hình 3. Ảnh hưởng của Al^{3+} và Fe^{2+} đến sinh trưởng của vi khuẩn nội sinh cố định đạm được phân lập từ môi trường NFB

Ghi chú: các ký tự in thường/in hoa thường được so sánh trong cùng một nhóm.

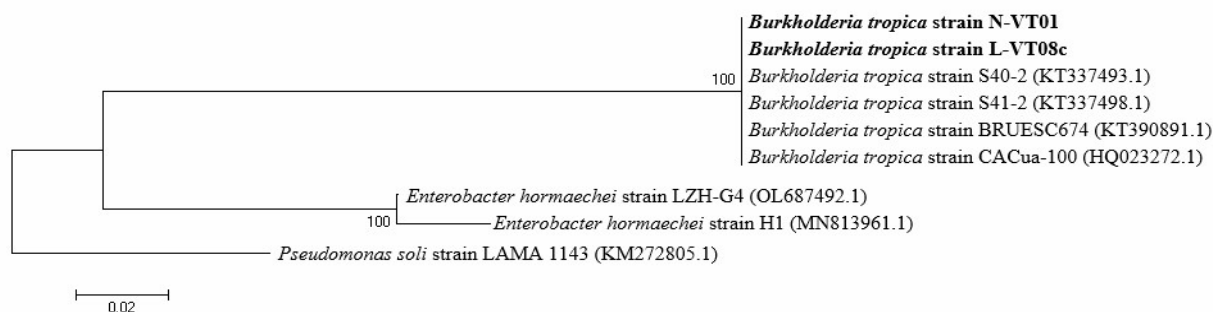
Kết quả phân tích trên đã tuyển chọn được hai dòng vi khuẩn L-VT08c và N-VT01 có hàm lượng đạm, hàm lượng IAA, giới hạn sinh trưởng bởi độc chất Al^{3+} và Fe^{2+} đạt kết quả tốt hơn so với các dòng vi khuẩn còn lại. Do đó, hai dòng vi khuẩn L-VT08c và N-VT01 được tuyển chọn và tiến hành định danh (Bảng 2-3 và hình 2-3).

3.4. Định danh vi khuẩn nội sinh cố định đạm chịu được môi trường chua và độc chất Al^{3+} và Fe^{2+} từ rễ và thân cây khóm trồng trên đất phèn tại thành phố Vị Thanh, tỉnh Hậu Giang

Kết quả so sánh giải trình tự của dòng vi khuẩn N-VT01 trên NCBI có tỷ lệ tương đồng với *B. tropica* S40-2 (KT337493.1) và S41-2 (KT337498.1); dòng vi khuẩn L-VT08c tương đồng với *B. tropica*

BRUESC674 (KT390891.1) và CACua-100 (HQ023272.1), với tỷ lệ 100% cho cả hai dòng. Dòng vi khuẩn nội sinh cố định đạm được định danh thuộc

chi *Burkholderia* và loài *tropica* với tỷ lệ tương đồng 100% và được đặt tên *Burkholderia tropica* N-VT01 và L-VT08c (Hình 4).



Hình 4. Vị trí dòng vi khuẩn N-VT01 và L-VT08c trên cây phả hệ theo trình tự gen

3.5. Thảo luận

Cây khóm thích nghi tốt trong phạm vi pH 4,5-5,5, nhưng giá trị pH thấp là nguyên nhân dẫn đến Al và Fe kết tủa trong đất [15]. Tuy nhiên, nghiên cứu của Chen và Lin (2010) cho thấy, nồng độ Al^{3+} ở mức 300 μM $AlCl_3$ gây ảnh hưởng đến rễ và sự phát triển của cây khóm [16]. Do đó, nghiên cứu nồng độ Al^{3+} và Fe^{2+} lần lượt là 68 $mg\ L^{-1}$ và 250 $mg\ L^{-1}$ để đánh giá khả năng chịu đựng điều kiện độc chất của vi khuẩn.

Vi khuẩn nội sinh cố định đạm được đề xuất để sử dụng như một loại phân bón sinh học thay thế phân bón hóa học nhằm giảm chi phí sản xuất và cải thiện môi trường và thúc đẩy sự phát triển cây trồng [17]. Cố định đạm sinh học là cơ chế thiết yếu để góp phần sản xuất nông nghiệp bền vững [17]. Theo Bùi Thanh Đạo và cs (2021), hàm lượng đạm được các dòng vi khuẩn nội sinh cố định trên cây đậu phộng dao động 0,08-2,25 $mg\ NH_4^+\ L^{-1}$ [18]. Trong nghiên cứu này, các dòng vi khuẩn được phân lập trên cây khóm được nuôi cấy trong môi trường LGI hàm lượng đạm được cố định dao động 0,47-0,80 $mg\ NH_4^+\ L^{-1}$, cao nhất là dòng vi khuẩn L-VT05a đạt 0,80 $mg\ NH_4^+\ L^{-1}$, thấp nhất là dòng vi khuẩn L-VT04 đạt 0,47 $mg\ NH_4^+\ L^{-1}$ (Bảng 2) và trên môi trường NFB dao động khoảng 0,23-9,10 $mg\ NH_4^+\ L^{-1}$, cao nhất là dòng vi khuẩn N-VT03 đạt 9,10 $mg\ NH_4^+\ L^{-1}$, thấp nhất là dòng vi khuẩn N-VT06 đạt 0,23 $mg\ NH_4^+\ L^{-1}$ (Bảng 3). Qua kết quả trên cho thấy các dòng vi khuẩn được tuyển chọn từ cây khóm đều có khả năng cố định đạm và có tiềm năng cao để ứng dụng trong nông nghiệp.

IAA là một trong những hormone quan trọng nhất trong việc kích thích sự phát triển và tăng trưởng ở cây trồng [19]. Al-Hosni và cs (2018) đã sử dụng vi khuẩn nội sinh để sản xuất IAA nhằm thúc

đẩy sinh trưởng và năng suất cây trồng [20]. Theo kết quả nghiên cứu của Li và cs (2017) cho thấy, các dòng vi khuẩn nội sinh được phân lập trên cây mía có hàm lượng IAA được tổng hợp dao động từ 312,07 - 13,12 $\mu g\ mL^{-1}$ trong môi trường bổ sung tryptophan [21]. Đối với nghiên cứu này, các dòng vi khuẩn được phân lập trong môi trường LGI có hàm lượng IAA tổng hợp dao động 17,0 - 33,5 $mg\ L^{-1}$ và trên môi trường NFB dao động từ 6,99 - 15,2 $mg\ L^{-1}$ (Bảng 2 và 3). Điều này cho thấy, các dòng vi khuẩn đều sở hữu đồng thời khả năng cố định đạm và tổng hợp hàm lượng IAA.

Bên cạnh đó, vi khuẩn nội sinh có tiềm năng cải thiện độc chất Al^{3+} và Fe^{2+} trong đất phèn. Nghiên cứu của Nguyễn Quốc Khương và cs (2020b) cho thấy, hàm lượng Fe^{2+} trên đất canh tác khóm tại thành phố Vị Thanh, tỉnh Hậu Giang dao động từ 1,21 - 3,90 $g\ kg^{-1}$ và hàm lượng Al^{3+} dao động 0,14 - 4,43 $meq\ Al^{3+}\ 100\ g^{-1}$ [22]. Hàm lượng độc chất Al^{3+} và Fe^{2+} cao là yếu tố chính giới hạn sinh trưởng và năng suất trên đất phèn [23], gây hạn chế sự hấp thu dinh dưỡng và tăng khả năng tích lũy độc chất trong cây [24]. Trong nghiên cứu này các dòng vi khuẩn được phân lập trên hai môi trường LGI và NFB đều có khả năng cải thiện độc chất Al^{3+} và Fe^{2+} . Trên môi trường LGI, dòng vi khuẩn bị giới hạn sinh trưởng bởi Al^{3+} cao nhất là L-VT08a (76,5%), điều này có nghĩa là khả năng sinh trưởng và sống sót của vi khuẩn L-VT08a này rất thấp. Ngược lại, dòng vi khuẩn L-VT08c bị ảnh hưởng thấp nhất, do đó, dòng vi khuẩn L-VT08c có tiềm năng cải thiện độc chất Al^{3+} . Đối với độc chất Fe^{2+} , dòng vi khuẩn bị ảnh hưởng cao nhất là L-VT09 (91,4%), thấp nhất là dòng vi khuẩn L-VT08b (65,9%), Fe^{2+} cũng gây ảnh hưởng càng cao dẫn đến khả năng sinh trưởng, phát triển của vi khuẩn càng thấp (Hình

2). Các dòng vi khuẩn phân lập từ môi trường NFB bị ảnh hưởng bởi Al^{3+} dao động từ 20,7 - 31,0% và Fe^{2+} dao động khoảng 6,9-15,7% (Hình 3). Theo nghiên cứu Nguyễn Quốc Khương và cs (2020c) cho thấy, sử dụng vi khuẩn *Rhodopseudomonas palustris* làm giảm hàm lượng Al^{3+} và Fe^{2+} trong đất phèn tương ứng với 2,40 - 23,20% và 3,07 - 20,12% [23]. Việc sử dụng vi khuẩn *R. palustris* mang lại tiềm năng lớn trong việc cải thiện độc chất Al^{3+} và Fe^{2+} [25]. Bên cạnh đó, vi khuẩn *R. palustris* VNW64 cho thấy hiệu quả nhất để giảm Al^{3+} và Fe^{2+} trong đất phèn [26].

Nghiên cứu của Puri và cs (2017) cho thấy, chi vi khuẩn *Burkholderia* có khả năng thúc đẩy sinh trưởng và phát triển cây trồng [6]. Đối với nghiên cứu này, dòng vi khuẩn N-VT01 và L-VT08c đã được định danh là dòng *Burkholderia tropica*. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Cao Ngọc Diệp, Nguyễn Thành Dũng (2010), dòng *B. tropica* LK4 cũng đã tìm thấy ở cây khóm [9]. Ngoài ra, nghiên cứu của Trần Thanh Phong, Cao Ngọc Diệp (2011) cho thấy, dòng vi khuẩn *B. tropica* Bur.7 (TL1-1R) được phân lập trên cây khóm tại huyện Tân Phước, tỉnh Tiền Giang [10].

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Phân lập được 42 dòng vi khuẩn nội sinh từ rễ và thân cây khóm được trồng trên đất phèn. Tuyển chọn được 13 dòng vi khuẩn vừa có khả năng cố định đạm và tổng hợp IAA tốt trong điều kiện pH 4,50. Hai dòng vi khuẩn cố định đạm đã được tuyển chọn có khả năng cung cấp hàm lượng đạm, tổng hợp IAA, khả năng giới hạn sinh trưởng trong môi trường có chứa độc chất Al^{3+} và Fe^{2+} tốt nhất là dòng vi khuẩn L-VT08c (0,67 mg NH_4^+ L⁻¹, 33,1 mg L⁻¹, 9,68 và 75,4% trên môi trường LGI) và N-VT01 (2,62 mg NH_4^+ L⁻¹, 11,9 mg L⁻¹, 20,7 và 10,1% trên môi trường NFB). Hai dòng vi khuẩn L-VT08c và N-VT01 có tỷ lệ tương đồng 100% với dòng vi khuẩn *Burkholderia tropica*.

4.2. Đề nghị

Ứng dụng vi khuẩn nội sinh cố định đạm đã được tuyển chọn vào điều kiện thực tế ngoài đồng ruộng. Khảo sát khả năng thay thế phân đạm urê của các dòng vi khuẩn nội sinh trên cây khóm và các loại cây trồng cạn khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ramlee A. N. A. & Sembok W. Z. W. (2021). The effects of nitrogen and carbon dioxide gases in

reducing the prickling and tingling sensations in fresh-cut pineapple (*Ananas comosus* L. cv. Morris). *Universiti Malaysia Terengganu Journal of Undergraduate Research*, 3 (2), 13 - 24.

2. FAO (2021). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAOSTAT). Available online: <http://www.fao.org/faostat> (accessed 11/11/2021).

3. Cục Thống kê tỉnh Hậu Giang (2021). Báo cáo chính thức tình hình kinh tế - xã hội tỉnh Hậu Giang tháng 10 năm 2021. Ngày truy cập 11/11/2021.

4. Nguyễn Quốc Khương, Lê Vĩnh Thúc, Trần Ngọc Hữu, Nguyễn Thị Thái Lê, Lâm Dư Mẫn, Trần Hoàng Em, Trần Chí Nhân, Nguyễn Thị Thanh Xuân, Lý Ngọc Thanh Xuân (2019). Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn có khả năng cố định đạm, phân giải lân, kích thích sinh trưởng cây trồng từ đất vùng rễ cây bắp lai. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*. Số 23: 17-23.

5. Nguyễn Quốc Khương, Lê Vĩnh Thúc, Lê Thị Mỹ Thu, Lưu Thị Yến Nhi, Võ Văn Ứng, Trần Chí Nhân, Lý Ngọc Thanh Xuân, Nguyễn Thị Thanh Xuân (2020a). Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn nội sinh rễ cây mía đường có khả năng cố định đạm và tổng hợp indole acetic acid. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*. Số 14: 110 - 116.

6. Puri A., Padda K. P. & Chanway C. P. (2017). Plant growth promotion by endophytic bacteria in nonnative crop hosts. In *Endophytes: crop productivity and protection* (pp. 11 - 45). Springer, Cham.

7. Shinjo R., Uesaka K., Ihara K., Sakazaki S., Yano K., Kondo M. & Tanaka A. (2018). Draft genome sequence of *Burkholderia vietnamiensis* strain rs1, a nitrogen-fixing endophyte isolated from sweet potato. *Microbiology Resource Announcements*, 7(3), 1 - 2.

8. Beracochea M., Taulé C. & Battistoni F. (2019). Draft genome sequence of *Kosakonia radicincitans* UYSO10, an endophytic plant growth-promoting bacterium of sugarcane (*Saccharum officinarum*). *Microbiology Resource Announcements*, 8 (43), 1 - 2.

9. Cao Ngọc Diệp, Nguyễn Thành Dũng (2010). Đặc tính vi khuẩn nội sinh phân lập trong cây khóm trồng trên đất phèn Vĩnh Thuận, tỉnh Kiên Giang.

Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Số 15a: 54 - 63.

10. Trần Thanh Phong, Cao Ngọc Diệp (2011). Phân lập và đặc tính vi khuẩn nội sinh trong cây khóm (*Ananas comosus* L.) trồng trên đất phèn huyện Tân Phước, Tiền Giang. *Tạp chí Công nghệ Sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 9 (1), 125-132.

11. Nelson D. W. (1983). Determination of ammonium in KCl extracts of soils by the salicylate method. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 14 (11), 1051-1062.

12. Glickmann E. & Dessaux Y. (1995). A critical examination of the specificity of the Salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 61 (2), 793-796.

13. Turner J. T. & Backman P. A. (1999). Factors relating to peanut yield increases after seed treatment with *Bacillus subtilis*. *Plant Disease*, 75 (4), 347-353.

14. Hall T. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *In Nucleic acids symposium series*. 41, 95-98.

15. Vásquez-Jiménez J. & Bartholomew D. P. (2018). Plant nutrition. *The Pineapple: Botany, Production and Uses*. CABI Publishing, Wallingford, UK, 175-202.

16. Chen J. H. & Lin Y. H. (2010). Effect of aluminum on variations in the proteins in pineapple roots. *Soil Science & Plant Nutrition*, 56 (3), 438-444.

17. Saranraj P., Jayaprakash A., Devi V. D., Al-Tawaha A. R. M. & Al-Tawaha A. R. (2021). Isolation and nitrogen fixing efficiency of *Gluconacetobacter diazotrophicus* associated with sugarcane: A review. *In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. IOP Publishing. 788 (1), 1-7.

18. Bùi Thanh Đạo, Ngô Thanh Phong, Cao Ngọc Diệp (2021). Phân lập và nhận diện vi khuẩn nội sinh cố định đạm, hòa tan lân và tổng hợp IAA trong cây đậu phộng (Lạc) (*Arachis hypogaea* L.) trồng tại 3 huyện miền núi tỉnh Bình Định. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, tập 57, số 6B: 125-131.

19. Hagaggi N. S. A., & Mohamed A. A. (2020). Enhancement of *Zea mays* (L.) growth performance using indole acetic acid producing endophyte *Mixta theicola* isolated from *Solenostemma argel* (Hayne). *South African Journal of Botany*, 134, 64-71.

20. Al-Hosni K., Shahzad R., Latif Khan A., Muhammad Imran Q., Al Harrasi A., Al Rawahi A., Asaf S., Kang S. M., Yun B. W. & Lee I. J. (2018). *Preussia* sp. BSL-10 producing nitric oxide, gibberellins, and indole acetic acid and improving rice plant growth. *Journal of Plant Interactions*, 13 (1), 112-118.

21. Li H. B., Singh R. K., Singh P., Song Q. Q., Xing Y. X., Yang L. T. & Li Y. R. (2017). Genetic diversity of nitrogen-fixing and plant growth promoting *Pseudomonas* species isolated from sugarcane rhizosphere. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1-20.

22. Nguyễn Quốc Khương, Lê Lý Vũ Vi, Trần Bá Linh, Lê Vĩnh Thúc, Lê Phước Toàn, Phan Chí Nguyễn, Trần Chí Nhân & Lý Ngọc Thanh Xuân (2020b). Đặc tính hình thái và hóa, lý của phẩu diện đất phèn canh tác khóm tại thành phố Vị Thanh, tỉnh Hậu Giang. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. Số 56: 88-97.

23. Nguyễn Quốc Khương, Huỳnh Mạch Trà My, Lê Vĩnh Thúc, Trần Văn Dũng, Trần Chí Nhân, Nguyễn Thị Thanh Xuân, Lý Ngọc Thanh Xuân (2020c). Sử dụng vi khuẩn quang dưỡng không lưu huỳnh màu tía để cải thiện độ phì nhiêu và chất lượng đất phèn vùng tứ giác Long Xuyên. *Tạp chí Khoa học đất*. Số 58: 25-30.

24. Lý Ngọc Thanh Xuân, Phạm Duy Tiền, Lê Vĩnh Thúc, Nguyễn Quốc Khương (2019). Hiệu quả của chế phẩm hữu cơ vi sinh chứa bốn dòng vi khuẩn *Rhodopseudomonas* sp. đối với hấp thu đạm, nhôm và sắt trong hạt lúa trồng trên đất phèn huyện Phụng Hiệp, tỉnh Hậu Giang ở điều kiện nhà lưới. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. Số 55 (2): 133-140.

25. Nguyen K.Q., Kantachote D., Onthong J. & Sukhoom A. (2018). Al³⁺ and Fe²⁺ toxicity reduction potential by acid-resistant strains of *Rhodopseudomonas palustris* isolated from acid sulfate soils under acidic conditions. *Annals of Microbiology*, 68 (4), 217-228.

26. Khuong N. Q., Kantachote D., Onthong J. & Sukhoom A. (2017). The potential of acid-resistant purple nonsulfur bacteria isolated from acid sulfate soils for reducing toxicity of Al^{3+} and Fe^{2+} using biosorption for agricultural application. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 12, 329 - 340.

ISOLATION, SELECTION AND IDENTIFICATION OF NITROGEN FIXING ENDOPHYTIC BACTERIA FROM PINEAPPLE CULTIVATED ON ACID SULFATE SOILS IN VI THANH CITY, HAU GIANG PROVINCE

Ngo Vinh Tuong, Le Thi My Thu,

Ly Ngoc Thanh Xuan, Nguyen Quoc Khuong

Summary

The objective of this study was to select indigenous endophytic bacterial strains possessing the ability of nitrogen fixation from pineapple on acid sulfate soils. Twenty samples of roots and stems were collected in Hoa Tien and Tan Tien communes, Vi Thanh city, Hau Giang province. Results showed that forty-two endophytic bacterial strains were isolated from the roots and stems of pineapple on LGI and NFB media. In which, there are the thirteen bacterial strains with high ability of fixing-nitrogen under acidic condition. Strain L-VT08c produced the highest NH_4^+ content, with $0.67 \text{ mg NH}_4^+ \text{ L}^{-1}$ from LGI medium while strain N-VT01 obtained the highest NH_4^+ concentration, with $2.62 \text{ mg NH}_4^+ \text{ L}^{-1}$ from NFB medium. Strains L-VT08c and N-VT01 synthesized the indole acetic acid content of 33.1 mg L^{-1} and 11.9 mg L^{-1} , and were limited the growth by Al^{3+} and Fe^{2+} toxicity, respectively, 9.68 and 20.7%, 75.4 and 10.1%. Strains L-VT08c and N-VT01 were identified as *Burkholderia tropica* by 16S rDNA sequence, with 100% similarity.

Keywords: *Acid sulfate soils, aluminum toxicity, endophytic bacteria, ferrous toxicity, nitrogen fixation.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Thu Hà

Ngày nhận bài: 30/6/2022

Ngày thông qua phản biện: 01/8/2022

Ngày duyệt đăng: 8/8/2022