

KHẢO SÁT MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM CỦA CHỦNG VI KHUẨN NỘI SINH ĐƯỢC PHÂN LẬP TỪ THÂN VÀ RỄ CÂY KIM NGÂN (*Lonicera japonica*)

Phạm Hồng Hiền^{1,*}, Hoàng Thị Liễu², Trần Thị Đào²,
Tạ Hà Trang², Nguyễn Thị Minh Yến², Trần Đức Hiếu²,
Nguyễn Thị Hoài Mến², Nguyễn Văn Giang^{2,*}

TÓM TẮT

Vi khuẩn nội sinh là những vi khuẩn sinh trưởng và phát triển bên trong mô thực vật, không gây hại cho cây chủ. Chúng góp phần cải thiện sự phát triển của cây trồng bằng cách tổng hợp IAA, siderophore và hoà tan các hợp chất phosphate khó tan trong đất. Các loại cây dược liệu đã được sử dụng để điều trị nhiều bệnh khác nhau, nhưng tiềm năng của các loài vi khuẩn nội sinh trong cây dược liệu còn chưa được nghiên cứu nhiều. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích đánh giá một số đặc điểm sinh học của một số chủng vi khuẩn nội sinh được phân lập từ cây kim ngân (*Lonicera japonica*). Tất cả 33 chủng vi khuẩn nội sinh được phân lập đều có khả năng sinh indole-3-acetic axit (IAA), 11 chủng có khả năng phân giải phosphate khó tan, 8 chủng có khả năng sinh siderophore. Hai chủng vi khuẩn HY9 và TT3 biểu hiện khả năng tổng hợp IAA mạnh nhất lần lượt là 42,9 µg/ml và 49,07 µg/ml tại nồng độ L-tryptophan 100 mg/l.

Từ khóa: Kim ngân, vi khuẩn nội sinh, IAA, hoà tan phosphate khó tan, siderophore.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi khuẩn nội sinh (Endophytic bacteria) là những vi khuẩn sống bên trong mô thực vật và không gây ra triệu chứng bệnh hoặc ảnh hưởng xấu đến cây chủ [1]. Những vi khuẩn này có lợi đối với sự tồn tại của thực vật khi gặp điều kiện xấu tác động trực tiếp đến chúng [2]. Bên cạnh đó, các chủng vi sinh vật nội sinh còn ngăn các tác nhân gây bệnh tấn công cây trồng do chúng có thể tổng hợp các hợp chất kháng khuẩn, kháng nấm [3].

Nước ta có nguồn dược liệu vô cùng quý giá, trong đó cây kim ngân (*Lonicera japonica*) là một trong những cây dược liệu được sử dụng để điều trị các vấn đề về sức khỏe. Ngoài ra gần đây cây kim ngân được sử dụng để phòng ngừa và điều trị một số bệnh do virus gây ra trên người và động vật. Đồng thời, cây kim ngân có thể sử dụng cho ngành công nghiệp thực phẩm hoặc mỹ phẩm, một số nghiên cứu khác cho thấy nó có hoạt tính kháng khuẩn, khử trùng rõ rệt và có thể được ứng dụng rộng rãi trong mỹ phẩm. Vì vậy, cây kim ngân sẽ mang lại những giá trị cho xã hội và kinh tế [4].

Vi khuẩn nội sinh được sử dụng để tạo các chế phẩm sinh học, thuốc trừ sâu, phân bón và chúng cũng có khả năng phân hủy ô nhiễm đất. Hiện nay,

cây kim ngân chủ yếu được trồng trên những vùng đất các tỉnh phía Bắc nước ta và đã được ứng dụng trong điều trị một số bệnh. Tuy nhiên tiềm năng của nhóm vi sinh vật nội sinh trong cây kim ngân còn chưa được nghiên cứu nhiều. Trong nghiên cứu này, một số đặc điểm thúc đẩy tăng trưởng thực vật của vi khuẩn nội sinh từ cây kim ngân bước đầu được khảo sát, đánh giá.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các mẫu rễ, thân cây kim ngân khỏe mạnh và không có triệu chứng bệnh, được thu thập tại Hà Nội, Hưng Yên, Ninh Bình. Các mẫu được bảo quản trong túi zip tại 4°C trong tủ lưu giữ mẫu đến khi phân lập nghiên cứu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập vi khuẩn nội sinh

Các chủng vi khuẩn nội sinh được phân lập từ các mẫu rễ, thân cây kim ngân theo phương pháp được mô tả bởi Lương Thị Hồng Hiệp và Cao Ngọc Diệp (2011) [5]. Mẫu rễ, thân cây kim ngân được rửa bằng nước vô trùng để loại bỏ đất, cắt thành các đoạn nhỏ, ngâm với ethanol 96% trong 3 phút, natri hypoclorit 1% trong 3 phút, hydrogen peroxide 3% trong 3 phút và rửa lại bằng nước cất vô trùng 4 lần để tẩy rửa các hóa chất còn thừa.

Để kiểm tra quá trình khử trùng bề mặt thành công, lấy 0,1 ml nước rửa mẫu lần cuối cùng và cấy chang trên môi trường NA (Pepton 5 g/l, cao nấm men 1,5 g/l, cao thịt 1,5 g/l, NaCl 5,0 g/l, agar 18 g;

¹ Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

² Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Email: hienphamhong@gmail.com; nvgiang@vnua.edu.vn

pH=7) đã được chuẩn bị trong đĩa petri và đặt các đĩa này trong tủ nuôi 30°C. Sau 2 ngày theo dõi, nếu không có sự phát triển của vi khuẩn hay vi nấm trên các đĩa này chứng tỏ việc khử trùng đã hoàn tất. Các mẫu cây kim ngân sau khử trùng được cắt thành các lát nhỏ cấy vào môi trường NA được chứa trong các đĩa petri và đặt các đĩa này vào tủ nuôi ở 30°C, quan sát sự phát triển của vi sinh vật nội sinh [6].

2.2.2. Khảo sát đặc điểm sinh học của các chủng vi khuẩn nội sinh

Khả năng sinh tổng hợp IAA: hàm lượng IAA được xác định theo phương pháp được mô tả bởi Nguyễn Văn Giang và cs (2018) [7]. Các chủng vi khuẩn nội sinh được nuôi cấy trong môi trường NA lỏng có bổ sung L-tryptophan (100 mg/l), tốc độ lắc 200 vòng/phút trong 72 giờ, ở 30°C. Dịch nuôi cấy sau 72 giờ được thu và ly tâm ở tốc độ 8.000 vòng/phút trong 15 phút. Sau đó hút 1 ml dịch trong sau khi ly tâm cho vào ống nghiệm và bổ sung thêm 2 ml thuốc thử Salkowski (300 mL HSO₄ 98%, 15 mL FeCl₃ 0,5M), lắc đều để trong bóng tối 30 phút ở nhiệt độ phòng để phản ứng xảy ra hoàn toàn. Sự xuất hiện màu hồng chứng tỏ có sự hiện diện của IAA trong dịch nuôi cấy, đo OD ở bước sóng $\lambda = 530$ nm. Thay các giá trị OD vào phương trình đường chuẩn $y = 0,0175x - 0,0288$, $R^2 = 0,9957$.

Khả năng hòa tan phosphate khó tan: để xác định hoạt tính hòa tan phosphate, các chủng vi khuẩn được nuôi cấy chấm điểm trên môi trường NBRIP và nuôi ở 30°C trong 3 ngày. Chủng có khả năng phân giải phosphate sẽ tạo vòng sáng trong suốt quanh khuẩn lạc [8]. Hoạt độ phân giải phosphate của các chủng vi khuẩn phân lập được xác định dựa trên nồng độ PO₄³⁻ có trong dịch nuôi cấy. Chủng vi khuẩn phân lập được nuôi trong bình 10 ml chứa 5 ml môi trường NBRIP lỏng, ở 30°C trong 72

giờ với tốc độ lắc 150 vòng/phút. Dịch nuôi được ly tâm 10.000 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C. Phần dịch nổi được thu và xác định nồng độ PO₄³⁻ bằng phương pháp Xanh molybdate [9].

Khả năng sinh siderophore: các chủng vi khuẩn sau phân lập tiến hành cấy trên môi trường CAS đặc và được nuôi ở 30°C trong 48 giờ. Khi vi khuẩn sử dụng sắt trong môi trường CAS thì màu xanh của môi trường xung quanh khuẩn lạc không còn mà thay vào đó là vòng sáng màu cam xung quanh các khuẩn lạc, chứng tỏ vi khuẩn đó có khả năng sinh siderophore [8].

Khảo sát khả năng sinh enzyme: hoạt tính cellulase, amylase và protease của các chủng vi khuẩn phân lập được xác định bằng cách cấy chấm điểm trên môi trường NA có bổ sung 1% cơ chất tương ứng, lần lượt là CMC, casein và tinh bột. Hoạt tính cellulase và protease sử dụng thuốc nhuộm lugol (hòa tan 2 g KI vào 5 ml nước cất, sau khi tan hết bổ sung thêm 1 g I₂ và lên thể tích 300 ml bằng nước cất và lắc đều), hoạt tính amylase sử dụng thuốc nhuộm amido black 10B 0,1% trong 1 giờ và sau đó tẩy bằng dung dịch tẩy amido đen (methanol, axit acetic, nước cất theo tỷ lệ 3: 1: 6).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập chủng vi khuẩn nội sinh

Các chủng vi khuẩn nội sinh xuất hiện ở hai đầu đoạn thân, rễ của cây kim ngân. Kết quả 33 chủng vi khuẩn nội sinh đã được phân lập từ cây kim ngân, trong đó từ thân cây kim ngân phân lập được 16 chủng vi khuẩn nội sinh, từ rễ - 17 chủng vi khuẩn nội sinh (Hình 2) được ký hiệu như sau: NB1, NB2.1, NB2.2, NB2.3, NB2.4, NB2.5, NB3, NB4.1, NB5.2, NB7, NB13, TT1, TT2, TT3, TT5, TT7, TT9, TT11, TT12, TT14, LB1, LB3, HY2, HY3, HY4, HY5.1, HY5.2, HY8, HY9, HY9.2, HY10, HY12, HY16.

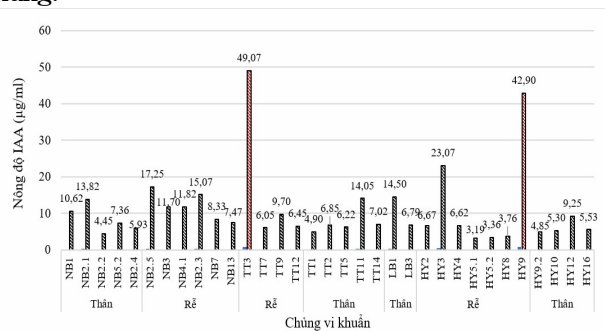


Hình 1. Kết quả phân lập vi khuẩn nội sinh từ rễ, thân cây kim ngân

3.2. Khảo sát khả năng tổng hợp IAA của các chủng vi khuẩn nội sinh phân lập được

Sau 72 giờ nuôi cấy trong môi trường NA lỏng có bổ sung L-tryptophan, 33 chủng vi khuẩn nội sinh phân lập từ thân và rễ trên cây kim ngân đều có khả

năng sinh tổng hợp IAA với nồng độ dao động từ 3,19 đến 49,07 ($\mu\text{g/ml}$) (Hình 2). Trong đó, hai chủng vi khuẩn có khả năng tổng hợp IAA cao vượt trội là chủng HY9 (42,9 $\mu\text{g/ml}$) và TT3 (49,07 $\mu\text{g/ml}$). Zhao và cs (2015) [10] khảo sát nồng độ IAA của vi khuẩn nội sinh từ cây kim ngân tại Trung Quốc dao động trong khoảng từ 11,5 đến 49,2 $\mu\text{g/ml}$ sau 3 ngày nuôi cấy. Kết quả nghiên cứu của Trần Thị Tuyết và Nguyễn Văn Giang (2017) [11] cho thấy các chủng vi khuẩn nội sinh từ cây nghệ tổng hợp IAA từ 3,35 đến 65,38 $\mu\text{g/ml}$. Hàm lượng IAA được hai chủng vi khuẩn nội sinh PT11 và TQ3 được phân lập từ rễ cây nha đam tổng hợp tương ứng là 36,32 và 16,49 $\mu\text{g/ml}$ [12]. Các loại cây chủ sinh trưởng và phát triển tại các điều kiện khác nhau đã ảnh hưởng tới các hoạt động trao đổi chất của các chủng vi sinh vật nội sinh trong chúng.



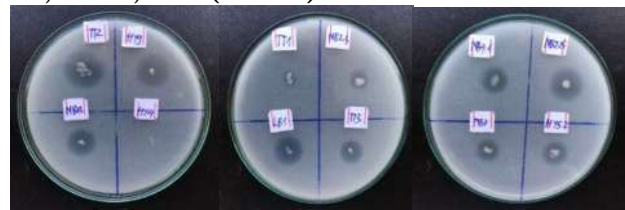
Hình 2. Nồng độ IAA được tổng hợp bởi các chủng vi khuẩn nội sinh

3.3. Khả năng phân giải các hợp chất phosphate khó tan

Phospho (P) là chất dinh dưỡng quan trọng thứ hai đối với cây trồng, sau nitơ. Các gốc phosphate có thể kết hợp với các ion kim loại như Ca^{2+} , Al^{3+} và Fe^{2+} tạo thành dạng phosphate khó tan, làm giảm tác động của phân bón có chứa phosphate tới cây trồng. Bổ sung chế phẩm chứa vi sinh vật hòa tan phosphate vào đất trồng cây có khả năng làm giảm tỷ lệ bón phân lân xuống 50% mà không làm giảm năng suất cây trồng [13]. Một số loài vi khuẩn khác nhau có khả năng giải phóng phosphate hữu cơ hoặc hòa tan các hợp chất phosphate vô cơ khó tan như: tricalcium phosphate, dicalcium phosphate, hydroxyapatite và rock phosphate.

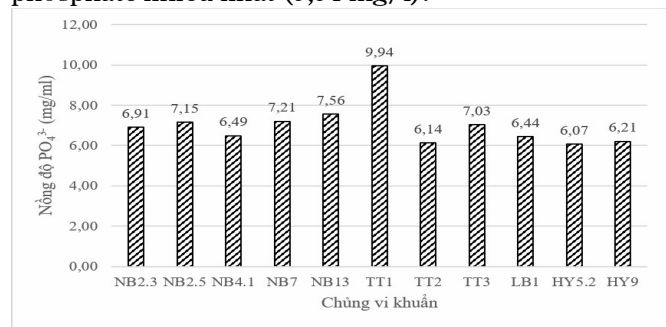
Khả năng hoà tan phosphate khó tan của các chủng vi khuẩn nội sinh mới phân lập được đánh giá bằng cách cấy chấm điểm các chủng này trên môi trường thạch NBRIP và quan sát sự hình thành vòng phân giải xung quanh khuẩn lạc. Kết quả sau 72 giờ nuôi cấy trên môi trường NBRIP, 11/33 chủng vi

khuẩn nội sinh có vòng sáng xung quanh khuẩn lạc: NB2.3, NB2.5, NB4.1, NB7, NB13, TT1, TT2, TT3, LB1, HY5.2, HY9 (Hình 3).



Hình 3. Khả năng phân giải phosphate một số chủng vi khuẩn nội sinh

Các chủng này tiếp tục được nuôi trong môi trường NBRIP lỏng, hàm lượng PO_4^{3-} được giải phóng vào môi trường được xác định dựa trên phương pháp so màu Xanh-molybdate thông qua đường chuẩn $y = 0,2444x - 0,0144$ và $R^2 = 0,9979$. Kết quả ở hình 4 cho thấy, hàm lượng PO_4^{3-} được giải phóng vào môi trường nuôi dao động trong khoảng 6,07-9,94 (mg/l). Trong đó, chủng TT1 giải phóng phosphate nhiều nhất (9,94 mg/l).



Hình 4. Nồng độ PO_4^{3-} được giải phóng vào môi trường nuôi trong điều kiện *in vitro* các chủng vi khuẩn thí nghiệm

Nhiều báo cáo khoa học khảo sát đánh giá một số đặc điểm sinh học của các chủng vi khuẩn nội sinh cũng đã công bố những kết quả tương tự. Trần Thị Tuyết và Nguyễn Văn Giang (2018) [11] đã thu được 8 chủng vi khuẩn nội sinh có khả năng phân giải phosphate khó tan từ cây nghệ với hàm lượng PO_4^{3-} được giải phóng vào môi trường nuôi cấy từ 4,60 - 9,29 mg/l. Nguyễn Thu Trang và cs (2018) [14] đã thông báo các chủng vi khuẩn nội sinh từ rễ cây hồ tiêu giải phóng từ 0,16 - 3,59 mg/l PO_4^{3-} vào môi trường nuôi cấy, Oteino và cs (2015) [15] cho biết, chủng vi khuẩn nội sinh từ *Pisum sativum* L. có thể giải phóng từ 400 - 1.300 mg/L PO_4^{3-} . Có thể lý giải sự khác biệt này dựa trên cơ chế hoà tan phosphate khó tan không giống nhau của các chủng vi sinh vật. Một số chủng vi sinh vật tiết vào môi trường enzyme phosphatase, các chủng khác tổng hợp các axit hữu cơ có khối lượng phân tử thấp làm chua hoá môi

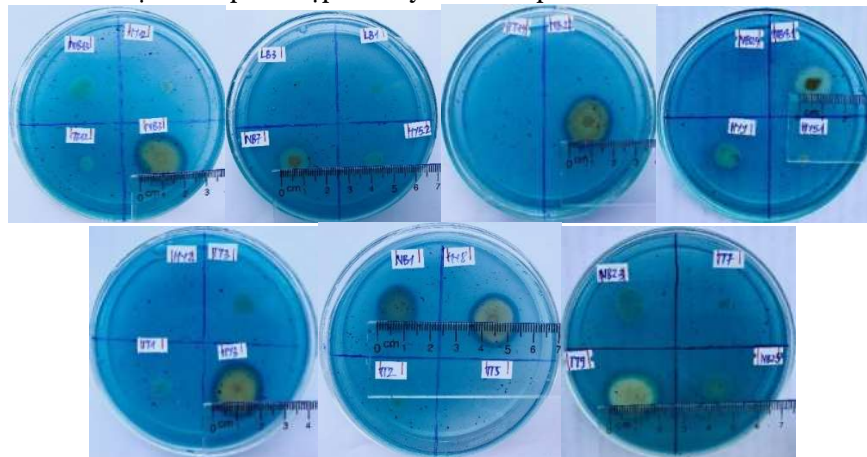
trường nơi chúng sinh sống [16]. Các axit hữu cơ có thể chelate các cation gắn với phosphate bằng các nhóm hydroxyl và carboxyl [17].

3.4. Khả năng tổng hợp siderophores

Siderophore là hợp chất vận chuyển sắt do sinh vật tiết vào môi trường để thu nhận các ion sắt (Fe^{2+}) khi chúng sinh trưởng trong môi trường thiếu sắt. Vi sinh vật và thực vật đều có khả năng tổng hợp hợp chất này. Vi sinh vật gây bệnh cũng cần sắt để sinh trưởng, tuy nhiên ái lực với sắt của cây trồng và vi sinh vật hữu ích mạnh hơn ái lực với sắt của các vi sinh vật gây bệnh. Kết quả của sự cạnh tranh này làm giảm khả năng sinh trưởng của mầm bệnh trong môi trường [8] và thúc đẩy sự sinh trưởng, phát triển của cây chủ [18].

Dựa trên cơ sở biến đổi màu sắc của môi trường từ màu xanh dương sang màu vàng cam, 8/33 chủng vi khuẩn có khả năng sinh siderophore đã được chọn (Hình 5), gồm NB3, NB7, NB2.2, NB4.1, HY3, NB1, HY8, TT9. Trong nghiên cứu của Mukherjee (2017) [19], 8/20 chủng vi khuẩn nội sinh phân lập từ cây

đương xỉ có khả năng sinh siderophore, Zhao và cs (2015) [10] đã tuyển chọn được 5/48 chủng có khả năng sinh siderophore được phân lập từ cây kim ngân, Trần Thị Tuyết và Nguyễn Văn Giang (2018) [11] sàng lọc 9/21 chủng vi khuẩn nội sinh từ cây nghệ có khả năng sinh tổng hợp siderophore. Khi sàng lọc và đánh giá đặc điểm của các chủng vi khuẩn nội sinh từ rễ cây hồ tiêu, Nguyễn Thu Trang và cs (2018) [14] đã báo cáo rằng 20 chủng vi khuẩn đã làm đổi màu môi trường CAS từ màu xanh sang màu vàng cam. Sinh tổng hợp siderophore được khởi đầu bằng các tiền chất như citrate, các amino axit dihydroxybenzoate và N5-acyl-N5-hydroxyornithine. Một số gen quy định tính trạng tổng hợp siderophore đã được xác định ở tế bào vi khuẩn và vi nấm. Siderophore được tổng hợp và lắp ráp bởi enzyme non-ribosomal cytoplasmic synthase [20]. Như vậy có thể nhận thấy không phải chủng vi khuẩn nào cũng có khả năng tổng hợp siderophore, có thể do chúng thiếu con đường tổng hợp siderophores.



Hình 5. Khả năng sinh siderophore của các chủng vi khuẩn nội sinh

3.5. Khả năng sinh tổng hợp một số enzyme ngoại bào

Trong quá trình sinh trưởng và phát triển, vi sinh vật cần thu nhận dinh dưỡng từ môi trường xung quanh để tổng hợp nên các thành phần cần thiết để xây dựng tế bào. Các cơ chất dinh dưỡng sẽ được phân giải bởi các enzyme do vi sinh vật tiết vào môi trường. Enzyme chịu trách nhiệm phân giải cơ chất dinh dưỡng, chuyển các đại phân tử hữu cơ thành các

tiểu đơn vị cấu tạo nên chúng và dễ dàng được chuyển hoá bởi vi sinh vật. Các chủng vi khuẩn nội sinh mới được phân lập như NB1, NB2.2, NB3, NB13, TT7, TT9, TT11, HY5,1 HY8, HY10, HY12 và HY16 đều biểu hiện hoạt tính của ba enzyme: cellulase, protease và amylase (Bảng 1). Các chủng còn lại đều biểu hiện hoạt tính của ít nhất một enzyme.

Bảng 1. Khả năng sinh enzyme ngoại bào của các chủng vi khuẩn nội sinh được phân lập

STT	Chủng vi khuẩn	Protease	Cellulase	Amylase	STT	Chủng vi khuẩn	Protease	Cellulase	Amylase
1	NB1	+	+	+	18	TT11	+	+	+
2	NB2.1	+	-	+	19	TT12	-	-	-

3	NB2.2	+	+	+	20	TT14	-	+	+
4	NB2.3	-	-	-	21	LB1	+	-	+
5	NB2.4	-	+	+	22	LB3	-	-	+
6	NB2.5	-	+	+	23	HY2	-	+	-
7	NB3	+	+	+	24	HY3	+	+	-
8	NB4.1	-	-	+	25	HY4	-	-	+
9	NB5.2	-	-	-	26	HY5.1	+	+	+
10	NB7	-	-	+	27	HY5.2	-	-	-
11	NB13	+	+	+	28	HY8	+	+	+
12	TT1	-	+	-	29	HY9	-	-	-
13	TT2	-	-	+	30	HY9.2	-	-	-
14	TT3	-	-	-	31	HY10	+	+	+
15	TT5	-	+	+	32	HY12	+	+	+
16	TT7	+	+	+	33	HY16	+	+	+
17	TT9	+	+	+	34				

Ghi chú: (+) có hoạt tính; (-) không có hoạt tính

4. KẾT LUẬN

Từ các mẫu thân và rễ cây kim ngân thu thập tại Hà Nội, Hưng Yên và Ninh Bình đã phân lập được 33 chủng vi khuẩn nội sinh, gồm 16 chủng vi khuẩn nội sinh từ thân và 17 chủng vi khuẩn nội sinh từ rễ. Tất cả các chủng này đều có khả năng tổng hợp IAA với nồng độ trong khoảng từ 3,19 đến 49,07 µg/ml. Trong số 33 chủng này, 11 chủng có khả năng hoà tan phosphate khó tan, nồng độ PO_4^{3-} được giải phóng vào môi trường nuôi trong điều kiện *in vitro* từ 6,07 – 9,94 mg/l; 8 chủng (NB3, NB7, NB2.2, NB4.1, HY3, NB1, HY8, TT9) biểu hiện khả năng tổng hợp siderophore.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Schulz Barbara J., Boyle Christine (2006). What are endophytes? Microbial Root Endophytes. Page: 1-13. Springer-Verlag, Berlin.
- Rajendran Geetha, Sing Falguni, Desai Anjana J., Archana G. (2008). Enhanced growth and nodulation of pigeon pea by co-inoculation of Bacillus strains with Rhizobium spp. Biores Technol. 99: 4544 – 4550.
- Sessitsch, A., Howieson, J. G., Perret, X, Antoun, H., and Martínez-Romero, E, (2002). Advances in Rhizobium research. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21: 323 - 378.
- Shang Xiaofei, Pan Hu, Li Maoxing, Miao Xiaolou and Ding Hong (2011). *Lonicera japonica* Thunb: Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine. *J Ethnopharmacol.* 138(1): 1 - 21.
- Lương Thị Hồng Hiệp và Cao Ngọc Diệp (2011). Phân lập và nhận diện vi khuẩn nội sinh trong cây cúc xuyên chi (*Wedelia trilobata* (L.) hitche.) bằng kỹ thuật PCR. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 18a 168-176.
- Phạm Hồng Hiến, Vũ Thị Tươi, Vũ Thị Linh, Nguyễn Văn Giang (2021). Phân lập và khảo sát đặc tính kích thích sinh trưởng thực vật của một số chủng vi khuẩn nội sinh từ rễ cây sù. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam* - Số 07(128), tr. 71-75.
- Nguyễn Văn Giang, Trần Thị Đào, Trần Thị Thúy Hà, Nguyễn Thu Trang, 2018. Ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy tới khả năng sinh tổng hợp indole-3-acetic acid của vi khuẩn *Bacillus sonorensis* LĐ18. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam* - Số 11(96). Tr. 90 - 95.
- Jasim B., Joseph Aswathy Agnes, John C. Jimtha, Mathew Jyothis and Radhakrishnan E. K. (2014). Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic bacteria from the rhizome of *Zingiber officinale*. 3 Biotech. 4(2): 197 - 204.
- Maiti R., Jana D., Das U. K., Ghosh D. (2004). Antidiabetic effect of aqueous extract of seed of *Tamarindus indica* in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 92: 85 - 91.
- Zhao Longfei, Xu Yajun, Lai Xin-He, Shan Changjuan, Deng Zhenshan, and Ji Yuliang (2015). Screening and characterization of endophytic *Bacillus* and *Paenibacillus* strains from medicinal plant *Lonicera japonica* for use as potential plant growth promoters. *Braz J Microbiol.* 46 (4): 977 - 989.

11. Trần Thị Tuyết và Nguyễn Văn Giang (2017). Phân lập và đánh giá một số đặc điểm sinh học của chủng vi khuẩn nội sinh từ rễ cây nghệ (*Curcuma longa* L.). *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*. Tập số 9(82)/2017.
12. Nguyễn Văn Giang, Trần Thị Đào, Trịnh Thị Thúy An (2016). Phân lập và đánh giá đặc điểm sinh học của một số chủng vi khuẩn nội sinh rễ cây nha đam (*Aloe vera*). *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. Tập 14, số 5: 772-778.
13. Suleman Muhammad, Yasmin Sumera, Rasul Maria, Yahya Mahreen, Atta Babar Manzoor and Mirza Muhammad Sajjad (2018). Phosphate solubilizing bacteria with glucose dehydrogenase gene for phosphorus uptake and beneficial effects on wheat. *PloS One*. 13(9): e0204408.
14. Nguyễn Thu Trang, Trần Thị Thúy Hà, Nguyễn Xuân Trường, Nguyễn Văn Giang, 2018. Phân lập và khảo sát một số đặc điểm sinh học của các chủng vi khuẩn nội sinh từ rễ cây hồ tiêu. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam - Số 10(95)*. Tr. 85-90.
15. Oteino Nicholas, Lally Richard D., Kiwanuka Samuel, Lloyd Andrew, Ryan David, Germaine Kieran J. and Dowling David N. (2015). Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. *Front Microbiol*. 6: 745.
16. Khan M. S., Zaidi, A., and Ahmad, E., 2014. Mechanism of phosphate solubilisation and physiological functions of phosphate-solubilizing microorganisms. In: *Phosphate Solubilizing Microorganisms*, eds. M. S. Khan, A. Zaidi, and J. Mussarrat (Springer International Publishing), 34-35. doi: 10.1007/978-3-319-08216-5_2.
17. Brian L. C., Daniel Haarmann & Aaron Lynne M., 2011. Use of Blue Agar CAS Assay for Siderophore Detection. *Journal of microbiology biology education*: 51-53.
18. Kpombrekou K., and Tabatabai, M. A, 1994. Effect of organic acids on release of phosphorus from phosphate rocks. *Soil Sci*. 158: 442-453. doi: 10.1097/00010694-199415860-00006.
19. Mukherjee Ananya, Bhattacharjee Puja, Das Rituparna, Pal Arundhati and Paul Amal K. (2017). Endophytic bacteria with plant growth promoting abilities from *Ophioglossum reticulatum* L. *AIMS Microbiol*.3(3): 596-612.
20. Azmi Khan, Pratika Singh, Amrita Srivastava (2018). Synthesis, nature and utility of universal iron chelator – Siderophore: A review. *Microbiological Research* 212–213 (2018) 103–111. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2017.10.012>.

EVALUATING SOME CHARACTERISTICS OF ENDOPHYTIC BACTERIA ISOLATED FROM STEM AND ROOTS OF *Lonicera japonica*

Pham Hong Hien, Hoang Thi Lieu, Tran Thi Dao,
Ta Ha Trang, Nguyen Thi Minh Yen, Tran Duc Hieu,
Nguyen Thi Hoai Men, Nguyen Van Giang

Summary

Endophytic bacteria live in the plant tissues without causing any symptoms of diseases in the host plants. They can improve plant growth by synthesizing IAA and siderophore and phosphate solubilizing. Medicinal plants are used to treat different diseases, but the potential of the endophytes from these plants remains unknown. This study was carried out with the aims to evaluate some biological characteristics of endophytic bacteria isolated from *Lonicera japonica*. A total of 33 isolated strains of endophytic bacteria were able to producing indole-3-acetic acid (IAA), of them 11 strains were capable of solubilization of phosphate and 8 strains were capable of producing siderophore. Two strains of bacteria HY9 and TT3 showed the most powerful ability to synthesize IAA, 42.9 (µg/ml) and 49.07 (µg/ml) respectively at L-tryptophan concentration of 100 mg/l.

Keywords: *Lonicera japonica*, endophytes, IAA, phosphate solubilization, siderophore.

Người phản biện: PGS.TS. Lê Như Kiều

Ngày nhận bài: 8/6/2022

Ngày thông qua phản biện: 30/6/2022

Ngày duyệt đăng: 9/9/2022