

PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN VI SINH VẬT NỘI SINH TỔNG HỢP INDOLE - 3 - ACETIC ACID (IAA) TRONG HỆ RỄ CÂY CÀ PHÊ (*Coffea*) TẠI ĐẮK LẮK

Nguyễn Khoa Trường^{1*}, Trần Văn Tiến¹, Lê Thị Anh Tú¹,
Phan Trung Trực¹, Huỳnh Dương Thị Minh Nguyệt¹, Mai Thị Mỹ Lan¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu phân lập, tuyển chọn vi sinh vật nội sinh tổng hợp Indole – 3 - Acetic Acid (IAA) trong hệ rễ cây cà phê (*Coffea*) tại Đắk Lắk nhằm tuyển chọn các dòng vi sinh vật có đặc tính ưu việt, làm cơ sở cho việc sản xuất các chế phẩm sinh học góp phần tăng khả năng sinh trưởng, năng suất cây cà phê,... Từ 30 mẫu rễ cây cà phê được thu tại hai huyện Cư Kuin và Cư M'gar, phân lập và tuyển chọn được các dòng vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp IAA bằng phương pháp định lượng với thuốc thử Salkowsky. Đã tuyển chọn được 4 dòng vi khuẩn có khả năng sinh IAA với hàm lượng lần lượt là 16,36 µg/mL (S03N1), 24,41 µg/mL (S25N2), 68,31 µg/mL (S02R1) và 96,78 µg/mL (S18N3). Dựa vào đặc điểm hình thái và dữ liệu sinh học phân tử định danh các dòng vi khuẩn đã tuyển chọn, xác định được các loài là *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus* spp. và *Stenotrophomonas maltophilia*.

Từ khóa: Cà phê, Đắk Lắk, Indole - 3 - acetic acid, vi sinh vật nội sinh.

1. GIỚI THIỆU

Cây cà phê (*Coffea*) là cây công nghiệp lâu năm được trồng nhiều tại khu vực Tây Nguyên, việc canh tác cà phê đã mang lại lợi ích kinh tế - xã hội và cải thiện đời sống cho người dân nơi đây. Theo Tổng cục Hải quan, xuất khẩu cà phê năm 2019 đạt tổng cộng 1.663.265 tấn (khoảng 27,55 triệu bao) với kim ngạch xuất khẩu đạt 2,85 tỷ đô. Tuy nhiên, thói quen canh tác của người dân hiện nay là sử dụng nhiều phân bón và thuốc bảo vệ thực vật có nguồn gốc vô cơ, nên làm đất đai bị suy thoái, gây ảnh hưởng đến năng suất và chất lượng cà phê. Vì vậy, việc nghiên cứu ứng dụng các chế phẩm sinh học góp phần nâng cao hiệu quả sử dụng phân bón, tăng khả năng sinh trưởng phát triển của cây là tiền đề cho việc sản xuất cà phê bền vững.

Indole-3-acetic acid (IAA) là sản phẩm chung của quá trình chuyển hóa L - tryptophan được tạo ra bởi một số vi sinh vật bao gồm cả vi khuẩn thúc đẩy tăng trưởng thực vật (PGPR) (Lynch, 1985). Phương thức hoạt động của các PGPR rất đa dạng từ tác động trực tiếp đến tác động gián tiếp lên cây trồng. Việc thúc đẩy sinh trưởng là khi các vi sinh vật kích thích sự hấp thụ các chất dinh dưỡng nhất định trong đất, hòa tan các hợp chất khó tan như phosphat và cung

cấp cho cây trồng (Rosas *et al.*, 2006) hoặc là khi chúng tạo ra các chất kích thích sinh trưởng như indole-3-acetic acid (Chagas - Junior *et al.*, 2009; Patten và Glick, 2002). Tác dụng chính của IAA là thúc đẩy sự phát triển của rễ và thân cây, thông qua sự kéo dài của các tế bào mới hình thành trong mô phân sinh.

Phân lập, tuyển chọn các dòng vi sinh vật nội sinh có khả năng sinh tổng hợp IAA là một trong những nghiên cứu thực hiện để tuyển chọn các dòng vi sinh vật có hoạt tính sinh tổng hợp IAA cao để kích thích sinh trưởng cây trồng, tăng hiệu quả sử dụng phân và góp phần giảm chi phí đầu tư ban đầu cho người nông dân. Tại khu vực Tây Nguyên, Nguyễn Thị Mai và cộng sự (2018) đã phân lập, tuyển chọn được dòng vi khuẩn vùng rễ CF19 có khả năng sinh tổng hợp IAA với hàm lượng đạt từ 68,79 µg/mL. Nguyễn Hoàng Nhựt Lynh và Nguyễn Hữu Hiệp (2019) cũng đã phân lập được 10 dòng vi khuẩn có khả năng sinh IAA với hàm lượng từ 3,04 đến 19,206 µg/mL dịch nuôi cấy. Tuy nhiên, các nghiên cứu này chỉ dừng lại ở các dòng vi sinh vật vùng rễ. Hệ vi sinh vật nội sinh trên rễ cây cà phê chưa được quan tâm nhiều, do đó nghiên cứu này được thực hiện nhằm tuyển chọn các dòng vi sinh vật nội sinh có khả năng sinh tổng hợp IAA trên hệ rễ cây cà phê tại vùng trồng cà phê tỉnh Đắk Lắk.

¹ Trường Đại học Đà Lạt

*Email: truongnk@dlu.edu.vn

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**2.1. Vật liệu nghiên cứu**

30 mẫu rễ cây cà phê được chọn từ các cây không bị bệnh, sinh trưởng và phát triển tốt trong vườn cà phê tại hai huyện là Cư Kuin và Cư M'gar của tỉnh Đắk Lắk. Theo đường kính tán, gạt bỏ đi 5 - 20 cm đất bề mặt, dùng dao lấy mẫu đất và phần rễ của cây cà phê cho vào túi nylon vô trùng, mỗi cây lấy ba vị trí theo hình tam giác, trọng tâm tính từ gốc cây đến tán cây khoảng 1 m đến 1,2 m. Mẫu được ghi thông tin (địa điểm, ngày thu mẫu), bảo quản trong thùng trữ lạnh chuyên dụng và chuyển về Phòng thí nghiệm Công nghệ Vi sinh, Khoa Sinh học, Trường Đại học Đà Lạt để tiến hành phân lập.

2.2. Phương pháp nghiên cứu**2.2.1. Phương pháp phân lập vi sinh vật**

Mẫu rễ cây cà phê được rửa sạch và cắt thành những đoạn nhỏ 1 - 2 cm. Mẫu rễ được ngâm trong cồn 96% trong vòng 1 phút, rửa trong hypochloride 1% trong 3 phút, tiếp đến rửa bằng hydrogen peroxide 3% trong 3 phút và rửa lại với nước cất vô trùng 4 lần. Sau khi khử trùng, mẫu được nghiền nhỏ trong nước cất vô trùng. Hút 100 μ L dịch nghiền mẫu trải trên môi trường thạch Nutrient Agar (NA) (Peptone: 10 g, Yeast extract: 3 g, NaCl: 5 g, Agar: 20 g, pH = 7). Nuôi mẫu trong tủ ấm 30°C trong vòng 24 - 48 giờ. (Nguyễn Thị Minh và Đỗ Minh Thu, 2017). Hút 100 μ L dung dịch rửa mẫu lần cuối cùng trải trên môi trường Nutrient Agar kiểm tra sự xuất hiện vi sinh vật bề mặt mẫu.

2.2.2. Phương pháp định tính khả năng sinh tổng hợp chất kích thích sinh trưởng IAA

Hàm lượng IAA mà vi sinh vật tổng hợp được dưới tác dụng của thuốc thử Salkowsky sẽ chuyển sang màu cam hồng đến đỏ đậm, màu đỏ càng đậm thì hàm lượng càng cao (Gordon và Weber, 1951). Sử dụng phần mềm Colormeter (nhà phát triển Vistech.projects) để đo trị số màu đỏ, lục và xanh dương (RGB), các trị số màu này thể hiện mức độ màu của dung dịch phản ứng. Hệ màu RGB được biểu thị dưới dạng số, thường được ghi bằng ba cặp số giữa 0 và 225, mỗi số đại diện cho cường độ màu đỏ, xanh lá cây và xanh lam trong một trật tự thống nhất. Khi cả ba hệ số là nhỏ nhất thì màu sẽ là màu đen và ngược lại, khi ba chỉ số là cao nhất thì thể hiện cho màu trắng, và một trong ba chỉ số là cao

nhất, hai chỉ số còn lại thấp nhất thì chỉ cho màu tương ứng (ví dụ: 225: 0: 0 là màu đỏ) (rgb.vn, 2011).

2.2.3. Phương pháp định lượng khả năng sinh tổng hợp chất kích thích sinh trưởng IAA

Vi sinh vật được nuôi trong môi trường bổ sung 0,1% Tryptophan và định lượng bằng thuốc thử Salkowsky (Gordon và Weber, 1951). Hỗn hợp phản ứng gồm 2 mL dịch sau ly tâm cho vào 8 mL Salkowsky. Phản ứng được lắc đều, ủ tối trong 25 phút trước khi được đo trên máy đo quang phổ ở bước sóng 530 nm. Giá trị OD được đối chiếu với đồ thị chuẩn để tính hàm lượng IAA (μ g/mL) trong dịch nuôi cấy (TCVN 10784: 2015).

2.2.4. Định danh các dòng vi sinh vật bằng kỹ thuật sinh học phân tử

Tách chiết DNA theo phương pháp CTAB. Đối với vi khuẩn, DNA sau khi tách chiết được, tiến hành thực hiện phản ứng PCR trên vùng 16S-rRNA bằng cặp mồi 27F (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC-3'); 1492R (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC-3') (White *et al.*, 1990).

Sản phẩm PCR được tinh sạch bằng kit tinh sạch HI-412 PCR Purification của ABT và giải trình tự tại Công ty 1ST BASE (Singapore). Định danh vi khuẩn bằng cách sử dụng công cụ BLAST để so sánh trình tự DNA của các dòng vi khuẩn với dữ liệu trên ngân hàng gen NCBI.

2.2.5. Xử lý thống kê

Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm Microsoft Excel và kiểm định ý nghĩa thống kê theo phép thử Tukey HSD bằng phần mềm R 4.0.2.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**3.1. Phân lập và tuyển chọn vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp IAA**

Từ 30 mẫu rễ cà phê trồng tại tỉnh Đắk Lắk, đã phân lập được 20 dòng vi sinh vật nội sinh từ hệ rễ cây cà phê trong đó có 9 dòng vi sinh vật nội sinh được phân lập tại huyện Cư Kuin và 11 dòng được phân lập từ huyện Cư M'gar tỉnh Đắk Lắk.

Tiến hành định tính khả năng sinh tổng hợp IAA bằng thuốc thử Salkowsky, so màu với phần mềm Colormeter, ghi nhận màu theo hệ màu RGB (Red, Green, Blue), kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Định tính khả năng sinh tổng hợp IAA bằng thuốc thử Salkowsky, so màu với phần mềm Colormeter

Mẫu	Hệ màu RGB			Mã màu
	R	G	B	
S02R1	209	52	59	D1343B
S03N1	207	65	89	CF4159
S03N2	164	125	94	A47D5E
S03N3	162	114	68	A27244
S04N2	165	163	148	A5A394
S05R1	195	160	118	C3A076
S05R2	187	130	87	BB8257
S10R1	204	180	154	CCB49A
S11R1	164	154	142	A49A8E
S11R2	167	155	133	A79B85
S18N1	61	52	53	3D3435
S18N2	197	168	134	C5A886
S18N3	206	59	43	CE3B2B
S25N2	206	84	95	CE545F
S25N3	179	141	102	B38D66
S25N5	165	140	120	A58C78
S28R3	104	91	74	685B4A
S28R4	170	115	76	AA734C
S29R2	162	135	108	A2876C
S29R3	160	144	128	A09080
Đối chứng	188	192	177	BCC0B1

Bảng 1 cho thấy, có 4 dòng cho phản ứng có màu đỏ đậm nhất là S18N3, S25N2, S02R1, S03N1.

Thiết lập đường chuẩn nồng độ IAA trong dung dịch theo TCVN 10784: 2015, xác định được phương

trình tương quan giữa nồng độ IAA trong dung dịch và chỉ số OD là: $y = 82,65x - 6,9176$ ($R^2=0,9765$). Định lượng hàm lượng IAA mà vi sinh vật tổng hợp được bằng thuốc thử Salkowsky, kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2 cho thấy, các dòng vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp IAA mạnh bắt đầu từ ngày thứ 2 và tăng nhanh qua các ngày tiếp theo. Đến ngày thứ 5 của quá trình nuôi cấy, nồng độ IAA mà dòng S18N1 sinh ra đạt cao nhất là 96,78 $\mu\text{g/mL}$.

Nguyễn Thị Thanh Mai và cộng sự (2018) đã phân lập được dòng vi khuẩn có khả năng sinh tổng hợp IAA với nồng độ đạt 68,79 $\mu\text{g/mL}$ tại ngày thứ 4 trong quá trình nuôi cấy. Nguyễn Hoàng Nhật Linh và Nguyễn Hữu Hiệp (2019) cũng đã phân lập được 10 dòng vi khuẩn có khả năng sinh IAA với hàm lượng từ 3,04 đến 19,206 $\mu\text{g/mL}$ dịch nuôi cấy.

So sánh với các nghiên cứu trên, các dòng vi sinh vật nội sinh tuyển chọn được đã tổng hợp được hàm lượng IAA cao với hàm lượng đạt từ 16,36 đến 96,78 $\mu\text{g/mL}$ sau 5 ngày nuôi cấy.



Hình 1. Định tính khả năng sinh tổng hợp IAA của các dòng vi sinh vật tuyển chọn

Bảng 2. Định lượng hàm lượng IAA của các dòng vi sinh vật đã tuyển chọn

Dòng vi sinh vật	Hàm lượng IAA của các dòng vi sinh vật tổng hợp được ($\mu\text{g/mL}$)			
	48 giờ	72 giờ	96 giờ	120 giờ
S18N3	52,12 ^b ±0,83	79,78 ^b ±0,17	81,19 ^b ±0,21	96,78 ^b ±0,21
S02R1	5,73 ^d ±0,17	18,62 ^d ±0,86	56,17 ^d ±0,68	68,32 ^d ±0,54
S03N1	0 ^a ±0	7,02 ^a ±0,96	11,18 ^a ±0,38	16,36 ^a ±0,72
S25N2	8,37 ^c ±0,58	11,07 ^c ±0,4	16,67 ^c ±0,17	24,41 ^c ±0,25

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi một hoặc những chữ cái giống nhau biểu thị sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% (theo phép thử Tukey HSD).

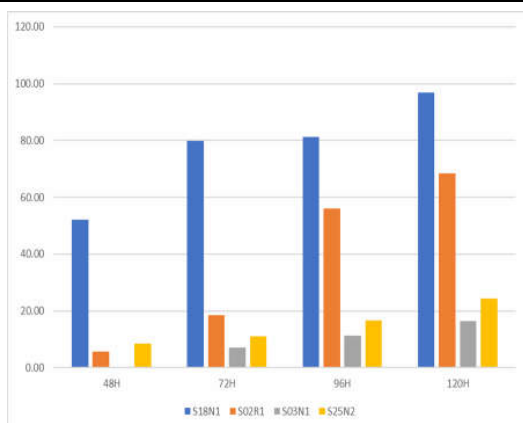
3.2. Định danh các dòng vi sinh vật đã tuyển chọn dựa trên dữ liệu phân tử

Giải trình tự gene vùng 16S của các dòng vi khuẩn đã tuyển chọn với kích thước dao động từ

1.430 bp đến 1.447 bp và có độ tương đồng cao, từ 98,47 - 100% so với 4 dòng vi khuẩn trong ngân hàng gene NCBI (Bảng 3).

Bảng 3. Kết quả so sánh trình tự tương đồng các dòng vi sinh vật tuyển chọn với cơ sở dữ liệu NCBI

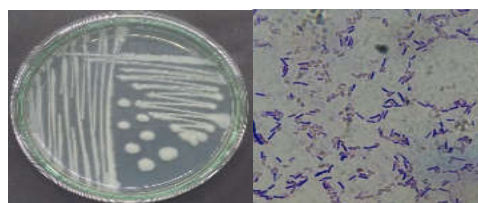
Dòng vi sinh vật	Mô tả đặc điểm khuẩn lạc và tế bào	Kết quả định danh			
		Căn cứ định danh			Tên loài
		Kích thước vùng gen (bp)	Mức độ tương đồng cao nhất (%)	Mã truy cập trên Genbank	
S18N3	Khuẩn lạc tròn, trắng sữa, bề mặt trơn bóng, phẳng, viền đều; tế bào hình bầu dục, gram -	1.437	96,79% với dòng PEG-68	CP040434.1	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
S25N2	Khuẩn lạc hình tròn màu trắng sữa, bề mặt trơn, khô hơi nhô, viền đều; hình que, gram +	1.447	98,47% với dòng MXR1709B03	MN176503.1	<i>Bacillus subtilis</i>
S03N1	Khuẩn lạc tròn, màu trắng sữa, viền phân thủy, bề mặt trơn, giữa nhẵn có gợn sóng; hình que, gram +	1.430	100% với dòng MHS	KR132556.1	<i>Bacillus cereus</i>
S02R1	Khuẩn lạc hình tròn, màu trắng sữa, viền đều, bề mặt nhẵn, hơi nhô; hình que, gram +	1.439	99,79 với dòng JX2	KF860138.1	<i>Bacillus</i> spp.



Hình 2. Hàm lượng IAA các dòng vi sinh vật được tuyển chọn (µg/mL)



Hình 3. Đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào dòng S18N3



Hình 4. Đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào dòng S03N1



Hình 5. Đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào dòng S02R1



Hình 6. Đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào dòng S25N2

Ambawade và Pathade (2013) đã phân lập *Stenotrophomonas maltophilia* từ rễ cây chuối (*Musa* spp.), sàng lọc khả năng sinh tổng hợp IAA bằng phương pháp so màu với thuốc thử Salkowsky, định lượng IAA bằng hệ thống sắc ký lớp mỏng (Rf - 0,54 cm) cũng như bằng hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao trong môi trường có bổ sung và không bổ sung L-tryptophan lần lượt là 38,85 và 39,73 ppm ở 280 nm. Trên đối tượng lúa mì, Abdelhay Arakrak *et al.*, (2017) đã phân lập tuyển chọn dòng *Stenotrophomonas maltophilia* có khả năng tổng hợp IAA đạt 31,8 mg/L.

Năm 2015, Chagas Junior *et al.* đã thử nghiệm sự sản sinh IAA của *B. cereus* trên môi trường có bổ sung và không bổ sung L - tryptophan. Kết quả cho thấy, dù có hay không có L-tryptophan thì dòng *B. cereus* đều có thể sản sinh được IAA ở giai đoạn từ 48 giờ nuôi cấy và cho hàm lượng cao trên 100 mg/L.

Nghiên cứu tối ưu hóa các điều kiện sản xuất IAA từ dòng vi khuẩn *B. subtilis* DR2 được phân lập từ *Eragrostis cynosuroides* của Sonali Kumari *et al.*, (2018) trong canh trường JNFb có bổ sung tryptophan (1 g.L⁻¹) và không có tryptophan ở pH 5,8, nhiệt độ 30 ± 2°C, ủ 48 giờ tạo ra hàm lượng tương ứng là 137,81 µg.mL⁻¹ và 100,26 µg.mL⁻¹ IAA.

Vì vậy, so sánh các dữ liệu đã công bố của các tác giả và trên cơ sở nghiên cứu hình thái tế bào và dữ liệu sinh học phân tử, đã phân lập và tuyển chọn được 4 dòng vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp IAA với hàm lượng từ 16,36 - 96,78 µg/mL, trong đó dòng S18N3 thuộc về loài *Stenotrophomonas maltophilia*, các dòng S25N2, S02R1 và S03N1 thuộc về lần lượt các loài *Bacillus subtilis*, *B. cereus* và *Bacillus* spp.

4. KẾT LUẬN

Từ 30 mẫu rễ cà phê trồng tại tỉnh Đắk Lắk đã phân lập được 20 chủng vi sinh vật nội sinh, trong đó tuyển chọn được 4 chủng có khả năng sinh tổng hợp IAA cao, lần lượt là: S18N3 thuộc loài *Stenotrophomonas maltophilia* đạt 96,78 µg/mL, S02R1 thuộc loài *Bacillus* spp. đạt 68,32 µg/mL, S25N2 thuộc loài *Bacillus subtilis* đạt 24,41 µg/mL và S03N1 thuộc loài *Bacillus cereus* đạt 16,36 µg/mL sau 96 giờ nuôi cấy. Đây là các chủng vi sinh vật có

triển vọng để thúc đẩy sự phát triển của cây trồng đặc biệt là cây cà phê tại Đắk Lắk.

LỜI CẢM ƠN

Công trình này là sản phẩm của đề tài “Nghiên cứu, ứng dụng vi sinh vật nội sinh và vi sinh vật vùng rễ góp phần phát triển cà phê bền vững” do Trường Đại học Đà Lạt chủ trì. Các tác giả xin chân thành cảm ơn UBND tỉnh Đắk Lắk, Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Đắk Lắk đã cung cấp kinh phí nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ambawade, M. S. & Pathade, G. R., 2013. Production of Indole Acetic Acid (IAA) by *Stenotrophomonas maltophilia* BE35 isolated from roots of Banana (*Musa* spp.). *International Journal of Science and Reseach (IJSR)*, 2319 - 7064.
2. Abdelhay, A., Mohammed, B., Amin, L., Abderrazak, R., Saida, A., Ferdaouss, E. H., 2017. Screening of phosphate solubilizing bacteria isolate for improving growth of wheat. *Europeam Journal of Biotechnology and Bioscience*, 5(6): 07 - 11. ISSN:2321 -9122.
3. Chagas - Junior, A. F., Oliveira, L. A., and Oliveira, A. N., 2009. Produção de ácido indolacético *Coffea* rizóbios isolados de caupi. *Rev. Ceres*, 56: 812 - 817.
4. Chagas - Junior, A. F., de Oliveira, A. G., de Oliveira, L. A., dos Santos, G. R., Chagas, L. F. B., Lopes da Silva, A. L. & da Luz Costa, J., 2015. Production of Indole - 3 - Acetic Acid by *Bacillus* isolated from different soils. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 21 (2) 282 - 287.
5. Gordon, S. A., & Weber, R. P., 1951. Colorimetric estimation of indoleacetic acid. *Plant Physiology*, 26 (1), 192.
6. Lynch, J. M., 1985. Origin, nature, and biological activity of aliphatic substances and growth hormones found in soil. In: Vaughan, D., Malcolm, R. E. (Eds). *Soil Organic Matter and Biological Activity*. Martinus Nijhoff /Dr. W. Junk Publishers. Dordrecht, Boston, Lancaster. 151 - 174.
7. Nguyễn Thị Thanh Mai, Chu Đức Hà, Phạm Phương Thu và Nguyễn Văn Giang, 2018. Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn phân giải lân, kali khó tan từ đất trồng cà phê tại khu vực Tây Nguyên. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp*. 60 (5): 34 - 38.
8. Nguyễn Hoàng Nhựt Linh và Nguyễn Hữu Hiệp, 2019. Tuyển chọn vi khuẩn có khả năng cố

định đạm, phân giải lân, tổng hợp IAA nội sinh trong cây cà phê vối (*Coffea canephora* Pierre ex. A. Fronehner) trồng tại tỉnh Đắk Lắk. *Tạp chí Khoa học – Trường Đại học Cần Thơ*, 55 (2): 34 - 40.

9. Nguyễn Thị Minh và Đỗ Minh Thu, 2017. Nghiên cứu phân lập và tuyển chọn vi sinh vật nội sinh từ vùng sinh thái đất mặn huyện Giao Thủy, tỉnh Nam Định.

10. Rosas, S. B., Andrés, J. A., Rovera, M., and Correa, N. S., 2006. Phosphate-solubilizing *Pseudomonas putida* can influence the rhizobia - legume symbiosis. *Soil Biology & Biochem.*, 38: 3502 - 3505.

11. Rgb.vn, 2011. *Mô hình màu RGB – Hệ màu cơ bản trong thiết kế*. truy cập <https://rgb.vn/ideas/explore/mo-hinh-mau-rgb-he-mau-co-ban-trong-thiet-ke/>

12. Patten, C. L. and Glick, B. R., 2002b. Role of *Pseudomonas putida* indolacetic acid in development of the host plant root system. *Applied Environment Microbiol.*, 68: 3795–3801.

13. Sonali Kumari, Prabha, C., Singh, A., Kumari, S. & Kiran, S., 2018. Optimization of Indole-3-Acetic Acid Production by Diazotrophic *B. subtilis* DR2 (KP455653), Isolated from Rhizosphere of *Eragrostis cynosuroides*. *International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences*, 7 (2).

14. Taiz, L. and E. Zeiger, 2004. Fisiologia Vegetal. 3rd ed., *Artmed, Porto Alegre.*, pp.719.

15. Tiêu chuẩn Việt Nam 10784: 2015. Vi sinh vật - xác định khả năng sinh tổng hợp acid 3 - Indol - Acetic (IAA).

16. Tổng cục Hải quan Việt Nam, 2020.

<https://www.customs.gov.vn/Lists/ThongKeHaiQuan/SoLieuThongKe.aspx?&Group=S%E1%BB%91%20I%E1%BB%87u%20th%E1%BB%91ng%20k%C3%AA>

17. White, T. J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 18 (1): 315 - 322.

ISOLATION AND SELECTION OF SYNTHETIC ENDOGENOUS MICROORGANISMS INDOLE - 3 - ACETIC ACID (IAA) IN THE ROOT SYSTEM OF COFFEE PLANTS (*Coffea*) IN DAK LAK PROVINCE

**Nguyen Khoa Truong^{1*}, Tran Van Tien¹, Le Thi Anh Tu¹,
Phan Trung Truc¹, Huynh Duong Thi Minh Nguyet¹, Mai Thi My Lan¹**

¹Dalat University

*Email: truongnk@dlu.edu.vn

Summary

Research on isolation and selection of endogenous microorganisms synthesized Indole - 3 - Acetic Acid (IAA) in the root system of coffee plants (*Coffea*) in Dak Lak to select microorganisms with superior properties, making The basis for the production of bio-products is contribute to increase the growth and productivity of coffee plants,... From 30 samples of coffee roots collected in two districts Cu Kuin and Cu M'gar, isolating and selecting strains of microorganisms capable of biosynthesis IAA by the quantitative method with Salkowsky reagent. Four strains of bacteria capable of producing IAA were selected with concentrations of 16.36 µg/mL (S03N1), 24.41 µg/mL (S25N2), 68.31 µg/mL (S02R1), and 96.78 µg/mL (S18N3). Based on morphological characteristics and molecular biology data identifying selected bacterial strains, species of *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus* spp were identified and *Stenotrophomonas maltophilia*.

Keywords: *Coffee, Dak Lak, Indole - 3 - acetic acid, endogenous microorganisms.*

Người phản biện: TS. Trương Hồng

Ngày nhận bài: 4/12/2020

Ngày thông qua phản biện: 4/01/2021

Ngày duyệt đăng: 11/01/2021