

PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN VÀ ĐỊNH DANH VI KHUẨN CỐ ĐỊNH ĐẠM VÙNG RỄ CÂY ĐÌNH LĂNG (*Polyscias fruticosa* L. Harms)

Lê Thị Mỹ Thu¹, Bùi Thị Cẩm Hương¹, Trần Ngọc Hữu¹,
Lê Vĩnh Thúc¹, Trần Chí Nhân², Lý Ngọc Thanh Xuân²,
Phạm Duy Tiến², Nguyễn Quốc Khương^{1*}

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu là xác định được vi khuẩn cố định đạm vùng rễ cây đình lăng. Mười ba mẫu rễ đình lăng thu thập tại huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang được sử dụng để phân lập vi khuẩn cố định đạm trên môi trường Burk's không đạm. Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng đạm tổng số trong đất được đánh giá ở mức thấp. Phân lập được 30 dòng vi khuẩn cố định đạm, trong đó hai dòng vi khuẩn CL07L4 và CL09L4 có hàm lượng đạm cao nhất lần lượt là 50,5 và 52,8 mg NH₄⁺ L⁻¹. Bên cạnh đó, hai dòng vi khuẩn này được xác định khả năng hòa tan lân (4,85 và 21,1 mg L⁻¹) và tổng hợp IAA (0,43 và 0,50 mg L⁻¹), theo cùng thứ tự. Ngoài ra, dòng vi khuẩn AC10L4 có khả năng hòa tan lân cao nhất, với 23,2 mg L⁻¹ và dòng vi khuẩn CL08L2 có khả năng cung cấp IAA cao nhất, với 0,99 mg L⁻¹. Hai dòng vi khuẩn được định danh dựa trên kỹ thuật 16S rDNA là *Bacillus subtilis* CL07L4 và *Bacillus subtilis* CL09L4.

Từ khóa: Vi khuẩn vùng rễ, cố định đạm, đình lăng.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đình lăng là cây thuốc chứa thành phần dược liệu gồm alkaloid, glycosid, saponin, vitamin và phytosterol, có tác dụng được lý giống nhân sâm như giúp tăng cường thể lực và sức đề kháng (Tram et al., 2020). Bên cạnh đó, đình lăng cũng được sử dụng rộng rãi làm thực phẩm, thuốc chữa bệnh và trang trí trên khắp các nước châu Á và châu Phi. *P. fruticosa* được sử dụng như một loại thuốc chống hen suyễn, chống ho (Boye et al., 2018). Các chất dinh dưỡng bị hạn chế trong đất do quá trình rửa trôi N và bay hơi amoniac (Gurdeep và Reddy, 2015). Tuy nhiên, bón phân N và P hóa học thúc đẩy sự phát triển của cây trồng và đạt được năng suất tối ưu. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy những tác động tích cực của việc bón phân hóa học đối với năng suất và sự phát triển của cây thuốc (Wang et al., 2019). Vi khuẩn vùng rễ xâm nhập vào hệ thống rễ cây và tăng cường sự phát triển của cây trồng bằng các cơ chế khác nhau, bao gồm quá trình hòa tan lân (Ahemad và Khan, 2012) cố định đạm (Glick, 2012), tổng hợp acid indole-3-acetic (IAA) (Jahanian et al., 2012), 1-amino-xiclopropan-1-

cacboxylat (ACC) và hydro xyanate (Liu et al., 2016), sản xuất hormone và kháng sinh hoặc enzym lytic (Xie et al., 2016). Chính vì vậy, vi khuẩn vùng rễ tương tác với cây trồng tạo điều kiện cho sản xuất nông nghiệp bền vững (Gonzalez et al., 2015; Gupta et al., 2015). Do đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm tuyển chọn vi khuẩn vùng rễ cây đình lăng có khả năng cung cấp đạm cho cây trồng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Mẫu đất

Mẫu đất được thu tại ba xã thuộc huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang vào tháng 2 năm 2019 bao gồm 4 mẫu tại xã Châu Lăng, 4 mẫu tại xã An Cư và 5 mẫu tại xã Lương Phi. Mỗi mẫu đất được thu 5 vị trí theo đường chéo góc của vườn trồng đình lăng và trừ lạnh để đem về phòng thí nghiệm nhằm phân lập vi khuẩn và xác định đặc tính đất.

2.2. Phân lập và định danh vi khuẩn vùng rễ cây đình lăng

2.2.1. Phân lập vi khuẩn

Môi trường Burk's được sử dụng để phân lập vi khuẩn vùng rễ, với thành phần gồm 10 g D-Glucose, 0,2 g CaCl₂, 10 ml Stock Burk's, 1 g yeast và 20 g agar. Môi trường được điều chỉnh về pH=7,0 bằng dung dịch NaOH 0,1 M. Cân 1 g đất cho vào bình tam giác chứa sẵn 99 ml nước cất đã được khử trùng,

¹ Bộ môn Khoa học cây trồng, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

² Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

Email: ngkhuong@ctu.edu.vn

lắc với tốc độ 200 vòng phút⁻¹ trong 12 giờ bằng máy lắc, để dung dịch lắng sau 10 phút. Hút 0,1 mL nước trong trải đều trên đĩa petri đã được chuẩn bị sẵn môi trường Burk's không đậm, để khô bề mặt đĩa và ủ ở nhiệt độ 30°C trong tủ ẩm. Khuẩn lạc vi khuẩn xuất hiện trên bề mặt môi trường sau 24-48 giờ, khuẩn lạc điển hình được cấy chuyển cho đến khi thuần. Các khuẩn lạc thuần trên bề mặt môi trường Burk's được cấy sang môi trường NBRIP để đánh giá khả năng hòa tan lân của vi khuẩn. Ngoài ra, khả năng tổng hợp IAA của các dòng vi khuẩn cũng được thực hiện trên môi trường Burk's.

2.2.2. Mô tả đặc điểm khuẩn lạc

Khuẩn lạc được mô tả đặc điểm hình thái bao gồm hình dạng, màu sắc, độ nổi và dạng bìa khuẩn lạc. Một số đặc điểm về hình dạng và khả năng chuyển động của tế bào cũng được mô tả. Xác định gram vi khuẩn bằng phương pháp nhuộm gram.

2.3. Tuyển chọn vi khuẩn cố định đạm vùng rễ đĩnh lăng

2.3.1. Nguồn vi khuẩn

Ba mươi dòng vi khuẩn vùng rễ đĩnh lăng phân lập từ môi trường Burk's được trữ ở 4°C và được sử dụng để đánh giá khả năng chịu đựng trong môi trường pH thấp, cố định đạm, hòa tan lân và tổng hợp IAA.

2.3.2. Đánh giá khả năng thích nghi trong điều kiện chua

Tất cả 30 dòng vi khuẩn thuần được nuôi trong điều kiện pH = 5,0. Các dòng vi khuẩn đạt giá trị OD₆₆₀ lớn hơn 0,5 sau 48 giờ ủ được sử dụng để tuyển chọn vi khuẩn có khả năng cố định đạm; đánh giá khả năng hòa tan lân và tổng hợp IAA.

2.3.3. Phương pháp xác định hàm lượng đạm tổng hợp từ vi khuẩn

Môi trường Burk's không đậm được sử dụng để nuôi các dòng vi khuẩn và đánh giá khả năng cố định đạm. Mỗi dòng vi khuẩn được điều chỉnh bằng môi trường Burk's không đậm để đạt giá trị OD₆₆₀ = 0,5, sau đó hút 0,5 mL cho vào ống nghiệm có chứa 4,5 mL môi trường Burk's lỏng không đậm. Mẫu được lắc với tốc độ 120 vòng phút⁻¹ trong điều kiện tối. Mẫu đối chứng là dung dịch không có vi khuẩn. Sau khi ủ 48 giờ, 1 mL dung dịch khuẩn được ly tâm trong 15 phút với tốc độ 10.000 vòng phút⁻¹. Sau ly tâm, dung dịch được định lượng đạm bằng phương

pháp hiện màu blue phenol (Nelson et al., 1983), mẫu được đo trên máy quang phổ ở bước sóng 640 nm.

2.4. Đánh giá khả năng hòa tan lân và tổng hợp IAA của vi khuẩn vùng rễ đĩnh lăng

2.4.1. Phương pháp xác định hàm lượng lân trong môi trường dịch vi khuẩn

Môi trường NBRIP (g L⁻¹) có thành phần gồm: 10 g Glucose, 5 g Ca₃(PO₄)₂, 5 g MgCl₂·6H₂O, 0,25 g MgSO₄·7H₂O, 0,2 g KCl, 0,1 g (NH₄)₂SO₄, được sử dụng để xác định khả năng hòa tan lân khó tan của vi khuẩn. Mỗi dung dịch vi khuẩn đã được điều chỉnh đến giá trị OD₆₆₀ = 0,5 được hút 0,5 mL cho vào ống nghiệm chứa sẵn 5 mL môi trường NBRIP lỏng. Dung dịch được lắc ở tốc độ 120 vòng phút⁻¹ ở điều kiện tối. Mẫu đối chứng là dung dịch không chứa vi khuẩn. Sau 48 giờ, 1 mL dung dịch vi khuẩn được ly tâm 15 phút với tốc độ 10.000 vòng phút⁻¹. Hàm lượng lân hòa tan trong dung dịch được xác định bằng phương pháp ascorbic acid trên máy quang phổ ở bước sóng 880 nm (Murphy và Riley, 1962).

2.4.2. Phương pháp xác định hàm lượng IAA tiết ra từ vi khuẩn

Tiền chất tổng hợp IAA được thêm vào môi trường Burk's ở nồng độ tryptophan 100 µg L⁻¹, để nuôi vi khuẩn (pH môi trường là 6,0). Sau khi ủ 48 giờ, 1,0 mL dung dịch khuẩn được ly tâm trong 15 phút với tốc độ 10.000 vòng phút⁻¹. Hàm lượng IAA được phân tích bằng phương pháp Salkowski và được thực hiện như sau: 0,75 mL dung dịch trích đã được ly tâm, sau đó thêm 3,0 mL tác chất (4,5 g FeCl₃ L⁻¹ trong 10,8 M H₂SO₄) và được ủ ở nhiệt độ phòng trong vòng 20 phút. Nồng độ IAA được định lượng ở bước sóng 535 nm (Glickman và Dessaux, 1995). Mẫu đối chứng là môi trường Burk's lỏng không có dịch khuẩn.

Tất cả các thí nghiệm đánh giá khả năng chịu môi trường pH thấp, cố định đạm, hòa tan lân và tổng hợp IAA được thực hiện trong điều kiện tối, với 3 lần lặp lại.

2.5. Định danh vi khuẩn cố định đạm vùng rễ

Hai dòng vi khuẩn được nuôi trong Burk's trong 48 giờ. Sau đó, 2 mL dịch khuẩn được ly tâm ở tốc độ 10.000 vòng phút⁻¹ trong 5 phút nhằm thu được tế bào để tách DNA bằng Genomic DNA Prep Kit (BioFACTTM), theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sau đó kiểm tra nồng độ và độ thuần 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 8F và 1492R (Turner et al., 1999) như mô tả trong iProof™ High-Fidelity PCR Kit - Bio-Rad (BioRad, Hercules, CA) bởi T100™ thermo cycler (BioRad) cho vi khuẩn vùng rễ. So kích thước của sản phẩm PCR với thang DNA chuẩn để xác nhận vị trí các band kích thước 1500 bp đối với vi khuẩn vùng rễ. Sản phẩm PCR được tinh sạch bằng TIANquick Midi Purification Kit (Tiangen Biotech Ltd., Beijing, China) theo hướng dẫn nhà sản xuất. Sau đó kiểm tra lại độ thuần 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 tự động tại Macrogen DNA Sequencing Service (Macrogen, Seoul, Korea). Kết quả giải trình tự với sắc phổ được phân tích bằng phần mềm BioEdit, phiên bản 7.0.5.3 (Hall, 1999) và phần mềm ChromasPro version 1.7 (<http://technelysium.com.au/wp/chromaspro>). Giải trình tự của 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.

2.6. Xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm SPSS phiên bản 16.0 để so sánh khác biệt trung bình và phân tích phương sai bằng kiểm định Duncan.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc tính đất vùng rễ cây đinh lăng

Đất trồng đinh lăng tại 3 xã Châu Lăng, An Cư và Lương Phi có pH_{H2O} dao động trong khoảng 7,37-7,63 được đánh giá là phù hợp cho sự phát triển của cây trồng. Độ dẫn điện EC đạt 110-193 $\mu\text{S cm}^{-1}$, được đánh giá ở mức thấp. Hàm lượng đạm tổng số được ghi nhận 0,17-0,24% và được đánh giá ở mức thấp theo thang đánh giá của Metson (1961). Hàm lượng đạm hữu dụng ở dạng NH_4^+ được xác định dao động 15,7-25,5 mg $\text{NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$ (Bảng 1).

Bảng 1. Đặc tính đất trồng đinh lăng tại huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang

Địa điểm	Số mẫu	pH _{H2O} (Đất:H ₂ O ~ 1:5)	EC ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	N tổng số (%)	N hữu dụng (mg $\text{NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$)
Châu Lăng	4	7,63±0,08	193,3±126,8	0,24±0,09	25,5±15,4
An Cư	4	7,40±0,48	117,0±34,3	0,22±0,05	19,0±11,7
Lương Phi	5	7,37±0,21	110,0±96,6	0,17±0,04	15,7±11,8

3.2. Phân lập và đặc điểm hình thái của vi khuẩn vùng rễ cây đinh lăng

3.2.1. Kết quả phân lập vi khuẩn vùng rễ cây đinh lăng

Từ 13 mẫu đất vùng rễ cây đinh lăng trồng tại huyện Tri Tôn đã phân lập và làm thuần được 30 chủng vi khuẩn trên môi trường Burk's không đậm ở pH = 6,0. Tất cả các chủng này được lưu trữ trên đĩa và trong glycerol 20% ở điều kiện -80°C.

3.2.2. Đặc tính hình thái khuẩn lạc và tế bào của vi khuẩn vùng rễ cây đinh lăng

Tất cả các khuẩn lạc được mô tả đặc tính hình thái trên môi trường Burk's, được trình bày trong bảng 2. Tất cả khuẩn lạc có màu trắng đục, độ nổi mô dao động 26,7-40,0%. Dạng bìa nguyên chiếm ưu thế (86,7%), hình dạng khuẩn lạc chủ yếu là dạng tròn (73,3%). Tất cả các dòng vi khuẩn đều là gram âm.

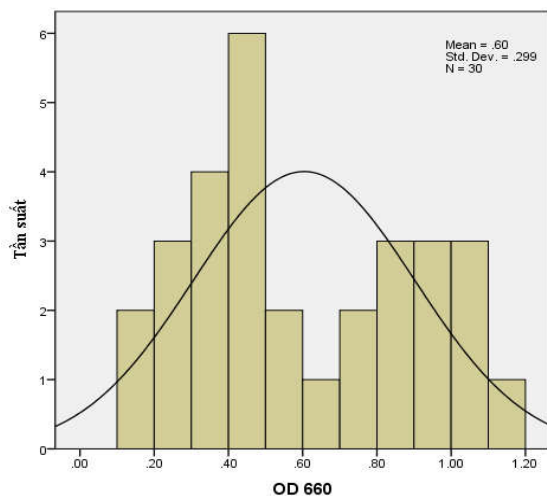
Bảng 2. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc vi khuẩn vùng rễ đinh lăng được phân lập trên môi trường Burk's

Đặc điểm		Số dòng vi khuẩn	Tỷ lệ (%)
Màu sắc khuẩn lạc	Trắng đục	30	100
	Trắng trong	0	0
	Vàng nhạt	0	0
Độ nổi	Ít mô	8	26,7
	Mô vừa	10	33,3
	Mô cao	12	40,0
Dạng bìa	Nguyên	26	86,7
	Răng cưa	4	13,3
Tế bào	Tròn	22	73,3
	Que	6	20,0
	Vô định hình	2	6,7
Kích thước (mm)	0,5	2	6,7
	1,0	4	13,3
	1,5	8	26,65
	2	8	26,65
	2,5	6	20,0
	5	2	6,7
Khả năng chuyển động	Chuyển động	30	100
	Không	0	0

3.3. Tuyển chọn vi khuẩn cố định đạm vùng rễ đình lăng

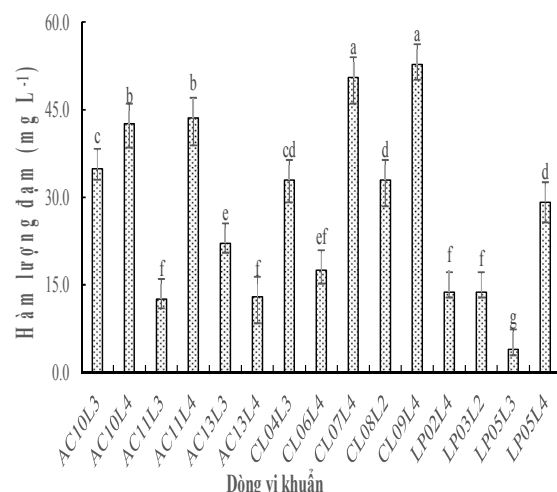
3.3.1. Khả năng chịu đựng môi trường pH thấp của các dòng vi khuẩn vùng rễ cây đình lăng

Tất cả 30 chủng vi khuẩn được nuôi trong môi trường Burk's lỏng. Kết quả ghi nhận có 15 dòng vi khuẩn đạt giá trị $OD_{660} < 0,5$, có 11 dòng vi khuẩn có giá trị OD_{660} từ 0,5 đến 1,0 và chỉ có 4 dòng vi khuẩn có giá trị $OD_{660} > 1,0$. Vì vậy, có 15 dòng vi khuẩn có giá trị $OD_{660} > 0,5$ trong điều kiện pH 5,0 được sử dụng để đánh giá khả năng cố định đạm.



Hình 1. Khả năng sống của các chủng vi khuẩn đã làm thuần trong điều kiện pH thấp

3.3.2. Khả năng cố định đạm của các dòng vi khuẩn vùng rễ cây đình lăng



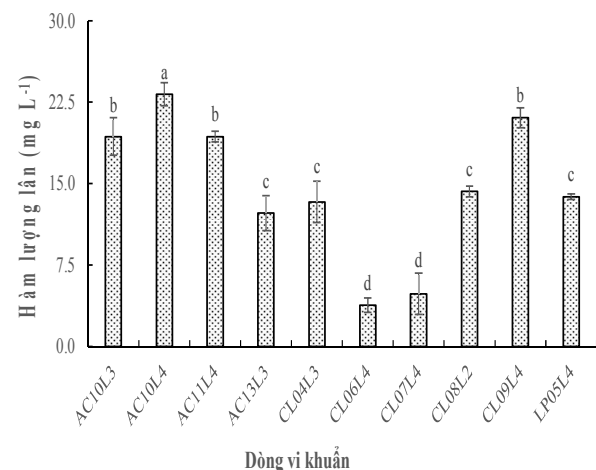
Hình 2. Khả năng cố định đạm của các dòng vi khuẩn vùng rễ cây đình lăng

Mười lăm dòng vi khuẩn vùng rễ chịu được điều kiện chua đều có khả năng cố định đạm, khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% giữa các dòng vi khuẩn. Trong đó, dòng vi khuẩn CL09L4 và CL07L4 có khả năng cố định đạm cao, 52,8 và 50,5 mg L⁻¹, theo thứ tự. Dòng vi khuẩn LP05L3 có khả năng cố định đạm thấp nhất (3,94 mg L⁻¹). Các dòng vi khuẩn còn lại có hàm lượng đạm được ghi nhận dao động 3,94-43,6 mg L⁻¹ (Hình 2).

3.4. Đánh giá khả năng hòa tan lân và tổng hợp IAA của các dòng vi khuẩn vùng rễ cây đình lăng

3.4.1. Khả năng hòa tan lân của các dòng vi khuẩn vùng rễ cây đình lăng

Mười dòng vi khuẩn cố định đạm cao được sử dụng để đánh giá khả năng hòa tan lân. Kết quả ghi nhận khả năng hòa tan lân của dòng vi khuẩn AC10L4 đạt cao nhất, với hàm lượng 23,2 mg P L⁻¹, khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% với các dòng vi khuẩn còn lại. Kế đến, ba dòng vi khuẩn có khả năng hòa tan lân cao tiếp theo là AC10L3, AC11L4 và CL09L4, với hàm lượng lần lượt là 19,3, 19,3 và 21,1 mg L⁻¹. Hai dòng vi khuẩn CL06L4 và CL07L4 có khả năng hòa tan lân thấp nhất, với 3,80 và 4,85 mg L⁻¹, theo cùng thứ tự (Hình 3).

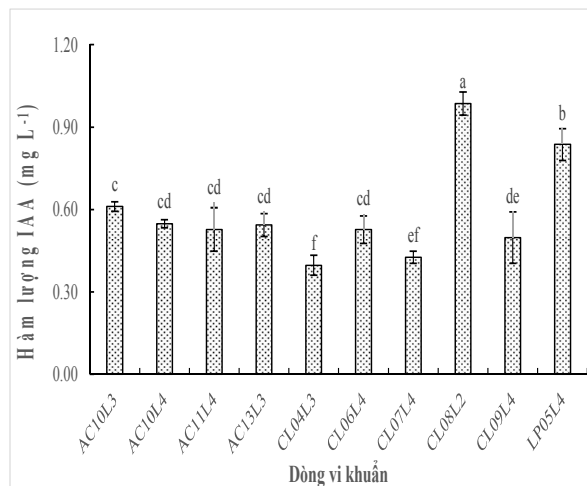


Hình 3. Khả năng hòa tan lân của các dòng vi khuẩn vùng rễ cây đình lăng

3.4.2. Khả năng tổng hợp IAA của các dòng vi khuẩn vùng rễ cây đình lăng

Trong tổng số 15 dòng vi khuẩn cố định đạm có 10 dòng đạt hàm lượng đạm cao. Mười dòng vi khuẩn này cũng có khả năng tổng hợp IAA. Hàm lượng IAA giữa các dòng vi khuẩn khác biệt có ý nghĩa thống kê

5%, với hàm lượng 0,40-0,99 mg L⁻¹. Dòng vi khuẩn CL08L2 có khả năng tổng hợp IAA cao nhất (0,99 mg L⁻¹). Dòng vi khuẩn CL04L3 có khả năng tổng hợp IAA thấp (0,40 mg L⁻¹) và khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với dòng vi khuẩn CL07L4, với giá trị 0,43 mg L⁻¹ (Hình 4).



Hình 4. Khả năng tổng hợp IAA của các dòng vi khuẩn vùng rễ cây đinh lăng

Kết quả định danh hai dòng vi khuẩn vùng rễ cố định đạm thuộc chi *Bacillus* và loài *subtilis* ở tỷ lệ tương đồng 99%. Do đó, hai dòng vi khuẩn trong nghiên cứu này được đặt tên *Bacillus subtilis* CL07L4 và CL09L4. Kết quả nghiên cứu đã phân lập được 30 dòng vi khuẩn cố định đạm, trong đó có 10 dòng vi khuẩn chịu được môi trường chua có khả năng cung cấp đạm cao được đánh giá khả năng hòa tan lân và cung cấp IAA. Trong nông nghiệp, vi khuẩn vùng rễ xâm nhập vào rễ cây trồng và thúc đẩy cây tăng trưởng. Vi khuẩn kích thích sinh trưởng thực vật giúp cải thiện sinh khối thông qua các tác động trực tiếp đến sự phát triển của rễ và chồi (Kumari et al., 2017). Vi khuẩn vùng rễ cũng có khả năng cải thiện các đặc tính vật lý, hóa học đất, độ phì nhiêu đất, đối kháng với mầm bệnh, tăng cường sức đề kháng của cây trồng, giảm mặn và độc tính kim loại nặng.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Phân lập được 30 dòng vi khuẩn vùng rễ trồng đinh lăng tại huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang. Trong đó, dòng vi khuẩn CL07L4 và CL09L4 có khả năng cố định đạm tốt nhất, với hàm lượng đạm 50,5 và 52,8 mg L⁻¹. Đồng thời, khả năng hòa tan lân và tổng hợp IAA của 2 dòng được tuyển chọn là 4,85, 21,1 mg P L⁻¹

¹ và 0,43, 0,50 mg IAA L⁻¹, theo cùng thứ tự. Hai dòng vi khuẩn đã tuyển chọn được định danh với mức độ tương đồng 99% là *Bacillus subtilis* CL07L4 và CL09L4.

4.2. Đề nghị

Khảo sát khả năng thay thế phân hóa học của dòng vi khuẩn cố định đạm vùng rễ cây đinh lăng trong điều kiện phòng thí nghiệm và ngoài đồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ahemad, M. and Khan, M. S. (2012). Evaluation of plant-growth promoting activities of rhizobacterium *Pseudomonas putida* under herbicide stress. *Annals of microbiology* 62(4): 1531–1540.
2. Boye, A., Osei-Owusu, A. K., Koffuor, G. A., Barku, V. Y. A., Asiamah, E. A., and Asante, E. (2018). Assessment of *Polyscias fruticosa* (L.) Harm (Araliaceae) leaf extract on male fertility in rats. *Journal of Intercultural Ethnopharmacolog.* 7(1): 45–56.
3. Glick, B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica.* 963401: 1–15.
4. Glickman, E. and 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.
5. Gonzalez, A. J., Larraburu, E. E. and Llorente, B. E. (2015). *Azospirillum brasilense* increased salt tolerance of Jojoba during in vitro rooting. *Industrial Crops and Products.* 76: 41–48.
6. Gupta, G., Parihar, S. S., Ahirwar, N. K., Snehi, S. K., and Singh, V. (2015). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. *Journal of Microbial & Biochemical Technology.* 7(2): 096–102.
7. Gurdeep, K. A. U. R. and Reddy, M. S. (2015). Effects of phosphate-solubilizing bacteria, rock phosphate and chemical fertilizers on maize-wheat cropping cycle and economics. *Pedosphere.* 25(3): 428–437.
8. Hall, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series.* 41, 95–98.

9. Jahanian, A., Chaichi, M. R., Rezaei, K., Rezayazdi, K. and Khavazi, K. (2012). The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination and primary growth of artichoke (*Cynaras colymus*). International Journal of Agriculture and Crop Sciences. 4(14): 923–929.
10. Kumari, B., Hora, A. and Mallick, M. A. (2017). Stimulatory effect of PGPR (Plant Growth Promoting Rhizospheric Bacteria) on medicinal and growth properties of a potential medicinal herb *Chlorophytum borivilianum*. A review. The Journal of Plant Science Research. 33(2): 151-156.
11. Liu, W., Wang, Q., Hou, J., Tu, C., Luo, Y. and Christie, P. (2016). Whole genome analysis of halotolerant and alkalotolerant plant growth-promoting rhizobacterium *Klebsiella* sp. D5A. Scientific Reports. 6: 26710.
12. Metson, A. J. (1961). Methods of chemical analysis for soil survey samples. Soil Bureau Bulletin New Zealand Dept. Sci. Ind. Res. p. 12.
13. Murphy, J. A. M. E. S. and Riley, J. P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. Analytica Chimica Acta. 27: 31-36.
14. 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.
15. Tram, T. T. N., Yen, T. P., Anh, T. T., Tung, H. T., Ngan, H. T. M. and Nhut, D. T. (2020). Somatic embryogenesis of *Polyscias fruticosa* L. Harms via culturing *ex vitro* leaf explant. Vietnam Journal of Biotechnology. 18(3): 497-506.
16. Turner, J. T. and Backman, P. A. (1999). Factors relating to peanut yield increases after seed treatment with *Bacillus subtilis*. Plant Disease. 75: 347-353.
17. Wang, Z., Chen, Z., Xu, Z. and Fu, X. (2019). Effects of phosphate-solubilizing bacteria and N₂-fixing bacteria on nutrient uptake, plant growth, and bioactive compound accumulation in *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja. Forests. 10(9): 772.
18. Xie, J., Shi, H., Du, Z., Wang, T., Liu, X. and Chen, S. (2016). Comparative genomic and functional analysis reveals conservation of plant growth promoting traits in *Paenibacillus polymyxa* and its closely related species. Scientific Reports. 6: 21329.

ISOLATION, SELECTION AND IDENTIFICATION OF RHIZOSPHERIC BACTERIA FOR NITROGEN FIXATION IN *POLYSCIAS FRUTICOSA* L. HARMS

Le Thi My Thu, Bui Thi Cam Huong, Tran Ngoc Huu, Le Vinh Thuc,
Tran Chi Nhan, Ly Ngoc Thanh Xuan, Pham Duy Tien, Nguyen Quoc Khuong

Summary

The objective of study was to determine nitrogen fixing bacteria in rhizospheric zone of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms. Thirteen root samples collected in Tri Ton district, An Giang province were used for isolating nitrogen fixing bacteria on Burk's N-free medium. Results showed that total nitrogen content in soil was evaluated at low threshold. The 30 isolates were possessed the nitrogen fixing ability, in which strains CL07L4 and CL09L4 obtained the highest nitrogen contents of 50.5 and 52.8 mg L⁻¹, respectively. Moreover, both strains have phosphorus solubilizing ability (4.85 and 1.05 mg L⁻¹) and IAA synthesis (0.43 and 0.50 mg L⁻¹), respectively. Besides, a strain AC10L4 produced the highest phosphorus production, with 23.2 mg L⁻¹ and strain CL08L2 has the highest IAA release ability, with 0.99 mg L⁻¹. Two bacterial strains were identified as *Bacillus subtilis* CL07L4 and CL09L4.

Keywords: Nitrogen fixing, *Polyscias fruticosa* L. Harms, rhizospheric bacteria.

Người phản biện: PGS.TS. Lê Như Kiều

Ngày nhận bài: 12/3/2021

Ngày thông qua phản biện: 12/4/2021

Ngày duyệt đăng: 19/4/2021