

PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN VI KHUẨN NỘI SINH CÓ ĐỊNH ĐẠM VÀ TỔNG HỢP IAA TỪ RỄ CÂY CAM SÀNH TẠI HUYỆN CHÂU THÀNH, TỈNH HẬU GIANG

Nguyễn Quốc Khương^{1*}, Trần Ngọc Hữu¹, Lưu Thị Yến Nhi², Lê Vĩnh Thúc¹,
Đặng Hữu Ân³, Trần Chí Nhân³, Lê Tiến Đạt⁴, Lý Ngọc Thanh Xuân^{3*}

TÓM TẮT

Hiện nay, sử dụng chế phẩm vi sinh hay phân hữu cơ vi sinh là xu hướng phát triển của nền nông nghiệp bền vững vì giảm tác động bất lợi của phân hóa học gây ra. Bài báo trình bày kết quả tuyển chọn những dòng vi khuẩn nội sinh rễ cây cam sành có khả năng chịu được môi trường chua, cố định đạm và tổng hợp IAA. Mười mẫu rễ cây cam sành được thu ở các vườn trồng cam sành từ ba đến bốn năm tuổi tại huyện Châu Thành, tỉnh Hậu Giang. Kết quả phân lập được 36 dòng vi khuẩn nội sinh rễ cây cam sành. Trong đó, ba dòng vi khuẩn CT-L-8T, CT-L-8V và CT-L-4A phát triển tốt trong điều kiện môi trường chua (pH 4,5), có khả năng cố định đạm ($3,31 - 4,18 \text{ mg NH}_4^+ \text{ L}^{-1}$) và tổng hợp IAA ($18,1 - 22,4 \text{ mg IAA L}^{-1}$). Đây là những dòng vi khuẩn có tiềm năng cao trong sản xuất phân bón, phục vụ nông nghiệp bền vững.

Từ khóa: Cam sành, cố định đạm, tổng hợp IAA, vi khuẩn nội sinh.

1. GIỚI THIỆU

Ở đồng bằng sông Cửu Long cam sành được trồng tập trung ở các tỉnh, thành: Bến Tre, Vĩnh Long, Cần Thơ, Hậu Giang, Tiền Giang và Trà Vinh. Trong đó, Hậu Giang có diện tích cam sành chiếm 9.000 ha chủ yếu ở huyện Châu Thành và Phụng Hiệp với sản lượng thu hoạch hàng năm đạt 135.000 tấn, được xem là sản phẩm nông sản chủ lực của tỉnh Hậu Giang trong những năm gần đây (Ngô Văn Thống, 2017). Trong khi đó, phần lớn diện tích cam sành được trồng trên đất phèn, với pH thấp được xem là trở ngại chính cho canh tác nông nghiệp. Phân bón là một trong những tác động chính để đảm bảo năng suất cây trồng, từ đó dẫn đến một số lượng lớn phân vô cơ đã được bổ sung vào đất, đây là nguyên nhân dẫn đến ô nhiễm môi trường. Do đó, để phát triển nông nghiệp bền vững, sử dụng nguồn chế phẩm sinh học hoặc phân hữu cơ thay thế một phần hoặc hoàn toàn phân vô cơ là cần thiết. Cụ thể là, sử dụng vi khuẩn cố định đạm sinh học ở dạng N_2 tự do

trong khí quyển thành đạm NH_4^+ trong đất bằng enzyme nitrogenase tiết ra bởi vi sinh vật (Peoples và Craswell, 1992; Kennedy và Islam, 2001). Hiện nay, nghiên cứu cho thấy việc sử dụng các dòng vi khuẩn nội sinh rễ cây cam, quýt để kích thích sự tăng trưởng cây trồng, cố định đạm, hòa tan lân (Giassi *et al.*, 2016; Mushtaq *et al.*, 2019) và dẫn đến tăng sinh trưởng và năng suất cây cam sành (Mushtaq *et al.*, 2019). Bên cạnh đó, một số dòng vi khuẩn vùng rễ cây cam quýt cũng thể hiện các chức năng trên (Thokchom *et al.*, 2014; 2017). Ngoài ra, một số loài vi khuẩn nội sinh cây cam, quýt và chanh có khả năng phòng trị bệnh ghẻ trên cây có múi (Daungfu *et al.*, 2019; Rabbee *et al.*, 2019). Do đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định được các dòng vi khuẩn nội sinh rễ cây cam sành có khả năng cố định đạm và cung cấp chất kích thích sinh trưởng thực vật IAA trong điều kiện đất chua.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

2.1.1. Thu mẫu rễ cây cam sành

Mẫu rễ được thu từ 4 cây không mang trái, tuổi cây khoảng 3 - 4 năm, tất cả các mẫu rễ cấp 2, 3, 4 được trộn thành một mẫu tại vùng trồng cam sành ở bốn xã của huyện Châu Thành, tỉnh Hậu Giang. Trong đó, mỗi xã Phú Hữu, Đông Phước thu 2 mẫu, mỗi xã Đông Phước A và thị trấn Ngã Sáu thu 3 mẫu.

2.1.2. Môi trường phân lập và đánh giá các khả năng của vi khuẩn

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

² Sinh viên ngành Khoa học cây trồng khóa 44, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

³ Khu Thí nghiệm - Thực hành, Phòng Quản trị - Thiết bị, Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

⁴ Chi cục Bảo vệ thực vật, Sở Nông nghiệp và PTNT tỉnh Vĩnh Long

*Email: nqkhuong@ctu.edu.vn; lntxuan@agu.edu.vn

Môi trường LGI phân lập vi khuẩn có thành phần gồm (g L⁻¹): 10 Sucrose, 0,6 KH₂PO₄, 0,2 K₂HPO₄, 0,2 MgSO₄·7H₂O, 0,02 CaCl₂, 0,01 FeCl₃, 0,002 Na₂MoO₄·2H₂O, 5 mL Bromothymol blue 0,5% trong KOH 0,2 N và 20 agar.

Môi trường NFB (g L⁻¹): 5 acid malic, 5 K₂HPO₄, 0,2 MgSO₄·7H₂O, 0,02 CaCl₂, 0,1 NaCl, 4,5 KOH, 4 ml FeEDTA (1,64%), 2 ml dung dịch nguyên tố vi lượng, 1 ml dung dịch vitamin, 2 ml bromothymol blue 0,5% trong KOH 0,2 N và 20 agar.

Môi trường Burk's (g L⁻¹) gồm: 10 Sucrose, 0,41 KH₂PO₄, 0,52 K₂HPO₄, 0,05 Na₂SO₄, 0,2 CaCl₂, 0,1 MgSO₄·7H₂O, 0,005 FeSO₄·7H₂O, 0,0025 Na₂MoO₄·2H₂O và 20 agar.

Môi trường TYGA (g L⁻¹) gồm: 5 Trypton, 3 Yeast extract, 1 Glucose và 15 Agar.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Phân lập vi khuẩn nội sinh rễ cây cam sành

Xử lý mẫu: Rễ cây cam sành được rửa sạch, cắt thành các đoạn nhỏ có chiều dài khoảng 1 cm và rửa lại thật sạch bằng nước sinh hoạt, để khô trong phòng.

Phân lập vi khuẩn: Cho 10 g mẫu rễ cam sành đã cắt vào bình tam giác 250 mL, thêm vào 20 mL cồn 96%, lắc trên máy lắc ở tốc độ 100 vòng phút⁻¹ trong 10 phút, đổ hết cồn, thêm 50 mL nước cất vô trùng, lắc ở tốc độ 100 vòng phút⁻¹ trong 5 phút để rửa sạch mẫu (thực hiện 4 lần). Sử dụng 20 mL calcium hypochloride 2% lắc ở tốc độ 100 vòng phút⁻¹ trong 10 phút, rửa mẫu 4 lần bằng nước vô trùng như trên. Hút 150 µL của nước rửa lần cuối cùng cấy trên các đĩa chứa môi trường, ủ ở 30°C. Sau 48 giờ, trên các đĩa môi trường không xuất hiện khuẩn lạc thì mẫu được coi là đạt yêu cầu, mẫu được giã nhuyễn bằng cối chày vô trùng. Cho thêm 1,5 mL nước cất vô trùng vào cối, khuấy đều và hút 500 µL dịch trích mẫu chủng vào các ống nghiệm chứa môi trường NFB, LGI bán đặc không N, thực hiện cho 3 ống nghiệm (3 lặp lại). Các ống nghiệm được đậy kín và đem ủ ở 30°C trong 5 ngày. Quan sát nếu thấy có một lớp màng mỏng gần bề mặt môi trường thì chứng tỏ có sự hiện diện của vi khuẩn nội sinh có khả năng cố định đạm trong dịch trích mẫu. Trái lớp màng mỏng trong môi trường bán đặc sang môi trường không đậm đặc tương ứng, ủ ở 30°C. Sau 48 giờ, các khuẩn lạc khác nhau xuất hiện trên bề mặt môi trường được

tiếp tục cấy chuyển sang các đĩa môi trường vài lần cho đến khi các khuẩn lạc xuất hiện trên đường cấy rời nhau và hình thái khuẩn lạc thuần nhất. Kiểm tra độ thuần bằng kính hiển vi theo phương pháp giọt ép. Khi thấy vi khuẩn đã thuần thì cấy chuyển sang ống nghiệm chứa môi trường đặc tương ứng bảo quản ở 4°C để sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

2.2.2. Mô tả đặc điểm hình thái và tế bào khuẩn lạc

Mô tả hình thái khuẩn lạc gồm màu sắc, hình dạng, dạng bìa khuẩn lạc và độ nổi. Mô tả đặc điểm tế bào gồm hình dạng và khả năng chuyển động của tế bào.

2.2.3. Đánh giá khả năng thích nghi của vi khuẩn trong điều kiện chua, khả năng cố định đạm và tổng hợp IAA

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

** Đánh giá khả năng thích nghi của vi khuẩn trong điều kiện chua*

Tổng số 36 dòng vi khuẩn đã phân lập được nuôi trong điều kiện pH = 4,5. Các dòng vi khuẩn đạt giá trị OD₆₆₀ > 0,1 được sử dụng để đánh giá khả năng cố định đạm và tổng hợp IAA.

** Đánh giá khả năng cố định đạm của vi khuẩn*

Các dòng vi khuẩn được nuôi trong môi trường Burk's không đậm để đánh giá khả năng cố định đạm. Hút 0,5 mL dung dịch của mỗi dòng vi khuẩn đã điều chỉnh OD₆₆₀ = 0,5 bằng môi trường Burk's không đậm cho vào ống nghiệm chứa 5 mL môi trường Burk's lỏng không đậm, sau đó lắc với tốc độ 120 vòng phút⁻¹ ở điều kiện tối. Dung dịch không có vi khuẩn được sử dụng như đối chứng. Sau 48 giờ ủ, 1,0 mL dung dịch vi khuẩn được ly tâm 15 phút ở tốc độ 10.000 vòng phút⁻¹ được định lượng đạm bằng phương pháp hiện màu blue phenol (Nelson *et al.*, 1983), đo trên máy quang phổ ở bước sóng 640 nm.

** Đánh giá khả năng tổng hợp IAA của vi khuẩn*

Vi khuẩn được phân lập trong môi trường nào thì được đánh giá IAA trên môi trường tương ứng, pH 4,5, tryptophan được bổ sung với lượng 100 µg L⁻¹ được xem như là tiền chất cho sản xuất IAA. Sau 48 giờ ủ, 1,0 mL dịch khuẩn được ly tâm ở tốc độ 10.000 vòng phút⁻¹ trong 15 phút và lượng IAA được phân tích bằng phương pháp so màu Salkowski và được

tóm tắt như sau: 0,75 mL dung dịch trích đã được ly tâm trộn với 3,0 mL tác chất Salkowski (4,5 g L⁻¹ FeCl₃ trong 10,8 M H₂SO₄) được ủ trong 20 phút ở nhiệt độ phòng. Hàm lượng IAA được xác định ở bước sóng 535 nm (Glickmann và Dessaux, 1995).

2.2.4. Xử lý thống kê

Sử dụng phần mềm SPSS phiên bản 16.0 để so sánh khác biệt trung bình giữa các dòng vi khuẩn bằng kiểm định Duncan.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và xác định đặc tính hình thái, tế bào của vi khuẩn nội sinh rễ cây cam sành

Bảng 1. Nguồn gốc các dòng vi khuẩn được phân lập từ rễ cam sành trồng tại huyện Châu Thành, tỉnh Hậu Giang

Địa điểm (xã)	Số mẫu rễ	Ký hiệu ^a	Số dòng vi khuẩn được phân lập		Ký hiệu vi khuẩn được phân lập	
			LGI	NFB	LGI ^b	NFB ^c
Phú Hữu	2	CT-1, CT-2	2	6	CT-L1A, CT-L2B	CT-N-1, CT-N-1A, CT-N-1D; CT-N-2A, CT-N-2B, CT-N-2C.
Đồng Phước	2	CT-3, CT-4	2	6	CT-L3B, CT-L4A	CT-N-3B, CT-N-3C, CT-N-3D; CT-N-4, CT-N-4A, CT-N-4C.
Đồng Phước A	3	CT-5, CT-6, CT-7	3	8	CT-L5A, CT-L5B, CT-L6D	CT-N-5A, CT-N-5B, CT-N-5C; CT-N-6, CT-N-6A; CT-N-7, CT-N-7A, CT-N-7B.
Ngã Sáu	3	CT-8, CT-9, CT-10	3	6	CT-L8D, CT-L8T, CT-L8V	CT-N-8, CT-N-8C; CT-N-9A, CT-N-9C, CT-N-9D; CT-N-10B

Ghi chú: ^aCT là Châu Thành và số theo sau là số thứ tự của mẫu; ^bDựa trên ký hiệu mẫu, L là được phân lập từ môi trường LGI, số và ký tự theo sau để phân biệt các khuẩn lạc khác nhau; ^cDựa trên ký hiệu mẫu, N là được phân lập từ môi trường NFB, số và ký tự theo sau để phân biệt các khuẩn lạc khác nhau.

3.1.2. Đặc tính hình thái và tế bào của các dòng vi khuẩn nội sinh rễ cây cam sành

Đặc điểm của các dòng vi khuẩn nội sinh phân lập từ rễ cây cam sành được xác định ở bảng 2. Các khuẩn lạc có màu trắng trong, trắng đục hoặc vàng nhạt sau 24 giờ nuôi cấy trên môi trường LGI và NFB. Tuy nhiên, trên môi trường LGI không xuất hiện khuẩn lạc có màu trắng trong và trắng đục, trong khi đó khuẩn lạc có màu trắng trong chiếm ưu thế trên môi trường NFB, với tỷ lệ 69,2%. Độ nổi mô chiếm ưu thế, với 80% trên môi trường LGI và 69,2%

3.1.1. Kết quả phân lập vi khuẩn nội sinh rễ cây cam sành

Phân lập và làm thuần được 36 chủng vi khuẩn nội sinh rễ cây cam sành trên môi trường LGI và NFB từ 10 mẫu rễ cây cam sành thu thập từ 4 xã tại huyện Châu Thành, tỉnh Hậu Giang. Số lượng dòng vi khuẩn phân lập được và ký hiệu tên của mỗi mẫu được thể hiện ở bảng 1. Cụ thể như mẫu CT-1 phân lập được các dòng vi khuẩn từ môi trường LGI (CT-L1A và CT-L2B) và NFB (CT-N-1, CT-N-1A, CT-N-1D, CT-N-2A, CT-N-2B và CT-N-2C) (Bảng 1).

trên môi trường NFB. Các khuẩn lạc được phân lập trên môi trường LGI đều có bìa nguyên, nhưng các khuẩn lạc phân lập trên môi trường NFB chủ yếu là răng cưa (84,6%). Có 100% khuẩn lạc được phân lập trên cả hai môi trường đều có dạng tròn. Ngoài ra, đường kính khuẩn lạc cũng được ghi nhận ở bảng 2.

Tất cả khuẩn lạc trên cả hai môi trường đều có dạng hình cầu và tế bào có khả năng chuyển động (Bảng 3).

Bảng 2. Đặc điểm hình thái của các dòng vi khuẩn phân lập trên môi trường LGI và NFB

Đặc điểm		LGI		NFB		Tổng số dòng	Tỷ lệ (%)
		Số dòng	Tỷ lệ (%)	Số dòng	Tỷ lệ (%)		
Màu sắc	Trắng trong	0	0,0	18	69,2	18	50,0
	Trắng đục	0	0,0	6	23,1	6	16,7
	Vàng nhạt	10	100	2	7,70	12	33,3

Độ nổi	Lài	2	20,0	8	30,8	10	27,8
	Mô	8	80,0	18	69,2	26	72,2
Dạng bìa	Nguyên	10	100	4	15,4	14	38,9
	Răng cưa	0	0,0	22	84,6	22	61,1
Dạng	Tròn	10	100	26	100	36	100
	Bầu dục	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Đường kính (mm)	< 1,5	4	40,0	16	61,5	20	55,6
	> 1,5	6	60,0	10	38,5	16	44,4

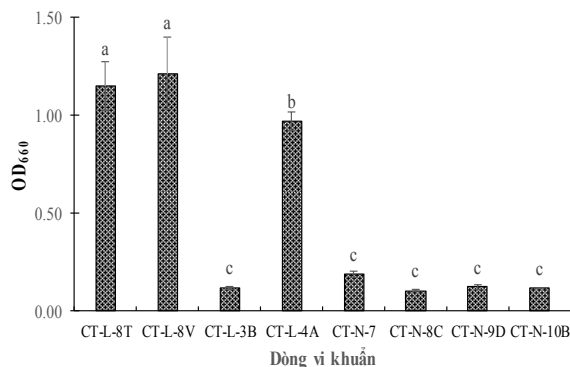
Bảng 3. Đặc điểm tế bào của các dòng vi khuẩn phân lập trên môi trường LGI và NFB

Đặc điểm		LGI		NFB		Tổng số dòng	Tỷ lệ (%)
		Số dòng	Tỷ lệ (%)	Số dòng	Tỷ lệ (%)		
Hình dạng	Hình que	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	Hình cầu	10	100	26	100	18	100
Chuyển động	Có	10	100	26	100	18	100
	Không	0	0,0	0	0,0	0	0,0

3.2. Tuyển chọn vi khuẩn nội sinh rễ cây cam sành có khả năng thích nghi trong điều kiện chua, cố định đạm và tổng hợp IAA

3.2.1. Vi khuẩn nội sinh rễ cây cam sành có khả năng chịu được điều kiện chua

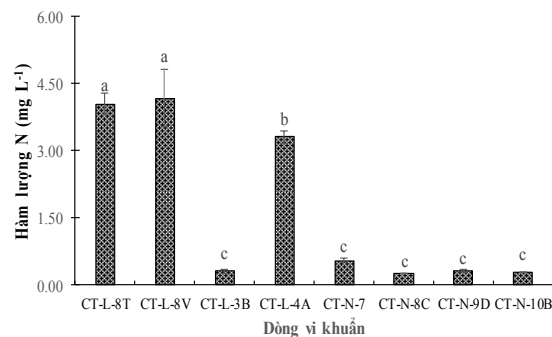
Trong số 36 dòng vi khuẩn được phân lập, tám dòng vi khuẩn có giá trị OD_{660} lớn hơn 0,1. Tuy nhiên, chỉ có ba dòng vi khuẩn có khả năng phát triển tốt nhất ở điều kiện pH thấp (pH= 4,5) với giá trị OD_{660} lớn hơn 0,90. Cụ thể là dòng vi khuẩn CT-L-8T, CT-L-8V và CT-L-4A có khả năng phát triển tốt nhất với giá trị OD_{660} 0,97 – 1,22 (Hình 1). Ngoài ra, có đến 28 dòng vi khuẩn thích nghi kém trong điều kiện chua có giá trị OD_{660} bé hơn 0,1 dao động 0,02 – 0,10. Tất cả tám dòng vi khuẩn triển vọng có giá trị OD_{660} lớn hơn 0,1 được sử dụng để đánh giá khả năng cố định đạm.



Hình 1. Khả năng phát triển của các dòng vi khuẩn tuyển chọn từ rễ cây cam sành trong điều kiện môi trường chua

3.2.2. Vi khuẩn nội sinh rễ cây cam sành có khả năng cố định đạm

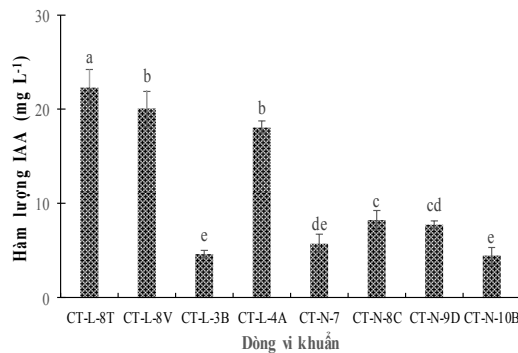
Tương tự với khả năng chịu được điều kiện pH thấp, ba dòng vi khuẩn CT-L-8T, CT-L-8V và CT-L-4A cũng có khả năng cố định đạm tốt nhất. Trong đó, hai dòng có khả năng cố định đạm cao nhất là CT-L-8V (4,18 mg NH_4^+ L⁻¹) và CT-L-8T (4,08 mg NH_4^+ L⁻¹). Dòng vi khuẩn có khả năng cố định đạm triển vọng kế tiếp là CT-L-4A, với 3,31 mg NH_4^+ L⁻¹. Các dòng vi khuẩn còn lại có hàm lượng đạm được cố định 0,26 – 0,55 mg NH_4^+ L⁻¹ (Hình 2).



Hình 2. Khả năng cố định đạm của các dòng vi khuẩn tuyển chọn từ rễ cây cam sành

3.2.3. Vi khuẩn nội sinh rễ cây cam sành có khả năng tổng hợp IAA

Tương tự với khả năng chịu được điều kiện pH thấp và khả năng cố định đạm. Ba dòng vi khuẩn nội sinh rễ cây cam sành CT-L-8T, CT-L-8V và CT-L-4A tổng hợp IAA cao khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% so với các dòng vi khuẩn còn lại. Các dòng vi khuẩn này tổng hợp được 18,1 – 21,9 mg IAA L⁻¹ trong khi các dòng vi khuẩn CT-L-3B, CT-N-7, CT-N-8C, CT-N-9D và CT-N-10B có hàm lượng IAA dao động 4,43 – 8,23 mg IAA L⁻¹ (Hình 3).



Hình 3. Khả năng tổng hợp IAA của các dòng vi khuẩn tuyển chọn từ rễ cây cam sành

Kết quả hình 1, 2 và 3 cho thấy tuyển chọn được hai dòng vi khuẩn CT-L-8T, CT-L-8V trong rễ cây cam sành trồng tại thị trấn Ngã Sáu và dòng vi khuẩn CT-L-8T-4A trong rễ cây cam sành trồng tại Đông Phước, có khả năng cố định đạm và tổng hợp IAA. Kết quả này cho thấy các dòng vi khuẩn tuyển chọn có triển vọng trong việc cung cấp đạm hỗ trợ cây cam sành sinh trưởng. Kết quả nghiên cứu trên cây quýt cho thấy có năm dòng vi khuẩn từ vùng rễ có khả năng cố định đạm, hòa tan lân và cung cấp IAA, *Enterobacter hormaechei* RCE-1, *Enterobacter asburiae* RCE-2, *Enterobacter ludwigii* RCE-5, và *Klebsiella pneumoniae* RCE-7, đã tăng khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% về chiều cao chồi, sinh khối khô của cây con vào thời điểm 120 ngày sau khi trồng (Thokchom *et al.*, 2014) và các dòng vi khuẩn này có khả năng sống trong mô rễ như vi khuẩn nội sinh (Thokchom *et al.*, 2017). Bên cạnh đó, sử dụng các dòng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân trong phân sinh học đã làm tăng hàm lượng N, P trong lá và chất lượng trái (El-Khayat và Abdel-Rehiem, 2013).

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

36 dòng vi khuẩn nội sinh được phân lập từ rễ cây cam sành trồng tại huyện Châu Thành, tỉnh Hậu Giang. Trong đó, ba dòng vi khuẩn CT-L-8T, CT-L-8V và CT-L-4A phát triển tốt trong điều kiện môi trường chua, có khả năng cố định đạm (3,31 – 4,18 mg NH₄⁺ L⁻¹) và tổng hợp IAA (18,1 – 22,4 mg IAA L⁻¹). Đây là những dòng vi khuẩn có tiềm năng cao trong sản xuất phân bón, phục vụ sản xuất nông nghiệp bền vững.

4.2. Đề nghị

Định danh các dòng vi khuẩn triển vọng nội sinh rễ cây cam sành đã được tuyển chọn.

Khảo sát khả năng thay thế phân đạm hóa học

của các dòng vi khuẩn nội sinh rễ cây cam sành ở điều kiện ngoài đồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Daungfu, O., Youpensuk, S., & Lumyong, S. (2019). Endophytic bacteria isolated from citrus plants for biological control of citrus canker in lime plants. *Tropical Life Sciences Research*, 30(1): 73.
- El-Khayat, H. M. & Abdel-Rehiem, M. A. (2013). Improving mandarin productivity and quality by using mineral and bio-fertilization. *Alex. J. Agric. Res.*, 58(2): 141-147.
- Giassi, V., Kiritani, C. & Kupper, K. C. (2016). Bacteria as growth-promoting agents for citrus rootstocks. *Microbiological Research*, 190: 46-54.
- 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.
- Kennedy, I. R. & Islam, N. J. A. J. (2001). The current and potential contribution of asymbiotic nitrogen fixation to nitrogen requirements on farms: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 41(3): 447-457.
- Mushtaq, S., Shafiq, M., Ashraf, T., Haider, M. S., Ashfaq, M. & Ali, M. (2019). Characterization of plant growth promoting activities of bacterial endophytes and their antibacterial potential isolated from citrus. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 29(4): 978-991.
- 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.
- Ngô Văn Thống (2017). Cam sành Ngã Bảy, Hậu Giang. Địa chỉ truy cập <http://www.khuyennonghaugiang.com.vn/Default.aspx?tabid=1446&ndid=181>. Ngày truy cập 25/7/2020.
- Peoples, M. B. & Craswell, E. T. (1992). Biological nitrogen fixation: investments, expectations and actual contributions to agriculture. *Plant and Soil*, 141(1-2): 13-39.
- Rabbee, M. F., Ali, M. & Baek, K. H. (2019). Endophyte *Bacillus velezensis* isolated from *Citrus* spp. controls streptomycin-resistant *Xanthomonas citri* subsp. *citri* that causes citrus bacterial canker. *Agronomy*, 9(8): 470.

11. Thokchom, E., Kalita, M. C. & Talukdar, N. C. (2014). Isolation, screening, characterization, and selection of superior rhizobacterial strains as bioinoculants for seedling emergence and growth promotion of Mandarin orange (*Citrus reticulata* Blanco). Canadian Journal of Microbiology, 60(2):85-92.

12. Thokchom, E., Thakuria, D., Kalita, M. C., Sharma, C. K. & Talukdar, N. C. (2017). Root colonization by host-specific rhizobacteria alters indigenous root endophyte and rhizosphere soil bacterial communities and promotes the growth of mandarin orange. European Journal of Soil Biology, 79:48-56.

ISOLATION AND SELECTION OF ENDOPHYTIC BACTERIA POSSESSING THE ABILITY OF NITROGEN FIXATION AND PRODUCING INDOLE ACETIC ACID FROM KING MANDARIN ROOT IN CHAU THANH DISTRICT, HAU GIANG PROVINCE

**Nguyen Quoc Khuong, Tran Ngoc Huu, Luu Thi Yen Nhi, Le Vinh Thuc,
Dang Huu An, Tran Chi Nhan, Le Tien Dat, Ly Ngoc Thanh Xuan**

Email: nqkhuong@ctu.edu.vn; lntxuan@agu.edu.vn

Summary

The use of biofertilizer or microbial compost fertilizer is a trend of sustainable agriculture development by diminishing the adverse effects of chemical fertilizers. The objective of this research was to isolate and select the endophytic bacteria from King mandarin root possessing the ability of nitrogen fixation and indole acetic acid (IAA) synthesis under acidic condition. Ten samples of King mandarin root were collected in Chau Thanh district, Hau Giang province. The results showed that 36 endophytic bacteria strains were isolated, in which, strains CT-L8T, CT-L8V and CT-L4A have the ability of resistance to acidity (pH 4.5), nitrogen production (3.31-4.18 mg NH₄⁺ L⁻¹) and IAA production (18.1-22.4 mg IAA L⁻¹).

Keywords: *IAA synthesis, endophytic bacteria, King mandarin, nitrogen fixation.*

Người phản biện: PGS.TS. Lê Như Kiều

Ngày nhận bài: 16/7/2021

Ngày thông qua phản biện: 17/8/2021

Ngày duyệt đăng: 24/8/2021