

KHẢ NĂNG KHÁNG NẤM VÀ SINH CHẤT KÍCH THÍCH SINH TRƯỞNG THỰC VẬT CỦA VI KHUẨN NỘI SINH PHÂN LẬP TỪ CÂY BƯỞI

Nguyễn Thị Thu Hằng¹, Đỗ Quang Trung², Trần Thị Thời¹

¹Trường Đại học Lâm nghiệp

²Đại học Quốc gia Hà Nội

<https://doi.org/10.55250/jo.vnuf.2022.4.022-029>

TÓM TẮT

Vi khuẩn sống nội sinh trong các mô của cơ thể thực vật có thể mang lại những lợi ích khác nhau cho cây chủ nhờ tiềm năng tạo ra các chất có hoạt tính sinh học. Từ các mô lá, thân và rễ của cây Bưởi, 19 chủng vi khuẩn nội sinh đã được phân lập. Kết quả sàng lọc chủng vi khuẩn hữu ích cho thấy có hai chủng vi khuẩn (kí hiệu BT1.1 và BT1.3) vừa có khả năng đối kháng nấm gây bệnh trên cây Bưởi, vừa sinh các chất có tác dụng kích thích sinh trưởng thực vật. Vi khuẩn BT1.1 có phần trăm ức chế sinh trưởng (GI%) nấm *Fusarium solani* và *Penicillium digitatum* tương ứng là 31,56% và 29,27%, sinh 13,12 µg/ml IAA, cố định 3,31 mg/ml nitơ, chỉ số hòa tan phosphate (SI) 2,57 và hoạt tính phân giải cellulose (IS) 3,25. Chủng BT1.3 có giá trị ức chế nấm *Fusarium solani* và *Penicillium digitatum* tương ứng là 32,44% và 26,42%, tổng hợp 4,91 µg/ml IAA, cố định 4,40 mg/ml nitơ, giá trị SI trong thí nghiệm hòa tan lân đạt 2,22 và giá trị IS thể hiện hoạt tính cellulase là 3,33.

Từ khóa: Cố định nitơ, đề kháng nấm, hòa tan phosphate, phân giải cellulose, sinh IAA, vi khuẩn nội sinh.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thuật ngữ vi sinh vật nội sinh đề cập đến vi khuẩn hay nấm sống trong mô thực vật mà không gây hại cho thực vật. Theo Hallmann và cộng sự (1997), vi khuẩn nội sinh là thuật ngữ bao gồm tất cả các vi khuẩn từ mô thực vật, không gây hại cho thực vật. Sự có mặt của vi khuẩn nội sinh trong mô có thể thúc đẩy thực vật tăng trưởng, tăng năng suất và đóng vai trò là tác nhân điều hòa sinh học, sản xuất các sản phẩm tự nhiên có lợi cho cây chủ mà con người có thể khai thác những tác nhân đó để ứng dụng trong y học, nông nghiệp hay công nghiệp (Afzal et al., 2019). Theo Gamalero và cộng sự (2020), vi khuẩn nội sinh có thể giúp loại bỏ các chất gây ô nhiễm trong đất bằng cách tăng cường khả năng khử độc ở cơ thể thực vật, làm cho đất trở nên màu mỡ thông qua chu trình phosphate và cố định đạm.

Cây Bưởi, tên khoa học *Citrus grandis* (L) Obeck hoặc *Citrus maxima* (Burm.) Merr., thuộc chi *Citrus*, họ Rutaceae, được trồng phổ biến ở Việt Nam. Bưởi được biết đến như một loại cây ăn trái, cây dược liệu giá trị: quả có thịt quả chứa nhiều thành phần dinh dưỡng như cacbohydrate, beta carotene, vitamin, chất khoáng; vỏ quả, lá và hoa chứa nhiều tinh dầu, pectin, các hợp chất thuộc nhóm flavonoid như naringin, hesperidin, diosmin

(Jinyin et al., 2019).

Quá trình trồng và canh tác Bưởi gặp khó khăn do cây chậm lớn, bị nhiều loại nấm và sâu bệnh hại tấn công. Trong số các loại bệnh thường gặp ở các loài cây thuộc chi *Citrus* nói chung và cây Bưởi nói riêng, bệnh vàng lá, thối rễ do nấm *Fusarium solani* và bệnh mốc xanh, thối rữa quả do nấm *Penicillium digitatum* gây ảnh hưởng tiêu cực đến sinh trưởng, phát triển của cây và chất lượng quả. Nấm *Fusarium solani* thường từ đất (đặc biệt có nhiều ở những nơi đất ngập úng) tấn công vào chóp rễ, làm rễ bị suy yếu và thối. Cây Bưởi bị bệnh do nấm *Fusarium solani* có lá chuyển màu vàng, dễ rụng khi bị lay nhẹ, rễ cây bị thối, vỏ rễ tuột khỏi phần gỗ, bên trong có sọc nâu lan dần vào rễ cái. Khi cây bị bệnh nặng thì tất cả các rễ đều bị thối và cây chết (Jaqueline et al., 2019). Nấm *Penicillium digitatum* xâm nhiễm qua vết xước trên bề mặt quả, sau đó tấn công vào phần thịt quả gây thối rữa quả. Quả Bưởi bị nhiễm nấm *Penicillium digitatum* trước khi thu hoạch sẽ bị thối và rụng, sau khi thu hoạch sẽ bị thối rữa và lây lan mầm bệnh rất nhanh sang các quả lân cận (Costa et al., 2019). Hướng tới mục tiêu ứng dụng chủng vi sinh vật nội sinh để nâng cao sức đề kháng và thúc đẩy sinh trưởng của cây chủ, nghiên cứu đã tiến hành phân lập các

chủng vi khuẩn nội sinh phân bố trong lá, thân và rễ của cây Bưởi, từ đó tuyển chọn chủng có khả năng kháng nấm *Fusarium solani*, *Penicillium digitatum* và sinh các chất có lợi cho sinh trưởng của cây.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu lá, thân và rễ của cây Bưởi (*Citrus grandis*) được thu thập từ 2 địa điểm là Hà Nội và Bắc Ninh.

Chủng nấm *Fusarium solani* gây bệnh vàng lá, thối rễ ở cây Bưởi và chủng nấm *Penicillium digitatum* gây thối trái Bưởi được lưu giữ ở Viện Công nghệ sinh học Lâm nghiệp, Trường Đại học Lâm nghiệp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phân lập vi khuẩn nội sinh

Các chủng vi khuẩn nội sinh được phân lập từ lá, thân và rễ của cây Bưởi theo phương pháp của Khan và cộng sự (2020) có cải tiến: Mẫu mô thực vật được rửa sạch, ngâm trong dung dịch nước xà phòng loãng 30 phút, rửa lại bằng nước cất khử trùng, cắt thành đoạn có kích thước 1 - 2 cm. Mẫu được vô trùng bề mặt bằng ngâm trong dung dịch ethanol 70% trong 1 phút, lắc rửa mẫu với nước cất vô trùng 3 lần (5 phút/lần). Tiếp theo mẫu được lắc với dung dịch sodium hypochlorite 2% chứa Tween 20 (0,1%) trong 10 phút. Lắc rửa mẫu với nước cất khử trùng 5 lần (5 phút/lần). Thâm khô mẫu trên giấy thấm vô trùng. Cắt mẫu thành mảnh nhỏ bằng kéo vô trùng và cấy lên đĩa petri chứa môi trường Luria Bertani (LB) agar (peptone 1%; yeast extract 0,5%; NaCl 0,5%; agar 1,5%, pH 6,5), đặt ở 28°C trong 72h. Đĩa đối chứng cấy trái 100 µl nước rửa mẫu ở lần rửa cuối (nước thu hồi sau khi dùng để tráng rửa mẫu lần thứ 5), đặt ở 28°C trong 10 ngày. Kỹ thuật khử trùng bề mặt mẫu là đạt yêu cầu nếu các đĩa đối chứng không có sự phát triển của vi sinh vật.

Cây phân tách các chủng vi khuẩn nội sinh mọc xung quanh mẫu cây dựa trên hình thái, màu sắc, cấu trúc, đường kính khuẩn lạc và hình dạng tế bào. Các chủng vi khuẩn sau khi làm thuần được bảo quản trong dung dịch glycerol 20% (v/v) ở -80°C.

Xác định khả năng kiểm soát nấm *Fusarium solani* và *Penicillium digitatum* của vi khuẩn

Để xác định khả năng kiểm soát nấm *Fusarium solani* và *Penicillium digitatum*, các chủng vi khuẩn nội sinh được cấy chấm điểm vào 4 góc của đĩa petri (Φ 9,0 cm) trên môi trường Potato Dextrose Agar (môi trường PDA, thành phần gồm potato extract 4 g/L, dextrose 20 g/L, agar 15 g/L, pH 5,6) đã cấy sẵn khoanh nấm bệnh (Φ 0,5 cm) ở vị trí chính giữa đĩa petri. Ủ các đĩa cấy ở 28°C trong 7 ngày. Đĩa đối chứng chỉ cấy nấm bệnh. Các chủng vi khuẩn có biểu hiện đối kháng được lặp lại 3 lần thí nghiệm xác định hoạt tính đối kháng với từng chủng trong các đĩa riêng rẽ bằng cách cấy 1 µl dung dịch vi khuẩn (10⁸ CFU/ml) vào rìa đĩa petri và đặt khoanh nấm ở giữa đĩa. Đĩa cấy được nuôi ở 28°C trong 7 ngày. Phần trăm ức chế sinh trưởng (growth inhibition, GI%) được tính theo công thức:

$$GI (\%) = [(C - T)/C] \times 100$$

Trong đó:

C là độ dài sự phát triển xuyên tâm của nấm bệnh trên đĩa đối chứng (mm);

T là độ dài sự phát triển xuyên tâm của nấm bệnh hướng về phía vi khuẩn trong các đĩa thí nghiệm (mm) (Khamna et al., 2009).

Khảo sát đặc tính sinh học của vi khuẩn

- *Xác định khả năng sinh IAA* (phytohormone kích thích sinh trưởng thực vật, kích thích tạo rễ): Khả năng sinh IAA của vi khuẩn được xác định theo Patten và Glick (2002). Vi khuẩn nội sinh được nuôi cấy trong môi trường LB lỏng bổ sung L-tryptophan (0,2%) ở 28 ± 2°C, lắc 150 vòng/phút trong 5 ngày. Loại bỏ sinh khối vi khuẩn khỏi dịch nuôi cấy bằng ly tâm ở 6000 vòng/phút trong 30 phút ở 4°C. Hút 1 ml dịch nuôi vi khuẩn phối trộn với 0,1 ml axit ortho-phosphoric và 2 ml thuốc thử Salkowaski (FeCl₃ 2% trong HClO₄ 35%), ủ trong tối 30 phút ở nhiệt độ phòng. Sự xuất hiện màu hồng trong dịch phản ứng chỉ ra sự sản sinh IAA trong môi trường nuôi vi khuẩn. Cường độ màu của phản ứng được đo mật độ quang ở bước sóng 530 nm và nồng độ IAA được xác định dựa vào đồ thị chuẩn IAA.

- *Xác định khả năng cố định nitơ*: Các chủng vi khuẩn được nuôi cấy trong môi trường Norris glucose lỏng (glucose 10 g/L, K_2HPO_4 1 g/L, $MgSO_4$ 0,2 g/L, $CaCO_3$ 0,1%, NaCl 0,2 g/L, sodium molybdate 0,005 g/L, $FeSO_4$ 0,1 g/L, pH 7,0), ở 28°C, tốc độ lắc 150 vòng/phút. Sau 5 ngày nuôi cấy, thu nhận dịch nuôi, li tâm loại sinh khối vi khuẩn. Thực hiện phản ứng màu của 0,2 ml dịch môi trường nuôi cấy với 1 ml thuốc thử Nessler (0,09 mol/L K_2HgI_4 trong 2,5 mol/L KOH). Nếu chủng vi khuẩn có khả năng cố định nitơ thì NH_4^+ trong môi trường phản ứng với thuốc thử Nessler tạo phức có màu vàng hay nâu sẫm, có thể định lượng bằng phương pháp so màu ở bước sóng 560 nm. Hàm lượng nitơ trong mẫu được xác định dựa vào đồ thị chuẩn amoni. Mẫu đối chứng là môi trường Norris glucose lỏng không cấy vi khuẩn (Malisorn et al., 2020).

- *Xác định khả năng hòa tan phosphate*: Các chủng vi khuẩn được cấy chắm điểm trên đĩa môi trường NBRIP chứa phosphate không hòa tan (glucose 10 g/l; $Ca_3(PO_4)_2$ 5g/L, $MgCl_2.6H_2O$ 0,5 g/L, $MgSO_4.7H_2O$ 0,25 g/L, KCl 0,2 g/L, $(NH_4)_2SO_4$ 0,1 g/L, agar 15 g/L, H_2O 1000 ml, pH 7,0), nuôi cấy ở 28°C trong 72h. Xác định đường kính vòng phân giải phosphate xuất hiện xung quanh khuẩn lạc vi khuẩn, đường kính khuẩn lạc vi khuẩn và tính chỉ số hòa tan phosphate - SI (solubilizing index) theo công thức: $SI = (\text{đường kính khuẩn lạc} + \text{đường kính vòng phân giải phosphate}) / \text{đường kính khuẩn lạc}$ (Pande et al., 2017).

- *Xác định hoạt tính cellulase*: Phân tích định tính khả năng phân giải cellulose của vi khuẩn bằng phương pháp cấy chắm điểm các chủng vi khuẩn trên môi trường chứa CMC 1% trên đĩa petri và đặt ở 30°C trong 48 giờ. Để phát hiện vòng phân giải CMC của vi khuẩn, đĩa petri được nhuộm với thuốc thử Congo red 0,1% trong 20 phút, rửa với dung dịch NaCl 1M. Các chủng vi khuẩn có khả năng phân giải cellulose sẽ tạo thành vùng hào quang (halo zone) xung quanh khuẩn lạc. Chỉ số phân giải cellulose (IS) được xác định theo công thức: $IS = \text{đường kính vùng halo zone} / \text{đường kính}$

khuẩn lạc. Khả năng phân giải cellulose của vi khuẩn được phân loại theo giá trị IS với 3 mức độ: thấp tương ứng với $IS < 1$; trung bình với $IS 1 - 2$; cao với $IS > 2$ (Choi et al., 2005).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và sàng lọc chủng vi khuẩn có khả năng kháng nấm

Từ 135 mẫu lá, thân và rễ của cây Bưởi, đã phân lập được 19 chủng vi khuẩn nội sinh, trong đó có 8 chủng phân lập từ lá, 5 chủng phân lập từ thân và 6 chủng phân lập từ rễ. Các chủng vi khuẩn được phân biệt dựa vào đặc điểm hình thái khuẩn lạc, hình dạng tế bào. Khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn trên môi trường LB agar có màu sắc đa dạng (trắng đục, trắng ngà, vàng nhạt, hồng), bề mặt nhẵn hoặc nhăn, đường kính 1 - 5 mm. Trong số 19 chủng vi khuẩn có 15 chủng là trực khuẩn, 4 chủng là cầu khuẩn.

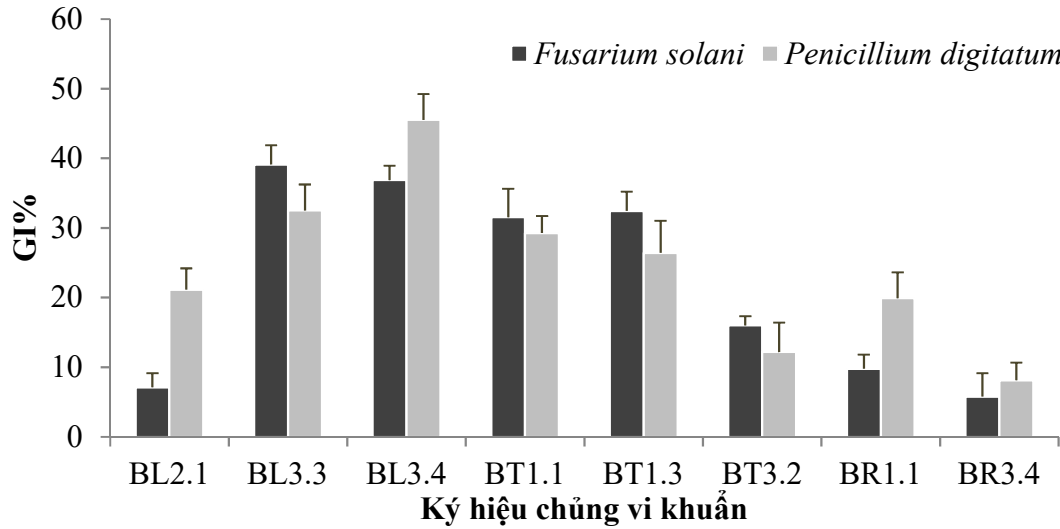
Kết quả xác định khả năng đối kháng trực tiếp nấm *Fusarium solani* và *Penicillium digitatum* cho thấy có 8/19 chủng vi khuẩn (tỷ lệ 42,1%) có khả năng kiểm soát sinh học cả hai loại nấm bệnh với phần trăm ức chế sinh trưởng (GI%) dao động từ 5,78 - 45,53% sau 7 ngày theo dõi (Hình 1). Trong đó, chủng BL3.3 và BL3.4 có khả năng kiểm soát nấm *F. solani* và *P. digitatum* cao nhất (Hình 2), với giá trị GI của chủng BL3.3 tương ứng là 39,11% và 32,52%, chủng BL3.4 tương ứng là 36,89% và 45,53%. Có giá trị GI thấp hơn hai chủng BL3.3 và BL3.4 nhưng cao hơn các chủng còn lại là chủng BT1.1 và BT1.3: khả năng ức chế sinh trưởng nấm *F. solani* và *P. digitatum* của chủng BT1.1 tương ứng là 31,56% và 29,27%, chủng BT1.3 tương ứng là 32,44% và 26,42%.

Trong số 3 loại mẫu (lá, thân và rễ) của cây Bưởi, tỷ lệ các chủng vi khuẩn nội sinh phân lập được từ lá Bưởi là cao hơn cả (8/19 chủng, tỷ lệ 42,1%). Theo Ortiz-Ojeda và cộng sự (2020), sự khác biệt về tỷ lệ các chủng vi khuẩn nội sinh phân lập từ lá so với các bộ phận khác có thể do trên lá có các lỗ khí, là con đường xâm nhập tự nhiên của vi khuẩn. Công bố khoa học của John và Mathew (2017) cũng chỉ ra tần suất xuất hiện vi sinh vật nội sinh ở lá

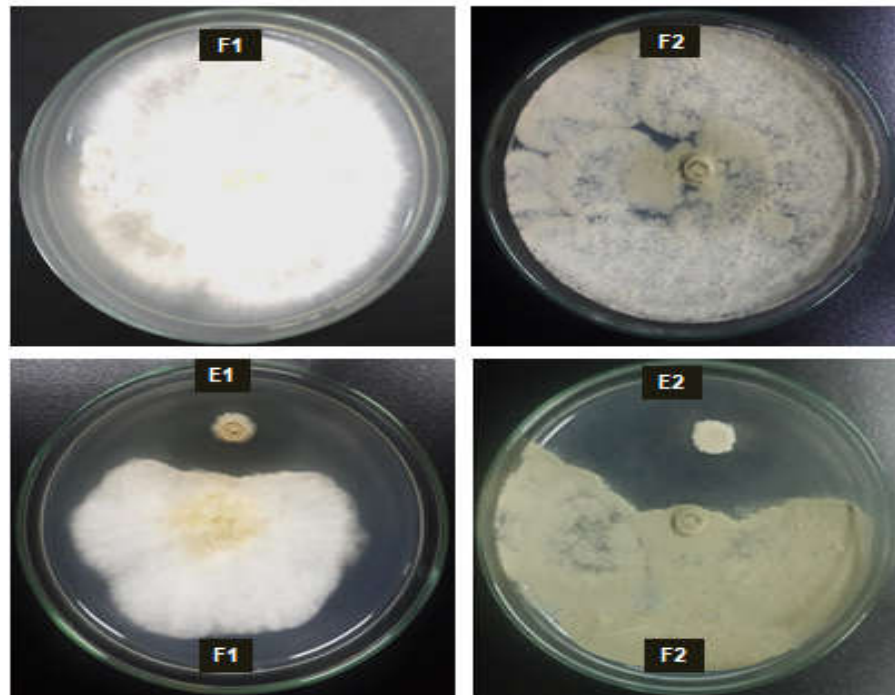
cao hơn các bộ phận khác như thân và rễ.

Trên thế giới, cho đến nay chưa có nghiên cứu khoa học công bố về việc ứng dụng vi khuẩn nội sinh để kiểm soát bệnh do nấm gây ra ở cây *Citrus*, chỉ có công bố của Daungfu và

cộng sự (2019) đề cập đến ứng dụng một số chủng vi khuẩn nội sinh (thuộc chi *Bacillus*) phân lập từ cây *Citrus* để kiểm soát sinh học vi khuẩn *Xanthomonas citri* subsp. *citri* gây bệnh ghẻ ở các loài cây *Citrus* (*Citrus canker*).



Hình 1. Phần trăm ức chế sinh trưởng (GI%) nấm *Fusarium solani* và *Penicillium digitatum* của một số chủng vi khuẩn nội sinh phân lập từ cây Bưởi



Hình 2. Khả năng đối kháng trực tiếp nấm *Fusarium solani* và *Penicillium digitatum* của vi khuẩn nội sinh phân lập từ cây Bưởi

(F1: *Fusarium solani*; F2: *Penicillium digitatum*; E1: vi khuẩn BL3.3; E2: vi khuẩn BL3.4)

3.2. Khảo sát đặc tính sinh học của vi khuẩn

Trong số các đặc điểm sinh học của vi khuẩn nội sinh, đáng chú ý là khả năng sinh các yếu tố có thể thúc đẩy sinh trưởng, phát

triển của thực vật, cụ thể là: sinh IAA (phytohormone kích thích sinh trưởng thực vật, kích thích tạo rễ); cố định nitơ (chuyển hóa nitơ phân tử (N₂) sẵn có trong khí quyển thành

dạng nitơ khoáng (NH_4^+) cây trồng có khả năng hấp thu); hòa tan phosphate (chuyển hóa phosphate từ dạng khó hòa tan thành dạng dễ tan, cung cấp nguồn dinh dưỡng phospho cho cây); sinh enzyme cellulase ngoại bào (vai trò phân hủy chất hữu cơ trong đất).

Kết quả xác định khả năng sinh IAA, cố định nitơ, hòa tan phosphate, phân giải cellulose của 8 chủng vi khuẩn nội sinh có khả năng kiểm soát nấm *Fusarium solani* và *Penicillium digitatum* (Bảng 1, Hình 3) cho thấy: Có 4/8 chủng vi khuẩn nuôi cấy trong môi trường chứa L-tryptophan 0,2% có khả năng sinh IAA với hàm lượng 2,95 - 13,12 $\mu\text{g/ml}$, nên tạo phản ứng màu hồng với thuốc thử Salkowski sau 30 phút ủ trong tối (Hình 3A); có 7/8 chủng có khả năng cố định nitơ với hàm lượng 0,37 - 4,40 mg/ml và tạo phức chất màu vàng khi thực hiện phản ứng màu của dịch nuôi vi khuẩn với thuốc thử Nessler (Hình 3B); có 7/8 chủng tạo vòng tròn trong suốt xung quanh khuẩn lạc trên môi trường chỉ chứa nguồn phosphate khó tan là $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 5%, tương ứng với chỉ số hòa tan phosphate (SI) trong khoảng 2,13 - 2,86 (Hình 3C); cả 8/8 chủng vi khuẩn đều có khả năng phân giải cellulose biểu thị bằng tạo vùng trong suốt xung quanh khuẩn lạc trên môi trường chứa cơ chất CMC 1% sau khi nhuộm màu với thuốc thử Congo red (Hình 3D). Hoạt tính cellulase

của tất cả các chủng vi khuẩn trong nghiên cứu đều đạt mức cao (giá trị IS đạt 2,61 - 4,80).

Đặc điểm sinh IAA, cố định nitơ, hòa tan phosphate, phân giải cellulose của 4 chủng vi khuẩn có khả năng ức chế mạnh nấm *F. solani* và *P. digitatum*, gồm các chủng BL3.3, BL3.4, BT1.1 và BT1.3 như sau: Chủng BL3.3 không có khả năng sinh IAA, cố định 3,93 mg/ml nitơ, chỉ số hòa tan phosphate (SI) 2,20, hoạt tính cellulase là 4,0; chủng BL3.4 không có khả năng sinh IAA và hòa tan phosphate, khả năng cố định nitơ rất yếu (0,37 mg/ml), hoạt tính cellulase IS = 4,8; chủng BT1.1 sinh IAA với hàm lượng cao nhất trong số các chủng vi khuẩn (13,12 $\mu\text{g/ml}$), cố định 3,31 mg/ml nitơ, chỉ số hòa tan phosphate (SI) 2,57, hoạt tính cellulase IS = 3,25; chủng BT1.3 sinh 4,91 $\mu\text{g/ml}$ IAA, cố định 4,4 mg/ml nitơ, chỉ số SI của thí nghiệm hòa tan phosphate 2,22, chỉ số IS thể hiện hoạt tính cellulase là 3,33.

Trong số 8 chủng vi khuẩn có khả năng đối kháng nấm *F. solani* và *P. digitatum*, có 2 chủng - BT1.1 và BT3.3 - không những có khả năng kháng nấm bệnh mạnh, mà còn thể hiện đặc tính thúc đẩy sinh trưởng của thực vật qua sự sinh IAA, cố định nitơ, hòa tan phosphate, phân giải cellulose. Bên cạnh đó, chủng vi khuẩn BL3.3 cũng đáng chú ý về đặc tính đối kháng nấm bệnh, và khả năng cố định nitơ, hòa tan phosphate, phân giải cellulose, tuy nhiên chủng BL3.3 không có khả năng sinh IAA.

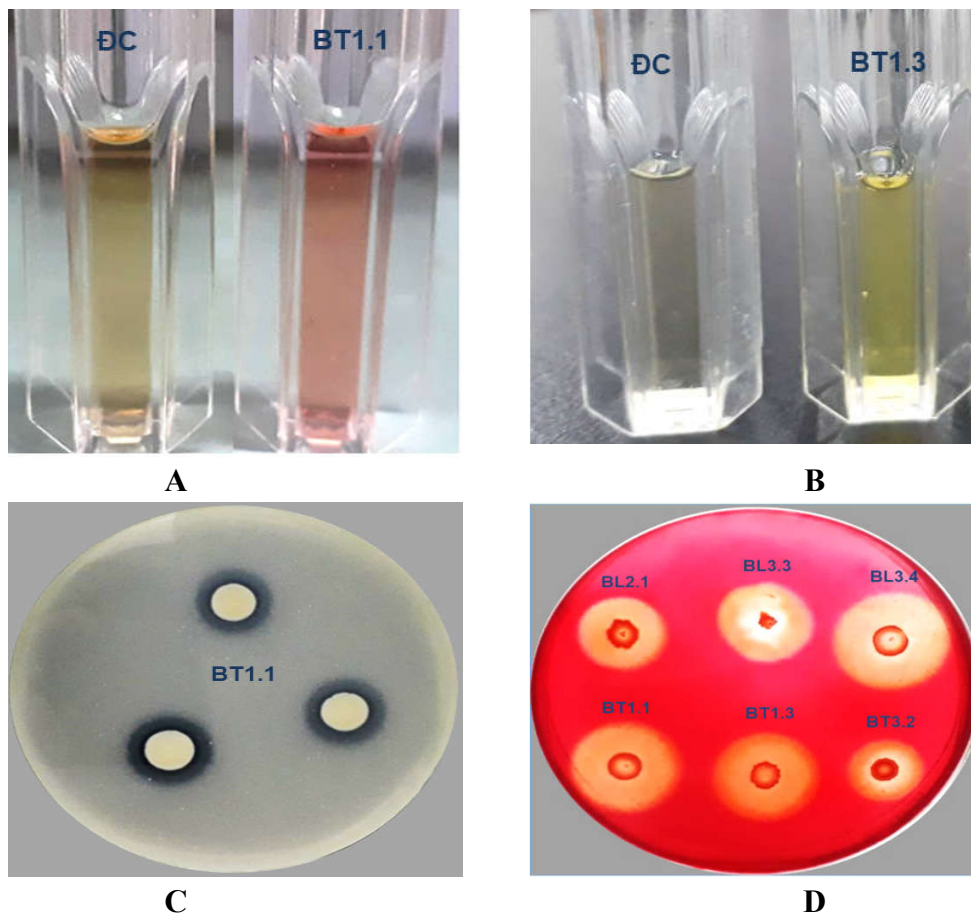
Bảng 1. Khả năng sinh IAA, cố định nitơ, hòa tan phosphate, phân giải cellulose của các chủng vi khuẩn

Chủng vi khuẩn	Sinh IAA ($\mu\text{g/ml}$)	Cố định nitơ (mg/ml)	Hòa tan phosphate (SI)	Hoạt tính cellulase (IS)
BL2.1	2,95 ± 0,3	3,59 ± 0,3	2,86 ± 0,1	3,63 ± 0,2
BL3.3	-	3,93 ± 0,2	2,20 ± 0,2	4,00 ± 0,2
BL3.4	-	0,37 ± 0,2	-	4,80 ± 0,2
BT1.1	13,12 ± 0,5	3,31 ± 0,3	2,57 ± 0,4	3,25 ± 0,1
BT1.3	4,91 ± 0,4	4,40 ± 0,4	2,22 ± 0,2	3,33 ± 0,2
BT3.2	-	-	2,13 ± 0,4	2,79 ± 0,1
BR1.1	-	4,34 ± 0,2	2,67 ± 0,2	3,18 ± 0,1
BR3.4	4,42 ± 0,5	2,34 ± 0,3	2,17 ± 0,2	2,61 ± 0,3

Ghi chú: (-): Không có khả năng sinh IAA/cố định nitơ/hòa tan phosphate.

Kết quả nhận được trong nghiên cứu chỉ ra trong lá, thân và rễ của cây Bưởi tồn tại các vi sinh vật nội sinh có tiềm năng kháng nấm bệnh, nâng cao sức đề kháng và thúc đẩy sinh trưởng, phát triển của cây chủ. Kết quả nghiên cứu cũng phù hợp với nhiều công bố khoa học về tác dụng của vi sinh vật nội sinh: Theo Kusumawati và cộng sự (2017), vi sinh vật nội sinh có thể ứng dụng hiệu quả trong sản xuất phân bón sinh học, góp phần giảm lượng phân

bón hóa học, vì vi sinh vật nội sinh có thể cải thiện độ phì nhiêu của đất thông qua chức năng hòa tan phosphate, sản xuất hormone tăng trưởng thực vật, cố định nitơ, phân hủy sinh học. Nghiên cứu của Gamalero và cộng sự (2020) cũng chỉ ra vi khuẩn nội sinh phân lập từ cây dưa chuột, cao lương và khoai tây có khả năng thúc đẩy sinh trưởng thực vật thông qua khả năng sinh tổng hợp IAA, hòa tan phosphate và sinh tổng hợp enzyme ngoại bào.



Hình 3. Xác định khả năng sinh IAA, cố định nitơ, hòa tan phosphate, phân giải cellulose của vi khuẩn

(A: Khả năng sinh IAA của chủng BT1.1 - IAA trong môi trường phản ứng với thuốc thử Salkowski tạo phức màu hồng; B: Khả năng cố định nitơ của chủng BT1.3 - nitơ phản ứng với thuốc thử Nessler tạo phức màu vàng; C: Khả năng hòa tan phosphate của chủng BT1.1 - tạo vòng phân giải $Ca_3(PO_4)_2$ xung quanh khuẩn lạc; D: Khả năng phân giải cellulose của một số chủng vi khuẩn - chủng có hoạt tính cellulase ngoại bào sẽ có khả năng phân giải cơ chất CMC 1% tạo vùng sáng halo xung quanh khuẩn lạc)

4. KẾT LUẬN

Kết quả thu được từ các thử nghiệm đối kháng và xác định khả năng sinh các chất có lợi cho sinh trưởng của thực vật cho thấy: Các chủng vi khuẩn nội sinh ký hiệu BT1.1, BT1.3 có tiềm năng ứng dụng trong kiểm soát sinh học bệnh do nấm *Fusarium solani* và *Penicillium digitatum* gây ra ở cây Bưởi, có khả năng kích thích sinh trưởng của cây chủ thông qua các chức năng sinh IAA, cố định nitơ, hòa tan phosphate và phân giải cellulose. Bên cạnh đó, có 2 chủng vi khuẩn ký hiệu BL3.3 và BL3.4 cũng có khả năng đối kháng nấm mạnh và có hoạt tính phân giải cellulose cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Afzal I, Shinwari ZK, Sikandar S, Shahzad S (2019). Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiology Research*, 221, 36–49.
2. Choi YW, Hodgkiss IJ, Hyde KD (2005). Enzyme production by endophytes of *Brucea javanica*. *Journal of Agricultural Technology*, 1, 55–66.
3. Costa JH, Bazioli JM, de Moraes Pontes JG, Fill TP (2019). *Penicillium digitatum* infection mechanisms in citrus: What do we know so far?. *Fungal Biology*, 123(8), 584–593.
4. 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), 73–88.
5. Gamalero E, Favale N, Bona E, Novello G, Cesaro P, Nadia assa N, Glick BR, Orozco-Mosqueda MC, Berta G, Lingua G (2020). Screening of bacterial endophytes able to promote plant growth and increase salinity tolerance. *Applied Sciences*, 10(17), 5767.
6. Hallmann J, Quadt A, Mahaffee WF, Kloepper J (2011). Endophytic bacteria in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology*, 43(10), 895–914.
7. Jaqueline MB, João RB, Jonas HC, Daniel YA, João GMP, Katia CK, Fabio A, João EC, Taícia PF (2019). Biological control of *Citrus* postharvest phytopathogens. *Toxins*, 11, 460.
8. Jinyin C, Yuting S, Chuying C, Chunpeng W (2019). Inhibition of key *Citrus* postharvest fungal

strains by plant extracts in vitro and in vivo: A review. *Plants*, 8, 1–19.

9. John R, Mathew L (2017). Endophytic fungal assemblage in *Achyranthes aspera* Linn. revealed by internal transcribed spacer region of nuclear ribosomal RNA genes. *3 Biotech*, 7(2), 109.

10. Khamna S, Yokota A, Lumyong S (2009). Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizospheric soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25, 649–655.

11. Khan MS, Gao J, Chen X, Zhang M, Yang F, Du Y, Moe TS, Munir I, Xue J, Xiuhai Zhang (2020). Isolation and characterization of plant growth-promoting endophytic bacteria *Paenibacillus polymyxa* SK1 from *Lilium lancifolium*. *BioMed Research International*, 1–17.

12. Kusumawati DI, Widawati S, Lisdiyanti P, Sudiana IM (2017). Isolation and screening for IAA production, nitrogen fixation, P-solubilization and cellulolytic activity of plant growth-promoting rhizobacteria from imperata cylindrica grasslands. *Proceedings The 1st SATREPS Conference*, 1(1), 125–133.

13. Malisorn K, Chanchampa S, Kanchanasin P, Tanasupawat S (2020). Identification and plant growth-promoting activities of proteobacteria isolated from root nodules and rhizospheric soils. *Current Applied Science and Technology*, 20 (3), 1–15.

14. Kumar V, Kumar A, Pandey KD, Roy BK (2015). Isolation and characterization of bacterial endophytes from the roots of *Cassia tora* L. *Annals of Microbiology*, 5(3), 1391–1399.

15. Ortiz-Ojeda CP, de Andrade SL, Procópio REL (2020). Antifungal activity of endophytic microorganisms isolated from *Acmella ciliata* (Asteraceae). *Genetics and Molecular Research*, 19(2), 1–14.

16. A, Pandey P, Mehra S, Singh M, Kaushik S (2017). Phenotypic and genotypic characterization of phosphate solubilizing bacteria and their efficiency on the growth of maize. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 15, 379–381.

17. Patten C, Glick B (2002). Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 3795–3801

ANTAGONISTIC AND PLANT GROWTH-PROMOTING EFFECTS OF ENDOPHYTIC BACTERIA ISOLATED FROM POMELO TREES

Nguyen Thi Thu Hang¹, Do Quang Trung², Tran Thi Thoi¹

¹Vietnam National University of Forestry

²Vietnam National University Hanoi

SUMMARY

Endophytic bacteria in plant tissues can provide various benefits to the host plant through their potential to produce bioactive substances. A total of 19 endogenous bacterial strains were isolated from the leaves, stems and roots of pomelo trees. Screening for beneficial bacteria showed that two strains of bacteria with symbols BT1.1 and BT1.3 can antagonize pathogenic fungi and promote the growth of pomelo trees. Bacterial strain BT1.1 had antagonistic value (GI%) of *Fusarium solani* and *Penicillium digitatum* was 31.56% and 29.27%, respectively, yielded 13.12 µg/ml IAA, fixed 3.31 mg/ml nitrogen, phosphate solubility index (SI) of 2.57, and the activity of cellulose-degrading enzymes (IS) of 3.25. Bacteria BT1.3 had an antagonistic value against *Fusarium solani* and *Penicillium digitatum* was 32.44% and 26.42%, respectively, with synthesized 4.91 µg/ml IAA and fixed 4.40 mg/ml nitrogen. SI value of phosphate dissolved reached 2.22, and cellulase activity (IS) was 3.33 for this strain.

Keywords: Antagonistic effect, cellulose degradation, endophytic bacteria, IAA synthesis, nitrogen fixation, phosphate solubility.

Ngày nhận bài : 12/6/2022

Ngày phản biện : 14/7/2022

Ngày quyết định đăng : 27/7/2022