

KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA VI KHUẨN NỘI SINH CÂY LÚA ĐẾN SINH TRƯỞNG CỦA MỘT SỐ GIỐNG LÚA TRỒNG PHỔ BIẾN VÙNG ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG Ở GIAI ĐOẠN MẠ

• Nguyễn Thị Pha^(*), Trần Văn Bé Năm^(*), Trần Đình Giới^(**)

Tóm tắt

Sản xuất lúa ở Đồng bằng sông Cửu Long chủ yếu sử dụng phân bón hóa học làm tăng giá thành sản phẩm và ảnh hưởng xấu đến độ phì của đất. Nghiên cứu đã được thực hiện nhằm đánh giá sự ảnh hưởng của 04 dòng vi khuẩn nội sinh NS01, NS08, NS17 và NS25 có khả năng tổng hợp NH_4^+ và hòa tan lân trong dịch nuôi đến sinh trưởng của các giống lúa IR50404, OM4900 và OM5451 ở giai đoạn mạ. Kết quả cho thấy giống lúa IR50404 chủng với dòng vi khuẩn NS25 cho kết quả tốt nhất ở các chỉ tiêu theo dõi bao gồm hàm lượng diệp lục tố, chiều cao cây, chiều dài rễ, số rễ và khối lượng chất khô. Giải trình tự vùng gen 16S rDNA, xác định được dòng NS25 thuộc chi *Bacillus*.

Từ khóa: Cố định đạm, hòa tan lân, vi khuẩn nội sinh.

1. Đặt vấn đề

Sản xuất lúa ở Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) đóng góp khoảng 56% tổng sản lượng lúa cả nước và hơn 90% cho xuất khẩu. Tuy nhiên, nông dân các tỉnh ĐBSCL thâm canh tăng năng suất lúa chủ yếu do tăng lượng phân bón hóa học và thuốc bảo vệ thực vật. Đây là một trong những nguyên nhân chính dẫn đến sự thoái hóa của đất, giảm hiệu quả sử dụng phân bón. Vi khuẩn nội sinh đã được xác định có khả năng giúp tăng cường sinh trưởng và chuyển hóa các chất trong cây, giúp tăng cường dinh dưỡng của cây bằng nhiều cơ chế trực tiếp hay gián tiếp, bao gồm sự cố định nitơ trong khí quyển, hòa tan lân khó tan [2], [3], [4]. Tuy nhiên, việc ứng dụng vi khuẩn nội sinh trong sản xuất vẫn còn hạn chế vì tính ổn định của các dòng vi khuẩn đối với các giống

lúa còn nhiều biến động và phụ thuộc vào nhiều yếu tố (môi trường, tương tác giữa vi khuẩn và các giống lúa...). Từ những lý do trên nghiên cứu ảnh hưởng của vi khuẩn nội sinh đến sinh trưởng của các giống lúa thực sự cần thiết.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Bốn dòng vi khuẩn nội sinh được phân lập từ ba giống lúa OM4900, OM5451 và IR50404 giai đoạn 1-2 tháng tuổi. Các dòng vi khuẩn này được tuyển chọn có khả năng cố định đạm cao nhất (theo phương pháp so màu Indophenol Blue ở bước sóng 640 nm) [8] và hòa tan lân tốt nhất (theo phương pháp Ascorbic acid ở bước sóng 880 nm) [5] trong tổng số 39 dòng vi khuẩn phân lập [9]. Đặc tính các dòng vi khuẩn tuyển chọn được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Nguồn gốc và đặc tính bốn dòng vi khuẩn nội sinh

STT	Dòng vi khuẩn	Hàm lượng NH_4^+ trong dịch nuôi (mg/l)			Hàm lượng lân hòa tan trong dịch nuôi (mg/l)			Giống lúa phân lập	Địa điểm
		Ngày 2	Ngày 4	Ngày 6	Ngày 5	Ngày 10	Ngày 15		
1	NS01	0,56	1,88	1,14	24,92	69,77	104,73	IR50404	An Giang
2	NS08	0,57	2,08	1,09	18,43	45,47	77,27	IR50404	Đồng Tháp
3	NS17	0,61	1,78	0,91	61,46	71,78	129,94	OM4900	Đồng Tháp
4	NS25	0,63	2,11	1,23	57,06	61,64	74,40	OM5451	Đồng Tháp

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm hai nhân tố được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 3 lần lặp lại với 18 nghiệm thức kết hợp 04 dòng vi khuẩn

(Bảng 2) so sánh với 02 đối chứng (có hoặc không có bổ sung đạm (NH_4NO_3) và lân dễ tiêu ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)) với 03 giống lúa OM4900, OM5451 và IR50404.

^(*) Trường Đại học Cần Thơ.

^(**) Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long.

Bảng 2. Bố trí thí nghiệm khảo sát tương tác giữa vi khuẩn và giống lúa ở điều kiện trong phòng thí nghiệm

STT	Nghiệm thức	Giống lúa	Môi trường Yoshida	Dòng vi khuẩn
1	NT1 (DC-)	IR50404	-N-Pdt+Ca ₃ (PO ₄) ₂	Không chủng vi khuẩn
2	NT2	IR50404	-N-Pdt+Ca ₃ (PO ₄) ₂	Dòng vi khuẩn NS01
3	NT3	IR50404	-N-Pdt+Ca ₃ (PO ₄) ₂	Dòng vi khuẩn NS08
4	NT4	IR50404	-N-Pdt+Ca ₃ (PO ₄) ₂	Dòng vi khuẩn NS17
5	NT5	IR50404	-N-Pdt+Ca ₃ (PO ₄) ₂	Dòng vi khuẩn NS25
6	NT6 (DC+)	IR50404	Có đạm, có lân dt	Không chủng vi khuẩn
7	NT7 (DC-)	OM4900	-N-Pdt+Ca ₃ (PO ₄) ₂	Không chủng vi khuẩn
8	NT8	OM4900	-N-Pdt+Ca ₃ (PO ₄) ₂	Dòng vi khuẩn NS01
9	NT9	OM4900	-N-Pdt+Ca ₃ (PO ₄) ₂	Dòng vi khuẩn NS08
10	NT10	OM4900	-N-Pdt+Ca ₃ (PO ₄) ₂	Dòng vi khuẩn NS17
11	NT11	OM4900	-N-Pdt+Ca ₃ (PO ₄) ₂	Dòng vi khuẩn NS25
12	NT12 (DC+)	OM4900	Có đạm, có lân dt	Không chủng vi khuẩn
13	NT13 (DC-)	OM5451	-N-Pdt+Ca ₃ (PO ₄) ₂	Không chủng vi khuẩn
14	NT14	OM5451	-N-Pdt+Ca ₃ (PO ₄) ₂	Dòng vi khuẩn NS01
15	NT15	OM5451	-N-Pdt+Ca ₃ (PO ₄) ₂	Dòng vi khuẩn NS08
16	NT 16	OM5451	-N-Pdt+Ca ₃ (PO ₄) ₂	Dòng vi khuẩn NS17
17	NT17	OM5451	-N-Pdt+Ca ₃ (PO ₄) ₂	Dòng vi khuẩn NS25
18	NT18 (DC+)	OM5451	Có đạm, có lân dt	Không chủng vi khuẩn

Ghi chú: -N-Pdt+Ca₃(PO₄)₂ là không đạm, không lân để tiêu có bổ sung Ca₃(PO₄)₂.

Cách tiến hành: Hạt lúa nảy mầm được chủng với 04 dòng vi khuẩn trong 2 giờ so sánh với đối chứng chỉ xử lý với nước cất khử trùng. Cây 7 hạt lúa nảy mầm đã chủng vi khuẩn vào mỗi bình tam giác chứa 50 ml môi trường Yoshida [13] không đạm, không lân, có bổ sung 5 g/l Ca₃(PO₄)₂ và 2% agar làm giá thể, so sánh với các đối chứng không chủng vi khuẩn cấy trong môi trường Yoshida có hoặc không có đạm và lân để tiêu. Để các bình nuôi cấy dưới đèn đèn trong 20 ngày (chu kỳ sáng/tối: 16 giờ sáng/8 giờ tối). Các chỉ tiêu theo dõi: Chiều cao cây, chiều dài rễ (cm), số rễ, khối lượng khô cây mạ sau khi đã sấy khô ở 60°C trong 24 giờ (mg/cây) và hàm lượng diệp lục tố/trọng lượng tươi được xác định bằng phương pháp so màu của Ben và cộng tác viên (1980) trên máy quang phổ ở các bước sóng khác nhau: chlorophyll a (OD663 nm), chlorophyll b (645 nm) và carotenoid (440,5 nm) [1]. Số liệu được phân tích thống kê bằng phần mềm Statgraphics phiên bản 16.1.18.

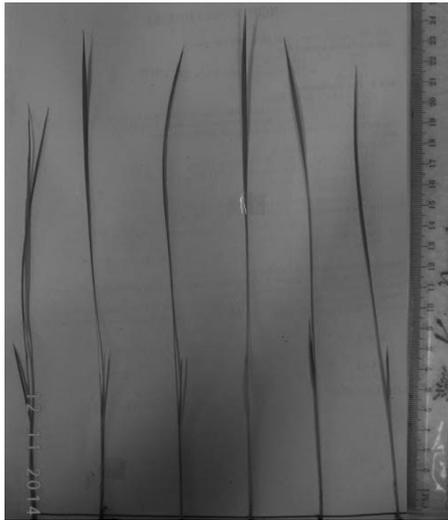
Sản phẩm PCR vùng 16S rDNA của dòng vi khuẩn có hiệu quả cố định đạm và hòa tan lân tốt nhất là NS25 được giải trình tự tại Công

ty trách nhiệm hữu hạn - một thành viên Sinh hóa phù sa sử dụng cặp mồi 27F và 1495R của Weisberg và cộng tác viên (1991) [11]. Kết quả giải trình tự vùng gen 16S rDNA được so sánh trình tự với GenBank đã công bố trên ngân hàng dữ liệu NCBI bằng công cụ BLASTN dựa trên mức độ tương đồng với các chuỗi trình tự có sẵn trên cơ sở dữ liệu.

3. Kết quả và thảo luận

Kết quả quan sát các chỉ tiêu chiều cao cây, chiều dài rễ, số rễ, khối lượng chất khô được tổng hợp trong các Bảng 3 và Bảng 4.

Chiều cao cây lúa: Trung bình chiều cao của cây lúa do ảnh hưởng của các dòng vi khuẩn và kiểu gen của các giống lúa đều có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1%. Giống IR50404 có chiều cao cây cao nhất (25,04 cm) khác biệt có ý nghĩa với các giống lúa OM5451 (21,64 cm) và OM4900 (Bảng 3). Chiều cao trung bình do ảnh hưởng của các dòng vi khuẩn (22,87-23,96 cm) đều khác biệt không có ý nghĩa với DC+ (24,31 cm) nhưng khác biệt có ý nghĩa với DC- (20,09 cm, Bảng 3 và Hình 1).



DC- DC+ NS25 NS17 NS08 NS01

Hình 1. Ảnh hưởng của các dòng vi khuẩn lên chiều cao giống lúa OM4900 ở giai đoạn 20 ngày tuổi

Chiều dài rễ: Chiều dài rễ trung bình do ảnh hưởng của kiểu gen các giống lúa cũng như tương tác giữa các giống lúa với các dòng vi khuẩn là khác biệt có ý nghĩa ở mức 1% nhưng không có sự khác biệt về chiều dài rễ do ảnh hưởng của các dòng vi khuẩn (Bảng 3 và Bảng 4). Chiều dài rễ trung bình của giống lúa IR50404 là dài nhất (9,11 cm) khác biệt có ý nghĩa với giống OM4900 (7,69 cm) nhưng không khác biệt với giống OM5451 (8,91 cm).

Bảng 3. Ảnh hưởng của bốn dòng vi khuẩn đến các đặc tính ba giống lúa

STT	Giống lúa/dòng VK	Cao cây (cm)	Dài rễ (cm)	Số rễ	KL khô (mg)
1	IR50404	25,04 ^a	9,11 ^a	8,0 ^a	41,13
2	OM4900	22,45 ^b	7,69 ^b	7,1 ^c	36,18
3	OM5451	21,64 ^b	8,91 ^a	7,6 ^b	39,36
	F (giống)	22,29 ^{**}	17,30 ^{**}	14,60 ^{**}	2,65 ^{ns}
4	NS01	23,48 ^a	8,53	7,8 ^a	36,90 ^{bc}
5	NS08	23,54 ^a	8,30	8,0 ^a	40,56 ^{ab}
6	NS17	22,87 ^a	8,39	7,4 ^a	39,44 ^{abc}
7	NS25	23,96 ^a	9,00	8,0 ^a	38,88 ^{abc}
8	DC+	24,31 ^a	8,98	7,9 ^a	44,01 ^a
9	DC-	20,09 ^b	8,35	7,0 ^b	33,54 ^c
	F (vi khuẩn)	8,24 ^{**}	1,43 ^{ns}	15,91 ^{**}	2,61 [*]

Ghi chú: Trong cùng một cột hay một hàng các giá trị có các ký tự giống nhau biểu thị sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% qua phép thử LSD; *: khác biệt mức ý nghĩa 5%; **: khác biệt mức ý nghĩa 1%; ns: không khác biệt; VK: vi khuẩn; KL: khối lượng.

Kết quả Bảng 4 cho thấy nghiệm thức NS25-IR50404 có chiều dài rễ trung bình dài nhất (10,33 cm) (Hình 2) cao hơn khác biệt có ý nghĩa với hầu

hết các nghiệm thức còn lại kể cả IR50404-DC+ (7,72 cm) và IR50404-DC- (8,89 mm). Các nghiệm thức OM5451-NS08, OM5451-NS17, IR50404-NS17 và IR50404-NS01 có chiều dài rễ trung bình (9,01-9,50 cm) khác biệt không có ý nghĩa với các DC+ của giống OM4900 (10,12 cm) và OM5451 (9,01 cm). Khi xét về nguồn gốc, dòng vi khuẩn NS25 được phân lập từ giống lúa OM5451 nhưng lại cho tương tác tốt nhất với giống lúa IR50404, dòng NS08 được phân lập từ giống IR50404 nhưng lại cho tương tác tốt nhất với giống OM5451, dòng NS17 được phân lập từ giống OM4900 lại tương tác tốt nhất với giống OM5451, chỉ có dòng NS01 được phân lập từ giống IR50404 là cho tương tác tốt nhất với giống IR50404 ở chỉ tiêu chiều dài rễ.

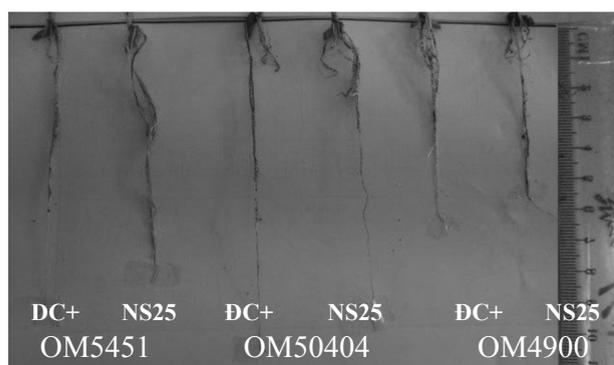
Số rễ: Trung bình số rễ do ảnh hưởng của các dòng vi khuẩn, kiểu gen của các giống lúa và tương tác của các dòng vi khuẩn với các giống lúa đều khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1% (Bảng 3 và Bảng 4). Giống lúa IR50404 có số rễ cao nhất (8,0 rễ/cây) khác biệt có ý nghĩa với các giống lúa OM4900 (7,1 rễ/cây) và OM5451 (7,6 rễ/cây). Các dòng vi khuẩn đều làm cho số rễ/cây của các giống lúa (7,4-8,0 rễ/cây) khác biệt không có ý nghĩa so với DC+ không chủng vi khuẩn cung cấp đầy đủ đạm và lân (7,9 rễ/cây) và khác biệt với DC- không chủng vi khuẩn không có đạm và lân dễ tiêu trong môi trường

nuôi cấy Yoshida (7,0 rễ/cây). Kết quả phân hạng Bảng 4 cho thấy, các nghiệm thức chủng dòng vi khuẩn NS25 vào giống lúa IR50404 có số rễ trung bình nhiều nhất (8,7 rễ/cây) khác biệt không ý nghĩa so với IR50404-DC+ (8,7 rễ/cây) nhưng nhiều hơn và khác biệt có ý nghĩa so với tất cả các đối chứng còn lại của các giống lúa (5,3-7,7 rễ/cây). Nghiệm thức IR50404-NS08 cho số rễ (8,2 rễ/cây) khác biệt không có ý nghĩa với các DC+ (7,4-8,7 rễ/cây) và nhiều hơn, khác biệt có ý nghĩa với cả 3 DC- của 3 giống lúa (5,3-7,1 rễ/cây).

Bảng 4. Ảnh hưởng tương tác của các dòng vi khuẩn và các giống lúa đến chiều dài rễ và số rễ

STT	Nghiệm thức	Chiều dài rễ trung bình (cm)	Số rễ trung bình
1	IR50404-NS25	10,33 ^a	8,7 ^a
2	OM4900-DC+	10,12 ^{ab}	7,7 ^{bcd}
3	OM5451-NS08	9,50 ^{abc}	7,6 ^{bcd}
4	OM5451-NS17	9,20 ^{abc}	7,7 ^{bcd}
5	IR50404-NS17	9,11 ^{abc}	7,9 ^{abcd}
6	IR50404-NS01	9,01 ^{abcd}	8,1 ^{abc}
7	OM5451-DC-	9,01 ^{abcd}	7,1 ^{def}
8	OM5451-DC+	9,01 ^{abcd}	7,4 ^{bcd}
9	OM5451-NS01	8,94 ^{bcd}	8,0 ^{abc}
10	IR50404-DC-	8,89 ^{bcd}	6,4 ^f
11	OM5451-NS25	8,89 ^{bcd}	7,9 ^{abcd}
12	IR50404-NS08	8,72 ^{cdef}	8,2 ^{ab}
13	OM4900-NS25	7,78 ^{defg}	7,4 ^{bcd}
14	IR50404-DC+	7,72 ^{efg}	8,7 ^a
15	OM4900-NS01	7,56 ^{fg}	7,3 ^{cde}
16	OM4900-DC-	7,11 ^g	5,3 ^g
17	OM4900-NS17	6,87 ^g	6,8 ^{def}
18	OM4900-NS08	6,67 ^g	8,1 ^{abc}
F (tương tác)		4,92 ^{**}	2,63 ^{**}

Ghi chú: Xem Bảng 3.



Hình 2. Ảnh hưởng của các dòng vi khuẩn NS25 lên chiều dài rễ các giống lúa OM5451, OM50404, OM4900 ở giai đoạn 20 ngày tuổi

Khối lượng chất khô: Khối lượng chất khô trung bình có sự khác biệt giữa các dòng vi khuẩn ở mức ý nghĩa 5% nhưng không có ý nghĩa giữa các giống lúa và tương tác của các giống lúa với các dòng vi khuẩn (Bảng 3). Khối lượng chất khô cao nhất có được ở DC+ (44,01 mg), khác biệt có ý nghĩa với DC- (33,54 mg) và chủng dòng vi khuẩn NS01 (36,9 mg) nhưng không có ý nghĩa

với các nghiệm thức có chủng các dòng vi khuẩn NS08, NS17 và NS25 (38,88-40,56 mg). Tuy nhiên khi so sánh với DC- thì chỉ có dòng vi khuẩn NS08 là tạo được sự khác biệt có ý nghĩa về khối lượng chất khô của cây lúa ở giai đoạn 20 ngày tuổi.

Thành phần diệp lục tố: hàm lượng chlorophyll a, chlorophyll b và carotenoid được xác định do ảnh hưởng của các dòng vi khuẩn, ảnh hưởng của kiểu gen các giống lúa và tương tác giữa các dòng vi khuẩn với các giống lúa đều có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (Bảng 5 và Bảng 6).

Kết quả Bảng 5 cho thấy, giống lúa IR50404 có hàm lượng chlorophyll a, chlorophyll b và carotenoid cao nhất (lần lượt là 0,21; 0,14 và 0,14 mg/g), khác biệt có ý nghĩa thống kê với các giống lúa OM4900 (0,12; 0,07 và 0,09 mg/g) và OM5451 (0,13; 0,07 và 0,08 mg/g). Các dòng vi khuẩn đều cho hàm lượng chlorophyll a và chlorophyll b cao (0,15-0,17 và 0,08-0,09 mg/g),

khác biệt không có ý nghĩa với DC+ (0,20 và 0,12 mg/g), nhưng chỉ có dòng NS25 là cho hàm lượng chlorophyll a (0,17 mg/g) khác biệt có ý nghĩa với DC- (0,11 mg/g). Hàm lượng carotenoid khác biệt không có ý nghĩa với DC-. Chlorophyll a đóng vai trò quan trọng nhất và có hàm lượng cao hơn so với chlorophyll b và carotenoid. Ở tất cả các nghiệm thức giống lúa IR50404 có chủng các dòng vi khuẩn đều cho hàm lượng chlorophyll a, chlorophyll b và carotenoid cao hơn, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các đối chứng không chủng vi khuẩn, chỉ thấp hơn đối chứng dương của giống IR50404 cung cấp đầy đủ đạm và lân về hàm lượng chlorophyll b và carotenoid. Trong đó nghiệm thức IR50404-NS25 có hàm lượng chlorophyll a, chlorophyll b và carotenoid cao nhất (0,26; 0,15 và 0,15 mg/g). Kết quả này cho thấy các nghiệm thức chủng vi khuẩn có hiệu quả trong việc tổng hợp chlorophyll a, chlorophyll b và carotenoid ở giống lúa IR50404 trong giai đoạn mạ.

Bảng 5. Ảnh hưởng của các dòng vi khuẩn đến thành phần diệp lục tố của các giống lúa (Đơn vị: mg/g)

STT	Giống lúa/ dòng VK	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Carotenoid
1	IR50404	0,21 ^a	0,14 ^a	0,14 ^a
2	OM4900	0,12 ^b	0,07 ^b	0,09 ^b
3	OM5451	0,13 ^b	0,07 ^b	0,08 ^b
	F (giống)	81,26 ^{**}	74,77 ^{**}	49,56 ^{**}
4	NS01	0,15 ^{ab}	0,08 ^{ab}	0,09 ^b
5	NS08	0,15 ^{ab}	0,08 ^{ab}	0,09 ^b
6	NS17	0,15 ^{ab}	0,09 ^{ab}	0,10 ^b
7	NS25	0,17 ^a	0,09 ^{ab}	0,10 ^b
8	DC+	0,20 ^a	0,12 ^a	0,16 ^a
9	DC-	0,11 ^b	0,08 ^b	0,1 ^b
	F (vi khuẩn)	7,33 ^{**}	5,69 ^{**}	15,38 ^{**}

Ghi chú: Xem Bảng 3.

Bảng 6. Ảnh hưởng tương tác của các dòng vi khuẩn và các giống lúa đến thành phần diệp lục tố (Đơn vị: mg/g)

STT	Nghiệm thức	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Carotenoid
1	IR50404-DC +	0,28 ^a	0,20 ^a	0,19 ^a
2	IR50404-NS25	0,26 ^{ab}	0,15 ^b	0,15 ^{bc}
3	IR50404-NS01	0,22 ^{bc}	0,13 ^{bc}	0,13 ^{cd}
4	IR50404-NS17	0,19 ^{cd}	0,11 ^{cd}	0,13 ^{cd}
5	IR50404-NS08	0,18 ^{cde}	0,09 ^{de}	0,10 ^{de}
6	OM5451-DC +	0,17 ^{def}	0,08 ^{efg}	0,10 ^{de}
7	IR50404-DC -	0,16 ^{defg}	0,15 ^b	0,15 ^{bc}
8	OM4900-NS08	0,15 ^{defgh}	0,09 ^{de}	0,09 ^{ef}
9	OM4900-DC+	0,15 ^{efgh}	0,08 ^{def}	0,18 ^{abbc}
10	OM5451-NS25	0,14 ^{efgh}	0,08 ^{efg}	0,09 ^{ef}
11	OM5451-NS17	0,13 ^{fgh}	0,07 ^{efg}	0,09 ^{ef}
12	OM4900-NS25	0,13 ^{fgh}	0,08 ^{efg}	0,07 ^{ef}
13	OM5451-NS08	0,13 ^{fgh}	0,07 ^{efg}	0,08 ^{ef}
14	OM5451-NS01	0,12 ^{gh}	0,06 ^{efgh}	0,07 ^{ef}
15	OM4900-NS17	0,12 ^{gh}	0,05 ^{gh}	0,07 ^{ef}
16	OM4900-NS01	0,11 ^{hi}	0,06 ^{efgh}	0,06 ^g
17	OM5451-DC-	0,10 ^{hi}	0,06 ^{efgh}	0,07 ^{ef}
18	OM4900-DC-	0,06 ⁱ	0,04 ^h	0,07 ^{ef}
	F (tương tác)	2,57 [*]	5,06 ^{**}	3,41 ^{**}

Ghi chú: Trong cùng một cột các giá trị có các ký tự giống nhau biểu thị sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5% qua phép thử LSD; *: khác biệt mức ý nghĩa 5%; **: khác biệt mức ý nghĩa 1%.

Qua kết quả khảo sát các chỉ tiêu cho thấy tổ hợp cho tương tác tốt nhất giữa các giống lúa và các dòng vi khuẩn là giống lúa IR50404 chủng dòng vi khuẩn NS25 (phân lập từ giống OM5451). Thêm

vào đó, giống lúa IR50404 còn tương tác tốt với cả 3 dòng vi khuẩn còn lại (NS01, NS08 và NS17). Kết quả này phần nào giải thích khả năng sinh trưởng tốt của giống lúa này ở điều kiện đồng ruộng - một trong những nguyên nhân chính dẫn đến việc giống IR50404 được nông dân ưa thích hiện nay.

Định danh dòng vi khuẩn NS25

Dòng vi khuẩn NS25 có hiệu quả cố định đạm và hòa tan lân tốt nhất cũng như ảnh hưởng tốt nhất trên sinh trưởng của các giống lúa được giải trình tự vùng 16S rDNA và so sánh với dữ liệu GenBank trên NCBI bằng công cụ BLASTN (Hình 3).

Sau khi so sánh trình tự của chủng vi khuẩn NS25 với trình tự trên cơ sở dữ liệu GenBank trên NCBI bằng công cụ BLASTN. Kết quả cho thấy, trình tự gen của dòng vi khuẩn NS25 cho kết quả tương đồng 97% với một số loài thuộc chi *Bacillus* (như: *B. subtilis*, *B. tequilensis*).

Bacillus là một trong những vi sinh vật đầu tiên được phát hiện và mô tả trong giai đoạn đầu của tiến trình phát triển ngành vi sinh vật học ở cuối thế kỷ 19. Đây là một chi lớn với gần 200 loài vi khuẩn hiếu khí, hình que, có khả năng sinh nội bào tử để chống chịu các điều kiện bất thường của môi trường sống.

B. subtilis được tìm thấy tự do trong đất hoặc nội sinh trong thực vật [7]. *B. subtilis* có khả năng tạo bào tử để chống chịu với môi trường khắc nghiệt. *B. subtilis* được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực như thực phẩm, y dược, môi trường và nông nghiệp... *B. subtilis* có khả năng hỗ trợ tăng trưởng thực vật thông qua việc nó đóng vai trò cung cấp chất dinh dưỡng thông qua các chu trình carbon và chu trình nitơ. *B. subtilis* được phân lập trong rễ lúa, được chứng minh có khả năng cố định nitơ trong không khí. *B. subtilis* đã được phân lập trong đất lúa tại ĐBSCL [12].

B. tequilensis là vi khuẩn được tìm thấy trong đất, có khả năng hòa tan lân và sinh tổng hợp IAA cho cây tiêu, kích thích dài rễ (*Piper nigrum*. L)

[10]. Ngoài ra, *B. tequilensis* còn tìm thấy trong mô tế bào cây *Agave tequila* [6], cho khả năng cố định đạm.

Trong nghiên cứu này dòng vi khuẩn NS25 là vi khuẩn nội sinh được phân lập từ giống lúa OM5451 tại huyện Hồng Ngự tỉnh Đồng Tháp, với các đặc tính có khả năng cố định đạm, hòa tan

lân và kích thích sinh trưởng cây lúa. Dựa trên các kết quả so sánh trình tự vùng gen 16S rDNA trong nghiên cứu này, kết hợp với một số đặc điểm hình thái và sinh lý (hình que, Gram dương, hiếu khí và sinh nội bào tử) được xác định qua các nghiên cứu trước đây có thể kết luận dòng vi khuẩn NS25 thuộc chi *Bacillus*.

```

ACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGG
ACGGGTGASTAACACGTGGGTAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAA
ACCGGGGCTAATACCGGATGGTTGTTTGAACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTG
GCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTA
AYGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACAC
TGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCC
GCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGG
ATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTCGAATAGGGCGGTACC
TTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTA
ATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGC
GGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAA
ACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAA
ATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAA
CTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAG
TCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCTTAGTGCT
GCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACRGTCGRAGACTGAAACTC
AAGGAATTGACGGGGGCGSCGCACAAGCKGTGGAGCATGTGGTTTAATTGGAAGC
ARCGCAAGAAYCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGAYAATCCTAGAGATAGGAC
GTCCCTTCGGGGGGGCGAGAGTGACAGGTGGTKGCATGGGTTGTTTCGTTTCAGCTT
CGTGTGRTGAGATTGTTTGGGGTTTAAGTACACGCWACGAAGCGCACCCCTTGATC
CTTAGCTGGCCAAGCATTTCAGTTGGG

```

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 6

[Alignments](#) [Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#)

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus subtilis strain Tc1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1893	1893	100%	0.0	97%	GU391355.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus subtilis subsp. inaquosorum strain CCMMB999 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1892	1892	100%	0.0	97%	KF879309.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus subtilis strain WJ-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1892	1892	99%	0.0	97%	JX673943.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus subtilis strain XJGY8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1890	1890	100%	0.0	97%	KR708932.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus tequilensis strain L2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1890	1890	100%	0.0	97%	KX588160.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus tequilensis strain MA-67 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1890	1890	100%	0.0	97%	KX426667.1

Hình 3. Kết quả so sánh trình tự vùng 16S rDNA của dòng NS25 trên GenBank

4. Kết luận và đề nghị

4.1. Kết luận

Dòng vi khuẩn NS25 cho tương tác tốt nhất với giống lúa IR50404, giống lúa này còn cho tương

tác tốt với cả ba dòng vi khuẩn còn lại là NS01, NS08 và NS17 ở giai đoạn mạ. Dòng vi khuẩn NS25 có mức tương đồng 97% với loài vi khuẩn *Bacillus subtilis* khi so sánh trình tự 16S rDNA.

4.2. Đề nghị

Lập lại khảo sát tương tác của dòng NS25

với giống lúa IR50404 ở nhà lưới và ngoài ruộng. Nghiên cứu thêm về các chất tiết từ rễ của giống lúa IR50404, làm cơ sở trong chọn giống lúa có khả năng thu hút vi khuẩn có ích. Kết hợp thêm các phản ứng sinh hóa để định danh chính xác dòng NS25 trước khi đưa vào ứng dụng./.

Tài liệu tham khảo

- [1]. Ben J., C. Wolf, and W. Rudiger (1980), "Chlorophyll biosynthesis hydrogenation of genanyl genaniol", *Plant Sci Lett*, (19), p. 225-230
- [2]. Lăng Ngọc Đậu, Nguyễn Thị Xuân Mỹ và Cao Ngọc Diệp (2007), Khả năng cố định đạm và hòa tan lân và sinh tổng hợp IAA vi khuẩn *Azospirillum lipoferum*, *Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong Khoa học Sự sống*, tr. 245-251.
- [3]. Hallmann J., A. Quadt-Hallmann, W. F. Mahaffee and J. W. Kloepper (1997), "Bacterial endophytes in agricultural crops", *Can. J. Microbiol*, (43), p. 895-914.
- [4]. Hongrittipun P., S. Youpensuk and B. Rerkasem (2014), "Screening of Nitrogen Fixing Endophytic Bacteria in *Oryza sativa L.*", *Journal of Agricultural Science*, (60), p. 66-74.
- [5]. Kaushik B. D., A. K. Saxena and R. Prasanna (2004), *Techniques in Microbiology, A Laboratory Manual for Post Graduate students*, Publs. Director IARI.
- [6]. Martínez-Rodríguez, J. C., M. De la Mora-Amutio, L. A. Plascencia-Correa, E. Audelo-Regalado, F. R. Guardado, E. Hernández-Sánchez, Y. J. Peña-Ramírez, A. Escalante, M. J. Beltrán-García and T. Ogura (2015), "Cultivable endophytic bacteria from leaf bases of *Agave tequilana* and their role as plant growth promoters", *Braz J Microbiol*, (4), p. 1333-1339.
- [7]. Natalia, M., F. Kamilova, S. Validov, A. Shcherbakov, V. Chebotar, I. Tikhonovich, and B. Lugtenberg (2011), "Characterization of *Bacillus subtilis* HC8, a novel plant-beneficial endophytic strain from giant hogweed", *Microb Biotechnol*, (4), p. 523-532.
- [8]. Page, L., R. H. Miller and R. D. Keeney (1982), *Methods for Soils Analysis, Part 2, Chemical and Microbial properties, 2nd edition*, American Society of Agronomy Incorporation, 677 South Segoe Road, Madison, Wisconsin 53711 USA.
- [9]. Nguyễn Thị Pha (2015), *Khảo sát tương tác giữa vi khuẩn nội sinh cây lúa và một số giống lúa trồng phổ biến vùng Đồng bằng sông Cửu Long*, Báo cáo tổng kết đề tài nghiên cứu khoa học cấp Trường, Trường Đại học Cần Thơ.
- [10]. Syed G. D., Deepa C. K., and A. Pandey (2011), "Growth enhancement of black pepper (*Piper nigrum L.*) by a newly isolated *Bacillus tequilensis* NII-0943", *Biologia*, (5), p. 801-806
- [11]. Weisberg, W. G., S. M. Barns, B. A. Pelletier and D. J. Lane (1991), "16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study", *Journal Bacteriol*, (173), p. 697-703.
- [12]. Xuan, L. N. T., T. V. Dung, N. N. Hung, C. N. Diep (2016), "Isolation and characterization of rhizospheric bacteria in rice (*Oryza sativa L.*) cultivated on acid sulphate soils of the Mekong Delta, Vietnam", *World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, (5), p. 343-358.
- [13]. Yoshida, S., D. Forno, J. Cock and K. Gomez (1976), *Laboratory manual for physiological studies of rice*, The international rice research institute, p. 62-64.

INVESTIGATING THE EFFECT OF RICE ENDOPHYTIC BACTERIA ON SOME COMMON RICE VARIETIES CUTIVATED IN THE MEKONG DELTA REGION AT THEIR VEGETATIVE PHASE

Summary

Rice production in the Mekong Delta mainly uses chemical fertilizers, which increases the production cost and decreases the soil fertile. This research surveyed the effect of 4 endophytic bacterial strains NS01, NS08, NS17 and NS25 with their ability of NH_4^+ collected and phosphorus solution on the growth of rice varieties IR50404, OM4900 và OM5451 at their vegetative phase. It shows that IR50404 rice variety combined with NS25 bacterial strain get the best results regarding chlorophyll content, plant height, root length, number of root and dried matter weight. On analyzing the 16S rDNA region, NS25 strain is found to belong to *Bacillus* genus.

Keywords: Biological nitrogen fixation, phosphorus solution, endophytic bacteria.

Ngày nhận bài: 28/02/2017; Ngày nhận lại: 04/7/2017; Ngày duyệt đăng: 29/9/2017.