

Đặc điểm sinh học của các chủng *Rhizobium* phân lập từ nốt rễ cây đậu tương tại Hà Nội, Việt Nam

Nguyễn Thị Minh Thu¹, Nguyễn Quang Hùng², Nguyễn Kiều Băng Tâm²,
Nguyễn Văn Hiếu¹, Nguyễn Thị Hồng Liên¹, Phan Thị Hồng Thảo^{1,*}

¹Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Khoa Môi trường, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN,
334 Nguyễn Trãi, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 29 tháng 9 năm 2017

Chỉnh sửa ngày 08 tháng 11 năm 2017; Chấp nhận đăng ngày 16 tháng 11 năm 2017

Tóm tắt: Cây đậu tương là cây trồng có giá trị kinh tế cao được trồng phổ biến tại Việt Nam và nhiều nước trên thế giới. Cây đậu tương có khả năng cố định đạm nhờ nhiều loại vi sinh vật khác nhau trong tự nhiên. Trong đó, vi sinh vật cộng sinh *Rhizobium* đóng vai trò quan trọng trong quá trình cố định đạm và tạo nốt sần trên cây họ đậu. Trong nghiên cứu này, 10 chủng vi khuẩn từ nốt rễ của cây đậu tương tại Hà Nội, Việt Nam đã được phân lập và nghiên cứu các đặc điểm sinh lý, sinh hóa. Trong số 10 chủng vi khuẩn nốt rễ phân lập được, vi khuẩn T14 có khả năng sinh trưởng nhanh và có các đặc điểm sinh học khớp với mô tả của các loài *Rhizobium*. Bên cạnh đó trình tự gen 16S rDNA của vi khuẩn T14 có độ tương đồng 99% so với các loài *Sinorhizobium fredii* nên vi khuẩn này được đặt tên là *Sinorhizobium fredii* T14. *Sinorhizobium fredii* T14 phát triển tốt ở giải pH 6 ÷ 9 và nhiệt độ 24 ÷ 42°C; sinh trưởng được ở nồng độ muối ≤ 2,5%, không phát huỳnh quang và không phân giải gelatine. Trên môi trường nuôi cấy lỏng T14 có khả năng chuyển hóa mạnh nitrat thành nitrit.

Từ khóa: 16S rDNA, Cây đậu tương, *Rhizobium*, *Sinorhizobium fredii* T14, Cố định nitơ, nốt sần.

1. Mở đầu

Cây đậu tương là cây trồng ngắn ngày có giá trị kinh tế cao, là một trong bốn nguồn cung cấp thực phẩm chính, làm nguyên liệu cho công nghiệp, thức ăn cho gia súc và đặc biệt có vai trò trong cải tạo đất [1]. Cây đậu tương có khả năng cố định đạm nhờ các loại vi sinh vật khác nhau, trong đó cố định nitơ cộng sinh giữa vi khuẩn nốt sần (*Rhizobium*) và cây họ đậu là quan trọng nhất, ước tính đạt trên 80 triệu tấn

mỗi năm, tương đương với lượng phân đạm vô cơ trên toàn thế giới sản xuất năm 1990 [2]. Sự gia tăng nhu cầu đối với năng suất cây trồng dẫn đến việc sử dụng nhiều và đa dạng các loại phân bón hóa học, gây nguy cơ ô nhiễm môi trường đất. Để giảm thiểu lượng phân bón hóa học nói chung và phân đạm hóa học nói riêng, vi khuẩn gram âm *Rhizobium* đã được sử dụng rộng rãi trong nông nghiệp để nâng cao khả năng cố định nitơ của cây họ đậu và cải tạo đất [3]. Các yếu tố môi trường lý tưởng như pH, nhiệt độ và độ mặn,... đóng một vai trò quan trọng trong quá trình cố định nitơ cộng sinh giữa *Rhizobium* và cây họ đậu. Nốt sần của các

* Tác giả liên hệ: ĐT: 84-916329586.

Email: pthongthao@ibt.ac.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1094/vnuees.4154>

cây họ đậu có khả năng cố định nitơ, góp phần vào quá trình tái trồng rừng và kiểm soát sự xói mòn đất [4, 5]. Vi khuẩn *Rhizobium* đóng vai trò trung tâm trong việc cung cấp nitơ cho hệ sinh thái, lượng nitơ được cố định trong đất là kết quả của mối quan hệ mật thiết giữa vi khuẩn nốt sần và cây chủ, nâng cao vai trò của phân bón sinh học trong các hoạt động nông nghiệp, mang lại năng suất cây trồng cao hơn và đồng thời giúp khôi phục môi trường [6-8]. Trong bài báo này, đặc điểm nuôi cấy và sinh học của các chủng *Rhizobium sp.* phân lập từ rễ cây đậu tương tại Hà Nội, Việt Nam đã được xác định. Trong đó chủng T14 thuộc loài *Rhizobium* mọc nhanh được nghiên cứu sâu về đặc điểm sinh học và phân loại nhằm sử dụng cho việc nghiên cứu tạo phân bón sinh học cho đất trong tương lai.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu: Nốt sần rễ cây đậu tương thu thập tại xã Vĩnh Quỳnh - Thanh Trì, Hà Nội, Việt Nam.

Phương pháp nghiên cứu

Phân lập vi khuẩn *Rhizobium*: Các nốt sần được khử trùng bề mặt bằng Etanol 70% trong 30 giây và NaClO trong 30 giây, sau đó rửa 3 lần bằng nước cất vô trùng. Các nốt được nghiền trong nước cất vô trùng và trang trên môi trường YEMA bổ sung congo đỏ (YEMA-CR) [6, 8]. Sau khi ủ trong 2-5 ngày ở nhiệt độ 28°C, các khuẩn lạc đơn đã được chọn và làm sạch trên môi trường YEMA-CR.

Đặc điểm sinh học: Hình thái khuẩn lạc của các chủng *Rhizobium sp.* được kiểm tra trên môi trường YEMA-CR và kiểm tra khả năng sinh trưởng nhanh hay chậm bằng thử nghiệm Bromothymol Blue theo Vincent (1970) [6]. Phản ứng nhuộm Gram được thực hiện theo Somasegaran và Hoben (1994) [8].

Một số thử nghiệm để phân biệt *Rhizobium sp.* với các vi khuẩn khác trên môi trường đặc hiệu: nuôi cấy trên môi trường Glucose Peptone Agar (GPA); môi trường kiểm cao Hofer; Keto-lactose và đánh giá khả năng chuyển hóa nitrate thành nitrite được tiến hành theo Bhatt

và cộng sự (2013) [9] và đánh giá khả năng phân hủy gelatin theo Singh và cộng sự (2008) [10].

Đánh giá khả năng sử dụng nguồn cacbon: Chủng T14 được nuôi cấy trên môi trường YEMA thay nguồn đường D-manitol bằng các nguồn tương ứng: D-glucose, L-arabinose, D-xylose, D-manitol, D-fructose, D-cellulose và sucrose. Kiểm tra khả năng sinh trưởng sau 3 ngày ở nhiệt độ 28°C. Môi trường có D-manitol được coi là đối chứng dương, môi trường không có đường là đối chứng âm.

Xác định khả năng chịu muối, khoảng pH và nhiệt độ phát triển: Chủng T14 được nuôi cấy trên các môi trường YEM có chứa các nồng độ muối khác nhau từ 0 đến 10% (w/v) ở 28°C trong 72 giờ kiểm tra sự sinh trưởng [11]. Chủng T14 được nuôi cấy trên các môi trường YEM có pH khác nhau (pH 3,0 đến 10,0) và nuôi lắc 200 vòng/phút, ở 28°C trong 48 giờ sau đó kiểm tra sự sinh trưởng [12]. Vi khuẩn T14 được nuôi cấy trên môi trường YEMA ở các nhiệt độ 24°C, 28°C, 30°C, 37°C, 45°C và 55°C theo dõi sự phát triển sau 5 ngày.

Thử khả năng phát huỳnh quang: vi khuẩn kiểm tra được nuôi trên môi trường King (2 g/L pepton, 1,5 g/L MgSO₄, 1,5 g/L K₂HPO₄, 10 mL/L glycerol, 20 g/L agar, pH 7) sau 48 giờ nuôi cấy, theo dõi khả năng phát huỳnh quang dưới ánh sáng UV.

Tách chiết DNA tổng số và phân tích trình tự gene 16S rDNA: Phương pháp tách chiết DNA tổng số được tiến hành theo Sambrook và Russell [13]. Gen mã hóa 16S rRNA của chủng vi khuẩn được khuếch đại bằng phản ứng PCR từ DNA tổng số bằng cặp mồi 27f (5'-TAACACATGCAAGTCAACG-3') và 1492r (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') theo chu trình nhiệt: 94°C trong 5 phút, 30 chu trình (94°C trong 60 giây, 60°C trong 60 giây, 72°C trong 90 giây), 72°C trong 10 phút, giữ mẫu ở 4°C. Mức độ tương đồng gen 16S rDNA được phân tích dựa trên dữ liệu Ngân hàng gen của NCBI. Độ tương đồng về trình tự được xác định và so sánh với các trình tự khác được so sánh trên ngân hàng GenBank bằng BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov).

3. Kết quả

Trên môi trường phân lập, các chủng vi khuẩn nốt rễ *Rhizobium* được phân biệt với các loài vi sinh vật khác bằng khả năng không hấp thụ congo đỏ, khuẩn lạc có màu trắng sữa, tròn, dính và có tạo chất nhầy ở các cấp độ khác nhau, các khuẩn lạc điển hình sau 3 - 7 ngày có kích thước khoảng 1-7 mm [8, 14]. Dựa trên các đặc điểm nhận biết trên chúng tôi phân lập được 10 chủng vi khuẩn bước đầu được dự đoán là vi khuẩn *Rhizobium* (T3, T9, T9x, T10, T11, T14, T15, T23, T29 và T30), tất cả các chủng thu được đều là vi khuẩn Gram (-), hình que. Các chủng vi khuẩn phân lập được nghiên cứu một số đặc điểm hình thái và sinh hóa trên môi trường kiểm Hofer, môi trường YEM có chứa Bromothymol Blue (YEM-BTB) và thử nghiệm keto-lactose để phân biệt *Rhizobium* với các loài vi khuẩn nhiễm khác và được trình bày cụ thể trên Bảng 1.

Các chủng phân lập đều không sinh trưởng được trên môi trường kiểm cao Hofer. Thử nghiệm keto-lactose cho thấy 8 dòng không tạo vòng màu vàng xung quanh khuẩn lạc và 2 dòng (T3 và T29) tạo vòng màu vàng xung quanh khuẩn lạc, chứng tỏ rằng 2 chủng vi khuẩn (T3 và T29) không thuộc nhóm *Rhizobium*. Bên cạnh đó, khi nuôi cấy trên môi trường YEM-BTB dịch nuôi cấy của chủng T14 chuyển từ màu xanh lam sang màu vàng cho thấy nó có khả năng sinh trưởng nhanh, các chủng vi khuẩn *Rhizobium* còn lại dịch nuôi cấy không thay đổi màu là chúng có khả năng sinh trưởng chậm. Trong nghiên cứu này, chúng tôi quan tâm đến các vi khuẩn *Rhizobium* có khả năng sinh trưởng nhanh nhằm mục đích tạo phân bón sinh học sau này. Vì vậy, dòng T14 được lựa chọn để tiến hành nghiên cứu các đặc điểm sinh hóa tiếp theo.

Đặc điểm của chủng T14 được thể hiện cụ thể trên Bảng 2 và Hình 1, hình thái khuẩn lạc có màu trắng sữa, có hình cầu lồi, có khả năng tiết các chất nhầy. Sau 48 giờ nuôi cấy trên môi trường YEMA-CR ở 28°C, kích thước khuẩn lạc đạt 3-5 mm.

Bảng 1. Đặc điểm nuôi cấy của các chủng vi khuẩn phân lập từ nốt sần cây đậu tương trên một số môi trường kiểm tra

Chủng vi khuẩn	Đánh giá trên MT Hofer	Đánh giá trên MT YEM-BTB	Đánh giá trên MT Keto-lactose
T3	-	vàng	+
T9	-	xanh lam	-
T9x	-	xanh lam	-
T10	-	xanh lam	-
T11	-	xanh lam	-
T14	-	vàng	-
T15	-	xanh lam	-
T23	-	xanh lam	-
T29	-	vàng	+
T30	-	xanh lam	-

“-”: không sinh trưởng hoặc không tạo vòng màu vàng; “+”: có tạo vòng màu vàng.

Chủng T14 không phát triển trên môi trường GPA, có khả năng đồng hóa các nguồn đường: D-glucose, L-arabinose, D-manitol, D-fructose, D-cellulose, sucrose và không có khả năng đồng hóa D-xylose. Như vậy, phạm vi đồng hoá các nguồn cacbon của chủng nghiên cứu tương đối đa dạng, đặc biệt chủng sử dụng tốt nguồn đường L-arabinose, là nguồn cacbon có sẵn trong hệ mạch dẫn của cây [15]. Điều này chứng tỏ khả năng thích nghi tốt của chủng nghiên cứu, kể cả trong điều kiện đặc biệt như mô sống thực vật.



Hình 1. Khuẩn lạc chủng T14 trên môi trường YEMA-CR (trái) và tế bào T14 bắt màu Gram (-) (phải) (x 400).



Hình 2. Tế bào T14 (x 3000 lần) (trái) và (x 10000) (phải).

Bảng 2. Đặc điểm nuôi cấy và sinh hóa của chủng T14

Thử nghiệm	Đặc điểm	
Nuôi cấy trên môi trường GPA	Không phát triển	
pH phát triển	$6 \leq \text{pH} \leq 9$	
Nhiệt độ phát triển, °C	$24 \leq t \leq 37$, $t_{\text{opt}}: 37^\circ\text{C}$	
Muối, %	$\leq 2,5$	
Khả năng chuyển hóa nitrate thành nitrite	+	
Khả năng phân hủy gelatin	-	
Phát huỳnh quang	không	
	D-glucose	+
	L-arabinose	+
Khả năng sử dụng nguồn cacbon	D-xylose	-
	D-manitol	+
	D-fructose	+
	D-cellulose	+
	sucrose	+
	khoáng	-

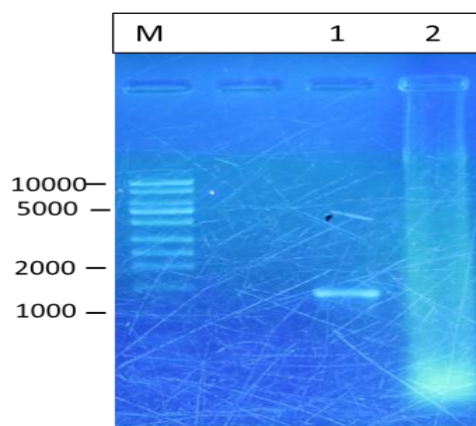
“-”: không sinh trưởng hoặc không chuyển hóa;
 “+”: có sinh trưởng và có chuyển hóa.

Quan sát dưới kính hiển vi điện tử với độ phóng đại 3000 và 10000 lần cho thấy tế bào vi khuẩn T14 có dạng trực khuẩn, kích thước khoảng $0,5 \div 1,5 \mu\text{m}$, sinh màng nhầy bao kín tế bào (Hình 2). Đây cũng là một đặc điểm quan trọng được nhiều tác giả mô tả đối với nhóm *Rhizobium* [7, 16].

Nồng độ muối trong môi trường cao sẽ làm giảm đáng kể khả năng cố định đạm và tạo nốt sần trong cây họ đậu, bằng cách giảm sự sinh trưởng của *Rhizobium* trong đất và vùng rễ hoặc

ức chế các hiện tượng cộng sinh sớm cũng như sự hình thành lông rễ, do đó trực tiếp can thiệp vào chức năng của nốt sần [17]. Cho đến nay, một số chủng *Rhizobium* phân lập được đã phát triển trong điều kiện muối cao (4-5%) [17]. Trong nghiên cứu của chúng tôi chủng T14 sinh trưởng tốt ở nồng độ muối 0,02 - 0,5% và tốc độ sinh trưởng giảm dần cho đến nồng độ muối 2,5%, ở nồng độ muối cao hơn chủng không phát triển. Theo nghiên cứu của Kucuk và cộng sự năm 2006 [18], các chủng phân lập phát triển nhanh thường chịu được nồng độ muối cao hơn so với các dòng sinh trưởng chậm, chủng T14 trong nghiên cứu này là chủng có khả năng sinh trưởng nhanh nên khả năng phát triển với nồng độ muối cao 2,5% là hoàn toàn hợp lý.

Chủng T14 phát triển trong dải pH 6,0 - 9,0 là môi trường trung tính và có tính kiềm. Chủng T14 có thể phát triển ở 24 đến 42°C và phát triển mạnh nhất ở 37°C, không phát triển ở nhiệt độ cao lớn hơn 45°C. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với những nghiên cứu trước đây. Kucuk và cộng sự, 2006 [18], đã phân lập được nhiều chủng có khả năng sinh trưởng tốt ở pH 6,0 - 9,0 và sinh trưởng tốt ở nhiệt độ cao 37 đến 45°C. Chủng T14 có khả năng chuyển hóa nitrate thành nitrite và không sản xuất enzyme gelatinase trong môi trường nuôi cấy. Hoạt tính gelatinase âm tính cũng là một đặc điểm của *Rhizobium* [19].



Hình 3. Điện di đồ sản phẩm PCR (1) và sản phẩm DNA tổng số (2) của T14 trên gel agarose 1%.

M: thang chuẩn DNA 1Kb (Norgen).

Bảng 3. Mức độ tương đồng di truyền giữa chủng

T14 với các loài vi khuẩn có họ hàng gần dựa vào trình tự nucleotide của gen 16S rDNA

Chủng vi khuẩn so sánh	Mã số truy cập trên GenBank	Độ tương đồng (%)
<i>S. fredii</i> R1	AB639035	99
<i>S. fredii</i> S40	EF506207	99
<i>Sinorhizobium</i> sp MP1	GQ355319	99
<i>S. fredii</i> NGBSR8	AB825993	98
<i>Sinorhizobium</i> sp BBWH-W7	KJ472222	98
<i>Sinorhizobium</i> sp SCAUS114	KF836038	99

Sản phẩm khuếch đại từ DNA tổng số của chủng T14 với cặp mồi 27f và 1492r cho một băng DNA duy nhất có kích thước khoảng trên 1400 bp (Hình 3). Gen 16S rDNA của chủng T14 (1081 bp), có độ tương đồng cao (99%) với các gen tương ứng của một số loài thuộc chi *Rhizobium* như: *Sinorhizobium fredii* R1 (AB639035), *Sinorhizobium fredii* S40 (EF506207) và *Sinorhizobium* sp MP1 (GQ355319). Kết hợp đặc điểm sinh học, đặc điểm hình thái và kết quả phân tích trình tự gen 16S rDNA cho thấy, chủng vi khuẩn T14 có đặc điểm rất gần gũi và có độ tương đồng cao với loài *Sinorhizobium fredii* nên chủng này được đặt tên là *Sinorhizobium fredii* T14.

Theo một số nghiên cứu gần đây, chủng *S. fredii* là loài vi khuẩn cố định đạm được nghiên cứu nhiều do khả năng cố định đạm cao trên nhiều cây chủ khác nhau, sinh polysaccharite ngoại bào và có tiềm năng ứng dụng lớn trong tạo phân bón sinh học cố định đạm [7]. Do đó, chủng *Sinorhizobium fredii* T14 hứa hẹn sẽ đem lại nhiều lợi ích cho việc nghiên cứu chế tạo phân bón sinh học có khả năng cố định đạm và cải tạo đất sau này.

4. Kết luận

Vi khuẩn T14 là 1 trong 10 chủng vi khuẩn được phân lập từ nốt sần cây đậu tương tại Thanh Trì, Hà Nội được xác định là vi khuẩn *Rhizobium* mọc nhanh có khả năng cố

định đạm trên cây đậu tương được lựa chọn cho nghiên cứu.

Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học và phân tích trình tự gen 16S rDNA cho thấy chủng T14 có đặc điểm gần gũi với loài *Sinorhizobium fredii* nên chủng này được đặt tên là *Sinorhizobium fredii* T14. Chủng vi khuẩn nghiên cứu có khả năng phát triển ở pH 6 ÷ 9; chịu muối đến 2,5% phát triển tốt ở nhiệt độ 37°C, không phát huỳnh quang, có khả năng chuyển hóa mạnh nitrat thành nitrit và không phân giải gelatine.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này nhận được sự hỗ trợ kinh phí từ nhánh số 7 thuộc hợp phần II “Nghiên cứu ứng dụng các chế phẩm nano trong trồng trọt”, MS: VAST.TĐ.NANO.02/15-18 thuộc Dự án trọng điểm cấp Viện Hàn lâm KHCVN và trang thiết bị của phòng TNTĐCNG, Viện CNSH.

Tài liệu tham khảo

- [1] Phạm Văn Thiều, Cây đậu tương - Kỹ thuật trồng và chế biến sản phẩm, NXB Nông Nghiệp, Hà Nội, 2002.
- [2] Nguyễn Lân Dũng, Nguyễn Đình Quyến, Phạm Văn Ty, Vi sinh vật học, NXB Giáo Dục, 2000.
- [3] N. Teaumroong, N. Boonkerd, Detection of *Bradyrhizobium* spp. and *B. japonicum* in Thailand by primer-based technology and direct DNA extraction, in *Molecular Microbial Ecology of the Soil*, Springer, Dordrecht, 1998.
- [4] M.J. Lorite, S. Muñoz, J. Olivares, M.J. Soto, J. Sanjuán, Characterization of strains unlike *Mesorhizobium loti* that nodulate *Lotus* spp. in saline soils of Granada, Spain, *Applied and Environmental Microbiology*, 76 (2010) 4019.
- [5] E.M. Elsoni, A. G. Osma, Effects of Biofertilization on Yield, Physical Characteristics and Chemical Composition of Pigeon Pea (*Cajanus cajan* L.), *Pakistan Journal of Nutrition*, 10 (2011) 978.
- [6] J. M. Vincent, A Manual for the Practical Study of Root-nodule Bacteria, Black well scientific publications, 1970.

- [7] F.J. López-Baena, J.E. Ruiz-Sainz, M.A. Rodríguez-Carvajal, J.M. Vinardell, Bacterial Molecular Signals in the *Sinorhizobium fredii* - Soybean Symbiosis, *International Journal of Molecular Sciences*, 17, (2016) 1.
- [8] P. Somasegaran and H.J. Hoben, *Handbook for Rhizobia - Methods in Legume-Rhizobium Technology*, Springer-Verlag, New York, 1994.
- [9] S. Bhatt, Dr.R.V.Vyas, H.N. Shelat, S.J. Mistry, Isolation and Identification of Root Nodule Bacteria of Mung Bean (*Vigna radiata* L.) for Biofertilizer Production, *International Journal of Research in Pure and Applied Microbiology*, 3 (2013) 127.
- [10] B. Singh, R. Kaur, and K. Singh, Characterization of Rhizobium strain isolated from the roots of *Trigonella foenumgraecum* (fenugreek), *African Journal of Biotechnology*, 7 (2008).
- [11] F.D. Hashem, D.M. Swelim, L. Kuykendall, A. Mohamed, S. Abdel-Wahab, N.I. Hegazi, Identification and characterization of salt tolerant Leuceana- nodulation *Rhizobium* strains, *Biology and Fertility of Soils*, 27 (1998) 35341.
- [12] J. Aurag and A. Laboratoire de M. Sasson, Tolerance of *Rhizobium leguminosarum* by phaseoli to acidity and drought, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 8 (5) (1992) 532.
- [13] J. Sambrook, D.W. Russell, *Molecular cloning*. A laboratory manual, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, 2001.
- [14] B. Singha, P. Das, P.B. Mazumder, Morphological and Biochemical Characterization of Rhizobia Isolated from Root Nodule of *Crotalaria juncea* L. Grown in Assam, *International Journal of Science and Research*, 4 (4) (2015) 1928.
- [15] N. Malfanova, B. Lugtenberg, G. Berg, Chapter 2, in '*Molecular microbial ecology of the rhizosphere*', de Bruijn FJ (ed), Wiley-Blackwell, 2013.
- [16] R.Z. Sayyed, D.D. Jamadar, P.R. Patel, Production of Exo-polysaccharide by *Rhizobium* sp., *Indian Journal of Microbiology*, 51(3) (2011) 294.
- [17] F.M. Hashem, D.M. Swelim, L.D. Kuykendall, A.I. Mohamed, S.M. Abdel-Wahab, N.I. Hegazi, Identification and characterization of salt and thermotolerant *Leucaena* nodulating *Rhizobium* strains, *Biology and Fertility of Soils*, 27 (1998) 335.
- [18] C. Kucuk, M. Kivanc, E. Kinaci, Characterization of *Rhizobium* sp. Isolated from Bean, *Turkish Journal of Biology*, 30 (2006) 127.
- [19] W.J. Hunter, L.D. Kuykendall, D.K. Manter, *Rhizobium selenireducens* sp. nov.: a selenite reducing alpha Proteobacteria isolated from a bioreactor, *Current Microbiology*, 55 (2007) 455.

Biological Characteristics of *Rhizobium* Isolated from Soybean Nodules in Hanoi, Vietnam

Nguyen Thi Minh Thu¹, Nguyen Quang Hung², Nguyen Kieu Bang Tam²,
Nguyen Van Hieu¹, Nguyen Thi Hong Lien¹, Phan Thi Hong Thao¹

¹*Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology*

²*Faculty of Environmental Science, VNU University of Science, 334 Nguyen Trai, Hanoi, Vietnam*

Abstract: Soybean is a high economic value crop widely grown in Vietnam and many countries in the world. This plant is capable of fixing nitrogen thanks to the activity of diverse symbiotic microorganisms. Of them, rhizobial bacteria inhabiting the roots of the legume plants play an important role in the nodulation and nitrogen fixation. In this paper, ten strains of rhizobial bacteria were isolated from root nodules of soybean grown at farms in Hanoi, and studied with respect to their physiological and biochemical characteristics. The isolate T14 was selected as the most important

rhizobial bacteria for rapid *in vitro* growth. Taxonomic data showed that isolate T14 shared 99% similarity with species *Sinorhizobium fredii*, hence it was named *Sinorhizobium fredii* T14. Study on the physiological and cultivation characteristics of this strain revealed that the rapid growth occurred within the pH range of 6 ÷ 9 and temperatures of 24 ÷ 42°C. The strain tolerated high salt concentrations up to 2.5%. In shake flask cultures, strain T14 degraded gelatin and converted nitrate to nitrite at high rate. Fluorescence of the cultures was not observed in our study.

Keywords: 16S rDNA, Soybean, Rhizobium, *Sinorhizobium fredii* T14, nitrogen fixation, nodulation.