

Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn sinh tổng hợp IAA (Indole Acetic Acid) từ đất trồng sâm Việt Nam ở Quảng Nam

Trần Bảo Trâm^{1,*}, Nguyễn Thị Hiền¹, Phạm Hương Sơn²,
Nguyễn Thị Thanh Mai¹, Võ Thu Giang³, Phạm Thế Hải⁴

¹Trung tâm Sinh học Thực nghiệm, Viện Ứng dụng Công nghệ, C6 Thanh Xuân Bắc, Hà Nội

²PTN Y sinh Công nghệ cao, Viện Ứng dụng Công nghệ, C6 Thanh Xuân Bắc, Hà Nội, Việt Nam

³Trường THPT chuyên Hà Nội - Amsterdam, Hoàng Minh Giám, Hà Nội, Việt Nam

⁴Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN, 334 Nguyễn Trãi, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 16 tháng 8 năm 2017

Chỉnh sửa ngày 20 tháng 9 năm 2017; Chấp nhận đăng ngày 10 tháng 10 năm 2017

Tóm tắt: Từ 31 chủng vi khuẩn phân lập từ đất trồng sâm Việt Nam ở Quảng Nam đã tuyển chọn được một chủng (kí hiệu P6) có khả năng sinh tổng hợp IAA cao nhất. Kết quả phân tích đặc điểm hình thái, sinh hóa và trình tự gen 16S rRNA đã xác định chủng P6 thuộc loài *Kluyvera cryocrescens* (với độ tương đồng 99,93%). Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy đến khả năng sinh tổng hợp IAA của chủng *K. cryocrescens* cho thấy: trên môi trường King's B với nguồn nitơ là pepton và KNO₃ (nồng độ 0,5% w/v) bổ sung tryptophan (nồng độ 0,1% w/v), sau 4 ngày nuôi cấy ở nhiệt độ 30 °C cho hàm lượng IAA cao nhất (97,7 µg/mL). Bước đầu nghiên cứu ảnh hưởng của IAA thô tạo thành trong dịch lên men chủng *K. cryocrescens* đến sinh trưởng của cây dưa chuột cho thấy: tỷ lệ này mầm của hạt được xử lí với IAA đạt 93,3% cao hơn so với ở lô đối chứng (80%); sau 10 ngày gieo hạt cây ở lô thí nghiệm sinh trưởng nhanh và đồng đều, có chiều dài thân, rễ; khối lượng thân lá cũng như số rễ phát triển tốt hơn so với lô đối chứng.

Từ khóa: Đất, IAA, phân lập, sâm Việt Nam, vi khuẩn.

1. Mở đầu

IAA (Indole-3-Acetic Acid) là chất kích thích sinh trưởng thực vật thuộc nhóm auxin đầu tiên được xác định giữ vai trò trung tâm trong sự tăng trưởng ở thực vật. IAA thường được dùng như một chất điều hòa quá trình sinh học, giúp kích thích kéo dài tế bào bằng cách thay đổi các điều kiện nhất định như tính thẩm lọc, tăng tính thẩm nước, giảm áp lực thành tế bào và tăng tổng hợp thành tế bào. IAA còn

ngăn chặn và trì hoãn hiện tượng sinh lý của lá, thúc đẩy sự ra hoa, tạo quả [1].

Vi khuẩn phân lập từ vùng rễ các loại cây có khả năng sinh IAA như chất chuyển hóa thứ cấp giúp tham gia vào quá trình hấp thu dinh dưỡng cho cây [2], có vai trò quan trọng đối với sự sinh trưởng và năng suất của cây trồng. Sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) là loài đặc hữu của Việt Nam, phân bố tập trung quanh đỉnh núi Ngọc Linh thuộc hai tỉnh Quảng Nam và Kon Tum, là cây thân thảo ưa ẩm và mát, thường mọc rải rác hoặc tập trung thành từng đám nhỏ dưới tán rừng. Mặc dù được đánh giá có giá trị dược lý cao nhưng việc phát triển

*Tác giả liên hệ. ĐT.: 84-913275850.

Email: trantram_74@yahoo.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4531>

trồng sâm Việt Nam còn nhiều hạn chế, năng suất chưa cao chủ yếu là do những khó khăn liên quan dinh dưỡng và các yếu tố ảnh hưởng đến sinh trưởng của cây sâm, trong đó có hệ vi khuẩn vùng rễ còn chưa được tìm hiểu. Do vậy việc tìm kiếm vi khuẩn phân lập từ đất vùng rễ cây Sâm Việt Nam và đánh giá khả năng sinh các chất kích thích sinh trưởng thực vật như IAA của chúng là rất cần thiết.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Mẫu đất (vùng rễ) trồng Sâm Việt Nam được thu tại xã Trà Linh, huyện Nam Trà My, tỉnh Quảng Nam, Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập vi khuẩn

Vi khuẩn được phân lập trên môi trường R2A (cao nấm men 0,5 g; pepton 0,5 g; axit casamino 0,5 g; dextro 0,5 g; tinh bột tan 0,5 g; $C_3H_3O_3Na$ 0,3 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,05 g; thạch 15 g, nước cất 1 L, pH 7,0±0,2) [3]. Sau 2-3 ngày nuôi cấy ở 30 °C lựa chọn những khuẩn lạc riêng rẽ, cấy rìa làm sạch và bảo quản trong ống thạch nghiêng ở 4 °C.

2.2.2. Nghiên cứu đặc điểm sinh học và phân tích trình tự gen 16S rRNA

- Nghiên cứu đặc điểm sinh học của vi khuẩn dựa trên quan sát đặc điểm hình thái khuẩn lạc, hình dạng tế bào [4] và đặc điểm sinh hóa qua Kit 20E (Biomérieux)

- Phân tích trình tự gen mã hóa 16S rRNA

DNA tổng số của từng chủng được tách bằng Kit NucleoSpin® Tissue extraction kit, Macherey-Nagel (Germany). Gen mã hóa 16S rRNA của vi khuẩn được khuếch đại bằng phản ứng PCR từ DNA tổng số sử dụng cặp mồi 27F (5'-TAACACATGCAAGTCGAACG-3') và 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT) theo chu trình nhiệt: 94 °C trong 2 phút; 35 chu kỳ (94 °C trong 30 giây; 50 °C trong 20 giây; 72 °C trong 1 phút), 72 °C trong 5 phút, sau đó giữ

ở 4 °C. Sản phẩm của phản ứng PCR được phân tích trên máy đọc trình tự ABI PRISM 3100 Avant Genetic Analyzer, xử lý bằng phần mềm SeqAssem version 01/2005 và Sequencher version 4.0.5. Mức độ tương đồng gen 16S rRNA của chủng nghiên cứu được so sánh với các trình tự gen 16S rRNA trong GenBank. Mức độ tương đồng di truyền của các chủng được xây dựng dựa trên phần mềm CLC DNA workbench 6.6.

2.2.3. Đánh giá khả năng sinh tổng hợp IAA

Hàm lượng IAA được tạo ra trong dịch lên men vi khuẩn được xác định bằng phương pháp so màu sử dụng thuốc thử Van Urk Salkowski [5]. Dịch nuôi cấy vi khuẩn trong môi trường King's B ở nhiệt độ 30 °C sau 4 ngày ly tâm thu dịch nổi. Hút 1ml dịch trộn với 4 mL thuốc thử Salkowski (2% $FeCl_3$ 0,5 M trong dung dịch $HClO_4$ 35%) và giữ trong tối, những mẫu chuyển sang màu hồng cho thấy sự có mặt của IAA. Đo độ hấp thụ quang (OD) ở bước sóng 530 nm sau 30 phút. Đường chuẩn được dựng với các mẫu có nồng độ IAA chuẩn khác nhau, có dạng: $y = 0,018x + 0,061$ ($R^2 = 0,996$).

2.2.4. Nghiên cứu điều kiện nuôi cấy sinh tổng hợp IAA

Môi trường nuôi cấy: môi trường King's B (pepton 20 g; K_2HPO_4 1,5 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1,5 g; glycerol 15 mL, nước cất 1 L và 0,5 g/L tryptophan); môi trường NB (cao thịt bò 3 g; pepton 5 g; nước cất 1 L và 0,5 g/L tryptophan); môi trường LB (pepton 10 g; cao nấm men 5 g, NaCl 10 g, nước cất 1 L và 0,5 g/L tryptophan).

Nguồn ni tơ gồm peptone, cao nấm men, KNO_3 và $NaNO_3$ với nồng độ 0,5% (w/v);

Nồng độ tryptophan được sử dụng từ 0; 0,05; 0,1; 0,15 và 0,2% (w/v);

Các chủng vi khuẩn được nuôi ở các mức nhiệt độ 25, 30, 35 và 37 °C.

2.2.5. Ảnh hưởng của IAA (thô) trong dịch nuôi cấy vi khuẩn đến sinh trưởng và phát triển trên cây dưa chuột [6]

Tiến hành xử lý hạt giống với dịch nuôi cấy vi khuẩn chứa IAA (lô thí nghiệm) và lô đối

chúng sử dụng nước ấm trong 30 phút. Cả 2 lô thí nghiệm và đối chứng đều được trồng và chăm sóc như nhau. Mỗi thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần nhắc lại. Theo dõi các chỉ tiêu: tỷ lệ nảy mầm, chiều dài thân, chiều dài rễ, khối lượng tươi thân lá, khối lượng rễ sau 10 ngày gieo hạt.

2.3. Xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm Excel 2007, MegaStat trong xử lý số liệu thống kê.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Đánh giá khả năng sinh tổng hợp IAA của các chủng phân lập

Tiến hành đánh giá khả năng sinh tổng hợp IAA trong dịch nuôi cấy của 31 chủng vi khuẩn phân lập, kết quả thu được trong Bảng 1.

Bảng 1. Khả năng sinh tổng hợp IAA của các chủng vi khuẩn phân lập từ đất trồng sâm Việt Nam

Hàm lượng IAA ($\mu\text{g/ml}$)	Số chủng	Tỷ lệ chủng có khả năng sinh IAA (%)
0	17	54,84
5 - 20	8	25,81
20 - 30	5	16,13
> 30	1	3,22
Tổng số	31	100

Trong số 31 chủng vi khuẩn phân lập được từ đất trồng Sâm Việt Nam có 17 chủng (chiếm 54,84%) không có khả năng sinh tổng hợp IAA, 8 chủng (25,81%) sinh tổng hợp IAA ở mức 10-20 $\mu\text{g/mL}$, 5 chủng (16,13%) sinh tổng hợp IAA từ 20-30 $\mu\text{g/mL}$, và 01 chủng (kí hiệu P6) có khả năng sinh tổng hợp IAA đạt mức trên 30 $\mu\text{g/mL}$ (chiếm 3,22% tổng số chủng). Từ rễ cây chuối, bông, ngô, lúa mì Mohite cũng đã phát hiện được 10 chủng vi khuẩn có khả năng sinh tổng hợp IAA và tuyển chọn được 5 chủng (chiếm 50%) có khả năng sinh tổng hợp IAA

cao với hàm lượng IAA từ 28 - 65 $\mu\text{g/mL}$ trên môi trường YMD [7]. Với kết quả thu được, chúng tôi lựa chọn chủng P6 sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.

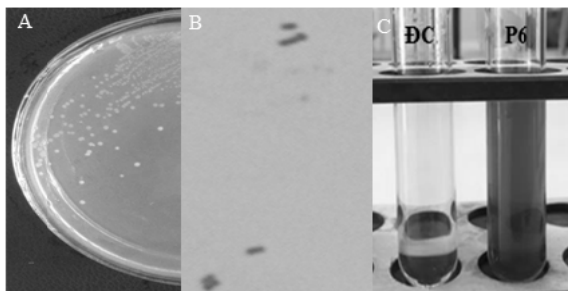
3.2. Định danh chủng vi khuẩn tuyển chọn

Bảng 2. Một số đặc điểm phân loại của chủng P6

Khuẩn lạc	
Kích thước	1 - 1,5mm
Hình dạng	Tròn méo, mép răng cưa, bề mặt nhẵn
Màu sắc	Trắng đục
Tế bào	
Nhuộm Gram	(-)
Kích thước	1 - 1,37 μm
Hình dạng	Hình que
Đặc điểm sinh hóa	
β -galactosidase	+
Arginine dihydrolase	-
Lysine decarboxylase	-
Ornithine decarboxylase	+
Citrate utilization	+
H ₂ S production	-
Urease	-
Tryptophanedeaminase	-
Indole production	+
Voges Proskauer	+
Gelatinase	-
D-Glucose	+
D-Mannitol	+
Inositol	-
D-Sorbitol	-
L-Rhamnose	+
D-Sucrose	-
D-Melibiose	+
Amygdalin	+
L-Arabinose	+

Với kết quả thu được, đối chiếu trên phần mềm APIweb kết hợp khóa phân loại chuẩn của Bergey's phân loại sơ bộ chủng P6 thuộc chi *Kluyvera*.

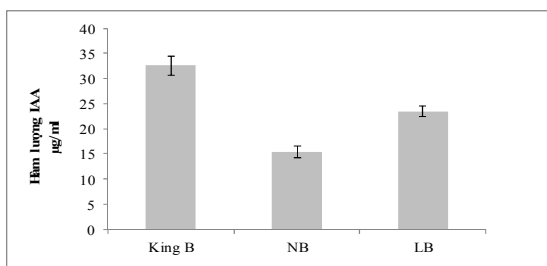
Để phân loại chủng P6 đến loài, kết quả về tiến hành phân tích trình tự gen 16S rRNA của chủng P6 có trong Hình 2.



Hình 1. Hình thái khuẩn lạc (A); Hình thái tế bào (B); Khả năng sinh IAA (C).

Từ kết quả xác định trình tự cho thấy, gen 16S rRNA của chủng P6 có độ tương đồng với loài *Kluyvera cryocrescens* (99,93%). Chi *Kluyvera* thuộc họ *Enterobacteriaceae* lần đầu được Kluyver và van Niel mô tả vào năm 1963, nhưng phải đến năm 1981 mới được Farmer đánh giá ở mức độ phân tử. Chi *Kluyvera* có 4 loài: *K. cryocrescens*, *K. ascorbata*, *K. georgiana* và *K. cochleae*. *K. cryocrescens* rất hiếm khi gây bệnh ở người [8]. Ngoài khả năng sinh tổng hợp IAA, *K. cryocrescens* còn có khả năng phân giải photphat khó tan [9].

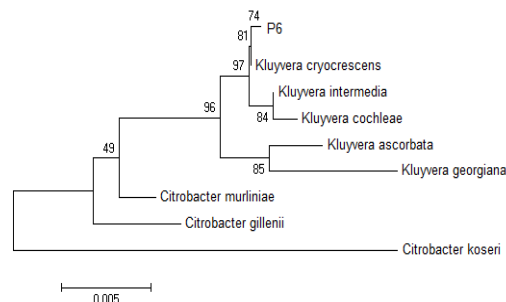
3.3. Ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy đến khả năng sinh tổng hợp IAA của chủng *K. cryocrescens* tuyển chọn



Hình 3. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến khả năng sinh tổng hợp IAA của chủng *K. cryocrescens*.

Tiến hành các nghiên cứu xác định các điều kiện nuôi cấy tối ưu chủng *K. cryocrescens* cho hiệu suất sinh tổng hợp IAA cao nhất nhằm mục đích phát triển ứng dụng chủng này trong sản xuất.

Môi trường nuôi cấy



Hình 2. Cây phát sinh chủng loại chủng P6 dựa trên trình tự gen 16 S rRNA.

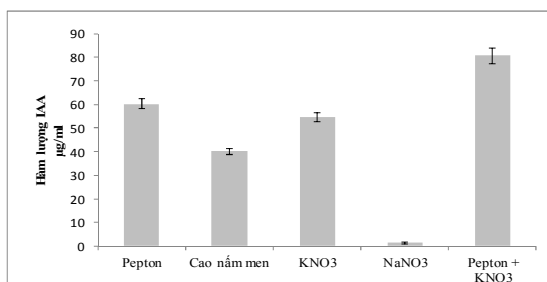
Chủng *K. cryocrescens* được nuôi thử nghiệm trên 3 môi trường: King's B, NB và LB (bổ sung 0,5 g/L tryptophan), kết quả thu được trình bày trong Hình 3.

Kết quả cho thấy, chủng *K. cryocrescens* cho khả năng sinh tổng hợp IAA cao nhất trên môi trường King's B với hàm lượng IAA đạt 32,61 µg/mL cao hơn so với khi nuôi cấy trong môi trường NB và LB (tương ứng đạt 15,35 và 23,45 µg/mL). Kết quả thu được này khá tương đồng với nghiên cứu của Dasri và cộng sự [10] sử dụng môi trường King's B bổ sung tryptophan làm môi trường tối ưu trong nghiên cứu chủng DPY-05 phân lập từ vùng rễ cây hoa lan cho hàm lượng IAA cao gấp 1,8 lần so với môi trường NB. Trên cơ sở đó chúng tôi lựa chọn môi trường King's B làm môi trường nền cho nghiên cứu sinh tổng hợp IAA trong các thí nghiệm tiếp theo.

Nguồn nitơ

Để đánh giá ảnh hưởng nguồn nitơ đến khả năng sinh tổng hợp IAA chúng tôi sử dụng 4 nguồn nitơ bổ sung vào môi trường nuôi cấy gồm: pepton, cao nấm men, NaNO₃, KNO₃ (0,5% w/v) thu được kết quả (Hình 4) như sau: trong các nguồn nitơ bổ sung vào môi trường nuôi cấy peptone, cao nấm men và KNO₃ cho hiệu suất sinh tổng hợp IAA khá cao (tương ứng đạt 60,21; 40,11 và 54,61 µg/mL), còn NaNO₃ hiệu quả đạt được không đáng kể (1,33 µg/mL). Khi kết hợp cả 2 nguồn nitơ hữu cơ và vô cơ (peptone và KNO₃) cho khả năng sinh tổng hợp IAA cao nhất, đạt mức 80,67 µg/mL (gấp 1,34 và 1,47 lần so với sử dụng riêng

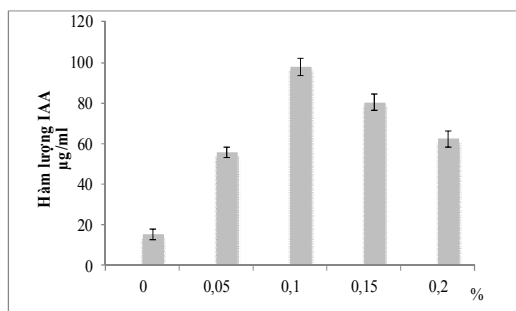
peptone hay KNO₃). Kết quả thu được trong nghiên cứu này cũng tương tự với công bố của Mohite [7], cho thấy KNO₃ và pepton là nguồn nitơ thích hợp nhất cho sinh tổng hợp IAA của các chủng br2, br3 và mr2 phân lập từ rễ cây chuối và cây ngô.



Hình 4. Ảnh hưởng của nguồn nitơ đến khả năng sinh tổng hợp IAA của chủng *K. cryocrescens*.

Nồng độ tryptophan

Tryptophan là tiền chất quan trọng để sinh tổng hợp IAA, sự tương đồng về cấu trúc β-indol acetic acid và tryptophan là cơ sở cho giả định rằng auxin có thể được tổng hợp từ axit amin này. Chúng tôi thực hiện khảo sát ảnh hưởng của tryptophan đến quá trình sinh tổng hợp IAA bằng cách bổ sung vào môi trường nuôi cấy (King's B) với nồng độ 0; 0,05%; 0,1%; 0,15% và 0,2%.



Hình 5. Ảnh hưởng của nồng độ tryptophan đến khả năng sinh tổng hợp IAA của chủng *K. cryocrescens*.

Kết quả (Hình 5) cho thấy tryptophan có ảnh hưởng lớn đến khả năng sinh tổng hợp IAA của chủng vi khuẩn nghiên cứu: khi bổ sung tryptophan với nồng độ 0,1% vào môi trường nuôi cấy cho hàm lượng IAA sinh tổng hợp cao nhất, đạt 97,7 µg/mL so với các nồng độ khác (tương ứng đạt 15,23; 55,62; 80,32; 62,3 µg/mL

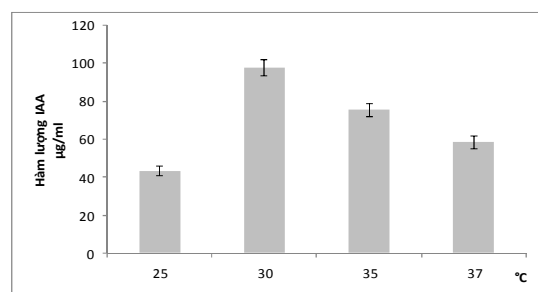
ở các nồng độ 0, 0,05; 0,15 và 0,2%). Nồng độ tryptophan 0,1% cũng được lựa chọn trong các nghiên cứu của Apine và cộng sự [5] và Mohite [7].

Với các kết quả thu được chúng tôi lựa chọn môi trường tối ưu cho lên men sinh tổng hợp IAA cho chủng P6 là môi trường King's B bổ sung pepton, KNO₃ và 0,1% tryptophan

Nhiệt độ

Khảo sát ảnh hưởng của các mức nhiệt độ 25, 30, 35 và 37°C đến hàm lượng IAA tạo thành trong dịch lên men chủng *K. cryocrescens* sau 4 ngày nuôi cấy. Kết quả Hình 6 cho thấy, ở khoảng nhiệt độ 30 - 35°C chủng *K. cryocrescens* cho hàm lượng IAA cao hơn so với các dải nhiệt độ ngoài ngưỡng, đạt cao nhất ở nhiệt độ 30°C với lượng IAA tạo thành 97,71 µg/mL.

Kết quả thu được cũng giống với nghiên cứu của Patil và cộng sự [11] cho thấy nhiệt độ thích hợp cho vi khuẩn *Acetobacter diazotrophicus* L1 sinh tổng hợp IAA là 30°C và Apine và cộng sự [5] với chủng *Pantoea agglomerans* PVM sinh tổng hợp IAA cao nhất ở pH 7, nhiệt độ 30 °C và nồng độ tryptophan bổ sung 0,1%.



Hình 6. Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy đến khả năng sinh tổng hợp IAA của chủng *K. cryocrescens*.

3.5. Bước đầu nghiên cứu ảnh hưởng IAA trong dịch lên men chủng *K. cryocrescens* đến tỷ lệ nảy mầm của hạt và sinh trưởng của cây dưa chuột

Dưa chuột (*Cucumis sativus*) là một trong những loại cây được trồng được sử dụng làm thực phẩm rộng rãi nhất trên thế giới. Dưa chuột có thể trồng quanh năm, tốc độ tăng trưởng nhanh (có thể thu trái sau 8-10 ngày kể từ khi ra hoa), do đó chúng tôi đã lựa chọn dưa

chuột làm đối tượng thí nghiệm nhằm đánh giá ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng do vi khuẩn được phân lập tạo thành trong dịch nuôi cấy đến sự nảy mầm và tốc độ sinh trưởng của cây dưa chuột trong giai đoạn đầu sau khi nảy mầm.

Tiến hành xử lý hạt giống dưa chuột bằng IAA thô tạo thành trong dịch nuôi cấy chủng *K. cryocrescens*, đồng thời theo dõi sinh trưởng của cây dưa chuột ở các lô thí nghiệm sau 10 ngày gieo hạt.

Bảng 3. Ảnh hưởng của IAA đến tỷ lệ nảy mầm của hạt và sinh trưởng cây Dưa chuột

Lô thí nghiệm Chỉ tiêu	Đối chứng (Không xử lý)	Xử lý IAA
Tỷ lệ nảy mầm (%)	80±1,24	93,3±1,18
Chiều dài thân (cm)	8,6±2,58	10,79±1,09
Chiều dài rễ (cm)	4,35±1,76	6,19±1,65
Khối lượng tươi thân lá (g)	0,66±0,23	0,93±0,17
Số rễ	7,33±2,42	11,71±1,77



Hình 7. Cây dưa chuột sau 10 ngày gieo hạt: (A) Lô xử lý IAA; (B) Lô đối chứng.

Kết quả thu được Bảng 3 cho thấy tỷ lệ nảy mầm của hạt được xử lý với IAA (93,3%) cao hơn so với lô đối chứng (80%). Sinh trưởng của cây sau 10 ngày gieo hạt cũng có sự khác biệt rõ rệt: các cây ở lô thí nghiệm có tốc độ sinh trưởng tốt và đồng đều hơn so với cây ở lô đối chứng, thể hiện ở các chỉ tiêu chiều dài thân và rễ; khối lượng tươi của thân lá (trương ứng đạt 10,79 cm, 6,19 cm, 0,93 g ở lô thí nghiệm và 8,6 cm, 4,35 cm, 0,66 g ở lô đối chứng). Ngoài ra, khi xử lý hạt với IAA còn có tác dụng kích thích sự ra rễ của cây, thể hiện ở số rễ trung bình của lô cây được xử lý cũng cao hơn so với các cây ở lô không được xử lý (trương ứng đạt 11,71 và 7,33).

Với kết quả đạt thu được cho thấy tiềm năng ứng dụng của chủng *K. cryocrescens* phân lập được từ đất trồng Sâm Việt Nam trong việc tạo thành các chế phẩm kích thích sinh trưởng thực vật nói chung, và khả năng tạo hiệu ứng

tốt của chủng này đối với sinh trưởng của chính cây sâm Việt Nam trong tự nhiên.

4. Kết luận

Trong số 31 chủng vi khuẩn phân lập được từ đất trồng Sâm Việt Nam tại Quảng Nam, chủng P6 có khả năng sinh tổng hợp IAA cao nhất. Nghiên cứu đặc điểm sinh học và phân tích trình tự gen 16S rRNA xác định chủng P6 là loài *Kluyvera cryocrescens* (với độ tương đồng 99,93%).

Với các điều kiện tối ưu cho nuôi cấy: môi trường King's B bổ sung kết hợp pepton và KNO_3 , 0,1% tryptophan, nhiệt độ 30°C, chủng vi khuẩn tuyển chọn *K. cryocrescens* cho hàm lượng sinh tổng hợp IAA cao nhất, đạt 97,7 $\mu\text{g/mL}$.

Kết quả bước đầu nghiên cứu trên cây dưa chuột cho thấy IAA thô tạo thành trong dịch lên men chủng tuyển chọn *K. cryocrescens* có ảnh hưởng tích cực đến tỷ lệ nảy mầm của hạt giống (tăng từ 80% ở lô đối chứng lên 93,3% ở lô xử lí) cũng như các chỉ tiêu về sinh trưởng (chiều dài thân/rễ, khối lượng tươi thân lá, số rễ) của dưa chuột.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí từ nhiệm vụ KH&CN và trang thiết bị của Phòng thí nghiệm Y sinh Công nghệ cao của Viện Ứng dụng Công nghệ.

Tài liệu tham khảo

- [1] Zhao Y, Auxin biosynthesis and its role in plant development, Annual Review of Plant Biology, 61 (2010) 49.
- [2] Datta C, Basu P, Indole acetic acid production by a *Rhizobium* species from root nodules of a leguminous shrub, *Cajanus cajan*, Microbiological Research, 155 (2000) 123.
- [3] Kim MK, Sathiyaraj S, Pulla RK, Yang DC, *Brevibacillus panacihumi* sp. nov., a β -glucosidase-producing bacterium, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 59 (2009) 1227.
- [4] Vũ Thị Minh Đức, Thực tập vi sinh vật học, NXB ĐHQGHN, 2001.
- [5] Apine OA, Jadhav JP, Optimization of medium for indole-3-acetic acid production using *Pantoea agglomerans* strain PVM, Journal of Applied Microbiology, 110 5 (2011) 1235.
- [6] Islam S, Akanda AM, Prova A, Islam MdT and Hossain MdM, Isolation and identification of plant growth promoting rhizobacteria from cucumber rhizosphere and their effect on plant growth promotion and disease suppression, Frontier in Microbiology, 6 (2016) 1-12.
- [7] Mohite B, Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth, Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 133 (2013) 638.
- [8] Muñoz-Acuña R, Méndez-Rodríguez JD, Villalobos-Vindas J, *Kluyvera cryocrescens* bacteremia, Acta Médica Costarricense, 581 (2016) 38.
- [9] Gyaneshwar P, Kumar GN, Parekh LJ, Poole PS, Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants, Food Security in Nutrient-Stressed Environments: Exploiting Plants' Genetic Capabilities, (2002) 133.
- [10] Dasri K, Kaewharn J, Kanso S and Sangchanjiradet S, Optimization of indole-3-acetic acid (IAA) production by rhizobacteria isolated from epiphytic orchids, Asia-Pacific Journal of Science and Technology, 19 (2014) 268.
- [11] Patil NB, Gajbhiye M, Ahiwale SS, Gunjal AB, Kapadnis BP, Optimization of Indole 3-acetic acid (IAA) production by *Acetobacter diazotrophicus* L1 isolated from sugarcane, International Journal of Environmental Sciences, 21 (2011) 307.

Isolation and Selection of Indole Acetic Acid (IAA) Producing Bacteria from Cultivated Soil of Vietnamese Ginseng in Quang Nam

Tran Bao Tram¹, Nguyen Thi Hien¹, Pham Huong Son²,
Nguyen Thi Thanh Mai¹, Vo Thu Giang³, Pham The Hai⁴

¹Center for Experimental Biology, NACENTECH, C6 Thanh Xuan Bac, Hanoi, Vietnam

²Hi-tech Biomedical Lab, NACENTECH, C6 Thanh Xuan Bac, Hanoi, Vietnam

³Hanoi - Amsterdam High School, Hoang Minh Giam, Hanoi, Vietnam

⁴Faculty of Biology, VNU University of Science, 334 Nguyen Trai, Hanoi, Vietnam

Abstract: Among 31 bacterial strains isolated from cultivated soil of Vietnamese ginseng in Quang Nam province, the P6 was the highest potential of IAA biosynthesis strain. The analyses of morphological and biochemical characteristics as well as 16S rRNA gene sequencing identified that the P6 strain belongs to *Kluyvera cryocrescens* species (99.93% similarity). The results of studying on culture conditions of the strain *K. cryocrescens* showed that King's B medium with nitrogen source as peptone and KNO₃ (0.5% w/v), added 0.1% tryptophan (w/v) at 30°C gave the highest IAA content (97.7 µg/mL) after 4 days of cultivation. The effect of crude IAA formed in the culture liquid of *K. cryocrescens* on germination rate of cucumber seeds and growth of cucumber trees indicated that: germination rate of the block treated with IAA liquid is 93.3% higher than that of the control sample of 80%. After 10 days of sowing, the trees of the experimental block had rapid and even growth, the length of their stem and roots, the weight of their stem and leaves as well as their root number all developed better than the control sample.

Keywords: Bacteria, indole acetic acid, isolation, soil, Vietnamese ginseng.