



## Phân lập một số chủng vi khuẩn lam *Nostoc* từ đất trồng tỉnh Nghệ An và đánh giá sự sinh trưởng, sự cố định nitrogen của chúng

Nguyễn Đức Diện<sup>1,\*</sup>, Nguyễn Lê Ái Vĩnh<sup>1</sup>, Nông Văn Hải<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Viện Công nghệ Hóa sinh và Môi trường, Trường Đại học Vinh, 182 Lê Duẩn, TP. Vinh, Việt Nam

<sup>2</sup>Viện nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam,  
18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 12 tháng 9 năm 2018, Chấp nhận đăng ngày 01 tháng 10 năm 2018

**Tóm tắt:** *Nostoc* là một trong những nhóm vi khuẩn lam (Cyanobacteria) có cấu trúc dạng sợi, có tế bào dị hình, quang tự dưỡng, thường phân bố rộng rãi trong đất trồng. Nghiên cứu này trình bày kết quả phân lập một số chủng vi khuẩn lam *Nostoc* từ đất trồng lúa, cây công nghiệp ở tỉnh Nghệ An và đánh giá sự sinh trưởng, khả năng cố định nitơ phân tử của chúng; hướng đến mục tiêu sản xuất sinh khối vi khuẩn lam *Nostoc* để làm phân đạm hữu cơ. Kết quả đã phân lập thành công 5 chủng vi khuẩn lam *Nostoc*, bao gồm 3 chủng biểu hiện màu xanh lam (*Nostoc calcicola* HN9-1a, *Nostoc linckia* Cam-C1, *Nostoc paludosum* ĐT3-02) và 2 chủng biểu hiện màu nâu (*Nostoc ellipso sporum* NH2X7, *Nostoc gelatinosum* TT3-05) trong điều kiện ánh sáng trắng. Trong môi trường BG-11 và ánh sáng đèn neon, 3 chủng màu xanh lam sinh trưởng tốt hơn và đạt năng suất sinh khối khô (387 – 431 mg/L sau 21 ngày nuôi) cao hơn so với 2 chủng màu nâu (310 – 370 mg/L sau 21 ngày nuôi). Các chủng vi khuẩn lam *Nostoc* này đều có khả năng cố định nitrogen; đặc điểm này được nhận biết thông qua sự biểu hiện gen *NifD* và sự hình thành tế bào dị hình của chúng. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy chủng vi khuẩn lam không có tế bào dị hình *Pseudanabaena dictyothalla* QV3-11 phân lập từ đất trồng lúa tỉnh Nghệ An không có khả năng cố định nitrogen. Những chủng *Nostoc* có khả năng cố định nitrogen này có thể làm nguồn nguyên liệu để nghiên cứu theo hướng sản xuất phân bón sinh học.

**Từ khóa:** Vi khuẩn lam, *Nostoc*, đất trồng, sinh trưởng, sự cố định nitrogen, gen *NifD*, Nghệ An.

### 1. Đặt vấn đề

Các loài vi khuẩn lam (Cyanobacteria) có vai trò quan trọng đối với nông nghiệp bởi

chúng phân bố rộng rãi trong đất trồng, có khả năng quang hợp để tổng hợp chất hữu cơ và cung cấp mùn cho đất; nhiều loài có khả năng cố định nitơ phân tử, bổ sung lượng đạm ý nghĩa cho cây trồng. Kết quả nghiên cứu gần đây của chúng tôi cho thấy chủng vi khuẩn lam *Nostoc calcicola* HN9-1a có ảnh hưởng tích cực

\*Tác giả liên hệ. ĐT.: 84-988573768.

Email: [ducdienbio78@gmail.com](mailto:ducdienbio78@gmail.com)

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4782>

đến khả năng chống oxi hóa của cây đậu tương (Mai Van Chung *et al.*, 2017)[1], cũng như là sự sinh trưởng và năng suất của cây lúa tám thơm (Nguyễn Đức Điện *et al.*, 2017)[2]. Nghiên cứu này trình bày kết quả phân lập một số chủng vi khuẩn lam *Nostoc* từ đất trồng lúa, cây ăn quả ở tỉnh Nghệ An và đánh giá sự sinh trưởng, khả năng cố định nitơ phân tử của chúng; hướng đến mục tiêu sản xuất sinh khối vi khuẩn lam *Nostoc* để làm phân đạm hữu cơ.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Thu mẫu, phân lập và định loại các loài vi khuẩn lam

Mẫu đất chứa vi khuẩn lam được thu ở lớp bề mặt (0 – 5cm) trong năm 2014 và 2017 từ ruộng lúa ở xã Hưng Xá (huyện Hưng Nguyên, tỉnh Nghệ An; tọa độ: 18°37'30"N, 105°36'56"E), xã Nghi Hoa (Nghi Lộc, Nghệ An; 18°47'57"N, 105°38'34"E), xã Đô Thành (Yên Thành, Nghệ An; 19°03'876"N, 105°32'966"E), xã Thọ Thành (Yên Thành, Nghệ An; 19°02'847"N, 105°31'899"E), xã Quỳnh Văn (Quỳnh Lưu, Nghệ An; 19°11'669"N, 105°12'588"E) và từ đất cạnh trồng cây công nghiệp ở xã Tân An (Tân Kỳ, Nghệ An; 19°05'052"N, 105°12'588"E).

Tại phòng thí nghiệm, mẫu đất được đặt vào đĩa Petri tiệt trùng, giữ ẩm bằng nước cất tiệt trùng và môi trường lỏng BG-11, nuôi dưới ánh sáng đèn neon có cường độ 3000 lux với chu kỳ chiếu sáng 12 giờ sáng – 12 giờ tối ở nhiệt độ phòng 25 – 30°C. Sau 3 – 4 tuần, vi khuẩn lam *Nostoc* xuất hiện ở dạng tập đoàn hình khối cầu hoặc lớp mỏng trên bề mặt đất. Mỗi tập đoàn được tách ra, rửa sạch đất, ép vỡ trên lam kính vô trùng thành nhiều phần; một phần tập đoàn gồm một số sợi có hình thái giống nhau và dính nhau bởi chất nhầy được hút rửa nhiều lần bằng pipet Pasteur, sau đó đặt vào đĩa Petri có chứa môi trường BG-11 bổ sung 1,5 % agar, nuôi ở điều kiện nêu trên; sau 2 – 3 tuần thì các tập đoàn xuất hiện trên bề mặt thạch. Một tập đoàn tách biệt trên mặt thạch được lựa chọn, ép vỡ,

lập lại quá trình hút rửa như trên và nuôi trong vi đĩa microplate loại 48 giếng bằng môi trường BG-11. Cuối cùng, một giếng chứa các sợi vi khuẩn lam đồng nhất về hình thái và sạch khuẩn được chuyển sang nuôi trong ống nghiệm và thiết lập thành một chủng giống. Các loài vi khuẩn lam được định loại theo tài liệu của Komárek (2013)[3]. Ảnh hiển vi sử dụng trong bài báo này được chụp trên kính hiển vi Motic và xử lý bằng phần mềm Photoshop CS6.

### 2.2. Nghiên cứu sinh trưởng các chủng *Nostoc* được phân lập

Các chủng vi khuẩn lam được nuôi trong môi trường lỏng BG-11 ở điều kiện môi trường nêu trên. Giống được nhân lên trong bình tam giác 1000 mL có chứa 500 mL môi trường trong thời gian 12 ngày. Sau đó, giống được chuyển sang bình nhựa 7000 mL có chứa 5000 mL môi trường và không khí được cấp liên tục bằng bình sục khí bể cá cỡ nhỏ. Sinh khối của các chủng được đo 3 ngày một lần bằng cách thu 100 mL dịch nuôi đã khuấy đều và lọc qua giấy lọc, sấy ở 60°C trong thời gian 8 giờ. Thí nghiệm được lập lại 3 lần. Số liệu thống kê được xử lý bằng phần mềm MS Excel.

### 2.3. Tách chiết DNA

DNA tổng số được tách chiết theo quy trình tách chiết của Neilan và đồng tác giả (1995)[4]. Trong đó, 200  $\mu$ L dịch nuôi (có chứa vi khuẩn lam) được ủ với 300  $\mu$ L đệm phân hủy (0,2 M NaOH và 2 % SDS), vortex đều, rồi ủ ở 95°C trong 10 phút. Thêm 250  $\mu$ L Tris HCl, pH 4.3, vortex đều và bổ sung 400  $\mu$ L hỗn hợp dung dịch tủa (tỷ lệ phenol : chloroform : isoamylalcohol = 25 : 24 : 1) trộn đều rồi ly tâm 12.000 vòng/phút trong 30 phút. Sau đó thu phần dịch trong ở trên (khoảng 700  $\mu$ L). Phần dịch trong này được thêm 700  $\mu$ L isopropanol và ly tâm 12.000 vòng/phút trong 30 phút để thu lấy kết tủa. Thêm 700  $\mu$ L ethanol 70 % (4°C) vào phần tủa này và ly tâm 12.000 vòng/phút trong 10 phút (lặp lại 2 lần). Hòa tủa lại trong 100  $\mu$ L đệm TE và xử lý RNA ở 56°C trong 10 phút. Xác định hàm lượng và chất

lượng ADN bằng máy đo quang trên máy NanoDrop ND-1000TM (NanoDrop technologies, Wilmington, DE, Mỹ) và bằng điện di gel agarose. DNA cất giữ và bảo quản trong tủ ở  $-20^{\circ}\text{C}$

#### 2.4. Khuếch đại đoạn gen bằng PCR và phân tích trình tự DNA

Tất cả phản ứng PCR được thực hiện với tổng thể tích  $50\mu\text{L}$ /phản ứng bao gồm từ 10–50 ng DNA,  $25\mu\text{M}$  mỗi mỗi,  $25\mu\text{M}$   $\text{MgCl}_2$ ,  $25\mu\text{L}$  Taq PCR MasterMix (QIAGEN) và  $\text{H}_2\text{O}$ . Cặp mỗi đặc hiệu cho vi khuẩn lam cố định nitrogen sử dụng theo Roselers và đồng tác giả (2007) là *nifD*552-F: 5'TCCGK GGKGT DTCTC AGTC3' và *nifD*861-R: 5'CGRCW GATRT AGTTC AT3' cho đoạn gen đích khoảng 310 bp, được thiết kế để nhân một phần đoạn gen *nifD* từ vị trí 552 tới 861 ở trình tự *nifD* của chủng *Anabaena cylindrica* PCC 7122 (AF442506).

Phản ứng PCR được thực hiện với 1 chu kỳ biến tính trong 5 phút ở  $95^{\circ}\text{C}$ , tiếp theo là 35 chu kỳ (1 phút biến tính ở  $95^{\circ}\text{C}$ , 1 phút gắn mỗi ở  $52^{\circ}\text{C}$ , 1 phút kéo dài ở  $72^{\circ}\text{C}$ ), chu kỳ cuối là 15 phút ở  $72^{\circ}\text{C}$ . Tất cả các phản ứng được thực hiện trên máy Mastercycler pro S (Eppendorf, Đức). Sau khi có trình tự đoạn gen *NifD*, việc phân tích trình tự được thực hiện bằng phần mềm Bioedit và MEGA.

### 3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

#### 3.1. Kết quả phân lập 5 chủng vi khuẩn lam *Nostoc* từ đất trồng tỉnh Nghệ An

Trong số các mẫu đất trồng lúa và cây công nghiệp đã phân lập thành công 5 chủng vi khuẩn lam dạng sợi, có tế bào dị hình. Dựa vào đặc điểm hình thái quan sát trong quá trình phân lập, những chủng này được xác định là thuộc 5 loài *Nostoc*: *N. calcicola* Brébisson ex Bornet et Flahault 1888, *N. ellipsosporum* (Desmazières) Rabenhorst ex Bornet et Flahault 1888, *N. gelatinosum* Schousboe ex Bornet et Flahault 1888, *N. linckia* (Roth) Bornet et Flahault 1888,

*N. paludosum* Kützing ex Bornet et Flahault 1886. Đặc điểm hình thái cơ bản của 5 chủng như sau:

- Chủng *Nostoc calcicola* HN9-1a: Phân lập từ đất trồng lúa ở xã Hưng Xá, năm 2014. Tập đoàn dạng khối nhầy, lan rộng trên mặt đất, màu xanh lam; tế bào hình trứng hoặc hình cầu, rộng  $2,5 - 3,0\mu\text{m}$ ; tế bào dị hình hình cầu, đường kính  $4,0 - 5,0\mu\text{m}$ ; bào tử hình cầu hoặc hơi kéo dài, rộng  $4,0 - 5,0\mu\text{m}$ , dài  $6,0 - 7,0\mu\text{m}$  (Hình 1C).

- Chủng *Nostoc ellipsosporum* NH2X7: Phân lập từ đất trồng lúa ở xã Nghi Hoa, năm 2017. Tập đoàn dạng khối nhầy, lan rộng trên mặt đất, màu nâu; tế bào hình trụ, rộng  $4,0 - 5,0\mu\text{m}$ , dài  $6,0 - 10,8\mu\text{m}$ ; tế bào dị hình hình cầu hoặc ovan, rộng  $4,0 - 5,0\mu\text{m}$ , dài  $6,0 - 8,0\mu\text{m}$ ; bào tử hình elip hoặc ovan kéo dài, rộng  $5,0 - 5,8\mu\text{m}$ , dài  $6,8 - 12,7\mu\text{m}$  (Hình 1B).

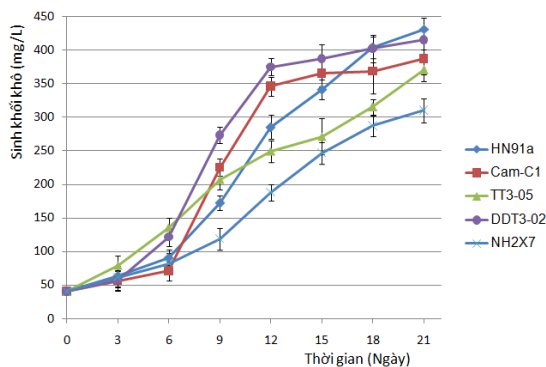
- Chủng *Nostoc gelatinosum* TT3-05: Phân lập từ đất trồng lúa ở xã Thọ Thành, năm 2017. Tập đoàn có nhiều chất nhầy màu nâu vàng; tế bào hình trụ hoặc hình trứng, rộng  $3,9 - 4,6\mu\text{m}$ , dài  $4,8 - 9,6\mu\text{m}$ ; tế bào dị hình hình cầu hoặc hình ovan, rộng  $6,4 - 6,7\mu\text{m}$ , dài  $8,7 - 9,4\mu\text{m}$ ; bào tử hình cầu hoặc gần giống hình cầu, rộng  $4,3 - 5,8\mu\text{m}$ , dài  $5,9 - 9,6\mu\text{m}$  (Hình 1C).

- Chủng *Nostoc linckia* Cam-C1: Phân lập từ đất trồng ổi ở xã Tân An, năm 2017. Tập đoàn hình cầu, màu xanh lam sẫm; tế bào hình trứng, màu xanh lam, rộng  $3,8 - 4,3\mu\text{m}$ , dài  $3,8 - 5,8\mu\text{m}$ ; tế bào dị hình hình cầu hoặc ovan, rộng  $5,0 - 6,0\mu\text{m}$ ; bào tử hình cầu hoặc hình cầu hơi kéo dài, đường kính  $5,5 - 6,5\mu\text{m}$  (Hình 1D).

- Chủng *Nostoc paludosum* DDT3-02: Phân lập từ đất trồng lúa ở xã Đô Thành, năm 2017. Tập đoàn nhỏ, tạo thành từng đám, màu xanh lam; tế bào hình trứng hoặc hình trụ, rộng  $3,8 - 4,6\mu\text{m}$ , dài  $3,6 - 6,0\mu\text{m}$ ; tế bào dị hình hình cầu hoặc hình trứng, lớn hơn tế bào sinh dưỡng; bào tử hình cầu hoặc hình cầu kéo dài, thỉnh thoảng tạo thành chuỗi ngắn, đường kính  $5,0 - 8,0\mu\text{m}$  (Hình 1E).

### 3.2. Sự sinh trưởng của 5 chủng vi khuẩn lam *Nostoc* phân lập từ đất trồng tỉnh Nghệ An

Kết quả nghiên cứu trình bày ở Hình 2 cho thấy 5 chủng vi khuẩn lam *Nostoc* đều sinh trưởng tốt trong môi trường BG-11. Trong đó, 3 chủng biểu hiện màu xanh lam (*Nostoc calcicola* HN9-1a, *N. linckia* Cam-C1, *N. paludosum* DDT3-02) sinh trưởng tốt hơn và đạt năng suất (387 – 431 mg sinh khối khô/L sau 21 ngày nuôi) cao hơn so với 2 chủng biểu hiện màu nâu, *N. gelatinosum* TT3-05 và *N. elliposporum* NH2X7 (310 - 370 mg sinh khối khô/L sau 21 ngày nuôi). Theo Lee RE (2008)[5], tất cả các loài vi khuẩn lam đều có sắc tố quang hợp C-phyocyanin và allophycocyanin, trong khi đó một số loài còn có thêm C-phycoerythrin và phycoerythrocyanin. Trong nghiên cứu này, chủng TT3-05 và NH2X7 có màu nâu, thể hiện rằng chúng có phycoerythrin và phycoerythrocyanin; đồng thời hàm lượng 2 sắc tố này cao hơn, lấn át C-phyocyanin và allophycocyanin. Đây có thể là nguyên nhân mà trong điều kiện ánh sáng trắng, sự sinh trưởng của 2 chủng màu nâu yếu hơn so với 3 chủng màu xanh.

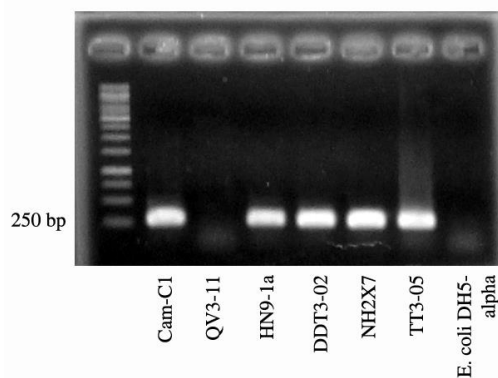


Hình 2. Sự sinh trưởng của 5 chủng *Nostoc* trong môi trường BG-11: *N. calcicola* HN9-1a, *N. elliposporum* NH2X7, *N. gelatinosum* TT3-05, *N. linckia* Cam-C1, *N. paludosum* DDT3-02.

### 3.3. Kết quả phân tích phân đoạn gen *NifD*

Trong nghiên cứu này, để khẳng định khả năng cố định nitrogen của 5 chủng vi khuẩn lam *Nostoc* phân lập từ đất trồng tỉnh Nghệ An, ngoài việc quan sát sự xuất hiện của tế bào dị hình (Hình 1), chúng tôi đã tiến hành thăm dò và phân tích trình tự một trong số các gen quy định tổng hợp enzym nitrogenase (gen *NifD*) bằng cặp mồi thiết kế đặc hiệu cho vi khuẩn lam [6]. Thí nghiệm đối chứng sử dụng chủng vi khuẩn lam không có tế bào dị hình *Pseudanabaena dictyothalla* QV3-11 phân lập từ đất trồng lúa tỉnh Nghệ An và chủng vi khuẩn *Escherichia coli* DH5-alpha cung cấp bởi Viện nghiên cứu hệ gen (Viện hàn lâm khoa học và công nghệ Việt Nam).

DNA của 5 chủng vi khuẩn lam *Nostoc*, chủng *P. dictyothalla* QV3-11 và chủng *E. coli* DH5-alpha được tách chiết và nhân đoạn gen *nifD* bằng PCR. Kết quả điện di trên bản gel agarose cho thấy sản phẩm PCR với cặp mồi *nifD* xuất hiện với khối lượng tương đương với băng marker 250 bp đối với tất cả 5 chủng vi khuẩn lam có tế bào dị hình (*N. calcicola* HN91a, *N. elliposporum* NH2X7, *N. gelatinosum* TT3-05, *N. linckia* Cam-C1, *N. Paludosum* ĐT3-02,). Ngược lại, sản phẩm PCR không có đối với chủng vi khuẩn lam không có tế bào dị hình *P. dictyothalla* QV3-11 và *E. coli* DH5-alpha (Hình 3).



Hình 3. Ảnh điện di sản phẩm PCR một phần gen *nif-D* của các chủng nghiên cứu.

Để khẳng định rằng sản phẩm PCR nên trên chính là gen *nifD*, chúng tôi đã tiến hành phân tích trình tự nucleotide của các sản phẩm này. Độ dài các sản phẩm PCR như sau: *N. calcicola* HN9-1a là 241 bp, *N. elliposporum* NH2X7 là 224 bp, *N. gelatinosum* TT3-05 là 233 bp, *N. linckia* Cam-C1 là 246, *N. paludosum* ĐT3-02

là 245 bp. Kết quả kiểm tra tính tương đồng với các trình tự gen *NifD* của các chủng có trong ngân hàng gen bằng chương trình BLAST trực tuyến cho thấy các trình tự nucleotide của các chủng nghiên cứu có mức độ tương đồng từ 96 % đến 98 % với một số chủng từ Ngân hàng gen (Bảng 1).

Bảng 1. Mức độ tương đồng gen *nifD* của các chủng vi khuẩn lam *Nostoc* phân lập từ đất trồng tỉnh Nghệ An với các chủng trên dữ liệu Ngân hàng gen.

TT	Chủng nghiên cứu	Chủng từ Ngân hàng gen có độ tương đồng cao nhất	Mức độ tương đồng
1.	<i>Nostoc calcicola</i> HN9-1a	<i>Nostoc piscinale</i> CENA21	97%
2.	<i>Nostoc elliposporum</i> NH2X7	<i>Nostoc</i> sp. NIES-4103	98%
3.	<i>Nostoc gelatinosum</i> TT3-05	<i>Nostoc</i> sp. NIES-4103	96%
4.	<i>Nostoc linckia</i> Cam-C1	<i>Nostoc</i> sp. NIES-2111	96%
5.	<i>Nostoc paludosum</i> DDT3-02	<i>Nostoc piscinale</i> CENA21	97%

Kết quả phân tích này cho phép nhận định rằng 5 chủng vi khuẩn lam *Nostoc* được phân lập đều có gen *NifD*. Chủng *P. dictyothalla* QV3-11 không có gen *NifD* cũng phù hợp với các kết quả nghiên cứu trước đây cho rằng chỉ một số loài không có tế bào dị hình có thể cố định nitơ (Lee RE, 2008)[4]. Chủng *E. coli* DH5-alpha đã được khẳng định là không có khả năng cố định nitơ.

#### 4. Kết luận

Năm chủng vi khuẩn lam *Nostoc* được phân lập từ đất trồng tỉnh Nghệ An bao gồm 3 chủng biểu hiện màu xanh lam (*N. calcicola* HN9-1a, *N. linckia* Cam-C1, *N. paludosum* ĐT3-02) và 2 chủng biểu hiện màu nâu (*N. elliposporum* NH2X7, *N. gelatinosum* TT3-05) trong điều kiện ánh sáng trắng. Trong môi trường BG-11 và ánh sáng đèn neon, 3 chủng màu xanh lam sinh trưởng tốt hơn và đạt năng suất (387 – 431 mg sinh khối khô/L sau 21 ngày nuôi) cao hơn so với 2 chủng màu nâu, *N. gelatinosum* TT3-05 và *N. elliposporum* NH2X7 (310 – 370 mg sinh khối khô/L sau 21 ngày nuôi). Tất cả 5 chủng vi khuẩn lam *Nostoc* đều có khả năng cố định nitrogen; đặc điểm này được nhận biết thông qua sự biểu hiện gen *NifD* và sự hình thành tế bào dị hình của chúng. Kết quả nghiên

cứ cũng cho thấy chủng vi khuẩn lam không có tế bào dị hình *Pseudanabaena dictyothalla* QV3-11 phân lập từ đất trồng lúa tỉnh Nghệ An không có khả năng cố định nitrogen. Những chủng *Nostoc* có khả năng cố định nitrogen này có thể làm nguồn nguyên liệu để nghiên cứu theo hướng sản xuất phân bón sinh học.

#### Tài liệu tham khảo

- [1] Mai Van Chung, Nguyen Ba Hoanh, Nguyen Duc Dien, Nguyen Le Ai Vinh (2017) *Nostoc calcicola* extract improved the antioxidative reponse of soybean to cowpea aphid. Bot Stud 58: 55.
- [2] Nguyễn Đức Diệm, Nguyễn Lê Ái Vinh, Nguyễn Đình San, Võ Hành (2017) Ảnh hưởng của dịch nuôi chủng vi khuẩn lam *Nostoc calcicola* HN-91a đến sinh trưởng và năng suất giống lúa tám thơm thử nghiệm ở huyện Hưng Nguyên, tỉnh Nghệ An. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Vinh 46 (3A): 13-19.
- [3] Komárek J (2013) Band 19/3 – Cyanoprokaryota. Heterocytous Genera in Freshwater flora of Central Europe, edited by Büdel B, Gärtner G, Kriennitz L, Schagerl M. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.
- [4] Neilan BA, Jacobs D, Goodman EA (1995), Genetic Diversity and Phylogeny of Toxic Cyanobacteria Determined by DNA Polymorphisms within the Phycocyanin Locus. Appl Environ Microbiol 61(11): 3875–3883.

- [5] Lee RE (2008) Phycology. Cambridge University Press, New York. and identification of cyanobacteria *nifD* genes. J Microbiol Methods 70: 550-556.
- [6] Roeselers G, Stal LJ, Loosdrecht MCM, Muyzer G (2007) Development of a PCR for the detection

## Evaluating the Growth and Nitrogen Fixation of *Nostoc* Cyanobacterial Strains Isolated from Agriculture Soils in Nghe An Province

Nguyen Duc Dien<sup>1</sup>, Nguyen Le Ai Vinh<sup>1</sup>, Nong Van Hai<sup>2</sup>

<sup>1</sup>School of Biology, Chemistry and Environment, Vinh University, 182 Le Duan, Vinh City, Vietnam

<sup>2</sup>Institute of Genome Research, VAST, 18 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

**Abstract:** *Nostoc*, widely distributed in cultivated soils, is one of the Cyanobacterial groups with filamental, hererocytous and autotrophic structures. This paper presents the results of isolating some *Nostoc* Cyanobacteria strains from selected cultivated soils in Nghe An province and evaluates their growth and nitrogen fixation for biomass production of bio-fertilizers. Five *Nostoc* strains were isolated, 3 of which looked blue-green (*Nostoc calcicola* HN9-1a, *Nostoc linckia* Cam-C1, *Nostoc paludosum* DT3-02) and the rest 2 looked brown (*Nostoc ellipsoforum* NH2X7, *Nostoc gelatinosum* TT3-05) in the white light. In BG-11 medium and neon light, the dried biomass productivity of the 3 blue-green strains (387 – 431 mg/L after 21 days of cultivation) was higher than that of the 2 brown strains' (310 – 370 mg/L after 21 days of cultivation). These *Nostoc* strains are nitrogen fixing Cyanobacteria, which has been confirmed through detecting and sequencing their *NifD* gene and heterocyst formation. The results also show that the non-heterocyst Cyanobacterial strain, *Pseudanabaena dictyothalla* QV3-11, also isolated from the cultivated soil in Nghe An province, did not have the ability to fix nitrogen. The isolated nitrogen fixing *Nostoc* strains can be the subject of further research on bio-fertilizer production.

**Keywords:** Cyanobacteria, *Nostoc*, cultivated soil, growth, nitrogen fixation, *NifD*.