

Bài báo nghiên cứu

**PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN VI KHUẨN NỘI SINH
CÓ KHẢ NĂNG CỐ ĐỊNH ĐẠM VÀ TỔNG HỢP IAA TỪ CÂY LÚA
(*Oryza sativa* L.) TRỒNG TẠI ĐỒNG THÁP VÀ LONG AN***Lê Thị Ánh Hồng¹, Châu Thị Hồng Đào²,Nguyễn Tường Vi², Dương Thị Hồng Đào¹, Bạch Ngọc Minh^{1*}¹Viện Khoa học Sự sống, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Việt Nam²Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam*Tác giả liên hệ: Bạch Ngọc Minh – Email: greensi02@gmail.com

Ngày nhận bài: 25-02-2025; Ngày nhận bài sửa: 22-4-2025; Ngày duyệt đăng: 05-08-2025

TÓM TẮT

Từ mẫu lúa thu ở Long An và Đồng Tháp, phân lập trên môi trường LGI đã thu được 48 chủng vi khuẩn nội sinh. Trong đó 9 chủng có khả năng cố định đạm với hàm lượng amoni được sinh ra từ 131,31 – 371,57 $\mu\text{g/mL}$ và 12 chủng có khả năng sinh tổng hợp chất kích thích sinh trưởng IAA từ 24.548 - 75.596 $\mu\text{g/mL}$. Tuyển chọn được 2 chủng có khả năng cố định đạm và sinh tổng hợp IAA cao nhất là chủng LV5-L1 và chủng LV1-R1. Khảo sát ảnh hưởng của 2 chủng này đến sinh trưởng của cây lúa, thí nghiệm bổ sung chủng LV5-L1 cho chiều dài thân 22,93 cm, chiều dài rễ 7,67 cm, số rễ 9,67, hàm lượng chlorophyll a 10,87 $\mu\text{g/ml}$ và chlorophyll b 5,5994 $\mu\text{g/ml}$ và chủng LV1-R1 cho chiều dài thân 21,63 cm, chiều dài rễ 7,10 cm, số rễ 10, hàm lượng chlorophyll a 10,77 $\mu\text{g/ml}$ và chlorophyll b 5.349 $\mu\text{g/ml}$. Bằng kỹ thuật PCR định danh chủng LV5-L1 có 98,35% tương đồng với *Bacillus subtilis* và chủng LV1-R1 có độ tương đồng 100% với *Paenibacillus provencensis*.

Từ khóa: Vi khuẩn nội sinh; Sinh tổng hợp IAA; Cố định đạm; Cây lúa**1. Giới thiệu**

Theo Tổ chức Lương thực và Nông nghiệp Liên hợp quốc (FAO, 2022), lúa gạo là nguồn lương thực chính của gần một nửa dân số thế giới, và trên 90% số gạo này được tiêu thụ ở châu Á. Ở Việt Nam, cây lúa là cây lương thực chính trong mục tiêu phát triển nông nghiệp để đảm bảo an ninh lương thực. Trong đó, hai tỉnh Đồng Tháp và Long An thuộc khu vực đồng bằng sông Cửu Long là vùng trọng điểm sản xuất lương thực, thực phẩm của cả

Cite this article as: Le, T. A. H., Chau, T. H. D., Nguyen, T. V., Duong, T. H. D., & Bach, N. M. (2025). Isolation and selection of endophytic bacteria capable of fixing nitrogen and synthesizing IAA from rice plants (*Oryza sativa* L.) in Dong Thap and Long An, Vietnam. *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, 22(10), 1912-1925. [https://doi.org/10.54607/hcmue.js.22.10.4754\(2025\)](https://doi.org/10.54607/hcmue.js.22.10.4754(2025))

* Các địa danh được nêu theo đơn vị hành chính tại thời điểm thực hiện nghiên cứu (trước khi Việt Nam sáp nhập các tỉnh thành, tháng 7/2025).

nước. Năm 2023, tổng sản lượng lúa Đồng Tháp và Long An lần lượt đạt 3,3 triệu tấn/năm và 3,067 triệu tấn/năm, nằm trong 10 tỉnh sản xuất lúa gạo nhiều nhất nước.

Các chất dinh dưỡng cần thiết cho quá trình sinh trưởng và phát triển của cây lúa chủ yếu là đạm, lân và kali và các yếu tố khoáng vi lượng, các chất dinh dưỡng này cây có thể hấp thụ từ đất. Tuy nhiên, trong quá trình canh tác độ phì nhiêu của đất sẽ giảm dần, do đó để tăng năng suất, người nông dân đã sử dụng phân bón hóa học. Những năm trước đây, người dân do thiếu kiến thức và trình độ canh tác nên sử dụng phân bón hóa học không đúng cách, bón phân không cân đối, trong thời gian dài sẽ gây ra những tác động tiêu cực đến môi trường, làm suy kiệt nguồn đất, gây hại đến sinh vật có ích và sức khỏe con người. Chính những tác động tiêu cực này đã thúc đẩy nhu cầu tìm kiếm giải pháp thay thế an toàn và hiệu quả hơn. Các nhà nghiên cứu đã ứng dụng vi sinh vật có ích phục vụ nông nghiệp trong đó vi khuẩn nội sinh là một trong những giải pháp tiềm năng cho nền nông nghiệp bền vững. Đây là nhóm vi sinh vật thúc đẩy sự phát triển của cây trồng do có các đặc tính tốt như khả năng cố định đạm, hòa tan lân, tổng hợp chất kích thích sinh trưởng IAA (indole-3-acetic acid), tăng hàm lượng dinh dưỡng khoáng, tăng khả năng kháng bệnh và giúp loại bỏ các chất gây ô nhiễm môi trường (Siciliano et al., 2001). Có hơn 200 chi vi khuẩn nội sinh từ các mô thực vật khác nhau như rễ, thân, lá. Những chi này thuộc về 16 ngành nội sinh có thể nuôi cấy và không thể nuôi cấy: *Acidobacteria*, *Aquificae*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Chlorobi*, *Cyanobacteria*, *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Deinococcus-thermus*, *Fusobacteria*, *Planctomycetes*, *Gemmatimonates*, *Nitrospira*, *Spirochaetes* và *Verrucomicrobia* (Malfanova et al., 2013; Sessitsch et al., 2012). Theo nhiều nghiên cứu đã thực hiện cho thấy các vi khuẩn nội sinh trên cây lúa thuộc ba ngành chính là *Proteobacteria*, *Firmicutes* và *Actinobacteria*, bao gồm các thành viên của *Azoarcus*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Gluconobacter*, *Stentrophomonas*, *Herbaspirillum*, *Pseudomonas*, *Serratia*, và *Streptomyces* (Ali et al., 2021).

Tại Việt Nam, đã có một số tác giả nghiên cứu, phân lập và tuyển chọn được nhiều chủng vi khuẩn nội sinh có các đặc tính tốt cho quá trình sinh trưởng của cây lúa tại nhiều địa phương như Hà Nội, Nam Định, Phú Yên, Thừa Thiên Huế (Hoang et al., 2022; Nguyen et al., 2021; Nguyen & Do, 2017; Pham et al., 2017; Van & Cao, 2014). Tại vùng đồng bằng sông Cửu Long đã có các nghiên cứu đánh giá được hiệu quả của vi khuẩn nội sinh đối với cây lúa (Ly et al., 2016; Nguyen et al., 2017; Vu, 2023). Các nghiên cứu trên đều cho thấy hiệu quả của các vi khuẩn nội sinh lên sự tăng trưởng của cây lúa như tăng chiều dài thân, chiều dài rễ, số lượng rễ... Tuy nhiên, hiệu quả của vi khuẩn nội sinh phụ thuộc hiệu tương tác vi khuẩn - cây chủ cũng như điều kiện sinh thái của môi trường, điều kiện canh tác của từng địa phương. Việc nghiên cứu và ứng dụng vi khuẩn nội sinh và vi khuẩn vùng rễ lúa có khả năng cố định đạm và tổng hợp IAA cho cây lúa ở đồng bằng sông Cửu Long là hướng

đi mang lại hiệu quả giúp tăng năng suất và đảm bảo sự phát triển nông nghiệp bền vững.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu là thân, rễ, lá lúa đang ở giai đoạn làm đòng tại huyện Lai Vung, tỉnh Đồng Tháp và tại 2 huyện Bến Lức và Thạnh Hóa, tỉnh Long An.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thu mẫu

Trên mỗi ruộng lúa nhỏ 5 cây lúa theo zig - zag cách bờ ruộng 0,5m để đảm bảo tính đồng nhất. Dùng tay tách nhẹ cây lúa và nhổ cả cây cho vào túi nylon đã được khử trùng và mang về phòng thí nghiệm để phân tích.

2.2.2. Phương pháp phân lập

Xử lý mẫu: mẫu được rửa sạch, cắt thành các đoạn khoảng 1 cm; sau đó, được khử trùng lần lượt bằng cồn 96%, Sodium hypochloride 1%, hydrogen peroxide 3% (mỗi bước 3 phút), và được rửa lại bằng nước cất vô trùng (Ladha et al., 1997).

Phân lập vi khuẩn nội sinh: Phân lập vi khuẩn nội sinh trên môi trường LGI (Lacto-glucose infusion). Mẫu thí nghiệm được nghiền nhỏ, khử trùng, sau đó vào ống nghiệm chứa môi trường LGI bán đặc, ủ trong tủ ấm ở 30°C từ 2-3 ngày. Quan sát sự xuất hiện của 01 lớp màng mỏng (pellicle) cách mặt môi trường nuôi khoảng 0,5 cm chỉ thị có sự hiện diện của vi khuẩn nội sinh. Cấy chuyển vi khuẩn nội sinh từ các màng mỏng này sang đĩa môi trường LGI đặc, ủ trong tủ ấm trong 02 ngày. Tiến hành cấy chuyển nhiều lần cho đến khi thu được khuẩn lạc thuần (Ladha et al., 1997).

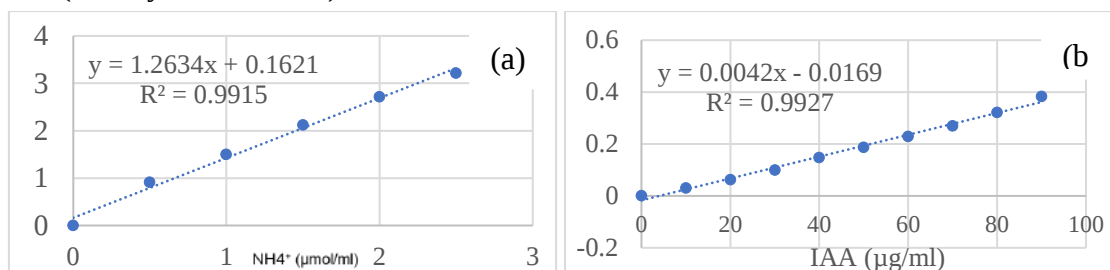
2.2.3. Khảo sát khả năng cố định đạm của vi khuẩn nội sinh cây lúa

Định tính khả năng cố định đạm: Vi khuẩn có khả năng cố định đạm có thể phát triển tốt trên môi trường Burk không đạm (Sucrose 10 g/l; KH_2PO_4 0,41 g/l; K_2HPO_4 0,52 g/l; Na_2SO_4 0,05 g/l; CaCl_2 0,2 g/l; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g/l; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,005 g/l; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,0025 g/l) có bổ sung 0,05% Bromothymol blue (Haerani et al., 2021). Các dòng vi khuẩn nội sinh cây lúa được cấy lên môi trường thạch Burk không đạm, theo dõi sự phát triển của vi khuẩn trong 48 giờ. Dòng vi khuẩn có khả năng phát triển trên môi trường Burk không đạm và làm đổi màu môi trường sang màu vàng thì có khả năng cố định đạm.

Định lượng khả năng cố định đạm: Tăng sinh chủng vi khuẩn nội sinh phân lập được trên môi trường dinh dưỡng cơ bản trong 72 giờ. Li tâm thu dịch trong và xác định nồng độ NH_4^+ được cố định bởi chủng vi khuẩn trong dịch nuôi bằng phương pháp so màu với thuốc thử Nessler ở bước sóng 450 nm (Abdelwahed et al., 2022), sử dụng đường chuẩn amoni (Hình 1a) để xác định kết quả.

2.2.4. Khảo sát khả năng tổng hợp IAA của vi khuẩn nội sinh cây lúa

Định tính khả năng tổng hợp IAA: Tăng sinh chủng vi sinh vật nội sinh phân lập được trên môi trường LB (Peptone 10 g/l; Yeast 5 g/l; NaCl 5 g/l), có bổ sung 0,5g/l L-tryptophan trong 72 giờ. Li tâm thu dịch trong, hút 1 ml dịch cho vào ống nghiệm với 1 ml thuốc thử Salkowski và ủ trong tối trong vòng 30 phút. Khả năng sinh tổng hợp IAA của các chủng được thể hiện theo mức độ đổi màu của dịch thử chuyển từ không màu sang vàng, hồng hay đỏ sẫm (Zahroya et al., 2020).



Hình 1. Đồ thị chuẩn (a) chuẩn IAA; (b) chuẩn NH_4^+

Định lượng khả năng tổng hợp IAA: Vi khuẩn được tăng sinh trong môi trường LB có bổ sung 0,5g/l L-tryptophan trong 72 giờ. Hút 2 ml phần dịch nuôi cấy sau ly tâm cho vào ống nghiệm với 8 ml thuốc thử Salkowski, ủ trong tối 30 phút. Đo hấp thụ màu ở bước sóng 530nm (El Khawas et al., 2000), dựa vào đồ thị đường chuẩn IAA (Hình 1b) để xác định được hàm lượng IAA có trong mẫu.

2.2.5. Khảo sát hiệu quả cố định đạm và tổng hợp IAA của các dòng vi khuẩn nội sinh lên cây lúa trong ống nghiệm

Chuẩn bị giống lúa: Ngâm hạt lúa trong dung dịch cồn 70 độ trong 3 phút để khử trùng bề mặt, sau đó loại bỏ cồn. Tiếp theo, ngâm hạt trong dung dịch hydrogen peroxide 3% trong 3 phút và rửa lại bằng nước cất vô trùng 3-4 lần. Gieo hạt lúa đã xử lý trên môi trường đĩa agar (1%) đã vô trùng và ủ ở nhiệt độ 33°C trong 2 ngày để hạt nảy mầm.

Chuẩn bị vi khuẩn: các dòng vi khuẩn được nuôi trên môi trường Burk lỏng không đạm, ở nhiệt độ 30°C, trong 2-3 ngày (mật độ 10^8 CFU/ml). Chọn 2 chủng vi khuẩn có khả năng cố định đạm và 2 chủng vi khuẩn sinh tổng hợp IAA cao nhất để tiến hành thí nghiệm.

Bố trí thí nghiệm để khảo sát hiệu quả của chủng vi khuẩn tuyển chọn đến sinh trưởng của cây lúa: Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm 9 nghiệm thức. NT1 là nghiệm thức đối chứng không bổ sung vi khuẩn nội sinh; từ NT2 – NT5 là các nghiệm thức bổ sung các chủng vi khuẩn có khả năng cố định đạm và sinh tổng hợp IAA trước khi gieo hạt; từ NT6 – NT9 là các nghiệm thức bổ sung các chủng vi khuẩn có khả năng cố định đạm và sinh tổng hợp IAA ở thời điểm 3 ngày sau khi hạt nảy mầm. Các chỉ tiêu theo dõi là: rễ mầm (cm); thân mầm (cm); khối lượng tươi (g); hàm lượng Chlorophyll.

2.2.6. Định danh các chủng vi khuẩn tuyển chọn bằng sinh học phân tử

Hai dòng vi khuẩn có khả năng cố định đạm và sinh tổng hợp IAA cao nhất được định danh bằng phương pháp giải trình tự gene 16S rDNA sử dụng kỹ thuật PCR. Sử dụng phần mềm BLAST để so sánh mức độ tương đồng của chuỗi trình tự vùng 16S rRNA và đối chiếu kết quả trên ngân hàng gene của NCBI (National Center for Biotechnology Information) để xác định tên loài.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

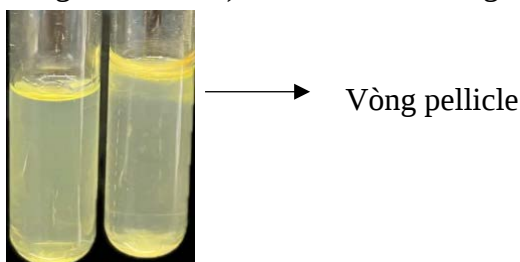
Xử lý các số liệu theo phương pháp thống kê Anova một nhân tố sử dụng phần mềm Minitab 16. Xử lý số liệu nghiên cứu theo phương pháp thống kê sinh học. Phương trình đường chuẩn vẽ trên phần mềm Excel với hệ số tương quan $R^2 \geq 0,95$.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Phân lập vi khuẩn nội sinh trong cây lúa

Từ 12 mẫu lúa được thu tại Long An và Đồng Tháp, có 48 dòng vi khuẩn được phân lập từ thân, rễ lúa trên môi trường LGI (Bảng 1).

Trong 48 dòng vi khuẩn được phân lập có 16 dòng phân lập từ rễ, 15 dòng phân lập từ thân và 16 dòng phân lập từ lá. Các dòng vi khuẩn đều có đặc tính chung là sinh trưởng và phát triển ở điều kiện vi hiếu khí trong môi trường bán rắn, các chủng phát triển thành lớp màng (pellicle màu vàng nhạt trong môi trường LGI bán rắn) cách mặt môi trường 2-5 mm (Hình 2).



Hình 2. Vòng pellicle xuất hiện trên môi trường nuôi cấy

Kết quả này tương đồng với nhiều nghiên cứu đã được thực hiện (Glickmann & Dessaux, 1995; Perin et al., 2006). Tuy nhiên, nghiên cứu của tác giả NTT Hà và cộng sự (2009) thì lớp màng cách mặt môi trường từ 0,5 - 1 cm. Sự khác biệt này có thể do các yếu tố như nguồn gốc vi khuẩn, thành phần môi trường nuôi cấy và điều kiện nuôi cấy (Nguyen et al., 2009).

Bảng 1. Các dòng vi khuẩn được phân lập từ cây lúa

Tỉnh	Huyện	Kí hiệu	Số lượng mẫu	Dòng vi khuẩn nội sinh phân lập môi trường LGI		
				Rễ	Thân	Lá
Long An	Bến Lức	BL	1	0	0	0
	Thạnh Hóa	TH1	1	0	0	0
	Thạnh Hóa	TH2	1	0	0	2
	Thạnh Hóa	TH3	1	0	2	0
	Thạnh Hóa	TH4	1	2	1	1
	Thạnh Hóa	TH5	1	4	3	1

Đồng Tháp	Lai Vung	LV1	1	2	2	4
	Lai Vung	LV2	1	3	5	2
	Lai Vung	LV3	1	1	1	1
	Lai Vung	LV4	1	1	1	2
	Lai Vung	LV5	1	1	1	2
	Lai Vung	LV6	1	1	0	2
				16	15	16
Tổng cộng			12	48		

3.2. *Khảo sát khả năng cố định đạm của vi khuẩn nội sinh cây lúa*

Các chủng vi khuẩn nội sinh được cấy lên môi trường Burk không đạm có bổ sung 0,05% Bromothymol Blue. Sau 48 giờ, ghi nhận có 16 chủng có khả năng cố định đạm thể hiện qua sự đổi màu môi trường sang màu vàng (gồm 5 chủng chuyển màu vàng đậm, 4 chủng chuyển màu vàng và 7 chủng chuyển màu vàng nhạt).

Định tính khả năng cố định đạm bằng phương pháp so màu với thuốc thử Nessler

Các chủng vi khuẩn cố định đạm có khả năng chuyển hóa nitơ thành amoni. Khả năng này được xác định bằng phản ứng với thuốc thử Nessler, làm đổi màu dịch thử từ vàng sang nâu. Cường độ màu sắc phản ánh mức độ tổng hợp amoni: nâu đậm - cao, vàng đậm - trung bình, vàng nhạt - thấp hoặc không có. Kết quả định tính 16 chủng vi sinh vật cho thấy có 5 chủng làm đổi màu môi trường sang nâu, 4 chủng làm đổi màu môi trường sang vàng đậm, 7 chủng làm đổi màu môi trường sang vàng vì vậy thí nghiệm định lượng khả năng cố định đạm chỉ thực hiện với 9 chủng làm đổi màu môi trường sang vàng đậm và nâu.

Định lượng khả năng cố định đạm của vi khuẩn nội sinh

Các chủng vi khuẩn được nuôi cấy trên môi trường NB trong 72 giờ. Kết quả định lượng hàm lượng amoni được trình bày ở Bảng 2. Các chủng vi sinh vật có khả năng cố định ni tơ có nồng độ amoni sinh ra dao động từ 131,31 – 371,57 $\mu\text{g/ml}$. Trong đó hai chủng có kết quả định lượng cao nhất lần lượt là LV5-L1 và LV6-L1 với hàm lượng NH_4^+ tương ứng là 371,57 $\mu\text{g/ml}$ và 290,5 $\mu\text{g/ml}$.

Bảng 2. *Kết quả khả năng cố định đạm của chủng vi sinh vật*

STT	Tên	Định tính	Nồng độ NH_4^+ ($\mu\text{g/ml}$)
1	LV5-L1	+++	371,57 ^a $\pm$ 17.60
2	LV6-L1	+++	290,50 ^b $\pm$ 43.20
3	LV6-L2	+++	288,94 ^b $\pm$ 27.80
4	LV2-L2	+++	233,50 ^{bc} $\pm$ 4.60
5	LV2-T1	+++	198,73 ^{cd} $\pm$ 7.24
6	LV1-L3	++	167,60 ^{de} $\pm$ 7.77
7	LV1-L1	++	141,10 ^{de} $\pm$ 27.10
8	LV2-R1	++	140,85 ^{de} $\pm$ 13.03
9	TH5-R1	++	131,31 ^e $\pm$ 8.74

Trong cùng một cột, các giá trị có kí tự theo sau (chữ cái in thường) các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác biệt về ý nghĩa thống kê theo kiểm định Turkey ($P < 0,01$).

Kết quả này cao hơn so với một số nghiên cứu đã thực hiện với khả năng cố định nitơ của các vi khuẩn phân lập trên cây ngô từ 2,335 $\mu\text{g/ml}$ đến 20,165 $\mu\text{g/mL}$ (Hoang et al., 2024); khả năng cố định nitơ trong các chủng phân lập từ rễ lúa tại Cần Thơ và Trà Vinh từ 2,2 $\mu\text{g/mL}$ đến 4,67 $\mu\text{g/mL}$ (Nguyen et al., 2013). Chủng LV5-L1 và LV6-L1 được tuyển chọn để tiếp tục khảo sát ảnh hưởng của chúng đến sinh trưởng của cây lúa.

3.3. *Khảo sát khả năng tổng hợp IAA của vi khuẩn nội sinh cây lúa*

Định tính vi khuẩn nội sinh có khả năng sinh tổng hợp chất kích thích sinh trưởng IAA

Khả năng sinh IAA của các chủng vi khuẩn được đánh giá dựa trên phản ứng đổi màu khi tiếp xúc với thuốc thử Salkowski. Mức độ chuyển màu từ hồng nhạt đến đỏ đậm hoặc không chuyển màu phản ánh khả năng sinh IAA của các chủng vi khuẩn. Trong 48 chủng được định tính khả năng sinh IAA có 5 chủng có khả năng sinh IAA cao khi đổi màu sang đỏ chiếm tỉ lệ 10,42%, 7 chủng có khả năng sinh IAA ở mức trung bình khi đổi màu sang hồng đậm chiếm tỉ lệ 14,58%, 7 chủng có khả năng sinh IAA thấp khi đổi màu sang hồng chiếm tỉ lệ 14,58% và 29 chủng không có khả năng sinh IAA hoặc sinh IAA rất thấp khi không đổi màu môi trường chiếm tỉ lệ 60,42%. Dựa trên kết quả định tính của các chủng vi sinh vật, sàng lọc được 12 chủng để tiến hành định lượng khả năng sinh IAA của chúng.

Định lượng khả năng sinh tổng hợp chất kích thích sinh trưởng IAA

Các chủng vi khuẩn được tăng sinh 72 giờ trong môi trường LB có bổ sung 0,5g L-tryptophan /l . Hàm lượng IAA trong dịch nuôi cấy được thể hiện trong Bảng 3. Các chủng vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp chất kích thích sinh trưởng IAA có nồng độ IAA sinh ra là rất khác nhau dao động từ 24,548 – 75,596 $\mu\text{g/mL}$. Trong đó hai chủng có kết quả cao nhất lần lượt là LV1-R1 (75,596 $\mu\text{g/mL}$) và LV2-L2 (56,854 $\mu\text{g/mL}$).

Bảng 3. *Kết quả hàm lượng IAA của các chủng sinh ra*

STT	Tên	Định tính	Hàm lượng IAA ($\mu\text{g/mL}$)
1	LV1-R1	+++	75,596 ^a $\pm$ 0,037
2	LV2-L2	+++	56,854 ^b $\pm$ 0,125
3	LV1-L1	+++	52,269 ^c $\pm$ 0,031
4	TH4-R1	+++	52,155 ^c $\pm$ 0,046
5	LV1-L2	+++	49,282 ^d $\pm$ 0,101
6	LV2-T2	++	44,804 ^e $\pm$ 0,054
7	LV2-T1	++	42,731 ^f $\pm$ 0,056
8	TH5-R3	++	34,456 ^g $\pm$ 0,132
9	LV1-L4	++	29,326 ^h $\pm$ 0,102
10	LV1-R2	++	29,268 ^h $\pm$ 0,066
11	LV2-T3	++	26,402 ⁱ $\pm$ 0,098
12	TH5-R2	++	24,548 ^j $\pm$ 0,075

Trong cùng một cột, các giá trị có kí tự theo sau (chữ cái in thường) các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác biệt về ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% theo kiểm định Turkey ($P < 0,01$).

Kết quả nghiên cứu này hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu đã được thực hiện, các chủng vi khuẩn nội sinh phân lập từ rễ cây Ớt cho hàm lượng IAA từ 12,7 - 67,5 µg/mL (Amaresan et al., 2014); các vi khuẩn sinh tổng hợp IAA trên rễ lúa tại Cần Thơ và Trà Vinh với hàm lượng IAA từ 28,6293 µg/mL - 42,135 µg/mL (Nguyen et al., 2013). Tuy nhiên kết quả thấp hơn kết quả của chủng vi khuẩn tuyển chọn từ ngô với hàm lượng IAA 115,907 µg/mL (Hoang et al., 2024). Chủng LV1-R1 và LV2-L2 được tuyển chọn lại để tiếp tục khảo sát ảnh hưởng của vsv tuyển chọn đến sinh trưởng của cây lúa.

3.4. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của vsv tuyển chọn đến sinh trưởng của cây lúa

Bốn chủng vi khuẩn LV5-L1, LV6-L1 với khả năng cố định đạm tốt và LV1-R1, LV2-L22 với khả năng sinh tổng hợp IAA cao được lựa chọn để tiến hành thí nghiệm bổ sung vào hạt lúa và gieo trong ống nghiệm chứa môi trường MS ở điều kiện phòng thí nghiệm.

- NT 1: Hạt lúa không bổ sung vi khuẩn.
- NT 2 - NT5: Hạt lúa được ngâm trong 100 µl vi khuẩn với mật độ 10^8 CFU/ml trong 3 giờ trước khi gieo hạt lúa trong môi trường MS.
- NT 6 - NT9: Sau khi hạt nảy mầm chuyển hạt mầm sang môi trường MS. Sau 3 ngày, tiến hành tưới 100 µl dịch vi khuẩn có mật độ 10^8 CFU/ml.

Kết quả khảo sát các chỉ tiêu sinh trưởng, phát triển của cây lúa bao gồm chiều dài thân, chiều dài rễ và số rễ của cây lúa ở giai đoạn 7 ngày được thể hiện ở Bảng 4 và Hình 3.

Bảng 4. Ảnh hưởng của 4 dòng vi khuẩn đến đặc tính của cây lúa

Nghiem thức	Chủng vi khuẩn	Chiều dài thân (cm)	Chiều dài rễ (cm)	Số rễ
NT 1	-	15,60 ^f ± 0,36	3,40 ^c ± 0,53	4,00 ^f ± 1,00
NT 2	LV5-L1	18,90 ^d ± 0,17	7,27 ^a ± 0,25	7,17 ^{cde} ± 0,29
NT 3	LV6-L1	20,50 ^c ± 0,45	5,50 ^b ± 0,50	6,00 ^e ± 0,00
NT 4	LV1-R1	17,73 ^e ± 0,25	5,47 ^b ± 0,55	8,00 ^{bcd} ± 0,00
NT 5	LV2-L2	15,80 ^f ± 0,76	3,77 ^c ± 0,40	6,00 ^e ± 0,00
NT 6	LV5-L1	22,93 ^a ± 0,40	7,67 ^a ± 0,35	9,67 ^{ab} ± 0,57
NT 7	LV6-L1	22,43 ^{ab} ± 0,11	6,93 ^a ± 0,12	6,67 ^{de} ± 0,58
NT 8	LV1-R1	21,63 ^b ± 0,15	7,10 ^a ± 0,10	10,00 ^a ± 0,00
NT 9	LV2-L2	16,67 ^{ef} ± 0,29	3,97 ^c ± 0,45	8,67 ^{abc} ± 0,57

Trong cùng một cột và cùng yếu tố ảnh hưởng, các giá trị trung bình có chữ số theo sau giống nhau thì không có nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$)

Chiều dài thân: kết quả của thí nghiệm này cho thấy các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn cho chiều dài thân cao hơn nghiệm thức không bổ sung vi khuẩn. Các nghiệm thức NT6 - NT9 bổ sung vi khuẩn sau khi hạt nảy mầm cho kết quả tốt hơn các nghiệm thức NT2 - NT5 bổ sung vi khuẩn trước khi gieo. Trong cùng một điều kiện bổ sung vi khuẩn thì các chủng có khả năng cố định đạm cho chiều dài thân lúa cao hơn các chủng vi khuẩn có khả

năng sinh tổng hợp chất kích thích sinh trưởng IAA. Trong đó chủng NT5 và nghiệm thức NT6 cho chiều dài thân tốt nhất lần lượt 22,93 cm và 22,43 cm.

Chiều dài rễ và số rễ: theo kết quả thí nghiệm, bổ sung vi khuẩn có ảnh hưởng tốt đến chiều dài rễ cao hơn nghiệm thức không bổ sung vi khuẩn. Thời điểm bổ sung vi khuẩn sau khi nảy mầm cũng cho thấy hiệu quả tốt hơn bổ sung trước khi nảy mầm. Kết quả thí nghiệm cho thấy NT6 và NT8 bổ sung chủng vi khuẩn nội sinh là LV5-L1 và chủng LV1-R1 cho kết quả chiều dài rễ tốt và số lượng rễ nhiều nhất lần lượt là 7,67 cm/9,67 và 7,10 cm/10.

Hàm lượng chlorophyll a: các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn đều cho hàm lượng chlorophyll a cao hơn so với đối chứng, trong đó NT6-LV5-L1 và NT8-LV1-L1 hàm lượng chlorophyll a lần lượt là 10,87 $\mu\text{g/mL}$ và 10,77 $\mu\text{g/mL}$ cao nhất trong các nghiệm thức. Hàm lượng chlorophyll b: các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn đều cho hàm lượng chlorophyll b cao hơn so với đối chứng, trong đó NT6-LV5-L1 và NT8-LV1-L1 hàm lượng chlorophyll b lần lượt là 5,599 $\mu\text{g/mL}$ và 5,349 $\mu\text{g/mL}$ cao nhất trong các nghiệm thức. Kết quả này cho thấy các nghiệm thức chủng vi khuẩn có hiệu quả trong việc tổng hợp chlorophyll a, chlorophyll b trong giai đoạn cây lúa 7 ngày tuổi (Bảng 5).

Bảng 5. Ảnh hưởng của 4 dòng vi khuẩn đến hàm lượng Chlorophyll

Nghiệm thức	Chủng vi khuẩn	Chlorophyll a ($\mu\text{g/mL}$)	Chlorophyll b ($\mu\text{g/mL}$)
NT 1	-	3,78 ^b $\pm$ 2,57	0,971 ^c $\pm$ 1,263
NT 2	LV5-L1	9,86 ^{ab} $\pm$ 4,01	2,984 ^{bc} $\pm$ 0,300
NT 3	LV6-L1	7,42 ^{ab} $\pm$ 0,19	5,088 ^{ab} $\pm$ 0,708
NT 4	LV1-R1	10,35 ^a $\pm$ 2,95	2,648 ^c $\pm$ 1,126
NT 5	LV2-L2	5,51 ^{ab} $\pm$ 1,55	1,520 ^c $\pm$ 0,949
NT 6	LV5-L1	10,87 ^a $\pm$ 1,87	5,599 ^a $\pm$ 0,124
NT 7	LV6-L1	8,95 ^{ab} $\pm$ 1,05	4,990 ^{ab} $\pm$ 0,664
NT 8	LV1-R1	10,77 ^a $\pm$ 2,45	5,349 ^a $\pm$ 0,492
NT 9	LV2-L2	6,87 ^{ab} $\pm$ 0,75	2,164 ^c $\pm$ 0,201

Trong cùng một cột và cùng yếu tố ảnh hưởng, các giá trị trung bình có chữ số theo sau giống nhau thì không có nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$)



Hình 3. Cây lúa sau 7 ngày

Kết quả trên cho thấy, NT6 chiều dài thân là 22,93 cm và chiều dài rễ là 7,67 cm cao nhất so với các nghiệm thức còn lại, NT6 được bổ sung vi khuẩn nội sinh có khả năng cố định đạm là LV5-L1. Số rễ NT8 là 10,00 cao nhất so với các nghiệm thức khác, NT8 được bổ sung vi khuẩn nội sinh có khả năng sinh tổng hợp chất kích thích sinh trưởng IAA là LV1-R1. NT6 có hàm lượng chlorophyll a 10,87 µg/ml và chlorophyll b 5,599 µg/ml cao nhất trong tất cả các nghiệm thức. NT8 có hàm lượng chlorophyll a là 10,77 µg/ml và chlorophyll b là 5,349 µg/ml cao thứ 2 trong tất cả các nghiệm thức chỉ sau NT6. Vi khuẩn cố định đạm có tác động hiệu quả đối với chiều dài thân, chiều dài rễ so và hàm lượng chlorophyll a,b với vi khuẩn sinh tổng hợp chất kích thích sinh trưởng IAA. Tuy nhiên, vi khuẩn sinh tổng hợp chất kích thích sinh trưởng IAA cho tác động hiệu quả số rễ cao hơn đối với vi khuẩn cố định đạm. Ngoài ra, tùy vào hình thức tác động của vi khuẩn sẽ cho kết quả khác nhau. Hình thức gieo hạt lúa vào môi trường, sau 3 ngày bổ sung 100 µl vk cho kết quả cao hơn về chiều dài thân, chiều dài rễ và số rễ so với hình thức ngâm hạt 3 giờ trong 100 µl vk trước khi gieo.

Đối chiếu với kết quả định lượng, chủng LV5-L1 và chủng LV1-R1 cũng là 2 chủng có khả năng cố định đạm và sinh tổng hợp IAA cao nhất. Hai chủng này được lựa chọn để tiến hành định danh bằng sinh học phân tử.

3.5. Định danh các chủng vi khuẩn tuyển chọn bằng sinh học phân tử

Định danh 2 chủng LV5-L1 và LV1-R1 bằng phương pháp giải trình tự gene 16S rRNA. Kết quả chạy PCR cho thấy chủng LV5-L1 cho sản phẩm dài 955 cặp base. Chủng LV5-L1 sau khi giải trình tự và tra cứu bằng công cụ Blast trên NCBI cho thấy chủng có độ tương đồng 98,35% với *Bacillus subtilis*. Đây là chủng được đánh giá là vi khuẩn an toàn cho con người, cây trồng và được ứng dụng nhiều trong nông nghiệp (Raweekul et al., 2016). Chủng LV1-R1 cho sản phẩm dài 570 cặp base. Chủng LV1-R1 sau khi giải trình tự và tra cứu bằng công cụ Blast trên NCBI cho thấy chủng có độ tương đồng 100% với *Paenibacillus provencensis*, chủng *Paenibacillus provencensis* là một loại vi khuẩn thuộc chi *Paenibacillus*, nổi tiếng với khả năng sản xuất các hợp chất sinh học có hoạt tính sinh học cao. Nhờ vào đặc tính này, vi khuẩn này đang được nghiên cứu và ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực, đặc biệt là trong nông nghiệp, y học và công nghiệp (Grady et al., 2016).

4. Kết luận

Đề tài đã phân lập được 48 chủng nội sinh trong rễ cây lúa. Tuyển chọn được LV5-L1, LV6-L1 có khả năng cố định đạm cao nhất lần lượt 10,321 µmol/mL và 8,070 µmol/mL NH₄⁺. Tuyển chọn được LV1-R1, LV2-L2 có khả năng sinh IAA cao nhất với hàm lượng IAA sinh ra lần lượt là 75,596 µg/mL, 56,854 µg/mL. Kết quả đánh giá hiệu lực của các dòng vi khuẩn lên cây lúa trong ống nghiệm cho thấy cả 4 chủng đều cho chỉ tiêu sinh trưởng cây lúa cao, trong đó chủng LV5-L1 và LV1-R1 cho chỉ tiêu sinh trưởng cao nhất. Định danh định danh bằng sinh học phân tử cho kết quả chủng LV5-L1 và LV1-R1 lần lượt là *Bacillus subtilis* và *Paenibacillus provencensis*. Cả hai chủng vi khuẩn được tuyển chọn đều được

ngiên cứu và chỉ ra có nhiều lợi ích cho cây trồng như cố định đạm, hòa tan phosphate, sản xuất hormone tăng trưởng và chống lại các loại sâu bệnh... Từ đó, cho thấy tiềm năng của hai chủng đã được tuyển chọn trong việc tạo ra các sản phẩm thực tiễn hỗ trợ cho sự phát triển của cây lúa.

- ❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.
- ❖ **Lời cảm ơn:** Nghiên cứu được tài trợ bởi nhiệm vụ KHCN độc lập cấp Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam (mã số TĐCPVS.01/23-25). Nhóm tác giả trân trọng cảm ơn Viện Khoa học Sự sống, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã hỗ trợ trong quá trình thực hiện nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abdelwahed, S., Trabelsi, E., Saadouli, I., Kouidhi, S., Masmoudi, A.S., Cherif, A., Mnif, W., & Mosbah, A. (2022). A new pioneer colorimetric micro-plate method for the estimation of ammonia production by plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). *Main Group Chemistry*, 21(1), 55-68. <https://doi.org/https://doi.org/10.3233/MGC-210077>
- Ali, M., Ali, Q., Sohail, M. A., Ashraf, M. F., Saleem, M.H., Hussain, S., & Zhou, L. (2021). Diversity and taxonomic distribution of endophytic bacterial community in the rice plant and its prospective. *International journal of molecular sciences*, 22(18), 10165. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ijms221810165>
- Amareesan, N., Jayakumar, V., & Thajuddin, N. (2014). Isolation and characterization of endophytic bacteria associated with chilli (*Capsicum annuum*) grown in coastal agricultural ecosystem. *Indian Journal of Biotechnology*, 13(2), 247-255
- El Khawas, H., Ibrahim, I., Anwar, H. M., & Hegazi, N. (2000). Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria producing indole-3-acetic acid from plants growing in Egypt. *Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology*, 25(10), 6493-6502. <https://doi.org/10.21608/jacb.2000.259828>
- Glickmann, E., & Dessaux, Y. (1995). A critical examination of the specificity of the Salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 61(2), 793-796.
- Grady, E. N., MacDonald, J., Liu, L., Richman, A., & Yuan, Z.-C. (2016). Current knowledge and perspectives of *Paenibacillus*: a review. *Microbial cell factories*, 15, 1-18. <https://doi.org/10.1186/s12934-016-0603-7>
- Haerani, N., Syam'un, E., Rasyid, B., & Haring, F. (2021). Isolation and characterization of N-fixing and IAA producing rhizobacteria from two rice field agro-ecosystems in South Sulawesi, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(5). <https://doi.org/https://doi.org/10.13057/biodiv/d220506>

- Hoang, T. L. A., Hoang, T. T., & Tran, V. C. (2024). Tuyển chọn chủng vi khuẩn hoạt lực cao về khả năng cố định nitơ và tổng hợp indole-3-acetic acid (IAA) từ đất trồng ngô tại huyện Phú Lương, tỉnh Thái Nguyên [Selection of highly active bacterial strains with the ability to fix nitrogen and synthesize indole-3-acetic acid (IAA) from corn soil in Phu Luong, Thai Nguyen]. *Journal of Forestry Science and Technology*, 13(2), 014-021. <https://doi.org/https://doi.org/10.55250/Jo.vnuf.13.2.2024.014-021>
- Hoang, T. N. T., Nguyen, D. N., Nguyen, N.C. L., Tu, M. H., & Tran, T. X. P. (2022). Phân lập và tuyển chọn dòng vi khuẩn nội sinh trong cây lúa ở Thừa Thiên Huế [Isolation and selection of endophytic bacteria strainson ricein Thua Thien Hue]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 6(1), 2859-2870. <https://doi.org/https://doi.org/10.46826/huaf-jasat.v6n1y2022.893>
- Ladha, J. K., Barraquio, W. L., & Revilla, L. (1997). Isolation of endophytic diazotrophic bacteria from wetland rice. In J. K. Ladha, F. J. de Bruijn, & K. A. Malik (Eds.), *Opportunities for biological nitrogen fixation in rice and other non-legumes: Papers presented at the Second Working Group Meeting of the Frontier Project on Nitrogen Fixation in Rice* (pp. 135–144). Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-94-011-7113-7>.
- Ly, N. T. X., Ngo, N. H., Le, V. D., Tran, V. D., & Trinh, Q. K. (2016). Hiệu quả của vi khuẩn nội sinh Burkholderia vietnamiensis lên sinh trưởng và năng suất lúa trồng trên ba vùng đất phèn đồng bằng sông Cửu Long [Application of plant-associated bacteria on the growth and yield of rice crops cultivated on acid sulphate soil in the Mekong Delta]. *CTU Journal of Science*, (44), 1-8. <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2016.459>
- Malfanova, N. V., Lugtenberg, B., & Berg, G. (2013). Endophytic bacteria with plant growth promoting and biocontrol abilities. *Leiden University Repository. Hal*, 15-37.
- Nguyen, T. H. T., Nguyen, D. T., Lai, T. D., Nguyen, K.N. T., & Dinh, T. H. (2021). Nghiên cứu ứng dụng vi khuẩn nội sinh Bacillus velezensis VY03 trong phòng chống bệnh bạc lá lúa [Study on application of endophytic bacterium Bacillus velezensis VY03 in controlling rice bacterial blight disease]. *Vietnam Journal of Agricultural Science and Technology*, 06(127), 63-70.
- Nguyen, T. M., & Do, T. M. T. (2017). Nghiên cứu phân lập và tuyển chọn vi sinh vật nội sinh từ vùng sinh thái đất mặn huyện Giao Thủy, tỉnh Nam Định [Research on isolation and selection of endophytic microorganisms from saline soil ecosystem of Giao Thuy, Nam Dinh]. *Vietnam Agricultural Science Journal*, 15(8), 1022-1032.
- Nguyen, T. P., Tran, V. B. N., & Tran, D. G. (2017). 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 [Investigation the effect of rice endophytic bacteria on some common rice varieties cultivated in the Mekong Delta region at their vegetative phase]. *The Dong Thap University Journal of Science*, (28), 77-83. <https://doi.org/10.52714/dthu.28.10.2017.514>
- Nguyen, T. P. O., Tran, B. M., & Nguyen, T. P. (2013). Phân lập và tuyển chọn một số dòng vi khuẩn đất vùng rễ lúa có khả năng cố định đạm và tổng hợp IAA [Isolation and selection several bacterial strains with the ability of fixing nitrogen and synthesizing Indole Acetic acid (IAA) from rice rhizosphere soil]. *Can Tho University Journal of Science*, (26), 82-88.

- Nguyen, T. T. H., Ha, T. T., & Cao, N. D. (2009). Phân lập và đặc tính của những dòng vi khuẩn nội sinh trong một số cây cỏ chăn nuôi [Isolation and characterization of endophytic bacteria in several forage grass cultivars]. *Vietnam Journal of Biotechnology*, 7(2), 241-250.
- Perin, L., Martínez-Aguilar, L., Castro-González, R., Estrada-De Los Santos, P., Cabellos-Avelar, T., Guedes, H., Reis, V., & Caballero-Mellado, J. (2006). Diazotrophic Burkholderia species associated with field-grown maize and sugarcane. *Applied and environmental microbiology*, 72(5), 3103-3110.
- Pham, T. H., Nguyen, T. S., & Nguyen, Q. T. (2017). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn nội sinh có khả năng cố định đạm, phân giải lân, tổng hợp IAA từ cây lúa [Isolation and selection of endophytic bacteria capable of nitrogen fixation, phosphorus solubilization, and IAA synthesis from rice plants]. *Science and Technology Journal of Agriculture & Rural Development*, 1, 28-34.
- Raweekul, W., Wuttitummaporn, S., Sodchuen, W., & Kittiwongwattana, C. (2016). Plant growth promotion by endophytic bacteria isolated from rice (*Oryza sativa*). *Science & Technology Asia*, 6-17. <https://doi.org/https://ph02.tci-thaijo.org/index.php/SciTechAsia/article/view/52111>
- Sessitsch, A., Hardoim, P., Döring, J., Weilharter, A., Krause, A., Woyke, T., Mitter, B., Hauberg-Lotte, L., Friedrich, F., & Rahalkar, M. (2012). Functional characteristics of an endophyte community colonizing rice roots as revealed by metagenomic analysis. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 25(1), 28-36. <https://doi.org/https://doi.org/10.1094/MPMI-08-11-0204>
- Siciliano, S.D., Fortin, N., Mihoc, A., Wisse, G., Labelle, S., Beaumier, D., Ouellette, D., Roy, R., Whyte, L.G., & Banks, M.K. (2001). Selection of specific endophytic bacterial genotypes by plants in response to soil contamination. *Applied and environmental microbiology*, 67(6), 2469-2475. <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/AEM.67.6.2469-2475.2001>
- Van, T. P. N., & Cao, N. D. (2014). Ảnh hưởng của vi khuẩn *Azospirillum amazonense* và *Burkholderia kururiensis* lên sự sinh trưởng và năng suất của lúa cao sản (giống ma lâm 213) trồng trên đất thịt pha cát ở thành phố Tuy Hòa, tỉnh Phú Yên [Effects of *Azospirillum amazonense* and *Burkholderia kururiensis* on high-yielding Rice (cv. Ma Lam 213) cultivated on Sandy Loam soil of Tuy Hoa City, Phu Yen Province]. *Can Tho University Journal of Science*, (33), 85-96. <https://doi.org/https://ctujsvn.ctu.edu.vn/index.php/ctujsvn/article/view/1514>
- Vu, V. D. (2023). *Nghiên cứu tuyển chọn các chủng vi khuẩn chịu mặn có đặc tính kích thích sinh trưởng thực vật và tác động đến biểu hiện gen liên quan đến đáp ứng mặn của cây lúa* [Study on selection of salt-tolerant bacterial strains with plant growth-promoting properties and effects on gene expression related to salt response in rice plants] [Doctoral thesis in biotechnology - Graduate University of Sciences and Technology].
- Zahroya, I., Mubarik, N., and Tjahjoleksono, A. (2020). Isolation and characterization of indole-3-acetic acid producing bacteria from red onion rhizosphere. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 457(1), 012046. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/457/1/012046>

**ISOLATION AND SELECTION OF ENDOPHYTIC BACTERIA CAPABLE OF FIXING
NITROGEN AND SYNTHESIZING IAA FROM RICE PLANTS (*Oryza sativa* L.)
IN DONG THAP AND LONG AN, VIETNAM**

Le Thi Anh Hong¹, Chau Thi Hong Dao²,

Nguyen Tuong Vi², Duong Thi Hong Dao¹, Bach Ngoc Minh^{1*}

¹*Institute of Tropical Biology, Vietnam Academy of Science and Technology, Vietnam*

²*Nong Lam University Ho Chi Minh City, Vietnam*

**Corresponding authors: Bach Ngoc Minh – Email: greensi02@gmail.com*

Received: February 25, 2025; Revised: April 22, 2025; Accepted: August 05, 2025

ABSTRACT

*This study aimed to isolate and select endophytic bacteria from rice plants collected in Long An and Dong Thap that can fix nitrogen and synthesize indole-3-acetic acid (IAA), a plant growth-promoting substance. Subsequent screening identified 9 strains with nitrogen-fixing capabilities, producing ammonia levels ranging from 131.31 to 371.57 µg/mL, and 12 strains capable of synthesizing IAA, producing IAA levels ranging from 24.548 to 75.596 µg/mL. The two strains with the highest nitrogen fixation and IAA synthesis abilities were selected: strain LV5-L1 and strain LV1-R1. Investigating the effects of the selected microorganisms on rice growth, strains LV5-L1 and LV1-R1 showed the highest growth indicators. Strain LV5-L1 exhibited a stem length of 22.93 cm, a root length of 7.67 cm, a root number of 9.67, a chlorophyll a content of 10.87 µg/ml, and a chlorophyll b content of 5.5994 µg/ml. Strain LV1-R1 showed a stem length of 21.63 cm, a root length of 7.10 cm, a root number of 10, a chlorophyll a content of 10.77 µg/ml, and a chlorophyll b content of 5.349 µg/ml. Using molecular biology techniques, strain LV5-L1 was identified as having 98.35% similarity to *Bacillus subtilis*, demonstrated the highest nitrogen-fixing ability, and produced the greatest overall plant growth. Meanwhile, strain LV1-R1 was identified as having 100% similarity to *Paenibacillus provencensis*, exhibited the highest IAA synthesis, and significantly increased root number.*

Keywords: Endophytic bacteria; IAA synthesis; Nitrogen fixation; Rice plant