

ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ CHỦNG VI KHUẨN NỘI SINH LÊN SINH TRƯỞNG CỦA CÂY KHOAI TÂY GIỐNG SOLARA *IN VITRO*

Đào Thị Hồng Vân¹, Đỗ Phương Khanh¹, Nguyễn Văn Hiếu²,
Nguyễn Mai Chi¹, Đinh Trường Sơn^{3,4}, Đặng Thị Thanh Tâm^{3*}

¹Trường Đại học Mở Hà Nội

²Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

⁴Viện Sinh học nông nghiệp, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: thanhtam@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 11.12.2023

Ngày chấp nhận đăng: 12.04.2024

TÓM TẮT

Ở Việt Nam, khoai tây (*Solanum tuberosum*) là một trong những cây trồng hàng hóa vụ đông có hiệu quả kinh tế cao. Bên cạnh việc bổ sung dinh dưỡng bằng phân bón vô cơ, hữu cơ thì việc sử dụng các vi sinh vật nội sinh thực vật có khả năng cố định đạm, phân giải lân, sản xuất IAA (Indole-3-acetic acid)... đã được chứng minh là hướng ứng dụng có lợi và bền vững cho sinh trưởng ở cây trồng. Nghiên cứu này được tiến hành nhằm phân lập và đánh giá khả năng ứng dụng của các chủng vi khuẩn nội sinh tiềm năng trong rễ khoai tây Solara trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*. Kết quả cho thấy cả tám chủng nghiên cứu đều có thể sinh tổng hợp IAA. Trong đó, ba chủng Iso-5, Iso-19 và Iso-21 có khả năng cố định đạm. Bên cạnh đó sáu chủng Iso-2, Iso-5, Iso-6, Iso-20, Iso-21 và Iso-22 có khả năng phân giải lân. Trong các chủng khảo sát, ba chủng Iso-2, Iso-12 và Iso-22 thể hiện khả năng kích thích sinh trưởng của cây khoai tây Solara cấy mô, làm tăng chiều cao cây, chiều dài rễ, khối lượng tươi và khối lượng khô. Như vậy, ba chủng Iso-2, Iso-12 và Iso-22 là các chủng tiềm năng có thể được sử dụng để tiếp tục đánh giá, ứng dụng trong điều kiện *in vivo* đến sự sinh trưởng, phát triển của cây khoai tây.

Từ khoá: Khoai tây, *in vitro*, nuôi cấy mô, Solara, vi khuẩn nội sinh.

Effects of some Endophytic Bacteria Isolates on the Growth of *In vitro* - Cultured Potato Plants cv. Solara

ABSTRACT

In Vietnam, potato (*Solanum tuberosum*) is one of the winter crops with high economic efficiency. In addition to inorganic and organic fertilizers, the use of plant endophytic microorganisms with the ability to fix nitrogen, solubilize phosphate, and produce IAA has been proven to be a beneficial and sustainable approach for promoting crop growth. This study was conducted to isolate and investigate the applicability of eight endophytic bacterial isolates on *in vitro* Solara potato plants. The data indicated that all eight isolates were able to synthesize IAA. In addition, three isolates (Iso-5, Iso-19, and Iso-21) were able to fix nitrogen. Moreover, six isolates (Iso-2, Iso-5, Iso-6, Iso-20, Iso-21, and Iso-22) were able to solubilize phosphate. Three isolates, including Iso-2, Iso-12 and Iso-22 had the ability to stimulate the growth of tissue-cultured Solara potato plants by improving plant height, root length, fresh weight, and dry weight. In conclusion, three isolates (Iso-2, Iso-12, and Iso-22) are potential bacterial isolates could be used in *in vivo* testing on the growth and development of potatoes.

Keywords: Potato, *in vitro*, tissue culture, endophytic microorganisms.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Khoai tây (*Solanum tuberosum*) là cây trồng ngắn ngày lấy củ được trồng rộng rãi nhất

trên thế giới và đứng thứ 4 về mặt sản lượng tươi (De Paula & cs., 2023). Trong sản xuất khoai tây, để thu được năng suất cao cần cung cấp đủ phân bón vô cơ, hữu cơ, trong đó có phân

hóa học. Bên cạnh việc bổ sung dinh dưỡng bằng phân bón vô cơ, hữu cơ, việc sử dụng các chế phẩm vi sinh vật hữu hiệu có khả năng cố định đạm, phân giải lân, sản xuất IAA... đã được chứng minh là có lợi cho cây trồng (Hidalgo & cs., 2022; Xiao & cs., 2022). Chính vì vậy, hướng nghiên cứu ứng dụng các chủng vi sinh vật hữu hiệu có trong tự nhiên là có ý nghĩa và cần thiết. Trong tự nhiên, thực vật luôn sống chung cùng với rất nhiều chủng loại vi sinh vật trong đó có nhóm vi sinh vật có thể được tìm thấy ở bên trong thực vật (nội sinh) hoặc ở vùng rễ bên ngoài như vi sinh vật vùng rễ. Vi sinh vật có khả năng thúc đẩy tăng trưởng thực vật, có thể có tác động tích cực đến sinh trưởng của cây trồng thông qua các cơ chế khác nhau như sinh tổng hợp chất điều hòa sinh trưởng thực vật IAA, chất dinh dưỡng (cố định nitơ, phân giải lân), giảm lượng ethylene, giảm stress, tổng hợp kháng sinh... (Marques & cs., 2010; Etesami & cs., 2013; Sánchez-Cañizares & cs., 2017; Dinh & cs., 2020; Nguyễn Thị Hiếu Thu & cs., 2021; Dao & cs., 2023).

Việc sử dụng vi khuẩn nội sinh thực vật là một trong những giải pháp thúc đẩy sản xuất khoai tây bền vững. Chi *Bacillus* chứa hơn ba trăm loài có khả năng thích ứng mạnh với môi trường nên có vai trò quan trọng trong các hoạt động nông nghiệp. Một số vi khuẩn nội sinh phân lập từ khoai tây như chủng *Bacillus* K-9 hoặc *Peribacillus* sp. có khả năng kích thích sinh trưởng, tăng năng suất khoai tây (Shuang & cs., 2022; Wang & cs., 2022). Những tác động tích cực của vi khuẩn nội sinh đến cây trồng cho thấy việc phân lập và lây nhiễm vi khuẩn nội sinh có lợi vào cây chủ có thể được áp dụng trong thực tiễn nhằm cải thiện khả năng bảo vệ thực vật, nâng cao năng suất cây trồng (Frommel & cs., 1991; Nowak & cs., 1998; Nguyễn Thị Hiếu Thu & cs., 2021).

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích phân lập, khảo sát khả năng tổng hợp IAA, cố định đạm, phân giải lân của một số vi khuẩn nội sinh phân lập từ rễ cây khoai tây và đánh giá ảnh hưởng của việc đồng nuôi cấy một số chủng vi khuẩn nội sinh phân lập được đến sinh trưởng của cây khoai tây *Solara* trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Các rễ nhỏ còn nguyên vẹn (đường kính khoảng 1-2mm) được thu thập từ cây khoai tây *Solara* trồng trên đồng ruộng giai đoạn 80 ngày sau trồng, 8 chủng vi sinh vật nội sinh phân lập được từ rễ cây khoai tây và cây khoai tây *Solara in vitro*.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khử trùng rễ và phân lập vi khuẩn nội sinh

Các rễ khoai tây không bị dập nát của cây khoai tây khỏe mạnh được rửa dưới vòi nước chảy trong khoảng 15 phút. Sau đó, rễ được cắt bỏ hai đầu và tráng bằng cồn 70% trong 30 giây rồi khử trùng bề mặt bằng NaOCl trong 20 phút. Rễ được rửa sạch bằng nước khử trùng ba lần, mỗi lần rửa 5 phút. Để khẳng định sự thành công của quá trình khử trùng, 100µl nước rửa lần cuối được sử dụng để cấy lên bề mặt môi trường Luria Broth (LB) đặc và giữ ở 27°C trong 3 ngày để kiểm tra xem có khuẩn lạc nào còn sống sót hay không. Rễ sau khử trùng bề mặt và đã được xác nhận là vô trùng được nghiền trên đĩa petri và pha loãng và cấy lên môi trường LB. Sau 2 ngày, các khuẩn lạc đơn lẻ có sự khác biệt về hình thái được thu thập, bảo quản trong ống Eppendorf chứa 15% glycerol và giữ ở -20°C cho các thí nghiệm tiếp theo (Dao & cs., 2023).

2.2.2. Định lượng axit indole axetic (IAA)

Các chủng vi khuẩn (08 chủng) được nuôi trong môi trường LB có bổ sung 100 mg/l L-tryptophan và lắc ở tốc độ 180 vòng/phút, ở 30°C trong 72 giờ. Dịch nuôi cấy được ly tâm ở tốc độ 10.000 vòng/phút trong 10 phút. 1ml dịch nổi được trộn với 2ml thuốc thử Salkowski (15ml FeCl₃ 0,5M; 300ml H₂SO₄ 98%; 500ml nước cất khử trùng). Hỗn hợp hình thành màu hồng cho thấy sự có mặt của IAA. Hàm lượng IAA trong dung dịch được định lượng bằng cách đo độ hấp thụ ở bước sóng 530nm bằng Máy quang phổ Spectro SC (Labomed, Inc., Los Angeles, CA, USA). Nồng độ IAA được tính dựa trên đồ thị đường chuẩn IAA (Etesami & cs., 2013).

2.2.3. Định lượng khả năng phân giải lân

Khả năng phân giải lân được xác định bằng phương pháp Fiske & Subbarow (1925). Các chủng vi khuẩn được nuôi trong bình tam giác Erlenmeyer (100ml) chứa 45ml môi trường Pikovskaya ở 28°C trong máy lắc với tốc độ 120 vòng/phút trong 5 ngày. Dịch nuôi được ly tâm ở tốc độ 8.000 vòng/phút trong 5 phút ở 4°C, 1.000µl dịch nổi được bổ sung 50µl amoni molybdat (2,5%) và một giọt SnCl₂ (2,5%). Dung dịch được giữ ở nhiệt độ phòng trong 30 phút và được đo ở bước sóng 660nm bằng máy quang phổ Spectro SC (Labomed, Inc., Los Angeles, CA, USA). Nồng độ photphat được định lượng dựa trên phương trình đường chuẩn photphat.

2.2.4. Định lượng khả năng cố định đạm

Khả năng cố định đạm của các chủng phân lập được định lượng bằng thuốc thử Nessler. Thuốc thử Nessler có thành phần: 10g HgI₂ và 7g KI được hòa tan trong nước lọc hấp khử trùng sau đó trộn với dung dịch NaOH (16g NaOH trong 50ml nước) và được định mức thành 100ml với nước cất vô trùng. Thuốc thử Signette được chuẩn bị như sau: hòa tan 200g kali natri tartrat trong 500ml nước nóng. Thuốc thử Nessler và Seignette được chuẩn bị ngay trước khi phân tích. Các chủng vi sinh vật được nuôi cấy trên môi trường lỏng Ashby có bổ sung 0,5 g/l tryptophan và 10 g/l mannitol, lắc ở tốc độ 180 vòng/phút trong 3 ngày ở 28°C. Dịch nuôi cấy sau đó được ly tâm ở tốc độ 8.000 vòng/phút trong 5 phút ở 4°C. 1.000µl dịch nổi được chuyển sang ống Eppendorf mới, bổ sung 40µl thuốc thử Seignette và 40µl thuốc thử Nessler, trộn đều và giữ ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Khả năng cố định đạm được định lượng thông qua xác định độ hấp thụ bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 410 nm bằng Máy quang phổ Spectro SC (Labomed, Inc., Los Angeles, CA, USA) (Marques & cs., 2010).

2.2.5. Khảo sát tác động của các chủng giống vi sinh vật lên cây khoai tây Solara *in vitro*

Mẫu cấy khoai tây Solara *in vitro* được chuẩn bị bằng cách cắt ngang thân cây thành các đoạn, mỗi đoạn có một đốt mang mầm ngủ (chồi nách)

và được cấy vào bình trụ chứa 45-50ml môi trường Murashige và Skoog (MS) (Murashige & Skoog, 1962) có bổ sung 6 g/l agar. Các chủng vi khuẩn nội sinh được nuôi cấy qua đêm trong môi trường LB lỏng để đạt giá trị OD₆₀₀ trong khoảng 0,8-1,2. Môi trường nuôi cấy được ly tâm ở tốc độ 3.000g trong hai phút. Sinh khối tế bào vi khuẩn được pha loãng với môi trường lỏng MS đến giá trị OD₆₀₀ là 0,01. Sử dụng 200µl dịch vi khuẩn pha loãng để lây nhiễm với mẫu cấy trong mỗi bình, lưu ý xoay đều bình trụ để dung dịch vi khuẩn được trải đều trên bề mặt môi trường và tiếp xúc trực tiếp với mẫu cấy. Mẫu cấy được nuôi ở nhiệt độ 24-25°C, cường độ chiếu sáng 2.000lux, quang chu kỳ chiếu sáng là 16 giờ sáng, 8 giờ tối, độ ẩm 60%. Số liệu sinh trưởng của cây khoai tây *in vitro* được thu thập sau 4 tuần đồng nuôi cấy với vi khuẩn.

2.2.6. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm InfoStat (phiên bản 2012). Các chỉ tiêu theo dõi được phân tích bằng phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định LSD (Least Significant Difference Test) ở mức xác suất 5% (P < 0,05) để so sánh sự khác biệt giữa các công thức. Phân tích tương quan được thực hiện bởi phần mềm Microsoft Excel Microsoft 365 MSO (Phiên bản 2308).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và xác định khả năng sinh tổng hợp IAA, phân giải lân, cố định đạm của các chủng giống vi khuẩn nội sinh trong rễ khoai tây

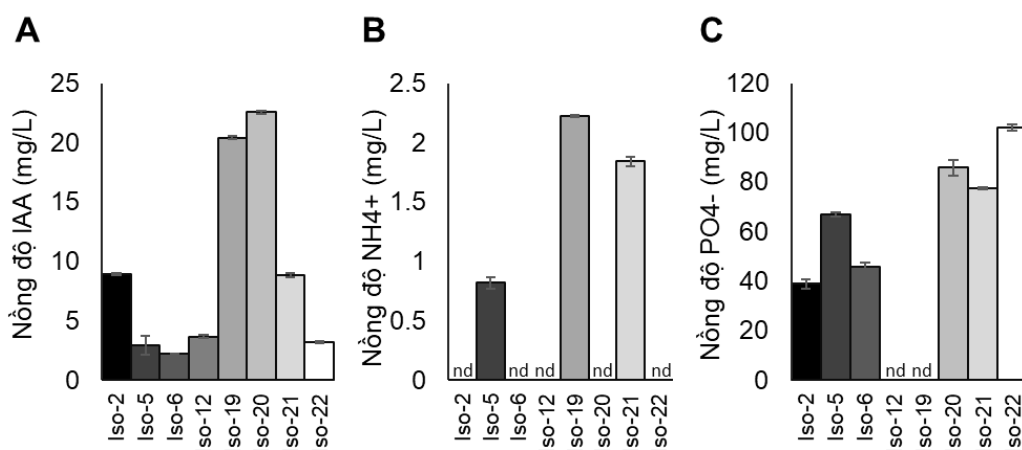
Từ mẫu vật rễ khoai tây ở ngoài đồng ruộng, chúng tôi đã phân lập và thu được 8 chủng vi khuẩn nội sinh khác nhau về hình thái và màu sắc (hình tròn, hình bầu dục, màu vàng...). Kết quả này chứng tỏ sự đa dạng về hình thái của vi sinh vật phân lập được trong các mẫu rễ khoai tây lựa chọn. Các chủng vi khuẩn tiếp tục được pha loãng và cấy ria trên môi trường LB rắn để làm thuần. Trong các nghiên cứu lựa chọn các chủng vi sinh vật hữu hiệu, có nhiều cơ chế để giải thích tác dụng thúc đẩy tăng trưởng thực vật của vi khuẩn nội sinh có thể bao gồm quá trình cố định đạm, sản xuất IAA hoặc hòa tan photphat

(Pageni & cs., 2014; Hossain & cs., 2023). Do đó, sau khi làm thuần, 8 chủng giống có sự khác biệt về hình dạng, màu sắc được lựa chọn tiếp tục được khảo sát khả năng sinh tổng hợp IAA, cố định đạm và phân giải lân. Kết quả được thể hiện trên hình 1.

Như đã biết, IAA là hormone thực vật đóng vai trò quan trọng trong sự sinh trưởng và phát triển của thực vật. Kết quả thu được cho thấy cả 8 chủng giống vi sinh vật nội sinh phân lập được đều có khả năng sinh tổng hợp IAA (Hình 1A). Đặc biệt, chủng giống Iso-20 có khả năng sinh IAA vượt trội và đạt 22,6 mg/l. Khả năng sinh tổng hợp IAA thấp nhất được thấy ở chủng giống Iso-6 chỉ với 2,2 mg/l. Nghiên cứu của Pageni & cs. (2014) cho thấy mức độ sản xuất IAA của các chủng vi khuẩn nội sinh trong cây khoai tây là từ 3,5-6,7 mg/l. Thêm vào đó, nghiên cứu trên các chủng vi khuẩn nội sinh từ vùng sinh thái đất phèn huyện Kiến Thụy, Hải Phòng cho thấy khả năng sinh tổng hợp IAA dao động từ 12,88-89,74 mg/l (Nguyễn Thị Minh, 2017). Nghiên cứu trên 6 chủng vi sinh vật nội sinh phân lập từ rễ cây khoai tây cũng cho thấy khả năng sản xuất IAA của các chủng dao động từ 1,76 mg/l đến 22,69 mg/l (Dao & cs., 2023). Như vậy, khả năng sinh tổng hợp IAA của các chủng giống là có sự khác biệt khá lớn trong cùng một nghiên cứu và trong các nghiên cứu khác nhau. Điều này là hoàn toàn dễ hiểu bởi

các chủng giống phân lập được có thể khác loài, khác chi hoặc khác họ.

Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra rằng khả năng cố định đạm của 8 chủng giống vi sinh vật phân lập được khá khác nhau (Hình 1B). Năm trong số 8 chủng giống không có khả năng cố định đạm bao gồm: Iso-2, Iso-6, Iso-12, Iso-20, Iso-22. Chủng giống Iso-19 có hoạt tính cố định đạm cao nhất (2,2 mg/l). Việc sử dụng vi sinh vật có khả năng cố định đạm sinh học có thể là một trong những phương pháp thay thế tốt nhất cho phân nitơ hoá học và có thể góp phần vào sự phát triển bền vững của nông nghiệp (Soumare & cs., 2020; Rana & cs., 2023). Có nhiều vi khuẩn nội sinh cố định đạm đã được phân lập từ cây trồng và cải thiện năng suất cây trồng khi được lây nhiễm lại như *Burkholderia vietnamiensis* MGK3 phân lập từ lúa (Govindarajan & cs., 2008), *Burkholderia vietnamiensis* MG43 phân lập từ mía (Govindarajan & cs., 2006). Trên đối tượng cây khoai tây, các nghiên cứu đã chỉ ra rằng vi khuẩn *Bacillus cereus*, *Succinivibrio dextrinosolvens* và *Lactobacillus acidophilus* có khả năng cố định đạm lần lượt là 0,7, 0,42 và 0,5mg nitơ/l trong đó *B. cereus* có thể sử dụng làm vào mục tiêu kích thích tăng trưởng (Dos Santos & cs., 2020; Panetto & cs., 2023). Thêm vào đó, một số chủng vi khuẩn nội sinh trong khoai tây có khả năng cố định đạm đã được thử nghiệm và chứng minh có tác động tốt tới sinh trưởng của cây khoai tây Solara *in vitro* (Dao & cs., 2023).



Ghi chú: Số liệu biểu thị trên hình là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại ± sai số chuẩn. nd: không phát hiện được.

Hình 1. Khả năng sinh tổng hợp IAA (A), cố định đạm (B) và phân giải lân (C) của 8 chủng giống vi khuẩn nội sinh trong rễ khoai tây

Đối với chỉ tiêu khả năng phân giải photphat, 2 trong số 8 chủng giống vi sinh vật phân lập được không thể hòa tan photphat (Iso-12 và Iso-19) và 6 chủng giống còn lại có thể phân giải lân khó tan ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) với hiệu quả dao động từ 38,86 mg/l (Iso-2) đến 101,95 mg/l (Iso-22). Nghiên cứu tương tự đã chứng minh, vi sinh vật phân lập vùng rễ lúa có khả năng giải phóng photpho từ ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) cao như *Enterobacter*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Klebsiella* và *Serratia* có thể được áp dụng trên ruộng lúa (Prasanna & cs., 2011). Etesami & cs. (2013) đã phân lập thành công 150 chủng vi khuẩn nội sinh và từ vùng rễ cây cải dầu (*Brassica napus* L.) và tìm được 17 chủng có thể hòa tan photphat. Trong khi đó, nghiên cứu trên 6 chủng vi khuẩn nội sinh phân lập từ rễ khoai tây cho thấy có bốn chủng phân lập được có thể phân giải lân và dao động từ 49,64 g/l đến 67,98 mg/l (Dao & cs., 2023). Từ các kết quả nghiên cứu trên cho thấy 8 chủng giống vi sinh vật nội sinh phân lập có các đặc tính có lợi và có tiềm năng sử dụng cho mục tiêu kích thích sinh trưởng thực vật.

3.2. Khảo sát hiệu quả kích thích sinh trưởng của các chủng giống vi sinh vật nội sinh trên cây khoai tây Solara trong điều kiện *in vitro*

Để có thể sử dụng các chủng vi khuẩn nội sinh phân lập được vào thực tiễn sản xuất, các chủng này được đánh giá khả năng kích thích sinh trưởng trong điều kiện *in vitro* (Hình 2). Kết quả đánh giá tác động của 8 chủng vi khuẩn nội sinh lên sinh trưởng của cây khoai tây Solara *in vitro* cho thấy chúng không có tác động tới số lá và khối lượng lá tươi, không có chủng nào làm giảm sinh trưởng của các chỉ tiêu theo dõi bao gồm: chiều dài thân, chiều dài rễ, khối lượng tươi và khối lượng khô. Đặc biệt, hai chủng giống Iso-12 và Iso-22 có tác dụng làm tăng chiều cao cây khoai tây Solara *in vitro*, một số chủng giống khác có ảnh hưởng nhưng không rõ ràng (Hình 2A). Đối với chỉ tiêu tăng trưởng rễ, có 6 chủng (Iso-2, Iso-5, Iso-6, Iso-12, Iso-19, Iso-22) trong tổng số 8 chủng có tác động làm tăng chiều dài rễ từ 2,03-5,37 lần so với công thức đối chứng

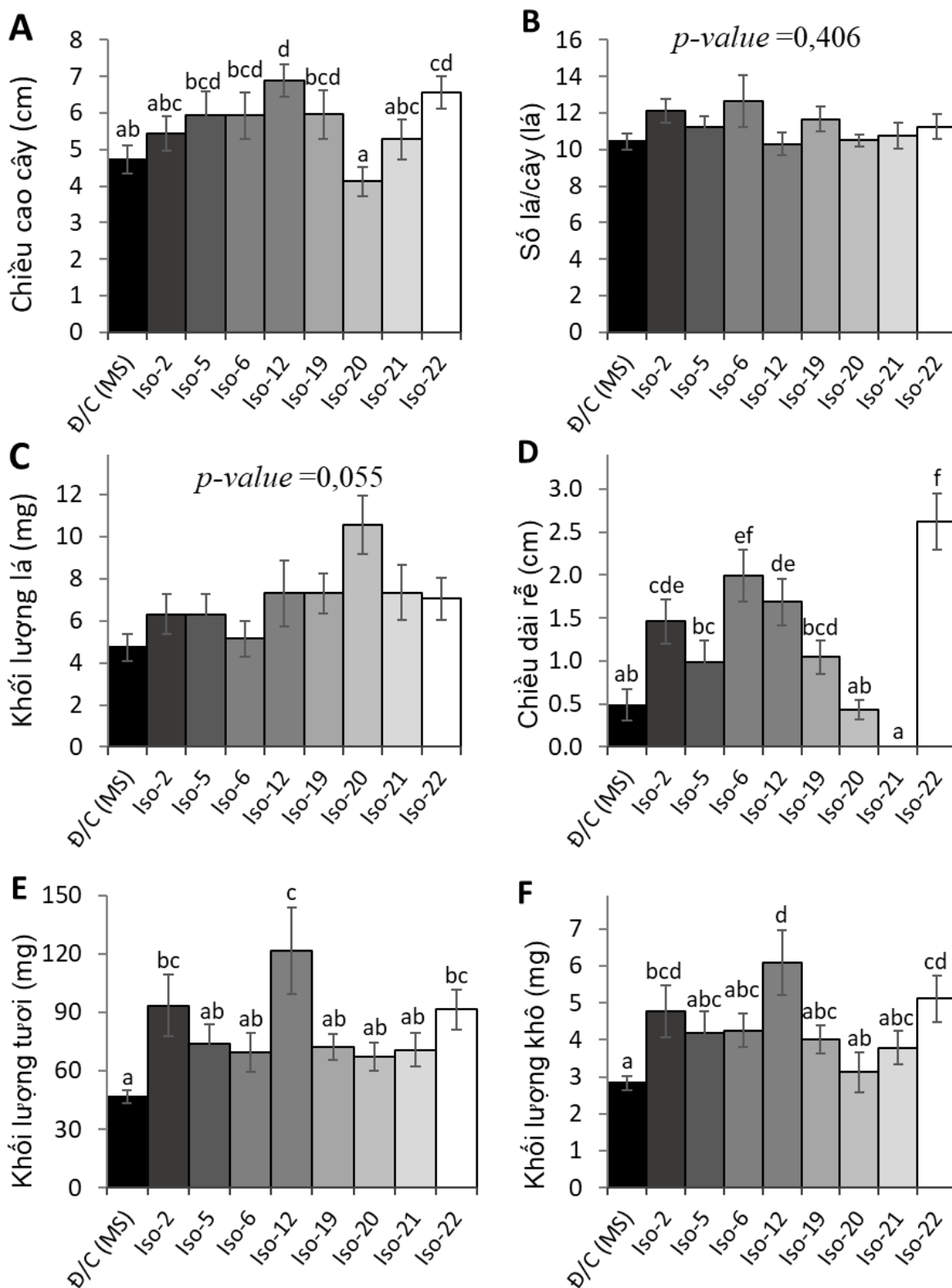
trong đó các chủng Iso-2, Iso-6, Iso-12, Iso-22. Sự khác biệt về chiều dài rễ của 6 chủng này là khác biệt có ý nghĩa thống kê. Điều khá đặc biệt là chủng Iso-21 ức chế hoàn toàn sự ra rễ của cây khoai tây Solara *in vitro* (Hình 2D). Các chỉ tiêu khối lượng tươi và khối lượng khô của cây khoai tây Solara *in vitro* sau khi được đồng nuôi cấy với 8 chủng đều tăng tương ứng là từ 1,4-2,6 lần (khối lượng tươi) và 1,1-2,1 lần (khối lượng khô). Cây khoai tây được đồng nuôi cấy với các chủng Iso-2, Iso-12 và Iso-22 có khối lượng tươi tăng từ 2,0-2,6 lần trong khi đó chủng giống Iso-2, Iso-12 và Iso-22 cho khối lượng khô tăng từ 1,7-2,1 lần (Hình 2E và 2F).

Nghiên cứu khác cũng chứng minh được rằng, sự cải thiện sinh khối rễ, chồi và năng suất đã được quan sát khi cây khoai tây được bổ sung chủng *Bacillus velezensis* K-9 (Shuang & cs., 2022). Một số chủng vi khuẩn nội sinh trong rễ cây khoai tây cũng đã được chứng minh là có khả năng làm tăng chiều cao cây, chiều dài rễ, khối lượng tươi và khối lượng khô của cây khoai tây Solara *in vitro* (Dao & cs., 2023).

3.3. Phân tích tương quan các đặc tính kích thích sinh trưởng của cây trồng trên các chủng nghiên cứu

Khả năng tổng hợp IAA của các vi sinh vật nội sinh có thể là một trong những lý do dẫn tới sự kích thích sinh trưởng của cây khoai tây và cà chua (Pageni & cs., 2014; Khan & cs., 2016). Trong khi hầu hết các chủng giống đều có tác dụng làm tăng chiều dài rễ thì chủng giống Iso-21 mặc dù có khả năng sinh tổng hợp IAA khá cao (8,6 mg/l) nhưng lại ức chế hoàn toàn sự ra rễ của cây khoai tây Solara *in vitro* (Hình 2D). Kết quả trên chứng tỏ khả năng sinh tổng hợp IAA chưa chắc đã góp phần vào hiệu quả làm tăng chiều dài rễ. Chính vì vậy, việc xác định hệ số tương quan giữa khả năng sinh tổng hợp IAA, phân giải lân, cố định đạm của các chủng với các chỉ tiêu tăng trưởng là điều cần thiết.

Kết quả nghiên cứu trên bảng 1 cho thấy hầu hết các chỉ tiêu theo dõi đều có hệ số tương quan rất thấp hoặc thấp và là mối tương quan nghịch so với khả năng sinh tổng hợp IAA, phân giải lân, cố định đạm của các chủng vi sinh vật.



Ghi chú: Các giá trị trung bình được so sánh và đánh dấu bởi cùng một ký tự chữ cái là có sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, LSD test ($P \leq 0,05$).

Hình 2. Sinh trưởng của cây khoai tây Solara *in vitro* sau 4 tuần đồng nuôi cấy với 8 chủng giống vi khuẩn nội sinh

Bảng 1. Hệ số tương quan giữa khả năng sinh tổng hợp IAA, phân giải lân, cố định đạm của các chủng giống vi sinh vật với các chỉ tiêu tăng trưởng

Chỉ tiêu theo dõi	Hệ số tương quan		
	Nồng độ IAA (mg/l)	Nồng độ NH ₄ ⁺ (mg/l)	Nồng độ PO ₄ ⁻ (mg/l)
Chiều cao chồi (cm)	-0,68	-0,06	-0,40
Số lá/cây (lá)	-0,22	-0,06	-0,14
Khối lượng lá/cây (mg)	0,75	-0,01	0,26
Chiều dài rễ (cm)	-0,56	-0,57	-0,06
Khối lượng tươi (mg)	-0,42	-0,42	-0,42
Khối lượng khô (mg)	-0,64	-0,39	-0,41

Có mối tương quan nghịch ở mức độ khá cao giữa nồng độ IAA với chiều cao chồi (-0,68) và khối lượng khô (-0,64) trong khi đó khối lượng tươi (-0,42) và chiều dài rễ (-0,56) cũng có mối tương quan nghịch nhưng ở mức thấp hơn. Kết quả trên khá tương đồng với nghiên cứu trên một số chủng vi sinh vật nội sinh cũng cho hệ số tương quan nghịch giữa khả năng tích lũy IAA và khối lượng tươi, khối lượng khô của cây khoai tây (Dao & cs., 2023)

Ở thí nghiệm này, khối lượng lá/cây là chỉ tiêu theo dõi duy nhất có tương quan thuận và ở mức khá cao (0,75) với nồng độ IAA. Mặc dù vậy, một số chủng vi sinh vật nội sinh trong cây khoai tây có khả năng sinh tổng hợp IAA nhưng lại có hệ số tương quan nghịch giữa nồng độ IAA và khối lượng lá đã được công bố trước đó (Dao & cs., 2023).

Khả năng cố định đạm, phân giải lân của các chủng vi sinh vật có hệ số tương quan thấp hoặc rất thấp với các chỉ tiêu tăng trưởng, trừ chiều dài rễ là có hệ số tương quan nghịch ở mức khá (-0,57). Một số vi khuẩn nội sinh có khả năng cố định đạm phân lập từ cây mía như chủng *Klebsiella variicola* DX120E, *Enterobacter* sp. UYSO10 và *Shinella* sp. UYSO24 có tác dụng cải thiện khả năng sinh trưởng của cây mía (Lin & cs., 2015; Taulé & cs., 2016). Những kết quả này cho thấy tác dụng cải thiện sự tăng trưởng của vi khuẩn nội sinh trên cây khoai tây trong nghiên cứu này có thể là do các cơ chế khác ngoài cơ chế sản xuất IAA, cố định đạm và phân giải lân, ví dụ, sự điều

chỉnh nồng độ ethylene trong thực vật bởi vi khuẩn nội sinh có thể làm tăng sự phát triển của rễ (Hardoim & cs., 2008). Trên thực tế, vi khuẩn nội sinh có thể cải thiện sự sinh trưởng phát triển của thực vật bằng nhiều cơ chế như tổng hợp các hợp chất kháng khuẩn và kháng sinh, kích hoạt khả năng miễn dịch của thực vật, giảm và loại bỏ các tác động có hại (Pandey & cs., 2019).

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã phân lập và khảo sát khả năng ứng dụng của 8 chủng vi khuẩn nội sinh trong rễ khoai tây. Cả 8 chủng vi sinh vật nghiên cứu đều có thể sinh tổng hợp IAA, 3 chủng có khả năng cố định đạm và 6 chủng có khả năng phân giải lân. Đánh giá tác động của 8 chủng vi khuẩn cho thấy 3 chủng (Iso-2, Iso-12 và Iso-22) có khả năng kích thích sinh trưởng của cây khoai tây Solara cấy mô, góp phần cải thiện chiều cao cây, chiều dài rễ, khối lượng tươi và khối lượng khô.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Dao V.H.T., Do K.P., Nguyen H.V., Nguyen C.M., Thi Tran D.T., Thanh Dang T.T., Nguyen T.X. & Dinh S.T. (2023). Identification and evaluation of the growth promotion of endophytic bacteria on *in vitro* potato plants, Pak J Biol Sci. 26(7): 371-379.
- De Paula Do Nascimento R., Da Rocha Alves M., Nogueira N.H., Lima D.C. & Maróstica Junior M.R. (2023). Chapter 6 - Cereal grains and vegetables. *In: Natural Plant Products in Inflammatory Bowel Diseases*. Do Nascimento

- R.D.P., Fonseca Machado A.P.D., Rodriguez-Nogales A., Leal R.F., Real Martinez C.A., Galvez J. and Maróstica Junior M.R. (eds.). Academic Press. pp. 103-172.
- Dinh S.T., Luu V.T., Hoang L.H., Nguyen X.C. & Ho C.T. (2020). Biotechnology of plant-associated microbiomes. *In: The Plant Microbiome in Sustainable Agriculture*. A.K. Srivastava, P.L. Kashyap and M. Srivastava (eds.). Wiley. John Wiley & Sons Ltd.. pp. 243-277.
- Dos Santos A.C., Kandasamy S. & Rigobelo E.C. (2020). *Bacillus cereus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Succinobivrio dextrinosolvens* promoting the growth of maize and soybean plants, *African Journal of Microbiology Research*. 4(5): 189-197.
- Etesami H., Mirseyed H. & Alikhani H. (2013). In planta selection of plant growth promoting endophytic bacteria for rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of soil science and plant nutrition*. 14.
- Fiske C.H. & Subbarow Y. (1925). The colorimetric determination of phosphorus. *Journal of Biological Chemistry*. 66(2): 375-400.
- Frommel M.I., Nowak J. & Lazarovits G. (1991). Growth enhancement and developmental modifications of *in vitro* grown potato (*Solanum tuberosum* spp. *tuberosum*) as affected by a nonfluorescent *Pseudomonas* sp. *Plant Physiol*. 96(3): 928-36.
- Govindarajan M., Balandreau J., Kwon S.W., Weon H.Y. & Lakshminarasimhan C. (2008). Effects of the inoculation of *Burkholderia vietnamensis* and related endophytic diazotrophic bacteria on grain yield of rice, *Microb Ecol*, 55(1): 21-37.
- Govindarajan M., Balandreau J., Muthukumarasamy R., Revathi G. & Lakshminarasimhan C. (2006). Improved yield of micropropagated sugarcane following inoculation by endophytic *Burkholderia vietnamiensis*. *Plant and Soil*. 280(1): 239-252.
- Hardoim P.R., Van Overbeek L.S. & Elsas J.D. (2008). Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends Microbiol*. 16(10): 463-71.
- Hidalgo D., Corona F. & Martín-Marroquín J. M. (2022). Manure biostabilization by effective microorganisms as a way to improve its agronomic value. *Biomass Conversion and Biorefinery*. 12(10): 4649-4664.
- Hossain A., Hassan Z., Sohag M.H. & Khan M. (2023). Impact of the endophytic and rhizospheric bacteria on crop development: prospects for advancing climate-smart agriculture. *Journal of Crop Science and Biotechnology*. 26(4): 405-431.
- Khan A.L., Halo B.A., Elyassi A., Ali S., Al-Hosni K., Hussain J., Al-Harrasi A. & Lee I.-J. (2016). Indole acetic acid and ACC deaminase from endophytic bacteria improves the growth of *Solanum lycopersicum*. *Electronic Journal of Biotechnology*. 21: 58-64.
- Lin L., Wei C., Chen M., Wang H., Li Y., Li Y., Yang L. & An Q. (2015). Complete genome sequence of endophytic nitrogen-fixing *Klebsiella variicola* strain DX120E. *Standards in Genomic Sciences*. 10(1): 22.
- Marques A.P.G.C., Pires C., Moreira H., Rangel A.O.S.S. & Castro P.M.L. (2010). Assessment of the plant growth promotion abilities of six bacterial isolates using *Zea mays* as indicator plant. *Soil Biology and Biochemistry*. 42(8): 1229-1235.
- Murashige T. & Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 15(3): 473-497.
- Nguyễn Thị Hiếu Thu, Nguyễn Duy Tới, Lại Tiến Dũng, Nguyễn Kim Nữ Thảo & Đinh Thúy Hằng (2021). Nghiên cứu ứng dụng vi khuẩn nội sinh *Bacillus velezensis* VY03 trong phòng chống bệnh bạc lá lúa. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*. 6(127): 63-71.
- Nguyễn Thị Minh (2017). Tuyển chọn giống vi sinh vật nội sinh từ vùng sinh thái đất phèn, Hải Phòng. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. 15(5): 619-630.
- Nowak J., Asiedu S.K., Bensalim S., Richards J., Stewart A., Smith C., Stevens D. & Sturz A.V. (1998). From laboratory to applications: challenges and progress with *in vitro* dual cultures of potato and beneficial bacteria. *Plant Cell. Tissue and Organ Culture*. 52(1): 97-103.
- Pageni B.B., Lupwayi N.Z., Akter Z., Larney F.J., Kawchuk L.M. & Gan Y. (2014). Plant growth-promoting and phytopathogen-antagonistic properties of bacterial endophytes from potato (*Solanum tuberosum* L.) cropping systems. *Canadian Journal of Plant Science*, 94(5): 835-844.
- Pandey P.K., Samanta R. & Yadav R.N.S. (2019). Inside the plant: addressing bacterial endophytes in biotic stress alleviation. *Archives of Microbiology*. 201(4): 415-429.
- Panetto L.D., Doria J., Santos C.H.B., Frezarin E.T., Sales L.R., De Andrade L.A. & Rigobelo E.C. (2023). Lactic bacteria with plant-growth-promoting properties in potato. *Microbiology Research*. 14(1): 279-288.
- Prasanna A., Deepa V., Murthy P.B., Deecaraman M., Sridhar R. & Dhandapani P. (2011). Insoluble phosphate solubilization by bacterial strains isolated from rice rhizosphere soils from Southern India. *International Journal of Soil Science*. 6(2): 134-141.

- Rana K.L., Kour D., Kaur T., Negi R., Devi R., Yadav N., Rai P.K., Singh S., Rai A., Yadav A., Sayyed R. & Yadav A.N. (2023). Endophytic nitrogen-fixing bacteria: Untapped treasure for agricultural sustainability. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*. 11: 1-21.
- Sánchez-Cañizares C., Jorrín B., Poole P.S. & Tkacz A. (2017). Understanding the holobiont: the interdependence of plants and their microbiome. *Current Opinion in Microbiology*. 38: 188-196.
- Shuang M., Sun J. & Teng W. (2022). Identification and growth-promoting effect of endophytic bacteria in potato. *Annals of Microbiology*. 72(1): 40.
- Soumare A., Diedhiou, A. G., Thuita, M., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., Gopalakrishnan, S. & Kouisni, L. (2020). Exploiting biological nitrogen fixation: A route towards a sustainable agriculture. *Plants (Basel)*. 9(8).
- Taulé C., Castillo A., Villar S., Olivares F. & Battistoni F. (2016). Endophytic colonization of sugarcane (*Saccharum officinarum*) by the novel diazotrophs *Shinella* sp. UYSO24 and *Enterobacter* sp. UYSO10. *Plant and Soil*, 403(1): 403-418.
- Wang Y., Zhao Q., Sun Z., Li Y., He H., Zhang Y., Yang X., Wang D., Dong B., Zhou H., Zhao M. & Zheng H. (2022). Whole-genome analysis revealed the growth-promoting mechanism of endophytic bacterial strain Q2H1 in potato plants. *Front Microbiol*. 13: 1035901.
- Xiao X., Li J., Lyu J., Feng Z., Zhang G., Yang H., Gao C., Jin L. & Yu J. (2022). Chemical fertilizer reduction combined with bio-organic fertilizers increases cauliflower yield via regulation of soil biochemical properties and bacterial communities in Northwest China. *Frontiers in Microbiology*. 13.