

TUYỂN CHỌN VÀ NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM CÁC CHỦNG VI KHUẨN VÙNG RỄ CÓ KHẢ NĂNG KHÁNG NẤM VÀ SINH INDOLE-3-ACETIC ACID CAO

Đặng Thị Thủy Dương¹, Nguyễn Văn Hiếu¹, Nguyễn Phương Nhuệ¹, Lê Như Kiều², Lê Thị Thanh Thủy², Trần Quang Minh², Phí Quyết Tiến¹

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

²Viện Thổ Nhưỡng Nông hóa, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

TÓM TẮT

Từ 30 mẫu đất mẫu đất trồng, rễ cà chua và ớt thu thập tại Đồng Anh - Phú Xuyên - Thụy Khuê - Cát Quế (Hà Nội), chúng tôi đã phân lập được 29 chủng vi khuẩn, trong đó hai chủng ki hiệu 6 và 7 có khả năng kháng lại cả 3 loại vi sinh vật gây bệnh thực vật *Rhizoctonia solani*, *Ralstonia solanacearum* và *Fusarium oxysporum* và 3 chủng CCBX₁, CCBX₂ và SH₂ sinh β-indol acetic acid (IAA) cao (đạt trên 30 µg/ml). Kết quả nghiên cứu đặc điểm sinh học cho thấy 5 chủng vi khuẩn trên đều sinh trưởng tốt ở nồng độ muối 1,0 - 4,0% (w/v); cả 5 chủng vi khuẩn đều sinh trưởng tốt trong khoảng nhiệt độ 25°C-37°C, pH 5,0 - 9,0 và có khả năng sinh tổng một số enzyme thủy phân ngoại bào protease, amylase, cellulase, và chitinase. Phân tích trình tự gen 16S rDNA của hai chủng đại diện cho thấy chúng SH₂ và CCBX₂ có độ tương đồng trình tự cao (đạt >99%) so với gen tương ứng của các chủng vi khuẩn *Pseudomonas putida* DQ1 (JQ669937) *Pseudomonas plecoglossicida* S22 (DQ095910). Cả hai chủng nói trên không gây bệnh trên thực vật và động vật nên có triển vọng ứng dụng để sản xuất phân bón vi sinh

Từ khóa: *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas plecoglossicida*, vi sinh vật gây bệnh, β-indol acetic acid (IAA), phân bón vi sinh

MỞ ĐẦU

Cà chua và ớt là 2 loại rau trồng phổ biến tại Việt Nam, có giá trị cao cả về mặt dinh dưỡng và hiệu quả kinh tế. Trong quá trình canh tác, cà chua và ớt có thể bị nhiễm một số bệnh do vi sinh vật gây ra như: bệnh héo xanh do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum*, bệnh thối hồng do nấm *Fusarium solani*; bệnh thối nâu quả do *Lactobacterium lycopersici*; bệnh than cà chua do *Colletotrium lycopersici*; bệnh mốc đen lá do *Cladosporium fulvum*; bệnh héo cây non do nấm *Rhizoctonia solani*... (Vũ Triệu Mân, 2007), dẫn đến giảm năng suất, chất lượng cây trồng và giá trị của sản phẩm. Để khắc phục các bệnh trên, ngoài biện pháp sử dụng giống cà chua và ớt có khả năng kháng bệnh, kết hợp với các thuốc bảo vệ thực vật thì các chế phẩm phân bón vi sinh chứa các nhóm vi sinh vật hữu ích được khuyến khích sử dụng. Phân bón vi sinh là các sản phẩm chứa vi sinh vật sống, đã được tuyển chọn với mật độ phù hợp, có khả năng chuyển hóa các chất dinh dưỡng khó tan thành dạng hòa tan (phân giải photpho khó tan, cố định nitơ) có trong đất để cây trồng sử dụng, sinh ra một số chất kích thích sinh trưởng (Auxin (β-indol acetic acid), cytokinin...) hay một số chất ức chế các vi sinh vật gây bệnh có trong đất, do đó nâng cao khả năng phát triển của cây và năng suất, chất lượng của sản phẩm. Các nhóm vi sinh vật thường được sử dụng trong phân bón vi sinh là *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia* và *Serratia*, trong đó các loài *B. subtilis*, *P. polymyxa*, và *P. putida* đặc biệt được quan tâm bởi chúng không gây bệnh cho người sử dụng và các loại thực vật khác (Janardan *et al.*, 2010). Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tiến hành phân lập và tuyển chọn, nghiên cứu đặc điểm sinh học và phân loại các chủng vi khuẩn ở vùng rễ cây ớt và cà chua có khả năng sinh IAA cao; kháng lại các chủng gây cho cây như *R. solani*, *R. solanacearum* và *F. oxysporum*, nhằm định hướng ứng dụng các chủng vi khuẩn này trong sản xuất phân bón sinh học.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu

30 mẫu đất trồng cây cà chua và ớt được thu thập tại Đồng Anh, Phú Xuyên, Thụy Khuê, Cát Quế (Hà Nội).

Môi trường

Môi trường Luria-Bertani (LB) (g/L): cao nấm men 5,0, trypton 10,0; NaCl 10,0; pH 7,0. Môi trường MP (g/L): cao thịt 5,0; pepton 10,0; NaCl 5,0, pH 7,0. Môi trường khoáng cơ bản 1 (g/L): (NH₄)₂SO₄ 2,0; MgSO₄.7H₂O 0,2; Na₂HPO₄.2H₂O 0,5; CaCl₂.2H₂O 0,1; K₂HPO₄ 0,5. Môi trường khoáng cơ bản 2 (g/L): K₂HPO₄ 1,36; CaCl₂ 5 ml; Na₂HPO₄ 2,13; MgSO₄.7H₂O 0,2; FeSO₄.7H₂O 0,5 ml; glucose 10, pH 7,0.

Phương pháp nghiên cứu

Lấy mẫu đất, rễ cây cà chua và ớt

Phương pháp lấy mẫu được thực hiện theo mô tả của Egorov (1983) (Nguyễn Lân Dũng, 1983).

Xác định hàm lượng Indole-3 acetic acid (IAA)

Nuôi vi khuẩn trong môi trường LB ở 30°C trong 24 giờ, ly tâm thu dịch nổi loại sinh khối tế bào, dịch nổi sử dụng xác định nồng độ IAA theo phương pháp của Brick *et al.* (1991).

Xác định khả năng đối kháng với các chủng vi sinh vật gây bệnh *F. oxysporum*, *R. solani* và *R. Solanacearum*

Khả năng kháng các chủng vi sinh vật *F. oxysporum*, *R. solani* và *R. solanacearum* gây bệnh trên cây cà chua và cây ớt của các chủng vi sinh vật phân lập được thực hiện theo phương pháp mô tả của Yung *et al.* (2001) và Kelman (1954).

Xác định khả năng phân giải các hợp chất hữu cơ

Các chủng vi khuẩn cấy chấm điểm trên môi trường khoáng cơ bản 1 có bổ sung các cơ chất như: tinh bột tan, casein, chitin và carboxymethyl cellulose (CMC) Sau 48 giờ, nuôi ở nhiệt độ 30° C, xác định hoạt tính enzym ngoại bào bằng cách sử dụng các dung dịch thuốc thử tương ứng. Lugol 1% với môi trường chứa tinh bột và CMC, Trichloroacetic acid 5% với môi trường chứa casein, Congo đỏ 1,0% với môi trường chứa chitin

Phân loại vi khuẩn dựa trên đặc điểm sinh học và phân tích trình tự 16S rDNA

Nghiên cứu đặc điểm sinh học dựa theo khóa phân loại Bergey (Stealey et al., 1989). DNA tổng số của các chủng CCBX1, SH2 được tách theo phương pháp của Sambrook, Russell, 2001. Gen 16S rDNA được khuếch đại bằng phản ứng PCR, sử dụng cặp mồi GR1: 5'-GGTGTACGGGGCGGTGTGA-3' và GF1: 5'-TAACACATGCAAGTGCAGAC-3'. Sản phẩm sau phản ứng PCR được kiểm tra, tinh sạch, giải trình tự và phân tích, so sánh với trình tự gen tương ứng trên cơ sở dữ liệu GenBank và lập cây phân loại với phần mềm CLC DNA Workbench (Version 5.5, CLC Bio, Denmark).

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn có khả năng đối kháng với vi sinh vật gây bệnh và sinh IAA cao

Từ 30 mẫu đất trồng, rễ cà chua và ớt thu thập ở Đồng Anห์, Phú Xuyên, Thụy Khuê, Cát Quế (Hà Nội), chúng tôi đã đã phân lập được 24 chủng vi khuẩn và 5 chủng xạ khuẩn. Trong số 24 chủng vi khuẩn, có 3 chủng CCBX1, CCBX2 và SH2 có khả năng sinh IAA trên 30 µg/ml (chiếm 13,0%); 10 chủng sinh IAA trên 10 µg/ml (chiếm 39,1%), và 11 chủng sinh IAA dưới 10 µg/ml (chiếm 47,8%), 5 chủng xạ khuẩn không sinh IAA. So với một số nghiên cứu trước đây, khả năng sinh IAA của 3 chủng SH2, CCBX1 và CCBX2 còn thấp. Ví dụ, khả năng sinh IAA của 3 chủng CCBX1, CCBX2, SH2 thấp hơn nhiều so với các chủng *Bacillus sp.* (với hoạt tính 2 chủng P4 và S6 lần lượt đạt 59 và 88 µg/ml) trong nghiên cứu của Ambreen Ahmed, Shahida Hasnain, 2010. Tuy nhiên, các nghiên cứu trước đây cũng chỉ ra rằng khả năng sinh tổng hợp IAA của vi sinh vật chịu ảnh hưởng rất lớn của thành phần môi trường, và điều kiện nuôi cấy. Trong đó, Tryptophan là một tiền chất quan trọng để sinh tổng hợp IAA (Janardan et al., 2010) Do vậy, có thể nâng cao khả năng sinh IAA của các chủng lựa chọn bằng cách tối ưu hóa môi trường và điều kiện nuôi cấy trong các nghiên cứu kế tiếp.

Bảng 1. Khả năng đối kháng với các vi sinh vật gây bệnh và sinh IAA của các chủng vi khuẩn lựa chọn

Kí hiệu chủng	Đường kính vòng vô khuẩn (D-d, mm)			IAA (µg/ml)
	<i>R. solani</i>	<i>R. solanacearum</i>	<i>F. oxysporum</i>	
6	5	5	6	14,2
7	4	4	6	15,0
SH2	-	7	-	37,4
CCBX1	-	-	-	36,2
CCBX2	-	-	-	38,4

Kết quả kiểm tra khả năng đối kháng với 3 chủng gây bệnh trên cây gồm *R. solani*, *R. solanacearum* và *F. oxysporum* cho thấy, trong số 29 chủng trên, có 14 chủng có khả năng kháng lại chủng *R. solanacearum* (chiếm 50%); có 4 chủng (6, 7, CCBX1 và SH2) kháng nấm *F. oxysporum* (chiếm 14,29%) và 2 chủng (số 6 và 7) kháng cả 3 loại vi sinh vật gây bệnh (chiếm 7,14%) (Bảng 1). Với mục đích tuyển chọn chủng ứng dụng trong việc tạo phân bón vi sinh, các chủng 6, 7, CCBX1, CCBX2 và SH2 tiếp tục được nghiên cứu một số đặc điểm sinh học.

Đặc điểm sinh học của các chủng vi sinh vật

Cả 5 chủng vi khuẩn đều thuộc nhóm vi khuẩn Gram (-), tế bào hình cầu nhỏ, đứng xếp đôi và đơn, khuẩn lạc có kích thước lớn (>2 mm), mềp tròn, bề mặt bóng, không lồi, màu nâu hoặc vàng nhạt và không tiết sắc tố ra môi trường nuôi cấy (Bảng 2).

Cả 5 chủng vi khuẩn đều sinh trưởng tốt ở nồng độ NaCl 1 – 3%, ở nồng độ muối 4% chủng sinh trưởng yếu, khi nồng độ muối 5% các chủng giảm hẳn khả năng sinh trưởng (giá trị OD_{600nm} đạt 1,1 – 1,8), riêng chủng 6 và 7 không phát triển. Cả 5 chủng vi khuẩn đều sinh trưởng tốt trong dải nhiệt độ 25-37°C, pH từ 5-9, tối ưu trong vùng pH 6-8 (Bảng 2). Kiểm tra khả năng sinh enzyme ngoại bào của 5 chủng cho thấy, chủng 7 và CCBX1 có khả năng sinh cả 4 loại enzyme, chủng CCBX2 và SH2 có khả năng sinh 3 loại enzyme, và chủng 6 chỉ có khả năng sinh protease (Bảng 2). Như vậy, cả 5 chủng vi khuẩn đều thuộc nhóm ưa ẩm và sinh trưởng tốt trong môi trường có pH trung tính.

Khả năng đồng hóa các nguồn cacbon của 5 chủng vi khuẩn khác nhau: cả 5 chủng đều đồng hóa được D-glucose, D-mannitol, L-rhamnol, chỉ có 3 chủng CCBX1, CCBX2, SH2 sử dụng được D-fructose. Chủng vi khuẩn 6 và 7 sử dụng được D- lactose, và duy nhất chủng 6 đồng hóa được D- saccharose. Với các nguồn nitơ nghiên cứu, 2 chủng 6, 7 sử dụng tất cả các nguồn nitơ, cả 5 chủng sử dụng được tryptophan và L-methionin (Bảng 3). Với nguồn nitơ vô cơ, theo Nguyễn Lân Dũng và cộng sự, 1998, NH₄⁺ và NH₃ là nguồn nitơ dễ hấp thu nhất cho các vi sinh vật nói chung. Tất cả các vi sinh vật đều có khả năng đồng hóa nguồn nitơ nói trên, tuy nhiên không phải muối amoni nào cũng tác động tích cực lên khả năng sinh trưởng của tế bào, vì sau khi đồng hóa gốc NH₄⁺, sự tích lũy các anion vô cơ làm giảm pH môi trường Tương tự như vậy, muối nitrat kim loại cũng là nguồn nitơ vô cơ không thực sự thích hợp cho sự phát triển vi khuẩn. Bản thân gốc NO₃⁻ dễ dàng được đồng hóa bởi một số loài, nhưng các ion kim loại còn lại (K⁺, Na⁺, Mg²⁺,...) lại gây kiềm hóa môi trường cản trở sự phát triển của vi sinh vật. Do vậy, đối với một số loài vi khuẩn, amoni nitrat là nguồn nitơ có thể là vô cơ thích hợp cho sự phát triển. Trong nghiên cứu của chúng tôi, 2 chủng 6 và 7 sử dụng được cả 3 nguồn nitơ vô cơ nghiên cứu là KNO₃, NH₄NO₃ và (NH₄)₂SO₄, trong đó NH₄NO₃ giúp 2 chủng phát triển tốt nhất. Chủng CCBX1 có thể đồng hóa được gốc nitrat, chủng phát triển trên môi trường chứa muối KNO₃, NH₄NO₃ nhưng không thể phát triển trên môi trường chứa (NH₄)₂SO₄. Trong khi đó, CCBX2 không phát triển trên môi trường chứa nitrat kim loại và (NH₄)₂SO₄, chúng chỉ phát triển trên môi trường chứa NH₄NO₃. SH2 không thể đồng hóa cả gốc NH₄⁺ lẫn NO₃⁻, chúng không phát triển trên cả 3 muối nói trên (Bảng

3) Như vậy, với khả năng đồng hóa đa dạng các nguồn cacbon và nitơ như trên, cả 5 chủng vi khuẩn có khả năng thích ứng nhanh với môi trường, rất thuận lợi cho sử dụng, trong phân bón vi sinh.

Bảng 2. Một số đặc điểm sinh học của 5 chủng vi khuẩn lựa chọn

Đặc điểm/ KI hiệu chủng	6	7	CCBX1	CCBX2	SH2
Khả năng					
Khả năng thủy phân					
Casein			+		
Tinh bột					
CMC					
Chitin					
Nhuộm Gram	-	-	-	-	-

Ghi chú: "+" có hoạt tính, "-" không có hoạt tính

Bảng 3. Khả năng đồng hóa nguồn cacbon và nitơ của 5 chủng vi khuẩn lựa chọn

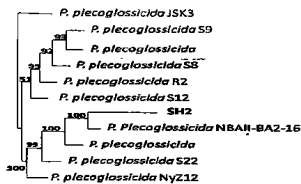
Nguồn cacbon	Khả năng phát triển của các chủng					Nguồn Nitơ	Khả năng phát triển của các chủng				
	6	7	CCBX1	CCBX2	SH2		6	7	CCBX1	CCBX2	SH2
Đối chứng	-	-	-	-	-	Đối chứng	-	-	-	-	-
D-xylose	+	+	-	+	-	L-Cystein	++	+	+	-	+
L-rhamnose	+	+	+	+	+	Tryptophan	+	+	+	+	+
D-glucose	++	+	+	+	+	L-Methionin	+	+	+	+	+
D-fructose	-	-	+	+	+	KNO ₃	+	+	+	-	-
D-saccharose	+	-	-	±	±	Ni-NO ₃	++	++	+	+	-
D-lactose	+	+	-	±	±	(NH ₄) ₂ SO ₄	+	+	-	-	-
D-mannitose	+	+	+	-	-						
D-raffinose	+	+	+	-	-						
D-mannitol	+	+	+	+	+						

Ghi chú: "+" có phát triển, "++" phát triển tốt, "-" không phát triển

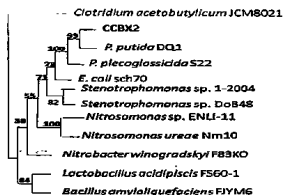
Phân loại các chủng vi khuẩn bằng phương pháp 16S rDNA

Gen 16S rDNA của các chủng CCBX2 và SH2 được khuếch đại nhờ cặp mồi đặc hiệu GF1 và GR1 và phân tích trình tự nucleotide. Kết quả so sánh với trình tự nucleotide tương ứng trên cơ sở dữ liệu GenBank cho thấy, chủng CCBX2 có độ tương đồng cao với các chủng vi khuẩn *Pseudomonas plecoglossicida* (99%) (Hình 2) và chủng SH2 có độ tương đồng cao với các chủng *Pseudomonas putida* (99%) (Hình 3). Kết hợp với các đặc điểm sinh học đã nghiên cứu, chúng tôi cho rằng chủng SH2 thuộc loài *Pseudomonas plecoglossicida*, và chủng CCBX2 thuộc loài *Pseudomonas putida*.

Các kết quả nghiên cứu trước đây cho thấy, các chủng *Pseudomonas* sp. phân bố rất rộng trong đất, có mặt trong vùng rễ cây lúa, lúa mì, ớt, cà chua, khoai tây, thuốc lá với nhiều đặc tính quý trong đó khả năng sinh IAA là khá nổi bật... Ngoài ra, *Pseudomonas* đã được chứng minh là 1 loại vi khuẩn cố định đạm cộng sinh giúp nâng cao năng suất cây trồng và chất lượng đất, đồng thời một số loài còn có khả năng ức chế mạnh các nhóm vi sinh vật gây bệnh trên cà chua và ớt như *F. oxysporum*, *R. solani* và *R. solanacearum* (Kelman, 1954; Otieno et al., 2000). Do vậy, các kết quả tuyển chọn của chúng tôi thu được về các chủng *Pseudomonas* sp. hoàn toàn có thể đáp ứng được yêu cầu ứng dụng vào sản xuất chế phẩm phân bón vi sinh sử dụng trong nông nghiệp...



Hình 2. Mức độ tương đồng di truyền giữa chủng vi khuẩn SH2 với một số chủng vi khuẩn có họ hàng gần gũi



Hình 3. Mức độ tương đồng di truyền giữa chủng vi khuẩn CCBX2 với một số chủng vi khuẩn.

KẾT LUẬN

Từ 30 mẫu đất thu thập ở vùng chuyên canh cây cà chua và ớt là Đông Anh, Phú Xuyên, Thụy Khuê, Cát Quê (Hà Nội), đã phân lập được 28 chủng vi khuẩn, trong đó có 5 chủng xạ khuẩn. Trong số 28 chủng vi khuẩn, có 5 chủng kí hiệu 6, 7, CCBX1, CCBX2 và SH2 có khả năng sinh IAA cao và kháng lại 3 chủng vi sinh vật gây hại cho cây trồng *R. solani*, *F. salmactarum* và *F. oxysporum*. Năm chủng vi khuẩn đã được nghiên cứu một số đặc điểm sinh học kết quả cho thấy, chúng thuộc nhóm vi khuẩn ưa ẩm, sinh trưởng tốt ở pH trung tính và ở nồng độ muối 1-4%, cả 5 chủng vi khuẩn đều có khả năng sinh ra một số enzyme ngoại bào. Phân loại dựa trên trình tự gen 16S rRNA của 2 trong số 5 chủng vi khuẩn trên cho kết quả với mức độ tương đồng trình tự gen 16S rRNA cao (>99%) với các chủng *Pseudomonas plecoglossicida* NBAII-BA2-16 và *Pseudomonas putida* DQ1. Đây là các chủng không gây bệnh cho bệnh cho người sử dụng và cây trồng. Do vậy, 2 chủng vi khuẩn CCBX2 và SH2 sẽ tiếp tục được nghiên cứu khả năng ứng dụng vào sản xuất chế phẩm phân bón vi sinh.

Lời cảm ơn

Công trình được hỗ trợ kinh phí từ đề tài: "Nghiên cứu chọn tạo bộ chủng vi khuẩn có hoạt tính sinh học cao, an toàn với môi trường bằng phương pháp đột biến và tái tổ hợp ADN" thuộc "Chương trình trọng điểm phát triển và ứng dụng công nghệ sinh học trong lĩnh vực nông nghiệp và PTNT đến năm 2020".

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ambreen Ahmed, Shahida Hasnain (2010). Auxin-producing *Bacillus* sp.: Auxin quantification and effect on the growth of *Solanum tuberosum*. *Pure Appl Chem* 82 (1): 313-319.

Brick JM, Bostock RM, Silverstone SE (1991). Rapid in situ assay for indoleacetic acid production by bacteria immobilized on nitrocellulose membrane. *Applied and Environmental Microbiology* 57(2): 535 - 538.

Janardan Y, Jay PV, Kavindra NT (2010). Effect of plant growth promoting Rhizobacteria on seed germination and plant growth Chickpea (*Cicer arietinum* L.) under In Vitro conditions. *An International Journal* 2(2) 15 - 18.

Kelman A (1954). The relationships of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology* 44: 693 - 695.

Nguyễn Lân Dũng (1983). Thực hành vi sinh vật (dịch). NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội

Nguyễn Lân Dũng, Nguyễn Đình Quyền, Phạm Văn Ty (1998). Vi sinh vật học Nhà xuất bản giáo dục.

Otieno MH, Lopes Silva MT, Marques M, Roseira J (2000). Benzene, Toluene and xylene biodegradation by *Pseudomonas putida* CCM1 852. *Brazilian Journal Microbiology* 36: 258 - 261.

Sambrook J, Russell DW (2001). Molecular cloning. A laboratory manual, 3rd ed. Cold spring harbor laboratory press. Cold spring harbor, New York: 133 - 135.

Staley JT, Bryant MP, Pfennig N, Holt JG (1989). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. *Williams & Wilkins, Waverly Press, New York* 2.

Vũ Triệu Mân (2007) Giáo trình bệnh cây đại cương NXB Nông nghiệp Hà Nội.

Yung AL, Shu CF, Ling YC, Kuo CH (2001). Isolation of an insertion sequence from *Ralstonia solanacearum* race 1 and its potential use for strain characterization and detection. *Applied and Environmental Microbiology* 67 3943 - 3950.

SCREENING AND CHARACTERIZATION OF RHIZOBACTERIA EXHIBITING INHIBITION AGAINST FUNGAL PHYTOPATHOGENS AND HIGH PRODUCTION OF INDOLE-3-ACETIC ACID

Dặng Thị Thùy Dương¹, Nguyễn Văn Hiếu¹, Nguyễn Phương Nhuệ¹, Lê Như Kiều², Lê Thị Thanh Thùy², Trần Quang Minh², Phí Quyết Tiến¹

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

²*Soils and Fertilizers Institute, Vietnam Academy of Agricultural Sciences*

SUMMARY

From 30 samples of soil and roots of tomato and pepper collected in Dong Anh – Phu Xuyen – Thuy Khue – Cat Que (Ha Noi), 29 bacterial strains were isolated, among those 2 strains 6 and 7 showed high inhibitory effects against phytopathogens such as *Rhizoctonia solani*, *Ralstonia solanacearum* and *Fusarium oxysporum* and 3 strains CCBX1, CCBX2, SH2 synthesized high concentration of indole-3-acetic acid (IAA) at over 30 µg/ml. Biological characterization of five selected isolates showed that all 5 strains were able to grow in high salt concentrations ranging from 1.0 to 4.0% (w/v), at temperature range of 25°C -37°C, pH range of 5.0 - 9.0. Moreover, the selected strains also had high activity of extracellular enzymes, including protease, amylase, cellulase, and chitinase. Analysis of the 16S rDNA gene sequences revealed that the representative strains SH2, CCBX2 showed high sequence similarity (approximately 99%) with that of *Pseudomonas putida* DQ1 (JQ669957) and *Pseudomonas plecoglossicida* S22 (DQ095910), respectively. Both bacteria are non-pathogens for plants and animals and therefore have potential application in the production of biofertilizers

Keywords. *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas plecoglossicida*, fungal phytopathogen, β-indol acetic acid (IAA), microbial fertilizers

*Author for correspondence: Tel. (84) 38 36 32 57, Email. tienpc@ibt.ac.vn