

## TUYỂN CHỌN VI KHUẨN *AZOTOBACTER* CÓ KHẢ NĂNG CỐ ĐỊNH NITƠ VÀ SINH TỔNG HỢP IAA TRONG ĐẤT TRỒNG LÚA Ở TỈNH THỪA THIÊN HUẾ

Trần Thị Xuân Phương<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Như Ngọc<sup>1</sup>,  
Nguyễn Thị Thuận<sup>1</sup>, Lê Xuân Diễm Ngọc<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

<sup>2</sup> Khoa Vật lý, Trường Đại học Khoa học, Đại Học Huế

Liên hệ email: [tranthixuanphuong@huaf.edu.vn](mailto:tranthixuanphuong@huaf.edu.vn)

### TÓM TẮT

Trong số 56 chủng vi khuẩn *Azotobacter* phân lập được từ 19 mẫu đất trồng lúa ở Thừa Thiên Huế, có 23 chủng có đặc điểm khuẩn lạc tương đối điển hình. Ba chủng vi khuẩn đã chọn đều là vi khuẩn Gram (-), đặc điểm tế bào hình cầu hoặc hình tròn và có khả năng di động. Đặc biệt, cả 3 chủng này đều có khả năng tổng hợp IAA và chủng HC21 có khả năng tổng hợp IAA tốt nhất là 73,92 µg/ml. Nghiên cứu về điều kiện nuôi cấy tối ưu đã chỉ ra rằng: Chủng HC21 sinh trưởng và phát triển tốt với nguồn carbon là glucose, nhiệt độ là 28°C, pH = 7; chủng HC24 sinh trưởng và phát triển tốt với nguồn carbon là saccharose, nhiệt độ là 30°C, pH = 7.5; chủng TT13 sinh trưởng và phát triển tốt với nguồn carbon là glucose, nhiệt độ là 30°C, pH = 7. Hơn nữa, các chủng này có tốc độ sinh trưởng mạnh, khả năng lây nhiễm cao, có khả năng cạnh tranh với các nhóm vi sinh vật khác trong môi trường và kích thích sự sinh trưởng, phát triển của cây mạ trong ống nghiệm.

**Từ khóa:** *Azotobacter*, cố định Nitơ, tuyển chọn, IAA, Thừa Thiên Huế

Nhận bài: 23/05/2017

Hoàn thành phản biện: 13/06/2017

Chấp nhận bài: 15/06/2017

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hàng năm, nông nghiệp trên toàn thế giới lấy đi từ đất hàng trăm triệu tấn nitơ. Bằng biện pháp bón phân con người chi trả lại cho đất khoảng 50%. Lượng thiếu hụt còn lại cơ bản được bổ sung bằng nitơ do các loài vi sinh vật tổng hợp nên. Do vậy, việc nghiên cứu và sử dụng nguồn đạm sinh học được xem là một giải pháp quan trọng trong sản xuất nông nghiệp nhất là theo hướng hữu cơ.

Trong tự nhiên, các nhóm vi sinh vật cố định nitơ có thể cung cấp cho hành tinh khoảng  $240 \times 10^6$  tấn N/năm (Harunor, 2008). Trong số vi sinh vật có khả năng cố định nitơ sống tự do trong đất thì vi khuẩn *Azotobacter* có nhiều ứng dụng nhất trong sản xuất phân bón cố định nitơ. Do *Azotobacter* vừa có khả năng cố định nitơ vừa có thể sản sinh chất kích thích IAA, tăng cường khả năng hấp thu lân và các hợp chất hữu cơ từ đất (Ridvan, 2009). Hai chủng *Azotobacter* là AZT1 và AZT7 được phân lập từ đất trồng lúa ở Hà Nội có khả năng cố định nitơ phân tử từ không khí thành nitơ dạng ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) tương ứng là 3,36 mg/L; 3,32 mg/L và sinh tổng hợp IAA với hàm lượng cao tương ứng 10,11 µg/ml và 12,87 µg/ml (Nguyễn Thị Thu Hằng và Nguyễn Thị Thủy, 2015). Chủng *Azotobacter chroococcum* và *Azotobacter vinelandii* được phân lập từ đất trồng lúa ở vùng Tolima, Colombia có khả năng sinh IAA từ 3,5 mg/ml đến 32,2 mg/l (María và cs., 2000).

Để sản xuất phân bón vi sinh cố định nitơ tốt, phải có chủng vi sinh vật có cường độ cố định nitơ cao, sức cạnh tranh lớn, thích ứng ở pH rộng, phát huy được ở nhiều vùng sinh thái khác nhau. Vì vậy công tác phân lập, tuyển chọn chủng vi sinh vật cố định nitơ và đánh

giá đặc tính sinh học là việc làm không thể thiếu được trong quy trình sản xuất phân bón vi sinh cố định nitơ. Mục đích của đề tài là chọn và thuần khiết một số chủng vi khuẩn *Azotobacter* có khả năng cố định nitơ cao và sinh tổng hợp IAA để làm vật liệu cho việc sản xuất phân vi sinh cố định nitơ bón cho cây lúa tại địa bàn tỉnh Thừa Thiên Huế.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các chủng vi khuẩn *Azotobacter* được phân lập từ đất trồng lúa ở Thừa Thiên Huế và giống lúa HT1.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

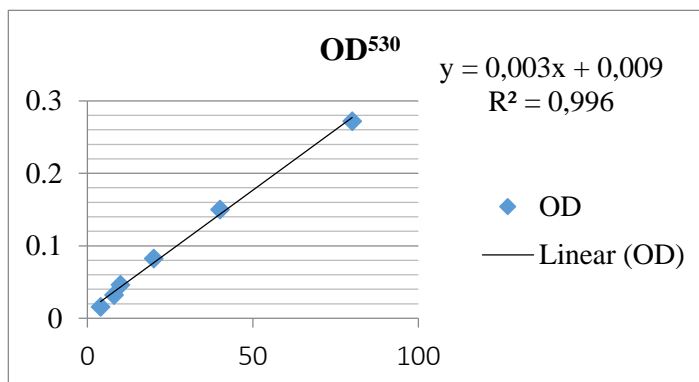
Phương pháp thu mẫu: Thu thập mẫu đất ở một số vùng trồng lúa ở Thừa Thiên Huế theo phương pháp của Erogov (1983). Mẫu đất được lấy ở độ sâu 6 - 15 cm, sau khi đã loại bỏ khoảng 5 cm phần đất và tàn dư thực vật. Bao gồm: phường Thủy Thanh, Thủy Vân, Thủy Dương thuộc thị xã Hương Thủy; phường Hương Chữ, Hương Xuân, Hương Toàn thuộc thị xã Hương Trà; xã Quảng Thọ, Quảng An, Quảng Phú, Quảng Vinh thuộc huyện Quảng Điền. Thời gian thu mẫu: Vụ Đông Xuân 2016 - 2017. Tổng số mẫu thu được là 19 mẫu.

Phương pháp phân lập vi khuẩn: Các chủng vi khuẩn *Azotobacter* được phân lập theo phương pháp Koch, nuôi cấy trên môi trường đặc Ashby (Erogov, 1983).

Phương pháp chọn và thuần khiết chủng: Sau khi nuôi cấy 4 ngày, quan sát các khuẩn lạc mọc trong đĩa petri, chọn các chủng có đặc điểm khuẩn lạc điển hình, tiến hành thuần khiết và đánh giá khả năng cố định nitơ của vi khuẩn thông qua đường kính khuẩn lạc và chọn 3 chủng có khả năng sinh trưởng, phát triển tốt.

Xác định một số điều kiện nuôi cấy thích hợp cho các chủng vi khuẩn cố định nitơ đã chọn: Nuôi cấy các chủng đã chọn trong các môi trường có pH: 6,0; 6,5; 7,0 và 7,5; Nguồn carbon là: saccharose, maltose và glucose. Ở ngưỡng nhiệt độ: 26°C, 28°C và 30°C. Nuôi cấy dịch vi khuẩn trên máy lắc với tốc độ 200 vòng/phút sau 5 ngày tiến hành đo OD ở bước sóng 600 nm trên máy so màu để xác định khả năng sinh trưởng và phát triển của chủng vi khuẩn cố định nitơ.

Xác định khả năng sinh IAA: Vi khuẩn được nuôi cấy trong môi trường lỏng bổ sung 0,01% tryptophan, nuôi lắc (200 vòng/phút) ở 30°C trong 5 ngày. Hàm lượng IAA thô được sinh ra trong dịch nuôi cấy được xác định bằng phương pháp phản ứng màu với thuốc thử Salkowski tạo sản phẩm có màu, so màu trên máy quang phổ ở bước sóng 530 nm, dựa vào đồ thị chuẩn IAA (Hình 1) sẽ xác định hàm lượng IAA (Glickmann và Dessaux, 1995).



Hình 1. Đường tương quan tuyến tính giữa hàm lượng IAA chuẩn và OD<sub>530nm</sub>.

Đánh giá ảnh hưởng của dịch nuôi cấy vi khuẩn lên cây mạ trong ống nghiệm: Nuôi cấy vi khuẩn *Azotobacter* vào môi trường Ashby dịch thể trong 5 ngày ở 30°C, đồng thời khử trùng và ủ hạt lúa. Khi hạt lúa nảy mầm được ngâm với dịch nuôi cấy vi khuẩn trong 3 giờ, cấy một hạt mầm vào mỗi ống nghiệm chứa 10 ml môi trường MS. Thí nghiệm gồm 4 công thức, lặp lại 10 lần. Công thức thí nghiệm: CT1: Hạt lúa nảy mầm được ngâm trong dịch vi khuẩn HC21; CT2: Hạt lúa nảy mầm được ngâm trong dịch vi khuẩn HC24; CT3: Hạt lúa nảy mầm được ngâm trong dịch vi khuẩn TT13; Đ/C: Hạt lúa nảy mầm được ngâm trong nước. Chỉ tiêu theo dõi: Chiều dài rễ (mm), chiều dài thân mầm (cm) và trọng lượng tươi (g).

Phương pháp xử lý số liệu: Xử lý phương sai một nhân tố (One - way ANOVA) bằng phần mềm Statistic 10.0.

### 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

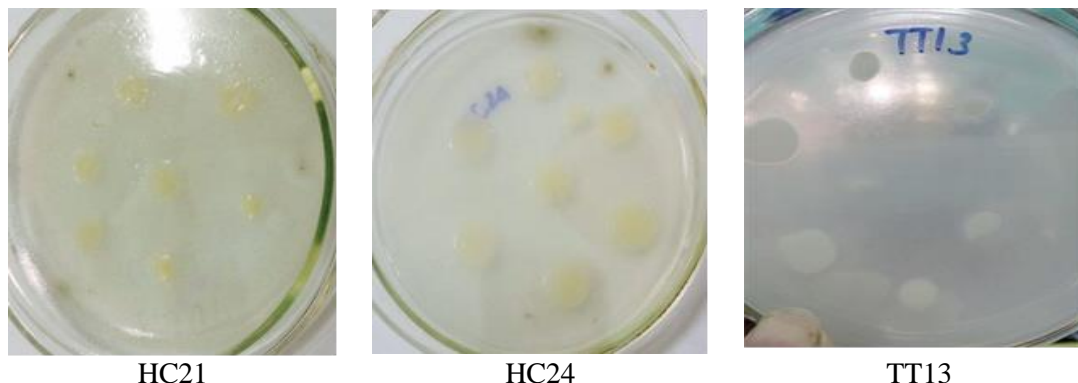
#### 3.1. Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn *Azotobacter*

Tiến hành phân lập 19 mẫu đất canh tác lúa ở các địa phương thuộc tỉnh Thừa Thiên Huế thu được 56 chủng vi khuẩn *Azotobacter* có khả năng cố định nitơ. Trong đó có 33 chủng có kích thước khuẩn lạc < 4,0 mm và 23 chủng có kích thước khuẩn lạc > 4,0 mm. Tiếp tục sơ tuyển chọn 23 chủng có kích thước khuẩn lạc > 4,0 mm; sau đó thuần khiết và quan sát khuẩn lạc. Để đánh giá khả năng cố định nitơ của các chủng, tiến hành đo kích thước và quan sát hình dạng của khuẩn lạc.

**Bảng 1.** Đặc điểm khuẩn lạc của một số chủng vi khuẩn *Azotobacter*

Chủng vi khuẩn	Địa điểm thu mẫu	Kích thước (mm)	Đặc điểm của khuẩn lạc
TD21	Thủy Dương	5,3	Trắng trong, nhầy, mép không đều, hơi tròn
TD22	Thủy Dương	5,5	Trắng trong, mép không đều, bóng, nhầy
TD23	Thủy Dương	6,0	Trắng trong, mép hơi đều, bóng, hơi tròn
TD24	Thủy Dương	5,8	Trắng trong, hơi tròn, bóng, nhầy
HC21	Hương Chũ	7,0	Trắng đục, tròn, bóng, nhầy
HC22	Hương Chũ	4,7	Trắng đục, tròn, bóng, nhầy, mép đều
HC24	Hương Chũ	7,7	Trắng đục, tròn, bóng, nhầy, mép đều
TT13	Thủy Thanh	6,8	Trắng đục, mép hơi đều, bóng, nhầy
HX11	Hương Xuân	5,3	Trắng trong, mép không đều, bóng
HX22	Hương Xuân	5,3	Trắng trong, hơi tròn, bóng, nhầy
HT11	Hương Toàn	4,3	Trắng trong, mép đều, bóng, nhầy, tròn
HT13	Hương Toàn	4,0	Trắng trong, hơi tròn, nhầy
QT12	Quảng Thọ	4,8	Trắng trong, tròn, bóng, nhầy
QT21	Quảng Thọ	5,3	Trắng trong, hơi tròn, bóng, hơi nhầy
QT23	Quảng Thọ	4,2	Trắng trong, tròn, bóng, nhầy
QP11	Quảng Phú	4,2	Trắng trong, tròn, bóng, nhầy
QP21	Quảng Phú	4,3	Trắng trong, tròn, bóng, hơi nhầy
QP23	Quảng Phú	4,5	Trắng trong, hơi tròn, bóng, nhầy
QV11	Quảng Vinh	5,0	Trắng trong, tròn, mép đều, bóng, nhầy
QV12	Quảng Vinh	4,2	Trắng trong, hơi tròn, nhầy
QV13	Quảng Vinh	4,7	Trắng trong, hơi tròn, bóng, mép hơi đều
QV14	Quảng Vinh	4,2	Trắng trong, hơi tròn, bóng, nhầy
QV23	Quảng Vinh	4,0	Trắng trong, hơi tròn, mép không đều, bóng

Sau 5 ngày nuôi cấy trong môi trường thạch đĩa vô đạm, chúng tôi chọn ba chủng có khả năng sinh trưởng mạnh, đó là các chủng HC21, HC24, TT13. Đây là ba chủng sinh trưởng mạnh hơn hẳn so với các chủng đã được phân lập, chúng có khả năng cố định nitơ cao. Kích thước khuẩn lạc của ba chủng dao động từ 6,8 - 7,7 mm, trong đó chủng HC24 có kích thước khuẩn lạc lớn nhất (7,7 mm).



**Hình 2.** Ba chủng vi khuẩn *Azotobacter* có khả năng cố định nitơ mạnh.

Tiến hành nghiên cứu đặc điểm hình thái của ba chủng vi khuẩn HC21, HC21, TT13. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc và tế bào của ba chủng vi khuẩn được mô tả theo khóa phân loại của Bergey (1989) thu được kết quả Bảng 2.

**Bảng 2.** Đặc điểm hình thái của 3 chủng vi khuẩn *Azotobacter* đã chọn

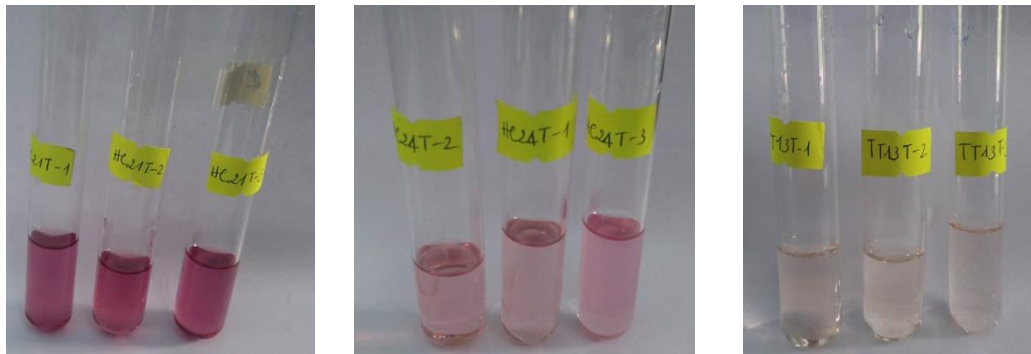
Chủng vi khuẩn	Nhuộm Gram	Đặc điểm tế bào	Đặc điểm khuẩn lạc	Kích thước khuẩn lạc (mm)
HC21	Gram (-)	Hình cầu, có khả năng di động	Trắng đục, tròn, bóng, nhầy	7,0
HC24	Gram (-)	Hình cầu, có khả năng di động	Trắng đục, tròn, bóng, nhầy, mép đều	7,7
TT13	Gram (-)	Hình tròn, có khả năng di động	Trắng đục, mép hơi đều, nhầy	6,8

### 3.2. Định lượng IAA trong dịch nuôi cấy vi khuẩn

Nuôi cấy lắc vi khuẩn 200 vòng/ phút ở 30°C trong 5 ngày. Sau đó đem dịch vi khuẩn đi ly tâm 4500 vòng/phút/15 phút. Sau đó đem đi đo OD<sub>530nm</sub> và đối chiếu với đồ thị chuẩn để xác định hàm lượng IAA trong dịch nuôi cấy. Kết quả trung bình của ba lần lặp lại được thể hiện ở Bảng 3. Phản ứng màu được thể hiện ở Hình 3.

**Bảng 3.** Hàm lượng IAA trong dịch nuôi cấy vi khuẩn *Azotobacter*

Chủng vi khuẩn	Hàm lượng IAA (µg/ml)
HC21	73,92
HC24	25,84
TT13	7,68



**Hình 3.** Phản ứng màu IAA với thuốc thử Salkowski sau 5 ngày nuôi cấy.

Kết quả Bảng 3 cho thấy hàm lượng IAA tổng hợp được trong dịch nuôi cấy khi bổ sung 0,01% tryptophan có sự khác nhau giữa ba chủng vi khuẩn, hàm lượng IAA này ở khoảng 7,68 - 73,92  $\mu\text{g/ml}$ . Kết quả nghiên cứu của Andriollo và cs. (1990) cho thấy IAA khoảng 0,15 - 18 ( $\mu\text{g/mL}$ ) khi bổ sung 50 ( $\mu\text{g/mL}$ ) tryptophan vào môi trường nuôi vi khuẩn. Theo Patten và cs. (2002) khi có bổ sung tryptophan với nồng độ 500 ( $\mu\text{g/mL}$ ) vào môi trường nuôi vi khuẩn thì vi khuẩn sản sinh được lượng IAA là  $32,7 \pm 2,9$  ( $\text{g/ml/OD}_{600}$ ). Khalid và cs. (2001) khi phân lập một số vi sinh vật từ vùng rễ của cây lúa gạo và cây lúa mì và thử khả năng tổng hợp IAA của các dòng cao nhất là 12,1  $\mu\text{g/ml}$ .

### 3.3. Ảnh hưởng của một số điều kiện nuôi cấy đến sinh trưởng phát triển của các chủng vi khuẩn *Azotobacter* đã chọn lọc

**Bảng 4.** Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy, pH môi trường và nguồn carbon đến sinh trưởng, phát triển của các chủng HC21, HC24, TT13

Chủng vi khuẩn	Nhiệt độ ( $^{\circ}\text{C}$ )			pH				Nguồn carbon		
	26	28	30	6	6,5	7,0	7,5	Glucose	Saccharose	Maltose
HC21	0,24 <sup>b</sup>	0,31 <sup>a</sup>	0,24 <sup>b</sup>	0,03 <sup>b</sup>	0,03 <sup>b</sup>	0,06 <sup>a</sup>	0,04 <sup>b</sup>	0,31 <sup>a</sup>	0,21 <sup>b</sup>	0,29 <sup>a</sup>
HC24	0,23 <sup>b</sup>	0,24 <sup>b</sup>	0,28 <sup>a</sup>	0,02 <sup>b</sup>	0,03 <sup>b</sup>	0,03 <sup>b</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,27 <sup>b</sup>	0,34 <sup>a</sup>	0,22 <sup>c</sup>
TT13	0,02 <sup>b</sup>	0,02 <sup>b</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,03 <sup>b</sup>	0,04 <sup>b</sup>	0,06 <sup>a</sup>	0,03 <sup>b</sup>	0,13 <sup>a</sup>	0,11 <sup>b</sup>	0,11 <sup>b</sup>

Ghi chú: Trung bình trong cùng một hàng có các chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa ở mức  $P < 0,01$ .

Nhiệt độ thích hợp cho chủng HC21, HC24, TT13: Chủng HC21 sau 5 ngày nuôi cấy sinh trưởng phát triển mạnh ở điều kiện  $28^{\circ}\text{C}$  và sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức xác suất 99% so với điều kiện nhiệt độ  $26^{\circ}\text{C}$  và  $30^{\circ}\text{C}$  với sinh khối vi khuẩn đạt 0,313. Chủng HC24 ở điều kiện  $30^{\circ}\text{C}$  sau 5 ngày nuôi cấy thì chủng HC24 sinh trưởng phát triển mạnh và sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức xác suất 99% so với điều kiện nhiệt độ  $26^{\circ}\text{C}$  và  $28^{\circ}\text{C}$  với sinh khối vi khuẩn đạt 0,281. Chủng TT13 đạt sinh khối vi khuẩn ở điều kiện nhiệt độ  $30^{\circ}\text{C}$  cao nhất (0,039) và sai khác so với  $26^{\circ}\text{C}$  và  $28^{\circ}\text{C}$  ở mức xác suất 99%. Như vậy, tốc độ sinh trưởng của các chủng vi khuẩn trong các khoảng nhiệt độ nuôi cấy có sự khác nhau. Nhiệt độ thích hợp cho sinh trưởng phát triển của chủng HC21 là  $28^{\circ}\text{C}$ , hai chủng HC24 và TT13 là  $30^{\circ}\text{C}$ .

Nồng độ môi trường Ashby được điều chỉnh bằng dung dịch đệm phosphat ở mức pH 6; 6,5; 7 và 7,5. Sau 5 ngày nuôi cấy, chủng HC21 sinh trưởng và phát triển tốt ở điều kiện pH = 7 và sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức xác suất 99% so với điều kiện pH = 6; 6,5; 7,5 với sinh khối vi khuẩn đạt cao nhất là 0,027. Đối với chủng HC24 sinh trưởng và phát triển mạnh ở pH = 7,5 và sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức xác suất 99% so với điều kiện pH = 6; 6,5; 7 với sinh khối vi khuẩn đạt lần lượt là 0,021; 0,018; 0,020. Sinh khối vi khuẩn của chủng TT13 ở điều kiện pH = 7 đạt cao nhất (0,059) và sai khác so với pH = 6; 6,5; 7,5 ở mức xác suất 99%. Như vậy, tốc độ sinh trưởng của các chủng vi khuẩn trong

các khoảng pH nuôi cấy có sự khác nhau. pH thích hợp cho sinh trưởng phát triển của chủng HC24 là 7,5; hai chủng HC21 và TT13 là 7.

Nguồn carbon ảnh hưởng trực tiếp đến sự sinh trưởng của vi sinh vật nói chung và vi khuẩn nói riêng. Trong quá trình nhân nuôi các chủng vi khuẩn nguồn carbon thích hợp không những tạo ra một lượng sinh khối lớn mà còn giảm được thời gian nuôi cấy. Do đó, để khảo sát sự ảnh hưởng của các chủng vi khuẩn cố định đạm tối tiên hành nuôi cấy trên 3 nguồn carbon khác nhau là glucose, mantose, sacharose. Khả năng đồng hóa các nguồn carbon của 3 chủng thể hiện theo trình tự sau:

Đối với chủng HC21: Glucose - Maltose - Saccharose.

Đối với chủng HC24: Saccharose - Glucose - Maltose.

Đối với chủng TT13: Glucose - Saccharose - Maltose.

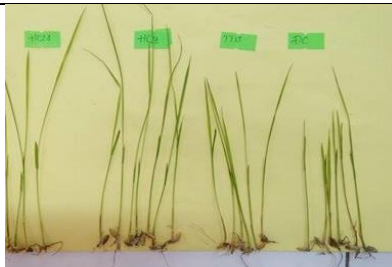
Như vậy, các chủng vi khuẩn *Azotobacter* khác nhau sinh trưởng, phát triển tốt trong điều kiện nhiệt độ, pH môi trường và nguồn carbon khác nhau.

### 3.4. Đánh giá ảnh hưởng của dịch nuôi cấy vi khuẩn *Azotobacter* trên cây mạ trong ống nghiệm

Thí nghiệm trong ống nghiệm để khảo sát vai trò của vi khuẩn lên cây lúa thời kì mạ (7 ngày tuổi). Tiến hành nuôi vi khuẩn trong môi trường Ashby dịch thể trong 5 ngày, 30°C, đồng thời ủ hạt lúa. Sau đó hạt nảy mầm được ngâm với dịch nuôi cấy vi khuẩn trong 3 giờ, rồi cấy một hạt mầm vào mỗi ống nghiệm chứa 10 ml môi trường MS. Sau 7 ngày nuôi cấy thu được kết quả ở Bảng 5 và Hình 4.

**Bảng 5.** Giá trị trung bình của các lượng giá cây mạ sau 7 ngày cấy trong ống nghiệm của 3 chủng vi khuẩn CH21, CH24 và TT13

Công thức	Rễ mầm (mm)	Thân mầm (cm)	Trọng lượng tươi (g)
ĐC	18,30 ± 8,5	9,97 ± 9	0,07 ± 0,04
CT1	23,40 ± 8,5	14,52 ± 46	0,09 ± 0,06
CT2	14,70 ± 9,7	10,98 ± 15	0,08 ± 0,08
CT3	28,20 ± 8,0	10,61 ± 33	0,07 ± 0,05



**Hình 4.** Ảnh hưởng của sự nhiễm khuẩn (cây mạ 7 ngày tuổi trên môi trường MS).

Ghi chú:

- (1) Cây mầm trồng trên môi trường MS có nhiễm vi khuẩn chủng HC24.
- (2) Cây mầm trồng trên môi trường MS có nhiễm vi khuẩn chủng HC21.
- (3) Cây mầm trồng trên môi trường MS có nhiễm vi khuẩn chủng TT13
- (4) Cây mầm trồng trên môi trường MS không nhiễm vi khuẩn - Đối chứng

Kết quả sau khi lúa nảy mầm được ngâm trong dịch vi khuẩn và nước ta thấy lúa được ngâm trong các dịch thể có rễ mầm, thân mầm, và trọng lượng tươi lớn hơn so với đối chứng hạt lúa được ngâm trong nước. Sau 7 ngày cấy lúa trong ống nghiệm chứa môi trường MS thì ta thấy các chủng vi khuẩn HC21, HC24, TT13 có ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và

phát triển của cây mạ. Cây mạ được nhiễm dịch vi khuẩn của chủng HC21 là tốt nhất có chiều cao rễ mầm trung bình là 23,4mm; thân mầm trung bình là 14,52cm; trọng lượng tươi là 0,091g. Ngược lại, với cây ở trong các ống nghiệm đối chứng là thấp nhất.

Tóm lại, hạt lúa nảy mầm có nhiễm dịch vi khuẩn thì sinh trưởng và phát triển tốt hơn hạt lúa nảy mầm không được nhiễm dịch vi khuẩn.

#### 4. KẾT LUẬN

- Từ 19 mẫu đất thu thập đã tuyển chọn được 3 chủng HC21, HC24, TT13 có khả năng cố định nitơ và sinh tổng hợp IAA mạnh.

- Đặc điểm hình thái của 3 chủng: Sau khi tiến hành nhuộm Gram thì cả ba chủng đều là vi khuẩn Gram (-). Chủng HC21 và HC24 có đặc điểm tế bào hình cầu, có khả năng di động. Đặc điểm tế bào của chủng TT13 là hình tròn và có khả năng di động.

- Thăm dò điều kiện tối ưu cho sự sinh trưởng và phát triển của 3 chủng vi khuẩn trong môi trường Ashby dịch thể kết quả thu được: Chủng HC21 sinh trưởng và phát triển tốt với nguồn carbon là glucose, nhiệt độ là 28°C, pH = 7; chủng HC24 sinh trưởng và phát triển tốt với nguồn carbon là saccharose, nhiệt độ là 30°C, pH = 7,5; Chủng TT13 sinh trưởng và phát triển tốt với nguồn carbon là glucose, nhiệt độ là 30°C, pH = 7.

- Các chủng vi khuẩn *Azotobacter* tuyển chọn đều có khả năng kích thích sự sinh trưởng và phát triển của cây lúa trong điều kiện *in vitro* trong đó chủng HC21 có ảnh hưởng tốt nhất.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

##### Tài liệu tiếng Việt

Nguyễn Lâm Dũng, (1984). *Vi sinh vật đất và sự chuyển hóa các hợp chất carbon, nitơ*. Hà Nội: NXB Khoa học và kỹ thuật.

Nguyễn Thị Thu Hằng, Nguyễn Thị Thủy, (2015). Tuyển chọn vi khuẩn *Azotobacter* có khả năng cố định nitơ và sinh tổng hợp IAA. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*, 3- 9.

Nguyễn Xuân Thành, Nguyễn Bá Hiền, Hoàng Hải, Vũ Thị Hoan, Nguyễn Xuân Thành, (2007). *Giáo trình vi sinh vật học công nghiệp*: NXB Giáo dục.

##### Tài liệu tiếng nước ngoài

Andriollo N., Noris E., Signorini E., Tolentino D. and Pirali G., (1990). Screening program for the isolation of N<sub>2</sub>-fixing bacteria of the genus *Azospirillum*. *Nitrogen fixation*. 48, 347-348.

Caressa Hanson, (2008). *Root colonization and environmental fate of the bioherbicide Pseudomonas Flourescens BRG100*. Unpublished thesis of the College of Graduate Studies and Research in partial fulfillment.

Egrow N. X., (1976). *Thực tập vi sinh vật*, NXB Mir, Maxcova. Nguyễn Lâm Dũng dịch (1983): NXB ĐH và THCN Hà Nội.

Harunor Rashid Khan, Mohiuddin, Rahman, (2008). Enumeration, isolation and identification of nitrogen-fixing bacterial strains at seeding stage in rhizosphere of rice grown in non-calcareous grey flood plain soil of Bangladesh. *Journal of the Faculty of Environmental Science and Technology*, 13, 97-101.

María guineth torres-rubio, Sandra astrid valencia-plata, Jaime bernal-castillo, Patricia martínez-nieto, (2000). Isolation of Enterobacteria, *Azotobacter* sp. and *Pseudomonas* sp., Producers of Indole-3-Acetic Acid and Siderophores, from Colombian Rice Rhizosphere. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 42, 171-176.

Patten C. L and B. R. Glick, (2002). Role of *Pseudomonas putida* Indoleacetic Acid in Development of the Host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology*. 68(8), 3795 – 3801.

Ridvan Kizilkaya, (2009). Nitrogen fixation capacity of *Azotobacter* spp. Strains isolated from soils different ecosystems and relationship between them and the microbiological properties of soils. *J. Environ. Boil*, 30(1): 78-82.

## **SCREENING OF AZOTOBACTER STRAINS WITH THE ABILITY OF NITROGEN FIXATION AND SYNTHESIS OF INDOLE ACETIC ACID (IAA) IN PADDY SOIL IN THUA THIEN HUE PROVINCE**

**Tran Thi Xuan Phuong<sup>1</sup>, Nguyen Thi Nhu Ngoc<sup>1</sup>,  
Nguyen Thi Thuan<sup>1</sup>, Le Xuan Diem Ngoc<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Agronomy Faculty, University of Agriculture and Forestry, Hue University

<sup>2</sup>Department of Physics, University of Sciences, Hue University

Contact email: [tranthixuanphuong@huaf.edu.vn](mailto:tranthixuanphuong@huaf.edu.vn)

### **ABSTRACT**

56 *Azotobacter* bacteria strains were isolated from 19 paddy soil samples in Thua Thien Hue province, 23 of them were typical bacteria strains. The three selected bacteria are Gram (-) having mobile ability, spherical or circular cells. Particularly, all these three strains can synthesize IAA in which HC21 can synthesize the best IAA of 73,92 µg/ml. HC21 strains grown well with carbon source: glucose with temperature = 28<sup>0</sup>C and pH = 7; HC24 strains grow well with carbon source: saccharose with temperature = 30<sup>0</sup>C and pH= 7,5; TT13 strains grown well with carbon source: glucose with temperature = 28<sup>0</sup>C and pH = 7. Moreover, these strains have strong growth rate, highly infectious possibility and competitive ability with other bacteria groups in soil environment enhancing the growth of rice seedlings in vitro.

**Key words:** *Azotobacter*, isolation, selection, IAA, Thua Thien Hue

*Received:* May 23, 2017

*Reviewed:* June 13, 2017

*Accepted:* June 15, 2017