

PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN VÀ ĐỊNH DANH VI KHUẨN HÒA TAN LÂN, CỐ ĐỊNH ĐẠM VÀ TỔNG HỢP IAA VÙNG RỄ CÂY ĐÌNH LĂNG (*Polyscias fruticosa*)

Nguyễn Quốc Khương¹, Trần Ngọc Hữu¹, Lê Vinh Thúc¹,
Lê Thị Mỹ Thu¹, Nguyễn Hồng Huế¹, Trần Chí Nhân²,
Phạm Duy Tiến², Lý Ngọc Thanh Xuân²

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu là xác định được vi khuẩn có khả năng hòa tan lân, cố định đạm và tổng hợp IAA vùng rễ cây đình lăng. Mười ba mẫu đất vùng rễ đình lăng thu thập tại huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang được sử dụng để phân lập vi khuẩn hòa tan lân trên môi trường NBRIP. Kết quả nghiên cứu xác định được 30 dòng vi khuẩn hòa tan lân, trong đó 15 dòng có khả năng chịu đựng được môi trường chua và dòng vi khuẩn ký hiệu AC10L2 có hoạt tính hòa tan lân cao nhất, đạt hàm lượng lân tan 20,5 mg P L⁻¹. Dòng vi khuẩn AC10L2 cũng có khả năng cố định đạm và tổng hợp IAA, với hàm lượng lần lượt là 63,2 mg P L⁻¹ và 0,81 mg IAA L⁻¹. Dòng vi khuẩn AC10L2 được định danh là *Bacillus subtilis* bằng kỹ thuật 16S rDNA.

Từ khóa: Đình lăng (*Polyscias fruticosa* L. Harms), vi khuẩn cố định đạm, vi khuẩn hòa tan lân, vi khuẩn tổng hợp IAA, *Bacillus subtilis*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đình lăng là một loài thuộc họ Araliaceae, có nguồn gốc từ Ấn Độ. Cây phát triển tốt nhất ở nhiệt độ từ 19 - 29°C và nhạy cảm với nhiệt độ cao (Pandya *et al.*, 2020). Theo Nguyen và cộng tác viên (2020), đình lăng là cây thảo dược có tác dụng trong y học, đặc biệt là chống oxy hóa, chống viêm và hạ sốt. Lân (P) đóng một vai trò quan trọng trong quá trình sinh trưởng và phát triển của cây trồng. Tuy nhiên, nhiều loại đất được xác định nghèo P hữu dụng cho cây trồng vì bị cố định bởi sắt, nhôm và canxi để tạo thành các hợp chất không tan cây trồng không thể hấp thu được (Weil and Brady, 2017), P tổng số có thể vẫn cao (Nussaume *et al.*, 2011). Lân tham gia vào một số chức năng trong cây trồng như quang hợp, hô hấp, tổng hợp acid nucleic, tạo năng lượng, một phần không thể thiếu của phosphoprotein và phospholipid (Cordell *et al.*, 2011). Đạm (N) có thể bổ sung từ nhiều nguồn khác nhau như khoáng hóa, cố định khí N₂ và phân bón (Zhang *et al.*, 2017). Tuy nhiên, sau thời gian dài bón phân hóa học, tình trạng thoái hóa và ô nhiễm đất ngày càng trầm trọng (Gurdeep and Reddy, 2015), đồng thời gia tăng phát thải khí nhà kính gây ô nhiễm môi trường (Nguyễn Quốc Khương, Ngô Ngọc Hưng, 2014). Indole-3-acetic acid (IAA), đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa sinh trưởng cây trồng (Jin *et al.*, 2021). Wei và cộng tác viên (2018) cho biết, các vi sinh vật trong đất góp phần gia tăng lượng lân hữu dụng trong đất cho cây trồng. Ngoài ra, vi khuẩn cũng đóng vai trò cung cấp đạm cho cây trồng (Nguyễn Quốc Khương

và *ctv.*, 2019). Nghiên cứu của Singh và cộng tác viên (2016) cũng cho biết, vi khuẩn vùng rễ đã được sử dụng để tăng cường sinh trưởng, phát triển cây trồng. Mục tiêu của nghiên cứu là tuyển chọn vi khuẩn vùng rễ cây đình lăng có khả năng hòa tan lân, cố định đạm và tổng hợp IAA.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu đất cho phân lập vi khuẩn được thu tại ba xã thuộc huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang.

Môi trường NBRIP (g/L) gồm: 10 g glucose, 5 g Ca₃(PO₄)₂, 2,5 g MgCl₂·6H₂O, 0,25 g MgSO₄·7H₂O, 0,2 g KCl, 0,1 g (NH₄)₂SO₄, được sử dụng để phân lập vi khuẩn vùng rễ.

Môi trường Burk's (g/L) gồm: 10 sucrose, 0,41 KH₂PO₄, 0,52 KH₂PO₄, 0,05 Na₂SO₄, 0,2 CaCl₂, 0,1 MgSO₄·7H₂O, 0,005 FeSO₄·7H₂O, 0,0025 Na₂MoO₄·2H₂O và 20 agar, được sử dụng để nuôi các dòng vi khuẩn và đánh giá khả năng cố định đạm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu thập và phân tích mẫu đất

Mười ba mẫu đất vùng rễ được thu tại các vị trí xung quanh gốc của cây đình lăng 02 năm tuổi, với khối lượng 500 g/mẫu, được tư liệu hóa, trữ lạnh và phân tích các chỉ tiêu pH_{H₂O}, pH_{KCl}, lân tổng số, lân dễ tiêu theo phương pháp được mô tả bởi Sparks và cộng tác viên (1996) tại trong phòng thí nghiệm của

¹ Bộ môn Khoa học cây trồng, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

² Trường Đại học An Giang; Trường Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

Khoa Nông nghiệp, trường Đại học Cần Thơ và Khu thí nghiệm-thực hành, trường Đại học An Giang.

2.2.2. Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn hòa tan lân, cố định đạm và tổng hợp IAA

Vi sinh vật hòa tan lân được phân lập theo phương pháp được mô tả bởi Nguyễn Quốc Khương và cộng tác viên (2019) và định lượng hoạt tính hòa tan lân theo phương pháp mô tả bởi Cao Ngọc Điệp và Nguyễn Thị Mộng Huyền (2015).

Khả năng chịu được môi trường chua của các vi khuẩn hòa tan lân phân lập được đánh giá bằng cách nuôi cấy trong môi trường có pH = 5,5 đạt giá trị OD660 = 0,5. Lấy 0,5 mL sinh khối vi sinh vật cho vào ống nghiệm chứa sẵn 4,5 mL môi trường NBRIP lỏng, ủ 48 giờ trong điều kiện tối, sau đó lấy 2 mL dung dịch đo trên máy so màu ở bước sóng 660 nm. Các dòng vi khuẩn đạt giá trị OD660 lớn hơn 0,7 là các vi sinh vật có khả năng chịu được môi trường chua (Nguyễn Quốc Khương và *ctv.*, 2019).

Khả năng cố định đạm, tổng hợp IAA của các dòng vi khuẩn hòa tan lân được thực hiện theo phương pháp được mô tả bởi Cao Ngọc Điệp và Nguyễn Thị Mộng Huyền (2015).

Tất cả các thí nghiệm đánh giá khả năng chịu môi trường chua, hòa tan lân, cố định đạm và tổng hợp IAA được thực hiện trong điều kiện tối, với 3 lần lặp lại.

2.2.3. Định danh vi khuẩn

Các dòng vi khuẩn có hoạt tính hòa tan lân, cố định đạm, tổng hợp IAA cao được nuôi trong môi trường NBRIP trong 48 giờ, ly tâm ở tốc độ 10.000 vòng/phút trong 5 phút nhằm thu được tế bào để ly trích DNA bằng Genomic DNA Prep Kit (BioFACT™), theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sau đó kiểm tra nồng độ và độ thuần trên 1,0% w/v agarose gel bằng điện di. Sản phẩm DNA được khuếch đại gen mã hóa 16S rRNA bằng kỹ thuật PCR với cặp mồi 8F và 1492R (Turner *et al.*, 1999) như mô tả trong iProof™ High-Fidelity PCR Kit - Bio-Rad (BioRad, Hercules, CA) bởi T100™ thermo cycler (BioRad) cho vi khuẩn vùng rễ. So

kích thước của sản phẩm PCR với thang DNA chuẩn để xác nhận vị trí các band kích thước 1.500 bp đối với vi khuẩn vùng rễ. Sản phẩm PCR được tinh sạch bằng TIANquick Midi Purification Kit (Tiangen Biotech Ltd., Beijing, China) theo hướng dẫn nhà sản xuất. Sau đó, kiểm tra lại độ thuần trên 1,0% w/v agarose gel bằng điện di. Sản phẩm PCR đã tinh sạch được giải trình tự bằng máy giải trình tự tự động tại Macrogen DNA Sequencing Service (Macrogen, Seoul, Korea). Kết quả giải trình tự với sắc phổ được phân tích bằng phần mềm BioEdit, phiên bản 7.0.5.3 (Hall, 1999) và phần mềm ChromasPro version 1.7 (<http://technelysium.com.au/wp/chromaspro>). Giải trình tự của các dòng vi khuẩn được so sánh với các trình tự có sẵn trong ngân hàng gen bằng công cụ Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) của National Center for Biotechnology Information (NCBI) để xác định mức độ tương đồng.

Số liệu nghiên cứu được xử lý thống kê bằng phần mềm SPSS phiên bản 16.0.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thí nghiệm được thực hiện từ tháng 08 năm 2019 đến tháng 8 năm 2020 tại Khoa Nông nghiệp, trường Đại học Cần Thơ và Khu thí nghiệm-thực hành, trường Đại học An Giang.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc tính đất phân lập vi khuẩn hòa tan lân vùng rễ cây đinh lăng

Đất trồng đinh lăng tại 3 xã Châu Lăng, An Cư và Lương Phi có độ chua tiềm tàng ở mức trung tính với pH_{KCl} dao động 6,46 - 7,68. Hàm lượng lân tổng số đạt trong khoảng 0,05 - 0,10% cho thấy hàm lượng lân tổng số đạt của 3 xã ở mức trung bình (Nguyễn Xuân Cự, 2000). Hàm lượng lân dễ tiêu đạt 22,8 - 90,2 mg P kg⁻¹ và được đánh giá ở mức trung bình đến cao (Horneck *et al.*, 2011) (Bảng 1). Do đó, đất không thể cung cấp đủ dưỡng chất lân cho cây trồng. Chính vì vậy, vi khuẩn hòa tan lân có thể giúp cây trồng đạt được sinh khối tối đa.

Bảng 1. Đặc tính đất phân lập vi khuẩn vùng rễ hòa tan lân trồng đinh lăng thu tại huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang

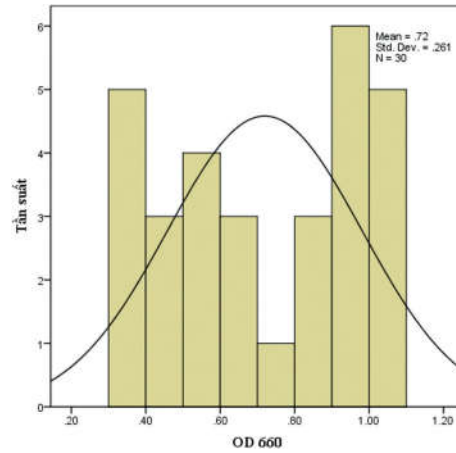
Địa điểm	Số mẫu	pH _{KCl} (Đất : KCl ~ 1 : 5)	P tổng số (%)	P dễ tiêu (mg P kg ⁻¹)
Châu Lăng	4	7,68 ± 0,53	0,10 ± 0,02	90,2 + 81,9
An Cư	4	6,83 ± 1,08	0,05 ± 0,06	22,8 ± 23,7
Lương Phi	5	6,46 ± 0,61	0,05 ± 0,04	59,9 ± 38,6

3.2. Tuyển chọn vi khuẩn hòa tan lân

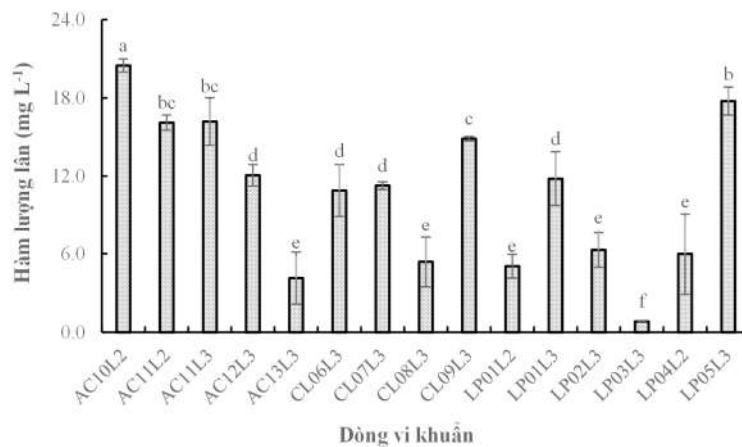
Từ 13 mẫu đất vùng rễ cây đinh lăng 02 năm tuổi, tổng số 30 chủng vi khuẩn có khả năng hòa tan lân được phân lập và làm thuần. Kết quả nuôi cấy các dòng vi khuẩn phân lập trong môi trường NBRIP lỏng có pH =5 ghi nhận 8 dòng vi khuẩn có giá trị OD660 nhỏ hơn 0,5; 17 dòng vi khuẩn có giá trị OD660 trong khoảng 0,5 - 1,0 và 5 dòng có giá trị OD660 > 1,0. 15 dòng vi khuẩn có giá trị OD660 > 0,7 được đánh giá có khả năng thích ứng môi trường chua và được sử dụng để đánh giá định lượng khả năng hòa tan lân (Hình 1).

Kết quả đánh giá khả năng hòa tan lân của 15 dòng vi khuẩn vùng rễ chịu được môi trường thể hiện trong hình 2 cho thấy mức độ hòa tan lân giữa các dòng vi khuẩn khác biệt có ý nghĩa thống kê 5%, trong đó, dòng vi khuẩn ký hiệu AC10L2 có khả năng hòa tan lân cao nhất, đạt 20,5 mg/L. Dòng vi

khuẩn LP03L3 có khả năng hòa tan lân thấp nhất chỉ đạt 0,83 mg/L. Các dòng vi khuẩn còn lại tạo hàm lượng lân tan trong khoảng 4,13 - 17,8 mg/L.

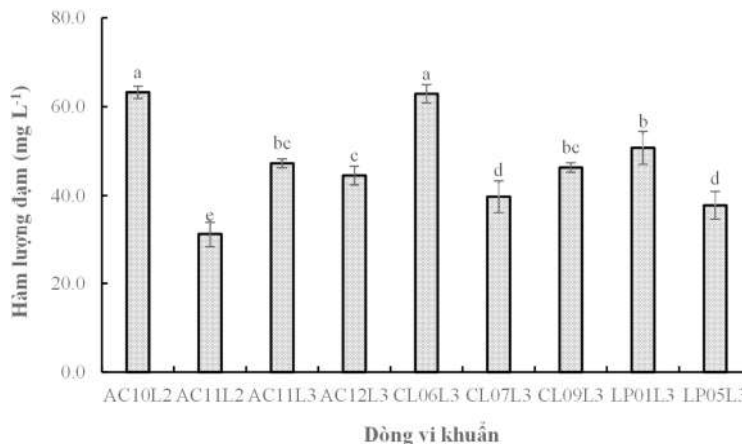


Hình 1. Khả năng sống của các chủng vi khuẩn đã làm thuần trong điều kiện pH chua



Hình 2. Khả năng hòa tan lân của các dòng vi khuẩn vùng rễ cây đinh lăng

3.3. Khả năng cố định đạm của các dòng vi khuẩn hòa tan lân



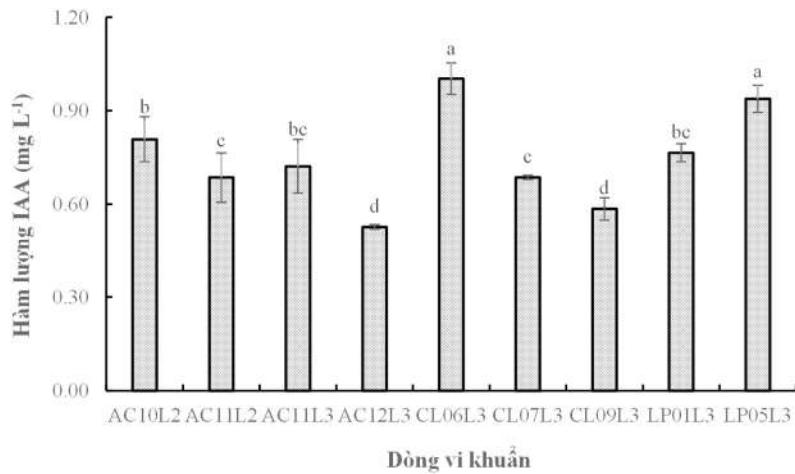
Hình 3. Khả năng cố định đạm của các dòng vi khuẩn vùng rễ cây đinh lăng

Chín dòng vi khuẩn hòa tan lân cao được sử dụng để đánh giá khả năng cố định đạm. Kết quả nghiên cứu ghi nhận 2 dòng vi khuẩn ký hiệu AC10L2 và CL06L3 có khả năng cố định đạm cao, với hàm lượng đạm 63,2 và 62,9 mg/L, khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% so với các dòng vi khuẩn còn lại (Hình 3).

3.4.2. Khả năng tổng hợp IAA của các dòng vi khuẩn hòa tan lân

Trong tổng số 15 dòng vi khuẩn hòa tan lân có chín dòng hòa tan lân cao, các dòng vi khuẩn này cũng có

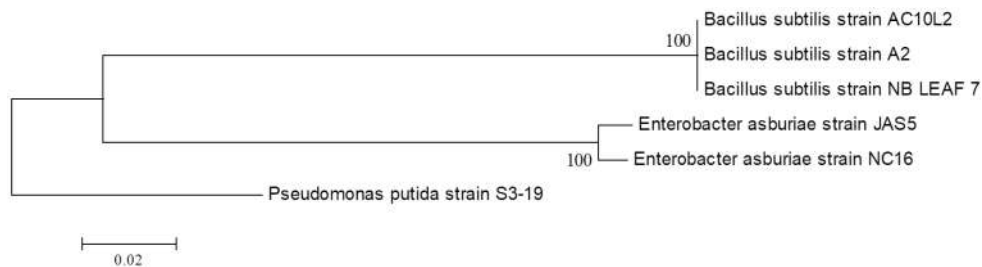
khả năng tổng hợp IAA. Kết quả đánh giá khả năng tổng hợp IAA của 9 dòng vi khuẩn hòa tan lân cao trong hình 4 xác định hàm lượng IAA tổng hợp dao động 0,53 - 1,00 mg/L và khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% giữa các dòng vi khuẩn nghiên cứu, trong đó dòng vi khuẩn ký hiệu CL06L3 và LP05L3 có khả năng tổng hợp IAA cao nhất, với hàm lượng lần lượt là 1,00 và 0,94 mg/L. Hai dòng vi khuẩn AC12L3 và CL09L3 có khả năng tổng hợp IAA thấp, đạt hàm lượng 0,53 và 0,58 mg/L. Các dòng vi khuẩn còn lại có hàm lượng IAA 0,69 - 0,81 mg/L.



Hình 4. Khả năng tổng hợp IAA của các dòng vi khuẩn vùng rễ cây đinh lăng

Từ các kết quả tuyển chọn dòng vi khuẩn hòa tan lân, cố định đạm, tổng hợp IAA nêu trên, có thể xác định dòng vi khuẩn AC10L2 có hoạt tính hòa tan lân cao nhất, là một trong hai dòng vi khuẩn có khả năng cố định đạm tốt nhất và có khả năng tổng hợp IAA đạt 0,81 mg/L IAA. Dòng vi khuẩn AC10L2 được định danh phục vụ cho các nghiên cứu tiếp theo.

Kết quả định danh dòng vi khuẩn vùng rễ hòa tan lân xác định dòng vi khuẩn AC10L2 có tỷ lệ tương đồng 100% với *Bacillus subtilis* AC10L2 (Hình 5). Dòng vi khuẩn AC10L2 được định danh là *B. subtilis* AC10L2, thuộc nhóm vi khuẩn an toàn sinh học cấp độ 1 theo TRBA 466 của liên minh châu Âu được phóng thích không hạn chế vào môi trường.



Hình 5. Vị trí chủng AC10L2 trên cây phân loại theo trình tự gen

Vi sinh vật vùng rễ cây trồng được nghiên cứu sử dụng làm phân bón vi sinh và xác định giúp tăng cường sinh trưởng thực vật và giúp cây trồng thích nghi tốt hơn với các điều kiện môi trường bất thuận thông qua khả năng hòa tan lân, cố định đạm, tổng

hợp hormone kích thích sinh trưởng thực vật như indole-3-acetic acid, gibberellins, cytokinin hoặc các sản phẩm thứ cấp tăng cường khả năng chống chịu điều kiện môi trường bất thuận như ethylene (Emami *et al.*, 2018; Odoh, 2017). Lastochkina và

cộng tác viên (2021) cho biết *B. subtilis* có vai trò quan trọng trong việc thúc đẩy sự phát triển của cây trồng và khả năng chống chịu với điều kiện bất lợi của môi trường.

IV. KẾT LUẬN

Từ 13 mẫu đất vùng rễ cây dinh lăng thu thập tại huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang, 30 dòng vi khuẩn có khả năng hòa tan lân được phân lập. Dòng vi khuẩn ký hiệu AC10L2 có khả năng hòa tan lân tốt nhất, với hàm lượng lân 20,5 mg/L, có khả năng thích ứng với môi trường chua. Dòng vi khuẩn AC10L2 có khả năng hòa cố định đạm và tổng hợp IAA đạt 63,2; 0,81 mg/L và được định danh là *Bacillus subtilis* AC10L2 với mức độ tương đồng 100%, thuộc nhóm vi khuẩn an toàn sinh học cấp độ 1.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Xuân Cự, 2000. Đánh giá khả năng cung cấp và xác định nhu cầu dinh dưỡng phốt pho cho cây lúa nước trên đất phù sa sông Hồng. Thông báo Khoa học của các trường Đại học, Bộ Giáo dục và Đào tạo phần Khoa học Môi trường, Hà Nội: 162-170.

Cao Ngọc Diệp, Nguyễn Thị Mộng Huyền, 2015. Phân lập và xác định đặc tính vi khuẩn nội sinh trong rễ cây khoai lang (*Ipomoea batatas*) trồng trên đất phèn ở huyện Hòn Đất, tỉnh Kiên Giang. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. Phần B: Nông nghiệp, Thú y sản và Công nghệ Sinh học, 36: 6-13.

Nguyễn Quốc Khương, Lê Vinh Thúc, Nguyễn Văn Minh, Nguyễn Thị Thanh Xuân, Trần Chí Nhân, Lý Ngọc Thanh Xuân, 2019. Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn quang dưỡng không lưu huỳnh màu tía chịu được độc chất Al^{3+} từ đất phèn trồng lúa. *Tạp chí Khoa học đất*, Số 56. Số đặc biệt Hội thảo tài nguyên đất đai - tiềm năng và phát triển: 23-28.

Nguyễn Quốc Khương, Lê Vinh Thúc, Nguyễn Thị Thái Lê, Trần Hoàng Em, Lâm Du Mẫn, Trần Ngọc Hữu, Nguyễn Thị Thanh Xuân, Trần Chí Nhân, Lý Ngọc Thanh Xuân, 2019. Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn có khả năng cố định đạm, phân giải lân, kích thích sinh trưởng cây trồng từ đất vùng rễ cây bắp lai. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, Số 23: 17-23.

Nguyễn Quốc Khương, Ngô Ngọc Hưng, 2014. Ảnh hưởng của biện pháp tưới tiết kiệm và vùi rơm đến sự phát thải khí CH_4 , N_2O và năng suất lúa Đông Xuân trên đất phù sa ở Vĩnh Long. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 5: 31-37.

Cordell D., Rosemarin A., Schröder J.J. and Smit A.L., 2011. Towards global phosphorus security: A systems

framework for phosphorus recovery and reuse options. *Chemosphere*, 84(6): 747-758.

Emami S., Alikhani H.A., Pourbabaei A.A., Etesami H., Motashare Zadeh B. and Sarmadian F., 2018. Improved growth and nutrient acquisition of wheat genotypes in phosphorus deficient soils by plant growth-promoting rhizospheric and endophytic bacteria. *Soil Science and Plant Nutrition*, 64(6): 719-27.

Gurdeep K.A.U.R. and Reddy M.S., 2015. Effects of phosphate-solubilizing bacteria, rock phosphate and chemical fertilizers on maize-wheat cropping cycle and economics. *Pedosphere*, 25(3): 428-437.

Hall T.A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95-98.

Horneck D.A., Sullivan D.M., Owen J.S. and Hart J.M., 2011. Soil test interpretation guide: 12 pp. <https://catalog.extension.oregonstate.edu/ec1478>.

Jin J., Essemine J., Duan J., Xie Q., Zhu J. and Cai W., 2021. Regeneration of active endogenous IAA in rice calli following acclimation to 2, 4-D free medium. *Plant Growth Regulation*, 93(2): 203-220.

Lastochkina O., Garshina D., Allagulova C., Pusenkova L., Garipova S., Maslennikova D., Fedorova K., Shpirnaya I., Ibragimov A., Koryakov I., Sakhapova A., Yuldasbaeva G., Dmitrieva A., Sobhani M. and Aliniaiefard S., 2021. Potential Aspects of Plant Growth Promoting Bacteria to Improve Horticultural Crop Production. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 8(2): 103-122.

Murphy J. and Riley J.P., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica chimica acta*, 27: 31-36.

Nelson D.W., 1983. Determination of ammonium in KCl extracts of soils by the salicylate method. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 14(11): 1051-1062.

Nguyen N.Q., Nguyen M.T., Nguyen V.T., Le V.M., Trieu L.H., Le X.T., Khang T.V., Giang N.T.L., Thach N.Q. and Hung T.T., 2020. The effects of different extraction conditions on the polyphenol, flavonoids components and antioxidant activity of *Polyscias fruticosa* roots. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 736, No. 2, p. 022067). IOP Publishing.

Nussaume L., Kanno S., Javot H., Marin E., Nakanishi T.M. and Thibaud M.C., 2011. Phosphate import in plants: focus on the PHT1 transporters. *Frontiers in plant science*, 2: 83.

- Odoh C.K.**, 2017. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A bioprotectant bioinoculant for sustainable agrobiolology. *A review. Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.*, 4(5): 123-142.
- Pandya D., Mankad A. and Pandya A.M.H.**, 2020. Comparative capacity of *In-vivo* and *In-vitro* produced plants of *Polyscias fruticosa* (L.) Harm. *Research Journal of Agricultural Sciences*, 11(6): 1420-1422.
- Singh N., Srivastava S., Rathaur S., and Singh N.**, 2016. Assessing the bioremediation potential of arsenic tolerant bacterial strains in rice rhizosphere interface. *Journal of Environmental Sciences*, 48: 112-119.
- Turner J.T. and P.A. Backman.**, 1999. Factors relating to peanut yield increases after seed treatment with *Bacillus subtilis*. *Plant Disease*, 75: 347-353.
- Wei Y., Zhao Y., Shi M., Cao Z., Lu, Q., Yang T., Fan Y. and Wei Z.**, 2018. Effect of organic acids production and bacterial community on the possible mechanism of phosphorus solubilization during composting with enriched phosphate-solubilizing bacteria inoculation. *Bioresource Technology*, 247: 190-199.
- Weil R.R. and Brady N.C.**, 2017. Phosphorus and potassium. *In: The Nature and Properties of Soils. 15th ed.* Pearson, Columbus, OH, USA.
- Zhang H., Khan A., Tan D.K., and Luo H.**, 2017. Rational water and nitrogen management improves root growth, increases yield and maintains water use efficiency of cotton under mulch drip irrigation. *Frontiers in Plant Science*, 8: 912.
- Glickman E. and 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(12): 793-796.
- Sparks, D.L., Page, A.L., Helmke, P.A., Loeppert, R.H., Soltanpour, P.N., Tabatabai, M.A., Johnston, C.T., Sumner, M.E., (Eds.)**, 1996. *Methods of soil analysis. Part 3-Chemical methods.* SSSA Book Ser. 5.3. SSSA, ASA, Madison, WI.
- TRBA 466.** Einstufung von prokaryonten (Bacteria und Archaea) in Risikogruppen“, Ausgabe August 2015. <http://www.gda-portal.de/VorschriftenRegeln/VorschriftenRegeln.html>.

Isolation, selection and identification of phosphate solubilizing, nitrogen fixing and IAA synthetizing bacteria from rhizosphere of *Ming aralia* (*Polyscias fruticosa*)

Nguyen Quoc Khuong, Tran Ngoc Huu, Le Vinh Thuc,
Le Thi My Thu, Nguyen Hong Hue, Tran Chi Nhan,
Pham Duy Tien, Ly Ngoc Thanh Xuan

Abstract

Objective of the study was to determine phosphorus solubilizing, nitrogen fixing, and IAA synthetizing bacteria in rhizosphere of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms. Thirteen root samples collected from Tri Ton district, An Giang province were used for isolating phosphorus solubilizing bacteria on NBRIP medium. Results showed that 30 isolates possessed the phosphorus solubilizing ability, of which, 15 strains possessed the acidic resistant ability. The strain AC10L2 showed the highest phosphorus solubilizing activity with phosphorus content of 20.5 mg P L⁻¹. Moreover, this strain was able to fix the nitrogen and synthetize the IAA with the contents of 63.2 mg N L⁻¹ and 0.81 mg IAA L⁻¹, respectively. The selected strain was identified as *Bacillus subtilis* AC10L2 by 16S rDNA sequences.

Keywords: *Ming aralia* (*Polyscias fruticosa* L. Harms), P-solubilizing bacteria, N-fixing bacteria, IAA-synthetizing bacteria, *Bacillus subtilis* AC10L2

Ngày nhận bài: 08/3/2021
Ngày phản biện: 28/4/2021

Người phản biện: GS.TS. Phạm Văn Toàn
Ngày duyệt đăng: 04/6/2021

HOẠT TÍNH GÂY ĐỘC TẾ BÀO UNG THƯ GAN VÀ UNG THƯ PHỔI CỦA CAO CHIẾT CÂY LAN GẤM TẠI AN GIANG

Nguyễn Công Kha¹, Đỗ Thị Hồng Tươi², Nguyễn Lê Thanh Tuyền¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện đánh giá khả năng gây độc tế bào ung thư gan và ung thư phổi của cao chiết cây Lan gấm trong điều kiện phòng thí nghiệm. Cao chiết cây Lan gấm được thực hiện theo phương pháp ngâm dầm với dung môi cồn và nước, kết hợp sóng siêu âm. Tế bào ung thư gan và ung thư phổi sử dụng trong nghiên cứu là tế bào HepG2 và tế bào A549. Hiệu quả gây độc tế bào ung thư gan và ung thư phổi được xác định bằng phương pháp MTT [3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromid]. Phương pháp MTT dựa trên phản ứng khử màu của MTT- 3-(4,5- Dimethylthiazol-2-yl)- 2,5- diphenyltetrazolium bromide, 1-tetrazol) có màu vàng thành formazan có màu tím trong ty thể của tế bào sống. Kết quả cho thấy, cao chiết cây Lan gấm bằng nước và cồn có khả năng gây độc tế bào ung thư gan HepG2 và ung thư phổi A549 nhưng tác dụng gây độc chưa cao. Cây Lan gấm từ vùng Thất Sơn có khả năng gây độc tế bào ung thư và là nguồn nguyên liệu cho quá trình sản xuất các sản phẩm có khả năng hỗ trợ và điều trị bệnh trong tương lai.

Từ khóa: Lan gấm, hoạt tính gây độc, ung thư gan, ung thư phổi

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cùng với sự phát triển của xã hội, hiện nay số người mắc bệnh ung thư ở Việt Nam cũng như trên thế giới ngày càng gia tăng. Bệnh ung thư đã trở thành một mối đe dọa cho sức khỏe cộng đồng, không loại trừ một ai trong xã hội. Việc nghiên cứu tìm ra các chất có khả năng điều trị căn bệnh ung thư, cũng như ngăn cản sự phát triển của các tế bào ung thư làm tăng thời gian sống cho bệnh nhân luôn được các nhà khoa học trong nước và thế giới quan tâm nghiên cứu. Đến nay, đã có nhiều hoạt chất chống ung thư có nguồn gốc tự nhiên đã được khám phá ra và đưa vào sử dụng trên lâm sàng như paclitaxel, vinblastin và vincristin, camptothecin,... (Nguyễn Thị Ngọc Trâm và *ctv.*, 2011). Tế bào ung thư gan HepG2 là một dòng tế bào bắt từ bao gồm các tế bào ung thư biểu mô gan ở người, xuất phát từ mô gan của một nam giới da trắng 15 tuổi. Tế bào ung thư phổi A549 là dòng tế bào ung thư khối u ở phổi và được phân lập từ phổi bị ung thư của bệnh nhân nam 58 tuổi và thường được dùng trong nghiên cứu ung thư và phát triển các loại thuốc điều trị ung thư. Xu hướng trên thế giới và Việt Nam hiện nay là nghiên cứu sử dụng các sản phẩm tiềm năng từ tự nhiên có khả năng gây độc các tế bào ung thư nhưng ít tác dụng phụ, để tìm và nguồn cung cấp phong phú. Nhóm Lan gấm (*Jewel orchid*) gồm có 04 loài khác nhau như *Anoectochilus* spp., *Goodyera* spp., *Ludisia* spp. và *Macodes* spp. (Hayden, 2016). Nhóm Lan gấm (*Jewel orchid*) là một loại thảo dược quý hiếm và chứa nhiều hoạt tính sinh học như flavonoid, phenolic, polysaccharide và kinsenoside là hợp chất đầy tiềm năng và đầy hứa hẹn trong hỗ

trợ và điều trị bệnh trong những năm trở lại đây của cây Lan gấm (Qi *et al.*, 2018). Các hợp chất này của cây Lan gấm được sử dụng để chống oxy hóa khuẩn, virus, bệnh tim mạch, bệnh thoái hóa thần kinh, ung thư và các bệnh liên quan tới lão hóa (Harleen *et al.*, 2011); có tác dụng chống ung thư, giảm đường trong máu, ngăn ngừa thoái hóa tế bào, giải độc cơ thể (Nguyễn Văn Bình và *ctv.*, 2018) và bảo vệ gan, chống tăng mỡ máu, chống viêm, bảo vệ mạch máu và chống loãng xương. An Giang là một tỉnh thuộc vùng Đồng bằng sông Cửu long, được thiên nhiên ban tặng có vùng Thất Sơn chứa rất nhiều cây dược liệu đa dạng và phong phú. Theo điều tra của Trung tâm Sâm và Dược liệu Thành phố Hồ Chí Minh và Trung tâm Công nghệ Sinh học An Giang thu thập được khoảng 2 - 4 giống cây Lan Gấm tại vùng Núi Cấm, An Giang. Các giống Lan gấm thu thập tại vùng Thất Sơn, An Giang cho kết quả phân tích hình thái học và sinh học phân tử (vùng trình tự ITS) thuộc loài *Ludisia* spp. Để góp phần nâng cao giá trị dược liệu cây Lan gấm, nghiên cứu nhằm đánh giá khả năng gây độc tế bào ung thư gan và phổi, góp phần tạo nguồn nguyên liệu cho quá trình sản xuất các sản phẩm có khả năng hỗ trợ và điều trị bệnh.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cây Lan gấm (*Lusidia discolor* MK451745.1) thu thập tại xã Cô Tô, huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang. Dòng tế bào ung thư gan (tế bào HepG2) và tế bào ung thư phổi (tế bào A549) được cung cấp từ Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

¹Trung tâm Công nghệ Sinh học tỉnh An Giang; ²Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh