

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG SINH TỔNG HỢP AXIT INDOL AXÊTIC CỦA CHỦNG VI KHUẨN *RHIZOBIUM* SP. 3.4

DƯƠNG GIÁNG HƯƠNG, NGUYỄN LÂN DŨNG

Trung tâm Công nghệ sinh học-ĐHQG HN

Các vi khuẩn vùng rễ như *Rhizobium* [3], *Azotobacter* [4]..., ngoài khả năng cố định nitơ, còn có khả năng sinh tổng hợp axit indol 3 axêtic (IAA)-một chất kích thích sinh trưởng thực vật. Mục đích của nghiên cứu này là xác định khả năng sinh tổng hợp IAA của chủng vi khuẩn *Rhizobium* sp. 3.4 phân lập được từ nốt sần của rễ cây đậu xanh (*Vigna radiata* (L.) Wilczek).

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Chủng giống

Chủng vi khuẩn *Rhizobium* sp. 3.4 được phân lập từ nốt sần của rễ cây đậu xanh lấy tại Ba Vì, tỉnh Hà Tây.

2. Môi trường

Môi trường Waskman & Fred [9], dùng cho nuôi cấy lác, có thành phần như sau (g/l): glucoza-10; K₂HPO₄-0,5; MgSO₄.7 H₂O-0,2; NaCl-0,2; CaCO₃-1; cao nấm men-5; thạch-20; nước cất 1000 ml. Mỗi lít môi trường có bổ sung 0,2 g tryptophan.

3. Phương pháp

IAA được xác định bằng phản ứng màu với thuốc thử Salkowski. Hàm lượng IAA do dịch nuôi sinh ra được định lượng bằng phương pháp so màu trên máy quang phổ, ở bước sóng 530 nm rồi so sánh với đồ thị IAA chuẩn [5].

Sự sinh trưởng của vi khuẩn được xác định bằng phương pháp đo độ đục ở bước sóng 660 nm [8].

Ảnh hưởng của dịch nuôi cấy vi khuẩn đến sự nảy mầm của một số loại hạt được tiến hành như sau: khử trùng hạt bằng cồn 70°, rồi xử lý

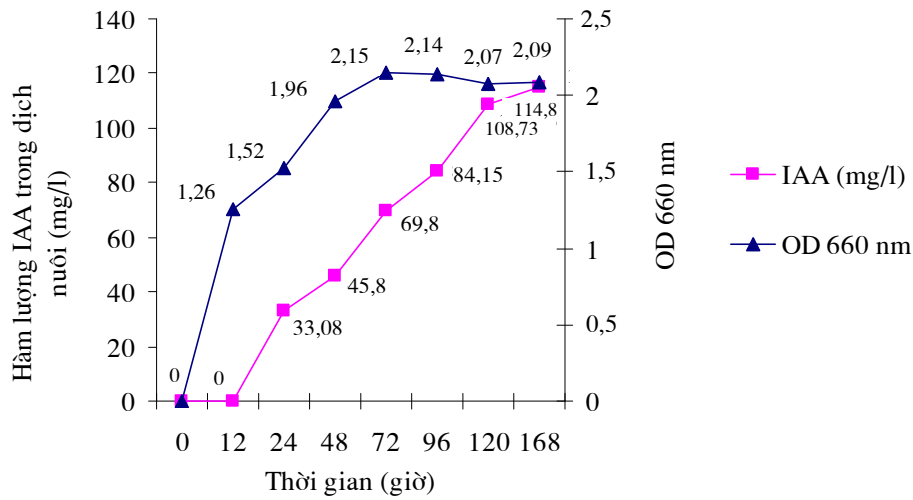
hạt với dịch nuôi cấy vi khuẩn pha loãng ở các nồng độ 10%, 20%, 30%, 50% và 100% trong thời gian 8 giờ. Đặt các hạt đã xử lý vào các đĩa petri có chứa thạch bán lỏng (100 hạt trên mỗi đĩa), cho nảy mầm ở nhiệt độ phòng. Sau 3 ngày, quan sát kết quả thí nghiệm.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Sự biến động của quá trình sinh trưởng và khả năng sinh tổng hợp IAA của chủng vi khuẩn *Rhizobium* sp. 3.4

Chủng vi khuẩn này được nuôi cấy lác ở 25°C, 220 vòng/phút, trên môi trường Fred dịch thể có bổ sung 0,2 g/l tryptophan; pH ban đầu của môi trường là 7,0. Ngày đầu tiên, chúng tôi tiến hành lấy mẫu 12 giờ một lần. Từ ngày thứ 2 trở đi, chúng tôi tiến hành lấy mẫu 24 giờ một lần để xác định hàm lượng IAA có trong dịch nuôi. Kết quả được trình bày ở hình 1.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, trong điều kiện đã cho, chủng này đạt đến pha cân bằng tại thời điểm 72 h. Quá trình sinh tổng hợp IAA tăng đều đặn theo thời gian. Điều này chứng tỏ hai quá trình sinh trưởng và sinh tổng hợp IAA diễn ra đồng thời. Tuy nhiên, quá trình sinh tổng hợp IAA không phụ thuộc vào quá trình sinh trưởng vì qua biểu đồ, chúng tôi nhận thấy sự sinh tổng hợp IAA vẫn tiếp tục tăng khi sự sinh trưởng của vi khuẩn đã đạt cực đại. Có thể, IAA là một sản phẩm bậc 2 chưa rõ chức năng được vi khuẩn sinh tổng hợp khi trong môi trường có mặt tryptophan; sản phẩm này nhìn chung không thấy ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của vi khuẩn. Tại thời điểm 168 h, hàm lượng IAA trong dịch nuôi do chủng *Rhizobium* sp. 3.4 tổng hợp được đạt mức 114,8 mg/l.



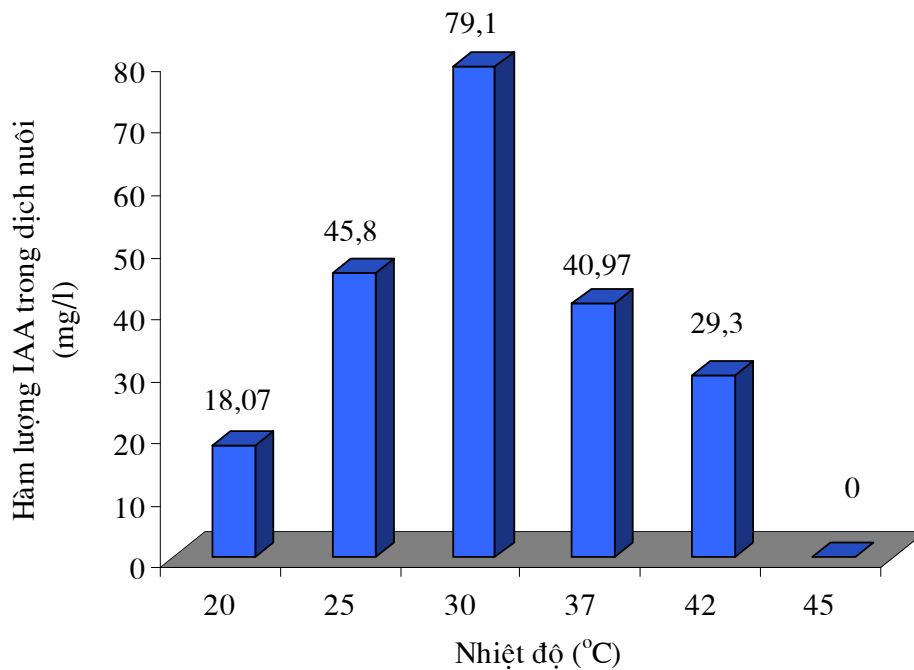
Hình 1. Sự biến động của quá trình sinh trưởng và khả năng sinh tổng hợp IAA của chủng vi khuẩn *Rhizobium* sp. 3.4

2. Ảnh hưởng của các điều kiện nuôi cấy đến khả năng sinh tổng hợp IAA của chủng vi khuẩn *Rhizobium* sp. 3.4

a. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Chủng vi khuẩn được nuôi cấy lác trong môi

trường Fred dịch thể có bổ sung 0,2 g/l tryptophan ở các nhiệt độ khác nhau là 20°C; 25°C; 30°C; 37°C; 42°C và 45°C. Sau 48 giờ nuôi cấy, tiến hành lấy mẫu để xác định hàm lượng IAA trong dịch nuôi. Kết quả được trình bày ở hình 2.



Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng sinh tổng hợp IAA của chủng vi khuẩn *Rhizobium* sp. 3.4

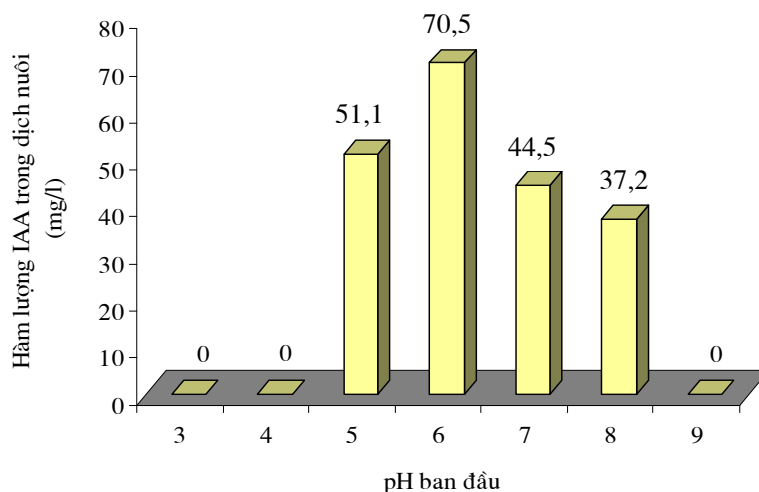
Kết quả cho thấy chủng vi khuẩn *Rhizobium* sp. 3.4 tổng hợp IAA cao nhất khi sinh trưởng ở nhiệt độ 30°C; hàm lượng IAA đạt được là 79,1 mg/l.

b. Ảnh hưởng của pH

Chủng vi khuẩn được nuôi cấy lắc ở 25°C, 220 vòng/phút trong môi trường Fred dịch thể có bổ sung 0,2 g/l tryptophan; pH ban đầu

của môi trường nuôi cấy là 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 và 9,0. Sau 48 giờ nuôi cấy, tiến hành lấy mẫu để xác định hàm lượng IAA sinh ra. Kết quả được trình bày trong hình 3.

Kết quả cho thấy chủng vi khuẩn *Rhizobium* sp. 3.4 có khả năng sinh tổng hợp IAA trong khoảng pH từ 5-8, trong đó pH tối ưu là 6, với hàm lượng IAA được tổng hợp đạt mức 70,5 mg/l.



Hình 3. Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh tổng hợp IAA của chủng vi khuẩn *Rhizobium* sp. 3.4

3. Ảnh hưởng của dịch nuôi cấy vi khuẩn đến sự nảy mầm của một số loại hạt đậu

Kết quả xác định ảnh hưởng của dịch nuôi

cấy chủng *Rhizobium* sp. 3.4 lên sự nảy mầm của hạt đậu đen và hạt đậu tương được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1

Ảnh hưởng của dịch nuôi cấy vi khuẩn đến sự nảy mầm của hạt đậu đen và hạt đậu tương

| Loại hạt | Mẫu | Nồng độ pha loãng (%) | Tổng số hạt | Số hạt nảy mầm | Tỷ lệ (%) |
|-----------|-----------|-----------------------|-------------|----------------|-----------|
| Đậu đen | Đối chứng | Nước cất | 100 | 84 | 84 |
| | Dịch nuôi | 10 | 100 | 90 | 90 |
| | | 20 | 100 | 97 | 97 |
| | | 30 | 100 | 91 | 91 |
| | | 50 | 100 | 54 | 54 |
| | | 100 | 100 | 38 | 38 |
| Đậu tương | Đối chứng | Nước cất | 100 | 82 | 82 |
| | Dịch nuôi | 10 | 100 | 93 | 93 |
| | | 20 | 100 | 89 | 89 |
| | | 30 | 100 | 82 | 82 |
| | | 50 | 100 | 68 | 68 |
| | | 100 | 100 | 42 | 42 |

Kết quả cho thấy, so với đối chứng, hạt đậu ngâm trong dịch nuôi cấy vi khuẩn không pha loãng hoặc chỉ pha loãng 50% thì khả năng nảy mầm bị ức chế. Các nồng độ pha loãng thấp hơn là 10%, 20% và 30% có tác dụng kích thích sự nảy mầm của hạt. Hạt đậu đen nảy mầm tốt nhất khi được xử lý trong dịch nuôi cấy vi khuẩn với nồng độ 20%, còn đối với hạt đậu tương thì với nồng độ 10%. Như vậy, IAA có trong dịch nuôi ở một nồng độ nhất định đã có tác dụng kích thích sự nảy mầm của hạt đậu đen và hạt đậu tương. Có thể, IAA đã làm cho sự phân hóa tế bào thực vật diễn ra mạnh mẽ hơn, kích thích sự xuất hiện của mầm rễ và do vậy, làm tăng tỷ lệ và tốc độ nảy mầm của hạt. Kết quả này phù hợp với các nhận định về vai trò và tác dụng sinh lý của các hormone thuộc nhóm ô-xin đã được công bố [9].

III. KẾT LUẬN

1. Chủng vi khuẩn *Rhizobium* sp. 3.4 có khả năng sinh tổng hợp IAA.
2. Trong điều kiện nuôi cấy lác, hàm lượng IAA trong dịch nuôi đạt được là 114,8 mg/l sau 168 giờ nuôi.
3. Nhiệt độ thích hợp nhất cho quá trình sinh tổng hợp IAA của chủng này là 30°C; pH thích hợp nhất là 6.
4. Dịch nuôi cấy chủng *Rhizobium* sp. 3.4 ở các nồng độ pha loãng 10%, 20%, 30% có tác

dụng kích thích rõ rệt sự nảy mầm của hạt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Chattopadhyay K. K.** and **P. S. Basu**, 1989: Acta Microbiol., 38: 293-307.
2. **Ejstin A., Ilic N., Cohen J. D.**, 1999: Plant Physiol., 119: 173-178.
3. **Kalpurnik Y., R. Gafny** and **Y. Okon**, 1985: Can. J. Bot., 63: 627-631.
4. **Brown M. E., Burlingham S. K.**, 1968: J. Microbiol., 53: 135-144.
5. **Sinha B. K., Basu P. S.**, 1981: Biochem. Physiol., 176: 218-227.
6. **Vincent J. M.**, 1970: A manual for the practical study of the root-nodule Bacteria, 45. Burgess and Son Ltd., Great Britain.
7. **Nguyễn Thị Hoài Hà**, 2005: Nghiên cứu đặc điểm sinh học của một số chủng vi khuẩn phân lập ở Việt Nam dùng trong sản xuất phân hữu cơ đa chức năng: 138-148. Luận án tiến sĩ sinh học.
8. **Egôrop N. X.**, (Nguyễn Lân Dũng dịch), 1983: Thực tập vi sinh vật học: 38-44. Nxb. Đại học và Trung học chuyên nghiệp, Hà Nội & Nxb. Mir, Matxcova.
9. **Vũ Văn Vụ, Vũ Thanh Tâm, Hoàng Minh Tấn**, 1999: Sinh lý học thực vật: 184-192. Nxb. Giáo dục.

STUDY ON THE INDOLE ACETIC ACID BIO-PRODUCTION ABILITY OF THE BACTERIUM STRAIN *RHIZOBIUM* SP. 3.4

DUONG GIANG HUONG, NGUYEN LAN DUNG

SUMMARY

The bacterium strain *Rhizobium* sp. 3.4, isolated from root nodules of green gram collected in Hatay province, had the ability to produce indole-3-acetic acid (IAA). The optimal conditions for the growth of this strain have been determined at 30°C and at pH 6. The influence of the culture of this strain on the leguminous seed germination was also studied and the final results showed that the culture of the strain *Rhizobium* sp. 3.4 at 10%, 20% and 30% had the effectiveness on stimulating the germination of soybean and cowpea seeds.

Ngày nhận bài: 18-07-2005