

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Vũ Văn Dũng

**NGHIÊN CỨU TUYỂN CHỌN CÁC CHỦNG VI KHUẨN CHỊU
MẠN CÓ ĐẶC TÍNH KÍCH THÍCH SINH TRƯỞNG THỰC VẬT
VÀ TÁC ĐỘNG ĐẾN BIỂU HIỆN GEN LIÊN QUAN ĐẾN ĐÁP
ỨNG MẠN CỦA CÂY LÚA**

Chuyên ngành: Công nghệ sinh học

Mã số: : 9 42 02 01

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CÔNG NGHỆ SINH HỌC

Hà Nội - 2023

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ
- Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn khoa học 1: GS. TS. Nguyễn Huy Hoàng
Người hướng dẫn khoa học 2: PGS.TS. Đỗ Hữu Nghị

Phản biện 1: PGS.TS. Phạm Thế Hải
Phản biện 2: PGS.TS. Trương Quốc Phong
Phản biện 3: PGS.TS. Đỗ Thị Huyền

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án tiến sĩ, họp tại
Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ
Việt Nam vào hồi giờ , ngày tháng năm 20

Có thể tìm hiểu luận án tại:
- Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
- Thư viện Quốc gia Việt Nam

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của luận án

Sự sinh trưởng và năng suất của cây trồng bị ảnh hưởng nghiêm trọng bởi các yếu tố stress sinh học và phi sinh học. Các yếu tố stress sinh học như côn trùng phá hoại hoặc vi sinh vật gây bệnh cho cây trồng. Các yếu tố stress phi sinh học bao gồm hạn hán, độ mặn, nhiệt độ, kim loại nặng và các chất ô nhiễm hữu cơ. Trong số các yếu tố stress phi sinh học, độ mặn ảnh hưởng nghiêm trọng nhất và được coi là một trong những yếu tố hạn chế đáng kể nhất đối với năng suất nông nghiệp và an ninh lương thực. Tình trạng xâm nhập mặn đang lan rộng trên toàn cầu với tốc độ tăng nhanh và làm tăng nguy cơ mất an ninh lương thực ở một số quốc gia. Các khu vực đồng bằng của Ấn Độ, Myanmar và Bangladesh là những vùng sản xuất lúa gạo lớn của thế giới đang phải đối mặt với mối đe dọa nghiêm trọng về an ninh lương thực do đất ven biển bị nhiễm mặn. Ở Việt Nam, xâm nhập mặn xuất hiện không theo chu kỳ ở các vùng ven biển nhất là ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long, gây thiệt hại lớn cho sản xuất nông nghiệp đặc biệt là lúa nước. Theo thống kê năm 2015, ước tính có khoảng 35,5% diện tích trồng lúa 8 tỉnh ven biển bị ảnh hưởng. Xâm nhập mặn tăng kỷ lục trong năm 2016 gây ra thiệt hại 139.000 ha lúa ở đồng bằng sông Cửu Long với ước tính năng suất giảm 30-70%. Năm 2020, xâm nhập mặn gây thiệt hại khoảng 34.600 ha thuộc 4 tỉnh Cà Mau, Kiên Giang, Bến Tre và Sóc Trăng với năng suất ước tính giảm từ 30-70%.

Có nhiều phương pháp khắc phục xâm nhập mặn như là xây dựng hệ thống ngăn mặn-lấy ngọt-tiêu úng, tạo ra các giống lúa chịu mặn và gia tăng rừng ngập mặn ven biển... Những phương pháp này đòi hỏi nhiều thời gian và kinh phí. Gần đây, trên thế giới có nhiều nghiên cứu ứng dụng vi sinh vật chịu mặn kích thích sinh trưởng thực vật (PGPB)

để giảm thiểu tác hại của các yếu tố stress sinh học và phi sinh học khác nhau ở thực vật. Kết quả cho thấy PGPB với khả năng sinh axit indole-3-acetic (IAA), 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase (ACCD), cố định nitơ, phân giải phosphate và sinh siderophores... hỗ trợ cho cây trồng chống chịu với stress mặn, có thể được sử dụng để cải tạo, nâng cao năng suất của các hệ sinh thái nông nghiệp vùng đất nhiễm mặn.

Ở Việt Nam, việc sử dụng PGPB chịu mặn để tăng khả năng chống chịu mặn của cây lúa còn chưa được chú ý. Các nghiên cứu mới tập trung vào phân lập các chủng vi sinh vật có hoạt tính sinh học như cố định nitơ, phân giải phosphate và sinh IAA... Chưa có các nghiên cứu đánh giá hiệu quả của vi sinh vật chịu mặn sinh IAA và sinh ACC deaminase trong việc hỗ trợ cây lúa sinh trưởng và phát triển trong điều kiện nhiễm mặn, đồng thời, chưa có nghiên cứu về sự biểu hiện của các gen liên quan đến đáp ứng mặn ở cây lúa do sự hỗ trợ của vi sinh vật. Vì vậy, luận án: *“Nghiên cứu tuyển chọn các chủng vi khuẩn chịu mặn có đặc tính kích thích sinh trưởng thực vật và tác động đến biểu hiện gen liên quan đến đáp ứng mặn của cây lúa.”* được thực hiện với mục tiêu và nội dung sau:

2. Mục tiêu nghiên cứu

Phân lập, tuyển chọn được các chủng vi khuẩn chịu mặn sinh chất kích thích sinh trưởng thực vật (IAA, ACC deaminase, phân giải phosphate, phân giải cellulose, cố định nitơ và siderophores) và nghiên cứu biểu hiện gen liên quan đến đáp ứng mặn của cây lúa.

3. Nội dung nghiên cứu

1. Phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn chịu mặn có khả năng sinh chất kích thích sinh trưởng thực vật như IAA, ACC

deaminase, phân giải phosphate, phân giải cellulose, cố định nitơ và siderophores;

2. Đánh giá khả năng hỗ trợ cây lúa chịu mặn của các chủng vi khuẩn chọn lọc;

3. Nghiên cứu sự biểu hiện của các gen liên quan đến đáp ứng với stress mặn ở cây lúa dưới sự hỗ trợ của chủng vi khuẩn chọn lọc;

4. Giải trình tự hệ gen của chủng khuẩn chọn lọc và xác định các gen liên quan đến khả năng chịu mặn và sinh chất kích thích sinh trưởng thực vật.

4. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài

Đề tài luận án phân lập các chủng vi khuẩn chịu mặn có khả năng sinh chất kích thích sinh trưởng thực vật, từ đó lựa chọn được các chủng vi khuẩn có khả năng hỗ trợ cây lúa sinh trưởng và phát triển trong điều kiện nhiễm mặn. Kết quả của đề tài luận án có ý nghĩa phục vụ công tác tạo chế phẩm sinh học, nâng cao hiệu quả sản xuất cây lúa ở các vùng trồng bị nhiễm mặn. Kết quả của đề tài luận án cũng bổ sung và làm giàu thêm nguồn gen vi sinh vật hữu ích và cung cấp các thông tin về các gen chịu mặn ở cây lúa được kích thích bởi các chủng vi khuẩn kích thích sinh trưởng thực vật.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1. 1. Tổng quan về vi sinh vật kích thích sinh trưởng thực vật

1.1.1. Khái niệm vi sinh vật kích thích sinh trưởng thực vật

1.1.2. Đặc điểm của vi sinh vật kích thích sinh trưởng thực vật

1.1.2.1. Khả năng cố định nitơ

1.1.2.2. Khả năng hòa tan phosphate

1.1.2.3. Khả năng sinh tổng hợp IAA

1.1.2.4. Khả năng sinh ACC deaminase

1.1.2.5. Khả năng sinh siderophores

1.2. Vi sinh vật chịu mặn và cơ chế hỗ trợ thực vật chịu mặn nhờ PGPB

1.2.1. Vi sinh vật chịu mặn

1.2.2. Cơ chế hỗ trợ thực vật chịu mặn nhờ PGPB

1.2.2.1. Tích lũy các chất thẩm thấu

1.2.2.2. Cải thiện sự hấp thu chất dinh dưỡng

1.2.2.3. Sinh tổng hợp IAA

1.2.2.4. Sinh tổng hợp ACC deaminase

1.2.2.5. Exo-polysaccharide

1.2.2.6. Hoạt hóa hệ enzyme chống oxi hóa

1.2.2.7. Tăng cường sự biểu hiện các gen liên quan đến đáp ứng mặn

1.3. Sự đáp ứng với stress mặn của cây lúa

1.3.1. Ảnh hưởng của stress mặn lên cây lúa

1.3.2. Cơ chế dung nạp muối ở cây lúa

1.3.2.1. Cân bằng nội môi ion

1.3.2.2. Cân bằng áp suất thẩm thấu

1.4. Tình hình nghiên cứu về PGPB chịu mặn hỗ trợ cây trồng chịu mặn

1.4.1. Trên thế giới

1.4.2. Tại Việt Nam

1.15. Phương pháp phân tích hệ gen bằng công nghệ giải trình tự gen thế hệ mới

CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên vật liệu

2.1.1 Nguyên liệu

Tổng số 66 mẫu gồm 36 mẫu đất trên quần đảo Trường Sa, 12 mẫu đất và nước ven biển, 9 mẫu rễ cây lúa, 9 mẫu rễ cây đước.

2.1.2. Hóa chất, môi trường và thiết bị

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp lấy mẫu

2.2.2. Phân lập các chủng vi khuẩn chịu mặn

2.2.3. Sàng lọc các chủng vi khuẩn có khả năng sinh IAA

2.2.4. Sàng lọc các chủng vi khuẩn có khả năng tổng hợp ACC deaminase

2.2.5. Sàng lọc các chủng vi khuẩn có khả năng phân giải phosphate

2.2.6. Sàng lọc các chủng vi khuẩn có khả năng cố định nitơ

2.2.7. Sàng lọc các chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose

2.2.8. Khả năng sinh siderophore

2.2.9. Phân loại vi sinh vật

2.2.9.1. Xác định một số đặc điểm về hình thái và sinh hoá

2.2.9.2. Phương pháp giải trình tự 16S RNA

2.2.10. Ảnh hưởng của một số yếu tố đến sinh trưởng và tổng hợp IAA của các chủng vi khuẩn chọn lọc

2.2.10.1 Ảnh hưởng của pH và nhiệt độ đến sinh trưởng của các chủng vi khuẩn chọn lọc

2.2.10.2. Ảnh hưởng nguồn nitơ đến sinh trưởng và sinh IAA của các chủng vi khuẩn chọn lọc

2.2.10.3. Ảnh hưởng nồng độ L-tryptophan đến sinh trưởng và sinh IAA của các chủng vi khuẩn chọn lọc

2.2.10.4. Ảnh hưởng nguồn carbon đến sinh trưởng và sinh IAA của các chủng vi khuẩn chọn lọc

2.2.10.5 Ảnh hưởng của nồng độ muối đến sinh trưởng và tổng hợp IAA của các chủng vi khuẩn chọn lọc

2.2.11. Phương pháp xác định chlorophyll trong lá

2.2.12. Đánh giá khả năng hỗ trợ cây lúa chịu mặn của các chủng vi khuẩn chọn lọc

2.2.13. Đánh giá sự biểu hiện của các gen liên quan đến đáp ứng mặn ở cây lúa dưới sự hỗ trợ của chủng vi khuẩn chọn lọc

2.2.13.1. Tách chiết RNA và tổng hợp cDNA

2.2.13.2. Kỹ thuật RT-PCR

2.2.14. Phân tích hệ gen của chủng vi khuẩn chọn lọc bằng phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới

2.2.14.1. Tách chiết, tinh sạch và tạo thư viện DNA

2.2.14.2. Phân tích hệ gen vi khuẩn

2.2.15. Phân tích thông kê

2.2.16. Địa điểm nghiên cứu

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn có khả năng chịu mặn sinh chất kích thích sinh trưởng thực vật

3.1.1. Phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn tổng hợp IAA

Đã phân lập được 423 chủng vi khuẩn chịu mặn từ 66 mẫu, trong đó 185 chủng vi khuẩn từ 36 mẫu đất quần đảo Trường Sa, 21 chủng vi khuẩn từ 9 mẫu rễ cây lúa, 25 chủng từ 9 mẫu rễ cây đước và 202 chủng từ 12 mẫu đất và nước biển. Sàng lọc khả năng sinh IAA từ 423 chủng phân lập, kết quả thu được 65 chủng vi khuẩn có khả năng sinh IAA, trong đó 39 chủng từ các mẫu đất Trường Sa, 7 chủng từ các mẫu rễ lúa, 9 chủng từ các mẫu rễ cây đước và 10 chủng từ các mẫu đất và nước biển. Mười chủng phân lập từ các mẫu đất và nước biển có hàm lượng IAA trong khoảng từ 19 đến 44 $\mu\text{g/mL}$, một số chủng có khả năng sinh tổng hợp IAA cao như chủng C7 (44,17 $\mu\text{g/mL}$), B7 (36,53 $\mu\text{g/mL}$) và B9 (40,43 $\mu\text{g/mL}$). Chín chủng phân lập từ rễ cây đước có khả năng sinh IAA với hàm lượng khoảng từ 14 đến 38 $\mu\text{g/mL}$ trong đó có chủng DM10 cho hàm lượng IAA cao (38,78 $\mu\text{g/mL}$). Các chủng có khả năng sinh IAA phân lập từ mẫu đất trên quần đảo Trường Sa, với hàm lượng

khoảng từ 11 đến 38 $\mu\text{g/mL}$, trong đó một số chủng có khả năng sinh IAA cao như STĐ2.1.3 (35,54 $\mu\text{g/mL}$), STT1.1.2 (35,71 $\mu\text{g/mL}$), D1.2.2 (38,71 $\mu\text{g/mL}$), D3.2.3 (32,33 $\mu\text{g/mL}$), NY4.2.3 (30,17 $\mu\text{g/mL}$), NY4.3.1(33,54 $\mu\text{g/mL}$) và STT3.2.3 (28,50 $\mu\text{g/mL}$). Bầy chủng sinh IAA từ rễ lúa có hàm lượng khoảng từ 23 đến 46 $\mu\text{g/mL}$, trong đó 3 chủng RL5, RL6 và RL7 có hàm lượng IAA cao lần lượt là 44,83; 35,95 và 46,50 $\mu\text{g/mL}$. Từ 65 chủng sinh IAA này, luận án tiếp tục sàng lọc khả năng sinh ACC deaminase, phân giải phosphate, cố định nitơ và phân huỷ cellulose.

3.1.2. Sàng lọc các chủng vi khuẩn sinh ACC deaminase

Trong số 39 chủng phân lập từ đất Trường Sa có 9 chủng sinh ACC deaminase với 3 chủng STT1.1.2, STT3.2.3 và NY4.3.1 có hoạt tính cao lần lượt là 128,70; 38,45 và 40,37 nmol α -ketobutyrate/mg/h. Có 5/9 chủng phân lập từ rễ cây đước có khả năng sinh ACC deaminase, hai chủng có hoạt tính là DM10 (133,80 nmol α -ketobutyrate/mg/h) và DM20 (65,45 nmol α -ketobutyrate/mg/h). Có 4/7 chủng từ rễ cây lúa có khả năng sinh ACC deaminase, trong đó 3 chủng RL5, RL6 và RL7 có hoạt tính cao lần lượt là 44,83; 35,95 và 45,40 nmol α -ketobutyrate/mg/h.

Như vậy, kết thúc quá trình sàng lọc các chủng có khả năng sinh ACC deaminase đã lựa chọn được 6 chủng gồm DM10, RL5, RL6, RL7, STT 1.1.2 và NY 4.3.1 có hoạt độ ACC deaminase cao, đây cũng là những chủng có khả năng sinh IAA cao.

3.1.3. Sàng lọc các chủng vi khuẩn có hoạt tính cố định nitơ

Kết quả sàng lọc các chủng cố định nitơ cho thấy có 25/65 chủng có khả năng cố định nitơ trong đó 22 chủng phân lập từ đất trên quần đảo Trường Sa và 3 chủng nội sinh rễ cây lúa. Chủng sinh phân lập đất và nước biển và chủng nội sinh rễ cây đước không có khả năng cố định nitơ.

Ba chủng nội sinh từ rễ lúa RL9, RL10 và RL18 có khả năng cố định nitơ với hàm lượng amoni lần lượt 17,65, 12,63 và 15,32 mg/L. Các chủng phân lập từ đất trên quần đảo Trường Sa có khả năng tổng hợp nitơ tương đối cao với hàm lượng amoni khoảng từ 5,78 đến 19,11 mg/L. Trong đó, chủng STT2.6.2 cho hàm lượng amoni cao nhất là 19,11 mg/L. Kết quả sàng lọc khả năng cố định nitơ cho thấy tất cả các chủng có khả năng cố định đạm không có khả năng sinh ACC deaminase. Các chủng có khả năng sinh ACC deaminase và IAA cao như DM10, RL5, RL6, RL7, STT 1.1.2 và NY 4.3.1 cũng không có khả năng cố định nitơ.

3.1.4. Sàng lọc các chủng vi khuẩn hoà tan phosphate

Kết quả sàng lọc được 29/65 có khả năng mọc và cho vòng phân giải CaCO_3 trên môi trường NBRIP agar. Mười tám chủng phân lập từ đất Trường Sa có khả năng phân giải phosphate với hàm lượng PO_4^{3-} trong khoảng từ 65 đến 342 mg/L, đặc biệt có các chủng có hàm lượng PO_4^{3-} giải phóng ra khá cao như STT1.1.2 (191,16 mg/L), STĐ2.1.3 (287,69 mg/L), STT3.5.2 (309,37 mg/L), D3.2.3 (342,06 mg/L), D1.2.2 (375,39 mg/L) và NY4.3.1 (286,45 mg/L). Sáu chủng phân lập từ rễ cây được PO_4^{3-} trong khoảng từ 147 đến 338 mg/L, trong đó có chủng DM10 cho hàm lượng PO_4^{3-} cao nhất là 338,71 mg/L. Năm chủng phân giải phosphate từ rễ cây lúa có hàm lượng PO_4^{3-} trong khoảng từ 116 đến 312 mg/L, trong đó 3 chủng RL5, RL6 và RL7 cho hàm lượng PO_4^{3-} cao nhất lần lượt là 304,53; 201,14 và 312,64 mg/L.

3.1.5. Sàng lọc các chủng vi khuẩn phân giải cellulose

Kết quả 20/65 chủng có khả năng sinh trưởng và tạo vòng phân giải CMC trên trường CMC agar. Mười lăm chủng phân lập từ đất Trường Sa có hoạt độ cellulase trong khoảng từ 5 đến 9 U/ml, trong đó chủng STĐ2.1.3 có hoạt độ cellulase cao nhất là 9,25 U/ml. Năm chủng

phân lập từ rễ cây lúa có hoạt độ cellulase khá cao, trong đó hai chủng RL5 và RL7 cao nhất lần lượt là 8,80 U/mL và 9,60 U/mL.

Kết thúc quá trình phân lập và sàng lọc các chủng vi sinh vật chịu mặn sinh chất kích thích sinh trưởng thực vật, luận án đã lựa chọn được 12 chủng vi khuẩn chịu mặn có khả năng sinh IAA cao, đây là tiêu chí ưu tiên để chọn lựa chủng, tiếp theo là khả năng sinh tổng hợp ACC deaminase, cố định đạm, khả năng hoà tan phosphate, phân giải cellulose và sinh siderophores

Xác định khả năng sinh siderophores của 12 chủng chọn lọc cho thấy các tất cả 12 chủng đều có khả năng sinh siderophores.

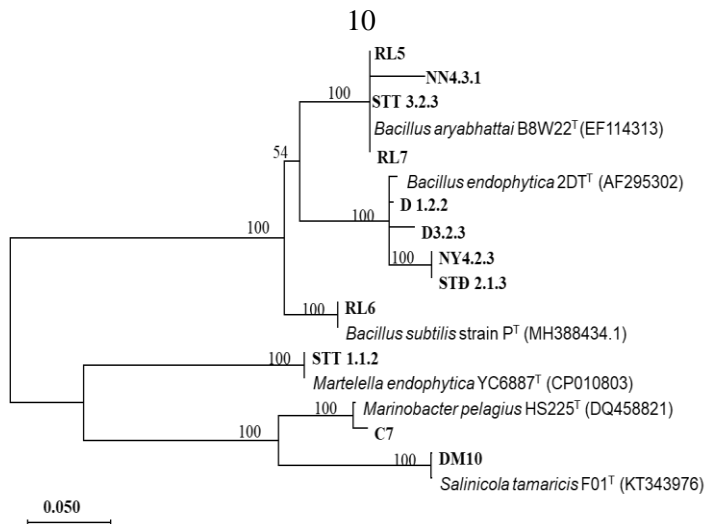
3.2. Nghiên cứu một số đặc điểm hình thái, sinh hoá và giải trình tự 16S rRNA

3.2.1. Nghiên cứu một số đặc điểm hình thái của các chủng vi khuẩn chọn lọc

2.2. Xác định một số đặc điểm sinh hóa của các chủng vi khuẩn chọn lọc

3.2.2 Giải trình tự 16S rRNA của các chủng chọn lọc và xây dựng cây phát sinh chủng loài

Như vậy, kết quả giải trình tự 16S rRNA cho thấy các chủng RL5, RL7, STT3.2.3 và NY4.3.1 cùng thuộc loài *B. aryabhatai*. Bốn chủng D1.2.2, D3.2.3, NY4.2.3 và STĐ2.1.3 cùng thuộc loài *B. endophyticus*. Để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo, luận án đã lựa chọn các chủng có khả năng sinh chất kích thích sinh trưởng ưu việt hơn và đại diện cho các chi vi khuẩn khác nhau gồm 6 chủng đại diện cho 6 loài : C7, DM10, RL5, RL7, STT1.1.2 và D1.2.2



Hình 3.6. Cây phát sinh chủng loại các chủng vi khuẩn chọn lọc.

3.3. Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến sinh trưởng và tổng hợp IAA của một số chủng vi khuẩn chọn lọc

3.3.1. Ảnh hưởng nhiệt độ, pH đến khả năng sinh trưởng của các chủng vi khuẩn chọn lọc

Nhiệt độ thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của chủng C7 và DM10 là 30-34 °C, của chủng RL7, STT1.1.2 và RL5 là 34 °C, của chủng D1.2.2 là 34-37 °C. pH thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của chủng RL7, D1.2.2, STT1.1.2 và DM10 là 7, của chủng RL5 là 6,5-7,5, của chủng C7 là 7,5.

3.3.2. Ảnh hưởng của nguồn nitơ đến khả năng sinh trưởng và tổng hợp IAA của các chủng vi khuẩn chọn lọc

Cao nấm men được chọn làm nguồn nitơ để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

3.3.4. Ảnh hưởng của L-tryptophan đến khả năng sinh tổng hợp IAA của các chủng vi khuẩn chọn lọc

Hàm lượng tryptophan thích hợp được lựa chọn để làm thí nghiệm tiếp theo cho 5 chủng C7, RL7, STT1.1.2, D1.2.2 và RL5 là 2 g/L, chủng DM10 là 3 g/L.

3.3.5. Ảnh hưởng của nguồn carbon đến khả năng sinh trưởng và tổng hợp IAA của các chủng vi khuẩn chọn lọc

Nguồn carbon thích hợp làm môi trường sinh IAA của 4 chủng RL5, RL7, D1.2.2 và STT1.1.2 là glucose, chủng DM10 là sucrose.

3.3.6. Ảnh hưởng nồng độ NaCl đến khả năng sinh trưởng và sinh tổng hợp IAA của các chủng vi khuẩn chọn lọc

Chủng C7 (Hình 3.12 a): Chủng C7 có sự sinh trưởng tăng dần khi nồng độ NaCl tăng từ 1 đến 5%, nồng độ NaCl tối ưu là 4% và sự sinh trưởng giảm dần khi nồng độ muối tăng từ 6% đến 20%. Không sinh trưởng khi nồng độ NaCl là 0% và lớn hơn 20%. Hàm lượng IAA cao nhất là $192,17 \pm 1,14$ $\mu\text{g/mL}$ ở 1% NaCl, giảm dần khi tăng nồng độ NaCl và không sinh IAA khi nồng độ NaCl lớn hơn 15%.

Chủng DM10 (Hình 3.12 b): Nồng độ NaCl có ảnh hưởng lớn đến khả năng sinh IAA của chủng DM10. Lượng IAA sinh ra tỷ lệ nghịch với nồng độ muối. Chủng DM10 sinh trưởng và phát triển tăng dần khi nồng độ NaCl tăng từ 0 đến 12,5% sau đó giảm dần. Mặc dù chủng DM10 sinh trưởng cao nhất ở nồng độ muối 12,5% nhưng lượng IAA ($318,18 \pm 3,14$ $\mu\text{g/mL}$) cao nhất khi không có mặt của NaCl. Tuy nhiên ở nồng độ muối cao (15%) thì khả năng sinh IAA của chủng DM10 vẫn khá cao (48,07%).

Chủng RL7 (Hình 3.12 c): Sự sinh trưởng tối ưu khi nồng độ muối từ 0 đến 1%, giảm dần khi nồng độ muối tăng từ 1 đến 10%, không sinh trưởng ở nồng độ NaCl lớn hơn 11%. Hàm lượng IAA sinh ra cao nhất khi nồng độ muối là 0 và 1% lần lượt là $139,22 \pm 3,10$ và $135,81 \pm 1,05$

$\mu\text{g/mL}$. Khi nồng độ muối lớn hơn 5% chủng RL7 không có khả năng sinh IAA.

Chủng RL5 (Hình 3.12 d): Ảnh hưởng của muối lên sự sinh trưởng và tổng hợp IAA của chủng RL5 tương tự chủng RL7. Sự sinh trưởng tối ưu khi nồng độ muối từ 0 đến 1%, giảm dần khi nồng độ muối tăng từ 1 đến 10%, không sinh trưởng ở nồng độ NaCl lớn hơn 11%. Hàm lượng IAA sinh ra cao nhất khi nồng độ muối là 0 và 1% lần lượt là $124,21 \pm 2,40$ và $120,1 \pm 1,70$ $\mu\text{g/mL}$. Khi nồng độ muối lớn hơn 5% chủng RL5 không có khả năng sinh IAA.

Chủng D1.2.2 (Hình 3.12 e): Ảnh hưởng của muối lên sự sinh trưởng và tổng hợp IAA của chủng D1.2.2 tương tự chủng RL7 và RL5. Sự sinh trưởng tối ưu khi nồng độ NaCl từ 0 đến 1%, sau đó giảm dần khi nồng độ muối tăng từ 1 đến 10%, không sinh trưởng ở nồng độ NaCl lớn hơn 10%. Hàm lượng IAA sinh ra cao nhất khi nồng độ muối là 0 và 1% lần lượt là $110,31 \pm 1,12$ và $109,20 \pm 2,30$ $\mu\text{g/mL}$.

Chủng STT1.1.2 (Hình 3.12 f): Sự sinh trưởng tăng dần khi nồng độ muối tăng từ 0 đến 4%, thích hợp từ 2 đến 3%, sau đó giảm dần khi nồng độ muối tăng đến 10%, không sinh trưởng khi nồng độ muối lớn hơn 10%. Mặc dù, sự sinh trưởng kém hơn khi không có NaCl, nhưng khả năng sinh IAA lại cao nhất ($121,81 \pm 2,70$ $\mu\text{g/mL}$).

3.4. Đánh giá khả năng làm giảm tác động của stress mặn đối với cây lúa của một số chủng vi khuẩn chọn lọc

3.4.1. Lựa chọn nồng độ nuôi để gây stress mặn ở cây lúa

Nồng độ NaCl 200 mM là nồng độ trung gian giữa trạng thái khỏe mạnh và stress tăng trưởng được lựa chọn là nồng độ nuôi để gây stress mặn

3.4.2. Đánh giá khả năng làm giảm tác động của stress mặn đối với cây lúa của một số chủng vi khuẩn chọn lọc

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của các chủng vi sinh vật chọn lọc lên sự phát triển của cây lúa khi bị nhiễm mặn

Chủng	RL7	DM10	STT1.1.2	RL5	D1.2.2	ĐC
Chiều dài thân (cm)	12,76 ^d	11,97 ^c	11,19 ^b	11,51 ^{bc}	10,94 ^b	9,96 ^a
Chiều dài rễ (cm)	4,03 ^d	3,76 ^c	3,53 ^b	3,70 ^c	3,46 ^b	3,23 ^a
Khối lượng khô (g)	0,557 ^d	0,510 ^c	0,480 ^b	0,503 ^c	0,470 ^b	0,419 ^a
Chl a (mg/g)	0,076 ^d	0,072 ^c	0,068 ^{bc}	0,074 ^c	0,066 ^b	0,058 ^a
Chl b (mg/g)	0,038 ^c	0,036 ^c	0,033 ^b	0,035 ^b	0,032 ^a	0,030 ^a
Chl tổng(mg/g)	0,114 ^c	0,108 ^b	0,101 ^a	0,109 ^b	0,098 ^a	0,088 ^a

(Các chữ cái thường trong cùng 1 hàng giống nhau chỉ sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%)

Kết quả thu được cho thấy, cây lúa được nhiễm các chủng RL7, DM10, STT1.1.2, RL5 và D1.2.2 đều làm tăng chiều dài thân, chiều dài rễ, trọng lượng khô và hàm lượng chlorophyll so với mẫu đối chứng. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%.

Chủng RL7 và DM10 có khả năng hỗ trợ cây lúa chịu mặn cao hơn được lựa chọn để tiến hành đánh giá khả năng làm giảm tác động stress mặn và nghiên cứu sự biểu hiện của các gen liên quan đến khả năng chịu mặn.

3.5. Nghiên cứu sự biểu hiện các gen liên quan đến đáp ứng mặn của cây lúa dưới sự hỗ trợ của chủng RL7 và DM10

3.5.1. Ảnh hưởng của chủng RL7 và DM10 đến sự sinh trưởng cây lúa khi bị nhiễm mặn

3.5.1.1. Ảnh hưởng của chủng RL7

Bảng 3.11. Ảnh hưởng của chủng RL7 đến khả năng sinh trưởng cây lúa khi bị nhiễm mặn

Chỉ tiêu	C	C +NaCl	RL7	RL7+ NaCl
Thân (cm)	18,40±0,76 ^b	15,23±0,42 ^a	23,26±0,41 ^c	20,63±0,57 ^d
Rễ (cm)	5,93±0,22 ^b	5,33±0,31 ^a	7,33±0,34 ^c	7,1±0,24 ^c
Khối lượng khô (g)	0,73±0,06 ^b	0,66±0,04 ^a	0,97±0,05 ^c	0,90±0,08 ^d
Chlorophyll a (mg/g)	0,082±0,005 ^b	0,071±0,004 ^a	0,096±0,006 ^c	0,089±0,005 ^b
Chlorophyll b (mg/g)	0,033±0,006 ^b	0,027±0,004 ^a	0,042±0,004 ^b	0,038±0,003 ^b
Chlorophyll (mg/g)	0,115±0,016 ^b	0,099±0,005 ^a	0,138±0,018 ^d	0,128±0,021 ^c

(Giá trị trung bình ± SD, các chữ cái thường trong cùng 1 hàng giống nhau chỉ sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%)

Cây lúa được nhiễm chủng RL7 có chiều dài thân, chiều dài rễ, trọng lượng khô và hàm lượng chlorophyll tổng số tăng lần lượt là 26,45%; 29,89 %; 31,08% và 19,99% so với đối chứng (C). Khi bị stress mặn, cây lúa được nhiễm chủng RL7 có chiều dài thân, chiều dài rễ, trọng lượng khô tăng và hàm lượng chlorophyll tổng số tăng lần lượt là 27,10%; 30,67%; 31,06% và 34,73% so với đối chứng (C+ NaCl). Sự khác biệt về chiều dài thân, chiều dài rễ, trọng lượng khô, hàm lượng chlorophyll giữa các nghiệm thức có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%.

3.5.1.2. Ảnh hưởng của chủng DM10

Cây lúa nhiễm chủng DM10 có chiều dài thân, chiều dài rễ, trọng lượng khô và hàm lượng chlorophyll tổng số tăng lần lượt là 16,60%; 21,14%; 21,38% và 22,87% so với đối chứng (C). Khi bị nhiễm mặn, cây lúa nhiễm chủng DM10 có chiều dài thân, chiều dài rễ, trọng lượng khô tăng và hàm lượng chlorophyll tổng số tăng lần lượt là 19,55%; 29,6%; 21,71% và 25,73% so với đối chứng (C+NaCl). Sự khác biệt về chiều dài thân, chiều dài rễ, trọng lượng khô và hàm lượng chlorophyll giữa các nghiệm thức có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%.

Bảng 3.12. Ảnh hưởng của chủng DM10 đến khả năng sinh trưởng cây lúa khi bị nhiễm mặn

Chỉ tiêu	C	C +NaCl	DM10	DM10 + NaCl
Chiều dài thân (cm)	16,86±0,54 ^b	13,83±0,36 ^a	19,67±0,28 ^c	17,15±0,31 ^d
Chiều dài rễ (cm)	5,73±0,37 ^b	5,06±0,21 ^a	7,06±0,51 ^c	6,56±0,40 ^d
Khối lượng khô (g)	0,65±0,05 ^b	0,55±0,04 ^a	0,85±0,03 ^c	0,71±0,02 ^d
Chlorophyll a (mg/g)	0,058±0,007 ^b	0,048±0,003 ^a	0,070±0,002 ^c	0,064±0,005 ^b
Chlorophyll b (mg/g)	0,032±0,005 ^b	0,029±0,003 ^a	0,040±0,004 ^b	0,035±0,002 ^b
Chlorophyll (mg/g)	0,083±0,012 ^b	0,074±0,008 ^a	0,110±0,013 ^d	0,100±0,017 ^c

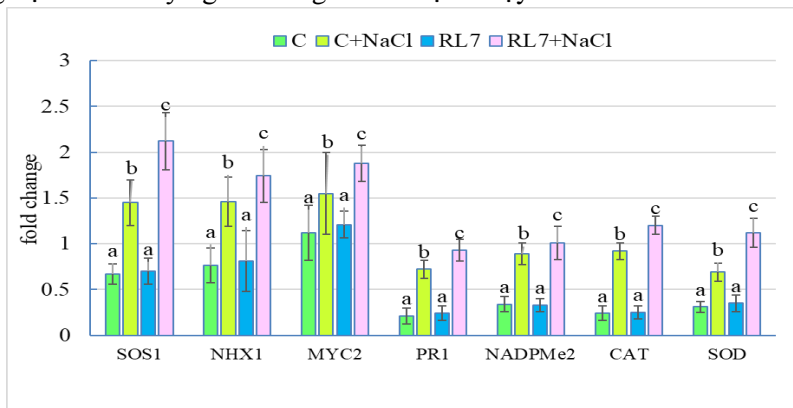
(Giá trị trung bình ± SD, các chữ cái thường trong cùng 1 hàng giống nhau chỉ sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%)

3.5.2 Nghiên cứu sự biểu hiện của các gen liên quan đến đáp ứng mặn của cây lúa dưới sự tác động của chủng RL7 và DM10

3.5.2.1 Sự biểu hiện của các gen liên quan đến đáp ứng mặn của cây lúa dưới sự tác động của chủng RL7

Sự biểu hiện của các gen bao gồm *SOS1*, *NHX1*, *MYC2*, *PRI*, *NADPMe2*, *CAT* và *SOD* ở bốn nghiệm thức được xác định bằng phương pháp RT-PCR. Kết quả được thể hiện trong hình 3.27. Nhiễm mặn làm tăng cường sự biểu hiện của các gen *MYC2*, *NHX1*, *NADP-Me2*, *SOS1*, *SOD*, *PRI* và *CAT* lần lượt là 1,34; 1,66; 1,89; 2,16; 2,23; 2,57; 3,07 lần so với đối chứng (C). Ở điều kiện không bị nhiễm mặn, chủng RL7 không làm thay đổi sự biểu hiện các gen so với đối chứng (C). Khi bị nhiễm mặn, chủng RL7 làm tăng cường sự biểu hiện của các gen *MYC2*, *SOD*, *NADP-Me2*, *SOS1*, *PRI*, *CAT* và *NHX1* lần lượt là 1,24; 1,29; 1,31; 1,35; 1,38; 1,46; 1,53; 1,55 và 1,59 lần so với mẫu

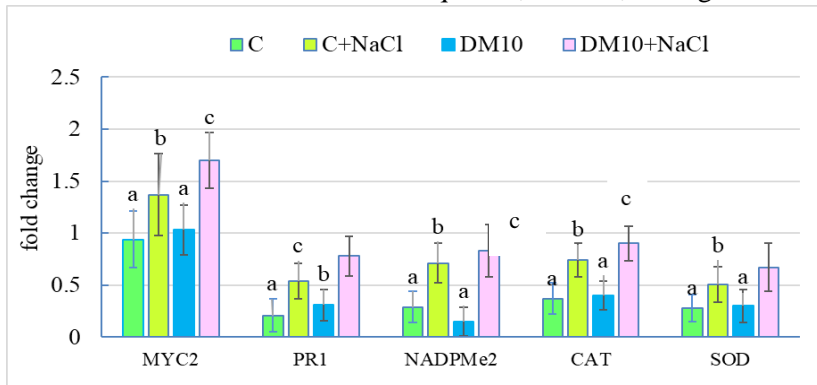
(C+NaCl). Sự khác biệt về mức độ biểu hiện của các gen giữa các nghiệm thức có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%.



Hình 3.22. Sự biểu hiện của các gen liên quan đến stress mặn dưới sự hỗ trợ của chủng RL7

3.5.2.2 Sự biểu hiện của các gen liên quan đến đáp ứng mặn của cây lúa dưới sự tác động của chủng DM10

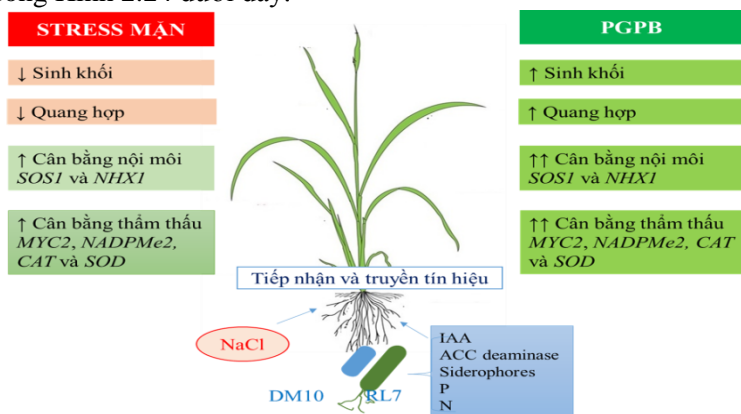
Với chủng DM10, các gen được đánh giá sự biểu hiện gồm MYC2, CAT, NADPMe2, SOD và PR1, kết quả được thể hiện trong hình 3.28.



Hình 3.23. Sự biểu hiện của các gen liên quan đến stress mặn dưới sự hỗ trợ của chủng DM10

Kết quả cho thấy stress mặn làm tăng cường sự biểu hiện của các gen *MYC2*, *CAT*, *NADPMe2*, *SOD* và *PR1* từ lần là 1,45; 1,82; 2,18; 2,42; 2,44 và 2,57 lần so với đối chứng (C). Ở điều kiện không bị stress mặn, chủng DM10 làm tăng biểu hiện gen *PR1* (1,24 lần), và không làm thay đổi sự biểu hiện các gen còn lại so với đối chứng (C). Trong môi trường nhiễm mặn, chủng DM10 làm tăng cường sự biểu hiện của các gen *MYC2*, *SOD*, *NADPMe2*, *CAT* và *PR1* lần lượt là 1,19; 1,25; 1,38; 1,46; 1,47; 1,50 và 1,51 lần so với mẫu (C+NaCl). Sự khác biệt về mức độ biểu hiện của các gen giữa các nghiệm thức có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%.

Qua các kết quả nghiên cứu ở trên, các cơ chế có thể làm tăng khả năng chịu mặn ở cây lúa qua trung gian của chủng RL7 và DM10 được tóm tắt trong Hình 2.24 dưới đây.



Hình 3.24. Tóm tắt một số con đường có thể làm tăng khả năng chịu mặn ở cây lúa với sự hỗ trợ của chủng RL7 và DM10

Cây lúa chịu được mặn thông qua hai cơ chế chính là cân bằng ion nội môi và cân bằng áp suất thẩm thấu. Khi bị nhiễm mặn các gen liên quan đến hai con đường này được tăng cường biểu hiện. Nhiễm chủng

RL7 và DM10 làm tăng cường biểu hiện các gen liên quan đến cả hai cơ chế trên giúp cây lúa chống chịu với mặn.

Các gen *MYCs* đóng vai trò quan trọng trong việc phản ứng với các stress phi sinh học và sinh học. Ở cây lúa, sự gia tăng biểu hiện của các gen *MYC2*, *MYC 4* và *MYC 5* trong môi trường có nồng độ muối cao đã được ghi nhận [180]. Các nghiên cứu về phiên mã và sinh hóa ở loài *Arabidopsis* đã cho thấy *MYC2* điều hòa âm của quá trình sinh tổng hợp proline. Proline cần thiết để khả năng chịu đựng đối với stress mặn, tuy nhiên, sự tích tụ quá mức của nó gây độc cho cây. Gen *MYC2* cũng liên quan đến con đường truyền tín hiệu axit jasmonic- một loại hormon giúp điều hòa một loạt các quá trình trong thực vật, từ sự tăng trưởng và quang hợp đến sự phát triển sinh sản [181]. Khi bị stress mặn, nhiễm chủng RL7 và DM10 làm tăng cường biểu hiện của gen *MYC2* hỗ trợ cây lúa chịu stress mặn

Một số loài vi sinh vật nội sinh hoặc ngoại sinh làm tăng cường biểu hiện của gen pathogenesis-related protein 1 (*PR1*) dẫn đến làm tăng khả năng miễn dịch (đặc biệt là khả năng kháng nấm bệnh) [182], khi bị stress mặn nhiễm chủng RL7 và DM10 làm tăng cường sự biểu hiện của gen *PR1* lần lượt là 2,2 và 2,75 lần so với đối chứng tương ứng. Điều này cho thấy vai trò của chủng vi sinh nội sinh RL7 và DM10 trong việc làm giảm tác động stress mặn. Những kết quả nghiên cứu về sự biến đổi biểu hiện của gen *MYC2* và *PR1* trong luận án là những minh chứng đầu tiên về vai trò của *MYC2* và *PR1* trong điều kiện stress mặn.

Stress mặn gây ra một loạt các chất oxi hoá (ROS), cụ thể là H_2O_2 , O^{2-} và OH^- làm phá huỷ DNA, RNA và protein. Các hợp chất ROS cũng gây ra sự phá huỷ chất diệp lục và làm gián đoạn hoạt động của mô phân sinh rễ. Các enzyme chống oxy hóa như superoxide dismutase, catalase và ascorbate peroxidase, peroxidase, glutathione reductase và

monohydroascorbate reductase có khả năng loại bỏ ROS và duy trì chúng ở mức thấp. Superoxide dismutase là một metalloenzyme đóng một vai trò quan trọng trong việc bảo vệ tế bào khỏi tác hại của quá trình oxy hóa, bằng cách xúc tác chuyển đổi gốc superoxide thành H_2O_2 [183]. Catalase làm giảm mức ROS bằng cách xúc tác sự phân hủy H_2O_2 thành H_2O và O_2 . Khi bị stress mặn, nhiễm chủng RL7 và DM10 làm tăng cường biểu hiện của các gen SOD và CAT khi so với đối chứng tương ứng. Như vậy bằng cách loại bỏ ROS thông qua các hoạt động CAT và SOD cây lúa nhiễm chủng RL7 và DM10 có thể thích nghi với nhiễm mặn. Sự thích nghi với stress mặn nhờ tăng cường sự biểu hiện của các enzyme ROS như *CAT* và *SOD* cũng được chứng minh ở cây lúa [41, 124], đậu bắp [184] và khoai tây [185].

Sự biểu hiện tăng cường của các gen *NHX1* và *SOS1* trong điều kiện stress mặn và nhiễm chủng RL7, DM0 đã được chứng minh trong luận án. Thực vật chống lại stress mặn bằng cách cô lập và tích tụ muối vào trong không bào, kiểm soát nồng độ muối cũng như duy trì tỉ lệ K^+/Na^+ cao trong tế bào chất từ đó làm giảm tác động có hại của muối. *NHX1* và *SOS1* tham gia vào trao đổi Na^+/H^+ và giảm Na^+ trong tế bào [56]. Như vậy, sự biểu hiện quá mức của *SOS1* và *NHX1* đã hỗ trợ cây trồng sinh trưởng và phát triển đáng kể ở nồng độ muối cao.

Enzyme NADP-malic 2 (NADP-ME 2) là một trong những enzyme quan trọng tham gia vào các quá trình trao đổi chất khác nhau ở thực vật, có mặt chủ yếu ở ty thể, lục lạp và tế bào chất, xúc tác quá trình khử carboxyl hóa của malate để tạo pyruvate, CO_2 và NADPH dưới dạng ion kim loại (Mg^{2+} , Mn^{2+} ...). Vì vậy, enzyme này giữ vai trò trong việc tăng cường khả năng chống chịu của thực vật đối với stress muối và thẩm thấu [186]. Stress muối cảm ứng gen *NADP-Me2* biểu hiện mức độ phiên mã cao gấp 1,98 lần, khi nhiễm chủng RL7 và DM10

mức độ phiên mã cao gấp lần lượt 2,73 và 1,46 lần so với đối chứng tương ứng, điều này có thể thấy vai trò hỗ trợ của chủng RL7 và DM10 trong việc cải thiện stress do muối. Sự biểu hiện của các gen trong luận án cũng tương tự với kết quả của các nghiên cứu trước đó. Nautiyal và cộng sự (2013) [124] đã xác định sự biểu hiện của các gen *NHX1*, *SOS1*, *NADPMe2*, cây lúa khi bị stress mặn và nhiễm chủng *B. amyloliquefaciens* NBRISN13. Theo Sultana và cộng sự (2020) [104] chủng *B. aryabhatai* MS3 chịu mặn phân lập từ rễ lúa làm tăng cường sự biểu hiện của các gen *SOS1* và *NHX1* lần lượt là 419% và 770% ở cây lúa khi bị stress mặn 200 mM NaCl. Chủng xạ khuẩn *Streptomyces sp.* GMKU36 cũng làm tăng cường sự biểu hiện của các gen *NHX1*, *SOS1*, *CAT*, *SOD* ở lá lúa trong điều kiện stress mặn [41].

3.6. Giải trình tự hệ gen chủng DM10 và C7

3.6.1. Kết quả lắp ráp các đoạn trình tự và chú giải chức năng

Kết quả giải trình tự hệ gen cho thấy kích thước hệ gen của chủng DM10 và C7 lần lượt là khoảng 4,2 Mbp và 4,0 Mbp (Bảng 3.12). Số lượng các scaffolds sau khi lắp ráp lần lượt là 743 và 1,360. Hàm lượng GC lần lượt là 65,91% và 59,21%. Tổng số gen được dự đoán lần lượt là 3.635 gen và 3.797 gen, tổng số gen được dự đoán chức năng lần lượt là 2.270 gen (chiếm 62,44%) và 2.239 gen (chiếm 58,96%). Chủng DM10 47 gen RNA gồm 45 gen tRNA, 1 gen rRNA và 1 gen tmRNA. Chủng C7 có 46 gen tRNA, 5 gen rRNA và 1 gen tmRNA. Các gen thuộc cơ sở dữ liệu COGs của chủng DM10 và C7 lần lượt là 1.786 và 1.603

3.6.2. Phân loại dựa trên chỉ số tương đồng toàn bộ hệ gen

Trình tự bộ gen của chủng C7 và DM10 đã được so sánh với các loài gần nhất của chúng trong các chi *Marinobacter* và *Salanicola*. Chỉ số ANI giữa chủng C7 và *Marinobacter pelagius* là 86,33%, giữa chủng

DM10 và *Salanicola tamaricis* là 92,89%. Như vậy, chủng C7 và DM10 có chỉ số ANI <95% nên được phân loại là các loài tương ứng thuộc chi *Marinobacter* và *Salinicola*.

3.6.3. Phân loại các nhóm gen chức năng

3.6.4. Gen liên quan đến khả năng kích thích sinh trưởng thực vật

Kết quả giải trình tự hệ gen của chủng DM10 đã xác định các gen có liên quan đến khả năng kích thích sinh trưởng thực vật như sinh IAA, phân giải phosphate (*gcd*), sinh ACC deaminase, sinh siderophore,

3.6.5. Các gen liên quan đến khả năng chịu mặn.

Hệ thống vận chuyển K^+ được mã hoá bởi các gen *trkAHI*, *ktrAB* và *kdpABC*. Các gen *mnhC*, *mrpDEF* và *nhaP* mã hoá Na^+/H^+ antiporter và gen *nhaP2* mã hoá K^+/H^+ antiporter để bơm H^+ vào và bơm Na^+ , K^+ ra để chống lại stress thẩm thấu được tìm thấy trong bộ gen của chủng DM10 và C7. Các gen chính *betA* và *betB/gbsA* tổng hợp glycine-betaine mã hóa tương ứng choline dehydrogenase và betaine aldehyde dehydrogenase được tìm thấy trong chủng DM10 và C7. Ngoài ra, chủng DM10 và C7 bao gồm các gen *opuAA*, *opuAB*, *opuCA* và *opuE* mã hóa các hợp chất vận chuyển glycine betaine/proline/choline. Gen tổng hợp ectoine cũng được tìm thấy trong hệ gen chủng DM10 và C7.

3.6.6. Các gen liên quan đến hệ thống bài tiết

Hệ thống bài tiết của vi khuẩn là các phức hợp protein có trên màng tế bào, cũng là hệ thống chúng để xâm nhập vào tế bào vật chủ. Chủng DM10 có 6 hệ thống tiết protein tiềm năng bao gồm các loại I, II, IV và VI, Tat và Sec

3.6.7. Các gen liên quan đến quá trình nội sinh

Bộ gen DM10 chứa các gen liên quan đến sự chuyển động qua lông roi và type IV pili, cũng như các gen liên quan đến các chất hoá hướng động (chemotaxis) hỗ trợ quá trình xâm lấn đến thực vật.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

1. Đã tuyển chọn được 65 chủng vi khuẩn chịu mặn sinh IAA từ 423 chủng phân lập từ 66 mẫu. Sàng lọc được 18/65 chủng sinh ACC deaminase, 25/65 chủng phân giải phosphate, 29/65 chủng cố định nitơ và 20/65 chủng phân giải cellulose. Đã xác định các đặc điểm hình thái, sinh hoá và giải trình tự 16S rRNA để định danh 12 chủng vi khuẩn chọn lọc. Căn cứ vào khả năng sinh chất kích thích sinh trưởng thực vật, nguồn gốc phân lập và phân loại đã lựa chọn được 6 chủng gồm *M. pelagius* C7, *S. tamaricis* DM10, *B. aryabhatai* RL7, *M. endophytica* STT1.1.2, *B. endophyticus* D1.2.2 và *B. subtilis* RL5. Đã nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố (nhiệt độ, pH, NaCl, nguồn carbon, nitơ và tryptophan) đến khả năng sinh trưởng và sinh tổng hợp IAA của chủng 6 chủng chọn lọc C7, DM10, RL5, RL7, STT1.1.2 và D1.2.2.

2. Đã đánh giá khả năng hỗ trợ cây lúa sinh trưởng và phát triển trong điều kiện stress mặn của các chủng vi khuẩn C7, DM10, RL5, RL7, STT1.1.2 và D1.2.2. Lựa chọn được hai chủng RL7 và DM10 có khả năng hỗ trợ cây lúa chịu mặn tốt nhất. Chủng RL7 và DM10 hỗ trợ cây lúa chịu mặn và làm tăng cường sự biểu hiện của 7 gen liên quan đến đáp ứng mặn ở cây lúa gồm *NADPMe2*, *SOS1*, *PR1*, *MYC2*, *NHX1*, *CAT* và *SOD*.

3. Giải trình tự toàn bộ hệ gen của chủng *S. tamaricis* DM10 và *M. pelagius* C7 trên cơ sở đó đã xác định được các gen liên quan đến khả năng kích thích sinh trưởng (khả năng phân giải phosphate, tổng hợp ACC deaminase và sinh siderophores), khả năng chịu mặn và khả năng nội sinh.

KIẾN NGHỊ

Chủng *B. aryabhatai* RL7 và *S. tamaricis* DM10 là các chủng có nhiều tiềm năng ứng dụng để sản xuất chế phẩm sinh học sử dụng cho các vùng trồng lúa có nguy cơ bị nhiễm mặn. Vì vậy, cần xây dựng quy trình sản xuất chế phẩm cũng như thử nghiệm trên quy mô ruộng đồng để đánh giá hiệu quả chủng RL7 và DM10.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

1. Đã phân lập và sàng lọc được 65 chủng vi khuẩn chịu mặn sinh IAA, ACC deaminase, phân giải phosphate từ nhiều nguồn khác nhau như đất và nước biển, rễ cây lúa và đước, đất trên quần đảo Trường Sa. Đã lựa chọn được 2 chủng *S. tamaricis* DM10 và *B. aryabhatai* RL7 chịu mặn với nhiều đặc điểm của vi sinh vật kích thích tăng trưởng thực vật, đặc biệt là khả năng sinh IAA và ACC deaminase. Đây là những chủng tiềm năng để làm chế phẩm sinh học sử dụng trong các hệ sinh thái nông nghiệp có nguy cơ nhiễm mặn nhằm hạn chế tác hại của mặn với cây trồng.

2. Đã đánh giá được sự biến đổi biểu hiện của 7 gen liên quan đến khả năng chịu mặn ở cây lúa dưới sự hỗ trợ của hai chủng DM10 và RL7 trong đó có hai gen *MYC2* và *PR1* lần đầu được nghiên cứu.

3. Đã giải trình tự hệ gen chủng *Salinicola tamaricis* DM10 và *Marinobacter pelagius* C7 và phân tích các gen liên quan đến khả năng kích thích sinh trưởng, chịu mặn, cũng như khả năng nội sinh.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH

1. Vũ Văn Dũng, Nguyễn Ngọc Lan, Nguyễn Huy Hoàng, Nguyễn Thị Kim Liên, Nguyễn Thị Thanh Ngân, Nguyễn Thu Hiền, Đỗ Hữu Nghị, Nguyễn Huy Chung. *Đánh giá khả năng sinh chất kích thích sinh trưởng thực vật của vi khuẩn nội sinh chịu mặn từ thân rễ lúa trồng ở*

Thái Bình. Hội nghị Khoa học Công nghệ sinh học toàn quốc, Hà Nội, 2018, 810-816.

2. Nguyen Ngoc Lan, Vu Van Dung, Nguyen Thi Kim Lien, Nguyen Kim Thoa, Do Huu Nghi, Nguyen Huy Hoang. *Isolation and characterization of indole acetic acid producing bacteria from coasts of Ben Tre and Tra Vinh provinces*. Tạp chí Sinh học, 2019, 41 (4), 55-67.

3. Vũ Duy Nhân, Vũ Văn Dũng, Trần Thị Nguyệt, Lê Đức Anh, Nguyễn Thị Nhân, Nguyễn Huy Hoàng, Đỗ Hữu Nghị, Lê Thị Yên, Nguyễn Thị Lý. *Phân lập và đánh giá khả năng phân giải phosphate khó tan của các chủng vi sinh vật chịu mặn phân lập từ đất trên quần đảo Trường Sa*. Tạp chí Nghiên cứu Khoa học và Công nghệ quân sự, 2020, số đặc san Hội thảo Quốc gia FEE, 248-254.

4. Vũ Văn Dũng, Nguyễn Ngọc Lan, Lê Đức Anh, Nguyễn Thị Nhân, Đỗ Hữu Nghị, Nguyễn Huy Hoàng. *Nghiên cứu sự biểu hiện của một số gen liên quan đến đáp ứng mặn của cây lúa dưới sự hỗ trợ của chủng vi sinh vật Bacillus aryabhatai RL7*. Tạp chí Nghiên cứu Khoa học và Công nghệ quân sự, 2021, số đặc san HNKH dành cho NCS và CBNC trẻ, 534-538

5. Vũ Văn Dũng, Vũ Duy Nhân, Trần Thị Nguyệt, Lê Đức Anh, Nguyễn Thị Nhân, Nguyễn Huy Hoàng, Đỗ Hữu Nghị, Lê Thị Yên, Nguyễn Thị Lý. *Sàng lọc và đánh giá khả năng phân giải cellulose của các chủng vi sinh vật chịu mặn phân lập từ đất trên quần đảo Trường Sa*. Tạp chí Nghiên cứu Khoa học và Công nghệ quân sự, 2022, Số 81, 185-190.

6. Ngoc-Lan Nguyen, Vu Van Dung, Nguyen Van Tung, Huy-Hoang Nguyen. *Draft Genome Sequence of Marinobacter sp. Strain C7 Isolated from Seawater in Con Bung Coast, Vietnam*. Microbiol Resour Announc., 2022, 11(7):e0040422