

ISOLATION AND DETERMINATION OF SOME CHARACTERISTICS OF ENDOPHYTIC BACTERIA IN *Houttuynia cordata* Thunb IN SOC TRANG PROVINCE

Huynh Van Truong^{*}, Nguyen Huu Hiep^{**}, Le Xuan Truong^{***}

ABSTRACT

Background: *Houttuynia cordata* Thunb is a medicinal plant that has many therapeutic properties. It has long been used in the treatment of bacterial diseases in humans, animals, and fish.

Aim: Isolate and identify some endogenous bacteria in *Houttuynia cordata* Thunb which have antibacterial activity against human pathogenic bacteria as well as have the ability of protein fixation and IAA synthesis to stimulate the plant growth.

Object and Method: *Houttuynia cordata* Thunb collected in three places of Soc Trang province. *Houttuynia cordata* Thunb is separated by leaf, stem, and root, and is isolated on the PDA medium to obtain the endophytic bacteria of *Houttuynia cordata* Thunb

Results: Twenty-eight endogenous bacteria strains have been isolated from *Houttuynia cordata* Thunb sample grown in Soc Trang province. The TS7 strain is capable of synthesizing the highest amount of ammonium (3.30 $\mu\text{g/mL}$). The maximum IAA production was 8.51 $\mu\text{g/mL}$ (due to the synthesis of RS10). Twenty bacterial strains have the ability to dissolve the unpasteurized phosphate. The result of

antibacterial activity test on *Escherichia coli* and *Aeromonas hydrophila* has shown that there are 13 strains against *Escherichia coli*, 05 strains against *Aeromonas hydrophila*, and 04 strains against *Escherichia coli* and *Aeromonas hydrophila*.

Conclusion: Three bacterial strains are identified at the species level by 16S-rRNA sequence solving. The RS4 strain is identified as *Bacillus subtilis* (98%), the TS7 strain has a 98% of homology with *Bacillus cereus* and the TS9 strain is 91% homologous to *Bacillus megaterium*.

Keywords: *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Houttuynia cordata* Thunb, antibacterial, Endophytic bacteria.

* Đại học Y Dược Cần Thơ, **Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học,

***Khoa Y, Đại học Tân Tạo

Tác giả liên lạc: Huỳnh Văn Trương.

ĐT: 0918125207

Email: truonghuongbao@gmail.com

PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH MỘT SỐ ĐẶC TÍNH CỦA VI KHUẨN NỘI SINH TRONG CÂY DIẾP CÁ (*Houttuynia cordata* Thunb) TẠI TỈNH SÓC TRĂNG

Huỳnh Văn Trương*, Nguyễn Hữu Hiệp**, Lê Xuân Trường***

TÓM TẮT

Mở đầu: Cây Diệp cá là cây có dược tính quý giúp cho việc điều trị từ lâu được sử dụng điều trị các bệnh do vi khuẩn gây cho người, động vật và cá. Tìm các dòng vi khuẩn có hoạt tính phân giải lân, tổng hợp chất kích thích sự phát triển của cây trồng cũng như tính kháng khuẩn với một số vi khuẩn gây bệnh ở người góp phần cho việc điều trị.

Mục tiêu: Phân lập và định danh một số dòng vi khuẩn nội sinh cây diếp cá có hoạt tính kháng khuẩn với vi khuẩn gây bệnh cho người cũng như khả năng cố định đạm, tổng hợp IAA là chất kích thích tăng trưởng của cây trồng.

Đối tượng- phương pháp nghiên cứu: Cây diếp cá thu 03 nơi của tỉnh Sóc Trăng, tách ra lá, thân, rễ và phân lập trên môi trường PDA thu được vi khuẩn nội sinh.

Kết quả:. Hai mươi tám dòng vi khuẩn nội sinh được phân lập. Dòng TS7 có khả năng tổng hợp ammonium cao nhất (3,30 μ g/mL). Nồng độ IAA sinh ra nhiều nhất là 8,51 μ g/mL (dòng RS10 tổng hợp). Hai mươi dòng có khả năng phân giải lân khó tan. Kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn trên 02 chủng *Escherichia coli* và *Aeromonas hydrophila* cho thấy có 13 dòng có hoạt tính kháng *Escherichia coli*, 05 dòng có tính kháng *Aeromonas hydrophila* và 04 dòng có khả năng kháng *Escherichia coli* và *Aeromonas hydrophila*.

Kết luận: Ba dòng vi khuẩn được nhận diện cấp độ loài bằng giải trình tự 16S-rRNA, dòng RS4 được nhận diện là *Bacillus subtilis* (mức độ 98%), dòng TS7 độ tương đồng 98% với *Bacillus cereus*, dòng TS9 độ tương đồng 91% với *Bacillus megaterium*.

Từ khóa: *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, cây Diệp cá, kháng khuẩn, vi khuẩn nội sinh.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây diếp cá (*Houttuynia cordata* Thunb) là một loại rau rất quen thuộc trong bữa ăn hàng ngày của các gia đình Việt Nam, nhất là các tỉnh phía Nam, thường được dùng làm rau ăn sống, làm gia vị cùng các loại rau khác. Ngoài ra, cây diếp cá còn là một trong những cây dược liệu từ lâu đã được Đông y dùng chữa các bệnh về tiêu hóa, phát ban, tắc sữa... Gần đây, Tây y cũng phát hiện ra nhiều tác dụng quý của nó như kháng khuẩn, tiêu diệt ký sinh trùng, chống ung thư. Theo nghiên cứu của y khoa hiện đại, trong cây diếp cá có chất decanoyl- acetaldehyd mang tính kháng sinh. Loại rau này có tác dụng kháng khuẩn như ức chế tụ cầu vàng, liên cầu, phế cầu, trực khuẩn bạch hầu, *Escherichia coli*, trực khuẩn lỵ, xoắn khuẩn *Leptospira*. Nhiều nghiên cứu cho thấy, trong các cây trồng không thuộc họ đậu cũng có các nhóm vi sinh vật có ích sống trong cây hoặc ở vùng rễ cây đã kích thích cây trồng phát triển tốt nhờ chúng có khả năng cố định nitơ, phân giải lân, tổng hợp các hormone tăng trưởng và các hợp chất có khả năng trực tiếp ức chế một số bệnh cho cây trồng hoặc kích thích cây trồng sản xuất các hợp chất biến dưỡng thứ cấp giúp cây chống lại các tác nhân gây bệnh cây. Tập đoàn vi sinh vật nội sinh hoặc sống ở vùng rễ cây trong đó có cây dược liệu có khả năng giúp cây tăng trưởng và đồng hóa tốt. Ngoài ra, chúng còn có khả năng sản xuất trực tiếp các hợp chất kháng khuẩn tự nhiên. Ngoài ra vi khuẩn nội sinh cũng có khả năng kích thích cây chủ sản xuất ra các hợp chất biến dưỡng trung gian như ở cây dược liệu chúng có thể sản xuất ra các hợp chất có tính kháng khuẩn rất tốt. Vì vậy, trong nghiên cứu này chúng tôi đã “*Phân lập và xác định một số đặc tính của vi khuẩn nội sinh trong cây Diếp cá ở tỉnh Sóc Trăng*”

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Toàn bộ phần rễ, thân và lá của cây diếp cá trồng ở *huyện Châu Thành, huyện Mỹ Xuyên và Thành phố Sóc Trăng của Tỉnh Sóc Trăng*. Vi khuẩn *E.coli* được cung cấp từ phòng thí nghiệm Sinh học phân tử, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ sinh học, trường Đại học Cần Thơ. Vi khuẩn *A. hydrophila* được cung cấp từ bộ môn Bệnh cá, Khoa Thủy Sản, trường Đại học Cần Thơ. Môi trường phân lập vi khuẩn nội sinh và khảo sát khả năng kháng khuẩn của vi khuẩn là môi trường PDA. Môi trường thử khả năng tổng hợp đạm và tổng hợp IAA là môi trường NFb. Môi trường NBRIP dùng để khảo sát khả năng hòa tan lân khó tan.

Phương pháp chọn mẫu

Mẫu cây diếp cá được rửa sạch dưới vòi nước để loại bỏ đất rồi tách rời thân, lá và rễ. Sau đó rửa sạch mẫu rễ, thân, lá với nước vô trùng và cắt thành đoạn ngắn 2-3 cm. Tiến hành khử trùng bề mặt mẫu rễ, thân và lá bằng cồn 70% trong 30 giây, H_2O_2 3% trong 3 đến 5 phút sau đó rửa lại bằng nước cất vô trùng 4 lần và để ráo nước trên giấy thấm vô trùng. Mẫu sau khi khử trùng bề mặt được cắt thành miếng nhỏ và được giã nhuyễn trong cối, sau đó cho 1-2 mL nước cất vô trùng vào mẫu, trộn đều và để yên 15 phút (để lắng phần cặn) sau đó dùng pipet hút phần trong cho vào ống nghiệm chứa 5 mL môi trường PDA bán đặc và ủ ở 30°C trong 24-48 giờ. Khi thấy xuất hiện một vòng pellicle trắng đục bên dưới bề mặt môi trường PDA bán đặc trong ống nghiệm khoảng 2,0-5,0 mm, đó là dấu hiệu chứng tỏ có sự hiện diện của vi khuẩn nội sinh. Dùng micropipet hút 100 μ L dung dịch mẫu tại vị trí vòng pellicle xuất hiện trải đều trên đĩa Petri có môi trường PDA đặc, ủ đĩa ở 30°C trong 24-48 giờ. Khi khuẩn lạc vi khuẩn xuất hiện trên bề mặt môi trường, tiếp tục cấy chuyển đến khi mẫu trong. Xác định các đặc điểm của khuẩn lạc vi khuẩn, tế bào vi khuẩn, nhuộm gram, test khả năng tổng hợp nitơ và khả năng phân giải lân tính kháng khuẩn của các dòng vi khuẩn phân lập được từ cây diếp cá (Bauer et al., 1966). Các dòng vi khuẩn triển vọng được chọn để phân lập từ gen 16S rRNA bằng kỹ thuật giải trình tự gen với cặp mồi, sản phẩm PCR được giải trình tự bằng máy ABI 3130 (Nhật); các trình tự thu được so sánh với ngân hàng gen GENBANK để nhận diện vi khuẩn đến cấp loài. Số liệu thí nghiệm được tính toán thống kê bằng phần mềm thống kê Statgraphics Centurion XVI.II.

KẾT QUẢ

Hai mươi tám dòng vi khuẩn nội sinh đã được phân lập trên môi trường PDA. Các dòng vi khuẩn này phân bố ở cả trong rễ, thân và lá của cây Diếp cá. Chúng có chung đặc tính là sinh trưởng và phát triển trong điều kiện vi hiếu khí. Khi được cấy trong môi trường PDA bán đặc, vi khuẩn phát triển thành vòng pellicle (vòng sáng màu trắng trên môi trường), cách bề mặt môi trường từ 2-5 mm. Các dòng vi khuẩn đều phát triển rất nhanh, thời gian để các dòng vi khuẩn phát triển thành khuẩn lạc là 12 giờ, chậm nhất là 24 giờ; phần lớn các vi khuẩn phân lập được đều có khuẩn lạc dạng tròn hay không đều, bìa nguyên, độ nổi mô, màu trắng đục, một số ít khuẩn lạc có dạng không đều, bìa răng cưa, độ nổi lồi, độ nổi phẳng, màu trắng và màu vàng. Đường kính khuẩn lạc của các dòng vi khuẩn phân lập được có kích thước dao động từ 1-5 mm sau khi cấy trên môi trường PDA và ủ ở 30°C trong khoảng từ 12-24 giờ.

Đặc điểm tế bào vi khuẩn

Tất cả các dòng vi khuẩn nội sinh cây Diếp cá phân lập được đều có dạng hình que và có khả năng chuyển động, ngoại trừ dòng TS5 là không chuyển động. Chiều dài vi khuẩn dao động trong khoảng 1,54-3,42 μ m, chiều rộng khoảng 0,68-1,71 μ m. 24/28 dòng vi khuẩn Gram âm chiếm 85,7%, 4/28 dòng vi khuẩn Gram dương, chiếm 14,3%.

Khả năng tổng hợp đạm của các dòng vi khuẩn nội sinh cây Diếp cá phân lập

Các dòng vi khuẩn được phân lập ở rễ, thân lá của cây Diếp cá đều có khả năng tổng hợp được một lượng ammonium nhất định vào ngày thứ 2 tăng mạnh vào ngày 4 và giảm mạnh vào ngày 6. Lượng ammonium cao nhất là do dòng RS5 (rễ) tạo ra (1,19 $\mu\text{g/mL}$) ở ngày thứ 4 sau khi chủng, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các dòng còn lại. Dòng TS7 (thân) tổng hợp được 3,30 $\mu\text{g/mL}$, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các dòng vi khuẩn từ thân khác. dòng LS1 (lá) tổng hợp hàm lượng ammonium cao nhất là 1,01 $\mu\text{g/mL}$ (Bảng 1).

Bảng 1: Khả năng tổng hợp ammonium ($\mu\text{g/mL}$) của các dòng vi khuẩn triển vọng

Dòng vi khuẩn	Ngày 2	Ngày 4	Ngày 6
RS5	0,16 c	1,19 b	0,23 b
RS6	0,37 b	0,87 e	0,17 b
LS1	0,39 b	1,01 c	0,13 b
LS6	0,19 c	0,80 f	0,22 b
TS3	0,42 b	0,93 d	0,15 b
TS7	2,43 a	3,30 a	2,83 a
CV (%)	4,64	1,77	9,14

*Ghi chú: các giá trị trung bình trong cùng một cột theo sau có các mẫu tự giống nhau biểu thị sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan. T: Thân, R: Rễ, L: Lá

Khả năng cố định nitơ của các dòng vi khuẩn phân lập từ cây Diếp cá rất biến động. Dòng TS 7 có khả năng tổng hợp được lượng ammonium cao nhất ở ngày thứ 4 là 3,30 $\mu\text{g/mL}$. Hai dòng vi khuẩn E 3704 và E 1631 nội sinh trong lá họ và rễ ngò gai của Trần Mỹ Xuyên (2010) tổng hợp được lượng ammonium cao nhất ở ngày thứ 4 sau chủng lần lượt là 3,52 $\mu\text{g/mL}$ và 3,55 $\mu\text{g/mL}$ ⁽⁴⁾.

Khả năng tổng hợp IAA của các dòng vi khuẩn nội sinh cây Diếp cá phân lập được

Các dòng vi khuẩn được phân lập ở rễ, thân, và lá đều có khả năng tổng hợp được một lượng IAA nhất định vào ngày thứ 2 sau khi chủng, cao nhất vào ngày 4 và giảm mạnh vào ngày 6. Lượng IAA cao nhất là do dòng RS10 (rễ) tạo ra là 8,51 $\mu\text{g/mL}$ ở ngày thứ 4 sau khi chủng), khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các dòng còn lại. Dòng TS9 (từ thân) tổng hợp được (7,24 $\mu\text{g/mL}$). Dòng LS1 (từ lá) là dòng tổng hợp được IAA cao nhất (6,97 $\mu\text{g/mL}$) (Bảng 2).

Bảng 2: Lượng IAA ($\mu\text{g/mL}$) do các dòng vi khuẩn triển vọng tạo ra

Dòng vi khuẩn	Ngày 2	Ngày 4	Ngày 6
---------------	--------	--------	--------

khuẩn			
LS1	5,46 c	6,97 c	5,13 d
LS2	5,74 b	6,41 e	5,21 d
LS4	5,02 d	6,17 f	4,55 e
RS4	3,17 f	7,19 b	4,30 f
RS10	6,87 a	8,51 a	6,65 a
TS3	5,41 c	6,66 d	4,01 g
TS5	3,41 e	6,71 d	5,33 c
TS9	5,64 b	7,24 b	5,67 b
CV (%)	1,51	1,63	1,39

**Ghi chú: các giá trị trung bình trong cùng một cột theo sau có các mẫu tự giống nhau biểu thị sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan.*

Dòng NK 17 nội sinh trong cây khóm của Nguyễn Thành Dũng (2009) tổng hợp được lượng IAA cao nhất là 5,43 mg/L, thì khả năng tổng hợp IAA của dòng RS10 và TS9 lại cao hơn⁽⁶⁾. Năm 2010, Ngô Minh Toàn phân lập được dòng vi khuẩn nội sinh trên cây chuối có khả năng tạo được 9,273 mg/L IAA vào ngày thứ 4⁽³⁾. Dòng vi khuẩn nội sinh từ cây Diếp cá RS 10 có khả năng tổng hợp được 8,51 mg/L IAA vào ngày thứ 4. Qua đó cho thấy khả năng tổng hợp IAA của các dòng vi khuẩn nội sinh ở các cây khác nhau có thể khác nhau.

Khả năng phân giải lân khó tan của các dòng vi khuẩn nội sinh cây Diếp cá phân lập được

Trong số 28 dòng vi khuẩn phân lập được có 20 dòng vi khuẩn nội sinh có khả năng phân giải lân khó tan thể hiện qua hiệu quả phân giải lân (%), trong đó dòng RS5 và LS3 là 2 dòng có hiệu quả phân giải lân cao nhất (186,9% và 183,3%) (Bảng 3). Theo nghiên cứu của Nguyễn Thanh Bình (2013) thì dòng NDH15 nội sinh trong cây dưa hấu có khả năng phân giải lân cao nhất với hiệu quả giải lân là 246 ở ngày thứ 5 sau khi chủng⁽⁵⁾, dòng LA8 và LB12 nội sinh trong cây lúa của Nguyễn Khánh Ngọc (2013) cũng là hai dòng có khả năng giải lân cao nhất với hiệu quả giải lân lần lượt là 165 và 175. Dòng MB45 nội sinh trong cây mè có khả năng phân giải lân cao nhất với lượng lân giải lân được là 185,6 ở ngày thứ 5, qua đó cho thấy dòng RS5 và LS3 là 2 dòng vi khuẩn nội sinh triển vọng trong cây Diếp cá có khả năng giải lân cao nhất (186,9 và 183,3).

Khả năng kháng khuẩn của các dòng vi khuẩn nội sinh cây Diếp cá phân lập được.

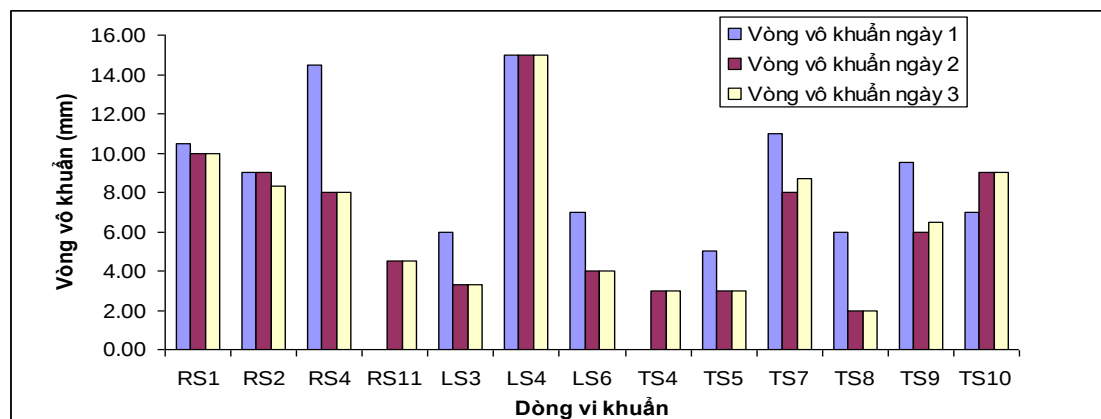
Trong số 28 dòng được phân lập từ rễ, thân và lá của cây Diếp cá đem khảo sát khả năng kháng lại vi khuẩn *E. coli* và vi khuẩn *A. hydrophila* thì thấy có 13 dòng kháng lại vi khuẩn *E.*

coli (Hình 1) và 5 dòng kháng được vi khuẩn *A. hydrophila* (Bảng 4). Trong đó, 4 dòng RS1, RS4, LS4, TS10 kháng lại được 2 loại vi khuẩn gây bệnh *E. coli* và *A. hydrophila*. Dòng LS4 và RS4 cho khả năng đối kháng cao với vi khuẩn *E. coli* và vi khuẩn *A. hydrophila*.

Bảng 3: Hiệu quả phân giải lân (%) của các dòng vi khuẩn nội sinh phân lập từ cây Diếp cá

Dòng vi khuẩn	Thời gian ủ					
	1 Ngày		3 Ngày		5 ngày	
	ĐK halo/ Đk khuẩn lạc (mm)	hiệu quả phân giải lân (%)	ĐK halo/ Đk khuẩn lạc (mm)	hiệu quả phân giải lân (%)	ĐK halo/ Đk khuẩn lạc (mm)	Hiệu quả phân giải lân (%)
RS1	1,226	122,6fg	1,534	153,4abcd	1,607	160,7abcde
RS2	1,405	140,5cd	1,523	152,3abcd	1,682	168,2abcd
RS4	1,306	130,6def	1,169	116,9h	1,147	114,7h
RS5	1,333	133,3cdef	1,714	171,4a	1,869	186,9a
RS10	1,644	164,4ab	1,429	142,9cde	1,190	119,0gh
RS12	1,611	161,1b	1,656	165,6ab	1,567	156,7bcdef
LS1	1,731	173,1a	1,407	140,7cdef	1,444	144,4defg
LS2	1,333	133,3cdef	1,370	137,0cdefg	1,384	138,4efgh
LS3	1,429	142,9c	1,565	156,5abc	1,833	183,3ab
LS4	0,000	0,0h	1,667	166,7ab	1,600	160,0abcde
LS5	1,167	116,7g	1,286	128,6efgh	1,286	128,6fgh
LS6	1,389	138,9cde	1,222	122,2fgh	1,600	160,0abcde
TS1	0,000	0,0h	1,185	118,5gh	1,556	155,6bcdef
TS3	0,000	0,0h	1,306	130,6efgh	1,587	158,7bcde
TS4	1,278	127,8ef	1,619	161,9ab	1,769	176,9abc
TS5	1,333	133,3cdef	1,296	129,6efgh	1,556	155,6bcdef
TS6	1,333	133,3cdef	1,519	151,9bcd	1,500	150,0cdef
TS7	1,333	133,3cdef	1,407	140,7cdef	1,462	146,2defg
TS8	1,317	131,7cdef	1,367	136,7defg	1,373	137,3efgh
TS9	1,317	131,7cdef	1,417	141,7cdef	1,630	163,0abcde
CV (%)		5,05		7,11		9,56

*Ghi chú: các giá trị trung bình trong cùng một cột theo sau có các mẫu tự giống nhau biểu thị sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan; ĐK: đường kính.



Hình 1: Khả năng kháng khuẩn của các dòng vi khuẩn phân lập với vi khuẩn *E. Coli*

Dòng LS4 có khả năng kháng vi khuẩn *E. coli* hiệu quả cao nhất với đường kính vòng vô khuẩn là 15mm. Dòng RS4 có khả năng kháng được vi khuẩn *Aeromonas hydrophila* mạnh nhất với đường kính vòng vô khuẩn là 14,5 mm. Qua đó cho thấy dòng LS4 và RS4 là hai dòng vi khuẩn nội sinh trong cây Diếp cá có khả năng kháng lại vi khuẩn *E. coli* và vi khuẩn *Aeromonas hydrophila* cao nhất. Vi khuẩn *B. amyloliquefaciens* strain HNA3 có khả năng kháng được vi khuẩn *Aeromonas hydrophila*, nhưng không kháng được vi khuẩn *E. coli*. Các dòng vi khuẩn nội sinh phân lập từ Diếp cá vừa có khả năng kháng vi khuẩn *E. coli* và *Aeromonas hydrophila* là những dòng vi khuẩn rất có triển vọng ứng dụng trong y học.

Bảng 4: Khả năng kháng khuẩn của các dòng vi khuẩn nội sinh cây Diếp cá phân lập được với vi khuẩn *Aeromonas hydrophila*

Dòng vi khuẩn	Vòng vô khuẩn ngày 1 (cm)	Vòng vô khuẩn ngày 2 (cm)	Vòng vô khuẩn ngày 3 (cm)
RS 1	5,33 b	5,33 d	5,33 d
RS 4	12,00 a	14,50 a	14,50 a
RS 5	9,67 a	8,67 c	8,00 c
LS 4	11,33 a	11,00 b	9,67 b
TS 10	10,50 a	10,50 b	10,50 b
CV (%)	12,33	9,13	9,51

*Ghi chú: các giá trị trung bình trong cùng một cột theo sau có các mẫu tự giống nhau biểu thị sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan.

Các dòng vi khuẩn triển vọng được nhận diện bằng cách phân lập và giải trình tự gen 16S rRNA sau đó so sánh với ngân hàng gene (GENBANK). Kết quả cho thấy các dòng vi khuẩn này thuộc chi *Bacillus* (Bảng 5).

Bảng 5: Kết quả nhận diện các dòng vi khuẩn triển vọng

Dòng vi khuẩn	Kết quả nhận diện vi khuẩn	Độ tương đồng (%)
RS4	<i>Bacillus subtilis</i>	98
TS7	<i>Bacillus cereus</i>	98
TS9	<i>Bacillus megaterium</i>	91

KẾT LUẬN

Hai mươi tám dòng vi khuẩn phân lập từ cây Diếp cá đều có khả năng cố định nitơ, tổng hợp IAA là kích thích tố tăng trưởng của cây trồng, nhưng chỉ có 20 dòng vi khuẩn có khả năng phân giải lân khó tan. 13/28 vi khuẩn ức chế sự phát triển của *Escherichia coli*, 5/28 dòng ức chế sự phát triển *Aeromonas hydrophila*, 4/28 dòng ức chế sự phát triển cả 2 loài vi khuẩn *Escherichia coli* và *Aeromonas hydrophila*. Ba dòng vi khuẩn triển vọng RS4, TS7 và TS9 được nhận diện là *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium* với tỷ lệ đồng hình là 98%, 98%, 91%. Các dòng vi khuẩn này là nguồn vật liệu ban đầu rất quý giúp cho các nghiên cứu tiếp theo để ứng dụng trong y học góp phần bảo vệ sức khỏe cộng đồng. Các dòng vi khuẩn có khả năng cố định nitơ, tổng hợp IAA hoặc phân giải lân có thể sử dụng làm phân bón vi sinh để sản xuất cây dược liệu sạch.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, and Turck M (1966). Antibiotic sensitivity testing by a standardized single disk method. Amer. J. Clin. Pathol. 45:493-496.
2. Hardoim PR, van Overbeek LS and van Elsas JD (2008). Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. Trends Microbiol 16: 46-471.
3. Ngô Minh Toàn (2010). Phân lập và định danh một số dòng vi khuẩn nội sinh trên cây chuối trồng tại Vĩnh Long. Luận văn tốt nghiệp Cao học chuyên ngành Sinh Thái học, Trường Đại học Cần Thơ. Cần Thơ.
4. Nguyễn Phương Tâm (2011). Phân lập và khảo sát đặc tính của một số dòng vi khuẩn nội sinh trên cây mía ở các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long. Luận văn tốt nghiệp Cao học chuyên ngành Công nghệ sinh học. Đại học Cần Thơ.
5. Nguyễn Thanh Bình (2013). Phân lập, tuyển chọn và nhận diện dòng vi khuẩn nội sinh ở cây dưa hấu trồng tại huyện Vũng Liêm – Tỉnh Vĩnh Long. Luận văn tốt nghiệp Cao học, chuyên ngành Công nghệ Sinh học, trường Đại học Cần Thơ. Cần Thơ.

6. Nguyễn Thành Dũng (2009). Phân lập những dòng vi khuẩn nội sinh trong cây khóm trồng ở huyện Vĩnh Thuận tỉnh Kiên Giang. Luận văn tốt nghiệp Cao học chuyên ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ. Cần Thơ.