ISOLATION AND SELECTION OF BACTERIA STRAINS WITH INSOLUBLE PHOSPHATE SOLUBILIZING ACTIVITY

Nguyen Thi Giang, Pham Thi Tuyet Mai, Trinh Thi Chung, Tran Thi Tam, Le Duc Duy, Tran Van Chi*
TNU - University of Agriculture and Forestry

ARTICLE INFO

Received: 19/9/2024
Revised: 17/11/2024
Published: 19/11/2024

KEYWORDS

Insoluble phosphate
Solubilization
Isolation
Selection
Bacteria

ABSTRACT

Microbial products used in agricultural production often contain several strains of microorganisms with high biological activity. One of the microorganisms currently receiving much attention is the group of Phosphate Solubilizing Microorganisms (PSM). This study was conducted with the aim of finding bacterial strains capable of effectively solubilizing phosphate. From 08 soil samples, 04 bacterial strains were isolated on NBRIP medium, all of which had phosphate solubilizing ability; among them, the BGL-16 strain showed the highest phosphate solubilizing activity, reaching 362.7 mg/L. The colony of strain BGL-16 is round, white-yellowish, flat, with serrated edges, smooth, dry surface, short rod-shaped cells, Gram-negative, and motile. Sequencing results and comparison of the 16S rRNA gene sequence with standard strains published on EzBioCloud data showed that strain BGL-16 is considered a new species candidate of the genus *Pseudomonas* and is named *Pseudomonas* sp. BGL-16. Through evaluation and comparison with previous publications, it is shown that the strain *Pseudomonas* sp. BGL-16 has great potential for research and application in the production of microbial products for sustainable agricultural production.

PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN CHỦNG VI KHUẨN CÓ HOẠT TÍNH PHÂN GIẢI LÂN KHÓ TAN

Nguyễn Thị Giang, Phạm Thị Tuyết Mai, Trịnh Thị Chung, Trần Thị Tâm, Lê Đức Duy, Trần Văn Chí*
Trường Đại học Nông Lâm – ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO

Ngày nhận bài: 19/9/2024
Ngày hoàn thiện: 17/11/2024
Ngày đăng: 19/11/2024

TỪ KHÓA

Lân khó tan
Phân giải
Phân lập
Tuyển chọn
Vi khuẩn

TÓM TẮT

Chế phẩm vi sinh ứng dụng trong sản xuất nông nghiệp thường chứa một vài chủng vi sinh vật có hoạt tính sinh học cao, một trong những vi sinh vật được quan tâm nhiều hiện nay là nhóm phân giải lân (PSM- *Phosphate Solubilizing Microorganisms*). Nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu tìm ra chủng vi khuẩn có khả năng phân giải lân hiệu quả. Từ 08 mẫu đất trồng, tiến hành phân lập trên môi trường NBRIP đã thu được 04 chủng vi khuẩn, tất cả đều có khả năng phân giải lân; trong đó, chủng BGL-16 thể hiện hoạt tính phân giải lân cao nhất, đạt 362,7 mg/L. Khuẩn lạc của chủng BGL-16 có dạng tròn, màu trắng ngả vàng, dẹt, bìa răng cưa, bề mặt trơn, láng khô, tế bào dạng que ngắn, Gram âm và có khả năng di động. Kết quả giải trình tự và so sánh trình tự gen 16S rRNA với các chủng chuẩn công bố trên dữ liệu EzBioCloud cho thấy chủng BGL-16 được coi là ứng viên loài mới thuộc chi *Pseudomonas* và được đặt tên khoa học là *Pseudomonas* sp. BGL-16. Qua đánh giá và so sánh với những công bố trước đó cho thấy, chủng *Pseudomonas* sp. BGL-16 rất có tiềm năng trong nghiên cứu để ứng dụng vào sản xuất chế phẩm vi sinh phục vụ sản xuất nông nghiệp bền vững.

DOI: https://doi.org/10.34238/tnu-jst.11143

* Corresponding author. *Email: tranvanchi@tuaf.edu.vn*

1. Đặt vấn đề

Photpho (P) là chất dinh dưỡng quan trọng cho sự sinh trưởng và phát triển của cây trồng. P tham gia vào các quá trình trao đổi chất quan trọng như hấp thu chất dinh dưỡng, oxy hóa sinh học và chuyển hóa năng lượng [1]. Trên thế giới khoảng 52,3 tỷ tấn phân bón gốc P được sử dụng hàng năm để duy trì mức P sẵn có trong hệ thống đất - cây trồng [2]. Tuy nhiên, chỉ khoảng 15 - 20% trong số lượng này được cây trồng sử dụng [3], phần còn lại bị kết tủa bởi các cation kim loại trong đất như sắt, nhôm, magie, canxi,… có thể làm giảm khả năng hấp thụ dinh dưỡng của cây trồng và gây tích tụ chất độc hại trong môi trường đất. Phần lớn lượng phân lân được bón cho cây trồng là phân vô cơ (phân hoá học), đây có thể là nguyên nhân dẫn đến các vấn đề về môi trường như ô nhiễm nước ngầm,... [4]. Hiện nay, đất canh tác nông nghiệp ở Việt Nam đang gặp phải hiện tượng thoái hóa và bạc màu; để tăng độ phì nhiêu của đất, người nông dân thường bón phân N-P-K. Tuy nhiên, hầu hết phân bón có chứa P tồn tại trong đất ở dạng khó tiêu do liên kết với ion kim loại. Một trong những giải pháp được áp dụng để cải tạo đất là sử dụng vi sinh vật, đặc biệt là các chủng vi sinh vật bản địa vì chúng thể hiện hoạt tính ổn định và có khả năng thích nghi tốt với điều kiện ngoại cảnh. Nhiều hoạt tính quý của nhóm vi sinh vật đất đã góp phần cải thiện độ phì nhiêu, cân bằng dinh dưỡng, cải thiện các tính chất lý hóa của đất, cải thiện cấu trúc đất và giảm thiểu ô nhiễm môi trường do hiện tượng rửa trôi [5], [6], như: khả năng phân giải lân [7], cố định đạm [8], phân giải cellulose [9], [10],… Đặc biệt, chúng còn có khả năng chuyển hóa các chất dinh dưỡng trong phân bón cung cấp cho cây trồng [11], phân giải các chất hữu cơ trong đất, chuyển các chất khó tan thành dễ tan giúp cho cây trồng dễ dàng hấp thu [12], giúp thúc đẩy sự phát triển của thực vật [13] và bảo vệ thực vật khỏi sự tấn công của mầm bệnh [14]. Hàng năm, lượng phân lân được sử dụng trong trồng trọt rất lớn, nhờ những lợi ích to lớn từ các chủng vi khuẩn phân giải lân (PSM- *Phosphate Solubilizing Microorganisms*) có thể mang lại như hòa tan P vô cơ (khoáng chất) không hòa tan và khoáng hóa P hữu cơ không hòa tan tạo ra sản phẩm mà cây trồng có thể hấp thụ được [15]. Do đó, việc nghiên cứu phân lập và tuyển chọn chủng vi sinh vật có khả năng phân giải lân khó tan định hướng phục vụ sản xuất nông nghiệp luôn được quan tâm.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Nguyên liệu: Các mẫu đất trồng ngô, lúa được thu thập tại Thái Nguyên, Bắc Giang và Vĩnh Phúc.

Hoá chất: Môi trường NBRIP gồm: 5,0g $Ca_3(PO_4)_2$ (Biobasic); 0,25g $MgSO_4.7H_2O$ (Sigma-Aldrich); 0,2g KCl (Biobasic); 0,1g $(NH_4)_2SO_4$ (Trung Quốc); 5g $MgCl_2.6H_2O$ (Biobasic); 10g glucose (Việt Nam); 20g Agar (Việt Nam); nước 1 lít và pH 7,0.

2.2. Phương pháp

Phương pháp thu mẫu

Tiến hành thu mẫu đất theo TCVN 7538-6:2010 [16], mẫu đất được lấy ở độ sâu 6 - 15 cm, sau khi đã loại bỏ 5 cm phần đất và loại bỏ sinh khối thực vật, sỏi đá bằng rây kích thước 2 mm. Mẫu đất (8 mẫu; 100 gam/mẫu) được thu tại các địa phương bao gồm: xã Ôn Lương – huyện Phú Lương – tỉnh Thái Nguyên (4 mẫu), xã Đồng Kỳ - huyện Yên Thế - tỉnh Bắc Giang (2 mẫu), xã Yên Bình – huyện Vĩnh Tường – tỉnh Vĩnh Phúc (2 mẫu).

Phương pháp phân lập

Mẫu đất (10 g) được cho vào bình tam giác 250 ml có chứa 100 ml nước cất vô trùng, lắc với tốc độ 100 vòng/phút trong 20 phút. Tiếp đến, mẫu được pha loãng theo dãy thập phân liên tiếp cho đến khi đạt nồng độ pha loãng 10^{-6}. Dịch huyền phù (0,1ml) ở mỗi nồng độ pha loãng được cấy trải trên môi trường thạch đĩa NBRIP [17]. Các đĩa môi trường này được úp ngược và ủ các đĩa petri ở nhiệt độ 30°C trong 5 ngày. Trên mỗi mẫu phân lập, các chủng vi khuẩn có khả năng phân giải lân sẽ hình thành các vòng phân giải (vòng trong suốt) bao quanh khuẩn lạc trên môi

trường NBRIP. Các chủng vi khuẩn có khả năng phân giải P sau đó sẽ được cấy chuyển sang các đĩa petri chứa môi trường NBRIP khác để làm thuần.

Định tính khả năng phân giải lân khó tan của các chủng phân lập thông qua xác định đường kính vòng phân giải lân $Ca_3(PO_4)_2$ theo công thức [18]:

$k = D - d$ (cm)

Trong đó:

- k là đường kính phân giải lân (cm);
- D là đường kính vòng phân giải (cm);
- d là đường kính lỗ đục (cm)

Kích thước vòng phân giải được đo sau 5 ngày nuôi cấy.

Hình thái khuẩn lạc, tế bào và nhuộm gram của vi khuẩn phân lập được tiến hành phân tích theo phương pháp của Nguyễn Xuân Thành và cộng sự (2007) [19]. Khuẩn lạc được quan sát về hình dạng, màu sắc, độ bóng và bề mặt. Tế bào vi khuẩn được kiểm tra qua kính hiển vi sau khi nhuộm gram để xác định tính chất gram và hình dạng tế bào. Khả năng di động của vi khuẩn được thực hiện trên môi trường thạch mềm (5g Agar/ 1 lít môi trường).

Phương pháp xác định khả năng phân giải lân khó tan

Hoạt tính phân giải lân khó tan được xác định dựa trên sự biến thiên nồng độ PO_4^{3-} có trong dịch nuôi cấy bằng phương pháp so màu xanh molybdate [20]. Chủng vi khuẩn được nuôi trong bình tam giác chứa 25 ml môi trường NBRIP lỏng (nhiệt độ: 30°C, trong 4 ngày nuôi lắc 150 vòng/phút). Dịch sau khi nuôi cấy được ly tâm ở 10.000 vòng/phút, ở 4°C trong 10 phút. Hút dịch trong sung 30 ml nước mỗi bình, thêm 8 ml hỗn hợp khử tạo màu và thêm nước cất đến vạch định mức (50ml), lắc đều, để yên 20 phút, so màu ở bước sóng 820 nm. Dựa vào phương trình đường chuẩn: $y = 0,5337x + 0,0248$ ($R^2 = 0,9995$) thể hiện mối tương quan giữa độ hấp thụ tia UV với nồng độ dịch PO_4^{3-} để xác định giá trị nồng độ PO_4^{3-} có trong môi trường nuôi cấy.

Định danh chủng phân giải lân khó tan đã tuyển chọn

Định danh phân tử và xây dựng sơ đồ phả hệ: DNA tổng số của chủng tuyển chọn được tách chiết theo phương pháp của Sambrook & Russell (2001) [21]. Trình tự gen 16SrRNA được khuếch đại, sử dụng cặp mồi 27F GAGAGTTGATCCGGCTCAG và 1495R CTACGGCTACCTTGTTACGA và được đọc trình tự thông qua hệ thống Applied Biosystems 3730 xl DNA analyzer sử dụng Big Dye terminator cycle sequencing kit v.3.1 (Macrogen, Hàn Quốc). Sử dụng dữ liệu công bố trên EzTaxon để nhận diện chủng phân lập (https://www.ezbiocloud.net/). Tỷ lệ tương đồng về trình tự gen lớn hơn 98% và của chủng nào lớn nhất sẽ được lựa chọn là gần nhất. Đồng thời, vị trí phân loại của chủng phân lập được xây dựng bằng phần mềm MEGA 7.

Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2019 và sử dụng phần mềm SPSS 20.0 với kiểm định Duncan để so sánh khác biệt trung bình giữa các chủng vi khuẩn.

3. Kết quả

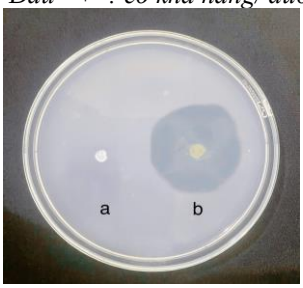
3.1. Phân lập các chủng phân giải lân từ đất trồng

Từ 08 mẫu đất trồng thu tại tỉnh Bắc Giang, Thái Nguyên và Vĩnh Phúc đã phân lập được 15 chủng vi khuẩn, trong đó có 04 chủng vi khuẩn có khả năng phân giải lân (01 chủng được phân lập từ mẫu đất trồng lúa tại tỉnh Bắc Giang, 02 chủng từ đất trồng lúa tại tỉnh Thái Nguyên và 01 chủng từ đất trồng ngô tại tỉnh Vĩnh Phúc). Một số đặc điểm của 4 chủng được trình bày tại Bảng 1.

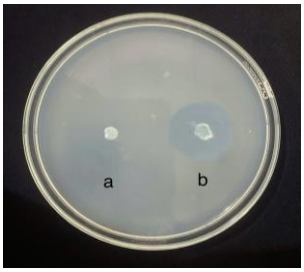
Bảng 1. *Kết quả phân lập chủng vi khuẩn có khả năng phân giải lân từ đất trồng*

Ký hiệu chủng	Địa điểm lấy mẫu	Đặc điểm khuẩn lạc	Hình thái tế bào	Tính chất Gram	Khả năng di động	Đường kính vòng phân giải lân $Ca_3(PO_4)_2$ (cm)
BGL-16	Bắc Giang	Tròn, trắng ngà vàng, dẹt, bìa răng cưa, trơn, láng khô	Que ngắn	-	+	$3,1^a \pm 0,2$
DL01	Thái Nguyên	Tròn, trắng sữa, dẹt, bìa răng cưa, trơn, láng khô	Que ngắn	-	+	$2,3^b \pm 0,15$
DL06	Thái Nguyên	Tròn, trắng ngà, bìa nguyên, lồi, bề mặt bóng, láng ướt	Que ngắn	-	+	$2,5^b \pm 0,15$
PL03	Vĩnh Phúc	Tròn, trắng trong, bìa nguyên, lồi, trơn, láng ướt	Cầu nhỏ	-	+	$1,8^c \pm 0,15$

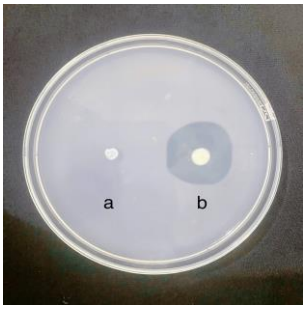
Ghi chú: Các chữ trong cùng một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha \leq 0,05$
Dấu "-": không có khả năng/ âm tính
Dấu "+": có khả năng/ dương tính



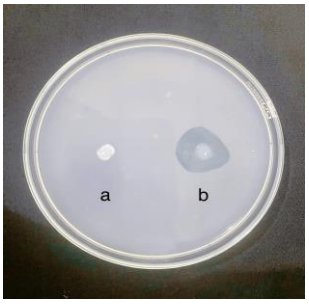
1.1



1.2



1.3



1.4

Hình 1. *So sánh khả năng tạo vòng phân giải lân của các chủng phân lập được*

Ghi chú:
1.1 *Đối chứng (a); Vòng tròn phân giải lân $Ca_3(PO_4)_2$ của dòng BGL-16 (b)*
1.2 *Đối chứng (a); Vòng tròn phân giải lân $Ca_3(PO_4)_2$ của dòng DL01 (b)*
1.3 *Đối chứng (a); Vòng tròn phân giải lân $Ca_3(PO_4)_2$ của dòng DL06 (b)*
1.4 *Đối chứng (a); Vòng tròn phân giải lân $Ca_3(PO_4)_2$ của dòng PL03 (b)*

Kết quả từ Bảng 1 cho thấy, khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn phân lập có hình dạng tròn, với màu sắc thay đổi từ trắng trong, trắng sữa đến trắng ngà. Bề mặt khuẩn lạc có sự đa dạng, gồm: bóng, trơn, láng ướt hoặc láng khô, và khuẩn lạc có 2 dạng là bìa nguyên hoặc bìa răng cưa. Về đặc điểm tế bào, các chủng vi khuẩn này có hình dạng hình cầu nhỏ hoặc que ngắn, cả 4 chủng đều thể hiện tính chất gram âm và có khả năng di động. Đường kính vòng phân giải $Ca_3(PO_4)_2$ của các chủng vi khuẩn phân lập được dao động từ 1,8 đến 3,1 cm (hình 1) cho thấy khả năng phân giải lân vô cơ của chúng khá mạnh. Khả năng này đặc biệt quan trọng trong việc cung cấp nguồn P dễ hấp thụ cho cây trồng, giúp tăng cường năng suất và phát triển hệ rễ. Kết quả nghiên cứu có sự tương đồng với nghiên cứu của Nguyễn Đức Thành và công sự năm 2019 về hình thái và khả năng phân giải lân của các chủng vi khuẩn, trong đó mẫu T2917 và T3602 có hình thái khuẩn lạc hình tròn, lồi trơn bóng, màu vàng nhạt và màu trắng đục; hình thái tế bào có hình que

ngắn, hình cầu; tính chất gram thể hiện âm tính; có khả năng di động; đường kính phân giải $Ca_3(PO_4)_2$ đạt 3,7 và 2,2 cm [18].

3.2. Xác định khả năng phân giải lân của các chủng đã phân lập

Đánh giá khả năng phân giải lân của các chủng vi khuẩn đã phân lập trên môi trường NBRIP lỏng cho thấy hiệu quả phân giải lân biến động ở mức sai khác có ý nghĩa giữa các chủng và được nêu tại bảng 2.

Bảng 2. *Kết quả định lượng PO_4^{3-} từ các chủng phân lập*

STT	Ký hiệu chủng	Hàm lượng PO_4^{3-}
1	BGL-16	$362,7^a \pm 2,69$
2	DL01	$312,9^b \pm 3,81$
3	DL06	$225,6^d \pm 3,39$
4	PL03	$302,8^c \pm 2,33$

Ghi chú: Các chữ trong cùng một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha \leq 0,05$

Kết quả định lượng PO_4^{3-}trong dịch trong sau khi ly tâm dịch nuôi cấy thể hiện khả năng phân giải lân của tất cả 4 chủng vi khuẩn dao động từ 225,6 mg/L đến 362,7 mg/L. Chủng BGL-16 có khả năng phân giải lân cao nhất (đạt 362,7 mg/L), trong khi chủng DL06 có hoạt tính phân giải lân thấp nhất (225,6 mg/L). Kết quả này cho thấy sự biến động về khả năng phân giải lân giữa các chủng vi khuẩn, từ đó gợi ý rằng có sự khác biệt về hoạt tính của enzym phosphatase hoặc các cơ chế phân giải lân trong mỗi chủng vi khuẩn là khác nhau.

Khi so sánh với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thu Hương (2018) [22], hoạt tính phân giải lân của chủng BGL-16 cao hơn với chủng HD3 (14,26 mg/L) khoảng 20 lần. Hoạt tính phân giải lân khó tan của chủng BGL-16 cũng cao hơn gấp 2 lần so với chủng CF3 được công bố bởi Nguyễn Đức Thành (2020) [18] khi phân lập và tuyển chọn vi khuẩn phân giải lân khó tan từ đất trồng cà phê tại khu vực Tây Nguyên, trong đó dòng vi khuẩn CF3 có khả năng phân giải lân cao nhất là 145,55 mg/L. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu này có sự tương đồng với nghiên cứu của Qingwei Zeng (2023) khi phân lập và xác định vi khuẩn hòa tan lân từ vùng rễ của cây dương để xác định quần thể vi khuẩn hòa tan lân và chức năng của chúng trong đất ven đường đô thị, trong đó 7 chủng có hoạt tính hòa tan lân cao từ 150–453 mg/L [23].

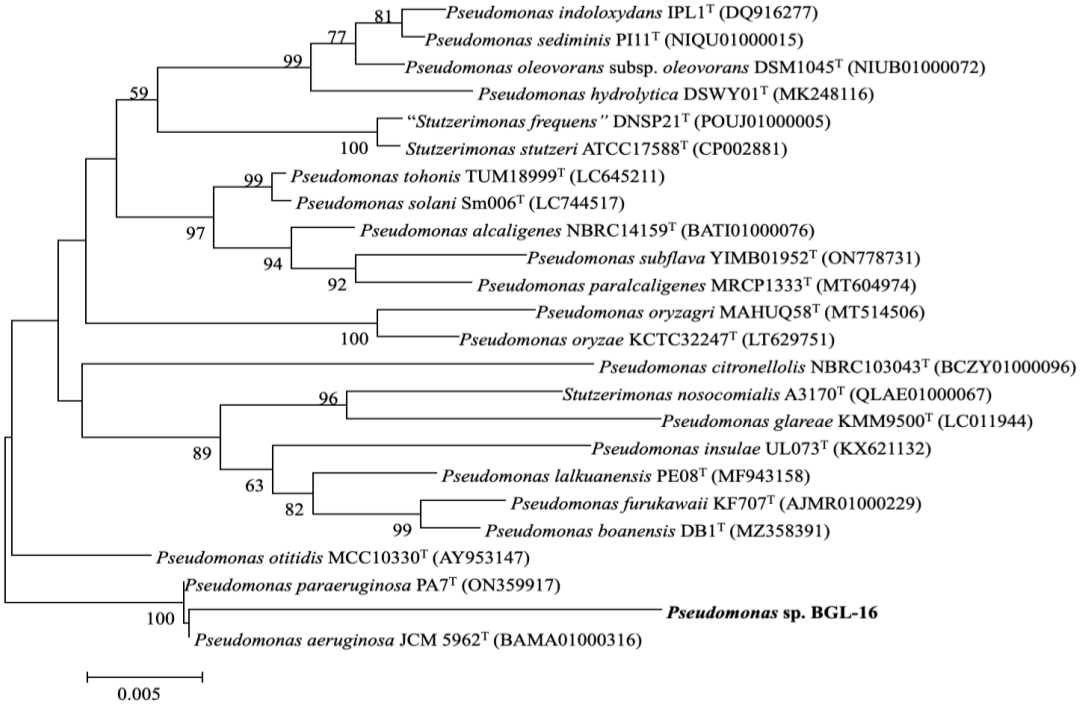
Từ kết quả nghiên cứu định tính và định lượng về khả năng phân giải lân của 4 chủng vi khuẩn phân lập được, BGL-16 được lựa chọn là chủng có tiềm năng nhất và phục vụ cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.3. Định danh chủng vi khuẩn tuyển chọn

Trình tự gen 16S rRNA của chủng BGL-16 (kích thước 1416 nucleotide) được so sánh với các chủng chuẩn công bố trên dữ liệu EzBioCloud cho thấy chủng BGL-16 có mức độ tương đồng 97,88% với hai chủng vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa* JCM 5962^T (BAMA01000316) và *Pseudomonas paraeruginosa* $PA7^T$ (ON359917) và từ 95,11 - 96,47% với các thành viên khác thuộc chi *Pseudomonas* (Bảng 3). So sánh với giới hạn chặn (<98,7%), chủng BGL-16 được coi là ứng viên loài mới, thuộc chi *Pseudomonas* [24]. Sơ đồ phả hệ (phylogenetic tree) đồng thời được thiết lập (hình 2) cũng cho thấy chủng BGL-16 được sắp xếp thuộc chi *Pseudomonas*, nhưng giữ vị trí độc lập với hai loài công bố gần nhất bao gồm *Pseudomonas aeruginosa* JCM 5962^T (BAMA01000316) và *Pseudomonas paraeruginosa* $PA7^T$ (ON359917). Dựa vào dữ liệu so sánh trình tự gen 16S rRNA và sơ đồ phả hệ, chủng BGL-16 được đặt tên khoa học là *Pseudomonas* sp. BGL-16.

Bảng 3. *So sánh sự tương đồng về trình tự gen 16S rRNA của chủng BGL-16 với các loài gần nhất công bố trên dữ liệu EzTaxon*

Loài gần nhất	Tỷ lệ tương đồng (%)	Số nucleotide sai khác
Pseudomonas aeruginosa JCM 5962^T (BAMA01000316)	97,88	30/1416
Pseudomonas paraeruginosa PA7^T (ON359917)	97,88	30/1416
Pseudomonas otitidis MCC10330^T (AY953147)	96,47	50/1416
Pseudomonas lalkuanensis PE08^T (MF943158)	96,46	50/1411
Pseudomonas tohonis TUM18999^T (LC645211)	95,90	58/1416
Pseudomonas solani Sm006^T (LC744517)	95,90	58/1416
Pseudomonas furukawaii KF707^T (AJMR01000229)	95,89	58/1411
Pseudomonas boanensis DB1^T (MZ358391)	95,89	58/1411
Pseudomonas alcaligenes NBRC 14159^T (BATI01000076)	95,48	64/1416
Pseudomonas sediminis PI11^T (NIQU01000015)	95,41	65/1415
Pseudomonas indoloxydans IPL-1^T (DQ916277)	95,40	65/1413
Pseudomonas paralcaligenes MRCP1333^T (MT604974)	95,27	67/1416
Pseudomonas resinovorans LMG 2274^T (Z76668)	95,22	67/1403
Pseudomonas wenzhouensis A20^T (GCA_021029445)	95,20	68/1416
Pseudomonas insulae UL073^T (KX621132)	95,11	69/1411



Hình 2. *Sơ đồ phả hệ của chủng BGL-16 với các loài gần nhất thuộc chi Pseudomonas dựa vào trình tự gen 16S rRNA*

4. Kết luận

Từ 08 mẫu đất trồng ngô và lúa tại các tỉnh Bắc Giang, Thái Nguyên và Vĩnh Phúc, đã phân lập được 04 chủng vi khuẩn có khả năng phân giải lân. Trong đó, chủng BGL-16 có khả năng phân giải lân cao nhất với hiệu suất đạt 362,7 mg/L. Dựa vào kết quả phân tích trình tự gen 16S rRNA và phân tích sơ đồ phả hệ, chủng BGL-16 là ứng viên loài mới thuộc chi *Pseudomonas*, danh pháp khoa học của chủng BGL-16 được xác định là *Pseudomonas* sp. BGL-16.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được thực hiện với sự tài trợ kinh phí từ đề tài cấp cơ sở của Trường Đại học Nông Lâm – Đại học Thái nguyên, mã số T2024-14.GV. Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn!

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

[1] T. Nesme, G. S. Metson, and E. M. Bennett, "Global P flows through agricultural trade," *Glob. Environ*, vol. 50, pp. 133-141, 2018.

[2] FAO, *Food and Agriculture Organization*, The United Nations, Rome, Italy, 2017.

[3] E. T. Alori, B. R. Glick, and O. Babalola, "Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture," *Front. Microbiol*, vol. 8, no. 971, pp. 1-8, 2017, doi: 10.3389/fmicb.2017.00971.

[4] S. C. Kang, G. C. Ha, T. G. Lee, and D. K. Maheshwari, "Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a soil inhabiting fungus sp.," *Curr. Sci.*, vol. 79, pp. 439-442, 2002.

[5] N. K. Le, D. B. Ngo, D. H. Nguyen, and T. T. Le, "Assessing the current status of production and application of microbial products and proposing orientations for the development of microbial technology in agriculture in Vietnam," *Journal of Science Technology and Agriculture of Vietnam*, vol. 3, no. 112, pp. 98-106, 2020.

[6] M. H. Rashid, M. Kamruzzaman, A. N. A. Haque, M. Krehenbrink, R. S. Meena, S. Kumar, J. S. Bohra, and M. L. Jat, "Soil Microbes for Sustainable Agriculture," In *Sustainable Management of Soil and Environment*. Springer: Singapore, 2019, pp. 339-382.

[7] A. K. Saxena, M. Kumar, H. Chakdar *et al.*, "*Bacillus* species in soil as a natural resource for plant health and nutrition," *Journal of Applied Microbiology*, vol. 128, no. 6, pp. 1583-1594, 2020, doi: 10.1111/jam.14506.

[8] V. C. Tran, V. H. La, M. T. Nguyen, T. G. Nguyen, and T. L. A. Hoang, "Selection of highly active bacterial strains for fixing nitrogen and synthesizing indole-3-acetic acid (IAA) from green tea cultivation soil at Tuc Tranh commune, Thai Nguyen province," *Journal of Forestry Science and Technology*, vol. 12, no. 6, pp. 34-39, 2023.

[9] B. Seiboth *et al.*, "Metabolic engineering of inducer formation for cellulase and hemicellulase gene expression in *Trichoderma* reesei," *Subcell Biochem.*, vol. 64, pp. 367-390, 2012.

[10] E. Simo *et al.*, "Development of a low-cost cellulase production process using *Trichoderma* reesei for Brazilian biorefineries," *Biotechnol. for Biofuels*, vol. 10, no. 30, pp. 1-17, 2017, doi: 10.1186/ s13068-017-0717-0.

[11] C. H. Liu, S. K. Lee, I. C. Ou, K. J. Tsai, Y. Lee, Y. H. Chu, Y. T. Liao, and C. T. Liu, "Essential Factors That Affect Bioelectricity Generation by Rhodopseudomonas Palustris Strain PS3 in Paddy Soil Microbial Fuel Cells," *International Journal of Energy Research*, vol. 45, pp. 2231-2244, 2021.

[12] J. K. Jansson and K. S. Hofmockel, "The soil microbiome - From metagenomics to metaphenomics," *Current Opinion in Microbiology*, vol. 43, pp. 162-168, 2018, doi: 10.1016/j.mib.2018.01.013.

[13] M. Sakarika, J. Spanoghe, Y. Sui, E. Wambacq, O. Grunert, G. Haesaert, M. Spiller, and S. E. Vlaeminck, "Purple non-sulphur bacteria and plant production: benefits for fertilization, stress resistance and the environment," *Microbial Biotechnology*, vol. 13, pp. 1336-1365, 2020.

[14] K. Surachat, D. Kantachote, P. Deachamag, and M. Wonglapsuwan, "In silico genomic analysis of Rhodopseudomonas palustris strains revealed potential biocontrol agents and crop yield enhancers," *Biological Control*, vol. 176, 2022, Art. no. 105085, doi: 10.1016/j.biocontrol.2022.105085.

[15] S. B. Sharma, R. Z. Sayyed, M. H. Trivedi, and T. A. Gobi, "Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils," *Springerplus*, vol. 2, pp. 587-600, 2013, doi: 10.1186/2193-1801-2-587.

[16] Ministry of Science and Technology, *National Standard TCVN 7538-6:2010 Soil quality - how to collect, process and preserve soil samples?* Hanoi: Science and Technology Publishing House, 2010.

[17] T. P. D. Ngo, T. Y. L. Huynh, and X. P. Huynh, "Isolation and selection of lactic acid bacteria with antibacterial properties," *Can Tho University Journal of Science*, vol. 19a, pp. 176-184, 2011.

[18] D. T. Nguyen, T. Q. Nguyen, V. C. Ha, and X. H. Pham, "Isolation and characterisation of salt tolerant and inorganic phosphate solubilising bacteria from the Mekong River Delta," *Vietnam Journal of Science and Technology*, vol. 62, no. 2, pp. 49-53, 2020.

[19] X. T. Nguyen, T. H. Vu, T. B. Nguyen, and H. D. Nguyen, *Specialized Microbiology Internship*. Agricultural Publishing House, 2007.
[20] T. M. D. Vu, *Microbiology internship*. Hanoi National University Publishing House, 2001, p. 101.
[21] J. Sambrook and D. W. Russell, *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001, p. 170.
[22] T. H. Nguyen, T. T. H. Tran, and V. G. Nguyen, "Isolation and selection of bacteria capable of decomposing insoluble phosphate from rice root soil in Hai Duong province," Vietnam *Journal of Science, Technology and Engineering*, vol. 60, no. 8, pp. 18-22, 2018.
[23] Q. Zeng, T. Lushi, Z. Yu, S. Yu, W. Wanting, W. Jiangchuan, D. Xiaolei, H. Xuejiao, and M. Bilal, "Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from rhizosphere of poplar in road verge and their antagonistic potential against various phytopathogens," *BMC Microbiology*, vol. 23, no. 221, pp. 1-12, 2023.
[24] H. P. Browne, S. C. Forster, and B. O. Anonye, "Culturing of "unculturable" human microbiota reveals novel taxa and extensive sporulation," *Nature*, vol. 533, pp. 543-546, 2016.