

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN VI KHUẨN HÒA TAN KHOÁNG SILIC TỪ NHIỀU MÔI TRƯỜNG SỐNG KHÁC NHAU

Trần Võ Hải Đường, Nguyễn Khởi Nghĩa*
Trường Đại học Cần Thơ

TÓM TẮT

Vi khuẩn hòa tan khoáng silic (Si) có vai trò quan trọng trong bảo vệ và tăng sức chống chịu của cây trồng trong điều kiện bất lợi của môi trường. Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm phân lập, tuyển chọn và định danh vi khuẩn hòa tan Si từ mẫu đất, trùn đất và phân trùn ở khu vực Đồng Bằng Sông Cửu Long. Môi trường soil extract agar (SEA) chứa 0,25% magnesium trisilicate được sử dụng để phân lập và tuyển chọn vi khuẩn. Hàm lượng Si hòa tan trong môi trường nuôi cấy lỏng được xác định theo phương pháp hiện màu Molybdenum Blue Colorimetry. Kết quả cho thấy 25 trong số 250 dòng vi khuẩn phân lập thể hiện khả năng hòa tan Si cao, dao động từ 10,63 - 55,17 mg.L⁻¹, trong đó, 5 dòng vi khuẩn hòa tan Si cao nhất gồm TCM_39 (52,02 mg.L⁻¹), PTST_30 (51,72 mg.L⁻¹), MCM_15 (39,08 mg.L⁻¹), LCT_01 (35,44 mg.L⁻¹) và RTTV_12 (33,84 mg.L⁻¹). Năm dòng vi khuẩn này được định danh như là *Ochrobactrum ciceri* TCM_39, *Olivibacter jilunii* PTST_30, *Microbacterium neimengense* MCM_15, *Klebsiella aerogenes* LCT_01 và *Citrobacter freundii* RTTV_12.

Từ khóa: khoáng silicate, phương pháp so màu, trích DNA, silic hòa tan, vi khuẩn hòa tan khoáng Silic

MỞ ĐẦU

Silicate là nguồn khoáng chất có thành phần nhiều nhất trong tổng các khoáng chất nằm trong vỏ trái đất. Khoáng feldspar và mica là những nguồn khoáng chứa dinh dưỡng vô cơ cho cây trồng [4]. Mặc dù nguyên tố silic (Si) hiện tại vẫn chưa được nhận ra như là một nguyên tố dinh dưỡng thiết yếu và có vai trò rất quan trọng cho sự phát triển cây trồng, tuy nhiên hiệu quả của nguyên tố này lên sinh trưởng, phát triển, năng suất và lên khả năng chống chịu sâu bệnh hại cây trồng đã được nghiên cứu và ghi nhận trên rất nhiều loại cây trồng khác nhau thông qua việc tăng độ cứng chắc của lá và giảm ảnh hưởng của những điều kiện bất lợi môi trường [12] và [13]. Si trong môi trường đất rất dồi dào nhưng hầu hết tồn tại dưới dạng không hòa tan nên cây trồng khó hấp thu [15]. Mặt khác, Si bất động trong đất có thể chuyển thành dạng hòa tan dưới tác động của vi sinh vật và động vật đất [15] và [6]. Dòng vi khuẩn được phân lập từ nền đất trồng mía lâu năm có khả năng hòa tan Si được định danh như là dòng *Bacillus*

sp. [15]. Ba dòng vi khuẩn khác có ký hiệu SSB2, SSB3 và SSB4 được phân lập từ đất vùng đồi núi của Pakistan thể hiện khả năng hòa tan Si cao và đồng thời ức chế vi khuẩn gây bệnh cháy lá lúa từ 69 đến 80% và được sử dụng như phân bón sinh học trong canh tác lúa [14]. Hơn nữa, các nghiên cứu ở trong và ngoài nước đa số tập trung vào vai trò của phân bón silic lên sinh trưởng và năng suất cây trồng, trong khi các nghiên cứu về vi sinh vật trong đất hòa tan Si và vai trò của chúng lên sinh trưởng, phát triển và năng suất cây trồng cũng như lên đặc tính đất còn rất hạn chế. Do đó, mục tiêu chính của nghiên cứu này nhằm phân lập, tuyển chọn và định danh vi khuẩn bản địa hòa tan khoáng Si từ nhiều môi trường sống khác nhau giúp bảo vệ và tăng cường sức khỏe của cây trồng.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Phân lập vi khuẩn bản địa hòa tan khoáng silic từ nhiều môi trường sống khác nhau gồm đất nông nghiệp, trùn đất và phân trùn
Mẫu đất, trùn và phân trùn dùng để phân lập vi khuẩn: Bốn mươi tám mẫu đất, trùn và phân trùn được thu thập tại 5 tỉnh Đồng Bằng

* Email: nknghia@ctu.edu.vn

Sông Cửu Long gồm Cà Mau, Hậu Giang, Cần Thơ, Sóc Trăng và Trà Vinh. Tại mỗi vị trí thu mẫu đất, nhiều mẫu đất được thu ở nhiều vị trí khác nhau với độ sâu 0 – 20 cm để gom lại thành một mẫu. Mẫu phân trộn và mẫu trộn đất dùng phân lập vi khuẩn ở mỗi vị trí thu mẫu được thực hiện như sau: Trước tiên, mẫu phân trộn nằm bên trên mặt đất được thu trước, sau đó, tiến hành đào xới đất bằng lạng để thu mẫu trộn đất. Phân trộn và mẫu trộn đất được thu ở nhiều vị trí khác nhau tại mỗi địa điểm thu mẫu để gom và trộn đều thành một mẫu duy nhất cho địa điểm thu mẫu.

Quy trình phân lập vi khuẩn: Cân 10 gram đất và phân trộn (trọng lượng khô), riêng trộn đất sau khi thu được rửa sạch với nước vòi, sau đó toàn bộ cơ thể được tiệt trùng bằng cách rửa qua với cồn 70°C và ngay lập tức được cho vào nước đá (đã được nghiền mịn) trong 1 giờ, sau đó được cắt ra thành từng đoạn nhỏ (1 cm). Tất cả vật liệu được cho vào chai nắp xanh riêng biệt chứa 90 mL dung dịch phosphate buffer (23,99 g NaH_2PO_4 và 15,59 g Na_2HPO_4), sau đó lắc với tốc độ 150 vòng.phút⁻¹ trong 60 phút trên máy lắc ngang. Sau khi lắc, mẫu được pha loãng thành dãy pha loãng có các nồng độ khác nhau với nồng độ pha loãng 10. Hút 100 μL dung dịch mẫu chứa vi khuẩn ở các nồng độ pha loãng trải lên trên đĩa petri chứa môi trường soil extract agar (SEA) [5] có bổ sung 0,25% magnesium trisilicate như là nguồn khoáng Si khó hòa tan. Thành phần của môi trường SEA gồm: 20 g agar, 1 g glucose, 0,5 g KH_2PO_4 , 2,5 g magnesium trisilicate, 900 mL nước khử khoáng và 100 mL Soil extract, hiệu chỉnh pH khoảng 7,0 – 7,2. Cách chuẩn bị dung dịch soil extract theo phương pháp của Bold (1949) [3] như sau: Cho 40 g đất vào 50 mL nước khử khoáng, trộn đều, để yên trong 2 giờ, sau đó, lọc qua giấy lọc Whatman 150 mm, lấy phần dịch lọc bảo quản ở 7°C. Các đĩa petri chứa mẫu được trữ trong tủ ủ ở 30°C trong 07 ngày, sau đó quan sát khuẩn lạc vi khuẩn và chọn các khuẩn lạc có vòng halo

(trong suốt nằm bên ngoài khuẩn lạc) để tiến hành tách ròng trên cùng môi trường SEA liên tục trong 5 lần. Đồng thời, các dòng vi khuẩn được khảo sát các đặc tính về hình thái khuẩn lạc, hình thái tế bào và nhuộm Gram [8].

Đánh giá khả năng hòa tan khoáng Si của các dòng vi khuẩn phân lập trong môi trường soil extract lỏng

Chuẩn bị nguồn vi khuẩn: Các dòng vi khuẩn phân lập được nuôi tăng sinh trong 20 mL môi trường TSB lỏng trong bình tam giác 100 mL trong 3 ngày. Thành phần của môi trường TSB gồm (Tryptone Soya Broth 30 g, và nước khử khoáng 1 L). Dung dịch vi khuẩn được chuyển sang Falcon 50 mL, ly tâm 6.000 vòng.phút⁻¹ trong 5 phút, loại bỏ phần nước bên trên, tiếp tục cho 20 mL nước khử khoáng tiệt trùng vào, lặp lại quy trình rửa sinh khối vi khuẩn trong 3 lần và hiệu chỉnh dung dịch vi khuẩn bằng nước khử khoáng tiệt trùng về $\text{OD}_{600\text{nm}} = 0,7$ để làm nguồn vi khuẩn cho thí nghiệm.

Bổ trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí trong ống nghiệm có thể tích 30 mL với 3 lần lặp lại. Hút 0,5 mL dung dịch vi khuẩn đã chuẩn bị sẵn cho vào ống nghiệm chứa 4,5 mL môi trường soil extract lỏng bổ sung 0,25% magnesium trisilicate. Mẫu được lắc liên tục trên máy lắc ngang với tốc độ 100 vòng/phút và trong tối. Thí nghiệm được kéo dài trong 8 ngày.

Chỉ tiêu theo dõi: Hàm lượng Si hòa tan trong môi trường nuôi cấy lỏng vào 0, 2, 4, 6, và 8 ngày nuôi cấy. Si hòa tan được xác định theo phương pháp hiện màu Molybdenum Blue Colorimetry [7]. Cách tiến hành như sau: Hút 1 mL dung dịch mẫu, thêm 2,5 mL ammonium acetate 20%, 1 mL ammonium molybdate 0,3 M, vortex 5 giây. Để yên mẫu 5 phút cho ổn định, sau đó, thêm 0,5 mL acid tartaric 20%, 0,5 mL dung dịch khử, 2 mL acid acetic 20%, sau đó, để yên mẫu ở nhiệt độ phòng thí nghiệm trong 60 phút và đo bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 815 nm.

Định danh 5 dòng vi khuẩn tuyển chọn hòa tan khoáng Si tốt nhất

Năm dòng vi khuẩn được nuôi cấy trên môi trường TSA, sau 2 ngày nuôi cấy tiến hành thu khuẩn lạc để trích DNA vi khuẩn. DNA của vi khuẩn được trích bằng bộ kit PowerSoil® DNA Isolation Kit (MOBIO Laboratories, a QIAGEN Company). DNA của vi khuẩn sau khi ly trích được thực hiện phản ứng PCR với cặp mồi 27F-1492R có trình tự 27F: 5' AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG 3', 1492R: 5' GGT TAC CTT GTT ACG ACT T 3' [9]. Chu kỳ nhiệt cho phản ứng PCR gồm 95°C (5 phút), 30 chu kỳ (94°C (1 phút), 55°C (1 phút), 72°C (90 giây) và 72°C (7 phút). Sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel agarose 1,5% trước khi giải trình tự. Kết quả giải trình tự DNA được so sánh và dò tìm trên ngân hàng gen thế giới trên trang web <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> để xác định mức độ loài của các dòng vi khuẩn khảo sát.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Phân lập vi khuẩn hòa tan khoáng silic từ 48 mẫu đất nông nghiệp, trùn đất và phân trùn

Từ 48 mẫu đất nông nghiệp, trùn đất và phân trùn đã phân lập được 250 dòng vi khuẩn có khả năng hòa tan khoáng Si bằng phương pháp định tính (hình thành vòng halo (Hình 1) xung quanh khuẩn lạc). Số dòng vi khuẩn hòa tan Si phân lập cao nhất ở mẫu đất trồng tre (71 dòng), kế đến là mẫu phân trùn (66 dòng), đất lúa (53 dòng), đất mía (40 dòng) và thấp nhất ở mẫu ruột trùn (28 dòng). Kết quả trên cho thấy các dòng vi khuẩn hòa tan tốt Si hiện diện nhiều môi trường sống khác nhau gồm

đất canh tác lâu năm với tre, lúa và mía vì các cây trồng này hút một lượng lớn và không giới hạn hàm lượng Si từ trong đất. Do đó, sự thiếu hụt hàm lượng Si hữu dụng trong dung dịch đất là điều không tránh khỏi và ở đây nhóm vi khuẩn hòa tan khoáng Si có xu hướng hoạt động mạnh hơn giúp hoà tan lượng Si bất động trong đất. Kết quả nghiên cứu này tương tự với nghiên cứu của Vasanthi *et al.*, (2012) [15] và Naureen *et al.*, (2015) [14]. Ngoài ra, số dòng vi khuẩn phân lập được trong phân trùn thu từ hệ sinh thái đất cát cũng ở mức khá cao điều này có thể là do trong hệ vi sinh vật đường ruột của trùn chứa lượng lớn vi khuẩn có khả năng sản xuất enzyme chuyên biệt để hòa tan được silic. Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu của [16] và [2].

Từ 250 dòng vi khuẩn có khả năng hòa tan khoáng Si đã định lượng được 54 dòng vi khuẩn thể hiện khả năng hòa tan khoáng Silic tốt nhất thông qua thí nghiệm định lượng khả năng hòa tan Si trong môi trường nuôi cấy lỏng bổ sung Si khó tan và các dòng vi khuẩn này được mô tả đặc điểm hình thái khuẩn lạc, hình thái tế bào và Gram. Kết quả về hình thái khuẩn lạc cho thấy như sau: Hình dạng tròn chiếm tỷ lệ cao nhất 85,2% (46 dòng), còn lại 14,8% thuộc dạng hình không đều (8 dòng). Hình thái tế bào vi khuẩn dạng hình cầu chiếm tỷ lệ cao nhất 79,6% (43 dòng) trong khi dạng hình liên cầu và hình que lần lượt có tỷ lệ 11,1% (6 dòng) và 9,3% (5 dòng). Đồng thời, vi khuẩn Gram âm cao hơn vi khuẩn Gram dương và lần lượt đạt 81,5% (44 dòng) và 18,5% (10 dòng).



Hình 1. Vi khuẩn hòa tan khoáng Si tạo vòng halo xung quanh khuẩn lạc

Kết quả kiểm tra định lượng khả năng hòa tan khoáng silic của các dòng vi khuẩn phân lập được thể hiện ở bảng 1 và bảng này chỉ trình bày kết quả định lượng khả năng hòa tan khoáng Si trong môi trường lỏng của 25 dòng vi khuẩn hòa tan khoáng Si cao nhất trong tổng số 250 dòng phân lập. Kết quả cho thấy hàm lượng Si được hòa tan (Si(OH)_4) trong môi trường nuôi cấy lỏng bởi 25 dòng vi khuẩn thử nghiệm dao động từ 10,63 đến 55,17 mg.L^{-1} . Dòng vi khuẩn ký hiệu TCT_31 hòa tan Si cao nhất, đạt 55,17 mg.L^{-1} sau 6 ngày thí nghiệm. Hàm lượng Si hòa tan bởi các dòng vi khuẩn trong thí nghiệm này tương đương với các nghiên cứu trước đây (cao nhất khoảng 85,48 mg.L^{-1}) của Bennett and Siegel

(1987) [1] và Liu *et al.*, (2006) [11]. Mặt khác, kết quả ở bảng 1 còn cho thấy 5 dòng vi khuẩn đại diện cho 5 loại mẫu vật dùng phân lập vi khuẩn (đất lúa, đất mía, phân trùn, ruột trùn và đất tre) ký hiệu lần lượt LCT_01, MCM_15, PTST_30, RTTV_12 và TCM_39 là 5 dòng vi khuẩn hòa tan khoáng Si tốt nhất trong mỗi nhóm và 5 dòng vi khuẩn này được lựa chọn để thực hiện các nội dung nghiên cứu tiếp theo vì tốc độ hòa tan khoáng Si, hàm lượng Si hòa tan và tính ổn định về khả năng hòa tan khoáng Si qua các ngày thí nghiệm của các dòng vi khuẩn này tương đối nhanh, cao và ổn định hơn so với các dòng vi khuẩn khác trong cùng loại mẫu vật phân lập.

Bảng 1. Hàm lượng Si(OH)_4 hòa tan trong môi trường nuôi cấy lỏng bởi vi khuẩn theo thời gian thí nghiệm ($n=4$)

STT	Ký hiệu	Hàm lượng Si hòa tan trong môi trường nuôi cấy lỏng theo thời gian (mg.L^{-1})			
		2 ngày	4 ngày	6 ngày	8 ngày
1	LCT_01	37,06 ^{abc}	26,09 ^{defgh}	31,61 ^{hi}	35,44 ^{bc}
2	LCT_02	18,24 ^{fghijk}	23,74 ^{defghi}	30,46 ⁱ	24,05 ^{fghi}
3	LCT_03	38,24 ^{ab}	29,12 ^{cde}	39,27 ^{defg}	26,80 ^{efg}
4	LCT_31	21,18 ^{efgh}	16,33 ^{ijkl}	10,63 ^k	29,90 ^{cdef}
5	LCT_32	20,20 ^{efghi}	14,14 ^{ijkl}	39,08 ^{defg}	25,77 ^{efgh}
6	LHG_11	17,06 ^{fghijk}	19,36 ^{ghijk}	22,99 ^j	18,04 ⁱ
7	MCM_15	27,06 ^{de}	29,80 ^{bcd}	39,08 ^{defg}	27,32 ^{efg}
8	MCM_28	13,53 ^{ijk}	18,69 ^{hijkl}	32,76 ^{ghi}	30,41 ^{cdef}
9	PTST_30	20,98 ^{efgh}	30,81 ^{bcd}	51,72 ^{ab}	35,40 ^{bc}
10	PTTV_11	21,76 ^{efgh}	11,62 ^l	19,54 ^j	27,84 ^{def}
11	PTTV_13	22,35 ^{efg}	24,24 ^{defgh}	38,51 ^{defgh}	19,59 ^{hi}
12	PTTV_16	31,18 ^{cd}	29,29 ^{cde}	37,36 ^{èghi}	19,59 ^{hi}
13	PTTV_23	21,76 ^{efgh}	20,20 ^{fghij}	31,03 ⁱ	20,96 ^{ghi}
14	PTTV_27	34,71 ^{abc}	36,87 ^b	45,40 ^{bcd}	27,49 ^{defg}
15	PTTV_28	16,27 ^{ghijk}	22,73 ^{efghi}	38,89 ^{defg}	24,23 ^{fghi}
16	PTTV_32	16,47 ^{ghijk}	16,67 ^{ijkl}	31,03 ⁱ	30,41 ^{cdef}
17	RTTV_11	11,76 ^k	28,79 ^{cde}	33,33 ^{ghi}	34,02 ^{cd}
18	RTTV_12	41,18 ^a	33,84 ^{bc}	32,76 ^{ghi}	27,49 ^{defg}
19	RTTV_13	33,53 ^{bcd}	28,79 ^{cde}	42,34 ^{cde}	30,93 ^{cde}
20	RTTV_21	13,14 ^{jk}	28,79 ^{cde}	32,90 ^{ghi}	40,72 ^b
21	TCM_39	18,82 ^{fghij}	52,02 ^a	48,08 ^{bc}	50,26 ^a
22	TCM_70	17,65 ^{fghijk}	26,77 ^{cdefg}	41,95 ^{cdef}	35,05 ^{bc}
23	TCT_17	19,80 ^{fghij}	29,80 ^{bcd}	38,51 ^{defgh}	27,49 ^{defg}
24	TCT_31	15,29 ^{hijk}	12,12 ^{kl}	55,17 ^a	29,90 ^{cdef}
25	TCT_42	23,82 ^{ef}	27,44 ^{cdef}	35,06 ^{fghi}	26,46 ^{efg}
F		43,8*	40,4*	56,9*	34,2*
CV (%)		36,9	34,5	26,7	24,6

Bảng 2. Định danh 5 dòng vi khuẩn hòa tan khoáng Si tốt nhất theo độ tương đồng đoạn gene 16S rRNA

Dòng vi khuẩn	Nguồn gốc	Độ tương đồng (%)	Các dòng vi khuẩn trên cơ sở dữ liệu		Định danh
			Vi khuẩn	Số đăng ký	
MCM_15	Đất mía Cà Mau	99	<i>Microbacterium neimengense</i>	NC015663.1	<i>Microbacterium neimengense</i> MCM_15
LCT_01	Đất lúa Cần Thơ	99	<i>Klebsiella aerogenes</i>	NR102493.2	<i>Klebsiella aerogenes</i> LCT_01
TCM_39	Đất tre Cà Mau	99	<i>Ochrobactrum ciceri</i>	NR115819.1	<i>Ochrobactrum ciceri</i> TCM_39
PTST_30	Phân trùn Sóc Trăng	99	<i>Olivibacter jilunii</i>	NR109321.1	<i>Olivibacter jilunii</i> PTST_30
RTTV_12	Ruột trùn Trà Vinh	100	<i>Citrobacter freundii</i>	AB681088.1	<i>Citrobacter freundii</i> RTTV_12

Định danh 5 dòng vi khuẩn hòa tan khoáng Si tốt nhất

Năm dòng vi khuẩn hòa tan khoáng Si tốt nhất có ký hiệu MCM_15, LCT_01, TCM_39, PTST_30 và RTTV_12 được giải mã trình tự và so sánh trình tự đoạn gene 16S rRNA với cơ sở dữ liệu trên ngân hàng gene thế giới NCBI. Kết quả cho thấy trình tự đoạn gene 16S rRNA của các dòng vi khuẩn MCM_15, LCT_01, TCM_39, PTST_30 và RTTV_12 lần lượt tương đồng với đoạn gene của loài *Microbacterium neimengense*, *Klebsiella aerogenes*, *Ochrobactrum ciceri*, *Olivibacter jilunii* và *Citrobacter freundii* (Bảng 2). Do đó, 5 dòng vi khuẩn này được định danh lần lượt như *Microbacterium neimengense* MCM_15, *Klebsiella aerogenes* LCT_01, *Ochrobactrum ciceri* TCM_39, *Olivibacter jilunii* PTST_30 và *Citrobacter freundii* RTTV_12.

Trong số 5 dòng vi khuẩn phân lập được có 2 dòng định danh *Klebsiella aerogenes* LCT_01 và *Citrobacter freundii* RTTV_12 đều thuộc lớp Gammaproteobacteria do đó có khả năng khá tốt trong việc hòa tan, phóng thích khoáng chất khó tan đặc biệt là khoáng Si thành dạng hữu dụng cho cây trồng, kết quả này tương tự với nghiên cứu của Liu *et al.*, (2011) [10]. Ba dòng vi khuẩn còn lại *Microbacterium neimengense* MCM_15,

Ochrobactrum ciceri TCM_39 và *Olivibacter jilunii* PTST_30 là các dòng vi khuẩn mới chưa được công bố ở các nghiên cứu trước đây có khả năng hòa tan khoáng Si, do đó, cần có nghiên cứu nhiều hơn về khả năng hòa tan khoáng Si của chúng.

KẾT LUẬN

Năm dòng vi khuẩn có ký hiệu MCM_15, LCT_01, TCM_39, PTST_30 và RTTV_12 có nguồn gốc lần lượt từ mẫu đất mía ở Cà Mau, đất lúa ở Cần Thơ, mẫu đất tre ở Cà Mau, mẫu phân trùn ở Sóc Trăng và mẫu ruột trùn ở Trà Vinh là năm dòng vi khuẩn thể hiện khả năng hòa tan khoáng Si tốt nhất trong tổng số 250 dòng vi khuẩn phân lập được từ mẫu đất canh tác nông nghiệp, phân trùn và ruột trùn và được định danh lần lượt như *Microbacterium neimengense* MCM_15, *Klebsiella aerogenes* LCT_01, *Ochrobactrum ciceri* TCM_39, *Olivibacter jilunii* PTST_30 và *Citrobacter freundii* RTTV_12. Năm dòng vi khuẩn này có tiềm năng rất cao trong việc hòa tan khoáng Si trong đất giúp cây trồng sinh trưởng và phát triển tốt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bennett P., Siegel D. I. (1987), "Increased solubility of quartz in water due to complexing by organic compounds", *Nature*, 326, pp. 684-686.
2. Biswas S., Lahiri P., Das S. (2014), "Isolation of predominant bacterium from gut of earthworm

- Lampito mauritii* for effective use in soil fertility”, *Current Science*, 107, pp. 105-109.
3. Bold H. C. (1949), “The morphology of *Chlamydomonas chlamydogama*, sp. nov.”, *Bull. Torrey Bot. Club*, 76, pp. 101-108.
 4. Chardon E. S., Livens F. R., Vaughan D. J. (2006), “Reactions of feldspar surfaces with aqueous solutions”, *Earth Sci. Rev.*, 78, pp. 1-26.
 5. Elliott C. L., Snyder G. H. (1991), “Autoclave-induced digestion for the colorimetric determination of silic in rice straw”, *J. Agric. Food. Chem.*, 39, pp. 1118-1119.
 6. Goudie A. S. (1996), “Organic agency in calcrete development”, *Journal of Arid Environments*, 32, pp. 103-110.
 7. Hallmark C. T., Wilding L. P., Smeck (1982), “Chemical and Microbiological Properties. In: A. L. Page (editors)”, *Methods of Soil Analysis. Madison*, 15, pp. 263-274.
 8. John G. H. (1994), *Bergey’s manual of determinative bacteriology*, Lippincott Williams & Wilkin.
 9. Lane D. J. (1991), “16S/23S rRNA sequencing. In: E. Stackebrandt, M. Goodfellow (editors)”, *Nucleic acid techniques in bacterial systematics. John Wiley and Sons, New York*, pp. 115-175.
 10. Liu D., Lian B., Wang B., Jiang G. (2011), “Degradation of potassium rock by earthworms

and reponses of bacterial communities in its gut and surrounding substrates after being fed with mineral”, *Plos One*, 6, pp. 1-17.

11. Liu W., Xu X., Wu X., Yang Q., Luo Y., Peter C. (2006), “Decomposition of silicate minerals by *Bacillus mucilaginosus* in liquid culture”, *Environmental Geochemistry and Health*, 28, pp. 133-140.
12. Ma J. F. (2004), “Role of silic in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses”, *Soil Science and Plant Nutrition*, 50, pp. 11-18.
13. Ma J. F., Yamaji N. (2006), “Silic uptake and accumulation in higher plants”, *Trends in Plant Science*, 11, pp. 392-397.
14. Naureen Z., Aqueel M., Hassan M. N., Gilani S. A., Bouquellah N., Mabood F., Hussain J., Hafeez F. Y. (2015), “Isolation and screening of silicate bacteria from various habitats for biological control of phytopathogenic fungi”, *American Journal of Plant Sciences*, 6, pp. 2850-2859.
15. Vasanthi N., Saleena L. M., Raj S. A. (2012), “Concurrent release of secondary and micronutrient by a *Bacillus* sp.”, *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 12, pp. 1061-1064.
16. Vinotha S. P., Parthasarathi K., Ranganathan L. S. (2000), “Enhanced phosphatase activity in earthworm casts is more of microbial origin”, *Curr. Sci.*, 79, pp. 1158-1162.

SUMMARY

ISOLATION AND SELECTION OF SILICATE SOLUBILIZING BACTERIA FROM MANY VARIOUS HABITATS

Tran Vo Hai Duong, Nguyen Khoi Nghia*

Can Tho University

Silicate solubilizing bacteria in soil play a very important role in plant protection and in promoting tolerance capacity of plants against abiotic-stresses. The objects of this study was to isolate, select and identify silicate solubilizing bacteria from soil, earthworm and earthworm’s feces samples within the Mekong Delta region of Vietnam. Soil extract agar media containing magnesium trisilicate 0.25% was used to isolate bacteria. Soluble silicate concentration was determined as Molybdenum Blue Colorimetry method. The results of the study indicated that twenty-five out of two hundred and fifty isolates showed their highly silicate solubilizing capability and ranged from 10.63 to 55.17 mg.L⁻¹. The best five silicate solubilizing bacteria were found to be TCM_39 (52.02 mg.L⁻¹), PTST_30 (51.72 mg.L⁻¹), MCM_15 (39.08 mg.L⁻¹), LCT_01 (35.44 mg.L⁻¹) and RTTV_12 (33.84 mg.L⁻¹). Based on the results of 16S rRNA sequences, these five bacterial strains were genetically and relatively identified as *Ochrobactrum ciceri* TCM_39, *Olivibacter jilunii* PTST_30, *Microbacterium neimengense* MCM_15, *Klebsiella aerogenes* LCT_01 and *Citrobacter freundii* RTTV_12.

Keywords: bacterial DNA, colorimetric method, silicate mineral, silicate solubilizing bacteria, soluble silicate

Ngày nhận bài: 02/01/2018; Ngày phản biện: 16/01/2018; Ngày duyệt đăng: 27/4/2018

* Email: nknghia@ctu.edu.vn