

## TUYỂN CHỌN VÀ ĐỊNH DANH VI KHUẨN HÒA TAN LÂN NỘI SINH TỪ CÂY KHÓM TRỒNG TRÊN ĐẤT PHÈN TẠI THÀNH PHỐ VỊ THANH, TỈNH HẬU GIANG

Nguyễn Quốc Khương<sup>1</sup>, Ngô Vinh Tường<sup>1</sup>, Cao Minh Trường<sup>2</sup>, Cù Ngọc Quý<sup>2</sup>,  
Trần Chí Nhân<sup>2</sup>, Lý Ngọc Thanh Xuân<sup>2</sup>, Lê Thị Mỹ Thu<sup>1</sup>,  
Trần Ngọc Hữu<sup>1</sup>, Lê Vĩnh Thúc<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ;

<sup>2</sup>Trường Đại học An Giang - Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.

\*Tác giả liên hệ: lvthuc@ctu.edu.vn

Nhận bài: 29/01/2022 Hoàn thành phản biện: 20/05/2022 Chấp nhận bài: 25/05/2022

### TÓM TẮT

Mục tiêu nghiên cứu nhằm tìm ra dòng vi khuẩn nội sinh có khả năng hòa tan lân khó tan trên đất phèn canh tác khóm tại xã Hòa Tiến và Tân Tiến, thành phố Vị Thanh, tỉnh Hậu Giang. Từ 42 dòng vi khuẩn hòa tan lân được phân lập từ rễ và thân cây khóm trên môi trường LGI (Liquid Glucose Ivo) và NFB (Nitrogen Fixing Bacteria) tuyển chọn được 20 dòng vi khuẩn có khả năng hòa tan lân trong điều kiện pH 4,50 và chứa độc chất  $Al^{3+}$  và  $Fe^{2+}$  ở nồng độ lần lượt là 100 và 300 mg  $kg^{-1}$ . Trong đó, dòng vi khuẩn L-VT08c và L-VT09 có khả năng hòa tan lân sắt, lân nhôm và lân canxi tốt nhất trên môi trường LGI với hàm lượng hòa tan lần lượt là 13,6; 26,2; 26,1 mg P  $L^{-1}$  và 16,2; 25,5; 19,7 mg P  $L^{-1}$  và dòng vi khuẩn N-VT06 trên môi trường NFB với hàm lượng 34,5; 6,40 và 60,0 mg P  $L^{-1}$ , theo cùng thứ tự. Hai dòng vi khuẩn L-VT09 và N-VT06 được định danh bằng kỹ thuật 16S rDNA là *Burkholderia silvatlantica* với tỷ lệ tương đồng là 100%.

**Từ khóa:** Đất phèn, Khóm, Vi khuẩn hòa tan Al-P, Vi khuẩn hòa tan Ca-P, Vi khuẩn hòa tan Fe-P, Vi khuẩn nội sinh

## SELECTION AND IDENTIFICATION OF PHOSPHATE SOLUBILIZING ENDOPHYTIC BACTERIA FROM PINEAPPLE CULTIVATED ON ACID SULFATE SOILS IN VI THANH CITY, HAU GIANG PROVINCE

Nguyen Quoc Khuong<sup>1</sup>, Ngo Vinh Tuong<sup>1</sup>, Cao Minh Truong<sup>2</sup>, Cu Ngoc Qui<sup>2</sup>,  
Tran Chi Nhan<sup>2</sup>, Ly Ngoc Thanh Xuan<sup>2</sup>, Le Thi My Thu<sup>1</sup>,  
Tran Ngoc Huu<sup>1</sup>, Le Vinh Thuc<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>College of Agriculture, Can Tho University;

<sup>2</sup>An Giang University- Vietnam National University Ho Chi Minh City.

### ABSTRACT

The objective of this study was to find out endophytic bacterial strains having ability of solubilizing the insoluble phosphate fractions on acid sulfate soil of pineapple cultivation in Hoa Tien and Tan Tien communes, Vi Thanh city, Hau Giang province. From 42 phosphate solubilizing bacteria strains isolated from the pineapple roots and stems on LGI and NFB media, selected 20 strains were able to solubilize phosphate in acidic conditions (pH 4.50) and containing toxicities  $Al^{3+}$  and  $Fe^{2+}$  at concentrations of 100 and 300 mg  $kg^{-1}$ , respectively. In which, the bacterial strains L-VT08c and L-VT09 have the best ability to solubilize ferrous phosphate, aluminum phosphate and calcium phosphate on LGI medium with soluble phosphate contents of 13.6, 26.2, 26.1 mg P  $L^{-1}$  and 16.2, 25.5, 19.7 mg P  $L^{-1}$ , respectively. The bacterial strain N-VT06 on NFB medium solubilized 34.5, 6.40 and 60.0 mg P  $L^{-1}$ , respectively. Two bacterial strains L-VT09 and N-VT06 were identified by 16S rDNA technique as *Burkholderia silvatlantica* with similarity of 100%.

**Keywords:** Acid sulfate soils, Al-P solubilizing bacteria, Ca-P solubilizing bacteria, Endophytic bacteria, Fe-P solubilizing bacteria, Pineapple

## 1. MỞ ĐẦU

Khóm hay còn gọi là dứa (*Ananas comosus*) thuộc họ Bromeliaceae, là loại cây ăn trái nhiệt đới có giá trị thương mại cao, tiêu thụ trên khắp thế giới (Nasser và Abu Naser, 2018; Priyadarshani và cs., 2019; Maria và cs., 2020) và được mệnh danh là nữ hoàng của các loại cây với hương vị tuyệt vời (Chaudhary và cs., 2019). Theo thống kê năm 2020 diện tích sản xuất khóm trên toàn thế giới là 1.077.920 ha với sản lượng là 27.816.403 tấn, đạt năng suất là 25,81 tấn ha<sup>-1</sup>. Trong đó, diện tích sản xuất của Việt Nam chiếm 38.554 ha với sản lượng 704.167 tấn đạt năng suất là 18,26 tấn ha<sup>-1</sup> (FAO, 2022). Trong đó, tỉnh Hậu Giang có diện tích sản xuất là 2.908 ha với sản lượng 38.374 tấn đạt năng suất là 13,20 tấn ha<sup>-1</sup> vào năm 2021 (Cục thống kê tỉnh Hậu Giang, 2022). Trong sản xuất nông nghiệp, lân là chất dinh dưỡng đa lượng cần thiết cho sự sinh trưởng và phát triển cây trồng (Valleser, 2019; Ouattara và cs., 2019; Lindang và cs., 2021; Divjot và cs., 2021). Đối với cây khóm không thể phủ nhận việc tăng bón phân lân dẫn đến cải thiện khối lượng trái cũng như năng suất (Valleser, 2019). Tuy nhiên, bón quá nhiều phân lân hóa học cho cây khóm gây ra sự suy thoái và ô nhiễm đất ngày càng tăng, đồng thời cũng làm tăng chi phí sản xuất (Trejo và cs., 2021). Do đó, cần tìm ra phương pháp thay thế để giải quyết vấn đề này là cấp thiết nhằm cải thiện độ phì nhiêu đất và bảo vệ môi trường (Mei và cs., 2021). Vi khuẩn nội sinh là một giải pháp thích hợp làm phân bón sinh học có khả năng thay thế phân bón hóa học và cải thiện sự hấp thụ các chất dinh dưỡng (Nguyễn Quốc Khương và cs., 2020b; Azizah và cs., 2021). Vi khuẩn nội sinh là những vi khuẩn có ích, phát triển mạnh bên trong cây trồng và cải thiện sự phát triển của cây trồng (Afzal và cs., 2019; Firdous và cs., 2019). Theo nghiên cứu

Nguyễn Thị Đơn và Cao Ngọc Điệp (2017) cho thấy bón vi khuẩn hòa tan lân và cung cấp 25% lượng lân hóa học làm tăng sinh trưởng củ cải trắng và đậu phộng. Vi khuẩn nội sinh hòa tan lân được biết là làm tăng hiệu quả sử dụng lân của cây trồng trên đất thiếu lân (Emami và cs., 2020) và đóng vai trò quan trọng trong việc cung cấp lân cho cây trồng một cách bền vững (Ouattara và cs., 2019; ALKahtani và cs., 2020). Các chi vi khuẩn *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Natrinenema*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* và *Serratia* đã được báo cáo làm tăng khả năng hấp thu lân và tăng năng suất của cây trồng (Divjot và cs., 2021). Vi khuẩn nội sinh hòa tan lân được tìm thấy trên nhiều loại cây trồng như cây trà (Borah và cs., 2019), ca cao (Ouattara và cs., 2019), gừng (Jabborova và cs., 2020), cây tiêu (Wiratno và cs., 2019), cà phê (Ramos-Cabrera và cs., 2021) và được ứng dụng làm tăng sinh khối rễ và chồi, tăng hàm lượng lân dễ tiêu trong đất và giảm ô nhiễm môi trường. Ở Đồng bằng sông Cửu Long cũng đã tìm thấy vi khuẩn nội sinh hòa tan lân trên cây mía đường (Nguyễn Quốc Khương và cs., 2020a), bắp lai (Nguyễn Quốc Khương và cs., 2020b), quýt đường (Nguyễn Quốc Khương và cs., 2020c) và khoai lang (Lý Ngọc Thanh Xuân và cs., 2017). Trong đó, trên cây bắp lai, khoai lang và mía đường đã ứng dụng vi khuẩn nội sinh hòa tan lân làm chế phẩm vi sinh để hỗ trợ sinh trưởng và hòa tan các thành phần lân khó tan cung cấp lân cho cây (Lý Ngọc Thanh Xuân và cs., 2017; Nguyễn Quốc Khương và cs., 2020a; Nguyễn Quốc Khương và cs., 2021). Bên cạnh đó, Cao Ngọc Điệp và Nguyễn Thành Dũng (2010) cũng đã tìm thấy vi khuẩn nội sinh hòa tan lân trên cây khóm tại Vĩnh Thuận, Kiên Giang. Tuy nhiên, vi khuẩn nội sinh có khả năng thích nghi và hoạt tính tốt hơn trong điều kiện bản địa (Shastri và cs., 2020; Hamid và cs., 2020), nên cần thiết áp dụng

các dòng vi khuẩn bản địa cung cấp dinh dưỡng cho cây khóm. Do đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm tuyển chọn dòng vi khuẩn nội sinh hòa tan lân khó tan từ cây khóm trồng trên đất phèn ở thành phố Vị Thanh, tỉnh Hậu Giang.

## 2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

*Nguồn vi khuẩn:* 42 dòng vi khuẩn nội sinh được phân lập từ cây khóm trên môi trường LGI (Liquid Glucose Ivo) và NFB (Nitrogen Fixing Bacteria) do Ngô Vĩnh Tường và cs. (2022) cung cấp.

Thành phần các môi trường sử dụng để phân lập và xác định các dòng vi khuẩn nội sinh hòa tan lân khó tan:

Môi trường LGI (L): 10 g sucrose; 0,01 g  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; 0,02 g  $\text{Na}_2\text{MnO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 5 mL bromothymol blue (0,5% trong KOH 0,2 N); 10 mL Stock LGI (0,2 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; 0,6 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 0,2 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,02 g  $\text{CaCl}_2$ ) và 20 g agar cho môi trường rắn, pH môi trường được điều chỉnh 5,5 - 6,0.

Môi trường NFB (L) gồm: 5 g acid malic; 0,5 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; 0,2 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,1 g NaCl; 0,02 g  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 4,5 g KOH; 2 mL vi lượng; 2 mL bromothymol blue (5% trong KOH 0,2 N); 4 mL FeEDTA (1,64%); 1 mL vitamin và 20 g agar cho môi trường rắn, định mức đến thể tích 1 L và điều chỉnh pH 6,5.

Môi trường NBRIP (National Botanical Research Institute's Phosphate) với thành phần cho 1 L dung dịch gồm: 10 g glucose; 5 g  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ; 5 g  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; 0,25 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,2 g KCl và 0,1 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Đặc điểm khuẩn lạc của vi khuẩn nội sinh

Hình thái khuẩn lạc được mô tả gồm màu sắc, hình dạng, dạng ria khuẩn lạc, độ nổi mô và đo kích thước khuẩn lạc bằng đơn vị mm.

#### 2.2.2. Đánh giá khả năng chịu được môi trường chua và độc chất $\text{Al}^{3+}$ và $\text{Fe}^{2+}$

Khả năng chịu được môi trường chua (pH = 4,50) của các dòng vi khuẩn được thực hiện theo phương pháp của Nguyễn Quốc Khương và cs. (2019). Cây khóm trồng trên đất có pH thấp nên các dòng vi khuẩn được đánh giá trên môi trường có pH thấp (pH 4,50). Tất cả 26 dòng vi khuẩn được điều chỉnh  $\text{OD}_{660} = 0,5$ . Tiếp theo, hút 1 mL dung dịch của mỗi dòng vi khuẩn đã điều chỉnh  $\text{OD}_{660}$  đạt 0,5 vào ống nghiệm chứa 9,0 mL môi trường LGI hoặc NFB có chứa độc chất  $\text{Al}^{3+}$  và  $\text{Fe}^{2+}$  ở nồng độ 100 và 300  $\text{mg kg}^{-1}$ , với 3 lần lặp lại cho mỗi dòng vi khuẩn và được ủ trên máy lắc với tốc độ 200 vòng phút<sup>-1</sup> trong 48 giờ. Sau đó, dung dịch vi khuẩn được đo độ đục trên máy quang phổ ở bước sóng 660 nm. Dòng vi khuẩn có  $\text{OD}_{660} = 0,41$  và 0,31 đối với lần lượt môi trường LGI hoặc NFB được sử dụng các các nghiên cứu tiếp theo.

#### 2.2.3. Tuyển chọn vi khuẩn nội sinh hòa tan lân

Tất cả 26 dòng vi khuẩn chịu môi trường chua với độc chất  $\text{Al}^{3+}$  và  $\text{Fe}^{2+}$  được sử dụng để đánh giá khả năng hòa tan lân theo phương pháp Khuong và cs. (2020). Môi trường NBRIP ở pH = 4,50 chứa lân khó tan 1 g L<sup>-1</sup>  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  được sử dụng để xác định hàm lượng lân hòa tan. Quy trình thực hiện được mô tả như sau: 0,5 mL dung dịch của mỗi khuẩn lạc có  $\text{OD}_{660} = 0,5$  được hút cho vào ống nghiệm chứa 5 mL môi trường NBRIP lỏng và mẫu được lắc với tốc độ 120 vòng/phút trong 72 giờ. Dung dịch

môi trường NBRIP không có vi khuẩn được sử dụng làm mẫu đối chứng. Dung dịch sau ly tâm được định lượng lân hòa tan bằng phương pháp ascorbic acid trên máy quang phổ ở bước sóng 880 nm (Murphy và Riley, 1962). Hàm lượng P được tính dựa trên đường chuẩn biết trước nồng độ. Tương tự, để đánh giá khả năng hòa tan Al-P, Fe-P,  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  được thay thế bằng  $\text{AlPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  và  $\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

#### 2.2.4. Định danh vi khuẩn nội sinh hòa tan lân

Môi trường LGI và NFB được sử dụng để nuôi 3 dòng vi khuẩn trong 48 giờ. Hút 2 mL khuẩn lạc để ly tâm trong 5 phút ở tốc độ 10.000 vòng/phút để thu được tế bào, trích DNA bằng Genomic DNA Prep Kit (BioFACT<sup>TM</sup>). Kiểm tra nồng độ và độ thuần bằng điện di trên 1,0% w/v agarose gel. Cặp mồi P515FPL và P13B được dùng để khuếch đại gen mã hóa 16S rRNA đối với sản phẩm DNA bằng kỹ thuật PCR (Turner và Backman, 1999) theo mô tả iProof<sup>TM</sup> High-Fidelity PCR Kit-Bio-Rad (BioRad, Hercules, CA) từ T100<sup>TM</sup> thermocycler (BioRad) sử dụng trên vi khuẩn nội sinh. Đối với vi khuẩn nội sinh, thang đo DNA chuẩn được sử dụng để so kích thước sản phẩm PCR, xác nhận vị trí các band kích thước 1500 bp. TIANquick Midi Purification Kit (Tiagen Biotech Ltd., Beijing, China) được dùng để tinh sạch sản phẩm PCR. Kiểm tra lại độ thuần bằng điện di trên 1,0% w/v agarose gel. Sau đó, sử dụng Macrogen DNA Sequencing Service (Macrogen, Seoul, Korea) giải trình tự sản phẩm PCR đã được tinh sạch, kết quả trình tự sẽ được phân tích bằng phần mềm

BioEdit (phiên bản 7.0.5.3) và ChromasPro (phiên bản 1.7) (Hall, 1999). Công cụ BLAST N (Nucleotide Basic Local Alignment Search Tool) của NCBI (National Center for Biotechnology Information) sử dụng để so sánh mức độ tương đồng giữa trình tự của các dòng vi khuẩn và ngân hàng gen có sẵn.

#### 2.3. Xử lý số liệu

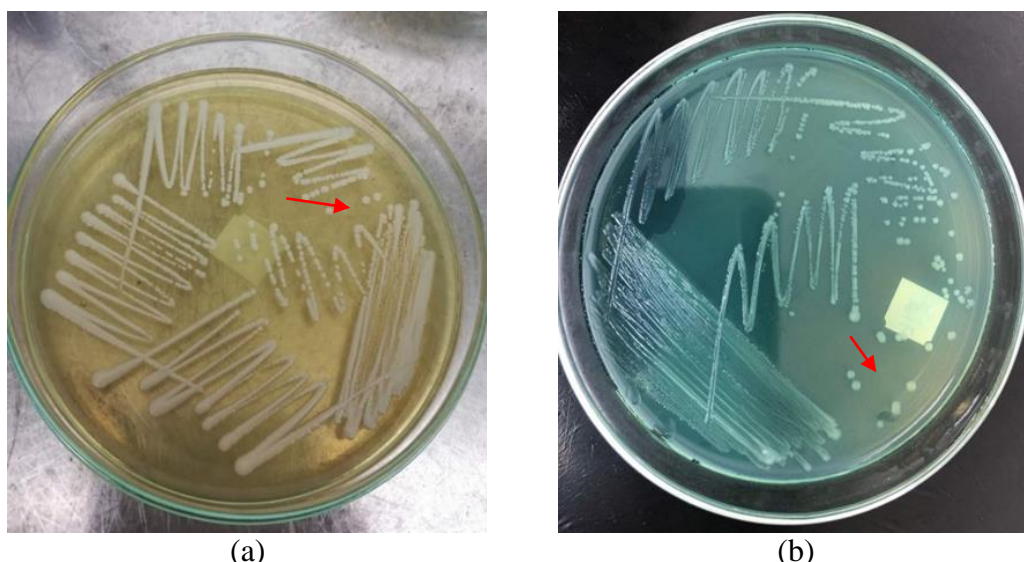
Số liệu được phân tích thống kê bằng phần mềm SPSS phiên bản 13.0, so sánh các giá trị trung bình giữa các dòng vi khuẩn bằng phép kiểm định Duncan.

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Đánh giá khả năng chịu được môi trường chua có chứa độc chất của vi khuẩn nội sinh hòa tan lân từ rễ và thân cây khóm trồng trên đất phèn tại thành phố Vị Thanh, tỉnh Hậu Giang

##### 3.1.1. Đặc tính của vi khuẩn nội sinh từ rễ và thân cây khóm

Từ 42 dòng vi khuẩn nội sinh được phân lập từ 20 mẫu rễ và thân cây khóm trồng trên đất phèn tại thành phố Vị Thanh, tỉnh Hậu Giang. Các dòng vi khuẩn phát triển nhanh trên 2 môi trường LGI và NFB đặc sau 48 giờ nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C. Trong đó có 26 dòng vi khuẩn nội sinh chịu được môi trường chua pH 4,50. Cụ thể là, các dòng vi khuẩn được phân lập trên môi trường LGI và NFB chủ yếu có màu trắng đục, dạng tròn, bìa nguyên, có độ nổi mô ít và kích thước 1-2 mm (Hình 1). Kết quả này phù hợp với mô tả khuẩn lạc vi khuẩn nội sinh của Nguyễn Quốc Khương và cs. (2020b) được phân lập từ rễ cây bắp lai.

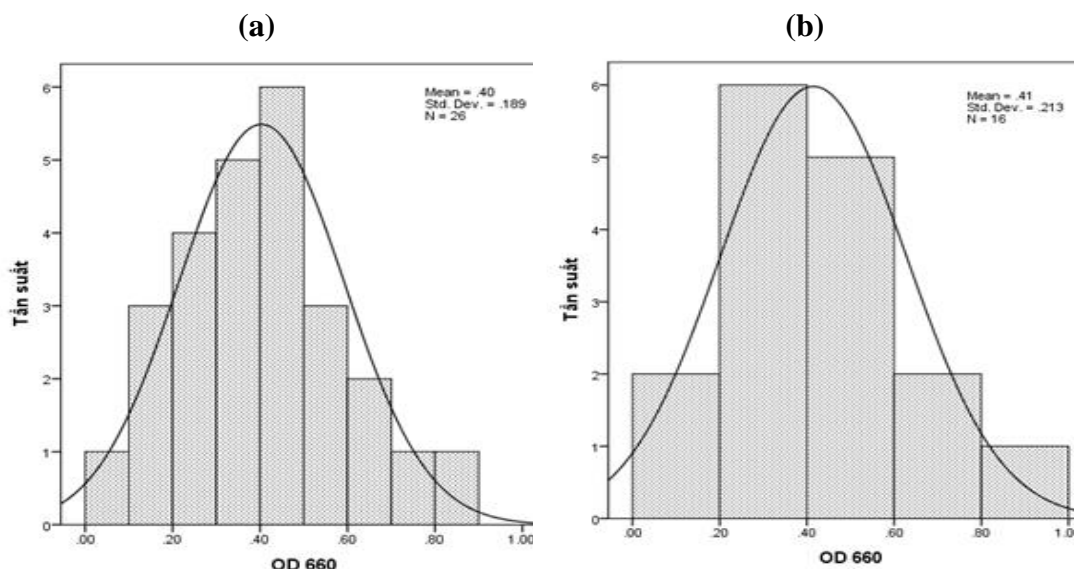


**Hình 1.** Hình dạng và màu sắc của khuẩn lạc sau 48 giờ nuôi cấy trên môi trường (a) LGI và (b) NFB đặc

### 3.1.2. Khả năng chịu môi trường chua và độc chất $Al^{3+}$ và $Fe^{2+}$ của các dòng vi khuẩn

Trong 26 dòng vi khuẩn nội sinh chịu được điều kiện chua, có 12 dòng vi khuẩn phân lập trên môi trường LGI và 8 dòng vi khuẩn phân lập trên môi trường NFB có giá trị  $OD_{660}$  lớn hơn 0,5 ở ngưỡng pH 4,50 và chịu được độc chất  $Al^{3+}$  và  $Fe^{2+}$ . Trong đó, trên môi trường LGI và NFB số

dòng vi khuẩn có giá trị  $OD_{660}$  nhỏ hơn 0,5 là 19 và 10, theo thứ tự,  $OD_{660}$  từ 0,5 đến 1,0 lần lượt là 7 và 6 (Hình 2). Theo kết quả nghiên cứu của Nguyễn Quốc Khương và cs. (2020d) cho thấy tất cả các dòng vi khuẩn nội sinh phân lập từ rễ cây mía đường đều có giá trị  $OD_{660}$  nhỏ hơn 1,5 và lớn hơn 0,5 đối với các dòng vi khuẩn nội sinh được phân lập từ rễ cây bắp lai (Nguyễn Quốc Khương và cs., 2020b).



**Hình 2.** Khả năng chịu được môi trường chua và độc chất  $Al^{3+}$  và  $Fe^{2+}$  của các dòng vi khuẩn phân lập từ môi trường (a) LGI và (b) NFB

### 3.2. Tuyển chọn vi khuẩn nội sinh hòa tan lân từ rễ và thân cây khóm trồng trên đất phèn tại thành phố Vị Thanh, tỉnh Hậu Giang

#### 3.2.1. Khả năng hòa tan lân của vi khuẩn nội sinh được phân lập từ môi trường LGI

Kết quả Bảng 1 cho thấy hàm lượng lân được hòa tan từ lân sắt, lân nhôm và lân canxi của các dòng vi khuẩn nội sinh phân lập từ rễ và thân cây khóm trên môi trường LGI khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. Hàm lượng lân được hòa tan từ lân sắt cao nhất được ghi nhận ở dòng vi khuẩn L-VT05a và L-VT09, với hàm lượng lân lượt là 16,4 và 16,2 mg P L<sup>-1</sup> khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với dòng vi khuẩn L-VT08b, với 15,0 mg P L<sup>-1</sup>. Bên cạnh đó, dòng vi khuẩn L-VT03 có hàm lượng lân được hòa tan từ lân sắt thấp nhất, với 10,7 mg P L<sup>-1</sup>, các dòng vi khuẩn L-VT01, L-VT04, L-VT05b, L-VT05c, L-VT08a, L-VT08c, L-VT08d và L-VT10 có hàm lượng lân được hòa tan từ lân sắt dao động từ 11,0 đến 13,6 mg P L<sup>-1</sup>.

Hàm lượng lân được hòa tan từ lân nhôm ở dòng vi khuẩn L-VT05c đạt 26,8 mg P L<sup>-1</sup> cao tương đương với các dòng vi khuẩn L-VT08a, L-VT08c và L-VT09, lần lượt là 25,9; 26,2 và 25,5 mg P L<sup>-1</sup> trong khi đó dòng vi khuẩn L-VT05b và L-VT10 có hàm lượng lân được hòa tan từ lân nhôm thấp nhất, với 18,4 và 18,0 mg P L<sup>-1</sup>. Dòng vi khuẩn L-VT01, L-VT03, L-VT04, L-VT05a, L-VT08b và L-VT08d hòa tan lân nhôm dao động khoảng 22,0-24,3 mg P L<sup>-1</sup> (Bảng 1).

Hàm lượng lân được hòa tan từ lân canxi cao nhất ở dòng vi khuẩn L-VT08c đạt 26,1 mg P L<sup>-1</sup>, thấp nhất là dòng vi khuẩn L-VT05a khác biệt không ý nghĩa thống kê với dòng L-VT08d, với 2,40 và 4,23 mg P L<sup>-1</sup>, theo thứ tự. Các dòng vi khuẩn L-VT05b, L-VT08a, L-VT08b và L-VT09 có hàm lượng lân được hòa tan từ lân canxi dao động 5,41-19,7 mg P L<sup>-1</sup> (Bảng 1).

**Bảng 1.** Hàm lượng lân (X ± SE) được hòa tan từ các dạng lân khó tan của các dòng vi khuẩn nội sinh phân lập từ rễ và thân cây khóm trên môi trường LGI

Dòng vi khuẩn	Hàm lượng lân (mg P L <sup>-1</sup> ) được hòa tan từ		
	Fe-P	Al-P	Ca-P
L-VT01	13,1 <sup>bcd</sup> ± 0,47	22,3 <sup>de</sup> ± 1,14	-
L-VT03	10,7 <sup>d</sup> ± 0,28	22,7 <sup>de</sup> ± 0,43	-
L-VT04	12,2 <sup>cd</sup> ± 0,89	22,8 <sup>de</sup> ± 0,92	-
L-VT05a	16,4 <sup>a</sup> ± 3,38	22,0 <sup>e</sup> ± 0,93	2,40 <sup>f</sup> ± 0,30
L-VT05b	12,2 <sup>cd</sup> ± 1,51	18,4 <sup>f</sup> ± 1,20	5,41 <sup>e</sup> ± 0,00
L-VT05c	11,0 <sup>cd</sup> ± 1,16	26,8 <sup>a</sup> ± 0,13	-
L-VT08a	12,2 <sup>cd</sup> ± 0,73	25,9 <sup>ab</sup> ± 0,91	17,0 <sup>c</sup> ± 0,21
L-VT08b	15,0 <sup>ab</sup> ± 1,07	23,6 <sup>cde</sup> ± 1,16	10,3 <sup>d</sup> ± 1,78
L-VT08c	13,6 <sup>bc</sup> ± 1,59	26,2 <sup>ab</sup> ± 1,87	26,1 <sup>a</sup> ± 0,57
L-VT08d	12,4 <sup>cd</sup> ± 1,20	24,3 <sup>bcd</sup> ± 0,74	4,23 <sup>ef</sup> ± 1,65
L-VT09	16,2 <sup>a</sup> ± 0,20	25,5 <sup>abc</sup> ± 1,27	19,7 <sup>b</sup> ± 2,14
L-VT10	11,2 <sup>cd</sup> ± 0,66	18,0 <sup>f</sup> ± 1,69	-
Mức ý nghĩa	*	*	*
CV (%)	10,5	4,86	10,3

Những ký tự theo sau chữ số khác nhau là khác biệt có ý nghĩa thống kê; \*: khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%; "-": không theo dõi; X: giá trị trung bình; SE: độ lệch chuẩn

Qua kết quả trên cho thấy trên môi trường LGI 2 dòng vi khuẩn L-VT08c và L-VT09 có hàm lượng lân được hòa tan từ lân sắt, lân nhôm và lân canxi là tốt nhất so với các dòng vi khuẩn còn lại với hàm lượng hòa tan lần lượt là 13,6; 26,2; 26,1 và 16,2; 25,5; 19,7 mg P L<sup>-1</sup> (Bảng 1). Theo kết quả nghiên cứu Nguyễn Quốc Khương và cs. (2020c) báo cáo rằng các dòng vi khuẩn nội sinh được phân lập trên cây quýt đường có khả năng hòa tan các dạng lân gồm Al-P, Fe-P và Ca-P với hàm lượng lần lượt là 54,1-57,5; 41,6-115,6; 23,6-23,8 mg P L<sup>-1</sup>.

### 3.2.2. Khả năng hòa tan lân của vi khuẩn nội sinh được phân lập từ môi trường NFB

Qua Bảng 2 cho thấy hàm lượng lân được hòa tan từ lân sắt, lân nhôm và lân canxi của các dòng vi khuẩn nội sinh phân lập từ rễ và thân cây khóm trên môi trường NFB khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. Hàm lượng lân được hòa tan từ lân sắt

**Bảng 2.** Hàm lượng lân ( $X \pm SE$ ) được hòa tan từ các dạng lân khó tan của các dòng vi khuẩn nội sinh phân lập từ rễ và thân cây khóm trên môi trường NFB

Dòng vi khuẩn	Hàm lượng lân (mg P L <sup>-1</sup> ) được hòa tan từ		
	Fe-P	Al-P	Ca-P
N-VT01	19,8 <sup>cd</sup> ± 0,85	26,9 <sup>a</sup> ± 1,87	20,0 <sup>c</sup> ± 1,52
N-VT03	55,6 <sup>a</sup> ± 1,56	15,5 <sup>c</sup> ± 0,81	-
N-VT04	18,1 <sup>d</sup> ± 2,00	5,82 <sup>e</sup> ± 2,73	23,3 <sup>b</sup> ± 0,65
N-VT05	15,7 <sup>e</sup> ± 1,61	21,5 <sup>b</sup> ± 0,67	-
N-VT06	34,5 <sup>b</sup> ± 0,00	6,40 <sup>e</sup> ± 0,27	60,0 <sup>a</sup> ± 0,96
N-VT07	20,6 <sup>c</sup> ± 0,76	13,0 <sup>cd</sup> ± 0,68	-
N-VT07a	16,0 <sup>e</sup> ± 0,44	11,6 <sup>d</sup> ± 1,74	-
N-VT08	15,6 <sup>e</sup> ± 0,30	13,5 <sup>cd</sup> ± 0,43	-
Mức ý nghĩa	*	*	*
CV (%)	4,70	9,83	3,20

Những ký tự theo sau chữ số khác nhau là khác biệt có ý nghĩa thống kê; \*: khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%; "-": không theo dõi; X: giá trị trung bình; SE: độ lệch chuẩn

Tóm lại, hàm lượng lân hòa tan từ các dạng lân sắt, lân nhôm và lân canxi ở dòng vi khuẩn N-VT06 được ghi nhận là tốt nhất so với tất cả các dòng vi khuẩn còn lại được phân lập trên môi trường NFB, với hàm lượng lân hòa tan lần lượt là 34,5; 6,40 và 60,0 mg P L<sup>-1</sup> (Bảng 2).

cao nhất ở dòng vi khuẩn N-VT03 với 55,6 mg P L<sup>-1</sup>, thấp nhất ở dòng vi khuẩn N-VT05, N-VT07a và N-VT08, lần lượt là 15,7; 16,0 và 15,6 mg P L<sup>-1</sup>. Hàm lượng lân được hòa tan từ lân sắt của các dòng vi khuẩn N-VT01, N-VT04, N-VT06 và N-VT07 dao động khoảng 18,1-34,5 mg P L<sup>-1</sup>.

Hàm lượng lân được hòa tan từ lân nhôm cao nhất được ghi nhận ở dòng vi khuẩn N-VT01 với 26,9 mg P L<sup>-1</sup>, thấp nhất ở dòng vi khuẩn N-VT04 và N-VT06, với 5,82 và 6,40 mg P L<sup>-1</sup>, theo thứ tự. Dòng vi khuẩn N-VT03, N-VT05, N-VT07, N-VT07a và N-VT08 có hàm lượng lân được hòa tan từ lân nhôm dao động từ 11,6 đến 21,5 mg P L<sup>-1</sup> (Bảng 2).

Hàm lượng lân được hòa tan từ lân canxi cao nhất ở dòng vi khuẩn N-VT06 (60,0 mg P L<sup>-1</sup>) và thấp nhất là ở dòng vi khuẩn N-VT01 (20,0 mg P L<sup>-1</sup>) (Bảng 2).

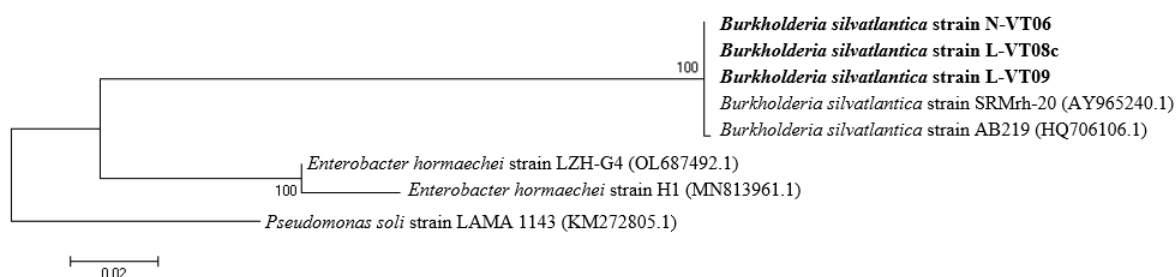
Vi khuẩn nội sinh đã được phát hiện và ứng dụng trong việc thúc đẩy sự sinh trưởng của cây trồng (Mahmood và Kataoka, 2020) và được sử dụng thay thế phân bón hóa học (Khan và cs., 2020). Vi khuẩn nội sinh hòa tan lân có khả năng chuyển đổi dạng lân không tan thành dạng cây trồng có thể sử dụng được (Walia và cs.,

2017). Theo kết quả nghiên cứu Nguyễn Quốc Khương và cs. (2020a) báo cáo rằng các dòng vi khuẩn nội sinh được phân lập trên cây mía đường đều có khả năng hòa tan lân nhôm, lân sắt và lân canxi, với hàm lượng lân lượt là 11,5-13,3; 60,8-62,1 và 73,9-86,4 mg P L<sup>-1</sup>. Ngoài ra, nghiên cứu trước đây cũng tìm thấy các dòng vi khuẩn nội sinh hòa tan các dạng lân gồm Al-P, Fe-P và Ca-P, với 54,0; 41,5 và 51,3 mg P L<sup>-1</sup> được phân lập từ cây bắp lai (Nguyễn Quốc Khương và cs., 2020b). Đối với nghiên cứu này, các dòng vi khuẩn nội sinh có hàm lượng lân được hòa tan từ lân sắt trên môi trường LGI dao động từ 10,7 đến 16,4 mg P L<sup>-1</sup>, cao nhất là dòng vi khuẩn L-VT05a và thấp nhất là L-VT03, với 16,4 và 10,7 mg P L<sup>-1</sup> (Bảng 1), trên môi trường NFB hàm lượng lân được hòa tan từ lân sắt cao nhất ở dòng vi khuẩn N-VT03 (55,6 mg P L<sup>-1</sup>), thấp nhất là dòng N-VT05, N-VT07a và N-VT08, lần lượt là 15,7; 16,0 và 15,6 mg P L<sup>-1</sup> (Bảng 2). Hàm lượng lân được hòa tan từ lân nhôm cao nhất ở dòng vi khuẩn L-VT05c đạt 26,8 mg P L<sup>-1</sup> (LGI) và N-VT01 đạt 26,9 mg P L<sup>-1</sup> (NFB), thấp nhất ở môi trường LGI là dòng vi khuẩn L-VT05b và L-VT10, ở môi trường NFB là dòng vi khuẩn N-VT04 và N-VT06, với 18,4; 18,0; 5,82 và 6,40 mg P L<sup>-1</sup>, theo cùng thứ tự. Hàm lượng lân được hòa tan từ lân nhôm và lân canxi dao động khoảng 18,0-26,8; 2,40-

26,1 mg P L<sup>-1</sup> (LGI) và 5,82-26,9; 20,0-60,0 mg P L<sup>-1</sup> (NFB) (Bảng 1 và Bảng 2). Dòng vi khuẩn L-VT08c có hàm lượng lân được hòa tan từ lân canxi cao nhất ở môi trường LGI là 26,1 mg P L<sup>-1</sup> và NFB là dòng N-VT06 với 60,0 mg P L<sup>-1</sup>, thấp nhất ở cả hai môi trường (LGI và NFB) là dòng L-VT05a và N-VT01, lần lượt là 2,40 và 20,0 mg P L<sup>-1</sup>. Qua kết quả trên cho thấy hầu hết các dòng vi khuẩn nội sinh được phân lập từ rễ và thân cây khóm đều có khả năng hòa tan các loại lân khó tan như là lân sắt, lân nhôm và lân canxi.

### 3.3. Định danh vi khuẩn nội sinh hòa tan lân chịu được môi trường chua từ rễ và thân cây khóm trồng trên đất phèn tại thành phố Vị Thanh, tỉnh Hậu Giang

Dòng vi khuẩn nội sinh hòa tan lân được định danh thuộc chi *Burkholderia* và loài *silvatlantica* với tỷ lệ tương đồng 100%, được đặt tên *Burkholderia silvatlantica* N-VT06, L-VT08c và L-VT09 (Hình 3). Kết quả so sánh giải trình tự của dòng vi khuẩn *B. silvatlantica* N-VT06 và L-VT08c trên NCBI có tỷ lệ tương đồng 100% với dòng vi khuẩn *B. silvatlantica* SRMrh-20 (AY965240.1). Dòng vi khuẩn *B. silvatlantica* L-VT09 tương đồng với *B. silvatlantica* SRMrh-20 (AY965240.1) và AB219 (HQ706106.1), với tỷ lệ 100% và 99,8%, theo thứ tự.



**Hình 3.** Vị trí dòng vi khuẩn N-VT06, L-VT08c và L-VT09 trên cây phả hệ theo trình tự gen



Theo nghiên cứu Busato và cs. (2017) báo cáo rằng dòng vi khuẩn *Burkholderia silvatlantica* giúp tăng khả năng cung cấp lân từ các nguồn lân khó tan. Bên cạnh đó, theo Manna và cs. (2019) cho rằng chi *Burkholderia* có lợi cho cây trồng và thúc đẩy tăng trưởng. Trong nghiên cứu này, dòng vi khuẩn đã được tuyển chọn và định danh là *B. silvatlantica* N-VT06, L-VT08c và L-VT09 có tỷ lệ tương đồng 100%. Ngoài ra, theo Alves và cs. (2016) cho rằng vi khuẩn *B. silvatlantica* có khả năng thúc đẩy cây bắp phát triển, đặc biệt ở đất có độ phì nhiêu thấp.

## 4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

### 4.1. Kết luận

Tuyển chọn được 20 dòng vi khuẩn có khả năng hòa tan lân tốt trong điều kiện pH 4,50 và đồng thời chịu được độc chất  $Al^{3+}$  và  $Fe^{2+}$ . Hai dòng vi khuẩn L-VT09, N-VT06 có khả năng hòa tan lân sắt, lân nhôm, lân canxi tốt nhất, với hàm lượng lân lượt là 16,2; 25,5; 19,7 mg L<sup>-1</sup> (L-VT09) và 34,5; 6,40; 60,0 mg L<sup>-1</sup> (N-VT06). Hai dòng vi khuẩn L-VT09 và N-VT06 có tỷ lệ tương đồng 100% với loài vi khuẩn *Burkholderia silvatlantica*.

### 4.2. Đề nghị

Đánh giá khả năng cung cấp lân của các dòng vi khuẩn nội sinh hòa tan lân *Burkholderia silvatlantica* N-VT06, L-VT08c và L-VT09 đến khả năng thay thế phân lân hóa học trên cây khóm.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

### 1. Tài liệu tiếng Việt

- Cao Ngọc Diệp và Nguyễn Thành Dũng. (2010). Đặc tính vi khuẩn nội sinh phân lập trong cây khóm trồng trên đất phèn Vĩnh Thuận, tỉnh Kiên Giang. *Tạp chí khoa học Đại học Cần Thơ*, 15a, 54-63.
- Cục thống kê tỉnh Hậu Giang. (2022). Báo cáo chính thức tình hình kinh tế - xã hội tỉnh Hậu Giang tháng 12 năm 2021. Ngày truy cập 09/01/2022.
- Ngô Vĩnh Tường, Lê Thị Mỹ Thu, Lý Ngọc Thanh Xuân và Nguyễn Quốc Khương. (2022). Phân lập, tuyển chọn và định danh vi khuẩn cố định

đạm nội sinh từ cây khóm trồng trên đất phèn Vị Thanh, tỉnh Hậu Giang. *Tạp chí Nông nghiệp và phát triển nông thôn*, 16, 32-41.

- Nguyễn Quốc Khương, Lê Vĩnh Thúc, Lê Thị Mỹ Thu, Võ Văn Ứng, Lưu Thị Yến Nhi, Trần Chí Nhân, Nguyễn Thị Thanh Xuân và Lý Ngọc Thanh Xuân. (2020a). Tuyển chọn vi khuẩn nội sinh rễ cây mía đường có khả năng hòa tan lân. *Tạp chí Nông nghiệp và phát triển nông thôn*, 20, 35-41.
- Nguyễn Quốc Khương, Lê Vĩnh Thúc, Lê Thị Mỹ Thu, Võ Văn Ứng, Lưu Thị Yến Nhi, Trần Chí Nhân, Nguyễn Thị Thanh Xuân và Lý Ngọc Thanh Xuân. (2020d). Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn nội sinh rễ cây mía đường có khả năng cố định đạm và tổng hợp indole acetic acid. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 14, 110-116.
- Nguyễn Quốc Khương, Lê Vĩnh Thúc, Nguyễn Thị Thái Lê, Trần Hoàng Em, Lâm Dư Mẫn, Trần Ngọc Hữu, Nguyễn Thị Thanh Xuân, Trần Chí Nhân và Lý Ngọc Thanh Xuân. (2019). Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn có khả năng cố định đạm, phân giải lân, kích thích sinh trưởng cây trồng từ đất vùng rễ cây bắp lai. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 23, 17-23.
- Nguyễn Quốc Khương, Lê Vĩnh Thúc, Trần Minh Mẫn, Trần Chí Nhân, Nguyễn Thị Thanh Xuân và Lý Ngọc Thanh Xuân. (2020c). Tuyển chọn vi khuẩn nội sinh rễ cây quýt đường có khả năng hòa tan các dạng lân khó tan trong đất phèn. *Tạp chí Nông nghiệp và phát triển nông thôn*, 02, 10-15.
- Nguyễn Quốc Khương, Lê Vĩnh Thúc, Trần Ngọc Hữu, Hứa Hữu Đức, Lâm Dư Mẫn, Trần Hoàng Em, Trần Chí Nhân, Nguyễn Kim Quyên và Lý Ngọc Thanh Xuân. (2020b). Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn nội sinh cây bắp lai có khả năng cung cấp dinh dưỡng cho cây trồng. *Tạp chí Nông nghiệp và phát triển nông thôn*, 3+4, 13-28.
- Nguyễn Quốc Khương, Trần Ngọc Hữu, Lê Thị Mỹ Thu, Nguyễn Hồng Huệ, Lê Vĩnh Thúc, Trần Chí Nhân, Nguyễn Minh Châu và Lý Ngọc Thanh Xuân. (2021). Hiệu quả của chế phẩm vi sinh chứa vi khuẩn hòa tan lân đến cải thiện sinh trưởng và năng suất ngô lai trồng trên đất phù sa trong đê tại huyện Châu Phú, tỉnh An Giang trong điều kiện nhà lưới. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 19, 1135-1142.
- Nguyễn Thị Đơn và Cao Ngọc Diệp. (2017). Hiệu quả của vi khuẩn hòa tan lân - kali trên đậu

phòng, củ cải trắng và lúa cao sản trồng trên đất cát huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 48b, 92-103.

## 2. Tài liệu tiếng nước ngoài

- Afzal, I., Shinwari, Z. K., Sikandar, S., & Shahzad, S. (2019). Plant beneficial endophytic bacteria: mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiological Research*, 221, 36-49.
- AlKahtani, M. D., Fouda, A., Attia, K. A., Al-Otaibi, F., Eid, A. M., Ewais, E. E. D., Hijri, M., St-Arnaud, M., Hassan, S. E. D., Khan, N., Hafez, Y. M., & Abdelaal, K. A. (2020). Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic bacteria from desert plants and their application as bioinoculants for sustainable agriculture. *Agronomy*, 10(9), 1-18.
- Alves, G. C., de Matos Macedo, A. V., Dos Reis, F. B., Urquiaga, S., & Reis, V. M. (2016). Plant growth promotion by four species of the genus *Burkholderia*. *Plant and Soil*, 399(1-2), 373-387.
- Azizah, H., Rahajeng, S. M., & Jatmiko, Y. D. (2021). Isolation and screening of phosphate and potassium solubilizing endophytic bacteria in maize (*Zea mays* L.). *The Journal of Experimental Life Science*, 10(3), 165-170.
- Borah, A., Das, R., Mazumdar, R., & Thakur, D. (2019). Culturable endophytic bacteria of *Camellia* species endowed with plant growth promoting characteristics. *Journal of Applied Microbiology*, 127(3), 825-844.
- Busato, J. G., Zandonadi, D. B., Mól, A. R., Souza, R. S., Aguiar, K. P., Júnior, F. B. R., & Olivares, F. L. (2017). Compost biofortification with diazotrophic and P-solubilizing bacteria improves maturation process and P availability. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(3), 949-955.
- Chaudhary, V., Kumar, V., Vaishali, S., Sing, K., Kumar, R., & Kumar, V. (2019). Pineapple (*Ananas cosmosus*) product processing A review. *Journal of pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(3), 4642-4652.
- Divjot, K. O. U. R., Rana, K. L., Tanvir, K. A. U. R., Yadav, N., Yadav, A. N., Kumar, M., Kumar, V., Dhaliwal, H. S., & Saxena, A. K. (2021). Biodiversity, current developments and potential biotechnological applications of phosphorus-solubilizing and-mobilizing microbes: A review. *Pedosphere*, 31(1), 43-75.
- Emami, S., Alikhani, H. A., Pourbabae, A. A., Etesami, H., Motasharezadeh, B., & Sarmadian, F. (2020). Consortium of endophyte and rhizosphere phosphate solubilizing bacteria improves phosphorous use efficiency in wheat cultivars in phosphorus deficient soils. *Rhizosphere*, 14, 1-8.
- FAO. (2022). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAOSTAT). Available online: <http://www.fao.org/faostat> (accessed 09/01/2022).
- Firdous, J., Lathif, N. A., Mona, R., & Muhamad, N. (2019). Endophytic bacteria and their potential application in agriculture: a review. *Indian Journal of Agricultural Research*, 53(1), 1-7.
- Hall T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95-98.
- Hamid, H., Yanti, Y., & Joni, F. R. (2020). Tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.) resilience enhancement with indigenous endophytic bacteria against *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, 30(1), 1-7.
- Jabborova, D., Annapurna, K., Fayzullaeva, M., Sulaymonov, K., Kadirova, D., Jabbarov, Z., & Sayyed, R. Z. (2020). Isolation and characterization of endophytic bacteria from ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). *Annals of Phytomedicine*, 9(1), 116-121.
- Khan, M. S., Gao, J., Chen, X., Zhang, M., Yang, F., Du, Y., Moe, T. S., Munir, I., Xue, J., & Zhang, X. (2020). Isolation and characterization of plant growth-promoting endophytic bacteria *Paenibacillus polymyxa* SK1 from *Lilium lancifolium*. *BioMed Research International*, 2020, 1-17.
- Khuong, N. Q., Kantachote, D., Nookongbut, P., Onthong, J., Xuan, L. N. T., & Sukhoom, A. (2020). Mechanisms of acid-resistant *Rhodopseudomonas palustris* strains to ameliorate acidic stress and promote plant growth. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24, 1-9.
- Lindang, H. U., Subbiah, V. K., Rodrigues, K. F., & Budiman, C. (2021). Isolation, identification, and characterization of phosphate solubilizing bacteria, *Paenibacillus* sp., from the soil of Danum Valley Tropical Rainforest, Sabah, Malaysia. *Biodiversitas*

- Journal of Biological Diversity*, 22(10), 4370-4378.
- Ly Ngoc Thanh Xuan, Tran Van Dung, Ngo Ngoc Hung & Cao Ngoc Diep. (2017). Isolation and characterization of endophytic and rhizospheric bacteria associated sweet-potato plants cultivated on soils of the mekong delta, Vietnam. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 06, 129-149.
- Mahmood, A., & Kataoka, R. (2020). Metabolite profiling reveals a complex response of plants to application of plant growth-promoting endophytic bacteria. *Microbiological Research*, 234, 1-9.
- Maia, V. M., Pegoraro, R. F., Aspiazú, I., Oliveira, F. S., & Nobre, D. A. C. (2020). Diagnosis and management of nutrient constraints in pineapple. In *Fruit Crops: Diagnosis and Management of Nutrient Constraints*, pp. 739-760.
- Mannaa, M., Park, I., & Seo, Y. S. (2019). Genomic features and insights into the taxonomy, virulence, and benevolence of plant-associated Burkholderia species. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(1), 1-25.
- Mei, C., Chretien, R. L., Amaradasa, B. S., He, Y., Turner, A., & Lowman, S. (2021). Characterization of phosphate solubilizing bacterial endophytes and plant growth promotion in vitro and in greenhouse. *Microorganisms*, 9(9), 1-11.
- Murphy, J. A. M. E. S., & Riley, J. P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica chimica acta*, 27, 31-36.
- Nassr, M. S., & Abu Naser, S. S. (2018). Knowledge based system for diagnosing pineapple diseases. *International Journal of Academic Pedagogical Research*, 2(7), 12-19.
- Ouattara, A., Coulibaly, K., Konate, I., Ismaë, B., Tidou, A. S., & Filali-Maltouf, A. (2019). Selection of Cocoa tree (*Theobroma cacao* Linn) endophytic bacteria solubilizing tri-calcium phosphate, isolated from seedlings grown on soils of six producing regions of Côte d'Ivoire. *Advances in Microbiology*, 9(9), 842-852.
- Priyadarshani, S. V. G. N., Cai, H., Zhou, Q., Liu, Y., Cheng, Y., Xiong, J., Patson, D. L., Cao, S., Zhao, H., & Qin, Y. (2019). An efficient agrobacterium mediated transformation of pineapple with GFP-tagged protein allows easy, non-destructive screening of transgenic pineapple plants. *Biomolecules*, 9(10), 1-12.
- Ramos-Cabrera, E. V., Delgado-Espinosa, Z. Y., Murillo-Muñoz, R. A., Muñoz-Díaz, V. E., & Hoyos-García, J. A. V. I. E. R. (2021). Evaluation of phosphorus solubilizing endophytic bacteria in coffee, an alternative sustainable. *Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 19(2), 94-107.
- Shastri, B., Kumar, R., & Lal, R. J. (2020). Utilization of indigenous endophytic bacteria (*Bacillus* spp.) for their beneficial effect on growth of Sugarcane. *International Journal of Agricultural Invention*, 5(2), 169-172.
- Trejo, D., Sangabriel-Conde, W., Gavito-Pardo, M. E., & Banuelos, J. (2021). Mycorrhizal inoculation and chemical fertilizer interactions in pineapple under field Conditions. *Agriculture*, 11(10), 1-8.
- Turner J. T., & Backman, P. A. (1999). Factors relating to peanut yield increases after seed treatment with *Bacillus subtilis*. *Plant Disease*, 75(4), 347-353.
- Valleser, V. C. (2019). Phosphorus nutrition provoked improvement on the growth and yield of 'MD-2' Pineapple. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 42(2), 467-478.
- Walia, A., Guleria, S., Chauhan, A., & Mehta, P. (2017). Endophytic bacteria: role in phosphate solubilization. In *Endophytes: crop productivity and protection*, 16, 61-93.
- Wiratno, W., Syakir, M., Sucipto, I., & Pradana, A. P. (2019). Isolation and characterization of endophytic bacteria from roots of *Piper nigrum* and their activities against *Fusarium oxysporum* and *Meloidogyne incognita*. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 20(3), 682-687.