

# TUYỂN CHỌN VÀ ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG CỦA NaCl VÀ pH ĐẾN KHẢ NĂNG HÒA TAN LÂN VÔ CƠ CỦA CÁC DÒNG VI KHUẨN PHÂN LẬP TỪ ĐẤT RỄ LÚA HOANG TẠI TỈNH ĐỒNG THÁP

Nguyễn Thị Hồng Xuyên<sup>1,2</sup>, Đỗ Tấn Khang<sup>1</sup>, Trần Thị Giang<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Đại học Cần Thơ, Cần Thơ, Việt Nam

<sup>2</sup> Trường Đại học Kỹ thuật – Công nghệ Cần Thơ, Cần Thơ, Việt Nam

\* Tác giả liên hệ Trần Thị Giang <tgiang@ctu.edu.vn>

(Ngày nhận bài: 18-09-2025; Hoàn thành phản biện: 23-12-2025; Ngày chấp nhận đăng: 24-12-2025)

**Tóm tắt.** Nghiên cứu nhằm mục đích tuyển chọn các dòng vi khuẩn có khả năng hòa tan lân vô cơ được phân lập từ đất vùng rẫy lúa hoang (*Oryza rufipogon*) tại Xã Gáo Giồng và Mỹ Hiệp (xã Mỹ Long cũ), Đồng Tháp, đánh giá ảnh hưởng của muối NaCl và pH môi trường đến khả năng hòa tan lân của các dòng vi khuẩn này, làm cơ sở cho việc định hướng ứng dụng trong điều kiện đất nhiễm mặn và biến động pH. Nghiên cứu đã phân lập được 34 chủng vi khuẩn hòa tan lân vô cơ (PSB) trên môi trường NBRIP bổ sung  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , các chủng thể hiện sự đa dạng về hình thái khuẩn lạc. Khả năng hòa tan lân được xác định dựa trên chỉ số PSI ở các mốc 5, 10 và 15 ngày sau cấy, giá trị PSI dao động từ 1,2 đến 3,2 (ngày 10). Năm chủng tiềm năng gồm GG6.2, GG7.6, XQ4.1, XQ4.7 và XQ5.3 đạt hàm lượng lân hòa tan > 1.000 mg/L, được tuyển chọn để tiếp tục đánh giá ảnh hưởng của muối NaCl (0–1%) và pH (3–9). Kết quả cho thấy các chủng vẫn duy trì khả năng hòa tan khoảng 100 mg/L tại 1% NaCl sau 10 ngày, chúng tỏ có mức chịu mặn tương đối. Tuy nhiên, trong môi trường acid và kiềm, hiệu suất hòa tan lân giảm rõ rệt: ở pH 3, hàm lượng lân < 100 mg/L, thấp hơn 80% so với điều kiện trung tính, trong khi ở pH 8–9 sự suy giảm còn nghiêm trọng hơn. Điều này khẳng định hiệu quả hòa tan lân cao nhất ở pH trung tính. Giải trình tự gen 16S rRNA xác định GG6.2 và XQ4.7 thuộc *Klebsiella*, trong khi GG7.6, XQ4.1 và XQ5.3 thuộc *Mammaliicoccus*.

**Từ khóa:** Chịu mặn, Chịu phèn, Chỉ số hòa tan lân (PSI), Lúa hoang, Vi khuẩn hòa tan lân (PSB)

## Selection and evaluation of the effects of NaCl and pH on the inorganic phosphate-solubilizing bacteria isolated from the wild rice rhizosphere in Dong Thap province

Nguyen Thi Hong Xuyen<sup>1,2</sup>, Do Tan Khang<sup>1</sup>, Tran Thi Giang<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University, Cantho, Vietnam

<sup>2</sup> Can Tho University of Technology, Cantho, Vietnam

\* Correspondence to Tran Thi Giang <tgiang@ctu.edu.vn>

(Received: 18 September 2025; Revised: 23 December 2025; Accepted: 24 December 2025)

**Abstract.** This study aimed to screen and select inorganic phosphate-solubilizing bacteria (PSB) isolated from the rhizosphere soil of wild rice (*Oryza rufipogon*) collected in Gao Giong commune and My Hiep commune, Dong Thap province, Vietnam, and to evaluate the effects of salinity and pH on

their phosphate-solubilizing capacity. A total of 34 PSB isolates were obtained on NBRIP medium supplemented with  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , exhibiting considerable diversity in colony morphology. Phosphate solubilization was assessed using the phosphate solubilization index (PSI) at 5, 10, and 15 days after inoculation, with PSI values ranging from 1.2 to 3.2 at day 10. Five promising isolates (GG6.2, GG7.6, XQ4.1, XQ4.7, and XQ5.3) producing more than 1,000 mg/L of soluble phosphate were selected for further evaluation under different NaCl concentrations (0–1%) and pH levels (3–9). The selected isolates maintained phosphate solubilization of approximately 100 mg/L at 1% NaCl after 10 days, indicating moderate salt tolerance. In contrast, phosphate-solubilizing efficiency markedly declined under acidic and alkaline conditions; soluble phosphate concentrations were below 100 mg/L at pH 3 and decreased more severely at pH 8–9 compared with neutral pH. These results highlight that neutral pH is optimal for phosphate solubilization by the selected isolates. Based on 16S rRNA gene sequencing, isolates GG6.2 and XQ4.7 were identified as *Klebsiella*, while GG7.6, XQ4.1, and XQ5.3 belonged to the genus *Mammaliococcus*.

**Keywords:** Acid tolerance, Phosphate Solubilization Index (PSI), Phosphate-solubilizing bacteria (PSB), Salt tolerance, Wild rice

## 1 Mở đầu

Đất là môi trường sống của một hệ vi sinh vật vô cùng đa dạng, đóng vai trò then chốt đối với sức khỏe đất, sự ổn định của hệ sinh thái, thúc đẩy sinh trưởng cây trồng và năng suất. Vi khuẩn đất là nhóm vi sinh vật phong phú nhất. Các vi sinh vật cố định đạm cộng sinh như *Rhizobium* và *Bradyrhizobium* hình thành mối quan hệ cộng sinh với cây chủ, điển hình là cây họ đậu, và cung cấp nitơ cố định để đổi lấy các hợp chất carbon nhằm đáp ứng nhu cầu năng lượng của chúng. Ngoài ra, vùng rễ cây còn là nơi cư trú của các vi khuẩn hòa tan lân (PSB), đóng vai trò trung gian trong quá trình chuyển hóa các phức hợp phospho không tan thành dạng mà cây trồng có thể sử dụng [1].

Do tác động của phân bón hóa học, đất nông nghiệp hiện nay đang thiếu hụt nghiêm trọng các vi sinh vật bản địa có lợi. Chế phẩm vi sinh ngày càng nhận được nhiều sự quan tâm nhờ vai trò quan trọng trong việc cải thiện độ phì nhiêu của đất, nâng cao năng suất cây trồng và hàm lượng dinh dưỡng trong sản phẩm thu hoạch [2]. Các chế phẩm vi sinh chứa những vi sinh vật có lợi, đóng vai trò quan trọng trong hệ sinh thái. Khi được bổ sung vào hạt giống, đất hoặc cây con, chế phẩm vi sinh có thể trực tiếp hoặc gián tiếp

cung cấp dưỡng chất cho cây trồng, từ đó thúc đẩy sự sinh trưởng của cây [3].

Hầu hết các dưỡng chất thiết yếu cho cây trồng, bao gồm lân (P), tồn tại trong đất ở dạng khó tan, và tình trạng thiếu hụt lân xảy ra trên 67% tổng diện tích đất canh tác của thế giới [4]. Một tỷ lệ lớn lân vô cơ được bổ sung vào đất dưới dạng phân bón nhanh chóng bị cố định và do đó khó được cây trồng hấp thu. Việc sử dụng vi sinh vật hòa tan lân (PSM) giúp cải thiện chất lượng đất, nâng cao năng suất cây trồng, đồng thời hỗ trợ khả năng thích ứng với thiên tai và biến đổi khí hậu, góp phần phát triển nền nông nghiệp an toàn và bền vững [5].

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng vi khuẩn hòa tan lân (PSB) có khả năng làm giảm lượng lân tồn dư trong đất và cải thiện năng suất nông nghiệp lâu dài [6]. Do đó, việc sử dụng PSB như một loại phân bón sinh học nhằm tăng cường hiệu quả sản xuất nông nghiệp đã thu hút được sự quan tâm đáng kể từ các nhà nghiên cứu trong nhiều năm qua [7].

Xã Gáo Giồng và Mỹ Hiệp thuộc Tỉnh Đồng Tháp là nơi sinh sống của một quần thể lúa hoang hiếm, đặc biệt là loài *Oryza rufipogon*. Loài lúa hoang này sở hữu nguồn gen đa dạng và đóng vai trò quan trọng trong nghiên cứu, cũng như trong việc cải tiến các giống lúa hiện đại, nhất

là trong bối cảnh biến đổi khí hậu. Tuy nhiên, quần thể này đang bị đe dọa do mất môi trường sống và thiếu các biện pháp bảo tồn phù hợp. Vì vậy, việc bảo tồn nguồn gen quý này, cùng với hệ vi sinh vật có lợi trong vùng rễ lúa là cần thiết để thúc đẩy nền nông nghiệp bền vững [8]. Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu là tuyển chọn các chủng vi khuẩn từ rễ lúa hoang không chỉ có khả năng hòa tan lân vô cơ tốt mà còn thể hiện khả năng chịu ảnh hưởng của các nồng độ NaCl và pH khác nhau. Kết quả của nghiên cứu sẽ cung cấp nguồn vi khuẩn có lợi, góp phần cho phát triển nông nghiệp bền vững trong tương lai.

## 2 Nguyên liệu và phương pháp

### 2.1 Thu mẫu đất lúa hoang

Mẫu đất được thu thập từ vùng rễ của lúa hoang tại 4 địa điểm thuộc 2 xã Gáo Giồng và Mỹ Hiệp, Tỉnh Đồng Tháp. Việc lấy mẫu được tiến hành trong giai đoạn sinh trưởng của cây lúa. Tại mỗi điểm thu mẫu, khoảng 100–500 g đất vùng rễ được thu thập cẩn thận bằng cách lấy phần đất bám quanh rễ lúa. Các mẫu đất sau đó được cho vào túi nhựa vô trùng, dán nhãn và bảo quản trong thùng giữ lạnh ở nhiệt độ 4°C để vận chuyển về phòng thí nghiệm. Tất cả các mẫu được xử lý trong vòng 24 giờ sau khi thu thập nhằm đảm bảo duy trì khả năng sống của vi sinh vật. Mẫu đất sau khi thu thập sẽ được kiểm tra thành phần hóa lý và vi sinh để có bước đánh giá sơ bộ trước khi phân lập [9].

### 2.2 Phân lập vi khuẩn hòa tan lân vô cơ

Vi khuẩn hòa tan lân vô cơ (PSB) được phân lập theo phương pháp của Nautiya (1999) [10]. Dịch huyền phù đất vùng rễ được pha loãng từ  $10^{-1}$  đến  $10^{-8}$ , sau đó hút 0,1 hoặc 1 mL cho vào đĩa thạch chứa môi trường chọn lọc NBRIP có bổ sung Tricalcium phosphate (TCP) làm nguồn lân vô cơ. Thành phần của môi trường NBRIP gồm: 5 g/L  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ , 0,25 g/L  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,2 g/L

KCl, 0,1 g/L  $(NH_4)_2SO_4$ , 5 g/L  $Ca_3(PO_4)_2$ , và 10 g/L glucose. Sau khi ủ ở 37°C trong 5–7 ngày, các khuẩn lạc hình thành vòng sáng trong suốt xung quanh được chọn là những chủng có khả năng hòa tan lân vô cơ. Các khuẩn lạc này tiếp tục được cấy chuyển trên môi trường NBRIP và lưu giữ trên thạch nghiêng môi trường Nutrient Agar ở 4°C sau khi đã xác định độ thuần [11]. Đặc điểm hình thái của các chủng phân lập, bao gồm hình dạng khuẩn lạc, màu sắc, hình dạng rìa, độ nổi mô, được ghi nhận. Ngoài ra, các đặc điểm của tế bào cũng được xác nhận thông qua kỹ thuật nhuộm Gram và các thử nghiệm sinh hóa như thử nghiệm khả năng di động, catalase,  $H_2S$ , IMVic, khả năng sử dụng các nguồn đường, tinh bột, urease, cũng được thực hiện nhằm hỗ trợ cho kết quả định danh [12].

### 2.3 Xác định khả năng hòa tan lân vô cơ các dòng vi khuẩn đã phân lập

Các chủng vi khuẩn phân lập được đánh giá khả năng hòa tan lân trên đĩa thạch chứa môi trường NBRIP bổ sung  $Ca_3(PO_4)_2$ . Mỗi chủng được cấy vào 3 đĩa riêng biệt tương ứng với 3 lần lặp. Đường kính vòng sáng (halo) và khuẩn lạc được đo sau 5, 10 và 15 ngày ủ ở 30°C. Các chủng được phân loại khả năng hòa tan lân theo ba mức: thấp ( $PSI < 1$ ), trung bình ( $1.5 \leq PSI < 2$ ), và cao ( $PSI > 2$ ) [13]. Khả năng hòa tan lân vô cơ của các dòng vi khuẩn được tính toán theo công thức sau:

$$PSI = A/B \text{ [13],[14],[15]}$$

trong đó, **A**: Đường kính khuẩn lạc và halo (cm);  
**B**: Đường kính khuẩn lạc (cm).

### 2.4 Định lượng hàm lượng lân hòa tan các dòng vi khuẩn được tuyển chọn

Mười dòng vi khuẩn được tuyển chọn từ kết quả định tính ( $PSI > 2$ ) được nuôi cấy trong môi trường LB trong 12 giờ ở 200 vòng/phút. Dịch huyền phù vi khuẩn được điều chỉnh mật độ quang học về  $OD_{600} = 0,8$  nhằm đảm bảo mật số

đồng đều trước khi cấy vào môi trường NBRIP lỏng để định lượng khả năng hòa tan lân [16]. Mỗi bình tam giác chứa 20 mL môi trường NBRIP lỏng bổ sung TCP được cấy 0,5 mL dịch huyền phù vi khuẩn và nuôi ủ trên máy lắc 120 vòng/phút ở nhiệt độ phòng (27–32°C) [17].

Khả năng hòa tan lân được xác định vào các ngày thứ 5, 10 và 15 bằng phương pháp molybdenum blue, đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 880 nm [18]. Mẫu nuôi cấy được ly tâm ở 8.000 vòng/phút trong 10 phút, sau đó xác định hàm lượng lân hòa tan dựa trên đường chuẩn và hiệu chỉnh hệ số pha loãng. Môi trường NBRIP không cấy vi khuẩn được sử dụng làm đối chứng, và tất cả các nghiệm thức được bố trí với 3 lần lặp lại. Dựa trên kết quả định lượng, năm chủng có hàm lượng lân hòa tan cao nhất tại thời điểm 10 ngày được chọn để đánh giá ảnh hưởng của muối và pH.

## 2.5 Đánh giá ảnh hưởng của muối NaCl và pH khác nhau đến khả năng hòa tan lân vô cơ

Năm chủng vi khuẩn được tuyển chọn dựa trên kết quả định lượng đã được kiểm tra khả năng hòa tan lân trong các điều kiện nồng độ muối NaCl (0; 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 0,9; 1%) và pH (3; 4; 5; 6; 7; 8; 9) trong môi trường NBRIP ở 3 mốc thời gian 5, 10 và 15 ngày. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với ba lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức. Đối chứng bao gồm môi trường NBRIP không cấy vi khuẩn trong thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của pH và môi trường NBRIP với 0% NaCl trong thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của muối [19].

## 2.6 Định danh vi khuẩn bằng kỹ thuật sinh học phân tử

Năm chủng vi khuẩn sau khi được đánh giá khả năng chịu mặn và chịu phèn, tiến hành định danh dựa vào trình tự DNA gen 16S rRNA

được nhân lên với cặp mồi 27F/1492R. Các trình tự thu được được phân tích bằng công cụ BLASTn để so sánh với các trình tự đã được công bố trong cơ sở dữ liệu GenBank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Kết quả ghi nhận đặc điểm hình thái khuẩn lạc, tế bào và sinh hóa được sử dụng để hỗ trợ cho kết quả định danh [20].

## 2.7 Phân tích và xử lý số liệu

Dữ liệu được thu thập và phân tích thống kê bằng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) với phần mềm Minitab 19 nhằm đánh giá sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nghiệm thức thông qua phép kiểm định Tukey. Các biểu đồ được xây dựng bằng phần mềm Microsoft Excel 2020. Phân tích cây phát sinh chủng loại được thực hiện bằng phần mềm MEGA 12.

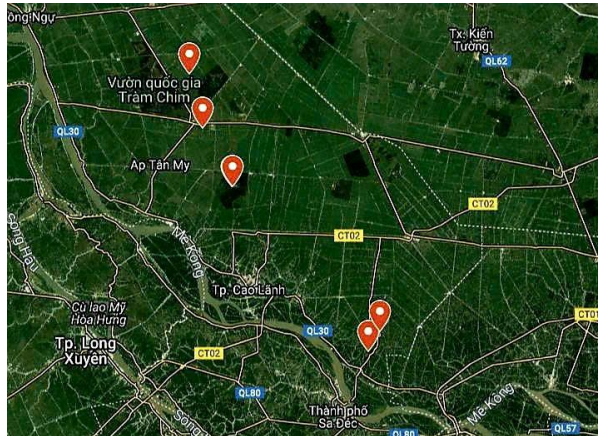
## 3 Kết quả và thảo luận

### 3.1 Kết quả phân tích thành phần hóa lý và vi sinh mẫu đất lúa hoang

Kết quả phân tích cho thấy đất ở Gáo Giồng (GG6, GG7) có pH thấp (4,86–5,46) đặc trưng của đất phèn nhẹ, trong khi Xéo Quýt (XQ4, XQ5) gần trung tính hơn (6,25–6,39). Giá trị EC < 2, đất được xếp vào nhóm đất không mặn. Hàm lượng lân hòa tan rất thấp (0,20–0,27 mg/L) so với tổng P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (1,30–1,93 mg/kg), phản ánh hiện tượng cố định P mạnh trong đất. Mật số vi khuẩn hòa tan lân chỉ đạt 10<sup>2</sup>–10<sup>3</sup> CFU/g, chiếm tỷ lệ nhỏ trong quần thể vi sinh vật, cho thấy khả năng huy động P phụ thuộc nhiều vào nhóm vi khuẩn chuyên biệt này. Điều này nhấn mạnh tiềm năng ứng dụng vi khuẩn hòa tan lân trong cải thiện độ phì đất và hỗ trợ cây trồng ở Đồng Tháp.

### 3.2 Kết quả phân lập

Kết quả phân lập được 34 chủng vi khuẩn hòa tan lân vô cơ từ 4 mẫu đất vùng rẫy lúa hoang thu thập tại 2 địa điểm Gáo Giồng và Xẻo Quýt – Đồng Tháp (Hình 1). Bảng 1 trình bày chi tiết thông tin về địa điểm lấy mẫu, mã dòng, số lượng chủng phân lập và tọa độ thu mẫu.



Hình 1. Bản đồ vị trí thu mẫu đất tại Tỉnh Đồng Tháp

Bảng 1. Kết quả phân tích thành phần hóa lý và vi sinh của 4 mẫu đất rẫy lúa hoang thu thập ở Gáo Giồng, Xẻo Quýt – Đồng Tháp

Chỉ tiêu phân tích/ tên mẫu	GG6	GG7	XQ4	XQ5
pH	5,46	4,86	6,39	6,25
EC (mS/cm)	0,52	0,5	0,23	0,38
Độ ẩm (%)	3,29	3,27	2,97	4,08
Hàm lượng lân hòa tan (mg/L)	0,22	0,24	0,27	0,20
Tổng hàm lượng P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (mg/kg)	1,43	1,3	1,77	1,93
Tổng số vi khuẩn (CFU/g)	1,3x10 <sup>6</sup>	1,9x10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>
Tổng số vi khuẩn hòa tan (CFU/g)	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>

Chú thích: GG (Gáo Giồng); XQ (Xẻo quýt)

Bảng 2. Mã dòng, số dòng phân lập, tọa độ và vị trí thu mẫu

Mã dòng	Số dòng phân lập	Kinh độ	Vĩ độ	Địa điểm thu mẫu (tên cũ)	Địa điểm thu mẫu (tên mới)
XQ4	8	105.78958	10.37564	Xã Mỹ Long, huyện Cao Lãnh, Đồng Tháp	Xã Mỹ Hiệp, huyện Cao Lãnh, Đồng Tháp
XQ5	7	105.80196	10.39717	Xã Mỹ Long, huyện Cao Lãnh, Đồng Tháp	Xã Mỹ Hiệp, huyện Cao Lãnh, Đồng Tháp
GG6	11	105.61111	10.58925	Xã Gáo Giồng, huyện Cao Lãnh, Đồng Tháp	Xã Gáo Giồng, huyện Cao Lãnh, Đồng Tháp
GG7	8	105.62917	10.60528	Xã Gáo Giồng, huyện Cao Lãnh, Đồng Tháp	Xã Gáo Giồng, huyện Cao Lãnh, Đồng Tháp

Bảng 3 mô tả đặc điểm hình thái khuẩn lạc, tế bào của 34 dòng vi khuẩn phân lập, có thể nhận thấy sự đa dạng đáng kể trong cấu trúc khuẩn lạc và hình thái tế bào. Về hình dạng khuẩn lạc dạng điểm thường sinh trưởng chậm hoặc khả năng sinh khối hạn chế trên môi trường nhân tạo, điều này phù hợp với đặc điểm của nhiều loài vi khuẩn sống trong môi trường đất, vốn cần thời gian thích nghi và khai thác nguồn dinh dưỡng phức tạp [21]. Ngược lại, khuẩn lạc dạng tròn có xu hướng đại diện cho các vi khuẩn phát triển ổn định và đồng đều. Kết quả cho thấy khuẩn lạc dạng tròn chiếm ưu thế với 52.94% (18/34), trong khi dạng điểm chỉ chiếm 47.01% (16/34) (Hình 2).

Xét về hình thái tế bào, tỷ lệ cầu khuẩn (20/34) nhiều hơn trực khuẩn (14/34), phản ánh sự đa dạng của hệ vi sinh vật trong vùng rẫy lúa hoang. Trực khuẩn, đặc biệt là các loài thuộc chi *Bacillus* và *Pseudomonas*, thường được biết đến với khả năng sinh enzyme và acid hữu cơ giúp hòa tan lân khó tan trong đất [22].

Kết quả nhuộm Gram cho thấy có 30 dòng vi khuẩn đều là vi khuẩn Gram âm, 04 dòng vi khuẩn Gram dương. Điều này phù hợp với các nghiên cứu trước đây, điển hình như *Pseudomonas* spp., thường chiếm ưu thế trong môi trường đất ẩm và giàu chất hữu cơ, nhờ khả năng thích ứng

linh hoạt với điều kiện pH, độ mặn và hàm lượng dinh dưỡng biến động [23], [24].

Nhìn chung, kết quả phân tích đặc điểm hình thái khuẩn lạc và tế bào đã phản ánh rõ tính đa dạng của quần thể vi khuẩn vùng rễ lúa hoang

tại Đồng Tháp. Kết quả cũng cho thấy tiềm năng sinh học phong phú của nguồn tài nguyên vi sinh vật trong lúa hoang. Đây là cơ sở quan trọng để tuyển chọn các dòng vi khuẩn có khả năng hòa tan lân hiệu quả.

**Bảng 3.** Đặc điểm hình thái khuẩn lạc, hình thái tế bào và kết quả nhuộm Gram của 34 dòng vi khuẩn phân lập

STT	Mã dòng	Đặc điểm hình thái khuẩn lạc (Hình dạng, Màu sắc, Dạng bìa, Độ nổi)	Hình dạng tế bào	Gram
1	GG6.1	Tròn, vàng, nguyên, phẳng	Que	(-)
2	GG6.2	Tròn, trắng trong, nguyên, hơi lồi.	Que	(-)
3	GG6.3	Điểm, trắng đục, nguyên, phẳng.	Que	(-)
4	GG6.4	Điểm, trắng đục, gợn sóng, phẳng.	Cầu	(-)
5	GG6.5	Tròn có nhân, trắng trong, gợn sóng, phẳng.	Cầu	(-)
6	GG6.6	Tròn, trắng đục, gợn sóng, phẳng.	Que	(-)
7	GG6.7	Điểm, trắng đục, gợn sóng, phẳng.	Cầu	(-)
8	GG6.8	Điểm, trắng đục, gợn sóng, phẳng.	Que	(-)
9	GG6.9	Điểm, trắng đục, gợn sóng, phẳng.	Cầu	(-)
10	GG6.10	Điểm, vàng nhạt, nguyên, phẳng.	Que	(-)
11	GG6.11	Tròn, trắng đục, nguyên, phẳng.	Que	(-)
12	GG7.1	Điểm, trắng đục, nguyên, phẳng.	Que	(-)
13	GG7.2	Điểm, trắng đục, nguyên, phẳng	Que	(-)
14	GG7.3	Điểm, trắng trong, gợn sóng, phẳng.	Cầu	(-)
15	GG7.4	Điểm, trắng đục, gợn sóng, phẳng.	Que	(-)
16	GG7.5	Điểm, trắng đục, nguyên, phẳng.	Cầu	(-)
17	GG7.6	Tròn, trắng trong, nguyên, hơi lồi.	Cầu	(+)
18	GG7.7	Điểm, trắng trong, gợn sóng, phẳng.	Cầu	(-)
19	GG7.8	Điểm, trắng trong, gợn sóng, phẳng.	Que	(-)
20	XQ4.1	Tròn, trắng đục, nguyên, lồi	Cầu	(+)
21	XQ4.2	Tròn có nhân, trắng đục, gợn sóng, phẳng	Cầu	(-)
22	XQ4.3	Tròn, vàng trong, gợn sóng, lồi	Cầu	(-)
23	XQ4.4	Tròn không đều, trắng đục, nguyên, phẳng	Cầu	(-)
24	XQ4.5	Tròn, trắng đục, gợn sóng, lồi	Cầu	(-)

STT	Mã dòng	Đặc điểm hình thái khuẩn lạc (Hình dạng, Màu sắc, Dạng bìa, Độ nổi)	Hình dạng tế bào	Gram
25	XQ4.6	Điểm có nhân, trắng đục, gợn sóng, lồi	Cầu	(-)
26	XQ4.7	Tròn, trắng đục, nguyên, lồi ít	Cầu	(-)
27	XQ4.8	Tròn, trắng trong, chia thùy, lồi	Cầu	(-)
28	XQ5.1	Điểm, trắng đục, phẳng, lồi	Cầu	(-)
29	XQ5.2	Tròn, trắng trong, gợn sóng, lồi	Que	(-)
30	XQ5.3	Tròn, trắng, nguyên, lồi	Cầu	(+)
31	XQ5.4	Điểm, trắng trong, nguyên, phẳng	Cầu	(-)
32	XQ5.5	Tròn, trắng trong, chia thùy, phẳng	Que	(-)
33	XQ5.6	Tròn, vàng đục, gợn sóng, lồi	Que	(-)
34	XQ5.7	Tròn, trắng trong, gợn sóng, lồi	Cầu	(+)

**Bảng 4.** Đặc điểm sinh hóa của các dòng vi khuẩn hòa tan lân vô cơ được phân lập

STT	Dòng	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)
1	GG6.1	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
2	GG6.2	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+
3	GG6.3	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
4	GG6.4	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+
5	GG6.5	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
6	GG6.6	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
7	GG6.7	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
8	GG6.8	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
9	GG6.9	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
10	GG6.10	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
11	GG6.11	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
12	GG7.1	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
13	GG7.2	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
14	GG7.3	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
15	GG7.4	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
16	GG7.5	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
17	GG7.6	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-
18	GG7.7	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
19	GG7.8	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
20	XQ4.1	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-

STT	Dòng	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)
21	XQ4.2	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+
22	XQ4.3	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
23	XQ4.4	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+
24	XQ4.5	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
25	XQ4.6	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
26	XQ4.7	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+
27	XQ4.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
28	XQ5.1	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
29	XQ5.2	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
30	XQ5.3	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-
31	XQ5.4	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+
32	XQ5.5	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
33	XQ5.6	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+
34	XQ5.7	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+

Chú thích: “+”: Dương tính; “-”: Âm tính

(1): Thử nghiệm Indole; (2): Thử nghiệm Methyl red; (3): Thử nghiệm Voges – Proskauer; (4): Thử nghiệm Citrate Simmon; (5,6,7,8): Thử nghiệm sử dụng nguồn cacbon (5: Sucrose; 6: Maltose; 7: Glucose; 8: Lactose); (9): Thử nghiệm Urease; (10): Thử nghiệm sinh H<sub>2</sub>S; (11): Thử nghiệm thủy phân tinh bột; (12): Thử nghiệm catalase; (13): Thử nghiệm di động



Hình 2. Đặc điểm khuẩn lạc trên môi trường NBRIP

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy các chủng vi khuẩn hòa tan lân vô cơ được phân lập thể hiện sự đa dạng rõ rệt về đặc điểm sinh hóa, phản ánh tiềm năng khác biệt trong huy động phosphate khó tan. Đáng chú ý, phần lớn các chủng dương tính với catalase, chứng tỏ hệ thống enzyme hô hấp hoạt động mạnh. Đây là nền tảng cho quá trình trao đổi chất năng lượng cao, tạo điều kiện để vi khuẩn tiết ra các acid hữu cơ tham gia trực tiếp vào hòa tan lân [21].

Khả năng sử dụng các nguồn carbon đa dạng như glucose, sucrose, maltose được ghi nhận ở nhiều chủng, đóng vai trò quan trọng

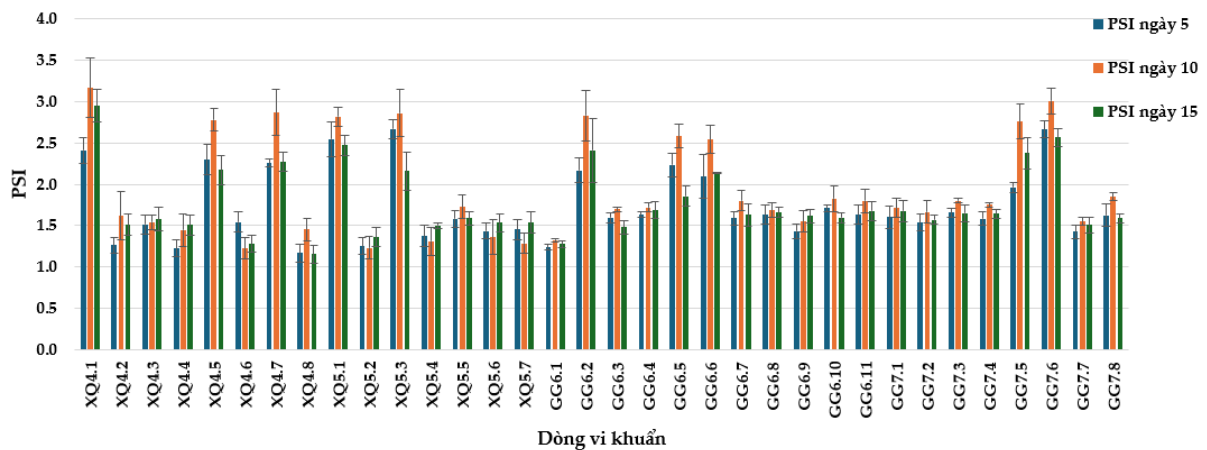
trong quá trình lên men và chuyển hóa carbohydrate thành các acid hữu cơ như gluconic, citric, oxalic hoặc lactic acid. Các acid này có khả năng hạ pH môi trường và tạo phức với ion kim loại Ca<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Al<sup>3+</sup> trong các muối phosphate khó tan, từ đó giải phóng ion phosphate ở dạng dễ tiêu cho cây trồng [22], [23]. Bên cạnh đó, một số chủng dương tính với thử nghiệm thủy phân tinh bột cho thấy khả năng phân giải polysaccharide, cung cấp thêm đường đơn cho quá trình lên men acid, gián tiếp hỗ trợ cơ chế hòa tan lân.

### 3.3 Kết quả định tính khả năng hòa tan lân vô cơ

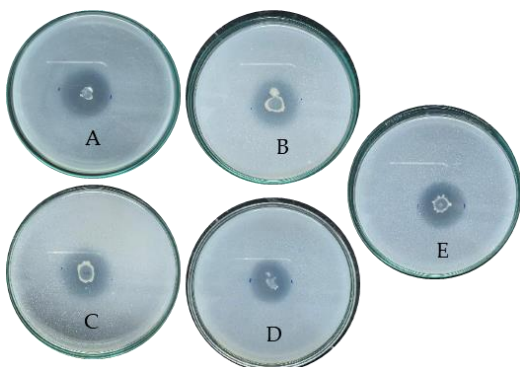
Kết quả Hình 4 cho thấy có sự khác biệt rõ rệt về khả năng hòa tan lân giữa các chủng. Cụ thể, 24/34 dòng vi khuẩn có chỉ số PSI < 2,0, cho thấy khả năng hòa tan lân yếu, có thể do sự sản xuất acid hữu cơ hạn chế hoặc hoạt tính enzyme không đủ. Ngược lại, 10/34 dòng vi khuẩn có PSI

> 2,5, phản ánh tiềm năng hòa tan lân mạnh. Nhóm này nhiều khả năng bao gồm các chủng sở hữu con đường trao đổi chất hiệu quả hơn trong việc sản sinh acid hoặc các cơ chế khác góp phần giải phóng lân từ dạng khó tan. Đáng chú ý, 10 chủng được xác định với giá trị PSI dao động từ 2,5 đến 3,2 đo được ở ngày thứ 10 (Hình 4), đại

diện cho nhóm vi khuẩn có khả năng hòa tan mạnh nhất trong số các chủng được thử nghiệm. Những chủng này đã được tuyển chọn để phân tích định lượng, nhằm đo lường chính xác hàm lượng lân hòa tan, làm cơ sở cho việc tuyển chọn dòng cho thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của muối và pH khác nhau [24].



Hình 3. Kết quả định tính khả năng hòa tan lân của 34 dòng vi khuẩn phân lập



Hình 4. PSI của 5 dòng vi khuẩn được đo vào ngày 10 trên môi trường đĩa NBRIP (A: XQ4.1; B: XQ4.7; C: XQ5.3; D: GG6.2; E: GG7.6)

### 3.4 Kết quả định lượng hàm lượng lân hòa tan

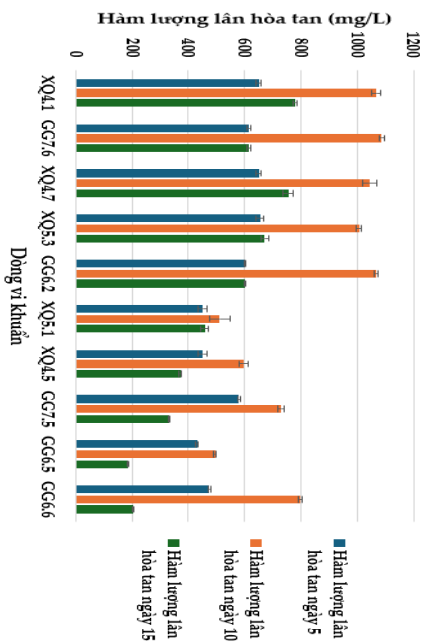
Kết quả ở Hình 5 cho thấy hàm lượng lân hòa tan của 10 chủng vi khuẩn có sự khác biệt rõ rệt giữa các mốc thời gian. Xu hướng chung là hàm lượng lân hòa tan tăng nhanh từ ngày 5 đến ngày 10, sau đó có dấu hiệu giảm ở ngày 15. Hiện tượng này có thể được giải thích bởi quá trình tiết acid hữu cơ của vi khuẩn trong giai đoạn sinh trưởng lũy thừa, giúp phá vỡ liên kết  $Ca^{2+}$  trong

các muối phosphate khó tan và giải phóng phosphate vào dung dịch [25], [26]. Đến ngày 15, sự giảm nhẹ hàm lượng lân hòa tan có thể do pH môi trường bị hạ thấp quá mức, làm ức chế sự phát triển của vi khuẩn hoặc dẫn đến hiện tượng tái kết tủa phosphate dưới dạng muối thứ cấp, như đã được ghi nhận trong nhiều báo cáo trước đây [27].

Đáng chú ý, năm chủng GG6.2, GG7.6, XQ4.1, XQ4.7 và XQ5.3 cho thấy hàm lượng hòa tan lân cao nhất, đạt khoảng 1.000 mg/L vào ngày 10. Đây là mức đáng kể so với các nghiên cứu trong và ngoài nước, nơi phần lớn các chủng PSB chỉ đạt trung bình từ 400 – 800 mg/L trong điều kiện nuôi cấy in vitro [23], [28]. Việc các chủng này duy trì mức hòa tan cao cho thấy tiềm năng ứng dụng lớn trong sản xuất phân vi sinh, đặc biệt ở những vùng đất khó khăn về dinh dưỡng như đất mặn hoặc đất phèn.

Nhìn chung, kết quả thí nghiệm này phù hợp với những ghi nhận trước đây của nhiều nghiên cứu, cho rằng hoạt động hòa tan

phosphate thường đạt cực đại sau 7 – 10 ngày nuôi cấy, trước khi giảm dần do tác động kết hợp giữa pH, sự cạn kiệt nguồn carbon và hiện tượng tái kết tủa khoáng. Điều này củng cố cơ sở khoa học cho việc tuyển chọn các chủng vi khuẩn có hiệu quả cao, phục vụ các thử nghiệm chuyên sâu hơn về khả năng chịu mặn và chịu phèn [19], [29], [30].

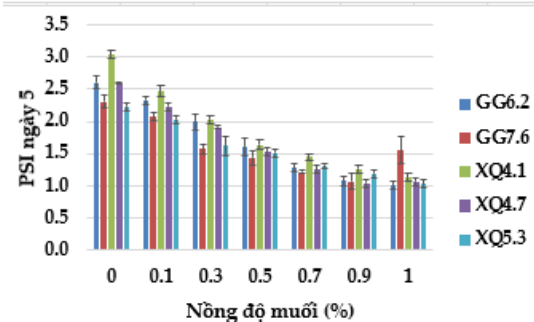
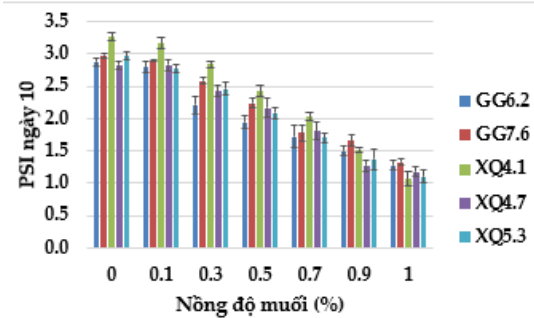
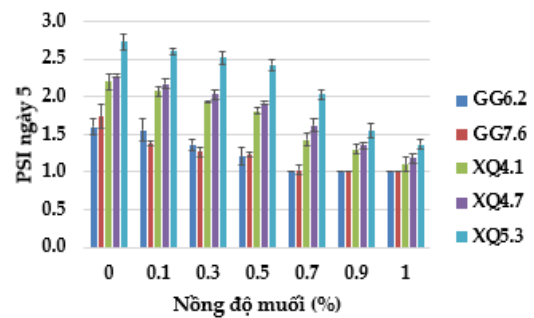


Hình 5. Hàm lượng lần hòa tan (mg/L) của 10 dòng vi khuẩn theo thời gian 5, 10 và 15 ngày

### 3.5 Kết quả đánh giá ảnh hưởng của nồng độ muối NaCl

Kết quả nghiên cứu cho thấy cả giá trị PSI và hàm lượng lần hòa tan đều giảm khi nồng độ muối tăng. Đồng thời, kết quả cũng chỉ ra rằng muối có ảnh hưởng đến khả năng hòa tan lần của cả 5 dòng khảo sát và mỗi dòng vi khuẩn sẽ chịu ảnh hưởng bởi muối khác nhau. Ở nồng độ muối 0% ngày 5, PSI của cả 5 dòng đều lớn hơn 1,5, khi nồng độ muối tăng lên 1% thì có 2 dòng GG6.2 và GG7.6 có PSI giảm xuống dưới 1,0, 3 dòng XQ có PSI giảm nhẹ dao động dưới 1,5, điều này cho thấy các dòng của nhóm mẫu XQ ít chịu ảnh hưởng bởi muối hơn các dòng của nhóm mẫu GG (Hình 8). Tuy nhiên, khi thời gian stress muối kéo

dài đến 10, 15 ngày, các dòng GG6.2 và GG7.6 thể hiện tính ổn định về khả năng chịu đựng muối tốt hơn các dòng còn lại, cụ thể dòng GG7.6 ở nồng độ muối 1% vào ngày 15 vẫn giữ chỉ số PSI gần 1,5 (Hình 6).

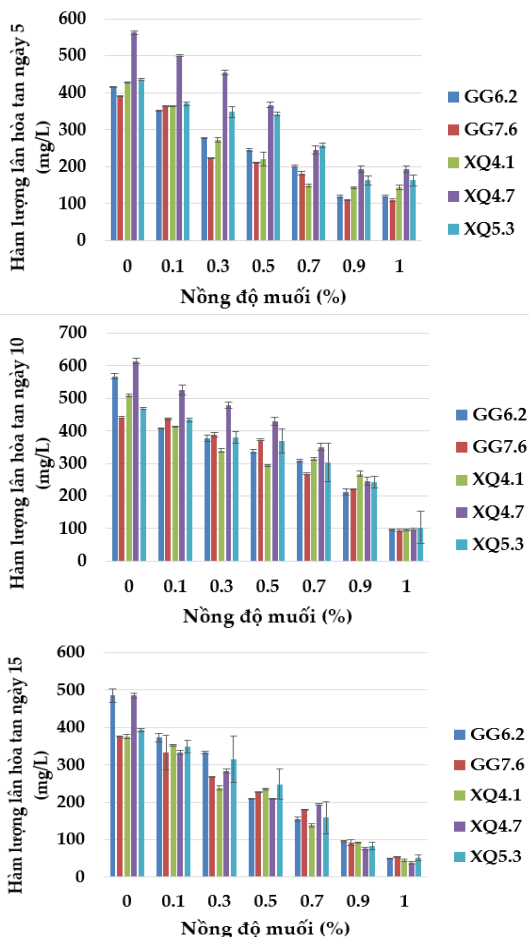


Hình 6. Ảnh hưởng của nồng độ muối đến PSI theo thời gian 5, 10 và 15 ngày

Sau 5 ngày, tất cả các chủng đều thể hiện khả năng hòa tan lần cao nhất trong điều kiện không mặn (0% NaCl), với nồng độ dao động khoảng 300 - 500 mg/L. Hàm lượng lần giảm đáng kể khi độ mặn tăng, giảm xuống dưới 200 mg/L ở mức 1% NaCl (Hình 7).

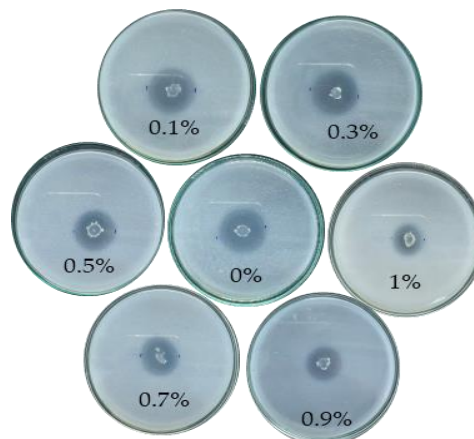
Đến ngày thứ 10, hàm lượng lần hòa tan cao nhất lên đến trên 700 mg/L ở nồng độ 0% NaCl, đặc biệt đối với các chủng GG6.2 và XQ4.7. Tuy nhiên, khi nồng độ muối tăng, giá trị này

giảm dần, xuống còn khoảng 100 mg/L hoặc thấp hơn ở mức 1% NaCl. Vào ngày thứ 15, hàm lượng lân tiếp tục giảm, đặc biệt trong điều kiện độ mặn cao, hàm lượng lân dưới 50 mg/L (Hình 7).



**Hình 7.** Hàm lượng lân hòa tan (mg/L) ở các nồng độ muối khác nhau theo thời gian 5,10 và 15 ngày

Như vậy, quá trình hòa tan lân diễn ra tối ưu trong điều kiện độ mặn thấp và giảm dần khi nồng độ muối tăng, mặc dù sự khác biệt về khả năng chịu mặn giữa các chủng vẫn được ghi nhận. Nhiều nghiên cứu về khả năng chịu mặn của các chủng PSB đã chỉ ra rằng các vi khuẩn này có mức độ chịu mặn tương đối cao, đặc biệt là những chủng được phân lập từ đất mặn [31], [13]. Ngược lại, các chủng PSB trong nghiên cứu này thể hiện khả năng chịu mặn thấp hơn so với các nghiên cứu kể trên, do đất ở Đồng Tháp thuộc nhóm đất không mặn so với các khu vực nghiên cứu khác.

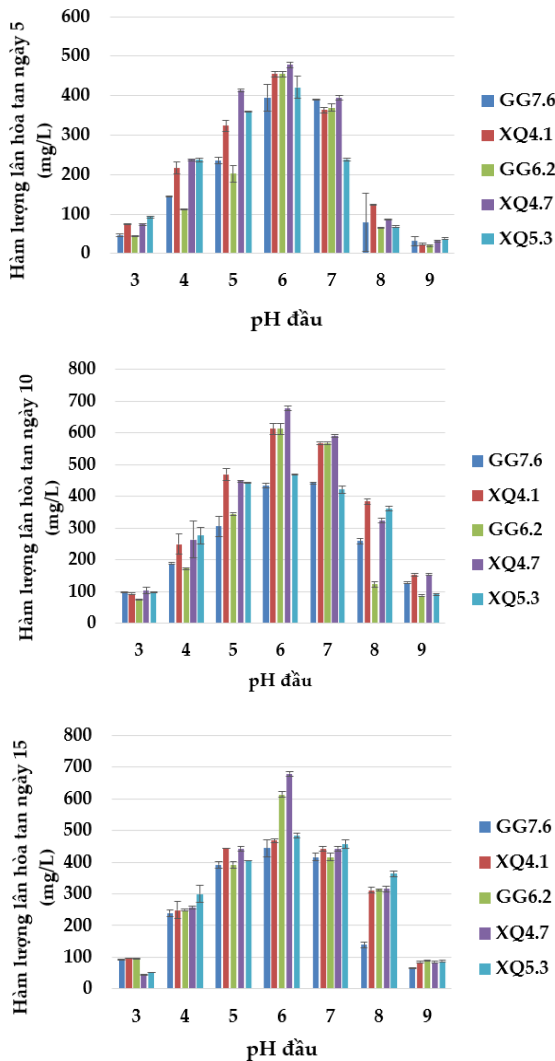


**Hình 8.** Ảnh hưởng của nồng độ muối khác nhau đến chỉ số PSI của dòng XQ4.1 đo được vào ngày 10

### 3.6 Kết quả đánh giá ảnh hưởng của pH khác nhau

Kết quả thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của pH khác nhau được trình bày trong Hình 9. Hàm lượng lân hòa tan đạt mức cao nhất ở điều kiện pH trung tính, với hàm lượng lên tới khoảng 700 mg/L vào ngày thứ 10, đặc biệt tại pH 7. Ở điều kiện hơi acid (pH 5–6), vi khuẩn vẫn duy trì được hoạt tính hòa tan lân ở mức trung bình, trong khi môi trường acid mạnh (pH 3–4) và kiềm (pH 8–9) đã làm giảm đáng kể hiệu quả hòa tan lân.

Tác động ức chế vi khuẩn của pH thấp thể hiện rõ nhất ở pH 3, khi hàm lượng lân hòa tan giảm xuống chỉ còn dưới 100 mg/L vào ngày 10. Đến ngày thứ 15, khả năng hòa tan lân suy giảm ở tất cả các mức pH của cả 5 dòng, đặc biệt trong điều kiện pH quá acid. Điều này cho thấy việc tiếp xúc kéo dài với môi trường không tối ưu như mặn nhiều hoặc quá acid sẽ làm suy yếu hoạt động hòa tan lân của vi khuẩn (Hình 9). Những kết quả tương tự cũng đã được ghi nhận trong các nghiên cứu trước đây [32], [33], [34].



**Hình 9.** Ảnh hưởng của pH đến khả năng hòa tan lân vô cơ của 5 dòng vi khuẩn

Kết quả cho thấy các chủng vi khuẩn hòa tan lân (PSB) được thử nghiệm không có khả năng chịu đựng trong môi trường quá acid, hoạt động hòa tan lân hiệu quả trong điều kiện pH trung tính. Hạn chế này có thể bắt nguồn từ nguồn gốc của các chủng phân lập, vốn được thu thập từ đất không mang tính hơi acid nhẹ và trung tính, dẫn đến sự thích nghi kém với môi trường có độ acid cao. Ngược lại, các chủng PSB được phân lập từ đất phèn thường thể hiện khả năng chịu pH thấp tốt hơn.

### 3.7 Kết quả định danh bằng kỹ thuật sinh học phân tử

Kết quả định danh năm chủng vi khuẩn được trình bày trong Bảng 5. Cả năm dòng vi khuẩn đều thể hiện khả năng hòa tan lân vô cơ tương đối cao. Những phát hiện này phù hợp với các nghiên cứu trước đây đã ghi nhận các đặc tính tương tự ở những chủng vi khuẩn có quan hệ gần gũi [35], [36], [37], [38], [39], [40], [41], [42], [43].

**Bảng 5.** Kết quả định danh 5 dòng vi khuẩn

Dòng	Điểm cao nhất	Độ bao phủ (%)	Độ tương đồng (%)	Số đăng ký trên NCBI	Kết luận
GG6.2	1096	100	99.40	PX401567.1	<i>Klebsiella</i> sp.
GG7.6	1500	100	100	PX399132.1	<i>Mammaliicoccus</i> sp.
XQ4.1	1434	100	99.87	PX399130.1	<i>Mammaliicoccus</i> sp.
XQ4.7	1424	100	100	PX401566.1	<i>Klebsiella</i> sp.
XQ5.3	1334	100	100	PX399131.1	<i>Mammaliicoccus</i> sp.

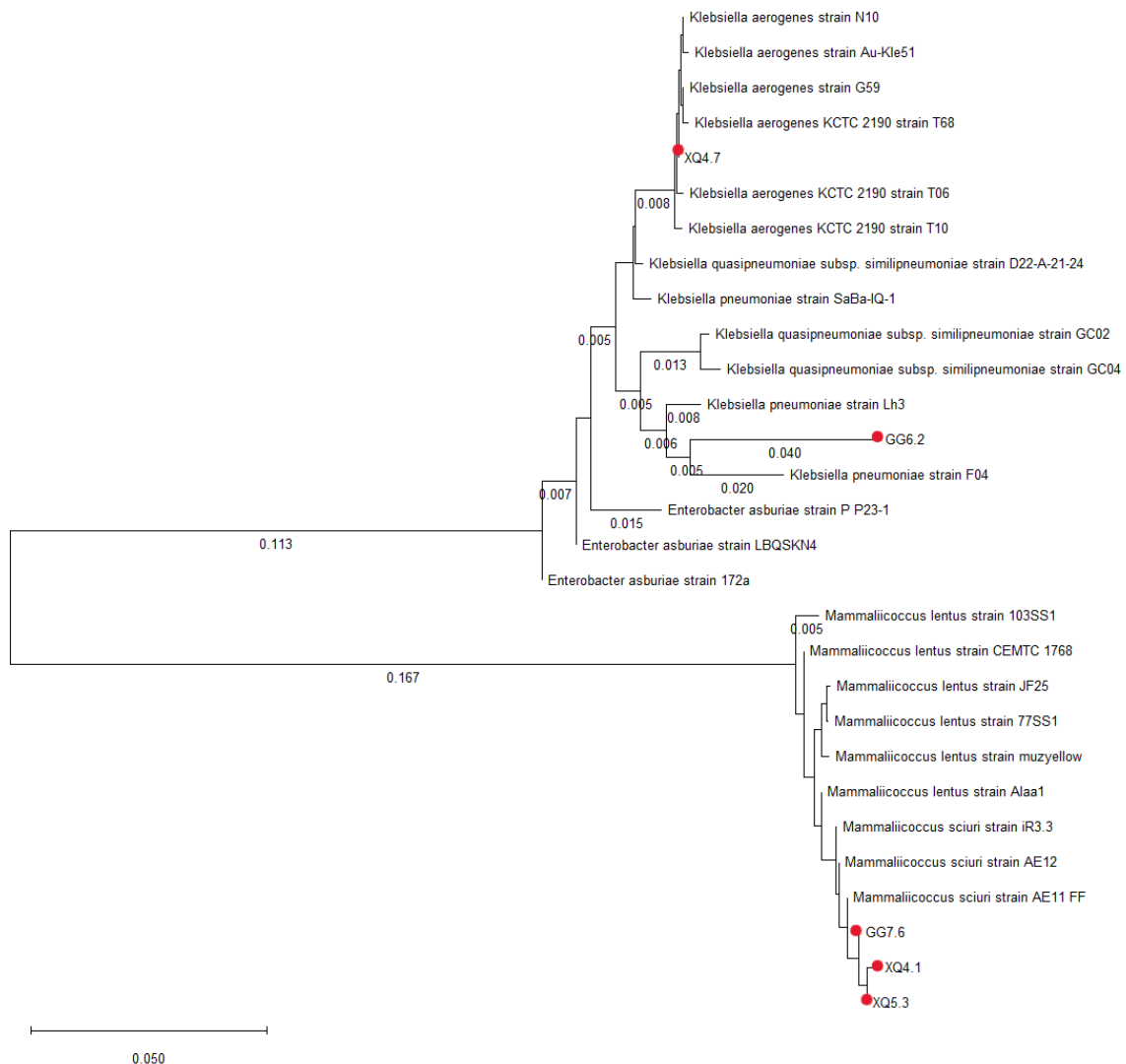
Cây phát sinh chủng loại (Hình 10) cho thấy năm chủng vi khuẩn hòa tan lân được phân lập trong nghiên cứu này (đánh dấu bằng chấm tròn đỏ) có quan hệ gần gũi với các loài đã được biết đến. Cụ thể, các chủng GG6.2 và XQ4.7 tạo nhóm với *Klebsiella* sp., 3 chủng còn lại có quan hệ gần với *Mammaliicoccus* sp.. Những mối quan hệ này củng cố cho kết quả định danh phân loại và làm nổi bật sự tương đồng di truyền của các chủng phân lập với các loài vi khuẩn hòa tan lân đã được xác nhận.

*Mammaliicoccus* là một chi tương đối mới được tách ra từ chi *Staphylococcus*, chủ yếu được ghi nhận trong các môi trường liên quan đến động vật và con người, trong khi các báo cáo về sự hiện diện và chức năng của chi này trong đất, đặc biệt là vùng rễ cây trồng, còn rất hạn chế [44]. Việc phát hiện các chủng *Mammaliicoccus* sp.

(GG7.6, XQ4.1 và XQ5.3) có khả năng hòa tan lân vô cơ cao và duy trì hoạt tính trong điều kiện mặn nhẹ cho thấy tiềm năng sinh thái chưa được khai thác của chi vi khuẩn này trong môi trường đất rẫy. Điều này gợi ý rằng *Mammaliicoccus* sp. có thể đã thích nghi với các điều kiện đặc thù của hệ sinh thái đất rẫy lúa hoang, nơi thường xuyên chịu tác động của ngập nước, mặn nhẹ và biến động pH.

Từ góc độ tính mới, nghiên cứu này là một trong số ít các công trình ghi nhận và so sánh vai trò của *Klebsiella* sp. và *Mammaliicoccus* sp. trong

hoạt động hòa tan lân vô cơ từ đất rẫy lúa hoang tại vùng Đồng bằng sông Cửu Long. Việc chứng minh khả năng hòa tan lân và chịu muối của hai chi này không chỉ mở rộng hiểu biết về đa dạng chức năng của vi sinh vật vùng rẫy trong hệ sinh thái tự nhiên, mà còn cung cấp cơ sở khoa học cho việc khai thác các nguồn vi sinh vật bản địa làm chế phẩm sinh học phục vụ sản xuất nông nghiệp bền vững trong bối cảnh biến đổi khí hậu và gia tăng xâm nhập mặn.



Hình 10. Sơ đồ phả hệ 5 dòng vi khuẩn định danh bằng kỹ thuật sinh học phân tử

## 4 Kết luận

Nghiên cứu này đã phân lập thành công 34 chủng vi khuẩn hòa tan lân vô cơ (PSB) từ đất vùng rẫy lúa hoang được thu thập tại hai xã của tỉnh Đồng Tháp. Trong số các chủng được phân lập, năm chủng GG6.2, GG7.6, XQ4.1, XQ4.7 và XQ5.3 thể hiện khả năng hòa tan lân vượt trội, với hàm lượng lân hòa tan đạt gần 1.000 mg/L trong điều kiện nuôi cấy in vitro. Các chủng này duy trì khả năng hòa tan lân tương đối ổn định ở nồng độ NaCl lên đến 1%, cho thấy tiềm năng thích nghi trong điều kiện đất nhiễm mặn nhẹ, một vấn đề phổ biến tại khu vực Đồng bằng sông Cửu Long. Tuy nhiên, hiệu suất hòa tan lân giảm đáng kể trong môi trường có pH acid nhẹ (3–4) và môi trường kiềm (8–9), trong khi hoạt tính đạt cao nhất ở khoảng pH trung tính (6–7), khẳng định vai trò then chốt của pH đất trong việc phát huy hiệu quả của vi khuẩn hòa tan lân. Kết quả định danh phân tử dựa trên trình tự gen 16S rRNA cho thấy các chủng tiềm năng thuộc hai chi *Klebsiella* và *Mammaliicoccus*, những nhóm vi khuẩn đã được ghi nhận có khả năng tham gia vào chu trình dinh dưỡng và cải thiện tính sẵn có của lân trong đất. Những phát hiện này không chỉ góp phần làm rõ vai trò của hệ vi sinh vật vùng rẫy lúa hoang như một nguồn tài nguyên sinh học tiềm năng, mà còn cung cấp cơ sở khoa học cho việc tuyển chọn và phát triển các chủng vi khuẩn hòa tan lân làm chế phẩm vi sinh, hướng tới nâng cao hiệu quả sử dụng phân lân và phát triển nông nghiệp bền vững trong điều kiện đất nhiễm mặn và biến động pH.

### Tài liệu tham khảo

1. Kiprotich K, Muema E, Wekesa C, Ndombi T, Muoma J, Omayio D, et al. Unveiling the roles, mechanisms and prospects of soil microbial communities in sustainable agriculture. *Discover Soil*. 2025;2(1):10.
2. Mehnaz S, Kowalik T, Reynolds B, Lazarovits G. Growth promoting effects of corn (*Zea mays*) bacterial isolates under greenhouse and field conditions. *Soil Biology and Biochemistry*. 2010;42(10):1848-56.
3. Alori ET, Babalola OO, Prigent-Combaret C. Impacts of microbial inoculants on the growth and yield of maize plant. *Open Agric J*. 2019;13(1):1-8.
4. Dhillon J, Torres G, Driver E, Figueiredo B, Raun WR. World Phosphorus Use Efficiency in Cereal Crops. *Agronomy Journal*. 2017;109(4):1670-7.
5. Kumar S, Diksha, Sindhu SS, Kumar R. Harnessing phosphate-solubilizing microorganisms for mitigation of nutritional and environmental stresses, and sustainable crop production. *Planta*. 2025;261(5):95.
6. Torres-Cuesta D, Mora-Motta D, Chavarro-Bermeo JP, Olaya-Montes A, Vargas-Garcia C, Bonilla R, et al. Phosphate-Solubilizing Bacteria with Low-Solubility Fertilizer Improve Soil P Availability and Yield of Kikuyu Grass. *Microorganisms*. 2023;11(7).
7. Lei Y, Kuai Y, Guo M, Zhang H, Yuan Y, Hong H. Phosphate-solubilizing microorganisms for soil health and ecosystem sustainability: a forty-year scientometric analysis (1984–2024). *Frontiers in Microbiology*. 2025;Volume 16 - 2025.
8. Lam DT, Buu BC, Lang NT, Toriyama K, Nakamura I, Ishikawa R. Genetic diversity among perennial wild rice *Oryza rufipogon* Griff., in the Mekong Delta. *Ecology and Evolution*. 2019;9(5):2964-77.
9. Barillot CDC, Sarde C-O, Bert V, Tarnaud E, Cochet N. A standardized method for the sampling of rhizosphere and rhizoplan soil bacteria associated to a herbaceous root system. *Annals of Microbiology*. 2013;63(2):471-6.
10. Nautiyal CS. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*. 1999;170(1):265-70.
11. Lapage SP, Shelton JE, Mitchell TG, Mackenzie AR. Chapter II Culture Collections and the Preservation of Bacteria. In: Norris JR, Ribbons DW, editors. *Methods in Microbiology*. Academic Press; 1970. p. 135-228.
12. Cappuccino JG, Welsh C. Provide new learning pathways to understand the why behind the science. London: Pearson; 2020.
13. Teles EAP, Xavier JF, Arcênio FS, Amaya RL, Gonçalves JVS, Rouws LFM, et al. Characterization and evaluation of potential halotolerant phosphate

- solubilizing bacteria from *Salicornia fruticosa* rhizosphere. *Frontiers in Plant Science*. 2024;Volume 14 - 2023.
14. Afzal A, Bano A. Rhizobium and phosphate solubilizing bacteria improve the yield and phosphorus uptake in wheat (*Triticum aestivum*). *International Journal of Agriculture and Biology*. 2008;10(1):85–88.
  15. Kirui CK, Njeru EM, Runo S. Diversity and phosphate solubilization efficiency of phosphate solubilizing bacteria isolated from semi-arid agroecosystems of eastern Kenya. *Microbiology Insights*. 2022;15:1-12.
  16. Mahdi I, Fahsi N, Hafidi M, Allaoui A, Biskri L. Plant growth enhancement using rhizospheric halotolerant phosphate solubilizing bacterium *Bacillus licheniformis* QA1 and *Enterobacter asburiae* QF11 isolated from *Chenopodium quinoa* willd. *Microorganisms*. 2020;8(6):1–21.
  17. Chen YP, Rekha PD, Arun AB, Shen FT, Lai WA, Young CC. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied Soil Ecology*. 2006;34(1):33-41.
  18. Murphy J, Riley JP. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*. 1962;27:31-6.
  19. Suleimanova A, Bulmakova D, Sokolnikova L, Egorova E, Itkina D, Kuzminova O, et al. Phosphate solubilization and plant growth promotion by *Pantoea brenneri* soil isolates. *Microorganisms*. 2023;11(5):1136.
  20. Stanton BG, Robbert AS, Desh PSV. *Plant molecular biology manual*. Dordrecht: Springer Dordrecht; 2000.
  21. de Souza R, Ambrosini A, Passaglia LMP. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genetics and Molecular Biology*. 2015;38(4):401-419.
  22. Zaidi A, Khan MS, Ahemad M, Oves M, Wani PA. Recent Advances in Plant Growth Promotion by Phosphate-Solubilizing Microbes. In: Khan MS, Zaidi A, Musarrat J, editors. *Microbial Strategies for Crop Improvement*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2009. p. 23-50.
  23. Anuroopa N, Anshu BR, Ranadev P, Ashwin R, Bagyaraj DJ. *Pseudomonas* species in soil as a natural resource for plant growth promotion and biocontrol characteristics - an overview. *Madras Agricultural Journal*. 2021;108:10-12.
  24. Rashid MI, Mujawar LH, Shahzad T, Almeelbi T, Ismail IMI, Oves M. Bacteria and fungi can contribute to nutrients bioavailability and aggregate formation in degraded soils. *Microbiol Res*. 2016;183:26-41.
  25. Richardson AE, Simpson RJ. Soil microorganisms mediating phosphorus availability. *Plant Physiol*. 2011;156(3):989-996.
  26. Rodríguez H, Fraga R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnol Adv*. 1999;17(4-5):319-339.
  27. Sarker A, Talukder NM, Islam MT. Phosphate solubilizing bacteria promote growth and enhance nutrient uptake by wheat. *Plant Sci Today*. 2014;1(2):86-93.
  28. Zenelt W, Pruciak-Nowak A, Krawczyk K. Plant growth promotion of crops using the phosphate solubilizing bacterial strains derived from insects. *J Plant Prot Res*. 2024;64(3):321-335.
  29. Sharma SB, Sayyed RZ, Trivedi MH, Gobi TA. Algaemia due to *Prototheca wickerhamii* in a patient with myasthenia gravis. *J Clin Microbiol*. 1997;35(2):587.
  30. Singh H, Reddy MS. Effect of inoculation with phosphate solubilizing fungus on growth and nutrient uptake of wheat and maize plants fertilized with rock phosphate in alkaline soils. *Eur J Soil Biol*. 2011;47(1):30-34.
  31. Fenta L, Assefa F. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from tomato (*Solanum L.*) rhizosphere and their effect on growth and phosphorus uptake of the host plant under green house experiment. *Int J Adv Res*. 2017;5(2):1-49.
  32. Gizaw B, Tsegaye Z, Genene T, Endegen A, Wassie M, Abatenh E, et al. Phosphate solubilizing fungi isolated and characterized from Teff rhizosphere soil collected from North Showa zone, Ethiopia. *Afr J Microbiol Res*. 2017;11(17):687-696.
  33. Jiang H, Qi P, Wang T, Wang M, Chen M, Chen N, et al. Isolation and characterization of halotolerant phosphate-solubilizing microorganisms from saline soils. *3 Biotech*. 2018;8(11):461.
  34. Chaiharn M, Pathom-Aree W, Sujada N, Lumyong S. Characterization of phosphate solubilizing *Streptomyces* as a biofertilizer. *Chiang Mai J Sci*. 2019;45(2):701-716.

35. Zhang C, Chen H, Dai Y, Chen Y, Tian Y, Huo Z. Isolation and screening of phosphorus solubilizing bacteria from saline alkali soil and their potential for Pb pollution remediation. *Front Bioeng Biotechnol.* 2023;11:1146313.
36. Yang Z, Liu Z, Zhao F, Yu L, Yang W, Si M, et al. Organic acid, phosphate, sulfate and ammonium co-metabolism releasing insoluble phosphate by *Klebsiella aerogenes* to simultaneously stabilize lead and cadmium. *J Hazard Mater.* 2022;443:130378.
37. Soares AS, Nascimento VL, de Oliveira EE, Jumbo VL, dos Santos GR, Queiroz LL, et al. *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus cereus* isolated from Brazilian Cerrado soil act as phosphate-solubilizing bacteria. *Curr Microbiol.* 2023;80(5):146.
38. Maheswar U, Sathiyavani G. Solubilization of phosphate by *Bacillus* sps., from groundnut rhizosphere (*Arachis hypogaea* L). *J Chem Pharm Res.* 2012;4(8):4007-4011.
39. Zhou X, Yang Q, Long K, Tang X, Luo L, Wu Z, et al. Effect of *Bacillus cereus* mutant strain S458-M on active phosphorus and crucian carp in culture systems. *Aquaculture.* 2023;573:739627.
40. Kang SM, Khan MA, Hamayun M, Kim LR, Kwon EH, Kang YS, et al. Phosphate-solubilizing *Enterobacter ludwigii* AFFR02 and *Bacillus megaterium* Mj1212 rescues alfalfa's growth under post-drought stress. *Agriculture.* 2021;11(6):549.
41. Adhikari A, Lee KE, Khan MA, Kang SM, Adhikari B, Imran M, et al. Effect of silicate and phosphate solubilizing rhizobacterium *Enterobacter ludwigii* GAK2 on *Oryza sativa* L. under cadmium stress. *J Microbiol Biotechnol.* 2020;30(1):118-126.
42. Li KS, Zeghbrock V, Liu JQ, Zhang S. Isolating and characterizing phosphorus solubilizing bacteria from rhizospheres of native plants grown in calcareous soils. *Front Environ Sci.* 2021;9:795453.
43. Li Q, Zhang Q, Liao S, Xing D, Xiao Y, Zhou D, et al. Mechanism of lead adsorption by a *Bacillus cereus* strain with indole-3-acetic acid secretion and inorganic phosphorus dissolution functions. *BMC Microbiol.* 2023;23(1).
44. Kochel-Karakulska J, Maślanko M, Woroszyło M, Szewczuk M, Grygorcewicz B, Fijałkowski K. Species diversity, virulence, and antimicrobial resistance of the nasal Staphylococcal and Mammaliicoccal biota of reindeer. *BMC Vet Res.* 2025;21(1):394.