NGHIÊN CỨU SỰ BIỂU HIỆN CỦA MỘT SỐ GEN LIÊN QUAN ĐẾN ĐÁP ỨNG MẶN CỦA CÂY LÚA DƯỚI SỰ HỖ TRỢ CỦA CHỦNG VI SINH VẬT *BACILLUS ARYABHATTAI* RL7

Vũ Văn Dũng[1*], Nguyễn Ngọc Lan[2], Lê Đức Anh[1],
Nguyễn Thị Nhàn, Đỗ Hữu Nghị[3], Nguyễn Huy Hoàng[2]

Tóm tắt: *Sự sinh trưởng và phát triển của cây lúa bị ảnh hưởng khi đất bị nhiễm mặn. Tuy nhiên, một số loài vi sinh vật nội sinh chịu mặn sinh chất kích thích sinh trưởng thực vật có khả năng hỗ trợ cây lúa chống chịu với stress mặn. Trong nghiên cứu này, chủng vi sinh vật nội sinh chịu mặn sinh chất kích thích sinh trưởng thực vật B.aryabhattai RL7 được đánh giá khả năng sinh 1-aminocyclopropan-1-carboxylate (ACC) deaminase, khả năng cố định đạm và tác dụng hỗ trợ sự sinh trưởng và phát triển của cây lúa khi bị nhiễm mặn. Chủng B. aryabhattai RL7 làm tăng khả năng sinh trưởng (tăng chiều dài thân, rễ, hàm lượng chlorophyll) và làm tăng sự biểu hiện của các gen (NADPMe2, SOS1, PR1, MYC2, NHX1, SOD và CAT) liên quan đến đáp ứng mặn của cây lúa so với đối chứng. Nghiên cứu này làm cơ sở để sử dụng chủng RL7 làm phân bón vi sinh cho những vùng đất trồng lúa có nguy cơ bị nhiễm mặn.*

Từ khóa: Vi sinh vật nội sinh; ACC deaminase; Chịu mặn; *Bacillus aryabhattai.*

1. MỞ ĐẦU

Lúa là cây lương thực chịu mặn kém, sự sinh trưởng và năng suất bị ảnh hưởng khi độ mặn lớn hơn 0,4%. Nồng độ muối cao gây ra mất cân bằng thẩm thấu và ion ở thực vật dẫn đến những tác động bất lợi do cản trở một số quá trình sinh lý và sinh hóa quan trọng như rối loạn cân bằng hormon, thay đổi quá trình chuyển hóa protein, ức chế hoạt động của các enzym liên quan đến chuyển hóa axit nucleic, mất kiểm soát hấp thu chất dinh dưỡng và suy giảm hệ miễn dịch [1]. Gần đây, bên cạnh việc sử dụng các kỹ thuật di truyền để tạo ra các giống cây chịu mặn thì việc sử dụng các công nghệ sinh học thay thế như sử dụng vi sinh vật kích thích tăng trưởng thực vật (PGPB) để cải thiện stress phi sinh học đang được quan tâm và đạt được những hiệu quả nhất định. PGPB có thể tồn tại tự do trong đất, vùng rễ hoặc nội sinh trong rễ, có khả năng kích thích sinh trưởng và tăng khả năng chịu mặn của thực vật khi bị nhiễm mặn, nhờ các cơ chế như tích lỹ các chất thẩm thấu, cân bằng ion nội môi, giúp thực vật tăng hấp thụ dinh dưỡng (nhờ quá trình cố định nitơ, hòa tan photphat, sinh tổng hợp 1-aminocyclopropan-1-carboxylate (ACC) deaminase axit indole 3 acetic (IAA), siderophere, và tăng cường biểu hiện các enzyme chống oxy hóa [2]. Do đó, PGPB có thể trực tiếp thúc đẩy sự phát triển của thực vật như tăng khả năng nảy mầm, chiều dài thân, chiều dài rễ, trọng lượng thân và rễ, hàm lượng hàm lượng chlorophyll cũng như làm biến đổi sự biểu hiện của các gen liên quan đến đáp ứng stress mặn [3].

B. aryabhattai RL7 là chủng vi sinh vật nội sinh chịu mặn được phân lập từ rễ lúa có khả năng sinh IAA, phân giải phosphate, sinh sidrophore có tiềm năng ứng dụng để hỗ trợ cây lúa sinh trưởng trong điều kiện đất nhiễm mặn [4]. Bài báo xác định một số đặc điểm đặc trưng của PGPB như khả năng tích lỹ proline, ACC deaminase, cố đinh đạm. Đồng thời, nghiên cứ ảnh hưởng của chủng RL7 lên sự phát triển của cây lúa và phân tích biểu hiện của các gen liên quan dưới tác động của muối (NaCl 200 mM). Ảnh hưởng tới sự phát triển của cây lúa được xác định qua các chỉ tiêu sinh trưởng như chiều dài thân, chiều dài rễ, trọng lượng thân và rễ, hàm lượng chlorophyll. Sự biến đổi sự biểu hiện của các gen (*NADPME2-NADPmalic enzyme; DREB1A (Dehydration responsive element binding protein 1A); NHX1-Sodium proton antiporter; PR1-Pathogenesis related protein; SOS1-Salt overlysensitive; MYC2-myelocytomatosis* 2; *SOD-Superoxide dismutase và CAT-catalase.*) liên quan đến đáp ứng mặn của cây lúa được xác định bằng kỹ thuật Realtime-PCR. Kết quả của nghiên cứu này góp phần làm sáng tỏ cơ chế chịu mặn ở lúa qua trung gian PGPB ở cấp độ gen và việc lai tạo các giống lúa mới có khả năng chống chịu với stress mặn.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Chủng vi sinh vật

Chủng *B. aryabhattai* RL7 được bảo quản tại phòng Hoá học các Hợp chất thiên nhiên, Viện Hoá học - Vật liệu.

2.2. Xác định một số đặc điểm kích thích sinh trưởng của chủng RL7

Xác định hoạt tính ACC deaminase: Hoạt độ ACC deaminase được xác định dựa trên khả năng tạo thành alpha- ketobutyrate từ quá trình thuỷ phân ACC. Hoạt độ ACC deaminase được xác định là lượng alpha-ketobutyrate được tạo ra trên mỗi g protein trong 1 giờ [5]. Lượng alpha-ketobutyrate tạo ra được tính dựa trên phương trình đường chuẩn của alpha- ketobutyrate dạng $Y= 0,0185X+0,0381$ ($R^2 =0,99$).

Đánh giá khả năng cố định nitơ: Chủng RL7 nuôi trong môi trường Burk's dịch thể nuôi lắc 120 vòng/phút, sau 72 h thu thập dịch nuôi để ly tâm lấy dịch trong để xác định hàm lượng NH_4^+ sinh ra bằng phương pháp so màu với thuốc thử Nessler [5]. Đường chuẩn NH_4^+ được dựng với các mẫu có nồng độ NH_4^+ chuẩn khác nhau có dạng $Y = 0,0478X$ ($R^2 =0,989$) để tính lượng NH_4^+ có trong mẫu.

Xác định khả năng tích lỹ proline: Hàm lượng proline được xác định theo phương pháp Bates [6]. Sự tích luỹ proline được xác định ở các dải nồng độ muối 0, 100, 200, 300 mM NaCl.

2.3. Đánh giá khả năng kích thích sinh trưởng của chủng RL7 trên cây lúa khi bị nhiễm mặn

Hạt giống được khử trùng trong dung dịch NaOCl (3%) trong 5 phút, rửa với nước cất vô trùng 3 lần, lắc trong C_2H_5OH 70% trong 30 giây và rửa lại bằng nước cất khử trùng 5 lần. Chủng RL7 được chuẩn bị với mật độ 10^8 CFU/mL. Hạt giống sau khi nhiễm chủng vi sinh vật (được gieo trên đất vô trùng với mật độ 10 cây/chậu (mỗi một thử nghiệm lặp lại 3 chậu). Đất sử dụng làm giá thể được lấy từ ruộng trồng lúa đã được xác định một số chỉ tiêu dinh dưỡng (hàm lượng hữu cơ 4,9%; tổng N 1,3%; lân dễ tiêu 0,01%; kali dễ tiêu 0,02%, pH 5,85), sau đó xử lý vô trùng. Bốn nghiệm thức được thực hiện gồm đối chứng (C), đối chứng + NaCl 200 mM (C+NaCl), nhiễm chủng RL7 (RL7), nhiễm chủng RL7+NaCl 200 mM (RL7+NaCl). Cây lúa được 21 ngày tuổi tiến hành nhiễm mặn bằng dung dịch NaCl 200 mM. Nồng độ NaCl 200 mM được lựa chọn vì qua quá trình khảo sát cho thấy đây là nồng độ trung gian thể hiện sự khác biệt rõ nhất giữa trạng thái khỏe mạnh và stress tăng trưởng ở cây lúa. Sau 7 ngày nhiễm mặn thu mẫu khảo sát các chỉ tiêu sinh trưởng, phát triển của cây lúa (chiều cao cây, chiều dài rễ và trọng lượng khô), hàm lượng chlorphyll (a, b và tổng số), mật độ vi sinh vật (trong đất và rễ) và nghiên cứu sự biểu hiện các gen liên quan đến đáp ứng mặn [3].

2.3.1. Phương pháp xác định chlorphyll trong lá

Chlorphyll tổng số, chlorphyll a và b trong lá xác định theo phương pháp Moran [7].

2.3.2. Tách chiết RNA và kỹ thuật Realtime-PCR

Mẫu lá sau khi stress mặn được thu hoạch và bảo quản trong nitơ lỏng để xác định sự biến đổi biểu hiện của các gen liên quan bằng phương pháp Realtime-PCR. RNA tổng số được tách chiết từ các mẫu lá lúa sử dụng Kit RibospinTM Plant (GeneAll). Chất lượng RNA tổng số được kiểm tra bằng tỉ lệ OD 260/OD 280 và điện di sản phẩm trên gel agarose 1%. Tổng hợp cDNA: 1µg RNA tổng số được sử dụng làm khuôn tổng hợp cDNA bằng bộ Kit First strand cDNA synthesis Kit (NebEngland Biolab). Sự biểu hiện của các gen liên quan đến đáp ứng mặn của cây lúa (*NADPMe2, DREB1A, SOS1, SOD, PR1, MYC2, NHX1* và *CAT*) được phân tích bằng kỹ thuật Realtime-PCR. với 02 gen *Actin* và *UBQ5* được lựa chọn làm gen nội kiểm. Trình tự các cặp mồi được thiết kế dựa trên công cụ primer-blast (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast) và được kiểm tra độ đặc hiệu bằng phản ứng PCR sử dụng mẫu cDNA từ lúa.

Phản ứng RT-PCR được thực hiện với nồng độ cDNA đã được tối ưu là 150 ng/µL. Chu trình phản ứng RT-PCR được thực hiện như sau: 95 ^oC trong 5 phút, tiếp theo 30 chu kỳ ở 95 ^oC trong

30 giây, 52 ^{o}C trong 30 giây và 72 ^{o}C trong 30 giây, sau cùng là 72 ^{o}C trong 10 phút.

Kết quả được phân tích theo phương pháp của Livak [8].

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định một số đặc điểm kích thích sinh trưởng của chủng RL7

Chủng RL7 đã được báo cáo là có khả năng sinh IAA, hòa tan photphat và sinh siderophore [4]. Bài báo này xác định thêm một số đặc điểm kích thích sinh trưởng thực vật gồm khả năng sinh ACC deaminase, cố định đạm và tổng hợp proline. Một trong các đặc điểm quan trọng của PGPB là khả năng sinh ACC deaminase. Chủng RL7 có khả năng sinh ACC deaminase với hoạt độ là 545,6 ±5,6 (nmol α-ketobutyrate mg^{-1} h^{-1}). PGPB có khả năng cố định nitơ, cung cấp nguồn dinh dưỡng nitơ cho cây trồng sinh trưởng và phát triển. Chủng RL7 có khả năng mọc trên môi trường Bruck's không đạm, chứng tỏ có khả năng cố định nitơ, hàm lượng amoni tạo ra trong môi trường là 19,6 ± 0,8 (mg/L). Proline có vai trò như chất điều hoà thẩm thấu trong tế bào, chỉ thị cho quá trình đáp ứng bất lợi về áp suất thẩm thấu. Khả năng tích luỹ proline của chủng RL7 ở các nồng độ muối 0; 100; 200 và 300 mM lần lượt là 48,4; 62,2; 90,5 và 102,3 µM. Khả năng sinh ACC deaminase, cố định nitơ và tích luỹ proline của vi sinh vật cũng được nhiều tác giả đề cập đến. Saltana và cộng sự (2020) [9] phân lập chủng *B. aryabhattai* MS3 từ đất vùng rễ lúa có khả năng cố định nitơ, sinh IAA và phân giải photphat. Mehmood và cộng sự (2021) [10] phân lập được chủng *B. aryabhattai* PM34 có khả năng cố định nitơ, sinh IAA, ACC deaminase, siderophore và phân giải photphat.

3.2. Ảnh hưởng của chủng RL7 đến sự sinh trưởng cây lúa khi bị nhiễm mặn

Kết quả khảo sát các chỉ tiêu sinh trưởng, phát triển của cây lúa bao gồm chiều cao cây, chiều dài rễ và trọng lượng khô (cả thân và rễ), hàm lượng chlorphyll a, b và chlorphyll tổng số. Kết quả được thể hiện ở bảng 1 và hình 1. Cây lúa được nhiễm chủng RL7 có chiều dài thân, chiều dài rễ, trọng lượng khô và hàm lượng chlorophyll tổng số tăng lần lượt là 26,45%; 23,61%; 34,86% và 19,88% so với đối chứng (C). Khi bị stress mặn, cây lúa được nhiễm chủng RL7 có chiều dài thân, chiều dài rễ, trọng lượng khô tăng, hàm lượng chlorophyll tổng số tăng lần lượt là 35,45%; 33,13%; 35,11% và 29,63% so với đối chứng (C+ NaCl). Sự khác biệt về chiều dài thân, chiều dài rễ, trọng lượng khô, hàm lượng chlorophyll giữa các nghiệm thức có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%. Mật độ chủng RL7 trong đất tăng từ 10^3 cfu/g lên 10^5 cfu/g, trong rễ đạt $1,1x10^4$ cfu/g, và tăng nhẹ khi bị nhiễm mặn đạt $5,9x10^4$ cfu/g.

Bảng 1. *Ảnh hưởng của chủng RL7 đến khả năng sinh trưởng cây lúa khi bị stress mặn.*

Chỉ tiêu	**C**	**C +NaCl**	**RL7**	**RL7+ NaCl**
Thân (cm)	$18,40±0,76^b$	$15,23±0,42^a$	$23,26±0,41^c$	$20,63±0,57^d$
Rễ (cm)	$5,93±0,22^b$	$5,33±0,31^a$	$7,33±0,34^c$	$7,1±0,24^d$
Khối lượng khô (g)	$0,72±0,06^b$	$0,66±0,04^a$	$0,97±0,05^c$	$0,90±0,08^d$
Chlorophyll a (mg/g)	$0,082±0,005^b$	$0,071±0,004^a$	$0,096±0,006^c$	$0,089±0,005^b$
Chlorophyll b (mg/g)	$0,033±0,006^b$	$0,027±0,004^a$	$0,042±0,004^b$	$0,038±0,003^b$
Chlorophyll (mg/g)	$0,115±0,016^b$	$0,099±0,005^a$	$0,138±0,018^d$	$0,128±0,021^c$

(Giá trị là trung bình ± SD, các chữ cái thường trong cùng 1 hàng giống nhau chỉ sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%).

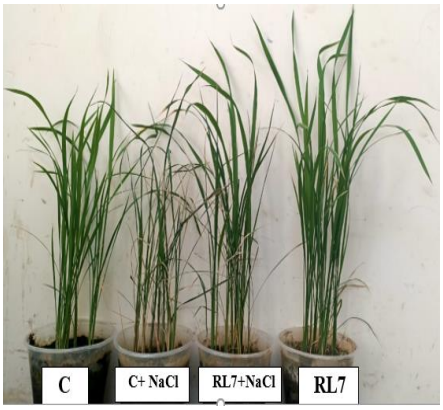
Sử dụng chủng RL7 có khả năng sinh ACC deaminase, cố định dạm, phân giải photphat, sinh IAA, sidrophore giúp tăng khả năng chịu mặn ở cây lúa. Khi bị stress mặn, cây lúa sản sinh một lượng lớn ethylene từ tiền chất ACC, làm giảm sự nảy mầm của hạt và sự phát triển của rễ và cuối cùng cản trở sự phát triển của cây. Vi sinh vật tổng hợp ACC deaminase có thể phân cắt ACC thành α-ketobutyrat và amoniac do đó làm giảm lượng ethylene sinh ra [2]. Việc bổ sung vi sinh vật có khả năng sinh IAA giúp kích thích cây lúa phát triển, bên cạnh đó khả năng cố định

nitơ và phân giải photphat giúp bổ sung dinh dưỡng cho cây lúa phát triển. Khả năng sinh sidrophore giúp chống lại một số bệnh cho cây trồng. Ảnh hưởng chủng chủng RL7 lên khả năng sinh trưởng của cây lúa trong điều kiện stress mặn cũng tương tự như các nghiên cứu trước đó. Các chủng *B. amyloliquefaciens* SN13 [3], *B. aryabhattai* MS3 [9] đã được chứng minh khả năng hỗ trợ cây lúa chịu được stress muối như là làm tăng chiều dài thân, chiều dài rễ, trọng lượng khô và hàm lượng chlorophyll.

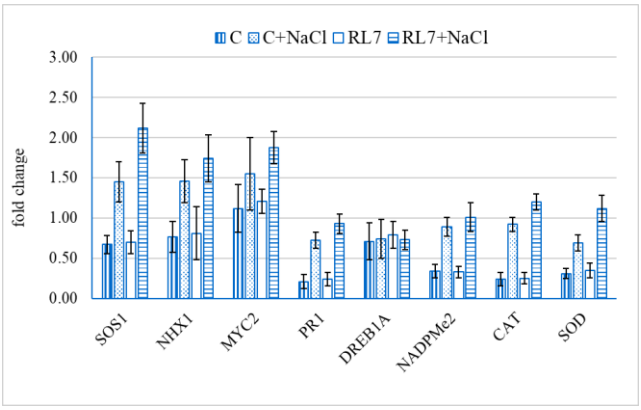
3.3. Nghiên cứu sự biểu hiện của các gen liên quan đến đáp ứng mặn của cây lúa dưới sự tác động của chủng RL7

Song song với quá trình khảo sát các chỉ tiêu sinh trưởng, phát triển của cây lúa bao gồm chiều cao cây, chiều dài rễ và trọng lượng khô (cả thân và rễ), hàm lượng chlorphyll a, b và chlorphyll tổng số, mẫu lá lúa được thu hoạch để nghiên cứu sự biểu hiện của các gen liên quan đến đáp ứng với mặn của cây lúa

Sự biểu hiện của các gen bao gồm *SOS1, NHX1, MYC2, PR1, DREB1A, NADPMe2, CAT* và *SOD* ở bốn nghiệm thức được xác định bằng phương pháp RT-PCR. Kết quả được thể hiện trong hình 2. Nhiễm mặn làm tăng cường sự biểu hiện của các gen *MYC2, NHX1, NADPMe2, SOS1, SOD, PR1* và *CAT* lần lượt là 1,34; 1,66;1,89; 2,16; 2,23; 2,57; 3,07 lần so với đối chứng (C). Ở điều kiện không bị nhiễm mặn, chủng RL7 không làm thay đổi sự biểu hiện các gen so với đối chứng (C). Khi bị stress mặn, chủng RL7 làm tăng cường sự biểu hiện của các gen *MYC2, SOD, NADPMe2, SOS1, PR1, CAT* và *NHX1* lần lượt là 1,24; 1,29; 1,31; 1,35; 1,38; 1,46; 1,53; 1,55 và 1,59 lần so với mẫu (C+NaCl). Đáng chú ý, gen DREB1A không thay đổi sự biểu hiện ở cả bốn nghiệm thức trong điều kiện nhiễm hoặc không nhiễm mặn.



Hình 1. *Ảnh hưởng chủng RL7 lên sự sinh trưởng cây lúa khi bị stress mặn.*



Hình 2. *Sự biểu hiện của các gen liên quan đến đáp ứng mặn.*

Cây lúa chịu được mặn thông qua hai cơ chế chính là cân bằng ion nội môi và cân bằng áp suất thẩm thấu. Khi bị nhiễm mặn các gen liên quan đến hai con đường này được tăng cường biểu hiện. Nhiễm chủng RL7 làm tăng cường biểu hiện của 7 gen liên quan đến cả hai cơ chế trên giúp cây lúa chống chịu với mặn. Các gen *MYCs* đóng vai trò quan trọng trong việc phản ứng với các stress phi sinh học và sinh học. Ở lúa, có sự tăng biểu hiện của các gen *MYC2, MYC4* và *MYC5* khi bị nhiễm mặn [11]. Nhiễm mặn và nhiễm chủng RL7 làm tăng cường biểu hiện của gen *MYC2* hỗ trợ cây lúa chịu mặn nguyên nhân có thể là gen *MYC2* liên quan đến con đường truyền tín hiệu axit jasmonic- một loại hormone giúp điều hòa sự tăng trưởng, quang hợp và sinh sản. Sự biểu hiện của gen pathogenesis-related protein 1 (*PR1)* dẫn đến làm tăng khả năng miễn dịch (đặc biệt là khả năng kháng nấm bệnh) [18]. Khi bị nhiễm mặn, chủng RL7 làm tăng cường sự biểu hiện của gen *PR1* lên 2,2 lần so với đối chứng (C), điều này có thể thấy vai trò của chủng vi sinh nội sinh RL7 trong việc làm giảm tác động stress mặn. Những kết quả nghiên cứu về sự biến đổi biểu hiện của gen *MYC2* và *PR1* trong bài báo là những minh chứng

đầu tiên về vai trò của *MYC2* và *PR1* trong điều kiện stress mặn.

Nhiễm mặn gây ra một loạt các chất oxi hoá cụ thể là H_2O_2, O^{2-} và OH^- làm hỏng DNA, RNA và protein. Superoxide dismutase (SOD) là một metalloenzyme đóng một vai trò quan trọng trong việc bảo vệ tế bào khỏi tác hại của quá trình oxy hóa, bằng cách xúc tác chuyển đổi gốc superoxide thành H_2O_2 .Catalase làm giảm mức ROS bằng cách xúc tác sự phân hủy H_2O_2 thành H_2O và O_2. Khi bị nhiễm mặn, nhiễm chủng RL7 làm tăng cường biểu hiện của các gen *SOD* và *CAT* so với đối chứng (C). Như vậy, bằng cách loại bỏ ROS thông qua các hoạt động CAT và SOD cây lúa nhiễm chủng RL7 có thể thích nghi với stress mặn. Sự thích nghi với stress mặn nhờ tăng cường sự biểu hiện của các enzyme ROS như CAT và SOD cũng được chứng minh ở cây lúa [6], khoai tây [13], đậu bắp [14].

Sự biểu hiện tăng cường của các gen *NHX1* và *SOS* khi bị nhiễm mặn và nhiễm chủng RL7 đã được chứng minh trong bài báo. Thực vật đáp ứng thích nghi với mặn bằng cách cô lập và tích tụ muối vào trong không bào, kiểm soát nồng độ muối cũng như duy trì tỉ lệ K^+/Na^+ cao trong tế bào chất từ đó làm giảm tác động có hại của muối. *NHX1* và *SOS1* đã được chứng minh là tham gia vào quá trình trao đổi Na^+/H^+, giảm Na^+ trong tế bào và sự tăng biểu hiện các gen *SOS1* và *NHX1* hỗ trợ cây trồng phát triển đáng kể khi bị nhiễm mặn. NADP malic enzyme 2 (NADPME 2) là một trong những enzyme quan trọng tham gia vào các quá trình trao đổi chất ở thực vật, chủ yếu xuất hiện ở ty thể, lục lạp và tế bào chất, xúc tác quá trình khử carboxyl hóa của malate để tạo ra pyruvate, CO2 và NADPH dưới dạng ion kim loại (Mg^{2+}, Mn^{2+},…) có vai trò trong việc tăng cường khả năng chịu stress muối và thẩm thấu [16]. Nhiễm mặn làm gen *NADPMe2* biểu hiện cao gấp 1,98 lần, khi nhiễm chủng RL7 mức độ biểu hiện tăng lên 2,73 lần so với đối chứng (C), điều này có thể thấy vai trò hỗ trợ của chủng RL7 hỗ trợ của vi khuẩn trong việc cải thiện stress do muối. Sự biểu hiện của các gen trong bài báo này cũng tương tự với kết quả các nghiên cứu trước đó. Cây lúa được nhiễm chủng *B. amyloliquefaciens* SN13 [3], *B. aryabhattai* MS3 [16], *Streptomyces sp*. GMKU [17] làm tăng cường sự biểu hiện của các gen *NHX1, SOS1, NADP-Me2, CAT VÀ SOD.*

4. KẾT LUẬN

PGPB đóng vai trò quan trọng trong việc hỗ trợ cây trồng sinh trưởng, đặc biệt trong khi gặp điều kiện môi trường bất lợi như hạn hán hoặc nhiễm mặn. Chủng vi sinh vật nội sinh chịu mặn *Bacillus aryabhattai* RL7 có nhiều đặc điểm của PGPB như khả năng sinh IAA, ACC deaminase, cố định đạm, tích luỹ proline, phân giải phosphate. Trong điều kiện stress mặn, chủng RL7 làm tăng khả năng sinh trưởng của cây lúa. Sự biến đổi biểu hiện của các gen là nguyên nhân giúp cây lúa chịu thích ứng với stress mặn.

Lời cảm ơn: *Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát riển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 106-NN.04-2016.37.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. I.N.B.L. Reddy, et al., "*Salt Tolerance in Rice: Focus on Mechanisms and Approaches"* Rice Science, **Vol. 24**, No. 3 (2017), pp. 123-144.

[2]. A. Kumar, S. Singh, et al., *"Plant Growth-Promoting Bacteria: Biological Tools for the Mitigation of Salinity Stress in Plants,"* Frontiers in Microbiology, **Vol. 11** (2020), pp. 1216

[3]. S.C. Nautiyal, et al., "*Plant growth-promoting bacteria Bacillus amyloliquefaciens NBRISN13 modulates gene expression profile of leaf and rhizosphere community in rice during salt stress"* Plant Physiol. Biochem., **Vol. 66 (2013)**, pp. 1–9.

[4]. Vũ Văn Dũng và các tác giả, "*Đánh giá khả năng sinh chất kích thích sinh trưởng thực vật của vi khuẩn nội sinh chịu mặn từ thân rễ lúa trồng ở Thái Bình,"* Hội nghị Khoa học Công nghệ sinh học toàn quốc Hà Nội (2018), tr. 810-816.

[5]. A. Ambrosini, L.M.P. Passaglia, *"Plant growth–promoting bacteria (PGPB): Isolation and screening of PGP activities,"* Current Protocols in Plant Biology, **Vol.2** (2017), pp. 190–209.

[6]. L. Bates, R. Waldren and I. Teare, *"Rapid determination of free proline for water-stress studies,"* Plant and soil, **Vol.** 39, No. 1(1973), pp. 205-207.
[7]. R. Moran, D. Porath, *"Chlorophyll determination in intact tissues using N,N-dimethylformamide,"* Plant Physiology, **Vol. 65**, No. 3(1980), pp. 478–479.
[8]. K.J. Livak, D. Thomas, *"Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ Method,"* Methods, **Vol. 25**, No. 4(2001), pp. 402-408.
[9]. S. Sultana, C.S. Paul, et al., "*Isolation and identification of salt-tolerant plant-growth-promoting rhizobacteria and their application for rice cultivation under salt stress,"* Can J. Microbiol., **Vol. 66**, No. 2(2020), pp.144-160.
[10]. S. Mehmood, A.A Khan, el al., "*Alleviation of salt stress in wheat Seedlings via multifunctional Bacillus aryabhattai PM34: An In-Vitro Study*," Sustainability, **Vol. 13** (2021), pp. 8030.
[11]. S. Ogawa, et al., "*OsMYC2 mediates numerous defence-related transcriptional changes via jasmonic acid signalling in rice,"* Biochem Biophys Res Commun, **Vol 486**, No. 3(2017), pp.796-803.
[12]. S. Breen, et al., *"Emerging Insights into the Functions of Pathogenesis-Related Protein 1,"* Trends Plant Sci., **Vol. 22**, No.10(2017), pp. 871-879.
[13]. M.A. Gururani et al., *"Plant growth-promoting rhizobacteria enhance abiotic stress tolerance in Solanum tuberosum through inducing changes in the expression of ROS-scavenging enzymes and improved photosynthetic performance,"* Journal of Plant Growth Regulation, **Vol. 32**, No. 2 (2013), pp. 245–258
[14]. H.H.Sheikh, et al., *"Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Enhance Salinity Stress Tolerance in Okra through ROS-Scavenging Enzymes"*, BioMed Research International (2016).
[15]. A. Upadhyay, et al., *"Expression of Na^+/H^+ antiporter gene in response to 635 water and salinity stress in grapevine rootstocks,"* Biologia plantarum, **Vol. 56**, No. 4(1998), pp. 762-766.
[16]. Y.S. Liu et al., *"Expression of an NADP-malic enzyme gene in rice (Oryza sativa L.) is induced by environmental stresses; over-expression of the gene in Arabidopsis confers salt and osmotic stress tolerance,"* Plant Mol. Biol., **Vol. 64** (2007), pp. 49-58.
[17]. R. Jaemsaeng, et al., "*Molecular interaction of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase (ACCD)-producing endophytic Streptomyces sp. GMKU 336 towards salt-stress resistance of Oryza sativa L. cv. KDML105,"* Sci. Rep., **Vol. 8** (2018), 8, pp. 1950.

ABSTRACT

EVALUATION OF THE CHANGE OF GENE EXPRESSION RELATED TO SALINITY TOLERANCE IN RICE UNDER THE SUPPORT OF PLANT GROWTH-PROMOTINGENDOPHYTIC BACTERIA *BACILLUS ARYABHATTAI* RL7.

The growth and development of rice is affected by saline soil, however, some salinity-tolerant endophytic bacteria can improve its salinity tolerance. In this study, the plant growth- promoting endophytic bacteria Bacillus aryabhattai RL7 was evaluated for the ability to produce proline, 1-aminocyclopropan-1-carboxylate (ACC) deaminase, fixing nitrogen and the effect on the growth and development of rice plants under salinity. Bacillus aryabhattai RL7 increased plant growth (shoot length, root length, dry weight, chlorophyll) and the expression of genes (NADPMe2, SOS1, PR1, MYC2, NHX1, SOD and CAT) related to salinity tolerance in rice. The results of this study contribute to the elucidation of the PGPB-mediated mechanism of salt tolerance in rice at the genetic level and the basis for using strain RL7 as a microbial fertilizer for rice-growing areas at risk of salinity.

Keywords: Endophytic bacteria; Salt tolerance; ACC deaminase; *Bacillus aryabhattai.*

Nhận bài ngày 16 tháng 9 năm 2021
Hoàn thiện ngày 20 tháng 10 năm 2021
Chấp nhận đăng ngày 28 tháng 10 năm 2021

Địa chỉ: [1]Viện Hóa học - Vật liệu, Viện KH-CN quân sự;
[2] Viện Nghiên cứu hệ gen - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam;
[3] Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.
*Email: vandungbio46@yahoo.com.