

# PHÂN LẬP CÁC DÒNG VI KHUẨN CỐ ĐỊNH ĐẠM VÀ HÒA TAN LÂN CHO ĐẬU PHỘNG TRỒNG Ở TRÀ VINH

Nguyễn Hữu Hiệp<sup>1</sup> và Hà Danh Đức<sup>2</sup>

## ABSTRACT

*Several soil samples and nodules of peanut were collected for the isolation and selection of bacteria for peanut cultivated on sandy soil of Tra Vinh province*

*Fourteen Bradyrhizobium strains and 35 phosphate-solubilizing bacteria were isolated. When inoculated peanut with either both strains or single strain, bacteria increased plant height and dry weight of plant higher than the control. Nitrogen content in plants and in seed were higher than those of the control. The results also showed that when bacterial co- inoculant (double strains= nitrogen fixer /phosphate solubilizing bacteri) was applied, farmers could save up to 50kgN/ha and 60kgP2O5/ha.*

**Keywords:** *isolation, nodules, inoculation, nitrogen fixing, phosphate- solubilizing bacteria*

**Title:** *Isolation of nitrogen-fixing bacteria and phosphate-solubilizing bacteria for peanut cultivated in Tra Vinh province*

## TÓM TẮT

*Nhiều mẫu đất và nốt rễ đậu phộng được thu thập để phân lập vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân cho cây đậu phộng trồng trên đất giồng cát Tỉnh Trà Vinh.*

*Kết quả có 14 dòng vi khuẩn Bradyrhizobium và 35 dòng vi khuẩn hòa tan lân được phân lập. Khi chủng hỗn hợp 2 dòng vi khuẩn này hay riêng rẽ từng dòng cho đậu phộng trồng trong chậu, nhận thấy vi khuẩn giúp cây đậu gia tăng chiều cao cây và trọng lượng khô cây đậu so với đối chứng không chủng vi khuẩn. Hàm lượng đạm và lân của cây đậu có chủng vi khuẩn đều cao hơn nghiệm thức đối chứng. Từ kết quả thí nghiệm cho thấy chủng hỗn hợp vi khuẩn giúp thay thế 50kgN/ha và 60kgP2O5/ha.*

**Từ khóa:** *phân lập, nốt rễ, chủng vi khuẩn, cố định đạm, vi khuẩn hòa tan lân*

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Trà Vinh là một tỉnh thuộc đồng bằng sông Cửu Long nằm giữa hai nhánh sông Tiền và sông Hậu có diện tích tự nhiên khoảng 2.369 km<sup>2</sup>. Diện tích đất sản xuất nông nghiệp chiếm khoảng hơn 62%. Dân số có 1.017.000 người trong đó dân tộc Khmer chiếm 30%. Bình quân thu nhập khoảng 218 USD/năm. Tổng diện tích đất giồng cát tại Trà Vinh gần 15.000 ha chủ yếu tập trung tại các huyện Cầu Ngang, Châu Thành, Trà Cú và Duyên Hải chiếm khoảng 7% tổng diện tích đất tự nhiên. Đậu phộng (*Arachis hypogaea* L.) là cây công nghiệp là cây đứng hàng thứ hai sau cây mía với diện tích khoảng 1.200 ha, sản lượng 2.800 tấn. Nông dân vùng này có tập quán sử dụng rất nhiều phân vô cơ đặc biệt là phân đạm (80-100kgN) để có năng suất cao. Kết quả là giá thành sản xuất đậu cao, lợi nhuận nông dân thấp đi và gây ô nhiễm môi trường. Trồng đậu phộng có chủng phân vi khuẩn cố định đạm đã

<sup>1</sup> Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học

<sup>2</sup> Sinh viên Cao học Công nghệ Sinh học K10

được nghiên cứu từ lâu tại một số nơi như Đức Hòa (Long An), Trảng Bàng (Tây Ninh) (Đường *et al.*, 1993; Hiệp *et al.*, 2002). Tuy nhiên, canh tác đậu phộng trên đất giồng cát thì chưa có nghiên cứu nào được tiến hành.

Chủng vi khuẩn *Bradyrhizobium* cho các cây họ đậu để tăng năng suất, tiết kiệm phân bón nhất là phân đạm, hạ giá thành sản phẩm, đồng thời tránh gây ô nhiễm môi trường là một biện pháp được các nước tiên tiến trên thế giới áp dụng từ rất lâu. Đậu phộng, một cây họ đậu có tiềm năng kinh tế to lớn trong công nghiệp thực phẩm do có hàm lượng dầu và protein cao. Hiện nay đậu phộng là cây họ đậu quan trọng trong hệ thống luân canh với cây lúa ở những vùng đất cát pha thịt hay cát pha sét. Tuy nhiên, việc sử dụng quá nhiều phân đạm trong canh tác lúa, đậu đã có ảnh hưởng xấu đến chất lượng đậu hạt cũng như lúa gạo xuất khẩu do hàm lượng nitrat tích lũy cao trong hạt (Hiệp *et al.*, 1999).

Nhiều nghiên cứu cho thấy các nhóm vi sinh vật trong đất có khả năng hòa tan lân khó tan và phóng thích lân dễ tan cho cây trồng do chúng có khả năng tổng hợp và phóng thích các acid hữu cơ và trực tiếp hòa tan lân khó tan thành lân dạng dễ hấp thu (Illmer và Schinner, 1992). Khi sử dụng các loài vi sinh vật này sản xuất phân sinh học bón cho cây trồng đã giúp tăng năng suất một cách rất có ý nghĩa (Kundu và Gaur, 1984). Trong đất P vô cơ khó tan có thể được vi sinh vật chuyển hóa thành dạng dễ tan.

Nhiều dòng vi sinh vật cố định đạm, hòa tan lân giúp cây trồng gia tăng sự hấp thu nhiều dưỡng chất hơn (Chabot *et al.*, 1993; Sumner, 1990). Vì vậy, nhiều nhà khoa học đã phối hợp nhiều nhóm vi sinh vật để phát huy tác dụng của tất cả các nhóm vi sinh vật có ích. Trong khuôn khổ chương trình luân canh cây lúa và cây màu nhằm có một nền nông nghiệp bền vững, nâng cao đời sống nông dân đặc biệt là dân tộc thiểu số (Khmer), việc canh tác cây đậu phộng có chủng phân vi khuẩn có khả năng cố định đạm là một việc làm hết sức bức thiết.

**Mục tiêu đề tài:** Phân lập, tuyển chọn các dòng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân cho cây đậu phộng trồng trên đất giồng cát Tỉnh Trà Vinh.

## 2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Phân lập vi khuẩn

Thu thập mẫu nốt rễ cây đậu phộng và mẫu đất tại nhiều điểm trồng đậu thuộc Tỉnh Trà Vinh. Mẫu nốt rễ phân lập vi khuẩn cố định đạm và mẫu đất để phân lập vi khuẩn hòa tan lân.

### 2.2 Xác định khả năng cố định đạm và hòa tan lân của vi khuẩn phân lập

Thử khả năng cố định đạm của vi khuẩn bằng cách trồng đậu trong điều kiện vô trùng. Thí nghiệm lặp lại 4 lần cho mỗi dòng vi khuẩn. Đậu đối chứng không chủng vi khuẩn chủng nước cất. Sau 4 tuần lễ thu hoạch, đếm số nốt rễ, cân trọng lượng khô (TLK) cây đậu để so sánh khả năng cố định đạm của các dòng vi khuẩn. Từ đó chọn ra các dòng có độ hữu hiệu cao. Xác định khả năng hòa tan lân của các dòng vi khuẩn bằng cách cấy vi khuẩn lên môi trường agar có nguồn phospho khó tan (môi trường NBRIP). Sau đó so sánh đường kính của vòng sáng quanh khuẩn lạc (halo) để xác định dòng vi khuẩn có khả năng hòa tan lân tốt.

### 2.3 Thí nghiệm trong nhà lưới

Trồng trong chậu: hạt được khử trùng mặt ngoài với H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (3%) trong 3 phút. Rửa nước cất 5-6 lần rồi gieo mỗi chậu 2 hạt. Đất cát trồng đậu bón phân theo công thức: 0-60-30 (đạm, lân, kali). Các nghiệm thức: Chủng dòng vi khuẩn 1, Chủng dòng vi khuẩn 2, Chủng dòng vi khuẩn 3, Chủng dòng vi khuẩn n, đối chứng: không chủng vi khuẩn.

Chủng vi khuẩn: chủng 1 ml dung dịch vi khuẩn ngay trên hạt đậu phộng (mỗi ml có 10<sup>8</sup>-10<sup>9</sup> tế bào/ml). Kiểm tra mật số các dòng vi khuẩn bằng cách đếm sống số tế bào/ml.

#### \* Đánh giá độ hữu hiệu của vi khuẩn cố định đạm

dựa vào các chỉ tiêu chiều cao cây, màu sắc lá, số nốt rễ, đặc điểm nốt rễ, trọng lượng khô (TLK) của nốt rễ và cây và hàm lượng protein trong cây. Căn cứ vào độ hữu hiệu của các dòng vi khuẩn ta có thể chọn ra một vài dòng có độ hữu hiệu cao để sản xuất phân vi sinh sau này. Độ hữu hiệu của vi khuẩn dựa trên trọng lượng khô của thân và lá được tính theo công thức:

$$E(\%) = \frac{(\text{TLKTL cây có chủng} - \text{TLKTL cây không chủng})}{\text{TLKTL cây không chủng}} \times 100\%$$

( E : Effectiveness, độ hữu hiệu; TLKTL: trọng lượng khô thân và lá).

#### \* Đánh giá độ hữu hiệu của các dòng vi khuẩn hòa tan lân

Khi đã có các dòng vi khuẩn hòa tan lân thực sự, so sánh độ hữu hiệu của các dòng vi khuẩn này đối với cây đậu phộng trồng trong các chậu sành ở nhà lưới. Đất lấy từ vùng đất trồng đậu phộng Tỉnh Trà Vinh, mỗi chậu 4kg đất và bố trí thí nghiệm với 4 lần lặp lại. Hạt được khử trùng mặt ngoài với H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,3%) trong 3 phút. Rửa nước cất 5-6 lần rồi gieo mỗi chậu 2 hạt. Đất cát trồng đậu bón phân theo công thức: 50-0-30. Các nghiệm thức như sau: chủng dòng vi khuẩn 1, chủng dòng vi khuẩn 2, chủng dòng vi khuẩn 3, chủng dòng vi khuẩn n và không chủng vi khuẩn

Chủng vi khuẩn: chủng 1 ml dung dịch vi khuẩn ngay trên hạt đậu phộng (mỗi ml có 10<sup>8</sup>-10<sup>9</sup> tế bào/ml). Kiểm tra mật số các dòng vi khuẩn bằng cách đếm sống số tế bào/ml.

Đánh giá độ hữu hiệu dựa vào TLK thân lá và hàm lượng P trong cây.

Căn cứ vào độ hữu hiệu của các dòng vi khuẩn ta có thể chọn ra một vài dòng có độ hữu hiệu cao để sản xuất phân vi sinh sau này.

#### \*Đánh giá độ hữu hiệu của hỗn hợp các dòng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân

Khi đã có các dòng vi khuẩn hòa tan lân và cố định đạm, đánh giá độ hữu hiệu của hỗn hợp vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân đối với cây đậu phộng trong các chậu sành ở nhà lưới. Đất lấy từ vùng đất trồng đậu phộng Tỉnh Trà Vinh, mỗi chậu 4kg đất và bố trí thí nghiệm với 4 lần lặp lại.

Trồng trong chậu: hạt được khử trùng mặt ngoài với H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,3%) trong 3 phút. Rửa nước cất 5-6 lần rồi gieo mỗi chậu 2 hạt. Tất cả các chậu đất đều bón kali

(30kg/ha), chậu bón lân là 60kg/ha và chậu bón đạm bón 50kg/ha. Tám nghiệm thức gồm có: Không vi khuẩn, không bón đạm và lân; Không vi khuẩn, bón đạm; Không vi khuẩn, bón lân; Không vi khuẩn, bón đạm và lân; Chủng vi khuẩn cố định đạm, bón lân, không bón đạm; Chủng vi khuẩn hòa tan lân, bón đạm, không bón lân; Chủng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân, không bón đạm và lân; và Chủng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân, bón đạm và lân. Đánh giá độ hữu hiệu của hỗn hợp vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân dựa vào năng suất, TLK thân lá và hàm lượng protein trong cây.

### 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1 Phân lập và thử khả năng tạo nốt rễ vi khuẩn cố định đạm *Bradyrhizobium*

Chúng tôi đã phân lập 52 dòng vi khuẩn từ các nốt rễ đậu phộng thu được từ Tỉnh Trà Vinh. Các dòng này được kiểm tra bằng cách chủng vi khuẩn lên hạt đậu trước khi gieo trồng bằng môi trường dung dịch. Chọn 2 dòng *Bradyrhizobium* làm đối chứng dương là Đp1 và Đp2 cùng với 52 dòng. Sau 21-30 ngày thì thu hoạch. Những cây đậu phộng nào có nốt rễ chứng tỏ dòng vi khuẩn được chủng là *Bradyrhizobium*. Kết quả có 14 dòng vi khuẩn tạo nốt, như vậy chúng chính là các dòng vi khuẩn *Bradyrhizobium*. Số lượng nốt rễ và trọng lượng của cây có nốt rễ thay đổi tùy theo dòng vi khuẩn được chủng. Số nốt rễ trung bình biến thiên, dòng cao nhất có số nốt trung bình là 69,1 nốt /cây và thấp nhất là 3,5 nốt /cây, cây đối chứng không tạo nốt rễ. TLK nốt rễ trung bình cũng thay đổi, cao nhất là 0,0267g/cây. Kết quả thí cho thấy, phần lớn cây tạo nốt rễ có lá xanh, thân cao hơn cây không tạo nốt rễ. Điều đó chứng vi khuẩn *Bradyrhizobium* có vai trò quan trọng trong việc cố định đạm cho cây.

Chiều cao cây 30 ngày sau khi gieo (NSKG) cao nhất và có TLK lớn nhất là cây chủng dòng vi khuẩn Đậu Mỹ Long Bắc (ĐMLBA) có chiều cao cây trung bình là 20cm và TLK trung bình là 1,470g/cây hơn hẳn cây đối chứng là 18,0cm và 1,350g. Đối với những cây có chủng vi khuẩn thu hoạch sau 21 ngày thì cây được chủng dòng ĐMLBC có chiều cao cây trung bình cao nhất (15,6cm), thấp nhất là cây chủng dòng Đậu Vĩnh Hòa (ĐVHA) (10,2cm). TLK cây trung bình cũng thay đổi, cao nhất là cây chủng dòng Đậu Vĩnh Kim (ĐVKB) (có khối lượng trung bình 1,493g/cây), và thấp nhất là Đậu Mỹ Long Bắc (ĐMLBD) và Đậu Thị Xã Trà Vinh (ĐTXXV) (1,030g/cây), so với cây đối chứng là 10,2cm và 1,030g. Cây đậu phộng chủng các dòng vi khuẩn cố định đạm có số nốt rễ trung bình/ cây, chiều cao cây và khối lượng khô cây khác nhau, như vậy các dòng vi khuẩn có độ hữu hiệu khác nhau. Phần lớn những cây tạo nốt rễ có chiều cao và TLK cao hơn hẳn cây đối chứng, đây là những dòng có độ hữu hiệu cao. Bên cạnh đó có một số cây tuy có tạo nốt rễ nhưng có TLK bằng TLK cây đối chứng (cây chủng dòng ĐMLBD và ĐTXXV) và có chiều cao cây bằng chiều cao cây đối chứng (cây chủng dòng ĐMLBD), đây là những dòng vi khuẩn không hữu hiệu.

#### 3.2 Phân lập và xác định khả năng hòa tan lân của các dòng vi khuẩn

Trong số 24 mẫu đất vùng rễ được lấy từ các vùng khác nhau trong Tỉnh Trà Vinh đã phân lập được 35 dòng. Các dòng vi khuẩn này phát triển tốt trên môi trường

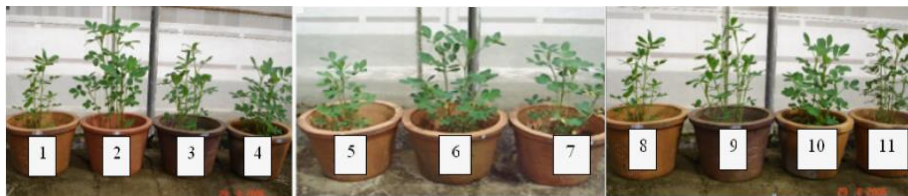
NBRIP, môi trường chuyển từ xanh sang vàng hay da cam do hạ độ pH (môi trường có chất chỉ thị màu bromothynol blue).

### 3.3 Độ hữu hiệu của các dòng vi khuẩn hòa tan lân ở môi trường chứa lân khó tan

Đa số các dòng đều tạo halo sau một ngày, ngoại lệ có một số dòng sau 2 ngày mới tạo halo, những dòng không tạo halo không phải là vi khuẩn hòa tan lân. Kích thước của chúng không ngừng tăng lên nhưng kích thước halo tăng nhanh hơn nhiều so với kích thước khuẩn lạc. Các dòng vi khuẩn hiệu quả cao là các dòng có hiệu suất (E) cao và ngược lại. Hiệu suất hòa tan lân thay đổi từ 176,5 (dòng VHA) đến 524,2 (dòng MLNC).

#### \* Độ hữu hiệu của các dòng vi khuẩn *Bradyrhizobium* trong chậu đất trồng trong nhà lưới

Chọn 8 dòng vi khuẩn *Bradyrhizobium* có khả năng tạo nốt rễ nhiều và hai dòng đối chứng dương là Đp1 và Đp2 đem thử độ hữu hiệu trong chậu đất ở điều kiện nhà lưới. Đất cát được lấy từ Tỉnh Trà Vinh, bón phân kali là lân, không bón đạm. 8 dòng được chọn bao gồm: ĐMLBA, ĐMLBC, ĐMLNB, ĐVKA, ĐMLBE, ĐMLBF, ĐVKB và ĐVKC. Quan sát sự phát triển của cây đậu phộng chúng tôi thấy cây có chủng vi khuẩn phát triển mạnh, cao hơn và xanh hơn không chủng vi khuẩn (Hình 1).



**Hình 1: Sự phát triển của cây đậu phộng chủng vi khuẩn *Bradyrhizobium* trong nhà lưới**

Chú thích: 1- Đối chứng, 2- Dòng Đp1, 3- Dòng Đp2, 4- Dòng ĐVKC, 5- Dòng ĐMLBF, 6- Dòng ĐVKA, 7- Dòng ĐMLNB, 8- Dòng ĐMLBE, 9- Dòng ĐMLBA, 10- Dòng ĐVKB và 11- Dòng ĐMLBC

Khi thu hoạch chúng tôi thu được như sau: những cây đậu phộng chủng dòng ĐMLBA có chiều cao cây và TLK cây trung bình lớn nhất (27,83cm và 1,64g/cây), những cây chủng vi khuẩn dòng ĐMLBE có chiều cao cũng như TLK nhỏ nhất (22,53 cm và 1,13g/cây), so với cây đối chứng là 20,63cm và 1,01g/cây và sự khác biệt này có ý nghĩa ở 1% đối với chiều cao cây và 5 % đối với TLK cây. Như vậy, cây có chủng vi khuẩn chiều cao và TLK cây lớn hơn hẳn cây đối chứng, chứng tỏ vi khuẩn có ảnh hưởng lớn đến chiều cao và TLK cây. Các cây đậu phộng có chủng vi khuẩn đều có số nốt rễ và TLK nốt rễ cao hơn hẳn cây đối chứng và khác biệt có ý nghĩa ở mức 1%. Cây có chủng dòng vi khuẩn ĐVKA có số lượng nốt rễ/cây cũng như TLK nốt rễ lớn nhất tiếp đến là cây có chủng dòng ĐMLBA (Bảng 1).

Như vậy khi chủng vi khuẩn cố định đạm cho cây đậu phộng thì số nốt rễ và TLK nốt rễ cao hơn hẳn cây không chủng vi khuẩn. Điều đó chứng tỏ vi khuẩn cố định đạm có ảnh hưởng rất lớn, giúp cho cây đậu phộng tạo ra nốt rễ để cố định đạm.

**Bảng 1: Số lượng nốt rễ và trọng lượng khô nốt rễ của cây đậu phộng chủng các dòng vi khuẩn Bradyrhizobium**

Thứ tự	Tên dòng	Số nốt rễ trung bình/cây	TLK nốt rễ /cây (g)
1	ĐMLBA	68,47 <sup>b</sup>	0,0200
2	ĐMLBC	59,60 <sup>bcd</sup>	0,0080
3	ĐMLBE	55,50 <sup>d</sup>	0,0113
4	ĐVKB	62,50 <sup>bcd</sup>	0,0100
5	ĐVKA	83,14 <sup>a</sup>	0,0229
6	ĐMLBF	42,18 <sup>e</sup>	0,0114
7	ĐVKC	56,83 <sup>cd</sup>	0,0100
8	ĐMLNB	36,17 <sup>e</sup>	0,0085
9	Đp1	67,48 <sup>bc</sup>	0,0192
10	Đp2	67,00 <sup>bc</sup>	0,0157
11	Đ/c	18,86 <sup>f</sup>	0,0029

\* Ghi chú: Các chữ theo sau các số trong cùng một cột khác nhau sẽ khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1%.

**Phân tích hàm lượng protein trong thân và lá cây đậu phộng sau 1 tháng trồng**

Từ kết quả trên chọn một số cây đậu phộng để phân tích hàm lượng protein trong thân và lá. Các cây được chọn là cây có chủng dòng vi khuẩn ĐVKA (có số nốt rễ nhiều nhất và TLK nốt rễ cao nhất), ĐMLBA (có số nốt rễ và TLK thứ 2), dòng đối chứng Đp1, dòng ĐMLNB (có số nốt rễ ít nhất) và cây đối chứng. Các mẫu được phân tích với hai lần lặp lại. Kết quả cây chủng dòng vi khuẩn ĐVKA có hàm lượng protein trong cây cao nhất (15,915%) tiếp đến là cây chủng dòng vi khuẩn ĐMLBA (15,594%) và thấp nhất là cây đối chứng (9,909%) (Bảng 2).

**Bảng 2: Hàm lượng protein trong cây đậu phộng**

Nghiệm thức	Hàm lượng protein trong cây (%)
Cây chủng dòng ĐVKA	15,915
Cây chủng dòng ĐMLBA	15,594
Cây chủng dòng Đp1	14,210
Cây chủng dòng ĐMLNB	13,071
Đối chứng	9,909

Ta thấy, cây có chủng vi khuẩn có hàm lượng protein cao hơn hẳn cây không chủng vi khuẩn (1,6 lần). Giữa số nốt rễ và hàm lượng protein trong cây có tương quan tuyến tính chặt theo phương trình  $y = 10,339x - 87,227$  và  $R^2 = 0,901$ . Giữa số lượng nốt rễ và hàm lượng protein cũng có mối tương quan rất chặt chẽ theo phương trình  $y = 0,0034x - 0,0315$  và  $R^2 = 0,9081$ . Như vậy, số lượng nốt rễ và TLK nốt rễ càng cao thì hàm lượng protein trong cây càng cao. Từ các kết quả trên đây cho thấy dòng ĐVKA và ĐMLBA có độ hữu hiệu cao nhất trong tất cả các dòng vi khuẩn cố định đạm đã phân lập.

### 3.4 Độ hữu hiệu của các dòng vi khuẩn hòa tan lân trồng trong chậu đất ở nhà lưới

Từ kết quả trên, chọn 4 dòng có độ hữu hiệu cao nhất trên môi trường chứa lân không tan gồm: MLNC (độ hữu hiệu là 524,2), TXTVF (độ hữu hiệu là 517,1), TXTVE (độ hữu hiệu là 510,4) và TXTVD (độ hữu hiệu là 508,6) đem thử trong chậu đất trồng trong nhà lưới. Trong quá trình phát triển của cây đậu, chúng tôi thấy cây trồng trong chậu đất trong nhà lưới phát triển tốt. Cây có chủng vi khuẩn hoà tan lân có đặc điểm bề ngoài xanh tốt hơn và cao hơn cây không chủng (đối chứng) (Hình 2).



**Hình 2: Sự phát triển của cây đậu  
phòng chủng các dòng vi khuẩn  
hòa tan lân trồng trong nhà lưới**

Chú thích : 1- Đậu phòng không chủng vi khuẩn (đối chứng), 2- Đậu phòng chủng dòng TXTVF, 3- Đậu phòng chủng dòng MLNC, 4- Đậu phòng chủng dòng TXTVE v à 5- Đậu phòng chủng dòng TXTVD

Sau một tháng trồng thì thu hoạch, cây chủng dòng MLNC có chiều cao cây trung bình, TLK cây trung bình và TLK rễ trung bình cao hơn tất cả các dòng khác (26,7cm, 1,72g/cây, 0,26g/cây), cao hơn hẳn so với cây đối chứng có chiều cao cây trung bình là 18,0cm, TLK thân lá trung bình là 1,09g/cây và TLK rễ trung bình là 0,17g/cây. Sự khác biệt này có ý nghĩa ở mức 1% đối với chiều cao cây và 5% đối với trọng lượng khô cây và rễ cây (Bảng 3).

**Bảng 3: Chiều cao cây, TLK cây và TLK rễ đậu phòng chủng vi khuẩn hòa tan lân trồng trong chậu đất ở nhà lưới**

TT	Nghiệm thức	Chiều cao cây (cm)*	TLK cây (g/cây)**	TLK rễ (g/cây)**
1	MLNC	26,7 <sup>a</sup>	1,72 <sup>a</sup>	0,26 <sup>a</sup>
2	TXTVF	24,3 <sup>a</sup>	1,44 <sup>ab</sup>	0,23 <sup>ab</sup>
3	TXTVE	19,2 <sup>b</sup>	1,36 <sup>b</sup>	0,19 <sup>bc</sup>
4	TXTVD	23,4 <sup>a</sup>	1,42 <sup>ab</sup>	0,21 <sup>abc</sup>
5	Đối chứng	18,0 <sup>b</sup>	1,09 <sup>b</sup>	0,17 <sup>c</sup>

Ghi chú: \* Các chữ theo sau các số trong cùng một cột khác nhau sẽ khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

\*\* Các chữ theo sau các số trong cùng một cột khác nhau sẽ khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1%.

Cây có chủng vi khuẩn hòa tan lân có có chiều cao cây trung bình, TLK thân lá trung bình và TLK rễ trung bình cao hơn cây đối chứng, như vậy vi khuẩn hòa tan lân có vai trò rất lớn trong việc làm tăng chiều cao cây, TLK cây và TLK rễ.

#### \* Hàm lượng phospho trong cây chủng vi khuẩn hòa tan lân

Chọn những cây đậu chủng 2 dòng vi khuẩn hòa tan lân có chiều cao cây và khối lượng lớn nhất là MLNC và TXTVF cùng với cây đối chứng để phân tích hàm lượng phospho trong cây thu được như bảng 4.

**Bảng 4: Hàm lượng phospho trong cây chủng vi khuẩn hòa tan lân và cây đối chứng**

Thứ tự	Nghiệm thức	Hàm lượng phospho trong cây (%)
1	MLNC	0,2815
2	TXTVF	0,2785
3	Đối chứng	0,2395

Cây có chủng vi khuẩn hòa tan lân có hàm lượng lân cao hơn cây không chủng vi khuẩn, như vậy vi khuẩn có vai trò lớn trong việc hoà tan lân khó tan để cung cấp lân cho cây trồng. Như vậy dòng MLNC có khả năng hòa tan lân mạnh nhất trong các dòng đã phân lập.

**3.5 Độ hữu hiệu của hỗn hợp các dòng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân**

Chọn dòng vi khuẩn cố định đạm có độ hữu hiệu cao nhất là ĐVKA và dòng vi khuẩn hòa tan lân tốt nhất là MLNC để đánh giá độ hữu hiệu của hỗn hợp vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân đối với cây đậu phộng trong nhà lưới. Sau 1 tháng trồng, có sự khác nhau khá rõ về đặc điểm của từng nghiệm thức qua màu sắc và chiều cao cây. Cây không bón phân và chủng vi khuẩn có triệu chứng thiếu dinh dưỡng rõ rệt như lá vàng và chiều cao cây thấp, cây có chủng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân hoặc bón phân hóa học thì có lá xanh, thân cao (Hình 4).



**Hình 4: Đặc điểm cây đậu có chủng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân và bón phân hóa học khi trồng 1 tháng)**

Chú thích: 1- Không vi khuẩn, không bón đạm và lân, 2- Chủng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân, bón đạm và lân, 3- Không vi khuẩn, bón lân, 4- Không vi khuẩn, bón đạm và lân, 5- Chủng vi khuẩn hòa tan lân, bón đạm, không bón lân, 6- Chủng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân, không bón đạm và lân, 7- Không vi khuẩn, bón đạm, 8- Chủng vi khuẩn cố định đạm, bón lân, không bón đạm

Khi thu hoạch, số nhánh cây thay đổi ở từng nghiệm thức. Nghiệm thức có số nhánh trung bình nhiều nhất là nghiệm thức không vi khuẩn, bón lân và nghiệm thức không vi khuẩn, bón đạm và lân ít nhất là nghiệm thức chủng vi khuẩn hòa tan lân, bón đạm, không bón lân. Qua đây ta thấy số nhánh cây không lệ thuộc nhiều vào việc bón phân hay chủng vi khuẩn. Chiều cao cây và TLK cây thay đổi ở từng nghiệm thức, nghiệm thức vừa chủng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân, vừa bón đạm và lân cây có chiều cao và có TLK lớn nhất (55,31 cm/cây và 7,79g/cây), còn thấp nhất là nghiệm thức không chủng vi khuẩn, không bón đạm và lân với chiều cao là 35,38 cm/cây và TLK là 6,67g/cây, chúng khác nhau có ý nghĩa thống kê ở mức 1%.

So sánh hiệu quả của vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân ta ở nghiệm thức không chủng vi khuẩn, không bón phân và chủng hỗn hợp vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân cho thấy cây chủng vi khuẩn đạm và lân có chiều cao và TLK cao hơn hẳn nghiệm thức đối chứng, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ở mức 1%. Điều đó



chúng tỏ vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân có ảnh hưởng rất lớn, giúp tăng chiều cao và TLK cây đậu.

Nghiệm thức có số trái ít nhất là nghiệm thức đối chứng và có số lượng trái nhiều nhất là nghiệm thức vừa bón đạm và lân, vừa chủng hỗn hợp vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân (nghiệm thức 1 và 8, tương ứng 5,00 trái/cây và 8,78 trái/cây), sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ở mức 1%. Số trái lép nhiều nhất cũng là nghiệm thức 1 với 1,71 trái/cây trong đó ở nghiệm thức 8 chỉ 1 quả/cây. Kết quả này rất phù hợp bởi nghiệm thức 1 cây sẽ thiếu đạm và lân, ở nghiệm thức 8 cây ngoài được bón đạm và lân, chúng còn được bổ sung nguồn đạm và lân do hoạt động của vi khuẩn được chủng vào. Đối với vi khuẩn hòa tan lân, so sánh nghiệm thức không vi khuẩn, bón đạm và lân và nghiệm thức chủng vi khuẩn hòa tan lân, bón đạm, không bón lân (nghiệm thức 4 và 6) ta thấy nghiệm thức chủng vi khuẩn không bón lân có số trái trung bình là 8,35 trái/cây bằng với nghiệm thức 4. Như vậy sử dụng vi khuẩn hòa tan lân có hiệu quả tương đương với bón phân lân hóa học.

Số trái lép của thí nghiệm 4 cao hơn nghiệm thức 7, nhưng sự khác nhau này không có ý nghĩa thống kê ở mức 1%. So sánh số lượng trái giữa nghiệm thức không vi khuẩn, không bón đạm và lân và chủng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân, không bón đạm và lân (nghiệm thức 1 và 7) nhận thấy nghiệm thức 7 có số quả cao hơn hẳn nghiệm thức 1 (5,00 và 8,63 trái/cây), và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ở mức 1%. Như vậy, cây có chủng hỗn hợp vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân cây cho năng suất cao hơn hẳn cây không chủng vi khuẩn.

Khi thu hoạch TLK trái cũng như hạt khô cao nhất là nghiệm thức chủng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân, bón đạm và lân (6,44g/cây và 4,54g/cây) và thấp nhất là nghiệm thức không vi khuẩn, không bón đạm và lân (3,87g/cây và 2,23g/cây), và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ở mức 1%. Như vậy cây vừa bón đạm lân vừa chủng hỗn hợp vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân cho năng suất cao nhất.

Nghiệm thức 1 có năng suất chỉ 2,23g hạt khô/cây trong đó ở nghiệm thức 7 là 4,42g hạt khô/cây. Như vậy sử dụng vi khuẩn cho năng suất cao hơn rất nhiều (2,04 lần) so với cây đối chứng. Sự khác biệt này có ý nghĩa ở mức thống kê 1%, nó chứng tỏ vi khuẩn có hiệu quả cao khi chủng cho cây đậu phộng.

Không có sự khác biệt giữa nghiệm thức 4 (không vi khuẩn, bón đạm và lân) với nghiệm thức 7 (chủng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân, không bón đạm và lân). Như vậy sử dụng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân có thể thay thế cho phân hóa học (50kg đạm/ha, 60kg lân/ha).

Phân tích thân lá và hạt đậu phộng cho thấy hàm lượng protein thay đổi ở từng nghiệm thức, thấp nhất là nghiệm thức 1, cao nhất là nghiệm thức chủng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân, bón đạm và lân (nghiệm thức 8) (Bảng 5).

Thí nghiệm này tương tự như thí nghiệm cây có chủng vi khuẩn trước đây có hàm lượng protein cao hơn cây không chủng vi khuẩn. Hàm lượng protein trong thân và lá đậu phộng sau 3 tháng trồng thấp hơn sau 1 tháng trồng nhưng hàm lượng protein trong hạt lại rất cao, điều đó cho thấy một phần protein từ thân và lá đã chuyển vào hạt.

**Bảng 5: Hàm lượng protein trong thân lá và trong hạt cây đậu phộng chủng vi khuẩn sau 3 tháng trồng trong nhà lưới**

Nghiệm thức	Hàm lượng protein trong thân lá (%)	Hàm lượng protein trong hạt (%)
Chủng vi khuẩn cố định đạm, bón lân, không bón đạm	9,946	23,141
Chủng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân, không bón đạm và lân	9,338	22,898
Chủng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân, bón đạm và lân	12,568	23,629
Không vi khuẩn, không bón đạm và lân	8,566	22,614

Đối với hàm lượng lipid, giữa các nghiệm thức thay đổi không đáng kể, nghiệm thức có hàm lượng lipid cao nhất là chủng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân, không bón đạm và lân (42,45%), khác với hàm lượng protein cao nhất là nghiệm thức cây chủng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân, bón đạm và lân. Hàm lượng lipid thấp nhất là nghiệm thức không vi khuẩn, không bón đạm và lân (đối chứng) với 41,14% (Bảng 6).

**Bảng 6: Hàm lượng lipid trong hạt đậu phộng**

Nghiệm thức	Hàm lượng lipid trong hạt (%)
Chủng vi khuẩn cố định đạm, bón lân, không bón đạm	41,66
Chủng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân, không bón đạm và lân	42,45
Chủng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân, bón đạm và lân	42,23
Không vi khuẩn, không bón đạm và lân	41,14

Như vậy, việc chủng vi khuẩn và bón phân một mặt nâng cao năng suất, một mặt làm tăng hàm lượng protein và lipid trong hạt, tuy nhiên hàm lượng protein và lipid trong hạt tăng không nhiều.

## 4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

### 4.1 Kết luận

Mười bốn dòng vi khuẩn cố định đạm và 35 dòng vi khuẩn hòa tan lân cho đậu phộng đã được phân lập. Khi chủng hỗn hợp 2 dòng vi khuẩn này hay riêng rẽ từng dòng cho đậu phộng trồng trong chậu, nhận thấy vi khuẩn giúp cây đậu gia tăng chiều cao cây và trọng lượng khô cây đậu so với đối chứng không chủng vi khuẩn. Hàm lượng đạm và lân của cây đậu có chủng vi khuẩn đều cao hơn nghiệm thức đối chứng. Từ kết quả thí nghiệm cho thấy chủng hỗn hợp vi khuẩn giúp thay thế 50kgN/ha và 60kgP<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ha.

### 4.2 Đề nghị

Triển khai thí nghiệm ngoài đồng ruộng để khẳng định khả năng tăng năng suất của các dòng vi khuẩn này trước khi ứng dụng đại trà.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- Chabot, R; H. Antoun and M. P. Cescas. 1993. Stimulation de la croissance du maïs et de la laitue romaine par des microorganismes dissolvant le phosphore inorganique. *Can. J. Microbiol* 39:943-947.
- Trần Phước Đường, Điệp Cao Ngọc, Dũng Trần Nhân, Hiệp Nguyễn Hữu, Sanh Trần Văn và Tiến Dương Đình 1993 Hiệu quả của phân vi sinh vật (ViDapho), NPK, tro dừa và vôi trên năng suất đậu phộng Giấy trồng trên đất cát bạc màu Lộc trị, Lộc Hưng, Trảng bàng, Tây Ninh vụ Đông Xuân 90-91. Tuyển tập Công trình Nghiên cứu khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Trang 216-224.
- Nguyen Huu Hiep and Nguyen The Huy 1999 An appropriate technique for the cultivation of inoculated soybean in acid sulphate paddy soil in the Mekong Delta, Vietnam. *Proceedings of The 12th Australian Nitrogen Fixation Conference*. New South Wales, Australia. pp.39-42.
- Nguyen Huu Hiep, Cao Ngọc Điệp and David F. Herridge 2002 Nitrogen Fixation of Soybean and Groundnut in the Mekong Delat, Vietnam. In: *Inoculants and nitrogen fixation of legumes in Vietnam*.ACIAR proceedings No. 109e. D. Herridge (ed.). pp. 10-18. ISBN 1 86320 335 4. Sun Photoset Pty Ltd., Brisbane, Australia.
- Illmer P and Schinner F 1992 Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soils. *Soil Biol Biochem*. 24:389-395.
- Kundu B S and Gaur A C 1984 Rice response to inoculation with N<sub>2</sub>-fixing and P-solubilizing microorganisms. *Plant and Soil* 79:227-234.
- Sumner M E 1990 Crop responses to Azospirillum inoculation. *Advances in Soil Science* 12: 53-123.