

KHẢ NĂNG CỐ ĐỊNH ĐẠM CỦA VI KHUẨN VÙNG RỄ VÀ NỐT SẴN CÂY HỌ ĐẬU Ở TỈNH TRÀ VINH

Cao Hồng Tơ¹, Nguyễn Phương Thúy², Trần Thị Trang³,

Nguyễn Văn Toàn³, Trần Thị Giang¹,

Đỗ Tấn Khang¹, Nguyễn Phạm Anh Thi^{1,*}

TÓM TẮT

Hiện nay, nhu cầu về phân bón ngày càng tăng cao, việc sử dụng một lượng lớn phân hóa học trong nông nghiệp là rất lãng phí. Đặc biệt, hiệu suất cây hấp thu phân đạm thấp và phần còn lại sẽ thoát ra môi trường gây ô nhiễm môi trường. Việc sử dụng vi khuẩn cố định đạm trong nông nghiệp là một trong những giải pháp thay thế được quan tâm hiện nay. Nghiên cứu được thực hiện nhằm phân lập đánh giá, so sánh khả năng cố định đạm của các dòng vi khuẩn vùng rễ và vi khuẩn nốt sần. Từ 6 mẫu đất vùng rễ và 2 mẫu nốt sần cây họ đậu ở tỉnh Trà Vinh, đã phân lập được 10 dòng vi khuẩn vùng rễ trên môi trường Burk không đạm và phân lập được 7 dòng vi khuẩn nốt sần trên môi trường YEMA. Khảo sát 10 dòng vi khuẩn vùng rễ bằng phương pháp Indolphenol blue cho kết quả hàm lượng đạm NH_4^+ trung bình từ 0,296 - 0,812 mg/l, trong đó cao nhất là dòng N1 (0,562 mg/l), N7 (0,547 mg/l), N10 (0,812 mg/l) và được chọn để thực hiện thí nghiệm trong nhà lưới trên cây rau muống. Kết quả thí nghiệm trong nhà lưới cho thấy, khi bổ sung dòng vi khuẩn N1, chiều cao cây, khối lượng rễ, khối lượng tươi và khô của thân lá có khác biệt ý nghĩa so với khi bổ sung dòng vi khuẩn N7 và dòng N10. Khảo sát 7 dòng vi khuẩn nốt sần trên cây đậu xanh trong điều kiện nhà lưới cho thấy khác biệt ý nghĩa so với các nghiệm thức đối chứng. Trong đó, nghiệm thức có chủng dòng vi khuẩn R1.5 cho kết quả số nốt sần gấp 1,98 lần so với nghiệm thức không bổ sung vi khuẩn và gấp 2,04 lần so với nghiệm thức bón phân hóa học.

Từ khóa: Cố định đạm, cây họ đậu, vi khuẩn vùng rễ, vi khuẩn nốt sần.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong canh tác nông nghiệp, bên cạnh lân và kali thì đạm đóng vai trò đặc biệt quan trọng trong sự phát triển của thực vật. Khi thiếu đạm, cây trồng có dấu hiệu ngả vàng, hàm lượng diệp lục tố giảm mạnh làm ảnh hưởng đến sự phát triển của cây, điều này làm cho nông dân có tâm lý bón nhiều phân đạm cho cây trồng. Tuy nhiên, theo các nghiên cứu thì hiệu suất hấp thụ dao động từ 30 - 53% lượng phân đạm bón vào đất được cây sử dụng và phần phân đạm còn lại sẽ thoát ra môi trường gây ô nhiễm nguồn nước ngầm [1]. Để giảm lượng phân đạm hóa học sử dụng trong nông

nghiệp, cần phải dùng nguồn phân đạm thay thế, một trong số đó là nguồn đạm từ nitrogen có trong không khí được tổng hợp nhờ vi khuẩn cố định đạm. Các vi khuẩn cố định đạm cộng sinh trong nốt sần đóng vai trò cố định đạm từ khí quyển và cung cấp cho cây họ đậu [2]. Vì thế, sử dụng vi khuẩn cố định đạm để cung cấp đạm cho cây trồng hứa hẹn sẽ đóng vai trò quan trọng trong việc giảm sử dụng phân đạm hóa học.

Theo Cổng thông tin điện tử tỉnh Trà Vinh (2023), tính đến hết 2022, tỉnh Trà Vinh có tổng diện tích đất nông nghiệp là 141.158 ha, chiếm 59,04% diện tích đất tự nhiên của tỉnh. Tổng diện tích đất trồng trọt là hơn 252.500 ha, tập trung phát triển các loại cây trồng chủ lực như: Lúa gạo với diện tích gieo trồng hàng năm là 220.000 ha, sản lượng 1,15 triệu tấn/năm; cây bắp và các loại rau màu, đậu chiếm 10% diện tích và sản lượng đứng

¹ Viện Công nghệ sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ

² Trung tâm Ứng dụng sinh học, Trường Đại học Trà Vinh

³ Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn tỉnh Bạc Liêu

* Email: npathi@ctu.edu.vn

thứ 3 - 5 của khu vực; cây đậu phộng chiếm 60% diện tích và 70% sản lượng của khu vực [3]. Từ thực tế trên, nghiên cứu "*Khả năng cố định đạm của vi khuẩn vùng rễ và nốt sần cây họ đậu ở tỉnh Trà Vinh*" được thực hiện làm tiền đề cho những nghiên cứu tiếp theo về sản xuất phân vi sinh từ vi khuẩn cố định đạm.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Sáu mẫu đất vùng rễ và 2 mẫu nốt sần cây họ đậu (điền điển) được thu thập trên đất nông nghiệp của tỉnh Trà Vinh. Hạt giống rau muống, đậu xanh và phân bón NPK được mua tại cửa hàng hạt giống Xuân Nông ở thành phố Cần Thơ.

Môi trường Burk [4] và môi trường YEMA [5] được sử dụng cho nuôi cấy vi khuẩn vùng rễ và vi khuẩn nốt sần cố định đạm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập vi khuẩn cố định đạm

2.2.1.1. Phân lập vi khuẩn cố định đạm tự do từ mẫu đất vùng rễ

Cho 10 g mẫu đất quanh vùng rễ cây vào các bình tam giác 250 ml có chứa 90 ml nước cất vô trùng. Lắc mẫu ở tốc độ 120 vòng/phút trong 60 phút, để lắng trong 10 phút và trải phần dịch trong trên môi trường Burk. Sau đó, mẫu được ủ ở nhiệt độ phòng 3 ngày, tiến hành quan sát và tiếp tục cấy chuyển để tách thuần trên môi trường Burk.

2.2.1.2. Phân lập vi khuẩn cộng sinh với nốt sần cây họ đậu

Mẫu rễ cây họ đậu được rửa dưới vòi nước chảy để loại bỏ đất bám xung quanh rễ. Tiến hành khử trùng bề mặt bằng việc ngâm nốt sần trong cồn 70% trong 5 phút, loại bỏ cồn. Tiếp theo, khử trùng với NaClO nồng độ 1% trong 30 giây và cuối cùng rửa lại với nước cất vô trùng 3 lần. Cho các nốt sần vào ống eppendorf chứa sẵn 900 μ l dung dịch đệm phosphate, nghiền nốt sần và trải đều trên bề mặt môi trường YEMA có bổ sung 0,0025% thuốc nhuộm congo red. Sau 24 giờ ủ, tiến hành quan sát và chọn các khuẩn lạc không bắt màu hoặc bắt màu hồng nhạt với thuốc nhuộm congo red [6]. Sau đó, tiến hành tách thuần các dòng vi khuẩn này trên môi trường YEMA.

2.2.2. Khảo sát khả năng cố định đạm của vi khuẩn vùng rễ

Hàm lượng đạm được xác định bằng phương pháp Indophenol blue [7]. Xây dựng đường chuẩn để xác định hàm lượng đạm bằng cách so màu nhờ vào phản ứng của NH_4^+ với phenol tạo thành indophenol có màu xanh trong môi trường kiềm có xúc tác của nitroprusside và xác định giá trị OD ở bước sóng 636 nm [5]. Phương trình đường chuẩn thể hiện tương quan giữa giá trị OD và hàm lượng đạm được xác định bởi phương trình $y = 0,1515x - 0,0031$ ($R^2 = 0,9973$). Trong đó: y là giá trị OD và x là hàm lượng đạm (mg/l).

Xác định khả năng cố định đạm, nuôi 3 ml dịch vi khuẩn cố định đạm (mật số 10^7 CFU/ml) trong bình tam giác 150 ml có chứa 27 ml môi trường Burk lỏng trên máy lắc với tốc độ 120 vòng/phút. Sau 2, 4, 6 và 8 ngày thu 1 ml dịch nuôi cấy cho vào 4 ml nước cất, 1 ml EDTA, 2 ml nitroprusside, 4 ml sodium hypochloride. Lắc đều và để yên 30 phút, tiến hành đo OD ở bước sóng 636 nm. So giá trị đo được với đường chuẩn để xác định được hàm lượng đạm vi khuẩn cố định được.

2.2.3. Đánh giá khả năng cố định đạm của dòng vi khuẩn nốt sần và vi khuẩn vùng rễ cho cây trong điều kiện nhà lưới

2.2.3.1. Vi khuẩn cố định đạm vùng rễ trên cây rau muống trong điều kiện nhà lưới

Khử trùng giá thể (cát và tro trấu) ở 121°C trong 30 phút. Cho 3 kg giá thể đã khử trùng vào chậu nhựa đường kính 20 cm đã được khử trùng bề mặt bằng cồn 70%. Đậy kín chậu để hạn chế nhiễm vi sinh vật từ bên ngoài.

Ngâm hạt giống trong nước ấm (35°C) trong 3 giờ. Sau đó, hạt giống được xử lý bằng cách ngâm trong dung dịch ethanol 70% trong 1 phút. Đối với các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn cố định đạm, hạt giống được ngâm trong dịch huyền phù vi khuẩn thử nghiệm có mật số 10^7 CFU/ml trong 3 giờ trước khi gieo vào chậu.

Nuôi cấy vi khuẩn vùng rễ trong bình tam giác 250 ml có chứa 100 ml môi trường LB lỏng 2 - 3 ngày. Sau đó, chủng vi khuẩn vào chậu nhựa chứa giá thể cho đạt mật số 10^7 CFU/g khối lượng giá thể. Hạt rau muống được ngâm trong dịch huyền

phù vi khuẩn cố định đạm vùng rễ. Gieo 30 - 40 hạt rau muống vào một chậu, sau khi hạt nảy mầm 5 - 7 ngày, tiến hành tỉa lại còn 15 - 20 cây/chậu.

Nghiên cứu được bố trí gồm các nghiệm thức: ĐC (-) (không bón phân và không chủng vi khuẩn), ĐC (+) (bón phân đạm) và 3 nghiệm thức bón các dòng vi khuẩn (không bón phân đạm). Tất cả các nghiệm thức bón đầy đủ phân lân và kali theo khuyến cáo của Cao Ngọc Diệp và cs (2011) [8] (Bảng 1). Ở nghiệm thức có chủng vi khuẩn, thực hiện tưới 30 ml dịch nuôi cấy vi khuẩn mật số 10^7 CFU/ml tại các thời điểm bón phân đạm. Tổng cộng thí nghiệm gồm 5 nghiệm thức, với 3 lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức.

Bảng 1. Liều lượng và thời gian bón phân cho cây rau muống

Loại phân	Bón lót (1 NTKG) (%)	Bón thức 1 (10 NSKG) (%)	Bón thức 2 (15 NSKG) (%)	Bón thức 3 (25 NSKG) (%)
Đạm	20	30	30	20
Lân	100	0	0	0
Kali	50	20	20	10

Ghi chú: NTKG - Ngày trước khi gieo giống; NSKG - Ngày sau khi gieo.

Tiến hành lấy chỉ tiêu (chiều cao cây, khối lượng thân và lá, khối lượng và chiều dài rễ) tại thời điểm 30 ngày sau khi gieo. Chỉ tiêu chiều cao lấy từ gốc đến đỉnh của lá có chiều dài lớn nhất. Khối lượng khô được thực hiện cân sau khi cho sấy ở 80°C đến khối lượng không đổi (2 - 3 ngày).

2.2.3.2. Vi khuẩn cố định đạm trong nốt sần trên cây đậu xanh trong điều kiện nhà lưới

Chuẩn bị giá thể và hạt giống được thực hiện tương tự ở mục 2.2.3.1.

Nuôi cấy vi khuẩn nốt sần trong bình tam giác 250 ml có chứa 100 ml môi trường YEMA lỏng 2 - 3 ngày. Sau đó, chủng vào chậu nhựa chứa giá thể sao cho đạt mật số 10^7 CFU/g khối lượng giá thể. Hạt đậu xanh được ngâm trong dung dịch huyền phù vi khuẩn cố định đạm nốt sần trong 3 giờ trước khi gieo. Gieo 15 hạt đậu xanh vào một chậu cây, sau khi hạt nảy mầm 7 ngày tiến hành tỉa lại còn 3 - 5 cây/chậu.

Nghiên cứu được bố trí gồm các nghiệm thức: ĐC (-) (không bón phân và không chủng vi khuẩn), ĐC (+) (bón phân đạm) và 7 nghiệm thức bón các dòng vi khuẩn (không bón phân đạm). Tất cả các nghiệm thức bón đầy đủ phân lân và kali theo khuyến cáo của Nguyễn Đức Cường (2009) [9] (Bảng 2). Ở nghiệm thức có chủng vi khuẩn, thực hiện tưới 30 ml dịch nuôi cấy vi khuẩn mật số 10^7 CFU/ml tại các thời điểm bón phân đạm. Tổng cộng thí nghiệm gồm 9 nghiệm thức, với 3 lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức.

Bảng 2. Liều lượng và thời gian bón phân cho cây đậu xanh

Loại phân	Bón lót (1 NTKG) (%)	Bón thức 1 (15 NSKG) (%)	Bón thức 2 (25 NSKG) (%)
Đạm	33,3	33,3	33,3
Lân	100	0	0
Kali	33,3	33,3	33,3

Ghi chú: NTKG - Ngày trước khi gieo giống; NSKG - Ngày sau khi gieo.

Tiến hành lấy chỉ tiêu (số lượng nốt sần và khối lượng khô nốt sần, chiều cao cây, khối lượng thân và lá) tại thời điểm 30 ngày sau khi gieo. Chỉ tiêu chiều cao lấy từ gốc đến đỉnh của lá có chiều dài lớn nhất. Khối lượng khô được thực hiện cân sau khi cho sấy ở 80°C đến khối lượng không đổi (2 - 3 ngày).

2.2.4. Xử lý số liệu

Số liệu trong quá trình thí nghiệm được ghi nhận, xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2019 và xử lý phân tích thống kê bằng phần mềm Minitab 16.

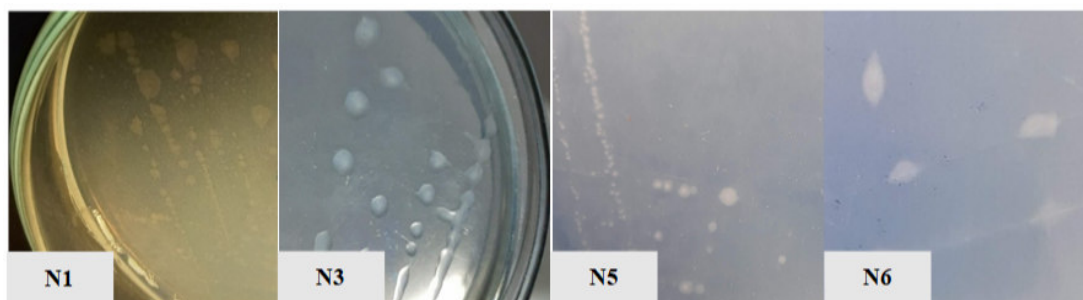
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập vi khuẩn cố định đạm từ đất vùng rễ

Phân lập được 10 dòng vi khuẩn (được kí hiệu N1 đến N10) trên môi trường Burk từ 6 mẫu đất vùng rễ và từng dòng vi khuẩn lại cho đặc điểm khác nhau (Bảng 3 và hình 1). Đa số khuẩn lạc có hình tròn và đặc biệt dòng N6 có hình oval. Các dòng vi khuẩn phân lập được có hai màu chính là trắng trong và trắng sữa, trong đó có 4 dòng có bìa màu trắng trong hoặc trắng sữa không đồng nhất với màu ở tâm khuẩn lạc. Hình dạng tế bào đa số hình cầu và Gram âm, tuy nhiên dòng N4 có hình que và Gram dương.

Bảng 3. Đặc điểm khuẩn lạc và đặc điểm tế bào của vi khuẩn vùng rễ trên môi trường Burk sau 48 giờ nuôi cấy

TT	Dòng vi khuẩn	Đặc điểm khuẩn lạc					Đặc điểm tế bào	
		Hình dạng	Màu sắc	Bìa (viên) khuẩn lạc	Độ cao khuẩn lạc	Kích thước (mm)	Hình dạng	Gram
1	N1	Không đều	Trắng sữa, màu đậm ở giữa	Răng cưa	Dẹt	1	Cầu	-
2	N2	Tròn đều	Trắng sữa	Nguyên	Dẹt	1	Cầu	-
3	N3	Tròn đều	Trắng trong, tâm trắng sữa	Nguyên	Nổi mô	2 - 4	Cầu	-
4	N4	Tròn đều	Trắng sữa	Nguyên	Dẹt	2	Que	+
5	N5	Tròn đều	Trắng sữa, tâm trắng đậm hơn	Nguyên	Nổi mô	1 - 3	Cầu	-
6	N6	Oval	Trắng sữa	Nguyên	Dẹt	2 x 4	Cầu	-
7	N7	Không đều	Trắng trong	Gợn sóng	Nổi mô	2 - 4	Cầu	-
8	N8	Tròn đều	Bìa trắng trong, tâm trắng sữa	Nguyên	Dẹt	2	Cầu	-
9	N9	Tròn đều	Trắng sữa	Gợn sóng	Dẹt	1 - 2	Cầu	-
10	N10	Không đều	Trắng trong	Nguyên	Nổi mô	1 - 2	Cầu	-



Hình 1. Hình thái khuẩn lạc của một số dòng vi khuẩn được quan sát trên môi trường Burk sau 48 giờ nuôi cấy

3.2. Phân lập vi khuẩn cố định đạm từ nốt sần ở rễ cây họ đậu

Phân lập được 7 dòng vi khuẩn từ nốt sần cây họ đậu trên môi trường YEMA. Đặc điểm của 7 dòng vi

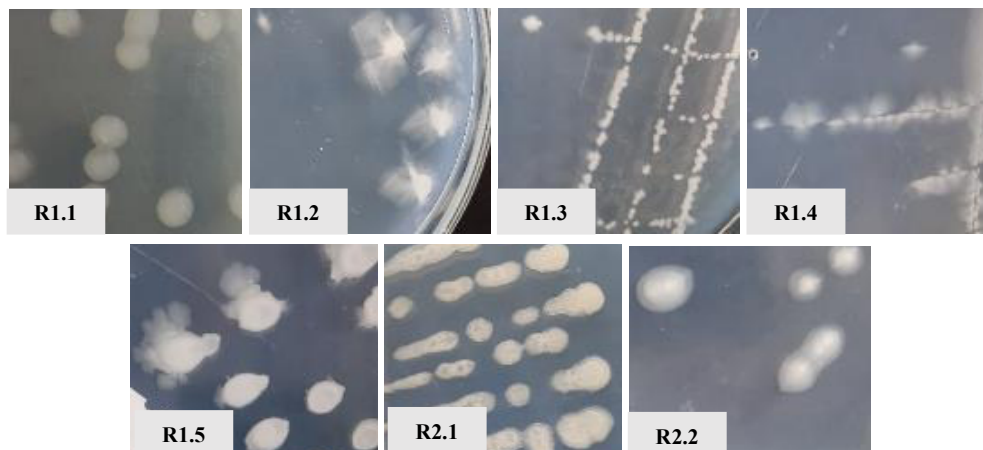
khẩn đã phân lập được trình bày trong bảng 4 và hình 2. Hai hình dạng chính của khuẩn lạc vi khuẩn là hình tròn và oval. Hầu hết các khuẩn lạc có màu trắng sữa, dòng vi khuẩn R2.1 có màu vàng nhạt.

Bảng 4. Đặc điểm khuẩn lạc và tế bào của vi khuẩn nốt sần trên môi trường YEMA sau 48 giờ nuôi cấy

TT	Dòng vi khuẩn	Hình dạng khuẩn lạc	Màu sắc	Bìa (viên) khuẩn lạc	Độ cao khuẩn lạc	Gram
1	R1.1	Tròn đều	Trắng sữa	Nguyên	Nổi mô	-
2	R1.2	Không đều	Trắng sữa nhạt ở bìa, đậm ở giữa	Chia thùy	Nổi mô	-
3	R1.3	Oval, không đều	Trắng sữa nhạt ở bìa, đậm ở giữa	Gợn sóng	Nổi mô	-
4	R1.4	Không đều	Trắng sữa nhạt ở	Gợn sóng	Dẹt	-

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

			bìa, đậm ở giữa			
5	R1.5	Oval, nhọn ở hai đầu	Trắng sữa nhạt ở bìa, đậm ở giữa	Chia thùy	Nổi mô	-
6	R2.1	Tròn, nhọn ở hai đầu	Vàng nhạt	Nguyên	Nổi mô	-
7	R2.2	Tròn	Trắng sữa nhạt ở bìa, đậm ở giữa	Nguyên	Nổi mô	-



Hình 2. Khuẩn lạc của các dòng vi khuẩn trên môi trường YEMA sau 48 giờ nuôi cấy

3.3. Khảo sát khả năng cố định đạm của vi khuẩn vùng rế

Kết quả khảo sát cho thấy, tất cả các dòng vi khuẩn vùng rế đều có khả năng cố định đạm trong môi trường Burk (Bảng 5). Dòng vi khuẩn N10 có kết quả định lượng cao và ổn định qua các thời điểm khảo sát, lần lượt là 0,306, 0,88, 1,24, 0,821

mg/l. Ba dòng vi khuẩn có kết quả trung bình của bốn thời điểm khảo sát tốt nhất là: N1 (0,562 mg/l), N7 (0,547 mg/l), N10 (0,821 mg/l).

Hàm lượng đạm trung bình này khá thấp so với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Anh Huy (2019) [10] với 3,35 mg/l và Nguyễn Thị Pha và cs (2015) với 4,32 mg/l [11].

Bảng 5. Hàm lượng đạm trung bình của các dòng vi khuẩn vùng rế

TT	Dòng vi khuẩn	Hàm lượng đạm NH_4^+ (mg/l)				Trung bình
		Ngày 2	Ngày 4	Ngày 6	Ngày 8	
1	N1	0,488 ^c	0,027 ^h	0,936 ^b	0,797 ^a	0,562
2	N2	0,629 ^a	0,567 ^d	0,221 ^f	0,266 ^d	0,421
3	N3	0,315 ^d	0,692 ^c	0,214 ^f	0,568 ^b	0,447
4	N4	0,539 ^b	0,225 ^g	0,811 ^c	0,305 ^d	0,470
5	N5	0,068 ^e	0,581 ^d	1,209 ^a	0,174 ^e	0,508
6	N6	0,554 ^b	0,604 ^d	0,516 ^e	0,397 ^c	0,518
7	N7	0,451 ^c	0,796 ^b	0,897 ^b	0,042 ^f	0,547
8	N8	0,055 ^e	0,495 ^e	0,479 ^e	0,155 ^e	0,296
9	N9	0,645 ^a	0,356 ^f	0,590 ^d	0,568 ^b	0,540
10	N10	0,306 ^d	0,880 ^a	1,240 ^a	0,821 ^a	0,812
F		252,26*	150,74*	554,64*	279,70*	
CV%		5,754	7,010	3,803	6,835	

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột có kí tự chữ theo sau giống nhau (a, b, c...) thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5%.

3.4. Khả năng cố định đạm cho cây trong điều kiện nhà lưới

3.4.1. Vi khuẩn cố định đạm vùng rễ trên cây rau muống trong điều kiện nhà lưới

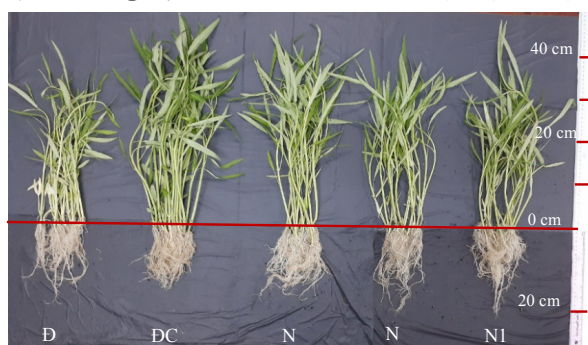
Ba dòng vi khuẩn N1, N7, N10 được lựa chọn thực hiện thí nghiệm tiếp theo trên cây rau muống trong điều kiện nhà lưới (Bảng 6 và hình 3). Cả 3 dòng vi khuẩn đều giúp rau muống phát triển hơn so với nghiệm thức ĐC (-) (không bón phân và không chủng vi khuẩn). Nghiệm thức ĐC (+) (bón phân đạm) có kết quả khối lượng, khối lượng khô,

chiều cao cây cao nhất. Vi khuẩn N1 cho kết quả chiều cao bằng với nghiệm thức bón phân đạm và khối lượng khô cao hơn những dòng vi khuẩn còn lại. Vi khuẩn N7 và N10 cho kết quả tương đương nhau về khối lượng và khối lượng khô, nhưng N7 cho kết quả chiều cao cây hơn nghiệm thức N10. Trong các nghiệm thức có chủng vi khuẩn, nghiệm thức N1 cho kết quả tốt nhất và cho kết quả khối lượng thân, khối lượng khô thân và rễ, chiều cao cây tốt hơn và khác biệt có ý nghĩa so với 2 nghiệm thức còn lại.

Bảng 6. Ảnh hưởng của ba dòng vi khuẩn vùng rễ lên cây rau muống

Nghiệm thức	Khối lượng thân lá (g)	Khối lượng khô thân lá (g)	Chiều cao (cm)	Khối lượng khô rễ (g)	Chiều dài rễ (cm)
ĐC (+)	5,078 ^a	0,2931 ^a	43,45 ^a	0,0760 ^c	18,58 ^b
ĐC (-)	1,974 ^d	0,1060 ^d	28,86 ^d	0,0335 ^d	16,63 ^c
N1	4,155 ^b	0,2422 ^b	41,52 ^a	0,0972 ^a	20,37 ^a
N7	2,803 ^c	0,1690 ^c	36,70 ^b	0,0817 ^b	20,18 ^a
N10	2,891 ^c	0,1612 ^c	32,75 ^c	0,0820 ^b	19,94 ^a
F	141,00*	115,45*	74,36*	82,56*	46,30*
CV (%)	5,296	6,098	3,331	7,975	2,086

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột có kí tự chữ theo sau giống nhau (a, b, c...) thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5%. ĐC (-): không bón phân và không chủng vi khuẩn, ĐC (+): bón phân đạm, N1, N7, N10: lần lượt là các nghiệm thức bón vi khuẩn N1, N7, N10 (không bón phân đạm).



Hình 3. Cây rau muống tại thời điểm 30 ngày

3.4.2. Vi khuẩn cố định đạm trong nốt sần trên cây đậu xanh trong điều kiện nhà lưới

Các dòng vi khuẩn nốt sần được tưới 30 ml mật số 10^7 CFU/ml vào thời điểm 7 - 10 NSKG, tưới lại vào thời điểm 15 NSKG để đảm bảo mật số và khả năng tạo nốt sần của các nghiệm thức, thu chỉ tiêu vào thời điểm 30 NSKG. Bảy dòng vi khuẩn được phân lập và cho hiệu quả tạo nốt sần tốt trên cây đậu xanh trong điều kiện nhà lưới và khác biệt ý nghĩa so với các nghiệm thức đối

chứng. Trong đó, nghiệm thức có chủng dòng vi khuẩn R1.5 cho kết quả số nốt sần (56,11 nốt sần) gấp 1,98 lần so với nghiệm thức không bổ sung vi khuẩn (28,21 nốt sần). Tương tự, nghiệm thức có chủng dòng vi khuẩn R1.5 cũng cho kết quả tốt hơn so với so với nghiệm thức bón phân hóa học và gấp 2,04 lần (Bảng 7).

Kết quả thu chỉ tiêu tăng trưởng cây đậu xanh của các nghiệm thức cho thấy, nghiệm thức có chủng vi khuẩn tốt hơn ĐC (-) về khối lượng, khối

lượng khô và chiều cao cây (Hình 4). Chiều cao 46,28 cm, chiều dài rễ 35,46 cm, tương đương ĐC nghiệm thức ĐC (+) đạt cao nhất với 46,5 cm và (+) và khác biệt so với các nghiệm thức chủng vi khuẩn khác. thấp nhất là nghiệm thức ĐC (-) với 39,79 cm, trong đó nghiệm thức R1.5 cho kết quả chiều cao

Bảng 7. Ảnh hưởng của các dòng vi khuẩn nốt sần lên cây đậu xanh

Nghiem thức	Khối lượng thân lá (g)	Khối lượng khô thân lá (g)	Chiều cao thân (cm)	Khối lượng khô rễ (g)	Chiều dài rễ (g)	Số nốt sần/cây (nốt)	Khối lượng khô nốt sần/cây (g)
R1.1	4,29 ^{ef}	0,514 ^e	41,64 ^c	0,060 ^e	31,90 ^e	48,27 ^b	0,0133 ^c
R1.2	5,33 ^{cd}	0,680 ^{bc}	44,65 ^b	0,071 ^{bcd}	33,74 ^{cd}	56,08 ^a	0,0145 ^{bc}
R1.3	5,33 ^{cd}	0,715 ^{bc}	40,70 ^{cd}	0,064 ^{de}	34,31 ^{bc}	58,44 ^a	0,0177 ^a
R1.4	5,39 ^c	0,682 ^{bc}	43,48 ^b	0,074 ^{bc}	31,75 ^e	46,83 ^{bc}	0,0168 ^{ab}
R1.5	6,07 ^b	0,752 ^b	46,28 ^a	0,074 ^{bcd}	35,46 ^{ab}	56,11 ^a	0,0179 ^a
R2.1	4,70 ^{de}	0,589 ^{de}	40,22 ^{cd}	0,066 ^{cde}	32,63 ^{de}	41,87 ^{cd}	0,0139 ^{bc}
R2.2	5,23 ^{cd}	0,665 ^{cd}	43,89 ^b	0,079 ^b	35,75 ^{ab}	38,87 ^d	0,0162 ^{abc}
ĐC (+)	6,78 ^a	0,903 ^a	46,50 ^a	0,147 ^a	36,53 ^a	27,47 ^e	0,0101 ^d
ĐC (-)	3,64 ^f	0,433 ^f	39,79 ^d	0,059 ^e	29,11 ^f	28,21 ^e	0,0089 ^d
F	17,82 [*]	26,21 [*]	28,30 [*]	60,00 [*]	19,71 [*]	43,39 [*]	9,51 [*]
CV (%)	7,309	6,811	1,928	8,064	2,747	6,825	12,586

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột có kí tự chữ theo sau giống nhau (a, b, c...) thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5%. ĐC (-): Không bón phân và không chủng vi khuẩn, ĐC (+): bón phân đạm, các nghiệm thức còn lại lần lượt là các nghiệm thức bón vi khuẩn (không bón phân đạm).



Hình 4. Mẫu thân lá cây đậu xanh tại thời điểm 30 ngày

Sự tạo nốt sần xảy ra khác nhau giữa các nghiệm thức, nhìn chung nghiệm thức có chủng vi khuẩn cho số lượng nốt sần và khối lượng khô nốt sần cao hơn hai nghiệm thức đối chứng (Hình 5). Hai nghiệm thức đối chứng có tạo số lượng nốt sần thấp nhất (27 - 28 nốt/cây). Trong khi đó, số lượng nốt sần của các nghiệm thức chủng vi khuẩn từ 38,87 - 58,44 nốt và khối lượng khô nốt sần từ 0,111 - 0,168 g. Trong đó, kết quả cao nhất về số lượng nốt sần và khối lượng khô nốt sần ở hai dòng R1.3

(58,44 nốt/cây và 0,0177 g/cây) và R1.5 (56,11 nốt/cây và 0,0179 g/cây), nghiệm thức R1.5 lại cho kết quả tốt hơn về khối lượng và chiều cao cây so với nghiệm thức R1.3. Theo Nguyễn Hữu Hiệp và Hà Danh Đức (2009), vi khuẩn *Bradyrhizobium* được phân lập trên cây đậu phộng cho số lượng nốt sần trung bình cao nhất đến 83,14 nốt/cây, trong khi nghiệm thức đối chứng cho 18,86 nốt/cây và khối lượng khô nốt sần từ 0,0113 - 0,0229 g/cây ở nghiệm thức chủng vi khuẩn [12]. Thử

nghiệm khả năng tạo nốt sần trên cây điền điển *Sesbania cannabina* cho thấy, dòng *Rhizobium* (*Agrobacterium*) IRBG74 tạo 43 nốt/cây, dòng *Rhizobium* sp. DUS1110 tạo 55 nốt/cây, dòng

Mesorhizobium huakuii KFR647 tạo 7 nốt/cây [13]. Điều này cho thấy, tùy theo dòng vi khuẩn được phân lập cũng như cây chủ được thử nghiệm mà hiệu quả tạo nốt sần sẽ biến động khác nhau.



Hình 5. Mẫu rễ cây đậu xanh tại thời điểm 30 ngày

4. KẾT LUẬN

Mười dòng vi khuẩn vùng rễ được phân lập từ 6 mẫu đất, trong đó 3 dòng vi khuẩn N1, N7 và N10 lần lượt cho kết quả cao nhất là 0,562, 0,547 và 0,812 mg/l về khả năng cố định đạm trong môi trường Burk. Ba dòng vi khuẩn này đã được tuyển chọn thử nghiệm trên cây rau muống. Kết quả cho thấy, khi bổ sung dòng vi khuẩn N1, chiều cao cây, khối lượng rễ, khối lượng tươi và khô của thân lá có khác biệt ý nghĩa so với khi bổ sung dòng vi khuẩn N7 và dòng N10.

Từ 2 mẫu rễ nốt sần, bảy dòng vi khuẩn được phân lập và cho hiệu quả tạo nốt sần tốt trên cây đậu xanh trong điều kiện nhà lưới và khác biệt ý nghĩa so với các nghiệm thức đối chứng. Trong đó, nghiệm thức có chủng dòng vi khuẩn R1.5 cho kết quả số nốt sần gấp 1,98 lần so với nghiệm thức không bổ sung vi khuẩn và gấp 2,04 lần so với nghiệm thức bón phân hóa học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Anas, M., Liao, F., Verma, K. K., Sarwar, M. A., Mahmood, A., Chen, Z. L., Li, Q., Zeng, X. P., Liu, Y. and Li, Y. R. (2020). Fate of nitrogen in agriculture and environment: agronomic, eco-physiological and molecular approaches to improve nitrogen use efficiency. *Biol Res*. 53(1), 47.
2. Krishnan, H. B., Song, B., Oehrle, N. W., Cameron, J. C. and Jez, J. M. (2018). Impact of overexpression of cytosolic isoform of *O*-

acetylserine sulfhydrylase on soybean nodulation and nodule metabolome. *Sci Rep*, 8, 2367.

3. Cổng thông tin điện tử tỉnh Trà Vinh (2023). Tổng quan về tỉnh Trà Vinh. <https://travinh.gov.vn/gioi-thieu/tong-quan-ve-tinh-tra-vinh-702251>. Ngày truy cập 26/3/2024.

4. Park, M., Kim, C., Yang, J., Lee, H., Shin, W., Kim, S. and Sa. T. (2005). Isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from Rhizosphere of Agricultural Crops of Korea. *Microbiological Research*, 160(2), 127 - 33.

5. Pervin, S., Jannat, B., Sanjee, S. and Farzana, T. (2017). Characterization of Rhizobia From Root Nodule and Rhizosphere of Lablab Purpureus and Vigna Sinensis in Bangladesh. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 5(1): 14 - 17.

6. Bala, A., Abaidoo, R. and Woomer, P. (2011). Diversity of *Rhizobium leguminosarum* bv. Viceae Strain isolated from different schemes in Shendi Area. *Extensive Journal of Applied Science*, 3(1), 1 - 10.

7. Page, A. L., Miller, R. H and Keeney, Dr. (1982). Methods of soil analysis part 2 Chemical and Microbiological, 673 - 676.

8. Cao Ngọc Diệp, Nguyễn Thanh Tùng, Nguyễn Văn Anh và Trần Thị Giang (2011). Hiệu quả của phân hữu cơ - vi sinh trên năng suất và chất lượng rau xanh trồng trên đất phù sa tại tỉnh

Long An. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, 18b, 18 - 28.

9. Nguyễn Đức Cường (2009). *Kỹ thuật trồng đậu xanh*. Nxb Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, Hà Nội.

10. Nguyễn Anh Huy (2019). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn chịu mặn có khả năng cố định đạm, tổng hợp indole acetic acid trên mô hình canh tác lúa - tôm ở Bạc Liêu, Sóc Trăng và Kiên Giang. Luận án Tiến sĩ, chuyên ngành Công nghệ sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.

11. Nguyễn Thị Pha, Trần Đình Giỏi và Nguyễn Hữu Hiệp (2015). Phân lập, tuyển chọn và định danh các dòng vi khuẩn cố định đạm vùng rễ lúa

các tỉnh đồng bằng Sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, 38(2B), 38 - 47.

12. Nguyễn Hữu Hiệp và Hà Danh Đức (2009). Phân lập các dòng vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân cho đậu phộng trồng ở Trà Vinh. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, 11, 123 - 133.

13. Cummings, S. P., Gyaneshwar, P., Vinuesa, P., Farruggia, F. T., Andrews, M., Humphry, D., Elliott, G. N., Nelson, A., Orr, C., Pettitt, D., Shah, G. R., Santos, S. R., Krishnan, H. B., Odee, D., Moreira, F. M., Sprent, J. I., Young, J. P. and James, E. K. (2009). Nodulation of *Sesbania* species by *Rhizobium* (*Agrobacterium*) strain IRBG74 and other rhizobia. *Environ Microbiol*, 11(10), 2510 - 2525.

NITROGEN FIXING ABILITY OF RHIZOPHERE AND NODULATED BACTERIA IN LEGUME CROPS IN TRA VINH PROVINCE

Cao Hong To¹, Nguyen Phuong Thuy², Tran Thi Trang³,
Nguyen Van Toan³, Tran Thi Giang¹, Do Tan Khang¹, Nguyen Pham Anh Thi¹

¹*Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University*

²*School of Agriculture and Aquaculture, Tra Vinh University*

³*Bac Lieu Department of Agriculture and Rural Development*

Summary

Currently, the demand for fertilizer is increasing and the use of large amounts of chemical fertilizers in agriculture is very wasteful. In particular, the efficiency of plants absorbing nitrogen fertilizer is low and the remainder will escape into the environment, causing environmental pollution. The use of nitrogen-fixing bacteria in agriculture is one of the alternative solutions of current interest. The study was conducted to isolate, evaluate and compare the nitrogen fixation ability of rhizosphere and nodule bacteria strains. From 6 rhizosphere samples and 2 legume nodule samples in Tra Vinh, 10 rhizosphere bacterial strains were isolated on nitrogen-free Burk medium and 7 nodule bacterial strains were isolated on YEMA medium. Surveying 10 rhizosphere bacterial strains using the Indolphenol blue method resulted in an average NH_4^+ content ranging from 0.296 - 0.812 mg/l, with the highest being strains N1 (0.562 mg/l), N7 (0.547 mg/l), N10 (0.812 mg/l) and was chosen to perform experiments in the greenhouse on water spinach plants. Experimental results in the greenhouse showed that when using rhizosphere strain N1, plant height, root weight, fresh and dry weight of stems and leaves had significant differences compared to when using strain N7 and strain N10. Survey of seven strains of nodule bacteria on mung bean plants under greenhouse conditions showed significant differences compared to control treatments. In particular, the treatment with R1.5 bacterial strain resulted in 1.98 times more nodules than the treatment without adding bacteria; and 2.04 times higher than the chemical fertilizer treatment.

Keywords: *Nitrogen fixation, legume plant, rhizobacteria, nodular bacteria.*

Người phản biện: TS. Lê Thị Thanh Thủy

Ngày nhận bài: 15/3/2024

Ngày thông qua phản biện: 15/4/2024

Ngày duyệt đăng: 22/4/2024