

TUYỂN CHỌN CÁC VI KHUẨN PHÂN GIẢI PHOSPHATE KHÓ TAN ĐỂ SẢN XUẤT PHÂN VI SINH

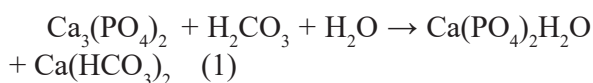
Lê Thị Thu Huyền
Trường Cao đẳng Sơn La

Tóm tắt: Việc nghiên cứu và ứng dụng phân bón vi sinh có giá trị thực tiễn cao, với ưu điểm là ít tốn kém trong chi phí đầu tư, dễ áp dụng trên các đối tượng cây trồng. Vì vậy, ba chủng vi khuẩn PL1, PL2 và PL3 thuộc loài *Bacillus pumilus* có khả năng phân giải phosphate khó tan cao với vòng phân giải phosphate đạt trên 34 mm đã được tuyển chọn. Các chủng vi khuẩn này cho thấy có khả năng sinh trưởng và phát triển tốt trong môi trường sử dụng nguồn carbon là saccharose và nguồn nitơ $(NH_4)_2SO_4$. Bước đầu thử nghiệm cho thấy việc bổ sung vi khuẩn phân giải phosphate bổ sung vào trong đất trong các mẫu đất trồng cây rau mồng tơi giúp tăng hiệu quả hấp thụ phosphate của cây trồng. Từ đó hứa hẹn khả năng ứng dụng phân bón vi sinh có chứa các chủng vi khuẩn nghiên cứu trong các trang trại nông nghiệp ngoài thực tiễn.

Từ khóa: vi khuẩn, phosphate khó tan, phân vi sinh, *Bacillus*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Phospho (P) là chất dinh dưỡng cần thiết cho thực vật đứng thứ hai sau nitơ. Nó là một trong những thành phần chính cấu tạo nên tế bào thực vật bao gồm axit nucleic, phospholipid, coenzyme, đường phosphoryl, nucleotide và phytate. Vì vậy, Photpho có vai trò quan trọng trong nhiều quá trình trao đổi chất liên quan đến sinh trưởng và phát triển của cây. Việc cung cấp nguyên tố này cho cây là cần thiết để thu được năng suất mùa màng tối ưu [6]. P tồn tại trong đất dưới dạng hợp chất vô cơ và hợp chất hữu cơ với tỉ lệ thường xấp xỉ 2/3 [7]. Trên thực tế, Phospho hữu cơ có thể chuyển sang phosphate vô cơ bởi quá trình khoáng hóa nhờ vi sinh vật. Hợp chất $H_2PO_4^-$ là dạng cây trồng dễ hấp thụ nhất. Tuy nhiên, trong thành phần đất hàm lượng của các hợp chất phospho này là rất thấp, không ổn định và dễ biến thành 2 dạng khó tan còn lại. Những dạng khó tan này trong các môi trường có pH thích hợp sẽ chuyển thành dạng dễ tan. Trong quá trình này, vi sinh vật đóng vai trò quan trọng [11]. Nhiều vi khuẩn như *Bacillus megaterium*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus butyricus*, *Pseudomonas fluorescens*, vi khuẩn nitrat hóa, xạ khuẩn có khả năng phân giải $Ca_3(PO_4)_2$ và bột apatit. Khả năng phân giải lân vô cơ liên quan mật thiết tới sự sản sinh axit của vi sinh vật. Quá trình lên men tạo ra axit carbonic, là axit chủ yếu thúc đẩy quá trình hòa tan P vô cơ, phương trình 1, [11].



Xuất phát từ thực tế nước ta có trữ lượng P rất lớn. Chúng ta đã sản xuất được một số loại phân hóa học có chất lượng tốt. Tuy nhiên, việc lạm dụng phân hóa học kéo theo nhiều nguy hại cho môi trường, đất bị bạc màu, cạn kiệt chất dinh dưỡng. Với mức độ sử dụng phân bón vô cơ và các loại thuốc trừ sâu hóa học, không chỉ tác động làm mất độ và thành phần chủng loại của vi sinh vật đất cũng giảm đi nhiều. Do đó, sử dụng phân bón vi sinh thay thế một phần phân hóa học là giải pháp tốt hướng tới một nền nông nghiệp sạch và bền vững sinh thái [6]. Việc sử dụng phân bón vi sinh tận dụng được nguồn P có sẵn trong đất, nâng cao hiệu quả của nguồn P đã bón, đáp ứng một phần nhu cầu của P đối với cây trồng. Thông qua hoạt động của vi sinh vật mà P cũng như các nguyên tố khác tồn tại trong đất được chuyển biến từ dạng khó hấp thụ sang dễ hấp thụ cho cây trồng [4].

Chính vì vậy, trong đề tài này các chủng vi sinh vật có khả năng phân giải phosphate khó tan đã được tuyển chọn và nghiên cứu các đặc điểm sinh cũng như điều kiện nuôi cấy của chúng. Bước đầu đánh giá tác dụng của các chủng vi khuẩn phân giải phosphate đã tuyển chọn lên cây trồng trong điều kiện phòng thí nghiệm.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Gồm 9 chủng vi khuẩn phân giải phosphate khó tan từ bộ chủng giống của Phòng vi sinh môi trường - Viện Công nghệ Môi trường – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Môi trường nuôi cấy

Môi trường phân giải phosphate được dùng để xác định khả năng chuyển hóa phosphate ở dạng khó tan thành phosphate ở dạng tan của các chủng vi khuẩn nghiên cứu (g/l): Cao thịt: 1; Cao men: 1; $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$: 5; NaCl: 0,2; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0,1; D – Glucose: 20; FeSO_4 , MnSO_4 : vết.

Môi trường MPA được sử dụng để hoạt hóa các chủng vi khuẩn nghiên cứu (g/l): Cao thịt: 3; NaCl: 5; Pepton: 5.

Phương pháp tuyển chọn các chủng vi khuẩn có khả năng phân giải phosphate [8]

Tiến hành cấy chấm các chủng vi khuẩn trên đĩa Pettri có chứa môi trường phân giải phosphate. Nuôi ở nhiệt độ 30 °C trong 10 ngày sau đó đem quan sát vòng phân giải để tuyển chọn chủng có hoạt tính phân giải phosphate cao.

Định danh các chủng vi khuẩn bằng bộ kit chuẩn sinh hóa API (Analytical Profile Index) 50 CHB

Các khuẩn lạc vi khuẩn nuôi trên môi trường MPA được tạo huyền phù trong ống chứa 10ml môi trường API 50 CHB. Sau đó phủ một lớp dầu khoáng (2-3 giọt). Kit được ủ ở nhiệt độ tối ưu cho sự phát triển của vi khuẩn đang được kiểm tra. Trong suốt quá trình ủ các phản ứng sinh hóa xảy ra dẫn đến làm thay đổi tự động màu sắc trong các ống. Sau 24h và 48h lấy kit ủ ra, đọc kết quả: mỗi ống sẽ cho kết quả (+) hoặc (-) hoặc không chắc chắn (?) và ghi lại trên bảng kết quả. Kết quả tổng hợp 49 phản ứng được đối chiếu với danh sách phân loại bằng phần mềm do nhà sản xuất cung cấp cho phép xác định tên loài. Dựa vào bảng kết quả và kết hợp với phần mềm tra cứu chúng ta sẽ định tên được vi khuẩn.

Phương pháp xác định phospho tổng số trong dung dịch [1]

Dịch nuôi cấy vi khuẩn phân giải phosphate khó tan sau 48h được ly tâm thu dịch nổi để xác định P tổng số bằng phương pháp so màu Vanadate - Molybdate. Trong dung dịch chứa octophosphate, dưới điều kiện axit amonimolybdate phản ứng tạo thành axit herteropoly và molybdophosphoric axit. Khi có mặt vanadium tạo thành axit vanadomolybdophosphoric có màu vàng. Cường độ màu tỉ lệ với nồng độ phosphate trong dung dịch. Hàm lượng P tổng số trong mẫu được xác định thông qua phép đo trên máy đo UV- VIS và so sánh với số đo của dung dịch chuẩn ở bước sóng $\lambda=410\text{nm}$.

Phương pháp phân tích P tổng số trong đất [10]

Sử dụng axit pecloric cùng axit nitric hòa tan các hợp chất P trong đất. Xác định hàm lượng P trong dung dịch bằng phương pháp trắc quang “màu xanh molybden”. Trong môi trường axit các dạng phosphate sẽ được chuyển về dạng octophosphate và sẽ phản ứng tạo phức amoni molybdate có màu xanh và đo ở bước sóng 882 nm.

Phương pháp phân tích phospho dễ tiêu trong đất (Phương pháp Olsen)

Phương pháp này dựa trên nguyên lý hòa tan các dạng hợp chất P trong đất bằng dung môi là dung dịch NaHCO_3 0,5M (pH = 8,5) với tỉ lệ đất: dung môi = 1:20, lắc trong 30 phút. Dung môi natri carbonat (pH = 8,5) chủ yếu hòa tan dạng FePO_4 ; AlPO_4 và một ít $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Xác định hàm lượng P trong dung dịch bằng phương pháp trắc quang “màu xanh molybden” bằng quang phổ kế ở bước sóng 882 nm.

Ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng và điều kiện nuôi cấy lên sinh trưởng và khả năng phân giải phosphate của vi khuẩn

Một số điều kiện về nguồn dinh dưỡng (carbon, nitơ) cũng như nồng độ của chúng được sử dụng để nghiên cứu sự ảnh hưởng của các yếu tố đó lên sự sinh trưởng và khả năng phân giải phosphate của các chủng vi khuẩn. Cụ thể, đối với nguồn carbon vi khuẩn được nuôi trong các môi trường phân giải phosphate dạng lỏng có chứa các nguồn carbon khác nhau: glucose, saccharose, lactose, manitol (nồng độ 2%). Các nguồn nitơ khác nhau được sử dụng nghiên cứu (NH_4)₂SO₄, KNO₃, urê được bổ sung vào môi trường dịch nuôi cấy vi khuẩn phân giải phosphate khó tan với nồng độ 0,1%. Điều kiện nuôi cấy: nuôi lắc ở 150 vòng/phút, 30°C. Lấy mẫu ở các thời điểm: 0h và 48h (đối với thí nghiệm ảnh hưởng của nguồn nitơ); 0h, 48h và 72h (đối với thí nghiệm ảnh hưởng của nguồn carbon), ly tâm thu dịch nổi để xác định hàm lượng P tổng số trong dịch nuôi cấy vi khuẩn bằng phương pháp so màu Vanadate-Molybdate ở OD₄₁₀.

Đánh giá ảnh hưởng của vi khuẩn phân giải phosphate khó tan lên đất trồng cây

Đối tượng cây rau mồng tơi (giai đoạn cây 2 lá) được trồng trên nền đất phù sa sông Hồng đã thanh trùng. Mỗi chậu tương ứng với một công thức thí

thí nghiệm. Mỗi chậu có 1 kg đất và được trồng 10 cây trong đó. Thí nghiệm lặp lại 3 lần: mỗi lần sử dụng 1 chậu chứa 10 cây mồng tơi/1 công thức thí nghiệm. Thí nghiệm được bố trí như trong Bảng 1.

Mẫu đất ở các mẫu thí nghiệm và đối chứng được thu tại các thời điểm: 0 ngày và sau 20 ngày để xác định hàm lượng P tổng số và P dễ tiêu trong đất.

Bảng 1. Đánh giá ảnh hưởng của vi khuẩn phân giải phosphate khó tan lên đất và cây trồng

| Công thức thí nghiệm | Khối lượng đất thanh trùng (kg) | Lượng $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (g) | Mật độ vi khuẩn bổ sung CFU/g đất | Số cây trồng (cây) |
|------------------------|---------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------|--------------------|
| Đối chứng âm | 1 | 0 | 0 | 10 |
| Đối chứng dương | 1 | 5 | 0 | 10 |
| Công thức thí nghiệm 1 | 1 | 5 | $5 \cdot 10^7$ | 10 |
| Công thức thí nghiệm 2 | 1 | 5 | $10 \cdot 10^7$ | 10 |
| Công thức thí nghiệm 3 | 1 | 5 | $15 \cdot 10^7$ | 10 |
| Công thức thí nghiệm 4 | 1 | 5 | $20 \cdot 10^7$ | 10 |

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Tuyển chọn chủng vi khuẩn phân giải phosphate khó tan

Các chủng vi sinh vật khác nhau có khả năng phân giải phosphate khó tan không giống nhau. Vì vậy, đánh giá khả năng phân giải của từng chủng là rất cần thiết. Kiểm tra khả năng phân giải phosphate khó tan của 9 chủng vi sinh vật cho kết quả được trình bày ở Bảng 2 và Hình 1.

Từ kết quả trên cho thấy, các chủng vi sinh vật của Phòng vi sinh môi trường – Viện Công nghệ Môi trường đều có khả năng phân giải phosphate khó tan. Tuy nhiên, khả năng phân giải của các chủng là khác nhau. Trong số 9 chủng của Phòng vi sinh môi trường, chúng tôi đã lựa chọn được 3 chủng (PL1, PL2, PL3) vừa có hoạt tính cao vừa sinh trưởng tốt để nghiên cứu tiếp phục vụ cho sản xuất phân bón vi sinh. Quan sát hình dạng tế bào của các chủng vi khuẩn tuyển chọn cho thấy cả 3 chủng vi khuẩn đều có hình que và đều là Gr^+ , có hình thành bào tử, kích thước tế bào từ 0.5-2 μm (Hình 2)

Phân loại vi khuẩn bằng Kit API 50 CHB

Kết quả nghiên cứu các đặc điểm hình thái khuẩn lạc, tế bào và phân loại các chủng vi khuẩn Gr^+ kết hợp với bộ kit API 50 CHB so sánh với các đặc điểm phân loại các nhóm vi khuẩn Gr^+ của Bergey's cho thấy cả 3 chủng vi khuẩn PL1,

PL2, PL3 thuộc loài *Bacillus pumilus*.

Ảnh hưởng của nguồn carbon

Kết quả từ Bảng 3 nghiên cứu ảnh hưởng của nguồn carbon lên sinh trưởng cho thấy, 3 chủng nghiên cứu đều có khả năng sử dụng được cả 4 nguồn carbon. Sau 48 h nuôi cấy mật độ tế bào đều đạt 10^7 đến 10^8 CFU/ml. Tuy nhiên, khả năng sinh trưởng của các chủng khác nhau tùy theo nguồn carbon trong môi trường.

Bên cạnh, khả năng sinh trưởng để đánh giá ảnh hưởng của nguồn carbon đến khả năng phân giải phosphate khó tan cần thông qua kết quả phân tích lượng P hòa tan trong dịch nuôi cấy (Hình 3).

Khả năng phân giải $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ của 3 chủng vi khuẩn trên 4 nguồn carbon, thứ tự hoạt tính của các chủng trên các nguồn carbon khác nhau như sau: *Glucose*: $\text{PL3} > \text{PL2} > \text{PL1}$; *Saccharose*: $\text{PL1} > \text{PL2} > \text{PL3}$; *Lactose*: $\text{PL1} > \text{PL2} > \text{PL3}$; *Manitol*: $\text{PL1} > \text{PL2} > \text{PL3}$. Như vậy, nguồn carbon saccharose là thích hợp cho quá trình nuôi cấy vi khuẩn phân giải phosphate khó tan. Kết quả tương ứng cũng được báo cáo bởi Kapoor và cộng sự cho thấy nguồn carbon tốt đối với vi khuẩn phân giải phosphate là glucose, galactose, saccharose và arabinose [5]. Vì vậy, nguồn carbon là saccharose được lựa chọn sử dụng trong các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 2. Đường kính vòng phân giải phosphate khó tan của các chủng vi sinh vật

| TT | Tên chủng | Nguồn phân lập | Khả năng sinh trưởng | Đường kính vòng phân giải (mm) |
|----|-----------|-------------------------------------------------------------------------|----------------------|--------------------------------|
| 1 | RL1 | Đất ruộng lúa, thôn Cẩm Bào, Xuân Cẩm, Hiệp Hòa, Bắc Giang | + | 2 |
| 2 | RL2 | | + | 6 |
| 3 | RL3 | | ++ | 10 |
| 4 | RL4 | | + | 7 |
| 5 | CN 1 | Đất chân núi, thảm thực vật là cây lá kim, Hòa Sơn, Hiệp Hòa, Bắc Giang | + | 12 |
| 6 | CN2 | | ++ | 20 |
| 7 | PL1 | Đất trồng ngô Hòa Sơn, Hiệp Hòa, Bắc Giang | +++ | 35 |
| 8 | PL2 | | +++ | 34 |
| 9 | PL3 | | +++ | 37 |

Ghi chú:

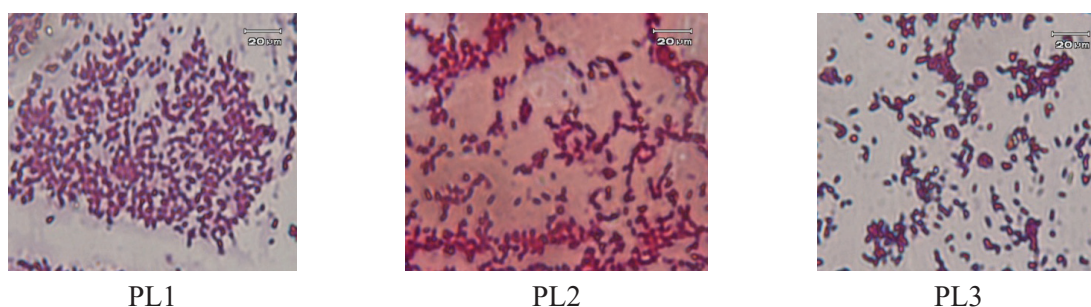
+: sinh trưởng yếu

++: sinh trưởng trung bình

+++ : sinh trưởng tốt



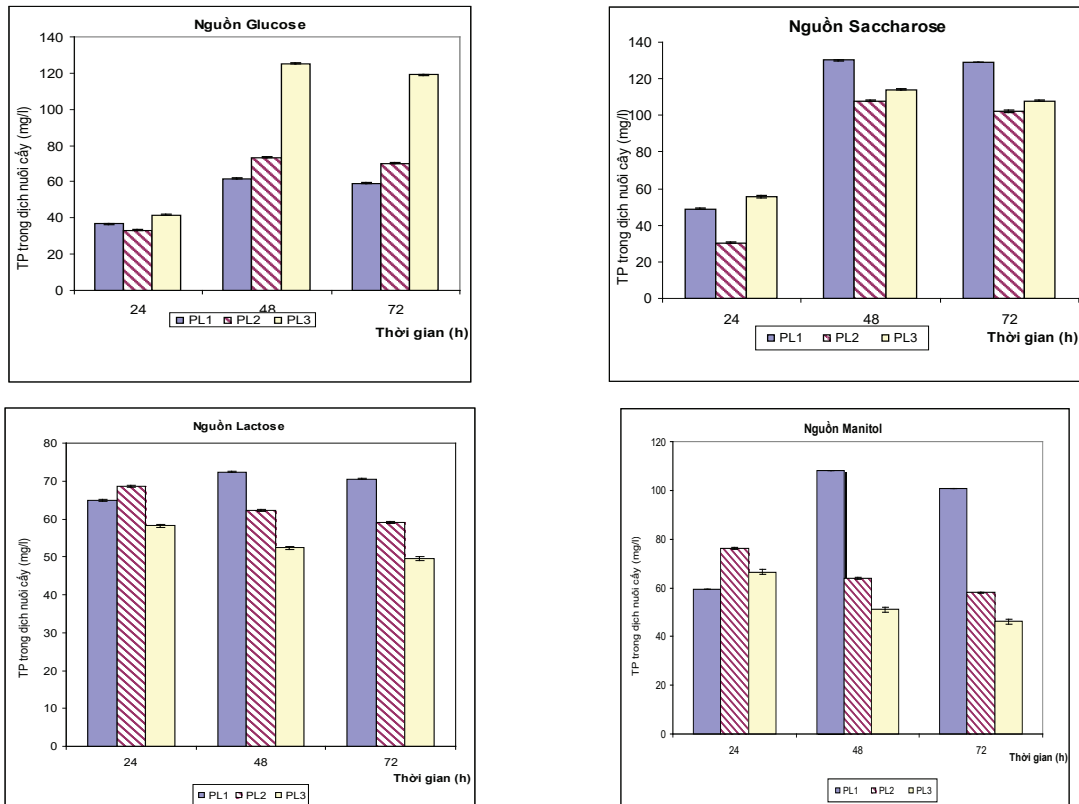
Hình 1. Vòng phân giải phosphate khó tan của vi khuẩn



Hình 2. Ảnh nhuộm Gram của 3 chủng vi khuẩn phân giải phosphate sau 24h nuôi cấy

Bảng 3. Ảnh hưởng của nguồn carbon lên sinh trưởng của vi khuẩn tuyển chọn

| TT | Chủng vi khuẩn | Thời gian nuôi cấy (h) | Mật độ vi khuẩn (CFU/ml) trong môi trường có nguồn carbon khác nhau | | | |
|----|----------------|------------------------|---------------------------------------------------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| | | | Glucose | Saccharose | Lactose | Manitol |
| 1 | PL1 | 0h | $2,3 \times 10^4$ | $5,6 \times 10^4$ | $4,1 \times 10^4$ | $3,8 \times 10^4$ |
| | | 48h | $3,7 \times 10^8$ | $4,1 \times 10^8$ | $4,6 \times 10^8$ | $4,1 \times 10^7$ |
| | | 72h | $9,4 \times 10^7$ | $3,5 \times 10^8$ | $3,5 \times 10^7$ | $4,4 \times 10^7$ |
| 2 | PL2 | 0h | $1,8 \times 10^4$ | $1,0 \times 10^4$ | $3,0 \times 10^4$ | $1,2 \times 10^4$ |
| | | 48h | $3,5 \times 10^8$ | $9,4 \times 10^7$ | $4,6 \times 10^7$ | $1,14 \times 10^8$ |
| | | 72h | $1,18 \times 10^8$ | $8,3 \times 10^7$ | $1,49 \times 10^8$ | $2,7 \times 10^8$ |
| 3 | PL3 | 0h | $1,2 \times 10^4$ | $1,5 \times 10^4$ | $5,0 \times 10^4$ | $4,5 \times 10^4$ |
| | | 48h | $5,9 \times 10^8$ | $5,7 \times 10^8$ | $9,6 \times 10^7$ | $1,59 \times 10^8$ |
| | | 72h | $4,9 \times 10^7$ | $5,8 \times 10^7$ | $8,0 \times 10^7$ | $3,9 \times 10^7$ |

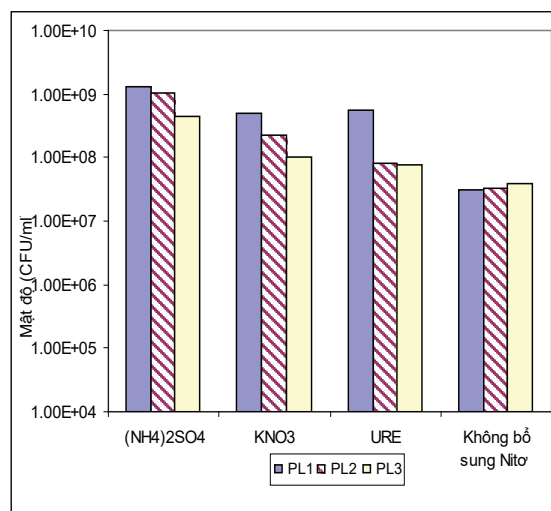


Hình 3. Ảnh hưởng của các nguồn carbon đến khả năng phân giải $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ của vi khuẩn tuyển chọn

Ảnh hưởng của nguồn nitơ

Cùng với nguồn carbon, nitơ là nguồn dinh dưỡng không thể thiếu và có ảnh hưởng rất lớn đến sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật. Trong nghiên cứu này, các chủng vi khuẩn đều

cho mật độ cao nhất trên môi trường có nguồn nitơ là $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ mật độ cực đại khoảng $10^8 - 10^9$ CFU/ml. Tiếp đến là nguồn KNO_3 và thấp nhất ở môi trường không bổ sung nitơ (Hình 4).



Hình 4. Ảnh hưởng của nguồn nitơ đến khả năng sinh trưởng của vi khuẩn phân giải phosphate khó tan tuyển chọn

Bên cạnh khả năng sinh trưởng, nguồn nitơ khác nhau cũng ảnh hưởng đến khả năng phân giải $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ của 3 chủng vi khuẩn (Bảng 4).

Cụ thể, nồng độ P hòa tan của 3 chủng đều đạt cao nhất khi nguồn nitơ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ được sử dụng. Giá trị hàm lượng đạt lần lượt 140,20;

139,32; 142,22mg/L lần lượt tương ứng với chủng PL1, PL2 và PL3. Muối $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ trong môi trường nuôi cấy sẽ phân ly ra ion NH_4^+ , là dạng cơ chất dễ sử dụng cho các vi sinh vật. Đối với urê, các vi sinh vật phải có enzyme urease phân giải urê thì mới sử dụng được cơ chất này. Do vậy không phải vi sinh

vật nào cũng có khả năng sử dụng urê như nguồn cung cấp nitơ [2]. Điều đó phù hợp với báo cáo của một số nghiên cứu cho thấy *Pseudomonas striata* có khả năng sử dụng urê, asparagin, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KNO_3 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ cho sự phân giải phosphate, nhưng *S. occidentalis* chỉ sử dụng NH_4^+ để phân giải phosphate [3,9].

Bảng 4. Ảnh hưởng của nguồn nitơ lên phân giải $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ của vi khuẩn tuyển chọn

| TT | Chủng vi khuẩn | Hàm lượng P hòa tan (mg/l) trong môi trường có nguồn nitơ khác nhau | | | |
|----|----------------|---------------------------------------------------------------------|------------------------------|----------------|--------|
| | | Không bổ sung N | $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ | KNO_3 | Urê |
| 1 | PL1 | 105,13 | 140,20 | 132,43 | 129,56 |
| 2 | PL2 | 104,54 | 139,32 | 123,70 | 116,00 |
| 3 | PL3 | 109,25 | 142,22 | 129,87 | 122,27 |

Bảng 5. Sự thay đổi hàm lượng P trong đất trồng cây mồng tơi

| Công thức thí nghiệm | Tổng P (ngày 0) (1) | Tổng P (ngày 20) (2) | Tổng P chuyển hóa được (3) | P dễ tiêu (ngày 0) (4) | Lượng P dễ tiêu còn lại trong đất (ngày 20) (5) | Lượng P dễ tiêu cây hấp thụ được (6) [6 = (3+4) - 5] |
|------------------------|---------------------|----------------------|----------------------------|------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| Đối chứng âm | 1920 | 1590 | 330 | 860 | 640 | 550 |
| Đối chứng dương | 2900 | 2480 | 420 | 1031 | 769 | 682 |
| Công thức thí nghiệm 1 | 2900 | 2360 | 540 | 1031 | 634 | 937 |
| Công thức thí nghiệm 2 | 2900 | 2030 | 870 | 1031 | 592 | 1309 |
| Công thức thí nghiệm 3 | 2900 | 1750 | 1150 | 1031 | 1243 | 938 |
| Công thức thí nghiệm 4 | 2900 | 1635 | 1265 | 1031 | 1589 | 707 |

Đánh giá ảnh hưởng của vi khuẩn phân giải phosphate khó tan lên đất trồng cây mồng tơi

Sau khi bố trí thí nghiệm tiến hành lấy mẫu ở 0 ngày và sau 20 ngày để tiến hành phân tích P tổng số và P dễ tiêu. Kết quả phân tích được thể hiện ở Bảng 5.

Kết quả ở Bảng 5 cho thấy ở công thức đối chứng âm (không bổ sung $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ và dịch nuôi cấy vi khuẩn) hàm lượng P dễ tiêu cây trồng hấp thụ thấp nhất (đạt 550 mg/kg). Ở các thí nghiệm còn lại, lượng P dễ tiêu mà cây trồng hấp thụ được cao hơn so với đối chứng âm. Lượng P dễ tiêu mà cây trồng hấp thụ được ở các thí nghiệm 1 đến 4 lần lượt như sau: 682, 937, 1309, 938, 707 mg/kg. Điều này chứng tỏ sau khi bổ sung dịch nuôi cấy vi khuẩn vào trong đất trồng cây, phosphate khó tan đã được phân giải thành phosphate dễ tan dưới dạng axit

phosphoric và muối dễ tan của nó. Các dạng phosphate dễ tan này sẽ được cây trồng hấp thụ để kiến tạo nên sinh khối cho cây. Do đó, trong đất mất đi một lượng phosphate để tạo sinh khối cho cây trồng nên sau 20 ngày hàm lượng P tổng số giảm dần ở các thí nghiệm.

KẾT LUẬN

Từ các kết quả nghiên cứu trên chúng tôi đã tuyển chọn được 3 chủng vi khuẩn có khả năng phân giải phosphate khó tan cao nhất là PL1, PL2 và PL3 từ bộ chủng giống vi sinh vật của phòng cho các nghiên cứu tiếp theo. Dựa trên kết quả sử dụng kit API 50CHB kết hợp với khóa phân loại của Bergey's 3 chủng vi khuẩn PL1, PL2, PL3 được định loại thuộc loài *Bacillus pumilus*. Các thông số thích hợp cho khả năng sinh trưởng và phân giải phosphate khó tan của 3 chủng vi khuẩn tuyển chọn: Chủng PL1: Saccharose (1%) - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0,2%), Chủng PL2: Saccharose (3%)

- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0,2%), Chủng PL3: Saccharose (2%) - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0,2%) 10. Đồng thời kết quả phân tích P tổng số và P dễ tiêu trong các mẫu đất trồng cây rau mồng tơi cho thấy lượng vi khuẩn phân giải phosphate bổ sung vào trong đất 10^7 CFU/g là thích hợp.

Lời cảm ơn: Chúng tôi cảm ơn...

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường (2008), TCVN 6202: 2008.
- [2]. Casida L.E. (1959), "Phosphate activity of common soil fungi", *Soil Science*, 87, pp. 305-310.
- [3]. Gaur A.C. and Sunita G. (1999) "Phosphate solubilizing microorganisms – an overview". *Current Trends in Life Sciences*, 23, pp 45- 60.
- [4]. Jugnu T., Varsha N. and Patel H.H. (1993), "Inorganic phosphate solubilization by certain soil bacteria", *Indian Journal of Experimental Biology*, 31, pp, 743-746.
- [5]. Kapoor K.K., Behl R.K., Khurana A.L. and Dogra R.C. (1996) "Phosphate mobilization through soil microorganisms", *Plant Microbe Interaction in Sustainable Agriculture*, pp 46-61.
- [6]. Lê Bá Huy, Lâm Minh Triết (2000), *Sinh thái môi trường ứng dụng*. NXB Khoa học & kỹ thuật Hà Nội.
- [7]. Nguyễn Lâm Dũng (1984), *Vi sinh vật đất và sự chuyển hóa các hợp chất carbon, nitơ*. NXB Khoa học kỹ thuật.
- [8]. Qian C. and Liu S (2019) "Identification and Characterization of the Phosphate-Solubilizing Bacterium *Pantoea* sp. S32 in Reclamation Soil in Shanxi, China", *Frontiers Microbiology*. 10:2171.
- [9]. Reyes I., Bernier L., Simad R. and Antoun H. (1999). "Effect of nitrogen source on the solubilization of different inorganic phosphates by an isolate of *Penicillium ugulosum* and two UV – induced mutants", *FEMS Microbiology Ecology*, 28, pp, 281-290.
- [10]. Viện Thổ nhưỡng nông hóa (1998), *Sổ tay phân tích đất, nước, phân bón, cây trồng*, tập 1, NXB Nông nghiệp Hà Nội.
- [11]. Võ Thị Lại (2006), "Nghiên cứu nuôi cấy và khả năng phân giải lân khó tan của vi khuẩn *Bacillus megaterium*", Luận văn thạc sĩ – Trường Đại học Tây Nguyên.

SELECTION OF PHOSPHATE SOLUBILIZING BACTERIA FOR MICROBIAL FERTILIZERS PRODUCTION

Lê Thị Thu Huyền
Sonla College

Abstract: *The study and application of microbiological fertilizers have high practical value for being cost-effective and easy to use. Three strains of bacteria PL1, PL2 and PL3 belonging to Bacillus pumilus species with high ability of solubilizing phosphate substance are selected in the research. These strains of bacteria grow well in the medium supplying saccharose as a carbon source and $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ as a nitrogen source. Initially, the experiment shows that the addition of phosphate solubilizing bacteria improves the efficiency of phosphate uptake of Malabar spinach crops. The utilization of these strains for microbial fertilizer production can be a promising approach to enhance crop productivity.*

Keywords: *bacteria, insoluble phosphate, microbiological fertilizers, Bacillus*

Ngày nhận bài: 11/05/2021. Ngày nhận đăng: 31/05/2021.

Liên lạc: Lê Thị Thu Huyền; e-mail: huyencaodangsl@gmail.com