

Tuyển chọn những dòng vi khuẩn chịu mặn có khả năng cố định đạm và phân giải lân từ đất rễ chuối ở Cần Giờ

Giang Cẩm Tú, Trần Thị Bích Huy, Nguyễn Trung Hiếu, Lư Gia Hân

Viện Kỹ thuật Công nghệ cao, Đại học Nguyễn Tất Thành
gctu@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Hiện nay, tình hình xâm nhập mặn ngày càng nghiêm trọng, ảnh hưởng đến năng suất nhiều loại cây trồng. Do đó, việc nghiên cứu các chủng vi khuẩn chịu mặn vừa có hoạt tính cố định đạm, vừa có khả năng phân giải lân, nhằm giảm lượng phân hóa học sử dụng trong nông nghiệp mà vẫn duy trì được năng suất cao, cải thiện độ phì nhiêu của đất và an toàn cho môi trường là rất cần thiết. Trên môi trường nuôi cấy vi sinh (Luria Bertani – LB), từ 7 mẫu đất vùng rễ chuối ở Cần Giờ sau khi phân lập đã thu được 24 chủng vi khuẩn chịu mặn ở nồng độ NaCl 4 ‰. Kết quả kiểm tra hoạt tính của các chủng phân lập trên môi trường NBRIP và Ashby cho thấy 10 chủng có khả năng chuyển hoá lân, 14 chủng có khả năng cố định đạm, đặc biệt, trong đó có 5 chủng (Đ1, Đ8, Đ11, Đ14 và Đ17) vừa có hoạt tính cố định đạm, vừa có khả năng phân giải lân. Kết quả này là cơ sở để nghiên cứu phát triển chế phẩm vi sinh chịu mặn tiếp theo.

Nhận 10/03/2023
Được duyệt 15/05/2023
Công bố 25/06/2023

Từ khóa
vi khuẩn chịu mặn,
cố định đạm, hòa tan
lân, Cần Giờ

© 2023 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Giới thiệu

Vi khuẩn cố định đạm còn được biết đến với tên gọi là diazotrophs, có khả năng khử phân tử nitơ tự do trong không khí mà cây trồng không hấp thu được tạo thành đạm amon NH_4^+ dưới tác dụng của enzyme *nitrogenase*. Bản chất của quá trình cố định đạm được chứng minh là do khả năng hấp thu nitơ khí quyển của thực vật thuộc cây họ Đậu (*Fabaceae*) nhờ vi khuẩn nốt sần sống ở vùng rễ (*Bacillus radicola*). Ngày nay, các nghiên cứu về vi sinh vật cố định đạm ngày càng phổ biến và đã phát hiện thêm nhiều nhóm vi sinh vật hoạt động vùng rễ khác cũng có khả năng cố định đạm. Quá trình cố định sinh học bởi vi sinh vật mỗi năm đạt khoảng 139×10^9 kg, trong đó 65 % (89×10^9 kg) là nhờ vi khuẩn tạo nốt sần cộng sinh ở cây họ Đậu [1]. Hầu hết các nhóm vi sinh vật có khả năng cố định đạm sống trong rễ hoặc gần vùng rễ của thực vật vì đây là vị trí tiếp xúc trực tiếp với đất, tập trung nhiều chất hữu cơ, đặc biệt là các chất do rễ tiết ra. Dịch tiết ở rễ

thường có tỉ lệ carbon:nitơ cao nên có khả năng dẫn dụ các vi khuẩn cố định đạm. Các vi sinh vật này có mối quan hệ tương tác với thực vật thông qua quá trình trao đổi dinh dưỡng và có thể làm biến đổi hình thái, cấu trúc rễ. Trong tất cả các vi sinh vật vùng rễ nói chung, nhóm vi khuẩn cố định đạm được xem như là những vi khuẩn có khả năng kích thích tăng trưởng thực vật (PGPR – Plant growth – promoting rhizobacteria) [2]. Vi khuẩn cố định nitơ được chia thành 2 nhóm: vi khuẩn sống cộng sinh với thực vật chủ và vi khuẩn sống tự do (dị dưỡng hoặc tự dưỡng). Tuy nhiên, sự phân biệt giữa các nhóm vi khuẩn cố định đạm vẫn chưa được mô tả rõ ràng, có một số còn được liệt kê vào vài nhóm khác nhau [3].

Đạm và lân là hai trong số các hợp chất dinh dưỡng chính cho cây trồng, có vai trò quan trọng trong quá trình trao đổi chất và vận chuyển các chất trong cây. Thiếu lân, cây trồng sẽ sinh trưởng chậm, cho năng suất thấp. Tuy nhiên, thực vật sử dụng lân không quá 25 % hàm lượng lân trong đất, trong khi đó một lượng lớn

lân bị cố định và chuyển thành dạng khó hấp thụ. Phosphate vô cơ phóng thích từ phosphate hữu cơ được gọi là sự khoáng hóa (mineralization) và được thực hiện nhờ vào các nhóm vi sinh vật phá vỡ những liên kết hữu cơ. Hiệu quả hoạt động của vi sinh vật tùy thuộc vào tính chất, nhiệt độ và độ ẩm của đất [4].

Vi khuẩn có vai trò quan trọng trong vòng tuần hoàn của lân diễn ra trong tự nhiên. Việc làm giảm hợp chất lân và thực hiện quá trình oxi hóa thông qua sự giải phóng electron một cách liên tục dẫn đến sự chuyển đổi số oxi hóa từ P^{3-} sang P^{5+} [5].

Trong nền nông nghiệp hiện đại, việc sử dụng phân vi sinh thay thế cho phân hóa học là một trong những giải pháp hữu hiệu. Phân vi sinh chứa nhiều vi sinh vật có khả năng cố định đạm hoặc chuyển hóa các hợp chất lân khó tan thành dạng cây trồng dễ hấp thụ, tham gia trực tiếp hay gián tiếp vào quá trình dinh dưỡng của cây trồng [4]. Tuy nhiên, không phải chủng vi sinh vật nào trong phân bón vi sinh cũng có khả năng tồn tại và phát huy hoạt tính sinh học trong điều kiện đất nhiễm mặn. Đã có nhiều nghiên cứu về vi sinh vật chịu mặn tại các vùng canh tác khác nhau như ở Sóc Trăng, Thừa Thiên Huế, Tiền Giang, Long An, ... Tuy vậy, nghiên cứu tại Cần Giờ (nơi có diện tích ngập mặn lớn với hệ vi sinh vật chịu mặn phong phú) còn khá hạn chế, vì vậy nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu tuyển chọn các chủng vi khuẩn vừa có khả năng cố định đạm, phân giải lân vừa có thể chịu được mặn nhằm làm giảm lượng phân hóa học ở các vùng đất nông nghiệp bị nhiễm mặn, cải thiện độ phì nhiêu của đất và an toàn cho môi trường là một vấn đề rất cần thiết.

2 Vật liệu và phương pháp

2.1 Vật liệu thí nghiệm

Mẫu đất vùng rẫy chuối được thu từ 7 vùng đất khác nhau ở Cần Giờ, TP. Hồ Chí Minh, được trữ trong zipper nylon, mang về để nuôi cấy và phân lập trong 3 giờ kể từ khi lấy mẫu.

Thời gian thu mẫu: từ tháng 02/2022 đến tháng 06/2022

2.2 Hóa chất

Môi trường để phân lập nuôi cấy và nghiên cứu các đặc tính của vi khuẩn là TSB (Tryptone Soya Broth) 4 % NaCl với thành phần gồm: 17 g/L trypton, 3 g/L soya pepton, 5 g/L sodium chloride, 2,5 g/L dipotassium hydrogen phosphate, 2,5 g/L dextrose và 20 g/L agar.

Môi trường được dùng để nuôi cấy vi khuẩn chuyển hóa lân là NBRIP. Trong thành phần môi trường có

chứa 10 g/L glucose, 5 g/L $Ca_3(PO_4)_2$, 5 g/L $MgCl_2.6H_2O$, 0,25 g/L $MgSO_4.7H_2O$, 0,2 g/L KCl, 0,1 g/L $(NH_4)_2SO_4$ và 20 g/L agar. $Ca_3(PO_4)_2$ là hợp chất lân khó phân giải, những vi sinh vật nào có khả năng phân giải PO_4^{3-} sẽ tạo được vòng phân giải xung quanh khuẩn lạc trên môi trường nuôi cấy.

Môi trường nuôi cấy dùng để tuyển chọn vi khuẩn cố định đạm là môi trường Ashby không chứa đạm, chỉ những chủng vi sinh vật nào có khả năng cố định nitơ không khí mới có khả năng sinh trưởng và phát triển trên môi trường Ashby. Thành phần môi trường Ashby bao gồm 20 g/L mannitol, 0,2 g/L K_2HPO_4 , 0,2 g/L $MgSO_4.7H_2O$, 0,2 g/L NaCl, 0,1 g/L K_2SO_4 , 5 g/L $CaCO_3$ và 20 g/L agar.

2.3 Phương pháp nghiên cứu

2.3.1 Thu và xử lý mẫu

Các mẫu đất được chọn ngẫu nhiên ở các cây chuối trồng tại Cần Giờ. Mẫu đất quanh vùng rẫy được lấy ở độ sâu từ (5-30) cm bằng cách cào hết các tàn dư thực vật trên bề mặt đất, đào hố sâu khoảng 30 cm, dùng dao gọt một lớp đất xung quang vùng rẫy. Ở mỗi địa điểm thu mẫu lấy từ (100-200) g đất cho vào zipper nylon và ghi chú thông tin mẫu.

Xử lý mẫu đất: mẫu đất sau khi thu thập được đưa về phòng thí nghiệm để nuôi cấy và phân lập trong 3 tiếng kể từ khi lấy mẫu. Cân 5 g mẫu cho vào bình tam giác 250 mL có chứa 50 mL nước cất vô trùng, lắc đều mẫu đất trên máy lắc 150 vòng/phút ở 30 °C trong 1 giờ [6].

2.3.2 Phân lập

Phương pháp phân lập được thực hiện bằng cách hút 100 μ L dịch đất đã được pha loãng đưa vào tâm đĩa có chứa môi trường kem TSB 4 % NaCl đã chuẩn bị để tuyển chọn các chủng vi khuẩn có khả năng chịu mặn, sau đó dùng que cấy khur trùng trên ngọn đèn cồn, chơ que cấy nguội, trải mẫu nước vừa nhỏ đều hết mặt thạch. Ghi nhãn trên đĩa nuôi (tên mẫu, nồng độ pha loãng, thời gian cấy). Các đĩa thạch đã cấy trải được ủ ở nhiệt độ 30 °C trong (24-48) giờ.

Phương pháp làm thuần được thực hiện bằng cách tách riêng từng loại khuẩn lạc đơn ra môi trường TSB 4 % NaCl và kiểm tra khả năng chịu mặn. Việc cấy chuyển được thực hiện đến khi đĩa cấy chỉ còn một loại khuẩn lạc duy nhất, tức là chủng này đã được làm thuần.

Các chủng thuần sau khi được phân lập sẽ được cấy trên môi trường thạch nghiêng TSB 4 % NaCl để giữ giống. Mẫu được cấy theo kiểu zic zac trên bề mặt

thạch nghiêng. Sau khi khuẩn lạc mọc lên sẽ được đưa đi giữ ở -70°C , hoạt hóa trước khi nhân giống.

2.3.3 Xác định đặc điểm hình thái khuẩn lạc và hình thái tế bào

Quan sát đặc điểm khuẩn lạc bằng cách mô tả hình dạng, màu sắc, bề mặt, mép viền của khuẩn lạc.

Phương pháp nhuộm gram được thực hiện theo bộ kit nhuộm gram của Công ty Nam Khoa.

2.3.4 Tuyển chọn các dòng vi khuẩn chịu mặn có khả năng cố định đạm và chuyển hóa lân

2.3.4.1 Xác định khả năng cố định đạm dựa vào phản ứng màu Nessler [7]

Các chủng vi khuẩn được nuôi cấy trong ống nghiệm chứa 10 mL môi trường dịch thể Ashby, ở điều kiện lắc 150 vòng/phút, nhiệt độ 30°C trong 48 giờ, sau đó thu dịch nuôi cấy bằng cách li tâm 1.200 vòng/phút để thu dịch trong.

Chuẩn bị dung dịch chuẩn: dung dịch NH_4Cl (0,3819 g/100 mL) có nồng độ $\text{N}-\text{NH}_4^+ = 1 \text{ g/L}$. Pha loãng dung dịch gốc chuẩn thành các dung dịch NH_4^+ có nồng độ (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 và 7) mg/L.

Chuẩn bị mẫu: dung dịch mẫu cần được loại bỏ tạp chất bằng cách li tâm 4.000 vòng/phút trong 15 phút, có thể được pha loãng khi cần thiết.

Cho 10 mL mỗi dung dịch chuẩn hoặc dung dịch mẫu vào ống nghiệm sau đó thêm 0,1 mL dung dịch Segnet 50 % vào ống nghiệm, vortex để trộn đều dung dịch mẫu, tiếp theo cho thêm 0,2 mL dung dịch Nessler vào ống nghiệm, vortex trong 10 phút và tiến hành đo mật độ quang ở bước sóng 420 nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần để lấy số liệu trung bình.

Đường chuẩn được xây dựng ở dạng $x = (y - b)/a$, giá trị OD của mẫu được thay vào đường chuẩn để tính hàm lượng NH_4^+ sinh ra bởi các chủng vi khuẩn nuôi cấy. Dựa vào kết quả đo OD của các dung dịch nuôi vi khuẩn sẽ đánh giá được khả năng cố định đạm của các dòng vi khuẩn phân lập được và trên cơ sở đó chọn những dòng tạo hàm lượng NH_4^+ cao.

Phương pháp xác định khả năng cố định đạm dựa vào hàm lượng $\text{N}-\text{NH}_4^+$ ($\mu\text{gN/mL}$) dựa vào phản ứng màu Nessler.

2.3.4.2 Xác định khả năng chuyển hóa lân [8]

Khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn được cấy chấm vào tâm đĩa môi trường NBRIP, pH = 7, mỗi chủng vi khuẩn lặp lại 3 lần, ủ ở nhiệt độ phòng trong 5 ngày sau đó ghi nhận đường kính vòng phân giải và đường kính

khuẩn lạc. Khả năng chuyển hóa lân thể hiện qua chỉ số chuyển hóa lân (phosphate solubilizing index, SI).

Xác định khả năng chuyển hóa lân: dựa vào sự tạo thành vòng phân giải xung quanh khuẩn lạc.

Chỉ số chuyển hóa lân (SI): được tính theo công thức:

$\text{SI} = (\text{đường kính khuẩn lạc} + \text{đường kính vòng phân giải})/\text{đường kính khuẩn lạc}$

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Kết quả thu mẫu và phân lập

Từ 7 mẫu đất vùng rễ chuối ở các địa điểm khác nhau của Cần Giờ, TP. Hồ Chí Minh, sau khi tiến hành trải mẫu và phân lập trong môi trường TSB NaCl 4 ‰ thu được 24 chủng vi khuẩn có khả năng chịu mặn ở nồng độ NaCl 4 ‰. Các chủng vi khuẩn kí hiệu tương ứng với vị trí thu mẫu theo Bảng 1.

Bảng 1 Kí hiệu mẫu, địa điểm thu thập mẫu

| TT | Kí hiệu chủng vi khuẩn | Địa điểm lấy mẫu Cần Giờ, TP. HCM |
|----|--|-----------------------------------|
| 1 | Đ1 | Lí Nhơn |
| 2 | Đ2, Đ3, Đ4 | An Thới Đông |
| 3 | Đ5, Đ6, Đ7, Đ8, Đ9, Đ10, Đ11, Đ12, Đ13, Đ14, Đ15 | Bình Khánh |
| 4 | Đ16, Đ17, Đ18, Đ19, Đ20, Đ21, Đ22, Đ23, Đ24 | An Thới Đông |

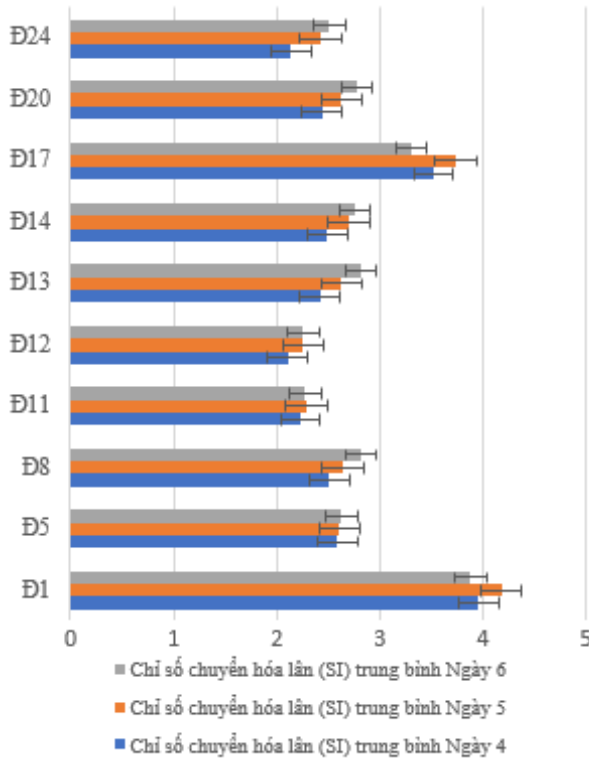
3.2 Kết quả quan sát khuẩn lạc và nhuộm gram

Bảng 2 tóm tắt các đặc điểm: hình dạng, màu sắc, độ nổi, dạng bìa và nhân của các dòng vi khuẩn trên môi trường TSB NaCl 4 ‰. Trong số khuẩn lạc thu được, 18/24 chủng có dạng tròn, màu trắng đục, nổi mô, bìa nguyên, số ít còn lại có dạng không đều, màu vàng nhạt, độ nổi mô lồi và tế bào của 16/24 chủng vi khuẩn có hình dạng khuẩn hình que gram dương (+), còn lại 8/24 thuộc hình que gram âm (-).

Bảng 2 Đặc điểm hình thái của khuẩn lạc

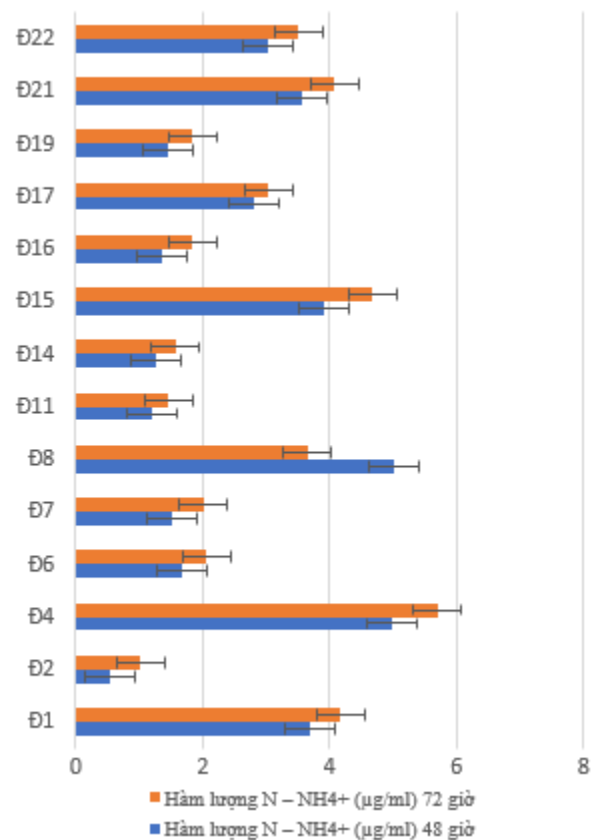
| | Đặc điểm | Số lượng | Tỉ lệ (%) |
|-------------------------|-----------|----------|-----------|
| Hình dạng | tròn | 23 | 95,83 |
| | không đều | 1 | 4,17 |
| Màu sắc | trắng đục | 19 | 79,17 |
| | vàng nhạt | 5 | 20,83 |
| Độ nổi | mô | 18 | 75,00 |
| | lồi | 6 | 25,00 |
| Dạng bìa | nguyên | 23 | 95,83 |
| | răng cưa | 1 | 4,17 |
| Gram | dương (+) | 16 | 66,70 |
| | âm (-) | 8 | 33,30 |
| Hình dạng tế bào | que | 24 | 100 |

3.3 Kết quả sàng lọc các chủng vi khuẩn chịu mặn có khả năng chuyển hóa lân



Hình 1 Chỉ số chuyển hóa lân (SI) trung bình của các chủng vi khuẩn ở ngày 4, ngày 5, ngày 6

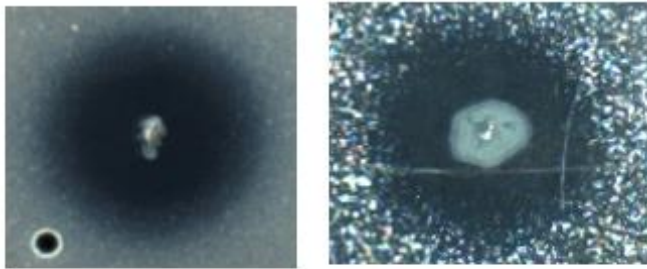
Hai mươi bốn chủng vi khuẩn vừa phân lập được nuôi 24 giờ trong môi trường TSB NaCl 4 %. Kết quả đánh giá khả năng chuyển hóa lân trên môi trường NBRIP dựa vào đường kính vòng phân giải, cho thấy có 10 chủng có khả năng tạo vòng phân giải lân, chứng tỏ 10 chủng vi khuẩn này có khả năng chuyển hóa lân khó tan thành dạng dễ tan. Dựa vào chỉ số chuyển hóa lân (SI) ở ngày 4 cho thấy, chủng Đ1 có chỉ số chuyển hóa lân cao nhất đạt 3,96; tiếp đến là chủng Đ17 (3,52); 08 chủng vi khuẩn còn lại có chỉ số chuyển hóa lân từ 2,11 đến 2,59. Tiếp tục dựa vào đường kính của vòng phân giải đo vào ngày 5, ngày 6 cho thấy có 6 chủng có kích thước vòng phân giải tăng dần từ ngày đo thứ 5 đến ngày đo thứ 6 (Đ5, Đ8, Đ13, Đ14, Đ20 và Đ24), trong đó ở ngày đo thứ 5: chủng Đ1 có chỉ số SI cao nhất (4,18), tiếp đến cũng là chủng Đ17 (3,74). Mặc dù sự chênh lệch về đường kính vòng phân giải của mỗi chủng qua các ngày không đáng kể về mặt thống kê, tuy nhiên có sự khác biệt rõ rệt giữa các chủng với nhau. Bên cạnh đó, có 3 chủng có chỉ số SI cao nhất ở



Hình 3 Hàm lượng N-NH₄⁺ tổng hợp của các chủng vi khuẩn 48 giờ, 72 giờ (µg/mL)

ngày 5 và có xu hướng giảm nhẹ vào ngày 6 tuy nhiên vẫn thấp hơn chỉ số của chủng Đ1, Đ17. Riêng chủng Đ12 chỉ số SI = 2,63 hầu như không thay đổi. So sánh kết quả trên với những nghiên cứu trước, cụ thể theo nghiên cứu vào năm 2017, kết quả trong số 8 chủng vi khuẩn đã phân lập từ đất vùng rẫy bắp tại Uttarakhand, Ấn Độ, có 3 chủng có khả năng chuyển hóa lân cao nhất là C1, A4 và H6 với chỉ số chuyển hóa lân lần lượt là 4,88; 4,48 và 4,64 [9]. Ngoài ra, kết quả xác định hiệu suất chuyển hóa lân của vi khuẩn được phân lập từ đất trồng lúa bị nhiễm mặn ở Sóc Trăng được thực hiện vào năm 2022 cho thấy chỉ số chuyển hóa lân SI trong nghiên cứu tại Sóc Trăng dao động trong khoảng từ 2,9 đến 5,3, đặc biệt có 1 chủng có hoạt tính chuyển hóa cao vượt trội SI = 8 [10]. Như vậy, khi so sánh giữa các nghiên cứu cho thấy những chủng vi khuẩn thu được trong đề tài này có chỉ số chuyển hóa lân tương đối thấp, chỉ có dòng Đ1 có chỉ số SI > 4. Tuy nhiên, khi so sánh với hiệu suất chuyển hóa lân của các chủng vi khuẩn nội sinh được phân lập từ rễ, lá và

trái cà phê với trồng tại Đắc Lắc trong nghiên cứu vào năm 2019 thì các chủng vi khuẩn nội sinh trong cà phê lại có hoạt tính chuyển hóa lân thấp hơn [11]. Điều này chứng tỏ rằng thành phần đất ở các vùng canh tác khác nhau sẽ dẫn đến hoạt tính chuyển hóa lân của hệ vi sinh vật ở các vùng đó cũng khác nhau. Đối với các vùng mà thành phần đất có nhiều phosphat khó tan thì các vi khuẩn tại đó sẽ có hoạt tính cao hơn, và cũng có thể nồng độ muối trong môi trường cũng gây hạn chế đến hoạt tính chuyển hóa của vi sinh vật.



Đ1

Đ17

Hình 4 Vòng phân giải lân của chủng Đ1 và Đ17

3.4 Kết quả sàng lọc các chủng vi khuẩn chịu mặn có khả năng cố định đạm

Dựa vào biểu đồ Hình 3, trong số 24 chủng vi khuẩn phân lập được có 14 chủng sinh trưởng được trên môi trường Ashby không đạm chứng tỏ chúng có khả năng cố định đạm. Mười bốn chủng vi khuẩn này được nuôi cấy trên môi trường Ashby lỏng, sau (48-72) giờ, xác định hàm lượng N-NH₄⁺ dựa vào phản ứng màu Nessler ở bước sóng 420 nm. Kết quả cố định đạm sau 48 giờ cho thấy: chủng Đ8 có khả năng cố định đạm cao nhất 5,02 µg/mL, kế đến là 5 chủng có khả năng cố định đạm giảm dần từ (4,98-3,02) µg/mL gồm Đ4, Đ15, Đ1, Đ21 và Đ22; 7 chủng có khả năng cố định đạm giảm dần từ (2,81-1,21) µg/mL; còn lại chủng Đ2 có khả năng cố định đạm thấp nhất là 0,55 µg/mL. Sau 72 giờ, 13/14 chủng vi khuẩn có khả năng cố định đạm tăng từ (48-72) giờ chứng tỏ các chủng này có khả năng sinh trưởng và phát triển tăng dần. Trong khi đó, chủng Đ8 giảm từ 5,02

µg/mL xuống còn 3,65 µg/mL do chủng này có tốc độ sinh trưởng và phát triển nhanh ở 48 giờ làm cạn kiệt nguồn dinh dưỡng trong môi trường nuôi cấy trong khi mật độ quá cao nên mẻ cấy đã chuyển sang giai đoạn quân bình và giai đoạn chết, dẫn đến hàm lượng đạm sinh ra giảm nhanh. Về mặt thống kê cho thấy, hàm lượng đạm sinh ra giữa các chủng khác biệt rõ rệt. Tuy nhiên, khi xét từng chủng vi khuẩn riêng biệt ở hai mốc thời gian 48 giờ và 72 giờ thì ngoại trừ chủng Đ15, Đ8 và Đ4, hàm lượng đạm sinh ra của đa số chủng còn lại không khác biệt ý nghĩa về thống kê.

So sánh kết quả thí nghiệm với nghiên cứu năm 2018 về vi khuẩn có khả năng cố định đạm từ vùng đất trồng lúa – tôm ở Kiên Giang, Bạc Liêu, Sóc Trăng, từ 116 chủng vi khuẩn phân lập được, có 2 chủng có khả năng cố định đạm cao với hàm lượng NH₄⁺ lần lượt là (3,73 và 2,71) µg/mL [12]. Điều này chứng tỏ các dòng vi khuẩn cố định đạm được tìm thấy từ nghiên cứu này có khả năng cố định đạm khá cao. Tuy nhiên, nếu so sánh với hiệu quả cố định đạm của các chủng được tìm thấy trong đất trồng rau ở Pleiku thì hàm lượng ammonium được sinh ra của các chủng vi khuẩn ở đất trồng rau cao hơn khá nhiều, từ (21,4-59,6) mg/mL [13]. Sự khác biệt về khả năng cố định đạm có thể là do đặc tính cố định nitơ của các chủng khác nhau hoặc do thành phần dinh dưỡng (cụ thể là ammonium) trong đất ở các vùng khác nhau. Đối với những vùng đã có hàm lượng đạm cao thì hệ vi sinh tại đó sẽ không cần cố định từ nitơ không khí, dẫn đến đặc tính cố định của các nhóm vi khuẩn ở đây sẽ kém hơn so với vùng có hàm lượng ammonium trong đất thấp.

Từ kết quả của hai thí nghiệm định lượng hàm lượng lân và đạm trên có thể thấy, trong tổng số 24 chủng vi khuẩn phân lập được từ đất vùng rễ chuối, có 5 chủng vừa có khả năng chuyển hóa lân, vừa có khả năng cố định đạm bao gồm chủng Đ1, Đ8, Đ11, Đ14, Đ17, đặc biệt là chủng Đ1 có hoạt tính hòa tan lân cao nhất trong số các chủng có hoạt tính và đồng thời hoạt tính cố định đạm cũng tương đối cao, chỉ sau chủng Đ4 và Đ15

4 Kết luận

Bảy mẫu đất vùng rễ chuối được thu thập tại một số địa điểm thuộc Cần Giờ, TP. Hồ Chí Minh, sau khi phân lập được 24 chủng vi khuẩn khác nhau trên môi trường TSB bổ sung 4 ‰ NaCl chứng tỏ 24 chủng phân lập được đều có khả năng chịu mặn ở nồng độ 4 ‰ NaCl. Trong số 24 chủng trên có 10 chủng có khả năng chuyển hóa lân, 14 chủng có khả năng cố định đạm, ngoài ra có 5 chủng vừa có khả năng chuyển hóa lân, vừa có khả năng cố định đạm gồm các chủng Đ1, Đ8, Đ11, Đ14, Đ17. Đặc biệt chủng Đ4 có khả năng tổng hợp được lượng đạm cao vượt bậc (5,02 µg/mL) so với

các chủng còn lại và chủng Đ1 là chủng tiềm năng do có cả 2 khả năng chuyển hóa lân và cố định đạm tương đối cao. Kết quả này là bước đầu cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm tìm được các chủng vi khuẩn có hoạt tính cao với mục đích phát triển các chế phẩm sinh học dùng cho vùng canh tác ngập mặn.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ – Đại học Nguyễn Tất Thành, mã đề tài 2022.01.44/HĐ-NCKH

Tài liệu tham khảo

- 1.Dworkin, M., et al. (2006). The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria. *Springer*.
- 2.Foster, R., et al. (1983). Ultrastructure of the root-soil interface. *American Phytopathological Society*.
- 3.Verma, J., et al. (2010). Impact of plant growth promoting rhizobacteria on crop production. *J International Journal of Agricultural Research*, 5(11), 954-983.
- 4.Busman, L., et al. (2002). Phosphorus in the agricultural environment: the nature of phosphorus in soils. *J University of Minnesota, Minneapolis*.
- 5.Saito, A., et al. (2014). Effect of nitrate on nodule and root growth of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). 15(3), 4464-4480.
- 6.Chung, H., et al. (2005). Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of crop plants of Korea. *Soil Biology and Biochemistry*, 37(10), 1970-1974.
- 7.Nguyễn Thị Cẩm Tú (2012). Phân lập vi khuẩn cố định đạm và hòa tan lân từ đất vùng rễ ở đất nâu đỏ tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*.
- 8.Humaira Y., et al. (2011). Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from rhizosphere soil of weeds of Khewra salt range and Attock. *Psk. J. Bot*, 43, 1663-1668.
- 9.Pande, A., et al. (2017). Phenotypic and genotypic characterization of phosphate solubilizing bacteria and their efficiency on the growth of maize. *J Journal of Genetic Engineering Biotechnology*, 15(2), 379-391.
10. Cao Thị Mỹ Tiên, et al. (2020). Phân lập và tuyển chọn dòng vi khuẩn có khả năng hòa tan lân từ đất trồng lúa bị nhiễm mặn tại tỉnh Sóc Trăng. *Hội nghị Công nghệ Sinh học Toàn quốc*, 2020.
11. Nguyễn Hoàng Nhật Linh, et al. (2019). Tuyển chọn vi khuẩn có khả năng cố định đạm, hòa tan lân, tổng hợp IAA nội sinh trong cây cà phê vối (*Coffea Canephora* Pierre ex a. Froehner) trồng tại tỉnh Đắk Lắk. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 2(55), 34-40.
12. Nguyễn Anh Huy, et al. (2018). Phân lập và nhận diện các dòng vi khuẩn chịu mặn có khả năng cố định đạm và tổng hợp IAA từ đất sản xuất lúa – tôm ở Bạc Liêu, Sóc Trăng và Kiên Giang. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, 1B(54), 7-12.
13. Phạm Thị Ngọc Lan, et al. (2020). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn cố định nitrogen từ đất trồng rau ở TP. Pleiku, tỉnh Gia Lai. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Đại học Khoa học, Đại học Huế*, 2(17), 117-126.

Selection of salt-tolerant bacterial strains capable of nitrogen-fixing and phosphorus-dissolving from banana root soil in Can Gio

Giang Cam Tu, Tran Thi Bich Huy, Nguyen Trung Hieu, Lu Gia Han

Hitech Institute, Nguyen Tat Thanh University

gctu@ntt.edu.vn

Abstract Currently, the situation of saline intrusion is becoming more and more serious, affecting the yield of many crops. Therefore, the study of salt-tolerant bacterial strains with both nitrogen-fixing activity and phosphorus-dissolving ability is necessary to reduce the amount of chemical fertilizers used in agriculture while maintaining high yields, improving soil fertility and environmental safety. After isolation on LB medium, 24 strains of salt-tolerant bacteria at 4 ‰ NaCl concentration were obtained from 7 soil samples of banana rhizosphere in Can Gio. The results of testing the activity of isolates on NBRIP and Ashby medium showed that there were 10 strains having the ability to dissolve phosphorus, and 14 strains having the ability to fix nitrogen, in particular, there were 5 strains (D1, D8, D11, D14 and D17) having both the ability to dissolve phosphorus and to fix nitrogen. This result is the basis for further researches to develop microbial products for saline soils.

Keywords salt-tolerant bacteria, nitrogen-fixing, phosphorus-dissolving, Can Gio