

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN ĐỒNGVI KHUẨN NỘI SINH TRONG CÂY LÚA Ở THỪA THIÊN HUẾ

Hoàng Thị Như Thủy¹, Nguyễn Duy Nhật¹, Nguyễn Nữ Cẩm Ly¹, Từ Minh Hải²,
Trần Thị Xuân Phương^{1*}

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

²Trung tâm dịch vụ Nông nghiệp Thành phố Đồng Hới, Quảng Bình

*Tác giả liên hệ: tranthixuanphuong@huaf.edu.vn

Nhận bài: 04/10/2021 Hoàn thành phản biện: 27/10/2021 Chấp nhận bài: 29/10/2021

TÓM TẮT

Ứng dụng vi khuẩn nội sinh có khả năng cố định đạm và phân giải lân là một trong những biện pháp có hiệu quả trong sản xuất lúa an toàn hiện nay. Nghiên cứu này chỉ ra rằng 82 dòng vi khuẩn đã được phân lập từ 120 mẫu (thân, rễ) của giống lúa HT1 ở các thị xã, huyện, thành phố Huế thuộc tỉnh Thừa Thiên Huế trên môi trường LGI (Lacto-gluco infusion). Trong đó, có 38 dòng từ thân và 44 dòng từ rễ. Đặc điểm khuẩn lạc của các dòng phân lập có màu trắng đục hoặc trắng trong, đường kính 1,5 - 7,5 mm, tròn, rìa nguyên. Tế bào hình que ngắn hoặc hình cầu, Gram dương và có khả năng di chuyển. Có 27/82 dòng vi khuẩn nội sinh có khả năng cố định đạm và hòa tan lân khó tan. Trong đó, 03 dòng vi khuẩn TQP'1, THC1, RKL3 có hoạt tính cao nhất. Khả năng cố định đạm của 03 chủng lần lượt là 23,8; 14,3; 10,43 mg L⁻¹ NH₄⁺. Khả năng hòa tan lân lần lượt là 129,77; 128,34 và 119,83 mg L⁻¹ PO₄³⁻. 03 dòng vi khuẩn trên có ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của cây lúa trồng trong ống nghiệm. Đáng chú ý, việc nhiễm dòng TQP'1 dạng dịch thể là tốt nhất với khả năng cố định đạm và hòa tan lân cao nên có ảnh hưởng tốt đến chiều dài rễ mầm (5,34 - 5,67cm), thân mầm (9,64 - 12,36 cm) và khối lượng tươi (0,14 g).

Từ khóa: Cây lúa, Phân lập, Tuyển chọn, Thừa Thiên Huế, Vi khuẩn nội sinh

ISOLATION AND SELECTION OF ENDOPHYTIC BACTERIA STRAINSON RICE IN THUA THIEN HUE

Hoang Thi Nhu Thuy¹, Nguyen Duy Nhat¹, Nguyen Nu Cam Ly¹, Tu Minh Hai²,
Tran Thi Xuan Phuong^{1*}

¹University of Agriculture and Forestry, Hue University;

²Agricultural Service Center Dong Hoi city, Quang Binh province

ABSTRACT

The application of endophytic bacteria which has capability of nitrogen fixing, phosphate solubilizing is one of the effective solutions in safe rice production. This research showed that 82 strains were isolated from 120 samples (stems, roots) of rice variety HT1 in towns, districts and Hue city of Thua Thien Hue province on LGI (Lacto-gluco infusion) medium. In which, there were 38 strains from the stems and 44 from the roots. The colonial characteristics of isolated strains were opalescent or transparent white, 1,5 - 7,5 mm in diameter and round with protective covering. They were gram-positive bacterias (+) with rod-shaped or globular cells and had moving ability. There were 27/82 endophytic bacteria strains which can fix the nitrogen and solubilize phosphates. In which, three strains of bacteria (TQP'1, THC1, RKL3) had the highest activity levels. The nitrogen fixation capacity of three strains was 23.8; 14.3; 10.43 mg L⁻¹ NH₄⁺ respectively. Their phosphate solubility was 129.77; 128.34 and 119.83 mg L⁻¹ PO₄³⁻, respectively. Three strains of bacteria can affect the growth and development of rice plants grown in vitro. Notably, the inoculation of TQP'1 line was the best with high nitrogen fixation and phosphate solubility, so it made a desirable impact on the root length (5.34 - 5.67cm), rhizome (9.64 - 12.36cm) and fresh weight (0.14 g).

Keywords: Endophytic bacteria, Isolation, Thua Thien Hue province, Rice, Selection

1. MỞ ĐẦU

Lúa gạo là lương thực quan trọng trong bữa ăn hàng ngày của hàng tỷ người trên trái đất với khoảng 40% dân số thế giới lấy lúa gạo làm nguồn lương thực chính. Trên thế giới, cây lúa được 250 triệu nông dân trồng với diện tích 167,13 triệu ha (FAO, 2020). Ở Việt Nam, 100% người dân sử dụng lúa gạo làm lương thực chính, chiếm 68% nguồn năng lượng hàng ngày (IRRI facts, 2005). Vì vậy, lúa là cây lương thực chính trong mục tiêu phát triển nông nghiệp để đảm bảo an ninh lương thực của nhiều quốc gia trên thế giới.

Thực tế hiện nay trong sản xuất, canh tác của người dân Việt Nam đối với cây trồng nói chung cũng như cây lúa nói riêng đó là việc quá lạm dụng phân hóa học và thuốc bảo vệ thực vật đã làm cho đất ngày càng bị thoái hóa, chai cứng, vi sinh vật đất bị suy thoái và gây ô nhiễm môi trường đất, nước. Nhiều nghiên cứu cho thấy các chế phẩm vi sinh có thể giảm hoặc thay thế một phần phân hóa học và thuốc bảo vệ thực vật (BTV) trong sản xuất nông nghiệp. Một trong những nhóm vi sinh vật có ích đối với cây trồng đang được quan tâm là vi khuẩn nội sinh. Đây là nhóm vi sinh vật không gây hại mà trái lại thúc đẩy sự phát triển của cây trồng do có các đặc tính tốt như khả năng cố định đạm, hòa tan lân, tổng hợp chất kích thích sinh trưởng IAA (indole-3-acetic acid), tăng hàm lượng dinh dưỡng khoáng, tăng khả năng kháng bệnh và giúp loại bỏ các chất gây ô nhiễm môi trường (Siciliano và cs., 2001; Inaga miliute và cs., 2015). Trên thế giới, nhiều vi khuẩn nội sinh được tìm thấy trong rễ, thân, lá cây lúa như *Azospirillum* sp., *Burkholderia* sp., *Enterobacter* sp., *Herbaspirillum* sp., ... (Mano và Morisaki, 2008). Ở Việt Nam, đã phân lập và tuyển chọn được một số dòng vi khuẩn nội sinh có các đặc tính tốt trong đất trồng lúa ở Hà Nội, Nam Định, Phú Yên

(Văn Thị Phương Như, 2015; Phạm Thị Hải và cs., 2017; Nguyễn Thị Minh và Đỗ Minh Thu, 2017). Đặc biệt, ở vùng đồng bằng sông Cửu Long đã đánh giá được hiệu quả của vi khuẩn nội sinh đối với cây lúa (Cao Ngọc Điệp và cs., 2007; Lý Ngọc Thanh Xuân và cs., 2019). Tuy nhiên, hiệu quả của vi khuẩn nội sinh này có thể phụ thuộc vào vị trí địa lý, điều kiện canh tác của từng địa phương. Ở Thừa Thiên Huế chưa có một nghiên cứu nào về vi khuẩn nội sinh trên cây lúa được thực hiện. Vì vậy, việc nghiên cứu phân lập và tuyển chọn vi khuẩn nội sinh có các đặc tính tốt trong cây lúa ở Thừa Thiên Huế là cần thiết để tìm hiểu sự đa dạng và hiệu quả của nhóm vi sinh vật này. Từ đó, có thể cung cấp các nguồn gen vi sinh vật tốt để sản xuất phân bón vi sinh đang là xu hướng tích cực trong chiến lược phát triển một nền nông nghiệp theo hướng hữu cơ hiệu quả và bền vững.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu là thân, rễ, lá giống lúa HT1 đang ở giai đoạn làm đòng tại các huyện, thị xã và thành phố thuộc tỉnh Thừa Thiên Huế. Ngoài ra, nghiên cứu còn sử dụng giống lúa HT1. Các thí nghiệm được tiến hành tại phòng thí nghiệm của bộ môn Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Nông Lâm, Đại Học Huế.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thu mẫu

Thu mẫu lúa ở các huyện, thị xã và thành phố thuộc tỉnh Thừa Thiên Huế gồm thị xã Hương Trà, thị xã Hương Thủy, huyện Quảng Điền và thành phố Huế, số lượng mẫu lúa: 120 mẫu lúa ở các ruộng lúa trong giai đoạn sinh trưởng phát triển mạnh (Đông Xuân 2020 - 2021). Cách thu mẫu: Trên mỗi ruộng lúa nhỏ 05 cây lúa theo nguyên tắc 05 điểm chéo góc. Dùng tay tách

nhẹ nhàng cây lúa và nhổ cả cây cho vào túi nylon ghi nhãn và mang về phòng thí nghiệm phân lập.

2.2.2. Phương pháp phân lập

+ *Xử lý mẫu*: Mẫu lúa được rửa sạch, cắt thành đoạn nhỏ khoảng 1 cm; Sau đó, dùng cồn 96% lắc nhẹ để sau 3 phút; Xử lý mẫu bằng Sodium hypochloride 1%, lắc nhẹ để sau 3 phút; Tiếp tục dùng hydrogen peroxide 3% lắc nhẹ để sau 3 phút; Cuối cùng, rửa mẫu bằng nước cất vô trùng (Barraquio và cs., 1997)

+ *Phân lập vi khuẩn nội sinh*: Phân lập vi khuẩn nội sinh trên môi trường LGI (Lacto-gluco infusion) (Cavalcante và Dobereiner, 1988). Chọn mẫu lúa đã khử trùng đạt yêu cầu, cho 10 ml nước cất vô trùng và nghiền nhỏ mẫu đã khử trùng. Cây 0,5 ml dịch nghiền của lá hoặc thân hoặc rễ đã nghiền vào ống nghiệm chứa môi trường LGI bán đặc, sau đó đặt trong tủ ấm ở 30°C từ 2 - 3 ngày. Quan sát sự xuất hiện của 01 lớp màng mỏng (pellicle) cách mặt môi trường nuôi khoảng 0,5 cm chỉ thị có sự hiện diện của vi khuẩn nội sinh. Cây chuyển vi khuẩn nội sinh từ các màng mỏng này sang đĩa môi trường LGI đặc, để trong tủ ấm trong 02 ngày. Tiến hành cấy chuyển nhiều lần cho đến khi thu được khuẩn lạc thuần (Barraquio cs., 1997).

2.2.3. Khảo sát hình thái khuẩn lạc và đặc điểm tế bào vi khuẩn

+ *Quan sát đặc điểm hình thái khuẩn lạc*: Đo kích thước khuẩn lạc bằng đơn vị mm và mô tả hình thái khuẩn lạc (hình dạng, màu sắc, bề mặt, dạng rìa,...).

+ *Quan sát đặc điểm tế bào vi khuẩn*: Tiến hành làm tiêu bản nhuộm đơn để quan sát hình dạng tế bào vi khuẩn. Phương pháp nhuộm Gram (nhuộm kép): Phân biệt vi khuẩn Gram dương và Gram âm (Christian Gram và cs., 1884). Khả năng di động của vi khuẩn được xác định bằng cách cây thẳng

từ trên xuống trong môi trường LGI bán đặc, nuôi cấy ở 37°C và quan sát đường mọc của khuẩn lạc.

2.2.4. Khảo sát khả năng cố định đạm của vi khuẩn nội sinh cây lúa

+ *Định tính khả năng cố định đạm*: Vi khuẩn có khả năng cố định đạm có thể phát triển tốt trên môi trường Burk không đạm (Sucrose 10 g/l; KH₂PO₄ 0,41 g/l; K₂HPO₄ 0,52 g/l; Na₂SO₄ 0,05 g/l; CaCl₂ 0,2 g/l; MgSO₄.7H₂O 0,1 g/l; FeSO₄.7H₂O 0,005 g/l; Na₂MoO₄.2H₂O 0,0025 g/l). Cây truyền tất cả dòng vi khuẩn nội sinh cây lúa lên môi trường Burk đặc không đạm và đưa vào tủ ấm ở 30°C, theo dõi sự phát triển của vi khuẩn từ 1 - 2 ngày. Dòng vi khuẩn nào có khả năng phát triển trên môi trường Burk không đạm thì có khả năng cố định đạm. Sau đó, cấy chuyển những dòng vi khuẩn phát triển mạnh sang môi trường Burk lỏng không đạm trong 02 ngày trên máy lắc với tốc độ 120 vòng/phút để khảo sát khả năng cố định đạm.

+ *Định lượng khả năng cố định đạm*: Hút 0,5 ml phần dịch trong sau khi ly tâm dịch nuôi vi khuẩn cho vào các ống nghiệm có chứa 2 ml nước cất khử trùng và 0,5 ml EDTA. Thêm 1 ml dung dịch phenon nitroprussit và 2 ml dung dịch sodium hypochloride vào mỗi ống nghiệm, trộn đều mẫu bằng Vortex. Để ổn định nhiệt độ phòng 30 phút. Sau đó tiến hành đo OD ở bước sóng 640 nm trên quang phổ kế. Kết quả đo OD của các chủng vi khuẩn được thay vào phương trình đồ thị chuẩn ($y = -0,031x + 0,2792$, $R^2 = 0,9058$), xác định được hàm lượng NH₄⁺ (Page và cs., 1982).

2.2.5. Khảo sát khả năng hòa tan lân khó tan của vi khuẩn nội sinh cây lúa

+ *Định tính khả năng hòa tan lân khó tan*: Các dòng vi khuẩn nội sinh phân lập được có khả năng tổng hợp NH₄⁺ được cấy trên môi trường chứa lân khó tan là apatit (NBRIPSucrose 10 g/l; apatit 5,0

g/l; $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 5,0 g/l; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,25 g/l; $(NH_4)_2SO_4 \cdot 7H_2O$ 0,1 g/l; KCl 0,2 g/l) đặc và ủ ở nhiệt độ $30^\circ C$ trong 1 - 2 ngày, dòng nào phát triển được trên môi trường NBRIP thì có khả năng hòa tan lân khó tan. Sau đó chọn dòng phát triển mạnh trên môi trường NBRIP và tiến hành khảo sát khả năng hòa tan lân trên môi trường NBRIP lỏng (Nautiyal, 1999).

+ *Định lượng khả năng hòa tan lân khó tan*: Hút 0,5 ml phần dịch trong sau khi ly tâm dịch nuôi vi khuẩn cho vào các ống nghiệm có chứa 3 ml nước cất khử trùng. Thêm 4 ml dung dịch hỗn hợp thuốc thử (H_2SO_4 5N, $K(SbO)C_4H_4O_6 \cdot 1/2H_2O$, $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$, axit ascorbic 0,1M) trộn đều mẫu bằng Vortex. Để ổn định nhiệt độ phòng 30 phút. Sau đó tiến hành đo OD ở bước sóng 880 nm trên quang phổ kế. Kết quả đo OD của các chủng vi khuẩn được thay vào phương trình đồ thị chuẩn ($y = 0,0058x + 0,1127$, $R^2 = 0,9016$), xác định được hàm lượng PO_4^{3-} (Murphy và Riley, 1962); (Cao Ngọc Điệp, 2011).

2.2.6. Khảo sát hiệu quả cố định đạm và hòa tan lân của các dòng vi khuẩn nội sinh lên cây lúa trong ống nghiệm

+ *Chuẩn bị giống lúa*: Khử trùng hạt lúa bằng cách ngâm trong cồn 70^0 trong 3 phút rồi đổ bỏ, cho vào Hydrogen peroxide 3% ngâm trong 3 phút, sau đó rửa với nước cất vô trùng 3 - 4 lần. Tiến hành gieo hạt lúa đã khử trùng trên môi trường đĩa agar (1%) đã khử trùng và ủ ở nhiệt độ $33^\circ C$ trong 02 ngày cho hạt nảy mầm. Chuẩn bị vi khuẩn: Nuôi các dòng vi khuẩn trên môi trường Burk lỏng không đạm, lắc 120 vòng/phút và ở nhiệt độ $30^\circ C$, trong 2 - 3 ngày để mật số đạt 10^8 tế bào/ml. Bổ sung vi khuẩn vào hạt lúa bằng cách dùng kẹp chuyển hạt lúa nảy mầm vào dịch vi khuẩn đạt mật độ 10^8 tế bào/ml và ngâm trong 3 giờ trước khi gieo. Chuẩn bị môi trường: Môi trường dinh dưỡng khoáng Yoshida (Yoshida, 1978).

+ *Bố trí thí nghiệm khảo sát hiệu quả cố định đạm của vi khuẩn nội sinh*: Thí nghiệm đánh giá hiệu quả cố định đạm được bố trí gồm 05 công thức, mỗi công thức được lặp lại 03 lần: CT1 (Môi trường Yoshida không đạm); CT2 (Môi trường Yoshida có đạm); CT3 (Môi trường Yoshida không đạm + vi khuẩn nội sinh 1); CT4 (Môi trường Yoshida không đạm + vi khuẩn nội sinh 2); CT5 (Môi trường Yoshida không đạm + vi khuẩn nội sinh 3). Thành phần môi trường Yoshida gồm NH_4NO_3 40 mg/l, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 10 mg/l, K_2SO_4 40 mg/l, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 40 mg/l, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 40 mg/l, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 0,5 mg/l, $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 2H_2O$ 0,005 mg/l, H_3BO_4 0,2 mg/l, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,01 mg/l, $CuSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,01 mg/l, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $FeCl_2 \cdot 6H_2O$ 2 mg/l.

+ *Bố trí thí nghiệm khảo sát hiệu quả hòa tan lân khó tan của vi khuẩn nội sinh*: Thí nghiệm đánh giá hiệu quả hòa tan lân được bố trí gồm 05 công thức, mỗi công thức được lặp lại 03 lần: CT1 (Môi trường Yoshida không có $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ + 20 mg/l $Ca_3(PO_4)_2$); CT2 (Có $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ + 20 mg/l $Ca_3(PO_4)_2$); CT3 (Môi trường Yoshida không có $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ + 20 mg/l $Ca_3(PO_4)_2$ + vi khuẩn nội sinh 1); CT4 (Môi trường Yoshida không có $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ + 20 mg/l $Ca_3(PO_4)_2$ + vi khuẩn nội sinh 2); CT5 (Môi trường Yoshida không có $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ + 20 mg/l $Ca_3(PO_4)_2$ + vi khuẩn nội sinh 3).

+ *Các chỉ tiêu và phương pháp theo dõi*: Tiến hành theo dõi 1 ngày/1 lần sau khi gieo. Các chỉ tiêu: Rễ mầm (cm); Thân mầm (cm); Khối lượng tươi (g).

2.2.7. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý phương sai một nhân tố (One - Way ANOVA) bằng phần mềm Statistix 10.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

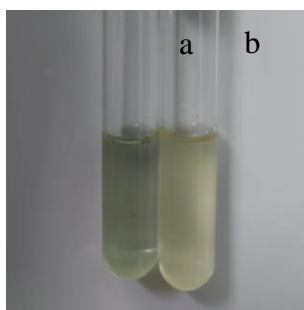
3.1. Phân lập và đặc điểm sinh học của vi khuẩn nội sinh cây lúa ở tỉnh Thừa Thiên Huế

Tổng cộng có 82 dòng vi khuẩn phân lập từ thân, rễ của 120 mẫu lúa được thu thập ở 01 huyện, 02 thị xã và thành phố Huế trên môi trường LGI. Trong tổng số 82 dòng này được phân lập từ thân (46,3%) và rễ

(53,7%) là chủ yếu. Các dòng vi khuẩn này đều có đặc tính chung là sinh trưởng và phát triển trong điều kiện kỵ khí. Khi nuôi cấy trong điều kiện bán đặc, sau 48 giờ vi khuẩn phát triển thành vòng pellicle có màu vàng nhạt, cách bề mặt môi trường 2 mm. Phù hợp với kết quả nghiên cứu của Perin và cs (2006); Santos và cs. (2001), Nguyễn Thị Thu Hà và Cao Ngọc Diệp (2008).

Bảng 1. Các dòng vi khuẩn được phân lập từ cây lúa

Địa điểm	Ký hiệu	Số lượng mẫu	Số dòng vi khuẩn từ bộ phận	
			Thân	Rễ
Hương Sơ	HS	10	5	5
Kim Long	KL	10	4	6
An Đông	AD	6	4	2
Thủy Dương	TD	7	3	4
Thủy Phương	TP	8	4	4
Thủy Thanh	TT	8	3	5
Quảng Phước	QP	8	3	5
Quảng Thọ	QT	6	4	2
Quảng Phú	QP'	9	3	6
Hương Chũ	HC	10	5	5
Tổng cộng		82	38	44



Hình 1. Vòng pellicle xuất hiện trên môi trường nuôi cấy

(a) Ống nghiệm môi trường; (b) Ống nghiệm môi trường có chứa vi khuẩn

Bảng 2. Các dòng vi khuẩn được phân lập từ cây lúa

Đặc điểm khuẩn lạc	Các loại	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Màu sắc	Trắng đục	82	100
Hình dạng	Tròn, rìa nguyên	82	100
Đường kính khuẩn lạc	< 5 mm	63	78,75
	≥ 5 mm	17	21,25

Trong tổng số 82 dòng vi khuẩn phân lập được đều cho kết quả về màu sắc và hình dạng giống nhau 100%, cụ thể màu trắng đục so với kết quả phân lập của Lý Ngọc

Thanh Xuân và cs. (2019) là trắng trong, trắng đục sau 24 giờ nuôi cấy trên 02 loại môi trường LGI và NFb. Về hình dáng đều có dạng tròn, rìa nguyên. Đường kính dao

động từ 1,5 đến 7,5 mm. Trong đó, đường kính <5 mm chiếm tỉ lệ 78,75% và ≥ 5 mm chiếm tỉ lệ 21,25%. Các mô tả về đặc điểm khuẩn lạc của các dòng vi khuẩn này phù

hợp với mô tả khuẩn lạc vi khuẩn nội sinh của Nguyễn Thị Thu Hà và Cao Ngọc Diệp (2008).

Bảng 3. Đặc điểm tế bào của các dòng vi khuẩn

Đặc điểm tế bào vi khuẩn	Loại	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Hình dạng	Que ngắn	65	79,27
	Hình trứng	17	20,73
Gram	Dương (+)	82	100
Chuyển động	Có	82	100



Hình 2. Nhuộm Gram tế bào vi khuẩn ở độ phóng đại 40x
(a) Dòng vi khuẩn dạng que ngắn, (b) Dòng vi khuẩn dạng trứng

Đặc điểm tế bào vi khuẩn phân lập:

Hình dạng: Bảng 3 cho thấy đặc điểm tế bào của vi khuẩn nội sinh trên giống lúa HT1 phân lập được có dạng que ngắn chiếm phần lớn là 65 dòng (79,27%). Phù hợp với kết quả nghiên cứu của Lý Ngọc Thanh Xuân và cs. (2019), hầu hết các dòng vi khuẩn được phân lập trên môi trường LGI đều có hình que (58,57%).

Nhóm Gram: Tất cả các dòng đều bắt màu tím khi tiến hành nhuộm kép nên thuộc nhóm vi khuẩn Gram dương (+). Khác với kết quả nghiên cứu của Mano và Morisaki (2008); Cao Ngọc Diệp và Nguyễn Ái Chi (2009) thì hầu hết vi khuẩn nội sinh đều thuộc nhóm vi khuẩn Gram âm.

Khả năng chuyển động: 82 dòng vi khuẩn phân lập được đều có khả năng chuyển động (100%).

3.2. Khảo sát các đặc tính của vi khuẩn nội sinh cây lúa

Từ kết quả phân lập và đánh giá đặc điểm sinh học của vi khuẩn nội sinh cây lúa trồng trên đất ở Thừa Thiên Huế chúng tôi tuyển chọn được 27 dòng có đường kính

khuẩn lạc ≥ 5 mm. Tiến hành khảo sát các đặc tính của các dòng đã chọn. Những dòng vi khuẩn nào có khả năng phát triển trên môi trường vô đạm thì có khả năng tổng hợp NH_4^+ . Để khảo sát chúng ta tiến hành nuôi trong môi trường Bruk đặc không đạm. Kết quả cho thấy có tất cả 27 dòng phát triển mạnh trên môi trường Bruk không đạm và xuất hiện khuẩn lạc.

Bảng 4 cho thấy, khả năng cố định đạm của các dòng vi khuẩn đều có sự sai khác lớn sau 08 ngày nuôi cấy. Với 04 dòng vi khuẩn TQT3, TQP'2, THC1 và THC3 tăng dần theo thời gian. Sau 02 ngày nuôi cấy, tất cả 27 dòng vi khuẩn được chọn đều có khả năng cố định đạm. Với dòng TQP'3 cố định đạm cao nhất với $10,172 \text{ mgNH}_4^+ \text{ L}^{-1}$, THC1 với $0,143 \text{ mgNH}_4^+ \text{ L}^{-1}$ là dòng có khả năng cố định đạm thấp nhất. Sau 08 ngày nuôi cấy, khả năng cố định đạm của các dòng đa số tăng nhanh. Bên cạnh đó, một số dòng vi khuẩn có hàm lượng NH_4^+ lại giảm mạnh, nhất là dòng RHS2 ở ngày thứ 2 nuôi cấy là $37,19 \text{ mg NH}_4^+ \text{ L}^{-1}$ đến ngày thứ 8 nuôi cấy còn $3,90 \text{ mg NH}_4^+ \text{ L}^{-1}$. Các

dòng THS4, TKL3, RKL3, TAD2, RAD1, RTD4, TTT2, TQP'1, TQP'3, RHC2 có sự thay đổi hàm lượng NH_4^+ theo chiều tăng vào ngày thứ 2 sau đó giảm vào ngày thứ 4 rồi tăng lại vào ngày thứ 6 hoặc thứ 8. Nguyên nhân là do trong quá trình tổng hợp

NH_4^+ , sự hoạt động của enzyme nitrogenase bị tác động ức chế bởi hàm lượng NH_4^+ . Kết quả nghiên cứu của Phạm Thị Hải và cs. (2017) chủng N26 có khả năng cố định NH_4^+ là 1,526 mg L^{-1} sau 4 ngày nuôi cấy.

Bảng 4. Hàm lượng NH_4^+ ($X \pm \text{SE}$) tổng hợp được theo thời gian (mg L^{-1})

Dòng vi khuẩn	Sau nuôi cấy... ngày			
	2	4	6	8
THS1	1,14 ^o ± 0,36	0,96 ^{op} ± 0,27	4,25 ^q ± 0,54	7,40 ^{defghi} ± 0,52
THS3	0,67 ^q ± 0,37	0,59 ^p ± 0,32	4,27 ^q ± 0,55	4,77 ^{efghi} ± 0,23
THS4	3,85 ^g ± 1,31	0,57 ^p ± 0,45	5,24 ^o ± 1,02	4,48 ^{fghi} ± 2,5
RHS2	5,07 ^e ± 1,37	37,19 ^a ± 1,84	8,47 ^h ± 1,09	3,90 ^{ghi} ± 2,1
RHS3	3,54 ⁱ ± 0,89	5,14 ^d ± 1,12	7,14 ^k ± 1,26	3,77 ^{ghi} ± 2,08
TKL3	3,06 ^j ± 0,92	1,59 ^{klmn} ± 1,1	2,51 ^t ± 1,12	9,04 ^{cdefghi} ± 2,68
RKL2	1,44 ⁿ ± 0,12	10,01 ^b ± 0,55	12,4 ^c ± 2,51	1,86 ^{hi} ± 0,91
RKL3	8,48 ^b ± 0,15	1,29 ^{lmno} ± 0,54	8,11 ⁱ ± 2,31	10,43 ^{cdefgh} ± 0,99
TAD1	0,89 ^p ± 0,78	1,80 ^{kl} ± 0,75	2,04 ^w ± 1,20	8,87 ^{cdefghi} ± 0,78
TAD2	3,57 ^{hi} ± 0,86	1,02 ^{mno} ± 0,68	4,09 ^r ± 1,31	11,42 ^{cdefg} ± 0,95
TAD4	2,48 ^k ± 1,03	3,24 ^{efg} ± 0,76	11,0 ^d ± 1,69	4,49 ^{fghi} ± 2,69
RAD1	3,67 ^h ± 1,00	1,52 ^{lmno} ± 0,57	2,39 ^u ± 0,62	12,03 ^{cdefg} ± 2,78
RTD2	1,62 ^m ± 0,89	1,62 ^{klm} ± 0,5	10,64 ^e ± 2,64	10,44 ^{cdefgh} ± 4,01
RTD4	4,55 ^f ± 0,96	2,14 ^{ijk} ± 0,6	14,20 ^b ± 2,69	11,73 ^{cdefg} ± 4,45
TTT2	7,66 ^c ± 0,42	9,87 ^b ± 0,12	6,45 ^l ± 0,78	8,02 ^{cdefghi} ± 1,47
RTT1	6,17 ^d ± 0,48	3,66 ^e ± 0,11	2,40 ^u ± 0,67	1,42 ⁱ ± 0,51
TQP2	7,64 ^c ± 0,57	9,17 ^c ± 0,16	5,82 ^m ± 0,99	3,45 ^{ghi} ± 1,03
RQP2	1,42 ⁿ ± 0,67	1,23 ^{lmno} ± 0,15	2,22 ^v ± 0,90	11,53 ^{cdefg} ± 2,23
TQT3	0,48 ^r ± 2,3	2,55 ^{hij} ± 0,73	5,74 ⁿ ± 0,98	6,74 ^{defghi} ± 4,09
TQP'1	3,54 ⁱ ± 2,0	1,01 ^{nop} ± 0,69	21,47 ^a ± 2,11	23,80 ^{ab} ± 6,09
TQP'2	0,46 ^r ± 2,21	1,58 ^{klmn} ± 0,91	8,87 ^g ± 1,46	16,16 ^{bc} ± 3,26
TQP'3	10,2 ^a ± 2,28	2,12 ^{jk} ± 0,89	9,28 ^f ± 1,46	22,55 ^a ± 5,26
THC1	0,14 ^s ± 1,01	2,99 ^{fgh} ± 0,71	5,27 ^o ± 0,26	14,03 ^{cd} ± 3,29
THC2	2,99 ^j ± 1,02	2,79 ^{gh} ± 0,67	3,60 ^s ± 0,16	8,26 ^{cdefghi} ± 1,28
THC3	2,09 ^l ± 1,28	3,40 ^{ef} ± 1,08	5,84 ^m ± 0,8	13,30 ^{cde} ± 3,25
RHC1	0,61 ^q ± 1,17	2,73 ^{ghi} ± 1,02	5,09 ^p ± 0,82	2,15 ^{hi} ± 2,14
RHC2	4,65 ^f ± 1,08	1,35 ^{lmno} ± 1,00	7,32 ^j ± 0,91	13,05 ^{cdef} ± 3,19

a-r: Trung bình trong cùng một cột có các chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa ở mức $p < 0,01$

Các dòng vi khuẩn nội sinh phân lập được có khả năng tổng hợp NH_4^+ được cấy trên môi trường chứa lân khó tan (NBRIP) đặc và ủ ở nhiệt độ 30°C, trong 1 - 2 ngày, dòng nào phát triển được trên môi trường NBRIP thì có khả năng hòa tan lân khó tan. Sau đó chọn dòng phát triển mạnh trên môi trường NBRIP và tiến hành khảo sát khả năng hòa tan lân trên môi trường NBRIP lỏng. Tất cả các dòng vi khuẩn nội sinh phát

triển mạnh trên môi trường NBRIP lỏng và khảo sát hàm lượng PO_4^{3-} tạo ra sau 08 ngày nuôi cấy.

Bảng 5 cho thấy sau 05 ngày nuôi cấy, tất cả các dòng đã có khả năng hoà tan lân khó tan trên môi trường NBRIP lỏng dao động từ 3,09 - 89,16 mg $\text{P}_2\text{O}_5 \text{L}^{-1}$. Sau 10 - 15 ngày nuôi cấy, khả năng hoà tan lân khó tan của các dòng RHS2, TQP2 đã tăng nhanh, những dòng còn lại không thay đổi

đáng kể. Sau 20 ngày nuôi cấy ta thấy được hầu hết các dòng vi khuẩn đều đạt cực đại, chỉ riêng khả năng hòa tan lân của dòng TAD4 lại giảm xuống sau 15 ngày tăng đều. Khác với các kết quả nghiên cứu trước đây

cho thấy khả năng hòa tan lân khó tan của vi khuẩn nội sinh tốt nhất sau nuôi cấy 10-15 ngày (Chen và cs., 2006; Nguyễn Thị Thu Hà và Cao Ngọc Diệp, 2008).

Bảng 5. Hàm lượng PO_4^{3-} ($X \pm SE$) tổng hợp được theo thời gian ($mg L^{-1}$)

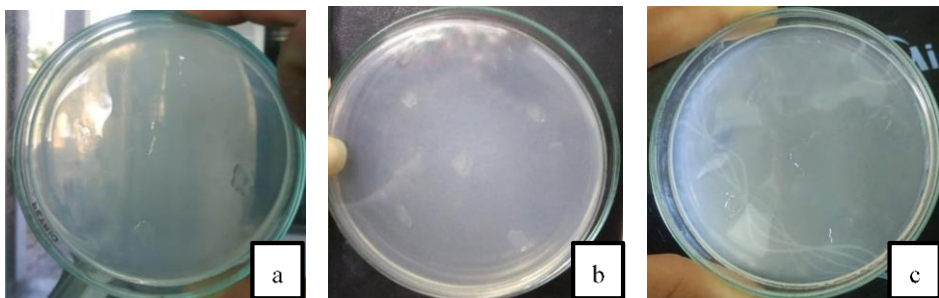
Dòng vi khuẩn	Sau nuôi cấy... ngày			
	5	10	15	20
THS1	45,95 ^m ± 9,01	10,41 ^j ± 1,15	42,55 ^m ± 5,09	146,14 ^c ± 2,24
THS3	47,38 ^l ± 10,02	66,96 ^a ± 3,65	44,52 ^k ± 5,11	123,52 ^m ± 2,12
THS4	38,09 ^p ± 6,61	57,85 ^{ab} ± 3,69	38,39 ^o ± 1,41	129,53 ⁱ ± 1,21
RHS2	13,09 ^x ± 5,62	16,90 ^{ij} ± 0,95	51,48 ^t ± 1,74	165,72 ^b ± 1,25
RHS3	38,63 ^q ± 5,03	43,09 ^{bcdefg} ± 4,47	34,16 ^u ± 1,42	129,29 ^j ± 1,59
TKL3	55,47 ^f ± 5,00	21,84 ^{ij} ± 2,34	51,24 ^s ± 1,54	133,99 ^g ± 1,64
RKL2	59,70 ^e ± 3,21	44,88 ^{bcdef} ± 6,55	53,98 ^d ± 1,09	120,48 ^o ± 1,51
RKL3	24,70 ⁿ ± 3,29	51,60 ^{abcd} ± 7,15	36,96 ^v ± 1,01	119,83 ^p ± 1,45
TAD1	27,32 ^z ± 0,16	32,44 ^{defghi} ± 1,88	38,27 ^o ± 0,59	134,59 ^f ± 2,71
TAD2	27,49 ^r ± 0,06	50,59 ^{abcde} ± 1,92	47,02 ^j ± 0,78	124,59 ^l ± 2,52
TAD4	42,08 ⁿ ± 3,05	38,80 ^{bcdefgh} ± 3,07	39,88 ⁿ ± 0,57	11,02 ^t ± 0,58
RAD1	89,16 ^a ± 3,14	26,07 ^{fghij} ± 3,18	32,55 ^v ± 0,55	121,67 ⁿ ± 3,17
RTD2	27,55 ^r ± 3,15	17,91 ^{ij} ± 4,18	56,66 ^b ± 1,43	133,16 ^h ± 2,99
RTD4	53,69 ^h ± 3,25	38,15 ^{cdefgh} ± 5,77	47,44 ⁱ ± 1,28	114,65 ^r ± 2,38
TTT2	37,38 ^q ± 4,24	52,61 ^{abc} ± 6,61	20,59 ^y ± 1,55	136,79 ^d ± 0,97
RTT1	16,84 ^v ± 4,13	48,74 ^{abcde} ± 6,02	31,66 ^w ± 1,86	135,30 ^e ± 0,95
TQP2	15,77 ^w ± 2,12	23,57 ^{hij} ± 1,01	62,20 ^a ± 2,13	117,98 ^q ± 3,93
RQP2	25,05 ^t ± 2,21	37,73 ^{cdefgh} ± 1,25	37,38 ^b ± 2,01	92,506 ^u ± 3,32
TQT3	63,80 ^d ± 1,12	24,52 ^{ghij} ± 0,67	33,45 ^u ± 0,97	127,45 ^k ± 0,56
TQP'1	51,19 ⁱ ± 1,03	51,24 ^{abcde} ± 1,22	30,47 ^x ± 0,92	129,77 ⁱ ± 0,98
TQP'2	4,88 ^y ± 1,01	31,90 ^{efghi} ± 5,23	50,17 ^h ± 1,39	123,28 ^m ± 7,17
TQP'3	54,76 ^g ± 1,13	27,38 ^{fghij} ± 5,15	51,30 ^g ± 1,56	135,54 ^e ± 8,07
THC1	66,84 ^b ± 2,12	38,98 ^{bcdefgh} ± 1,58	35,41 ^s ± 1,24	128,34 ^l ± 2,49
THC2	65,59 ^c ± 2,84	9,16 ^j ± 0,59	55,77 ^c ± 1,85	112,51 ^t ± 1,92
THC3	47,79 ^k ± 3,12	33,86 ^{ceefghi} ± 6,18	36,66 ^t ± 2,14	124,89 ^j ± 3,00
RHC1	51,66 ⁱ ± 3,19	40,05 ^{bcdefgh} ± 6,01	53,27 ^e ± 2,29	127,27 ^k ± 3,08
RHC2	3,09 ^z ± 0,51	27,55 ^{fghij} ± 5,89	44,16 ^l ± 2,23	169,53 ^a ± 3,21

a-r: Trung bình trong cùng một cột có các chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa ở mức $p < 0,01$

3.3. Hiệu quả cố định đạm và hòa tan lân của các dòng vi khuẩn nội sinh trên cây lúa trồng trong ống nghiệm

Dựa vào kết quả khảo sát khả năng tổng hợp NH_4^+ và hòa tan lân khó tan của 27

dòng vi khuẩn nội sinh trên giống lúa HT1, chúng tôi tuyển chọn 03 dòng có hoạt tính cao nhất để đánh giá hiệu quả cố định đạm và hòa tan lân khó tan là TQP'1, THC1 và RKL3.



Hình 3. Khuẩn lạc của 3 dòng vi khuẩn nội sinh đã chọn a) Dòng TQP'1; b) Dòng THC1; c) Dòng RKL3

Bảng 6. Hiệu quả cố định đạm của các dòng vi khuẩn trên giống lúa HT1 gieo trong ống nghiệm

Công thức	Sau gieo ... ngày						
	1	2	3	4	5	6	7
	Chiều dài rễ mầm (cm)						
CT1	0,78 ^{bc} ± 0,48	1,21 ^{bc} ± 0,50	1,61 ^{bc} ± 0,59	2,18 ^b ± 0,47	2,50 ^{cd} ± 0,45	2,82 ^{bc} ± 0,44	3,17 ^b ± 0,49
CT2	0,47 ^c ± 0,20	0,70 ^c ± 0,32	0,96 ^c ± 0,49	1,02 ^c ± 0,63	1,34 ^d ± 0,59	1,67 ^c ± 0,49	1,77 ^c ± 0,31
CT3	2,59 ^a ± 1,25	3,27 ^a ± 1,33	3,82 ^a ± 1,42	4,85 ^a ± 0,93	5,11 ^a ± 0,85	5,41 ^a ± 0,94	5,68 ^a ± 1,03
CT4	1,53 ^b ± 1,03	2,02 ^b ± 1,09	2,34 ^b ± 1,13	2,92 ^b ± 1,05	3,73 ^b ± 1,28	4,42 ^a ± 1,45	4,88 ^a ± 1,59
CT5	1,61 ^{ab} ± 0,49	2,01 ^b ± 0,48	2,36 ^b ± 0,39	2,97 ^b ± 1,04	3,50 ^{bc} ± 1,15	4,16 ^{ab} ± 1,49	4,64 ^a ± 1,22
LSD _{0,05}	1,04	1,11	1,19	1,13	1,17	1,40	1,38
	Chiều dài thân mầm (cm)						
CT1	1,58 ^{ab} ± 0,79	2,27 ^{ab} ± 0,89	2,88 ^{ab} ± 1,08	4,64 ^b ± 2,33	5,26 ^b ± 2,47	5,88 ^b ± 2,38	7,19 ^{bc} ± 2,43
CT2	0,84 ^a ± 0,26	1,37 ^b ± 0,41	1,89 ^b ± 0,49	2,39 ^c ± 0,39	4,08 ^b ± 1,13	5,19 ^b ± 1,44	6,24 ^c ± 1,77
CT3	2,46 ^a ± 1,23	3,65 ^a ± 1,66	4,36 ^a ± 2,08	6,66 ^a ± 1,11	7,66 ^a ± 0,76	8,46 ^a ± 0,88	9,64 ^a ± 1,20
CT4	2,27 ^a ± 1,54	3,25 ^a ± 1,69	3,94 ^a ± 1,90	6,04 ^{ab} ± 1,57	7,28 ^a ± 1,33	8,20 ^a ± 1,2	9,10 ^{ab} ± 1,39
CT5	2,20 ^a ± 0,46	2,76 ^{ab} ± 0,37	3,28 ^{ab} ± 0,28	6,56 ^a ± 0,24	7,47 ^a ± 0,25	8,12 ^a ± 0,79	8,79 ^{ab} ± 0,92
LSD _{0,05}	1,29	1,53	1,81	1,80	1,85	1,92	2,15
	Khối lượng tươi (g)						
CT1	-	-	-	-	-	-	0,08 ^b ± 0,01
CT2	-	-	-	-	-	-	0,09 ^b ± 0,01
CT3	-	-	-	-	-	-	0,14 ^a ± 0,02
CT4	-	-	-	-	-	-	0,14 ^a ± 0,01
CT5	-	-	-	-	-	-	0,12 ^a ± 0,02
LSD _{0,05}	-	-	-	-	-	-	0,02

a, b, c, d: Trung bình trong cùng một cột, cùng một chỉ tiêu có các chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa ở mức $p < 0,05$; “-”: không theo dõi; CT1 (Môi trường Yoshida không đạm); CT2 (Môi trường Yoshida có đạm); CT3 (Môi trường Yoshida không đạm + dòng vi khuẩn TQP'1); CT4 (Môi trường Yoshida không đạm + dòng vi khuẩn THC1); CT5 (Môi trường Yoshida không đạm + dòng vi khuẩn RKL3)

**Hình 4.** Hiệu quả cố định đạm của các dòng vi khuẩn nội sinh đối với cây mạ 7 ngày tuổi

(CT1) Cây mầm trồng trên môi trường Yoshida không đạm, không nhiễm vi khuẩn; (CT2) Cây mầm trồng môi trường Yoshida có đạm, không nhiễm vi khuẩn; (CT3) Cây mầm trồng trên môi trường Yoshida không đạm, có nhiễm vi khuẩn dòng TQP'1; (CT4) Cây mầm trồng trên môi trường Yoshida không đạm, nhiễm vi khuẩn dòng THC1; (CT5) Cây mầm trồng trên môi trường Yoshida không đạm, nhiễm vi khuẩn dòng RKL3.

Thí nghiệm trong ống nghiệm là để đánh giá sự ảnh hưởng của vi khuẩn lên lúa trong ống nghiệm trong môi trường Yoshida. Bảng 6 và Hình 4 cho thấy Chiều dài rễ, thân mầm ở CT3, CT4, CT5 đều cho kết quả cao hơn so với CT1 không bổ sung đạm, vi khuẩn và CT2 bổ sung đạm nhưng không nhiễm vi khuẩn. Trong đó, CT3 nhiễm dòng TQP'1 là cho kết quả vượt trội hơn so với 02 công thức có nhiễm dòng vi khuẩn khác còn lại. Khối lượng tươi ở cả 03

công thức (CT3, CT4, CT5) nhiễm các dòng vi khuẩn (TQP'1, THC1, RKL3) đều cao hơn 1,5 lần so với CT1 và CT2. Như vậy, các dòng vi khuẩn nội sinh đều có ảnh hưởng đến chiều dài rễ mầm, chiều dài thân mầm và khối lượng tươi của hạt lúa. Trong đó, đáng chú ý là dòng vi khuẩn TQP'1 ảnh hưởng tốt đến sinh trưởng của cây lúa. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Văn Thị Phương Như (2015).

Bảng 7. Hiệu quả hòa tan lân khó tan của các dòng vi khuẩn trên giống lúa HT1 gieo trong ống nghiệm

Công thức	Sau gieo ... ngày						
	1	2	3	4	5	6	7
Chiều dài rễ mầm (cm)							
CT1	0,17 ^d ±0,07	0,20 ^d ±0,10	0,23 ^d ±0,12	1,28 ^c ±0,31	2,42 ^d ±0,33	3,25 ^c ±0,23	4,00 ^c ±0,21
CT2	0,81 ^c ±0,14	1,36 ^c ±0,34	1,64 ^c ±0,43	2,53 ^b ±0,39	3,17 ^c ±0,15	3,62 ^c ±0,28	3,32 ^d ±0,15
CT3	0,95 ^{bc} ±0,63	1,53 ^{bc} ±0,69	1,93 ^{bc} ±0,71	3,98 ^a ±0,37	4,70 ^a ±0,19	5,06 ^a ±0,24	5,34 ^a ±0,29
CT4	1,54 ^{ab} ±0,16	2,20 ^{ab} ±0,29	2,68 ^{ab} ±0,40	3,00 ^b ±0,72	3,74 ^b ±0,48	4,24 ^b ±0,43	4,48 ^b ±0,42
CT5	1,76 ^a ±0,82	2,39 ^a ±1,13	2,96 ^a ±1,21	3,76 ^a ±0,35	4,08 ^b ±0,45	4,38 ^b ±0,42	4,78 ^b ±0,44
LSD _{0,05}	0,62	0,83	0,89	0,59	0,46	0,44	0,43
Chiều dài thân mầm (cm)							
CT1	1,88 ^{ab} ±0,32	2,48 ^b ±0,29	2,88 ^b ±0,30	3,27 ^b ±0,34	5,36 ^c ±0,27	8,05 ^b ±0,78	8,88 ^{bc} ±0,34
CT2	1,50 ^b ±0,57	2,14 ^b ±0,73	2,59 ^b ±0,79	3,72 ^b ±0,57	5,29 ^c ±1,80	6,11 ^c ±1,96	7,46 ^c ±0,77
CT3	2,45 ^a ±0,77	4,65 ^a ±1,76	6,25 ^a ±2,42	7,96 ^a ±2,98	9,13 ^a ±1,45	11,18 ^a ±1,67	12,36 ^a ±1,72
CT4	1,65 ^{ab} ±0,87	2,81 ^b ±1,22	3,79 ^b ±2,03	7,67 ^b ±2,47	6,20 ^{bc} ±2,02	7,60 ^{bc} ±1,52	8,31 ^{bc} ±1,42
CT5	1,76 ^{ab} ±0,76	2,55 ^b ±1,33	3,51 ^b ±2,10	7,36 ^a ±2,54	7,85 ^{ab} ±1,00	8,95 ^b ±1,06	10,00 ^b ±1,36
LSD _{0,05}	0,91	1,55	2,29	2,27	1,17	1,93	2,25
Khối lượng tươi (g)							
CT1	-	-	-	-	-	-	0,11 ^c ±0,01
CT2	-	-	-	-	-	-	0,13 ^{abc} ±0,01
CT3	-	-	-	-	-	-	0,14 ^a ±0,02
CT4	-	-	-	-	-	-	0,13 ^{ab} ±0,01
CT5	-	-	-	-	-	-	0,12 ^{bc} ±0,02
LSD _{0,05}	-	-	-	-	-	-	0,02

a, b, c, d: Trung bình trong cùng một cột, cùng một chỉ tiêu, có các chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa ở mức $p < 0,05$; "-": không theo dõi; CT1 (Môi trường Yoshida không có $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + 20 \text{ mg/l Ca}_3(\text{PO}_4)_2$); CT2 (Môi trường Yoshida có $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + 20 \text{ mg/l Ca}_3(\text{PO}_4)_2$); CT3 (Môi trường Yoshida không có $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + 20 \text{ mg/l Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ + dòng vi khuẩn TQP'1); CT4 (Môi trường Yoshida không có $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + 20 \text{ mg/l Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ + dòng vi khuẩn THC1); CT5 (Môi trường Yoshida không có $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + 20 \text{ mg/l Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ + dòng vi khuẩn RKL3)



Hình 5. Hiệu quả hòa tan lân khó tan của các dòng vi khuẩn nội sinh đối với cây mạ 7 ngày tuổi (CT1) Cây mầm trồng trên môi trường Yoshida không có $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, có $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; (CT2) Cây mầm trồng trên môi trường Yoshida có $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, có $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; (CT3) Cây mầm trồng trên môi trường Yoshida không có $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, có $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, có nhiễm vi khuẩn dòng TQP'1; (CT4) Cây mầm trồng trên môi trường Yoshida không có $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, có $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, có nhiễm vi khuẩn dòng THC1; (CT5) Cây mầm trồng trên môi trường Yoshida không có $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, có $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, nhiễm vi khuẩn dòng RKL3.

Đối với CT1 bổ sung $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ là lân khó tan nên cây trồng sinh trưởng chậm, ngược lại CT2 được bổ sung lân dễ tan nên cây trồng sinh trưởng tốt hơn. Các công thức còn lại có bổ sung vi khuẩn nội sinh có khả năng hòa tan lân khó tan nên đã hòa tan lân để cung cấp cho cây trồng phát triển. Các chỉ số gồm chiều dài thân, chiều dài rễ và khối lượng của cây mạ ở CT3, CT4, CT5 đều cho chỉ số cao hơn so với CT1 chứa lân khó tan và CT2 chứa lân dễ tan. Như vậy, các dòng vi khuẩn nội sinh đã hòa tan lân khó tan trong môi trường để cung cấp cho mầm lúa sinh trưởng phát triển tốt và cho kết quả tốt hơn so với việc cung cấp lân trực tiếp cho cây trồng phát triển ở CT2. Trong đó, đáng chú ý là dòng vi khuẩn TQP'1. Nghiên cứu của Văn Thị Phương Như (2015) cũng chỉ ra hiệu quả tác động tích cực của các dòng vi khuẩn là chuyển hóa lân khó tan thành lân dễ tan cung cấp cho cây lúa.

4. KẾT LUẬN

Từ 120 mẫu lúa HT1 thu thập ở các thị xã, huyện, thành phố Huế thuộc tỉnh Thừa Thiên Huế đã phân lập được 82 dòng

vi khuẩn, trong đó có 38 dòng từ thân và 44 dòng từ rễ. Đặc điểm khuẩn lạc của các dòng phân lập có màu trắng đục và trắng trong. Đường kính khuẩn lạc dao động từ 1,5 - 7,5 mm. Hình dạng khuẩn lạc chủ yếu là tròn, rìa nguyên. Tế bào hình que ngắn hoặc hình bầu dục, Gram dương và có khả năng di chuyển.

Có 27/82 dòng vi khuẩn nội sinh có khả năng cố định đạm và hòa tan lân khó tan. Trong đó, 03 dòng vi khuẩn TQP'1, THC1, RKL3 có hoạt tính cao nhất. Khả năng cố định đạm của 03 dòng lần lượt là 23,8; 14,3; 10,43 $\text{mg L}^{-1} \text{NH}_4^+$. Khả năng hòa tan lân lần lượt là 129,77; 128,34 và 119,83 $\text{mg L}^{-1} \text{PO}_4^{3-}$.

Kết quả đánh giá hiệu lực của các dòng vi khuẩn lên cây lúa trong ống nghiệm cho thấy được 03 dòng vi khuẩn có ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của cây lúa. Đáng chú ý là công thức nhiễm dịch dòng TQP'1 là tốt nhất với khả năng cố định đạm cao nên có ảnh hưởng tốt đến chiều dài rễ mầm (5,67 cm), thân mầm (9,64 cm), khối lượng tươi (0,14 g) và khả năng hòa tan lân cao với chiều dài rễ mầm đạt 5,34 cm,

thân mầm đạt 12,36 cm và khối lượng tươi đạt 0,14 g.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu tiếng Việt

Cao Ngọc Điệp. (2011). *Vi khuẩn nội sinh thực vật*. Nhà xuất bản trường Đại học Cần Thơ, Cần Thơ.

Cao Ngọc Điệp và Nguyễn Ái Chi. (2009). Phân lập và đặc tính vi khuẩn nội sinh trong cây khóm trên đất phèn huyện Bến Lức, tỉnh Long An. *Tuyển tập Hội nghị Công nghệ sinh học phía Nam năm 2009, tại thành phố Hồ Chí Minh từ ngày 23 - 24 tháng 10, năm 2009*.

Nguyễn Thị Thu Hà và Cao Ngọc Điệp. (2008). *Phân lập và đặc tính của vi khuẩn nội sinh ở một số cỏ chăn nuôi*. Luận văn thạc sỹ ngành Công nghệ sinh học, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.

Phạm Thị Hải, Nguyễn Thị Sơn và Nguyễn Quang Thạch. (2017). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn nội sinh có khả năng cố định đạm, phân giải lân, tổng hợp IAA từ cây lúa. *Tạp chí Nông nghiệp và phát triển nông thôn, kỳ 1*, 28-34.

Nguyễn Thị Minh và Đỗ Thị Minh Thu. (2017). Nghiên cứu phân lập và tuyển chọn vi sinh vật nội sinh từ vùng sinh thái đất mặn huyện Giao Thủy, tỉnh Nam Định. *Tạp chí khoa học Nông nghiệp Việt Nam, 15(8)*, 1022-1032.

Văn Thị Phương Như. (2015). *Phân lập và khảo sát các đặc tính của vi khuẩn nội sinh trong cây lúa trồng trên đất ở Phú Yên*. Luận án Tiến sĩ, chuyên ngành Vi sinh vật học.

Lý Ngọc Thanh Xuân, Lê Vĩnh Thúc và Nguyễn Quốc Khương. (2019). Phân lập, tuyển chọn và đánh giá khả năng hòa tan photpho của vi

khảo được phân lập từ đất phèn vùng rẫy lúa mùa nổi. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 18*, 24 -29.

2. Tài liệu tiếng nước ngoài

Chen, W.M., James, E.K., Coenye, T., Chou, J.H., Barrios, E., Faria, S.M.D., Elliot, G.N., Shue, S.Y., Sprent, J.I., & Vandamme, P. (2006). *Burkholderia mimosarum* sp. Nov., isolated from root nodules of *Mimosa* spp. from Taiwan and South American. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 56*, 1847-1851.

Inga, M., Odeta, B., Danas, B., & Vidmantas, S. (2015). Bacterial endophytes in agricultural crops and their role in stress tolerance. *Zemdirbyste-Agriculture, 102(4)*, 465-478.

Mano, H., & Morisaki, H. (2008). Endophytic bacteria in the rice plant. *Microbes Environment, 23(2)*, 109-117.

Perin L., Martinez-Aguilar, L., Castro-Gonzalez, R., Estrada-de los, P.S., Cabellos-Avelar, T., Guedes, V.H., & Reis, J.C. (2006). Diazotrophic *Burkholderia* Species Associated with Field-Grown Maize and Sugarcane. *Applied and Environmental microbiology, 72(5)*, 3103-3110.

Siciliano, N. Fortin, Mihoc, A., Wisse, G., Labelle, S., Beaumier, D., Outlettette, D., Roy, R., Whyte, G.L., Banks, K.M, Schwab, P., Lee, K., & Greer, W.C. (2001). Selection of specific endophytic bacterial genotypes by plants in response to soil contamination. *Applied and Environmental Microbiology, 67(6)*, 2469-2475.

Santos, P.E., Bustillos, D.C., & Caballero-Mellado, J. (2001). *Burkholderia*, a genus Rich in Plant-Associated Nitrogen Fixers with Wide Environmental and Geographic Distribution. *Applied and Environmental Microbiology, 67(6)*, pp. 2790-2798.