

PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN VI KHUẨN PHÂN GIẢI LÂN VÔ CƠ KHÓ TAN TỪ ĐẤT TẠI HUYỆN XUÂN LỘC, TỈNH ĐỒNG NAI

*Bùi Đoàn Phượng Linh¹
Trần Thị Thủy Tiên¹
Nguyễn Ngọc Hà²
Huỳnh Thanh Hùng²*

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm phân lập, tuyển chọn một số chủng vi khuẩn có khả năng chuyển hóa lân vô cơ khó tan từ đất để ứng dụng trong sản xuất nông nghiệp, góp phần nâng cao năng suất cây trồng. Kết quả phân lập từ một số mẫu đất xung quanh vùng rẫy trồng ngô và đậu bắp ở Xuân Lộc thu được 35 chủng vi khuẩn phân giải lân vô cơ khó tan, trong đó, gồm 31 chủng vi khuẩn Gram dương, 4 chủng vi khuẩn Gram âm; 28 chủng là trực khuẩn, 7 chủng là cầu khuẩn. So sánh kết quả đánh giá hoạt tính dựa trên kích thước vòng phân giải phospho trên môi trường nuôi cấy của các chủng vi khuẩn phân lập được từ các mẫu đất xung quanh vùng rẫy trồng ngô cho thấy chủng vi khuẩn PSM₅ có hoạt tính cao nhất với kích thước vòng phân giải phospho là 12,4mm. So sánh kết quả đánh giá hoạt tính giữa các các chủng vi khuẩn phân lập được từ các mẫu đất xung quang vùng rẫy trồng đậu bắp thì chủng vi khuẩn PSM₁₅ có hoạt tính cao nhất với kích thước vòng phân giải phospho là 11,3mm.

Từ khóa: *Lân vô cơ khó tan, phân giải phospho, phân lập, vi khuẩn*

1. Giới thiệu

Phospho là một trong các nguyên tố dinh dưỡng đa lượng rất cần thiết đối với cây trồng. Phospho đóng vai trò quan trọng trong hầu hết các quá trình trao đổi chất chính trong cây như quang hợp, hô hấp, truyền tín hiệu, truyền năng lượng và tổng hợp các chất [1]. Trong đất phospho tồn tại ở hai dạng vô cơ và hữu cơ nhưng chủ yếu ở dưới dạng không hòa tan nên cây trồng khó hấp thu được [2]. Để đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng cho cây trồng, trong nông nghiệp phospho thường được bổ sung vào đất dưới dạng phân lân hóa học.

Tuy nhiên hầu hết các loại phân lân hóa học khi bón vào đất thì thường bị rửa trôi, gây ra những vấn đề về môi trường hoặc bị cố định trong đất bởi các phức hợp kim loại - cation trở thành dạng khó tiêu. Trong tự nhiên, cây trồng muốn hấp thu được các dạng lân khó tiêu này trong đất thường cần có sự phân giải của các vi sinh vật đất để tạo ra các dạng lân dễ tan hơn [3], [4]. Để hạn chế những tác động không có lợi của phân bón hóa học đối với môi trường và để tăng hiệu suất sử dụng lân thì việc sử dụng các vi sinh vật chuyển hóa lân bổ sung vào trong đất là một trong những

¹Trường Đại học Đồng Nai
Email: plindh12@gmail.com

²Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

giải pháp thân thiện với môi trường và hữu hiệu giúp quản lý sự thiếu hụt phospho trong đất nông nghiệp [5].

Hiện nay, Xuân Lộc là một trong những huyện của tỉnh Đồng Nai mà nông nghiệp vẫn là ngành chủ yếu đem lại thu nhập chính cho người dân. Điểm nổi bật của nông nghiệp Xuân Lộc là sự đa dạng về sản phẩm từ cây ăn trái đến cây công nghiệp và cây ngắn ngày. Từ nhiều năm qua, ngành nông nghiệp của Xuân Lộc đã từng bước đầu tư sang hướng phát triển nông nghiệp bền vững, ứng dụng khoa học, công nghệ để nâng cao năng suất cây trồng. Vì vậy nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích phân lập, tuyển chọn chủng vi sinh vật có khả năng chuyển hóa lân vô cơ khó tan trong đất ở một số vùng ở huyện Xuân Lộc. Kết quả của nghiên cứu nhằm tìm ra được một số chủng vi khuẩn chuyển hóa lân vô cơ khó tan, qua đó đề xuất làm chủng giống vi sinh vật dùng trong sản xuất phân bón vi sinh hoặc dùng để bổ sung vào trong đất góp phần nâng cao hiệu quả sử dụng phân bón nhất là phân lân và hạn chế tác động của phân bón đối với môi trường, góp phần phát triển nền nông nghiệp xanh, sạch và bền vững ở huyện Xuân Lộc.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Các mẫu đất được lấy ở một số vùng đất ở huyện Xuân Lộc của tỉnh Đồng Nai.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp lấy mẫu đất

Dùng thìa vô trùng lấy các mẫu đất ở tầng mặt có độ sâu từ 2-10 cm. Mỗi mẫu đất được lấy ngẫu nhiên tại nhiều điểm, cùng độ sâu. Mẫu đất được cho vào túi nylon sạch, buộc kín, ghi thông tin mẫu (địa điểm lấy, ngày lấy) và đem về phòng thí nghiệm để tiến hành phân lập vi khuẩn.

2.2.2. Phương pháp phân lập vi sinh vật phân giải lân vô cơ khó tan trên môi trường thạch đĩa

Cấy dịch huyền phù từ các mẫu đất thu được ở nồng độ 10^{-5} - 10^{-6} lên môi trường thạch đĩa Pikovskaya theo TCVN 6167:1996 với thành phần như trình bày ở bảng 1. Đem các mẫu đi nuôi cấy trong tủ ấm ở 30°C . Sau 48 - 120 giờ, lựa chọn các khuẩn lạc dựa trên sự tạo vòng trong (vòng phân giải) xung quanh các khuẩn lạc trên môi trường nuôi cấy. Mỗi khuẩn lạc khác nhau về mặt hình thái học được coi là một chủng vi khuẩn. Tiến hành làm thuần các chủng vi khuẩn thu được và đem đi bảo quản ở nhiệt độ $4 - 5^{\circ}\text{C}$. Các thao tác thí nghiệm đều được tiến hành trong điều kiện vô trùng.

Bảng 1: Môi trường Pikovskaya kiểm tra vi sinh vật phân giải các hợp chất lân vô cơ khó tan (TCVN 6167:1996)

Thành phần	Nồng độ (g/l)	Thành phần	Nồng độ (g/l)
Glucoza	10,0	MnSO ₄	Vết
Ca ₃ (PO ₄) ₂	5,0	FeSO ₄	Vết
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5	Nấm men	0,5
KCl	0,2	Agar	20,0
MgSO ₄ .7 H ₂ O	0,1	Nước cất	1 lít
pH	6,8 – 7,0		

2.2.3. Phương pháp nhuộm Gram

Nhỏ sinh khối nuôi cấy vi khuẩn trên môi trường Pikovskaya sau 24 giờ nuôi lên lam kính sạch (nếu mật độ vi khuẩn quá dày đặc thì có thể pha loãng ra), cố định tiêu bản vi khuẩn bằng ngọn lửa đèn cồn. Nhuộm mẫu bằng dung dịch tím tinh thể (Crystal violet) trong 1 phút, rửa lại bằng nước. Nhuộm tiếp bằng dung dịch lugol trong 1 phút, rửa lại bằng nước. Rửa mẫu bằng cồn 90⁰ trong khoảng 5 – 10 giây, sau đó rửa lại bằng nước. Nhuộm tiếp mẫu bằng dung dịch Fuschin Zeihl trong 30 – 60 giây, rửa lại bằng nước. Để khô, quan sát sự bắt màu của vi khuẩn dưới kính hiển vi ở vật kính có độ phóng đại 100 lần bằng giọt dầu. Nếu là vi khuẩn Gram dương sẽ bắt màu tím, nếu là Gram âm sẽ bắt màu hồng. Các thao tác thí nghiệm đều được tiến hành trong điều kiện vô trùng.

2.2.4. Phương pháp định tính khả năng phân giải lân của các chủng vi khuẩn

Hoạt tính phân giải lân khó tan được xác định dựa trên kích thước vòng

phân giải trên môi trường Pikovskaya. Chủng vi khuẩn được tăng sinh trên môi trường Pikovskaya lỏng sau 72 giờ được cấy thành từng điểm riêng biệt trên môi trường thạch Pikovskaya ở 35⁰C. Các thao tác thí nghiệm đều được tiến hành trong điều kiện vô trùng. Sau 48 giờ nuôi cấy, theo dõi khả năng hình thành vòng phân giải của các chủng vi khuẩn. Dùng thước đo để xác định kích thước vòng phân giải. Hoạt tính vòng phân giải được đánh giá bằng hiệu số D – d (mm), trong đó D là đường kính vòng phân giải (mm), d là đường kính khuẩn lạc vi khuẩn (mm).

Các thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (Complete randomized design-CRD) một nhân tố với các nghiệm thức khác nhau, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần. Số liệu được tính toán bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2007; phân tích ANOVA và trắc nghiệm phân hạng bằng phần mềm Minitab 16.2.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả phân lập các chủng vi khuẩn phân giải lân vô cơ khó tan từ đất

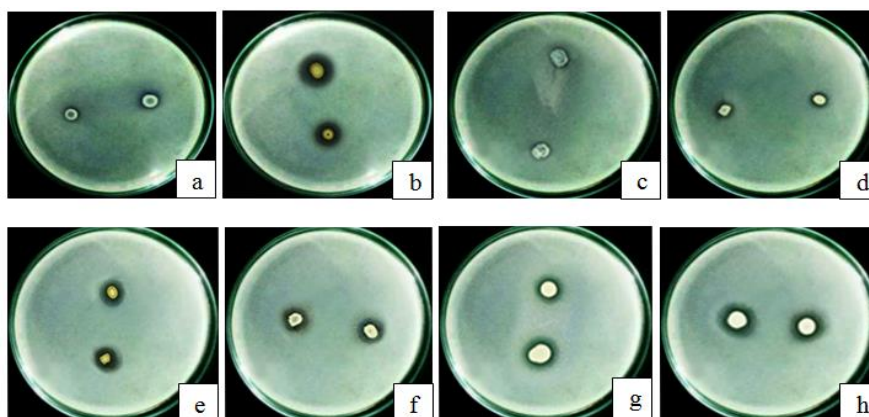
Kết quả đã phân lập được 35 chủng vi sinh vật ký hiệu từ PSM₁ đến PSM₃₅ có khả năng tạo các vòng phân giải phospho trên môi trường Pikovskaya chứa Ca₃(PO₄)₂ khó tan. Trong 35 chủng vi sinh vật phân lập được có 13 chủng thu được từ các mẫu đất xung quanh vùng rẫy trồng ngô (ký hiệu từ PSM₁ đến PSM₁₃) và 22 chủng thu được từ các mẫu đất xung quanh vùng rẫy trồng đậu bắp ở Xuân Lộc (ký hiệu

từ PSM₁₄ đến PSM₃₅) với đặc điểm hình thái được mô tả như trong bảng 2. Hiện tượng tạo vòng phân giải phospho được giải thích là do các chủng này có khả năng tiết một số dạng axit hữu cơ như acid citric, acid lactic, acid gluconic, acid succinic... làm giảm pH của môi trường nuôi cấy nên giúp vi khuẩn phân giải được phospho khó tan [5]. Kết quả ghi nhận hình dạng khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn phân giải phospho cũng tương tự như một số nghiên cứu của [6] và [7].

Bảng 2: Hình thái, màu sắc khuẩn lạc của các chủng vi sinh vật phân giải lân vô cơ khó tan phân lập được tại Xuân Lộc

STT	Kí hiệu chủng vi khuẩn	Hình thái, màu sắc của khuẩn lạc
1	PSM ₁	Không đều, nhày nhớt, có màu vàng.
2	PSM ₂	Tròn với mép hơi gợn, trơn ướt, hồng lợt ở ngoài, ở giữa có màu trắng trong.
3	PSM ₃	Dạng bầu dục, mép đều, từ ngoài vào trong có màu từ vàng nhạt - màu sữa - trắng trong.
4	PSM ₄	Dạng bầu dục, mép đều, từ ngoài vào trong có màu vàng đậm đến vàng lợt.
5	PSM ₅	Dạng lõm có màu vàng, mép gợn sóng.
6	PSM ₆	Tròn đều, vàng nhạt, bề mặt nhày từ ngoài vào trong có màu vàng đến vàng lợt và tâm lõm.
7	PSM ₇	Dạng bầu dục, mép răng cưa, có màu trắng sữa.
8	PSM ₈	Tròn đều có màu vàng nhạt đục, tâm có màu trắng trong.
9	PSM ₉	Dạng bầu dục, mép đều, có màu vàng nhạt đục.
10	PSM ₁₀	Dạng lan, mép gợn, nhày, có màu vàng từ đậm đến nhạt tính từ ngoài vào trong.
11	PSM ₁₁	Tròn đều, mép đều, từ ngoài vào trong có màu từ vàng đậm - trong - màu ngà.
12	PSM ₁₂	Dạng bầu dục, mép đều, từ ngoài vào trong có màu trắng sữa đến trắng trong.
13	PSM ₁₃	Dạng bầu dục, mép hơi gợn, vàng nhạt ở biên và có màu trắng trong ở tâm, nhày nhớt.
14	PSM ₁₄	Tròn đều, khô xù xì, có màu trắng sữa.

STT	Kí hiệu chủng vi khuẩn	Hình thái, màu sắc của khuẩn lạc
15	PSM ₁₅	Tròn đều, vàng nhạt, trơn ướt, bề mặt lồi.
16	PSM ₁₆	Tròn có màu trắng sữa, biên đều.
17	PSM ₁₇	Hình ô van, mép ngoài trắng sữa, mép trong vàng nhạt, nhày.
18	PSM ₁₈	Tròn đều, trơn ướt, lồi, trắng sữa pha vàng nhạt.
19	PSM ₁₉	Tròn có màu vàng, hơi lồi.
20	PSM ₂₀	Tròn, hơi lồi, có màu trắng viền đậm, trong nhạt.
21	PSM ₂₁	Tròn đều, có màu vàng nhạt.
22	PSM ₂₂	Tròn đều hơi lồi, trơn, vàng nhạt, tâm màu trắng sữa.
23	PSM ₂₃	Tròn, mép không đều, có màu trắng sữa.
24	PSM ₂₄	Không đều, hơi lồi, có màu vàng.
25	PSM ₂₅	Hình ô van, vàng nhạt, hơi lồi.
26	PSM ₂₆	Dạng lồi, mép gợn sóng nhiều có màu vàng nhạt, nhày.
27	PSM ₂₇	Dạng elíp, trơn ướt, màu trắng sữa pha vàng nhạt.
28	PSM ₂₈	Tròn đều, màu vàng nhạt, trơn ướt.
29	PSM ₂₉	Tròn đều, trơn ướt, màu trắng sữa pha vàng nhạt.
30	PSM ₃₀	Tròn đều, trắng sữa nhưng tâm hơi vàng.
31	PSM ₃₁	Mép hơi gợn, vòng ngoài trắng trong, vòng trong dạng trắng sữa đậm.
32	PSM ₃₂	Dạng nhày, màu sắc từ ngoài vào trong trắng sữa đến vàng, mép hơi gợn.
33	PSM ₃₃	Tròn đều, trơn ướt, từ ngoài vào trong có màu trắng sữa đến trắng trong.
34	PSM ₃₄	Tròn, biên không đều, có màu trắng sữa.
35	PSM ₃₅	Tròn đều, nhỏ, vàng nhạt.



Hình 1: Hình thái, màu sắc khuẩn lạc của một số chủng vi sinh vật phân giải lân vô cơ khó tan (a. PSM₃, b. PSM₄, c. PSM₇; d. PSM₉, e. PSM₁₁, f. PSM₁₃, g. PSM₂₂, h. PSM₂₃)

3.2. Kết quả quan sát hình thái và phân loại vi khuẩn theo phương pháp nhuộm Gram

Kết quả quan sát hình thái và phân loại vi khuẩn theo phương pháp nhuộm Gram như được trình bày trong bảng 3

cho thấy trong 35 chủng vi khuẩn phân giải lân vô cơ khó tan phân lập được thì có 31 chủng vi khuẩn Gram dương, 4 chủng vi khuẩn Gram âm; 28 chủng vi khuẩn là trực khuẩn, 7 chủng vi khuẩn là cầu khuẩn.

Bảng 3: Kết quả quan sát hình thái và phân loại vi khuẩn theo phương pháp nhuộm Gram của các chủng vi khuẩn phân giải lân khó tan đã phân lập được

ST T	Kí hiệu chủng vi khuẩn	Hình dạng	Bắt màu thuốc nhuộm Gram	Vi khuẩn Gram Dương/Âm
1	PSM ₁	Cầu	Xanh tím	(+)
2	PSM ₂	Que	Xanh tím	(+)
3	PSM ₃	Que	Xanh tím	(+)
4	PSM ₄	Que	Xanh tím	(+)
5	PSM ₅	Que	Xanh tím	(+)
6	PSM ₆	Que	Xanh tím	(+)
7	PSM ₇	Que	Xanh tím	(+)
8	PSM ₈	Cầu	Xanh tím	(+)
9	PSM ₉	Que	Xanh tím	(+)
10	PSM ₁₀	Que	Xanh tím	(+)
11	PSM ₁₁	Que	Xanh tím	(+)
12	PSM ₁₂	Que	Xanh tím	(+)
13	PSM ₁₃	Cầu	Xanh tím	(+)
14	PSM ₁₄	Que	Xanh tím	(+)
15	PSM ₁₅	Que	Xanh tím	(+)
16	PSM ₁₆	Que	Xanh tím	(+)
17	PSM ₁₇	Que	Xanh tím	(+)
18	PSM ₁₈	Que	Xanh tím	(+)
19	PSM ₁₉	Que	Xanh tím	(+)
20	PSM ₂₀	Que	Xanh tím	(+)
21	PSM ₂₁	Que	Xanh tím	(+)
22	PSM ₂₂	Cầu	Hồng	(-)
23	PSM ₂₃	Cầu	Xanh tím	(+)
24	PSM ₂₄	Que	Xanh tím	(+)
25	PSM ₂₅	Que	Xanh tím	(+)
26	PSM ₂₆	Que	Xanh tím	(+)
27	PSM ₂₇	Que	Xanh tím	(+)
28	PSM ₂₈	Que	Xanh tím	(+)
29	PSM ₂₉	Cầu	Xanh tím	(+)
30	PSM ₃₀	Que	Xanh tím	(+)
31	PSM ₃₁	Cầu	Xanh tím	(+)
32	PSM ₃₂	Que	Hồng	(-)
33	PSM ₃₃	Que	Xanh tím	(+)
34	PSM ₃₄	Que	Hồng	(-)
35	PSM ₃₅	Que	Hồng	(-)

3.3. Kết quả định tính khả năng phân giải lân của các chủng vi khuẩn phân lập được

3.3.1. Kết quả định tính khả năng phân giải lân khó tan của các chủng vi khuẩn đã phân lập được từ mẫu đất trồng ngô ở Xuân Lộc

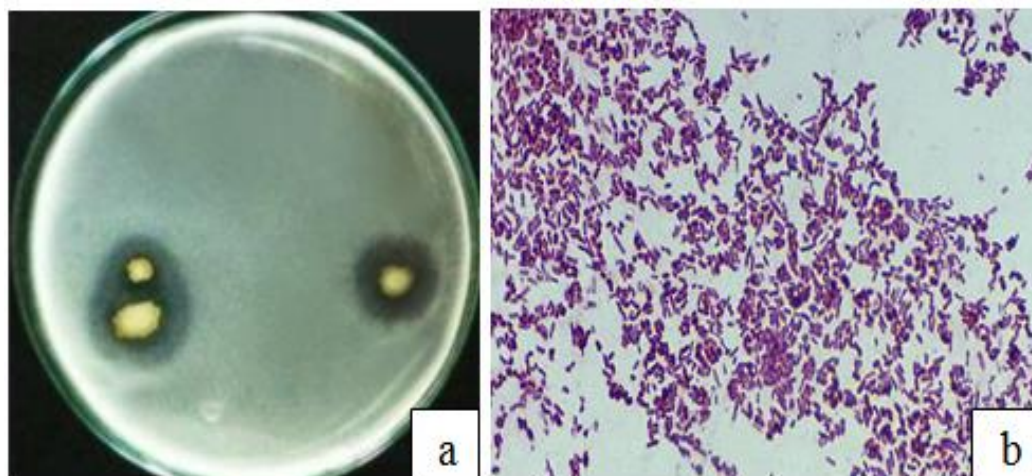
Kết quả ở bảng 4 cho thấy, dựa trên kích thước vòng phân giải phospho thì ở thời điểm 48 giờ nuôi cấy thì hoạt tính của 2 chủng PSM₁, PSM₆ là cao nhất và không có sự khác biệt về mặt thống kê. Ở thời điểm 96 giờ, xét về mặt thống kê, hoạt tính của chủng PSM₆ là cao nhất và khác biệt so với các chủng còn lại. Ở thời điểm 144 giờ thì hoạt tính của 2 chủng PSM₆ và PSM₁₂ là cao nhất và không có sự khác biệt về mặt thống kê. Ở thời điểm 192 giờ thì hoạt tính của PSM₁₂ tiếp tục duy trì ở mức cao nhất. Ở thời điểm 240 giờ thì hoạt tính

của các chủng PSM₅ là cao nhất và có ý nghĩa về mặt thống kê so với các chủng còn lại. Trong suốt thời gian khảo sát hoạt tính của các chủng vi khuẩn tăng dần và đạt hoạt tính cao nhất ở thời điểm từ 192 giờ đến 240 giờ và hầu hết hoạt tính bắt đầu giảm từ thời điểm 288 giờ, riêng chủng vi khuẩn PSM₁₂ có hoạt tính bắt đầu giảm từ 240 giờ. Quy luật sinh trưởng của các chủng vi khuẩn này hoàn toàn tuân theo quy luật sinh trưởng chung của vi sinh vật như được đề cập tới trong tài liệu của [8]. So sánh kết quả đánh giá hoạt tính dựa trên kích thước vòng phân giải phospho trên môi trường nuôi cấy giữa các chủng vi khuẩn thì chủng vi khuẩn PSM₅ có hoạt tính cao nhất với kích thước vòng phân giải phospho là 12,4 mm ở thời điểm 240 giờ.

Bảng 4: Kích thước vòng phân giải của các chủng vi khuẩn phân giải lân phân lập được từ đất trồng ngô ở Xuân Lộc theo thời gian

STT	Chủng vi khuẩn	Đường kính vòng phân giải lân D - d (mm)					
		48 giờ	96 giờ	144 giờ	192 giờ	240 giờ	288 giờ
1	PSM ₁	3,8 ^a ± 0,63	3,9 ^{cd} ± 0,14	3,8 ^{cd} ± 0,29	5,0 ^{cd} ± 1,00	5,2^{de} ± 0,80	6,1 ^{de} ± 0,58
2	PSM ₂	1,0 ^e ± 0,00	1,2 ^g ± 0,29	1,8 ^{de} ± 0,25	2,5^{cd} ± 0,5	2,5^{ef} ± 0,5	2,1 ^f ± 0,52
3	PSM ₃	2,5 ^b ± 0,5	5,1 ^{bc} ± 1,12	7,3 ^{ab} ± 1,77	10,3 ^a ± 1,89	10,6^{ab} ± 1,88	11,2 ^{ab} ± 1,51
4	PSM ₄	1,5 ^{cde} ± 0,00	2,9 ^{de} ± 0,14	2,8 ^{cde} ± 0,29	3,0^{cd} ± 0,00	3,0^{ef} ± 0,25	2,4 ^{ef} ± 0,43
5	PSM ₅	2,4 ^{bc} ± 0,14	5,3 ^b ± 0,47	7 ^{ab} ± 1,75	11,1 ^a ± 1,01	12,4^a ± 1,18	11,5 ^a ± 1,32
6	PSM ₆	3,9 ^a ± 0,52	6,7 ^a ± 0,29	8,3 ^a ± 1,04	9,9 ^a ± 1,13	11^{ab} ± 1,00	10,1 ^{ab} ± 1,42
7	PSM ₇	1,2 ^{de} ± 0,29	1,3 ^{fg} ± 0,29	1,5 ^e ± 0,29	2,0 ^d ± 0,5	2,0^f ± 0,5	1,8 ^f ± 0,66
8	PSM ₈	1,5 ^{cde} ± 0,00	2,3 ^{efg} ± 0,29	4,0 ^{cd} ± 0,5	5,5 ^{bc} ± 0,87	7,0^{cd} ± 0,00	6,8 ^{cd} ± 0,38
9	PSM ₉	1,2 ^{de} ± 0,29	1,5 ^{fg} ± 0,5	1,8 ^{de} ± 0,29	3,6^{cd} ± 0,38	3,6^{ef} ± 0,38	2,9 ^{ef} ± 0,43
10	PSM ₁₀	2,0 ^{bcd} ± 0,5	3,3 ^{de} ± 0,52	4,8 ^{bc} ± 0,38	9,4 ^a ± 2,13	11^{ab} ± 2,00	10,7 ^{ab} ± 2,01
11	PSM ₁₁	2,1 ^{bcd} ± 0,14	3,4 ^{de} ± 0,14	7,3 ^{ab} ± 0,29	9,3 ^a ± 1,16	10^{abc} ± 1,32	9,4 ^{abc} ± 1,18
12	PSM ₁₂	2,1 ^{bcd} ± 0,29	5,2 ^{bc} ± 0,29	7,7 ^a ± 0,88	10,5^a ± 0,5	10 ^{abc} ± 0,5	10,1 ^{ab} ± 0,38
13	PSM ₁₃	0,9 ^e ± 0,13	2,6 ^{def} ± 0,38	4,8 ^{bc} ± 0,63	8,3 ^{ab} ± 0,29	8,7^{bc} ± 0,29	7,8 ^{bcd} ± 0,14

Các giá trị trung bình của của cùng một cột theo sau bởi chữ cái giống nhau không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 5%. Trong đó, D là đường kính vòng phân giải (mm), d là đường kính khuẩn lạc vi khuẩn (mm).



Hình 2: Hình thái khuẩn lạc (a) và tế bào (b) của chủng vi khuẩn PSM₅

3.3.2. Kết quả định tính khả năng phân giải lân khó tan của các chủng vi khuẩn đã phân lập được từ mẫu đất trồng đậu bắp ở Xuân Lộc

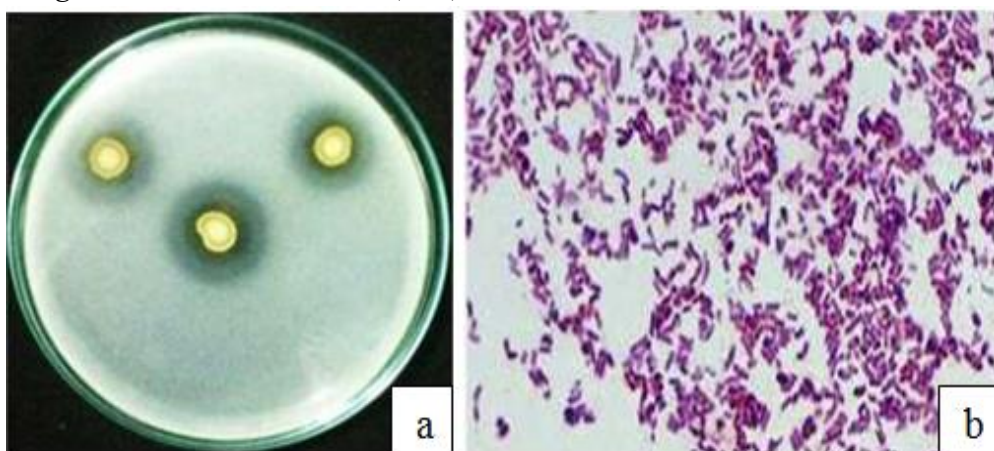
Qua bảng 5 cho thấy, ở thời điểm 48 giờ và 96 giờ nuôi cấy thì hoạt tính chủng PSM₃₀ là cao nhất và khác biệt so với các chủng còn lại có ý nghĩa về mặt thống kê. Ở thời điểm 144 giờ thì hoạt tính của 8 chủng PSM₁₅, PSM₂₃, PSM₂₅, PSM₂₇, PSM₂₉, PSM₃₁, PSM₃₂, PSM₃₅ có hoạt tính cao và không có sự khác biệt về mặt thống kê. Ở thời điểm 192 giờ thì hoạt tính của chủng PSM₁₅ là cao nhất và có ý nghĩa về mặt thống kê so với các chủng còn lại. Ở thời điểm 240 giờ, 288 giờ thì hoạt tính của chủng PSM₁₅ đạt cao nhất và có sự khác biệt

có ý nghĩa về mặt thống kê so với các chủng vi khuẩn còn lại. Trong suốt thời gian khảo sát hoạt tính của các chủng vi khuẩn tăng dần và đạt hoạt tính cao nhất ở thời điểm từ 192 giờ đến 240 giờ và hầu hết hoạt tính bắt đầu giảm từ thời điểm 288 giờ, riêng chủng vi khuẩn PSM₂₅, PSM₃₀ có hoạt tính bắt đầu giảm từ 240 giờ, điều này hoàn toàn tuân theo quy luật sinh trưởng chung của vi sinh vật như được đề cập tới trong tài liệu của [8]. So sánh kết quả đánh giá hoạt tính dựa trên kích thước vòng phân giải phospho trên môi trường nuôi cấy giữa các chủng vi khuẩn thì chủng vi khuẩn PSM₁₅ có hoạt tính cao nhất với kích thước vòng phân giải phospho là 11,3 mm ở thời điểm 240 giờ.

Bảng 5: Kích thước vòng phân giải của các chủng vi khuẩn phân giải lân phân lập được từ đất trồng đậu bắp ở Xuân Lộc theo thời gian

STT	Chủng vi khuẩn	Đường kính vòng phân giải lân D – d (mm)					
		48 giờ	96 giờ	144 giờ	192 giờ	240 giờ	288 giờ
1	PSM ₁₄	0,5 ^k ± 0,00	0,5 ^g ± 0,00	0,5 ^d ± 0,00	0,5 ^f ± 0,00	1,0^d ± 0,00	1,0 ^c ± 0,14
2	PSM ₁₅	2,3 ^{cdefg} ± 0,25	4,3 ^{bcd} ± 0,76	8,2 ^a ± 1,26	10,3 ^a ± 1,30	11,3^a ± 2,36	10,8 ^a ± 2,04
3	PSM ₁₆	1,2 ^{hijk} ± 0,29	1,2 ^{fg} ± 0,29	1,5 ^{cd} ± 0,00	1,8^{ef} ± 0,29	1,8^d ± 0,25	1,7 ^c ± 0,29
4	PSM ₁₇	1,0 ^{jk} ± 0,5	1,0 ^{fg} ± 0,5	1,3 ^{cd} ± 0,29	2^{ef} ± 0,00	2,0^d ± 0,43	1,8 ^c ± 0,66
5	PSM ₁₈	2,2 ^{defg} ± 0,29	2,9 ^{def} ± 0,14	3,8 ^{bc} ± 0,00	5,3 ^{cde} ± 1,4	6,9^b ± 0,14	6,7 ^b ± 0,14
6	PSM ₁₉	1,9 ^{efghi} ± 0,14	4,4 ^{bcd} ± 1,38	6,5 ^{ab} ± 2,00	7,2 ^{abc} ± 2,98	9,4^{ab} ± 2,02	9,2 ^{ab} ± 2,02
7	PSM ₂₀	1,5 ^{ghij} ± 0,00	1,8 ^{efg} ± 0,29	2,3 ^{cd} ± 0,29	3,2^{def} ± 0,76	3,2^{cd} ± 0,29	3,2 ^c ± 0,29
8	PSM ₂₁	2 ^{defgh} ± 0,00	3,8 ^{cde} ± 1,04	5,8 ^{ab} ± 1,28	7,6^{abc} ± 2,04	7,6^b ± 1,38	7,5 ^{ab} ± 1,16
9	PSM ₂₂	2 ^{defg} ± 0,38	3,7 ^{cde} ± 1,26	6,5 ^{ab} ± 0,5	6,6 ^{abcd} ± 1,13	6,7^b ± 1,04	6,7 ^b ± 1,32
10	PSM ₂₃	1,8 ^{efghij} ± 0,25	5,3 ^{abc} ± 0,76	8,1 ^a ± 1,81	8,3^{abc} ± 2,25	8,3^{ab} ± 1,82	8,1 ^{ab} ± 1,67
11	PSM ₂₄	3,1 ^{abc} ± 0,14	4,3 ^{bcd} ± 0,29	6,4 ^{ab} ± 0,52	7,0 ^{abc} ± 0,5	7,5^b ± 0,5	7,3 ^{ab} ± 0,66
12	PSM ₂₅	2,7 ^{abcde} ± 0,58	6,2 ^{ab} ± 0,56	7,5 ^a ± 0,5	9,0^{ab} ± 1,00	8,9 ^{ab} ± 0,88	8,7 ^{ab} ± 0,76
13	PSM ₂₆	2 ^{defgh} ± 0,00	4,5 ^{bcd} ± 0,5	6,0 ^{ab} ± 0,00	6,8 ^{abcd} ± 0,43	7,2^b ± 0,63	6,9 ^b ± 0,88
14	PSM ₂₇	1,9 ^{efghi} ± 0,14	4,5 ^{bcd} ± 0,5	7,1 ^a ± 0,52	7,7 ^{abc} ± 0,29	7,9^b ± 0,38	7,7 ^{ab} ± 0,38
15	PSM ₂₈	1,5 ^{ghij} ± 0,00	3,8 ^{cde} ± 0,29	5,7 ^{ab} ± 0,58	6,4 ^{bcd} ± 0,55	6,5^{bc} ± 1,50	6,5 ^b ± 1,40
16	PSM ₂₉	2 ^{defgh} ± 0,00	4,2 ^{bcd} ± 0,58	7,3 ^a ± 0,76	9,3 ^{ab} ± 0,25	9,7^{ab} ± 0,38	9,7 ^{ab} ± 0,25
17	PSM ₃₀	1 ^{jk} ± 0,00	1,3 ^{fg} ± 0,29	1,7 ^{cd} ± 0,29	2,4^{ef} ± 0,14	2,3 ^d ± 0,25	2,3 ^c ± 0,14
18	PSM ₃₁	3,4 ^a ± 0,38	7,0 ^a ± 0,00	8,3 ^a ± 1,16	8,5 ^{abc} ± 1,40	8,6^{ab} ± 1,51	8,5 ^{ab} ± 1,50
19	PSM ₃₂	2,5 ^{bcd} ± 0,43	5,7 ^{abc} ± 0,29	7,6 ^a ± 0,38	9,3^{ab} ± 1,61	9,3^{ab} ± 1,67	9,1 ^{ab} ± 1,61
20	PSM ₃₃	1,1 ^{ijk} ± 0,14	1,3 ^{fg} ± 0,29	1,3 ^{cd} ± 0,58	2^{ef} ± 0,00	2^d ± 0,25	2,0 ^c ± 0,38
21	PSM ₃₄	2,8 ^{abcd} ± 0,29	5,2 ^{abc} ± 0,29	7,7 ^a ± 0,52	8,3^{abc} ± 0,43	8,3^{ab} ± 0,29	8,1 ^{ab} ± 0,38
22	PSM ₃₅	3,3 ^{ab} ± 0,29	4,4 ^{bcd} ± 1,59	5,5 ^{ab} ± 2,65	8,0 ^{abc} ± 0,87	8,1^{ab} ± 0,76	8,0 ^{ab} ± 0,75

Các giá trị trung bình của của cùng một cột theo sau bởi chữ cái giống nhau không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 5%. Trong đó, D là đường kính vòng phân giải (mm), d là đường kính khuẩn lạc vi khuẩn (mm).

**Hình 3:** Hình thái khuẩn lạc (a) và tế bào (b) của chủng vi khuẩn PSM₁₅

4. Kết luận

Đã phân lập và tuyển chọn được 35 chủng vi khuẩn có khả năng phân giải lân khó tan từ đất ở vùng rẫy xung quanh cây ngô và đậu bắp trồng tại huyện Xuân Lộc, tỉnh Đồng Nai. Trong 35 chủng vi khuẩn phân lập được có 31 chủng vi khuẩn Gram dương, 4 chủng vi khuẩn Gram âm; 28 chủng là trực khuẩn, 7 chủng là cầu khuẩn.

Chủng vi khuẩn PSM₅ có hoạt tính cao nhất với kích thước vòng phân giải

phospho trên môi trường nuôi cấy là 12,4mm khi so sánh hoạt tính dựa trên kích thước vòng phân giải phospho giữa các chủng vi khuẩn phân lập được từ các mẫu đất xung quanh vùng rẫy cây ngô.

Chủng vi khuẩn PSM₁₅ có hoạt tính cao nhất với kích thước vòng phân giải phospho trên môi trường nuôi cấy là 11,3mm khi so sánh hoạt tính dựa trên kích thước vòng phân giải phospho giữa các chủng vi khuẩn phân lập được từ các mẫu đất xung quanh vùng rẫy cây đậu bắp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Khan, M. S., Zaidi, A., Ahemad, M., Oves, M., & Wani, P. A. (2010), "Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi—current perspective", *Archives of Agronomy and Soil Science*, 56(1), 73-98
2. Rengel, Z., & Marschner, P. (2005), "Nutrient availability and management in the rhizosphere: exploiting genotypic differences", *New Phytologist*, 168(2), 305-312
3. Fatima, f., pathak, n., bajpai, p., & verma, s. R. (2014), "Phosphate solubilizing plant growth promoting microbes", *International Journal Of Advanced Biotechnology And Bioinformatics*, 3(1), 6-12
4. Richardson, A. E. (2001), "Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants", *Functional Plant Biology*, 28(9), 897-906
5. Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., & Gobi, T. A. (2013), "Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils", *SpringerPlus*, 2(1), 587
6. Hu, X., Chen, J., & Guo, J. (2006), "Two phosphate-and potassium-solubilizing bacteria isolated from Tianmu Mountain, Zhejiang, China", *World journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(9), 983-990
7. Nguyễn Thị Thanh Mai, Chu Đức Hà, Phạm Phương Thu và Nguyễn Văn Giang (2018), "Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn phân giải lân, kali khó tan từ đất trồng cà phê tại khu vực Tây Nguyên", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 60(5), 34
8. Nguyễn Thành Đạt (2011), *Cơ sở sinh học vi sinh vật*, Nhà xuất bản Đại học Sư phạm, Hà Nội

**ISOLATION, SELECTION OF INSOLUBLE INORGANIC
PHOSPHATE SOLUBILIZING BACTERIA FROM SOIL
OF XUAN LOC DISTRICT, DONG NAI PROVINCE**

ABSTRACT

The aim of this study is to isolate and select some bacterial strains that are capable of solubilizing insoluble inorganic phosphorus from soil for using in agricultural production, contributing to the improvement of crop productivity. From some soil samples around maize and okra root areas in Xuan Loc, 35 phosphate solubilising bacterial strains were isolated, including 31 Gram-positive bacteria, 4 Gram-negative bacteria; 28 bacilli, 7 coccus. Comparison of the results of the qualitative method based on the dissolvable phosphorus ring size of cultured bacterial isolates from soil samples around the maize root zones showed that PSM₅ strain was determined to exhibit the highest phosphate solubilisation with dissolvable phosphorus ring size of 12.4mm. Similarly, comparison of the dissolvable phosphorus ring size of cultured bacterial isolates from soil samples around the okra root zones found that PSM₁₅ strains have highest activity with dissolvable phosphorus ring size of 11.3mm.

Keywords: *Insoluble inorganic phosphate, phosphate solubilization, isolation, bacteria*

(Received: 26/11/2018, Revised: 3/12/2018, Accepted for publication: 24/12/2018)