

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC ĐÀ NẴNG**

NGUYỄN KIM ANH

**NGHIÊN CỨU SỰ PHÂN BỐ VÀ ỨNG DỤNG
CỦA MỘT SỐ CHỦNG VI KHUẨN *AZOTOBACTER* TRONG
ĐIỀU KIỆN SINH THÁI ĐẤT TRỒNG LÚA TẠI
XÃ HÒA NHƠN, HÒA LIÊN - HÒA VANG - ĐÀ NẴNG**

**Chuyên ngành : Sinh thái học
Mã số : 60.42.60**

TÓM TẮT LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC

Đà Nẵng, 2012

**Công trình được hoàn thành tại
ĐẠI HỌC ĐÀ NẴNG**

Người hướng dẫn khoa học: TS. ĐỖ THU HÀ

Phản biện 1: TS. Đặng Đức Long

Phản biện 2: TS. Huỳnh Thị Kim Cúc

Luận văn đã được bảo vệ tại Hội đồng chấm luận văn tốt nghiệp Thạc sĩ Khoa học, họp tại Đại học Đà Nẵng ngày 15 tháng 12 năm 2012.

Có thể tìm hiểu luận văn tại:

- Trung tâm Thông tin - Học liệu, Đại học Đà Nẵng
- Thư viện Trường Đại học Sư Phạm, Đại học Đà Nẵng.

MỞ ĐẦU

1. Lí do chọn đề tài

Ở Việt Nam, việc sử dụng vi khuẩn (VK) cố định đạm để chủ động làm giàu nitơ cho đất đã trở thành phổ biến và trên quy mô công nghiệp. Một số những chế phẩm chứa vi khuẩn cố định đạm được bà con nông dân sử dụng rộng rãi như: Azotobacterin, Nitragin... Muốn sản xuất được những chế phẩm VSV cố định đạm tốt phải có các chủng VK có cường độ cố định nitơ cao, sức cạnh tranh lớn, thích ứng ở pH rộng và thích nghi được với điều kiện sinh thái ở đại phương.

Azotobacter là một loại vi khuẩn (VK) hiếu khí, sống tự do trong đất, có khả năng cố định đạm cao và không phụ thuộc vào cây chủ. *Azotobacter* phân bố nhiều trong đất trồng, đặc biệt là đất trồng lúa. Ngoài đặc điểm trên thì một số chủng thuộc chi này còn có khả năng sinh tổng hợp IAA (chất kích thích sinh trưởng ở thực vật). Nhờ đặc điểm quan trọng đó VK *Azotobacter* được ứng dụng rộng rãi trong các chế phẩm VSV, làm tăng năng suất cây trồng.

Xuất phát từ lý do trên, chúng tôi chọn đề tài “***Nghiên cứu sự phân bố và ứng dụng của một số chủng vi khuẩn Azotobacter trong điều kiện sinh thái đất trồng lúa tại xã Hòa Nhơn, Hòa Liên - Hòa Vang - Đà Nẵng***”. Từ đó làm cơ sở khoa học cho việc lựa chọn và ứng dụng các chủng VK *Azotobacter* có khả năng cố định đạm cao và sinh tổng hợp IAA trong điều kiện sinh thái tại địa phương.

2. Mục đích nghiên cứu

Nghiên cứu sự phân bố và ứng dụng của một số chủng VK *Azotobacter* trong đất trồng lúa tại các xã Hòa Liên, Hòa Nhơn - huyện Hòa Vang - TP ĐN. Từ đó có cơ sở khoa học để chọn ra một

số chủng VK *Azotobacter* có hoạt tính sinh học cao và thích nghi được với điều kiện sinh thái ở địa phương để đưa vào ứng dụng thử nghiệm một cách hợp lí.

3. Nội dung nghiên cứu

- Nghiên cứu sự phân bố của các chủng VK *Azotobacter* trong đất trồng lúa theo thành phần cơ giới, pH và độ ẩm đất tại các xã Hòa Liên, Hòa Nhơn- Hòa Vang - TP ĐN.

- Tuyển chọn các chủng vi khuẩn *Azotobacter* có khả năng cố định đạm mạnh và sinh tổng hợp IAA (*Indol Axetic Acid*) cao.

- Thử nghiệm ứng dụng dịch nuôi cấy các chủng vi khuẩn *Azotobacter* có khả năng cố định đạm mạnh và sinh tổng hợp IAA cao để trồng lúa trong điều kiện sinh thái ở địa phương.

4. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài

a. Ý nghĩa khoa học

- Cung cấp những dẫn liệu ban đầu về sự phân bố của một số chủng VK *Azotobacter* trong đất trồng lúa khu vực Hòa Vang – TP ĐN. Đây là cơ sở khoa học để phân lập, tuyển chọn các chủng VK *Azotobacter* và đưa vào ứng dụng trong điều kiện sinh thái tại địa phương.

b. Ý nghĩa thực tiễn

- Thử nghiệm ứng dụng dịch nuôi cấy của các chủng VK *Azotobacter* có khả năng cố định đạm mạnh và sinh tổng hợp IAA làm tăng năng suất cây trồng. Đây là cơ sở khoa học ứng dụng các chủng này làm chế phẩm VSV cố định đạm, làm giàu đạm cho đất trồng lúa tại địa phương.

5. Cấu trúc đề tài

Luận văn có 89 trang, bao gồm 3 chương, với bố cục:

Phần mở đầu 3 trang

Chương 1. Tổng quan tài liệu 24 trang

Chương 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu 14 trang

Chương 3. Kết quả và biện luận 40 trang

Kết luận và kiến nghị 3 trang

Tài liệu tham khảo 5 trang

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. MỘT VÀI ĐẶC ĐIỂM VỀ ĐỊA HÌNH, ĐẤT ĐAI, KHÍ HẬU CỦA XÃ HÒA NHƠN, HÒA LIÊN - HÒA VANG - TP. ĐÀ NẴNG

Nhìn chung thời tiết và khí hậu của 2 xã thuận lợi cho phát triển nông nghiệp, đặc biệt là thâm canh lúa nước. Tuy nhiên, chế độ mưa và nắng theo mùa, lượng mưa giữa các mùa chênh lệch lớn nên dễ gây khô hạn về mùa khô và ngập lụt về mùa mưa.

1.2. SỰ PHÂN BỐ CỦA VI SINH VẬT TRONG ĐẤT

Đất là môi trường sống thích hợp nhất đối với VSV, trong đất có đầy đủ những điều kiện tối thiểu cho VSV tồn tại và phát triển. Sự phân bố của VSV trong đất có thể thay đổi theo độ sâu, theo đặc điểm và tính chất của đất, theo cây trồng. Thành phần và số lượng VSV trên mỗi loại đất khác nhau thì khác nhau.

1.3. QUÁ TRÌNH CỐ ĐỊNH NITƠ PHÂN TỬ VÀ VK CỐ ĐỊNH ĐẠM *AZOTOBACTER*

1.3.1. Sơ lược về nitơ và vai trò của quá trình cố định nitơ

Nitơ là nguyên tố dinh dưỡng quan trọng không thể thiếu được không chỉ đối với cây trồng, mà ngay cả đối với VSV. Nhưng tất cả nguồn nitơ trên cây trồng đều không tự đồng hóa được, mà phải nhờ VSV. Thông qua các hoạt động sống của các loài VSV, nitơ nằm trong các dạng khác nhau được chuyển hóa thành dạng dễ tiêu cho cây trồng sử dụng.

1.3.2. Cơ chế của quá trình cố định nitơ

Có 2 con đường chủ yếu để cố định nitơ phân tử: con đường

oxi hoá và con đường khử.

Quá trình cố định nitơ được xúc tác bởi hệ enzym nitrogenaza. Nitrogenaza là một loại protein phức hợp gồm 2 thành phần:

- Đơn phân protein chứa sắt (phần nitrogen khử) gọi là đơn phân 1. Gồm 2 tiểu phần giống nhau, mỗi tiểu phần có khối lượng 29.000, ở giữa có 4 nguyên tử sắt và 4 nguyên tử lưu huỳnh.

- Đơn phân protein lớn hơn chứa sắt và molipden có khối lượng 220.000 gồm phân tử Mo và 28 - 34 phân tử sắt, gọi là đơn phân 2.

Nitrogenaza dễ bất hoạt trong môi trường hiếu khí và nhiệt độ thấp. Phản ứng cố định nitơ nhờ nitrogenaza diễn ra ở nhiệt độ bình thường và áp suất khí quyển nhưng nó cần rất nhiều năng lượng của tế bào: cần 147,2 Kcal trong điều kiện kị khí để cố định được 2 phân tử NH_3 . Hệ số cố định nitơ giảm khi có oxy khí quyển hoặc sự có mặt của các hợp chất chứa nitơ.

1.3.3. VK *Azotobacter* có khả năng cố định đạm hiếu khí sống tự do trong đất

Azotobacter là vi khuẩn cố định nitơ sống tự do trong đất, hiếu khí, không có bào tử. Chúng đã được phân lập và nuôi cấy thuần khiết từ năm 1901 do nhà VSV Hà Lan Beijerinck. Theo Becking (1947) thì VK cố định nitơ thuộc chi *Azotobacter* có 4 loài: *A. chroococcum*; *A. Beijerinckii*; *A. vinelandii*; *A. agilis*.

1.4. GIỚI THIỆU SƠ LƯỢC VỀ CÂY LÚA

1.4.1. Đặc điểm sinh học

Cây lúa (*Oryza sativa* L.) thuộc họ Lúa (*Poaceae*), rễ lúa thuộc loại rễ chùm. Thân lúa bao gồm thân giả và thân thật, nhánh lúa mọc lên từ thân cây mẹ; nhánh lúa có đủ rễ, thân, lá và có thể sống độc lập, trở bông kết hạt bình thường như cây mẹ. Lá lúa thuộc

loại lá của lớp Một lá mầm - mọc ở hai bên thân cây, mỗi vòng thân có hai lá và có công thức lá là $\frac{1}{2}$.

1.4.2. Sơ lược đời sống cây lúa

Đời sống cây lúa thường kéo dài 3-6 tháng, từ lúc nảy mầm cho đến khi chín, phụ thuộc vào giống (ngắn ngày, dài ngày), phụ thuộc vào vụ lúa chiêm xuân hay mùa tùy theo vụ cấy sớm muộn khác nhau.

1.4.3. Phân bón và bón phân cho lúa

Phân bón cho lúa chứa những chất dinh dưỡng quan trọng cần thiết cho cây lúa phát triển, các loại dinh dưỡng này cần phải thường xuyên bổ sung cho cây lúa. Có hai cách bón phân cho cây lúa: bón vào đất và phun lên lá.

1.4.4. Giá trị dinh dưỡng và giá trị kinh tế

- Gạo là thức ăn giàu dinh dưỡng. So với lúa mì, gạo có thành phần tinh bột và protein thấp hơn nhưng năng lượng lại nhiều hơn do hàm lượng chất béo cao hơn.

- Trên thị trường thế giới, giá trị xuất khẩu của lúa gạo tính trên đơn vị trọng lượng cao nhất so với các loại ngũ cốc khác. Về giá xuất khẩu thì lúa gạo gấp 2-4 lần so với lúa mì và 3-5 lần so với bắp.

CHƯƠNG 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

- Các chủng vi khuẩn *Azotobacter* được phân lập từ đất trồng lúa tại xã Hòa Nhơn, Hòa Liên - Hòa Vang - TP ĐN

- Nghiên cứu ứng dụng trên cây lúa (*Oryza sativa L*)

2.2. ĐỊA ĐIỂM VÀ THỜI GIAN NGHIÊN CỨU

2.2.1. Địa điểm lấy mẫu

Một số mẫu đất thịt trồng lúa các loại được lấy từ các địa điểm khác nhau tại các thôn (Phước Hưng, Phước Thuận, Thạch Nham) thuộc xã Hòa Nhơn và các thôn (Quan Nam 3, Tân Ninh, Trường Định) thuộc xã Hòa Liên - Hòa Vang - TP ĐN

2.2.2. Địa điểm nghiên cứu

2.2.3. Phạm vi và thời gian nghiên cứu

a. Phạm vi nghiên cứu

- Do thời gian nghiên cứu có hạn, nên chúng tôi chỉ tiến hành nghiên cứu trên 3 thôn (Phước Hưng, Phước Thuận, Thạch Nham) của xã Hòa Nhơn và 3 thôn (Quan Nam 3, Trường Định, Tân Ninh) thuộc xã Hòa Liên vì các thôn này có cơ cấu cây trồng chủ yếu là lúa nước.

b. Thời gian nghiên cứu

Thời gian thực hiện từ tháng 9/2011 – 05/2012.

2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.3.1. Phương pháp thu mẫu ngoài thực địa

2.3.2. Phương pháp phân lập, đếm số lượng và thuần khiết

vi khuẩn *Azotobacter*

a. Phương pháp phân lập

Sử dụng phương pháp cấy cục đất vào hộp lồng có chứa MT AT, cho vào tủ ẩm ở nhiệt độ 28 - 30°C, nuôi trong thời gian 5 - 7 ngày cho mọc thành khuẩn lạc.

b. Xác định số lượng vi khuẩn *Azotobacter* trong 1 gam đất

c. Phương pháp thuần khiết VK *Azotobacter*

2.3.3. Phương pháp giữ giống vi khuẩn *Azotobacter*

Để bảo quản chủng giống cho những nghiên cứu tiếp theo, chúng tôi cấy truyền định kì trên môi trường thạch nghiêng, MT AT đối với VK *Azotobacter*. Để ở tủ ẩm 28°C, thời gian nuôi cấy từ 5 – 7 ngày. Sau đó bảo quản ở 4°C, mỗi tháng cấy truyền một lần [8], [30].

2.3.4. Xác định nitơ tổng số trong dịch nuôi cấy các chủng VK tuyển chọn theo phương pháp Kjedahl (Kjedahl)

a. Tiến hành

+ *Bước 1:* Ly tâm 500 vòng/phút dịch nuôi cấy các chủng VK nghiên cứu. Lấy 5ml dịch trong cho vào ống nghiệm, cho mẫu vào tận đáy của ống Kjedahl.

+ *Bước 2:* *Chưng cất mẫu*

+ *Bước 3:* *chuẩn độ và áp dụng công thức tính suy ra % N tổng.*

b. Nguyên tắc

2.3.5. Phương pháp xác định sự có mặt của IAA (Indol Axetic Acid) trong dịch nuôi cấy của các chủng VK tuyển chọn

- Nuôi cấy lác các chủng VK nghiên cứu trên MT dịch thể nước mắm - pepton có bổ sung 0,1% tryptophan.

- Xác định khả năng sinh tổng hợp IAA tại thời điểm 5 ngày bằng phương pháp thử phản ứng màu với thuốc thử Salkowski có sự cải tiến của Misk và Kaushik, 1989 [5], [30]

- Thành phần thuốc thử Salkawski:
 - + FeCl_3 0.5M: 15ml.
 - + H_2SO_4 98%: 300ml.
 - + Nước cất: 500ml.
- *Nguyên tắc*: Khi tác dụng với thuốc thử, hỗn hợp phản ứng cho màu hồng nhạt đến đỏ tùy theo hàm lượng IAA có trong dịch nuôi cấy [49], [50].

2.3.6. Phương pháp nghiên cứu đặc điểm nuôi cấy và hình thái của các chủng vi khuẩn tuyển chọn.

- Phương pháp nghiên cứu đặc điểm nuôi cấy của các chủng VK tuyển chọn
- Phương pháp nghiên cứu đặc điểm hình thái của các chủng VK tuyển chọn

2.3.7. Phương pháp nhuộm Gram (phương pháp Hucker cải tiến)

2.3.8. Phương pháp nghiên cứu thành phần cơ giới và độ ẩm đất

- Thành phần cơ giới đất
- Độ ẩm đất
- Phương pháp xác định N và P tổng số trong đất

2.3.9. Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của dịch nuôi cấy các chủng VK-16 và VK-17 đến sự sinh trưởng của cây lúa (*Oryza sativa* L)

- Tiến hành thí nghiệm trồng lúa trong 12 thùng xốp có kích thước 29 x 30 x 40 cm trên nền đất thịt nặng lấy tại thôn Thạch Nham – Hòa Nhơn – Hòa Vang – Đà Nẵng.

Thí nghiệm được tiến hành theo 4 công thức, mỗi công thức được nhắc lại 3 lần.

+ **Công thức I**: nền phân NPK với tỷ lệ 60 : 40 : 30 + MT dịch thể AT không nhiễm VK cố định đạm và sinh tổng hợp IAA.

+ **Công thức II**: nền phân NPK với tỷ lệ 30 : 40 : 30 + dịch nuôi cấy các chủng VK-16 và VK-17.

+ **Công thức III**: nền phân NPK với tỷ lệ 0 : 40 : 30 + dịch nuôi cấy các chủng VK-16 và VK-17

+ **Công thức IV**: nền phân NPK với tỷ lệ 0 : 40 : 30 + phân hữu cơ vi sinh sông Gianh + MT dịch thể AT không nhiễm VK cố định đạm và sinh tổng hợp IAA.

- *Thời gian bón phân*: Phân N.P.K bón vào đất theo lịch bón đối với lúa xuân

+ Bón lót: 1/3 phân N + Toàn bộ phân P

+ Bón thúc đẻ nhánh (18 ngày tuổi): 1/3 phân N + 1/2 phân K

+ Bón thúc đón đòng (60 ngày tuổi): 1/3 phân N + 1/2 phân K

2.3.10. Phương pháp xử lý số liệu

CHƯƠNG 3

KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN

3.1. SỰ PHÂN BỐ CỦA VI KHUẨN *AZOTOBACTER* TRONG ĐẤT TRỒNG LÚA TẠI XÃ HÒA NHON, HÒA LIÊN - HÒA VANG – TP ĐN

3.1.1. Sự phân bố của VK *Azotobacter* theo thành phần cơ giới đất trồng lúa

Bảng 3.1. Số lượng VK *Azotobacter* phân bố theo thành phần cơ giới đất trồng lúa tại xã Hòa Nhon, Hòa Liên – Hòa Vang – TP ĐN

Loại đất	Địa điểm lấy mẫu	N tổng số (%)	P tổng số (%)	Số lượng VK <i>Azotobacter</i> (10^5 CFU/g)
Thịt nhẹ	Phước Hưng	0,18	0,019	0,525
	Phước Thuận	0,21	0,02	0,429
	Thạch Nham	0,15	0,022	0,549
	<i>Trung bình</i>	<i>0,18</i>	<i>0,02</i>	<i>0,501</i>
Thịt trung bình	Phước Hưng	0,18	0,021	0,586
	Phước Thuận	0,22	0,028	0,502
	Thạch Nham	0,20	0,022	0,528
	<i>Trung bình</i>	<i>0,20</i>	<i>0,027</i>	<i>0,539</i>
Thịt nặng	Phước Hưng	0,22	0,032	0,644
	Phước Thuận	0,26	0,028	0,642
	Thạch Nham	0,23	0,027	0,533
	<i>Trung bình</i>	<i>0,24</i>	<i>0,029</i>	<i>0,606</i>
Thịt nhẹ	Quan Nam 3	0,24	0,011	0,386
	Trường Định	0,22	0,013	0,339
	Tân Ninh	0,20	0,020	0,384

	<i>Trung bình</i>	<i>0,22</i>	<i>0,015</i>	<i>0,370</i>
Thịt trung bình	Quan Nam 3	0,20	0,011	0,398
	Trường Định	0,19	0,014	0,46
	Tân Ninh	0,22	0,017	0,411
	<i>Trung bình</i>	<i>0,203</i>	<i>0,014</i>	<i>0,423</i>
Thịt nặng	Quan Nam 3	0,26	0,019	0,522
	Trường Định	0,29	0,021	0,514
	Tân Ninh	0,27	0,022	0,631
	<i>Trung bình</i>	<i>0,27</i>	<i>0,02</i>	<i>0,556</i>

- Đất thịt nặng trồng lúa có số lượng VK *Azotobacter* cao nhất, có trung bình $(0,556 - 0,606) \times 10^5$ CFU/g

- Đất thịt trung bình trồng lúa cũng thích hợp cho sự phát triển của VK *Azotobacter*, có số lượng VK *Azotobacter* tương đối cao nhưng thấp hơn đất thịt nặng, có trung bình $(0,423 - 0,529) \times 10^5$ CFU/g.

- Đất thịt nhẹ trồng lúa có số lượng VK *Azotobacter* thấp nhất, có trung bình $(0,37 - 0,501) \times 10^5$ CFU/g.

- Đất trồng lúa ở xã Hòa Nhon có số lượng VK *Azotobacter* cao hơn so với xã Hòa Liên.

3.1.2. Sự phân bố của VK *Azotobacter* theo nhân tố pH môi trường đất

Bảng 3.2. Số lượng VK *Azotobacter* phân bố theo nhân tố pH đất trồng lúa tại xã Hòa Nhon, Hòa Liên – Hòa Vang – TP ĐN

STT	Loại đất	pH	Số lượng VK <i>Azotobacter</i> ($\times 10^5$ CFU/g)	Số lượng VK <i>Azotobacter</i> TB/g ($\times 10^5$ CFU/g)
1	Thịt nhẹ	5,5	0,102	0,118
2	Thịt TB	5,7	0,108	

3	Thịt nặng	5,7	0,144	0,342
4	Thịt nặng	6,1	0,341	
5	Thịt TB	6,1	0,368	
6	Thịt nặng	6,3	0,318	0,568
7	Thịt nhẹ	6,7	0,550	
8	Thịt TB	6,6	0,468	
9	Thịt nặng	7,0	0,668	0,802
10	Thịt nhẹ	7,3	0,788	
11	Thịt TB	7,1	0,684	
12	Thịt nặng	7,2	0,934	0,647
13	Thịt nhẹ	8,0	0,589	
14	Thịt TB	7,6	0,704	
15	Thịt nặng	7,8	0,648	

.VK *Azotobacter* phân bố ở những vùng đất có pH từ 5,5 - 8,0 và nhạy cảm đối với nhân tố pH của môi trường. Cụ thể:

- VK *Azotobacter* phân bố thấp nhất, có số lượng VK trong 1 g đất thấp nhất ở khoảng pH 5,5-6,0 (đất chua), có trung bình $0,118 \times 10^5$ CFU/g.

- Ở những vùng đất có pH từ 6,1 - 6,5 (đất chua ít) có số lượng VK *Azotobacter* thấp và có số lượng VK trong 1 g đất thấp, có trung bình $0,342 \times 10^5$ CFU/g. Ở những vùng đất có pH từ 6,6 - 7,0 có số lượng VK *Azotobacter* cao hơn so với khoảng pH 6,1-6,5 và khoảng pH từ 5,6 - 6,0, tuy nhiên số lượng này vẫn thấp, có trung bình $0,368 \times 10^5$ CFU/g.

- VK *Azotobater* phân bố nhiều nhất pH khoảng 7,1-7,5, có trung bình $0,802 \times 10^5$ CFU/g.

- Khoảng pH từ 7,6 - 8,0 cũng thích nghi cho sự phát triển của VK *Azotobacter*, số lượng VK *Azotobacter* phân bố tương đối cao, có trung bình $0,547 \times 10^5$ CFU/g, chỉ thấp hơn ở khoảng pH 7,1 - 7,5.

3.1.3. Sự phân bố của VK *Azotobacter* theo nhân tố độ ẩm đất

Bảng 3.3. Số lượng VK *Azotobacter* phân bố theo độ ẩm đất trồng lúa tại xã Hòa Nhơn, Hòa Liên – Hòa Vang – TP ĐN

ST T	Loại đất	Độ ẩm (%)	Số lượng VK <i>Azotobacter</i> ($\times 10^5$ CFU/g)	Số lượng VK <i>Azotobacter</i> TB/g ($\times 10^5$ CFU/g)
1	Thịt nhẹ	40	0,187	0,216
2	Thịt TB	46	0,265	
3	Thịt nặng	49	0,196	
4	Thịt nhẹ	51	0,384	0,487
5	Thịt TB	55	0,511	
6	Thịt nặng	59	0,566	
7	Thịt nhẹ	60	0,762	0,896
8	Thịt TB	64	1,08	
9	Thịt nặng	70	0,846	
10	Thịt nhẹ	71	0,600	0,613
11	Thịt TB	76	0,715	
12	Thịt nặng	79	0,524	

Qua bảng 3.3 ta nhận thấy sự phân bố của VK *Azotobacter* trong đất thịt trồng lúa tại 2 xã chịu ảnh hưởng của nhân tố độ ẩm đất.

Qua nghiên cứu trên chúng tôi nhận thấy VK *Azotobacter* có khả năng phát triển ở biên độ dao động độ ẩm lớn (từ 40 – 80%). Tuy

nhiên, chúng phân bố nhiều nhất ở những vùng đất có độ ẩm thích hợp từ 60 - 80%, khi độ ẩm quá cao hoặc quá thấp cũng ảnh hưởng xấu tới hoạt động sống và làm giảm số lượng CFU/g đất của VK *Azotobacter*.

Tóm lại, các yếu tố của môi trường đất như: thành phần cơ giới đất, nhiệt độ, độ ẩm, thành phần dinh dưỡng, cơ cấu cây trồng và giai đoạn phát triển của cây trồng là những nhân tố sinh thái quan trọng chi phối sự phân bố và phát triển số lượng của VK *Azotobacter* trong đất. Do đó, trong thực tiễn sản xuất muốn ứng dụng các chủng VK *Azotobacter* để nâng cao năng suất của cây trồng cần chú ý tới các nhân tố sinh thái môi trường đất, để tạo điều kiện cho các chủng này sinh trưởng phát triển mạnh, thúc đẩy quá trình cố định nitơ làm giàu đạm cho đất.

3.2. TUYỂN CHỌN CÁC CHỦNG VK AZOTOBACTER CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC

3.2.1. Tuyển chọn các chủng VK *Azotobacter* có hoạt tính cố định đạm

Bảng 3.4. Hàm lượng NH₄⁺ trong dịch nuôi cấy của các chủng VK phân lập

STT	Kí hiệu chủng	Hàm lượng NH ₄ ⁺ (mg/ml)	Mức độ cố định nitơ
1	VK-14	41,230 ± 0,021	Mạnh
2	VK-15	29,765 ± 0,014	Trung bình
3	VK-16	46,345 ± 0,007	Mạnh
4	VK-17	45,808 ± 0,094	Mạnh
5	VK-18	24,765 ± 0,137	Yếu
6	VK-19	39,075 ± 0,032	Trung bình
7	VK-20	39,320 ± 0,034	Trung bình

8	VK-21	39,825 ± 0,040	Trung bình
9	VK-22	14,675 ± 0,167	Yếu
10	VK-23	43,531 ± 0,045	Mạnh
11	VK-32	44,151 ± 0,014	Mạnh
12	VK-33	33,958 ± 0,073	Trung bình
13	VK-34	36,5584 ± 0,131	Trung bình
14	VK-35	32,062 ± 0,128	Trung bình
15	VK-36	44,675 ± 0,146	Mạnh
16	VK-37	42,260 ± 0,056	Mạnh
17	VK-38	18,947 ± 0,024	Yếu

Chú thích:

- Hàm lượng NH₄⁺ < 30 mg/ml : Yếu
- Hàm lượng NH₄⁺ = 30-40 mg/ml : Trung bình
- Hàm lượng NH₄⁺ > 40 mg/ml : Mạnh

Bảng 3.5. Tỷ lệ chủng VK có hoạt tính cố định nitơ (%)

STT	Mức độ cố định nitơ	Số lượng chủng	Tỷ lệ % so với tổng số
1	Mạnh	7	41,2
2	Trung bình	7	41,2
3	Yếu	3	17,6
Tổng cộng		17	100

Có 7/17 chủng có mức độ cố định nitơ mạnh, chiếm tỷ lệ 41,2%; 7/17 chủng có mức độ cố định nitơ trung bình, chiếm tỷ lệ 41,2% và 3/17 chủng có mức độ cố định yếu, tỷ lệ chiếm 17,6%.

3.4.2. Tuyển chọn các chủng VK *Azotobacter* có khả năng cố định đạm mạnh đồng thời sinh tổng hợp IAA

Bảng 3.6. Khả năng sinh tổng hợp IAA của 07 chủng VK *Azotobacter* có khả năng cố định đạm mạnh

STT	Chủng	Phản ứng màu	Khả năng sinh tổng hợp IAA
01	VK-14	Không	Không
02	VK- 16	Hồng	Có
03	VK- 17	Đỏ	Có
04	VK-23	Không	Không
05	VK-24	Không	Không
06	VK-36	Không	Không
07	VK-37	Hồng nhạt	Có

Trong 07 chủng VK *Azotobacter* cố định đạm mạnh, có 03 chủng VK có khả năng sinh tổng hợp IAA (VK-16, VK-17, VK-37), trong đó chủng VK-16 có khả năng cố định đạm cao nhất ($\text{NH}_4^+ = 46,475 \pm 0,032$ mg/ml) nhưng chủng VK-17 cho phản ứng màu với thuốc thử Salkowski mạnh hơn (màu đỏ).

Từ các kết quả nghiên cứu trên, chúng tôi tiếp tục chọn 2 chủng VK-16 và VK-17 là các chủng có khả năng cố định đạm cao đồng thời sinh tổng hợp IAA để làm đối tượng cho các nghiên cứu sau. Trong đó: - Chủng VK-16 có $\text{NH}_4^+ = 46,475 \pm 0,032$ mg/ml, được phân lập từ đất thịt nặng trồng lúa tại thôn Thạch Nham – Hòa Nhơn – Hòa Vang – TP ĐN

- Chủng VK-17 có $\text{NH}_4^+ = 45,808 \pm 0,094$ mg/ml, được phân lập từ đất thịt nặng trồng lúa tại thôn Phước Hưng – xã Hòa Nhơn – Hòa Vang – TP ĐN

3.4.3. Đặc điểm nuôi cấy và đặc điểm hình thái của chủng VK-16 và VK-17 tuyển chọn

Cả 2 chủng VK-16 và VK-17 đều bắt màu Gram âm, sinh trưởng mạnh trên môi trường AT. Chủng VK-16 có khuẩn lạc màu vàng nhạt và tế bào có dạng hình que ngắn. Còn chủng VK-17 có khuẩn lạc màu trắng đục và tế bào có dạng hình cầu.

3.4.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của dịch nuôi cấy các chủng VK-16 và VK-17 tới một số chỉ tiêu sinh trưởng, phát triển của cây lúa

a. Ảnh hưởng của dịch nuôi cấy các chủng VK-16 và VK-17 đến chiều cao của cây lúa

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của dịch nuôi cấy các chủng VK-16 và VK-17 đến chiều cao của cây lúa.

Công thức	Chiều cao cây qua các giai đoạn (cm)		
	Giai đoạn mạ (15 ngày tuổi)	Giai đoạn đẻ nhánh (30 ngày tuổi)	Giai đoạn đón đồng (60 ngày tuổi)
	$\bar{X} \pm m$ (cm)	$\bar{X} \pm m$ (cm)	$\bar{X} \pm m$ (cm)
CT I	12,25 ± 0,3	33,18 ± 0,25	45,1 ± 0,18
CT II	12,18 ± 0,15	32,46 ± 0,3	45,87 ± 0,21
CT III	12,10 ± 0,2	31,26 ± 0,2	41,28 ± 0,25
CT IV	11,98 ± 0,3	31,84 ± 0,25	41,68 ± 0,15

+ **Giai đoạn đẻ nhánh:** Chiều cao cây ở CT1 là cao nhất (đạt $33,18 \pm 0,2$ cm), cao hơn so với CT2 là 0,73cm. Ở giai đoạn này, chiều cao của CT3 và CT4 là tương đương nhưng thấp hơn CT1 và CT2.

+ **Giai đoạn đón đồng:** chiều cao cây ở cả 4 CT đều có sự gia tăng. Trong đó, CT2 cao nhất đạt 45,87 cm tiếp theo là CT1

(45,1cm), CT4 là (41,68cm), thấp nhất là CT3 (41,28cm). Điều này được giải thích do ở CT2 có sự phối hợp của phân đạm hóa học và amoni trong dịch nuôi cấy các chủng VK - 16 và VK-17. Bên cạnh đó các chủng VK tuyển chọn sinh tổng hợp IAA hỗ trợ kích thích phát triển chiều cao của cây lúa, do đó chiều cao ở CT2 là lớn nhất.

b. Ảnh hưởng của dịch nuôi cấy các chủng VK-16 và VK-17 đến diện tích lá của cây lúa

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của dịch nuôi cấy các chủng VK-16 và VK-17 đến diện tích lá của cây lúa

Công thức	Diện tích lá của cây qua các giai đoạn (dm ²)		
	Giai đoạn mạ (15 ngày tuổi)	Giai đoạn đẻ nhánh (30 ngày tuổi)	Giai đoạn đón đồng (60 ngày tuổi)
	$\bar{X} \pm m$ (dm ²)	$\bar{X} \pm m$ (dm ²)	$\bar{X} \pm m$ (dm ²)
CT I	0,056 ± 0,005	0,129 ± 0,006	0,182 ± 0,003
CT II	0,060 ± 0,001	0,134 ± 0,008	0,190 ± 0,004
CT III	0,057 ± 0,004	0,130 ± 0,06	0,184 ± 0,005
CT IV	0,058 ± 0,008	0,127 ± 0,007	0,179 ± 0,007

Qua bảng 3.9 và biểu đồ 3.6 cho thấy: diện tích lá cả 4 công thức ở giai đoạn mạ ít có sự chênh lệch, ở CT1 là 0,056 ± 0,005dm², CT2 là 0,06 ± 0,004 dm², CT3 là 0,057 ± 0,001 dm², CT4 là 0,053 ± 0,008 dm².

Ở giai đoạn đẻ nhánh và đón đồng diện tích lá ở CT2 (bón phối hợp phân đạm và dịch nuôi cấy các chủng VK-16 và VK-17) có diện tích lá

cao hơn các CT còn lại (0,134 dm² vào giai đoạn đẻ nhánh và 0,190 dm² vào giai đoạn đón đồng). Điều này chứng tỏ dịch nuôi cấy các chủng VK *Azotobacter* đã lựa chọn nếu được phối hợp với phân đạm hóa học theo tỷ lệ thích hợp không chỉ có tác dụng thúc đẩy sự phát triển chiều cao cây mà còn kích thích tăng diện tích lá, tạo thể năng quang hợp cao, làm tăng năng suất cây trồng.

c. Ảnh hưởng của dịch nuôi cấy các chủng VK-16 và VK-17 đến sinh khối của cây lúa

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của dịch nuôi cấy các chủng VK-16 và VK-17 đến sinh khối tươi của cây lúa ở các giai đoạn

Công thức	Sinh khối tươi (g/cây)		
	Giai đoạn mạ (15 ngày tuổi)	Giai đoạn đẻ nhánh (30 ngày tuổi)	Giai đoạn đón đồng (60 ngày tuổi)
	$\bar{X} \pm m$ (g)	$\bar{X} \pm m$ (g)	$\bar{X} \pm m$ (g)
CT I	0,48 ± 0,037	15,57 ± 0,52	62,27 ± 0,57
CT II	0,50 ± 0,045	16,97 ± 0,76	62,76 ± 0,49
CT III	0,46 ± 0,024	15,18 ± 0,59	58,59 ± 0,86
CT IV	0,42 ± 0,31	14,41 ± 0,83	59,43 ± 0,67

- **Giai đoạn mạ:** Sinh khối tươi của cây thấp và ít có sự sai khác giữa các công thức thí nghiệm. Do trong giai đoạn này, nhu cầu dinh dưỡng của cây thấp nên hiệu quả của các công thức thí nghiệm chưa thể hiện rõ rệt.

- **Giai đoạn đẻ nhánh và giai đoạn đón đồng:** sinh khối tươi của cây lúa ở các công thức tăng nhanh. Sinh khối của cây tăng

nhanh và cao nhất ở CT2, đạt 16,97g/cây vào giai đoạn đẻ nhánh và 62,76g/cây vào giai đoạn đón đòng.

d. Ảnh hưởng của dịch nuôi cấy các chủng VK-16 và VK-17 đến số nhánh đẻ của cây lúa

Bảng 3.11. Ảnh hưởng của dịch nuôi cấy các chủng VK-16 và VK-17 đến số nhánh đẻ của cây lúa

Công thức	Số lượng nhánh lúa qua các giai đoạn	
	Giai đoạn 30 ngày tuổi	Giai đoạn 45 ngày tuổi
	$\bar{X} \pm m$ (nhánh)	$\bar{X} \pm m$ (nhánh)
CT I	2,7 ± 0,20	6,4 ± 0,07
CT II	3,1 ± 0,30	7,0 ± 0,14
CT III	2,5 ± 0,15	6,2 ± 0,05
CT IV	2,5 ± 0,10	5,8 ± 0,30

Số lượng nhánh ở CT2 đều cao hơn so với các CT còn lại, vượt 10,7% so với CT1 ở giai đoạn 30 ngày tuổi và 9,4% vào giai đoạn 45 ngày tuổi.

Như vậy, các chỉ tiêu sinh lý như chiều cao cây, sinh khối tươi, sinh khối khô, diện tích lá và số nhánh ở CT2 (bón kết hợp phân đạm vô cơ và dịch nuôi cấy các chủng VK-16 và VK-17) đều cao hơn so với CT3 và CT4, tương đương so với CT1 (bón phân đạm vô cơ). Điều này chứng tỏ dịch nuôi cấy các chủng VK tuyển chọn kết hợp với một lượng phân đạm phù hợp làm tăng khả năng sinh trưởng của cây, điều này được thể hiện thông qua các chỉ tiêu: chiều cao, sinh khối, diện tích lá, số nhánh lúa.

3.4.5. Ảnh hưởng của dịch nuôi cấy các chủng VK-16 và VK-17 số hạt/bông và số hạt chắc/bông

Bảng 3.12. Ảnh hưởng của dịch nuôi cấy các chủng VK-16 và VK-17 tới số hạt/bông và số hạt chắc/bông

CT	Số hạt/bông	Số hạt chắc/bông	Tỷ lệ lép
	$\bar{X} \pm m$ (hạt)	$\bar{X} \pm m$ (hạt)	
CT I	106,33 ± 0,83	98,67,33 ± 0,83	9,97
CT II	110,33 ± 0,75	104,67 ± 0,55	5,13
CT III	100,33 ± 0,67	90,33 ± 0,65	7,2
CT IV	99,33 ± 0,68	88,67 ± 0,55	10,03

Qua bảng 3.12 ta nhận thấy, số hạt/bông và số hạt chắc/bông ở các công thức có sự sai khác rõ rệt. Trong đó:

- Số hạt/bông: CT2 có số hạt/bông cao nhất (110,33 hạt/bông), tiếp đến là CT1 (106,33 hạt/bông), CT3 (100,33 hạt/bông), CT4 (99,33 hạt/bông).

- Số hạt chắc/bông và tỷ lệ lép: CT2 có tỷ lệ lép thấp nhất (5,13%), tiếp đến là CT1 (7,2%), CT3 (9,97%) và cao nhất là CT4 (10,03%).

Qua quá trình nghiên cứu ảnh hưởng của dịch nuôi cấy các chủng VK tuyển chọn tới sự sinh trưởng, phát triển và năng suất của cây lúa, chúng tôi nhận thấy rằng các chủng VK-16 và VK-17 vừa thích nghi với điều kiện sinh thái của địa phương vừa có khả năng làm tăng năng suất cây lúa. Điều này chứng tỏ ử dụng các chủng VK-16 và VK-17 để sản xuất PBVS bổ sung đạm cho đất, giảm bớt lượng phân đạm hóa học, tạo ra sản phẩm sạch an toàn với người sử dụng.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. KẾT LUẬN

Từ các kết quả nghiên cứu chúng tôi rút ra các kết luận sau:

1.1. Từ 108 mẫu đất thịt trồng lúa thuộc một số thôn của 2 xã Hòa Nhơn và Hòa Liên – Hòa Vang – TP ĐN, qua nghiên cứu sự phân bố của VK *Azotobacter* theo thành phần cơ giới đất đã cho thấy, số lượng VK *Azotobacter* trong các loại đất khác nhau là khác nhau.

- Đất thịt nặng trồng lúa có số lượng VK *Azotobacter* cao nhất, có trung bình $(0,556 - 0,606) \times 10^5$ CFU/g)

- Đất thịt trung bình trồng lúa cũng thích hợp cho sự phát triển của VK *Azotobacter*, có số lượng VK *Azotobacter* tương đối cao nhưng thấp hơn đất thịt nặng, có trung bình $(0,423 - 0,529) \times 10^5$ CFU/g.

- Đất thịt nhẹ trồng lúa có số lượng VK *Azotobacter* thấp nhất, có trung bình $(0,37 - 0,501) \times 10^5$ CFU/g).

- Đất trồng lúa ở xã Hòa Nhơn có số lượng VK *Azotobacter* cao hơn so với xã Hòa Liên.

1.2. Sự phân bố của VK *Azotobacter* theo nhân tố pH và độ ẩm đất:

- VK *Azotobacter* phân bố nhiều nhất pH khoảng 7,1-7,5, có trung bình $0,802 \times 10^5$ CFU/g.

- VK *Azotobacter* thích nghi với các vùng đất có độ ẩm cao. Trong đó độ ẩm 60 - 70% có số lượng cao nhất (có trung bình $0,896 \times 10^5$ CFU/g)

1.3. Đã phân lập và tuyển chọn được 17 chủng VK *Azotobacter* có khả năng cố định đạm, trong đó có 7 chủng cố định đạm mạnh chiếm 41,2%.

- Từ 07 chủng cố định mạnh, chúng tôi đã xác định được 3 chủng (VK-16 và VK-17, VK-37) có khả năng sinh tổng hợp IAA.

- Đã nghiên cứu đặc điểm nuôi cấy và đặc điểm hình thái của 2 chủng VK-16 và VK-17.

1.4. Đã nghiên cứu ứng dụng dịch nuôi cấy các chủng VK-16 và VK-17 đến một số chỉ tiêu sinh trưởng và một số chỉ tiêu năng suất. Trong đó CT2 (bón kết hợp dịch nuôi cấy các chủng VK tuyển chọn và phân đạm hóa học) cho hiệu quả cao hơn so với các CT còn lại. Vậy 2 chủng VK-16 và VK-17 vừa thích nghi với điều kiện sinh thái địa phương vừa làm tăng năng suất cây trồng và tạo ra các sản phẩm sạch, an toàn với người sử dụng. Do đó có thể đưa 2 chủng vào ứng dụng thực tiễn tại địa phương.

2. KIẾN NGHỊ

Vì thời gian nghiên cứu có hạn, chúng tôi mới tiến hành nghiên cứu sự phân bố, vai trò và ứng dụng dịch nuôi cấy của các chủng VK *Azotobacter* từ các mẫu đất trồng lúa thuộc một số thôn của 2 xã Hòa Nhơn và Hòa Liên – Hòa Vang – TP Đà Nẵng lên một số chỉ tiêu sinh trưởng và năng suất của cây lúa. Cần nghiên cứu sự phân bố của VK *Azotobacter* trên các loại đất trồng các loại thực vật khác để có thể đưa các chủng này ra ứng dụng rộng rãi trên nhiều loại cây trồng. Đồng thời nghiên cứu chất mang và hoàn thiện sản phẩm để dễ dàng đưa vào ứng dụng thực tiễn sản xuất tại địa phương, đảm bảo mang đến sản phẩm sạch, an toàn cho người sử dụng