

DT2008 mặc dù trong điều kiện thời tiết không thuận lợi nhưng các giống vẫn duy trì ổn định các giai đoạn sinh trưởng, phát triển. Thời gian sinh trưởng của các giống mới thuộc nhóm trung ngày, từ 85 - 87 ngày, duy có giống DT2008 dài ngày hơn, khoảng 94 ngày. Năng suất của các giống mới đạt trung bình 13,0 - 16,2 tạ/ha, đạt cao nhất là giống ĐVN10, 16,2 tạ/ha, tăng hơn 14,1 - 14,9% so với giống DT84 (ĐC). Các giống mới nhiễm nhẹ sâu cuốn lá, sâu đục thân, ít mắc cảm với bệnh lở cổ rễ và bệnh gỉ sắt.

2. Trong các giống đậu tương thí nghiệm, ĐVN10 là giống thích nghi tốt trong điều kiện canh tác khó khăn vùng miền núi, đạt năng suất cao nhất (16,2 tạ/ha), thời gian sinh trưởng vụ Hè Thu 86 - 87 ngày, chịu hạn, kháng sâu bệnh hại. Giống ĐVN10 có thể trồng thuần hoặc đưa vào cơ cấu luân canh, trồng xen với các cây trồng khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Bộ, *Bón phân cân đối và hợp lý cho cây trồng*, NXB Nông nghiệp, Hà Nội, 2000.
2. *Giống đậu tương - Quy phạm khảo nghiệm giá trị canh tác và giá trị sử dụng*, Tiêu chuẩn ngành 10TCN 339:2006.
3. Vũ Văn Liệt, *Sản xuất giống và công nghệ hạt giống*. Giáo trình Chọn giống cây trồng, Đại học Nông nghiệp Hà Nội 2006.
4. Trần Danh Thìn, *Vai trò của cây đậu tương, cây lạc và một số biện pháp kỹ thuật thâm canh ở một số tỉnh trung du, miền núi phía Bắc*, Luận án tiến sỹ Nông nghiệp, ĐHNN, Hà Nội 2001.
5. Viện Bảo vệ Thực vật, 1997. *Phương pháp điều tra sâu bệnh hại*. NXB Nông nghiệp.

Ngày nhận bài: 8/6/2012:

Người phản biện: GS.TS. Trần Đình Long,
ngày 21/6/2012

Ngày duyệt đăng: 4/9/2012

NGHIÊN CỨU TUYỂN CHỌN VI SINH VẬT CHO CÂY LẠC TRÊN ĐẤT CÁT BIỂN BÌNH ĐỊNH

Nguyễn Thu Hà, Đoàn Thị Kim Hạnh,
Trần Tiến Dũng

SUMMARY

Research and selection of microorganisms for groundnut at sandy soil of Binh Dinh province

Isolation and selection of microorganisms has high bioactivity will play an important role in the production and application of microorganism inoculations. This paper presents five strains selected for product microorganism inoculations for groundnut at sandy soil of Binh Dinh province. Five strains selected have high activity of nitrogen fixation, phosphate solubilizing, potassium solubilizing, cellulose degradation and polysaccharide synthesis. It concludes *Bradyrhizobium japonicum* (R18), *Bacillus megaterium* (P1107), *Streptomyces misionensis* (Xa72), *Paenibacillus castaneae* (S3.1) and *Lipomyces starkeyi* (PT5.1). According to the European Community, selected strains had high-level biosafety and allowed widespread use in production.

The results have showed that using microorganism inoculations has a positive effect on growth, yield of groundnut (variety LDH01). It increases the yield of crops from 10.57% to 34.75% (in greenhouse) and 22.91% (in the field) compare with control.

Selected strains will be continuous research to apply for production of microorganism inoculations.

Keywords: Microorganism inoculations, groundnut, sandy soil, Binh Dinh.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lạc (*Arachis hypogaea* L.) là cây công nghiệp ngắn ngày, có giá trị kinh tế và cũng là cây cải tạo tầng độ phì nhiêu đất. Nhu cầu sử dụng và tiêu thụ lạc ngày càng tăng đã và đang khuyến khích đầu tư phát triển sản xuất lạc với quy mô ngày càng mở rộng.

Theo số liệu thống kê tỉnh Bình Định, diện tích trồng lạc năm 2010 là 8.315 ha, vùng có diện tích trồng lạc lớn ở Bình Định là Phù Mỹ (2.612 ha), Phù Cát (2.449 ha), An Nhơn (640 ha) và Hoài Nhơn (530 ha). Đến năm 2010, năng suất bình quân của cây lạc ở tỉnh Bình Định đạt 27,8 tạ/ha, sản lượng lạc vỏ đạt 23.153 tấn. Năng suất trên còn thấp so với tiềm năng năng suất của cây lạc. Có nhiều nguyên nhân hạn chế năng suất lạc ở Bình Định nói chung và vùng đất cát biển nói riêng, như: Đất ở đây có hàm lượng hữu cơ thấp, nghèo dinh dưỡng, độ ẩm thấp và khả năng giữ nước kém; lượng mưa thấp, canh tác phụ thuộc vào nước trời; sử dụng phân chuồng hoai mục, phân hữu cơ còn ít.

Vai trò không thể thiếu của vi sinh vật trong việc nâng cao dinh dưỡng, khả năng giữ nước, giữ ẩm đất; qua đó làm tăng khả năng sinh trưởng phát triển cây trồng, tăng năng suất, chất lượng nông sản cũng như tiết kiệm phân bón hóa học, giảm thiểu thuốc bảo vệ thực vật hóa học và góp phần tích cực cho việc xây dựng nền nông nghiệp bền vững đã được khẳng định trong nhiều công trình nghiên cứu trước đây. Vì vậy, việc nghiên cứu, tuyển chọn vi sinh vật cho cây lạc trên đất cát biển Bình Định là rất cần thiết.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu nghiên cứu

- Gồm các chủng R18, Xa72, P1107, S3.1, PT5.1 do Bộ môn Vi sinh vật - Viện Thổ nhưỡng Nông hóa cung cấp.

- Các giống lạc sử dụng trong nghiên cứu LDH01 do Viện KHKT duyên hải Nam Trung bộ cung cấp.

2. Phương pháp nghiên cứu

- Khả năng cố định nitơ của vi sinh vật được xác định bằng phương pháp đo khả năng khử axetylen (hàm lượng etylen hình thành) trên máy sắc ký khí.

- Khả năng phân giải photphat khó tan được xác định bằng phương pháp đo vòng phân giải $Ca_3(P0_4)_2$ trên môi trường đặc; đó là vòng tròn trong suốt bao quanh khuẩn lạc (đối với trường hợp cấy điểm) hoặc lỗ thạch (đối với trường hợp khoan lỗ thạch), nơi mà vi sinh vật phân giải $Ca_3(P0_4)_2$.

- Khả năng phân giải silicat được xác định bằng phương pháp đo vòng phân giải bột thủy tinh trên môi trường đặc; đó là vòng tròn trong suốt bao quanh khuẩn lạc (đối với trường hợp cấy điểm) hoặc lỗ thạch (đối với trường hợp khoan lỗ thạch), nơi mà vi sinh vật phân giải bột thủy tinh.

- Khả năng phân giải xenlulose được xác định bằng phương pháp đo vòng phân giải CMC trên môi trường đặc; đó là vòng tròn trong suốt bao quanh khuẩn lạc (đối với trường hợp cấy điểm) hoặc lỗ thạch (đối với trường hợp khoan lỗ thạch), nơi mà vi sinh vật phân giải CMC.

- Khả năng sinh polysacarit được xác định được xác định thông qua độ nhớt của dịch nuôi cấy bằng nhớt kế Ostwald. Độ nhớt của dịch nuôi cấy được tính theo công

thức: $\eta = (\eta_1 \times d \times \tau) / (d_1 \times \tau_1)$; η_1 : Độ nhớt của nước ở 30°C, d_1 : Tỷ trọng của nước ở 30°C, τ_1 : Thời gian chảy của dòng nước, d : Tỷ trọng của dịch nghiền cứu, τ : Thời gian chảy của dịch nghiền cứu.

- Xác định tên vi sinh vật bằng phương pháp phân loại học phân tử dựa trên cơ sở giải trình tự đoạn gen 16s ARN riboxom của các chủng vi khuẩn nghiên cứu, so sánh với các trình tự có sẵn trong ngân hàng gen quốc tế EMBL bằng phương pháp FASTA 33 để định loại đến loài các chủng vi sinh vật. Tên vi sinh vật được xác định với xác suất tương đồng cao nhất.

- Thí nghiệm được bố trí trong nhà lưới, theo khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh (RCBD), trồng trên cát khử trùng, 3 lần nhắc lại, 2kg cát/cốc, lạc được gieo 2 hạt/cốc, cây lạc được trồng đến ra hoa rộ.

Công thức thí nghiệm:

CT1: Nhiễm chủng XK4 (10^8 CFU/g cát)

CT2: Nhiễm chủng P1107 (10^8 CFU/g cát)

CT3: Nhiễm chủng S3.1 (10^8 CFU/g cát)

CT4: Nhiễm chủng PT5.1 (10^8 CFU/g cát)

CT5: Nhiễm chủng R18 (10^8 CFU/g cát)

CT6: Nhiễm hỗn hợp vi sinh vật (10^8 CFU/g cát, tỷ lệ 1:1:1:1)

CT7: Đối chứng (không nhiễm vi sinh vật)

Chỉ tiêu theo dõi: Chiều cao cây, khả năng tích lũy chất khô, số lượng nốt sần và khả năng cố định nitơ cộng sinh.

- Đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm vi sinh vật đến cây lạc trên đất cát biển Bình Định

** Thí nghiệm trong nhà lưới*

- Thí nghiệm được bố trí theo khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh (RCBD), trồng trên đất cát biển tại Bình Định, 3 lần nhắc lại, 6 cây/chậu (2 hạt/hốc).

Công thức thí nghiệm: CT1: Đối chứng

CT2: Nhiễm chế phẩm vi sinh vật

- Liều lượng phân bón (áp dụng cho 1ha):

10 tấn phân chuồng + 30kg N + 90kg P_2O_5 + 60kg K_2O + 500 vôi bột

Chế phẩm vi sinh vật: 20kg.

- Phương pháp bón phân:

Bón lót: 100% phân chuồng, 50% ure, 100% super lân, 50% kali clorua, 50% vôi bột

Bón thúc (bắt đầu ra hoa): 50% ure, 50% kali clorua, 50% vôi bột (bón tung đều trên mặt lá khi hoa nở rộ).

Chế phẩm vi sinh vật: Bón vào đất trước khi trồng.

Chỉ tiêu theo dõi: Năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất cây lạc.

** Thí nghiệm trên đồng ruộng*

- Thí nghiệm được bố trí tại Cát Chình, Phù Cát, Bình Định, bố trí theo khối ngẫu nhiên, 3 lần nhắc, mật độ gieo trồng: 15cm x 20cm, độ sâu lấp hạt 4 - 5cm.

- Liều lượng phân bón (áp dụng cho 1ha):

10 tấn phân chuồng + 30kg N + 90kg P_2O_5 + 60kg K_2O + 500 vôi bột

Chế phẩm vi sinh vật: 20kg.

- Phương pháp bón phân:

Bón lót: 100% phân chuồng, 50% ure, 100% super lân, 50% kali clorua, 50% vôi bột

Bón thúc (bắt đầu ra hoa): 50% ure, 50% kali clorua, 50% vôi bột (bón tung đều trên mặt lá khi hoa nở rộ).

Chế phẩm vi sinh vật: Bón vào đất trước khi trồng.

Chỉ tiêu theo dõi: Năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất cây lạc.

- Xử lý số liệu: Theo chương trình IRRISTAT.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Tuyển chọn các chủng vi sinh vật

1.1. Hoạt tính sinh học của các chủng vi sinh vật tuyển chọn

Từ các chủng vi sinh vật được thu thập, phân lập, đã tuyển chọn năm chủng có hoạt tính sinh học cao, kết quả được trình bày bảng 1.

Bảng 1. Hoạt tính sinh học chính của các chủng vi sinh vật tuyển chọn

Ký hiệu chủng vi sinh vật	Khả năng cố định nitơ cộng sinh (hàm lượng etylen, nmol C ₂ H ₂ ml/cây)	Khả năng phân giải photphat khó tan (đường kính vòng phân giải, mm)	Khả năng phân giải xenlulose (đường kính vòng phân giải, mm)	Khả năng phân giải silicat (đường kính vòng phân giải, mm)	Khả năng sinh polysacarit (độ nhớt η N.s/m ²)
R18	3.458				
P1107		18,0			
Xa72			30,0		
S3.1				12,0	
PT5.1					37,6.10 ⁻³

1.2. Khả năng thích nghi của các chủng vi sinh vật tuyển chọn

Theo kết quả phân tích của Viện Thổ nhưỡng Nông hóa và số liệu thống kê của tỉnh Bình Định, đất cát biên Bình Định có độ pH từ 4,0-4,5; độ mặn NaCl 0,5%; Bình Định là tỉnh có một nền nhiệt độ cao, nhiệt độ trung bình thấp nhất là 24,5 °C và nhiệt

độ trung bình cao nhất là 30,4 °C. Các chủng vi sinh vật tuyển chọn được sử dụng cho sản xuất chế phẩm vi sinh vật cho cây lạc tại Bình Định, vì vậy cần đánh giá khả năng thích nghi của các chủng vi sinh vật tuyển chọn với pH, nhiệt độ và độ mặn. Kết quả được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Khả năng thích nghi của các chủng vi sinh vật tuyển chọn với môi trường nuôi cấy

Ký hiệu chủng vi sinh vật	Môi trường có khả năng tồn tại			Môi trường tối thích		
	pH	Nhiệt độ (°C)	Độ mặn (% NaCl)	pH	Nhiệt độ (°C)	Độ mặn (% NaCl)
R18	3,8-7,4	24-37	0-2,0	7,0	28-30	0-0,5
P1107	3,0-7,4	24-37	0-2,0	7,0	28-30	0-2,0
Xa72	3,0-7,4	24-37	0-2,0	7,0	35-37	0-0,5
S3.1	3,4-7,4	24-37	0-2,0	7,0	28-30	0-1,0
PT5.1	3,0-7,4	24-37	0-2,0	7,0	28-30	0-2,0

Kết quả bảng 2 cho thấy năm chủng vi sinh vật tuyển chọn có khả năng thích nghi với môi trường đất cát biển tại Bình Định.

1.3. Phân loại các chủng vi sinh vật tuyển chọn

Các chủng vi sinh vật sử dụng trong sản xuất phân bón vi sinh vật ngoài yêu cầu về

hoạt tính sinh học cao, phải được định tên và bảo đảm an toàn đối với người, động thực vật, môi trường sinh thái và chất lượng nông sản. Vì vậy, cần tiến hành xác định tên các chủng vi sinh vật lựa chọn bằng kỹ thuật sinh học phân tử. Kết quả định tên các chủng vi sinh vật tuyển chọn được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Kết quả định tên các chủng vi sinh vật tuyển chọn

Ký hiệu chủng	Tên xác định	Mức độ tương đồng (%)
R18	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	100,0
P1107	<i>Bacillus megaterium</i>	100,0
Xa72	<i>Streptomyces misionensis</i>	99,9
S3.1	<i>Paenibacillus castaneae</i>	99,8
PT5.1	<i>Lipomyces starkeyi</i>	99,0

So sánh theo hướng dẫn của Cộng đồng chung châu Âu, năm chủng vi sinh vật lựa chọn không nằm trong danh mục các chủng vi sinh vật hạn chế sử dụng. Năm chủng vi sinh vật lựa chọn bảo đảm an toàn sinh học, có thể sử dụng trong sản xuất phân bón vi sinh vật.

2. Ảnh hưởng của các chủng vi sinh vật tuyển chọn đến khả năng cố định nitơ và sinh trưởng của cây lạc

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của các chủng vi sinh vật tuyển chọn đến khả năng cố định nitơ và sinh trưởng của cây lạc được thể hiện trong bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của các chủng vi sinh vật đến khả năng cố định nitơ và sinh trưởng của cây lạc LDH01 (thí nghiệm trên cát khử trùng, trong điều kiện nhà lưới)

Công thức	Cao cây (cm)	Khối lượng khô thân lá (g/cây)	Số lượng nốt sần hữu hiệu (nốt sần/cây)	Hàm lượng etylen hình thành (nmol/cây/ngày)
CT1	31,3	1,24	-	-
CT2	31,8	1,24	-	-
CT3	29,3	1,16	-	-
CT4	29,0	1,16	-	-
CT5	31,5	1,22	35,7	3.375
CT6	32,3	1,33	32,1	3.362
CT7	28,5	1,06	-	-
CV (%)	6,0	5,3	4,5	
LSD _{0,05}	3,22	0,23	2,2	

Kết quả bảng 4 cho thấy:

- Các chủng vi sinh vật không ảnh hưởng xấu đến chiều cao cây và khối lượng khô thân lá. Ở công thức nhiễm hỗn hợp vi

sinh vật (CT6) cho chiều cao cây và khối lượng khô thân lá cao hơn công thức đối chứng không nhiễm vi sinh vật (CT7) ở mức độ tin cậy 95%.

- Số lượng nốt sần hữu hiệu chính là hiệu quả cộng sinh giữa cây lạc và vi khuẩn nốt sần *Bradyrhizobium*; phản ánh tình trạng liên kết giữa vi khuẩn nốt sần và hiệu quả cố định nitơ. Ở công thức không nhiễm chủng *Bradyrhizobium* (CT1, CT2, CT3, CT4 và CT5), cây lạc không có khả năng hình thành nốt sần hữu hiệu. Ở công thức nhiễm đơn lẻ chủng R18 (CT5) và hỗn hợp chủng vi sinh vật (CT6), cây lạc có khả năng hình thành nốt sần hữu hiệu. Điều này chứng tỏ chủng R18 có khả năng cộng sinh tốt với cây lạc LDH01 (hàm lượng ethylen

hình thành đạt 3.362 - 3.375 nmol/cây/ngày).

3. Đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm vi sinh vật đến cây lạc trên đất cát biển Bình Định

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm vi sinh vật đến năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của cây lạc trên đất cát biển Bình Định trong điều kiện nhà lưới và đồng ruộng được thể hiện trong bảng 5, 6 và 7.

Bảng 5. Ảnh hưởng của chế phẩm vi sinh vật đến năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của cây lạc LDH01 (thí nghiệm trong điều kiện nhà lưới, vụ Xuân Hè 2011)

Công thức	Số quả (quả/cây)	Số quả chắc (quả chắc/cây)	Khối lượng 100 quả (g)	Tỷ lệ nhân (%)	Khối lượng 100 hạt (g)	Khối lượng khô thân lá (g/chậu)	Năng suất quả khô (g/chậu)	Tăng so đối chứng (%)
CT1	3,90	3,50	71,84	62,50	30,25	27,39	15,42	
CT2	4,50	4,00	89,69	64,20	38,11	23,60	17,05	10,57
CV (%)							4,60	
LSD _{0,05}							1,05	

Bảng 6. Ảnh hưởng của chế phẩm vi sinh vật đến năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của cây lạc LDH01 (thí nghiệm trong điều kiện nhà lưới, vụ Xuân Hè 2012)

Công thức	Số quả (quả/cây)	Số quả chắc (quả chắc/cây)	Khối lượng 100 quả (g)	Tỷ lệ nhân (%)	Khối lượng 100 hạt (g)	Khối lượng khô thân lá (g/chậu)	Năng suất quả khô (g/chậu)	Tăng so đối chứng (%)
CT1	5,63	4,87	125,65	0,61	56,50	34,63	43,63	
CT2	7,10	6,53	134,78	0,62	55,40	35,94	58,79	34,75
CV (%)							4,12	
LSD _{0,05}							1,78	

Bảng 7. Ảnh hưởng của chế phẩm vi sinh vật đến năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của cây lạc LDH01 (thí nghiệm trên đồng ruộng, vụ Xuân Hè 2012)

Công thức	Chiều cao cây (cm)	Số cành cấp 1 (cành/cây)	Số quả chắc (quả chắc/cây)	Tỷ lệ nhân (%)	Khối lượng 100 quả (g)	Khối lượng 100 hạt (g)	Năng suất thực thu (tạ/ha)	Tăng so đối chứng (%)
CT1	39,8	4,2	9,1	65,70	150,80	59,30	27,50	
CT2	42,5	4,3	11,8	66,45	152,80	61,70	33,80	22,91
CV (%)							7,70	
LSD _{0,05}							3,62	

Kết quả bảng 5, 6 và 7 cho thấy:

- Trong điều kiện nhà lưới, sử dụng chế phẩm vi sinh vật làm tăng năng suất cây lạc LDH01 từ 10,57% đến 34,75% so với đối chứng (không nhiễm chế phẩm vi sinh vật).

- Trong điều kiện đồng ruộng, sử dụng chế phẩm vi sinh vật làm tăng năng suất cây lạc LDH01 22,91% so với đối chứng (không nhiễm chế phẩm vi sinh vật).

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

1. Kết luận

- Đã tuyển chọn được 5 chủng vi sinh vật có hoạt tính sinh học cao, thích hợp cho đất cát biển Bình Định. Cụ thể như sau:

+ Chủng R18 có khả năng cố định nitơ cộng sinh, hàm lượng etylen hình thành đạt 3.458 nmol C₂H₂/cây/ngày.

+ Chủng P1107 có khả năng phân giải photphat khó tan, đường kính vòng phân giải Ca₃(PO₄)₂ đạt 18mm.

+ Chủng Xa72 có khả năng phân giải xenlulose, đường kính vòng phân giải CMC đạt 30,0mm.

+ Chủng PT5.1 có khả năng sinh polysaccarit, độ nhớt đạt 37,6.10⁻³ N.s/m².

+ Chủng S3.1 có khả năng phân giải silicat, đường kính vòng phân giải bột thủy tinh đạt 12,0mm.

- Bằng kỹ thuật phân tử đã xác định tên 5 chủng vi sinh vật tuyển chọn R18, P11107, Xa72, S3.1, PT5.1 lần lượt là *Bradyrhizobium japonicum*, *Bacillus megaterium*, *Streptomyces misionensis*,

Paenibacillus castaneae và *Lypomyces starkeyi*.

- Sử dụng chế phẩm vi sinh vật làm tăng năng suất cây lạc LDH01 từ 10,57% đến 34,75% (trong điều kiện nhà lưới) và 22,91% (trên đồng ruộng) so với đối chứng.

2. Đề nghị

- Xây dựng mô hình đánh giá hiệu quả của chế phẩm vi sinh vật cho một số giống lạc phổ biến tại Bình Định.

- Tiếp tục nghiên cứu sử dụng các chủng vi sinh vật tuyển chọn cho sản xuất chế phẩm vi sinh vật cho cây lạc trên đất cát biển ở quy mô pilot.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Văn Toàn và CS. 2004. *Nghiên cứu công nghệ sản xuất phân bón vi sinh vật đa chủng, phân bón chức năng phục vụ chăm sóc cây trồng cho một số vùng sinh thái*. Báo cáo tổng kết khoa học và kỹ thuật Đề tài.
2. TCVN 6167-1996. Phân bón vi sinh vật phân giải hợp chất photphat khó tan.
3. TCVN 6168-2002. Chế phẩm vi sinh vật phân giải xenlulose.
4. TCVN 8564:2010. Phân bón vi sinh vật - Phương pháp xác định hoạt tính cố định nitơ của vi khuẩn nốt sần cây họ Đậu.

Ngày nhận bài: 5/7/2012

Người phản biện: PGS. TS. Hồ Quang Đức,
ngày 18/8/2012

Ngày duyệt đăng: 4/9/2012