

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG KÍCH THÍCH SINH TRƯỞNG THỰC VẬT VÀ THÍCH ỨNG VỚI ĐIỀU KIỆN PHÈN CỦA CÁC DÒNG VI KHUẨN VÙNG RỄ TRONG ĐẤT KHÓM Ở TIỀN GIANG

Nguyễn Thị Ngọc Trúc, Lê Minh Trí

SUMMARY

Evaluation of *plant growth promoting and sulphate soil tolerant capacity* of PGPR in pineapple soil at Tien Giang province

Alluminium soil has being increased by climate change. Therefore, the experiment was conducted to find out the useful microorganisms in soil - which can tolerant with the sulphate soil and can fix nitrogen, solubilize phosphate as well as release IAA. The results of experiment shown that: there were 16 clones of PGPR isolated from pineapple cultivated, Tan Lap, Chau Thanh, Tien Giang. Out of them, two soil samples: TL IX and TLX (Tan Lap IX and Tan Lap X) had the highest density of nitrogen fixing and phosphate solubilizing bacteria. The results of soil analysis showed that the contain of Al was 38.7 g/kg, Fe was 24.2 g/kg, Mn was 16.2 g/kg, S was 0.14 g/kg in Tan Lap soil. While Tan Lap water analysis showed that: contain of Al was 1.24 mg/l, Fe was 1.29 mg/l, Pb was 0, Amoni was 0.10 mg/l, NO_3^- was 0.12 mg/l, SO_4^{2-} was 94.5 mg/l. The capacity of isolated PGPR tolerant to $\text{Fe}_3(\text{SO}_4)_2$ showed that: 7 clones of nitrogen fixing bacteria (clone VSP 1, 2, 3, 4) and 1 clone of IAA releasing bacteria (clone VSP 8) has tolerant to $\text{Fe}_3(\text{SO}_4)_2$ with the concentration up to 24.2 g/kg. Similar for the capacity of isolated PGPR tolerant to $\text{Al}_3(\text{SO}_4)_2$ showed that: 7 clones of nitrogen fixing bacteria, 4 clones of phosphate solubilizing bacteria (clone VSP 10, 5, 6, 7) and 2 clones of IAA releasing bacteria (clone VSP 8, 9) has tolerant to $\text{Al}_3(\text{SO}_4)_2$ with the concentration up to 38.7 g/kg. The identification of isolated PGPR from Tan Lap soil was *Enterobacter oryzae* (VSP2), *Enterobacter oryzae* (VSP3), *Enterobacter cloacae*(VSP4 and VSP8), *Pseudomonas stutzeri*(VSP10), *Pseudomonas stutzeri*(VSP 16), *Klebsiella pneumoniae*(VSP13).

Keywords: PGPR, Alluminium soil, Nitrogen fixing bacteria, Phosphate solubilizing bacteria, IAA releasing bacteria.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Biến đổi khí hậu đã làm cho diện tích đất phèn ngày càng tăng và ảnh hưởng đến sản xuất nông nghiệp. Bên cạnh việc tạo ra các giống mới thích nghi với vùng đất phèn thì việc làm tăng hiệu quả sử dụng đất phèn là vấn đề đáng được quan tâm. Theo Đào Xuân Học và ctv (2005) trong đất phèn thiếu một số chất dinh dưỡng cần thiết cho cây như đạm và lân dễ tiêu, mặc dù trong đất phèn hàm lượng đạm và lân tổng số cao. Vì vậy, vấn đề cấp thiết hiện nay là tìm ra những dòng vi sinh vật có khả năng cố định đạm, hòa tan lân, tổng hợp IAA. Không những thế, ngoài khả năng kích thích sinh trưởng thực vật nêu trên, các dòng vi khuẩn còn có khả năng thích nghi được với điều

kiện khắc nghiệt của đất phèn như khả năng sống sót trong điều kiện muối nhôm sulphat hay sắt sunphat cao. Do đó, đề tài đã phân lập, đánh giá hiện trạng vi sinh vật trong vùng đất phèn Tân Lập, thuộc tỉnh Tiền Giang. Từ đó, đề tài tiến hành phân lập, tìm ra những dòng vi sinh vật có khả năng cố định đạm, hòa tan lân, tổng hợp IAA và bước đầu đánh giá khả năng hấp thụ các muối sắt sunphat và nhôm sunphat trong điều kiện in vitro.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Địa điểm khảo sát

Vùng đất phèn Tân Lập, Châu Thành, tỉnh Tiền Giang.

2. Thời gian khảo sát

Từ 15/01/2011 đến 30/09/2011.

3. Hóa chất, thiết bị

Tại phòng vi sinh vật, Viện Cây ăn quả miền Nam.

Hóa chất: Proteose peptone, Glycerol, K_2HPO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $Na_2S_2O_5$, Glucose, Yeast extract, $(NH_4)_2SO_4$, KCl, NaCl, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, $Ca_3(PO_4)_2$, Sucrose, Na_2MoO , $CaCO_3$, Agar.

Thiết bị: tủ cấy vi sinh vật, tủ ủ vi sinh vật Incucell 111, kính hiển vi Olympus PH-2, máy lắc mẫu GFL 3005, nồi hấp khử trùng, bộ micropipet Gibson P10, P20, P200, P1000, tủ sấy EHRET, máy khuấy từ, cân điện tử Sartorius, lò vi sóng Panasonic, đĩa petri, tủ lạnh $-20^{\circ}C$ Electrolux confor Plus, tủ lạnh $-4^{\circ}C$ Akira, máy chụp ảnh kỹ thuật số Nikon, máy vi tính phân tích và lưu trữ số liệu.

4. Phương pháp khảo sát hiện trạng về đất, nước và vi sinh vật

(a) Khảo sát và thu thập mẫu

Mẫu khảo sát được thu thập ngẫu nhiên từ các vườn khóm của các hộ nông dân trồng khóm thuộc Tân Lập, Tiền Giang. Mẫu thu thập dùng cho phân tích đất, nước và khảo sát phân lập vi sinh vật thực hiện theo phương pháp lấy mẫu được mô tả bởi Nguyễn Kim Ngân, 2009. Mẫu đất được thu thập bằng cách loại bỏ lớp đất ở trên mặt (1 - 3 cm) vì lớp đất này đã bị xâm nhiễm bởi các vi sinh vật bên ngoài, khử trùng dụng cụ lấy mẫu bằng cách “làm sạch” bằng chính lớp đất cần lấy mẫu, sau đó lấy mẫu đất ở đó. Mẫu đất dùng để phân tích hàm lượng các nguyên tố được lấy ngẫu nhiên ở 3 địa điểm khác nhau. Ở mỗi địa điểm lấy 400 g từ mặt đất tới độ sâu 1,5 dm và 3 mẫu được trộn đều đem đi phân tích.

Mẫu nước được lấy ngẫu nhiên ở 3 địa điểm khác nhau. Ở mỗi địa điểm lấy 400 ml nước cách mặt 1 - 2 dm. Trước khi lấy mẫu, cốc thủy tinh được tráng lại bằng chính nước lấy mẫu. Mẫu nước sau khi lấy được cho vào bao nilon đem đi phân tích.

Đối với mẫu thu thập cho khảo sát vi sinh vật được lấy ngẫu nhiên từ vùng rễ của 10 cây dừa to khỏe, lá xanh tốt ở những địa điểm khác nhau đưa về phòng thí nghiệm vi sinh vật, Viện Cây ăn quả miền Nam, để tiến hành các khảo sát phân lập đánh giá vi sinh.

(b) Phân lập các dòng vi sinh vật từ mẫu đất khảo sát: mẫu đất dùng để phân lập vi sinh vật được trộn đều trong cốc vô trùng của phòng thí nghiệm, loại bỏ rễ cây và các vật lạ khác, sau đó tiến hành pha loãng. Ở mỗi nồng độ 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} hút 1 ml cho vào đĩa Petri chứa sẵn 1 trong 3 môi trường chuyên biệt Pikovskaya (phân lập khuẩn hòa tan lân), King's (phân lập vi sinh vật giải phóng IAA), Jensen (phân lập vi sinh vật cố định đạm), mỗi nồng độ 3 lần lặp lại trên một môi trường. Sau đó dùng que cấy trang để trang điều dung dịch trong đĩa, đem ủ ở $30^{\circ}C$. Tiến hành tương tự với 10 mẫu đất.

5. Phương pháp khảo sát khả năng chịu phèn của các dòng vi sinh vật

5.1. Mục đích khảo sát

Đánh giá ảnh hưởng của việc bổ sung các muối nhôm sunphat, sắt sunphat vào các môi trường King's, Jensen, Pikovskaya lên sự phát triển của của các dòng vi sinh vật tương ứng.

5.2. Phương pháp khảo sát

Từ những dòng vi sinh vật phân lập được, tiến hành chọn lọc các khuẩn lạc rời rạc có hình dạng khác nhau sau đó cấy rìa

sang đĩa Petri chứa môi trường tương ứng, để phân lập từng dòng vi sinh vật, và tiến hành cấy ria cho đến khi các khuẩn lạc tạo ra có dạng đồng nhất. Chuyển chúng vào môi trường tương ứng ở dạng lỏng. Sau đó, chủng 1 ml dịch khuẩn vào 9 ml môi trường tương ứng trong ống nghiệm ở dạng lỏng có kết hợp với muối $Al_2(SO_4)_3$, $Fe_2(SO_4)_3$, sau đó đem ủ ở $30^\circ C$ (Kaushik, 2004).

Thí nghiệm 1 yếu tố, được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên: đối chứng không được bổ sung muối nhôm sunphat, sắt sunphat, nghiệm thức khảo sát được bổ sung muối nhôm sunphat ở 6 nồng độ khác nhau (0,0005 g/l; 0,005 g/l; 0,05 g/l; 3,87 g/l; 7,74 g/l; 38,7 g/l), sắt sunphat ở 6 nồng độ khác nhau (0,0005 g/l; 0,005 g/l; 0,05 g/l; 2,42 g/l; 4,84 g/l; 24,2 g/l). Sau 1 tuần nuôi cấy, tiến hành hút 0,1 ml dịch khuẩn pha loãng và cấy sang môi trường thạch, rồi đếm mật số vi sinh vật để đánh giá khả năng thích nghi với muối nhôm sunphat, sắt sunphat của mỗi dòng. Bao nhiêu lần lặp lại, mỗi lần lặp lại là bao nhiêu đĩa, v.v., phân tích số liệu thế nào?

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Hiện trạng về đất, nước vùng đất trồng khóm Tân Lập

pH mẫu đất (TLVII, TLVIII) vùng trồng khóm Tân Lập (dao động từ 4,4 - 4,8) thấp hơn pH mẫu đất (HXI, HXII, HXIII) vùng trồng cây ăn trái Hội Xuân (dao động từ 5,0 - 6,5).

Hàm lượng Al^{3+} (3,87%), Fe^{3+} (2,42%) trong mẫu đất tương đối cao so với hàm lượng các nguyên tố khác, là nguyên nhân làm cho pH vùng đất trồng khóm Tân Lập thấp.

Bảng 3.1 Kết quả phân tích hiện trạng mẫu đất trồng khóm Tân Lập được khảo sát

Chỉ tiêu phân tích	Nồng độ	Phương pháp
Al	38,7 g/kg	AOAC 990.08(*)
Fe	24,2 g/kg	AOAC 990.08(*)
Mn	16,2 mg/g	AOAC 990.08(*)
S	0,14%	Ref. AOAC 990.08(#)

(*) phương pháp được VILAS công nhận, (#) kết quả do CASE TPHCM thực hiện.

2. Hiện trạng vi sinh vật vùng rễ kích thích phát triển thực vật ở vùng đất trồng khóm Tân Lập

Kết quả khảo sát về hiện trạng vi khuẩn vùng rễ kích thích phát triển thực vật ở vùng đất trồng khóm Tân Lập cho thấy mật số vi sinh vật cố định đạm (4332 CFU/10g đất) và vi khuẩn hòa tan lân (4204 CFU/10g đất) cao (Bảng 3.2). Trong khi đó, mật số của vi khuẩn tổng hợp IAA trong vùng đất phèn có mật số rất thấp trong cả 10 mẫu phân lập (từ 0 đến 3 CFU/ 10g đất), có đến 7/10 mẫu cho kết quả mật số là 0 CFU/10g đất, hai mẫu có mật số 1CFU/10g đất và chỉ có mẫu TL X là cho kết quả 3 CFU/10g đất.

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của mẫu đất đến mật độ vi sinh vật cố định đạm và phân giải lân khác biệt có ý nghĩa thống kê, trong đó ảnh hưởng của mẫu đến mật độ vi sinh vật phân giải lân khác biệt nhất (mẫu TLIX và TLX có mật số vi sinh vật cố định đạm và phân giải lân cao nhất, dao động từ 4200 - 4350 cfu/10 g đất, còn các mẫu khác có mẫu mật độ vi sinh vật phân giải lân, cố định đạm là 0 cfu/10 g đất, trong đó mật độ vi sinh vật phân giải lân có sự biến động cao hơn mật độ vi sinh vật cố định đạm). Còn ảnh hưởng của mẫu đất đến mật số vi sinh vật giải phóng IAA khác biệt có ý nghĩa thống kê thấp (mẫu TLX có mật độ vi sinh vật giải phóng IAA cao nhất là 3 cfu/10 g đất, còn các mẫu khác có mẫu mật độ vi sinh vật giải phóng IAA là 0 cfu/10 g đất).

Bảng 3.2 Ảnh hưởng của vị trí lấy mẫu đến mật độ vi sinh vật trên môi trường tương ứng

Mẫu đất khảo sát	Mật độ vi sinh vật trên mỗi môi trường (cfu/10 g đất)		
	King's	Jensen	Pikovskaya
TLI	0 ^b	1042 ^b	0 ^b
TLII	0 ^b	1204 ^b	0 ^b
TLIII	0 ^b	1 ^c	0 ^b
TLIV	0 ^b	2 ^c	0 ^b
TLV	0 ^b	3 ^c	0 ^b
TLVI	0 ^b	6 ^c	87 ^b
TLVII	1 ^b	1 ^c	0 ^b
TLVIII	1 ^b	110 ^c	0 ^b
TLIX	0 ^b	4281 ^a	4210 ^a
TLX	3 ^a	4332 ^a	4204 ^a
SD	0,3	160	126
LSD (5%)	1	443	350

(TL: Tân Lập)

Một số tác giả cho rằng trong đất phèn có *Thiobacillus thiodans*, *Thiobacillus ferrocidans*. Trong đó những vi khuẩn *antothrops* mà vài loài có thể sống được ở pH bằng 2 lấy năng lượng để sống từ phản ứng oxy hóa khử trong quá trình tạo phèn. Còn *Thiobacillus ferrocidans* có vai trò xúc tác trong quá trình oxy hóa Fe²⁺, một phản ứng chậm trong điều kiện pH thấp.

Murthy, 1971, đã phân lập, nuôi cấy được một loại vi khuẩn thuộc *Azotobacteraceae*, từ than bùn, có độ chua pH bằng 2,5- 4,2 đã phát triển được trên đất phèn. Loại vi khuẩn này có khả năng cố định đạm 1 -10 mg/1g với thời gian là một tuần lễ nuôi cấy. Đây là khả năng cho việc tạo đạm để tiêu bằng vi sinh vật học cho đất phèn.

Theo phân tích của Nguyễn Lâm Dũng (theo Lê Huy Bá, 2003), trong đất phèn ở Kiên An (Hải Phòng), số lượng của các vi sinh vật như sau: *azotobacter* bằng 0, vi sinh vật đạm số hiệu 103 là 897 cfu/cm³, còn vi sinh vật hoại sinh 374 cfu/cm³.

3. Khả năng chịu phèn của các dòng vi sinh vật có ích kích thích phát triển thực vật phân lập được từ vùng rễ cây khóm ở vùng đất Tân Lập

Qua khảo sát hiện trạng vi sinh vật ở 10 mẫu đất đã chọn được 7 dòng vi sinh

vi sinh vật có khả năng phân giải lân, 7 dòng vi sinh vật có khả năng cố định đạm, 2 dòng vi sinh vật có khả năng giải phóng IAA để tiến hành khảo sát khả năng thích nghi với muối nhôm sunphat, sắt sunphat của những dòng này.

Trong 7 dòng vi sinh vật phân giải lân được khảo sát khả năng thích nghi với muối nhôm sunphat. Có 4 dòng (dòng 1, dòng 2, dòng 3, dòng 4) có khả năng thích nghi tốt với muối nhôm sunphat (mật độ mỗi dòng khi khảo sát khả năng thích ở nồng độ muối nhôm sunphat 38,7 g/kg là: dòng 1: 256.10⁴ cfu/0,1 ml dịch khuẩn; dòng 2: 296.10⁴ cfu/0,1 ml dịch khuẩn; dòng 3: 264.10⁴ cfu/0,1 ml dịch khuẩn; dòng 4: 296.10⁴ cfu/0,1 ml dịch khuẩn), 2 dòng 6 và 7 thích nghi tương đối tốt với muối nhôm sunphat (mật độ mỗi dòng khi khảo sát khả năng thích nghi ở nồng độ muối nhôm sunphat 38,7 g/kg là: dòng 6: 29.10⁴ cfu/0,1 ml dịch khuẩn; dòng 7: 23.10⁴ cfu/0,1 ml dịch khuẩn), dòng 5 thích nghi kém với muối nhôm sunphat (mật độ của dòng khi khảo sát khả năng thích nghi ở nồng độ muối nhôm sunphat 3,87 g/kg là 1.10⁶ cfu/0,1 ml dịch khuẩn, ở 2 nồng độ muối nhôm sunphat 7,74 g/kg, 38,7 g/kg dòng 5 không thích nghi được) so với 6 dòng phân giải lân còn lại.

Bảng 3.3 Khả năng phát triển của các dòng vi sinh vật phân giải lân với muối nhôm sunphat ở những nồng độ khác nhau

Dòng vi sinh vật	Mật độ vi sinh vật ở mỗi nghiệm thức (E + 8 cfu/0,1 ml dịch khuẩn)						
	P	PA1	PA2	PA3	PA4	PA5	PA6
VKP 1	120	368	184	248	3,92	2,80	0,0256
VKP 2	22	34	89	87	4,00	2,88	0,0296
VKP 3	87	116	169	185	1,57	2,72	0,0264
VKP 4	85	224	232	184	1,52	2,12	0,0296
VKP 5	119	157	178	184	0,01	0	0
VKP 6	46	12	44	176	2,64	0,47	0,0029
VKP 7	128	288	79	47	1,44	2,32	0,0023

(VKP: Vi Khuẩn Phèn, P: Pikovskaya, A: Al)

Khi khảo sát khả năng thích nghi với sắt sunphat của 7 dòng vi sinh vật phân giải lân trên cho thấy 4 dòng (dòng 2, dòng 5, dòng 6, dòng 7) có khả năng thích nghi tốt với muối sắt sunphat (mật độ mỗi dòng khi khảo sát khả năng thích ở nồng độ muối sắt sunphat 24,2 g/kg là: dòng 2: 120.10^4 cfu/0,1 ml dịch khuẩn; dòng 5: 152.10^4 cfu/0,1 ml dịch khuẩn; dòng 6: 160.10^4 cfu/0,1 ml dịch khuẩn; dòng 7: 200.10^4 cfu/0,1 ml dịch khuẩn), 3 dòng (dòng 1, dòng 3, dòng 4) thích nghi kém với muối sắt sunphat (cả 3 dòng đều không thích nghi được với nồng độ muối sắt sunphat ở nồng độ 24,2 g/kg).

Bảng 3.4 Khả năng phát triển của các dòng vi sinh vật phân giải lân với muối sắt sunphat ở những nồng độ khác nhau

Dòng vi sinh vật	Mật độ vi sinh vật ở mỗi nghiệm thức (E + 8 cfu/0,1 ml dịch khuẩn)						
	P	PF1	PF2	PF3	PF4	PF5	PF6
VKP 1	56	112	200	0	0	0	0
VKP 2	128	192	160	72	1,44	1,28	0,0120
VKP 3	14	200	81	77	0,40	1,20	0
VKP 4	81	160	56	0	0	0	0
VKP 5	168	184	152	128	0,88	1,60	0,0152
VKP 6	160	144	120	136	0,64	1,36	0,0160
VKP 7	208	192	176	128	1,92	2,08	0,0200

(VKP: Vi Khuẩn Phèn, P: Pikovskaya, F: Fe)

Trong 2 dòng vi sinh vật giải phóng IAA được khảo sát khả năng thích nghi với muối nhôm sunphat, dòng 8 thể hiện khả năng thích nghi với muối nhôm sunphat tốt hơn dòng 9 (mật độ mỗi dòng khi khảo sát khả năng thích nghi ở nồng độ muối nhôm sunphat 38,7 g/kg là: dòng 8: 280.10^4 cfu/0,1ml dịch khuẩn; dòng 9: 0 cfu/0,1ml dịch khuẩn).

Bảng 3.5 Khả năng phát triển của các dòng vi sinh vật giải phóng IAA với muối nhôm sunphat ở những nồng độ khác nhau

Dòng vi sinh vật	Mật độ vi sinh vật ở mỗi nghiệm thức (E + 8 cfu/0,1 ml dịch khuẩn)						
	K	KA1	KA2	KA3	KA4	KA5	KA6
VKP 8	256	232	97	109	1,12	2,00	0,0280
VKP 9	240	224	256	248	2,88	0,27	0

(VKP: Vi Khuẩn Phèn, K:King's, A: Al)

TẠP CHÍ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ NÔNG NGHIỆP VIỆT NAM

Còn khả năng thích nghi với muối sắt sunphat, cả dòng 8 và 9 đều thể hiện khả năng thích nghi tốt (mật độ mỗi dòng khi khảo sát khả năng thích nghi ở nồng độ muối sắt sunphat 24,2 g/kg là: dòng 8: 192.10^4 cfu/0,1 ml dịch khuẩn; dòng 9: 104.10^4 cfu/0,1 ml dịch khuẩn).

Bảng 3.6 Khả năng phát triển của các dòng vi sinh vật giải phóng IAA với muối sắt sunphat ở những nồng độ khác nhau

Dòng vi sinh vật	Mật độ vi sinh vật ở mỗi nghiệm thức (E + 8 cfu/0,1 ml dịch khuẩn)						
	K	KF1	KF2	KF3	KF4	KF5	KF6
VKP 8	208	184	144	120	1,20	0,88	0,0192
VKP 9	152	136	144	136	1,68	1,12	0,0104

(VKP: Vi Khuẩn Phèn, K:King's, F: Fe)

Cả 7 dòng vi sinh vật cố định đạm đều thể hiện khả năng thích nghi tốt với muối nhôm sunphat, sắt sunphat. Mật độ mỗi dòng khi khảo sát khả năng thích nghi ở nồng độ muối nhôm sunphat 38,7 g/kg dao động từ 192.10^4 - 232.10^4 cfu/0,1 ml dịch khuẩn. Còn mật độ mỗi dòng khi khảo sát khả năng thích nghi ở nồng độ muối sắt sunphat 24,2 g/kg dao động từ 128.10^4 - 224.10^4 cfu/0,1 ml dịch khuẩn.

Bảng 3.7 Khả năng phát triển của các dòng vi sinh vật cố định đạm với muối nhôm sunphat ở những nồng độ khác nhau

Dòng vi sinh vật	Mật độ vi sinh vật ở mỗi nghiệm thức (E + 8 cfu/0,1 ml dịch khuẩn)						
	J	JA1	JA2	JA3	JA4	JA5	JA6
VKP 10	35	172	164	108	1,36	1,84	0,0192
VKP 11	216	208	184	104	1,68	2,00	0,0232
VKP 12	216	104	87	112	2,16	2,16	0,0208
VKP 13	208	43	136	136	1,36	1,92	0,0224
VKP 14	120	144	112	136	1,60	1,52	0,0208
VKP 15	160	128	112	168	2,16	1,92	0,0216
VKP 16	232	208	200	192	2,00	2,24	0,0208

(VKP: Vi Khuẩn Phèn, J:Jensen, A: Al)

Bảng 3.8 Khả năng phát triển của các dòng vi sinh vật cố định đạm với muối sắt sunphat ở những nồng độ khác nhau

Dòng vi sinh vật	Mật độ vi sinh vật ở mỗi nghiệm thức (E + 8 cfu/0,1 ml dịch khuẩn)						
	J	JF1	JF2	JF3	JF4	JF5	JF6
VKP 10	184	208	208	200	2,08	1,92	0,0224
VKP 11	208	176	144	184	2,08	1,92	0,0128
VKP 12	48	96	96	232	2,08	2,32	0,0168
VKP 13	184	136	160	160	1,04	1,68	0,0192
VKP 14	208	192	152	168	2,32	1,60	0,0192
VKP 15	208	208	208	208	1,84	2,16	0,0208
VKP 16	208	192	200	152	1,92	1,12	0,0136

(VKP: Vi Khuẩn Phèn, J:Jensen, F: Fe)

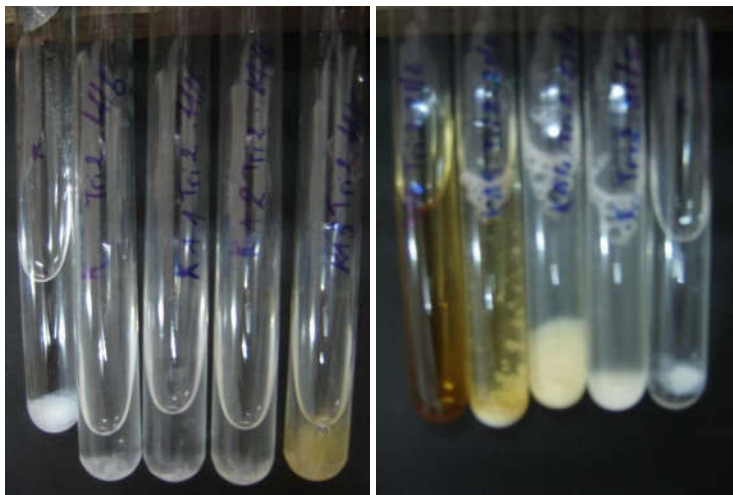
Sau khi khảo sát khả năng thích nghi với muối nhôm sunphat, sắt sunphat tiếp tục tiến hành định danh xác định tên loài của những dòng thích nghi tốt để tiếp tục tiến hành những nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 3.9 Kết quả định danh các dòng VKP 2, 3, 4, 8, 10, 16 trên ngân hàng gen bằng BLAST N

Dòng vi sinh vật	Dòng vi sinh vật trên ngân hàng gen	Số đăng ký	Tổng điểm	Độ xác định (%)
VKP 2	<i>Enterobacter oryzae</i> strain AB285 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	HQ706110.1	850	100
	<i>Enterobacter oryzae</i> strain Ola 01 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	EF488760.1	850	100
	<i>Enterobacter oryzae</i> strain ASAZTS75(1)S 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	JF513178.1	845	99
VKP 3	<i>Enterobacter oryzae</i> strain AB285 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	HQ706110.1	845	100
	<i>Enterobacter oryzae</i> strain Ola 01 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	EF488760.1	845	100
	<i>Enterobacter oryzae</i> strain ASAZTS75(1)S 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	JF513178.1	839	99
VKP 4	<i>Enterobacter cloacae</i> strain FR 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	JF894166.1	846	100
	<i>Enterobacter cloacae</i> strain HG13_4B 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	JN644608.1	846	100
	<i>Enterobacter cloacae</i> strain BP4_7C 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	JN644566.1	846	100
VKP 8	<i>Enterobacter cloacae</i> strain FR 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	JF894166.1	845	100
	<i>Enterobacter cloacae</i> strain HG13_4B 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	JN644608.1	845	100
	<i>Enterobacter cloacae</i> strain BP4_7C 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	JN644566.1	845	100
VKP 10	<i>Pseudomonas stutzeri</i> ATCC 17588 = LMG 11199, complete genome	CP002881.1	3339	100
	<i>Pseudomonas stutzeri</i> gene for 16S rRNA, partial sequence, strain: NBRC	AB680573.1	837	100
	<i>Pseudomonas stutzeri</i> gene for 16S rRNA, partial sequence, strain: NBRC	AB682251.1	837	100
VKP 16	<i>Pseudomonas stutzeri</i> ATCC 17588 = LMG 11199, complete genome	CP002881.1	3309	100
	<i>Pseudomonas stutzeri</i> strain NCG1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	JN712254.1	830	100
	<i>Pseudomonas stutzeri</i> 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	JF970598.1	830	100
VKP 13	<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain VD 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	HQ857583.1	845	100
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain TS2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	JN545039.1	845	100
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain AIMST 8.J1.3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	HQ694443.1	845	100

Bảng 3.10 Kết quả định danh xác định tên loài những dòng vi sinh vật thích nghi tốt với muối nhôm sunphat, sắt sunphat trong khảo sát

Dòng vi sinh vật	Tên loài	Ghi chú
VKP 2	<i>Enterobacter oryzae</i>	
VKP 3	<i>Enterobacter oryzae</i>	
VKP 4	<i>Enterobacter cloacae</i>	
VKP 8	<i>Enterobacter cloacae</i>	
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Dòng nhiễm
VKP 10	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	
VKP 13	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Dòng nhiễm
VKP 16	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	



Hình 1 Đặc điểm phát triển của dòng 8 trên môi trường King's kết hợp với muối nhôm sunphat ở các nồng độ khác nhau.



Hình 2 Đặc điểm phát triển của dòng 2 trên môi trường Pikovskaya kết hợp với muối nhôm sunphat ở các nồng độ khác nhau.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

1. Kết luận

Trong vùng đất phèn Tân Lập, Châu Thành, Tiền Giang, mật độ vi sinh vật cố định đạm và phân giải lân phân bố không đồng đều, nhất là vi sinh vật phân giải lân. Mẫu TLIX và TLX có mật độ vi sinh vật cố định đạm và phân giải lân rất cao so với các mẫu còn lại. Mật độ vi sinh vật giải phóng IAA thấp ở tất cả các mẫu phân tích.

Dòng VSP 2 (*Enterobacter oryzae*) được xác định là có khả năng thích nghi tốt với điều kiện môi trường có muối nhôm sunphat, sắt sunphat ở nồng độ Al là 38,7 g/kg, Fe là 24,2 g/kg.

Trong hai dòng vi sinh vật tổng hợp IAA thì dòng VSP 8 (*Enterobacter cloacae*) thể hiện tính thích nghi với cả 2 muối nhôm sunphat, sắt sunphat tốt hơn dòng VSP 9.

Cả 7 dòng vi sinh vật cố định đạm đều thể hiện tính thích nghi tốt với cả 2 muối nhôm sunphat, sắt sunphat ở nồng độ thí nghiệm.

Kết quả khảo sát cho thấy những dòng vi sinh vật thích nghi tốt với muối nhôm sunphat, sắt sunphat có tiềm năng sử dụng là: *Enterobacter oryzae*, *Enterobacter*

cloacae, *Pseudomonas stutzeri*, *Klebsiella pneumoniae*.

2. Đề nghị

Khảo sát khả năng chịu đựng của những dòng vi sinh vật đối với muối nhôm sunphat kết hợp với muối sắt sunphat.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đào Xuân Học, Hoàng Thái Đại, 2005. *Sử dụng và cải tạo đất phèn đất mặn*. NXB Nông nghiệp Hà Nội.
2. Kaushik B.D, 2004. *Techniques in Microbiology A Lab Manual for Post Graduate students. Division of Microbiology. IARI. New Delhi. 110012*
3. Lê Huy Bá, 2003. *Những vấn đề về đất phèn Nam Bộ*. NXB Đại học quốc gia TP HCM.
4. R.S. Murthy, 1971. *Acid sulfate soil of India*. World soil Resource reports 1971.

Ngày nhận bài: 15/11/2012

Người phản biện: TS. Nguyễn Văn Hoà,
ngày 20/11/2012

Ngày duyệt đăng: 3/12/2012

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU BIỆN PHÁP QUẢN LÝ TỔNG HỢP BỆNH HÉO KHÔ ĐẦU LÁ DỨA (*Ananas comosus*)

Nguyễn Văn Hòa, Trần Thị Mỹ Hạnh,
Nguyễn Thành Hiếu, Nguyễn Ngọc Anh Thư,
Huỳnh Thanh Lộc, Lê Quốc Điền

SUMMARY

Results of studies on intergated pineapple wilt management

The studies were conducted at Plant Protection Division of SOFRI and pineapple growing areas in Tan Phuoc Dist., Tien Giang. The experiments were isolated Paecilomyces fungi and test their parasitization ability on pineapple mealybug and the results shown that there were two strains could be control mealy bug (A - RS M and P - RCC). In other investigation, we aimed to find suitable medium for mass multiplication, results shown that rice powder medium was the best on and could control mealy at the rate of 30-40g per 10 liters of water which could kill over 46-50% of Pseudococcus on pineapple only at 7 days after treating under laboratory conditions. The product was named as SOFRI-Paecilomyces, which could be used for further studies.