

XÁC ĐỊNH ẨM ĐỘ PHÙ HỢP CHO VẬT LIỆU TRONG QUÁ TRÌNH SẢN XUẤT CHẾ PHẨM VI SINH CHỨA CÁC DÒNG VI KHUẨN CỐ ĐỊNH ĐẠM NỘI SINH TỪ RỄ CÂY BẮP LAI

Lý Ngọc Thanh Xuân¹, Trần Chí Nhân¹, Mai Chí Bảo¹, Trần Minh Quốc¹,
Nguyễn Tuấn Anh², Nguyễn Huỳnh Minh Anh², Nguyễn Quốc Khương^{2,*}

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm xác định ẩm độ phù hợp cho vật liệu để ủ chế phẩm vi sinh chứa các dòng vi khuẩn cố định đạm nội sinh từ rễ cây bắp nhằm cung cấp N, P cho cây trồng. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 chế phẩm chứa vi khuẩn cố định đạm (trên nền chất mang là thân, lá bắp: tro trấu ủ theo tỷ lệ 4: 1 đã khử trùng và sấy khô kiệt): Chế phẩm 1 bổ sung các vi khuẩn gồm AG-VR-B-07, AG-VR-B-17, AG-VR-B-28 và AG-VR-B-43; chế phẩm 2 gồm AG-NS-B-13, AG-NS-B-21, AG-NS-B-48 và AG-NS-B-40; chế phẩm 3 gồm AG-VR-B-07, AG-VR-B-17, AG-VR-B-28, AG-NS-B-13, AG-NS-B-21, AG-NS-B-48, AG-VR-B-43 và AG-NS-B-40 với tương ứng 4 nghiệm thức độ ẩm: 40, 50, 60 và 70% cho mỗi chế phẩm. Sau 8 tuần ủ, kết quả cho thấy, chế phẩm 3 chứa các dòng vi khuẩn cố định đạm và tổng hợp IAA: AG-VR-B-07, AG-VR-B-17, AG-VR-B-28, AG-NS-B-13, AG-NS-B-21, AG-NS-B-48, AG-VR-B-43 và AG-NS-B-40 ở điều kiện ẩm độ 60% duy trì mật số vi khuẩn cao nhất đạt $3,41 \times 10^6$ CFU/g. Hàm lượng đạm, lân và các bon tổng số là 4,48, 0,86 và 25,4%, theo thứ tự và tỷ số C/N là 5,67. Vì vậy, ẩm độ 60% là phù hợp nhất đối với quy trình sản xuất chế phẩm vi khuẩn cố định đạm nội sinh từ rễ cây bắp.

Từ khóa: *Bắp lai, chế phẩm vi sinh, ẩm độ, vi khuẩn cố định đạm nội sinh.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, lượng phân đạm khuyến cáo cho cây bắp lai rất lớn lên đến khoảng 200 kg N/ha [1]. Tuy nhiên, sử dụng lượng lớn phân đạm gây ra ô nhiễm môi trường [2] và phát thải khí nhà kính [3]. Vì vậy, sử dụng nguồn đạm sinh học để giảm lượng phân đạm vô cơ là cần thiết [4], [5]. Một số kết quả nghiên cứu trên cây bắp lai ở đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) cho thấy, đã phân lập được 16 dòng vi khuẩn cố định đạm từ rễ cây bắp lai [6], trong đó 2 dòng AG-VR-B-17 và AG-VR-B-28 có tiềm năng để phát triển thành chế phẩm sinh học. Ngoài khả năng cố định đạm, vi khuẩn nội sinh được phân lập từ vùng rễ cây bắp có khả năng hòa tan các dạng lân,

tổng hợp chất kích thích sinh trưởng thực vật IAA, thích ứng với pH thấp và chống chịu điều kiện bất lợi [7]. Ngoài ra, 2 dòng vi khuẩn *Bacillus aryabhattai* ADR3 và *Klebsiella pneumoniae* DNR5 giúp giảm đến 25% lượng phân đạm cho cây bắp lai [8]. Mặt khác, sử dụng chế phẩm vi sinh để các dòng vi khuẩn này có thể tồn tại và tăng mật số trong đất, điều kiện chất mang và chất nền phù hợp. Trong đó, ẩm độ là yếu tố rất quan trọng trong ủ phân, tăng hoạt động trao đổi chất của vi sinh vật và vật liệu ủ được duy trì trong khoảng 40 - 60% [9]. Ẩm độ cao làm giảm sự trao đổi khí, dẫn đến thiếu oxy, thoát nhiệt kém. Tuy nhiên, ẩm độ thấp có thể dẫn đến hạn chế sự phát triển của vi sinh vật [10]. Đối với chế phẩm vi sinh, ẩm độ phù hợp giúp duy trì mật số trong thời gian dài là trở ngại lớn vì thông thường sau từ 1 - 6 tháng hoạt tính của các vi sinh vật trong chế phẩm giảm mạnh [11]. Do đó, nghiên cứu để xác định điều kiện ẩm độ

¹ Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

² Khoa Khoa học cây trồng, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

* Email: ngkhuong@ctu.edu.vn

phù hợp trong quá trình sản xuất chế phẩm vi sinh là quan trọng trong phát triển chế phẩm sinh học. Vì vậy, nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định điều kiện ẩm độ phù hợp để sản xuất chế phẩm vi sinh chứa các dòng vi khuẩn cố định đạm nội sinh từ rễ cây bắp.

2. PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Phương tiện

Thí nghiệm được thực hiện tại Khu Thí nghiệm - Thực hành, Trường Đại học An Giang từ tháng 2/2022 đến tháng 5/2022.

Thân, lá bắp vào thời điểm thu hoạch được thu thập tại huyện Chợ Mới, tỉnh An Giang: Mẫu bắp được cắt nhỏ, sấy khô, nghiền mịn và rây qua rây 0,5 mm. Tro trấu được thu mua: Được ngâm 1 giờ trong nước, xả lại 1 - 2 lần để giảm độ mặn, sấy khô qua máy sấy và rây mịn qua rây 0,5 mm.

Nguồn vi khuẩn: AG-VR-B-07, AG-VR-B-28, AG-NS-B-21, AG-NS-B-48, AG-NS-B-08 và AG-NS-B-10 thuộc chi *Enterobacter* spp. và AG-VR-B-17, AG-NS-B-13, AG-VR-B-14, AG-VR-B-15, AG-VR-B-56, AG-VR-B-19, AG-NS-B-18, AG-VR-B-43 và AG-NS-B-40 thuộc chi *Burkholderia* spp..

2.2. Phương pháp

Xử lý vật liệu ủ

Thân, lá bắp: tro trấu ủ theo tỷ lệ 4: 1 vào các túi mỗi túi 100 g, sau đó thanh trùng ở 121°C trong 30 phút và cho vào tủ sấy để sấy ở 65°C đến khô kiệt, tạo thành chất mang.

Nhân mật số vi khuẩn

Nhân mật số các dòng vi khuẩn đã tuyển chọn trong môi trường Burk và NFB lỏng tương ứng với

môi trường phân lập trong điều kiện pH 6,5 - 7,2. Ủ vi khuẩn ở điều kiện hao khí trong 48 - 72 giờ trong máy lắc với tốc độ 120 vòng/phút ở 30°C. Sau đó, kiểm tra mật số vi khuẩn và điều chỉnh về 10⁶ CFU/mL tương đương với OD 660 nm = 2,0 mg/L trên máy đo quang phổ UV-Vis Jasco 730, tạo thành dịch vi khuẩn.

Ủ mẫu

Vật liệu được hấp tiệt trùng ở 121°C trong 30 phút và sau đó vật liệu được sấy khô ở 65°C. Sau khi sấy khô, xác định ẩm độ bằng phương pháp sấy. Để ủ chế phẩm ở các mức ẩm độ khác nhau (ẩm độ từ 40 - 70%) (Bảng 1). Thêm trước 50 mL vi khuẩn vào các túi ủ, tương đương với mật số vi khuẩn là 0,33 x 10⁶ CFU/g trong mỗi túi, sau đó thêm lượng nước cất để đạt được mức ẩm độ cần thiết với mật số vi khuẩn đồng đều nhau.

Bảng 1. Lượng dung dịch vi khuẩn cần bổ sung để đạt ẩm độ cần thiết

Lượng chất mang (g)	Lượng dịch vi khuẩn (mL)	Yêu cầu ẩm độ (%)
100	67	40
100	100	50
100	150	60
100	233	70

Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, bao gồm 4 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức có 3 lần lặp lại, mỗi lặp lại là 1 túi chế phẩm. Chế phẩm 2 và 3 được thiết kế tương tự (Bảng 2).

Bảng 2. Các nghiệm thức cho 3 chế phẩm chứa vi khuẩn nội sinh cố định đạm được phân lập từ cây bắp

Chế phẩm	Ẩm độ (%)	Vi khuẩn
Chế phẩm 1	40	+ Cố định đạm: AG-VR-B-07, AG-VR-B-17 và AG-VR-B-28 + Tổng hợp IAA: AG-VR-B-43
	50	
	60	
	70	
Chế phẩm 2	40	+ Cố định đạm: AG-NS-B-13, AG-NS-B-21 và AG-NS-B-48

	50	+ Tổng hợp IAA: AG-NS-B-40
	60	
	70	
Chế phẩm 3	40	+ Cố định đạm: AG-VR-B-07, AG-VR-B-17, AG-VR-B-28, AG-NS-B-13, AG-NS-B-21 và AG-NS-B-48
	50	
	60	+ Tổng hợp IAA: AG-VR-B-43 và AG-NS-B-40
	70	

Chỉ tiêu theo dõi

Xác định tỷ lệ C/N, hàm lượng N, P, K, C và mật số vi khuẩn vào tuần thứ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 và 8 sau khi ủ.

Các chỉ tiêu phân tích: Hàm lượng đạm tổng số (%) được thực hiện theo phương pháp chưng cất Kjeldahl. Hàm lượng lân tổng số P_2O_5 (%) được đo bằng phương pháp so màu. Hàm lượng kali tổng số K_2O (%) được đo bằng máy hấp thụ nguyên tử.

Hàm lượng phần trăm các bon được xác định bằng phương pháp cân khối lượng.

Xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm SPSS 16.0 so sánh khác biệt trung bình và phân tích phương sai bằng kiểm định Duncan.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Mật số vi khuẩn (MSVK) trong các chế phẩm vi sinh chứa vi khuẩn cố định đạm

Bảng 3. Mật số vi khuẩn (10^6 CFU/g) trong 3 chế phẩm chứa vi khuẩn cố định đạm

Chế phẩm	Ẩm độ (%)	Thời gian ủ (tuần)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Chế phẩm 1	40	0,88 ^c	1,07 ^c	1,15 ^c	1,24 ^c	1,41 ^c	1,75 ^c	2,24	2,29 ^c
	50	1,19 ^b	1,44 ^b	1,66 ^b	1,77 ^b	1,86 ^b	2,18 ^b	2,21	2,25 ^c
	60	1,73 ^a	1,86 ^a	2,21 ^a	2,28 ^a	2,48 ^a	2,53 ^a	2,69	2,88 ^a
	70	1,25 ^b	1,51 ^b	1,86 ^{ab}	2,38 ^a	2,46 ^a	2,48 ^a	2,51	2,64 ^b
Chế phẩm 2	40	1,30 ^b	1,64	1,98	2,12 ^b	2,22	2,30 ^b	2,35	2,40 ^b
	50	1,44 ^a	1,73	1,89	1,92 ^c	2,39	2,49 ^a	2,60	2,63 ^b
	60	1,01 ^d	1,88	1,96	2,02 ^{bc}	2,32	2,64 ^a	2,85	3,13 ^a
	70	1,16 ^c	1,65	1,87	2,30 ^a	2,35	2,63 ^a	2,91	3,03 ^a
Chế phẩm 3	40	1,23	1,74 ^b	1,86 ^b	1,99	2,13 ^d	2,40 ^c	2,45 ^c	2,50 ^a
	50	1,25	2,04 ^a	2,33 ^a	2,56	2,67 ^b	2,72 ^b	2,78 ^{bc}	2,88 ^b
	60	1,31	1,87 ^b	2,42 ^a	2,73	3,04 ^a	3,25 ^a	3,39 ^a	3,41 ^a

	70	1,25	1,77 ^b	2,25 ^a	2,39	2,51 ^c	2,56 ^{bc}	2,89 ^b	3,23 ^a
Mức ý nghĩa chế phẩm 1	*	*	*	*	*	*	*	ns	*
Mức ý nghĩa chế phẩm 2	*	ns	ns	*	ns	*	*	ns	*
Mức ý nghĩa chế phẩm 3	ns	*	*	ns	*	*	*	*	*
CV ₁ % chế phẩm 1	2,82	3,89	13,2	6,58	6,48	3,48	14,4	3,29	
CV ₂ % chế phẩm 2	5,95	7,88	5,68	3,60	5,39	3,74	10,3	6,77	
CV ₃ % chế phẩm 3	12,0	4,85	7,59	16,4	2,73	5,49	6,41	4,45	

*Ghi chú: Trong các ký tự theo sau các số trung bình giống nhau thì không có khác biệt ý nghĩa thống kê, * khác biệt ý nghĩa 5%, ns không có sự khác biệt.*

Bảng 3 cho thấy, từ tuần thứ 1 đến tuần thứ 6 sau ủ, MSVK trong chế phẩm 1 chứa các dòng vi khuẩn cố định đạm và tổng hợp IAA khác biệt có ý nghĩa thống kê 5%, dao động 0,88 - 2,53 x 10⁶ CFU/g. Tương tự, MSVK khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% ở tuần thứ 1, 4, 6 đối với chế phẩm 2 chứa các dòng vi khuẩn cố định đạm và tuần thứ 2, 3, 5, 6, 7 trong chế phẩm 3 chứa các dòng vi khuẩn cố định đạm với MSVK dao động 1,01 - 2,64 và 1,74 - 3,39 x 10⁶ CFU/g.

Tại thời điểm tuần thứ 8 sau ủ, chế phẩm 1 có MSVK khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% giữa các

mức ẩm độ, dao động 2,25 - 2,88 x 10⁶ CFU/g. Trong đó, MSVK trong chế phẩm 1 ở mức ẩm độ 40 và 50%, với 2,29 và 2,25 x 10⁶ CFU/g thấp hơn so với mức ẩm độ 60 và 70%, với 2,88 và 2,64 x 10⁶ CFU/g, theo thứ tự. Tương tự, MSVK trong chế phẩm 2 với ẩm độ 40 và 50% (2,40 và 2,63 x 10⁶ CFU/g) thấp hơn so với MSVK ở điều kiện ẩm độ 60 và 70% (3,13 và 3,03 x 10⁶ CFU/g). Kết quả trên cho thấy, ở mức ẩm độ 60% trong chế phẩm 3 có MSVK cao nhất, với 3,41 x 10⁶ CFU/g (Bảng 3).

3.2. Hàm lượng đạm tổng số trong các chế phẩm vi sinh chứa vi khuẩn cố định đạm

Bảng 4. Hàm lượng đạm tổng số (%) trong 3 chế phẩm chứa vi khuẩn cố định đạm

Chế phẩm	Ẩm độ (%)	Thời gian ủ (tuần)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Chế phẩm 1	40	1,78	2,05	2,10	2,11 ^c	2,47 ^b	2,53 ^c	3,14	3,40
	50	1,78	2,08	2,13	2,29 ^b	2,67 ^{ab}	2,78 ^{bc}	3,15	3,39
	60	1,83	2,00	2,15	2,67 ^a	2,89 ^a	3,10 ^a	3,33	3,53
	70	1,89	2,11	2,12	2,36 ^b	2,72 ^a	2,91 ^{ab}	3,15	3,40
Chế phẩm 2	40	1,66 ^c	1,92 ^b	2,30	2,59	2,71	2,86	2,95	3,18
	50	1,80 ^b	1,84 ^b	1,86	2,67	2,72	2,79	3,03	3,27
	60	1,91 ^a	1,84 ^b	1,93	2,67	2,77	2,98	3,17	3,43

	70	1,84 ^{ab}	2,08 ^a	2,23	2,37	2,50	2,79	3,06	3,31
Chế phẩm 3	40	1,82 ^b	2,04 ^c	2,36 ^a	2,49 ^c	2,63 ^b	2,66 ^d	2,99 ^c	3,23 ^c
	50	1,81 ^b	2,08 ^c	2,56 ^b	2,77 ^{bc}	3,02 ^b	3,12 ^c	3,25 ^c	3,51 ^b
	60	1,95 ^a	2,32 ^b	2,80 ^a	3,71 ^a	3,79 ^a	3,95 ^a	4,24 ^a	4,48 ^a
	70	1,91 ^a	2,47 ^a	2,77 ^a	2,99 ^b	3,52 ^a	3,69 ^b	3,83 ^b	4,35 ^a
Mức ý nghĩa chế phẩm 1		ns	ns	ns	*	*	*	ns	ns
Mức ý nghĩa chế phẩm 2		*	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Mức ý nghĩa chế phẩm 3		*	*	*	*	*	*	*	*
CV ₁ % chế phẩm 1		2,91	2,25	6,24	1,88	4,65	4,65	3,79	7,56
CV ₂ % chế phẩm 2		1,94	3,72	7,31	7,39	5,50	4,11	3,34	5,15
CV ₃ % chế phẩm 3		2,20	3,14	2,84	5,18	7,25	3,14	3,88	3,81

*Ghi chú: Trong các ký tự theo sau các số trung bình giống nhau thì không có khác biệt ý nghĩa thống kê, * khác biệt ý nghĩa 5%, ns không có sự khác biệt.*

Bảng 4 cho thấy, hàm lượng N tổng số trong chế phẩm 1 khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở tuần thứ 1, 2, 3, 7 và 8 sau ủ. Mặt khác, từ tuần thứ 4 đến tuần thứ 6 sau ủ, với ẩm độ 60% hàm lượng N tổng số trong chế phẩm 1 khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% và đạt cao nhất 3,10%.

Hàm lượng N tổng số trong chế phẩm 2 khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% ở tuần thứ 1 và thứ 2 sau ủ, với hàm lượng N tổng số dao động 1,66 - 2,08%. Sáu tuần kế tiếp sau ủ, hàm lượng N tổng số

tương đương nhau giữa các nghiệm thức trong chế phẩm 2 với 4 mức ẩm độ 40, 50, 60 và 70%, với hàm lượng dao động 1,86 - 3,43% (Bảng 4).

Chế phẩm 3 ủ với 4 mức ẩm độ khác nhau có hàm lượng N tổng số khác biệt có ý nghĩa thống kê 5%, dao động 1,81 - 4,48%. Trong 8 tuần khảo sát sau ủ, tuần thứ 8 có hàm lượng N tổng số cao nhất 4,48% với mức ẩm độ 60% có trong chế phẩm 3 (Bảng 4).

3.3. Hàm lượng lân tổng số trong các chế phẩm vi sinh chứa vi khuẩn cố định đạm

Bảng 5. Hàm lượng lân tổng số (%) trong ba chế phẩm chứa vi khuẩn cố định đạm

Chế phẩm	Ẩm độ (%)	Thời gian ủ (tuần)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Chế phẩm 1	40	0,21	0,24	0,28 ^b	0,44 ^a	0,49 ^a	0,51	0,53	0,71 ^b
	50	0,23	0,24	0,29 ^{ab}	0,34 ^b	0,42 ^b	0,51	0,55	0,79 ^a
	60	0,21	0,25	0,30 ^a	0,43 ^a	0,49 ^a	0,51	0,53	0,78 ^a

	70	0,22	0,25	0,29 ^{ab}	0,44 ^a	0,45 ^{ab}	0,49	0,51	0,78 ^a
Chế phẩm 2	40	0,22	0,23	0,28 ^b	0,43 ^a	0,45	0,48	0,53	0,81
	50	0,21	0,24	0,27 ^b	0,44 ^a	0,47	0,49	0,51	0,81
	60	0,22	0,25	0,31 ^a	0,39 ^b	0,47	0,49	0,51	0,77
	70	0,21	0,24	0,31 ^a	0,41 ^a	0,47	0,50	0,54	0,83
Chế phẩm 3	40	0,22	0,25	0,37 ^b	0,45	0,48	0,50	0,57 ^b	0,82 ^{bc}
	50	0,22	0,24	0,40 ^a	0,43	0,46	0,49	0,52 ^c	0,78 ^a
	60	0,22	0,26	0,34 ^c	0,43	0,45	0,48	0,50 ^c	0,86 ^{ab}
	70	0,23	0,26	0,33 ^c	0,41	0,45	0,49	0,69 ^a	0,89 ^a
Mức ý nghĩa chế phẩm 1		ns	ns	*	*	*	ns	ns	*
Mức ý nghĩa chế phẩm 2		ns	ns	*	*	ns	ns	ns	ns
Mức ý nghĩa chế phẩm 3		ns	ns	*	ns	ns	ns	*	*
CV ₁ % chế phẩm 1		4,62	4,45	2,42	4,72	5,83	1,98	3,13	3,74
CV ₂ % chế phẩm 2		8,29	3,97	4,85	3,39	7,00	3,72	4,18	6,56
CV ₃ % chế phẩm 3		4,69	4,85	2,78	4,32	5,04	2,50	2,43	3,83

*Ghi chú: Trong các ký tự theo sau các số trung bình giống nhau thì không có khác biệt ý nghĩa thống kê, * khác biệt ý nghĩa 5%, ns không có sự khác biệt.*

Bảng 5 cho thấy, hàm lượng P tổng số khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% giữa các nghiệm thức trong 3 chế phẩm vi sinh chứa vi khuẩn cố định đạm ở tuần thứ 3 sau ủ, với hàm lượng P tổng số dao động 0,27 - 0,40% và đạt cao nhất 0,40% trong chế phẩm 3 với mức ẩm độ 50%. Mặt khác, hàm lượng P tổng số khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% giữa các nghiệm thức trong chế phẩm 1 và 2 ở tuần thứ 4 sau ủ. Bên cạnh đó, ở tuần thứ 5 và 7 sau ủ, hàm lượng P tổng số khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% trong chế phẩm 1 và 3, với hàm lượng P tổng số dao động 0,42 - 0,49% và 0,50 - 0,69%, theo thứ tự. Đối với tuần thứ 8 sau ủ, hàm lượng P tổng số khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% giữa các nghiệm thức trong chế phẩm 1 và 3, dao động 0,71 - 0,89%. Đồng thời, hàm lượng P tổng số đạt cao

nhất 0,89% trong chế phẩm 3 với ẩm độ 70%. Trong khi đó, chế phẩm 2 có hàm lượng P tổng số tương đương giữa các mức ẩm độ, dao động 0,77 - 0,83%.

3.4. Hàm lượng các bon tổng số trong các chế phẩm vi sinh chứa vi khuẩn cố định đạm

Từ tuần thứ 1 đến tuần thứ 7 sau ủ, hàm lượng C tổng số khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% giữa các nghiệm thức ở cả 3 chế phẩm chứa vi khuẩn cố định đạm. Trong đó, hàm lượng C tổng số đạt thấp nhất 29,4% C và cao nhất 51,8% C tương ứng ở tuần thứ 7 sau ủ đối với chế phẩm 3 ở mức ẩm độ 70% và ở tuần thứ 1 sau ủ đối với chế phẩm 1 với ẩm độ 40%. Mặt khác, tuần thứ 5 sau ủ có hàm lượng C tổng số ở chế phẩm 1 khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các mức ẩm độ, dao động 34,6 - 36,4% C (Bảng 6).

Bảng 6. Hàm lượng các bon tổng số (%) trong 3 chế phẩm chứa vi khuẩn cố định đạm

Chế phẩm	Ẩm độ (%)	Thời gian ủ (tuần)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Chế phẩm 1	40	51,8 ^a	48,1 ^a	45,0 ^a	42,4 ^a	37,3	36,4 ^a	33,0 ^a	27,6 ^a
	50	49,2 ^b	46,7 ^b	43,7 ^b	41,8 ^b	36,6	34,8 ^b	32,1 ^a	26,7 ^{ab}
	60	49,7 ^b	46,3 ^b	40,4 ^c	37,7 ^c	36,7	34,7 ^b	30,4 ^b	26,9 ^{ab}
	70	46,7 ^c	43,4 ^c	39,4 ^d	37,6 ^c	36,6	34,6 ^b	30,7 ^b	26,0 ^b
Chế phẩm 2	40	51,0 ^a	47,5 ^a	44,5 ^a	43,0 ^a	42,0 ^a	38,0 ^a	35,9 ^a	32,1 ^a
	50	50,2 ^{ab}	46,5 ^{ab}	41,1 ^b	39,2 ^b	38,2 ^b	36,4 ^b	34,9 ^{ab}	29,5 ^d
	60	48,1 ^c	46,4 ^b	39,5 ^c	38,3 ^c	37,3 ^c	35,0 ^c	33,3 ^c	31,2 ^b
	70	49,3 ^b	45,1 ^c	39,0 ^c	38,6 ^c	37,6 ^c	35,5 ^c	33,9 ^{bc}	30,2 ^c
Chế phẩm 3	40	50,2 ^a	47,6 ^a	43,7 ^a	42,1 ^a	40,3 ^a	36,8 ^a	33,0 ^a	27,2 ^a
	50	48,7 ^b	46,2 ^b	40,6 ^b	37,8 ^b	36,7 ^b	34,5 ^b	30,6 ^b	27,1 ^a
	60	47,0 ^c	44,5 ^c	40,1 ^b	35,6 ^c	34,5 ^c	32,6 ^c	29,2 ^c	25,4 ^c
	70	46,9 ^c	43,9 ^c	39,7 ^b	34,9 ^c	33,8 ^c	32,8 ^c	29,4 ^c	26,0 ^b
Mức ý nghĩa chế phẩm 1		*	*	*	*	ns	*	*	*
Mức ý nghĩa chế phẩm 2		*	*	*	*	*	*	*	*
Mức ý nghĩa chế phẩm 3		*	*	*	*	*	*	*	*
CV ₁ % chế phẩm 1		1,18	1,37	0,50	0,73	1,07	1,42	1,82	1,96
CV ₂ % chế phẩm 2		1,10	1,10	1,13	0,83	0,86	1,32	2,18	1,10
CV ₃ % chế phẩm 3		0,92	0,77	2,27	1,64	1,11	1,33	1,28	1,09

*Ghi chú: Trong các ký tự theo sau các số trung bình giống nhau thì không có khác biệt ý nghĩa thống kê, * khác biệt ý nghĩa 5%, ns không có sự khác biệt.*

Bảng 6 cho thấy, ở tuần thứ 8 sau ủ, trong 3 thấp hơn so với 7 tuần còn lại. Trong đó, hàm chế phẩm vi sinh, hàm lượng C tổng số khác biệt lượng C tổng số trong chế phẩm 1 và 3 tương có ý nghĩa thống kê 5%, dao động 25,4 - 32,1% C và đương nhau, dao động 26,7 - 27,6% C và 26,0% C

tương ứng ở mức ẩm độ 40, 50 và 70%. Trong khi đó, với mức ẩm độ 50% chế phẩm 2 có hàm lượng C tổng số thấp hơn so với chế phẩm 1 và 3, với giá trị 29,5, 26,7 và 27,1% C, theo thứ tự. Ngoài ra, hàm

lượng C tổng số đạt 25,4% C thấp nhất đối với chế phẩm 3 với mức ẩm độ 60%.

3.5. Tỷ số C/N của các chế phẩm vi sinh chứa vi khuẩn cố định đạm

Bảng 7. Tỷ số C/N của 3 chế phẩm vi sinh chứa vi khuẩn cố định đạm

Chế phẩm	Ẩm độ (%)	Thời gian ủ (tuần)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Chế phẩm 1	40	29,1 ^a	23,5 ^a	21,4	20,1 ^a	15,2 ^a	14,4 ^a	10,5 ^a	8,15
	50	27,7 ^{ab}	22,5 ^a	20,6	18,3 ^b	13,7 ^b	12,5 ^b	10,2 ^a	7,93
	60	27,2 ^b	23,2 ^a	18,9	14,1 ^d	12,7 ^b	11,2 ^c	9,16 ^c	7,65
	70	24,7 ^c	20,6 ^b	18,6	16,0 ^c	13,5 ^b	11,9 ^{bc}	9,77 ^{ab}	7,68
Chế phẩm 2	40	30,8 ^a	24,7 ^a	19,4	16,7	15,5	13,3 ^a	12,2 ^a	10,1
	50	27,9 ^b	25,3 ^a	22,1	14,7	14,1	13,1 ^a	11,5 ^{ab}	9,05
	60	25,2 ^d	25,2 ^a	20,5	14,4	13,5	11,8 ^c	10,5 ^c	9,14
	70	26,7 ^c	21,7 ^b	17,7	16,4	15,1	12,8 ^{ab}	11,1 ^{bc}	9,14
Chế phẩm 3	40	27,6 ^a	23,4 ^a	18,5 ^a	16,9 ^a	15,4 ^a	13,8 ^a	11,1 ^a	8,45 ^a
	50	26,9 ^a	22,2 ^a	15,8 ^b	13,6 ^b	12,2 ^b	11,1 ^b	9,45 ^b	7,75 ^b
	60	24,1 ^b	19,2 ^b	14,3 ^b	9,63 ^d	9,12 ^c	8,26 ^c	6,89 ^d	5,67 ^c
	70	24,6 ^b	17,8 ^c	14,3 ^b	11,7 ^c	9,67 ^c	8,91 ^c	7,69 ^c	5,97 ^c
Mức ý nghĩa chế phẩm 1		*	*	ns	*	*	*	*	ns
Mức ý nghĩa chế phẩm 2		*	*	ns	ns	ns	*	*	ns
Mức ý nghĩa chế phẩm 3		*	*	*	*	*	*	*	*
CV ₁ % chế phẩm 1		3,39	2,64	6,15	1,97	4,86	4,26	4,21	8,43
CV ₂ % chế phẩm 2		1,66	4,25	7,80	7,65	5,58	4,46	3,76	5,31
CV ₃ % chế phẩm 3		2,11	3,28	5,32	4,49	6,56	4,10	3,98	5,17

*Ghi chú: Trong các ký tự theo sau các số trung bình giống nhau thì không có khác biệt ý nghĩa thống kê, * khác biệt ý nghĩa 5 %, ns không có sự khác biệt*

Bảng 7 cho thấy, từ tuần thứ 1 đến tuần thứ 6 sau ủ, chế phẩm 1 và 3 có tỷ số C/N khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% giữa các nghiệm thức, dao động 11,1 - 29,1, ngoại trừ chế phẩm 1 ở tuần thứ 3 sau ủ có tỷ số C/N tương đương nhau. Tương tự, chế phẩm 2 có tỷ số C/N khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% ở tuần thứ 1, 2 và 6 sau ủ với mức ẩm độ 40, 50, 60 và 70%, dao động 11,8 - 30,8. Vào tuần thứ 7 sau ủ, cả ba chế phẩm có tỷ số C/N khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% với các mức ẩm độ 40, 50, 60 và 70%, dao động 6,89 - 12,2. Trong đó, chế phẩm 1 và 2 với điều kiện ẩm độ 40 và 50 có tỷ số C/N tương đương nhau, dao động 10,2 - 12,2 và cao hơn so với các nghiệm thức ở mức ẩm độ 60 và 70%, dao động 9,16 - 11,1. Mặt khác, tỷ số C/N trong chế phẩm 3 ở mức ẩm độ 60% là 6,89 thấp hơn so với mức ẩm độ 40, 50 và 70%, với 11,1, 9,45 và 7,69, theo thứ tự. Vào tuần thứ 8 sau ủ, chế phẩm 3 có tỷ số C/N khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% giữa các mức ẩm độ, dao động 5,67 - 8,45.

3.6. Thảo luận

Ẩm độ 60% là phù hợp sản xuất chế phẩm vi sinh với chất mang từ bắp và tro trấu chứa các dòng vi khuẩn có khả năng cố định đạm. Trong đó, chế phẩm 3 có mật số vi khuẩn cao nhất với giá trị là $3,41 \times 10^6$ CFU/g (Bảng 3). Trong quá trình ủ sản xuất chế phẩm vi sinh cần lượng nước cao cho tiến trình sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật [12]. Tuy nhiên, ẩm độ quá cao làm giảm sự thoát khí dẫn đến sự vận chuyển oxy trong chất nền giảm xuống [13].

Các chế phẩm chứa những dòng vi khuẩn cố định N nội sinh cây bắp đều có khả năng tăng hàm lượng N và P tổng số trong chế phẩm ở các mức ẩm độ khác nhau, dao động 1,66 - 4,48% và 0,21 - 0,89% từ tuần thứ 1 đến tuần thứ 8 sau ủ (Bảng 4 và 5). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Phibunwatthanawong và Riddech (2019) [14], hàm lượng N tổng số tăng dần theo thời gian ủ do hoạt động của vi sinh vật cố định đạm trong quá trình ủ chế phẩm hữu cơ vi sinh dạng lỏng. Đồng thời, sử dụng chất nền là vật liệu hữu cơ và bổ sung vi sinh vật cố định đạm đã phân giải thành các dạng đạm dễ đồng hóa giúp cây trồng dễ hấp thu [15].

Bảng 6 cho thấy, ở 3 chế phẩm chứa các dòng vi khuẩn nội sinh cố định N giảm hàm lượng C tổng số theo thời gian từ tuần thứ 1 đến tuần thứ 8. Hàm lượng C tổng số có trong chế phẩm dao động 25,4 - 51,8% C từ tuần thứ 1 đến tuần thứ 8. Đối với 4 mức ẩm độ được khảo sát đều cho thấy khả năng phân giải C ở mức ẩm độ 70% là tốt nhất và chế phẩm đạt hàm lượng C tổng số cao nhất là chế phẩm 3. Theo Phibunwatthanawong và Riddech (2019) [14], sau 30 ngày ủ hàm lượng C tổng số giảm khi quá trình ủ hoàn tất. Do trong quá trình ủ, vi sinh vật đã sử dụng C để tạo ra nguồn năng lượng và chất dinh dưỡng cho hoạt động sống [16].

Tỷ số C/N là yếu tố quan trọng trong quá trình ủ [17]. Sau 8 tuần ủ, tỷ số C/N trong cả ba chế phẩm có xu hướng giảm dần và đạt thấp nhất 5,67 ở chế phẩm 3 với ẩm độ 60% (Bảng 7). Qua đó, phù hợp với kết quả của Phibunwatthanawong và Riddech (2019) [14], có tỷ số C/N thấp hơn 20 ở ngày thứ 30 trong ủ chế phẩm vi sinh dạng lỏng.

4. KẾT LUẬN

Chế phẩm 3 (trên nền chất mang là thân, lá bắp: tro trấu ủ theo tỷ lệ 4: 1 đã khử trùng và sấy khô kiệt) chứa các dòng vi khuẩn cố định đạm và tổng hợp IAA: AG-VR-B-07, AG-VR-B-17, AG-VR-B-28, AG-NS-B-13, AG-NS-B-21, AG-NS-B-48, AG-VR-B-43 và AG-NS-B-40 ở điều kiện ẩm độ 60% duy trì mật số vi khuẩn cao nhất đạt $3,41 \times 10^6$ CFU/g sau 8 tuần ủ. Hàm lượng đạm, lân và các bon tổng số là 4,48, 0,86 và 25,4%, theo thứ tự và tỷ số C/N là 5,67. Như vậy, ẩm độ 60% là phù hợp nhất đối với quy trình sản xuất chế phẩm vi khuẩn cố định đạm nội sinh từ rễ cây bắp.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh trong khuôn khổ đề tài mã số C2021-16-05.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Quốc Khương, Trần Ngọc Hữu, Lý Ngọc Thanh Xuân, Tôn Long Trường, Nguyễn Thành Triệu, Phan Thành Tùng, Ngô Ngọc Hưng (2017). So sánh bón đa lượng - trung lượng đến sinh trưởng và năng suất bắp lai (*Zea mays* L.) trên

đất phù sa không bồi và đất phù sa bồi ở đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học Đất*, 50, 26 - 35.

2. Wang, X., Fan, J., Xing, Y., Xu, G., Wang, H., Deng, J., Wang, Y., Zhang, F., Li, P., & Li, Z. (2019). The effects of mulch and nitrogen fertilizer on the soil environment of crop plants. *Advances in Agronomy*, 153, 121-173.

3. Nguyễn Quốc Khương, Ngô Ngọc Hưng (2016). Ảnh hưởng của bón phân rom hữu cơ vi sinh đến phát thải khí CH₄, N₂O và năng suất lúa trong nhà lưới. *Tạp chí Khoa học Đất*. Số 47: 54 - 59.

4. Lý Ngọc Thanh Xuân, Phạm Duy Tiên, Lê Vinh Thúc, Nguyễn Quốc Khương (2019). Hiệu quả của chế phẩm hữu cơ vi sinh chứa bốn dòng vi khuẩn *Rhodopseudomonas* sp., đối với hấp thu đạm, nhôm và sắt trong hạt lúa trồng trên đất phèn huyện Phụng Hiệp, tỉnh Hậu Giang ở điều kiện nhà lưới. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 55 (Chuyên đề Công nghệ Sinh học), 133 - 140.

5. Nguyễn Quốc Khương, Trần Ngọc Hữu, Lê Thị Mỹ Thu, Nguyễn Hồng Huế, Lê Vinh Thúc, Trần Chí Nhân, Nguyễn Minh Châu, Lý Ngọc Thanh Xuân (2021). Hiệu quả của chế phẩm vi sinh chứa vi khuẩn hòa tan lân đến cải thiện sinh trưởng và năng suất ngô lai trồng trên đất phù sa trong đê tại huyện Châu Phú, tỉnh An Giang trong điều kiện nhà lưới. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 19 (9), 1135-1142.

6. Nguyễn Quốc Khương, Lê Vinh Thúc, Trần Ngọc Hữu, Nguyễn Thị Thái Lê, Lâm Dư Mẫn, Trần Hoàng Em, Trần Chí Nhân, Nguyễn Thị Thanh Xuân, Lý Ngọc Thanh Xuân (2019). Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn có khả năng cố định đạm, phân giải lân, kích thích sinh trưởng cây trồng từ đất vùng rễ cây bắp lai. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, 23, 17 - 23.

7. Nguyễn Quốc Khương, Trần Ngọc Hữu, Lê Vinh Thúc, Trần Hoàng Em, Hứa Hữu Đức, Lâm Dư Mẫn, Nguyễn Kim Quyên, Trần Chí Nhân, Lý Ngọc Thanh Xuân (2020). Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn nội sinh cây bắp lai có khả năng cung cấp

đinh dưỡng cho cây trồng. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, 3 + 4, 13 - 18.

8. Thái Thành Được, Nguyễn Hữu Hiệp (2022). Hiệu quả của vi khuẩn cố định đạm sinh học đến sự sinh trưởng và năng suất bắp tại tỉnh Đồng Tháp. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 58 (2), 172 - 184.

9. Ameen, A., Ahmad, J., & Raza, S. (2016). Effect of pH and moisture content on composting of Municipal solid waste. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 6 (5), 35-37.

10. Chennaoui, M., Salama, Y., Aouinty, B., Mountadar, M., & Assobhei, O. (2018). Evolution of bacterial and fungal flora during in-vessel composting of organic household waste under air pressure. *Journal of Materials and Environmental Science*, 9 (2), 680 - 688.

11. Đặng Hoài An, Nguyễn Đắc Khoa, Nguyễn Thị Phi Oanh (2017). Tuyển chọn chất mang để tồn trữ vi khuẩn *Bacillus aerophilus* đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây bệnh cháy bìa lá lúa. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, (52), 8-15.

12. Gangadharan, D., Sivaramakrishnan, S., Nampoothiri, K. M., & Pandey, A. (2006). Solid culturing of *Bacillus amyloliquefaciens* for alpha amylase production. *Food Technology & Biotechnology*, 44 (2).

13. Nguyễn Khởi Nghĩa, Nguyễn Thị Kiều Oanh (2017). Tuyển chọn chất mang và chất nền sản xuất chế phẩm vi sinh chứa ba dòng vi khuẩn chịu mặn kích thích sinh trưởng cây trồng (*Burkholderia cepacia* BL1-10, *Bacillus megaterium* ST2-9 và *Bacillus aquimaris* KG6-3). *Tạp chí Công nghệ Sinh học Đại học Cần Thơ*, 15 (2), 381 - 392.

14. Phibunwatthanawong, T., & Riddech, N. (2019). Liquid organic fertilizer production for growing vegetables under hydroponic condition. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 8 (4), 369 - 380.

15. Sánchez, Ó. J., Ospina, D. A., & Montoya, S. (2017). Compost supplementation with nutrients

and microorganisms in composting process. *Waste management*, 69, 136-153.

16. Gupta, A., Gupta, R., & Singh, R. L. (2017). Vi sinh vật và môi trường. Trong *Các nguyên tắc và ứng dụng của công nghệ sinh học môi trường cho một tương lai bền vững*. Springer, Singapore. trang 43-84.

17. Macias-Corral, M. A., Cueto-Wong, J. A., Morán-Martínez, J., & Reynoso-Cuevas, L. (2019). Effect of different initial C/N ratio of cow manure and straw on microbial quality of compost. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 8 (1), 357-365.

**DETERMINATION THE APPROPRIATE INCUBATING MOISTURE
FOR BIOFERTILIZERS CONTAINING NITROGEN - FIXING BACTERIAL ENDOPHYTES
ISOLATED FROM ROOTS OF HYBRID MAIZE**

Ly Ngoc Thanh Xuan, Tran Chi Nhan,
Mai Chi Bao, Tran Minh Quoc, Nguyen Tuan Anh,
Nguyen Huynh Minh Anh, Nguyen Quoc Khuong

Summary

The current study was aimed to determine a moisture for raw material that is suitable to incubate biofertilizers carrying strains of nitrogen-fixing bacterial endophytes which were isolated from hybrid maize roots to provide nitrogen and phosphorus for crops. The experiment was conducted in completely randomized blocks with 3 types of biofertilizers at four moisture levels. The biofertilizer 1 containing nitrogen-fixing bacterial endophytes AG-VR-B-07, AG-VR-B-17, AG-VR-B-28 and AG-VR-B-43 strains was incubated under different moistures, including (i) 40, (ii) 50, (iii) 60 and (iv) 70%; the same moisture conditions were applied to the biofertilizer 2 containing AG-NS-B-13, AG-NS-B-21, AG-NS-B-48 and AG-NS-B-40 and the biofertilizer 3 containing AG-VR-B-07, AG-VR-B-17, AG-VR-B-28, AG-NS-B-13, AG-NS-B-21, AG-NS-B-48, AG-VR-B-43 and AG-NS-B-40. In the result, after 8 weeks of incubation, the biofertilizer 3 at 60% moisture remained the highest bacterial density, with 3.41×10^6 CFU/g. The total nitrogen, phosphorus carbon contents, were 4.48%, 0.86% and 25.4% C, respectively, and the C/N ratio was 5.67. Thus, suitable moisture for protocol of biofertilizer production having nitrogen-fixing bacterial endophytes from maize root is 60%

Keywords: *Biofertilizers, moisture, hybrid maize, nitrogen - fixing bacterial endophyte.*

Người phản biện: PGS.TS. Lê Như Kiều

Ngày nhận bài: 01/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 27/3/2023

Ngày duyệt đăng: 24/4/2023