

NGHIÊN CỨU VI KHUẨN CỐ ĐỊNH NITROGEN TRONG ĐẤT TRỒNG RAU Ở VÙNG VEN THÀNH PHỐ QUẢNG NGÃI

Cao Thị Thái¹, Ngô Thị Bảo Châu^{2*}

¹Trường THPT Lê Trung Đình, thành phố Quảng Ngãi

²Khoa Sinh học, trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

*Email: baочau1601@gmail.com

Ngày nhận bài: 21/3/2023; ngày hoàn thành phản biện: 30/3/2023; ngày duyệt đăng: 4/12/2023

TÓM TẮT

Để có cơ sở sản xuất các chế phẩm đạm sinh học nhằm phát triển và nâng cao hiệu quả trồng rau an toàn, chúng tôi tiến hành nghiên cứu vi khuẩn cố định nitrogen trong đất trồng rau. Kết quả nghiên cứu cho thấy: số lượng vi khuẩn cố định N trong các mẫu đất trồng rau ở vùng ven thành phố Quảng Ngãi đạt $13,86 \times 10^5$ - $33,73 \times 10^5$ CFU/g đất khô. Đã phân lập được 57 chủng vi khuẩn cố định N, qua sàng lọc chọn được hai chủng D1 và D19 có khả năng cố định N mạnh. Kết quả giải trình tự gen chủng D1 và D19 tương đồng lần lượt 99,73% và 99,68% với loài vi khuẩn *Ensifer adhaerens*. Trong môi trường Ashby dịch thể đã xác định được thời gian nuôi cấy tối ưu của 2 chủng D1 và D19 lần lượt là 4 ngày và 3 ngày; nguồn carbon nuôi cấy tối cho chủng D1 là lactose, chủng D19 là sucrose.

Từ khóa: nguồn carbon, phân lập, tuyển chọn, vi khuẩn cố định nitrogen.

1. MỞ ĐẦU

Ở thành phố Quảng Ngãi có nhiều vùng đất phù sa phù hợp với canh tác rau màu cung cấp cho nhu cầu tiêu thụ ở thành phố và vùng lân cận. Tuy nhiên, hầu hết người dân trồng rau ở đây chủ yếu theo kinh nghiệm, chưa chú ý nhiều đến áp dụng kỹ thuật và các biện pháp an toàn sinh học. Mặc dù sản lượng rau có xu hướng tăng, đa dạng về chủng loại, nhưng giá trị kinh tế chưa cao, chất lượng rau còn hạn chế do việc sử dụng quá nhiều thuốc bảo vệ thực vật và phân bón hóa học. Để hạn chế đến mức thấp nhất việc sử dụng phân hóa học, chất bảo vệ thực vật, chất kích thích,... nhằm giảm tối đa lượng độc chất tồn đọng trong rau như nitrate, thuốc trừ sâu, kim loại nặng và vi sinh vật gây bệnh thì có nhiều biện pháp canh tác có thể được áp dụng hiệu quả trong đó phân bón sinh học là một trong những giải pháp đang được chú ý nhiều.

Vi sinh vật đất với nhiều đặc tính có lợi khi phát huy tốt trong môi trường đất sẽ tạo điều kiện và hỗ trợ cho cây trồng sinh trưởng phát triển tốt trong đó có thể kể đến là nhóm vi sinh vật cố định nitrogen (N). Do đó, việc phân lập, tuyển chọn được các chủng vi khuẩn (VK) có hoạt tính cố định N mạnh từ trong đất trồng sẽ có những đánh giá ban đầu, làm cơ sở cho các nghiên cứu ứng dụng tạo ra các chế phẩm vi sinh vật cố định N để đưa trở lại đất hạn chế sử dụng phân đạm hóa học, góp phần cải thiện chất lượng rau nhằm hướng đến nền nông nghiệp “an toàn và bền vững”.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Các chủng VK có khả năng cố định N được phân lập từ đất trồng của một số loại rau như Cải, Tần ô, Húng quế, Xà lách,... trên địa bàn ở vùng ven thành phố Quảng Ngãi.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Địa điểm thu mẫu: mẫu đất được lấy tầng đất mặt, theo TCVN 7538 -2:2005- chất lượng đất độ sâu 10 – 20 cm ở các vùng trồng rau ven thành phố Quảng Ngãi, bảo quản và đem về phòng thí nghiệm để phân tích.

- Phương pháp phân lập và đếm số lượng tế bào: sử dụng phương pháp Koch để phân lập vi khuẩn cố định N trên môi trường Ashby không đạm. Đếm số lượng tế bào vi khuẩn bằng phương pháp đếm gián tiếp thông qua số lượng khuẩn lạc mọc trên môi trường thạch đĩa [2].

- Sàng lọc vi khuẩn có khả năng cố định N: nuôi cấy trực tiếp vi khuẩn trên môi trường Ashby thạch đĩa ở nhiệt độ 30°C trong khoảng 4 - 7 ngày, sau đó xác định sinh trưởng phát triển của khuẩn lạc trên đĩa thạch [2].

- Tuyển chọn chủng vi khuẩn cố định N: nuôi cấy chủng vi khuẩn trong 50 mL môi trường dịch thể Ashby ở điều kiện lắc 120 vòng/phút, nhiệt độ 30°C. Sau 4 ngày, thu dịch nuôi cấy, xác định N-NH₄⁺ tích lũy bằng phương pháp so màu với thuốc thử Nessler [1]. Phần cặn được sấy khô để xác định sinh khối vi khuẩn [2].

- Xác định một số đặc điểm hình thái, sinh hóa và định danh chủng vi khuẩn: quan sát khuẩn lạc vi khuẩn trên môi trường Ashby thạch đĩa. Quan sát hình thái tế bào bằng phương pháp nhuộm Gram [2]. Phân loại chủng vi khuẩn bằng giải trình tự đoạn nucleotide 16S rRNA và tra cứu trên Gen Bank để định danh loài vi khuẩn [7,8].

- Xác định ảnh hưởng của một số điều kiện nuôi cấy: Các chủng vi khuẩn được nuôi cấy trong môi trường Ashby dịch thể với các điều kiện thời gian, nguồn carbon khác nhau. Sau khi nuôi cấy, ly tâm tách riêng phần dịch lọc và sinh khối. Xác định

hàm lượng $N-NH_4^+$ bằng phương pháp so màu với thuốc thử Nessler [1] và xác định sinh khối khô bằng phương pháp cân sau khi đã sấy khô tuyệt đối mẫu [2].

- Xử lý số liệu: thí nghiệm được lặp lại ba lần, số liệu được tính giá trị trung bình và phân tích ANOVA (Duncans' test $p < 0,05$) bằng chương trình SPSS 20.0.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Phân lập và xác định số lượng vi khuẩn cố định N

Tiến hành phân lập các chủng vi khuẩn có khả năng cố định N trên môi trường Ashby thạch đĩa từ 10 mẫu đất trồng rau. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Số lượng vi khuẩn cố định N trong các mẫu đất trồng rau ở vùng ven thành phố Quảng Ngãi

STT	Mẫu	Địa điểm	Ngày thu mẫu	Số chủng phân lập	CFU/g ($\times 10^5$)
1	Xà lách mỡ	Tịnh Long	15/8/2022	7	28,80
2	Húng quế			3	24,26
3	Rau dền			5	23,13
4	Hành lá			6	33,73
5	Cải xanh			7	28,33
6	Rau diếp cá			5	31,33
7	Ngò	Nghĩa Dũng	01/10/2022	4	13,86
8	Hành lá			5	26,93
9	Cải trắng			8	26,06
10	Xà lách xoăn			7	14,70

Ghi chú CFU: Colony Forming Unit (đơn vị hình thành khuẩn lạc)

Từ 10 mẫu đất trồng rau đã phân lập được 57 chủng VK có khả năng cố định N. Số lượng VK cố định N trong các mẫu đất dao động trong khoảng $13,86 \times 10^5 - 33,73 \times 10^5$ CFU/g đất khô. Số lượng VK cố định N trong nghiên cứu này thấp hơn so với nghiên cứu của Phạm Thị Ngọc Lan và cộng sự (2017) với số lượng VK cố định N trong đất chuyên canh rau tại phường Hương Hồ, thị xã Hương Trà, tỉnh Thừa Thiên Huế dao động từ $0,13 \times 10^6 - 22,95 \times 10^6$ CFU/g đất khô [4].

3.2. Đánh giá năng lực sinh trưởng phát triển của các chủng vi khuẩn cố định N

Khả năng sinh trưởng phát triển của các chủng vi khuẩn phân lập được thể hiện trên môi trường Ashby thạch đĩa vô đạm. Các chủng vi khuẩn muốn sinh trưởng

phát triển được thì bắt buộc phải cố định N từ không khí, đường kính và bề dày khuẩn lạc phản ánh sơ bộ khả năng sinh trưởng phát triển và cố định N của chủng vi khuẩn. Kết quả sàng lọc được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Khả năng sinh trưởng phát triển của các chủng vi khuẩn phân lập

Sinh trưởng phát triển	Kích thước khuẩn lạc (mm)	Số chủng	Tỷ lệ (%)
Yếu	≤5	20	35,09
Trung bình	> 5 – 8	11	19,30
Mạnh	9 – 11	21	36,84
Rất mạnh	≥ 12	5	8,77

Qua bảng 2 cho thấy, khả năng sinh trưởng phát triển của các chủng VK là không đều. Số chủng VK có khả năng sinh trưởng phát triển trung bình và mạnh chiếm tỷ lệ cao (trung bình: 19,30%; mạnh: 36,84%), còn các chủng rất mạnh chiếm tỷ lệ khá thấp (8,77%). Theo nghiên cứu của Phạm Thị Ngọc Lan và cộng sự (2017), trong số 199 chủng VK cố định N phân lập từ đất chuyên canh rau ở tỉnh Thừa Thiên Huế có 15 chủng có khả năng cố định N mạnh (chiếm 7,54%) [4]. Có thể thấy rằng, trong nghiên cứu này tỷ lệ VK có khả năng cố định N mạnh cũng chiếm một tỷ lệ cao hơn nhưng không nhiều so với nghiên cứu của các tác giả khác tại các khu vực đất trồng rau hoặc trồng lúa [4], [5].

3.3. Tuyển chọn chủng vi khuẩn có khả năng cố định N mạnh

Để tuyển chọn chủng vi khuẩn cố định N mạnh, 5 chủng có đường kính và bề dày khuẩn lạc từ kết quả sơ tuyển trên được lựa chọn để nuôi cấy. Sau 4 ngày, xác định sinh khối khô và hàm lượng N-NH₄⁺ tích lũy trong môi trường bằng phương pháp so màu với thuốc thử Nessler. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Sự tích lũy sinh khối và N-NH₄⁺ của các chủng vi khuẩn

Chủng VK	Sinh khối khô (mg/mL)	Hàm lượng N - NH ₄ ⁺ (mg/L)
D1	1,512 ^b	668,32 ^a
D18	1,478 ^c	279,81 ^c
D19	1,392 ^d	622,54 ^b
D36	1,650 ^a	250,73 ^d
D51	1,260 ^e	277,68 ^c

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ sự sai khác trung bình mẫu có ý nghĩa thống kê với p<0,05 (Dunnecan test)

Qua kết quả phân tích cho thấy, trong số 5 chủng VK tuyển chọn có hai chủng có khả năng tích lũy sinh khối và N-NH₄⁺ mạnh trong môi trường Ashby dịch thể là D1

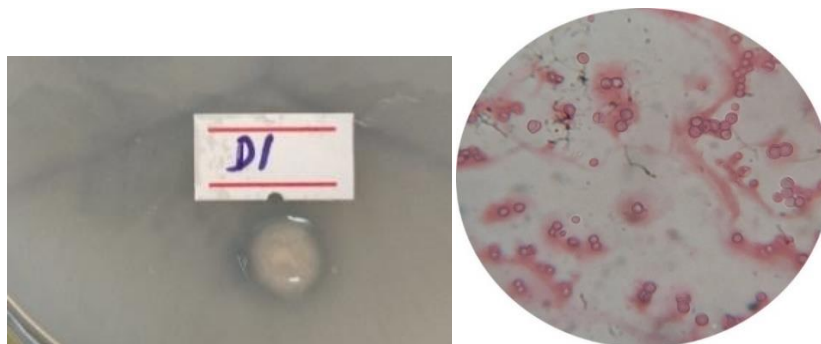
và D19. Trong đó, chủng D1 có sinh khối tích lũy mạnh nhất (1,512 mg/mL) và hàm lượng N - NH_4^+ là cao nhất (668,32 mg/L). Chủng D19 cũng có khả năng tạo sinh khối khá lớn (1,392 mg/mL) và hàm lượng N - NH_4^+ cũng khá cao (622,54 mg/L). Theo nghiên cứu của Phạm Thị Ngọc Lan và cộng sự (2017), trong số 15 chủng VK cố định N mạnh phân lập từ đất chuyên canh rau tỉnh Thừa Thiên Huế, có 2 chủng *Stenotrophomonas maltophilia* N49 và *Paenibacillus mucilaginosus* N161 có khả năng cố định N rất cao với hàm lượng N - NH_4^+ lần lượt là 33,60 mg/mL và 43,41 mg/mL [4].

3.4. Đặc điểm hình thái và định danh

Hai chủng vi khuẩn D1 và D19 được mô tả hình thái và phân loại bằng giải trình tự đoạn nucleotide 16S rRNA và tra cứu trên Gen Bank để định danh loài.

3.4.1. Chủng D1

Chủng D1 nuôi cấy trên môi trường Ashby thạch đĩa: khuẩn lạc rất to, nhầy quánh, màu trắng sữa, dày, mép tròn, không tiết sắc tố ra môi trường. Đường kính khuẩn lạc đạt 14 mm sau 4 ngày nuôi cấy. Trong điều kiện nuôi cấy lỏng môi trường Ashby dịch thể, chủng D1 phát triển làm dịch nuôi cấy từ dạng lỏng chuyển sang dạng sánh. Quan sát tiêu bản chủng D1 bắt màu Gram âm, tế bào có hình bầu dục (hình 1).



Hình 1. Chủng D1 trên môi trường thạch đĩa và ảnh chụp tiêu bản (x100)

```
CCCCAGTCGCTGACCTACCGTGGTTAGCTAGCCTCCTTGC GGTTAGCGCACTACCTTCGGGTAGAACCAACTCCCATGGTGTGACGGG
CGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCAGCATGCTGATCTGCGATTACTAGCGATTCCAACCTCATGCACTCGAGTTGCAGA
GTGCAATCCGAACTGAGATGGCTTTTGGAGATTAGCTCGACCTCGCGGTCTCGCTGCCACTGTCACCACCATTTGTAGCACGTGTGTAG
CCCAGCCCGTAAGGGCCATGAGGACTTGACGTCATCCCCACCTTCCTTCGGCTTATCACCGGCAGTCCCCTTAGAGTGCCCAACCAAAT
GCTGGCAACTAAGGGCGAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAGCCATGCAGCACCTG
TCTCCGATCCAGCCGAATGAAGGAAAACGCTCCGTAATCCGCGATCGGGATGTCAAGGGCTGGTAAGGTTCTGCGCGTTGCTTCGA
ATTAAACCATGCTCCACCGCTTGTCGGGGCCCCGTCATTCCTTTGAGTTTAACTTTCGACCGTACTCCCAAGCGGAATGTTTA
ATGCGTTAGCTGCGCCACCGAACAGTAACTGCCGACGGCTAACATTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTT
TGCTCCCCACGCTTTCGACCTCAGCGTCAGTAATGGACAGTGAGCCGCCCTTCGCACTGGTGTCTCCGAATATCTACGAATTTAC
CCTCTACACTCGGAATTCACCTCCTTCCATACTCTAGACACCCAGTATCAAAGGCAGTTCGGGGTTGAGCCCCGGGATTTACCC
CTGACTTAAATGTCCGCTACGTGCGCTTTACGCCAGTAATCCGAACAACGCTAGCCCCCTTCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGAA
GTTAGCCGGGGCTTCTTCTCCGGTTACCGTCATTATCTTCAACGGTGAAAGAGCTTTACAACCCTAGGGCCTTCATCACTCACGCGGCAT
GGCTGGATCAGGCTTGCGCCATTGTCCAATATCCCCACTGCTGCTCCCGTAGGAGTTTGGGCGGTGTCTCAGTCCCAATGTGGCTG
ATCATCTCTCAGACCACTATGGATCGTCGCTTGGTAGGCCCTTACCCCACTAGCTAATCCAACGCGGGCTATCCTTTCCCGA
TAAATCTTTCCCGAAGGGCTTATACGGTATTAGCACAAGTTCCCTGCGTTATCCGTAGAAAAGGGTAGATTCCACGCGTTACTCA
CCCGTCTGCCGCTCCCTTGC GGGGCGCT
```

Descriptions

Graphic Summary

Alignments

Taxonomy

Sequences producing significant alignments

Download

Select columns

Show

100

☒ select all

100 sequences selected

GenBank

Graphics

Distance tree of results

MSA Viewer

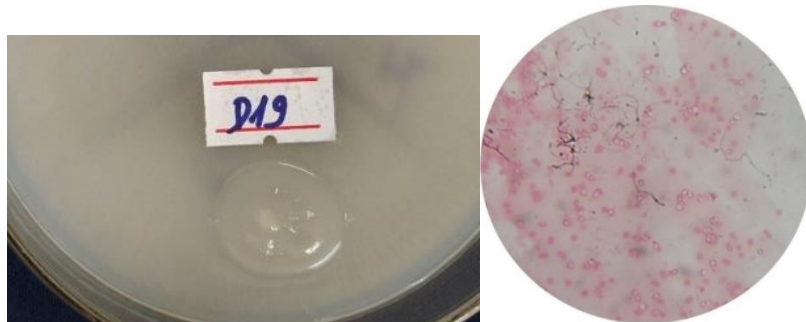
	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☒	Ensifer sp. KSH1 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence	Ensifer sp.	2512	2512	100%	0.0	99.78%	1410	LC461019.1
☒	Ensifer adhaerens strain KUDG1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Ensifer adhaerens	2512	2512	100%	0.0	99.78%	1446	KY418071.1
☒	Ensifer adhaerens strain NW4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Ensifer adhaerens	2512	2512	100%	0.0	99.78%	1426	JX042455.1

Hình 2. Kết quả giải trình tự 16S rRNA của chủng D1 và tra cứu trên Blast search

Chủng D1 được giải trình tự 16S rRNA và so sánh với dữ liệu Genebank trên trang web NCBI bằng công cụ BLAST SEARCH. Trình tự này tương đồng 99,78% với trình tự của loài VK *Ensifer adhaerens* đã được đăng ký trong Genebank (hình 2).

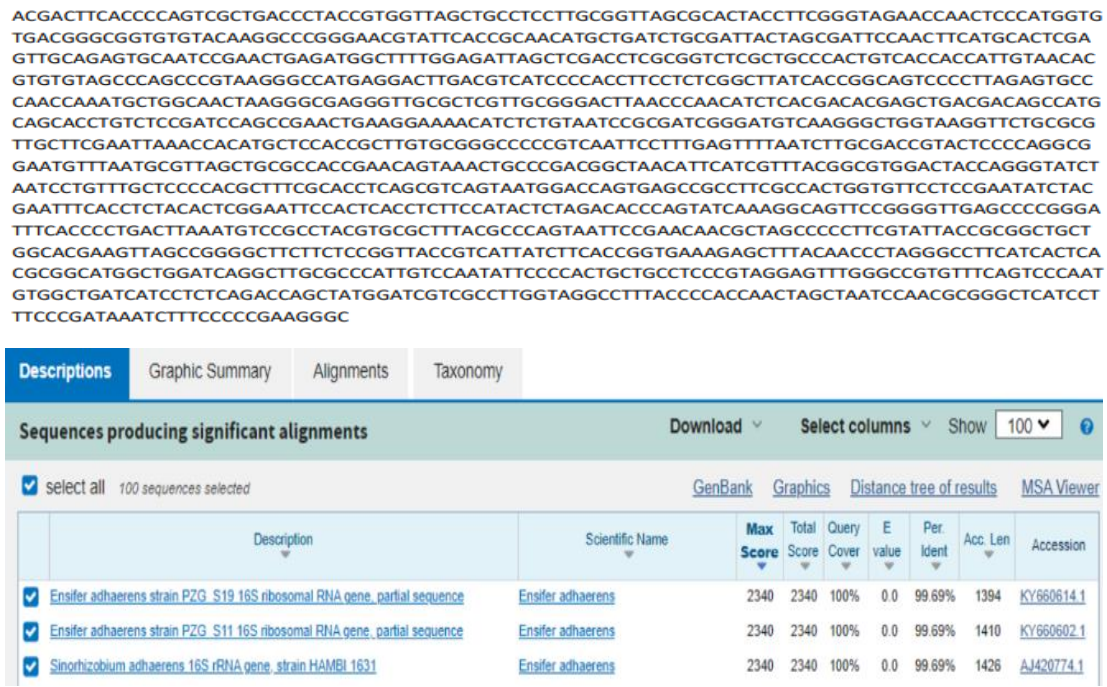
3.4.2. Chủng D19

Chủng D19 nuôi cấy trên môi trường Ashby thạch đĩa có khuẩn lạc rất to, nhầy quánh, màu trắng sữa, mép tròn đều, không tiết sắc tố ra môi trường. Đường kính khuẩn lạc đạt 24 mm sau 4 ngày nuôi cấy. Trong điều kiện nuôi cấy lắc, chủng D19 sinh trưởng phát triển làm dịch nuôi cấy có dạng đặc sánh. Quan sát tiêu bản nhuộm chủng D19 bắt màu Gram âm, tế bào có hình bầu dục (hình 3).



Hình 3. Chủng D19 trên môi trường thạch đĩa và ảnh chụp tiêu bản (x100)

Kết quả giải trình tự được so sánh với dữ liệu GeneBank trên trang web NCBI bằng công cụ BLAST SEARCH. Trình tự này tương đồng 99,69% với trình tự của loài VK *Ensifer adhaerens* đã được đăng ký trong Genebank (hình 4).



Hình 4. Kết quả giải trình tự 16S rRNA của chủng D19 và tra cứu trên Blast search

3.5. Ảnh hưởng của một số điều kiện nuôi cấy

3.5.1. Thời gian nuôi cấy

Để thăm dò ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến sinh trưởng phát triển và tích lũy N - NH₄⁺, nuôi cấy lắc hai chủng VK D1 và D19 trong môi trường Ashby dịch thể. Xác định sinh khối tế bào và hàm lượng N – NH₄⁺ sau các mốc thời gian 1, 2, 3, 4 và 5 ngày. Kết quả được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Khả năng sinh trưởng phát triển và cố định nitrogen của các chủng vi khuẩn tuyển chọn theo thời gian

Chủng VK	Thời gian (ngày)	Sinh khối khô (mg/mL)	Hàm lượng N - NH ₄ ⁺ (mg/L)
D1	1	1,154 ^e	603,20 ^d
	2	1,352 ^c	616,28 ^c
	3	1,442 ^b	634,44 ^b
	4	1,646 ^a	6,96,95 ^a
	5	1,252 ^d	593,02 ^e
D19	1	1,134 ^e	534,45 ^e
	2	1,380 ^d	595,35 ^d
	3	1,654 ^a	665,70 ^a

	4	1,402 ^b	628,63 ^b
	5	1,392 ^c	606,27 ^c

Kết quả cho thấy, trong 3 ngày nuôi đầu tiên sinh khối chủng VK D1 tăng chậm, chỉ bắt đầu tăng mạnh và đạt cực đại ở ngày nuôi cấy thứ 4 (chủng D1 - sinh khối khô đạt 1,646 mg/mL, hàm lượng N - NH₄⁺ đạt 6,96,95 mg/L). Sau đó sinh khối bắt đầu giảm, hiện tượng giảm sinh khối tuân theo quy luật của quá trình nuôi cấy tĩnh. Còn chủng D19 sinh khối tăng tăng mạnh và đạt cực đại sau 3 ngày nuôi cấy (sinh khối khô đạt 1,654 mg/mL, hàm lượng N - NH₄⁺ đạt 665,70 mg/L). Hiện tượng giảm sinh khối của chủng vi khuẩn này cũng tuân theo quy luật của quá trình nuôi cấy tĩnh.

Hansen và cộng sự (2007) khi nghiên cứu khả năng cố định N của 2 chủng VK G115 và G161 thuộc loài *Enterobacter cloacae* đã xác định được sau 3 ngày thì khả năng cố định N của chủng nghiên cứu đạt giá trị cực đại [6]. Theo nghiên cứu của Phạm Thị Ngọc Lan và cộng sự (2016), thời gian tối ưu cho sinh trưởng phát triển đối với chủng *P. pseudoalcaligenes* V94 là 5 ngày và chủng *K. pneumoniae* V204 là 6 ngày [3]. Như vậy, chúng tôi nhận thấy rằng khoảng thời gian thích hợp cho cố định N của các chủng vi khuẩn chúng tôi nghiên cứu là tương đương với nghiên cứu của Hansen và cộng sự (2007) và dài hơn so với kết quả thực nghiệm của Phạm Thị Ngọc Lan và cộng sự.

3.5.2. Nguồn carbon nuôi cấy

Để thăm dò ảnh hưởng của nguồn carbon nuôi cấy đến sinh trưởng phát triển và tích lũy N - NH₄⁺, nuôi cấy lắc hai chủng VK D1 và D19 trong môi trường Ashby dịch thể với các nguồn như lactose, sucrose, tinh bột, pectin, CMC (carboxy methyl cellulose). Sinh khối khô và hàm lượng N - NH₄⁺ tạo thành được xác định sau thời gian nuôi tối ưu. Kết quả thể hiện qua bảng 5.

Bảng 5. Khả năng sinh trưởng phát triển và cố định nitrogen của các chủng vi khuẩn tuyển chọn theo các nguồn carbon khác nhau

Chủng VK	Nguồn carbon	Sinh khối khô (mg/mL)	Hàm lượng N - NH ₄ ⁺ (mg/L)
D1	Lactose	1,684 ^a	742,21 ^a
	Sucrose	0,831 ^c	339,45 ^b
	Pectin	0,697 ^f	295,90 ^c
	Tinh bột	0,763 ^d	265,43 ^d
	CMC	0,716 ^e	112,48 ^e
D19	Lactose	1,043 ^b	471,66 ^c

	Sucrose	1,725^a	712,21^a
	Pectin	0,706 ^d	306,69 ^d
	Tinh bột	1,492 ^b	644,62 ^b
	CMC	0,612 ^e	108,28 ^e

Như vậy, đối với mỗi nguồn carbon khác nhau thì khả năng sinh trưởng phát triển và cố định N của các chủng D1 và D19 có sự khác biệt. Chủng D1 có nguồn carbon thích hợp nhất cho sinh trưởng phát triển là lactose, sinh khối khô đạt 1,684 mg/mL, hàm lượng N - NH₄⁺ là 742,21 mg/L. Còn chủng D19, nguồn carbon thích hợp nhất cho sinh trưởng phát triển là sucrose với sinh khối khô đạt 1,725 mg/mL, hàm lượng N - NH₄⁺ là 712,21 mg/L. Nguồn CMC không thích hợp cho sự tích lũy sinh khối và N - NH₄⁺ của 2 chủng VK này.

Theo nghiên cứu của Phạm Thị Ngọc Lan và cộng sự (2016), nguồn carbon tối ưu cho sinh trưởng phát triển và cố định N của chủng *P. pseudoalcaligenes* V94 là rỉ đường và chủng *K. pneumoniae* V204 là glucose [3]. Theo, Trần Thị Xuân Phương và cộng sự (2017), nguồn carbon thích hợp cho sinh trưởng phát triển và cố định N của chủng HC21 và TT13 là glucose, chủng HC24 là sucrose [5].

4. KẾT LUẬN

Qua kết quả nghiên cứu chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

1. Từ 10 mẫu đất ở vùng chuyên canh rau ở vùng ven thành phố Quảng Ngãi, đã phân lập được 57 chủng VK có khả năng cố định N. Số lượng VK cố định N trong các mẫu đất dao động trong khoảng $13,86 \times 10^5$ - $33,73 \times 10^5$ CFU/g đất khô.

2. Tuyển chọn được 02 chủng VK cố định N mạnh là D1 và D19.

- Chủng D1 với đường kính khuẩn lạc đạt 14 mm sau 4 ngày nuôi cấy, tế bào Gram âm, hình bầu dục, tương đồng 99,73% với loài *Ensifer adhaerens*.

- Chủng D19 với đường kính khuẩn lạc đạt 24 mm sau 4 ngày nuôi cấy, tế bào Gram âm, hình bầu dục, tương đồng 99,68% với loài *Ensifer adhaerens*.

3. Điều kiện nuôi cấy tối ưu cho 2 chủng VK trong môi trường Ashby dịch thể:

- Chủng D1: thời gian nuôi cấy là 4 ngày, nguồn carbon là lactose.

- Chủng D19: thời gian nuôi cấy là 3 ngày, nguồn carbon là sucrose.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Đoàn Văn Cung và cộng sự (1998). *Sổ tay phân tích đất, nước, phân bón cây trồng*. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
- [2]. Phạm Thị Ngọc Lan (2012). *Thực tập Vi sinh vật học*. NXB Đại học Huế.
- [3]. Phạm Thị Ngọc Lan, Nguyễn Thị Việt (2016). “Tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy chủng vi khuẩn cố định nitrogen và thử nghiệm bổ sung sinh khối vào đất trồng cây ngập mặn”. *Tuyển tập báo cáo Hội nghị khoa học về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ 6*, trang 1468 - 1474.
- [4]. Phạm Thị Ngọc Lan và cộng sự (2017). “Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn cố định nitrogen từ đất chuyên canh rau tại phường Hương Hồ, thị xã Hương Trà, tỉnh Thừa Thiên Huế”. *Tuyển tập báo cáo Hội nghị Khoa học toàn quốc về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, lần thứ 7*, Hà Nội, tr. 1296 – 1303.
- [5]. Trần Thị Xuân Phương và cộng sự (2017). “Tuyển chọn vi khuẩn Azotobacter có khả năng cố định nito và sinh tổng hợp IAA trong đất trồng lúa ở tỉnh Thừa Thiên Huế”. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp*, tập 1, trang 111 - 118.
- [6]. Hansen A. et al (2007), “Growth condition of associative nitrogen fixing bacteria *Enterobacter cloacae* in Rice plant”, *Agricultural Journal* 2, pp. 672 - 675.
- [7]. Sambrook J. and Russell D. W. (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rded. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, New York, pp. 35 – 68
- [8]. Verschuere L. et al (2000). Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology & Molecular Biology Reviews*, 64, pp. 655 - 671.

STUDY ON NITROGEN-FIXING BACTERIA IN VEGETABLE SOIL IN THE SUBURBS OF QUANG NGAI CITY

Cao Thi Thai¹, Ngo Thi Bao Chau^{2*}

¹Le Trung Dinh High School, Quang Ngai City

²Faculty of Biology, University of Sciences, Hue University

*Email: baochau1601@gmail.com

ABSTRACT

We studied nitrogen-fixing bacteria in vegetable soil to provide a basis for producing bio-protein products to develop and improve the efficiency of safe vegetable cultivation. The results showed that the number of N-fixing bacteria in soil samples for growing vegetables in the suburbs of Quang Ngai city ranged from $13,86 \times 10^5 - 33,73 \times 10^5$ CFU/g of dry soil. After the isolation of fifty-seven N-fixing bacterial strains, two strains—D1 and D19—with high N-fixing ability were chosen through screening. Similar to *Ensifer adhaerens*, strains D1 and D19 had gene sequencing results of 99,73% and 99,68%. The optimal culture time of 2 strains, D1 and D19, has been determined to be four days and three days; The optimal carbon source cultured in the aqueous Ashby medium of strain D1 is lactose, and strain D19 is sucrose.

Keywords: carbon source, isolation, selection, nitrogen-fixing bacteria.



Cao Thị Thái sinh ngày 03/01/1980 tại Quảng Ngãi. Năm 2001, bà tốt nghiệp Cử nhân Khoa học ngành Sinh học – KTNN tại trường Đại học Sư phạm Quy Nhơn. Năm 2023, bà tốt nghiệp Thạc sĩ Khoa học chuyên ngành Sinh học tại trường Đại học Khoa học, Đại học Huế. Từ năm 2017 – đến nay, bà công tác tại tổ Sinh – CN trường Trung học phổ thông Lê Trung Đình, thành phố Quảng Ngãi, tỉnh Quảng Ngãi.

Lĩnh vực nghiên cứu: Sinh học.



Ngô Thị Bảo Châu sinh ngày 16/01/1987 tại Thừa Thiên Huế. Năm 2009, bà tốt nghiệp Cử nhân Sinh học tại Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế. Năm 2017, bà tốt nghiệp Thạc sĩ chuyên ngành Sinh học Thực nghiệm tại Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế. Hiện nay, bà công tác tại Khoa Sinh học, trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

Lĩnh vực nghiên cứu: Vi sinh vật học