

# KHẢ NĂNG CỐ ĐỊNH ĐẠM CỦA CHỦNG VI KHUẨN *AZOSPIRILLUM LIPOFERUM* R29B1 CÓ KẾT HỢP CÁC LIỀU LƯỢNG PHÂN ĐẠM KHÁC NHAU LÊN SỰ SINH TRƯỞNG VÀ NĂNG SUẤT TRÊN CÂY LÚA TRONG ĐIỀU KIỆN NHÀ LƯỚI

Nguyễn Hữu Hiệp<sup>1</sup>, Ngô Ngọc Hưng<sup>1</sup> và Lâm Bạch Vân<sup>2</sup>

## ABSTRACT

*Nitrogen is the most important nutrient which is needed for growth, develop stage and yield of low-land rice. When chemical fertilize are used, soils become unfertile and compact. In addition, the extra uses of chemical fertilizers contributed to the enviromental pollution and human health. To decrease those problems and keep a sustainable agriculture, this experiment was carried out to determine nitrogen-fixing capability of *Azospirillum lipoferum* R29B1 bacteria. Then, the effectiveness of this bacteria on the growth and yield of rice was evaluated. The results indicated that rice inoculated with *Azospirillum lipoferum* R29B1 strains and applied 50N had higher yield components than the control and equivalent to that of rice applied 100N without inoculation in the green house.*

**Keywords:** *nitrogen fixation, Azospirillum lipoferum, rice, nitrogen, inoculation*

**Title:** *The nitrogen-fixing capability of Azospirillum lipoferum R29B1 bacteria by combining with the defferent levels of fertilizer for growth and yield of low-land rice in the green house*

## TÓM TẮT

*Để tăng trưởng, phát triển tốt và cho năng suất cao cây lúa cần nhiều chất dinh dưỡng nhưng quan trọng nhất là chất đạm. Việc sử dụng phân hóa học ở mức độ cao làm cho đất canh tác bạc màu và chai cứng. Thêm vào đó việc sử dụng phân bón dư thừa gây ô nhiễm môi trường ảnh hưởng đến sức khỏe của người tiêu dùng. Nhằm hạn chế vấn đề trên, đồng thời cùng với xu hướng tiến tới nền nông nghiệp sinh học bền vững, thí nghiệm này cần được thực hiện với mục đích xác định khả năng cố định đạm của dòng vi khuẩn *Azospirillum lipoferum* R29B1 nhằm đánh giá khả năng cải thiện sinh trưởng và phát triển của dòng vi khuẩn này trên cây lúa. Kết quả cho thấy việc chủng vi khuẩn và bón 50N cho các chỉ tiêu về thành phần năng suất khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng và tương đương với nghiệm thức không chủng vi khuẩn bón 100N khi thực hiện thí nghiệm trong nhà lưới.*

**Từ khóa:** *Cố định đạm, Azospirillum lipoferum, lúa, đạm, chủng*

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Giá và sản lượng lương thực tăng nhưng thu nhập của nông dân vẫn chưa được cải thiện vì chi phí sản xuất cao cho phân bón. Bên cạnh đó, việc sử dụng phân hóa học ngày càng làm cho đất canh tác trồng trọt trở nên chai cứng, bạc màu và nhất là lượng phân đạm bón không hợp lý làm lưu tồn trong đất sau mỗi vụ mùa, trong

<sup>1</sup> Khoa NN & SHƯĐ, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Trường CD KT Kỹ Thuật Kiên Giang, Tỉnh Kiên Giang

sản phẩm sau thu hoạch đã góp phần làm cho môi trường ngày càng trở nên ô nhiễm trầm trọng và ảnh hưởng đến sức khỏe của người tiêu dùng.

Những nghiên cứu về khả năng cố định đạm của những loại vi khuẩn trên cây trồng không thuộc họ đậu như *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Acetobacter* và *Azoarcus* (Baldani *et al.*, 1980) đã được biết đến. Trong đó, vi khuẩn *Azospirillum* được phân lập từ các bộ phận trên cây trồng, tuy vi khuẩn này có bốn loài được biết đến là *A. lipoferum*, *A. brasilense*, *A. halopraeferans*, *A. irakense* (Reinhold *et al.*, 1983) nhưng chỉ có ba loài *A. lipoferum*, *A. brasilense*, *A. irakense* được phân lập từ bộ phận rễ cây lúa và cho những kết quả rất thiết thực trong việc cố định đạm, tăng khả năng hấp thu khoáng và cải thiện sinh trưởng trên cây lúa khi chủng giống lúa IR42 với *A. lipoferum* bằng cách ngâm rễ trong dung dịch dinh dưỡng 6 giờ (Murty và Ladha, 1987). Ngoài ra, theo Tien *et al.* (1979) thì *Azospirillum* sp. còn có khả năng sản sinh ra chất kích thích tăng trưởng Gibberellin tác động đến sự tăng trưởng của hệ rễ cây trồng.

Để tiến tới nền nông nghiệp sinh học bền vững trên cơ sở của những nghiên cứu trước đó thì thí nghiệm này cần được thực hiện với mục đích xác định khả năng cố định đạm của chủng vi khuẩn *Azospirillum lipoferum* R29B1 nhằm đánh giá khả năng cải thiện sinh trưởng và phát triển của dòng vi khuẩn này trên cây lúa.

## 2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Phương tiện nghiên cứu

Thí nghiệm được thực hiện tại nhà lưới Khoa Nông nghiệp – Môi trường Trường Cao đẳng Kinh tế - Kỹ thuật Kiên Giang tại xã Sơn Kiên, huyện Hòn Đất.

Đặc tính đất thí nghiệm (tầng 0-20 cm) tại xã Sơn Kiên, Hòn Đất, Kiên Giang được trình bày trong bảng 1.

**Bảng 1: Đặc tính đất thí nghiệm trong chậu**

Tính chất đất	Đơn vị	Giá trị
pH		4,1
EC	mS/cm	1,45
CHC	%	2,81
CEC	cmol (+) kg <sup>-1</sup>	12,1
K <sup>+</sup>	cmol (+) kg <sup>-1</sup>	0,14
Ca <sup>++</sup>	Cmol (+) kg <sup>-1</sup>	5,97
Mg <sup>++</sup>	cmol (+) kg <sup>-1</sup>	2,61
N tổng số	%N	0,17
P tổng số	%P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	0,04
Cấp hạt	Sét	39,3
	Thịt	59,5
	Cát	1,2

Giống được sử dụng để làm thí nghiệm là giống lúa IR50404.

Phân bón được sử dụng là phân đơn: Urê (46%N), Lân Văn Điển (20%P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), Potassium chlorure (60%K<sub>2</sub>O).

Dòng vi khuẩn cố định đạm *Azospirillum lipoferum* R29B1 do Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ cung cấp.

Bảng so màu lá lúa có 6 mức độ và các vật dụng cần thiết khác.

## 2.2 Phương pháp nghiên cứu

- Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên một nhân tố với 4 lần lặp lại, 5 nghiệm thức.

### Các nghiệm thức thí nghiệm

Nghiệm thức	Dòng vi khuẩn	Lượng N (kg N/ha)
1	chất nền không vi khuẩn	0
2	Vi khuẩn (VK)	100
3	VK	50
4	0 VK	50
5	0 VK	100

Chuẩn bị đất: Lấy lớp đất mặt trong độ sâu từ 0- 20 cm, đem phơi nắng rồi băm nhỏ ra cho vào chậu (10kg đất/chậu).

Chuẩn bị môi trường vi khuẩn: Cho 2 g chất bám dính Alginate vào nước cất, đun sôi cho tan (3-5 phút), rồi để nguội và cho vào môi trường bùn than có chứa từng dòng vi khuẩn.

Chuẩn bị hạt giống trước khi gieo: hạt được xử lý và ngâm ủ theo đúng qui trình.

Số hạt gieo: 4 hạt/chậu nhưng đến khi cây được 10 ngày tuổi thì tỉa chừa lại 1 cây/chậu (chậu có kích thước: 30 x 40 cm).

Cách chủng vi khuẩn: các nghiệm thức có vi khuẩn, từng dòng vi khuẩn sẽ được chủng trực tiếp vào hạt lúa trước khi gieo. Sau khi chọn hạt nảy mầm có chiều dài rễ 1-2 cm thì đem ngâm trong môi trường chứa vi khuẩn trong thời gian 1 giờ. Mật độ vi khuẩn:  $28 \times 10^7$  tế bào/mL (riêng thí nghiệm 2, lúa được chủng với dòng vi khuẩn 1).

Cách gieo hạt: gieo những nghiệm thức không có vi khuẩn trước. Đối với các nghiệm thức có vi khuẩn thì dùng các pen kẹp khác nhau cho từng dòng và gieo vào chiều mát.

Kỹ thuật chăm sóc:

- Giữ ẩm đất trong giai đoạn từ 0-3 NSKG. Sau đó, tưới nước và duy trì mức nước từ 5-10 cm cho đến 10 ngày trước khi thu hoạch thì rút nước. Tuy nhiên vào giai đoạn trước 45 NSKG rút nước trước khi bón phân tiếp đợt 3.
- Bón phân: Phân Urê bón vào các giai đoạn 10, 20 và 45 NSKG với liều lượng theo từng nghiệm thức. Phân lân Văn Điển bón lót toàn bộ. Phân KCl 1/2 bón lót và 1/2 bón lúc 45 NSKG. Phân được bón bằng cách hòa vào nước, bón vào buổi chiều mát.

Các chỉ tiêu theo dõi trong thí nghiệm được ghi nhận vào các thời điểm 19, 44 và 65 NSKG: xác định chiều cao cây, số chồi/buội, chỉ số màu lá. Vào giai đoạn thu hoạch: xác định số bông/buội, chiều dài gié bông, số hạt chắc/bông, tỷ lệ hạt chắc, trọng lượng khô 1000 hạt và chiều dài rễ.

Cách lấy các chỉ tiêu:

- Chiều cao cây: dùng thước cây đo từ gốc sát lớp đất mặt của chậu đến đọt lá ngọn. Khi cây có chồi thì đo 2 thân cây/buội.

- Số chồi/buội, số bông/buội: Đếm tất cả số chồi, bông trên buội lúa.
- Chiều dài bông: dùng thước cây đo từ cổ bông đến chót đỉnh của gié bông.
- Đo chiều dài rế: dùng thước cây đo từ cổ rế đến chóp đỉnh của rế.
- Chỉ số màu lá: được xác định bằng bảng so màu lá lúa, đo 3 lá/buội vào lúc 8-9 giờ sáng.
- Số hạt chắc/bông: đếm toàn bộ số hạt chắc trên bông, đếm 3 bông/buội rồi trung bình cộng lại ra số hạt chắc một bông.
- Tỷ lệ hạt chắc (TLHC):  $TLHC = (\text{Số hạt chắc}/\text{tổng số hạt}) \times 100\%$ .
- Xác định năng suất lúa (gram/chậu) ở các nghiệm thức thí nghiệm.
- Trọng lượng khô 1000 hạt: hạt được phơi khô rồi lấy ngẫu nhiên 1000 hạt đem cân.

### 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1 Ảnh hưởng việc chủng vi khuẩn *Azospirillum lipoferum* có bổ sung bón các liều lượng phân đạm khác nhau lên đặc tính sinh trưởng và phát triển của cây lúa

Việc chủng vi khuẩn có bổ sung 50N cho chiều cao cây tương đương với bón 100N mà không chủng vi khuẩn, còn ở các nghiệm thức chủng vi khuẩn có bổ sung bón 50N, 100N có chiều cao cây cao gấp 1,75 lần so với nghiệm thức đối chứng, gấp 1,3 lần so với nghiệm thức không chủng vi khuẩn có bổ sung bón 50N và việc bổ sung 50N, 100N ở các nghiệm thức có chủng vi khuẩn đều cho kết quả về chiều cao cây không có sự khác biệt thống kê (Bảng 2).

Ở giai đoạn 19, 44 NSKG các nghiệm thức chủng vi khuẩn có bổ sung 50N, 100N đều cho số chồi cao hơn so với nghiệm thức đối chứng và có khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1%. Tuy nhiên, so với nghiệm thức bón 100N không chủng vi khuẩn thì có số chồi không khác biệt nhau về mặt thống kê nhưng có khác biệt đối với nghiệm thức 50N không chủng vi khuẩn. Đến giai đoạn 65 NSKG nghiệm thức chủng vi khuẩn có bón 100N đạt số chồi cao nhất (10,5 chồi), còn số chồi ở nghiệm thức chủng vi khuẩn có bón 50N không khác biệt thống kê so với nghiệm thức bón 100N không chủng vi khuẩn nhưng đều có số chồi nhiều hơn so với nghiệm thức bón 50N không chủng vi khuẩn và nghiệm thức đối chứng (Bảng 3). Như vậy, việc chủng vi khuẩn chỉ kết hợp bón bổ sung 50N cho kết quả về số chồi tương đương với việc bón cho lúa 100N.

Số liệu ở bảng 4 cho thấy các nghiệm thức được chủng với vi khuẩn đều cho chỉ số so màu lá ở mức cao đến hết giai đoạn sinh trưởng của cây lúa so với nghiệm thức không chủng vi khuẩn có bổ sung 50N và nghiệm thức đối chứng. Ở giai đoạn 65 NSKG thì các nghiệm thức chủng vi khuẩn bón 50N, 100N và nghiệm thức không chủng vi khuẩn bón 100N có chỉ số so màu lá không khác biệt nhau qua phân tích thống kê ở mức ý nghĩa 1%. Nghiệm thức đối chứng và nghiệm thức không chủng vi khuẩn bón 50N có chỉ số màu lá thấp, cho thấy bón 50N không đủ đáp ứng nhu cầu cây lúa và do không chủng vi khuẩn nên lá lúa có biểu hiện thiếu đạm.

**Bảng 2: Chiều cao cây lúa (cm) ở các giai đoạn sinh trưởng dưới ảnh hưởng của các nồng độ đạm và vi khuẩn *Azospirillum lipoferum* trong nhà lưới**

Nghiệm thức	Chiều cao cây (cm)		
	19 NSKG	44 NSKG	65 NSKG
0N-0VK	15,43 c	35,63 c	47,44 b
100N-VK	21,68 a	47,75 a	84,78 a
50N-VK	21,70 a	46,44 a	83,08 a
50N-0VK	17,83 b	40,56 b	65,78 b
100N-0VK	21,90 a	47,85 a	83,95 a
Trung bình	19,71	43,65	73,00
CV(%)	4,52	2,67	2,06
F	**	**	**

Ghi chú: Trong cùng một cột các số có chữ theo sau giống nhau không khác biệt ý nghĩa thống kê. \*\*: khác biệt ở mức ý nghĩa 1% theo phép thử DUCAN.

**Bảng 3: Số chồi/buội ở các giai đoạn sinh trưởng dưới ảnh hưởng của các nồng độ đạm và chủng vi khuẩn *Azospirillum lipoferum* trong nhà lưới**

Nghiệm thức	Số chồi/buội		
	Ngày sau khi gieo (NSKG)		
	19	44	65
0N-0VK	2,25 c	4,00 b	4,25 d
100N-VK	3,75 a	8,75 a	10,5 a
50N-VK	3,75 a	8,25 a	8,50 b
50N-0VK	2,75 bc	5,75 b	5,75 c
100N-0VK	3,50 ab	8,25 a	9,00 b
Trung bình	3,25	7,00	7,60
CV(%)	16,37	17,69	11,52
F	**	**	**

Ghi chú: Trong cùng một cột các số có chữ theo sau giống nhau không khác biệt ý nghĩa thống kê. \*\*: khác biệt ở mức ý nghĩa 1% theo phép thử DUCAN.

**Bảng 4: Chỉ số so màu lá ở các giai đoạn sinh trưởng dưới ảnh hưởng của các nồng độ đạm và vi khuẩn *Azospirillum lipoferum* trong nhà lưới**

Nghiệm thức	Chỉ số so màu lá		
	19 NSKG	44 NSKG	65 NSKG
0N-0VK	3,50 c	2,75 c	1,84 b
100N-VK	5,33 a	4,50 b	3,92 a
50N-VK	5,00 a	4,92 a	4,17 a
50N-0VK	4,42 b	3,84 c	2,58 b
100N-0VK	5,17 a	4,59 b	4,08 a
Trung bình	4,68	4,12	3,32
CV(%)	7,97	5,21	8,25
F	**	**	**

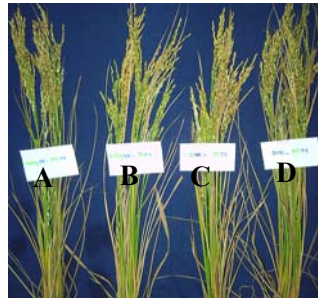
Ghi chú: Trong cùng một cột các số có chữ theo sau giống nhau không khác biệt ý nghĩa thống kê. \*: khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; \*\*: khác biệt ở mức ý nghĩa 1% theo phép thử DUCAN.

Qua các kết quả trên cho thấy rằng khi chủng vi khuẩn có bón bổ sung 50N cho kết quả không khác biệt so với nghiệm thức chủng vi khuẩn bón 100N và nghiệm thức không chủng vi khuẩn bón 100N. Như vậy, việc chủng vi khuẩn có lượng đạm bổ sung quá cao cũng không thúc đẩy sự sinh trưởng của cây lúa thêm. Điều này so

với kết quả nghiên cứu của Kapulnik *et al.* (1981) và Merten và Hess (1984) chỉ xem bón phân đạm là thứ yếu khi cây được chủng với vi khuẩn thì khá phù hợp. Kết quả thí nghiệm này cho thấy rằng việc chủng vi khuẩn có thể làm giảm một lượng phân đạm cần cung cấp cho cây là 50N tương đương 50% đạm so với nhu cầu, các kết quả tương tự cũng được tìm thấy trong nghiên cứu của Vasuvat *et al.* (1986), chủng vi khuẩn *Azospirillum* làm giảm lượng đạm cần sử dụng từ 30-50%.

**3.2 Ảnh hưởng việc chủng vi khuẩn *Azospirillum lipoferum* có kết hợp bón với các liều lượng phân đạm khác nhau lên các thành phần năng suất của cây lúa**

Các thành phần năng suất ở các nghiệm thức có chủng vi khuẩn đều cao hơn so với nghiệm thức không chủng vi khuẩn bón 0N, 50N và có sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% (Bảng 5, Hình 1 và Hình 2). Tuy nhiên, các giá trị về số hạt chắc và tỷ lệ hạt chắc giữa các nghiệm thức tương đương nhau, không có sự khác biệt về mặt thống kê nhưng đều khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng. Nghiệm thức chủng vi khuẩn bón 50N có các giá trị về thành phần năng suất không khác biệt so với nghiệm thức bón 100N không chủng vi khuẩn. Không có sự khác biệt có ý nghĩa về năng suất hạt/chậu giữa nghiệm thức bón 100N không chủng vi khuẩn và bón 50N có chủng vi khuẩn. Như vậy, khi chủng vi khuẩn cho lúa ta có thể giảm đi được 50%N.



**Hình 1: Ảnh hưởng của vi khuẩn cố định đạm và các nồng độ đạm lên số bông trên bụi lúa (95 NSKG) trong thí nghiệm nhà lưới tại Hòn Đất - Kiên Giang, 2007 - 2008**

Từ trái qua phải: A- Chủng vi khuẩn bón 100N; B- Chủng vi khuẩn bón 50N; C- Không chủng vi khuẩn bón 50N; D- Không chủng vi khuẩn bón 100N.



**Hình 2: Ảnh hưởng của vi khuẩn cố định đạm và các nồng độ đạm lên chiều dài rễ lúa (90 NSKG) trong thí nghiệm nhà lưới tại Hòn Đất - Kiên Giang, 2007 - 2008**

Từ trái qua phải: A- Chủng vi khuẩn bón 100N; B- Chủng vi khuẩn bón 50N; C- Không chủng vi khuẩn bón 50N; D- Không chủng vi khuẩn bón 100N.

**Bảng 5: Các thành phần năng suất của cây lúa lúc thu hoạch (90 NSKG) dưới ảnh hưởng của các nồng độ đạm và vi khuẩn *Azospirillum lipoferum* trong nhà lưới**

Nghiệm thức	Chiều dài rễ (cm)	Chiều dài bông (cm)	Số bông/buội	Số hạt chắc/bông	Tỷ lệ hạt chắc (%)	Trọng lượng khô 1000 hạt (g)	Năng suất/chậu (gam)
0N - 0VK	18,75 c	18,13 c	2,50 c	66 b	71,77 b	20,13 a	3,32 d
100N - VK	31,50 ab	27,44 a	9,50 a	133 a	90,78 a	25,85 c	32,55 a
50N - VK	32,75 a	22,44 b	8,25 a	119 a	90,34 a	25,55 c	25,08 b
50N - 0VK	27,75 b	20,25 c	5,25 b	105 a	85,10 a	22,95 b	12,65 c
100N - 0VK	30,75 ab	23,81 b	9,25 a	122 a	90,49 a	25,43 c	26,69 b
Trung bình	28,30	22,41	6,95	109	85,70	23,98	20,06
CV(%)	9,12	5,84	19,74	16,05	7,76	2,85	4,24
F	**	**	**	**	**	**	**

Ghi chú: Trong cùng một cột các số có chữ theo sau giống nhau không khác biệt ý nghĩa thống kê. \*\*: khác biệt ở mức ý nghĩa 1% theo phép thử DUCAN.

## 4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

### 4.1 Kết luận

Việc chủng vi khuẩn *Azospirillum lipoferum* R29b1 bón bổ sung lượng phân đạm có tác dụng đáng kể đến quá trình tăng trưởng và phát triển của cây lúa.

Với lượng bón bổ sung là 50N cho kết quả không khác biệt so với không chủng vi khuẩn bón 100N. Như vậy, chủng vi khuẩn có khả năng cung cấp 50% nhu cầu đạm cho cây trồng.

### 4.2 Đề nghị

Cần được tiến hành thử nghiệm khả năng cố định đạm của chủng vi khuẩn *Azospirillum lipoferum* R29B1 trong điều kiện canh tác ngoài đồng trước khi tiến hành sản xuất phân sinh học.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Baldani, V.L.D and J. Dobereiner (1980), Host-plant Specificity in the infection of cereals with *Azospirillum* spp. Soil Biol. Biochem., 12:433-439.
- Kapulnik, Y., J. Kigel, Y. Okon, I. Nur and Y. Henis (1981), Effect of *Azospirillum* inoculation on some growth parameters and N- content of wheat *Sorghum panicum*, Plant and Soil, 61: 65-70.
- Mertens, T. and D. Hess (1984), Yield increases in spring wheat (*Triticum aestivum*) inoculated with *Azospirillum lipoferum* under greenhouse and field conditions of a temperate region, Plant and Soil, 82: 87-99.
- Murty, M.G. and J.K. Ladha (1987), Differential colonization of *Azospirillum lipoferum* on roots of two varieties of rice (*Oryza sativa* L.), Biol. Fertil. Soils, 4: 3-7.
- Nguyễn Hữu Hiệp, Trần Văn Chiếu, Đào Thanh Hoàng và Nguyễn Khắc Minh Loan (2005), *Azospirillum*: vi sinh vật cố định đạm với cây không thuộc họ Đậu, Tạp chí Khoa học Cần Thơ. 2 (12): 4-6.
- Nguyễn Ngọc Đệ (1998), Giáo trình cây lúa, tủ sách Đại học Cần Thơ.
- Reinhold, B., T. Hurek, E.G. Niemann and I. Fendrik (1983), Close association of *Azospirillum* and diazotrophic different roots zones of Kallar grass, Appl. Environ. Microbiol., 37: 520-526.
- Tien, T.M., M.H. Gaskins and D.H. Hubbel (1979), Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.), Appl. Environ Microbiol., 37: 1016-1024.