

NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT CHẾ PHẨM VI SINH VẬT ỨNG DỤNG CHO RAU

Trần Tú Thủy, Phạm Văn Toán
Nguyễn Ngọc Quyên, Vũ Thuý Nga

I. GIỚI THIỆU CHUNG

Vi sinh vật đất là một thế giới phong phú của nhiều chủng loại vi sinh vật có nhiều chức năng khác nhau. Bên cạnh các vi sinh vật có lợi như: cố định nitơ, phân giải photphat khó tan, chuyển hoá lưu huỳnh, magie, phân huỷ xenlulo... còn có cả các vi sinh vật gây bệnh hại cho cây trồng. Các nghiên cứu về phân bón vi sinh vật cho đến nay mới chủ yếu tập trung vào các nhóm vi sinh vật cố định nitơ, phân giải xenlulo, phân giải photphat khó tan và đã có nhiều đóng góp tích cực cho sản xuất nông lâm nghiệp.

Một số vi sinh vật khác như *Agrobacterium*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Serratia*... Không có hoạt tính rõ ràng như VSV cố định nitơ, phân giải lân, phân giải xenlulo, song cũng được nhiều nhà khoa học trên thế giới quan tâm nghiên cứu vì khả năng điều tiết, kích thích sinh trưởng thực vật hoặc tác động tổng hợp của chúng đối với đất và cây trồng.

Ở Việt Nam các nhóm vi sinh vật này mới được biết đến chủ yếu trên lý thuyết. Đến nay mới có một vài nghiên cứu mang tính thăm dò. (Nguyễn Kim Vũ và cộng sự 1996- Báo cáo đề tài KC 08-01)

Nghiên cứu đưa vào sử dụng trong nông nghiệp các vi sinh vật mới có hoạt tính sinh học là một trong các nội dung của đề tài KH-CN 02-06.

II. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

1. Đánh giá đặc điểm của các chủng vi khuẩn

- Đặc điểm hình thái khuẩn lạc, tế bào
- Điều kiện sinh trưởng phát triển
- Ảnh hưởng của vi khuẩn đến sự nảy mầm của hạt và ra rễ của cây

2. Nghiên cứu sản xuất chế phẩm

- Lựa chọn môi trường nuôi cấy
- Xác định điều kiện nhân sinh khối vi sinh vật
- Đánh giá khả năng tồn tại của vi khuẩn trong chất mang

3. Đánh giá hiệu quả của chế phẩm trên cây trồng

III. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Các chủng vi sinh vật sử dụng trong nghiên cứu được thể hiện trong bảng 1

Bảng 1: Chủng vi sinh vật

STT	Tên chủng vi sinh vật	ký hiệu	nguồn gốc	hoạt tính sinh học
1	Agrobacterium radiobacter	Ag14	Viện VSV LB Nga	Kích thích sinh trưởng
2	Agrobacterium radiobacter	Ag15	Viện VSV LB Nga	Kích thích sinh trưởng
3	Flavobacterium sp.	F02	BM VSV phân lập	Kích thích sinh trưởng
4	Flavobacterium sp.	F05	BM VSV phân lập	Kích thích sinh trưởng

- Để nghiên cứu đánh giá các đặc điểm của chủng vi sinh vật đề tài đã sử dụng các phương pháp vi sinh vật thông dụng (nuôi cấy trên môi trường lỏng, môi trường đặc, môi trường chỉ thị chứa các hợp chất vô cơ, hữu cơ khác nhau, đếm số lượng theo phương pháp Koch...), theo phương pháp đánh giá khả năng kích thích sự nảy mầm của hạt đậu xanh và kích thích ra rễ của đậu cove.

- Quy trình sản xuất chế phẩm bao gồm công đoạn nhân sinh khối vi sinh vật trong môi trường và điều kiện phù hợp, tẩm nhiễm vào chất mang và kiểm tra chất lượng chế phẩm trong thời gian bảo quản.

- Thí nghiệm trồng cải trắng được tiến hành tại bộ môn vi sinh vật, Viện KHKTNN VN trong 2 vụ: đông xuân và hè thu 1998 với nền bón 40N, 80P₂O₅, 40K₂O. Công thức thí nghiệm được bón thêm 5g chế phẩm (10⁷vsv/g). Thí nghiệm được lặp lại 4 lần. Sau thời gian trồng 45 ngày thu hoạch mẫu và đánh giá theo các chỉ tiêu năng suất chất xanh và thành phần dinh dưỡng (phân tích chất lượng được tiến hành tại viện CNSTH).

IV. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Một số đặc điểm của vi khuẩn

Hai nhóm vi khuẩn *Agrobacterium* & *Flavobacterium* đều thuộc nhóm vi khuẩn hiếu khí. Chúng sống ở trong đất. tế bào của chúng dạng que, khi già có thể hình cầu. chúng thuộc vi khuẩn gram âm (Bảng 2)

Bảng 2: Một số đặc điểm về hình thái khuẩn lạc của vi khuẩn

STT	Tên vi khuẩn	Đặc điểm khuẩn lạc		Môi trường đặc hiệu
		Hình dạng	Màu sắc	
1	Ag14	1-2cm, tròn, đều trơn nhẵn, nhày	Màu trắng trong	YMA
2	Ag15	1-2 cm, tròn đều, trơn nhẵn	Màu trắng	YMA
3	F02	1,5-2 cm tròn, nhày	Màu vàng	Thịt - pepton
4	F05	1,5 - 2 cm tròn, nhày	Màu da cam	Thịt - pepton

Đặc điểm sinh trưởng và phát triển của *Agrobacterium* và *Flavobacterium* được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3: Một số đặc điểm sinh trưởng phát triển của *Flavobacterium* và *Agrobacterium* spp.

Yếu tố môi trường	<i>Flavobacterium</i>	<i>Agrobacterium</i>
Nhiệt độ tối ưu (°C)	25 - 30	25 - 28
pH tối ưu	6,5 - 7,0	6,5 - 7,0
Nguồn cacbon:		
Glucoza	+	+
Saccharoza	+/-	+
Nguồn nitơ:		
(NH ₄) ₂ SO ₄	+	+
NH ₄ NO ₃	+	+
Pepton	+	+
Cao nấm men	+	+

Khi nhiễm vi khuẩn vào hạt đậu xanh, sau 1 ngày đã sự sai khác rõ rệt giữa 2 công thức: đối chứng và nhiễm khuẩn. Kết quả được thể hiện trong bảng 4.

Bảng 4: Sự nảy mầm của đậu xanh sau 1 ngày tẩm nhiễm vi khuẩn (10^{11} TB/ml mt)

(Đơn vị tính: %)

STT	Môi trường	Nước	MT tổng hợp	MT tự nhiên
	Chủng vi khuẩn			
1	ĐC không nhiễm	0	-	-
2	Ag14	-	100	100
3	Ag15	-	100	100
4	F02	-	100	85
5	F05	-	100	100

Tác động của vi sinh vật đối với sự ra rễ của đậu cove được trình bày trong bảng 5.

Bảng 5: Sự ra rễ của đậu cove sau khi tẩm nhiễm vi khuẩn *Agrobacterium* và *Flavobacterium* (sau 6 ngày)

Đơn vị tính: chiếc rễ

STT	Môi trường	Nước	MT tổng hợp (10^4 TB/ml)	MT tự nhiên (10^6 TB/ml)
	Chủng vi khuẩn			
1	ĐC không nhiễm	0	-	-
2	Ag14	-	38	64
3	Ag15	-	38	48
4	F02	-	36	47
5	F05	-	36	50

Theo bảng 5 có thể thấy số lượng rễ ở công thức nhiễm vi khuẩn nuôi cấy ở 2 môi trường sai khác rõ rệt. Vi khuẩn được nuôi cấy trên môi trường tự nhiên có số lượng rễ nhiều hơn trên môi trường tổng hợp.

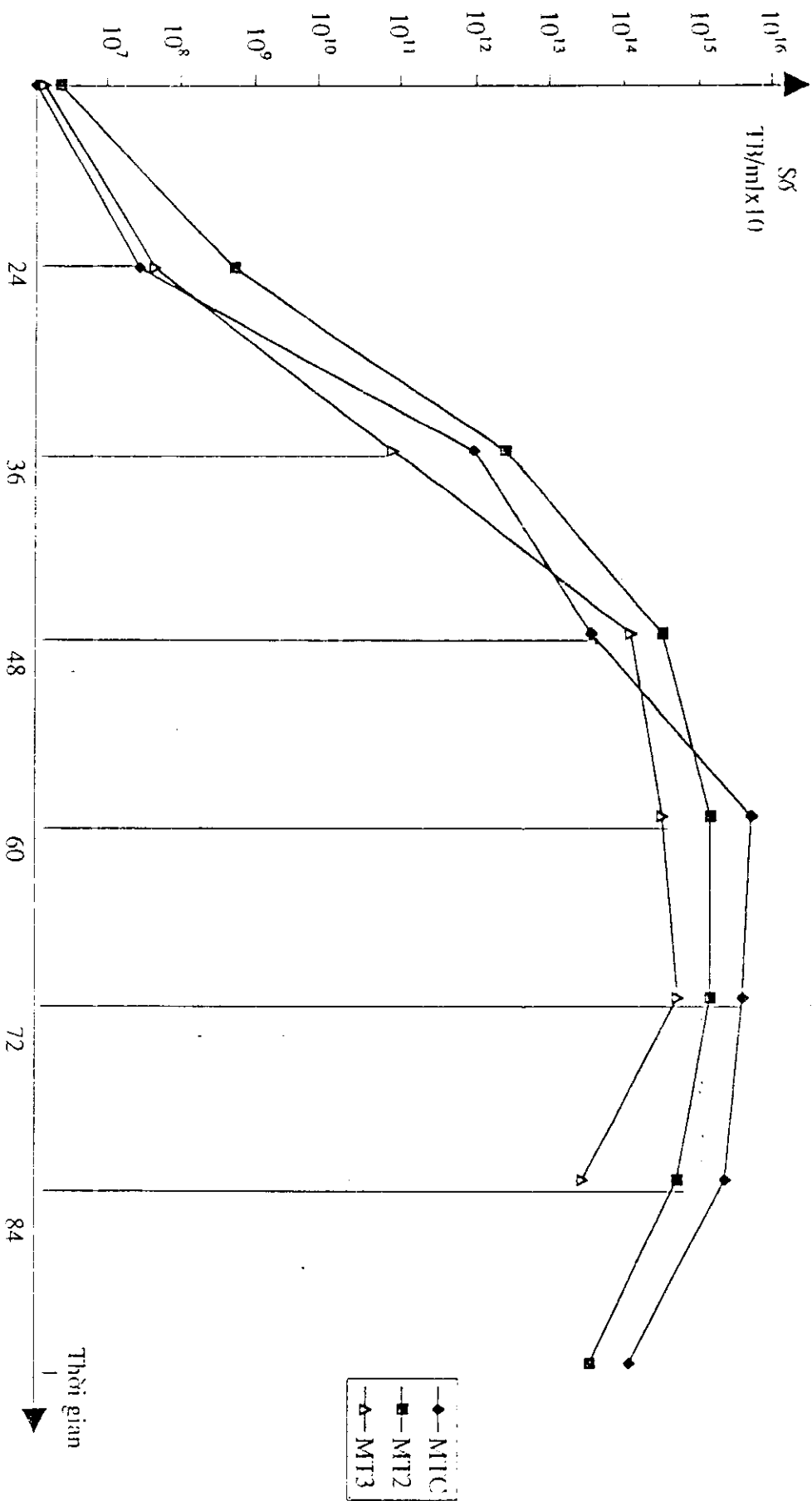
Có thể trên môi trường tự nhiên với thành phần nước chiết đậu có chứa một số lượng đạm, đường nó đã kích thích sự phát triển tốt hơn tế bào vi khuẩn, so với môi trường tổng hợp mặc dù đã bổ sung triptophan là 1 loại axit amin có khả năng kích thích sinh trưởng.

2. Sản xuất chế phẩm

Nghiên cứu lựa chọn những điều kiện tối ưu cho việc thu nhận sinh khối tế bào vi khuẩn lớn nhất như: môi trường, pH, T^oC...là công việc quan trọng trong quá trình sản xuất chế phẩm.

3 loại môi trường sử dụng để nhân sinh khối, có thể thấy tốc độ sinh trưởng TB với mỗi loại môi trường có sự sai khác, chúng thể hiện ở đường cong sinh trưởng của tế bào (Đồ thị 1)

Đồ thị 1: Đường cong sinh trưởng của vi sinh vật



Trên đồ thị 1 tại thời gian 60h nuôi cấy (pha log) ở môi trường chuẩn số lượng tế bào đạt cao nhất so với 2 môi trường kia và tại pha ổn định, cũng như pha từ vong số lượng tế bào vẫn cao hơn cả. Tuy nhiên nuôi cấy vi khuẩn môi trường 2 (môi trường tự nhiên) tốc độ sinh trưởng của vi khuẩn ở 2 pha lag & pha log cũng không thua kém so với môi trường chuẩn.

Qua kết quả thí nghiệm có thể thấy sử dụng môi trường 2 làm môi trường nhân giống cấp 1 và cấp 2 vì không tốn kém mà vẫn đạt được sinh khối tế bào cao.

Trong quy trình công nghệ sản xuất chế phẩm, việc thu nhận sinh khối tế bào thường qua 2 giai đoạn: *lên men nhân giống cấp I và nhân giống cấp II*. Việc ta lựa chọn thời gian này để kết thúc nhân giống cấp I và chuyển sang nhân giống cấp II, cũng cần phải nghiên cứu. Vì đây là vấn đề hiệu quả kinh tế của công nghệ sản xuất: vừa đảm bảo chất lượng lên men, vừa không gây ra sự tổn kém về năng lượng cũng như thời gian lên men.

Đồ thị 1 cho thấy thời gian 36 h là thời điểm có thể kết thúc lên men cấp I và chuyển sang lên men nhân giống cấp II. Đó là điểm giữa ở pha log (sinh sản của tế bào bắt đầu tăng nhanh). Việc bổ sung lượng giống cấp I trong quá trình nhân giống cấp II cũng cần phải xem xét vì không ngoài mục đích thu nhận sinh khối lên men tốt nhất mà vẫn đảm bảo hiệu quả kinh tế.

Bảng 6: Số lượng tế bào nhân giống cấp II khi bổ sung giống cấp I.

Đơn vị tính: số lượng TB/ml

Tỷ lệ giống cấp I \ Thời gian nhân giống cấp II	1%	5%	10%
Sau 24h	$34,9 \times 10^{11}$	$25,2 \times 10^{11}$	$51,1 \times 10^{12}$
Sau 36h	$9,36 \times 10^{13}$	$14,2 \times 10^{14}$	$35,3 \times 10^{14}$
Sau 48h	$34,3 \times 10^{14}$	$60,1 \times 10^{14}$	$93,2 \times 10^{14}$

Bảng 6 cho thấy lượng giống vi khuẩn cấp I bổ sung vào quá trình nhân giống cấp II theo tỷ lệ 5% là tốt hơn cả. Kết quả lựa chọn pH tối ưu trong nhân sinh khối được trình bày trong bảng 7.

Bảng 7: Ảnh hưởng của pH tới sự sinh trưởng của vi khuẩn trong quá trình lên men.

Đơn vị tính: số TB/ml dịch

Chủng vi khuẩn	Thời gian lên men	pH môi trường		
		6,5	7,2	8,0
Flavobacterium	24h	$21,1 \times 10^{11}$	$2,1 \times 10^{11}$	$42,4 \times 10^{10}$
	36h	$8,0 \times 10^{11}$	$15,0 \times 10^{14}$	$88,0 \times 10^{12}$
	48h	$15,0 \times 10^{13}$	$60,5 \times 10^{14}$	$11,5 \times 10^{13}$
Agrobacterium	24h	$5,6 \times 10^9$	25×10^7	-
	36h	$13,4 \times 10^8$	$3,5 \times 10^9$	-
	48h	$16,0 \times 10^{10}$	$15,3 \times 10^{11}$	-

pH thích hợp cho sự sinh trưởng của *Flavobacterium* & *Agrobacterium* là 7,2.

Để nâng cao chất lượng của chế phẩm trong điều kiện sử dụng chế phẩm một thời gian dài việc nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng tới độ sống sót của vi khuẩn trong chế phẩm như: độ ẩm, nhiệt độ, chất phụ gia... là rất cần thiết. Bảng 8 mô tả tác động của độ ẩm chế phẩm và ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản đến sự tồn tại của vi sinh vật.

Bảng 8: Ảnh hưởng của độ ẩm, nhiệt độ tới sự sống sót của vi khuẩn trong chế phẩm *Flavobacterium*.

Đơn vị tính: số TB/g chế phẩm

Nhiệt độ / Độ ẩm	Thời gian bảo quản	Nhiệt độ bảo quản		
		24-25°C	30-32°C	> 37°C
30%	30 ngày	$1,7 \times 10^{10}$	$2,1 \times 10^9$	$5,6 \times 10^8$
	60 ngày	$2,4 \times 10^9$	$1,5 \times 10^9$	$2,4 \times 10^9$
	90 ngày	$1,4 \times 10^9$	$1,6 \times 10^8$	$9,5 \times 10^2$ (nhiễm XK)
45%	30 ngày	$4,5 \times 10^{10}$	$3,2 \times 10^9$	$1,3 \times 10^9$
	60 ngày	$1,5 \times 10^9$	$2,9 \times 10^9$	$3,5 \times 10^9$
	90 ngày	$2,0 \times 10^9$	$1,3 \times 10^8$	$5,0 \times 10^3$ (nhiễm XK)
60%	30 ngày	$3,2 \times 10^{10}$	$2,6 \times 10^9$	$1,4 \times 10^9$
	60 ngày	$4,1 \times 10^9$	$7,1 \times 10^9$	$3,8 \times 10^9$
	90 ngày	$3,9 \times 10^9$	$2,7 \times 10^8$	$4,5 \times 10^7$

Ghi chú: số lượng tế bào vi khuẩn ban đầu $9,6 \times 10^{10}$ / g chế phẩm.

Bảng 8 cho thấy chế phẩm có độ ẩm 60% bảo quản ở 3 nhiệt độ : 24-25°C, 32°C và 37°C có số lượng tế bào vi khuẩn sống sót cao hơn cả sau 3 tháng. Còn ở 2 độ ẩm 30% và 45% ở nhiệt độ 37°C, số lượng tế bào chỉ đạt 10^2 , như vậy chất lượng của chế phẩm không bảo đảm.

Nhằm nâng cao thời gian tồn tại của vi khuẩn trong chế phẩm, chất mang vô trùng được bổ xung thêm 3% rỉ mật. kết quả được minh họa trong bảng 9.

Bảng 9: Khả năng tồn tại của *Flavobacterium* trong chế phẩm ở điều kiện 20 - 20°C.

Đơn vị tính: Số TB/g chế phẩm

Độ ẩm TG bảo quản	30%		45%		60%	
	Chế phẩm	CP+rỉ đường	Chế phẩm	CP+rỉ đường	Chế phẩm	CP+rỉ đường
1 tháng	$1,7 \times 10^{10}$	$3,1 \times 10^{11}$	$4,5 \times 10^{10}$	$6,6 \times 10^{11}$	$3,2 \times 10^{10}$	$1,8 \times 10^{11}$
2 tháng	$2,4 \times 10^9$	$4,8 \times 10^{10}$	$1,5 \times 10^9$	$2,1 \times 10^{11}$	$4,1 \times 10^9$	$9,6 \times 10^{10}$
3 tháng	$1,4 \times 10^9$	$1,4 \times 10^{10}$	$2,0 \times 10^9$	$8,2 \times 10^{10}$	$3,9 \times 10^9$	$3,4 \times 10^{10}$

Đối với *Agrobacterium* nhiệt độ bảo quản phù hợp cũng là 20 -25 °C, kết quả được trình bày trong bảng 10.

Bảng 10: Ảnh hưởng của nhiệt độ tới khả năng sống sót của tế bào vi khuẩn *Agrobacterium*

Đơn vị tính: số TB/g chế phẩm

Thời gian Nhiệt độ	30 ngày	60 ngày	90 ngày
	20 - 25 °C	$2,2 \times 10^9$	$4,1 \times 10^9$
34 - 36 °C	$3,5 \times 10^9$	$3,8 \times 10^9$	$1,4 \times 10^7$

3. Đánh giá hiệu quả của chế phẩm *Agrobacterium* và *Flavobacterium* trên rau cải trắng

Chỉ tiêu năng suất của rau thể hiện ở bảng 11, bảng 12 cho thấy ở công thức bón chế phẩm *Flavobacterium* ở cả 2 vụ đều cho năng suất rau cao hơn cả, sau đó là công thức bón hỗn hợp

Bảng 11: Ảnh hưởng của chế phẩm tới năng suất rau cải trắng vụ xuân (21/3 - 6/5/1998)(45 ngày)

STT	Chế phẩm	số lá/cây	Cao cây (cm)	TL tươi thân lá (g/chậu)	tích lũy chất khô (%)
1	ĐC: nền 40-80-40	10,3	24,3	120,2	8,06
2	Nền + CF <i>Flavobacterium</i>	10,3	24,8	177,8 *	13,86
3	Nền + CF <i>Agrobacterium</i>	10,4	24,2	134,3	9,65
4	Nền + Hỗn hợp chế phẩm	8,6	27,9	182,5 **	13,08
LSD(1%):				39,29	
CV(%):				9,5	

Bảng 12: Ảnh hưởng của chế phẩm tới năng suất rau cải trắng vụ hè thu (29/8-30/9)

STT	Chế phẩm	số lá/cây	Cao cây (cm)	TL tươi thân lá (g/chậu)	tích lũy chất khô (%)
1	ĐC: nền 40-80-40	8,17	24,67	190,00	15,31
2	Nền + CF <i>Flavobacterium</i>	8,80	27,67	213,33	21,23
3	Nền + CF <i>Agrobacterium</i>	8,77	25,67	205,00	16,69
4	Nền + Hỗn hợp chế phẩm	8,47	26,33	213,33	18,79
LSD(1%):		1,05	-	-	
LSD (5%):		-	0,88	42,22	
CV(%)		4,1	1,7	10,3	

Chất lượng rau thông qua các chỉ tiêu như đường tổng số, hàm lượng vitaminC, nitrat cũng có sự sai khác ở các công thức (bảng 13)

Bảng 13: Chất lượng của rau cải trắng khi bón chế phẩm *Agrobacterium* và *Flavobacterium*

S TT	Chế phẩm	Vu hệ thu			Vu xuân		
		Đường TSố (%)	VitaminC (mg/100g)	NO ₃ (mg/kg)	Đường TSố (%)	VitaminC (mg/100g)	NO ₃ (mg/kg)
01	Nền	1,51	70,17	2,432	0,92	70,37	2,745
2	CF Flavo	1,74	83,58	1,164	1,02	70,64	1,052
3	CF Agro	1,62	79,94	2,139	1,27	70,85	1,385
4	CF HHợp	1,59	70,98	1,245	0,88	77,03	1,773

Rau được bón chế phẩm *Flavobacterium* có chất lượng tốt hơn cả, hàm lượng nitrat thấp hơn nhiều so với đối chứng.

IV. KẾT LUẬN:

1. Chúng vi khuẩn *Agrobacterium* và *Flavobacterium* hoạt chất sinh học có khả năng kích thích sinh trưởng.

2. Quy trình sản xuất tạo chế phẩm như sau:

a. Môi trường lên men để thu nhận sinh khối tế bào vi khuẩn có thể sử dụng môi trường tự nhiên gồm: nước chiết đậu 5%, đường kính hoặc ri đường 1%, có bổ sung một số thành phần muối khoáng.

b. pH thích hợp cho quá trình lên men của *Agrobacterium* và *Flavobacterium* từ 6,8 - 7,2.

c. Thời gian nhân giống cấp I là 36 h với tỷ lệ giống bổ sung là 5%.

d. Độ ẩm chế phẩm 60% có bổ sung 3% ri đường thì số lượng tế bào sẽ đạt 10^{10} TB/g chế phẩm ở nhiệt độ 32°C và 10^8 TB/g chế phẩm ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 3 tháng

e. Khi bón chế phẩm *Flavobacterium* cho rau cải trắng làm tăng năng suất 13,3%, bón chế phẩm *Agrobacterrium* tăng năng suất 8,82% so với đối chứng; chất lượng rau tăng đáng kể.

ĐỀ NGHỊ:

- Cho phép khảo nghiệm chế phẩm trên các đối tượng rau.
- Trình bày báo cáo tại hội nghị KH bộ NN&PTNT

ENTEROBACTER CÓ KHẢ NĂNG CỐ ĐỊNH NITƠ HÔI SINH VỚI CÂY LÚA NƯỚC

Nguyễn Thị Phương Chi, Nguyễn Ngọc Dũng,
Hồ Thị Hồng Thanh

Trong khoảng 20 năm nay đã có rất nhiều công trình nghiên cứu các vi sinh vật cố định nitơ hội sinh với các cây hòa thảo. Việc sử dụng các chủng *Azospirillum* có khả năng cố định nitơ cao hội sinh với cây lúa nước để sản xuất phân vi sinh vật giúp tăng năng suất lúa đã được rất nhiều nơi trên thế giới và Việt Nam quan tâm (5). Nhưng các loại vi khuẩn khác cố định nitơ hội sinh với lúa vẫn còn ít được chú ý. Nếu đưa vào đồng ruộng chế phẩm vi sinh vật gồm hỗn hợp hợp lý của những chủng vi khuẩn có lợi cho cây lúa, chắc chắn hiệu quả sẽ đạt được tốt hơn. Để tìm kiếm thêm các chủng vi khuẩn có khả năng cố định nitơ hội sinh với cây lúa nước, chúng tôi đặt vấn đề nghiên cứu các chủng *Enterobacter* có trong đất trồng lúa và rễ lúa.

I. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Mẫu đất và rễ lúa thu thập tại Thụy Phương (Từ Liêm) và Phú Lỗ (Sóc Sơn) - Hà Nội.

Môi trường NFDM không chứa nitơ, nguồn C là glucoza theo Alfons và cộng sự (1).

Xác định số lượng có thể nhất của vi khuẩn (MPN : most probable number) theo Okon và cộng sự (7).

Xác định khả năng cố định nitơ của mẫu theo phương pháp đo phản ứng khử axetylen trên máy sắc kí khí INTERSMAT SA (Pháp).

Tách plasmid của vi khuẩn theo phương pháp của C.I.Kado và S.T.Liu (3). điện di trên gel agarosa 0,6%, đệm TBE, mật độ điện thế 6 V/cm. Plasmid chuẩn có chứa gen *Nif⁺* pEA9 do khoa di truyền Trường đại học tổng hợp Bayreuth (CHLB Đức), giáo sư W.Klingmuller cung cấp.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Wattanabe và cộng sự đã nhận xét : "Lúa nước lấy được nitơ của đất nhiều hơn lúa cạn khi không có nitơ bổ sung từ ngoài vào. Lúa nước có thể sinh

trường không cần phân lâu hơn so với lúa cạn mà không bị giảm hoặc ít giảm năng suất. Đó là nhờ khả năng cố định nitơ sinh học" (8). Trong những bài trước (5, 6...) chúng tôi đã trình bày sự phân bố rộng rãi của *Azospirillum* trong đất trồng lúa và rẫy lúa ở Việt Nam.

Kết quả bước đầu xác định số lượng có thể nhất (MPN) những vi khuẩn có khả năng cố định nitơ, sử dụng glucoza làm nguồn cacbon được trình bày trên bảng 1.

Bảng 1

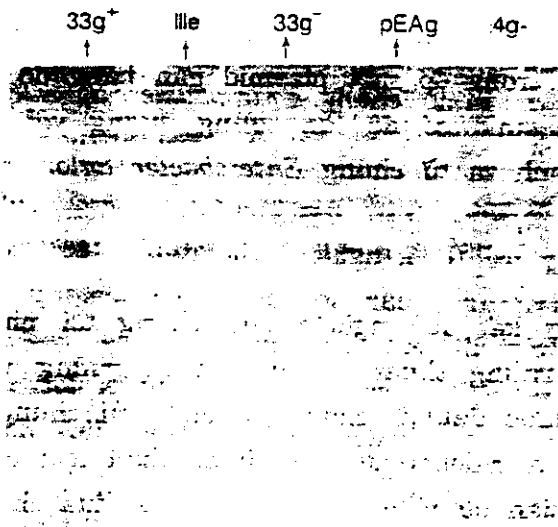
Số lượng vi khuẩn nitơ có khả năng nhất (MPN) sử dụng glucoza làm nguồn Cacbon trên một số mẫu đất ruộng lúa và rẫy lúa

Địa điểm	Đặc điểm mẫu	pH _{KCl}	MPN (tế bào/gam khô)	
			Mẫu đất	Mẫu rẫy
Phù Lỗ (Sóc Sơn)	Chuyên canh lúa. Tháng 4.1992	5	2,5.10 ³ 8,0.10 ³ 9,0.10 ³	2,5.10 ³ 2,5.10 ³ 9,0.10 ³
	Luân canh lúa màu. Tháng 4.1992	5,5	13.10 ³	
Phù Lỗ (Sóc Sơn)	Chuyên canh lúa Tháng 10.1992	5	2,3.10 ⁵ 1,2.10 ⁵ 1,0.10 ⁵	9,0.10 ⁷ 2,5.10 ⁸ 4,0.10 ⁸
	Luân canh lúa - màu. Tháng 10.1992	5	2,5.10 ⁴ 1,0.10 ⁵ 1,0.10 ⁵	5,0.10 ⁸ 1,0.10 ⁸ 1,0.10 ⁸
Thụy Phương (Tứ Liêm)	Chuyên canh lúa Tháng 10.1992	6,3	2,3.10 ⁵ 1,0.10 ⁵ 1,3.10 ⁵	9,0.10 ⁶ 2,3.10 ⁸ 4,0.10 ⁸
	Luân canh lúa - màu Tháng 10.1992	7,4	1,2.10 ⁴ 1,0.10 ⁵ 1,0.10 ⁶	5,0.10 ⁶ 2,3.10 ⁸ 1,0.10 ⁸

Qua số liệu ở bảng 1, có thể thấy trong tất cả các mẫu đất và rẫy lúa đều có khá nhiều vi khuẩn có khả năng cố định nitơ, sử dụng glucoza làm nguồn cacbon. Số lượng vi khuẩn có thể có trong 1 gam rẫy (khô tuyệt đối) nhiều hơn hẳn trong 1 gam đất. Các mẫu thu thập vào giai đoạn lúa trở bông vụ tháng 10

Một số đặc điểm phân loại của hai chủng 4g và Ile

Đặc điểm	Chủng	4g	Ile
Galactozidaza		+	+
Arginin dihydrogenaza		+	-
Lysin decarboxylaza		-	+
Ornithin decarboxylaza		-	-
Sử dụng xitrat		+	+
Sản ra H ₂ S		-	-
Ureaza		-	-
Tryptophan desaminaza		-	-
Phản ứng Vogler - Proskhauer		+	+
Geiatinaza		-	-
Lên men glucoza		+	+
- manitol		+	+
- inositol		+	+
- sorbitol		+	+
- rhamnoza		+	+
- saccaroza		+	+
- melibioza		+	+
- amigdalín		+	+
- arabinoza		+	+
Phản ứng Hugh - Leifson		+	+
Phản ứng dò methyl		-	-
Vận chuyển		+	+



Ảnh : Điện di plasmid

Chú thích : 339⁺ : chủng 339
 có nifgen.
 339⁻ : chủng 339
 không có nifgen

-Plasmid chứa Nif⁺

có số lượng vi khuẩn nhiều hơn hẳn so với vụ tháng 4. Những nhận xét này còn cần khẳng định thêm trong một số năm phân tích tiếp theo. Tuy vậy, điều nổi bật là các mẫu đất và rễ của lúa nước ở các địa điểm và thời vụ khác nhau đều có chứa số lượng lớn các vi khuẩn cố định nitơ sử dụng glucoza làm nguồn cacbon, chứng tỏ đất trồng rễ lúa nước là môi trường thuận lợi cho các loại vi khuẩn này.

Chúng tôi đã phân lập được trên 100 chủng vi khuẩn khác nhau từ các lọ, có hoạt tính cố định nitơ của các mẫu đất và rễ lúa nuôi trong môi trường NFD. Xác định các chủng theo cách phân loại bước đầu của một số tác giả (1), nhận thấy phần lớn các chủng thuộc nhóm *Enterobacter* và *Pseudomonas*.

Từ những kết quả nhận xét trên, chúng tôi hy vọng có thể tuyển chọn được những chủng *Enterobacter* có khả năng cố định nitơ cao, hội sinh với cây lúa nước để dùng sản xuất phân vi sinh vật. Trong bộ sưu tập các chủng thuộc nhóm *Enterobacter*, chúng tôi đã lựa chọn 2 chủng có khả năng cố định nitơ cao, cả trong điều kiện kỵ khí trong môi trường NFD bán lỏng lẫn trong điều kiện hội sinh với mầm lúa. Hai chủng này được phân lập từ rễ lúa ký hiệu là 4g và IIIe.

Những đặc điểm phân loại của hai chủng trên được trình bày ở bảng 2. Có thể nhận thấy, theo tiêu chuẩn phân loại của Bergey (1984) và của API 20e Biomereux SA có thể xếp chủng 4g thuộc *Enterobacter cloacae* và chủng IIIe là *Enterobacter aerogens*. Điều này cũng phần nào phù hợp với nhận xét của Yoshida (1971) và Balandreau (1977) : "... Beijerinckia sp. và *Enterobacter cloacae* là những vi khuẩn cố định nitơ phổ biến nhất trong rễ quyển (rhizosphere) của lúa" (2).

Hai chủng 4g và IIIe sau khi nuôi trên môi trường LB (Luria Broth) một đêm, được sử dụng để tách plasmid theo phương pháp của C.I.kado và S.T.Liu (3). Kết quả điện di plasmid trên gel agarosa được thể hiện trên ảnh. Chủng 4g có hai plasmid, trong đó một plasmid gần bằng độ lớn của plasmid pEA9. Chủng IIIe có một plasmid có độ lớn tương đương với plasmid pEA9. Plasmid pEA9 (200kb) được tách ra từ chủng *Enterobacter agglomerance* 339⁺ có chứa nifgen (4).

III. KẾT LUẬN

Qua những kết quả nghiên cứu chúng tôi nhận thấy đất trồng và rễ lúa nước là môi trường thuận lợi cho sinh trưởng và phát triển của các chủng *Enterobacter*. Bước đầu đã chọn lựa được hai chủng *Enterobacter* có khả năng cố định nitơ cao và nghiên cứu đặc điểm phân loại của chúng. Đó là những cơ sở khoa học đầu tiên để nghiên cứu tiếp theo, đưa chúng vào chế phẩm vi sinh vật cải tạo đất và tăng năng suất lúa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Alfons Kleeberger, Helga Castrph, W. Klingmuller, 1983.* The rhizosphere microflora of wheat and barley with special reference to gram - negative bacteria. Archives of Microbiology - Verlag V.136 ; p.306.
2. *Carlos A. Neyra. J. Dobereiner. 1977.* Nitrogen fixation in graasses. Advances in Agronomy. Vol 29.
3. *Kado C. I. Liu s.T., 1981.* Rapid procedure for detection and isolation of Large and Small plasmids. J. of Bact., 145. N^o 3, 1365 - 1373.
4. *Klingmuller W., 1991.* Plasmid transfer in natural soil : a case by case study with nitrogen - fixing Enterobacteria. FEMS Microbiology Ecology, 85, 107 - 116.
5. *Nguyễn Thị Phương Chi, Nguyễn Ngọc Dũng, Hà Hồng Thanh, 1994.* Ảnh hưởng của chế phẩm phân vi sinh vật cố định nitơ lên sinh trưởng và năng suất lúa. Tạp chí : Nông nghiệp và công nghiệp thực phẩm ,T6 384. tr.212.
6. *Nguyễn Ngọc Dũng, Nguyễn Phương Chi, Lý Kim Bảng, 1988.* Azospirillum from rice fields Hanoi. In : Klingmuller W. (ed.) : Azospirillum IV : Genetics, Physiology. Ecology. Springer - Verlag - Heidelberg.
7. *Okon Y., Albocht S.L., Burri R.H., 1977.* Methods for growing Spirillum lipoferum and for counting it. in pure culture and in association with plants., Appl. and Envir. Microbiol. 33, p. 85.
8. *Wattanabe I., Roger P.A., 1984.* Nitrogen fixation in wetland Rice field. "Current development in Biological nitrogen fixation". Ed, by Subba Rao. Oxford and IBH Publishing, Co. New Delhi, Bombay Calcuta.

NITROGEN - FIXING ENTEROBACTER ASSOCIATED WITH WETLAND - RICE

*Nguyen Thi Phuong Chi, Nguyen Ngoc Dung,
Ha Thi Hong Thanh*

SUMMARY

The most probabler number (MPN) of Nitrogen fixing bacteria, which use glucose as Carbon source, has been studied. It's average ranged from approximately 10^2 to 10^6 cells per gram (depend on each probe of soil or root). The composition of these bacteria is mainly *Enterobacter* and *Pseudomonas*.

Two strains *Enterobacter*, isolated from rhizosphere of wetland rice have been selected. They have higher Nitrogen fixing ability under anaerobic and associated with rice seedling condition.

They have been identified by API of Biomerieux SA (France). The strain IIIe have many characters of *Enterobacter aerogenes*, and 4g - *Enterobacter cloacae*.

The strains 11e and 4g have one plasmid, which corresponds to the plasmid having Nif gen of reference strain 339* (received from Dept. Genetics, University Bayreuth, FRG). Meanwhile the strain 4g have either one smaller.

These strains may be used to study of producing biofertilizer.

*

* *

SỰ MẤT HOẠT TÍNH TRAO ĐỔI CHẤT CỦA QUANG HỆ 2 (PSII) Ở TẾ BÀO *CHLORELLA*.

Đặng Diễm Hồng, Venediktov, P.C,
Chemic. Yu. K

Một vấn đề cần thiết trong nghiên cứu quang hợp là giải thích cơ chế hoạt động của phản ứng đầu tiên của quang hợp trong các tế bào nguyên vẹn khi có sự thay đổi điều kiện môi trường và trạng thái sinh lý của tế bào. Ở thực vật, tảo có các cơ chế hoạt động khác nhau cho phép chúng cân bằng việc tạo và sử dụng các sản phẩm đầu tiên của quang hợp để tránh sự tích lũy chúng một cách dư thừa trong tế bào. Trong số các cơ chế khác nhau này có quá trình mất hoạt tính mang tính chất thích nghi của phản ứng đầu tiên của quang hợp. Sự mất hoạt tính của quang hệ 2 (PSII) của bộ máy quang hợp khi điều kiện môi trường thay đổi là một phản ứng thích nghi của bộ máy quang hợp, dẫn tới sinh trưởng của tế bào bị chậm lại và giảm nhu cầu của tế bào về các sản phẩm quang hợp. Vì vậy, nghiên cứu cơ chế mất hoạt tính của PSII là một vấn đề cần thiết vì hiệu quả của cơ chế này xác định vùng điều kiện thuận lợi cho sinh trưởng mà trong đó thực vật còn có thể tồn tại được. Tuy nhiên, cho đến nay vẫn chưa sáng tỏ cái gì là tín hiệu về sự mất hoạt tính PSII khi giảm tốc độ phát triển. ngoài ra sự mất hoạt tính của PSII chắc phải liên quan với sự tích lũy các sản phẩm cố định CO₂.

Trong công trình này chúng tôi trình bày kết quả nghiên cứu sự mất hoạt tính trao đổi chất của PSII ở tảo *Chlorella*.

I. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

Trong nghiên cứu, chúng tôi đã sử dụng tảo lục đơn bào *Chlorella vulgaris* Beijerinck. S.639/640688 từ tập đoàn giống của Viện sinh vật thuộc Trường đại

(*) Trường đại học tổng hợp quốc gia Nga mang tên Lomonosov

TÁC DỤNG CỦA CÁC CHỦNG *Enterobacter* LÊN SINH TRƯỞNG CỦA CÂY NGÔ NON VÀ MÀM LÚA

Nguyễn Thị Phương Chi, Phạm Thanh Hà,
Lê Hồng Thanh, Nguyễn Ngọc Dũng

Tổng quan về sự thành bại trong việc sử dụng chế phẩm *rhizobia* cho các cây họ đậu trong hơn 50 năm qua. John G. Streeter, 1994, đã nhận thấy có những chủng vi khuẩn lựa chọn có hoạt tính cố định Nitơ rất cao nhưng chưa chắc đã tạo nốt sần hiệu quả hơn các chủng vi khuẩn bản địa vì chúng chịu rất nhiều tác động của điều kiện sinh thái môi trường như sự phân bố của các chủng thuộc chi đó trong đất, hiệu ứng giữa chủng và genotip của cây, đặc tính của đất, nhiệt độ, các dạng khác nhau của chế phẩm v.v... (5).

Trước đó đã có nhiều công trình thực nghiệm (11) chứng tỏ việc sử dụng các chủng vi khuẩn có khả năng cố định Nitơ cao - thí dụ *Azospirillum* - nhiễm vào các cây hòa thảo cho kết quả không thống nhất phụ thuộc vào các địa phương khác nhau, giống hòa thảo khác nhau.

Vì vậy để tiến đến sản xuất một dạng chế phẩm phân bón vi sinh vật từ một chủng vi sinh vật nào đó cho cây trồng, đòi hỏi phải nghiên cứu các đặc tính của chủng đó trong điều kiện sinh thái cụ thể.

Trong bài trước (10), chúng tôi đã trước đầu lựa chọn được 2 chủng vi khuẩn *Enterobacter* có khả năng cố định Nitơ cao và đã xác định một số đặc điểm phân loại của chúng theo tiêu chuẩn API 20e Biomereux SA. Hai chủng đó có nhiều khả năng thuộc loài *Enterobacter cloacae* (chủng 4g) và *Enterobacter aerogenes* (chủng IIIe).

Bài báo này muốn trình bày kết quả thử nghiệm khả năng cố định Nitơ hội sinh của 2 chủng này với mầm lúa và mầm ngô trong ống nghiệm, mật độ tồn tại của chúng trên môi trường xốp than bùn và tác dụng của chúng lên lúa và ngô giai đoạn cây non.

I. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Chủng vi sinh vật

- Chủng *Enterobacter cloacae* 4g và chủng *Enterobacter aerogenes* IIIe trong bộ sưu tập chủng của Viện Công nghệ Sinh học. (10)

- Chủng *Enterobacter cloacae* ZP 101 có nguồn gốc từ rễ ngô ngoại ô Bengrat, Nam Tư cũ (3) do TS Haida L. cung cấp

- Chủng *Enterobacter agglomerans* 333 có nguồn gốc từ rễ lúa mì ngoại ô Bayreuth, CHLB Đức (6) do GST Klingmuller cung cấp.

2. Hạt ngô (*Zea mays*), giống ngô lai Q2.

Hạt lúa (*Oryzae sativa*) giống Nếp mới dùng trong thí nghiệm trong ống nghiệm và giống CR203 dùng trong thí nghiệm chậu vai

3. Đất thí nghiệm.

Đất phù sa sông Hồng, thuộc địa phận Từ Liêm Hà Nội

4. Xác định khả năng cố định Nitơ hội sinh giữa vi khuẩn và mầm ngô hoặc mầm lúa trong ống nghiệm Pankhrust theo phương pháp mô hình mầm rễ của Thomas Bauzon có cải biên đã được mô tả trong bài trước (7).

Mỗi thí nghiệm lặp lại ít nhất 10 lần.

5. Xác định khả năng cố định Nitơ của mẫu bằng phương pháp đo hoạt tính khử axetylen trên máy sắc kí khí Intermat IGC 120 DFL (Pháp).

6. Môi trường nhân giống cấp 1 theo Hino và Wilson 1958 (2).

7. Môi trường xốp trên than bùn chủ yếu theo phương pháp đã mô tả trong bài trước (8) có thay đổi thành phần để thích hợp với các chủng *Enterobacter*, kí hiệu môi trường 1 và môi trường 2.

8. Xác định số lượng tế bào trong chế phẩm theo thời gian bảo quản bằng đếm số lượng khuẩn lạc trên thạch đĩa môi trường không đậm YGA.

9. Thí nghiệm ảnh hưởng của chế phẩm vi sinh vật trên chậu vai.

Tính toán sao cho mật độ vi khuẩn trên mỗi hạt ngũ cốc đạt khoảng 10^6 tế bào vi khuẩn. Thí nghiệm với mỗi chủng vi khuẩn trên hạt ngô lặp lại 2 đợt, trên hạt lúa lặp lại 3 đợt, mỗi đợt lặp lại trên 5 chậu

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Khả năng cố định Nitơ hội sinh với mầm lúa và mầm ngô của các chủng *Enterobacter*.

Như kết quả bài trước đã trình bày (10), bằng phương pháp xác định khả năng cố định Nitơ tự do của các chủng *Enterobacter* trên môi trường bán lỏng trong điều kiện kỵ khí, chúng tôi đã lựa chọn được 2 chủng *E. cloacae* 4g và *E. aerogenes* IIIe là 2 chủng tốt nhất trong số chủng đã phân lập được. Tuy vậy các chủng có hoạt tính cố định Nitơ cao chưa chắc đã có khả năng cố định Nitơ cao trong điều kiện hội sinh với từng giống cây cụ thể (7). Vì vậy trước khi đưa chúng vào nghiên cứu sản xuất các chế phẩm phân vi sinh vật, cần phải thử khả năng cố định Nitơ hội sinh của chúng.

Kết quả xác định khả năng cố định Nitơ hội sinh của các chủng *Enterobacter* với mầm ngô và mầm lúa được trình bày trong bảng 1.

Các chủng *Enterobacter* ZP101 và 333 nhận từ nước ngoài đều là những chủng có hoạt tính cố định Nitơ cao (3,6). Chủng ZP101 còn có khả năng chống lại nấm mốc *Fusarium* sp., loại nấm gây bệnh đỏ rễ ở cây ngô (6).

Các số liệu cho thấy các chủng *Enterobacter* 4g và IIIe có khả năng cố định Nitơ hội sinh tốt với cả mầm lúa và mầm ngô.

Bảng 1

Khả năng cố định Nitơ của các chủng *Enterobacter* hội sinh với mầm lúa và mầm ngô

Chủng	Hoạt tính cố định N ₂ (nmol C ₂ H ₂ /hat lúa-14 ngày)	Hoạt tính cố định N ₂ (nmol C ₂ H ₂ /mầm ngô-10 ngày)
333	2098,41	kTN
4g	1485,60	3695,43
IIIe	1619,30	4011,12
ZP101	kTN	3528,30
ĐC	0	0

Chú thích: kTN: không thí nghiệm.

2. Bước đầu sản xuất thử chế phẩm *Enterobacter* trên môi trường xốp than bùn. Chủng vi khuẩn được nhân giống cấp 1 trên môi trường dịch thể theo Hino và Wilson (2), nuôi lắc trong 24 giờ. Sau đó cấy vào môi trường xốp với tỉ lệ 2% (dung tích/trọng lượng). Chế phẩm được bảo quản ở nhiệt độ trong phòng bình thường. Số lượng tế bào vi khuẩn chứa trong 1g chế phẩm được trình bày trong bảng 2.

Theo số liệu bảng 2 có thể thấy 2 môi trường mà chúng tôi sử dụng chưa thích hợp với chủng ZP101, sản phẩm chưa đạt mật độ vi khuẩn cao.

Trong những thực nghiệm thử nuôi cấy một số chủng *Rhizobium fredii* hoặc *Azospirillum* sp. chúng tôi cũng đã gặp nhiều trường hợp các chủng có hoạt tính cố định đạm cao trong điều kiện hội sinh với đậu tương hoặc với lúa nhưng khi nuôi cấy thử trên môi trường xốp than bùn thì các chủng lại không phát triển đủ số lượng theo yêu cầu hoặc thời gian bảo quản rất ngắn.

Bảng 2

Mật độ *Enterobacter* trong chế phẩm qua quá trình bảo quản
(tế bào/g chế phẩm)

Thời gian Chủng VK	Sau 10 ngày	Sau 2 tháng	Sau 5 tháng
ZP101 (1)	2.2.10 ⁶	6.1.10 ⁵	-
ZP101 (2)	3.4.10 ⁶	8.0.10 ⁶	1.1.10 ⁵
IIIe (1)	1.6.10 ⁸	1.6.10 ⁸	4.2.10 ⁸
IIIe (2)	5.0.10 ⁸	2.8.10 ⁸	1.8.10 ⁸
4g (1)	2.8.10 ⁸	8.4.10 ⁸	> 10 ⁹
4g (2)	3.6.10 ⁸	2.0.10 ⁸	> 10 ⁹
333 (1)	1.6.10 ⁸	1.4.10 ⁹	4.2.10 ⁹
333 (2)	1.2.10 ⁹	3.0.10 ⁹	1.3.10 ⁹

* Chú thích: (1): môi trường số 1.
(2): môi trường số 2.

Điều này chứng tỏ việc nghiên cứu tìm môi trường thích hợp cho mỗi chủng để sản xuất chế phẩm vi sinh vật là rất quan trọng.

Môi trường 2 thích hợp với 3 chủng IIIe, 4g, 333 trong thời gian mới nuôi cấy (sau 10 ngày). Chế phẩm của các chủng 333 và 4g đảm bảo số lượng lớn hơn 10^9 tế bào trong 1 gam chế phẩm sau 5 tháng bảo quản, đạt yêu cầu của các chế phẩm vi sinh vật trên chất mang thanh trùng.

Còn chủng IIIe⁽²⁾ bị giảm số lượng qua quá trình bảo quản, cần nghiên cứu điều chỉnh thành phần môi trường xấp cho thích hợp hơn.

3. Tác dụng của các chủng *Enterobacter* lên cây ngô non và mạ lúa. Trong mỗi chậu thí nghiệm với cây ngô số hạt được gieo là 3 hạt. Sau 25 ngày gieo trồng, đo chiều cao cây và cân tổng trọng lượng của thân lá và rễ. Nhận xét ngoại hình cho thấy cả 3 chủng thí nghiệm đều giúp sinh trưởng của ngô non tốt hơn so với đối chứng. Nhưng các cây ngô non được nhiễm chủng ZP101 thể hiện hiệu quả kém hơn hai chủng do chúng tôi phân lập: cây ngô phát triển không đồng đều thân gầy hơn và lá kém xanh hơn.

Qua bảng 3 có thể thấy chủng 4g giúp tăng chiều cao và sinh khối của cây ngô non hơn hẳn so với đối chứng.

Bảng 3.

Tác dụng của các chủng *Enterobacter* lên cây ngô non (sau khi gieo 25 ngày)

Chủng	Chiều cao cây (cm)	Trọng lượng thân + rễ (g)	Tăng trọng (%)	Nhận xét
Đối chứng	52,7	4,8		
ZP101	53,7	5,1	6,25	Các cây không đều bằng 2 mẫu 4g và IIIe
4g	54,1	6,5	35,4	Thân mập, lá xanh, rễ nhiều hơn đối chứng
IIIe	52,8	5,5	14,6	như trên

Trong các thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của các chủng *Enterobacter* lên mạ lúa đã gieo 150 hạt trong mỗi chậu. Thí nghiệm được tiến hành trong vụ mùa 1994, và 2 vụ xuân 1995 và 1996 đều thống nhất cho kết quả tốt. Nhiệt độ trong những ngày gieo thí nghiệm mạ trong các vụ xuân tương đối thấp. Đặc biệt vụ xuân 1996, có những ngày nhiệt độ hạ thấp tới 6°C, gió mùa đông bắc mạnh, mạ của những ruộng gieo đợt đó chết gần hết. Các chậu gieo lúa không nhiễm chế phẩm (đối chứng) dần dần chết sau khi gieo cho tới 25 ngày. Trong khi đó các chậu thí nghiệm có tỉ lệ mạ sống khá cao (55% đối với *E. cloacae* 4g và 50% đối với *E. aerogenes* IIIe).

Những số liệu minh họa tác dụng của các chủng *Enterobacter* lên mạ lúa có thể thấy điển hình qua thí nghiệm vụ xuân 1995, trình bày trong bảng 4.

Các số liệu cho thấy các chủng *Enterobacter* thí nghiệm ở đây đều giúp tăng khả năng chống rét cho mạ lúa rõ rệt. Điều này rất có ý nghĩa đối với mạ vụ xuân ở đồng bằng và miền núi phía Bắc. Tác dụng chống rét cho mạ của vi khuẩn cố định Nitơ thuộc

Tác dụng của các chủng *Enterobacter* lên mạ lúa vụ xuân 1995
(sau 31 ngày gieo hạt. Nhiệt độ thấp nhất 8°C)

Mẫu	Số cây sống/chậu	Tỉ lệ sống (%)	Chiều cao cây (cm)	Nhân xét
Đối chứng	86	57.3	8.85	cây nhỏ, lá xanh nhạt, rễ xám, kém phát triển
4g	120	80.0	11.05	Cứng cây, thân mập, lá xanh hơn, bộ rễ tốt hơn
IIIe	120	80.0	11.06	như trên
333	113	75.3	10.85	như trên

chỉ *Enterobacter* cũng tương tự như các chủng *Azospirillum* đã được sử dụng để sản xuất chế phẩm vi sinh vật cho lúa (9).

Với những cây mạ tốt và chịu rét như vậy đã giúp cây lúa chóng hồi phục sau khi cấy. Vụ xuân 1995 sau khi cấy được độ một tuần, lại gặp đợt rét đậm kéo dài, các cây lúa đối chứng không nhiễm chế phẩm vi khuẩn bị chết hết. Trong khi đó lúa trong các chậu thí nghiệm chịu được rét với tỉ lệ tương đối cao (chủng 333 : 60%, chủng IIIe : 80%, chủng 4g : 80%).

Nông dân ta thường nói: "Tốt mạ tốt lúa", các chủng *Enterobacter* giúp cây ngô non và mạ lúa có phẩm chất hơn hẳn so với đối chứng sẽ hứa hẹn tăng năng suất hạt. Tất nhiên để khẳng định một chủng vi khuẩn có thể làm tăng năng suất lúa, cần có những thí nghiệm trong chậu vại và trong đồng ruộng qua vài vụ ngô, lúa.

Đã có nhiều công trình phân lập được các chủng *Enterobacter* từ vùng rễ và trong rễ lúa (4, 10, 12) chứng tỏ đất vùng rễ và bên trong rễ lúa là môi trường thích hợp cho các chủng thuộc chi này sinh trưởng và phát triển. Bởi vậy việc nghiên cứu đưa các chủng *Enterobacter* vào sản xuất chế phẩm phân vi sinh vật có rất nhiều triển vọng.

III. KẾT LUẬN

1. Các chủng tự phân lập *Enterobacter cloacae* 4g, *Enterobacter aerogenes* IIIe và 2 chủng nhận từ nước ngoài để so sánh *Enterobacter cloacae* ZP101, *Enterobacter agglomerans* 333 đều có khả năng cố định Nitơ hội sinh với mầm lúa và mầm ngô.

2. Đã thử nghiệm nuôi cấy các chủng trên trong môi trường xốp than bùn, chế phẩm của 2 chủng 4g và 333 đạt hơn 10^9 tế bào trong 1 gram chế phẩm sau 5 tháng bảo quản ở nhiệt độ phòng thí nghiệm.

3. Hai chủng 4g và IIIe đều có tác dụng tốt lên sinh trưởng của cây ngô non và mạ lúa. Ngoài ra 2 chủng này còn giúp tăng khả năng chịu rét cho mạ lúa vụ xuân.