



DOI:10.22144/ctu.2025.192

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN MỘT SỐ DÒNG VI KHUẨN CÓ KHẢ NĂNG HÒA TAN LÂN TỪ ĐẤT CÀNH TÁC NHÃN TẠI TỈNH VĨNH LONG

Nguyễn Khởi Nghĩa, Đỗ Thành Luân, Nguyễn Thị Thu Hà và Nguyễn Minh Phương*

Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam

*Tác giả liên hệ (Corresponding author): nmphuong@ctu.edu.vn

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 08/04/2025

Sửa bài (Revised): 16/04/2025

Duyệt đăng (Accepted): 16/08/2025

Title: Isolation and selection of some bacterial strains capable of solubilizing phosphorus from longan cultivation soil in Vinh Long province

Author(s): Nguyen Khoi Nghia, Do Thanh Luan, Nguyen Thi Thu Ha and Nguyen Minh Phuong*

Affiliation(s): Faculty of Soil Sciences, College of Agriculture, Can Tho University, Viet Nam

TÓM TẮT

Lân (Phosphate) là một nguyên tố dinh dưỡng đa lượng quan trọng đối với cây trồng, tuy nhiên tính hữu dụng của lân thường giới hạn do phần lớn lân trong đất tồn tại ở dạng không hòa tan. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân lập và tuyển chọn các dòng vi khuẩn có khả năng hòa tan lân từ đất trồng nhãn lâu năm tại Vĩnh Long. Vi khuẩn hòa tan lân được phân lập bằng môi trường NBRIP agar. Kết quả nghiên cứu phân lập được 34 dòng vi khuẩn với hình thái khuẩn lạc và tế bào rất đa dạng có khả năng hòa tan lân. Đặc biệt, dòng VL2.3 và VL13.3 hòa tan lân đạt 1603 mg/L và 1269 mg/L sau 7 ngày, tổng hợp enzyme phytase cao nhất với 2,94 và 2,42 $\mu\text{mol/phút}$ sau 5 ngày và duy trì tương đối ổn định chức năng theo thời gian khảo sát. Tóm lại, hai dòng vi khuẩn VL2.3 và VL13.3 phân lập từ đất trồng nhãn ở Vĩnh Long hỗ trợ chuyển hóa và phóng thích lân khó tan trong đất giúp tăng lượng lân hữu dụng cung cấp cho cây trồng.

Từ khóa: Đất trồng nhãn, enzyme phytase, vi khuẩn hòa tan lân

ABSTRACT

Phosphorus is a major nutrient essential for plant growth; however, its availability in soil is often limited as it primarily exists in insoluble forms. The study aims to isolate and select bacterial strains capable of solubilizing phosphorus from soil in long-term longan cultivation areas in Vinh Long. Phosphate-solubilizing bacteria were isolated using NBRIP agar. The study successfully isolated 34 bacterial strains with diverse colony and cell morphologies that exhibited phosphorus-solubilizing ability. Notably, strains VL2.3 and VL13.3 demonstrated the highest phosphorus solubilization levels, reaching 1603 mg/L and 1269 mg/L after seven days, respectively. These strains also exhibited the highest phytase enzyme production, with activities of 2.94 and 2.42 $\mu\text{mol/min}$ after five days, and maintained relatively stable functions over the study period. In conclusion, the VL2.3 and VL13.3 strains, isolated from longan cultivation soil in Vinh Long, have the potential to facilitate unavailable phosphorus transformation and release from soil, thereby increasing the availability of phosphorus for crops.

Keywords: Longan cultivation soil, phosphorus solubilizing bacteria, phytase enzyme

1. GIỚI THIỆU

Nhân (*Dimocarpus longan* Lour.) là loại trái cây có giá trị cao và được trồng ở nhiều quốc gia trên thế giới (Prasad et al., 2017) do phù hợp canh tác trên nhiều loại đất khác nhau, từ đất phù sa đến các loại đất đồi núi. Ở Việt Nam, tổng diện tích đất trồng nhãn là 80.200 ha, đạt sản lượng 551.900 tấn/năm. Trong đó, đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) với hơn 24.700 ha trồng nhãn các loại, đạt sản lượng bình quân 254.000 tấn/năm (General Statistics Office of Vietnam, 2020). Vĩnh Long là tỉnh ở ĐBSCL đứng đầu về diện tích trồng với 6,129 ha, kế tiếp là Đồng Tháp 5.515 ha; Sóc Trăng 3.552 ha và thành phố Cần Thơ 2.512 ha (Can Tho City Statistical Office, 2020).

Tuy nhiên, kết quả ở một số nghiên cứu trên đất trồng nhãn lâu năm cho thấy quá trình canh tác có tác động bất lợi đến độ phì nhiêu của đất, cụ thể kết quả nghiên cứu của Ho (2006) cho thấy việc canh tác nhãn xuống com vàng lâu năm làm cho pH đất chỉ đạt 3,9, hàm lượng chất hữu cơ ở mức nghèo, đạm hữu cơ dễ phân hủy và đạm hữu dụng thấp, các cation trao đổi như Ca, Mg, K và phần trăm base bão hòa thấp, dẫn đến hoạt động của vi sinh vật trong đất rất thấp. Bên cạnh đó, việc canh tác cây nhãn lâu năm với tập quán bón nhiều phân hóa học, ít phân hữu cơ đặc biệt là hữu cơ vi sinh làm cho cộng đồng vi sinh vật có lợi trong đất bị suy giảm nghiêm trọng (Xu et al., 2019; Chen et al., 2020; Maleki et al., 2021). Kết quả nghiên cứu của Phan (2022) đã chỉ ra việc canh tác nhãn Idor trên 10 năm đã làm giảm mật số các nhóm vi sinh vật trong đất nói chung, đặc biệt là các nhóm vi sinh vật có lợi cho cây trồng như nấm, xạ khuẩn, vi khuẩn cố định đạm, vi khuẩn hòa tan lân và vi khuẩn hòa tan Si.

Phốt pho (P) là nguyên tố dinh dưỡng đa lượng thiết yếu, giữ vai trò quan trọng thứ hai sau đạm (N) trong bộ ba N-P-K của cây trồng. Nguyên tố này tham gia tích cực vào các quá trình sinh trưởng, phát triển và nâng cao khả năng chống chịu của thực vật. Sự thiếu hụt P làm chậm quá trình phân chia tế bào, dẫn đến cây sinh trưởng kém, hạn chế phân cành hoặc dễ nhánh; lá thường có màu xanh đậm, sau đó chuyển dần sang xanh xám. Những biểu hiện này cuối cùng làm giảm năng suất nghiêm trọng, ngay cả trong điều kiện cung cấp đầy đủ đạm (Havlin et al., 1999). Trong môi trường đất, P chủ yếu tồn tại ở dạng khó tan, lân hữu dụng bị hạn chế (Busman et al., 2009). Chỉ khoảng 0,1% tổng lượng P trong đất ở dạng cây trồng có thể hấp thu, mức này không đủ đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng cho sinh trưởng tối ưu. Vì vậy, phân lân hóa học thường được bổ sung nhằm

nâng cao lượng P sẵn có cho cây. Tuy nhiên, quá trình sản xuất và sử dụng phân lân đòi hỏi chi phí cao và có thể gây ra các tác động tiêu cực đối với hệ sinh thái, bao gồm hiện tượng phú dưỡng nguồn nước, gia tăng phát thải khí nhà kính (Sharma et al., 2013), suy giảm hoạt động của vi sinh vật có lợi, và phá vỡ cấu trúc tự nhiên của đất. Hệ quả lâu dài là đất bị chai cứng, thoái hóa và màu mỡ giảm sút, ảnh hưởng bất lợi đến năng suất cây trồng và tính bền vững của hệ thống canh tác nông nghiệp.

Việc khai thác và sử dụng vi sinh vật phân giải lân (Phosphate Solubilizing Microorganisms/PSMs) được xem như là biện pháp thân thiện với môi trường và cung cấp lân tốt nhất cho cây trồng. Các PSMs không những làm tăng lượng lân dễ tiêu trong đất mà còn làm tăng lượng đạm sinh học hoặc tăng cường sự hữu dụng của các nguyên tố vi lượng khác như sắt, kẽm, silic, đồng,... đồng thời các vi sinh vật này khi được bón vào đất có khả năng sản sinh các yếu tố thúc đẩy sự sinh trưởng thực vật (Kucey, 1983; Sharma et al., 2013). Bên cạnh đó, các dòng vi khuẩn phân giải lân có khả năng tiết ra các acid hữu cơ và enzyme thủy phân, chẳng hạn như enzyme phytase, có khả năng phân giải phytate (axit phytic), một dạng P hữu cơ chiếm phần lớn ở trong đất. Enzyme phytase giúp phá vỡ cấu trúc phức tạp của acid phytic và giải phóng phosphate vô cơ cho cây trồng và vi sinh vật dễ hấp thụ hơn. Dù vậy, quá trình hấp thụ P vô cơ thủy phân bởi phytase của thực vật vẫn còn nhiều hạn chế mà chúng ta chưa hiểu rõ hoàn toàn. Đặc biệt, vai trò của các loại vi khuẩn tổng hợp enzyme phytase có khả năng phân giải phytate-P vẫn là một lĩnh vực cần nghiên cứu sâu hơn (Liu et al., 2022). Một số tác giả như Nguyen et al. (2015) đã phân lập được một số chủng vi khuẩn có khả năng phân giải phosphate khó tan từ đất trồng lúa, trồng chè. Kết quả nhiều nghiên cứu cho thấy các nhóm vi sinh vật trong đất có khả năng phân giải lân khó tan và phóng thích lân dễ tan cho cây trồng do chúng có khả năng tổng hợp và phóng thích các acid hữu cơ và enzyme có khả năng chuyển hóa lân khó tan thành dạng lân dễ hấp thu cho cây trồng (Illmer & Schinner, 1992). Vì vậy, nghiên cứu được thực hiện nhằm mục tiêu phân lập và tuyển chọn một số dòng vi khuẩn có khả năng hòa tan lân dạng khó tan trên đất trồng nhãn tại tỉnh Vĩnh Long.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Phương tiện nghiên cứu

2.1.1. Thời gian và địa điểm

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 5 năm 2024 đến tháng 12 năm 2024, tại Phòng thí nghiệm Sinh

học đất tiên tiến thuộc Khoa Khoa học Đất, Trường Nông Nghiệp, Đại học Cần Thơ.

2.1.2. Hóa chất và môi trường nuôi cấy

Các hóa chất sử dụng trong đề tài như: Cồn 96°, H₂SO₄ đậm đặc, HCL loãng (0,5%), Na₂HPO₄, NaH₂PO₄, (NH₄)₆MoO₂₄.4H₂O, L-ascorbic acid, dung dịch P chuẩn, glycerol, KOH 3% nhuộm Gram, TCA 15%, Tris HCl, FeSO₄.7H₂O, Fuchsin acid nhuộm tế bào vi khuẩn.

Môi trường NBRIP phân lập vi khuẩn có khả năng hòa tan lân: Glucose 10 g, Ca₃(PO₄)₂ 5 g, MgCl₂.6H₂O 5 g, MgSO₄.7H₂O 0,25 g, KCl 0,2 g, (NH₄)₂SO₄ 0,1 g.

Ca₃(PO₄)₂ được sử dụng trong thí nghiệm ở dạng bột trắng mịn, không mùi, thương hiệu Xilong, xuất xứ Trung Quốc.

Môi trường Tryptone Soyab Broth (TSB) dùng để tăng sinh vi khuẩn: 30 g Tryptone Soya Broth được pha trong 1 L nước cất.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Mẫu đất nghiên cứu và phương pháp thu mẫu

Mười mẫu đất được thu thập ở các vườn nhãn có thời gian canh tác từ 20 năm trở lên tại xã An Bình, huyện Long Hồ, tỉnh Vĩnh Long. Mẫu đất được thu bằng khoan chuyên dùng ở độ sâu 0 - 20 cm dưới tán cây nhãn tại các vị trí khác nhau trên vườn theo hình zigzag và sau đó được trộn đều để đồng nhất mẫu. Mẫu được bảo quản trong túi nylon và mang về phòng thí nghiệm để tiến hành phân lập vi khuẩn hòa tan lân.

2.2.2. Phân lập vi khuẩn hòa tan lân từ mẫu đất canh tác nhãn lâu năm

Mẫu được cân 10 gram vào chai thủy tinh 250 mL, thêm 90 mL buffer phosphate pH = 7, (31,2 g NaH₂PO₄.2H₂O và 39,3 g Na₂HPO₄ trong 1 L nước cất). Mẫu được lắc ngang với tốc độ 150 vòng/phút trong 1 giờ và để ổn định 5 phút. Sau đó, dịch trích được pha loãng với dãy hệ số khác nhau và 50 µL dịch huyền phù ở mỗi hệ số pha loãng được trải đều lên môi trường NBRIP agar bổ sung 5000 mg/L Ca₃(PO₄)₂. Các đĩa petri chứa mẫu được ủ 3 - 5 ngày ở điều kiện phòng thí nghiệm. Vi khuẩn có khả năng hòa tan lân được xác định thông qua vòng halo sáng trên bề mặt môi trường xung quanh khuẩn lạc. Các khuẩn lạc vi khuẩn có hình thái khác nhau được chọn để tách ròng và tinh sạch. Sau đó, các dòng vi khuẩn đã tinh ròng được mô tả hình thái khuẩn lạc, tế bào và nhuộm Gram.

2.2.3. Mô tả hình thái khuẩn lạc, xác định gram và nhận diện tế bào của các dòng vi khuẩn phân lập được

Hình thái khuẩn lạc

Hình thái các khuẩn lạc của các dòng vi khuẩn phân lập được đặc trưng dựa trên nhiều tiêu chí, bao gồm kích thước (mm), màu sắc, hình dạng, độ nổi và kiểu rìa. Đối với các vi khuẩn có khuẩn lạc kích thước nhỏ, việc quan sát và mô tả hình thái được thực hiện dưới kính hiển vi nhìn nổi (Gerhardt et al., 1994).

Hình thái tế bào

Hình thái tế bào vi khuẩn được đánh giá bằng phương pháp nhuộm Fuchsin acid 0,5%, sau đó quan sát dưới kính hiển vi quang học với độ phóng đại 1000X.

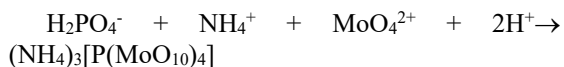
Xác định Gram của các dòng vi khuẩn đã phân lập

Gram của vi khuẩn được xác định theo phương pháp của Suslow et al. (1982).

2.2.4. Đánh giá khả năng hòa tan lân của các dòng vi khuẩn phân lập

Các dòng vi khuẩn phân lập đã được định tính cho tiềm năng hòa tan lân trên NBRIP agar tiếp tục được đánh giá định lượng trong môi trường NBRIP lỏng. Phương pháp định lượng gồm 2 bước:

1) Mẫu được hiện màu Molybdate: Thuốc thử acid ascorbic, ammonium molybdate và potassium antimonate được sử dụng để xác định lượng P₂O₅ được vi khuẩn hòa tan vào môi trường nuôi cấy từ Ca₃(PO₄)₂ khó tan. Khi lân được vi khuẩn hòa tan vào trong môi trường, nó phản ứng với ammonium molybdate trong môi trường acid tạo thành hợp chất Phosphomolybdate màu vàng. Dưới sự hiện diện của chất khử, Mo⁶⁺ bị khử thành Mo³⁺ hoặc Mo²⁺ làm cho dung dịch nuôi vi khuẩn chuyển từ màu vàng sang xanh theo phản ứng sau:



2) Mẫu được đo trên máy so màu quang phổ ở bước sóng 880 nm. Trong môi trường acid trung bình, nồng độ molybdate dư thừa, lượng chất khử cố định, nồng độ P nhỏ ở phạm vi nhất định thì mật độ quang học của màu xanh tỉ lệ thuận với hàm lượng P.

Tổng cộng 34 dòng vi khuẩn tuyển chọn được bố trí thành 2 đợt thí nghiệm đánh giá định lượng khả năng hòa tan lân trong môi trường NBRIP lỏng. Sau

đó, những dòng vi khuẩn đã thể hiện khả năng hòa tan lân cao trong 2 đợt thí nghiệm này được thực hiện thí nghiệm lại một lần nữa (đợt 3) nhằm đảm

bảo việc đánh giá khả năng hòa tan lân của các dòng vi khuẩn ở điều kiện đồng nhất. Chi tiết các đợt bố trí thí nghiệm được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Các đợt bố trí thí nghiệm định lượng khả năng hòa tan lân trong môi trường nuôi cấy lỏng của 34 dòng vi khuẩn có khả năng hòa tan lân

Đợt thí nghiệm	Tổng số dòng vi khuẩn từng đợt	Ký hiệu dòng vi khuẩn
Đợt 1	15 dòng	VL9.1, VL1.4, VL1.5, VL4.3, VL2.7, VL4.1, VL2.4, VL2.3, VL10.2, VL19.1, VL2.5, VL9.2, VL8.1, VL3.1, VL3.5
Đợt 2	19 dòng	VL4.2, VL3.3, VL13.1, VL1.3, VL3.8, VL2.6, VL5.1, VL3.2, VL10.3, VL5.2, VL3.4, VL1.1, VL3.6, VL10.1, VL3.7, VL13.2, VL1.2, VL13.3, VL2.2
Đợt 3	15 dòng	VL1.1, VL1.2, VL1.3, VL1.4, VL2.2, VL2.3, VL2.5, VL3.1, VL3.8, VL9.1, VL9.2, VL10.1, VL10.2, VL13.2, VL13.3

Chuẩn bị nguồn vi khuẩn

Ba mươi bốn dòng vi khuẩn tuyển chọn được nhân mật số trong môi trường TSB, bình nuôi vi khuẩn được lắc tròn với tốc độ 100 vòng/phút trong 2 ngày. Sau đó, sinh khối của vi khuẩn được thu bằng cách ly tâm huyền phù vi khuẩn trong 5 phút với tốc độ 6000 vòng/phút và loại bỏ phần nước bên trên. Sinh khối vi khuẩn tiếp tục được tinh sạch thông qua việc thêm 20 mL nước khử khoáng tiệt trùng vào ống ly tâm chứa sinh khối vi khuẩn, lắc xoáy 2 phút và sau đó tiếp tục ly tâm, các thao tác được lặp lại 3 lần nhằm loại bỏ hoàn toàn nguồn carbon còn sót lại từ môi trường TSB. Trước khi bố trí thí nghiệm, dung dịch chứa vi khuẩn với nước khử khoáng tiệt trùng được hiệu chỉnh về độ đục (optical density) $OD_{600\text{ nm}} = 0,7$ bằng máy đo quang phổ.

Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí 3 lần lặp lại, trong bình tam giác với 1 mL dịch vi khuẩn đã được hiệu chỉnh OD và 50 mL môi trường NBRIP lỏng đã được tiệt trùng. Các bình tam giác chứa mẫu được lắc tròn 100 vòng/phút ở nhiệt độ phòng thí nghiệm. Nghiệm thức đối chứng được thực hiện tương tự nhưng không chủng vi khuẩn. Nồng độ lân hòa tan trong môi trường nuôi cấy lỏng được xác định vào 1, 3, 5, 7, 10 và 15 ngày sau khi bố trí thí nghiệm (NSKBT).

Xác định hàm lượng lân hòa tan trong môi trường nuôi cấy lỏng

Hàm lượng lân hòa tan trong môi trường nuôi cấy được xác định bằng cách thu dung dịch bên trên sau khi ly tâm mẫu 5 phút ở 12.000 vòng/phút và pha loãng với nước khử khoáng, sau đó 1,6 mL dung dịch B được thêm vào, lắc xoáy trong 1 phút và để

ổn định 20 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó mẫu được đo trên máy so màu quang phổ ở bước sóng 880 nm.

2.2.5. Đánh giá khả năng tổng hợp enzyme phytase của các dòng vi khuẩn có khả năng hòa tan lân

Chuẩn bị nguồn vi khuẩn

Các dòng vi khuẩn phân lập có khả năng hòa tan lân trên 1000 mg/L được tuyển chọn để đánh giá khả năng tổng hợp enzyme phytase. Các bước chuẩn bị nguồn vi khuẩn tương tự như mục 2.2.4.

Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí 3 lần lặp lại, trong bình tam giác với 1 mL dịch vi khuẩn đã được hiệu chỉnh OD và 50 mL môi trường NBRIP lỏng đã được tiệt trùng. Các bình tam giác chứa mẫu được lắc tròn 100 vòng/phút ở nhiệt độ phòng thí nghiệm. Nghiệm thức đối chứng được thực hiện tương tự nhưng không chủng vi khuẩn. Hàm lượng enzyme phytase môi trường nuôi cấy lỏng được xác định vào 1, 3, 5, 7, 10 và 15 NSKBT.

Phương pháp xác định hàm lượng enzyme phytase

Hàm lượng enzyme phytase tổng hợp bởi các dòng vi khuẩn tuyển chọn trong môi trường nuôi cấy lỏng được xác định theo phương pháp của Shimizu (1992) như sau: Tại thời điểm thu mẫu, 2 mL dung dịch mẫu môi trường nuôi cấy vi khuẩn được hút và được ly tâm ở tốc độ 12.000 vòng/phút trong 3 phút. Tiếp theo, dung dịch mẫu (phần dung dịch trong bên trên sau khi ly tâm) được thu lại, sau đó hút 50 μL dung dịch mẫu và 200 μL cơ chất 2mM sodium phytase trong dung dịch đệm Tris-HCl 0,1M (pH = 7) có bổ sung 2 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ cho vào ống nghiệm. Các ống nghiệm được ủ trong 30 phút ở 37°C. Sau khi ủ, phản ứng được dừng lại bằng cách

thêm 250 μ L acid trichloroacetic 5% và 500 μ L dung dịch thuốc thử gồm dung dịch amonium molybdate 1,5% trong acid sulfuric (H_2SO_4) 5,5% và dung dịch ferrous sulfate ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 2,7% theo tỉ lệ 4:1 và đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 700 nm. Hàm lượng lân vô cơ (Pvc) được giải phóng từ phản ứng enzyme được tính toán dựa vào đồ thị tương quan giữa nồng độ Pvc chuẩn 0; 10; 20; 30; 50 và 70 mg/L của dung dịch NaH_2PO_4 với độ hấp thụ quang ở bước sóng 700 nm trên máy so màu quang phổ. Một đơn vị hoạt tính (IU) được quy định là lượng enzyme để giải phóng 1 μ mol Pvc trong một phút ở điều kiện thí nghiệm.

2.2.6. Xử lý số liệu

Số liệu thí nghiệm được xử lý trên phần mềm Excel và kiểm định thống kê ANOVA, việc so sánh bằng phép thử Tukey's được thực hiện bằng phần mềm Minitab 16.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập vi khuẩn có khả năng hòa tan lân từ đất canh tác nhân lâu năm tại tỉnh Vĩnh Long

Kết quả cho thấy từ 10 mẫu đất thu thập ở các vườn canh tác nhân lâu năm ở Vĩnh Long có tổng cộng 34 dòng vi khuẩn đã được phân lập và tách riêng, được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Tổng hợp số lượng dòng vi khuẩn hòa tan lân phân lập được từ 10 mẫu đất vườn nhân có tuổi liếp khác nhau ở tỉnh Vĩnh Long

Ký hiệu mẫu đất	Tuổi vườn	Số dòng vi khuẩn	Ký hiệu dòng VK
VL1	53	5	VL1.1, VL1.2, VL1.3, VL1.4 và VL1.5
VL2	30	6	VL2.2, VL2.3, VL2.4, VL2.5, VL2.6 và VL2.7
VL3	55	8	VL3.1, VL3.2, VL3.3, VL3.4, VL3.5, VL3.6, VL3.7 và VL3.8
VL4	30	3	VL4.1, VL4.2 và VL4.3
VL5	43	2	VL5.1 và VL5.2
VL8	50	1	VL8.1
VL9	50	2	VL9.1 và VL9.2
VL10	30	3	VL10.1, VL10.2 và VL10.3
VL13	30	3	VL13.1, VL13.2 và VL13.3
VL19	20	1	VL19.1
Tổng		34	

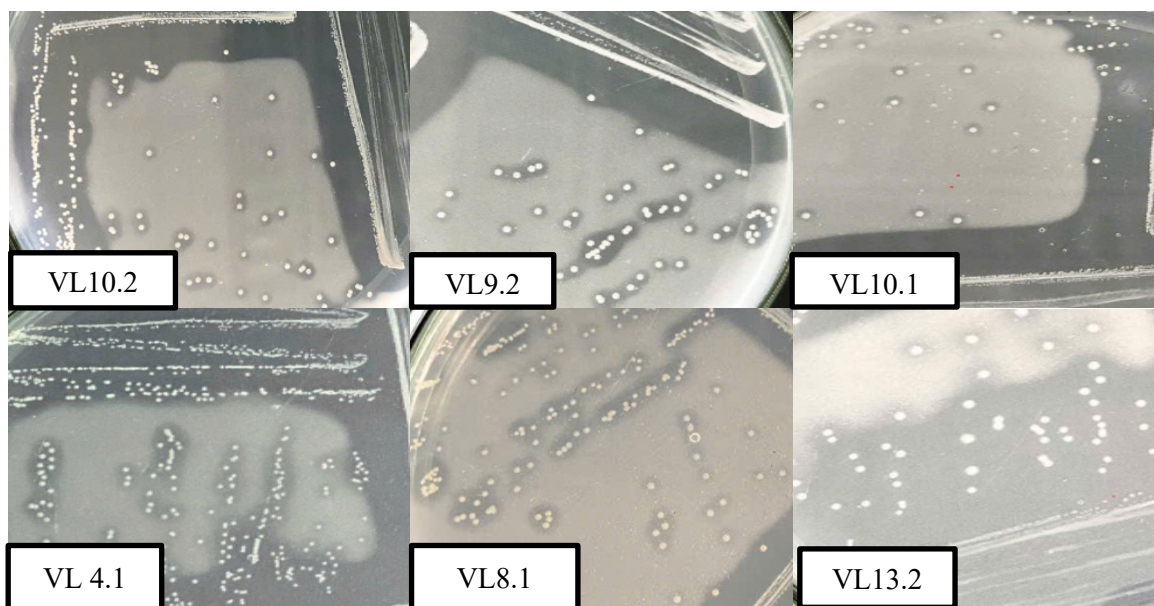
3.1.1. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc của 34 dòng vi khuẩn có khả năng hòa tan lân

Kết quả khảo sát cho thấy 34 dòng vi khuẩn phân lập được có hình thái khuẩn lạc rất đa dạng (Bảng 3). Trong đó, khuẩn lạc có hình dạng tròn, rìa nguyên chiếm đa số với 88,2%; dạng gợn sóng chiếm 11,8%. Về màu sắc, khuẩn lạc có màu trắng

đục chiếm 94,1%, còn lại có màu vàng. Độ nổi của khuẩn lạc chiếm tỉ lệ cao (94,1%) ở dạng mô và kích thước của khuẩn lạc dao động từ 0,1 cm đến 1,2 cm. Hầu hết khuẩn lạc có kết cấu ẩm độ (có nước) (91,2%), còn kết cấu nhầy chỉ 8,8%. Phần lớn khuẩn lạc có bề mặt trơn bóng chiếm tỉ lệ 88,2% và chỉ một tỉ lệ nhỏ có vân với 11,8% (Hình 1).

Bảng 3. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc của 34 dòng vi khuẩn hòa tan lân được phân lập

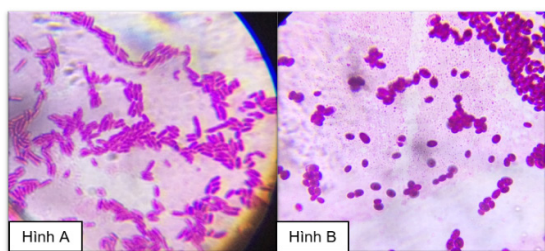
Nhóm	Đặc điểm	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Hình dạng	Tròn	30	88,2
	Mép không đều	4	11,8
Màu sắc	Đục	32	94,1
	Vàng	2	5,9
Dạng rìa	Nguyên	30	88,2
	Gợn sóng	4	11,8
Độ nổi (Chiều cao)	Mô	32	94,1
	Bằng phẳng	2	5,9
Sa cấu	Ẩm độ (có nước)	31	91,2
	Nhầy	3	8,8
Bề mặt khuẩn lạc	Trơn bóng	30	88,2
	Có vân	4	11,8



Hình 1. Hình thái khuẩn lạc của một số dòng vi khuẩn hòa tan lân tiêu biểu trên môi trường NBRIP sau 3 ngày nuôi cấy

3.1.2. Đặc điểm hình thái tế bào của 34 dòng vi khuẩn có khả năng hòa tan lân được phân lập

Kết quả quan sát đặc điểm hình thái tế bào của 34 dòng vi khuẩn cho thấy tế bào của 32 dòng vi khuẩn có dạng hình que ngắn chiếm 94,1%, 2 dòng vi khuẩn còn lại có tế bào dạng hình cầu, chiếm 5,90% (Hình 2). Về kiểm tra Gram tính, kết quả thể hiện 94,1 % vi khuẩn có Gram âm (32 dòng vi khuẩn) và 5,90% vi khuẩn có Gram dương (2 dòng vi khuẩn).



Hình 2. Hình thái tế bào khuẩn lạc

(Hình A: Dạng hình que ngắn, Hình B: dạng hình cầu)

3.2. Khả năng hòa tan lân của 15 dòng vi khuẩn phân lập trong môi trường nuôi cấy lỏng NBRIP ở đợt bố trí thí nghiệm 1 trong thời gian 15 ngày nuôi cấy

Kết quả trình bày trong Bảng 4 cho thấy cả 15 dòng vi khuẩn phân lập đều thể hiện khả năng hòa tan lân dưới dạng $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ khác nhau trong môi

trường nuôi cấy lỏng NBRIP trong 15 ngày bố trí thí nghiệm. Thời gian các dòng vi khuẩn đạt được khả năng hòa tan lân tốt nhất từ 3 đến 7 NSKBT. Cụ thể, tại 3 NSKBT, dòng vi khuẩn VL2.5 có khả năng hòa tan lân cao nhất, đạt đến 1117 mg/L. Tại 5 NSKBT, các dòng vi khuẩn VL9.1, VL1.5, VL4.1, VL19.1, VL3.1 có hàm lượng lân dao động từ 934 đến 949 mg/L cao hơn ở mức ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với 3 dòng vi khuẩn VL2.7, VL8.1 và VL3.5 (738 – 867 mg/L). Đến thời điểm 7 NSKBT, hàm lượng lân hòa tan của hầu hết các dòng vi khuẩn đạt cao nhất, dao động từ 839 đến 1142 mg/L. Trong đó, dòng vi khuẩn VL9.1 có khả năng hòa tan lân đạt cao nhất (1142 mg/L) ở mức ý nghĩa ($p < 0,05$). Ngoài ra, các dòng vi khuẩn như VL1.4, VL2.3, VL10.2, VL9.2, VL3.1 đều có hàm lượng lân hòa tan trong môi trường nuôi cấy lớn hơn 1000 mg/L. Tuy nhiên, đến thời điểm 10 và 15 NSKBT hàm lượng hòa tan lân của các dòng vi khuẩn đều có xu hướng giảm. Riêng dòng vi khuẩn VL2.7, khả năng hòa tan lân có xu hướng duy trì đạt với 643 mg/L và 672 mg/L tương ứng ở thời điểm 10 và 15 NSKBT.

Như vậy, kết quả khảo sát đợt 1 cho thấy 7 dòng vi khuẩn gồm VL2.5, VL9.1, VL1.4, VL2.3, VL10.2, VL9.2 và VL3.1 thể hiện khả năng hòa tan lân cao với hàm lượng lân hòa tan đạt trên 1000 mg/L. Đặc biệt, dòng vi khuẩn VL2.5 có hàm lượng lân đạt 1177 mg/L cao nhất và sớm nhất ở 3 NSKBT so với 5 và 7 NSKBT ở các dòng vi khuẩn còn lại. Do đó, 7 dòng vi khuẩn này được tuyển chọn để tiếp tục thực hiện thí nghiệm trong đợt 3.

Bảng 4. Hàm lượng P₂O₅ hòa tan trong môi trường nuôi cấy lỏng NBRIP của 15 dòng vi khuẩn hòa tan lân được bố trí thí nghiệm ở đợt 1 trong 15 ngày thí nghiệm

Vi khuẩn	Hàm lượng P ₂ O ₅ hòa tan trong môi trường nuôi cấy lỏng NBRIP (mg/L)					
	Ngày 1	Ngày 3	Ngày 5	Ngày 7	Ngày 10	Ngày 15
VL9.1	154 ^c	691 ^{cde}	935 ^a	1142 ^a	705 ^d	714 ^b
VL1.4	138 ^d	628 ^e	926 ^{ab}	1010 ^{bcd}	705 ^d	591 ^{gh}
VL1.5	10,4 ⁱ	753 ^{bcd}	934 ^a	938 ^{efg}	783 ^a	687 ^{bcd}
VL4.3	124 ^c	678 ^{de}	916 ^{abc}	882 ^{gh}	703 ^d	612 ^{fgh}
VL2.7	6,46 ^{jk}	679 ^{cde}	738 ^d	839 ^h	643 ^g	672 ^{cd}
VL4.1	115 ^f	841 ^b	943 ^a	946 ^{defg}	722 ^c	684 ^{bcd}
VL2.4	2,19 ^k	721 ^{cde}	917 ^{abc}	928 ^{fg}	739 ^b	706 ^{bc}
VL2.3	3,26 ^k	794 ^{bc}	930 ^{ab}	1053 ^b	732 ^{bc}	630 ^{efg}
VL10.2	205 ^a	758 ^{bcd}	930 ^{ab}	1031 ^{bc}	717 ^{cd}	650 ^{def}
VL19.1	94,9 ^g	739 ^{bcd}	949 ^a	973 ^{cdef}	705 ^d	723 ^b
VL2.5	7,48 ^{jk}	1177 ^a	909 ^{abc}	974 ^{cdef}	670 ^e	658 ^{de}
VL9.2	164 ^b	764 ^{bcd}	902 ^{abc}	1037 ^{bc}	655 ^{fg}	723 ^b
VL8.1	84,2 ^h	673 ^{de}	855 ^c	975 ^{cdef}	669 ^{ef}	646 ^{def}
VL3.1	153 ^c	712 ^{cde}	936 ^a	1014 ^{bcd}	724 ^c	574 ^h
VL3.5	21,7 ⁱ	709 ^{cde}	867 ^{bc}	968 ^{cdef}	676 ^c	774 ^a
F	*	*	*	*	*	*
CV (%)	2,48	5,06	2,41	2,47	0,72	2,07

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ số có mẫu tự theo sau giống nhau thì không khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Tukey, (): khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở mức ý nghĩa 5%.

3.3. Khả năng hòa tan lân của 19 dòng vi khuẩn hòa tan lân phân lập trong môi trường nuôi cấy lỏng NBRIP ở đợt bố trí thí nghiệm 2 trong thời gian 15 ngày nuôi cấy

Tương tự kết quả khảo sát ở đợt 1, 19 dòng vi khuẩn được bố trí thí nghiệm trong đợt 2 cũng có thời gian đạt được khả năng hòa tan lân tốt nhất từ 3 đến 7 NSKBT, đồng thời có sự khác biệt ở mỗi thời điểm (Bảng 5). Trong đó, tại 3 NSKBT một số dòng vi khuẩn như VL1.3, VL3.8, VL1.1, VL10.1, VL13.2, VL13.3 và VL2.2 có hàm lượng lân hòa tan trên 1000 mg/L, cao hơn và khác biệt ở mức thống kê ($p < 0,05$) so với các dòng vi khuẩn còn lại ngoại trừ dòng VL3.7, VL3.2, VL 10.3 và VL5.1 (838 – 886 mg/L). Vào thời điểm 5 NSKBT, hai dòng vi khuẩn VL1.1 và VL3.8 đạt hàm lượng lân hòa tan

cao nhất với hàm lượng lân hòa tan lần lượt đạt 1207 và 1104 mg/L. Đến 7 NSKBT, dòng VL3.8 vẫn duy trì khả năng hòa tan lân đạt cao nhất với hàm lượng lân đạt 1292 mg/L. Kể đến, dòng vi khuẩn VL1.2 đạt 1042 mg/L. Trong giai đoạn 10 - 15 NSKBT, hàm lượng lân hòa tan trong môi trường nuôi cấy có xu hướng giảm dần và thấp hơn nhiều so với thời điểm 7NSKBT.

Tóm lại, kết quả thí nghiệm đợt 2 cho thấy tám dòng vi khuẩn VL1.3, VL3.8, VL1.1, VL10.1, VL13.2, VL13.3, VL2.2 và VL1.2 có tiềm năng hòa tan lân cao với hàm lượng lân hòa tan dao động từ 1021 mg/L đến 1292 mg/L trong giai đoạn 3-7NSKBT. Do đó, 8 dòng vi khuẩn này được chọn để bố trí chung với 7 dòng vi khuẩn đã được tuyển chọn trong thí nghiệm đợt 1.

Bảng 5. Hàm lượng P₂O₅ hòa tan trong môi trường nuôi cấy lỏng NBRIP của 19 dòng vi khuẩn hòa tan lân được bố trí thí nghiệm ở đợt 2 trong 15 ngày thí nghiệm

Vi khuẩn	Hàm lượng P ₂ O ₅ hòa tan trong môi trường nuôi cấy lỏng NBRIP (mg/L)					
	Ngày 1	Ngày 3	Ngày 5	Ngày 7	Ngày 10	Ngày 15
VL4.2	156 ^{bcd}	547 ^{bcd}	773 ^{abcd}	812 ^{bcd}	411 ^{bc}	111 ^{cd}
VL3.3	88,3 ^{ef}	313 ^d	720 ^{bcd}	569 ^{defg}	312 ^{ef}	70,0 ^{def}
VL13.1	83,1 ^{ef}	334 ^d	551 ^{cd}	635 ^{cdef}	378 ^{cd}	220 ^a
VL1.3	233 ^b	1120 ^a	811 ^{abc}	508 ^{efg}	143 ^h	43,7 ^{efg}
VL3.8	93,2 ^{ef}	1083 ^a	1104 ^{ab}	1292 ^a	444 ^{ab}	142 ^{bc}
VL2.6	220 ^b	406 ^d	762 ^{abcd}	758 ^{cde}	298 ^f	60,0 ^{def}
VL5.1	81,6 ^{ef}	838 ^{abc}	933 ^{abc}	603 ^{def}	192 ^h	2,33 ^g

Vi khuẩn	Hàm lượng P ₂ O ₅ hòa tan trong môi trường nuôi cấy lỏng NBRIP (mg/L)					
	Ngày 1	Ngày 3	Ngày 5	Ngày 7	Ngày 10	Ngày 15
VL3.2	61,3 ^f	886 ^{ab}	983 ^{abc}	587 ^{defg}	151 ^h	1,67 ^g
VL10.3	133 ^{cdef}	846 ^{abc}	954 ^{abc}	521 ^{efg}	199 ^{gh}	24,3 ^{fg}
VL5.2	189 ^{bcd}	355 ^d	557 ^{cd}	643 ^{cdef}	376 ^{cde}	103 ^{cd}
VL3.4	177 ^{bcd}	334 ^d	918 ^{abc}	796 ^{bcd}	317 ^{def}	148 ^{bc}
VL1.1	88,1 ^{ef}	1021 ^a	1207 ^a	549 ^{defg}	183 ^h	18,7 ^{fg}
VL3.6	197 ^{bc}	443 ^{cd}	526 ^{cd}	885 ^{bc}	282 ^f	61,7 ^{def}
VL10.1	79,2 ^{ef}	1096 ^a	320 ^d	182 ^h	173 ^h	25,3 ^{fg}
VL3.7	111 ^{def}	860 ^{abc}	905 ^{abc}	478 ^{fg}	143 ^h	42,3 ^{efg}
VL13.2	364 ^a	1169 ^a	975 ^{abc}	532 ^{efg}	179 ^h	101 ^{cd}
VL1.2	65,0 ^f	497 ^{bcd}	790 ^{abc}	1042 ^{ab}	256 ^{fg}	77,5 ^{de}
VL13.3	341 ^a	1126 ^a	661 ^{bcd}	549 ^{defg}	503 ^a	186 ^{ab}
VL2.2	78,5 ^{ef}	1167 ^a	685 ^{bcd}	331 ^{gh}	175 ^h	5,33 ^g
F	*	*	*	*	*	*
CV (%)	17,4	17,8	19,0	15,0	7,68	22,0

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ số có mẫu tự theo sau giống nhau thì không khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Tukey; (): khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở mức ý nghĩa 5%.

3.4. Khả năng hòa tan lân của 15 dòng vi khuẩn tuyển chọn từ 2 đợt bố trí thí nghiệm trong môi trường nuôi cấy lỏng NBRIP

Kết quả khảo sát khả năng hòa tan lân trong môi trường NBRIP của 15 dòng vi khuẩn tuyển chọn thể hiện giữa các dòng vi khuẩn có sự khác biệt theo từng thời điểm, đa dạng về xu hướng hòa tan lân và khả năng hòa tan lân hiệu quả nhất chủ yếu ở giai đoạn 3 – 7 NSKBT (Bảng 6). Trong đó, dòng vi khuẩn VL2.3 có khả năng hòa tan lân cao và ổn định nhất, đạt 1507 mg/L, 1550 mg/L và 1603 mg/L tương ứng với 3 thời điểm 3, 5, 7 NSKBT và vẫn duy trì ở mức cao >1000mg/L cho đến khi kết thúc thí nghiệm. Tương tự, hàm lượng lân hòa tan của dòng VL13.3 cũng đạt 1164 mg/L ở ngày 3 sau bố trí, 1224 mg/L (ngày 5), 1269 mg/L (ngày 7) và còn 999mg/L ở ngày 15. Bên cạnh đó, dòng vi khuẩn VL1.1 và VL2.5 cũng có hàm lượng hòa tan lân cao ở các giai đoạn khảo sát với VL1.1 đạt 1615 mg/L, 1672 mg/L, 1271 mg/L, 1116 mg/L và VL2.5 đạt 1390 mg/L, 1556 mg/L, 1258 mg/L, 1353 mg/L tương ứng với 5, 7, 10 và 15 NSKBT.

Ngoài ra, dòng vi khuẩn VL9.2 có hàm lượng lân hòa tan đạt cao nhất 2039 mg/L ở thời điểm 7

Bảng 6. Khả năng hòa tan lân trong môi trường NBRIP lỏng của 15 dòng vi khuẩn tuyển chọn trong 15 ngày nuôi cấy

Vi khuẩn	Hàm lượng P ₂ O ₅ hòa tan trong môi trường nuôi cấy lỏng NBRIP của 15 dòng vi khuẩn tuyển chọn (mg/L)					
	Ngày 1	Ngày 3	Ngày 5	Ngày 7	Ngày 10	Ngày 15
VL1.1	162 ^{cd}	796 ^{cdef}	1615 ^a	1672 ^b	1271 ^{ab}	1116 ^b
VL1.2	214 ^{cd}	444 ^{fg}	1012 ^f	1297 ^{fg}	1336 ^a	1533 ^a
VL1.3	215 ^{cd}	840 ^{cde}	1025 ^{ef}	1359 ^{efg}	1202 ^{abc}	1457 ^a

NSKBT. Ngược lại, các dòng như VL1.4 và VL3.8 có khả năng hòa tan thấp và không ổn định, trong đó VL1.4 giảm đáng kể từ ngày 7 (1096 mg/L) xuống chỉ còn 361 mg/L vào ngày 15.

Nhìn chung, bốn dòng vi khuẩn VL1.1, VL2.3, VL2.5 và VL13.3 nổi bật với khả năng hòa tan lân cao và ổn định ở hầu hết các thời điểm khảo sát, chứng minh tiềm năng lớn trong việc ứng dụng vi khuẩn hòa tan lân giúp cải thiện hiệu quả sử dụng phân lân trong nông nghiệp. Điều này có thể liên quan đến cơ chế sản xuất acid hữu cơ hoặc enzyme ngoại bào của các dòng này, giúp hòa tan lân ở dạng khó tan hoặc không tan. Khả năng hòa tan lân của các dòng vi khuẩn tuyển chọn đạt cao nhất ở thời điểm 5 và 7 NSKBT sau đó giảm dần, sự thay đổi này có thể được giải thích bởi khả năng thích nghi và hoạt động chuyển hóa của vi khuẩn trong giai đoạn đầu, khi nguồn dinh dưỡng dồi dào, trong khi sự suy giảm vào các ngày cuối có thể do cạn kiệt dinh dưỡng hoặc sự tích tụ các sản phẩm chuyển hóa như acid hữu cơ, làm thay đổi pH môi trường và ức chế hoạt động của vi khuẩn (Tungala et al., 2013; Mussa et al., 2023)

Vi khuẩn	Hàm lượng P ₂ O ₅ hòa tan trong môi trường nuôi cấy lỏng NBRIP của 15 dòng vi khuẩn tuyển chọn (mg/L)					
	Ngày 1	Ngày 3	Ngày 5	Ngày 7	Ngày 10	Ngày 15
VL1.4	309 ^{abc}	1287 ^{ab}	1233 ^{cd}	1096 ^h	627 ^h	361 ^g
VL2.2	142 ^d	819 ^{cdef}	1554 ^{ab}	1440 ^{def}	733 ^{gh}	753 ^{de}
VL2.3	300 ^{abc}	1507 ^a	1550 ^{ab}	1603 ^{bc}	1075 ^{bcde}	1105 ^b
VL2.5	169 ^{cd}	629 ^{defg}	1390 ^{bc}	1556 ^{bcd}	1258 ^{ab}	1353 ^a
VL3.1	243 ^{bcd}	1144 ^{abc}	1299 ^{cd}	1103 ^h	779 ^{fgh}	523 ^{fg}
VL3.8	237 ^{bcd}	357 ^g	1154 ^{def}	1230 ^{gh}	1072 ^{bcde}	645 ^{ef}
VL9.1	269 ^{abcd}	975 ^{bcd}	1256 ^{cd}	1301 ^{fg}	1016 ^{cdef}	821 ^{cde}
VL9.2	307 ^{abc}	567 ^{efg}	1134 ^{def}	2039 ^a	1226 ^{abc}	821 ^{cde}
VL10.1	223 ^{bcd}	970 ^{bcd}	1135 ^{def}	1301 ^{fg}	842 ^{efgh}	663 ^{ef}
VL10.2	240 ^{bcd}	1111 ^{bc}	1315 ^{cd}	1475 ^{cde}	959 ^{defg}	937 ^{bcd}
VL13.2	376 ^{ab}	1079 ^{bc}	1134 ^{def}	1235 ^{gh}	837 ^{efgh}	1012 ^{bc}
VL13.3	408 ^a	1164 ^{abc}	1224 ^{cde}	1269 ^g	1138 ^{abcd}	999 ^{bc}
F	*	*	*	*	*	*
CV (%)	20.6	14.3	5.35	3.76	7.81	7.45

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ số có mẫu tự theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo phép thử Tukey; (): khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở mức ý nghĩa 5%

Kết quả nghiên cứu được ghi nhận kết quả tương tự như nghiên cứu của Tran et al. (2023), điều này cho thấy dòng vi khuẩn *Pantoea* sp. TTB4.1 thể hiện khả năng hòa tan lân dạng Ca₃(PO₄)₂ trong môi trường NBRIP với lượng lân hòa tan đạt cao nhất vào ngày 10 khoảng 1326,6 mg/L, dòng vi khuẩn đã hòa tan được khoảng 43,35% lượng Ca₃(PO₄)₂ ban đầu. Kết quả một nghiên cứu khác của Le et al. (2022) chứng minh dòng vi khuẩn LP3-R3 và LP3-R5 có khả năng hòa tan lân cao với hàm lượng 29,5 mg/L và 29,7 mg/L trong môi trường NBRIP chứa lân khó tan Ca₃(PO₄)₂. Do đó, các dòng có hiệu suất hòa tan P cao như VL1.1, VL2.3, VL2.5 và VL13.3 có tiềm năng ứng dụng lớn trong sản xuất nông nghiệp, đặc biệt là trong các chương trình cải thiện sử dụng phân bón lân sinh học, góp phần nâng cao năng suất cây trồng và giảm thiểu tác động môi trường.

3.5. Kết quả đánh giá khả năng tổng hợp enzyme phytase của 15 dòng vi khuẩn hòa tan lân cao nhất được tuyển chọn từ 34 dòng vi khuẩn phân lập

Kết quả được trình bày ở Bảng 7 cho thấy khả năng tổng hợp enzyme phytase của các dòng vi khuẩn có sự khác biệt và thay đổi theo thời gian. Giá trị hoạt độ enzyme tăng nhanh từ ngày 1 đến ngày 5, hầu hết đạt cao nhất vào thời điểm 5 NSKBT, sau đó giảm dần đến 15 NSKBT.

Cụ thể, ở thời điểm 1 NSKBT, hoạt độ enzyme phytase của các dòng vi khuẩn dao động từ 0,152 μmol/phút đến 0,480 μmol/phút. Thời điểm 3 NSKBT khả năng tổng hợp enzyme phytase của các dòng vi khuẩn có xu hướng tăng cao với hoạt độ gấp

từ 3,5 đến 10,1 lần so với 1 NSKBT, dao động từ 1,21 μmol/phút đến 2,45 μmol/phút. Trong đó, dòng vi khuẩn VL2.3 có hoạt độ enzyme tổng hợp cao nhất đạt 2,45 μmol/phút, kế tiếp dòng vi khuẩn VL3.1 đạt 2,33 μmol/phút và thấp nhất là dòng vi khuẩn VL1.3 (1,21 μmol/phút). Điều này chứng tỏ khả năng thích nghi và tổng hợp enzyme cao của các dòng ở giai đoạn đầu thí nghiệm.

Ở thời điểm 5 NSKBT, tất cả các dòng vi khuẩn khảo nghiệm đều tổng hợp được hoạt độ enzyme cao hơn 2 μmol/phút. Trong đó, VL2.3, VL1.1 và VL2.2 tổng hợp hoạt độ enzyme cao nhất lần lượt đạt 2,94; 2,84 và 2,82 μmol/phút. Kết quả thí nghiệm được ghi nhận ở thời điểm 7 NSKBT cho thấy khả năng tổng hợp enzyme của các dòng vi khuẩn có dấu hiệu giảm khi hoạt độ enzyme chỉ từ 1,71 đến 2,52 μmol/phút. Tuy nhiên, hai dòng vi khuẩn VL1.1, VL2.3 và VL13.3 vẫn duy trì khả năng tổng hợp enzyme cao với 2,52; 2,44 và 2,30 μmol/phút tương ứng.

Ở thời điểm 10 NSKBT, các dòng VL1.2, VL1.3, VL2.5 và VL13.3 có hoạt độ enzyme tổng hợp dao động từ 2,33 đến 2,50 μmol/phút cao hơn so với hầu hết các dòng vi khuẩn còn lại. Tương tự, ở thời điểm 15 NSKBT dòng vi khuẩn VL1.2, VL1.3 và VL2.5 vẫn duy trì hàm lượng enzyme ở mức cao từ 1,94 đến 2,00 μmol/phút, khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05) so với các dòng còn lại. Điều này cho thấy khả năng duy trì tổng hợp enzyme của dòng VL1.2, VL1.3 và VL2.5, chứng tỏ chúng có khả năng thích nghi tốt hơn trong điều kiện môi trường thí nghiệm kéo dài.

Kết quả thí nghiệm có sự tương đồng với nghiên cứu của Kerovuo et al. (1998), kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng các vi khuẩn như *Bacillus subtilis* và *Pseudomonas fluorescens* có hoạt độ enzyme phytase tổng hợp cao nhất ở giai đoạn 3 – 7 ngày nuôi cấy do lượng enzyme được tổng hợp tối ưu và môi trường còn giàu chất dinh dưỡng. Ngoài ra, Nguyen et al. (2022) cũng đã chứng minh thời gian nuôi cấy thích hợp để vi khuẩn *P. stutzeri* N1a tổng hợp enzyme phytase có hoạt tính tăng dần vào ngày 3 đạt cao nhất là 0,1302 U/g dựa vào cơ chất sodium phytase.

Nhìn chung, dòng VL2.3 và VL13.3 cho thấy khả năng hòa tan lân và tổng hợp enzyme phytase hiệu quả. Vì vậy, chúng có thể được ứng dụng trong sản xuất chế phẩm vi sinh nhằm cải thiện khả năng hấp thu lân của cây trồng trong nông nghiệp bền vững. Kết quả nghiên cứu không chỉ khẳng định vai trò của vi khuẩn hòa tan lân trong hệ sinh thái đất mà còn mở ra hướng ứng dụng sinh học bền vững, góp phần giảm phụ thuộc vào phân bón hóa học và bảo vệ môi trường.

Bảng 7. Hàm lượng Enzyme phytase trong môi trường lỏng NBRIP được tổng hợp bởi 15 dòng vi khuẩn hòa tan lân cao nhất được tuyển chọn

Dòng vi khuẩn	Hàm lượng Enzyme phytase trong môi trường lỏng NBRIP (μmol/phút)					
	Ngày 1	Ngày 3	Ngày 5	Ngày 7	Ngày 10	Ngày 15
VL1.1	0,190 ^{fg}	1,91 ^{de}	2,84 ^a	2,52 ^a	2,04 ^{efgh}	1,52 ^{bc}
VL1.2	0,284 ^{cde}	1,10 ^{ij}	2,02 ^f	2,05 ^{cdef}	2,43 ^{ab}	2,00 ^a
VL1.3	0,239 ^{def}	1,21 ⁱ	2,05 ^{ef}	2,04 ^{cdef}	2,50 ^a	2,00 ^a
VL1.4	0,334 ^{bc}	2,10 ^c	2,34 ^{bcd}	1,88 ^{efg}	1,54 ^k	0,745 ^g
VL2.2	0,221 ^{efg}	1,56 ^h	2,82 ^a	2,17 ^{bcde}	1,74 ^{ijk}	1,10 ^e
VL2.3	0,325 ^{bc}	2,45 ^a	2,94 ^a	2,44 ^{ab}	1,88 ^{ghij}	1,61 ^b
VL2.5	0,165 ^{fg}	1,03 ^j	2,44 ^{bc}	2,14 ^{cde}	2,37 ^{abc}	1,94 ^a
VL3.1	0,303 ^{cde}	2,33 ^b	2,51 ^b	1,71 ^g	1,66 ^{jk}	0,876 ^{fg}
VL3.8	0,152 ^g	0,915 ^k	2,38 ^{bc}	2,00 ^{defg}	2,10 ^{defg}	0,906 ^f
VL9.1	0,302 ^{cde}	1,79 ^{fg}	2,16 ^{def}	2,03 ^{cdef}	1,82 ^{hij}	1,17 ^{de}
VL9.2	0,304 ^{cde}	1,83 ^{ef}	2,24 ^{cde}	2,15 ^{bcde}	2,17 ^{cdef}	1,16 ^{de}
VL10.1	0,319 ^{cd}	1,94 ^d	2,42 ^{bc}	2,20 ^{bcd}	2,00 ^{fgh}	1,06 ^e
VL10.2	0,295 ^{cde}	1,92 ^{de}	2,51 ^b	1,84 ^{fg}	2,26 ^{bcde}	1,25 ^d
VL13.2	0,480 ^a	1,69 ^g	2,33 ^{bcd}	2,10 ^{cdef}	1,93 ^{ghi}	1,47 ^c
VL13.3	0,408 ^{ab}	1,83 ^{def}	2,42 ^{bc}	2,30 ^{abc}	2,33 ^{abcd}	1,54 ^{bc}
F	*	*	*	*	*	*
CV (%)	9,65	2,24	2,90	4,63	3,72	3,36

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ số có mẫu tự theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo phép thử Tukey; (): khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở mức ý nghĩa 5%.

4. KẾT LUẬN

Từ 10 mẫu đất được thu từ các vườn canh tác nhân lâu năm tại xã An Bình, huyện Long Hồ, tỉnh Vĩnh Long, 34 dòng vi khuẩn đã được phân lập có tiềm năng hòa tan lân vô cơ khó tan và tổng hợp enzyme phytase. Các dòng VSV này có sự đa dạng cao về hình thái khuẩn lạc và tế bào.

Hai dòng vi khuẩn VL2.3 và VL13.3 với khả năng hòa tan lân cao lần lượt 1603 mg/L và 1269 mg/L sau 7 ngày bố trí thí nghiệm và ổn định ở hầu hết các thời điểm khảo sát, điều này chứng minh tiềm năng lớn trong việc ứng dụng vi khuẩn hòa tan lân giúp cải thiện hiệu quả sử dụng phân lân trong đất nông nghiệp. Đồng thời hai dòng vi khuẩn này cũng có khả năng tổng hợp enzyme phytase cao nhất, lần lượt 2,94 μmol/phút và 2,42 μmol/phút ở

thời điểm 5 ngày sau khi bố trí và duy trì ổn định ở các thời điểm thu mẫu, chứng tỏ khả năng thích nghi tốt và duy trì hiệu suất tổng hợp enzyme trong thời gian dài.

Cần thực hiện thêm khảo sát về ảnh hưởng của các yếu tố môi trường đất đến đến khả năng hòa tan lân của 2 dòng vi khuẩn hòa tan lân tuyển chọn gồm pH, nhiệt độ, nồng độ muối, điều kiện thoáng khí, yếm khí, nguồn carbon, N, và một số yếu tố khác trong đất.

Đề nghị tiến hành thử nghiệm ở điều kiện nhà lưới hoặc trên đồng ruộng với các loại cây trồng khác nhau và trong các điều kiện đất khác nhau (đất nghèo lân, đất chua phèn, đất mặn) để đánh giá hiệu quả thực tế của các dòng vi khuẩn tiềm năng.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện với sự tài trợ kinh phí của Bộ Giáo dục và Đào tạo thông qua đề tài cấp Bộ: “Nghiên cứu biện pháp kích thích gia tăng mật

số nhóm vi khuẩn có lợi trong đất vườn trồng nhãn lâu năm ở khu vực Đồng bằng sông Cửu Long” mã số B2023-TCT-14 do Trường đại học Cần Thơ quản lý năm 2023-2025.

TÀI LIỆU THAM KHẢO (REFERENCES)

- Busman, L., Lamb, J., Randall, G., Rehm, G., & Schmitt, M. (2009). *Nutrient management: the nature of phosphorus in soils*. University of Minnesota Extension.
- Can Tho City Statistical Office. (2020). *Statistical Yearbook 2020*. Statistical Publishing House. Hanoi (in Vietnamese).
- Chen, S., Lin, B., Li, Y., & Zhou, S. (2020). Spatial and temporal changes of soil properties and soil fertility evaluation in a large grain-production area of subtropical plain, China. *Geoderma*, 357, 113937.
<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.113937>
- Gerhardt, P., Murray, R. G. E., Wood, W. A., Krief, N. (1994). Methods for general and molecular bacteriology. Managing Pesticide Chronic Health Risks: U.S. Policies.
- Havlin, J. L., Beaton, J. D., Tisdale, S. L., & Nelson, W. L. (1999). *Soil Fertility and Fertilizers*. (6th Edition). Prentice Hall. Upper Saddle River, NJ, 499.
- Ho, T. V. (2006). *Soil degradation in raised-bed gardens growing durian and Dimocarpus longan in Cho Lach District, Ben Tre Province, and remediation measures* (Master's thesis). Can Tho University (in Vietnamese).
- Illmer, P., & Schinner, F. (1992). Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 24, 389-395.
[https://doi.org/10.1016/0038-0717\(92\)90199-8](https://doi.org/10.1016/0038-0717(92)90199-8)
- Kerovuo, J., Lauraeus, M., Nurminen, P., Kalkkinen, N., & Apajalahti, J. (1998). Isolation, characterization, molecular gene cloning, and sequencing of a novel phytase from *Bacillus subtilis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(6), 2079-2085.
<https://doi.org/10.1128/AEM.64.6.2079-2085.1998>
- Kucey, R. (1983). Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. *Canadian Journal of Soil Science*, 63(4), 671-678.
<https://doi.org/10.4141/cjss83-068>
- Le, T. T. M., Tran, H. N., Nguyen, H. H., Tran, N. C., Ly, X. N. T., Tran, T. T., Le, T. V., & Nguyen, K. Q. (2022). Isolation, selection and identification of phosphorus-solubilizing and nitrogen-fixing endophytic bacteria in *Mimosa aralia* (*Polyscias fruticosa* L. Harms). *Hue university journal of science: agriculture and Rural Development*, 131(3B), 83-97 (in Vietnamese).
- Liu, X., Han, R., Cao, Y., Turner, B. L., & Ma, L. Q. (2022). Enhancing phytase availability in soils and phytase-P acquisition by plants: a review. *Environmental Science & Technology*, 56(13), 9196-9219.
<https://doi.org/10.1021/acs.est.2c00099>
- Maleki, S., Karimi, A., Zeraatpisheh, M., Poozeshi, R., & Feizi, H. (2021). Long-term cultivation effects on soil properties variations in different landforms in an arid region of eastern Iran. *Catena*, 206, 105465.
<https://doi.org/10.1016/j.catena.2021.105465>
- Mussa, L. A., Yadetie, D. M., Temesgen, E. A., Tefera, A. T., & Gemed, M. T. (2023). Isolation and in-vitro characterization of extracellular phytase producing bacterial isolates for potential application in poultry feed. *BMC microbiology*, 23(1), 296.
<https://doi.org/10.1186/s12866-023-03041-2>
- National Statistics Office of Vietnam. (2020). In National Statistics Office's website (www.gso.gov.vn)
- Nguyen, G. V., Hoang, V. T., Tran, D. T., & Tran, H. T. (2015). Isolation and characterization of bacterial strains capable of solubilizing insoluble phosphate in soil. *Journal of Biotechnology*, 13 (2A), 753-762 (in Vietnamese).
- Nguyen, X. T. H., Nguyen, H. X., & Doan, L. P. (2022). Selecting *Pseudomonas stutzeri* strains that synthesized phytase enzyme. *Yersin Science Journal: Science and Technology Specialized*, 13, 52-64 (in Vietnamese).
- Phan, M. H. T. T. (2022). *Survey on the current status of cultivation and characteristics of idor longan (Euphoria Longana L.) soil in an Binh commune, Long Ho district, Vinh Long province*. (Master's thesis). Can Tho University (in Vietnamese).
- Prasad, K., Neha, P., & Lal, M. K. (2017). Cultivation and post-harvest handling techniques of potential future crop 'longan' (*Dimocarpus longan* Lour) in Asia pacific region-A review. *Research on Crops*, 18(2), 384-392.
<https://doi.org/10.5958/2348-7542.2017.00067.5>
- Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., & Gobi, T. A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils.

- SpringerPlus*, 2, 1-14.
<https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587>
- Shimizu, M. (1992). Purification and characterization of phytase from *Bacillus subtilis* (natto) N-77. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 56(8), 1266-1269.
<https://doi.org/10.1271/bbb.56.1266>
- Suslow, T. V., Schroth, M. N., & Isaka, M. (1982). *Techniques: Application of a rapid method for gram differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining*. The American Phytopathological Society.
<https://doi.org/10.1094/Phyto-72-917>
- Tran, B. A., Truong, T. T. A., Nguyen, T. V., Nguyen, T. C., Tran, T. V. K., Tran, N. V. B., & Tran, G. T. (2023). Optimization of culture conditions for the salt tolerant phosphorus solubilizing bacteria strain *Pantoea* sp. TTB4. 1. *Journal of forestry science and technology*, (1), 003-011 (in Vietnamese).
- Tungala, A., Narayanan, K. A., & Muthuraman, M. S. (2013). Isolation of phytase producing bacteria from poultry faeces and optimization of culture conditions for enhanced phytase production. *Int J Pharm Pharm Sci*, 5(4), 264-269.
- Xu, J., Han, H., Ning, T., Li, Z., & Lal, R. (2019). Long-term effects of tillage and straw management on soil organic carbon, crop yield, and yield stability in a wheat-maize system. *Field Crops Research*, 233, 33-40.
<https://doi.org/10.1016/j.fcr.2018.12.016>