

## KHẢO SÁT HIỆU QUẢ CỐ ĐỊNH ĐẠM CỦA HAI DÒNG VI KHUẨN *Serratia marcescens* CTB3 VÀ *Ideonella* sp. CT1N2 TRÊN GIỐNG LÚA OM6976

Nguyễn Thị Pha<sup>1</sup>, Trần Đình Giỏi<sup>2</sup>

### TÓM TẮT

Ứng dụng vi khuẩn cố định đạm trên ruộng lúa đang được các nhà khoa học quan tâm nghiên cứu trong những năm gần đây. Đề tài khảo sát hiệu quả cố định đạm của 2 dòng vi khuẩn *Serratia marcescens*. CTB3 và *Ideonella* sp. CT1N2 trên giống lúa OM6976 đã được thực hiện nhằm xác định khả năng thay thế phân hóa học do hoạt động cố định đạm của vi khuẩn tạo ra. Hai dòng vi khuẩn được đánh giá hiệu quả cố định đạm ở 5 mức phân đạm gồm 0%, 25%, 50%, 75% và 100% trên nền phân bón 80:40:30 kg/ha (N:P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:K<sub>2</sub>O) so sánh với 2 đối chứng không chủng vi khuẩn bón đầy đủ phân đạm (100%) và không bón phân đạm (0%) trong vụ Hè Thu năm 2015 tại xã Tân Thạnh, huyện Thới Lai, TP. Cần Thơ. Kết quả đã xác định được hai dòng vi khuẩn này có khả năng thay thế từ 25-50% phân đạm hóa học cho cây lúa, trong đó dòng vi khuẩn *S.marcescens*. CTB3 còn cho năng suất cao hơn đối chứng bón đầy đủ phân đạm khi được bón 75-100% phân đạm hóa học.

**Từ khóa:** Cố định đạm sinh học, canh tác lúa, vi khuẩn vùng rễ lúa

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sản xuất lúa ở Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) chủ yếu sử dụng phân bón hóa học làm tăng giá thành sản phẩm và ảnh hưởng xấu đến độ phì của đất. Theo Võ Minh Kha (2003) cây lúa chỉ sử dụng được từ 50–60% lượng phân bón vào, phần còn lại bị cố định ở trong đất, thất thoát do bị rửa trôi, phân đạm hóa và bay hơi vì thế gây ô nhiễm môi trường. Ứng dụng vi khuẩn cố định đạm trên ruộng lúa là giải pháp hữu hiệu cải thiện vấn đề này. Hai loài vi khuẩn *Serratia marcescens* và *Ideonella* sp được nhiều nghiên cứu xác định là có khả năng cố định đạm trên một số cây trồng như lúa miến (sorghum) và lúa (Gyaneshwar *et al.*, 2002; Gopalakrishnan *et al.*, 2011 và Jesse and Daniel, 2009). Ngoài khả năng cố định đạm một số loài thuộc chi *Serratia* còn có khả năng hòa tan lân (Ben *et al.*, 2009), đối kháng nấm bệnh (Widiastuti, 2008). Hai dòng vi khuẩn *S. marcescens*. CTB3 và *Ideonella* sp. CT1N2 được phân lập từ đất vùng rễ lúa, thuộc nhóm Gram âm, tế bào hình que, có khả năng sinh trưởng trên nhiều nguồn carbon khác nhau như sucrose, D-glucose, D- mannose, D-fructose, Maltose, có phản ứng catalase dương tính và có khả năng cố định đạm (Nguyễn Thị Pha và ctv., 2015). Giống lúa OM6976 là một trong các giống lúa chủ lực ở các tỉnh ĐBSCL, được chọn tạo từ tổ hợp lai IR68144/OM997//OM2718///OM2868, có thời gian sinh trưởng 97-102 ngày, chiều cao cây 100-110 cm, trọng lượng ngàn hạt 26-27 gram, giàu sắt, cứng cây, dạng hình đẹp, bông to, nhiều hạt, hơi nhiễm rầy nâu và đạo ôn, đẻ nhánh ít, chịu phèn, mặn khá (Trần Thị Cúc Hòa và ctv., 2011).

Để đánh giá khả năng cung cấp phân đạm sinh học cho cây lúa OM6976, nghiên cứu “Khảo sát hiệu quả cố định đạm của hai dòng vi khuẩn *Serratia marcescens*. CTB3 và *Ideonella* sp. CT1N2 trên giống lúa OM6976” đã được thực hiện làm cơ sở cho nghiên cứu phát triển phân bón vi sinh cho canh tác lúa trong hệ thống sản xuất nông nghiệp sạch và bền vững trong tương lai.

### II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Hai dòng vi khuẩn vùng rễ lúa *Serratia marcescens*. CTB3 và *Ideonella* sp. CT1N2 được phân lập, tuyển chọn và định danh từ kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Pha và ctv. (2015), giống lúa OM6976, được chọn tạo từ tổ hợp lai IR 68144/OM 997//OM 2718///OM 2868.

- Đất thí nghiệm thuộc nhóm đất thịt pha sét có hàm lượng đạm tổng số cao (0,26%), lân tổng số thấp (0,122%), lân dễ tiêu thấp (47,5 mg/kg) và kali dễ tiêu thấp (0,299 meq/100g) so với mô tả về đặc tính đất phù sa của Trần Minh Tiến và ctv. (2014).

#### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

##### 2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm (TN) được thực hiện trong vụ Hè Thu 2015 theo kiểu bố trí khối đầy đủ hoàn toàn ngẫu nhiên, 4 lần lặp lại với 12 nghiệm thức (NT) như trong Bảng 1, trên nền phân bón: 80:40:30 kg/ha (N:P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:K<sub>2</sub>O). Diện tích mỗi ô TN là 20 m<sup>2</sup>, khoảng

<sup>1</sup> Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long

cách cấy là 15 x 20 cm, diện tích toàn thí nghiệm là 1.300 m<sup>2</sup>. Các thí nghiệm được đắp bờ để cách ly sự hòa trộn của các công thức phân bón và nguồn vi khuẩn với nhau.

**Bảng 1.** Các thí nghiệm được bố trí trong thí nghiệm

STT	Dòng vi khuẩn chủng	%N sử dụng	Nghiệm thức
1	Không chủng	0	ĐC- (đối chứng âm)
2	Không chủng	100	ĐC+ (đối chứng dương)
3	<i>Serratia marcescens</i> . CTB3	0	<i>S.marcescens</i> .CTB3-0%N
4	<i>Ideonella</i> sp. CT1N2		<i>Ideonella</i> sp. CT1N2-0%N
5	<i>Serratia marcescens</i> . CTB3	25	<i>S.marcescens</i> .CTB3-25%N
6	<i>Ideonella</i> sp. CT1N2		<i>Ideonella</i> sp. CT1N2-25%N
7	<i>Serratia marcescens</i> . CTB3	50	<i>S.marcescens</i> .CTB3-50%N
8	<i>Ideonella</i> sp. CT1N2		<i>Ideonella</i> sp. CT1N2-50%N
9	<i>Serratia marcescens</i> . CTB3	75	<i>S.marcescens</i> .CTB3-75%N
10	<i>Ideonella</i> sp. CT1N2		<i>Ideonella</i> sp. CT1N2-75%N
11	<i>Serratia marcescens</i> . CTB3	100	<i>S.marcescens</i> .CTB3-75%N
12	<i>Ideonella</i> sp. CT1N2		<i>Ideonella</i> sp. CT1N2-75%N

### 2.2.2. Quy trình thực hiện

Lúa giống được ngâm ủ nảy mầm, ra rễ khoảng 0,5 cm thì chia làm 3 phần, một phần không chủng vi khuẩn, 2 phần còn lại chủng bởi 2 dòng vi khuẩn (mỗi dòng 2 lít) có mật số 10<sup>7</sup> CFU/ml ít nhất 2 giờ. Mạ sau đó được gieo trên sân với giá thể là hỗn hợp xơ dừa + bùn theo tỷ lệ 4:1. Trước khi cuốn mạ pha 3 lít vi khuẩn cho mỗi dòng với 20 lít nước tưới vào rễ mạ để qua đêm sáng hôm sau đem ra ruộng cấy. Lúa được cấy theo hàng với khoảng cách 15 x 20 cm, mỗi bụi cấy 2-3 tếp. Tiến hành chăm sóc, làm cỏ, bón phân, xịt thuốc và theo dõi các số liệu.

### 2.2.3. Chỉ tiêu theo dõi

Chiều cao cây (cm), khối lượng khô rơm (g/bụi), số bông/m<sup>2</sup>, số hạt chắc/bông (hạt), tỷ lệ lép (%), khối lượng 1000 hạt (g) và năng suất thực tế (tấn/ha).

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Ảnh hưởng của hai dòng vi khuẩn và các mức phân đạm đến các chỉ tiêu sinh trưởng của giống lúa OM6976

Các chỉ tiêu sinh trưởng bao gồm chiều cao cây, chiều dài bông và khối lượng rơm khô khi thu hoạch được ghi nhận trong Bảng 2.

Chiều cao cây trung bình giữa các NT dao động từ 84,8-99,7 cm và khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1%. Các NT bón phân đạm từ 50-100% có chủng vi khuẩn đều cho chiều cao cây (94,7-99,0 cm) tương đương với đối chứng dương, bón đầy đủ phân đạm,

không chủng vi khuẩn (99,7 cm) và cao hơn, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng âm, không bón đạm, không chủng vi khuẩn (86,8 cm).

**Bảng 2.** Hiệu quả của hai dòng vi khuẩn và các mức phân đạm hóa học đến sinh trưởng của cây lúa trên đất phù sa, vụ Hè Thu 2015

STT	Nghiệm thức	Chiều cao cây (cm)	Chiều dài bông (cm)	Khối lượng rơm (g/bụi)
1	0-0VK	86,8 <sup>c</sup>	19,7 <sup>d</sup>	10,2 <sup>c</sup>
2	100-0VK	99,7 <sup>a</sup>	20,8 <sup>abc</sup>	16,2 <sup>bc</sup>
3	0-CT1N2	84,8 <sup>e</sup>	19,8 <sup>d</sup>	10,4 <sup>e</sup>
4	25-CT1N2	90,4 <sup>cde</sup>	20,5 <sup>a-d</sup>	12,2 <sup>d</sup>
5	50-CT1N2	95,9 <sup>abc</sup>	21,1 <sup>a</sup>	16,3 <sup>bc</sup>
6	75-CT1N2	99,0 <sup>a</sup>	21,1 <sup>a</sup>	17,6 <sup>a</sup>
7	100-CT1N2	97,0 <sup>abc</sup>	20,5 <sup>a-d</sup>	17,1 <sup>ab</sup>
8	0-CTB3	91,5 <sup>b-e</sup>	19,9 <sup>d</sup>	11,8 <sup>d</sup>
9	25-CTB3	88,6 <sup>de</sup>	20,1 <sup>bcd</sup>	12,8 <sup>d</sup>
10	50-CTB3	94,7 <sup>a-d</sup>	21,3 <sup>a</sup>	15,9 <sup>c</sup>
11	75-CTB3	98,2 <sup>ab</sup>	21,0 <sup>ab</sup>	16,2 <sup>bc</sup>
12	100-CTB3	98,6 <sup>a</sup>	20,8 <sup>abc</sup>	15,7 <sup>c</sup>
	F	4,69 <sup>**</sup>	2,51 <sup>*</sup>	55,80 <sup>**</sup>
	CV%	5,09	3,39	4,99

Ghi chú: Trong cùng một cột, những giá trị đi theo cùng một chữ thì khác biệt không ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử LSD. \*: khác biệt mức ý nghĩa 5%, \*\*: khác biệt mức ý nghĩa 1%

Chiều dài bông có sự khác biệt có ý nghĩa giữa đối chứng dương (20,8 cm) bón đầy đủ đạm và ĐC âm (19,7 cm) không bón đạm. Chiều dài bông ở các NT có chủng vi khuẩn không bón đạm của dòng vi khuẩn CTB3 (19,9 cm) và NT chủng dòng vi khuẩn CT1N2 (19,8 cm) và ĐC âm là khác biệt không có ý nghĩa. Các NT có chủng vi khuẩn từ mức phân bón 25% đến 100% ở cả hai dòng vi khuẩn đều khác biệt không có ý nghĩa so với ĐC dương. Chiều dài bông dài nhất thuộc về các NT có chủng vi khuẩn và 2 mức phân bón là 50% và 75%.

Khối lượng rơm giữa các nghiệm thức dao động từ 10,2-17,6 g/bụi và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1%. Khối lượng khô rơm cao nhất là ở nghiệm thức bón 75%N chủng vi khuẩn CT1N2 (17,6 g/bụi), khác biệt có ý nghĩa với đối chứng dương và các NT còn lại. Các NT bón phân đạm từ 50-100% có chủng vi khuẩn đều cho khối lượng rơm khô (15,7-17,6 g/bụi), cao hơn hoặc tương đương với đối chứng dương (16,2 g/bụi) và cao hơn, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng âm (10,2 g/bụi). Điều này cho thấy khối lượng khô rơm chịu ảnh hưởng nhiều bởi phân bón và khả năng cố định đạm của các dòng vi khuẩn. Trong đó, việc bón 75%N kết hợp với chủng dòng vi khuẩn CT1N2 cho khối lượng khô rơm cao nhất.

### 3.2. Ảnh hưởng của hai dòng vi khuẩn và các mức phân đạm đến các thành phần năng suất và năng suất của giống lúa OM6976

Hiệu quả cung cấp đạm của hai dòng vi khuẩn CT1N2 và CTB3 đến các thành phần năng suất và năng suất của giống lúa OM6976 được tổng hợp trong Bảng 3 và Hình 1.

Số bông/m<sup>2</sup> trung bình giữa các nghiệm thức dao động từ 216,8-308,7 bông và có sự khác biệt qua phân tích thống kê ở mức ý nghĩa 1% (Bảng 3). Các NT bón phân đạm từ 50-100% có chủng vi khuẩn đều cho số bông/m<sup>2</sup> cao (268,3-306,6 bông), khác biệt không có ý nghĩa so với đối chứng dương (308,7 bông) và cao hơn, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng âm (229,7 bông). Nghiệm thức chủng dòng vi khuẩn CT1N2 không bón phân đạm cho số bông/m<sup>2</sup> thấp nhất (216,8 bông), nhưng khác biệt không có ý nghĩa với đối chứng âm và các NT bón 25%N hoặc không bón phân đạm có chủng vi khuẩn (216,8-251,7 bông).

Số hạt chắc/bông: Số hạt chắc/bông trung bình giữa các NT dao động từ 64,6-84,1 hạt/bông và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 1%. Cũng giống như số bông/m<sup>2</sup>, sự biến động số hạt chắc/bông cũng theo khuynh hướng tăng dần theo lượng phân đạm hóa học bón và lượng đạm sinh

**Bảng 3.** Hiệu quả của hai dòng vi khuẩn và các mức phân đạm hóa học đến các thành phần năng suất của giống lúa OM6976 trên đất phù sa, vụ Hè Thu 2015

STT	Nghiệm thức	Số bông/ m <sup>2</sup> (bông)	Số hạt chắc/ bông (hạt)	Tỷ lệ lép (%)	KL 1.000 hạt (g)
1	0-0VK	229,7 <sup>de</sup>	68,2 <sup>fg</sup>	29,6	27,0
2	100-0VK	308,7 <sup>a</sup>	75,7 <sup>cde</sup>	39,1	26,4
3	0-CT1N2	216,8 <sup>e</sup>	64,6 <sup>g</sup>	30,5	27,1
4	25-CT1N2	251,7 <sup>b-e</sup>	69,6 <sup>efg</sup>	35,9	25,8
5	50-CT1N2	277,5 <sup>abc</sup>	73,0 <sup>def</sup>	36,9	27,1
6	75-CT1N2	306,6 <sup>a</sup>	80,8 <sup>abc</sup>	33,5	25,6
7	100-CT1N2	295,8 <sup>a</sup>	83,4 <sup>ab</sup>	28,0	25,7
8	0-CTB3	235,2 <sup>cde</sup>	71,0 <sup>d-g</sup>	30,7	27,0
9	25-CTB3	251,7 <sup>b-e</sup>	69,9 <sup>efg</sup>	33,1	27,2
10	50-CTB3	268,3 <sup>a-d</sup>	76,4 <sup>b-e</sup>	37,2	26,1
11	75-CTB3	288,5 <sup>ab</sup>	84,1 <sup>a</sup>	30,4	26,7
12	100-CTB3	281,1 <sup>ab</sup>	77,6 <sup>a-d</sup>	37,0	26,5
	F	4,10 <sup>**</sup>	6,24 <sup>**</sup>	1,54 <sup>ns</sup>	1,36 <sup>ns</sup>
	CV%	11,27	6,68	17,46	3,82

Ghi chú: Trong cùng một cột những giá trị đi theo cùng một chữ giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử LSD. \*\*: khác biệt mức ý nghĩa 1%, ns: khác biệt không ý nghĩa thống kê

học do có chủng vi khuẩn cung cấp. Theo đó, hiệu quả cung cấp đạm của các dòng vi khuẩn đã làm tăng số hạt chắc/bông tương đương với đối chứng dương (75,7 hạt) từ mức phân đạm 25-100% (69,6-84,1 hạt). Thậm chí ngay cả NT chủng dòng vi khuẩn CTB3, không bón đạm cũng cho số hạt chắc/bông (71,0 hạt) khác biệt không có ý nghĩa với đối chứng dương. Nghiệm thức cho số hạt chắc/bông cao nhất là 75%N chủng dòng CTB3 (84,1 hạt), kế đến là bón 100% đạm chủng dòng CT1N2 (83,4 hạt), khác biệt có ý nghĩa với đối chứng dương. Số hạt/bông thấp nhất là ở NT chủng dòng CT1N2 không bón phân đạm (64,6 hạt), thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa với đối chứng dương nhưng khác biệt không có ý nghĩa với đối chứng âm (68,2 hạt).

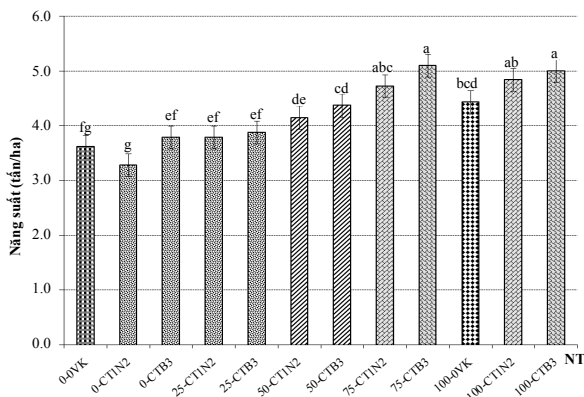
Tỷ lệ lép và khối lượng 1000 hạt của giống lúa OM6976 vụ Hè Thu 2015 giữa các NT bón lượng phân đạm khác nhau kết hợp chủng các dòng vi khuẩn so với các đối chứng đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Khối lượng 1.000 hạt giữa các NT dao động rất ít (25,6-27,2 g), trong khi tỷ lệ lép dao động nhiều hơn (29,6-39,1%) nhưng cũng không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê.

Năng suất thực tế: Kết quả phân tích ở Hình 1 cho thấy, năng suất thực tế giữa các NT đạt từ 3,28-5,10 tấn/ha và có sự khác biệt qua phân tích thống kê ở mức ý nghĩa 1%. Năng suất thực tế cao nhất là ở các NT chủng dòng vi khuẩn CTB3 bón 75% đạm (5,10 tấn/ha) và bón 100% đạm (5,00 tấn/ha), khác biệt có ý nghĩa thống kê với đối chứng dương (4,43 tấn/ha) và các NT còn lại. Các NT bón từ 50-100% phân đạm có chủng vi khuẩn đều cho năng suất cao (4,15-4,84 tấn/ha), khác biệt không có ý nghĩa với đối chứng dương và cao hơn, khác biệt có ý nghĩa với đối chứng âm (3,62 tấn/ha).

Như vậy cả 2 dòng vi khuẩn đều có thể thay thế được 25-50% phân đạm cho cây lúa mà vẫn đảm bảo năng suất tương đương, thậm chí còn cao hơn bón đầy đủ phân đạm, không chủng vi khuẩn. Dòng vi khuẩn CTB3 không chỉ thay thế tới 50% phân đạm mà còn cho năng suất cao hơn đối chứng khi bón 75-100% phân đạm.

Kết quả của thí nghiệm phù hợp với một số nghiên cứu đã công bố về loài *S. marcescens* và *Ideonella* sp. của một số tác giả. Theo nghiên cứu của Gyaneshwar *et al.* (2002) cho thấy *S.*

*marcescens* là một loại vi khuẩn thường nội sinh trong cây lúa và chúng có khả năng làm tăng chiều dài rễ và khối lượng khô của cây lúa. Chủng *Serratia marcescens* EB-67 phân lập được từ vùng rễ lúa cũng đã được chứng minh có khả năng tăng sinh khối của bắp trồng trong nhà kính đến 99% (Gopalakrishnan *et al.*, 2011). Đối với vi khuẩn *Ideonella* sp. các nghiên cứu về vi khuẩn cho thấy chi vi khuẩn này có khả năng cố định đạm, có trình tự gen *nif* tương đồng với trình tự gen *nif* thuộc chi *Burkholderia*.



**Hình 1.** Ảnh hưởng của 02 dòng vi khuẩn cố định đạm và các mức phân đạm khác nhau lên năng suất thực tế giống lúa OM6976 vụ Hè Thu 2015 tại Cần Thơ

Ghi chú: F: 15,79\*\*; CV: 7,04%

#### IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

##### 4.1. Kết luận

Hai dòng vi khuẩn *S. marcescens*. CTB3 và *Idoneolla* sp. CT1N2 có thể thay thế được 25-50% phân đạm hóa học, trong đó dòng vi khuẩn *S. marcescens*. CTB3 còn cho năng suất cao hơn đối chứng bón đầy đủ phân đạm khi được bón 75-100% phân đạm hóa học.

Ở mức phân bón giảm 25% phân đạm hóa học, cả hai dòng vi khuẩn đều cho chiều dài bông và số hạt chắc/bông tương đương với đối chứng bón 100% phân đạm, trong khi các chỉ tiêu khác như chiều cao cây, khối lượng rơm, số bông/m<sup>2</sup> và năng suất thực tế, hai dòng vi khuẩn này cho sự khác biệt không có ý nghĩa với đối chứng khi được bón từ 50% phân đạm trở lên.

##### 4.2. Đề nghị

Tiếp tục thử nghiệm hiệu quả cố định đạm của 2 dòng vi khuẩn *Ideonella* sp. CT1N2 và dòng *Serratia marcescens*. CTB3 trên diện tích lớn hơn tại các tỉnh

DBSCL để có kết luận chính xác hơn. Nghiên cứu kết hợp các dòng vi khuẩn nhằm tăng hiệu quả cung cấp đạm cho cây lúa và làm cơ sở cho chiến lược sản xuất chế phẩm phân bón vi sinh đa chủng.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Thị Pha, Trần Đình Giỏi và Nguyễn Hữu Hiệp, 2015. Phân lập, tuyển chọn và định danh các dòng vi khuẩn cố định đạm vùng rễ lúa các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 38b(2): 38-47.
- Trần Minh Tiến, Hồ Quang Đức và Hoàng Trọng Quý, 2014. *Biến động một số tính chất đất trồng lúa vùng Đồng bằng sông Hồng và Đồng bằng sông Cửu Long*. Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam. Tài liệu online truy cập tại địa chỉ: <http://iasvn.org/chuyen-muc/Bien-dong-mot-so-tinh-chat-dat-trong-lua-vung-dong-bang-song-Hong-va-dong-bang-song-Cuu-Long-4552.html>, ngày 24-01-2014
- Võ Minh Kha, 2003. *Sử dụng phân bón phối hợp cân đối (nguyên lý và giải pháp)*. Nhà xuất bản Nghệ An, Việt Nam.
- Ben, F.M., A. Farhat, W. Bejar, R. Kammoun, K. Bouchaala, A. Fourati, H. Antoun, S. Beijar and H. Chouayekh, 2009. Characterization of the mineral phosphate solubilizing activity of *Serratia marcescens* CTM 50650 isolated from the phosphate mine of Gafsa. *Archives of Microbiology*, 191(11): 815-824.
- Gopalakrishnan, S., P. Humayun, B.K. Kiran, I.G.K. Kannan, M.S. Vidya, K. Deepthi and O. Rupela, 2011. Evaluation of bacteria isolated from rice rhizosphere for biological control of charcoal rot of sorghum caused by *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. *World journal of Microbiological Biotechnology*, 27: 1313-1321.
- Gyaneshwar, P., E.K. James, N. Mathan, P.M. Reddy, B. Reinhold-Hurek and J.K. Ladha, 2002. Endophytic colonization of rice by a diazotrophic strain of *Serratia marcescens*. *Journal of Bacteriology*, 183(8): 2634-2645.
- Jesse, D.N. and H.B. Daniel, 2009. *Ideonella azotifigens* sp. nov., an aerobic diazotroph of the Betaproteobacteria isolated from grass rhizosphere soil, and emended description of the genus *Ideonella*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(8): 1941-1946.
- Widiastuti, H., 2008. Characteristics of Phosphate-solubilizing bacteria isolated from acid soil of Cikopomayak, West Java, Indonesia. *Microbiology Indonesia*, 2(3): 115-118.
- Trần Thị Cúc Hòa, Phạm Trung Nghĩa và Lê Cao Thắng, 2011. Kết quả chọn tạo giống lúa OM 6976 giàu sắt thích nghi rộng. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, P 62-67.

### Evaluation of nitrogen-fixation effect of two bacteria strains *Serratia marcescens* CTB3 and *Ideonella* sp. CT1N2 on OM6976 rice variety

Nguyen Thi Pha, Tran Dinh Gioi

#### Abstract

Application of nitrogen-fixing bacteria on the rice fields has been interested by scientists in recent years. Nitrogen-fixation effect of two bacteria strains *Serratia marcescens* CTB3 and *Ideonella* sp. CT1N2 on OM6976 rice variety was carried out to determine the amount of chemical nitrogen replacement by bacterial biological nitrogen fixation. These two bacterial strains were evaluated their nitrogen fixation in 5 chemical nitrogen fertilizer levels including 0%, 25%, 50%, 75% and 100% of the formula: 80:40:30 kg/ha (N:P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:K<sub>2</sub>O) compared with two control treatments of inoculation free with or without nitrogen fertilizer application (100% or 0% of nitrogen fertilizer) in the Summer-Autumn season of 2015 at Tan Thanh commune, Thoi Lai district, Can Tho city. Results indicated that these two bacteria strains could replace 25-50% chemical nitrogen fertilizer for rice plant, in which *S.marcescens* CTB3 bacterial strain even gave higher yield in comparison with full nitrogen fertilizer treatment of the control when applied 75-100% chemical nitrogen fertilizer.

**Key words:** Biological nitrogen fixation, rice cultivation, Rhizospheric bacteria

Ngày nhận bài: 12/7/2016  
 Người phản biện: PGS.TS. Phạm Văn Toàn

Ngày phản biện: 20/7/2016  
 Ngày duyệt đăng: 26/7/2016

## KHẢO SÁT KHÁNG THỂ KHÁNG *Mycoplasma hyopneumoniae* TRÊN LỢN NUÔI TẠI MỘT SỐ TỈNH NAM TRUNG BỘ VÀ TÂY NGUYÊN

Đặng Văn Tuấn<sup>1</sup>, Lê Đình Hải<sup>1</sup>, Vũ Khắc Hùng<sup>1</sup>, Võ Thành Thìn<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

Sử dụng phương pháp ELISA để khảo sát tình hình nhiễm vi khuẩn *Mycoplasma hyopneumoniae* (*M. hyopneumoniae*) trên đàn lợn nuôi tại một số tỉnh khu vực Nam Trung bộ và Tây Nguyên. Có tất cả 601 mẫu huyết thanh lợn được thu thập tại các tỉnh Khánh Hòa, Kon Tum, Bình Định và Đắk Lắk để kiểm tra kháng thể kháng *M. hyopneumoniae* bằng bộ Kit ELISA của hãng IDEXX Herdchek (Mỹ). Kết quả cho thấy, tỷ lệ lợn nhiễm *M. hyopneumoniae* trung bình tại các tỉnh khảo sát là 38,1%. Mẫu huyết thanh lợn thịt có tỷ lệ dương tính với kháng thể *M. hyopneumoniae* là 69,56%, lợn nái 52,17%, lợn con theo mẹ và lợn con sau cai sữa lần lượt là 3,57% và 0,82%. Lợn nuôi theo phương thức công nghiệp có tỷ lệ mẫu dương tính với *M. hyopneumoniae* là 74,34%, cao hơn nhiều so với lợn nuôi nhỏ lẻ ở hộ gia đình (46,32%). Ngoài ra, kết quả khảo sát cũng cho thấy, mẫu huyết thanh thu thập trong mùa khô có tỷ lệ dương tính với kháng thể kháng *M. hyopneumoniae* cao hơn mẫu thu thập trong mùa mưa.

**Từ khóa:** Lợn, *M. hyopneumoniae*, kháng thể, ELISA

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

*M. hyopneumoniae* từ lâu đã được xác định là tác nhân gây ra bệnh viêm phổi ở lợn. Triệu chứng lâm sàng đặc trưng của bệnh là ho khô, ho kéo dài (Sibila *et al.*, 2009). Trên thực địa, triệu chứng ho rất khác nhau, ho nhiều hoặc ít và có thể không có triệu chứng ho ở một số lợn nhiễm bệnh (Maes *et al.*, 2008). Lợn bị viêm phổi do *M. hyopneumoniae* không có sự khác nhau đáng kể trong tiêu thụ thức ăn, thân nhiệt so với lợn khỏe mạnh (Escobar *et al.*, 2007). Các triệu chứng lâm sàng như giảm tính thèm ăn, thờ dốc hoặc kiệt sức, chết... là do các tác nhân gây bệnh thứ phát như vi khuẩn tụ huyết trùng (*Pasteurella multocida*), cúm lợn (swine influenza) hay vi-rút gây hội chứng rối loạn hô hấp và sinh sản (PRRSV) (Thacker *et al.*, 2001, Sorensen *et al.*, 1997). Lợn mắc bệnh qua khỏi hoặc mắc bệnh ở thể mạn tính có thể sinh kháng thể kháng *M. hyopneumoniae* trong huyết thanh. Thiệt hại về kinh tế do *M. hyopneumoniae* gây ra thường khó tính toán bởi vì bệnh thường có sự tham gia của các tác nhân khác. Bệnh làm giảm khả năng tăng trọng, giảm hiệu suất chuyển hóa thức ăn, tăng chi phí điều trị bệnh (Clark *et al.*, 1991).

Khảo sát, đánh giá tình trạng nhiễm bệnh trên diện rộng là rất cần thiết trong giai đoạn chăn nuôi lợn phát triển như hiện nay ở nước ta. Tuy nhiên, việc nuôi cấy, phân lập *M. hyopneumoniae* từ mẫu bệnh phẩm là cực kỳ khó khăn và hầu như không thành công. Vì vậy, trong nghiên cứu này sử dụng phương pháp ELISA để khảo sát kháng thể kháng *M. hyopneumoniae* trong mẫu huyết thanh lợn nuôi tại một số tỉnh Nam trung bộ và Tây Nguyên. Kết quả này là cơ sở để đánh giá sự lưu hành của vi khuẩn *M. hyopneumoniae* trong đàn lợn.

### II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Mẫu huyết thanh lợn lấy tại các trang trại và hộ gia đình các tỉnh Khánh Hòa, Kontum, Bình Định, Đắk Lắk.

- Kit ELISA phát hiện kháng thể kháng *M. hyopneumoniae* hãng IDEXX (Mỹ).

- Các dụng cụ, thiết bị phòng thí nghiệm để thực hiện phản ứng ELISA như micropipet, máy rửa và máy đọc ELISA

#### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Lấy mẫu huyết thanh: Đối với lợn nuôi công nghiệp, mỗi trại lợn thịt quy mô 500 - 1000 con lấy không quá 10 mẫu. Trại quy mô 100 - 500 nái lấy 5 - 10 mẫu huyết thanh lợn nái và không quá 10 mẫu huyết thanh lợn con. Đối với lợn nuôi tại các hộ gia đình, ở mỗi tỉnh chọn 3 huyện, mỗi huyện chọn 2-3 xã có nhiều hộ chăn nuôi heo để lấy mẫu. Mỗi hộ gia đình lấy 3 - 5 mẫu áp dụng cho tất cả các đối tượng lợn.

Dùng bơm tiêm vô trùng lấy 2-3 ml máu từ tĩnh mạch cổ của lợn. Sau đó chất lấy huyết thanh cho vào ống eppendorf và bảo quản -20°C đến khi sử dụng. Tất cả lợn lấy mẫu huyết thanh được chọn ngẫu nhiên và không tiêm vắc-xin phòng bệnh viêm phổi do *M. hyopneumoniae*.

- Thực hiện phản ứng ELISA theo hướng dẫn của nhà sản xuất KIT với mẫu huyết thanh được pha loãng 1/40. Đọc kết quả bằng phần mềm KC junior ở bước sóng 650. Giá trị S/P được tính như sau:

$S/P = (OD_{mẫu} - OD_{đối chứng âm}) / (OD_{đối chứng dương} - OD_{đối chứng âm})$

Mẫu huyết thanh dương tính khi giá trị S/P  $\geq 0,4$ .

<sup>1</sup> Phân viện Thú y miền Trung