

NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH ẨM ĐỘ PHÙ HỢP CHO SẢN XUẤT CHẾ PHẨM SINH HỌC CHỨA VI KHUẨN QUANG DƯỠNG KHÔNG LƯU HUỖNH MÀU TÍA HÒA TAN LÂN

Trần Trọng Khôi Nguyên¹, Lý Ngọc Thanh Xuân², Trần Chí Nhân²,
Nguyễn Thanh Phương², Lê Thị Mỹ Thu¹, Nguyễn Đức Trọng¹,
Nguyễn Quốc Khương^{1*}

¹Khoa Khoa học cây trồng, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ;

²Trường Đại học An Giang; Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.

*Tác giả liên hệ: nqkhuong@ctu.edu.vn

Nhận bài: 29/01/2024 Hoàn thành phản biện: 04/06/2024 Chấp nhận bài: 11/06/2024

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm mục tiêu xác định ẩm độ phù hợp cho sản xuất chế phẩm sinh học chứa vi khuẩn quang dưỡng không lưu huỳnh màu tía hòa tan lân. Thí nghiệm hai nhân tố được bố trí khối hoàn toàn ngẫu nhiên với ba lặp lại. Trong đó, nhân tố (A) gồm 5 mức ẩm độ (30, 40, 50, 60 và 70%) và nhân tố (B) là các dòng vi khuẩn quang dưỡng không lưu huỳnh màu tía hòa tan lân (W42, W48, W25, hỗn hợp ba dòng W42, W48 và W25) ở tỷ lệ rơm: lá khóm: tro trấu là 1: 3: 1. Hàm lượng C tổng số giữa các ẩm độ tương đương nhau, dao động 56,3-58,2%. Hàm lượng P tổng số ở các ẩm độ và các dòng vi khuẩn đạt tương đương nhau, dao động 0,335-0,360%. Bên cạnh đó, hàm lượng N tổng số ở nghiệm thức có bổ sung dòng đơn W42 và hỗn hợp 3 dòng W42, W48, W25 cao hơn các nghiệm thức còn lại, lần lượt là 1,29 và 1,30%. Tỷ lệ C/N ở ẩm độ 30, 40, 60, 70% phù hợp cho sản xuất chế phẩm sinh học lần lượt đạt 48,8; 49,0; 50,0; 46,7. Trong khi đó, dòng đơn vi khuẩn W42 và hỗn hợp ba dòng W42, W48, W25 đạt tỷ lệ C/N (41,0 và 46,3) thấp hơn hai dòng đơn vi khuẩn W48 và W25 (56,1 và 57,4). Tuy nhiên, ẩm độ 40 và 60% chế phẩm sinh học có mật số vi khuẩn tốt nhất ($0,460 \times 10^6$ CFU/g), dòng vi khuẩn W48 và hỗn hợp ba dòng W42, W48, W25 đạt mật số cao nhất ($0,455 \times 10^6$ CFU/g).

Từ khóa: Chế phẩm sinh học, Vi khuẩn hòa tan lân, Vi khuẩn quang dưỡng không lưu huỳnh màu tía, Ẩm độ

STUDYING DETERMINATION OF APPROPRIATE HUMIDITY FOR PRODUCING BIOPRODUCT CONTAINING PHOSPHORUS-SOLUBILIZING PURPLE NONSULFUR BACTERIA

Tran Trong Khoi Nguyen¹, Ly Ngọc Thanh Xuan², Tran Chi Nhan²,
Nguyen Thanh Phuong², Le Thi My Thu¹, Nguyen Duc Trong¹,
Nguyen Quoc Khuong^{1*}

¹Department of Crop Science, College of Agriculture, Can Tho University;

²Experimental and Practical Area, An Giang University, Vietnam National University, Ho Chi Minh city, Vietnam.

*Corresponding author: nqkhuong@ctu.edu.vn

Received: January 29, 2024

Revised: June 4, 2024

Accepted: June 11, 2024

ABSTRACT

The study was conducted to determine a suitable humidity to produce bioproduct containing phosphorus (P) - solubilizing purple nonsulfur bacteria (PNSB). The experiment with two factors was arranged in completely randomized blocks with three replications. Therein, the first factor included 5 humidity levels (30, 40, 50, 60, and 70%) and the second factor was the strains of P-solubilizing PNSB (W42, W48, W25, and the mixture of the three strains). The substrates were rice straw: pineapple leaf: husk ash (1: 3: 1). The C/N ratios at 30, 40, 60, and 70% humidity were suitable for a biofertilizer. In detail, the W42 strain and the bacteria mixture obtained lower C/N ratios (41.0 and 46.3, respectively) than the other two strains (56.1 and 57.4, respectively). The total P contents at different humidity levels and bacterial strains were equivalent. However, at 40 and 60% humidity, the bacterial density peaked, in which the W48 strain and the bacterial mixture resulted in the greatest, $0,460$ and $0,455 \times 10^6$ CFU/g, respectively.

Keywords: Biofertilizer, Phosphorus-solubilizing bacteria, Purple nonsulfur bacteria, IAA

1. MỞ ĐẦU

Trong tương lai, sản lượng nông nghiệp cần đáp ứng nhu cầu dân số được dự kiến là tiếp tục tăng mạnh trong nhiều năm tới. Tăng cường sản xuất đồng thời giữ an toàn cho môi trường là một trong những thách thức lớn cho nông nghiệp trong thế kỷ 21 (Berg, 2009). Theo ước tính của FAO, nhu cầu về nông sản tăng lên 60% vào năm 2030 (Mia và Shamsuddin, 2010). Trong tình hình khủng hoảng nguyên liệu nghiêm trọng hiện nay kết hợp giá cả tăng cao và vấn đề khan hiếm khí đốt tự nhiên đã dẫn đến việc sản xuất phân bón trở nên rất tốn kém (Chojnacka và cs., 2023). Tuy nhiên, trong những năm gần đây, một số nghiên cứu đã chỉ rõ tính kém hiệu quả và sự không cân đối trong việc sử dụng các loại phân bón đã gây ra các vấn đề về môi trường, mất cân bằng dinh dưỡng trong đất và sản xuất lương thực không tối ưu (Jiaying và cs., 2022; Penuelas và cs., 2023).

Trong mục tiêu thúc đẩy canh tác nông nghiệp bền vững, giảm sự phụ thuộc vào hóa chất nông nghiệp đã trở thành xu hướng ngày càng tăng đối với người sản xuất và người tiêu dùng. Điều đó đã tạo cơ hội cho các sản phẩm phân bón hữu cơ và phân hữu cơ vi sinh được nghiên cứu, sản xuất, sử dụng trong nông nghiệp và dần thay thế cho phân bón hóa học (Joshi và Gauraha, 2022). Trong các dòng chế phẩm sinh học chứa vi khuẩn, dòng vi khuẩn quang dưỡng không lưu huỳnh màu tía (PNSB) có khả năng cố định đạm (Wong và cs., 2014; Kantha và cs., 2015), chuyển hóa

As (Batoool và cs., 2017), tạo ra các chất chuyển hóa thứ cấp như 5-aminolevulinic acid (ALA), siderophores, lipopeptide, sắc tố và hợp chất exopolymeric substances (EPS) (Nunkaew và cs., 2014, Sasaki và cs., 2015; Andreolli và cs., 2019, Faria và cs., 2020). Bên cạnh đó, dòng PNSB cũng có chức năng hòa tan lân khó tan trong đất bằng các cơ chế khác nhau như tiết acid hữu cơ, sản xuất enzyme và tạo ra phosphate để cây trồng hấp thu (Billah và cs., 2019; Khuong và cs., 2021; Khuong và cs., 2023). Để các dòng vi khuẩn đạt hiệu quả bền vững cần phải có chất nền và chất mang phù hợp và được ủ ở ẩm độ tối ưu cho vi khuẩn phát triển. Chính vì vậy, nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định ẩm độ phù hợp cho chế phẩm sinh học chứa dòng vi khuẩn quang dưỡng không lưu huỳnh màu tía hòa tan lân.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nguồn vi khuẩn: Vi khuẩn hòa tan lân được phân lập từ đất phèn trồng khóm, được định danh là *Rhodobacter sphaeroides* W42, W48 và W25 (Huu và cs., 2022).

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm hai nhân tố được bố trí khối hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 20 nghiệm thức và 3 lần lặp lại. Nhân tố (A) gồm 5 mức ẩm độ. Nhân tố (B) là các dòng vi khuẩn quang dưỡng không lưu huỳnh màu tía hòa tan lân. Tổ hợp hai nhân tố là 20 nghiệm thức (Bảng 1). Vật liệu ủ có tỷ lệ 1: 3: 1 tương ứng rom khô: lá khóm khô: tro trấu. Rom và lá khóm thu ở ruộng nông dân được sấy khô ở nhiệt độ 70°C đến khối lượng không đổi.

Bảng 1. Tổ hợp các nghiệm thức

Tổ hợp nghiệm thức	Nhân tố (A): Ẩm độ (%)	Nhân tố (B): Vi khuẩn
1	30	W25
2	40	W25
3	50	W25
4	60	W25
5	70	W25
6	30	W42
7	40	W42
8	50	W42
9	60	W42
10	70	W42
11	30	W48
12	40	W48
13	50	W48
14	60	W48
15	70	W48
16	30	Hỗn hợp W25, W42, W48
17	40	Hỗn hợp W25, W42, W48
18	50	Hỗn hợp W25, W42, W48
19	60	Hỗn hợp W25, W42, W48
20	70	Hỗn hợp W25, W42, W48

Chế phẩm sinh học: Tỷ lệ rơm khô, lá khóm khô và tro trấu phù hợp cho sản phẩm sinh học là 1: 3: 1, với mật độ vào thời điểm ủ phân 10^8 CFU g^{-1} . Phương pháp chi tiết được mô tả bởi Kantha và cs. (2015). Phương pháp này được điều chỉnh cụ thể là: 120 gram rơm, lá khóm và tro trấu được trộn trong bọc nhựa (12 x 18 cm), sau đó được thanh trùng ở 121 °C trong 30 phút trước khi sấy ở 70 °C trong 12 giờ, và làm nguội ở nhiệt độ phòng. Vi khuẩn sau khi được nuôi trong điều kiện tối ưu trong 48 giờ trong điều kiện gần yếm khí sáng. Dịch khuẩn được ly tâm 6.000 rpm trong 15 phút để thu được tế bào. Tế bào vi khuẩn được rửa 2 lần

bằng 0,1% peptone water, sau đó điều chỉnh mật số 10^9 CFU mL^{-1} bằng cách thêm nước khử khoáng đã được thanh trùng vào tế bào để đạt được OD₆₆₀ tương đương 3,3. Kế đến, thêm 30 mL PNSB và 18 mL nước dừa ở thời điểm chính sinh lý vào trong bọc nhựa chứa 120 g chất mang và chất nền để đạt ẩm độ 40% (Tổng lượng nước/tổng khối lượng chất khô). Các ẩm độ còn lại được tính tương tự. Sản phẩm cuối cùng có mật số là 10^8 CFU g^{-1} . Sau đó, chế phẩm được ủ ở điều kiện tối trong 4 tuần trước khi sử dụng (ẩm độ thời điểm ban đầu khác nhau và không bổ sung nước để duy trì ẩm độ).

Bảng 2. Chỉ tiêu và phương pháp xác định hàm lượng dưỡng chất có trong chế phẩm sinh học

Chỉ tiêu	Đơn vị	Phương pháp	Nguồn tài liệu
Hàm lượng C	%	Dùng phương pháp nung để xác định tổng số C	TCVN (2000)
Hàm lượng N	%	Công phá mẫu đất với H ₂ SO ₄ đậm đặc-CuSO ₄ -Se, tỉ lệ là: 100:10:1, chưng cất Kjeldahl	Kirk (1950)
Hàm lượng P	%	Công phá bằng H ₂ SO ₄ đậm đặc-HClO ₄ , hiện màu của phosphomolybdate với chất khử là acid ascorbic, đo bằng máy quang phổ ở bước sóng 880 nm	Cook và cs., (1978)
Mật số vi khuẩn.	10 ⁶ CFU/g	Mật số vi khuẩn PNSB được xác định bằng phương pháp mật số tương đối trên môi trường phân lập vi khuẩn (BIM) trong điều kiện gần yếm khí sáng	Harada và cs. (2011) Kantachote và cs. (2016).

Chỉ tiêu theo dõi: Được trình bày trong Bảng 2 được thu thập liên tiếp sau mỗi 7 ngày trong suốt 4 tuần kể từ ngày ủ đầu tiên.

Xử lý số liệu: Sử dụng phần mềm SPSS 13.0 để xác định sự khác biệt trung bình giữa các mức trong cùng 1 nhân tố bằng two-way ANOVA bởi kiểm định Duncan.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của ẩm độ đến hàm lượng C tổng số trong chế phẩm sinh học chứa vi khuẩn quang dưỡng không lưu huỳnh màu tía hòa tan lân

Hàm lượng C tổng số ở các mức ẩm độ khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở 1, 3 và 4 tuần sau ủ (TSU), với giá trị trung bình lần lượt 75,1, 62,4 và 56,3%. Vào 2 TSU, hàm lượng C tổng số ở nghiệm thức ở ẩm độ 60 và 70% lần lượt đạt 70,1 và 69,8%, cao hơn so với nghiệm thức ở ẩm độ 40% với chỉ 67,6%, nhưng tương đương với các nghiệm thức ở ẩm độ 30% (68,9%) và

50% (68,9%). Điều này có thể do hoạt động của vi khuẩn mạnh nhất ở thời điểm này. Bên cạnh đó, hàm lượng C tổng số ở nghiệm thức bổ sung dòng W25 cao hơn 1,80-2,50% so với các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn còn lại. Tuy nhiên, trong 2 tuần tiếp theo, hàm lượng C tổng số giữa các nghiệm thức là tương đương nhau. Đến 4 TSU, nghiệm thức bổ sung dòng đơn cao hơn hỗn hợp ba dòng vi khuẩn (Bảng 3).

Bảng 3 cho thấy, hàm lượng C tổng số ở nghiệm thức bổ sung hỗn hợp W42, W48 và W25 thấp hơn các nghiệm thức bổ sung dòng đơn và C tổng số giảm qua 4 TSU. Kết quả tương tự với kết quả của Nguyễn Văn Thao và cs. (2015), bổ sung *Bacillus subtilis*, *Streptomyces* sp. F, *Aspergillus oryzae*, *Kluyveromyces marxianus*, *Trichoderma* spp. đã làm giảm hàm lượng C hữu cơ và các nghiệm thức bổ sung các dòng vi sinh vật có hàm lượng thấp hơn đối chứng (không bổ sung), với 14,3-15,8% so với 17,8%.

Bảng 3. Ảnh hưởng của ẩm độ đến hàm lượng C tổng số trong chế phẩm sinh học chứa vi khuẩn quang dưỡng không lưu huỳnh màu tía hòa tan lân

Nhân tố	Hàm lượng C tổng số (%)				
	1 TSU	2 TSU	3 TSU	4 TSU	
Ẩm độ % (A)	30	74,8	68,9 ^{ab}	63,4	58,2
	40	75,4	67,6 ^b	63,0	56,7
	50	75,9	68,9 ^{ab}	61,8	56,7
	60	74,8	70,1 ^a	61,2	56,8
	70	74,5	69,8 ^a	62,6	56,3
Vi khuẩn (B)	W42	74,1 ^b	68,8	60,4	59,1 ^a
	W48	74,8 ^b	69,6	62,6	58,8 ^a
	W25	76,6 ^a	69,4	63,6	57,9 ^a
	W42+W48+W25	74,8 ^b	68,3	62,9	52,0 ^b
Mức ý nghĩa (A)	ns	*	ns	ns	
Mức ý nghĩa (B)	*	ns	ns	*	
Mức ý nghĩa (AxB)	ns	*	*	ns	
CV (%)	2,91	3,04	5,23	3,06	

Trong cùng một cột, những số có chữ theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% (*) qua phép kiểm định Duncan ở $P < 0,05$; ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

3.2. Ảnh hưởng của ẩm độ đến hàm lượng P tổng số trong chế phẩm sinh học chứa vi khuẩn quang dưỡng không lưu huỳnh màu tía hòa tan lân

Hàm lượng P tổng số giữa các nghiệm thức có ẩm độ 30-70% khác biệt không có ý nghĩa thống kê, với trung bình 0,255; 0,279; 0,291 và 0,344%. Tương tự, ở 1 và 4 TSU, các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn có hàm lượng P tổng số tương đương nhau, với dao động lần lượt 0,252-0,256% và 0,340-0,41%. Tuy nhiên, ở 2 TSU, hàm lượng P tổng số lần lượt 0,293 ~ 0,295 > 0,274 > 0,251% tương ứng nghiệm thức bổ sung vi khuẩn W48, W25, W42 và hỗn hợp ba dòng vi khuẩn. Ở 3 TSU, hàm lượng P tổng số ở nghiệm thức bổ sung dòng vi khuẩn W42 (0,255%) cao hơn so với dòng W48 (0,233%), W25 (0,240%) và hỗn hợp ba dòng vi khuẩn (0,236%) (Bảng 4).

Bảng 4. Ảnh hưởng của ẩm độ đến hàm lượng P tổng số trong chế phẩm sinh học chứa vi khuẩn quang dưỡng không lưu huỳnh màu tía hòa tan lân

Nhân tố	Hàm lượng P tổng số (%)				
	1 TSU	2 TSU	3 TSU	4 TSU	
Ẩm độ % (A)	30	0,253	0,283	0,235	0,341
	40	0,252	0,279	0,246	0,346
	50	0,257	0,274	0,242	0,360
	60	0,256	0,276	0,241	0,336
	70	0,256	0,281	0,240	0,335
Vi khuẩn (B)	W42	0,256	0,274 ^b	0,255 ^a	0,338
	W48	0,255	0,293 ^a	0,233 ^b	0,341
	W25	0,256	0,295 ^a	0,240 ^b	0,355
	W42+ W48+ W25	0,252	0,251 ^c	0,236 ^b	0,340
Mức ý nghĩa (A)	ns	ns	ns	ns	
Mức ý nghĩa (B)	ns	*	*	ns	
Mức ý nghĩa (AxB)	ns	*	*	ns	
CV (%)	3,52	4,57	5,07	8,46	

Trong cùng một cột, những số có chữ theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% (*) qua phép kiểm định Duncan ở $P < 0,05$; ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

3.3. Ảnh hưởng của ẩm độ đến hàm lượng N tổng số trong chế phẩm sinh học chứa vi khuẩn quang dưỡng không lưu huỳnh màu tía hòa tan lân

Bảng 5 cho thấy ở 1 và 3 TSU, ở ẩm độ 60% hàm lượng N tổng số đạt cao nhất, lần lượt 1,09 và 1,35%, khác biệt với các nghiệm thức còn lại, với giá trị 0,206-

Bổ sung các dòng vi khuẩn giúp tăng hàm lượng P tổng số vào 4 TSU, tuần 1 dao động 0,252-0,257% và tuần 4 dao động 0,335-0,360% (Bảng 4). Kết quả của Nguyễn Thị Thu Thủy và Nguyễn Tiến Long (2018) cũng đạt tương tự, ở nghiệm thức bổ sung 2 dòng xạ khuẩn *Streptomyces olivochromogenes* 22TH và vi khuẩn *Bacillus amyloliquefaciens* NH1 giúp tăng hàm lượng P tổng số sau 30 ngày ủ (4 tuần ủ) so với đối chứng không bổ sung vi sinh vật, với hàm lượng P 1,22 so với 0,83%. Bên cạnh đó, bổ sung các dòng nấm *Trichoderma* spp. vào khối ủ cũng cho kết quả tương tự ở nghiệm cứu này giúp tăng hàm lượng P tổng số so với khối ủ không bổ sung vi sinh vật, với 0,222 so với 0,163% (Trần Thị Anh Thư và cs., 2011).

0,277% và 0,30-0,41%, theo thứ tự. Tương tự, 2 và 4 TSU, ở ẩm độ 70%, hàm lượng N tổng số đạt 1,18 và 1,29%, cao khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% so với các nghiệm thức còn lại. Tuy nhiên, ở 4 TSU, nghiệm thức có ẩm độ 30% có hàm lượng N tổng số tương đương nghiệm thức có ẩm độ 70%. Mặt khác, hai nghiệm thức bổ sung vi khuẩn

có hàm lượng N tổng số tương đương nhau và cao hơn các nghiệm thức còn lại ở 1, 2 và 4 TSU lần lượt là W25 và hỗn hợp (0,936 và 0,933%), W42 và W25 (1,13 và 1,18%), W42 và hỗn hợp ba dòng vi khuẩn (1,29 và 1,30%). Ở 3 TSU, các nghiệm thức có hàm lượng N tổng số tương đương nhau.

Bảng 5 cho thấy, các nghiệm thức ở ẩm độ 70% có hàm lượng N tổng số cao hơn

Bảng 5. Ảnh hưởng của ẩm độ đến hàm lượng N tổng số trong chế phẩm sinh học chứa vi khuẩn quang dưỡng không lưu huỳnh màu tía hòa tan lần

Nhân tố		Hàm lượng N tổng số (%)			
		1 TSU	2 TSU	3 TSU	4 TSU
Ẩm độ % (A)	30	0,819 ^{bc}	0,848 ^d	0,940 ^b	1,20 ^{ab}
	40	0,813 ^c	1,03 ^c	0,952 ^b	1,17 ^b
	50	0,848 ^{bc}	1,13 ^b	1,00 ^b	1,03 ^c
	60	1,09 ^a	1,37 ^b	1,35 ^a	1,19 ^b
Vi khuẩn (B)	70	0,884 ^b	1,18 ^a	1,05 ^b	1,29 ^a
	W42	0,849 ^b	1,13 ^a	1,11	1,29 ^a
	W48	0,843 ^b	1,10 ^{ab}	1,01	1,08 ^b
	W25	0,936 ^a	1,18 ^a	1,10	1,03 ^b
	W42+ W48+ W25	0,933 ^a	1,03 ^b	1,01	1,30 ^a
Mức ý nghĩa (A)		*	*	*	*
Mức ý nghĩa (B)		*	*	ns	*
Mức ý nghĩa (AxB)		ns	ns	*	*
CV (%)		8,51	10,5	13,2	9,50

Trong cùng một cột, những số có chữ theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% () qua phép kiểm định Duncan ở $P < 0,05$; ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê.*

3.4. Ảnh hưởng của ẩm độ đến tỷ lệ C/N của chế phẩm sinh học chứa vi khuẩn quang dưỡng không lưu huỳnh màu tía hòa tan lần

Tỷ lệ C/N ở các nghiệm thức đối với ẩm độ 30, 40 và 50% tương đương nhau với 91,9, 93,2 và 89,9 cao hơn các nghiệm thức ở ẩm độ 60 và 70% ở 1 TSU. Kể đến, 2 TSU tỷ lệ C/N vượt trội của nghiệm thức ở ẩm độ 30% (82,5), cao hơn 16,8-30,7 so với các nghiệm thức còn lại. Tuy nhiên, 3 TSU, ở ẩm độ 30, 40, 50 và 70% đạt lần lượt 68,7, 68,1, 63,0 và 61,1, cao hơn nghiệm thức ở độ ẩm 60% (46,3). Đối với 4 TSU, nghiệm thức ở ẩm độ 50% có giá trị C/N đạt 56,5 cao hơn các nghiệm thức khác. Bên cạnh đó, nghiệm thức bổ sung dòng vi khuẩn W48 có tỷ lệ C/N cao hơn dòng W25 và hỗn hợp ba dòng vi khuẩn ở 1 TSU (89,9 so với 83,8 và 82,1). Trong khi đó, ở 2 TSU, hỗn

các nghiệm thức ở ẩm độ 40, 50 và 60%. Bổ sung các dòng vi khuẩn đã giúp tăng hàm lượng N tổng số sau 4 tuần ủ, với 0,843-0,936% so với 1,03-1,30%. Bổ sung các vi sinh vật vào đồng ủ đã giúp tăng hàm lượng N tổng số so với nghiệm thức không bổ sung, với 1,27-1,30% so với 0,90% (Trần Thị Lệ và cs., 2018).

hợp ba dòng vi khuẩn có tỷ lệ C/N (68,3) tương đương với nghiệm thức bổ sung dòng W48 (66,2). Dòng W48 trong có tỷ lệ C/N cao hơn dòng W42 và hỗn hợp (67,5 so với 56,2 và 59,2) vào 3 TSU. Ở 4 TSU, tỷ lệ C/N lần lượt 56,1 ~ 57,4 > 46,3 ~ 41,0 tương ứng với các dòng W48 ~ W25 > W42 ~ hỗn hợp ba dòng vi khuẩn (Bảng 6).

Tỷ lệ C/N ở các nghiệm thức giảm sau 4 tuần ủ, nghiệm thức bổ sung dòng đơn W42 hoặc hỗn hợp W42, W48 và W25 có tỷ lệ C/N thấp hơn các nghiệm thức còn lại (Bảng 6). Ẩm độ là một trong 7 nhân tố quan trọng trong chất nền dùng để sản xuất phân bón sinh học bên cạnh oxy, carbonic, nhiệt độ, tỷ lệ C/N, giá trị pH và kích cỡ túi ủ (Meena và cs., 2021). Tỷ lệ C/N 25-35 là tối ưu để vi sinh vật trong khối ủ duy trì ổn định hoạt động (Akratos và cs., 2017). Tỷ lệ C/N cao dẫn đến quá trình bắt đầu chậm và

mất nhiều thời gian để các vật liệu trong khối ủ có thể hoại mục, trong khi tỷ lệ C/N ban đầu thấp dẫn đến lượng phát thải amoniac cao và tăng thất thoát nitơ (Oudart và cs., 2012). Tỷ lệ C/N của khối ủ ảnh hưởng đến hoạt động của vi sinh vật đồng thời thúc đẩy quá trình phân hủy chất nền

(Huang và cs., 2004; Iqbal và cs., 2015). Ảnh hưởng của các tỷ lệ C/N khác nhau đến hoạt động của enzyme và các cơ chế cơ bản liên quan đến sự phân hủy lignocellulose trong quá trình ủ chế phẩm (Yang và cs., 2021). Do đây là chế phẩm sinh học nên tỷ số C/N cao hơn so với phân hữu cơ vi sinh.

Bảng 6. Ảnh hưởng của ẩm độ đến tỷ lệ C/N của chế phẩm sinh học chứa vi khuẩn quang dưỡng không lưu huỳnh màu tía hòa tan lần

Nhân tố	Tỷ lệ C/N				
	1 TSU	2 TSU	3 TSU	4 TSU	
Ẩm độ % (A)	30	91,9 ^a	82,5 ^a	68,7 ^a	48,8 ^b
	40	93,2 ^a	65,7 ^b	68,1 ^a	49,0 ^b
	50	89,9 ^{ab}	61,7 ^b	63,0 ^a	56,5 ^a
	60	69,9 ^d	51,8 ^c	46,3 ^b	50,0 ^b
	70	84,8 ^c	60,0 ^b	61,1 ^a	46,7 ^b
Vi khuẩn (B)	W42	87,8 ^{ab}	61,7 ^b	56,2 ^b	46,3 ^b
	W48	89,9 ^a	66,2 ^{ab}	67,5 ^a	56,1 ^a
	W25	83,8 ^b	61,2 ^b	59,2 ^b	57,4 ^a
	W42+ W48+ W25	82,1 ^b	68,3 ^a	62,9 ^{ab}	41,0 ^b
Mức ý nghĩa (A)	*	*	*	*	
Mức ý nghĩa (B)	*	*	*	*	
Mức ý nghĩa (AxB)	ns	ns	ns	*	
CV (%)	8,83	10,8	14,4	11,3	

Trong cùng một cột, những số có chữ theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% () qua phép kiểm định Duncan ở P<0,05; ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê.*

3.5. Ảnh hưởng của ẩm độ đến mật số PNSB trong chế phẩm sinh học chứa vi khuẩn quang dưỡng không lưu huỳnh màu tía hòa tan lần

Giữa các mức ẩm độ, mật số vi khuẩn ở 2 TSU đạt tương đương nhau, với dao động 0,349-0,401 x 10⁶ CFU/g. Vào 3 TSU, ở ẩm độ 70% mật số vi khuẩn đạt 0,406 x 10⁶ CFU/g, cao hơn so với ẩm độ 30, 40 và 60% (lần lượt 0,383, 0,385 và 0,378 x 10⁶ CFU/g). Tuy nhiên, nghiệm thức trên có mật số tương đương với nghiệm thức có ẩm độ 50% với mật số đạt 0,392 x 10⁶ CFU/g. Vào 4 TSU, mật số vi khuẩn ở nghiệm thức ẩm độ 40 và 60% là tương đương nhau (0,478 và 0,484 x 10⁶ CFU/g), cao khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% với các nghiệm thức ở ẩm độ 30, 50 và 70% (dao động 0,323-0,413x 10⁶ CFU/g) (Bảng 7).

Mặt khác, nghiệm thức bổ sung dòng vi khuẩn W48 có mật số thấp nhất ở 1 TSU (chỉ 0,275 x 10⁶ CFU/g). Ở 2 TSU, mật số vi khuẩn ở nghiệm thức bổ sung dòng W25 (0,609 x 10⁶ CFU/g) cao hơn so với các nghiệm thức khác (0,425-0,518 x 10⁶ CFU/g). Vào 3 TSU, hai nghiệm thức bổ sung dòng vi khuẩn W42 (0,400 x10⁶ CFU/g) và W48 (0,407 x 10⁶ CFU/g) tương đương nhau và cao hơn nghiệm thức bổ sung dòng vi khuẩn W25 (0,374 x 10⁶ CFU/g) và hỗn hợp ba dòng vi khuẩn (0,374 x 10⁶ CFU/g). Tương tự, vào 4 TSU, hai nghiệm thức bổ sung dòng vi khuẩn W48 và hỗn hợp ba dòng vi khuẩn tương đương nhau và cùng cao hơn hai nghiệm thức bổ sung dòng đơn W42 và W25 (0,460 và 0,455 so với 0,399 và 0,366 x 10⁶ CFU/g) (Bảng 7).

Bảng 7. Ảnh hưởng của ẩm độ đến mật số vi khuẩn trong chế phẩm sinh học chứa vi khuẩn quang dưỡng không lưu huỳnh màu tía hòa tan lân

Nhân tố	Mật số vi khuẩn (10^6 CFU/g)				
	1 TSU	2 TSU	3 TSU	4 TSU	
Âm độ % (A)	30	0,349	0,464	0,383 ^b	0,401 ^b
	40	0,388	0,522	0,385 ^b	0,478 ^a
	50	0,360	0,465	0,392 ^{ab}	0,413 ^b
	60	0,401	0,542	0,378 ^b	0,484 ^a
	70	0,356	0,502	0,406 ^a	0,323 ^c
Vi khuẩn (B)	W42	0,417 ^a	0,518 ^b	0,400 ^a	0,399 ^b
	W48	0,275 ^b	0,444 ^{bc}	0,407 ^a	0,460 ^a
	W25	0,366 ^a	0,609 ^a	0,374 ^b	0,366 ^b
	W42+ W48+ W25	0,424 ^a	0,425 ^c	0,374 ^b	0,455 ^a
Mức ý nghĩa (A)	ns	ns	*	*	
Mức ý nghĩa (B)	*	*	*	*	
Mức ý nghĩa (AxB)	*	*	*	*	
CV (%)	27,8	22,9	5,33	14,5	

Trong cùng một cột, những số có chữ theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% (*) qua phép kiểm định Duncan ở $P < 0,05$; ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Yếu tố ẩm độ ảnh hưởng trực tiếp một số hợp chất enzyme chuyên biệt được tiết ra từ vi sinh vật (Sivaramakrishnan và cs., 2006). Kết quả từ nghiên cứu cho thấy ở 4 TSU, mật số vi khuẩn đạt cao nhất ở túi ủ trong điều kiện ẩm độ 60%. Kết quả trên phù hợp với Zhang và cs. (2023) kiểm soát độ ẩm ban đầu ở mức 60% có thể cải thiện độ hoại mục và hiệu quả phân bón của phân hữu cơ, đồng thời tạo điều kiện thuận lợi cho các vi khuẩn có lợi cho quá trình ủ phân và nhân mật số. Nhiều nghiên cứu trước đây cho thấy độ ẩm tối ưu cho quá trình ủ phân theo khuyến cáo trong khoảng 50 đến 70% (Bishop và Godfrey, 1983; Richard và cs., 2002; Cronje và cs., 2004; Haug, 2018). Tương tự, theo Meena và cs. (2021) hoạt động của vi sinh vật và độ ẩm trong vật liệu ủ phân có liên quan chặt chẽ với nhau vì nước có trong nguyên liệu thô được vi sinh vật sử dụng để vận chuyển chất dinh dưỡng và năng lượng qua màng tế bào của chúng. Độ ẩm trong vật liệu ủ phân thay đổi tùy theo kích thước của các hạt, điều kiện vật lý

của vật liệu và hệ thống ủ phân. Độ ẩm lý tưởng trong vật liệu ủ phân là khoảng 55% (Meena và cs., 2021) vì trong trường hợp ẩm độ <45%, quá trình ủ bị dừng lại do thiếu nước cho vi sinh vật; ẩm độ >60% làm thiếu hụt oxy nhưng rất phù hợp để phát triển các dòng vi khuẩn kỵ khí (Misra và cs., 2003). Mặt khác, ẩm độ 40 và 60% là phù hợp nhất để các dòng vi khuẩn W42, W48, W25 và hỗn hợp các dòng vi khuẩn trên tăng mật số bên trong chất nền gồm rơm, lá khóm và tro trấu với lần lượt đạt 0,478 và 0,484 x 10^6 CFU/g. Tuy nhiên, nghiên cứu của Nguyễn Khởi Nghĩa và Nguyễn Thị Kiều Oanh (2017) mật số vi khuẩn cố định đạm *Bacillus aquimaris* KG6-3, vi khuẩn hòa tan lân *Burkholderia* sp. BL1-10 và vi khuẩn tổng hợp hormone thực vật Indole-3-Acetic Acid *Bacillus megaterium* ST2-9 đạt cao nhất ở ẩm độ 50% của chất nền cám gạo. Theo Gangadharan và cs. (2006) ẩm độ chất nền từ 30 đến 85% là phù hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật.

4. KẾT LUẬN

Hàm lượng C tổng số ở các nghiệm thức bổ sung hỗn hợp 3 dòng vi khuẩn W42, W48, W25 thấp hơn các nghiệm thức bổ sung dòng đơn, 52,0 so với 58,9-59,1%. Hàm lượng P tổng số đạt tương đương nhau ở các ẩm độ và các dòng vi khuẩn. Tuy nhiên, ẩm độ 40 và 60% và dòng vi khuẩn W48 và hỗn hợp ba dòng W42, W48, W25 đạt mật số cao nhất. Ngoài ra, hàm lượng N tổng số ở nghiệm thức có ẩm độ 70% cao hơn các nghiệm thức có ẩm độ 40, 50, 60%, với 1,29 so với 1,03-1,19%. Bên cạnh đó, tỷ lệ C/N ở ẩm độ 30, 40, 60, 70% phù hợp cho sản xuất chế phẩm sinh học trong khi đó dòng đơn vi khuẩn W42 và hỗn hợp ba dòng W42, W48, W25 đạt tỷ lệ C/N (41,0 và 46,3) thấp hơn hai dòng đơn vi khuẩn W48 và W25 (56,1 và 57,4).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu tiếng Việt

- Nguyễn Khởi Nghĩa và Nguyễn Thị Kiều Oanh. (2017). Tuyển chọn chất mang và chất nền sản xuất chế phẩm vi sinh chứa ba dòng vi khuẩn chịu mặn kích thích sinh trưởng cây trồng (*Burkholderia cepacia* BL1-10, *Bacillus megaterium* ST2-9 và *Bacillus aquimaris* KG6-3). *Tạp chí Công nghệ Sinh học Đại học Cần Thơ*, 15(2), 381-392.
- Nguyễn Thị Thu Thủy và Nguyễn Tiến Long. (2018). Vi sinh vật phân giải cellulose mạnh trong sản xuất phân hữu cơ từ phế phụ phẩm nông nghiệp và ảnh hưởng của chúng đối với giống Lạc L14 tại Hương Trà, Thừa Thiên Huế. *Hue University Journal of Science: Agriculture and Rural Development*, 127(3B), 5-19.
- Nguyễn Văn Thao, Nguyễn Thị Lan Anh, Nguyễn Thị Minh, Nguyễn Thu Hà và Đỗ Nguyễn Hải. (2015). Nghiên cứu chế phẩm vi sinh vật để sản xuất phân hữu cơ sinh học từ bã nấm và phân gà. *Tạp chí khoa học và phát triển*, 13(8), 1415-1423.
- Tiêu chuẩn Việt Nam. TCVN 6642: 2000. Chất lượng đất - xác định hàm lượng cacbon hữu cơ và cacbon tổng số sau khi đốt khô (phân tích nguyên tố).

- Trần Thị Anh Thư, Trần Thị Ngọc Sơn, Nguyễn Ngọc Nam và Lưu Hồng Mẫn. (2011). Ảnh hưởng của rom rạ xử lý bằng *Trichoderma* spp. Đến năng suất, độ phì nhiêu đất và hiệu quả kinh tế lúa hè thu 2010 tại Đồng bằng Sông Cửu Long. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, 7, 37-44.
- Trần Thị Lệ, Trần Thị Thu Hà, Nguyễn Thị Thanh và Nguyễn Xuân Kỳ. (2012). Tuyển chọn chủng nấm *Trichoderma* spp. phân giải cellulose mạnh để sản xuất phân hữu cơ vi sinh và nghiên cứu ảnh hưởng của chúng đối với giống đậu xanh 208 vụ Xuân 2011 tại HTX Hương Long, thành phố Huế. *Tạp chí Khoa học Đại học Huế*, 71(2), 203-214.

2. Tài liệu tiếng nước ngoài

- Akratos, C. S., Tekerlekopoulou, A. G., Vasiliadou, I. A., & Vayenas, D. V. (2017). Cocomposting of olive mill waste for the production of soil amendments. In *Olive Mill Waste* (pp. 161-182). Academic press.
- Andreolli, M., Zapparoli, G., Angelini, E., Lucchetta, G., Lampis, S., & Vallini, G. (2019). *Pseudomonas protegens* MP12: A plant growth-promoting endophytic bacterium with broad-spectrum antifungal activity against grapevine phytopathogens. *Microbiological Research*, 219, 123-131.
- Batool, K., & Rehman, Y. (2017). Arsenic-redox transformation and plant growth promotion by purple nonsulfur bacteria *Rhodospseudomonas palustris* CS2 and *Rhodospseudomonas faecalis* SS5. *BioMed Research International*, 2017.
- Berg, G. (2009). Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84, 11-18.
- Billah, M., Khan, M., Bano, A., Hassan, T. U., Munir, A., & Gurmani, A. R. (2019). Phosphorus and phosphate solubilizing bacteria: Keys for sustainable agriculture. *Geomicrobiology Journal*, 36(10), 904-916.
- Bishop, P. L., & Godfrey, C. (1983). Nitrogen transformations during sludge composting. *Biocycle*, 24(5), 34-39.
- Cook, A. M., Daughton, C. G., & Alexander, M. (1978). Determination of phosphorus-containing compounds by spectrophotometry. *Analytical Chemistry*, 50(12), 1716-1717.
- Cronje, A. L., Turner, C., Williams, A. G., Barker, A. J., & Guy, S. (2004). The

- respiration rate of composting pig manure. *Compost Science and Utilization.*, 12(2), 119-129.
- Chojnacka, K., Skrzypczak, D., Szopa, D., Izydorczyk, G., Moustakas, K., & Witek-Krowiak, A. (2023). Management of biological sewage sludge: Fertilizer nitrogen recovery as the solution to fertilizer crisis. *Journal of Environmental Management*, 326, 116602.
- Faria, D. R., Sakita, K. M., Capoci, I. R. G., Arita, G. S., Rodrigues-Vendramini, F. A. V., de Oliveira Junior, A. G., Felipe, M. S. S., de Mendonca, P. S. B., Svidzinski, T. I. E., & Kioshima, E. Svà cs. (2020). Promising antifungal activity of new oxadiazole against *Candida krusei*. *Plos One*, 15(1), e0227876.
- Gangadharan, D., Sivaramakrishnan, S., Nampoothiri, K. M., & Pandey, A. (2006). Solid culturing of *Bacillus amyloliquefaciens* for alpha amylase production. *Food Technology & Biotechnology*, 44(2).
- Haug, R. (2018). *The practical handbook of compost engineering*. Routledge.
- Huang, G. F., Wong, J. W. C., Wu, Q. T., & Nagar, B. B. (2004). Effect of C/N on composting of pig manure with sawdust. *Waste management*, 24(8), 805-813.
- Huu, T. N., Giau, T. T. N., Ngan, P. N., Van T. T. B., & Khuong, N. Q. (2022). Potential of phosphorus solubilizing purple nonsulfur bacteria isolated from acid sulfate soil in improving soil property, nutrient uptake, and yield of pineapple (*Ananas comosus* L. Merrill) under acidic stress. *Applied and Environmental Soil Science*, (1), 8693479.
- Harada, N., Nishiyama, M. & Matsumoto, S. (2001). Inhibition of methanogens increases photo-dependent nitrogenase activities in anoxic paddy soil amended with rice straw. *FEMS Microbiology Ecology*, 35, 231-238.
- Kantachote, D., Nunkaew, T., Kantha, T., & Chaiprapat, S. (2016). Biofertilizers from *Rhodopseudomonas palustris* strains to enhance rice yields and reduce methane emissions. *Applied Soil Ecology*, 100, 154-161.
- Iqbal, M. K., Nadeem, A., Sherazi, F., & Khan, R. A. (2015). Optimization of process parameters for kitchen waste composting by surface methodology. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 12, 1759-1768.
- Jiaying, M., Tingting, C., Jie, L., Weimeng, F., Baohua, F., Guangyan, L., Hubo, L., Juncai, L., Zhihai, W., Longxing, T., & Guanfu, F. (2022). Functions of nitrogen, phosphorus and potassium in energy status and their influences on rice growth and development. *Rice Science*, 29(2), 166-178.
- Joshi, S. K., & Gauraha, A. K. (2022). Global biofertilizer market: Emerging trends and opportunities. *Trends of Applied Microbiology for Sustainable Economy*, 689-697.
- Kantha, T., Kantachote, D., & Klongdee, N. (2015). Potential of biofertilizers from selected *Rhodopseudomonas palustris* strains to assist rice (*Oryza sativa* L. subsp. indica) growth under salt stress and to reduce greenhouse gas emissions. *Annals of Microbiology*, 65, 2109-2118.
- Kirk, P. L. (1950). Kjeldahl method for total nitrogen. *Analytical Chemistry*, 22(2), 354-358.
- Khuong, N. Q., Huu, T. N., Nhan, T. C., Tran, H. N., Tien, P. D., Xuan, L. N. T., & Kantachote, D. (2021). Two strains of *Luteovulum sphaeroides* (purple nonsulfur bacteria) promote rice cultivation in saline soils by increasing available phosphorus. *Rhizosphere*, 20, 100456.
- Khuong, N. Q., Sakpirom, J., Oanh, T. O., Thuc, L. V., Thu, L. T. M., Xuan, D. T., Quang, L. T., & Xuan, L. N. T. (2023). Isolation and characterization of novel potassium-solubilizing purple nonsulfur bacteria from acidic paddy soils using culture-dependent and culture-independent techniques. *Brazilian Journal of Microbiology*, 54(3), 2333-2348.
- Meena, A. L., Karwal, M., Dutta, D., & Mishra, R. P. (2021). Composting: phases and factors responsible for efficient and improved composting. *Agriculture and Food: e-Newsletter*, 1, 85-90.
- Mia, M. B., & Shamsuddin, Z. H. (2010). *Rhizobium* as a crop enhancer and biofertilizer for increased cereal production. *African Journal of Biotechnology*, 9(37), 6001-6009.
- Misra, R. V., Roy, R. N., & Hiraoka, H. (2003). *On-farm composting methods*. Rome, Italy: UN-FAO.

- Nunkaew, T., Kantachote, D., Kanzaki, H., Nitoda, T., & Ritchie, R. J. (2014). Effects of 5-aminolevulinic acid (ALA)-containing supernatants from selected *Rhodospseudomonas palustris* strains on rice growth under NaCl stress, with mediating effects on chlorophyll, photosynthetic electron transport and antioxidative enzymes. *Electronic Journal of Biotechnology*, 17(1), 19-26.
- Oudart, D., Paul, E., Robin, P., & Paillat, J. M. (2012). Modeling organic matter stabilization during windrow composting of livestock effluents. *Environmental technology*, 33(19), 2235-2243.
- Penuelas, J., Coello, F., & Sardans, J. (2023). A better use of fertilizers is needed for global food security and environmental sustainability. *Agriculture & Food Security*, 12(1), 5.
- Richard, T. L., Hamelers, H. V. M., Veeken, A., & Silva, T. (2002). Moisture relationships in composting processes. *Compost Science & Utilization*, 10(4), 286.
- Sasaki, K., Watanabe, M., Suda, Y., Ishizuka, A., & Noparatnaraporn, N. (2005). Applications of photosynthetic bacteria for medical fields. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 100(5), 481-488.
- Sivaramakrishnan, S., Gangadharan, D., Nampoothiri, K. M., Soccol, C. R., & Pandey, A. (2006). α -Amylases from microbial sources—an overview on recent developments. *Food Technol Biotechnol*, 44(2), 173-184.
- Wong, W. T., Tseng, C. H., Hsu, S. H., Lur, H. S., Mo, C. W., Huang, C. N., Hsu, S. C., Lee, K. T., & Liu, C. T. (2014). Promoting effects of a single *Rhodospseudomonas palustris* inoculant on plant growth by *Brassica rapa chinensis* under low fertilizer input. *Microbes and Environments*, 29(3), 303-313.
- Yang, H., Zhang, H., Qiu, H., Anning, D. K., Li, M., Wang, Y., & Zhang, C. (2021). Effects of C/N Ratio on lignocellulose degradation and enzyme activities in aerobic composting. *Horticulturae*, 7(11), 482.
- Zhang, S., Zhong, B., An, X., Han, Y., Xiao, X., & Zhang, Q. (2023). Effect of moisture content on the evolution of bacterial communities and organic matter degradation during bioaugmented biogas residues composting. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39(1), 1.