

NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN PHÂN HỮU CƠ VI SINH CHO CAO SU GIAI ĐOẠN VƯỜN ƯƠM

TS Lê Như Kiều, ThS Lê Thị Thanh Thủy

Viện Thổ nhưỡng Nông hóa

STUDY ON IDENTIFYING THE COMPOSITION OF MICROBIOLOGICAL ORGANIC FERTILIZER FOR RUBBER TREE IN NURSERY PHASE

Summary

In recent years, the use of microbiological organic fertilizer in agriculture has been increasing rapidly. It not only has a special significance in creating the sustainable land environment but also promotes the effective use of inorganic fertilizer. The authors have determined the basic composition of microbiological organic fertilizer for rubber tree in nursery phase which includes: peat 50%; agricultural waste 45%; muck 5%; N: P: K at the ratio of 0.6:1:0.5; Mg, Ca, S, Mn, Fe, Mo, B, Zn, Cu at the ratio of 0.15%, 0.2%, 0.2%, 0.02%, 1.5 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 10 ppm, 2 ppm and microquantity fertilizer Phan Tien 0.1% respectively. Microbiological organic fertilizer had good effect on rubber tree in nursery phase: after manured about 90 days, the height of rubber tree trunk by the experimental formula CT2 (manured microbiological organic fertilizer) reaches to 52.6 cm (increases by 33.0 cm), while it only reaches to 41.3 cm (increases by 20.9 cm) by using the experimental formula CT1. The number of leaf layers/tree and the average diameter of the trunk increase remarkably; the number of leaf layers/tree is 4.8 and the average diameter of the trunk is 9.3 mm by using the experimental formula CT2. Meanwhile, with CT1, these figures are 3.1 and 7.9 respectively.

Keywords: microbiological organic fertilizer, rubber in nursery period.

Đặt vấn đề

Trong những năm gần đây, diện tích trồng cao su ở Việt Nam đang phát triển mạnh mẽ. Ở vùng Tây Bắc, cây cao su được trồng đầu tiên vào năm 2006 tại Sơn La và đã được sự quan tâm, đầu tư rất lớn của Chính phủ. Năm 2008, cây cao su đã nhanh chóng lan sang các tỉnh Điện Biên, Lai Châu và nâng tổng diện tích trồng cao su của vùng Tây Bắc lên 4.640 ha. Song song với việc tăng diện tích thì nhu cầu phân bón cho cây cao su cũng rất quan trọng. Tuy nhiên hiện nay, phân bón cho cây cao su ở Việt Nam có rất ít chủng loại, hầu hết chỉ là phân khoáng hoặc hữu cơ khoáng (trong khi đó cây cao su có nhu cầu dinh dưỡng rất cao). Do đó, việc nghiên cứu, xác định các thành phần chính của phân bón hữu cơ vi sinh cho cây cao su nói chung và cây cao su ở giai đoạn vườn ươm nói riêng là rất cần thiết.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu

Những chất bổ sung: N; super phosphate; KCl; CaCO_3 ; MgSO_4 ; S nguyên chất; MnSO_4 ; FeSO_4 ; Bo; NH_4MnO_4 ; ZnSO_4 ; CuSO_4 ; phân vi lượng Phan tien.

Hóa chất, thiết bị cho nghiên cứu thuộc Bộ môn vi sinh vật, Viện Thổ nhưỡng Nông hóa. Môi trường: Gause, Ashby, Piko, KingB, môi trường sản xuất: SX1 (Yeast extract 5 g, rỉ đường 20 g, glycerin 5 ml, K_2HPO_4 12,5%: 12 ml, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 6,25%: 25 ml, nước cất 1.000 ml) để phân lập và nhân sinh khối vi khuẩn đối kháng; SX2 (Glucose 20 g, K_2HPO_4 0,2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2 g, NaCl 0,2 g, K_2SO_4 0,1 g, CaCO_3 5 g, thạch 20 g, nước chiết đậu 1.000 ml, pH 7-7,2) để phân lập và thu sinh khối vi khuẩn cố định nitơ tự do; SX3 (rỉ đường 10 g, bột đậu tương 0,5 g, K_2HPO_4 0,5 g, MgSO_4 0,3 g, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 5 g, dung dịch vi lượng 2 ml, nước cất 1.000 ml) để phân lập và nhân sinh khối vi khuẩn phân giải lân; SX4 (K_2HPO_4 0,5 g, KH_2PO_4 0,5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g, NaCl 0,5 g, KNO_3 1 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,01 g, cám

gạo 20 g, thạch 12 g, nước cất 1.000 ml, pH = 7) để phân lập và nhân sinh khối xạ khuẩn phân giải xenlulo; than bùn, rơm rạ, thân lá đậu tương, thân lá ngô, phân chuồng đã được ủ chín bằng chế phẩm vi sinh; phân NPK; cây cao su vườn ươm giống RRM600. Các chủng vi sinh vật chức năng được thống kê trong bảng 1.

Bảng 1: các chủng vi sinh vật chức năng

Stt	Chủng	Loài	Hoạt tính sinh học
1	X19	<i>Streptomyces</i> sp. DA 10202	Phân hủy xenlulo
2	AT10	<i>Azotobacter vinelandii</i> M2Per	Cố định nitơ
3	CNP1	<i>Bacillus subtilis</i> BL10	Phân giải lân
4	KT2	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> LSC04	Sinh IAA
5	AT01	<i>Azotobacter beijerinckii</i> ICMP8673	Sinh polysaccharit
6	ĐK1	<i>Bacillus subtilis</i>	Đối kháng nấm

Phương pháp nghiên cứu

Xác định các thông số kỹ thuật của quá trình lên men nhân sinh khối các chủng vi sinh vật (pH, nhiệt độ, tốc độ khuấy, lượng không khí cấp, tỷ lệ cấp giống) thông qua việc xác định khả năng sinh trưởng, mật độ tế bào, hoạt tính sinh học của vi sinh vật trên một số môi trường nuôi cấy, thành phần của môi trường sản xuất được cải tiến dựa trên môi trường nuôi cấy chuẩn [1, 2]. Nghiên cứu xác định các thành phần của phân bón hữu cơ vi sinh chuyên cho cao su trong giai đoạn vườn ươm trên cơ sở kết quả nghiên cứu thành phần đất, nhu cầu dinh dưỡng của cao su giai đoạn vườn ươm. Thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của phân hữu cơ vi sinh cho cao su giai đoạn vườn ươm được thực hiện trên cây cao su giống RRM600 được chia thành hai lô, mỗi lô 100 m².

Lô 1: bổ sung phân bón NPK theo quy trình của Tập đoàn Công nghiệp Cao su Việt Nam (bảng 2). Thời gian bón: bón lần thứ nhất khi cây đạt hai tầng lá ổn định, các lần bón sau cách nhau 30 ngày, lần bón phân cuối cùng trước khi ghép ít nhất một tháng. Thí nghiệm phân bón được tiến hành khi stump bầu được trồng sau 10 ngày.

Bảng 2: quy trình bón phân của Tập đoàn Công nghiệp Cao su Việt Nam

Loại phân	Lần bón (g/bầu)				
	Lần 1 (g/bầu)	Lần 2 (g/bầu)	Lần 3 (g/bầu)	Lần 4 (g/bầu)	Cộng (g)
Urê	2	4	4	2	12
Lân nung chảy	4	4	4	-	12
KCl	1,5	1,5	2	2	7

Lô 2: bón phân hữu cơ vi sinh 6 tấn/ha (tương đương 75 g/bầu - bón 2 lần) và phân lân nung chảy 1 tấn/ha (tương đương 12,5 g/bầu) [3, 4]. Theo dõi sự phát triển của chiều cao cây, số lượng các tầng lá và đường kính thân cây.

Kết quả nghiên cứu và thảo luận

Nghiên cứu lựa chọn môi trường cho quá trình lên men sinh khối của vi sinh vật

Vi sinh vật luôn cần sử dụng các chất dinh dưỡng khác nhau để duy trì hoạt động sống của chúng. Trong lên men nhân sinh khối vi sinh vật thì việc nghiên cứu lựa chọn môi trường dinh dưỡng phù hợp là hết sức quan trọng, nó ảnh hưởng đến chất lượng và giá thành sản phẩm. Một môi trường lên men hiệu quả là phải có sẵn, rẻ tiền, dễ sử dụng, an toàn cho sự phát triển của vi sinh vật, tạo cho vi sinh vật có hoạt tính sinh học cao. Dựa trên những đặc điểm sinh lý của các loài vi sinh, các tác giả đã thay thế nguồn cacbon, nitơ trong môi trường chuẩn bằng các nguồn cacbon, nitơ dễ kiếm như mật đường, bột đậu nành, nước chiết đậu, cám gạo để sản xuất môi trường cho quá trình lên men nhân sinh khối của vi sinh vật. Khả năng sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật trên các loại môi trường dinh dưỡng khác nhau được thể hiện trong bảng 3.

Bảng 3: khả năng sinh trưởng và phát triển của các chủng vi sinh vật trên các môi trường dinh dưỡng khác nhau

Mật độ tế bào vi sinh vật (x10 ⁹ CFU/ml)/môi trường											
X19		AT10		CNP1		KT2		AT01		ĐK1	
Gause	SX4	Ashby	SX2	Piko	SX3	KingB	SX4	Ashby	SX2	KingB	SX1
30	28	67	54	32	35	73	36	56	34	58	64
Hoạt tính sinh học của các chủng vi sinh vật/môi trường											
X19 phân hủy CMC (D-d, mm)		AT10 cố định nitơ (nmol C ₂ H ₂ /ml/h)		CNP1 phân giải P (mg/ml)		KT2 sinh chất IAA (μg/ml)		AT01 sinh polysaccharit (g/30ml dịch)		ĐK1 đối kháng nấm <i>Fusarium</i> (D-d, mm)	
Gause	SX4	Ashby	SX2	Piko	SX3	KingB	SX4	Ashby	SX2	KingB	SX1
29	31	1676	1675	27	27	158	156	0,64	0,62	14	14

Số liệu ở bảng 3 cho thấy, các chủng vi sinh vật đều phát triển tốt và có hoạt tính sinh học trong tất cả các môi trường nuôi cấy. Mật độ tế bào của vi sinh vật trên các môi trường sản xuất và môi trường chuẩn sai khác không đáng kể, mật độ tế bào đạt 10⁹CFU/ml sau khi lên men (48 giờ đối với các chủng AT10, CNP1, KT2, AT01 và 72 giờ đối với các chủng ĐK1, X19). Tuy nhiên, các hoạt tính sinh học của chúng là khác nhau. Trong môi trường SX4 khi thay thế tinh bột tan bằng cám gạo trong môi trường Gause thì chủng vi khuẩn X19 không chỉ phát triển tốt mà còn có hoạt tính sinh học ở

mức cao hơn, khi lên men trên môi trường Gause thì đường kính vòng phân hủy cellulose đạt 29 mm, trong khi trên môi trường SX4 đạt 31 mm. Hoạt tính sinh học của vi sinh vật không tăng lên ở môi trường SX1, SX2, SX3 (nước chiết đậu, mật đường... như một nguồn dinh dưỡng) nhưng giảm chi phí sản xuất và hơn nữa những môi trường này là vật liệu sẵn có tại Việt Nam. Vì vậy, SX1, SX2, SX3, SX4 là môi trường cải tiến và rất hiệu quả trong quá trình lên men nhân sinh khối của vi sinh vật và được chọn để áp dụng trong sản xuất phân bón hữu cơ vi sinh cho cao su giai đoạn vườn ươm.

Các thông số kỹ thuật trong quá trình lên men nhân sinh khối vi sinh vật

Các môi trường, điều kiện lên men nhân sinh khối như: pH, nhiệt độ, tốc độ khuấy, lượng không khí cung cấp, thời gian lên men, tỷ lệ cấp giống vi sinh vật ban đầu cũng rất quan trọng. Những điều kiện này đã được nghiên cứu và xác định trên cơ sở sinh khối vi sinh vật cũng như các hoạt tính sinh học của chúng đạt cao nhất. Các kết quả nghiên cứu điều kiện tối ưu cho quá trình lên men nhân sinh khối vi sinh vật được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4: những điều kiện tối ưu trong lên men nhân sinh khối vi sinh vật

Stt	Thông số	Chỉ tiêu
1	pH	6,5 - 7,0
2	Nhiệt độ	25 - 30
3	Tốc độ khuấy	350 vòng/phút
4	Lượng không khí cấp	0,75 lít không khí/lít môi trường/phút
5	Thời gian lên men	48 giờ (chủng X19 là 72 giờ)
6	Tỷ lệ cấp giống	1%
7	Môi trường lên men	SX1 (cho ĐK1), SX2 (cho AT01, AT10), SX3 (cho CPN1), SX4 (cho KT2, X19)

Xác định thành phần lý - hóa các nguyên liệu hữu cơ trước và sau xử lý để sản xuất phân hữu cơ vi sinh

Thành phần lý - hóa học của các vật liệu hữu cơ (rơm rạ, thân lá ngô, thân lá đậu tương, than bùn, phân chuồng) trước và sau xử lý bằng chế phẩm vi sinh đã được xác định, kết quả phân tích được tóm tắt trong bảng 5 cho thấy: tỷ lệ C/N giảm 5,6 lần trên rơm rạ, 2 lần trên thân lá cây đậu tương, 3,4 lần trên thân lá ngô, 3 lần trên than bùn và 1,2 lần ở phân chuồng. Các yếu tố % N, % P₂O₅, % K₂O tăng có ý nghĩa. Kết quả này cho thấy vai trò quan trọng của các vi sinh vật trong quá trình xử lý chất hữu cơ.

Bảng 5: thành phần lý - hóa các nguyên liệu hữu cơ trước và sau xử lý

Stt	Nguyên liệu	Thời điểm kiểm tra	C/N	% N	% P ₂ O ₅	% K ₂ O	Độ ẩm (%)	pH
1	Rơm rạ	Trước xử lý	107,01	0,56	0,08	1,07	10,3	7,5
		Sau xử lý	19,19	1,34	0,52	1,21	50,1	7,0
2	Thân lá đậu tương	Trước xử lý	40,06	1,14	0,53	0,47	10,2	7,6
		Sau xử lý	20,31	1,66	2,70	1,05	71,2	7,2
3	Thân lá ngô	Trước xử lý	53,71	0,92	0,49	1,89	26,4	7,1
		Sau xử lý	15,74	1,82	0,75	2,05	55,4	6,9
4	Than bùn	Trước xử lý	31,11	1,26	0,45	0,42	50,0	5,8
		Sau xử lý	9,53	2,40	0,62	0,59	50,1	6,9
5	Phân chuồng	Trước xử lý	23,83	1,20	0,17	0,37	81,0	5,3
		Sau xử lý	19,47	0,95	0,22	0,41	33,0	6,9

Các kết quả phân tích trước và sau khi xử lý các nguyên liệu hữu cơ (rơm rạ, thân lá ngô, thân lá cây đậu tương, phân chuồng, than bùn) cho thấy chúng có đủ điều kiện để sử dụng cho sản xuất phân bón hữu cơ vi sinh.

Nghiên cứu xác định thành phần chính của phân hữu cơ vi sinh cho cao su vườn ươm

Từ các kết quả nghiên cứu, lựa chọn các chủng vi sinh vật chức năng, lựa chọn môi trường, thông số kỹ thuật cho quá trình lên men nhân sinh khối vi sinh vật, xử lý nguyên liệu hữu cơ, tỷ lệ phối trộn các thành phần trong phân bón... tỷ lệ các yếu tố chính trong phân hữu cơ vi sinh được xác định như sau: tỷ lệ hữu cơ $\geq 22\%$; mật độ tế bào vi sinh vật chức năng $\geq 10^6$ CFU/g; pH 6,0-7,5; độ ẩm 25-30%; N:P:K trộn với tỷ lệ phần trăm (%) 0,6:1:0,5; MgO, Ca, S, Mn, Fe, Mo, B, Zn, Cu bổ sung lần lượt với tỷ lệ 0,15%, 0,2%, 0,2%, 0,02%, 1,5ppm, 15ppm, 20ppm, 10ppm, 2ppm, phân vi lượng Phần tiền 0,1%.

Đánh giá chất lượng của các vi sinh vật chức năng trong phân bón hữu cơ vi sinh

Khả năng tăng trưởng, phát triển và hoạt tính sinh học của vi sinh vật chức năng trong phân bón được kiểm tra thường xuyên trong quá trình bảo quản, trên cơ sở đó xác định thời gian và phương pháp bảo quản. Kết quả đánh giá mật độ tế bào, hoạt tính sinh học các chủng vi sinh vật chức năng được tóm tắt trong bảng 6 và 7.

Bảng 6: khả năng sinh trưởng và phát triển của các chủng vi sinh vật chức năng

Thời gian bảo quản (tháng)	Mật độ tế bào vi sinh vật trong phân bón (CFU/g)					
	X19	AT10	CNP1	KT2	AT01	ĐK1
1	4,5 x 10 ⁷	5,7 x 10 ⁷	5,2 x 10 ⁷	4,3 x 10 ⁷	6,3 x 10 ⁷	7,3 x 10 ⁷
2	3,6 x 10 ⁷	4,3 x 10 ⁶	4,3 x 10 ⁷	5,4 x 10 ⁷	4,5 x 10 ⁶	5,6 x 10 ⁷
4	5,3 x 10 ⁶	3,8 x 10 ⁶	3,6 x 10 ⁶	4,2 x 10 ⁶	3,2 x 10 ⁶	4,3 x 10 ⁷
6	2,5 x 10 ⁶	2,6 x 10 ⁶	3,2 x 10 ⁶	3,6 x 10 ⁶	3,4 x 10 ⁶	4,2 x 10 ⁶

Bảng 7: hoạt tính sinh học của vi sinh vật trong phân bón

Thời gian bảo quản (tháng)	Hoạt tính sinh học của vi sinh vật trong phân bón					
	X19 phân hủy CMC (D - d, mm)	AT10 cố định nitơ (nmol C ₂ H ₂ /ml/h)	CNP1 phân giải P (mg/ml)	KT2 sinh chất IAA (μg/ml)	AT01 sinh polysaccharit (g/30ml dịch)	ĐK1 đối kháng nấm <i>Fusarium</i> (D - d, mm)
1	28	1672	20	156	0,60	14
2	28	1673	20	154	0,60	14
4	27	1670	18	155	0,58	14
6	27	1670	18	153	0,58	14

Số liệu ở bảng 6 và 7 cho thấy, sự phát triển của các chủng vi sinh vật chức năng trong phân hữu cơ vi sinh và các hoạt tính sinh học của chúng là tương đối ổn định, mật độ tế bào đạt 10⁶CFU/g sau khi bảo quản 6 tháng, những yếu tố này là phù hợp với tiêu chuẩn Việt Nam về phân bón hữu cơ vi sinh.

Đánh giá ảnh hưởng của phân hữu cơ vi sinh trên cao su vườn ươm

Ảnh hưởng của phân bón hữu cơ vi sinh đã được đánh giá trên cao su giai đoạn vườn ươm ở Công ty Ít Ong, Mường La, Sơn La từ tháng 7.2011. Sự phát triển của chiều cao cây, số tầng lá/cây, đường kính thân cây và tỷ lệ cây bị bệnh được trình bày trong bảng 8 và hình 1.

Bảng 8: ảnh hưởng của phân hữu cơ vi sinh đến sinh trưởng và phát triển cây cao su vườn ươm (thí nghiệm tại Công ty Ít Ong, Mường La, Sơn La, tháng 7.2011)

Sau bón phân (ngày)	Chỉ tiêu							
	Tỷ lệ cây bị bệnh thối rễ (%)		Chiều cao thân (cm)		Số tầng lá/cây		Đường kính thân (mm)	
	CT1	CT2	CT1	CT2	CT1	CT2	CT1	CT2
Ban đầu	0	0	20,4	20,3	1	1	4,3	4,4
30	0	0	29,8	31,9	2	2,7	6,0	6,5
60	0	0	35,9	42,5	2,6	4,4	7,4	8,3
90	0	0	41,3	52,6	3,1	4,8	7,9	9,3

Số liệu ở bảng 8 cho thấy, phân hữu cơ vi sinh đã thúc đẩy sự tăng trưởng và phát triển của cao su giai đoạn vườn ươm. Các dữ liệu phân tích thống kê cho thấy tất cả những cây tại thời điểm ban đầu thì các đặc điểm như chiều cao thân cây, số tầng



Hình 1: thí nghiệm phân hữu cơ vi sinh cho cao su vườn ươm

lá/cây và đường kính thân cây là hoàn toàn đồng nhất. Tuy nhiên, chỉ 30 ngày sau khi bón phân thì sự khác biệt về chiều cao thân cây, số tầng lá/cây, đường kính thân cây đã có ý nghĩa thống kê giữa hai lô thí nghiệm ($p < 0,05$). Sự khác biệt rõ ràng hơn vào thời điểm 90 ngày sau khi bón phân, chiều cao thân cây của CT2 (bón phân hữu cơ vi sinh) đạt 52,6 cm (tăng 33,0 cm), trong khi ở CT1 (bón phân NPK) chỉ là 41,3 cm (tăng 20,9 cm). Số lượng tầng lá/cây đạt 4,8 và đường kính thân cây tăng 9,3 mm ở công thức CT2, trong khi tại công thức CT1 thì chỉ là 3,1 số tầng lá/cây và đường kính thân cây chỉ tăng 7,9 mm.

Kết luận

Môi trường cho quá trình lên men nhân sinh khối vi sinh vật đã được lựa chọn để sản xuất phân bón hữu cơ vi sinh: SX1 được sử dụng cho chủng DK1; SX2 cho chủng AT10 và AT01; SX3 cho chủng CNP1 và SX4 cho chủng KT2 và X19. Xác định được thành phần cơ bản trong phân hữu cơ vi sinh gồm: than bùn 50%, chất thải nông nghiệp 45%, phân chuồng 5%; N:P:K là 0.6:1:0.5; bổ sung Mg, Ca, S, Mn, Fe, Mo, B, Zn, Cu với tỷ lệ tương ứng: 0,15%, 0,2%, 0,2%, 0,02%, 1,5ppm, 15ppm, 20ppm, 10ppm, 2ppm và 0,1% phân bón vi lượng Phần tiên. Phân hữu cơ vi sinh có tác dụng tốt trên cao su giai đoạn vườn ươm: 90 ngày sau khi bón phân thì chiều cao của thân cây cao su ở công thức CT2 (bón phân hữu cơ vi sinh) đạt 52,6 cm (tăng 33,0 cm), trong khi đó ở công thức CT1 (bón phân vô cơ) chỉ là 41,3 cm (tăng 20,9 cm). Trong công thức CT2 số tầng lá/cây đạt 4,8 và đường kính thân cây tăng lên 9,3 mm, trong khi ở công thức CT1 thì chỉ là 3,1 số tầng lá/cây và đường kính thân cây là 7,9 mm ■

Tài liệu tham khảo

1. Nguyễn Lân Dũng. Phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học, tập 1-2, Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật, 1978.
2. Mansour A.E.M. and Shaaban E.A. (2007). Effect of Different Sources of Mineral N. Applied with Organic and Bio Fertilizers on Fruiting of Washington Navel Orange Trees. Journal of Applied Sciences Research, 3(8): 764-769, 2007.
3. Nguyễn Chí Khoa. Kỹ thuật trồng, chế biến cao su. Nhà xuất bản Nông nghiệp, thành phố Hồ Chí Minh, 1997.
4. Việt Chương, Nguyễn Văn Minh. Kỹ thuật trồng cao su với diện tích nhỏ. Nhà xuất bản thành phố Hồ Chí Minh, 2000.