

ISOLATION, SCREENING OF NITROGEN FIXING BACTERIA AND EVALUATION OF THEIR EFFECT ON MAIZE

Doan Van Thuoc*, Phan Thi Thanh Thu, Tran Thi Dinh

Hanoi National University of Education

ARTICLE INFO		ABSTRACT
Received:	14/5/2025	In this study, two nitrogen fixing bacterial strains (T22 and T27) were isolated and selected from garden soil samples collected in Hoai Duc, Hanoi. The highest NH_4^+ concentrations synthesized by strains T22 and T27 were 24.9 g/L and 25.3 g/L, respectively. Strain T22 is a Gram-positive, rod-shaped bacterium, and able to produce catalase; strain T27 is a Gram-negative, short-rod-shaped bacterium, and able to produce catalase and decompose insoluble phosphate. The analysis of 16S rDNA sequences showed that strain T22 is closely related to species of the genus <i>Bacillus</i> and strain T27 belongs to the species <i>Azotobacter chroococcum</i> . Both selected bacterial strains are capable of using glucose, mannitol or molasses as carbon source, growing well at 30 °C and neutral pH. The two bacterial strains T22 and T27 showed positive effects on the growth of maize plant after four weeks of experiment. The results of the study showed that the two selected bacterial strains (<i>Bacillus</i> sp. T22 and <i>Azotobacter chroococcum</i> T27) holding the potential to produce biofertilizers to promote plant growth.
Revised:	30/10/2025	
Published:	31/10/2025	
KEYWORDS		
<i>Azotobacter</i>		
<i>Bacillus</i>		
Maize		
Nitrogen fixing		
Bacteria		

PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN VI KHUẨN CỐ ĐỊNH ĐẠM VÀ ĐÁNH GIÁ TÁC ĐỘNG TRÊN CÂY NGÔ

Đoàn Văn Thuộc*, Phan Thị Thanh Thu, Trần Thị Định

Trường Đại học Sư phạm Hà Nội

THÔNG TIN BÀI BÁO		TÓM TẮT
Ngày nhận bài:	14/5/2025	Trong nghiên cứu này, hai chủng vi khuẩn cố định đạm kí hiệu T22 và T27 đã được phân lập và tuyển chọn từ các mẫu đất vườn thu thập tại Hoài Đức, Hà Nội. Nồng độ NH_4^+ cao nhất được tổng hợp bởi chủng T22 và T27 lần lượt là 24,9 g/L và 25,3 g/L. Chủng T22 là vi khuẩn Gram dương, tế bào hình que, có khả năng sinh catalase; chủng T27 là vi khuẩn Gram âm, tế bào dạng trực khuẩn ngắn, có khả năng sinh catalase và phân giải phosphate khó tan. Kết quả giải trình tự đoạn gene 16S rDNA cho thấy chủng T22 có quan hệ gần gũi với các loài thuộc chi <i>Bacillus</i> và chủng T27 thuộc loài <i>Azotobacter chroococcum</i> . Cả hai chủng vi khuẩn tuyển chọn đều có khả năng đồng hóa glucose, manitol và ri đường, sinh trưởng tốt ở 30 °C và pH trung tính. Khi được bổ sung vào trong đất trồng ngô, hai chủng vi khuẩn T22 và T27 đã thể hiện sự ảnh hưởng tích cực đến sự sinh trưởng cây ngô non sau bốn tuần thí nghiệm. Kết quả nghiên cứu cho thấy hai chủng vi khuẩn tuyển chọn (<i>Bacillus</i> sp. T22 và <i>Azotobacter chroococcum</i> T27) có tiềm năng sản xuất chế phẩm phân bón sinh học nhằm thúc đẩy sinh trưởng ở thực vật.
Ngày hoàn thiện:	30/10/2025	
Ngày đăng:	31/10/2025	
TỪ KHÓA		
<i>Azotobacter</i>		
<i>Bacillus</i>		
Cây ngô		
Cố định đạm		
Vi khuẩn		

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.12807>

* Corresponding author. Email: thuocdv@hnue.edu.vn

1. Giới thiệu

Dân số thế giới đang trong giai đoạn tăng trưởng và dự kiến sẽ tăng lên khoảng 10 tỷ người vào năm 2050 [1]. Vì vậy, nhu cầu lương thực cũng đang ngày càng tăng tương ứng với sự gia tăng của dân số thế giới. Tăng năng suất cây trồng là biện pháp chủ yếu hiện nay nhằm tăng sản lượng lương thực [2]. Trong đó, sử dụng phân bón và thuốc trừ sâu hóa học là biện pháp điển hình đã và đang được áp dụng để tăng năng suất cây trồng [3]. Tuy nhiên, những hóa chất độc hại trong phân bón và thuốc trừ sâu hóa học khi được sử dụng đã tích tụ trong đất, nước và nông sản làm ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe con người. Sử dụng tràn lan phân bón và thuốc trừ sâu hóa học còn làm giảm độ phì nhiêu của đất và làm cho đất bị suy thoái ở quy mô toàn cầu. Bên cạnh đó, phân bón và thuốc trừ sâu hóa học còn ảnh hưởng xấu đến các yếu tố sinh học như nấm, vi khuẩn, và các loài động vật; đồng thời cũng tác động đến các yếu tố phi sinh học và gây biến đổi khí hậu, ô nhiễm môi trường [4], [5].

Làm thế nào vẫn tăng sản lượng cây trồng nhưng lại không gây ảnh hưởng xấu đối với chất lượng nông sản, chất lượng đất trồng, đa dạng sinh học và sức khỏe con người đã và đang là câu hỏi lớn cần được giải đáp. Một trong những giải pháp đang được áp dụng hiện nay là sử dụng phân bón sinh học để thay thế phân bón hóa học [4], [5]. Phân bón sinh học là loại phân bón có nguồn gốc sinh học hoặc chứa các vi sinh vật có lợi (phân bón vi sinh).

Phân bón vi sinh là chế phẩm có chứa các vi sinh vật có lợi cho sản xuất nông nghiệp, thông qua các hoạt động trao đổi chất vi sinh vật góp phần tạo ra các chất dinh dưỡng hoặc các chất kích thích sinh trưởng cho cây trồng. Nhóm vi sinh vật này có tác dụng cải thiện độ phì nhiêu, các tính chất lí, hóa, cân bằng dinh dưỡng trong đất hoặc kích thích sinh trưởng; từ đó giúp tăng năng suất cây trồng nhưng không gây ô nhiễm môi trường và ảnh hưởng xấu đến sức khỏe của các loài sinh vật cũng như con người [6]–[8].

Trong trồng trọt, nitrogen là nguồn dinh dưỡng thiết yếu đối với cây trồng, vì vậy bón phân đạm là biện pháp điển hình thường được áp dụng để làm giàu nitrogen cho đất. Ngoài ra, nguồn nitrogen trong đất có thể được làm giàu nhờ nhóm vi sinh vật cố định đạm. Đó là nhóm những vi sinh vật có khả năng cố định và chuyển hóa nitrogen phân tử (N_2) thành ammonium (NH_4^+) [7], [9].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phân lập và tuyển chọn một số chủng vi khuẩn có khả năng cố định đạm. Tiếp theo, nghiên cứu xác định một số điều kiện dinh dưỡng và môi trường phù hợp cho sự sinh trưởng của chủng tuyển chọn, từ đó nhân nuôi tế bào chủng tuyển chọn và thử nghiệm đánh giá tác động trên cây ngô thí nghiệm.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

2.1.1. Mẫu vật

Mẫu đất được lấy từ vườn rau tại Hoài Đức, Hà Nội. Các mẫu đất lấy ở độ sâu khoảng 5 cm, được bảo quản trong ống Falcon, chuyển về phòng thí nghiệm, bảo quản lạnh và tiến hành phân lập ngay trong 24 giờ.

2.1.2. Môi trường

Môi trường phân lập là môi trường Ashby có bổ sung nước chiết đất có các thành phần (g/L): glucose 20; K_2HPO_4 0,2; $MgSO_4$ 0,2; NaCl 0,2; K_2SO_4 0,1; $CaCO_3$ 5; thạch (agar) 20; pH 7,2 [10].

Môi trường giữ giống các chủng vi khuẩn phân lập được – môi trường Luria-Bertani (LB) (g/L): peptone 10; cao nấm men 5; NaCl 5; thạch (agar) 20; pH 7,0.

Môi trường nghiên cứu là môi trường Burk có các thành phần (g/L): K_2HPO_4 0,64; KH_2PO_4 0,16; NaCl 0,2; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,2; $CaSO_4$ 0,05; $FeSO_4$ 0,003; $NaMoO_4$ 0,01; nguồn carbon (glucose, manitol hoặc rỉ đường) 10; pH 7,2 [11].

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân lập vi sinh vật

Mẫu đất được pha loãng với dung dịch 0,9% NaCl đã khử trùng, sau đó hút 0,1 mL ở độ pha loãng 10^{-5} hoặc 10^{-6} cấy trải trên đĩa Petri có chứa môi trường Ashby. Sau 48 giờ ủ ở 30°C , lựa chọn các khuẩn lạc mọc riêng rẽ để cấy chuyển vào đĩa Petri chứa môi trường LB để giữ giống và tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

2.2.2. Tuyển chọn vi sinh vật cố định đạm

Các chủng vi sinh vật từ môi trường giữ giống LB được cấy chuyển sang môi trường Ashby và giữ ở 30°C trong 48 giờ. Lựa chọn những chủng vi khuẩn sinh trưởng mạnh và chuyển sang nuôi trong môi trường Ashby lỏng, thu mẫu ở các thời điểm khác nhau (12, 24, 36, 48, 60 và 72 giờ) để đánh giá hàm lượng ammonium (NH_4^+) được tạo ra trong môi trường nuôi cấy.

2.2.3. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc, tế bào và hóa sinh của chủng vi khuẩn tuyển chọn

Hai chủng vi khuẩn có khả năng sinh ammonium cao được lựa chọn và nuôi cấy trên môi trường LB. Sau 24 giờ nuôi cấy, quan sát mô tả hình thái khuẩn lạc, tế bào, xác định hoạt tính catalase và nhuộm xác định Gram [12].

2.2.4. Định loại vi khuẩn bằng kỹ thuật di truyền phân tử

Nuôi cấy chủng vi khuẩn tuyển chọn trên môi trường LB lỏng trong 13 giờ. Li tâm thu sinh khối và tiến hành tách chiết DNA tổng số theo các bước trong bộ kit “GeneJET Genomic DNA Purification Kit”. DNA tổng số được sử dụng để tiến hành phản ứng PCR nhằm khuếch đại đoạn trình tự gen 16S rRNA với cặp mồi: 27F 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'; 1492R 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3' [13]. Sản phẩm PCR được gửi tới công ty 1st Base (Singapore) để giải trình tự. Trình tự gen sau đó được so sánh với các trình tự trong ngân hàng gen để xác định chủng loại phát sinh của chủng vi khuẩn tuyển chọn. Cây phát sinh chủng loại được xây dựng dựa vào phần mềm Mega 11 [14].

2.2.5. Ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường đến sự sinh trưởng của chủng vi khuẩn tuyển chọn

Chủng vi khuẩn nghiên cứu được nuôi hoạt hóa trên môi trường LB trong 24 giờ sau đó chuyển sang môi trường Burk để nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của nguồn carbon, nhiệt độ và pH đến khả năng sinh trưởng của chủng vi khuẩn tuyển chọn. Giá trị OD_{600} ban đầu của tất cả các thí nghiệm đều là 0,1, lấy mẫu ở thời điểm 24 giờ nuôi và đo giá trị OD_{600} để đánh giá tốc độ sinh trưởng.

2.2.6. Phương pháp xử lý đất trồng ngô

Đất vườn rau lấy tại Hoài Đức, Hà Nội được sấy khô, nghiền nhỏ, khử trùng 2 lần ở nhiệt độ 121°C trong 30 phút. Khoảng cách giữa 2 lần khử trùng là 24 giờ. Đất sau khi khử trùng được sấy khô ở 65°C , sau đó trộn với sơ dừa (đã khử trùng) với tỉ lệ 5 đất : 1 sơ dừa (khối lượng : khối lượng). Cân 6 kg hỗn hợp đất và sơ dừa cho vào các chậu kích thước 60 x 20 x 16 cm.

2.2.7. Thiết kế thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của các chủng vi khuẩn tuyển chọn đến sự sinh trưởng của cây ngô non

Đất sau khi được xử lý sẽ được chia vào các chậu và thiết kế thí nghiệm theo hai công thức (CT): CT1: mẫu đối chứng (không bổ sung vi khuẩn) bổ sung 30 ml nước muối sinh lý vô trùng; CT2: bổ sung 30 ml dung dịch hai chủng vi khuẩn cố định đạm T22 và T27 đã được li tâm và hòa trong nước muối sinh lý để đạt mật độ 11×10^9 CFU/ml.

Mỗi công thức thí nghiệm được lặp lại ba lần (ba lô). Mỗi lô thí nghiệm được trồng 10 hạt ngô đã nảy mầm. Các chậu cây được để trong phòng nuôi cấy, nhiệt độ 25°C và chế độ chiếu sáng 12 giờ/ngày. Tưới nước vô trùng 2 lần/ngày vào buổi sáng và buổi chiều.

Theo dõi đánh giá tốc độ sinh trưởng (chiều dài thân lá và chiều dài rễ) và đặc điểm của cây ngô ở các CT thí nghiệm sau bốn tuần thí nghiệm. Các số liệu thu được được xử lý thống kê dựa vào phần mềm SPSS.

2.2.8. Xác định nồng độ NH_4^+

Nồng độ NH_4^+ trong môi trường nuôi cấy được định lượng theo phương pháp Nessler [15]. Dịch nuôi cấy được li tâm với tốc độ 10.000 vòng/phút, sau đó pha loãng và phản ứng với dung dịch Nessler rồi đo mật độ quang ở bước sóng 420 nm. Dung dịch NH_4Cl được sử dụng để xây dựng đồ thị chuẩn.

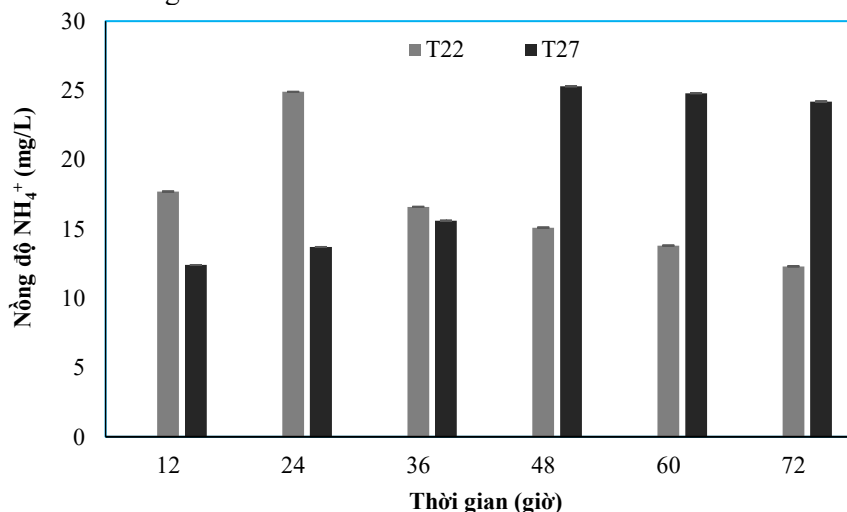
3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả phân lập và tuyển chọn vi khuẩn cố định đạm

Môi trường Ashby là môi trường chứa các muối vô cơ và nguồn carbon là manitol nhưng thiếu nguồn nitrogen. Vi khuẩn cố định đạm có thể cố định nitrogen trong khí quyển, do đó chúng có thể sinh trưởng và phát triển trong môi trường Ashby. Sau 5 ngày phân lập, trên bề mặt của môi trường Ashby đã xuất hiện một số khuẩn lạc vi khuẩn, những khuẩn lạc này đã được cấy tách trên môi trường MPA và thu được 29 chủng thuần.

Để có thể áp dụng trong thực tiễn, chủng vi khuẩn tuyển chọn không những phải có khả năng cố định nitrogen mà cần phải sinh trưởng được trong các điều kiện môi trường khác nhau, sử dụng được nhiều nguồn carbon khác nhau. Vì vậy, 29 chủng vi khuẩn tuyển chọn đã được nuôi cấy trên môi trường Burk có bổ sung các nguồn carbon khác nhau là glucose, manitol hoặc ri đường. Hai chủng vi khuẩn ký hiệu T22 và T27 đều sinh trưởng tốt trên ba nguồn carbon thử nghiệm nên đã được lựa chọn để nghiên cứu đánh giá khả năng cố định đạm.

Kết quả ở Hình 1 cho thấy cả hai chủng vi khuẩn T22 và T27 đều có khả năng cố định nitrogen tốt. Nồng độ NH_4^+ trong môi trường nuôi cấy chủng T22 đạt giá trị cao nhất là 24,9 mg/L ở thời điểm 24 giờ nuôi. Nồng độ NH_4^+ trong môi trường nuôi cấy chủng T27 tăng dần trong quá trình nuôi và đạt giá trị cao nhất là 25,3 mg/L tại thời điểm 48 giờ nuôi, sau đó giảm nhẹ ở thời điểm 60 và 72 giờ.



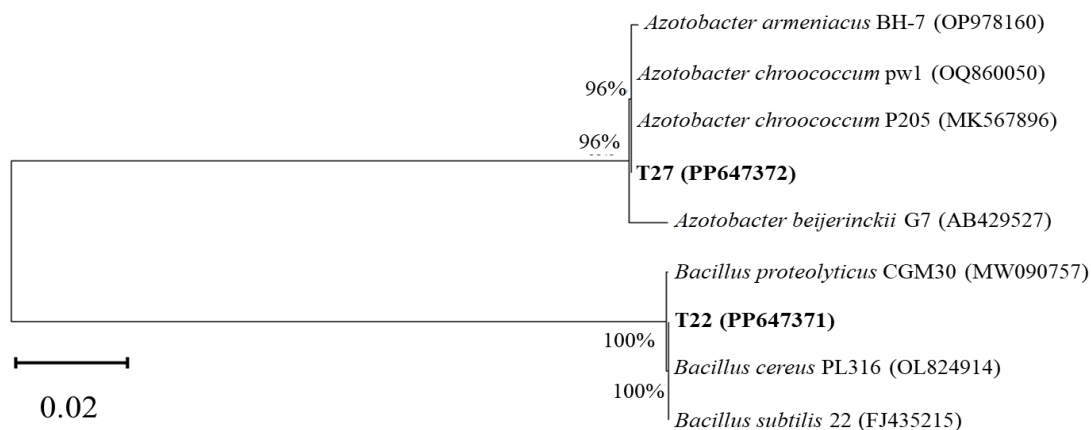
Hình 1. Khả năng cố định đạm của hai chủng vi khuẩn tuyển chọn

3.2. Đặc điểm hình thái và kết quả định loại hai chủng vi khuẩn tuyển chọn

Khuẩn lạc của chủng T22 có dạng hình tròn, màu trắng sữa, lõi ở tâm, tế bào chủng T22 có dạng hình que. Chủng T22 thuộc nhóm vi khuẩn Gram dương, tạo bọt khí khi cho phản ứng với H_2O_2 chứng tỏ có hoạt tính catalase, không có khả năng phân giải phosphate khó tan. Khuẩn lạc

của chủng T27 hình tròn, màu trắng trong, bề mặt bóng, nhầy, tế bào có hình trực khuẩn ngắn. Chủng T27 thuộc nhóm vi khuẩn Gram âm, hoạt tính catalase dương, chủng vi khuẩn này có khả năng phân giải phosphate khó tan.

Kết quả so sánh trình tự đoạn gene 16S rRNA của hai chủng T22 và T27 với các trình tự đã được công bố trên ngân hàng gene cho thấy chủng T22 (mã số Genbank: PP647371) có quan hệ gần gũi với các loài thuộc chi *Bacillus*, chủng T27 (mã số Genbank: PP647372) là một loài thuộc chi *Azotobacter* (Hình 2). Các nghiên cứu trước đó đã chỉ ra rằng một số chủng vi khuẩn thuộc chi *Bacillus* và *Azotobacter* đều có khả năng cố định đạm [16], [17]. Ha và Chu đã phân lập được một số chủng vi khuẩn có khả năng cố định đạm từ đất nông nghiệp thu tại Hưng Yên, trong đó có chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* NFBR1 có khả năng cố định đạm với nồng độ NH_4^+ trong môi trường nuôi cấy là 6,9 mg/L; hai chủng NFBR3 và NFBM5 thuộc chi *Azotobacter* có khả năng tổng hợp NH_4^+ với nồng độ lần lượt là 18,85 và 17,32 mg/L [16]. Trung bình loài vi khuẩn *Azotobacter chroococcum* có khả năng tổng hợp NH_4^+ trong khoảng từ 3,5 đến 29,4 mg/L [17]. Trong nghiên cứu này, hai chủng vi khuẩn *Bacillus* sp. T22 và *Azotobacter chroococcum* T27 có khả năng tổng hợp NH_4^+ với nồng độ lần lượt là 24,9 mg/L và 25,3 mg/L. Kết quả cho thấy hai chủng vi khuẩn tuyển chọn thuộc nhóm vi khuẩn có khả năng cố định đạm thuộc nhóm cao so với các nghiên cứu trước đó.



Hình 2. Sơ đồ phân loại hình cây được xây dựng dựa trên trình tự gene 16S RNA thể hiện mối quan hệ giữa hai chủng nghiên cứu với các loài gần được công bố trên GenBank

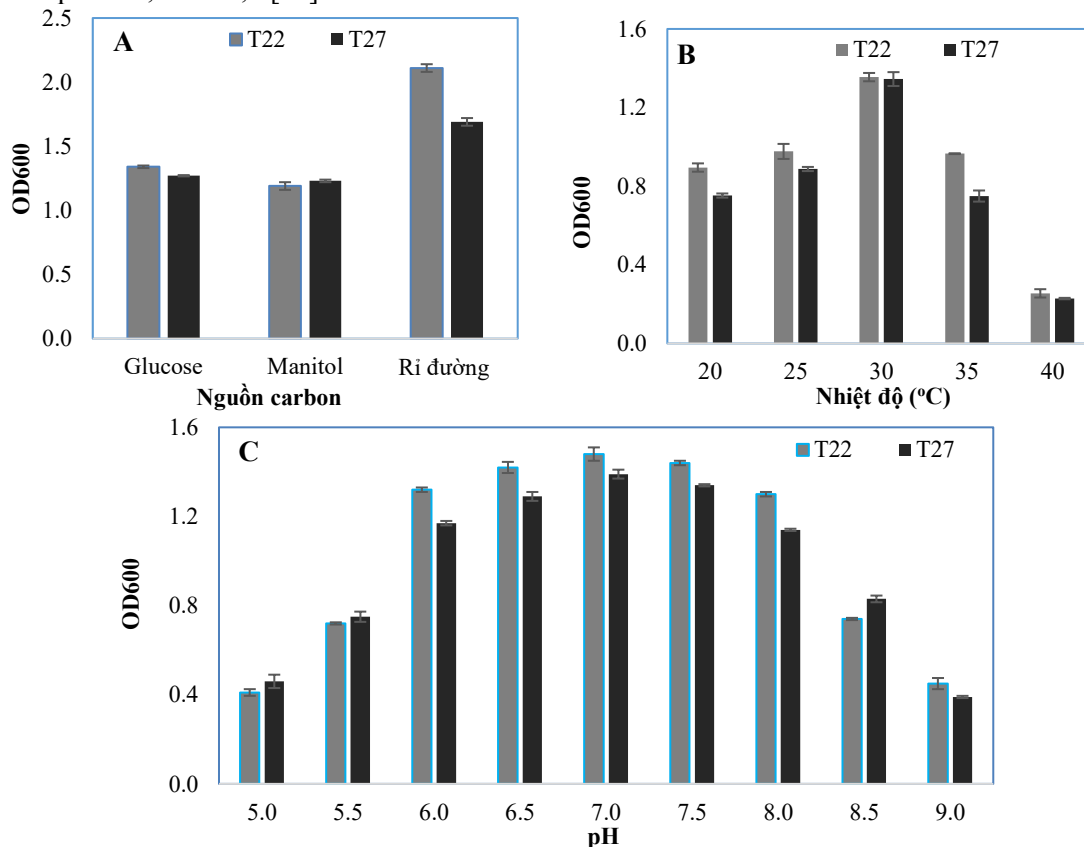
3.3. Ảnh hưởng của nguồn carbon, nhiệt độ và pH đến sự sinh trưởng của hai chủng vi khuẩn tuyển chọn

Ảnh hưởng của nguồn carbon đến sự sinh trưởng của hai chủng vi khuẩn tuyển chọn đã được nghiên cứu. Kết quả cho thấy cả hai chủng vi khuẩn tuyển chọn đều phát triển tốt nhất khi sử dụng nguồn carbon là rỉ đường, tiếp theo là glucose và cuối cùng là manitol. Giá trị OD600 cao nhất của chủng T22 và T27 lần lượt là 2,11 và 1,69 khi nuôi trên môi trường có chứa rỉ đường (Hình 3A). Rỉ đường là loại cơ chất phức tạp, bên cạnh các phân tử đường trong rỉ đường còn có chứa các chất dinh dưỡng khác phù hợp với sự sinh trưởng của hai chủng vi khuẩn tuyển chọn nên giá trị OD thu được là cao nhất.

Kết quả ở Hình 3B cho thấy sự sinh trưởng của hai chủng vi khuẩn tuyển chọn đều tăng khi tăng dần nhiệt độ nuôi cấy và đạt giá trị cực đại là 1,36 (chủng T22) và 1,35 (chủng T27) ở 30°C, sau đó giảm dần khi tăng nhiệt độ lên trên 30°C. Nghiên cứu của Mukhtar và cộng sự đối với một số chủng vi khuẩn thuộc chi *Azotobacter* cũng cho kết quả tương tự, các chủng vi khuẩn *Azotobacter* nghiên cứu đều phát triển tốt ở nhiệt độ 30°C [11].

Ảnh hưởng của pH ban đầu đến sự sinh trưởng của hai chủng vi khuẩn tuyển chọn được thể hiện trong hình 3C. Kết quả cho thấy cả hai chủng vi khuẩn tuyển chọn đều sinh trưởng tốt nhất ở

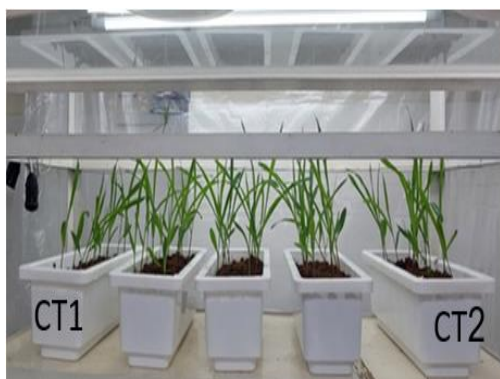
điều kiện pH trung tính (khoảng từ 6,5 đến 7,5). Trong đó, giá trị OD₆₀₀ đều cao nhất ở pH 7, đối với chủng T22 là 1,48 và chủng T27 là 1,39. Kết quả nghiên cứu này cũng gần tương tự với nghiên cứu trước đó của Mukhtar và cộng sự, các chủng vi khuẩn *Azotobacter* cũng phát triển tốt nhất ở pH từ 7,0 đến 8,0 [11].



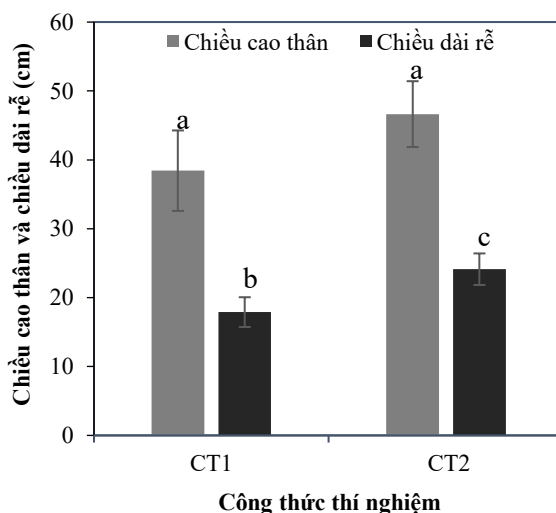
Hình 3. Ảnh hưởng của các nguồn carbon khác nhau (A), nhiệt độ (B) và pH (C) đến sự sinh trưởng của hai chủng vi khuẩn tuyển chọn

3.4. Nghiên cứu đánh giá sự ảnh hưởng của hai chủng vi khuẩn tuyển chọn đến sinh trưởng của cây ngô

Thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của hai chủng vi khuẩn tuyển chọn *Bacillus* sp. T22 và *Azotobacter chroococcum* T27 đến sinh trưởng của cây ngô non đã được thực hiện. Kết quả quan sát cây ngô trong bốn tuần thí nghiệm cho thấy: cây ngô ở công thức đối chứng (CT1) có lá hơi vàng và mỏng, thân mảnh và yếu hơn so với các cây ngô ở công thức thí nghiệm (CT2) (Hình 4). Sau 4 tuần thí nghiệm, chiều cao trung bình của cây ngô ở công thức đối chứng là 38,43 cm, trong khi đó chiều cao trung bình của cây ngô ở công thức thí nghiệm là 46,64 cm. Như vậy công thức có bổ sung hai chủng vi khuẩn tuyển chọn đã cao hơn so với công thức đối chứng 8,21 cm. Mặc dù kích thước của cây ngô ở công thức thí nghiệm cao hơn công thức đối chứng, tuy nhiên sự sai khác này chưa có ý nghĩa thống kê (Hình 5). Như vậy việc bổ sung hai chủng vi khuẩn tuyển chọn mới chỉ thể hiện xu hướng tác động tốt của vi khuẩn lên cây ngô thí nghiệm chứ chưa thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê đến sự sinh trưởng của cây ngô sau bốn tuần thí nghiệm. Việc bổ sung hai chủng vi khuẩn tuyển chọn không chỉ kích thích cây ngô sinh trưởng và còn kích thích sự sinh trưởng của rễ ngô. Kích thước của rễ cây ngô trong công thức thí nghiệm (24,13 cm) cũng dài hơn so với rễ cây ngô ở công thức đối chứng (17,9 cm). Sự sai khác về kích thước rễ giữa hai công thức thí nghiệm là 6,23 cm, sự sai khác này có ý nghĩa thống kê và thể hiện xu hướng tác động tốt của hai chủng vi khuẩn tuyển chọn đối với sự sinh trưởng của rễ ngô.



Hình 4. Cây ngô ở các công thức thí nghiệm



Hình 5. Chiều cao thân và kích thước rễ của cây ngô ở các công thức thí nghiệm
(Các chữ khác nhau thể hiện sai số có ý nghĩa thống kê)

Kết quả thu được trong nghiên cứu này cũng tương tự như kết quả thu được trong nghiên cứu trước đây của Mukhtar và cộng sự [11]. Kích thước thân của cây ngô được trồng trong đất có bổ sung tế bào vi khuẩn thuộc chi *Azotobacter* cao hơn nhiều so với cây ngô trồng trên đất không được bổ sung vi khuẩn: cụ thể kích thước cây ngô trong công thức thí nghiệm dao động trong khoảng 183-197 cm, cao hơn nhiều so với công thức đối chứng (109 cm).

4. Kết luận

Nghiên cứu đã phân lập và tuyển chọn được hai chủng vi khuẩn (T22 và T27) có khả năng cố định đạm. Chủng vi khuẩn T22 là vi khuẩn Gram dương và thuộc chi *Bacillus*, chủng vi khuẩn T27 là vi khuẩn Gram âm và là một chủng thuộc loài *Azotobacter chroococcum*. Chủng *Azotobacter chroococcum* T27 không chỉ có khả năng cố định đạm mà còn có khả năng phân giải phosphate khó tan. Kết quả thử nghiệm trên cây ngô cho thấy, hai chủng vi khuẩn T22 và T27 thể hiện tác động kích thích sinh trưởng đối với cây ngô thí nghiệm. Hai chủng vi khuẩn này có thể sử dụng để tạo chế phẩm phân bón sinh học nhằm kích thích sinh trưởng ở thực vật.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] T. Searchinger, R. Waite, C. Hanson, J. Ranganathan, P. Dumas, E. Mathews, and A. Klirs, "Creating a sustainable food future: a menu of solutions to feed nearly 10 billion people by 2050," *World Resources Reports*. World Resources Institute, 2019.
- [2] S. E. Bloch, M-H. Ryu, B. Ozaydin, and R. Broglie, "Harnessing atmospheric nitrogen for cereal crop production," *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 62, pp. 181-188, 2020.
- [3] K. Mahmud, S. Makaju, R. Ibrahim, and A. Missaoui, "Current progress in nitrogen fixing plants and microbiome research," *Plants*, vol. 9, no. 1, Jan. 2020, Art. no. 97.
- [4] S. Ranjan, S. Sow, S. R. Choudhury, S. Kumar, and M. Ghosh, "Biofertilizer as a novel tool for enhancing soil fertility and crop productivity: a review," *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, vol. S11, pp. 653-665, 2020.
- [5] P. Chaudhary, S. Singh, A. Chaudhary, A. Sharma, and G. Kumar, "Overview of biofertilizers in crop production and stress management for sustainable agriculture," *Frontiers in Plant Science*, vol. 13, Aug. 2022, Art. no. 930340.
- [6] S. A. Wani, S. Chand, M. A. Wani, M. Ramzan, and K. R. Hakeem, "*Azotobacter chroococcum*—a potential biofertilizer in agriculture: an overview," in *Soil Science: Agricultural and Environmental Prospectives*, K. R. Hakeem, J. Akhtar, M Sabir, Ed., Springer, 2016, pp. 333-348.

-
- [7] T. A. Bhat, L. Ahmad, M. A. Ganai, S. U. Haq, and O. A. Khan, "Nitrogen fixing biofertilizers; mechanism and growth promotion: a review," *Journal of Pure and Applied Microbiology*, vol. 9, no. 2, pp. 1675-1690, 2015.
- [8] F. Kawaka, "Characterization of symbiotic and nitrogen fixing bacteria," *AMB Express*, vol. 12, Jul. 2022, Art. no. 99.
- [9] A. Aasfar *et al.*, "Nitrogen fixing *Azotobacter* species as potential soil biological enhancers for crop nutrition and yield stability," *Frontiers in Microbiology*, vol. 12, Feb. 2021, Art. no. 628379.
- [10] S. Sun, Y. Chen, J. Cheng, Q. Li, Z. Zhang, and Z. Lan, "Isolation, characterization, genomic sequencing, and GFP-marked insertional mutagenesis of a high-performance nitrogen-fixing bacterium, *Kosakonia radicincitans* GXGL-4A and visualization of bacterial colonization on cucumber roots," *Folia Microbiologica*, vol. 63, no. 6, pp. 789–802, 2018.
- [11] H. Mukhtar, H. Bashir, A. Nawaz, and I. Haq, "Optimization of growth conditions for *Azotobacter* species and their use as biofertilizer," *Journal of Bacteriology and Mycology*, vol. 6, no. 5, pp. 274-278, 2018.
- [12] J. G. Cappuccino and C. Welsh, *Microbiology: a laboratory manual 51-142*, Pearson, 2020.
- [13] H. Heuer, M. Krsek, P. Baker, K. Smalla, and E. M. H. Wellington, "Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 63, no. 8, pp. 3233-3241, 1997.
- [14] K. Tamura, G. Stecher, and S. Kumar, "MEGA 11: molecular evolutionary genetics analysis version 11," *Molecular Biology and Evolution*, vol. 38, no. 7, pp. 3022-3027, 2021.
- [15] L. Zhou and C. E. Boyd, "Comparison of Nessler, phenate, salicylate and ion selective electrode procedures for determination of total ammonia nitrogen in aquaculture," *Aquaculture*, vol. 450, pp. 187-193, 2016.
- [16] T. Q. Ha and T. T. H. Chu, "Selection of nitrogen fixation and phosphate solubilizing bacteria from cultivating soil samples of Hung Yen province in Vietnam," *Journal of Vietnamese Environment*, vol. 12, no. 2, pp. 162-168, 2020.
- [17] S. A. Dar, R. A. Bhat, M. A. Dervash, Z. A. Dar, and G. H. Dar, "*Azotobacter* as biofertilizer for sustainable soil and plant health under saline environmental condition," in *Microbiota and Biofertilizers*, K. R. Hakeem *et al.*, (eds.), Springer Nature Switzerland AG, 2021, pp. 231-254.