

NGHIÊN CỨU TẠO CHẾ PHẨM ĐA CHỦNG VI SINH VẬT VÀ ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ CỦA CHẾ PHẨM ĐỐI VỚI SẢN XUẤT CÂY CON THÔNG NHỰA (*Pinus merkusii*) Ở VƯỜN ƯƠM

Nguyễn Thị Thúy Nga
Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

TÓM TẮT

Thông là cây trồng đa mục đích, mang lại nguồn lợi về kinh tế và bảo vệ môi trường. Tuy nhiên gieo ươm thông tại vườn ươm còn mắc nhiều bệnh, như bệnh vàng còi do cây không có mối quan hệ cộng sinh với nấm, bệnh thối cổ rễ do nấm *Fusarium oxysporum*. Việc tạo chế phẩm vi sinh vật đa chủng giúp tăng sinh trưởng và hạn chế bệnh của cây Thông nhựa, đáp ứng được nhu cầu tạo ra những cây con chất lượng cao cho công tác trồng rừng. Điều này là rất cần thiết và có ý nghĩa khoa học, thực tiễn. Chế phẩm đa chủng vi sinh vật có thành phần trong 10kg nguyên liệu có 35% bột apatit, 35% mùn, 20% Potassium polyacrylamide, 5g bào tử hữu tính nấm *Pisolithus tinctorius*, 500ml dung dịch VSV sinh IAA, 500ml dung dịch VSV phân giải lân, 500ml dung dịch VSV đối kháng với nấm bệnh và 500ml dung dịch VSV cố định nitơ, mang lại mật độ tế bào cao nhất và hoạt tính của các chủng vi sinh vật tốt nhất. Chế phẩm đa chủng vi sinh vật có mật độ tế bào ít thay đổi khi bảo quản ở nhiệt độ phòng với thời gian 6 tháng, bón 2 gam chế phẩm đa chủng vi sinh vật cho 1 cây con ở vườn ươm, sau thời gian 2 tháng ít có sự khác biệt về chiều cao và đường kính gốc. Sau 4 tháng, 6 tháng và 8 tháng, bón 2 gam chế phẩm đều cho kết quả vượt trội về chiều cao và đường kính gốc, tăng 23% về chiều cao và 28% đường kính gốc so với công thức đối chứng. Chiều cao Thông nhựa sau 8 tháng đạt 22,6cm đường kính gốc đạt 4,12mm, cho tỷ lệ bị bệnh thấp nhất, tỷ lệ cộng sinh cao nhất so với các công thức bón liều lượng vi sinh khác và công thức đối chứng.

Từ khoá: Cây Thông nhựa, chế phẩm đa chủng vi sinh vật, cây con.

Study on the production of multi-racial microorganism inoculum and evaluating its effectiveness for producing *Pinus merkusii* seedlings in the nursery

Pine is a multi-purpose tree, which can generate economic benefits and also protect the environment. However, there is a variety of diseases that pines can suffer in the nursery such as yellow stunted growth by lack of fungal symbiotic association, damping off by *Fusarium oxysporum*. Producing multi-racial microorganism inoculum can help stimulate the growth and reduce diseases of *Pinus merkusii*, meet the demand to produce high quality seedlings for reforestation. Multi-racial microorganism preparation including 35% apatite powder, 35% humus, 5g *Pisolithus tinctorius* symbiotic fungi, 500ml IAA bacteria solution, 500ml microbes decompose phosphate bacteria solution, 500ml antagonistic bacteria pathogenic fungi bacteria solution, 500ml symbiotic bacteria liquid nitrogen fixed, 20% Potassium polyacrylamide brought the highest microbial density and activity. The microbial density of the inoculum remained nearly unchanged when stored at room temperature in a period of 6 months. Using 2gr of the inoculum per seedling, after 2 month there was insignificant difference in height and stem diameter. After 4 months, 6 months and 8 months, using the inoculum resulted in outstanding results of height and stem diameter (23% and 28% in height compared to the control formula). *Pinus merkusii* after 8 months was 22.6cm in height and 4.12mm in stem diameter, had lowest rate of disease and highest rate of symbiotic than any other microbial and control formulas.

Keywords: *Pinus merkusii*, Multi-racial microorganism inoculum, seedling

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi sinh vật có vai trò quan trọng trong hệ sinh thái nông, lâm nghiệp, bao gồm các nhóm: nấm cộng sinh; vi khuẩn cộng sinh cố định nitơ, vi khuẩn cố định nitơ tự do cung cấp đạm cho cây trồng; nhóm vi sinh vật tạo ra chất kích thích sinh trưởng thực vật, điển hình là Indole-3 - Acetic Acid (IAA); nhóm vi sinh vật phân giải các hợp chất khoáng khó tan thành dễ tan và nhóm vi sinh vật đối kháng với nấm gây bệnh. Chế phẩm vi sinh vật bón cho cây rừng nhằm tăng sinh trưởng của cây, giảm thiểu tỷ lệ bị bệnh của cây chủ đã được nhiều nước trên thế giới nghiên cứu và sản xuất dạng thương mại như ở Mỹ, Canada. Ở Việt Nam, phân vi sinh vật cố định đạm được bán dưới các tên thương phẩm như: phân nitragin chứa vi khuẩn nốt sần cây đậu tương, phân rhidafo chứa vi khuẩn nốt sần cây lạc, Azozin chứa vi khuẩn hút đạm từ không khí sống trong ruộng lúa. Mặc dù vậy những loại phân vi sinh riêng cho cây lâm nghiệp còn ít hoặc không có. Hiện nay, thông là cây trồng lâm nghiệp được gây trồng ở hầu khắp các tỉnh trung du và miền núi, nó mang lại giá trị lớn về mặt kinh tế như: cung cấp nguyên vật liệu cho ngành khai thác than (gỗ trụ mỏ), ngành xây dựng, ngành công nghiệp làm giấy, gỗ bao bì, nhựa thông còn được dùng trong nhiều ngành công nghiệp như sơn, véc ni, vật liệu cách điện và các mặt hàng tiêu dùng khác. Tuy nhiên việc gieo ươm và gây trồng thông ở nước ta hiện nay còn gặp nhiều khó khăn và trở ngại. Gieo ươm thông tại vườn ươm còn mắc nhiều bệnh, như bệnh vàng còi, thối cổ rễ do nấm *Fusarium*. Cây thông và một số loại cây trồng khác chỉ sinh trưởng và phát triển được khi rễ có mối quan hệ cộng sinh với nấm hình thành hệ nấm rễ. Theo phương pháp gieo ươm truyền thống, sử dụng 10% đất mặt rừng thông đã khấp tán trộn với thành phần ruột bầu để có nguồn nấm cộng sinh từ tự nhiên. Việc làm này cũng có nhiều

điều bất lợi: nấm cộng sinh không được tuyển chọn, mang theo sâu, đặc biệt là bệnh lở cổ rễ và bệnh rom lá thông, lớp đất mặt dẫn đến hệ sinh thái của rừng thông khấp tán bị ảnh hưởng và chi phí rất lớn nhưng hiệu quả không cao. Nghiên cứu tạo chế phẩm đa chủng vi sinh vật để gieo ươm và gây trồng Thông nhựa, thay thế việc gieo ươm thông bằng phương pháp truyền thống, giúp tăng sinh trưởng và hạn chế bệnh đáp ứng được nhu cầu tạo ra những cây con chất lượng cao cho công tác trồng rừng, tạo rừng Thông nhựa sinh trưởng phát triển tốt có ý nghĩa khoa học và thực tiễn.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Để tạo phân vi sinh đa chủng, các chủng vi sinh vật đưa vào sử dụng là: nấm cộng sinh (*Pisolithus tinctorius*) chủng Pt1; vi sinh vật sinh tổng hợp IAA (*Pseudomonas fluorescens*) chủng QI₁, vi sinh vật đối kháng nấm gây bệnh (*Bacillus subtilis*) chủng QI₂₄, vi sinh vật cố định nitơ tự do (*Azotobacter bejerincki*) chủng V4.2 và vi sinh vật phân giải lân (*Burkholderia cenocepacia*) chủng N2.1. Các chủng vi sinh vật này do Bộ môn Vi sinh vật rừng, Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng cung cấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu tạo chế phẩm đa chủng vi sinh vật

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu sự tương tác của các vi sinh vật trong cùng hỗn hợp

Nhân sinh khối các chủng vi khuẩn trên môi trường dinh dưỡng khác nhau, mỗi chủng vi khuẩn lấy 10ml phối trộn đều trong 1 bình tam giác. Sau các thời gian 2 tuần, 4 tuần và 8 tuần kiểm tra mật độ của chúng bằng cách lấy hỗn hợp các chủng thu được dùng phương pháp pha loãng tới hạn cấy, trang trên môi trường thích hợp với từng loại vi sinh vật, đo

đếm mật độ bào tử của chúng, thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu xác định giá thể tạo chế phẩm đa chủng VSV

Bào tử hữu tính nấm *Pisolithus tinctorius*, sinh khối dung dịch các chủng vi sinh vật: VSV sinh IAA, VSV phân giải lân. VSV đối kháng với nấm bệnh và VSV cố định nitơ (dung dịch các chủng vi sinh vật khi nhân sinh khối mật độ bào tử đạt tối thiểu là $19,1 \times 10^8$) cùng trộn với các chất đưa vào thử nghiệm ở 4 công thức sau:

- Công thức 1: Với 10kg nguyên liệu trong đó 45% bột apatit, 45% mùn, 10% Potassium polyacrylamide, 2,5g bào tử hữu tính nấm *Pisolithus tinctorius*, 250ml dung dịch VSV sinh IAA, 250ml dung dịch VSV phân giải lân, 250ml dung dịch VSV đối kháng với nấm bệnh và 250ml dung dịch VSV cố định nitơ.

- Công thức 2: Với 10kg nguyên liệu trong đó 35% bột apatit, 35% mùn, 20% Potassium polyacrylamide, 5g bào tử hữu tính nấm *Pisolithus tinctorius*, 500ml dung dịch VSV sinh IAA, 500ml dung dịch VSV phân giải lân, 500ml dung dịch VSV đối kháng với nấm bệnh và 500ml dung dịch VSV cố định nitơ.

- Công thức 3: Với 10kg nguyên liệu trong đó 35% đất sét, 35% mùn, 20% Potassium polyacrylamide, 5g bào tử hữu tính nấm *Pisolithus tinctorius*, 500ml dung dịch VSV sinh IAA, 500ml dung dịch VSV phân giải lân, 500ml dung dịch VSV đối kháng với nấm bệnh và 500ml dung dịch VSV cố định nitơ.

- Công thức 4: Với 10kg nguyên liệu trong đó 45% đất sét + 45% mùn + 10% Potassium polyacrylamide, 2,5g bào tử hữu tính nấm *Pisolithus tinctorius*, 250ml dung dịch VSV sinh IAA, 250ml dung dịch VSV phân giải lân, 250ml dung dịch VSV đối kháng với nấm bệnh và 250ml dung dịch VSV cố định nitơ.

Sau khi tạo chế phẩm đa chủng vi sinh vật, tiến hành đánh giá sự tồn tại tế bào của các

chủng VSV ở các công thức phối trộn khác nhau trong các chế phẩm hỗn hợp. Sau khi phối trộn chế phẩm VSV được 2 tuần, dùng chế phẩm VSV đó phân lập trở lại các chủng vi sinh vật, bằng phương pháp pha loãng tới hạn và cấy trang trên môi trường thích hợp với từng loại vi sinh vật.

2.2.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính của các chủng VSV trong chế phẩm

Tiến hành phân lập lại từ chế phẩm đa chủng VSV với các môi trường khác nhau sau thời gian 4 tuần, 8 tuần, 12 tuần, 16 tuần, kiểm tra mật độ bào tử và hoạt tính của các chủng vi sinh vật.

2.2.4. Phương pháp nghiên cứu thời gian bảo quản của chế phẩm.

Chế phẩm đa chủng VSV được thử nghiệm bảo quản theo 2 cách:

Bảo quản ở nhiệt độ phòng bình thường,

Bảo quản trong phòng nhiệt độ (15 - 20°C).

Sau thời gian 1,5 tháng, 3 tháng, 4,5 tháng và 6 tháng, tiến kiểm tra mật độ bào tử các chủng vi sinh vật.

2.3. Phương pháp đánh giá hiệu quả của chế phẩm với cây Thông nhựa ở vườn ươm

- Thí nghiệm được tiến hành với Thông nhựa, với 4 công thức: ba công thức nhiễm chế phẩm và một công thức đối chứng, mỗi công thức 40 cây con, thí nghiệm lặp lại 3 lần, thí nghiệm được bố trí theo khối ngẫu nhiên đầy đủ. Bào trồng cây có kích thước 11 × 15cm, thành phần ruột bầu: bao gồm đất bột (lấy tại Đại Lải, Vĩnh Phúc) và các lượng chế phẩm khác nhau. Khử trùng đất bằng phơi dưới nắng trực tiếp 3 ngày.

+ Công thức 1: công thức đối chứng, 1% lân như đóng bầu trong sản xuất.

+ Công thức 2: bón chế phẩm 1 gam/cây.

+ Công thức 3: bón chế phẩm 2 gam/cây.

+ Công thức 4: bón chế phẩm 3 gam/cây.

- Thu thập số liệu ở các mốc thời gian 2 tháng, 4 tháng 6 tháng và 8 tháng: đo chiều cao, đo đường kính gốc, xác định tỷ lệ bị bệnh, tỷ lệ cộng sinh của cây con ở các công thức thí nghiệm.

+ Tỷ lệ bị bệnh: là phần trăm số cây bị bệnh so với tổng số cây điều tra, được tính theo công

$$P_b = \frac{n}{N} \times 100$$

Trong đó: P_b là tỷ lệ bị bệnh (%)

n là số cây bị bệnh,

N là tổng số cây điều tra

+ Tỷ lệ cộng sinh: là phần trăm số cây cộng sinh so với tổng số cây điều tra, được tính theo

$$P_{cs} = \frac{n_i}{N_i} \times 100$$

Trong đó: P_{cs} là tỷ lệ cộng sinh (%);

n là số cây cộng sinh;

N_i là tổng số cây điều tra.

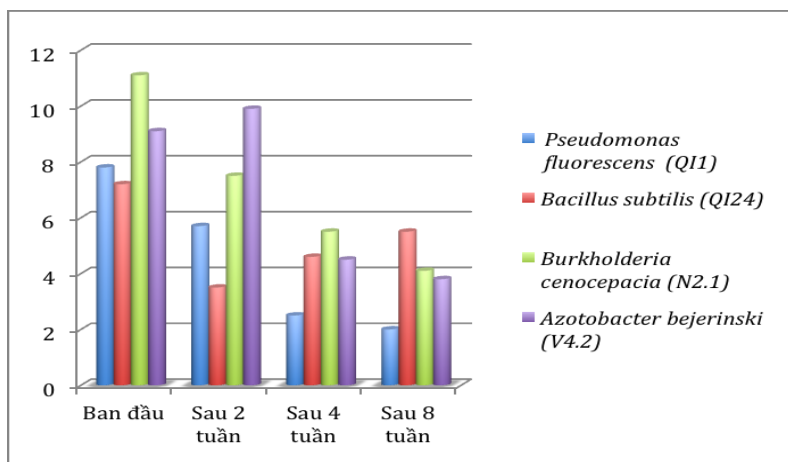
- Xử lý số liệu, phân tích phương sai, so sánh trị trung bình giữa các công thức bằng phần mềm SPSS 15.0, phần mềm Excel.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu tạo chế phẩm đa chủng VSV

3.1.1. Kết quả nghiên cứu sự tương tác của các vi khuẩn trong cùng hỗn hợp

Sau khi nhân sinh khối và trộn các chủng vi sinh vật khác nhau trong cùng hỗn hợp, kết quả sự tương tác của các chủng vi sinh được thể hiện ở hình 1.



Hình 1. Khả năng tập hợp chủng qua mật độ bào tử của VSV theo thời gian

Thông qua hình 1 cho thấy chủng VSV vẫn tồn tại bình thường trong cùng một dung dịch, không có hiện tượng thực khuẩn. Mật độ tế bào hữu hiệu của các chủng VSV nhìn chung không thay đổi sau 4 tuần và giảm nhẹ sau 8 tuần. Tuy nhiên, khi nghiên cứu sự tương tác của các chủng vi sinh vật khi phối trộn cũng cho thấy chủng vi khuẩn phân giải lân *Burkholderia cenocepacia* (N2.1) có khả năng tồn tại mạnh nhất đạt $7,5 \times 10^9$ (CFU/ml), tại thời điểm sau 2 tuần phối trộn. Còn các chủng khác dù ở các mốc thời gian khác nhau chúng vẫn phát triển khá mạnh. Tại thời điểm 8 tuần

chủng *Pseudomonas fluorescens* (QI₁) đạt $2,0 \times 10^8$ (CFU/ml), thấp nhất trong các chủng đưa vào nghiên cứu, tuy nhiên đây là mật độ đảm bảo khi đưa vào sản xuất chế phẩm đa chủng vi sinh vật. Có thể kết luận rằng các chủng này có thể đưa vào sản xuất chế phẩm đa chủng vi sinh vật là rất tốt.

3.1.2. Kết quả nghiên cứu xác định giá thể tạo chế phẩm

Mỗi chủng vi khuẩn sinh trưởng và phát triển tốt chúng đều phải có một môi trường phù hợp nhất định. Thử nghiệm với các loại môi trường

với tỷ lệ chất mang khác nhau để tìm ra môi trường chất thích mang hợp các vi sinh vật. Giá thể được lựa chọn nghiên cứu là apatit, đất sét, mùn với chất giữ ẩm Potassium

polyacrylamide. Kết quả mật độ vi sinh vật tồn tại trong chất mang ở các công thức khác nhau sau 2 tuần phối trộn được trình bày tại bảng 1.

Bảng 1. Mật độ tế bào các chủng VSV sau 2 tuần phối trộn

Stt	Công thức Chủng	CT1 (CFU/1g chế phẩm VSV)	CT2 (CFU/1g chế phẩm vi sinh)	CT3 (CFU/1g chế phẩm vi sinh)	CT4 (CFU/1g chế phẩm vi sinh)
1	<i>Pisolithus tinctorius</i> (Pt)	$7,1 \times 10^7$	$9,2 \times 10^8$	$5,3 \times 10^8$	$13,4 \times 10^7$
2	<i>Pseudomonas fluorescens</i> (QI ₁)	$5,3 \times 10^8$	$17,3 \times 10^8$	$2,1 \times 10^8$	$6,5 \times 10^8$
3	<i>Bacillus subtilis</i> (QI ₂₄)	$6,3 \times 10^8$	$19,1 \times 10^8$	$15,2 \times 10^8$	$9,2 \times 10^8$
4	<i>Burkholderia cenocepacia</i> (N2.1)	$9,2 \times 10^8$	$14,1 \times 10^8$	$3,2 \times 10^8$	$3,4 \times 10^8$
5	<i>Azotobacter bejerinski</i> (V4.2)	$12,3 \times 10^8$	$29,0 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$	$28,4 \times 10^7$

Trong cả 4 công thức chất mang với các tỷ lệ phối trộn khác nhau, các chủng vi sinh đều tồn tại với mật độ khá. Kết quả cũng cho thấy, các chủng vi sinh vật vẫn tồn tại bình thường trong cùng một chế phẩm, không có hiện tượng thực khuẩn. Nhưng ở những công thức có tỷ lệ phối trộn chất mang khác và lượng vi sinh vật khác nhau cũng có mật độ tế bào vi sinh vật giữa các công thức khác nhau. Ở công thức 1 và 4 (khi đưa vào tạo chế phẩm 10% dung dịch VSV các loại) thành phần các loại vi sinh vật thấp hơn rất nhiều so với công thức 2 và 3 (khi đưa vào tạo chế phẩm 20% dung dịch VSV các loại). Như điển hình ở chủng *Bacillus subtilis* (QI₂₄) đối kháng khuẩn gây bệnh đạt mật độ tế bào hữu hiệu $15,2 - 19,1 \times 10^8$ CFU/1g chế phẩm vi sinh, khi được trộn tỷ lệ theo công thức 3, trong khi ở công thức 4 mật độ tế bào hữu hiệu chỉ đạt $9,2 \times 10^8$ CFU/1g chế phẩm vi sinh. Như vậy mật độ vi sinh ban đầu đưa vào trộn chế phẩm cũng vô cùng cần thiết, chúng phải đảm bảo mật độ cho phép thì chế phẩm vi sinh vật mới đảm bảo chất lượng.

Ở công thức 2 tất cả các chủng vi sinh vật đều có mật độ tế bào hữu hiệu cao nhất. Trong khi ở công thức 3 mật độ tế bào của cả 5 chủng vi sinh vật đã giảm đáng kể. Tuy ở công thức 2 và 3 đều đưa vào thí nghiệm mật độ vi sinh vật

ban đầu là như nhau, như vậy chất mang có ảnh hưởng rất đáng kể. Thông qua đó có thể kết luận apatis rất phù hợp để làm chất mang sản xuất chế phẩm vi sinh vật. Qua phân tích ở trên cho thấy công thức chất mang phù hợp là công thức 2: Với 10kg nguyên liệu trong đó 35% bột apatit, 35% mùn, 20% Potassium polyacrylamide, 5g bào tử hữu tính nấm *Pisolithus tinctorius*, 500ml dung dịch VSV sinh IAA, 500ml dung dịch VSV phân giải lân, 500ml dung dịch VSV đối kháng với nấm bệnh và 500ml dung dịch VSV cố định nitơ.

3.1.3. Kết quả nghiên cứu hoạt tính các chủng VSV trong chế phẩm

Việc nghiên cứu các hoạt tính của những chủng đó khi cùng tồn tại với nhau là vô cùng cần thiết và quan trọng. Tiến hành phân lập và tách riêng từng chủng, kiểm tra hoạt tính sinh học như khả năng sinh IAA của chủng *Pseudomonas fluorescens* (QI₁); khả năng kháng nấm bệnh của chủng *Bacillus subtilis* (QI₂₄); Khả năng phân giải photphat khó tan của chủng *Burkholderia cenocepacia* (N2.1); khả năng cố định nitơ của chủng *Azotobacter bejerinski* (V4.2) sau khoảng thời gian 4 tuần, 8 tuần, 12 tuần và 16 tuần phối trộn. Kết quả nghiên cứu được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Hoạt tính sinh học của VSV sau khi hợp chủng

TT	Chủng vi sinh vật	Đơn vị hoạt tính	Sau 4 tuần		Sau 8 tuần		Sau 12 tuần		Sau 16 tuần	
			ĐK vòng (mm)	Hoạt tính	ĐK vòng (mm)	Hoạt tính	ĐK vòng (mm)	Hoạt tính	ĐK vòng (mm)	Hoạt tính
1	<i>Pseudomonas fluorescens</i> (QI ₁)	mg/l	-	11,522	-	10,554	-	9,745	-	9,718
2	<i>Bacillus subtilis</i> (QI ₂₄)		22,03	-	20,16	-	19,1	-	18,6	-
3	<i>Burkholderia cenocepacia</i> (N2.1)	Ppm	23,2	415,01	21,4	374,31	20,7	345,02	20,2	312,12
4	<i>Azotobacter bejerinski</i> (V4.2)	mg/ml	-	4,06	-	3,98	-	4,01	-	3,54

Từ các bảng số liệu trên cho thấy, hoạt tính sinh học của các chủng vi khuẩn đều có hoạt lực giảm nhẹ dần theo thời gian. Tuy nhiên nhìn tổng thể ở bảng kết quả cho ta thấy dù ở thời gian 16 tuần hoạt lực của chúng vẫn rất tốt và đảm bảo là những chủng vi khuẩn có hoạt lực mạnh, chúng vẫn phát huy được những khả năng của chúng. Như chủng *Burkholderia cenocepacia* (N2.1) phân giải lân, sau 8 tuần đường kính vòng phân giải vẫn đạt 20,2mm, nồng độ lân dễ tiêu đạt 312,12ppm chứng tỏ rằng chúng vẫn có khả năng phân giải lân rất mạnh. Chủng vi khuẩn *Pseudomonas fluorescens* (QI₁) sinh tổng hợp IAA, có kết quả tổng hợp IAA khá cao đạt 9,718 mg/l chứng tỏ khả năng tổng hợp IAA của chúng sau thời gian 4 tháng là vẫn tốt. Như vậy, có thể kết luận rằng khi dùng các chủng vi sinh vật tiềm năng để sản xuất chế

phẩm đa chủng vi sinh vật là hoàn toàn có cơ sở khoa học và đạt kết quả tốt.

3.1.4. Kết quả nghiên cứu thời gian bảo quản của chế phẩm

Mặc dù đã nghiên cứu được khả năng tồn tại cũng như hoạt tính của các vi sinh vật có ích. Nhưng cần xác định được thời gian bảo quản của chế phẩm vi sinh vật để đưa ra khuyến cáo là cần thiết giúp cho người dùng sử dụng chế phẩm một cách hiệu quả. Thí nghiệm tiến hành với 2 cách bảo quản khác nhau: bảo quản ở nhiệt độ phòng (thời gian thí nghiệm từ tháng 3 đến tháng 9 nhiệt độ trung bình là 27,8°C) và bảo quản trong phòng lạnh nhiệt độ 15 - 20°C và kiểm tra mật độ bào tử ở các mốc thời gian 1,5 tháng, 3 tháng, 4,5 tháng và 6 tháng, đưa ra kết luận tốt nhất về thời gian bảo quản chúng, kết quả được trình bày tại bảng 4.

Bảng 3. Mật độ bào tử của các chủng vi sinh vật tại các thời gian khác nhau

STT	Thời gian kiểm tra/ Chủng	1,5 tháng	3 tháng	4,5 tháng	6 tháng	
1	<i>Pisolithus tinctorius</i> (Pt)	t ^o thường	9,7 × 10 ⁸	8,4 × 10 ⁸	6,5 × 10 ⁸	1,6 × 10 ⁸
		15 - 20°C	9,8 × 10 ⁸	8,7 × 10 ⁸	7,3 × 10 ⁸	4,6 × 10 ⁸
2	<i>Pseudomonas fluorescens</i> (QI ₁)	t ^o thường	2,3 × 10 ⁹	1,9 × 10 ⁹	7,1 × 10 ⁸	1,4 × 10 ⁸
		15 - 20°C	2,5 × 10 ⁹	2,4 × 10 ⁹	5,1 × 10 ⁸	1,2 × 10 ⁸
3	<i>Bacillus subtilis</i> (QI ₂₄)	t ^o thường	1,6 × 10 ⁹	1,0 × 10 ⁹	9,4 × 10 ⁸	0,6 × 10 ⁸
		15 - 20°C	2,6 × 10 ⁹	2,3 × 10 ⁹	8,4 × 10 ⁸	0,8 × 10 ⁸
4	<i>Burkholderia cenocepacia</i> (N2.1)	t ^o thường	9,2 × 10 ⁹	6,8 × 10 ⁸	3,2 × 10 ⁸	2,4 × 10 ⁸
		15 - 20°C	9,6 × 10 ⁹	7,6 × 10 ⁸	5,2 × 10 ⁸	4,2 × 10 ⁸
5	<i>Azotobacter bejerinski</i> (V4.2)	t ^o thường	1,2 × 10 ⁹	8,9 × 10 ⁸	6,9x 10 ⁸	2,2 × 10 ⁸
		15 - 20°C	3,2 × 10 ⁹	6,8 × 10 ⁸	8,5x 10 ⁸	3,3 × 10 ⁸

Kết quả ở các bảng trên cho thấy, dù ở 2 cách bảo quản khác nhau nhưng các chủng vi sinh vật vẫn tồn tại bình thường trong cùng chế phẩm, ít có sự khác nhau giữa các mật độ tế bào vi sinh vật. Tuy nhiên khi được bảo quản ở nhiệt độ lạnh, mật độ bào tử của các chủng VSV sau 6 tháng bảo quản có lớn hơn so với các chủng VSV bảo quản ở nhiệt độ phòng, nhưng sự chênh lệch không đáng kể. Mặt khác trên thực tế sản xuất chế phẩm VSV để giảm chi phí và thuận lợi cho người sử dụng thì cách bảo quản chúng trong nhiệt độ phòng có tính khả thi cao. Ngoài ra khi bảo quản chế phẩm đa chủng VSV trong nhiệt độ phòng, mật độ tế bào hữu hiệu của các chủng vi sinh vật nhìn chung ít thay đổi sau các thời gian bảo quản khác nhau và có giảm nhẹ sau 6 tháng bảo quản. Như vậy kết luận chế phẩm đa chủng vi sinh vật có thể bảo quản ở nhiệt độ phòng, trong thời gian 6 tháng.

3.2. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm đa chủng vi sinh vật tới cây Thông nhựa tại vườn ươm

Số liệu đo đếm chiều cao, đường kính gốc, tỷ lệ bị bệnh, tỷ lệ cộng sinh cây Thông nhựa sau các thời gian khác nhau xử lý qua phần mềm Excel và SPSS 15.0, kết quả cho thấy phương sai là bằng nhau vì bảng Test of Homogeneity of Variances ở cột cuối có Sig (chiều cao) = 0,091, Sig (đường kính gốc) = 0,098 Sig (Tỷ lệ bị bệnh) = 1, Sig (Tỷ lệ cộng sinh) = 0,149, đều lớn hơn 0,05, thỏa mãn để điều kiện so sánh các công thức thí nghiệm. Qua phân tích xử lý số liệu kết quả đo đếm chiều cao đường kính gốc, tỷ lệ bị bệnh và tỷ lệ cộng sinh cây Thông nhựa tại vườn ươm sau các thời gian khác nhau cho thấy có sự khác nhau đáng kể ở các công thức thí nghiệm, kết quả được trình bày tại bảng 5.

Bảng 4. Số liệu thí nghiệm vườn ươm đối với Thông nhựa *Pinus merkusii*

STT	Công thức thí nghiệm	Sau 2 tháng		Sau 4 tháng		Sau 6 tháng		Sau 8 tháng		Tỷ lệ bị bệnh TB các tháng (%)	Tỷ lệ cộng sinh TB các tháng (%)
		Chiều cao (cm)	Đường kính gốc (mm)	Chiều cao (cm)	Đường kính gốc (mm)	Chiều cao (cm)	Đường kính gốc (mm)	Chiều cao (cm)	Đường kính gốc (mm)		
1	CT1(đ/c)	5,95	1,22	7,88	1,66	12,28	2,26	17,43	2,95	22,2	0,00
2	CT 2	6,43	1,32	9,88	1,92	16,78	2,92	20,63	3,12	4,62	89,5
3	CT 3	7,14	1,74	11,58	2,24	18,38	3,57	22,54	4,12	3,10	90,0
4	CT 4	6,94	1,34	10,05	2,04	16,55	3,06	19,85	3,59	4,21	85,6
5	MF1	6,85	1,41	10,15	1,91	16,65	3,11	19,78	3,48	3,42	85,1
6	P	0,001	0,000	0,001	0,00	0,001	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000

Sau các thời gian thí nghiệm có sự khác nhau đáng kể của các công thức bón chế phẩm đa chủng vi sinh vật với tỷ lệ khác nhau. Tuy nhiên qua 2 tháng thí nghiệm, cây Thông nhựa của các công thức được bón chế phẩm đa chủng vi sinh vật cao hơn so với công thức đối chứng, tuy nhiên vì thời gian thí nghiệm ngắn nên cũng chưa có sự khác biệt hoàn toàn về chiều cao và đường kính gốc cây.

Sau thời gian 4 tháng, thí nghiệm tỷ lệ về chiều cao và đường kính gốc của cây Thông

nhựa ở vườn ươm có sự khác biệt rõ ràng, sau 4 tháng đạt 6,884cm, trong khi tại công thức 3 (bón 2g chế phẩm đa chủng vi sinh vật) cho kết quả là 11,883cm (tăng 47% so với đối chứng, tăng 17% so với công thức 2, tăng 15% so với công thức 4, đặc biệt cũng tăng 15% so với bón 2g MF1. Đường kính gốc của cây Thông nhựa sau 4 tháng đạt 1,66mm. Trong khi tại công thức 3 (bón 2g chế phẩm đa chủng vi sinh vật) cho kết quả là 2,24mm (tăng 35% so với đối chứng, tăng 25% so với công thức 2,

tăng 16% so với công thức 4, và cũng tăng 16% so với bón 2g MF1.

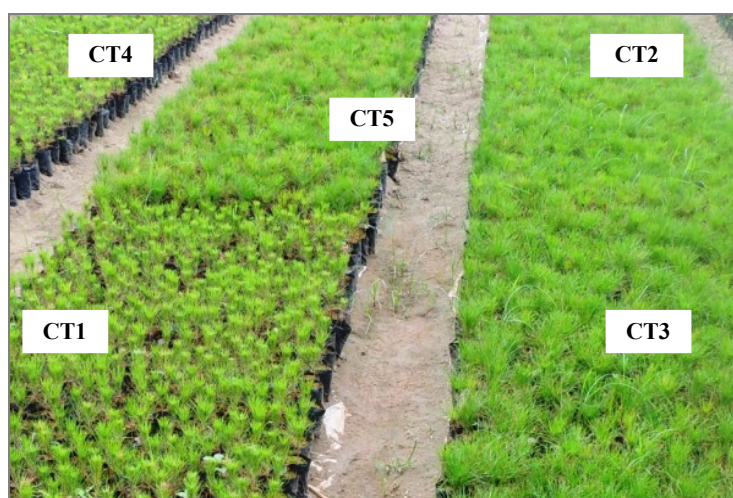
Sau 8 tháng thí nghiệm các công thức CT2 (bón 1g) chế phẩm và công thức CT4 (bón 3g) chế phẩm đều cho kết quả khá cao tăng chiều cao cây Thông nhựa khoảng hơn 20% so với đối chứng, kể cả công thức bón chế phẩm viên nén MF1 cũng cho kết quả về chiều cao tăng 21% so với đối chứng. Tuy nhiên tại công thức 3 bón (2g chế phẩm) chúng cho chiều cao vượt trội tăng hơn 23% so với đối chứng và tăng hơn các công thức bón vi sinh mật độ khác từ 15 - 18%. Đường kính gốc cây Thông nhựa tại công thức 1 (đối chứng) sau 8 tháng đạt 2,95mm, trong khi tại công thức 3 (bón 2g) chế phẩm đa chủng vi sinh vật cho kết quả là 4,12mm (tăng 28% so với đối chứng, tăng

24% so với công thức 2, tăng 15% so với công thức 4 và tăng 16% so với bón 2g MF1). Cây Thông nhựa được bón 2g chế phẩm sau 8 tháng có kết quả chiều cao và đường kính gốc là cao nhất.

Tỷ lệ bị bệnh của cây Thông nhựa sau các thời gian thí nghiệm có sự khác nhau khá rõ. Công thức đối chứng tỷ lệ bị bệnh chiếm hơn 22%. Trong khi các công thức khác được bón chế phẩm có vi khuẩn kháng nấm bệnh tỷ lệ giảm hẳn chỉ còn từ 3 - 5%, tỷ lệ này không đáng kể khi sản xuất cây con. Tỷ lệ cộng sinh còn rõ ràng hơn khi được bón nấm cộng sinh thì gần như các cây Thông nhựa đều cộng sinh nấm có ích để phát triển trong khi công thức đối chứng tỷ lệ cộng sinh là 0%.



Hình 2. Thí nghiệm nhiễm chế phẩm Thông nhựa sau 2 tháng



Hình 3. Thí nghiệm nhiễm chế phẩm bón cho Thông nhựa sau 8 tháng tuổi

IV. KẾT LUẬN

- Công thức có tỷ lệ thành phần chất mang trong chế phẩm với 10kg nguyên liệu trong đó 35% bột apatit, 35% mùn, 20% Potassium polyacrylamide, 5g bào tử hữu tính nấm *Pisolithus tinctorius*, 500ml dung dịch VSV sinh IAA, 500ml dung dịch VSV phân giải lân, 500ml dung dịch VSV đối kháng với nấm bệnh và 500ml dung dịch VSV cố định nitơ, mang lại mật độ tế bào hữu hiệu tối đa, hoạt tính của các chủng vi sinh vật không thay đổi khi được phối trộn tạo chế phẩm đa chủng vi sinh vật. Chế phẩm được bảo quản ở nhiệt độ phòng, thời gian sử dụng chế phẩm đa chủng vi sinh vật trước 6 tháng kể từ ngày sản xuất.

- Bón 2 gam chế phẩm đa chủng VSV, sau các thời gian 2 tháng ít có sự khác biệt về chiều cao và đường kính gốc. Sau 4 tháng, 6 tháng và 8 tháng bón 2 gam chế phẩm đều cho kết quả vượt trội về chiều cao và đường kính gốc (tăng 23% về chiều cao và 28% đường kính gốc) so với công thức đối chứng. Chiều cao Thông nhựa sau 8 tháng đạt 22,6cm, đường kính gốc đạt 4,12mm. Cũng tại công thức bón 2 gam chế phẩm đa chủng VSV cho tỷ lệ bị bệnh thấp nhất, tỷ lệ cộng sinh cao nhất so với các công thức vi sinh khác và công thức đối chứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Việt Cường, 2004. “Nghiên cứu sản xuất phân bón vi sinh đa chủng chức năng cho cây công nghiệp ở quy mô Pilot” - Báo cáo khoa học
2. Nguyễn Sỹ Giao. 1996. Remarks on *Mycorrhiza* of some tree species in Vietnam. Proc. Inter. Workshop BIO-REFOR. Bangkok.
3. Jinwi Kim, 2000. Isolation and purification of antifungal compound and lactamase inhibitor from endophytic bacteria MS thesis, SNU
4. Fries N., 1978. Basidiospore germination in some mycorrhiza forming hymenomycetes. Transactions of the British Mycological Society 70: 319 - 324.

Người thẩm định: PGS.TS. Phạm Quang Thu