

Khảo sát khả năng tổng hợp NH_4^+ và ảnh hưởng của phân UREA đến hoạt động của các chủng vi khuẩn cố định đạm phân lập từ rễ cây cao su

Chiều ngày 20/06/2017, Trung tâm Hạt nhân Tp. Hồ Chí Minh đã tổ chức seminar khoa học về ***Khảo sát khả năng tổng hợp NH_4^+ và ảnh hưởng của phân UREA đến hoạt động của các chủng vi khuẩn cố định đạm phân lập từ rễ cây cao su***, do Cử nhân Nguyễn Ngọc Chí Nhân, cán bộ Phòng Sinh học phóng xạ trình bày.

Tham dự seminar có các cán bộ nghiên cứu của Trung tâm Hạt nhân Tp. Hồ Chí Minh



Những nội dung chính trong báo cáo:

Sau khi phân lập được 16 chủng vi khuẩn sống nội sinh trong rễ cây cao su, đề tài tiến hành khảo sát khả năng tổng hợp NH_4^+ để sàng lọc các chủng có khả năng tổng hợp đạm cao, đồng thời đánh giá mức độ ảnh hưởng của phân urea lên sự sinh trưởng và hoạt động tổng hợp đạm của các chủng. Kết quả khảo sát khả năng tổng hợp NH_4^+ cho thấy có 9 chủng cho khả năng tổng hợp NH_4^+ cao, trong đó chủng CM.V03 và CM.C01 cho kết quả cao nhất với nồng độ lần lượt là 99,742 $\mu\text{g/ml}$ và 62,651 $\mu\text{g/ml}$. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của phân urea lên sinh trưởng và hoạt động tổng hợp đạm của hai chủng CM.C01 và CM.V03 cho thấy chủng CM.C01 bị ức chế sinh trưởng ở cả ba nồng độ khảo sát (1, 2, 3g/l urea), CM.V03 bị ức chế sinh trưởng ở nồng độ urea 3g/l, cả hai chủng đều bị giảm khả năng tổng hợp đạm khi bổ sung urea vào trong môi trường nuôi cấy.

I. VẬT LIỆU, PHƯƠNG PHÁP

1) **Vật liệu:** 16 chủng vi khuẩn được phân lập từ rễ cây cao su

2) **Phương pháp:**

- *Đo nồng độ NH_4^+ bằng phương pháp so màu indophenol:*

- Dụng đường chuẩn dung dịch NH_4^+
- 5ml dung dịch mẫu, thêm 5ml buffer (NaOCl và NaOH), thêm 5ml thuốc thử (phenol và nitroprusside), vortex đều, để ổn định 30 phút và đo $\text{OD}_{636\text{nm}}$.
- Dựa vào đường chuẩn suy ra nồng độ NH_4^+ tương ứng.

- *Bố trí thí nghiệm:*

Khảo sát
khả năng
tổng hợp
 NH_4^+

- Hoạt hóa 16 chủng vi khuẩn
- Cấy chuyền, tăng sinh khối trong môi trường BMS
- Hút dịch khuẩn, ly tâm, thu dịch nổi, pha loãng với nước cất.
- Đo nồng độ NH_4^+ dịch khuẩn bằng phương pháp indophenol ở thời điểm ngay khi cấy, sau 1, 2, 3, 4, 5, 6 ngày nuôi
- Thí nghiệm lặp lại 3 lần.

Khảo sát
ảnh hưởng
Urea lên sự
sinh trưởng

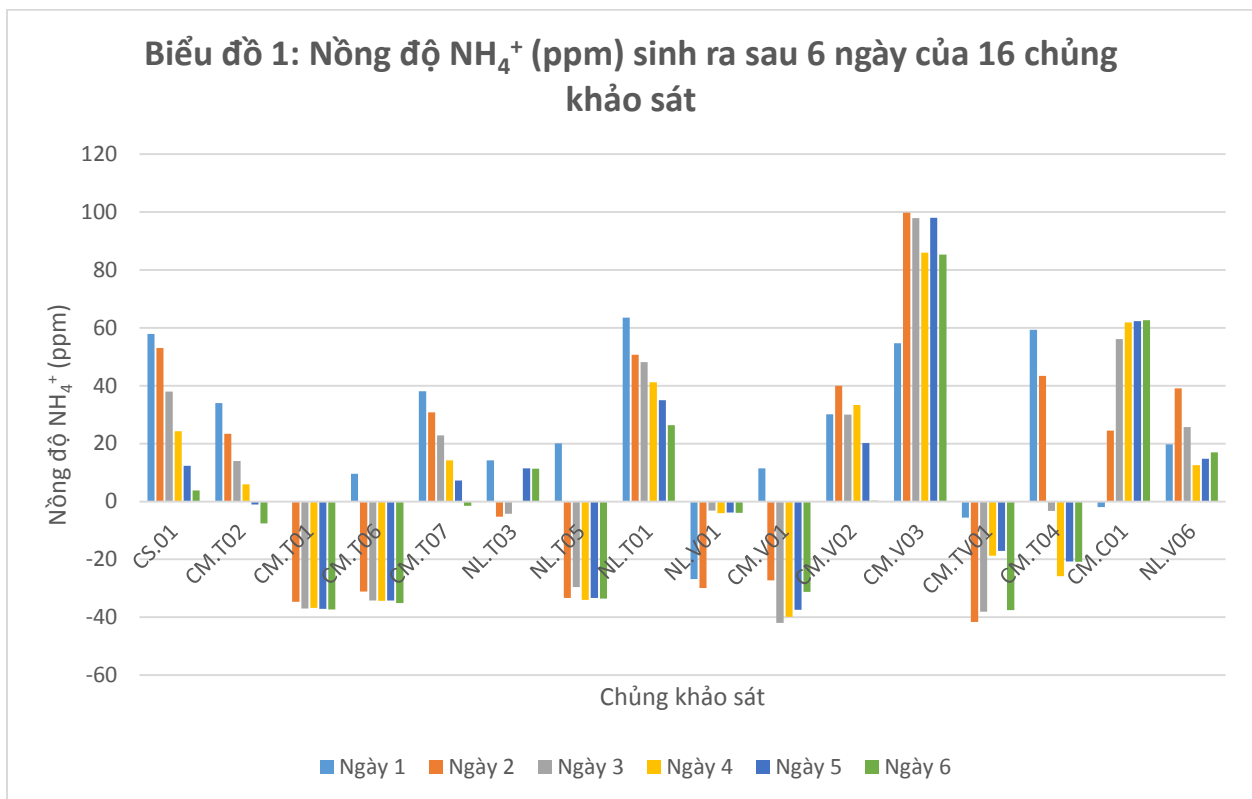
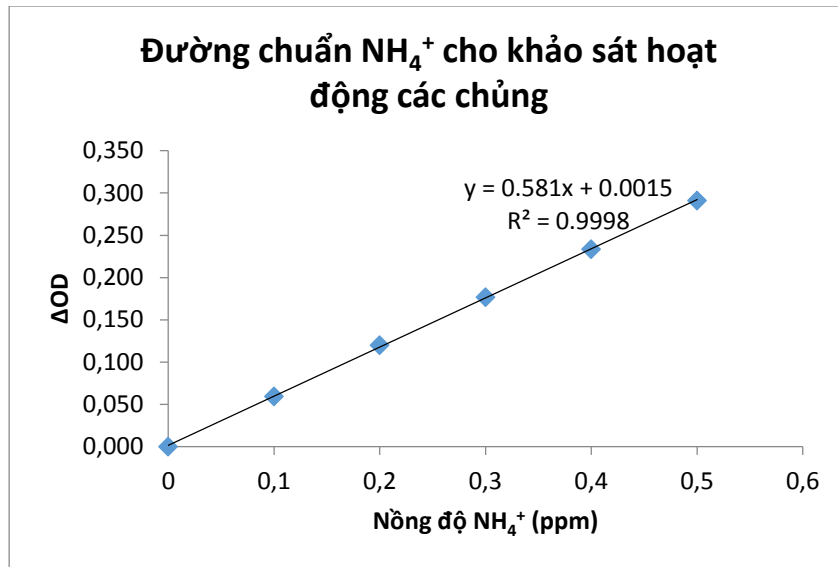
- Nuôi tăng sinh hai chủng CM.C01 và CM.V03 trong môi trường dinh dưỡng BMS.
- Trải đều lên đĩa thạch agar BMS có bổ sung urea với các nồng độ: 0 (đối chứng), 1, 2 và 3 g/L.
- Thí nghiệm lặp lại 3 lần.

Khảo sát ảnh
hưởng của
Urea lên hoạt
động tổng hợp
đạm

- Hoạt hóa hai chủng CM.C01 và CM.V03
- Cấy chuyền tăng sinh trong môi trường có bổ sung urea các nồng độ 0 (đối chứng), 1, 2 và 3g/L,
- Đo nồng độ NH_4^+ ngay khi cấy, và sau 1, 2, 3, 4, 5, 6 ngày nuôi bằng phương pháp so màu indophenol blue.
- Thí nghiệm lặp lại 3 lần.

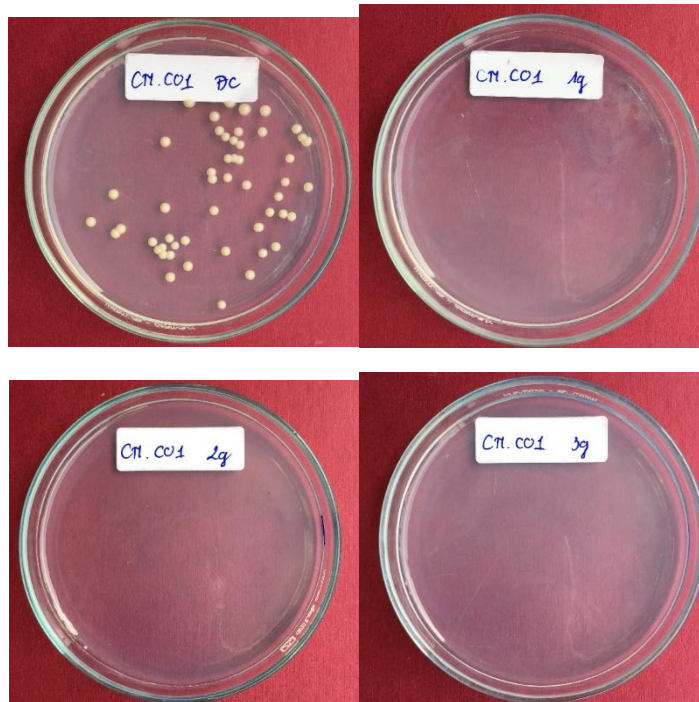
II. KẾT QUẢ

1) **Kết quả khảo sát khả năng tổng hợp NH_4^+**

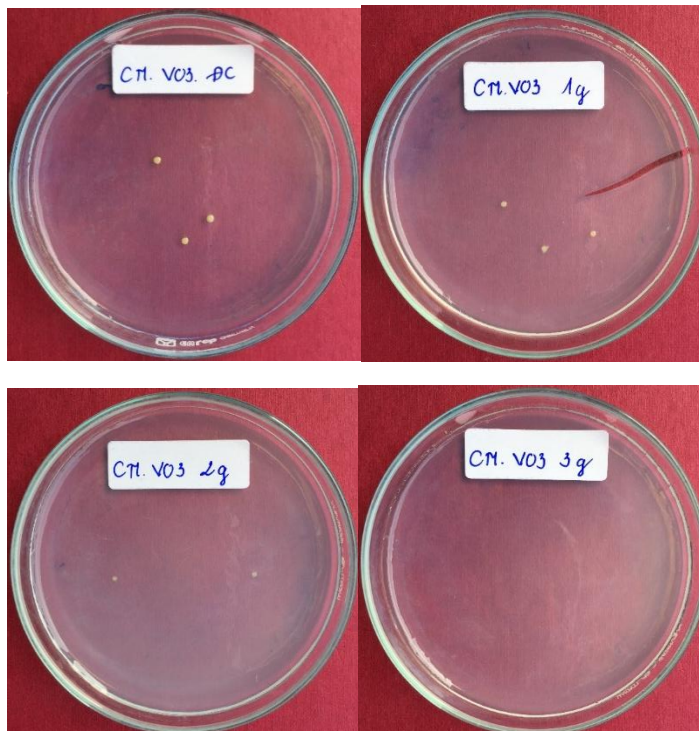


Từ **Biểu đồ 1**, ta thấy có 7 chủng (CM.T01, CM.T06, NL.T03, NL.T05, NL.V01, CM.V01, CM.TV01) cho khả năng tổng hợp NH_4^+ yếu, có xu hướng sử dụng lại NH_4^+ có trong môi trường nuôi cấy để tăng sinh khối. Các chủng còn lại đa số tổng hợp NH_4^+ cao ngay từ ngày đầu tiên, sau đó giảm dần qua các ngày tiếp theo. Trong số đó nổi bật nhất là hai chủng: CM.V03 cho lượng đạm tổng hợp cao nhất ở ngày 2 (99,742 ppm) và duy trì hàm lượng NH_4^+ trong môi trường ở mức cao các ngày tiếp theo; chủng CM.C01 có tốc độ sinh trưởng ban đầu khá chậm nhưng có xu hướng tổng hợp NH_4^+ ngày một nhiều theo thời gian.

2) Kết quả khảo sát ảnh hưởng urea lên sinh trưởng:



Hình 1: Ảnh hưởng urea lên sinh trưởng của chủng CM.C01

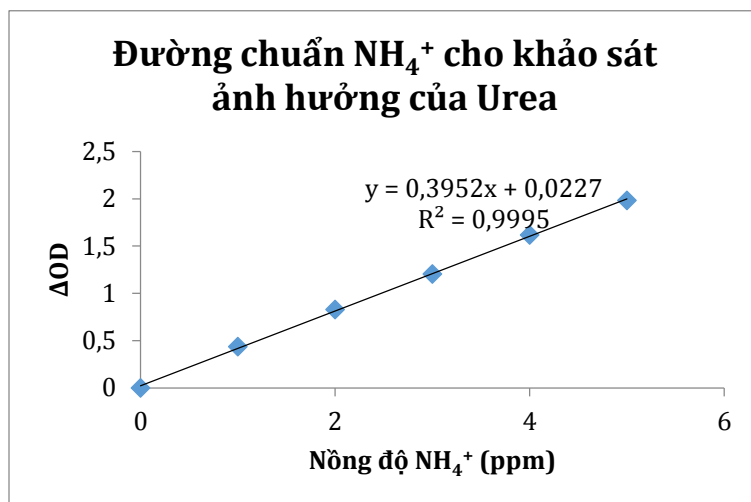


Hình 2: Khảo sát ảnh hưởng urea lên sinh trưởng của chủng CM.V03

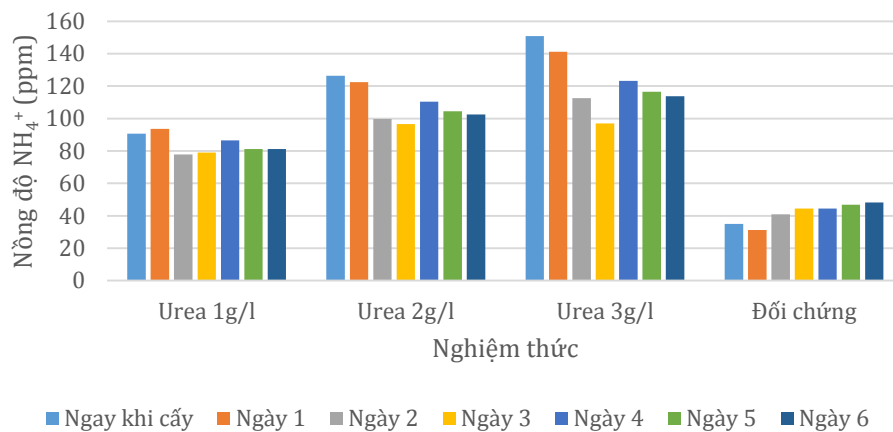
Chủng CM.C01 bị ức chế sinh trưởng ở cả ba nồng độ urea khi không xuất hiện bất kỳ khuẩn lạc nào (**Hình 1**). Chủng CM.V03 bị ức chế sinh trưởng ở nồng độ urea 3 g/L, các nồng độ còn lại khuẩn lạc mọc chậm hơn đối chứng 1-2 ngày (**Hình**

2). Điều đó cho thấy nồng độ urea tăng dần sẽ gây ảnh hưởng đến sức sống của các chủng vi khuẩn cố định đạm nội sinh trong rễ cao su mà đề tài khảo sát.

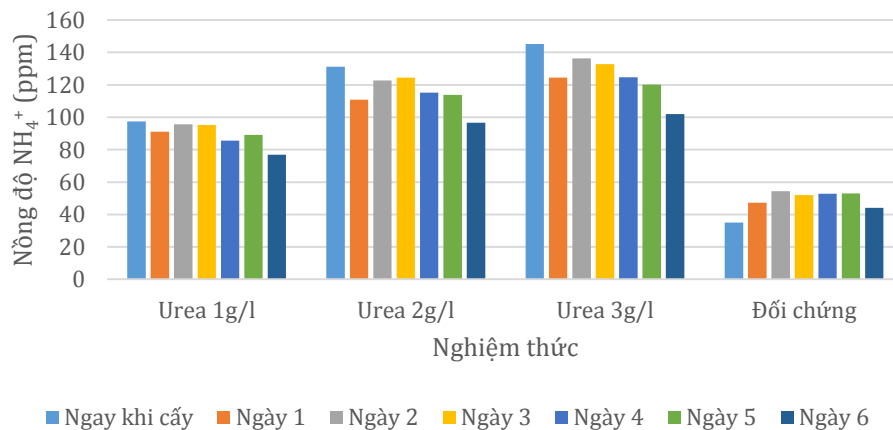
3) Kết quả khảo sát ảnh hưởng urea lên hoạt động tổng hợp đạm:



Biểu đồ 2: Nồng độ NH_4^+ (ppm) đo được sau 6 ngày của chủng **CM.C01**



Biểu đồ 3: Nồng độ NH_4^+ (ppm) đo được sau 6 ngày của chủng **CM.V03**



Từ **Biểu đồ 2** và **Biểu đồ 3** cho thấy ở cả hai chủng, các nghiệm thức có bổ sung urea, vi khuẩn có xu hướng sử dụng nguồn NH_4^+ sẵn có trong môi trường để tăng sinh khối trong những ngày đầu tiên, sau đó có tổng hợp NH_4^+ một phần ở ngày tiếp theo nhưng lượng tổng hợp khá ít và tiếp tục sử dụng lại nguồn đạm trong các ngày tiếp theo. So với đối chứng, các chủng vi khuẩn có xu hướng sản sinh ra thêm NH_4^+ vào môi trường nên nồng độ NH_4^+ trong môi trường ngày một tăng so với lượng gốc ban đầu. Kết quả trên cho thấy urea có ảnh hưởng đến hoạt động cố định đạm của các chủng khảo sát.

Trung tâm Hạt nhân Tp. Hồ Chí Minh