

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN ĐÒNG VI KHUẨN CHỊU MẶN CÓ KHẢ NĂNG HÒA TAN LÂN TỪ NỀN ĐẤT LÚA TRONG MÔ HÌNH CANH TÁC LÚA-TÔM TẠI MỘT SỐ TỈNH ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Nguyễn Khởi Nghĩa✉, Nguyễn Thị Kiều Oanh

Đại học Cần Thơ

✉ Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: nknghia@ctu.edu.vn

Ngày nhận bài: 14.01.2017

Ngày nhận đăng: 28.3.2017

TÓM TẮT

Vi sinh vật đất đóng vai trò quan trọng trong việc gia tăng lượng lân hữu dụng giúp cây trồng hấp thu dễ dàng. Mục tiêu của nghiên cứu nhằm phân lập, tuyển chọn và định danh vi khuẩn hòa tan lân tốt nhất từ 15 mẫu đất nhiễm mặn trong mô hình canh tác lúa-tôm ở Bạc Liêu, Cà Mau, Sóc Trăng, Kiên Giang và Bến Tre trên môi trường NBRIP chứa 1% NaCl. Hàm lượng lân hòa tan được xác định bằng phương pháp hiện màu Molybdate. Kết quả nghiên cứu cho thấy 95 dòng vi khuẩn phân lập thể hiện định tính chức năng hòa tan lân trên môi trường NBRIP bổ sung 1% NaCl thông qua sự hiện diện của vòng halo bên ngoài khuẩn lạc. Hai mươi trong tổng số 95 dòng vi khuẩn phân lập thể hiện khả năng hòa tan lân rất cao ($>1000 \text{ mg.L}^{-1}$). Dòng vi khuẩn ký hiệu BL1-10 hòa tan lân cao nhất đạt 2044 mg.L^{-1} sau 5 ngày thí nghiệm. Dòng vi khuẩn này hòa tan lân tốt ở nhiệt độ 40°C , độ mặn từ 0,5-5% NaCl và mức pH từ 3-5. Thuốc trừ bệnh cây trồng: DA roral, Topsin M và Antracol 70WP không ảnh hưởng đến mật số cũng như hoạt tính hòa tan lân của BL1-10. Tuy nhiên, dòng vi khuẩn BL1-10 bị ức chế hoàn toàn về mật số và chức năng hòa tan lân bởi thuốc trừ bệnh cây trồng, Ridomil Gold. Dòng vi khuẩn BL1-10 được định danh như *Burkholderia* sp. BL1-10. Tóm lại, dòng vi khuẩn *Burkholderia* sp. BL1-10 có tiềm năng ứng dụng làm phân bón sinh học cho canh tác lúa trên nền đất nhiễm mặn ở ĐBSCL.

Từ khóa: Đất mặn, *Burkholderia* sp. BL1-10, lân, phân lập, vi khuẩn đất và vi khuẩn hoà tan lân.

GIỚI THIỆU

Lân (P) là một trong những yếu tố quan trọng đối với cây trồng. Lượng lân dễ tiêu tự nhiên trong môi trường đất thường rất thấp, phần lớn ở dạng đá, khoáng và quặng khó tan (Goldstein, 1994). Lân thường bị bất động dưới dạng hấp phụ bởi keo đất và các thành phần khoáng sét của đất. Bón P và tăng cường độ hòa tan của P khó tiêu là những biện pháp quan trọng và cần thiết trong sản xuất nông nghiệp (Nguyễn Xuân Thành và *ctv.*, 2009). Lân thường được bổ sung vào trong đất chủ yếu dưới dạng phân bón, tuy nhiên, khi bón lân vào trong đất, nhóm phosphate mang điện tích âm rất dễ bị cố định thông qua sự kết tủa với các cation mang điện tích dương như: Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} và Al^{3+} . Do đó, một lượng lớn phân bón lân bị cố định sau khi được bón vào trong đất và chúng không thể được hấp thụ bởi cây trồng (Kenenen *et al.*, 2010).

Vi sinh vật trong đất có vai trò rất quan trọng trong việc hòa tan lân bất động trong đất trở thành dạng hữu dụng cho cây trồng. Có rất nhiều nghiên cứu trong và ngoài nước về phân lập, định danh và ứng dụng một số dòng vi khuẩn có khả năng hòa tan lân bị cố định trong đất giúp tăng năng suất cây trồng một cách đáng kể như: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Enterobacter*... (Nahas *et al.*, 1990). Tuy nhiên, các dòng vi khuẩn hòa tan lân được phân lập trong các nghiên cứu trước đây rất nhạy cảm với môi trường mặn và không phù hợp để ứng dụng cho vùng đất canh tác nhiễm mặn. Trong khi đó, hiện nay một số tỉnh ven biển ở Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) tình trạng xâm nhập mặn diễn ra ngày càng nghiêm trọng do biến đổi khí hậu. Thêm vào đó, ĐBSCL hiện là vùng trọng điểm cho phát triển và cung cấp lúa gạo của cả nước, chiếm 80% diện tích đất sản xuất nông nghiệp của Đồng Bằng. Tuy nhiên, các nghiên cứu về vi sinh vật hòa tan lân trong đất mặn ở khu vực Đồng Bằng Sông Cửu Long

rất hạn chế. Do đó, việc sử dụng dòng vi khuẩn chịu mặn đồng thời có khả năng hòa tan P bất động trong đất nhằm tận dụng nguồn lân sẵn có, giúp giảm chi phí trong sản xuất và giảm thiểu ô nhiễm môi trường là một giải pháp thật sự cần thiết và cấp bách. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu phân lập vi khuẩn nền đất nhiễm mặn trong mô hình canh tác lúa tôm có khả năng hòa tan lân hiệu quả trong sự hiện diện của nồng độ muối cao để ứng dụng như nguồn phân bón sinh học tiềm năng cho cây trồng trong vùng đất nhiễm mặn.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thu mẫu

Mười lăm mẫu đất (03 mẫu đất cho mỗi tỉnh) trên nền đất lúa trong mô hình canh tác lúa-tôm tại 5 tỉnh Đồng Bằng Sông Cửu Long gồm Bạc Liêu, Bến Tre, Cà Mau, Kiên Giang và Sóc Trăng được thu thập. Các mẫu được thu trên những ruộng cho năng suất lúa cao trong các vụ canh tác trước đây. Mẫu đất được thu vào cuối vụ lúa với độ sâu 0-20 cm ở tầng mặt.

Phân lập vi khuẩn chịu mặn có khả năng hòa tan lân trên môi trường chuyên biệt NBRIP

Cân 10 g đất (dựa vào trọng lượng khô) cho vào chai nắp xanh 250 mL tiệt trùng chứa 90 mL Buffer phosphate (23,99g NaH_2PO_4 và 15,59g Na_2HPO_4 trong 1 L nước khử khoáng tiệt trùng. Mẫu được đặt trên máy lắc với tốc độ 150 vòng/phút trong 1 giờ. Dịch trích vi khuẩn tiến hành pha loãng với dãy nồng độ pha loãng khác nhau (hệ số 10). Một lượng 50 μL dịch trích vi khuẩn ở các nồng độ pha loãng được trải đều trên bề mặt môi trường NBRIP đặc chứa 10 g D-Glucose; 5 g $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; 5 g $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$; 0,25 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,2 g KCl; 0,1 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ trong 1000 mL nước khử khoáng. Sau đó bổ sung 1% NaCl và hiệu chỉnh về pH 7. Sau 10 ngày ủ tiến hành quan sát vòng sáng bao xung quanh khuẩn lạc vi khuẩn, còn gọi là vòng halo, vòng thể hiện vi khuẩn có khả năng hòa tan lân. Sau đó, tiến hành tách dòng và cấy chuyển tiếp tục các dòng này trên môi trường NBRIP cho đến khi đạt được dòng thuần.

Chọn lọc dòng vi khuẩn hòa tan lân cao nhất từ 95 dòng vi khuẩn đã thể hiện đỉnh tính khả năng hòa tan lân trên môi trường NBRIP

Tổng cộng có 95 dòng vi khuẩn được phân lập từ 15 mẫu đất nhiễm mặn thể hiện đỉnh tính khả năng hòa tan lân. Các dòng này được tiến hành đánh

giá định lượng khả năng hòa tan lân của chúng trong môi trường NBRIP bổ sung 1% NaCl.

Chuẩn bị nguồn vi khuẩn

Các dòng vi khuẩn thử nghiệm được nhân mật số trong bình tam giác 100 mL chứa 30 mL dung dịch giàu dinh dưỡng TSB (gồm 30 g Tryptone Soya Broth, trong 1 L nước khử khoáng) bổ sung 1% NaCl trong 3 ngày. Thu sinh khối vi khuẩn bằng cách ly tâm với tốc độ 6000 vòng/phút. Sau 4 lần rửa sinh khối với nước khử khoáng tiệt trùng, tiến hành hiệu chỉnh độ đục của dung dịch chứa vi khuẩn bằng máy đo quang phổ về OD 600 nm = 0,7.

Bố trí thí nghiệm

Hút 1 mL dịch vi khuẩn đã chuẩn bị ở phần Chuẩn bị nguồn vi khuẩn cho vào bình tam giác 100 mL chứa 29 mL môi trường NBRIP lỏng bổ sung 1% NaCl, mỗi dòng vi khuẩn được bố trí với 3 lần lặp lại. Các bình tam giác chứa mẫu được lắc trên máy lắc với tốc độ 120 vòng/phút ở nhiệt độ phòng thí nghiệm. Nghiệm thức đối chứng được thực hiện tương tự nhưng không chủng vi khuẩn vào. Lấy chỉ tiêu hàm lượng lân hòa tan trong môi trường nuôi cấy theo các ngày 0, 1, 3, 5, 7, 10, và 15 ngày sau khi chủng vi khuẩn. Hàm lượng lân hòa tan bởi vi khuẩn trong môi trường nuôi cấy được xác định bằng phương pháp hiện màu Molybdate. Mẫu được đo trên máy so màu quang phổ (Spectrometer Thermo Scientific, Multiskan Spectrum) ở bước sóng 880nm.

Khảo sát ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường lên mật số và khả năng hòa tan lân của dòng vi khuẩn BL1-10 thể hiện định lượng khả năng hòa tan lân cao nhất

Dòng BL1-10 cho kết quả hòa tan lân tốt nhất trong tổng số 20 dòng tuyển chọn để thử nghiệm trong cùng một điều kiện thí nghiệm. Khả năng hòa tan lân của dòng vi khuẩn này đạt 2044 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{P}_2\text{O}_5$ sau 5 ngày bố trí thí nghiệm trong môi trường NBRIP lỏng bổ sung 1% NaCl. Mục tiêu của nội dung nghiên cứu này nhằm đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường lên mật số cũng như khả năng hòa tan lân của dòng vi khuẩn này.

Chuẩn bị nguồn vi khuẩn

Qui trình chuẩn bị nguồn vi khuẩn BL1-10 cho bố trí thí nghiệm tương tự và được mô tả như ở phần trên. Xác định mật số vi khuẩn BL1-10 ban đầu bằng phương pháp nhỏ giọt (Hoben and Somasegaran, 1982) như sau: tiến hành pha loãng dung dịch vi khuẩn theo hệ số 10 với các nồng độ pha loãng khác

nhau. Hút 50 μL dung dịch vi khuẩn của mỗi nồng độ pha loãng và nhỏ 5 giọt lên trên bề mặt môi trường TSA (30g Tryptose Soybean Broth và 15g agar pha trong một lít nước cất).

Đánh giá ảnh hưởng của nồng độ mặn lên mật số và khả năng hòa tan lân của dòng vi khuẩn BL1-10

Hút 1 mL dịch vi khuẩn sau khi đã được hiệu chỉnh $\text{OD}_{600\text{nm}}=0,7$ ($1,6 \times 10^9$ CFU.mL⁻¹) (được chuẩn bị theo qui trình ở phần Chuẩn bị nguồn vi khuẩn ở bên trên) chủng vào bình tam giác có chứa sẵn 29 mL môi trường NBRIP lỏng đã được tiệt trùng có các nồng độ NaCl khác nhau như sau: 0,5%, 1%, 3%, 5% và 10% NaCl, mỗi nghiệm thức được lặp lại 4 lần (mật số vi khuẩn ở thời điểm ban đầu $5,2 \times 10^7$ CFU.mL⁻¹). Mẫu được lắc trên máy lắc với tốc độ 120 vòng/phút ở điều kiện nhiệt độ phòng thí nghiệm và trong tối. Mỗi nồng độ mặn có nghiệm thức đối chứng đi kèm (không bổ sung vi khuẩn). Lấy mẫu để xác định chỉ tiêu về mật số vi khuẩn và hàm lượng lân hòa tan trong môi trường nuôi cấy sau 1, 3, 5, 7 ngày bố trí thí nghiệm.

Đánh giá ảnh hưởng của pH môi trường lên mật số và khả năng hòa tan lân của dòng vi khuẩn BL1-10

Toàn bộ qui trình và cách bố trí thí nghiệm được thực hiện tương tự như thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của nồng độ mặn lên mật số và khả năng hòa tan lân của dòng vi khuẩn BL1-10 ở trên. Tuy nhiên, môi trường NBRIP chứa 1% NaCl lỏng có 4 mức pH khác nhau: 3, 5, 7 và 9, mỗi nghiệm thức có 4 lần lặp lại. Mật số vi khuẩn và hàm lượng lân hòa tan trong môi trường nuôi cấy sau 1, 3, 5 và 7 ngày bố trí thí nghiệm được xác định.

Đánh giá ảnh hưởng của thuốc trừ bệnh cây trồng lên mật số và khả năng hòa tan lân của dòng vi khuẩn BL1-10

Bốn loại thuốc trừ bệnh cây trồng phổ biến được sử dụng trong thí nghiệm gồm: 1) DA roral (Hoạt chất: Iprodione 100 g.kg⁻¹, Carbendazim 400 g.kg⁻¹), 2) Topsin M (Hoạt chất: Thiophanate Methyl, 700 g.kg⁻¹), 3) Antracol 70WP (Hoạt chất: Propineb 700 g.kg⁻¹) và 4) Ridomil Gold (Hoạt chất: Metalaxyl M 40 g.kg⁻¹, Mancozeb 640 g.kg⁻¹). Mỗi thuốc trừ bệnh được bố trí với 3 lần lặp lại. Dịch vi khuẩn đã hiệu chỉnh $\text{OD}_{600\text{nm}}=0,7$ ($2,4 \times 10^{10}$ CFU.mL⁻¹) được hút 1mL chủng vào bình tam giác 100 mL chứa 29 mL môi trường NBRIP lỏng chứa 1% NaCl và thuốc trừ bệnh riêng lẻ (mật độ vi khuẩn ở thời điểm ban đầu

là $8,0 \times 10^8$ CFU.mL⁻¹). Nghiệm thức đối chứng chỉ bổ sung dịch vi khuẩn có cùng mật số so với các nghiệm thức khác. Mẫu được lắc trên máy lắc với tốc độ 120 vòng.phút⁻¹ ở nhiệt độ phòng và trong tối. Mật số vi khuẩn và hàm lượng lân hòa tan trong môi trường nuôi cấy được xác định sau 1, 3, 5 và 7 ngày bố trí thí nghiệm.

Định danh dòng vi khuẩn BL1-10 có khả năng hòa tan lân cao nhất bằng phương pháp giải trình tự đoạn gen 16S rRNA

DNA của vi khuẩn BL1-10 cho khả năng hòa tan lân cao nhất được tách chiết bằng cách sử dụng CTAB 3% (Ihrmark *et al.*, 2012). Sau đó, sản phẩm trích DNA được khuếch đại bằng phản ứng PCR với trình tự nucleotide như sau: 27F: 5' AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG 3' và 1492R: 5' GGC TAC CTT GTT ACG ACT T 3' nhằm vào đoạn gen 16S-rRNA. Các bước trong phản ứng PCR như sau: bước 1: 94°C trong 5 phút; bước 2: 94°C trong 1 phút; bước 3: 55°C trong 1 phút; bước 4: 72°C trong 2 phút; bước 5: lặp lại bước 2 thêm 34 chu kỳ; bước 6: 72°C trong 7 phút và bước 7: 4°C trong thời gian không xác định. Thành phần của một phản ứng PCR với tổng thể tích 25 μL như sau: 12,5 μL Go Taq Green Master Mix, 0,5 μL môi xuôi (10 μM), 0,5 μL môi ngược (10 μM), 10,5 μL nước không chứa DNA và 1 μL DNA tinh sạch. Kết quả giải trình tự được so sánh và dò tìm trên ngân hàng gen thế giới trên trang web <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> để xác định mức độ loài của hai dòng vi khuẩn khảo sát.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả phân lập vi khuẩn có khả năng hòa tan lân từ nền đất nhiễm mặn trong mô hình canh tác lúa tôm ở 5 tỉnh ĐBSCL

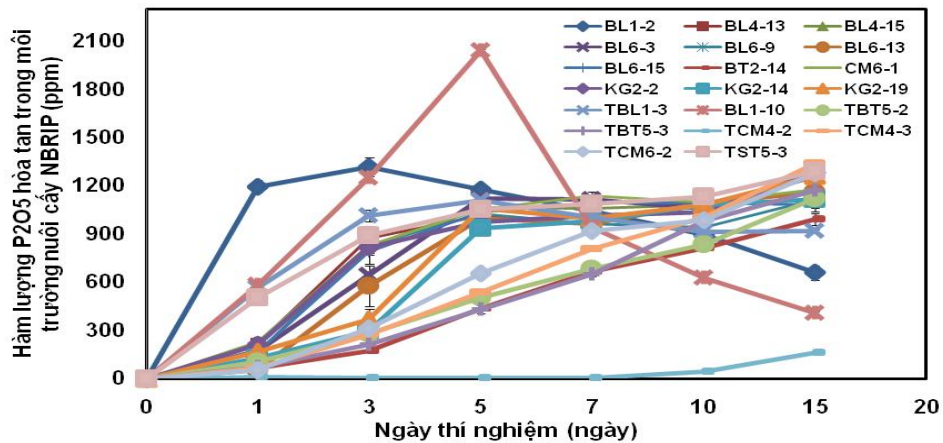
Từ 15 mẫu đất nhiễm mặn thu trên nền đất ruộng trong mô hình canh tác lúa-tôm ở 5 tỉnh ven biển Đồng Bằng Sông Cửu Long có 95 dòng vi khuẩn phân lập được định tính là có khả năng hòa tan lân thông qua việc thể hiện vòng halo bên ngoài khuẩn lạc trên môi trường NBRIP. Kết quả ba mẫu đất thu từ mô hình canh tác lúa-tôm ở tỉnh Bạc Liêu có chứa vi khuẩn hòa tan lân cao nhất (28/95), chiếm 29,50%, thấp nhất ở 3 mẫu đất thu từ tỉnh Sóc Trăng (7/95), chiếm 7,30%. Ba tỉnh còn lại gồm Bến Tre, Cà Mau và Kiên Giang có số dòng vi khuẩn có khả năng hòa tan lân lần lượt là 22 dòng, 19 dòng và 19 dòng vi khuẩn, chiếm 23%, 20%, và 20%. Như vậy,

kết quả này cho thấy mặc dù được thu mẫu trên cùng một mô hình canh tác lúa-tôm trên nền đất nhiễm mặn, tuy nhiên, số dòng vi khuẩn hòa tan lân và đa dạng về hình thái khuẩn lạc vi khuẩn của chúng là khác nhau. Điều này cho thấy yếu tố về địa lý và mức độ nhiễm mặn của đất thu mẫu cũng là một trong những nhân tố góp phần vào sự khác biệt này.

Khả năng hòa tan lân của 20 dòng vi khuẩn tuyển chọn

Kết quả về khả năng hòa tan lân của 20 dòng vi khuẩn thể hiện khả năng hòa tan lân cao nhất được bố trí trong cùng một thí nghiệm và điều kiện thí nghiệm được trình bày ở Hình 1. Kết quả cho thấy dòng vi khuẩn BL1-10 hòa tan lân cao nhất vào thời điểm 5 ngày thí nghiệm, đạt 2044 mg.L⁻¹ P₂O₅ và khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05) so với các dòng vi khuẩn còn lại. Do đó, dòng vi khuẩn BL1-10 này được chọn cho các nghiên cứu tiếp theo. Kết quả hòa tan lân của dòng vi khuẩn này cho thấy có khả năng hòa tan lân Ca₃(PO₄)₂ dạng khó tan rất cao so với các kết quả công bố trước đây về dòng vi khuẩn

hòa tan lân được phân lập. Một vài kết quả nghiên cứu trước đây về vi khuẩn hòa tan lân như nghiên cứu của Walpola và đồng tác giả (2012) cho thấy dòng vi khuẩn phân lập *Burkholderia anthina* hòa tan được lân dạng Ca₃(PO₄)₂ trong môi trường NBRIP với hàm lượng đạt cao nhất 665 mg.L⁻¹ P₂O₅ sau 7 ngày thí nghiệm. Ngoài ra, một nghiên cứu khác từ mẫu vật liệu phong hóa trên môi trường Aleksandrov với nguồn lân khó tan là quặng Apatite của tác giả Dương Xuân Đào (2011) đã phân lập được dòng vi khuẩn có ký hiệu HQ9C có khả năng hòa tan cao nhất đạt 21,33 mg.L⁻¹ P₂O₅ sau 10 ngày thử nghiệm. Đồng thời, tác giả Lê Thị Đan Thanh (2011) phân lập dòng vi khuẩn có ký hiệu ĐD6B từ vật liệu đá vôi ở Kiên Giang có khả năng hòa tan lân sau 10 ngày đạt 48,45 mg.L⁻¹ P₂O₅. Tóm lại, dòng vi khuẩn BL1-10 phân lập được trong nghiên cứu này cho thấy có khả năng hòa tan lân rất cao và cao hơn rất nhiều so với các dòng vi khuẩn phân lập trước đây đã được công bố và tiềm năng ứng dụng của dòng vi khuẩn này cho canh tác lúa trên vùng đất nhiễm mặn là rất cao.



Hình 1. Diễn biến hàm lượng lân hòa tan trong môi trường NBRIP lỏng chứa 1% NaCl bởi 20 dòng vi khuẩn tuyển chọn (n = 4, độ lệch chuẩn).

Ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường lên mật số và khả năng hòa tan lân của dòng vi khuẩn BL1-10

Ảnh hưởng của độ mặn lên mật số và khả năng hòa tan lân của dòng vi khuẩn BL1-10

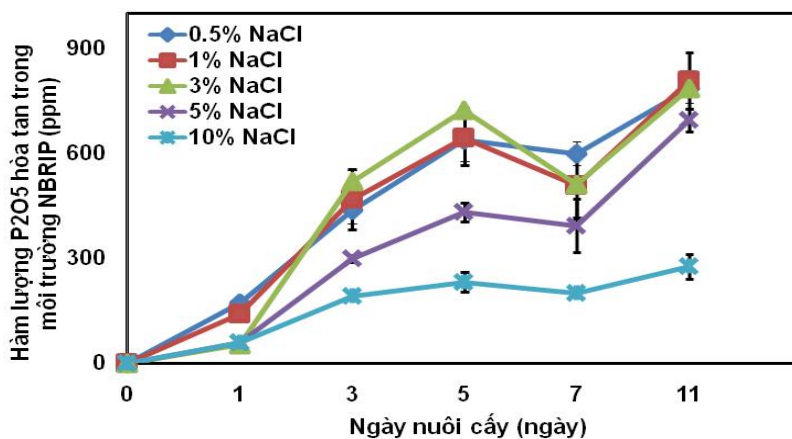
Kết quả đánh giá ảnh hưởng của nồng độ muối khác nhau lên khả năng hòa tan lân của dòng vi khuẩn BL1-10 trong môi trường NBRIP được trình

bày ở Hình 2. Kết quả cho thấy trong dãy nồng độ NaCl khác nhau từ 0,5-10%, dòng BL1-10 thể hiện khả năng hòa tan lân khác nhau. Dòng vi khuẩn hòa tan lân cao BL1-10 có khả năng chịu được nồng độ mặn lên đến 10% vì ở nồng độ mặn 10% đã không ức chế khả năng hòa tan lân của dòng vi khuẩn này, chỉ làm giảm khả năng hòa tan lân của nó so với nghiệm thức có nồng độ mặn thấp hơn. Nhìn chung, hàm lượng lân hòa tan tăng liên tục ở các nghiệm

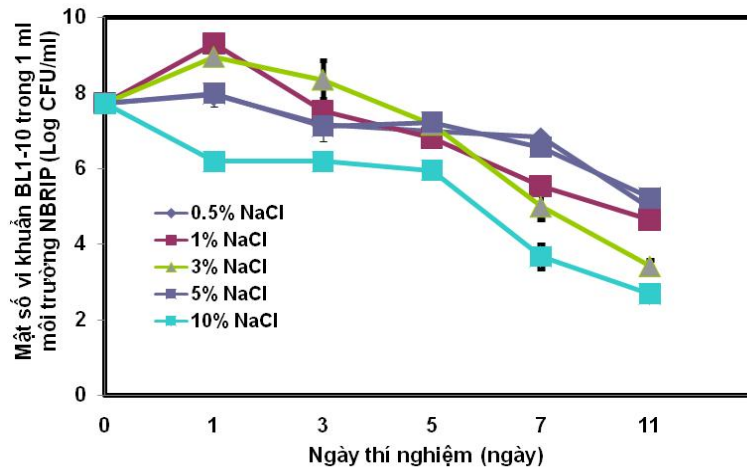
thức trong giai đoạn từ 0 đến 5 ngày và bắt đầu giảm ở thời điểm sau 5 ngày bố trí thí nghiệm. Hàm lượng lân hòa tan trong môi trường nuôi cấy lỏng bởi dòng vi khuẩn BL1-10 ở 3 nghiệm thức: 0,5%, 1% và 3% NaCl không khác biệt thống kê khi so sánh với nhau, nhưng cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với 2 nghiệm thức còn lại (5% và 10% NaCl). Việc giảm khả năng hòa tan lân của vi khuẩn khi độ mặn của môi trường nuôi cấy tăng lên có thể được giải thích là do hàm lượng muối trong môi trường nuôi cấy đã ảnh hưởng đến sự phát triển và nhân đôi tế bào của vi khuẩn do đó, ảnh hưởng đến khả năng hòa tan lân, hoặc cũng có thể là do ion Cl⁻ có khả năng cố định hoặc trung hòa những proton hoặc acid được tiết ra bởi vi khuẩn nhằm hòa tan lân. Như vậy, dòng vi khuẩn hòa tan lân cao BL1-10 vẫn có khả năng hòa tan lân cao trong môi trường có độ mặn lên đến 3% và ở nồng độ mặn 5% vẫn còn an toàn cho dòng vi khuẩn BL1-10 tiết ra phosphatase để hòa tan lân khó tan. Do đó, dòng vi khuẩn này hoàn toàn có thể được dùng như dạng phân bón vi sinh dùng trong canh tác lúa trên nền đất nhiễm mặn giúp cung cấp lượng lân hữu dụng vốn đã bị giữ chặt trong keo đất cho cây lúa sinh trưởng và phát triển tốt. Kết quả nghiên cứu của Banerjee và đồng tác giả (2010) cho thấy ở nồng độ mặn 2,5% NaCl, dòng vi khuẩn hòa tan lân phân lập, *Bacillus* sp. hòa tan lân với mức độ cao nhất so với các nồng độ muối NaCl khác. Ngoài

ra, nghiên cứu của Rosado và đồng tác giả (1998) cho thấy dòng vi khuẩn hòa tan lân có thể hòa tan lân tốt ở độ mặn lên đến 10% NaCl, tuy nhiên, khi càng gia tăng độ mặn thì khả năng hòa tan lân càng giảm xuống.

Kết quả diễn biến mật số dòng vi khuẩn BL1-10 trong môi trường NBRIP chứa các nồng độ muối NaCl khác nhau trong 11 ngày thí nghiệm được trình bày ở hình 3 cho thấy mật số vi khuẩn tăng nhẹ vào thời điểm sau 1 ngày bố trí thí nghiệm ở các nghiệm thức, trừ nghiệm thức có nồng độ NaCl 10%. Sau đó, mật số vi khuẩn dòng BL10-1 ở tất cả các nghiệm thức đều giảm nhẹ cho đến kết thúc thí nghiệm. Mật số vi khuẩn dòng BL10-1 ở nghiệm thức có nồng độ NaCl 10% thấp nhất ở tất cả các thời điểm thu mẫu khi so với các nghiệm thức còn lại (các nghiệm thức có chứa nồng độ muối: 0,5%; 1%; 3% và 5% NaCl) ($p < 0,05$). Các nghiệm thức còn lại hầu hết ở các lần thu mẫu không khác biệt thống kê khi so sánh với nhau ($p > 0,05$), ngoại trừ vào ngày 1 và ngày 7. Ở hai thời điểm thu mẫu này, mật số vi khuẩn BL1-10 ở ba nghiệm thức có nồng độ muối 0,5%; 1% và 3% NaCl cao hơn và khác biệt thống kê ($p < 0,05$) so với nghiệm thức có nồng độ muối 5% NaCl. Kết quả này chứng tỏ rằng dòng BL1-10 có khả năng sống sót và phát triển trong môi trường có độ mặn từ 0,5 đến 5% NaCl.



Hình 2. Diễn biến hàm lượng lân hòa tan bởi dòng vi khuẩn BL1-10 trong môi trường NBRIP chứa các nồng độ mặn khác nhau sau 11 ngày nuôi cấy (n = 4, độ lệch chuẩn).



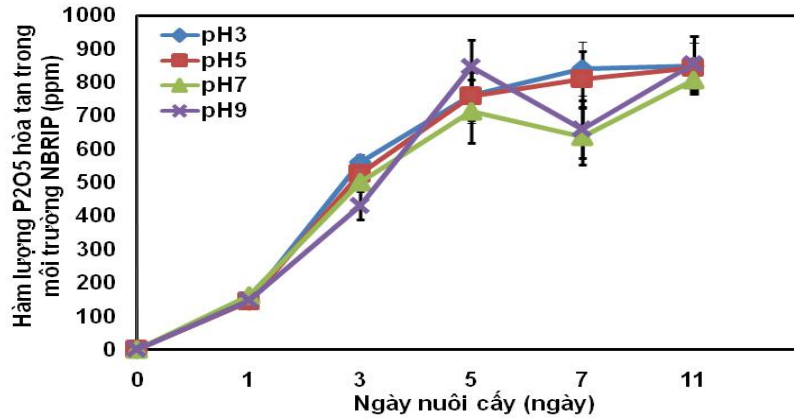
Hình 3. Diễn biến mật số dòng vi khuẩn BL1-10 trong môi trường NBRIP có chứa các nồng độ mặn khác nhau sau 11 ngày nuôi cấy (n = 3, độ lệch chuẩn).

Ảnh hưởng của pH lên mật số và khả năng hòa tan lân của dòng vi khuẩn BL1-10 trong môi trường NBRIP bổ sung 1% NaCl

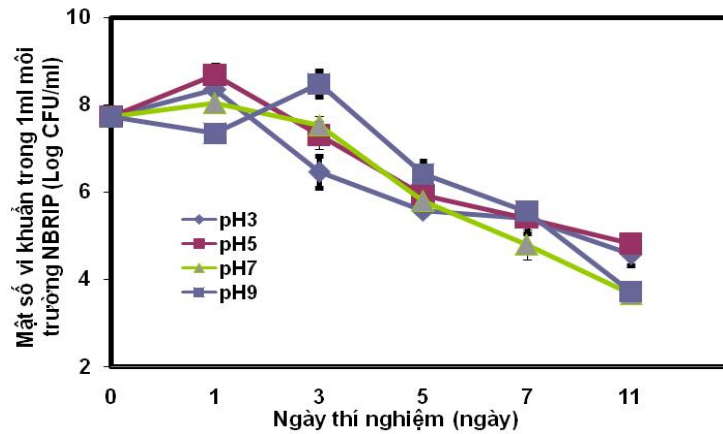
Khả năng hòa tan lân của dòng vi khuẩn BL1-10 ở trong môi trường NBRIP có các mức pH khác nhau trong 11 ngày nuôi cấy được trình bày trong Hình 4. Nhìn chung, có sự gia tăng về hàm lượng lân hòa tan ở các nghiệm thức trong môi trường nuôi cấy trong suốt thời gian thí nghiệm. Ở các lần thu mẫu hàm lượng lân hòa tan bởi dòng vi khuẩn BL1-10 có sự khác biệt thống kê khi so sánh giữa các nghiệm thức với nhau. Hai nghiệm thức pH 3 và pH 5 có hàm lượng lân hòa tan cao nhất trong môi trường nuôi cấy lỏng bởi dòng vi khuẩn BL1-10 ở hầu hết tất cả các thời điểm thu mẫu. Trong khi đó, nghiệm thức có pH 7 và pH 9 cho kết quả hòa tan lân trong môi trường lỏng bởi dòng vi khuẩn BL1-10 thấp nhất ở hầu hết các thời điểm thu mẫu. Như vậy, kết quả này cho thấy dòng vi khuẩn tuyển chọn BL1-10 có khả năng hòa tan lân cao trong môi trường có dãy pH từ 3-5. Ngoài ra, pH môi trường sau 11 ngày thí nghiệm giảm xuống còn pH 4 ở tất cả các nghiệm thức (số liệu không được trình bày), thấp hơn rất nhiều so với pH trước khi bố trí thí nghiệm (pH 7), đây cũng là nguyên nhân giải thích vì sao ở ngày 11, tất cả các nghiệm thức thí nghiệm không khác biệt thống kê về hàm lượng lân hòa tan trong môi trường nuôi cấy khi so sánh với nhau. Nghiên cứu của Atekan và đồng tác giả (2014) cho thấy có mối tương quan nghịch rất chặt chẽ và khác biệt thống kê giữa khả năng hòa tan lân của các dòng vi khuẩn hòa

tan lân phân lập với pH của môi trường nuôi cấy và đa số các dòng vi khuẩn hòa tan lân làm cho pH môi trường nuôi cấy giảm xuống khác biệt thống kê so với pH trước khi bố trí thí nghiệm và việc vi khuẩn hòa tan lân làm giảm pH môi trường nuôi cấy được cho là có mối quan hệ với việc phóng thích các acid hữu cơ bởi vi khuẩn dẫn đến pH môi trường giảm xuống, do đó, lân khó hòa tan được phóng thích ra ngoài dưới dạng hữu dụng (Khan *et al.*, 2009). Theo tác giả Chen và đồng tác giả (2006) những vi khuẩn tổng hợp acid hữu cơ thường làm pH môi trường nuôi cấy giảm xuống rất mạnh và do đó giúp gia tăng khả năng hòa tan lân khó tan trong môi trường nuôi cấy.

Kết quả diễn biến mật số vi khuẩn dòng BL1-10 ở các thời điểm thu mẫu được trình bày trong Hình 5 cho thấy mật số vi khuẩn dòng BL1-10 tăng nhẹ trong giai đoạn từ 0-3 ngày và sau đó mật số giảm dần theo thời gian thí nghiệm. Vào thời điểm 1 và 11 ngày thu mẫu, mật số vi khuẩn dòng BL1-10 ở hai nghiệm thức: pH 3 và pH 5 cao nhất. Như vậy, mật số dòng vi khuẩn BL1-10 phát triển tốt trong môi trường có pH thấp và kết quả về mật số dòng vi khuẩn BL1-10 có thể được dùng để giải thích cho khả năng hòa tan lân của dòng vi khuẩn BL1-10 trong môi trường NBRIP có các mức pH khác nhau. Một nghiên cứu của Zhu và đồng tác giả (2011) cho thấy dòng vi khuẩn phân lập có khả năng hòa tan lân và chịu mặn được định danh như là dòng *Kushneria* sp. YCWA18 có khoảng pH thích nghi từ 4 đến 10 và phát triển mạnh ở pH 7 đến 8.



Hình 4. Diễn biến hàm lượng lân hòa tan bởi dòng vi khuẩn BL1-10 trong môi trường NBRIP bổ sung 1% NaCl ở các mức pH khác nhau sau 11 ngày nuôi cấy (n=4, độ lệch chuẩn).



Hình 5. Diễn biến mật số dòng vi khuẩn BL1-10 trong môi trường NBRIP bổ sung 1% NaCl ở các mức pH khác nhau sau 11 ngày nuôi cấy (n = 3, độ lệch chuẩn).

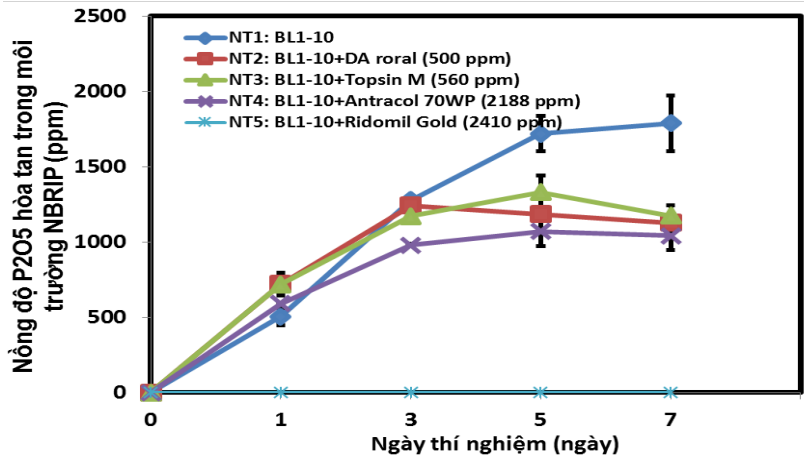
Ảnh hưởng của thuốc trừ bệnh cây trồng lên mật số và khả năng hòa tan lân của dòng vi khuẩn BL1-10 trong môi trường NBRIP bổ sung 1% NaCl

Nhìn chung, hàm lượng lân hòa tan trong môi trường nuôi cấy ở tất cả các nghiệm thức (trừ nghiệm thức bổ sung thuốc trừ bệnh Ridomil Gold chứa hoạt chất Mancozeb) đều tăng dần theo thời gian thí nghiệm (Hình 6). Nghiệm thức bổ sung thuốc trừ bệnh Ridomil Gold ức chế hoàn toàn khả năng hòa tan lân của dòng vi khuẩn BL1-10. Vào thời điểm 1 và 3 ngày thí nghiệm, nghiệm thức đối chứng, không bổ sung thuốc trừ bệnh cây trồng, có khả năng hòa tan lân của dòng vi khuẩn BL1-10 tương đương với

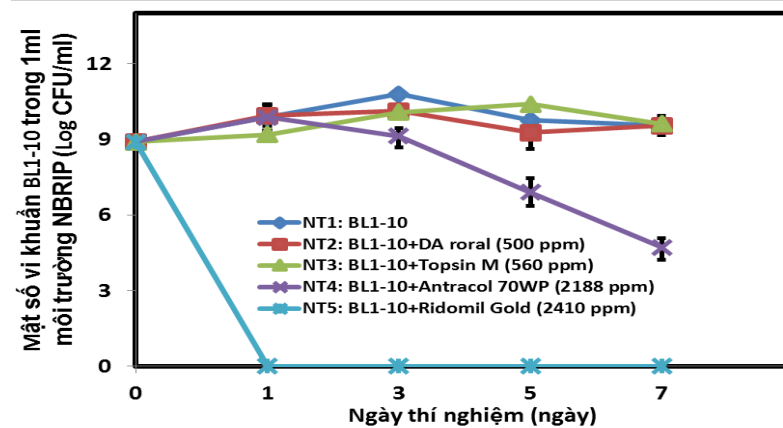
các nghiệm thức bổ sung thuốc trừ bệnh khác. Điều này có thể giải thích là do vào thời điểm này lượng hoạt chất thuốc trừ bệnh trong các nghiệm thức bổ sung thuốc trừ bệnh (ngoại trừ nghiệm thức bổ sung Ridomil Gold) chưa hòa tan nhiều vào trong môi trường nuôi cấy do đó hiệu lực của các loại thuốc này chưa được phát huy. Tuy nhiên, vào thời điểm 5 và 7 ngày thí nghiệm, nghiệm thức không bổ sung thuốc trừ bệnh cây có hàm lượng lân hòa tan cao nhất, dao động từ 1720 đến 1788 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, khác biệt thống kê so với các nghiệm thức bổ sung thuốc trừ bệnh còn lại. Điều này có thể là do một phần lượng lân khó tan được hòa tan vào trong môi trường nuôi cấy bởi dòng vi khuẩn BL1-10 bị cố định và bất hoạt

bởi các hoạt chất thuốc trừ bệnh này tuy nhiên cần phải có các nghiên cứu tiếp theo để làm sáng tỏ giả thuyết này. Ngoài ra, cũng có thể là do các hoạt chất thuốc trừ bệnh làm suy yếu các hoạt động về sự chuyển hóa vật chất trong các tiến trình sinh hóa của dòng vi khuẩn BL1-10 (Kumar *et al.*, 2001). Như vậy, qua kết quả này cho thấy bốn loại thuốc trừ bệnh cây trồng trong nghiên cứu này đã làm giảm lượng lân hòa tan của dòng vi khuẩn BL1-10, trong đó đặc biệt là thuốc trừ bệnh cây trồng Ridomil Gold chứa hoạt chất Mancozeb ức chế hoàn toàn khả năng

hòa tan lân của dòng vi khuẩn này. Nghiên cứu của Walpola và Yoon (2013) cho thấy hai dòng vi khuẩn hòa tan lân phân lập *Klebsiella oxytoca* và *Enterobacter ludwigii* gia tăng khả năng hòa tan lân trong môi trường bổ sung 1, 2 và 3 lần nồng độ khuyến cáo đối với thuốc trừ bệnh difenoconazole so với nghiệm thức đối chứng. Khả năng hòa tan lân của dòng vi khuẩn *Klebsiella oxytoca* dao động từ 326-538 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ trong khi đó dòng vi khuẩn *Enterobacter ludwigii* hòa tan lân dao động từ 395-533 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.



Hình 6. Khả năng hòa tan lân của dòng vi khuẩn BL1-10 trong môi trường NBRIP bổ sung 1% NaCl và các 4 loại thuốc trừ bệnh cây trồng khác nhau sau 7 ngày nuôi cấy (n = 3, độ lệch chuẩn).



Hình 7. Mật số của dòng vi khuẩn BL1-10 trong môi trường NBRIP bổ sung 1% NaCl và 4 loại thuốc trừ bệnh cây trồng khác nhau sau 7 ngày nuôi cấy (n = 3, độ lệch chuẩn).

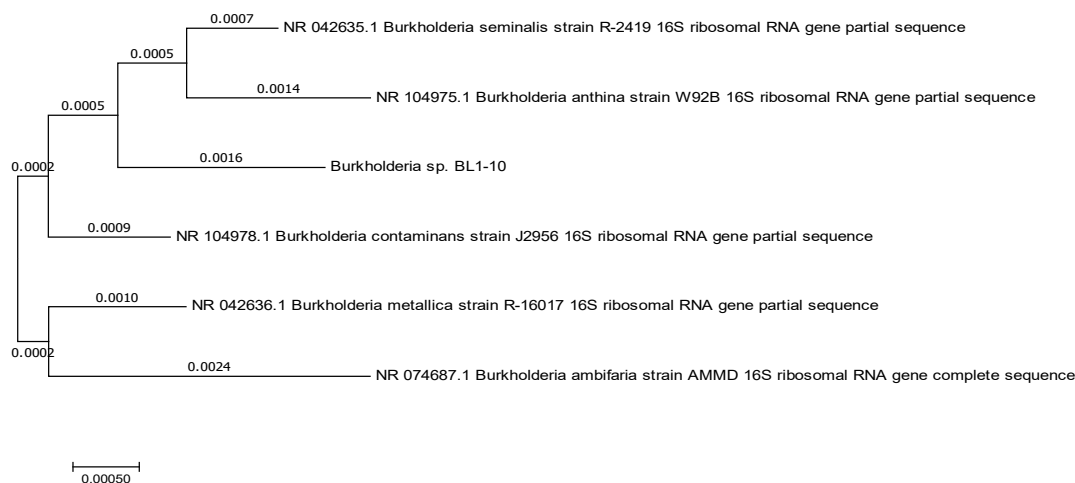
Kết quả diễn biến mật số dòng vi khuẩn BL1-10 trong môi trường nuôi cấy NBRIP có chứa thuốc trừ

bệnh cây trồng khác nhau trong 7 ngày thí nghiệm được trình bày ở Hình 7 cho thấy mật số vi khuẩn ở

các nghiệm thức đều tăng trong giai đoạn từ 0-3 ngày thí nghiệm, sau đó, mật số giảm xuống nhẹ cho đến thời điểm kết thúc thí nghiệm. Nghiệm thức 5: bổ sung thuốc trừ bệnh Ridomil Gold chứa hoạt chất Mancozeb theo khuyến cáo (2410 mg.L^{-1}) làm cho mật số vi khuẩn bị ức chế hoàn toàn. Thêm vào đó, ở nghiệm thức 4: bổ sung Antracol 70 WP (2188 mg.L^{-1}) làm cho mật số vi khuẩn giảm mạnh vào thời điểm sau 1 ngày thí nghiệm. Mật số vi khuẩn BL1-10 ở nghiệm thức này thấp hơn rất nhiều và khác biệt thống kê so với ba nghiệm thức còn lại (nghiệm thức 1: đối chứng dương, nghiệm thức 2: bổ sung thuốc trừ bệnh DA roral và nghiệm thức 3: bổ sung thuốc trừ bệnh Topsin M). Trong khi đó, ba nghiệm thức này không khác biệt thống kê khi so sánh với nhau. Như vậy việc sử dụng thuốc trừ bệnh Ridomil Gold (2410 mg.L^{-1}) và Antracol 70WP (2188 mg.L^{-1}) ảnh hưởng nghiêm trọng đến mật số dòng vi khuẩn hòa tan lần BL1-10 trong khi thuốc trừ bệnh khác như DA roral và Topsin M không ảnh hưởng đến mật số vi khuẩn hòa tan lần BL1-10 nếu phun theo nồng độ khuyến cáo theo khuyến trên bao bì. Như vậy việc khác nhau về khả năng hòa tan lần giữa các nghiệm thức bổ sung thuốc trừ bệnh khác nhau ở Hình 7 có thể là do khả năng cố định (bất động) lần hòa tan được bởi dòng vi khuẩn BL1-10 khác nhau do chúng có công thức hóa học khác nhau.

Định danh dòng vi khuẩn tiềm năng nhất BL1-10 bằng phương pháp giải mã trình tự đoạn gen 16S rRNA

Dòng vi khuẩn được tuyển chọn cho hiệu quả hòa tan lân cao nhất có ký hiệu BL1-10 được phân lập từ mẫu đất ở huyện Phước Long, tỉnh Bạc Liêu là vi khuẩn Gram âm, tế bào dạng hình que và khuẩn lạc có dạng tròn, màu trắng đục, mô, bìa nguyên, bề mặt trơn, kích thước sau 5 ngày nuôi cấy trên môi trường NBRIP là 0,5 mm. Dựa vào đặc điểm hình thái khuẩn lạc vi khuẩn, hình thái tế bào vi khuẩn và kết quả giải trình tự đoạn gen 16S rRNA của dòng vi khuẩn này cho thấy dòng vi khuẩn BL1-10 được định danh như là loài *Burkholderia* sp. BL1-10 (Bảng 1). Hình 8 trình bày cây phả hệ của dòng vi khuẩn hòa tan lân phân lập BL 1-10 đồng hình với loài *Burkholderia seminalis* (99%) và loài *Burkholderia anthina* (99%). *Burkholderia anthina* là dòng vi khuẩn được các nhà khoa học tìm thấy và phân lập từ đất và có chức năng hòa tan lân và kích thích sinh trưởng cây cà chua và nhiều cây trồng khác và được ứng dụng rộng rãi làm phân bón vi sinh cho cây trồng. *Burkholderia seminalis* là dòng vi khuẩn được các nhà khoa học tìm thấy và phân lập từ đất nông nghiệp với chức năng phòng trừ sinh học bệnh cây trồng trong đó có nấm gây bệnh thối rễ cây trồng *Fusarium oxysporum*. Dòng vi khuẩn BL1-10 phân lập từ nền đất lúa trong mô hình canh tác lúa tôm tại tỉnh Bạc Liêu là dòng vi khuẩn an toàn và không gây bệnh và có ích cho cây trồng và dòng vi khuẩn đã được phân lập này rất có triển vọng để sản xuất phân bón sinh học cung cấp cho cây trồng trong tương lai gần.



Hình 8. Cây phát sinh chủng loài của dòng vi khuẩn BL1-10 trên cơ sở gen 16S rRNA

Bảng 1. Kết quả định danh dòng vi khuẩn BL1-10 theo độ tương đồng của đoạn gen 16S rRNA.

Dòng	Nguồn gốc	Độ tương đồng (%)	Dòng vi khuẩn trên cơ sở dữ liệu		Định danh
			Vi khuẩn	Số đăng ký	
BL1-10	Phước Long - Bạc Liêu	99%	<i>Burkholderia</i> sp.	KX066829.1	<i>Burkholderia</i> sp. BL1-10

KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu này cho thấy trong tổng số 95 dòng vi khuẩn phân lập từ 15 mẫu đất nhiễm mặn ở năm tỉnh ĐBSCL có 20 dòng vi khuẩn hòa tan lân $Ca_3(PO_4)_2$ trong môi trường NBRIP bổ sung 1% NaCl cao hơn 1000 $mg.L^{-1}$. Dòng vi khuẩn ký hiệu BL1-10 có khả năng hòa tan lân cao nhất trong tổng số 20 dòng tuyển chọn và dòng vi khuẩn này hòa tan lân tốt ở nhiệt độ 40°C, độ mặn của môi trường chứa 3% NaCl và mức pH môi trường dao động trong khoảng: 3-5. Sự hiện diện các thuốc trừ bệnh cây trồng như DA roral, Topsin M và Antracol 70WP trong môi trường NBRIP không ảnh hưởng đến mật số cũng như hoạt tính hòa tan lân của dòng vi khuẩn hòa tan lân BL1-10. Tuy nhiên, dòng vi khuẩn BL1-10 bị ức chế hoàn toàn bởi thuốc trừ bệnh cây trồng Ridomil Gold. Dòng vi khuẩn ký hiệu BL1-10 được định danh như là loài *Burkholderia* sp. BL1-10. Việc sử dụng dòng vi khuẩn hòa tan lân *Burkholderia* sp. BL1-10 dùng để chủng vào đất giúp gia tăng lượng lân hữu dụng trong đất, giảm lượng phân lân vô cơ bón vào trong đất, giảm ô nhiễm môi trường và giúp phát triển nông nghiệp bền vững.

Lời cảm ơn: Công trình được thực hiện trong khuôn khổ đề tài cấp Bộ Giáo dục và Đào tạo năm 2014: "Nghiên cứu sản xuất chế phẩm vi khuẩn chịu mặn làm tăng năng suất lúa ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long". Các thí nghiệm được tiến hành có sự dụng trang thiết bị của Phòng thí nghiệm Sinh học Đất, Bộ môn Khoa học Đất, Khoa Nông Nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Atekan Y, Nuraini E, Handayanto S (2014) The potential of phosphate solubilizing bacteria isolated from sugarcane wastes for solubilizing phosphate. *J Degr Min Lands Manag* 1: 175-182.

Banerjee S, Palit R, Sengupta C, Standing D (2010) Stress induced phosphate solubilization by *Arthrobacter* sp. and

Bacillus sp. isolated from tomato rhizosphere. *Austr J Crop Sci* 4(6): 378-383.

Chen YP, Rekha PD, Arunshen AB, Lai WA, Young CC (2006) Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Appl Soil Ecol* 34: 33-41.

Dương Xuân Đào (2011) Phân lập và nhận diện các dòng vi khuẩn có khả năng hòa tan lân và kali từ vật liệu phong hóa ở núi Ba Hòn (Hòn Đất, Hòn Me, Hòn Quéo) huyện Hòn Đất, Kiên Giang. Luận văn tốt nghiệp thạc sĩ chuyên ngành công nghệ sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.

Goldstein AH (1994) Involvement of the quinoprotein glucose dehydrogenase in the solubilization of exogenous mineral phosphates by gram - negative bacteria. In Phosphate in Microorganisms: Cellular and Molecular Biology, eds. Torriani – Gorni A., Yagil E. & Silver S:197-203.

Ihrmark K, Inga TM, Bödeker KCM, Hanna F, Ariana K, Jessica S, Ylva S, Jan S, Mikael BD, Karina EC, Björn DL (2012) New primers to amplify the fungal ITS2 region – evaluation by 454sequencing of artificial and natural communities. *FEMS Microbiol Ecol* 82(3): 666-677.

Keneni A, Assefa F, Prabu PC (2010) Isolation of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of faba bean of Ethiopia and their abilities on solubilizing insoluble phosphate. *J Agricult Sci Technol* 12: 79 – 89.

Khan MS, Zaidi A, Wani PA, Ahemad M, Oves M (2009) Functional diversity among plant growth-promoting rhizobacteria. In: Khan MS, Zaidi A, Musarrat J (eds) *Microbial strategies for crop improvement*. Springer, Berlin: 105–132.

Kumar V, Behl RK, Narula N (2001) Establishment of phosphate-solubilizing strains of *Azotobacter chroococcum* in the rhizosphere and their effect on wheat cultivars under greenhouse conditions. *Microbiol Rev* 156: 87–93.

Lane DJ (1991) 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackebrandt E, Goodfellow M (eds). *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*. John Wiley & Sons: New York, NY, USA: 115–147.

Lê Thị Đan Thanh (2011) Phân lập và nhận diện các dòng vi khuẩn có khả năng hòa tan lân và kali từ vật liệu phong hóa của núi đá vôi Hà Tiên-Kiên Giang. *Luận văn tốt nghiệp*

nghiệp thực sĩ chuyên ngành công nghệ sinh học, Trường Đại Học Cần Thơ.

Nahas E, Banzatto DA, Assis LC (1990) Fluorapatite solubilization by *Aspergillus niger* in vinasse medium. *Soil Biol Biochem* 22: 1097-1101.

Nguyễn Xuân Thành, Nguyễn Đường Hoàng Hải, Vũ Thị Hoàn (2007) *Giáo trình sinh học đất*. Nhà xuất bản Giáo Dục, 271 trang.

Rosado AS, Azevedo DE, Cruz DW, Van Elas JD, Seldin L (1998) Phenotypic and genetic diversity of *Paeni bacillus azatofeixans* strains isolated from the rhizosphere soil of different grasses. *J Appl Microbiol* 84: 216-226.

Walpola BC, Song JS, Keum MJ, Yoon MH (2012) Evaluation of phosphate solubilizing potential of three *Burkholderia* species isolated from Green House soils. *Kor J Soil Sci and Fert* 45(4): 602-609.

Walpola BC, Yoon M (2013) Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria and their co-inoculation efficiency on tomato plant growth and phosphorous uptake. *Afr J Microbiol Rev* 7: 266-275.

Zhu F, Qu L, Hong X, Sun X (2011) Isolation and characterization of a phosphatesolubilizing halophilic bacterium *Kushneria* sp. YCWA18 from Daqiao Saltern on the Coast of Yellow Sea of China. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011: 1-6

ISOLATION, CHARACTERILZATION AND IDENTIFICATION OF PHOSPHATE SOLUBILIZING BACTERIA FROM RICE-SHRIMP ROTATIONAL FARMING SYSTEM IN SALT AFFECTED SOIL AREAS OF THE MEKONG DELTA OF VIETNAM

Nguyen Khoi Nghia, Nguyen Thi Kieu Oanh

Cantho University

SUMMARY

Phosphorus is the least mobile element in plant and soil contrary to other macronutrients. Phosphorus solubilizing bacteria play role in phosphorus nutrition by enhancing its availability to plants. Aim of study was to deal with isolation, characterization and identification of phosphate solubilizing bacteria (PSBs) from 15 paddy rice soil samples collected in rice-shrimp rotational farming system in salt affected soil areas of the Mekong Delta of Vietnam including Bac Lieu, Ca Mau, Soc Trang, Kien Giang and Ben Tre by using NBRIP media containing 1% NaCl. Concentration of phosphate was determined by method of colometric determination of molybdate. Results showed that 95 isolates indicating potentially as PSBs through a exhibiting of a halo zone happening around bacterial colonies on NBRIP media. Twenty out of ninety five isolates showed their highly phosphate solubilizing ability ($>1000 \text{ mg.L}^{-1}$) in the liquid culture. Bacterial strain coded as BL1-10 solubilized maximumly 2044 mg.L^{-1} phosphate in liquid media after 5 incubation days. The cell number and phosphate solubilizing ability of BL-10 strain were till good and not affected under environmental coditions like 40°C , salinity range between 0.5 and 5 % NaC and pH range between 3 and 5. Three kinds of trade name fungicides like DA roral, Topsin M và Antracol 70WP did not affect on cell numbers and phosphate solubilizing ability of BL-10 strain. However, cell numbers and function of phosphate solubilizing ability of this bacterial strain was completely inhibited by Ridomil Gold fungicide. This strain was genetically identified as species of *Burkholderia* sp. BL1-10 based on results of the 16S rRNA gene sequence analysis. In conclusion, the study suggests the most promising phosphate solubilizing bacteria, *Burkholderia* sp. BL1-10 can be used as efficient biofertilizer inoculant to promote plant growth.

Keywords: *Burkholderia* sp. BL1-10, phosphate, phosphate solubilizing bacteria, saline soil and isolation.