

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA CHẾ PHẨM VI KHUẨN TÍA QUANG HỢP ĐẾN KHẢ NĂNG NẢY MẦM CỦA GIỐNG LÚA ST25 VÀ BT7KBL-02

Đỗ Thị Liên^{1*}, Cung Thị Ngọc Mai¹, Đinh Thị Thu Hằng²,
Trần Thị Mai¹, Trần Thị Đào³, Lê Thị Nhi Công¹, Nghiêm Ngọc Minh¹

¹*Viện Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*

²*Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*

³*Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

*Tác giả liên hệ: lien.ibt@gmail.com

Ngày nhận bài: 14.04.2025

Ngày chấp nhận đăng: 18.06.2025

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu là đánh giá tác động của chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng và dạng rắn lên sự nảy mầm của hạt, sự phát triển của cây con và khả năng chống chịu mặn của giống lúa ST25 và BT7KBL-02. Sử dụng các phương pháp thường quy như đánh giá khả năng kích thích nảy mầm, đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm đến sự phát triển của chồi mầm và rễ mầm, đánh giá khả năng chịu mặn của cây mầm, phương pháp xử lý thống kê sinh học. Kết quả thí nghiệm cho thấy: bổ sung chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng và dạng rắn đều giúp tăng tỷ lệ nảy mầm, tăng chiều dài rễ mầm, tăng chiều dài chồi mầm và khả năng chịu mặn của cả 2 giống lúa nghiên cứu. Tỷ lệ nảy mầm của giống lúa ST25 tăng từ 1,2-2,5% và BT7KBL-02 tăng từ 1,2-1,7%; chiều dài rễ mầm tăng lên gấp 1,50-1,53 lần (giống ST25) và tăng gấp 1,47-1,67 lần (giống BT7KBL-02); chiều dài chồi mầm cũng tăng lên gấp 1,41-1,45 lần (giống ST25) và 1,6-1,65 lần (giống BT7KBL-02) so các chỉ tiêu nghiên cứu ở các công thức đối chứng. Ở giai đoạn cây mầm, chồi mầm và rễ mầm ở các công thức thí nghiệm tiếp tục phát triển tốt hơn so với đối chứng, trong đó, chiều dài rễ mầm gấp 1,36-1,41 lần (giống ST25) và 1,21-1,43 lần (giống BT7KBL-02), chiều dài chồi mầm gấp 1,16-1,3 lần (giống lúa ST25) và 1,6-1,7 lần (giống BT7KBL-02). Việc bổ sung chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp cũng giúp cây mầm tăng khả năng chịu mặn ở nồng độ NaCl 50mM và 100mM.

Từ khóa: BT7KBL-02, ST25, khả năng chịu mặn, sự nảy mầm, vi khuẩn tía quang hợp.

The Effect of Purple Non Sulfur Bacteria Preparations on the Germination Ability of ST25 and BT7KBL-02 Rice Seeds

ABSTRACT

The objective of the study was to evaluate the effects of liquid and dry purple non sulfur bacteria preparations added seed soaking on seed germination, seedling growth and tolerance under salt stress. To gain this aim, several approaches such as evaluating germination stimulation ability, evaluating the effect of the preparation on the development of shoots and roots, evaluating the salt tolerance of seedlings, and biological statistical processing methods. The results showed that: adding liquid and solid purple non sulfur bacteria preparations increased the germination rate of ST25 rice seeds from 1.2-2.5 % and BT7KBL-02 from 1.2-1.7% compared with the uninoculated control. Moreover, the purple non sulfur bacteria preparation helped stimulate the length of the radicle and shoot, in which the radicle length was 1.41-1.45 times longer, the shoot length was 1.50-1.53 times longer than the control for ST25 rice variety, the radicle length was 1.6-1.65 times longer, the shoot length was 1.47-1.67 times longer than the control for BT7KBL-02 rice variety. At the seedling stage, the experimental formulas continued to develop better than the control, the root length was 1.36-1.41 times longer, the shoot length was 1.16-1.3 times longer than the control for the ST25 rice variety and the root length was 1.21-1.43 times longer, the shoot length was 1.6-1.7 times longer than the control for the BT7KBL-02 rice variety. The liquid and solid purple non sulfur bacteria preparations helped the seedlings withstand adverse conditions at salt concentrations of 50 and 100 mM, helping to stimulate growth and were significantly different the length of the root and shoot compared to the control at the seedling stage.

Keywords: BT7KBL-02, ST25, germination, purple non sulfur bacteria, salt tolerance.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nảy mầm là một quá trình quan trọng trong chu trình phát sinh hình thái của thực vật, đẩy nhanh quá trình nảy mầm có thể tác động tích cực đến sự phát triển của cây và hiệu quả trồng trọt (Kibinza & cs., 2011). Trong nông nghiệp, khả năng nảy mầm nhanh chóng của hạt giống và sự đồng nhất về thời gian, hình thái nảy mầm là những yếu tố quan trọng, có ảnh hưởng quyết định đến chất lượng và khả năng sinh trưởng và phát triển của cây sau này. Một số giải pháp thường được sử dụng để nâng cao hiệu suất nảy mầm là xử lý hạt giống với polyethylen glycol, muối vô cơ... và gần đây người ta xử lý hạt giống bằng các tác nhân sinh học có lợi như phytohormone và vi khuẩn (Chakraborti & cs., 2022). Kích thích hạt giống bằng tác nhân sinh học như vi khuẩn thúc đẩy tăng trưởng thực vật là một trong những phương pháp triển vọng nhất và tác dụng của nó là thúc đẩy sự nảy mầm, thúc đẩy sự phát triển sau khi nảy mầm, tạo ra khả năng chống lại các căng thẳng sinh học và phi sinh học... Các chủng đã được sử dụng để kích thích sinh học đã được báo cáo như: *Trichoderma* spp., *Enterobacter* spp., *Pseudomonas* spp. và *Bacillus* spp. (Raj & cs., 2004). Ở Nhật Bản, kích thích hạt giống bằng biện pháp sinh học như sử dụng vi khuẩn tia quang hợp (VKTQH) đã được một số nông dân trồng lúa áp dụng để cải thiện sự phát triển của cây lúa con và tăng năng suất hạt lúa (Iwai & cs., 2022). VKTQH thuộc nhóm vi khuẩn thủy sinh có khả năng sinh trưởng trong điều kiện kỵ khí bằng cách quang hợp nhưng không thải oxy như những đối tượng quang dưỡng khác. Nhóm vi khuẩn này có các kiểu trao đổi chất rất linh hoạt tùy thuộc vào điều kiện môi trường sống nên chúng phân bố rất rộng rãi trong tự nhiên (Imhoff, 1989). Chúng vừa có giá trị trong nghiên cứu cơ bản vừa có giá trị ứng dụng trong nhiều lĩnh vực như ứng dụng trong xử lý môi trường, làm thức ăn cho con giống động vật hai mảnh vỏ, thu nhận các hoạt chất có giá trị sinh học... (Madigan & cs., 2000; Kantachote & cs., 2010; Madukasi & cs., 2011, Sasikala & cs., 1995a),

đặc biệt chúng cũng được coi là nhóm vi khuẩn thúc đẩy tăng trưởng thực vật và cải tạo độ phì nhiêu cho đất (Elbadry & cs., 1999a; b). Các nghiên cứu đã chứng minh VKTQH có khả năng cố định đạm từ khí quyển, hòa tan photphat khó tan và cung cấp các chất hữu cơ như axit amin và hormone tăng trưởng thực vật (Elbadry & cs., 1999a; b). VKTQH còn có thể cải thiện sức khỏe đất và cây trồng bằng cách giảm thiểu kim loại nặng, tăng cường hấp thụ dinh dưỡng và cải thiện khả năng sinh trưởng của cây lúa, đặc biệt trong các điều kiện stress như đất nhiễm mặn hoặc thiếu dinh dưỡng. Trong đó, stress do mặn là một trong những yếu tố nghiêm trọng nhất hạn chế năng suất lúa vì nó ảnh hưởng xấu đến số lượng và chất lượng của cây trồng (Sahi & cs., 2006). Do đó, độ mặn có hại cho tất cả các giai đoạn của cây trồng từ nảy mầm hạt, sinh trưởng của cây con, sinh trưởng sinh dưỡng, ra hoa và đậu quả và cuối cùng, nó làm giảm năng suất kinh tế cũng như chất lượng của sản phẩm (Nakhoda & cs., 2012). Do vậy, VKTQH có tiềm năng trong việc làm phân bón cho những vùng đất nhiễm mặn. Thêm vào đó, VKTQH có khả năng làm giảm phát thải khí nhà kính bằng cách giúp giảm lượng khí metan (CH_4) phát thải từ ruộng lúa, đồng thời tăng khả năng hấp thụ CO_2 (Nunkaew & cs., 2015; Panwichian & cs., 2011). Việc sử dụng kết hợp VKTQH thúc đẩy tăng trưởng thực vật dưới dạng phân bón sinh học được coi là phương pháp đầy hứa hẹn để giảm sử dụng phân bón hóa học đồng thời duy trì độ phì của đất và tăng năng suất cây trồng (Sharma & cs., 2013). VKTQH còn được báo cáo giúp tăng khả năng nảy mầm, chiều cao cây và năng suất hạt.

Trong nông nghiệp, lúa (*Oryza sativa* L.) là cây lương thực quan trọng ở Việt Nam. Giống lúa Bắc thơm BT7KBL-02 được cung cấp bởi Công ty Cổ phần tập đoàn ThaiBinh Seed và giống lúa ST25 được cung cấp bởi Công ty Cổ phần Nông sản Tiến Vua là hai giống lúa mang một số đặc tính trội như chất lượng gạo tốt (trong đó ST25 được công nhận là gạo ngon nhất thế giới năm 2019) có khả năng thích nghi tốt với điều kiện khí hậu khắc nghiệt như chịu rét, chịu phen và chịu mặn khá tốt. Hiện nay, chúng

tôi đã phân lập và tuyển chọn được các chủng vi khuẩn tia quang hợp có khả năng cố định nitơ phân tử, phân giải photphat khó tan và sản sinh các chất kích thích sinh trưởng như indole-3-acetic acid (IAA) và 5-aminolevulinic acid (5-ALA) cao nhất trong bộ sưu tập để sản xuất chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn ứng dụng làm phân bón cho lúa. Trong nghiên cứu này, bước đầu, đánh giá khả năng kích thích nảy mầm của chế phẩm VKTQH đối với hai giống lúa Bắc thơm BT7KBL-02 và ST25 được trồng phổ biến ở miền Bắc và miền Nam Việt Nam.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Chế phẩm VKTQH dạng lỏng (tên gọi PNSB-EBT1) và dạng khô (hay còn gọi là dạng rắn tên gọi PNSB- EBT2) sử dụng trong thí nghiệm gồm 7 chủng đã được phân loại đến loài và có tên như *Rhodobacter johrii* Y3, *Rhodobacter sphaeroides* RC1, *Rhodobacter sphaeroides* GT4, *Rhodopseudomonas harwoodiae* Y9, *Rhodopseudomonas palustris* Y11, *Rhodobacter sediminis* AN5 và *Rhodobacter capsulatus* GT10 với tỷ lệ 1:1:1:1:1:1:1 ở cả hai loại chế phẩm. Bảy chủng được sàng lọc có khả năng cố định nitơ phân tử, phân giải photphat khó tan, sản sinh các chất kích thích sinh học Indole-3-acetic acid (IAA) và 5-amino levulinic acid cao nhất trong bộ sưu tập VKTQH phân lập được và chúng không đối kháng nhau. Bảy chủng đều có thể sinh trưởng và thể hiện hoạt tính làm phân bón tốt ở nồng độ NaCl từ 0-3%. Các chủng sử dụng đang được lưu giữ trong bộ sưu tập giống tại Viện Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Chế phẩm dạng lỏng đạt mật độ 10^9 CFU/ml. Chế phẩm dạng rắn có mật độ 10^9 CFU/g, chứa chất mang than sinh học và độ ẩm 40%.

- Giống lúa Bắc thơm BT7KBL-02 được cung cấp bởi Công ty Cổ phần tập đoàn ThaiBinh Seed và giống lúa ST25 được cung cấp bởi Công ty Cổ phần nông sản Tiến Vua.

- Thuốc đo chiều dài 30cm, $d = \pm 0,01$.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đánh giá khả năng kích thích nảy mầm hạt lúa của chế phẩm vi khuẩn tia quang hợp dạng lỏng và dạng rắn trong điều kiện in vitro

Hạt giống lúa ST25 và Bắc thơm BT7KBL-02 được khử trùng bề mặt bằng ethanol 70% trong 1 phút và ngâm trong javen 2% trong 10 phút, rửa sạch bằng nước cất khử trùng. Mỗi loại hạt giống được ngâm với nước ấm có nhiệt độ 45°C bổ sung 10% chế phẩm VKTQH dạng lỏng PNSB-EBT1 (ký hiệu TN1) hoặc 1% chế phẩm VKTQH dạng rắn PNSB-EBT2 (Ký hiệu TN2) (theo nhóm tác giả Iwai & cs., 2022). Sau 24h ngâm, hạt lúa được đặt vào đĩa petri chứa giấy lọc đã khử trùng ủ ở nhiệt độ phòng để đánh giá khả năng nảy mầm của hạt. Sau 2 ngày ủ, quan sát số hạt nảy mầm ở mỗi công thức thí nghiệm để xác định tỷ lệ nảy mầm của hạt. Ở công thức đối chứng, hạt giống lúa được ngâm trong nước máy đã đun sôi để nguội đến 45°C, không bổ sung chế phẩm VKTQH. Thí nghiệm được thiết kế hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Mỗi lần ngâm 1.000 hạt với mỗi giống lúa.

Tỷ lệ nảy mầm trung bình được xác định theo Scott có cải biến bằng cách lấy ngẫu nhiên 100 hạt, đếm số hạt nảy mầm đạt yêu cầu và được tính theo công thức (Scott & cs., 1984):

$$GP (\%) = \frac{A}{A + B} \times 100$$

Trong đó, GP là tỷ lệ nảy mầm trung bình; A là số hạt nảy mầm đạt yêu cầu (hạt xuất hiện chồi mầm và rễ mầm); B là số hạt không đạt (hạt không nảy mầm).

2.2.2. Đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm VKTQH đến khả năng phát triển của rễ mầm và chồi mầm

Lấy ngẫu nhiên 50 hạt giống nảy mầm ở thời điểm 72 giờ sau khi ủ, tiến hành đo chính xác chiều dài rễ mầm (mm) và chồi mầm (mm).

Chỉ số Vigour Index (VI) (chỉ số biểu thị cho sức sống của hạt giống) được xác định theo công thức của Abul-Baki & cs. (1973).

$VI = GP \times [\text{Chiều dài rễ mầm (mm)} + \text{chiều dài chồi mầm (mm)}]$.

2.2.3. Đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn đến khả năng sinh trưởng của cây mầm sau 1 tuần ở điều kiện tự nhiên

Cây mầm ở thời điểm 72h sau ủ được đặt ở điều kiện ngoài ánh sáng tự nhiên để theo dõi khả năng sinh trưởng. Sau 1 tuần ở điều kiện tự nhiên, tiến hành đo chính xác chiều dài rễ mầm (mm) và chồi mầm (mm). Thí nghiệm lặp lại 3 lần. Mỗi lần đo ngẫu nhiên 50 cây mầm.

2.2.4. Đánh giá khả năng chịu mặn của cây mầm sau 1 tuần ở điều kiện tự nhiên

Thí nghiệm được tiến hành như mục 2.2.1, sau ủ 72h tiến hành bổ sung các nồng độ NaCl 0mM (Đối chứng không bổ sung chế phẩm VKTQH, Thí nghiệm 1 bổ sung chế phẩm PNSB-EBT1 và TN2 được bổ sung chế phẩm PNSB-EBT2), ở thí nghiệm 50mM cả thí nghiệm và đối chứng đều bổ sung NaCl nồng độ 50mM, trong đó, đối chứng không bổ sung chế phẩm VKTQH, thí nghiệm 1 bổ sung chế phẩm PNSB-EBT1 và TN2 được bổ sung chế phẩm PNSB-EBT2. Ở nồng độ 100mM cả thí nghiệm và đối chứng đều bổ sung NaCl nồng độ 100mM, trong đó, đối chứng không bổ sung chế phẩm VKTQH, Thí nghiệm 1 bổ sung chế phẩm PNSB-EBT1 và TN2 được bổ sung chế phẩm PNSB-EBT2, theo dõi trong 1 tuần ngoài tự nhiên, thí nghiệm lặp lại 03 lần. Lấy ngẫu nhiên 50 cây mầm ở thời điểm 1 tuần ở điều kiện tự nhiên, tiến hành đo chính xác chiều dài rễ mầm (mm) và chồi mầm (mm).

2.2.5. Phương pháp xử lý thống kê sinh học

Số liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình của các lần lặp lại thí nghiệm $\pm$ độ lệch chuẩn (Standard Deviation - SD) và được xử lý thống kê bằng phần mềm SPSS 20.0. Phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định Duncan được áp dụng để đánh giá sự sai khác giữa các nghiệm thức.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của chế phẩm vi khuẩn tia quang hợp dạng lỏng và dạng rắn đến một số chỉ tiêu nảy mầm hạt giống lúa

Ở nước ta hiện nay đang canh tác lúa theo hai hình thức đó là cấy lúa và gieo sạ. Mỗi một phương pháp đều mang đến rất nhiều những ưu và nhược điểm nhất định. Trong cả hai hình thức canh tác, tỷ lệ nảy mầm của hạt lúa cũng như khả năng chống chịu các điều kiện bất lợi của môi trường như nhiễm mặn, nhiễm lạnh ở giai đoạn đầu quyết định đến khả năng sinh trưởng cũng như năng suất cây lúa.

Hạt giống lúa ST25 và Bắc thơm BT7KBL-02 được xử lý trong giai đoạn nảy mầm bằng cách ngâm ủ như đã trình bày ở phần phương pháp. Kết quả thu được sau 48h thể hiện ở bảng 1.

Bổ sung chế phẩm VKTQH ở giai đoạn ngâm ủ hạt giống tác động tích cực đến tỷ lệ nảy mầm của hai loại hạt giống thử nghiệm (Bảng 1). Chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn giúp gia tăng tỷ lệ nảy mầm so với đối chứng khi ngâm hạt bằng nước máy. Đối với giống ST25 tỷ lệ nảy mầm trung bình khi bổ sung chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn đạt tỷ lệ $95,5 \pm 0,5\%$ và $96,5 \pm 0,3\%$ trong khi ở đối chứng, tỷ lệ nảy mầm đạt $94,0 \pm 0,5\%$. Như vậy,

Bảng 1. Ảnh hưởng của chế phẩm vi khuẩn tia quang hợp PNSB-EBT1 và PNSB-EBT2 đến tỷ lệ nảy mầm của 2 giống lúa

Tên thí nghiệm	GP		
	TN1	TN2	ĐC
ST25	$95,5^b \pm 0,5$	$96,5^b \pm 0,3$	$94,0^a \pm 0,5$
BT7KBL-02	$98,8^b \pm 0,4$	$99,3^b \pm 0,2$	$97,6^a \pm 0,3$

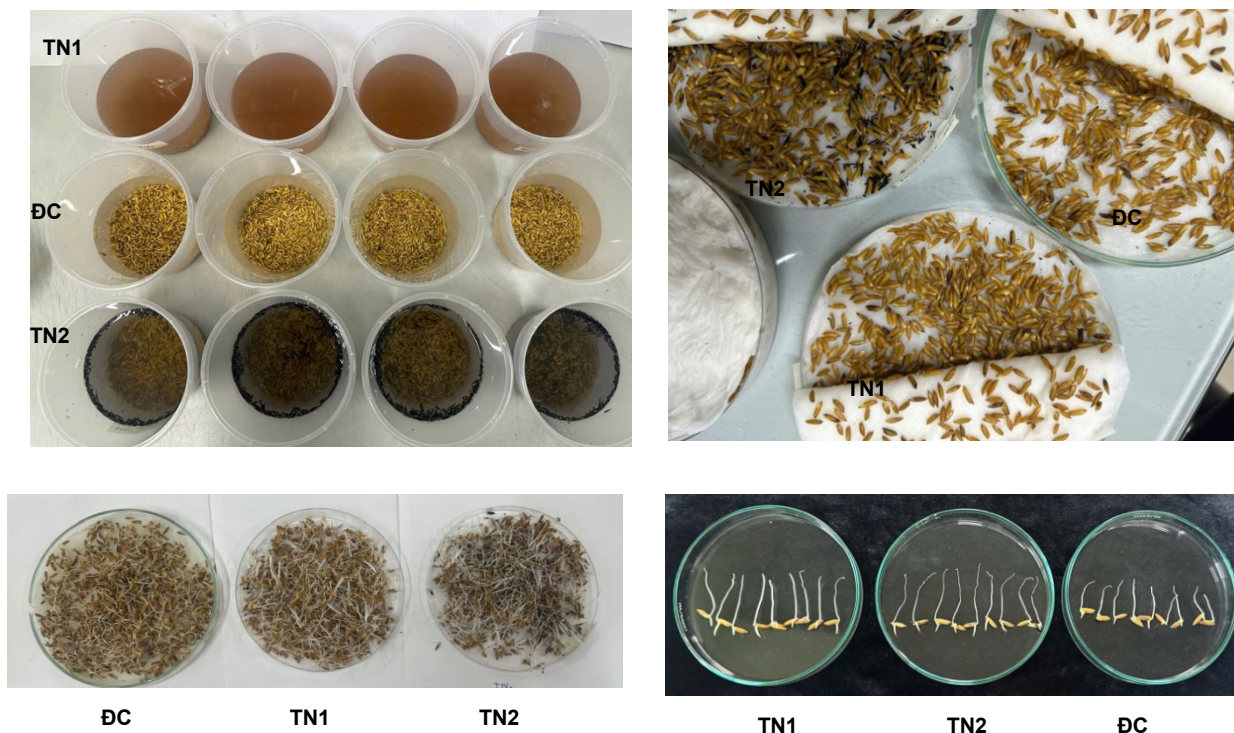
Ghi chú: Trong cùng một hàng, những số có chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa qua phép thử Duncan ($P < 0,05$); GP là tỷ lệ nảy mầm; TN1 là mẫu thí nghiệm có bổ sung chế phẩm PNSB-EBT1; TN2 là mẫu thí nghiệm có bổ sung chế phẩm PNSB-EBT2; ĐC là đối chứng ngâm nước máy.

bổ sung chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn khi ngâm hạt giống đã cho tỷ lệ nảy mầm khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với đối chứng. Đối với hạt giống lúa Bắc Thơm BT7KBL-02 tỷ lệ nảy mầm trung bình khi bổ sung chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn đạt tỷ lệ $98,8 \pm 0,4\%$ và $99,3 \pm 0,2\%$ trong khi đối chứng có tỷ lệ nảy mầm đạt $97,6 \pm 0,3$. Như vậy, bổ sung chế phẩm VKTQH ở giai đoạn ngâm ủ có hiệu quả gia tăng tỷ lệ nảy mầm của hai loại giống lúa thử nghiệm từ 1,5-2,5%. Ngoài ra, kết quả thí nghiệm còn cho thấy khi bổ sung chế phẩm VKTQH giúp gia tăng chiều dài rễ mầm so với đối chứng (Hình 1). Kết quả nảy mầm của hạt lúa được xử lý với chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn đã cho thấy chế phẩm dạng rắn thích hợp hơn cho giai đoạn kích thích nảy mầm của hạt lúa. Điều này có thể giải thích là chế phẩm dạng rắn được cố định VKTQH lên chất mang, sau khi ngâm lượng VKTQH được giữ lại trên vỏ hạt lúa và trong chất mang nhiều hơn chế phẩm dạng lỏng (Hình 1). Kết quả nghiên cứu này tương tự như kết quả nghiên cứu của nhóm tác giả

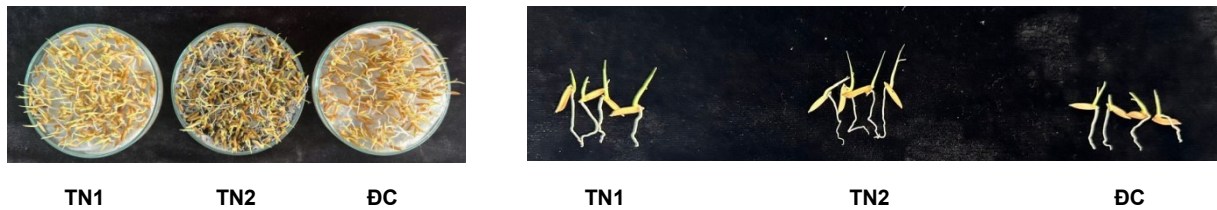
Hanapi & cs. (2014) sử dụng vi khuẩn *Rhodopseudomonas palustris* kích thích sự nảy mầm của hạt và chiều cao của cây mầm, trong khi đó sử dụng hỗn hợp dòng vi khuẩn *Rhodopseudomonas palustris* và *Acinetobacter* sp. giúp kích thích sự nảy mầm và chiều cao cây mầm của hạt lúa tốt nhất. Nhóm tác giả Koh & cs. (2007) bổ sung chủng VKTQH ký hiệu BL6 và KL9 vào hạt giống cà chua tăng tỷ lệ nảy mầm và chiều dài cây mầm so với đối chứng. Trong đó, bổ sung chủng KL9 tăng tỷ lệ nảy mầm 23,4% và bổ sung chủng BL6 tăng 5,6%.

3.2. Ảnh hưởng của chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn lên các chỉ tiêu đánh giá khả năng sinh trưởng của hạt giống lúa ở giai đoạn cây mầm.

Tác động của chế phẩm VKTQH lên khả năng sinh trưởng của hạt giống còn được đánh giá thông qua chiều dài rễ mầm và chồi mầm ở thời điểm 72h sau ủ. Kết quả thí nghiệm đối với 2 giống lúa ST25 và BT7KBL-02 thu được trình bày ở bảng 2 và hình 1, 2.



Hình 1. Sự khác biệt chiều dài chồi mầm và rễ mầm của hạt giống BT7KBL-02 khi ngâm có bổ sung chế phẩm VKTQH và đối chứng



Hình 2. Sự khác biệt chiều dài chồi mầm và rễ mầm của hạt giống ST25 khi ngâm có bổ sung chế phẩm VKTQH và đối chứng

Bảng 2. Ảnh hưởng của chế phẩm VKTQH dạng lỏng, rắn lên chiều dài rễ mầm, chồi mầm và sức sống hạt

		TN1	TN2	ĐC
Chiều dài rễ mầm trung bình (mm)	ST25	18,8 ^b ± 1,5	19,0 ^b ± 1,3	12,5 ^a ± 1,3
	BT7KBL-02	26,5 ^b ± 1,8	30,2 ^b ± 1,9	18,0 ^a ± 1,5
Chiều dài chồi mầm trung bình (mm)	ST25	8,7 ^a ± 1,9	8,5 ^a ± 1,7 ^a	6,0 ^a ± 1,8
	BT7KBL-02	5,8 ^a ± 1,2	5,6 ^a ± 1,4 ^a	3,5 ^a ± 1,3
Vigour Index (VI)	ST25	2626,2 ^b	2653,7 ^b	1739 ^a
	BT7KBL-02	3191,2 ^b	3554,9 ^b	2098,4 ^a

Ghi chú: Trong cùng một hàng, những số có chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa qua phép thử Duncan ($P < 0,05$).

Kết quả thu được từ bảng 2 cho thấy việc ngâm hạt lúa với chế phẩm VKTQH đã làm tăng chiều dài rễ mầm và chồi mầm so với đối chứng không bổ sung chế phẩm VKTQH khi ngâm. Đối với giống lúa ST25 khi ngâm với chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn có chiều dài rễ mầm trung bình đạt $18,8 \pm 1,5$ - $19,0 \pm 1,3$ mm, chiều dài chồi mầm trung bình $8,5 \pm 1,7$ - $8,7 \pm 1,9$ mm, trong khi đó, đối chứng không bổ sung chế phẩm VKTQH chiều dài rễ mầm đạt trung bình $12,5 \pm 1,3$ mm và chiều dài chồi mầm đạt $6,0 \pm 1,8$ mm. Chiều dài rễ mầm và chồi mầm tăng đáng kể so với đối chứng ở cùng thời điểm (chiều dài chồi mầm gấp 1,41-1,45, chiều dài rễ mầm gấp 1,50-1,53 so với đối chứng). Kết quả cho thấy chiều dài rễ mầm của thí nghiệm 1 và 2 khác chiều dài rễ mầm của đối chứng có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Đối với giống lúa BT7KBL-02 khi ngâm với chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn có chiều dài rễ mầm đạt $26,5 \pm 1,8$ - $30,2 \pm 1,9$ mm, chiều dài chồi mầm $5,6 \pm 1,4$ - $5,8 \pm 1,2$ mm, trong khi đó, ở công thức đối chứng chiều dài rễ mầm đạt trung bình $18,0 \pm 1,5$ mm và chiều dài chồi mầm đạt $3,5 \pm 1,3$ mm. Chiều dài rễ mầm và chồi mầm

cũng tăng đáng kể so với đối chứng ở cùng thời điểm (chiều dài rễ mầm gấp 1,47-1,67, chiều dài chồi mầm gấp 1,6-1,65 so với đối chứng). Chiều dài của rễ mầm và chồi mầm ở TN1 và TN2 khác chiều dài của rễ mầm và chồi mầm ở mẫu đối chứng có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Nghiên cứu cũng cho thấy chỉ số Vigour Index (VI) biểu thị cho sức sống hạt giống khi ngâm trong nước được bổ sung chế phẩm VKTQH ở mức cao (đối với giống lúa ST 25 lần lượt là 2626,2 và 2653,7 và giống BT7KBL-02 lần lượt là 3191,2 và 3554,9) so với hạt đối chứng chỉ đạt lần lượt là 1739,0 đối với giống ST25 và 2098,4 đối với giống BT7KBL-02.

3.3. Ảnh hưởng của chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn lên sinh trưởng của cây mầm sau 1 tuần ở điều kiện tự nhiên

Ngoài đánh giá khả năng sinh trưởng của hạt giống ở giai đoạn nảy mầm, chúng tôi còn tiến hành theo dõi ảnh hưởng của chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn lên sinh trưởng của cây mầm ở điều kiện tự nhiên của vụ đông xuân sau 1 tuần. Nhiệt độ thí nghiệm dao động từ 15-22°C. Kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của chế phẩm VKTQH lên chiều dài rễ mầm, chồi mầm và sức sống của cây mầm

		TN1	TN2	ĐC
Chiều dài rễ mầm trung bình (mm)	ST25	44,2 ^b ± 1,4	46,1 ^b ± 1,5	32,5 ^a ± 1,2
	BT7KBL-02	55,5 ^c ± 1,6	65,2 ^b ± 1,7	45,5 ^a ± 1,4
Chiều dài chồi mầm trung bình (mm)	ST25	40,8 ^c ± 1,5	45,5 ^b ± 1,4	35,0 ^a ± 1,7
	BT7KBL-02	38,6 ^b ± 1,3	40,4 ^b ± 1,6	23,5 ^a ± 1,4
Vigour Index (VI)	ST25	8175,5 ^b	8839,4 ^b	6345 ^a
	BT7KBL-02	9297 ^b	10486 ^b	6734,4 ^a

Ghi chú: Trong cùng một hàng, những số có chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa qua phép thử Duncan (P < 0,05).

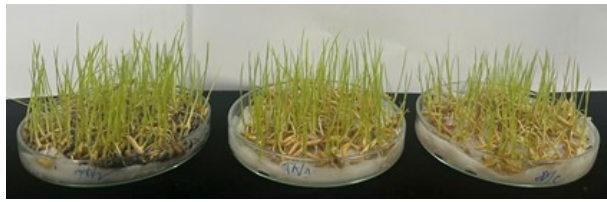
Kết quả thu được từ bảng 3 cho thấy: ở giai đoạn 1 tuần sau khi được chiếu sáng chiều dài rễ mầm và chồi mầm ở các thí nghiệm ngâm hạt với chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn đều phát triển mạnh so với đối chứng. Đối với giống lúa ST25 ở 2 thí nghiệm có chiều dài rễ mầm đạt 44,2 ± 1,4 - 46,1 ± 1,5mm, chiều dài chồi mầm 40,8 ± 1,5 - 45,5 ± 1,4mm, trong khi đó, đối chứng có chiều dài rễ mầm đạt trung bình 32,5 ± 1,2mm và chiều dài chồi mầm đạt 35,0 ± 1,7mm. Chiều dài chồi mầm và rễ mầm khác nhau ở thí nghiệm 1 và thí nghiệm 2 so với đối chứng có ý nghĩa thống kê (P < 0,05), trong đó so sánh giữa thí nghiệm 1 và thí nghiệm 2 không có sự sai khác. Đối với giống lúa BT7KBL-02 ở 2 thí nghiệm có chiều dài rễ mầm đạt 55,5 ± 1,6 - 65,2 ± 1,7mm, chiều dài chồi mầm 38,6 ± 1,3 - 40,4 ± 1,6mm, trong khi đó, ở công thức đối chứng chiều dài rễ mầm đạt trung bình 45,5 ± 1,4mm và chiều dài chồi mầm đạt 23,5 ± 1,4mm. Chiều dài chồi mầm và rễ mầm khác nhau ở thí nghiệm 1 và thí nghiệm 2 so với đối chứng có ý nghĩa thống kê (P < 0,05), trong đó so sánh giữa thí nghiệm 1 và thí nghiệm 2 không có sự sai khác rõ rệt. Nghiên cứu cũng cho thấy chỉ số Vigour Index (VI) biểu thị cho sức sống hạt giống sau 1 tuần được bổ sung chế phẩm VKTQH khi ngâm ở mức cao (đối với giống lúa ST 25 lần lượt là 8175,5 và 8839,4 và giống BT7KBL-02 lần lượt là 9297,0 và 10486,0) so với hạt đối chứng chỉ đạt lần lượt là 6345,0 đối với giống ST25 và 6734,4 đối với giống BT7KBL-02. Kết quả nghiên cứu này phù hợp

với nghiên cứu của nhóm tác giả Iwai & cs. (2022) đã công bố dùng VKTQH với nồng độ 10⁵ CFU/ml đã giúp kích thích phát triển rễ trong đó số lượng rễ, chiều dài rễ, phần trăm rễ mỏng cao hơn so với đối chứng. Như vậy, ngoài kích thích hạt nảy mầm, bổ sung chế phẩm VKTQH khi ngâm hạt giúp cây con có sức sống mạnh mẽ hơn so với đối chứng đối với cây mầm 1 tuần ở điều kiện tự nhiên.

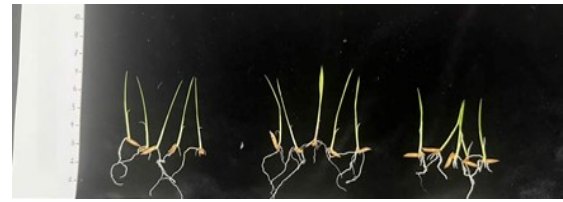
3.4. Đánh giá khả năng chịu mặn trên 2 giống lúa của chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn trong điều kiện *in vitro*

Với đường biển trải dài từ Bắc vào Nam, nhiều khu vực gần biển thường xuyên bị nhiễm mặn. Theo số liệu thống kê: đất bị nhiễm mặn có diện tích khoảng 1 triệu hecta và chiếm khoảng 3% diện tích tự nhiên cả nước, tập trung chủ yếu ở Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL). Ngoài ra, nhiều tỉnh duyên hải miền Trung có diện tích đất nhiễm mặn lên đến vài chục ngàn hecta. Chẳng hạn như các tỉnh Quảng Bình, Hà Tĩnh, Ninh Thuận... mức độ nhiễm mặn cao nhất đạt 0,4%. Ngoài khả năng đánh giá kích thích nảy mầm, thí nghiệm tiến hành đánh giá khả năng chống chịu của cây mầm với điều kiện bất lợi về độ mặn. Khả năng sinh trưởng và chống chịu của cây mầm sau 7 ngày nuôi cấy trong điều kiện *in vitro* ở hai nồng độ muối 50mM và 100mM (tương đương với 0,29%-0,58% là các nồng độ cao hơn ngưỡng nhiễm mặn của các vùng canh tác) được trình bày ở bảng 4 và 5.

ST25

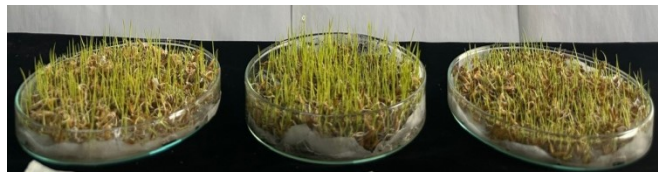


TN2 TN1 ĐC



TN1 TN2 ĐC

BT7KBL-02



TN1 TN2 ĐC



TN1 TN2 ĐC

Hình 3. Ảnh hưởng của chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn đến sinh trưởng của cây mầm sau 1 tuần ở điều kiện tự nhiên

Bảng 4. Ảnh hưởng của chế phẩm VKTQH lên chiều dài rễ mầm, chồi mầm và sức sống của cây mầm ở nồng độ 50mM NaCl

		TN1	TN2	ĐC
Chiều dài rễ mầm trung bình (mm)	ST25	41,5 ^b ± 1,3	43,0 ^b ± 1,4	31,5 ^a ± 1,2
	BT7KBL-02	35,5 ^c ± 1,5	45,0 ^b ± 1,7	30,5 ^a ± 1,5
Chiều dài chồi mầm trung bình (mm)	ST25	42,0 ^b ± 1,2	42,5 ^b ± 1,4	35,0 ^a ± 1,7
	BT7KBL-02	34,6 ^c ± 1,4	41,4 ^b ± 1,6	25,0 ^a ± 1,4
Vigour Index (VI)	ST25	7974,2 ^b	8250,7 ^b	6251 ^a
	BT7KBL-02	6925,8 ^c	8579,5 ^b	5416,8 ^a

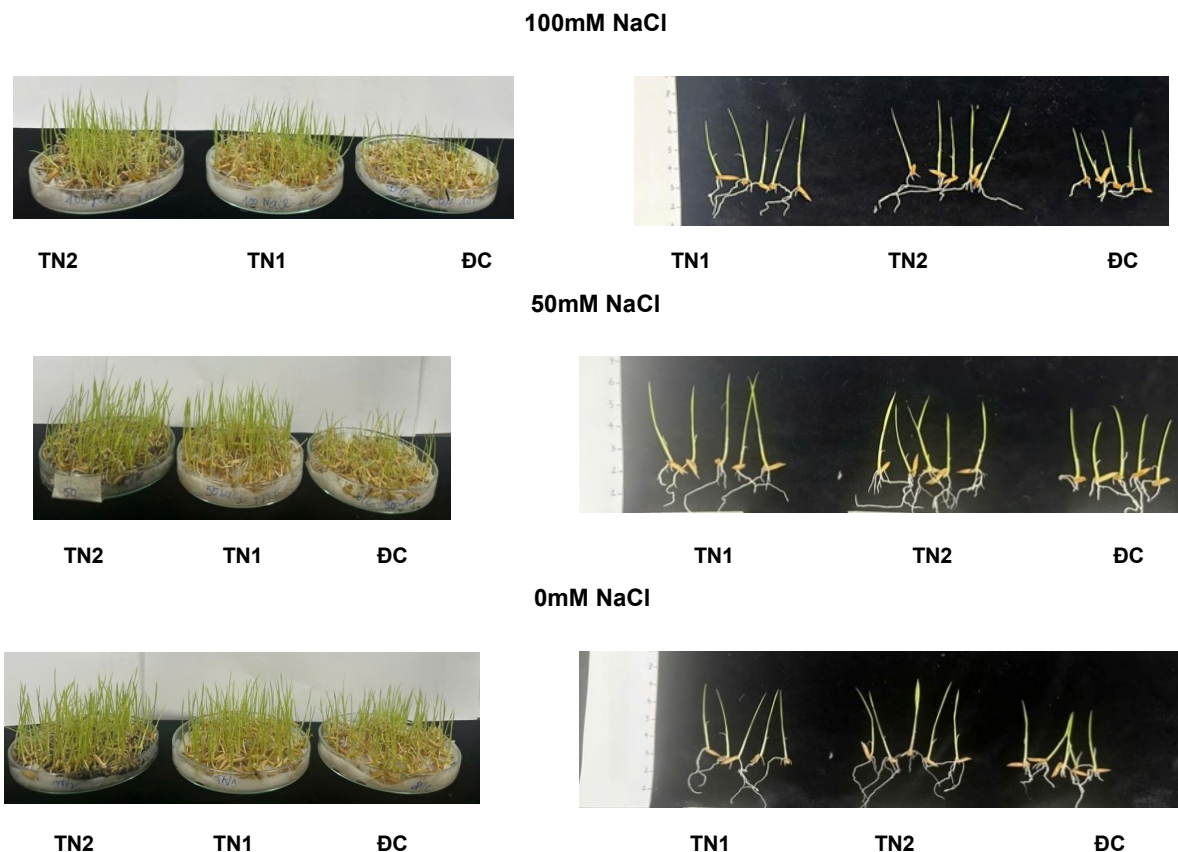
Ghi chú: Trong cùng một hàng, những số có chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa qua phép thử Duncan ($P < 0,05$).

Bảng 5. Ảnh hưởng của chế phẩm VKTQH lên chiều dài rễ mầm, chồi mầm và sức sống của cây mầm ở nồng độ 100mM NaCl

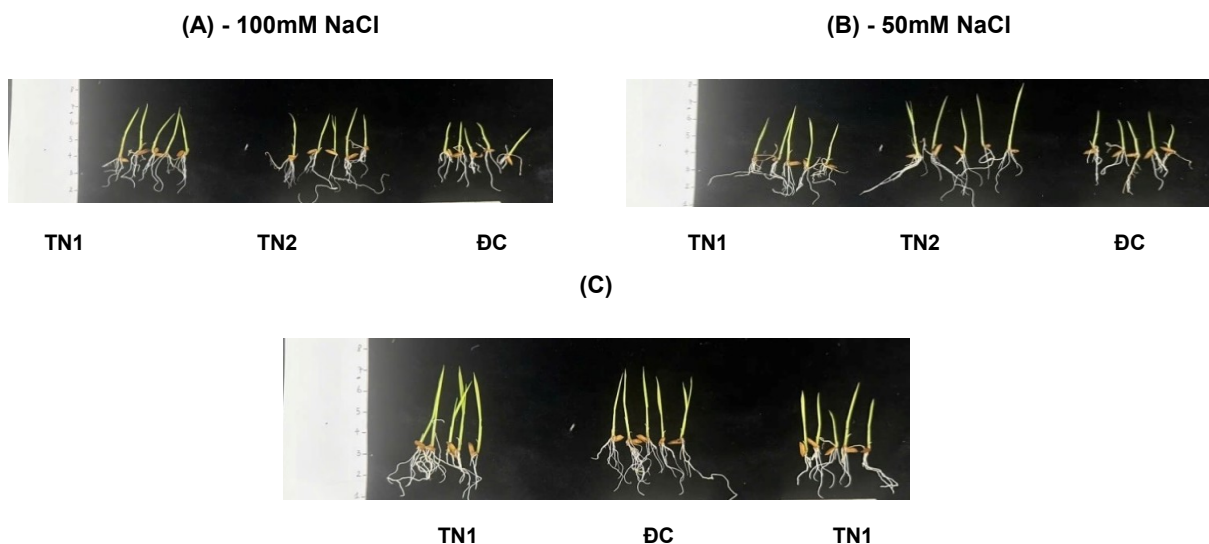
		TN1	TN2	ĐC
Chiều dài rễ mầm trung bình (mm)	ST25	39,0 ^b ± 1,5	40,1 ^b ± 1,1	20,0 ^a ± 1,2
	BT7KBL-02	28,5 ^b ± 1,5	30,2 ^b ± 1,3	23,5 ^a ± 1,4
Chiều dài chồi mầm trung bình (mm)	ST25	40,0 ^b ± 1,5	41,5 ^b ± 1,3	30,0 ^a ± 1,7
	BT7KBL-02	29,0 ^b ± 1,7	30,4 ^b ± 1,2	22,5 ^a ± 1,4
Vigour Index (VI)	ST25	7544,5 ^b	7874,4 ^b	47000 ^a
	BT7KBL-02	5681 ^b	6017,5 ^b	4489,6 ^a

Ghi chú: Trong cùng một hàng, những số có chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa qua phép thử Duncan ($P < 0,05$).

Nghiên cứu ảnh hưởng của chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp đến khả năng nảy mầm của giống lúa ST25 và BT7KBL-02



Hình 4. Ảnh hưởng của chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn đến sinh trưởng của cây mầm ST25 khi bổ sung NaCl ở các nồng độ khác nhau



Ghi chú: (A): Ảnh hưởng của chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn đến cây mầm ở nồng độ NaCl 100mM; (B): Ảnh hưởng của chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn đến cây mầm ở nồng độ NaCl 50mM, (C): Ảnh hưởng của chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn đến cây khi không bổ sung NaCl.

Hình 5. Ảnh hưởng của chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn đến sinh trưởng của cây mầm BT7KBL-02 ở các nồng độ NaCl khác nhau

Kết quả từ bảng 4, 5 và hình 4, 5 cho thấy ở thí nghiệm không bổ sung muối thì sinh trưởng của cây mầm không bị ảnh hưởng của muối nên phát triển tốt, thí nghiệm 1 và 2 có bổ sung chế phẩm PNSB-EBT1 và PNSB-EBT2 thì rễ mầm và chồi mầm phát triển tốt hơn so với đối chứng có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) (Hình 5C). Khi bổ sung nồng độ 50 mM NaCl, ở giai đoạn 1 tuần sau khi được chiếu sáng, chiều dài rễ mầm và chồi mầm ở các thí nghiệm có bổ sung chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn đều phát triển mạnh hơn so với đối chứng. Đối với giống lúa ST25 ở 2 thí nghiệm có chiều dài rễ mầm trung bình đạt $41,5 \pm 1,3$ - $43,0 \pm 1,4$ mm, chiều dài chồi mầm trung bình $42,0 \pm 1,2$ - $42,5 \pm 1,4$ mm, trong khi đó, ở công thức đối chứng bổ sung 50mM NaCl không bổ sung chế phẩm VKTQH chiều dài rễ mầm đạt trung bình $31,5 \pm 1,2$ mm và chiều dài chồi mầm trung bình đạt $35,0 \pm 1,7$ mm. Sự khác nhau về chiều dài của chồi mầm và rễ mầm trong các công thức thí nghiệm so với đối chứng có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$), trong đó, sự khác nhau về chiều dài của chồi mầm và rễ mầm giữa công thức bổ sung chế phẩm dạng lỏng (TN1) và dạng rắn (TN2) không có ý nghĩa thống kê. Đối với giống lúa BT7KBL-02 ở 2 thí nghiệm có chiều dài rễ mầm đạt trung bình $35,5 \pm 1,5$ - $45,0 \pm 1,7$ mm, chiều dài chồi mầm trung bình đạt $34,6 \pm 1,4$ - $41,4 \pm 1,6$ mm, trong khi đó, ở công thức đối chứng có chiều dài rễ mầm đạt trung bình $30,5 \pm 1,5$ mm và chiều dài chồi mầm đạt $25,0 \pm 1,4$ mm. Kết quả cho thấy, khi hạt giống lúa nảy mầm bị ảnh hưởng ở nồng độ muối 50mM, bổ sung chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn giúp cây mầm phát triển tốt, chiều dài rễ mầm và chồi mầm phát triển tốt gần tương đương với điều kiện không bổ sung muối. Ở công thức đối chứng có bổ sung muối và không bổ sung chế phẩm, cây mầm bị ảnh hưởng nên rễ mầm và chồi mầm phát triển chậm hơn khi không bổ sung muối. Ở nồng độ 100mM NaCl chiều dài rễ mầm và chồi mầm ở các thí nghiệm có bổ sung chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn đều phát triển mạnh hơn so với đối chứng không bổ sung chế phẩm VKTQH, sự sai khác này có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Đối với giống

lúa ST25 ở 2 thí nghiệm có chiều dài rễ mầm đạt $39,0 \pm 1,5$ - $40,1 \pm 1,1$ mm, chiều dài chồi mầm $40,0 \pm 1,5$ - $41,5 \pm 1,3$ mm trong khi đó, đối chứng bổ sung 100mM NaCl không bổ sung chế phẩm VKTQH, chiều dài rễ mầm đạt trung bình $20,0 \pm 1,2$ mm và chiều dài chồi mầm đạt $30,0 \pm 1,7$ mm. Đối với giống lúa BT7KBL-02 ở 2 thí nghiệm có chiều dài rễ mầm đạt $28,5 \pm 1,5$ - $30,2 \pm 1,3$ mm, chiều dài chồi mầm $29,0 \pm 1,7$ - $30,4 \pm 1,2$ mm, trong khi đó đối chứng có chiều dài rễ mầm đạt trung bình $23,5 \pm 1,4$ mm và chiều dài chồi mầm đạt $22,5 \pm 1,4$ mm.

Chỉ số Vigour Index (VI) biểu thị cho sức sống hạt giống sau 1 tuần được bổ sung chế phẩm VKTQH trong điều kiện nhiễm mặn 50-100mM có sự khác biệt so với đối chứng không được bổ sung chế phẩm VKTQH.

Các kết quả trên thể hiện khi bổ sung chế phẩm VKTQH dạng lỏng và dạng rắn có khả năng kích thích sinh trưởng và chống chịu mặn ở giai đoạn sinh trưởng khởi đầu của cây lúa.

4. KẾT LUẬN

Bổ sung chế phẩm PNSB-EBT1 và PNSB-EBT2 khi ngâm hạt giúp gia tăng tỷ lệ nảy mầm của hạt lúa ST25 và BT7KBL-02 từ 1,5-2,5% so với đối chứng sử dụng nước máy. Chế phẩm giúp kích thích chiều dài rễ mầm và chồi mầm so với đối chứng. Ở giai đoạn cây mầm, ở các công thức thí nghiệm khi bổ sung chế phẩm VKTQH rễ mầm và chồi mầm tiếp tục phát triển tốt hơn so với đối chứng và có sự sai khác có ý nghĩa. Chế phẩm PNSB-EBT1 và PNSB-EBT2 giúp cây mầm có khả năng chịu mặn và sinh trưởng tốt ở nồng độ NaCl 50mM và 100mM, giúp kích thích sinh trưởng làm tăng chiều dài rễ mầm và chồi mầm so với đối chứng không bổ sung chế phẩm VKTQH ở giai đoạn cây mầm. Cả 2 dạng chế phẩm đều có thể dùng cho kích thích nảy mầm và chống chịu điều kiện nhiễm mặn ở giai đoạn đầu của trồng lúa. Do đó, bón phân sinh học bằng chế phẩm VKTQH là phương pháp thân thiện với môi trường và tiết kiệm chi phí để tăng cường sinh trưởng thực vật. Khuyến cáo nên bổ sung chế phẩm từ giai đoạn ngâm hạt giống.

LỜI CẢM ƠN

Công trình được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí từ Đề tài tiềm năng mã số 07/2022/TN do Quỹ NAFOSTED tài trợ và các trang thiết bị tại Phòng CNSH môi trường, Viện Sinh học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abul-Baki A.A. & Anderson J.D. (1973). Vigour determination in soybean by multiple criteria, *Crop Science*. 3: 630-637.
- Chakraborti S., Bera K., Sadhukhan S. & Dutta P. (2022). Bio-priming of seeds: Plant stress management and its underlying cellular, biochemical and molecular mechanisms. *Plant Stress*. 3: 100052.
- Elbadry M, Gamal-Eldin H, and Elbanna K. (1999b). Effects of *Rhodobacter capsulatus* inoculation in combination with graded levels of nitrogen fertilizer on growth and yield of rice in pots and lysimer experiments. *World J Microbiol Biotechnol*. 15: 393-395.
- Elbadry M., El-Bassel A. & Elbanna K. (1999a). Occurrence and dynamics of phototrophic purple nonsulphur bacteria compared with other asymbiotic nitrogen fixers in ricefields of Egypt. *World J Microbiol Biotechnol* 15: 359-362.
- Hanapi S.Z., Supari N., Alam S.A.Z. & Sarmidi M.R. (2014). Microbial effects on seed germination in Malaysian rice (*Oryza sativa* L.). *Proceeding of the Asia-Pacific Advanced Network*. 37: 42-51. <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms10112197>
- Hussain S. (2015). Benefits of rice seed priming are offset permanently by prolonged storage and the storage conditions, *Scientific Reports*. 5: 81-101.
- Imhoff J.F. & Trueper H.G. (1989). Purple non-sulfur bacteria (Rhodospirillaceae Pfennig and Trueper 197, 17AL), P: 1438-1680. *In*: Staley JT; Bryant M P; Pfennig N, and Holt JG. (eds.). *Bergey' manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 3. Williams and Wilkins. Baltimore.
- Iwai R., Uchida S., Yamaguchi S., Sonoda F., Tsunoda K., Nagata H., Nagata D., Koga A., Goto M., Maki T. & Miyasaka H. (2022). Effects of Seed Bio - Priming by Purple Non-Sulfur Bacteria (PNSB) on the Root Development of Rice. *Microorganisms*. 10: 2197.
- Kantachote D., Kornochalart N. & Chairapat S. (2010). The use of purple non sulfur bacterium isolate P1 and fermented pineapple extract to treat latex rubber sheet wastewater for possible use as irrigation water. *African journal of Microbiology Research*. 4(21): 2296-2308.
- Kibinza S., Bazin J., Bailly C., Farrant J.M., Corbinau F. & El-Maarouf-Bouteau H. (2011). Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming, *Plant Science*. 181(3): 309-315.
- Koh Hyun R. & Song H.G. (2007). Effects of Application of *Rhodopseudomonas* sp. on Seed Germination and Growth of Tomato Under Axenic Conditions *J Microbiol. Biotechnol*. 17(11): 1805-1810.
- Madigan M.T., Martinko J.M. & Parker J. (2000). *Brock Biology of Microorganisms*. 9th edn, Prentice-Hall Inc.
- Madukasi E.I., Chunhua H., Zhang G. (2011). Isolation and application of a wild strain photosynthetic bacterium to environmental waste management. *J. Environ. Sci. Tech*. 8(3): 513-522.
- Nakhoda B., Leung H., Mendiolo M.S., Nejad G.M. & Ismail A.M. (2012). Isolation, characterization, and field evaluation of rice (*Oryza sativa* L., Var. IR64) mutants with altered responses to salt stress. *Field Crops Res*. 127: 191- 202.
- Nunkaew T., Kantachote D., Nitoda T. & Kanzaki H. (2015). Selection of salt tolerant purple non-sulfur bacteria producing 5-aminolevulinic acid (ALA) and reducing methane emissions from microbial rice straw degradation. *Appl Soil Ecol*. 86: 113-120.
- Panwichian S., Kantachote D., Wittayaweerasak B. & Mallavarapu M. (2011). Removal of heavy metals by exopolymeric substances produced by resistant purple non-sulfur bacteria isolated from contaminated shrimp ponds. *Electron J Biotechnol*. 14(4). <http://dx.doi.org/10.2225/vol14-issue4-fulltext-2>.
- Raj S.N., Shetty N.P.; Shetty H.S. (2024). Seed bio-priming with *Pseudomonas fluorescens* isolates enhances growth of pearl millet plants and induces resistance against downy mildew. *Int. J. Pest Manag*. 50: 41-48.
- Sahi C., Singh A., Blumwald E. & Grover A. (2006). Beyond osmolytes and transporters: novel plant salt stress tolerance-related genes from transcriptional profiling data. *Plant Physiol*. 127: 1-9.
- Sasikala C. & Ramana C.V. (1995). Biotechnological potential of photosynthetic bacteria I: Production of single cell protein, vitamins, ubiquinone, hormones, and enzymes and use in waste treatment. *Advances and Applied Microbiology*. (41): 173-225.
- Scott S., Jones R. & Williams W. (1984). Review of data analysis methods for seed germination, *Crop Science*. 24: 1192-1199.
- Sharma K.K., Singh D., Sapna B.S. & Kuhad R.C. (2013). Ligninolytic Enzymes in Environmental Management. *In* *Biotechnology for Environmental Management and Resource Recovery*, ed., Kuhad, K.C.; Singh, A. Springer. India. pp. 219-38.