



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN  
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)  
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



**2-0003631**

(51) **C05F 11/02; C12N 1/10; C12N 15/75; C05F** (13) **Y**  
2021.01 11/08

(21) 2-2022-00393

(22) 20/06/2018

(67) 1-2018-02678

(45) 25/07/2024 436

(43) 25/04/2019 373A

(73) Trường Đại học Cần Thơ (VN)

Khu II, đường 3/2, phường Xuân Khánh, quận Ninh Kiều, Thành phố Cần Thơ

(72) Nguyễn Khởi Nghĩa (VN).

(74) Công ty TNHH Luật ALIAT (ALIAT LEGAL)

(54) QUY TRÌNH SẢN XUẤT CHẾ PHẨM VI SINH CHỊU MẶN DỪNG CHO CÂY TRỒNG  
TRÊN NỀN ĐẤT NHIỄM MẶN

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến chế phẩm vi sinh chịu mặn dùng cho cây trồng trên nền đất nhiễm mặn, chế phẩm này bao gồm các thành phần hỗn hợp: cám gạo có hàm lượng từ 85% đến 87%, đường có hàm lượng từ 10% đến 11%; và chất nền có hàm lượng từ 3% đến 4%. Chất nền là xỉ than tổ ong đã cố định sẵn các dòng vi khuẩn được chọn từ ba nhóm vi khuẩn: vi khuẩn cố định đạm *Bacillus aquymaris* KG6-3, vi khuẩn hòa tan lân *Burkholderia sp.* BL1-10, và vi khuẩn tiết hormon thực vật IAA *Bacillus megaterium* ST2-9. Giải pháp hữu ích cũng đề cập đến quy trình sản xuất chế phẩm này.

### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Giải pháp hữu ích đề cập đến lĩnh vực nông nghiệp, cụ thể là giải pháp hữu ích liên quan đến chế phẩm vi sinh chịu mặn dùng cho cây trồng trên nền đất nhiễm mặn. Chế phẩm này chứa ba dòng vi khuẩn bao gồm: vi khuẩn cố định đạm *Bacillus aquymaris* KG6-3, vi khuẩn hòa tan lân *Burkholderia sp.* BL1-10, và vi khuẩn tiết hormon thực vật IAA *Bacillus megaterium* ST2-9. Ngoài ra, giải pháp hữu ích cũng liên quan đến quy trình sản xuất chế phẩm này.

### **Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích**

Đã biết các quy trình sau đây:

Quy trình sản xuất chế phẩm vi sinh dùng để xử lý chất thải hữu cơ của nhóm tác giả: Lương Hữu Thành, Đào Văn Thông, Vũ Thúy Nga, Hứa Thị Sơn, Nguyễn Ngọc Quỳnh, Phạm Thị Thanh Huyền và Tống Hải Vân do Viện Môi trường Nông nghiệp – Viện KHNN Miền Nam thực hiện xây dựng. Chế phẩm vi sinh này chứa nhóm vi sinh vật có khả năng phân hủy nhanh chất hữu cơ giàu cacbon và hoà tan lân khó tan. Trước tiên, sinh khối vi khuẩn được nhân nuôi trong môi trường chuyên biệt phù hợp với từng dòng vi khuẩn, sau đó sinh khối các dòng vi khuẩn được trộn với chất mang là bột mì, cuối cùng bột mì được trộn với mật rỉ và cám gạo (các cơ chất đều được tiệt trùng). Chế phẩm được sấy để đạt độ ẩm từ 20% – 25% và mật số từ  $10^8$  cfu/g trở lên.

Quy trình sản xuất chế phẩm sinh học xử lý vỏ cà phê ở quy mô nhỏ của tác giả: Đào Thị Lan Hoa và cộng sự do Viện Khoa học kỹ thuật Nông Lâm Nghiệp Tây Nguyên chủ trì thực hiện. Chế phẩm vi sinh này gồm xạ khuẩn, nấm và vi khuẩn có hoạt tính sinh học phân hủy nhanh vỏ cà phê và sinh khối của từng nhóm vi sinh được nhân nuôi trong môi trường chuyên biệt phù hợp với từng nhóm vi sinh vật, sau đó các chủng vi sinh vật được trộn với cơ chất là bắp, cám, trấu và than bùn được tiệt trùng theo tỷ lệ phù hợp, tiến hành ủ trong 6 ngày và phơi khô trong 3 ngày ở nhiệt độ phòng.

### Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích nhằm tạo ra chế phẩm vi sinh chịu mặn có chức năng cố định đạm, hòa tan lân và tổng hợp hormon thực vật kích thích sinh trưởng cây trồng giúp bảo vệ cây trồng khi canh tác trên nền đất nhiễm mặn, đồng thời giúp tăng năng suất, giảm thiểu sử dụng phân bón hóa học, thuốc bảo vệ thực vật và nâng cao chất lượng nông sản.

Để đạt được các mục đích nêu trên, giải pháp hữu ích đề xuất chế phẩm vi sinh chịu mặn dùng cho cây trồng trên nền đất nhiễm mặn, chế phẩm này bao gồm các thành phần hỗn hợp:

cám gạo có hàm lượng từ 85% đến 87%;

đường có hàm lượng từ 10% đến 11%; và

chất nền có hàm lượng từ 3% đến 4%

Theo một phương án cụ thể của giải pháp hữu ích, chất nền là xỉ than tổ ong đã cố định sẵn các dòng vi khuẩn được chọn từ ba nhóm vi khuẩn: vi khuẩn cố định đạm *Bacillus aquymaris* KG6-3, vi khuẩn hòa tan lân *Burkholderia sp.* BL1-10, và vi khuẩn tiết hormon thực vật IAA *Bacillus megaterium* ST2-9.

Theo một phương án cụ thể của giải pháp hữu ích, giá trị độ ẩm của chất nền từ 40% đến 45%, giá trị ẩm độ có liên quan đến khả năng sống sót của 3 dòng vi khuẩn.

Giải pháp hữu ích cũng đề xuất quy trình sản xuất chế phẩm vi sinh dùng cho cây trồng trên nền đất nhiễm mặn. Quy trình này bao gồm các bước như sau:

i) Bước 1: nhân sinh khối ba dòng vi khuẩn: vi khuẩn cố định đạm *Bacillus aquymaris* KG6-3, vi khuẩn hòa tan lân *Burkholderia sp.* BL1-10, và vi khuẩn tiết hormon thực vật IAA *Bacillus megaterium* ST2-9: ba dòng vi khuẩn dùng để sản xuất chế phẩm vi sinh được nhân mật số trong bình tam giác chứa môi trường TSB lỏng gồm 30 g trypton đậu tương trong 1 lít nước khử khoáng, bổ sung 1% NaCl được tiết trùng và để nguội; các bình tam giác chứa mẫu được đặt trên máy lắc tròn với tốc độ 90 vòng/phút trong ba ngày và trong điều kiện tối; xác định mật số của từng dòng vi khuẩn sau 3 ngày nuôi cấy, mật số vi khuẩn phải đảm bảo từ  $10^9$  đến  $10^{11}$ cfu.g<sup>-1</sup> đối với từng dòng vi khuẩn riêng lẻ;

ii) Bước 2: Phối trộn chế phẩm vi sinh: cám dùng làm chất nền được tiệt trùng và để nguội, dùng 1/3 tổng khối lượng cám trộn đều với xỉ than tổ ong chứa vi khuẩn và đường; cho 2/3 lượng cám còn lại vào hỗn hợp nêu trên và trộn đều, dùng nước cất tiệt trùng để hiệu chỉnh ẩm độ của chất nền đạt từ 40% đến 45%, trộn đều một lần nữa rồi mang đi đóng thành túi 5 kg, bảo quản nơi thoáng mát, tránh ánh mặt trời;

iii) Bước 3: Kiểm tra chất lượng: Mật số của hỗn hợp 3 dòng vi khuẩn *Burkholderia sp.* BL1-10, *Bacillus megaterium* ST2-9 và *Bacillus aquymaris* KG6-3 được xác định theo định kỳ 1 lần/tháng trong thời gian tồn trữ và bảo quản chế phẩm.

Theo một phương án của giải pháp hữu ích, quy trình sản xuất chế phẩm vi sinh dùng cho cây trồng trên nền đất nhiễm mặn, trong đó bước iii) quy trình kiểm tra chất lượng được thực hiện như sau:

tại thời điểm thu mẫu, lấy 10 g chất nền vào chai nắp xanh 150 mL, sau đó, cho vào 100 ml dung dịch đệm lân (23,99 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  và 15,59 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  trong 1 lít nước khử khoáng) lắc trên máy lắc ngang tốc độ 150 vòng/ phút trong 60 phút thu được dịch trích của chế phẩm; dịch trích được pha loãng đến nồng độ thích hợp và trải mẫu trên đĩa môi trường TSA chứa thạch và trypton đậu tương, thành phần của 1L môi trường TSA gồm 30 g trypton đậu tương và 15 g thạch, bổ sung 1 % NaCl, các đĩa môi trường TSA chứa vi khuẩn được đặt vào tủ ủ ở nhiệt độ 35°C trong ba ngày, sau đó, đếm mật số khuẩn lạc, chế phẩm đạt chất lượng khi mật số của 3 dòng vi khuẩn cao hơn  $10^6$  cfu.g<sup>-1</sup> chế phẩm và ẩm độ đạt 40%.

#### **Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích**

Theo một phương án của giải pháp hữu ích, chế phẩm vi sinh chịu mặn dùng cho cây trồng trên nền đất nhiễm mặn, bao gồm các thành phần hỗn hợp:

cám gạo có hàm lượng từ 85% đến 87%,

đường có hàm lượng từ 10% đến 11%; và

chất nền có hàm lượng từ 3% đến 4%

Theo một phương án cụ thể của giải pháp hữu ích, chất nền là xỉ than tổ ong đã cố định sẵn các dòng vi khuẩn được chọn từ ba nhóm vi khuẩn: vi khuẩn cố định đạm

*Bacillus aquymaris* KG6-3, vi khuẩn hòa tan lân *Burkholderia sp.* BL1-10, và vi khuẩn tiết hormon thực vật IAA *Bacillus megaterium* ST2-9.

Theo một phương án cụ thể của giải pháp hữu ích, giá trị độ ẩm của chất nền từ 40% đến 45%, giá trị ẩm độ có liên quan đến khả năng sống sót của 3 dòng vi khuẩn.

Giải pháp hữu ích cũng đề xuất quy trình sản xuất chế phẩm vi sinh dùng cho cây trồng trên nền đất nhiễm mặn. Quy trình này bao gồm các bước như sau:

i) Bước 1: Nhân sinh khối ba dòng vi khuẩn: vi khuẩn cố định đạm *Bacillus aquymaris* KG6-3, vi khuẩn hòa tan lân *Burkholderia sp.* BL1-10, và vi khuẩn tiết hormon thực vật IAA *Bacillus megaterium* ST2-9: ba dòng vi khuẩn dùng để sản xuất chế phẩm vi sinh được nhân mật số trong bình tam giác chứa môi trường TSB lỏng gồm 30 g trypton đậu tương, trong 1 lít nước khử khoáng, bổ sung 1% NaCl được tiệt trùng và để nguội; các bình tam giác chứa mẫu được đặt trên máy lắc tròn với tốc độ 90 vòng/phút trong ba ngày và trong điều kiện tối; xác định mật số của từng dòng vi khuẩn sau 3 ngày nuôi cấy, mật số vi khuẩn phải đảm bảo từ  $10^9$  đến  $10^{11}$  cfu.g<sup>-1</sup> đối với từng dòng vi khuẩn riêng lẻ;

ii) Bước 2: Phối trộn chế phẩm vi sinh: cám dùng làm chất nền được tiệt trùng và để nguội, dùng 1/3 tổng khối lượng cám trộn đều với xỉ than tổ ong chứa vi khuẩn và đường; cho 2/3 lượng cám còn lại vào hỗn hợp nêu trên và trộn đều, dùng nước cất tiệt trùng để hiệu chỉnh ẩm độ của chất nền đạt từ 40% đến 45%, trộn đều một lần nữa rồi mang đi đóng thành túi 5 kg, bảo quản nơi thoáng mát, tránh ánh mặt trời;

iii) Bước 3: Kiểm tra chất lượng: Mật số của hỗn hợp 3 dòng vi khuẩn *Burkholderia sp.* BL1-10, *Bacillus megaterium* ST2-9 và *Bacillus aquymaris* KG6-3 được xác định theo định kỳ (1 lần/tháng) trong thời gian tồn trữ và bảo quản chế phẩm.

Quy trình sản xuất chế phẩm vi sinh dùng cho cây trồng trên nền đất nhiễm mặn bao gồm các bước:

bước i) nhân sinh khối ba dòng vi khuẩn:

nuôi cấy một cách riêng rẽ vi khuẩn cố định đạm *Bacillus aquymaris* KG6-3, vi khuẩn hòa tan lân *Burkholderia sp.* BL1-10 và vi khuẩn tiết hormon thực vật IAA *Bacillus megaterium* ST2-9 trong bình tam giác chứa môi trường TSB lỏng, ở điều

kiện lắc tròn với tốc độ 90 vòng/phút trong 3 ngày ở điều kiện tối để đạt được mật độ của từng chủng vi khuẩn là  $10^9$  đến  $10^{11}$  cfu.g<sup>-1</sup>, trong đó môi trường TSB lỏng gồm 30 g trypton đậu tương trong 1 lít nước khử khoáng, bổ sung 1% NaCl, tiết trùng và để nguội;

bước ii) cố định vi khuẩn vào chất mang xỉ than:

cho xỉ than tổ ong tiết trùng đường kính từ 1mm đến 2mm vào các bình tam giác chứa chủng vi khuẩn đã nhân sinh khối thu được sau bước i) trong thời gian từ 16 đến 24 giờ trên máy lắc vòng với tốc độ 90 vòng/phút và trong điều kiện tối;

bước iii) phối trộn chế phẩm vi sinh:

chuẩn bị các thành phần theo tỷ lệ % khối lượng là cám 87%, đường cát vàng 10%, xỉ than đã cố định vi khuẩn 3%, trong đó cám là cám được tiết trùng 3 lần và để nguội, và xỉ than đã cố định vi khuẩn là hỗn hợp đã trộn đều khối lượng bằng nhau của xỉ than đã cố định mỗi chủng vi khuẩn,

dùng 1/3 tổng khối lượng cám trộn đều với xỉ than đã cố định vi khuẩn và đường, cho 2/3 lượng cám còn lại vào hỗn hợp nêu trên và trộn đều, dùng nước cất tiết trùng để hiệu chỉnh ẩm độ của chất nền đạt từ 40% đến 45%, trộn đều một lần nữa, thu được chế phẩm vi sinh dùng cho cây trồng trên nền đất nhiễm mặn.

Theo một phương án của giải pháp hữu ích, quy trình sản xuất chế phẩm vi sinh dùng cho cây trồng trên nền đất nhiễm mặn, trong đó bước iii) quy trình kiểm tra chất lượng được thực hiện như sau:

tại thời điểm thu mẫu, lấy 10 g chất nền vào chai nắp xanh 150 mL, sau đó, cho vào 100 ml dung dịch đệm lân (23,99 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> và 15,59 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> trong 1 lít nước khử khoáng) lắc trên máy lắc ngang tốc độ 150 vòng/ phút trong 60 phút thu được dịch trích của chế phẩm; dịch trích được pha loãng đến nồng độ thích hợp và trải mẫu trên đĩa môi trường TSA chứa thạch và trypton đậu tương, thành phần của 1 L môi trường TSA gồm 30 g trypton đậu tương và 15 g thạch, bổ sung 1 % NaCl, các đĩa môi trường TSA chứa vi khuẩn được đặt vào tủ ủ ở nhiệt độ 35°C trong ba ngày, sau đó, đếm mật số khuẩn lạc, chế phẩm đạt chất lượng khi mật số của 3 dòng vi khuẩn cao hơn  $10^6$  cfu.g<sup>-1</sup> chế phẩm và ẩm độ đạt 40%.

### Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Sản xuất 200 kg chế phẩm vi sinh chịu mặn dùng cho cây trồng trên nền đất nhiễm mặn. Trong 200 kg chế phẩm gồm các thành phần bao gồm 174 kg cám khô kiệt, 20 kg đường cát vàng, 6 kg xỉ than tổ ong đường kính từ 1mm đến 2mm cố định sẵn vi khuẩn (2 kg xỉ than/dòng vi khuẩn) và 64 lít nước tiệt trùng để đạt ẩm độ chế phẩm 40% đến 45%. Các bước thực hiện như sau:

bước i) nhân sinh khối ba dòng vi khuẩn:

nuôi cấy một cách riêng rẽ vi khuẩn cố định đạm *Bacillus aquymaris* KG6-3, vi khuẩn hòa tan lân *Burkholderia sp.* BL1-10 và vi khuẩn tiết hormon thực vật IAA *Bacillus megaterium* ST2-9 trong bình tam giác chứa môi trường TSB lỏng, ở điều kiện lắc tròn với tốc độ 90 vòng/phút trong 3 ngày ở điều kiện tối để đạt được mật độ của từng chủng vi khuẩn là  $10^9$  đến  $10^{11}$ cfu.g<sup>-1</sup>, trong đó môi trường TSB lỏng gồm 30 g trypton đậu tương trong 1 lít nước khử khoáng, bổ sung 1% NaCl, tiệt trùng và để nguội;

bước ii) cố định vi khuẩn vào chất mang xỉ than:

cho xỉ than tổ ong tiệt trùng đường kính từ 1mm đến 2mm vào các bình tam giác chứa chủng vi khuẩn đã nhân sinh khối thu được sau bước i) trong thời gian từ 16 đến 24 giờ trên máy lắc vòng với tốc độ 90 vòng/phút và trong điều kiện tối;

bước iii) phối trộn chế phẩm vi sinh:

chuẩn bị 174 kg cám, 20kg đường cát vàng, 6kg xỉ than đã cố định vi khuẩn, trong đó cám là cám được tiệt trùng 3 lần và để nguội, và xỉ than đã cố định vi khuẩn là hỗn hợp đã trộn đều khối lượng bằng nhau của xỉ than đã cố định mỗi chủng vi khuẩn,

dùng 58 kg cám trộn đều với 6 kg xỉ than đã cố định vi khuẩn và 20 kg đường. Sau đó cho 116 kg lượng cám còn lại vào hỗn hợp nêu trên và trộn đều, dùng 64 lít nước cất tiệt trùng để hiệu chỉnh ẩm độ của chất nền đạt từ 40% đến 45%, trộn đều một lần nữa để thu được chế phẩm vi sinh dùng cho cây trồng trên nền đất nhiễm mặn.

Xác định lại ẩm độ sau khi trộn đều chế phẩm và đóng gói thành túi 5 kg, bảo quản nơi thoáng mát, tránh ánh mặt trời;

Kiểm tra chất lượng: mật số của hỗn hợp 3 dòng vi khuẩn *Burkholderia sp.* BL1-10, *Bacillus megaterium* ST2-9 và *Bacillus aquymaris* KG6-3 được xác định theo định kỳ 1 lần/tháng trong thời gian tồn trữ và bảo quản chế phẩm.

#### **Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích**

Thực nghiệm cho thấy năng suất lúa đạt 4,3 tấn.ha<sup>-1</sup> khi kết hợp bón 100% NPK khuyến cáo và chế phẩm vi sinh theo giải pháp hữu ích, không khác biệt so với nghiệm thức bón giảm 20% lượng phân NPK khuyến cáo và chế phẩm vi sinh (với năng suất đạt 4 tấn.ha<sup>-1</sup>), nhưng khác biệt so với nghiệm thức chỉ bón NPK khuyến cáo (100N-60P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-30K<sub>2</sub>O) đạt 3,8 tấn.ha<sup>-1</sup>. Như vậy, việc sử dụng chế phẩm vi sinh kết hợp với công thức bón phân theo khuyến cáo (100N-60P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-30K<sub>2</sub>O) cho lúa trên nền đất nhiễm mặn ở điều kiện thực tế đồng ruộng có tác dụng làm tăng 13% năng suất lúa so với nghiệm thức bón phân NPK (100N-60P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-30K<sub>2</sub>O) vô cơ theo khuyến cáo, ngoài ra, việc sử dụng chế phẩm vi sinh này giúp giảm 20% lượng phân bón NPK theo khuyến cáo nhưng năng suất lúa vẫn cho tương đương với nghiệm thức bón phân NPK theo khuyến cáo.



## YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất chế phẩm vi sinh dùng cho cây trồng trên nền đất nhiễm mặn bao gồm các bước:

bước i) nhân sinh khối ba dòng vi khuẩn:

nuôi cấy một cách riêng rẽ vi khuẩn cố định đạm *Bacillus aquymaris* KG6-3, vi khuẩn hòa tan lân *Burkholderia sp.* BL1-10 và vi khuẩn tiết hormon thực vật IAA *Bacillus megaterium* ST2-9 trong bình tam giác chứa môi trường TSB lỏng, ở điều kiện lắc tròn với tốc độ 90 vòng/phút trong 3 ngày ở điều kiện tối để đạt được mật độ của từng chủng vi khuẩn là  $10^9$  đến  $10^{11}$ cfu.g<sup>-1</sup>, trong đó môi trường TSB lỏng gồm 30 g trypton đậu tương trong 1 lít nước khử khoáng, bổ sung 1% NaCl, tiết trùng và để nguội;

bước ii) cố định vi khuẩn vào chất mang xỉ than:

cho xỉ than tổ ong tiết trùng đường kính từ 1mm đến 2mm vào các bình tam giác chứa chủng vi khuẩn đã nhân sinh khối thu được sau bước i) trong thời gian từ 16 đến 24 giờ trên máy lắc vòng với tốc độ 90 vòng/phút và trong điều kiện tối;

bước iii) phối trộn chế phẩm vi sinh:

chuẩn bị các thành phần theo tỷ lệ % khối lượng là cám 87%, đường cát vàng 10%, xỉ than đã cố định vi khuẩn 3%, trong đó cám là cám được tiết trùng 3 lần và để nguội, và xỉ than đã cố định vi khuẩn là hỗn hợp đã trộn đều khối lượng bằng nhau của xỉ than đã cố định mỗi chủng vi khuẩn,

dùng 1/3 tổng khối lượng cám trộn đều với xỉ than đã cố định vi khuẩn và đường, cho 2/3 lượng cám còn lại vào hỗn hợp nêu trên và trộn đều, dùng nước cất tiết trùng để hiệu chỉnh ẩm độ của chất nền đạt từ 40% đến 45%, trộn đều một lần nữa, thu được chế phẩm vi sinh dùng cho cây trồng trên nền đất nhiễm mặn.