

Phân lập các chủng vi sinh vật có khả năng phân giải cellulose mạnh phục vụ sản xuất chế phẩm phân hủy rơm rạ

Trần Hoàng Dũng^{1*}, Huỳnh Văn Hiếu¹, Trần Duy Dương², Nguyễn Thành Công¹

¹Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

²Viện Di truyền nông nghiệp

Ngày nhận bài 16/1/2018; ngày chuyển phân biện 19/1/2018; ngày nhận phân biện 26/2/2018; ngày chấp nhận đăng 9/3/2018

Tóm tắt:

Kết quả tuyển chọn các chủng vi sinh vật (VSV) có khả năng phân giải cellulose trên địa bàn tỉnh Vĩnh Long của 21 mẫu đất, rơm rạ đã phân lập được 46 chủng xạ khuẩn, 16 chủng vi khuẩn và 7 chủng nấm chịu nhiệt đều có khả năng phân giải cellulose. Dựa vào kết quả thử hoạt tính CMC qua các mức nhiệt độ 40, 45 và 50°C chọn lọc được 5 chủng xạ khuẩn có khả năng phân giải CMC mạnh là X20, X7, X39, X4, X24; 6 chủng vi khuẩn là V7, V8, V11, V12, V14 và V16; 4 chủng nấm là A1, A2, A4 và A5. Kết hợp hai kết quả thử CMC và rơm rạ đã tuyển chọn được 3 chủng xạ khuẩn (X7, X24, X20), 2 chủng vi khuẩn (V7, V12) và 3 chủng nấm (A1, A2, A4) có khả năng chịu nhiệt và phân giải rơm rạ mạnh từ phế phụ liệu nông nghiệp.

Từ khóa: Cellulose, nấm, vi khuẩn, vi sinh vật, xạ khuẩn.

Chỉ số phân loại: 1.6

Đặt vấn đề

Nông nghiệp là một ngành kinh tế quan trọng của Việt Nam, trong đó, lúa gạo là cây trồng chủ lực, cung cấp nguồn lương thực chính phục vụ cho nhu cầu tiêu dùng của người dân [1]. Tuy nhiên, ngoài sản phẩm chính là thóc thì sản xuất lúa gạo còn tạo ra lượng rơm rạ khổng lồ, theo ước tính khoảng 4 triệu ha đất trồng lúa sẽ thải ra đến 76 triệu tấn rơm rạ mỗi năm. Trước đây sau khi thu hoạch, rơm rạ thường dùng để đun nấu, làm thức ăn cho gia súc, lợn nhà, ủ chuồng, làm phân bón. Tuy nhiên, trong những năm gần đây, đời sống kinh tế, xã hội phần nào đã thay đổi hơn trước, rơm rạ không còn được sử dụng vào những mục đích như trước kia mà thay vào đó người nông dân đốt rơm rạ ngay ở ngoài đồng ruộng. Đây là nguyên nhân gây ô nhiễm môi trường, làm bốc hơi dinh dưỡng bề mặt và thoái hóa đất [2]. Cellulose là một trong những thành phần chủ yếu của rơm, rạ. Cellulose là hợp chất rất vững bền, đó là loại polysaccharide cao phân tử. Trong tự nhiên có nhiều loại VSV có khả năng sinh ra các men làm xúc tác trong quá trình phân giải cellulose [3, 4]. Chúng có ý nghĩa rất lớn đối với việc thực hiện vòng tuần hoàn carbon trong tự nhiên, góp phần quan trọng trong việc nâng cao độ phì nhiêu của đất. Mặc dù cellulose là chất hữu cơ không tan trong nước, bền vững nhưng lại bị thủy phân dễ dàng bởi enzyme cellulase do VSV tiết ra [5-7]. Hệ VSV phân hủy cellulose rất phong phú và đa dạng, bao gồm cả vi khuẩn, xạ

khảo và nấm [3, 7, 8]. Các vi khuẩn có khả năng phân hủy mạnh cellulose đã được chỉ ra là *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Vibrio*, *Archomobacter*... [9-16].

Ngày nay, khoa học và công nghệ phát triển, các chế phẩm vi sinh được sử dụng để phân hủy rơm rạ tạo thành phân bón mang lại nhiều hiệu quả và lợi ích như: Tránh ngộ độc hữu cơ do rơm rạ gây ra, cung cấp được chất dinh dưỡng cho cây trồng, xử lý phế phụ liệu nông nghiệp và giảm ô nhiễm môi trường [4]. Đa số các chế phẩm hiện nay thường sử dụng đơn chủng là nấm mốc *Trichoderma* [5]. Tuy nhiên, nấm *Trichoderma* chỉ phát triển tốt ở nhiệt độ 37°C, trong khi nhiệt độ đồng ừ ngoài trời có thể lên đến 50-60°C nên không đem lại hiệu quả cao. Do đó, để nâng cao hiệu quả xử lý cần chọn lọc các chủng có khả năng chịu được nhiệt độ cao, có thể sản sinh ra chất ức chế hoặc tiêu diệt các VSV gây bệnh khác, dễ tiến hành lên men rắn theo kiểu ủ đồng [13].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tập trung vào phân lập các chủng nấm, xạ khuẩn và vi khuẩn tại tỉnh Vĩnh Long, sau đó khảo sát hoạt tính phân giải cellulose của các chủng VSV trên rơm rạ.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Nguyên vật liệu

Trong nghiên cứu này, phế phụ liệu nông nghiệp được

*Tác giả liên hệ: Email: tranhoangdung1975@yahoo.com

Isolation of cellulose-degrading microbes for rice straw decomposition

Hoang Dung Tran^{1*}, Van Hieu Huynh¹,
Duy Duong Tran², Thanh Cong Nguyen¹

¹Nguyen Tat Thanh University

²Agricultural Genetics Institute

Received 16 January 2018; accepted 9 March 2018

Abstract:

The results of selecting microorganisms capable of decomposing cellulose in Vinh Long province showed that 46 actinomyces, 16 bacterial strains and 7 strains of fungi which have the ability to degrade cellulose were isolated and purified in 21 soil, sawdust and straw samples. Based on Carboxymethyl cellulose activity test results at the temperature of 40°C, 45°C, and 50°C, we identified five actinomyces (X20, X7, X39, X4, and X24), six bacterial strains (V7, V8, V11, V12, V14, and V16), and four fungal strains (A1, A2, A4, and A5) which all have strong capabilities to decompose cellulose. Combining CMC test with straw test, we selected three actinomyces strains (X7, X24, and X20), two bacterial strains (V7 and V12), and three fungal strains (A1, A2, and A4) which have a good heat resistance and strong straw decomposition capability from agricultural waste materials.

Keywords: Actinomyces, bacteria, cellulose, fungi, microorganisms.

Classification number: 1.6

sử dụng là các mẫu đất, rơm rạ, lá cây mục, mùn cưa... tại 2 huyện Tam Bình và Vũng Liêm thuộc tỉnh Vĩnh Long.

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp phân lập: Mẫu đất và rơm sau khi lấy về được ủ ở 50°C từ 2 đến 3 ngày để loại bớt một số chủng VSV không ưa nhiệt. Cân 1 g mẫu đất (0,5 g đối với mẫu rơm) cho vào ống nghiệm chứa 9 ml nước cất vô trùng, ta được độ pha loãng 10^{-1} . Dùng pipette vô trùng hút 1 ml dịch này chuyển sang ống nghiệm chứa 9 ml nước cất vô trùng, lắc đều ta có độ pha loãng 10^{-2} . Tiếp tục pha loãng như trên đến các nồng độ pha loãng thích hợp cho từng chủng VSV.

Các mẫu được cấy trên môi trường Gause-1 theo phương pháp cấy ria góc (đối với xạ khuẩn), môi trường Cellulose Agar (vi khuẩn) và môi trường MT (nấm), để ủ ấm 40-42°C. Sau 3-5 ngày nuôi cấy, lấy ra quan sát bằng kính hiển vi và ghi kết quả. Phương pháp định danh các chủng vi khuẩn, xạ khuẩn và nấm dựa trên phương pháp của Vinogradkii (1952) (trích theo Nguyễn Thành Đạt, 2000) [17], Nguyễn Lân Dũng và cs (2000) [18] để phân loại.

Phương pháp đo hoạt tính phân giải cellulose: Khả năng phân giải cellulose của các chủng VSV được xác định trong điều kiện ủ 2 ngày trên các đĩa môi trường CMC Agar (xạ khuẩn), Cellulose Agar (vi khuẩn) và môi trường MT (nấm) đã khử trùng. Loại bỏ đĩa bị nhiễm. Sử dụng thuốc nhuộm Lugol đo vòng phân giải ở ngày thứ 5.

Phương pháp thử khả năng phân giải cellulose trên rơm rạ dựa trên giảm trọng lượng cơ chất: Sau khi thu hoạch lúa, người nông dân thường có thói quen xới đất vùi lấp rơm rạ còn sót lại trên đồng trong điều kiện ngập nước và cấy mùa vụ mới. Lý do khiến năng suất không cao, đất bị ô nhiễm nặng và lây lan bệnh từ mùa vụ trước là do rơm rạ dưới nước chưa bị hoại mục. Trong khuôn khổ đề tài này, chúng tôi bố trí thí nghiệm giống điều kiện nêu trên nhằm tìm ra chủng VSV có khả năng phân giải mạnh rơm rạ trong điều kiện ngập nước ở nhiệt độ cao. Cách bố trí thí nghiệm như sau:

Rơm rạ sau khi mang về được cắt thành từng đoạn nhỏ khoảng 2 cm (3 g rơm đã sấy khô hoàn toàn) cho vào bình có dung tích 60 ml, đổ nước cất ngập bề mặt rơm. Dùng que cấy lấy 1 vòng khuẩn lạc VSV cho trực tiếp vào bình chứa sẵn rơm, đập nút lại và đem ủ ở nhiệt độ 45°C. Tiến hành quan sát ở các ngày thứ 5, 10, 15 và thu kết quả ở ngày thứ 12. Rơm sẽ được lấy ra khỏi bình, đem sấy khô tuyệt đối và cân. Lần lượt khảo sát tất cả các chủng VSV phân lập được.

$$M = m_1 - m_2$$

Trong đó: M (g) là khối lượng rơm bị phân giải; m₁ (g) là khối lượng rơm ban đầu sau khi đã sấy khô; m₂ (g) là khối lượng rơm sau khi sấy khô.

Các kết quả thí nghiệm được xử lý bằng chương trình Data analysis trong Excel.

Kết quả nghiên cứu và thảo luận

Kết quả phân lập và tuyển chọn các chủng VSV có khả năng phân hủy enzyme cellulase

Từ 21 mẫu đất, mặt cưa, rơm rạ được thu từ một số địa điểm khác nhau đã phân lập và làm thuần được 46 chủng xạ khuẩn, 16 chủng vi khuẩn chịu nhiệt và 7 chủng nấm sợi khác nhau được ký hiệu là X (xạ khuẩn), V (vi khuẩn) và A (các chủng nấm) (hình 1).



Hình 1. Các chủng xạ khuẩn, vi khuẩn và nấm được phân lập. I: Các chủng xạ khuẩn; II: Các chủng vi khuẩn; III: Các chủng nấm.

Đối với xạ khuẩn, dựa vào đặc điểm bên ngoài và màu sắc của khuẩn lạc, chúng tôi chia làm 6 nhóm cơ bản, gồm: Khuẩn lạc dạng nhung màu trắng (X33, X7, X10, X11, X25, X5, X12, X8 và X9), khuẩn lạc dạng nhung màu xám (X44, X30, X29, X28, X38, X37, X41, X18, X43, X42, X31, X46, X6, X16 và X45), khuẩn lạc dạng nhung màu xám trắng (X27, X35, X32, X22, X3, X26, X34, X2, X17 và X1), khuẩn lạc dạng nhung màu xanh (X23, X14 và X36), khuẩn lạc dạng màng dẻo màu nâu (X20, X19, X21, X15, X39, X13, X40 và X4) và khuẩn lạc dạng màu đỏ (X24).

Cấu trúc vi thể của nấm sợi được quan sát dưới kính hiển vi, chụp hình bào tử, sợi nấm, sau đó tiến hành định danh đến loài các chủng nấm dựa theo phương pháp định danh của Nguyễn Thành Đạt, Nguyễn Lân Dũng [17, 18] tại Khoa Sinh học, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành.

Kết quả đánh giá khả năng phân giải CMC của các chủng VSV

Sau khi phân lập, chúng tôi tiến hành khảo sát khả năng phân giải CMC của các chủng VSV. Môi trường sử dụng là CMC Agar đã được chuẩn bị trước 1 ngày. Trong phạm vi nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát ở 3 mốc nhiệt độ là 40, 45 và 50°C.

Kết quả phân giải CMC của xạ khuẩn:

Từ kết quả đo vòng phân giải CMC được khảo sát ở các mốc nhiệt độ khác nhau chúng tôi chọn ra được các chủng ưu tú nhất có khả năng phân giải CMC ở nhiệt độ cao cụ thể: Tại 40°C, chọn ra 10 chủng có hoạt tính cellulase mạnh nhất là các chủng X7, X20, X4, X18, X39, X6, X27, X42, X24 và X15; tại 45°C, chọn được 10 chủng có khả năng phân giải CMC mạnh nhất là X7, X1, X20, X24, X39, X4, X21, X14, X15 và X18; khi tăng nhiệt độ đến 50°C hoạt tính cellulase giảm nhưng vẫn cao hơn 40°C, tỷ lệ D/d trong khoảng 1,040 đến 31,337. Trong đó, có 13 chủng phân giải mạnh CMC mạnh nhất, chúng tôi chọn ra được 10 chủng có hoạt tính enzyme mạnh nhất là X20, X21, X7, X29, X24, X4, X39, X1, X6 và X17 (bảng 1).

Bảng 1. Tỷ lệ D/d của các chủng xạ khuẩn ở các nhiệt độ khảo sát sau 5 ngày nuôi cấy.

Giống	D/d (đo ở 40°C)	D/d (đo ở 45°C)	D/d (đo ở 50°C)
X1	2,970±0,081	21,500±0,666	6,093±0,491
X4	8,040±0,080	8,833±0,508	7,197±0,020
X6	6,450±0,066	2,490±0,087	6,030±0,081
X7	14,044±0,091	26,750±0,333	12,060±0,070
X14	2,207±0,019	7,093±0,491	1,083±0,041
X15	5,039±0,094	5,280±0,339	3,017±0,021
X16	3,093±0,007	3,000±0,665	2,173±0,067
X17	2,616±0,074	3,033±0,335	5,330±0,326
X18	7,519±0,047	3,477±0,600	4,220±0,213
X20	9,003±0,008	18,630±0,498	31,337±0,675
X21	1,933±0,076	7,500±0,000	14,970±0,071
X24	5,416±0,038	18,543±0,918	10,070±0,132
X25	3,700±0,013	3,010±0,154	2,100±0,062
X27	5,589±0,027	1,353±0,067	3,476±0,058
X29	2,404±0,022	2,766±0,906	10,976±0,058
X39	7,230±0,118	8,997±0,139	7,060±0,133
X42	5,427±0,007	2,917±0,315	2,030±0,071

Ghi chú: D (cm) là đường kính vòng phân giải CMC; d (cm) là đường kính khuẩn lạc.

Qua các điều kiện nhiệt độ khảo sát trên, chọn ra 5 chủng nổi bật nhất với những ưu điểm sau: Điều có khả năng phân giải mạnh CMC ở các nhiệt độ khác nhau và khi tăng nhiệt độ thì hoạt tính enzyme tăng theo hoặc giảm không đáng kể là các chủng X20 (9,003; 18,63; 31,337), X7 (14,044; 26,75; 12,06), X39 (7,23; 8,997; 7,06), X4 (8,040; 8,833; 7,197) và X24 (5,416; 18,543; 10,070).

Kết quả phân giải CMC của vi khuẩn chịu nhiệt:

Bảng 2. Tỷ lệ D/d của 16 chủng vi khuẩn ở các nhiệt độ khảo sát sau 2 ngày nuôi cấy.

Giống	D/d (đo ở 40°C)	D/d (đo ở 45°C)	D/d (đo ở 50°C)
V1	13,003±0,008	18,946±0,157	12,021±0,089
V2	13,930±0,080	18,000±0,013	10,099±0,132
V3	14,015±0,132	20,367±0,733	18,129±0,149
V4	13,045±0,078	16,063±0,157	17,993±0,139
V5	14,970±0,082	15,037±0,073	13,041±0,081
V6	12,036±0,097	25,957±0,068	18,032±0,077
V7	5,659±0,369	19,000±0,013	20,002±0,157
V8	11,460±0,070	18,993±0,279	19,063±0,008
V9	17,983±0,166	14,993±0,276	15,010±0,113
V10	23,066±0,076	13,003±0,020	13,930±0,150
V11	7,099±0,132	18,996±0,013	22,006±0,015
V12	18,153±0,080	21,096±0,133	22,030±0,181
V13	5,513±0,055	22,104±0,124	17,090±0,113
V14	8,532±0,054	16,030±0,084	19,926±0,146
V15	11,430±0,080	17,073±0,095	13,004±0,125
V16	9,490±0,113	17,066±0,021	22,045±0,145
TB	12,829	19,488	17,126

Kết quả bảng 2 cho thấy, các chủng vi khuẩn đều có khả năng phân hủy CMC ở nhiệt độ cao. Nhiệt độ tối ưu cho vi khuẩn phân hủy CMC là 45°C, hoạt tính này tuy có giảm khi tăng nhiệt độ lên 50°C nhưng vẫn cao hơn 40°C (19,488 > 17,126 > 12,829). Ta có thể chia vi khuẩn làm 3 nhóm gồm:

Nhóm 1: Hoạt tính cellulase mạnh gồm các chủng vi khuẩn V4, V7, V8, V11, V12, V14 và V16. Khả năng phân giải CMC của các chủng này tăng dần khi tăng nhiệt độ từ 40 đến 50°C.

Nhóm 2: Hoạt tính cellulase ở mức khá gồm các chủng V3, V6, V13, V15, khả năng phân giải CMC của các chủng này giảm khi tăng từ 45 lên 50°C nhưng vẫn cao hơn mức 40°C.

Nhóm 3: Hoạt tính cellulase ở mức trung bình hoặc khá ở các mẫu còn lại, khả năng phân giải CMC của các chủng này giảm hoặc tăng khi tăng từ 45 lên 50°C nhưng lại thấp hơn mức 40°C như V9, V10 hoặc các chủng này tăng ở mức 45°C nhưng lại giảm ở mức 50°C như các chủng V1, V2 và V5.

Từ các kết quả trên, chúng tôi quyết định chọn nhóm 1 để làm đại diện cho nhóm có khả năng phân hủy CMC mạnh của các chủng vi khuẩn ở nhiệt độ cao để tiếp tục nhân sinh khối và sử dụng các chủng vi khuẩn này làm chế phẩm phân hủy rơm rạ ở các nghiên cứu tiếp theo.

Kết quả đánh giá hoạt độ cellulase của các chủng nấm sợi:

Bảng 3. Tỷ lệ D/d và hoạt độ cellulase của 7 chủng nấm sợi.

STT	Ký hiệu chủng	D/d	Hoạt độ cellulase (mg/ml)
1	A1	24,50±0,332	10,33
2	A2	23,50±0,435	9,45
3	A4	24,50±0,250	9,87
4	A5	23,50±0,081	9,37
5	A8	22,50±0,335	9,00
6	A9	21,00±0,508	8,21
7	A11	20,00±0,332	7,10

Kết quả ghi nhận tại bảng 3 cho thấy, kết quả định tính và định lượng enzyme cellulase của 7 chủng nấm là khác nhau. Trong đó, 4 chủng có hoạt độ cellulase cao nhất là chủng A1 (10,33 mg/ml), A4 (9,87 mg/l), A2 (9,45 mg/l) và A5 (9,37 mg/l). Từ các kết quả trên chúng tôi chọn ra 4 chủng là A1, A4, A2 và A5 trên để tiếp tục nhân sinh khối và sử dụng cho việc làm chế phẩm phân hủy rơm rạ sau này.

Kết quả đánh giá hoạt tính enzyme cellulase của các chủng VSV trên rơm rạ

Kết quả khảo sát các chủng xạ khuẩn đến sự phân hủy rơm rạ: 5 chủng xạ khuẩn được đánh giá hoạt tính enzyme cellulase trên rơm rạ. Kết quả được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Kết quả khảo sát tỷ lệ D/d và khả năng phân hủy rơm rạ của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn ở nhiệt độ 45°C.

STT	Giống	m2(g)	M (g)	Tỷ lệ M/m1 (%)	Tỷ lệ D/d
1	X4	2,19	0,43	16,41	8,833±0,508
2	X7	2,09	0,53	20,22	26,750±0,333
3	X20	2,11	0,51	19,47	18,630±0,498
4	X24	2,10	0,52	19,85	18,543±0,918
5	X39	2,11	0,50	19,08	8,997±0,139

Từ bảng kết quả 4, chúng tôi chọn ra 3 chủng có khả năng phân giải rơm rạ mạnh nhất theo thứ tự từ cao đến thấp là X7, X24 và X20 với tỷ lệ phần trăm (%) rơm bị phân hủy lần lượt là 20,22 > 19,85 > 19,47. Một chủng VSV có hoạt tính phân giải CMC cao chưa chắc đã có hoạt tính phân giải cellulose cao. Điều này hoàn toàn đúng, vì enzyme CMC-ase chỉ là 1 trong 4 loại enzyme phân hủy cellulose. Do đó, phải lựa chọn chủng có khả năng phân giải cellulose cao chứ không phải là CMC cao. Từ kết quả trên, chỉ có 3 chủng X7, X24 và X20 là có khả năng phân giải CMC và cellulose cao nhất, do đó chúng tôi chọn 3 chủng này là nhóm xạ khuẩn có khả năng phân giải rơm rạ mạnh nhất (hình 2).



Hình 2. Rơm bị phân giải sau 12 ngày của 3 chủng xạ khuẩn mạnh nhất.

Kết quả khảo sát các chủng vi khuẩn phân hủy rơm rạ:

Bảng 5. Kết quả khảo sát khả năng phân hủy rơm rạ và tỷ lệ D/d của các chủng vi khuẩn ở nhiệt độ 45°C.

STT	Giống	m2 (g)	M (g)	Tỷ lệ M/m1 (%)	Tỷ lệ D/d
1	V7	2,09	0,53	20,23	19,000±0,013
2	V8	2,12	0,52	20,15	18,993±0,279
3	V11	2,23	0,51	18,85	18,996±0,013
4	V12	2,07	0,55	20,99	21,096±0,133
5	V14	2,26	0,56	20,53	16,030±0,084
6	V16	2,11	0,51	19,98	17,066±0,021

Tương tự như nhóm xạ khuẩn, các chủng vi khuẩn đều có khả năng phân giải rơm rạ trong điều kiện ngập nước hoàn toàn. Tỷ lệ phân hủy rơm rạ nằm trong khoảng 18,85-20,99%, tỷ lệ D/d từ 16-21. Trong 6 chủng trên (bảng 5), V7 và V12 là ổn định nhất với tỷ lệ D/d và M/m1 đều cao (19,000 và 20,23; 21,096 và 20,99). Do đó chúng tôi quyết định chọn V7 và V12 là 2 chủng vi khuẩn mạnh nhất (hình 3).



Hình 3. Rơm bị phân hủy sau 12 ngày của 2 chủng vi khuẩn mạnh nhất và lô đối chứng (ĐC).

Bằng đánh giá trực quan, sau 12 ngày rơm chuyển sang màu vàng sẫm, trên bề mặt nhớt, rơm mềm và xuất hiện mùi của xác thực vật bị phân hủy. Ở nghiệm thức đối chứng rơm ngả sang màu vàng, rơm vẫn thô và cứng, không có dấu hiệu bị phân hủy.

Kết quả khảo sát các chủng nấm đến sự phân hủy rơm rạ:

Bảng 6. Kết quả khảo sát khả năng phân hủy rơm rạ của các chủng nấm.

Giống	Tỷ lệ D/d	Tỷ lệ M/m1 (%)
A1	24,50±0,332	20,61
A2	23,50±0,435	20,02
A4	24,50±0,250	20,99
A5	23,50±0,081	14,12

Trong tự nhiên các chủng xạ khuẩn, vi khuẩn, các chủng nấm A1, A2, A4 và A5 đều có khả năng phân giải rơm rạ trong điều kiện ngập nước hoàn toàn. Tỷ lệ phân hủy rơm rạ nằm trong khoảng 14,02-20,99% (bảng 6). Từ các kết quả trên, chúng tôi sử dụng 3 chủng nấm A1, A2, và A4 để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo (hình 4).



Hình 4. Rơm bị phân hủy sau 12 ngày của chủng vi nấm A2 (A) và lô đối chứng (B).

Kết luận

Từ 21 mẫu đất, mặt cưa, rơm rạ ở các địa bàn khác nhau thuộc tỉnh Vĩnh Long đã phân lập và chọn lọc được 46 chủng xạ khuẩn, 16 chủng vi khuẩn và 7 chủng vi nấm chịu nhiệt đều có khả năng phân giải cellulose.

Dựa vào kết quả thử hoạt tính CMC qua các mức nhiệt độ 40, 45 và 50°C chọn lọc được 5 chủng xạ khuẩn có khả năng phân giải CMC mạnh là X20, X7, X39, X4, X24; 6 chủng vi khuẩn là V7, V8, V11, V12, V14 và V16; 4 chủng nấm là A1, A2, A4 và A5.

Kết hợp hai kết quả thử CMC và rơm rạ đã tuyển chọn được 3 chủng xạ khuẩn (X7, X24, X20), 2 chủng vi khuẩn

(V7, V12) và 3 chủng nấm (A1, A2 và A4) có khả năng chịu nhiệt và phân giải rơm rạ mạnh từ phế phụ liệu nông nghiệp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Bùi Thị Minh Nguyệt, Trần Văn Hùng (2016), “Phát triển nông nghiệp Việt Nam trong bối cảnh hội nhập”, *Tạp chí Khoa học và công nghệ lâm nghiệp*, **4**, tr.142-151.
- [2] Nguyễn Mậu Dũng (2012), “Ước tính lượng khí thải từ đốt rơm rạ ngoài đồng ruộng ở vùng Đồng bằng sông Hồng”, *Tạp chí Khoa học và phát triển*, **10**, tr.190-198.
- [3] B. Seiboth, et al. (2012), “Metabolic engineering of inducer formation for cellulase and hemicellulase gene expression in *Trichoderma reesei*”, *Subcell Biochem.*, **64**, pp.367-390.
- [4] E. Simo, et al. (2017), “Development of a low-cost cellulase production process using *Trichoderma reesei* for Brazilian biorefineries”, *Biotechnol. for Biofuels*, **10(30)**, 17p, doi: 10.1186/s13068-017-0717-0.
- [5] V. Juturu, J.C. Wu (2014), “Microbial cellulases: Engineering, production and applications”, *Renew. and Sustain. Energy Rev.*, **33**, pp.188-203.
- [6] T. Kanda (2003), “Mechanism of cellulase action on cellulose structure”, *Journal of Applied Glycoscience*, **50(1)**, pp.77-81.
- [7] C.M. Lo, et al. (2010), “Cellulase production by continuous culture of *Trichoderma reesei* Rut C30 using acid hydrolysate prepared to retain more oligosaccharides for induction”, *Bioresource Technol.*, **101(2)**, pp.717-723.
- [8] C.P. Kubicek (2013), “Systems biological approaches towards understanding cellulase production by *Trichoderma reesei*”, *J. Biotechnol.*, **163**, pp.133-142.
- [9] R.H. Doi (2008), “Cellulases of mesophilic microorganisms: Cellulosome and noncellulosome producers”, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **1125**, pp.267-279.
- [10] L. Ma, et al. (2015), “Characterization of an acidic cellulase produced by *Bacillus subtilis* BY4 isolated from gastrointestinal tract of Tibetan pig”, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, **56**, pp.67-72.
- [11] R. Mawadza, et al. (2000), “Mattiason Purification and characterization of cellulases produced by two *Bacillus* strains”, *J. Biotechnol.*, **83**, pp.177-187.
- [12] C. Martin, et al. (2006), “Characterisation of agricultural and agro-industrial residues as raw materials for ethanol production”, *Chem. Biochem. Engineer. Quart.*, **20**, pp.443-448.
- [13] Mohamed F. Eida, et al. (2017), “Isolation and characterization of cellulolytic and hemicellulolytic fungi from salt affected soils and compost”, *JIPBS*, **3(4)**, pp.164-170.
- [14] Nguyễn Đức Lượng (2003), *Thí nghiệm công nghệ sinh học* (tập 2 - Thí nghiệm VSV học), Nhà xuất bản Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh.
- [15] R. Rawat, L. Tewari (2012), “Purification and characterization of an acidothermophilic cellulase enzyme produced by *Bacillus subtilis* strain LFS3”, *Extremophiles*, **16(4)**, pp.637-644.
- [16] Siu Rodas, et al. (2017), “*Bacillus subtilis* with endocellulase and exocellulase activities isolated in the thermophilic phase from composting with coffee residues”, *Rev. Argent Microbiol.*, doi: 10.1016/j.ram.2017.08.005.
- [17] Nguyễn Thành Đạt (2000), *Sinh học VSV*, Nhà xuất bản Giáo dục, Hà Nội.
- [18] Nguyễn Lâm Dũng, Nguyễn Đình Quyên, Phạm Văn Ty (2002), *VSV học*, Nhà xuất bản Giáo dục, Hà Nội.