

KHẢ NĂNG PHÂN HỦY RƠM RẠ CỦA CÁC CHỦNG XẠ KHUẨN THU THẬP Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Hồ Chí Thật¹, Phạm Mai Hoàng Duy¹ và Lê Minh Tường^{2*}

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện tại Bộ môn Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ nhằm tìm ra chủng xạ khuẩn có khả năng phân hủy rơm rạ. Khả năng phân giải cellulose của 22 chủng xạ khuẩn được thực hiện hoàn toàn ngẫu nhiên với 4 lần lặp lại. Kết quả cho thấy 7 chủng xạ khuẩn BT-VL5.4, PL-BL16, TĐ-ST8, BT-VL3, CL2-ĐT34, LM-HG6 và LV-ĐT26 có khả năng phân giải cellulose cao thể hiện qua bán kính vòng phân giải lớn hơn 20,00 mm và kéo dài đến thời điểm 9 ngày sau khi cấy. Khả năng tiết enzyme cellulase của 7 chủng xạ khuẩn trên được thực hiện với 4 lần lặp lại. Kết quả cho thấy 3 chủng BT-VL5.4, PL-BL16 và LM-HG6 có khả năng tiết enzyme cellulase cao với hàm lượng enzyme tiết ra lần lượt là 0,117 IU/ml; 0,098 IU/ml và 0,087 IU/ml ở thời điểm 9 ngày sau khi bố trí thí nghiệm. Khả năng phân hủy rơm rạ của 3 chủng xạ khuẩn (BT-VL5.4, PL-BL16 và LM-HG6) cũng được thực hiện trong điều kiện phòng thí nghiệm với 4 lần lặp lại. Kết quả cho thấy, 2 chủng BT-VL5.4 và PL-BL16 có khả năng phân hủy rơm rạ cao với khối lượng rơm rạ mất đi lần lượt là 0,841 g và 0,728 g và khối lượng tro còn lại sau khi xử lý nhiệt thấp lần lượt là 0,265 g và 0,288 g và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng.

Từ khóa: Cellulose, phân hủy hữu cơ, xạ khuẩn.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa là một loại cây lương thực quan trọng đối với nền an ninh lương thực thế giới, lúa gạo nuôi sống khoảng gần 1/2 dân số thế giới (Nguyễn Ngọc Đệ, 2009). Theo số liệu từ Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, tính đến tháng 12 năm 2018, xuất khẩu gạo Thái Lan đứng thứ 2 thế giới với 10,35 triệu tấn, đứng đầu là Ấn Độ với 11,37 triệu tấn, còn Việt Nam đứng xếp 3 với 6,06 triệu tấn. Viện Nghiên cứu Lúa thế giới (IRRI, 2003) cho biết năng suất rơm dao động từ 2 tấn/ha đến hơn 8 tấn/ha tùy thuộc vào giống lúa, năng suất lúa và phương pháp thu hoạch. Tỷ lệ rơm: lúa thường nằm trong khoảng 0,8:1 - 1:1. Đốt rơm rạ trực tiếp trên đồng ruộng gây ô nhiễm môi trường, có thể thúc đẩy quá trình rửa trôi các chất dinh dưỡng quan trọng từ đất hoặc làm "chai đất". Ngày nay, sử dụng vi sinh vật 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. Trong các nhóm vi sinh vật phân giải cellulose trong tự nhiên thì xạ khuẩn thuộc chi *Streptomyces* thường được sử dụng trong việc phân

hủy rác thải sinh hoạt, rác thải nông nghiệp... vì những xạ khuẩn này thường thuộc nhóm chịu nhiệt, sinh trưởng, phát triển tốt nhất ở nhiệt độ 45 - 50°C nên rất thích hợp với quá trình ủ rác thải. Ngoài ra, xạ khuẩn có thể tiết nhiều loại enzyme như: proteinase, amylase, cellulase, chitinase,... vừa giúp dễ chuyển hóa các cơ chất trong quá trình sống, vừa để cạnh tranh dinh dưỡng và đối kháng với sinh vật khác (Nguyễn Xuân Thành và *ctv.*, 2005). Theo kết quả nghiên cứu của Lê Minh Tường và Trần Thị Thu Em (2014), một số xạ khuẩn thuộc chi *Streptomyces* được phân lập từ vùng đất rễ cây lúa vừa có hiệu quả trong phòng trị bệnh đạo ôn hại lúa, vừa có khả năng tiết ra enzyme như chitinase, glucanase, cellulase... Nghiên cứu của Nguyễn Thị Thu Thủy và Nguyễn Tiến Long năm 2018 đã tuyển chọn được 2 chủng xạ khuẩn 22TH và NH1 có khả năng phân giải cellulose mạnh nhất và khi ủ phế phụ phẩm nông nghiệp với hai chủng vi sinh vật này trong 4 tuần đã làm giảm 55,87% hàm lượng cellulose đóng ủ, hàm lượng đạm, lân, kali tổng số tăng lên đáng kể. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm tìm ra các chủng xạ khuẩn có khả năng phân hủy rơm rạ, từ đó làm tiền đề cho những nghiên cứu sản xuất chế phẩm sinh học ứng dụng trong phân hủy các phụ phẩm của nông nghiệp.

¹ Sinh viên ngành Bảo vệ thực vật Khóa 43, Trường Đại học Cần Thơ

² Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ
Email: lmtuong@ctu.edu.vn

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu thí nghiệm

Nguồn xạ khuẩn: 22 chủng xạ khuẩn được cung cấp từ Phòng thí nghiệm bệnh cây, Bộ môn Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ. Các chủng xạ khuẩn trên thuộc chi *Streptomyces* và có khả năng đối kháng cao với một số tác nhân gây bệnh hại cây trồng như: 3 chủng (BT-VL5.4, LV-ĐT3.4 và TC-AG2.1) có khả năng đối kháng với nấm *Pyricularia oryzae* gây bệnh đạo ôn hại lúa canh tác vùng nước ngọt; 2 chủng (PL-BL7, PL-BL16) có khả năng đối kháng với nấm *Pyricularia oryzae* gây bệnh đạo ôn hại lúa canh tác vùng đất nhiễm mặn; 2 chủng (KS-ST6b và KS-ST8b) có khả năng đối kháng với nấm *R. solani* gây bệnh đốm vằn trên lúa; 2 chủng (TD-ST8, BT-VL3) có khả năng đối kháng với nấm *Sclerotium rolfsii* gây bệnh thối gốc thân khoai lang; 2 chủng (TM-ĐT15, BM-VL9) có khả năng đối kháng với nấm *Colletotrichum sp.* gây bệnh thán thư trên sầu riêng; 1 chủng (TM-ĐT5) có khả năng đối kháng với nấm *Colletotrichum sp.* gây bệnh thán thư trên sen; 4 chủng (CL-ĐT, CTA1-HG, HB2-BL và CTA2-HG) có khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas sp.* gây bệnh đốm đen trên xoài; 5 chủng (DH-TV4, LV-ĐT15, CM-AG22, LV-ĐT24 và LV-ĐT26) có khả năng đối kháng với vi khuẩn *Erwinia sp.* gây bệnh thối củ khoai môn và 1 chủng (LM-HG6) có khả năng đối kháng với nấm *Fusarium solani* gây bệnh vàng lá thối rễ trên cây có múi.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát khả năng phân giải cellulose của các chủng xạ khuẩn trên môi trường thạch

* **Bố trí thí nghiệm:** Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 1 nhân tố gồm 22 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức là một chủng xạ khuẩn với 4 lần lặp lại. Thí nghiệm tiến hành theo phương pháp của Henric *et al.* (1995).

* **Tiến hành thí nghiệm:** Mỗi chủng xạ khuẩn được nuôi trong môi trường MS, sau 6-7 ngày cho 5 ml nước cất thanh trùng vào đĩa, cạo lấy hết bào tử xạ khuẩn, lọc qua vải thu huyền phù xạ khuẩn. Thực hiện phương pháp pha loãng về mật số 10^8 cfu/ml. Dùng khoan giấy thấm vô trùng (5 mm) nhúng vào huyền phù từng chủng xạ khuẩn và đặt trên đĩa petri có chứa 10 ml môi trường CMC 1%. Mỗi đĩa gồm ba điểm cách đều nhau tương ứng là ba chủng xạ khuẩn khác nhau.

* **Chỉ tiêu theo dõi:** Đo bán kính vòng phân giải cellulose (mm) ở thời điểm 3, 5, 7 và 9 ngày sau khi cấy bằng cách nhuộm với dung dịch Lugol (1 g I_2 + 2 g KI + 100 ml nước cất). Để bỏ phần dung dịch Lugol thừa và tráng bề mặt agar lại với nước. Đo bán kính vùng không bắt màu thuốc nhuộm là vòng phân giải cellulose.

Bán kính vòng phân giải được tính theo công thức: $R = D/2$. Trong đó: R là bán kính vòng phân giải cellulose (mm); X là đường kính vòng phân giải cellulose (vùng không bắt màu dung dịch Lugol) (mm)

2.2.2. Xác định hàm lượng enzyme cellulase do các chủng xạ khuẩn tiết ra

* **Bố trí thí nghiệm:** Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 4 lần lặp lại, mỗi nghiệm thức là một chủng xạ khuẩn có triển vọng.

* **Chuẩn bị dung dịch huyền phù cellulose 1%:** Cân 2,5 g CMC khô hòa tan trong 200 ml nước cất, sau đó thêm vào 25 ml acid acetic 1,0 M pH=5, thêm nước cất để dung dịch đạt được 250 ml và lắc đều.

* **Chuẩn bị dung dịch acid 2-hydroxy-3,5-dinitrobenzoic (DNS):** cân 10 g DNS + 150 ml dung dịch NaOH (16 g NaOH trong 150 ml nước cất) + 300 g Tartrat K Natri, khuấy đều và thêm nước để dung dịch đạt 100 ml, bảo quản trong chai nâu có nắp đậy.

* **Chuẩn bị dung dịch lactose:** hòa tan 0,12 g lactose với 100 ml nước cất.

* **Chuẩn bị dung dịch DNS-lactose:** trộn 150 ml dung dịch DNS với 50 ml lactose.

* **Chuẩn bị dung dịch xạ khuẩn chứa enzyme cellulase:** Những chủng xạ khuẩn được nuôi cấy trong môi trường MS trong 6-7 ngày, xác định mật số và chuyển về huyền phù bào tử xạ khuẩn là 10^8 cfu/ml. Cho 2 ml huyền phù xạ khuẩn đã chuẩn bị bên trên vào trong bình tam giác chứa 98 ml môi trường ISP-4 lỏng, sau đó đem nuôi lắc ở nhiệt độ 28°C, tốc độ 100 vòng/phút trong 3 ngày. Tiến hành thu dịch enzyme thô bằng cách ly tâm ở tốc độ 4500 vòng/phút trong 15 phút, lấy phần dịch trong bên trên là dung dịch xạ khuẩn có chứa enzyme cellulase.

* **Dụng đường chuẩn:** Hòa tan 100 mg glucose với 80 ml nước cất và chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm nước cất đến vạch và lắc đều được dung dịch glucose nồng độ 1 mg/ml.

Bảng 1. Xây dựng đường chuẩn cho thí nghiệm

Số thứ tự các ống/ nồng độ glucose (mg/ml)		1/0	2/0,1	3/0,2	4/0,3	5/0,4	6/0,5	7/0,6
Các chất bổ sung (ml)	Dd glucose	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6
	Dd CMC 1%	1	1	1	1	1	1	1
	Dd DNS-lactose	2	2	2	2	2	2	2
	Nước cất	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4

* *Tiến hành thí nghiệm:* Cho vào ống nghiệm 1 ml dung dịch xạ khuẩn chứa enzyme cellulase (thay bằng 1 ml nước cất đối với ống đối chứng) và đem ủ ở nhiệt độ 40°C trong 5 phút, tiếp theo cho 1 ml huyền phù cellulose 1% và đem ủ ở nhiệt độ 40°C trong 10 phút. Sau đó, cho 1 ml dung dịch hỗn hợp trên và 1 ml DNS 1% vào ống nghiệm, lắc đều, đun sôi cách thủy trong 15 phút, làm lạnh nhanh trong bồn làm lạnh. Thêm 5 ml nước cất, lắc đều và đo OD ở bước sóng 540 nm.

* *Chỉ tiêu theo dõi:* đo OD dịch phản ứng ở các thời điểm 3, 5, 7 và 9 ngày sau khi nuôi cấy. Dựa theo đường chuẩn của glucose tính được nồng độ glucose của mẫu thí nghiệm.

Tính kết quả hoạt tính enzyme (IU/ml):

$$HT \text{ (IU)} = \text{Delta OD}_{\text{mẫu}} \times F \times (1000/180) \times (1/t) \times (1/v)$$

Trong đó:

F: Giá trị hệ số glucose trung bình (mg/ml);

Delta OD mẫu: OD của dung dịch mẫu = OD ống có dịch enzyme - OD ống ĐC;

1,000: Hệ số chuyển đổi mg thành µl;

180: Trọng lượng phân tử của glucose, đổi từ µg sang µmol;

t: Thời gian phản ứng (10 phút);

V: Thể tích dung dịch enzyme (1 ml).

2.2.3. Khảo sát khả năng phân hủy hữu cơ của các chủng xạ khuẩn trong điều kiện phòng thí nghiệm

2.2.3.1. Khả năng phân hủy hữu cơ của các chủng xạ khuẩn trong điều kiện phòng thí nghiệm

* *Bố trí thí nghiệm:* Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 4 lần lặp lại. Số nghiệm thức là số chủng xạ khuẩn có triển vọng được xác định từ mục 2.2.2 với tiêu chí hoạt tính enzyme >0,08 IU/ml.

* *Tiến hành thí nghiệm:* Cắt rom thành từng đoạn nhỏ khoảng 2 cm và cho 3 g rom đã sấy khô (ẩm độ 13%) vào bình tam giác (dung tích 250 ml) và cho 150 ml nước cất vào bình. Chủng xạ khuẩn dùng trong thí nghiệm được cấy trên môi trường MS trên

đĩa petri trong 6-7 ngày. Thực hiện phương pháp pha loãng, đếm và đưa mật số xạ khuẩn cần sử dụng cho thí nghiệm về 10^8 cfu/ml. Sau đó, cho 1 ml huyền phù xạ khuẩn (mật số 10^8 cfu/ml) vào bình tam giác có chứa rom đã chuẩn bị ở trên. Các bình tam giác thí nghiệm được đặt ở điều kiện nhiệt độ phòng thí nghiệm.

* *Chỉ tiêu theo dõi:* Quan sát và ghi nhận khối lượng rom bị phân hủy ở các thời điểm 5, 10, 15 và 20 ngày sau thí nghiệm.

+ *Tỷ lệ rom bị phân hủy:* Rom sẽ được lấy ra khỏi bình, loại bỏ nước, sấy khô (ẩm độ 13%) và cân. Tính khối lượng rom bị phân hủy theo công thức: $M = m_1 - m_2$

Trong đó:

M: khối lượng rom đã bị phân hủy (g);

m1: khối lượng rom ban đầu (g);

m2: khối lượng rom ở thời điểm lấy mẫu (g).

2.2.3.2. Xác định khối lượng tro còn lại của các nghiệm thức sau khi xử lý nhiệt

* *Nguyên tắc:* Rom sau khi sấy khô và xử lý mẫu bằng nhiệt, sau đó xác định lượng tro còn lại bằng phương pháp khối lượng.

* *Cách thực hiện:* Chén nung được rửa sạch và nung ở nhiệt độ 500°C đến khối lượng không đổi, sau đó cho mẫu rom vào cốc nung. Cốc được nung ở nhiệt độ 500°C để hóa tro hoàn toàn, lặp lại ít nhất 2 lần và cân đến khối lượng không đổi. Từ đó, tính ra khối lượng tro còn lại theo công thức: $X = (A - B)$

Trong đó: X: Khối lượng tro còn lại sau khi xử lý nhiệt (g);

A: Khối lượng chén nung + tro (g);

B: Khối lượng chén nung (g).

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Office Excel. Phân tích bằng phần mềm thống kê SPSS qua phép thử Duncan.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khả năng phân giải cellulose của các chủng xạ khuẩn trên môi trường thạch

Khả năng phân giải cellulose của các chủng xạ khuẩn thí nghiệm được trình bày ở bảng 1. Ở thời điểm 3 ngày sau khi cấy (NSKC), tất cả các chủng xạ khuẩn thí nghiệm đều có khả năng phân giải cellulose với bán kính vòng phân giải (BKVPG) dao động trong khoảng 1,00 – 12,50 mm và chủng BT-VL5.4 có BKVPG là 12,5 mm lớn hơn và có khác biệt ý nghĩa thống kê so với các chủng còn lại. Tiếp theo sau là 4 chủng DH-TV2, PL-BL16, HB2-BL, CTA2-HG có BKVPG đều là 10,75 mm, không khác biệt ý nghĩa

thống kê với 3 chủng CL2-ĐT34, LM-HG6, VL-ĐT26 nhưng khác biệt ý nghĩa thống kê với các chủng còn lại. Ở thời điểm 5 NSKC, 2 chủng BT-VL5.4 và PL-BL16 có BKVPG đều là 17,75 mm, cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các chủng còn lại. Kế đến là chủng VL-ĐT26 có BKVPG là 15,25 mm, không khác biệt ý nghĩa thống kê với 2 chủng DH-TV2 và CL2-ĐT.4 nhưng khác biệt ý nghĩa thống kê với các chủng còn lại.

Bảng 2. Bán kính vòng phân giải cellulose (mm) của các chủng xạ khuẩn triển vọng qua các thời điểm quan sát

STT	Nghiệm thức	Bán kính vòng phân giải (mm) ở các thời điểm sau khi cấy			
		3 NSKC	5 NSKC	7 NSKC	9 NSKC
1	BT-VL3	8,75 efg	12,25 f	17,00 def	22,00 cd
2	BM-VL9	5,50 kl	7,75 ij	10,50 i	12,75 g
3	TM-ĐT15	1,00 m	1,00 l	5,00 k	6,75 h
4	TĐ-ST8	9,00 def	13,50 de	18,00 bcd	23,00 c
5	KS-ST6b	5,00 l	7,75 j	10,50 i	13,75 g
6	DH-TV4	6,25 jk	9,75 gh	11,75 hi	13,25 g
7	CL2-ĐT34	10,00 bcd	15,00 bcd	19,00 b	21,75 cd
8	CT-ĐT24	4,75 l	4,50 k	6,50 j	7,75 h
9	DH-TV2	10,75 b	15,00 bc	18,50 bc	18,50 ef
10	CM-AG22	8,25 fgh	12,25 f	15,25 g	18,00 f
11	KS-ST8b	9,50 cde	12,50 ef	15,25	19,00 ef
12	TM-ĐT5	8,00 fghi	12,75 ef	16,25 efg	19,25 ef
13	LM-HG6	10,50 bc	14,00 cd	17,25 cde	21,75 cd
14	PL-BL7	7,75 ghi	9,50 gh	11,50 i	14,25 g
15	BT-VL5.4	12,50 a	17,75 a	21,50 a	27,00 a
16	LV-ĐT26	9,75 bcde	15,25 b	18,75 b	22,00 cd
17	TC-AG2.1	8,25 fgh	12,50 ef	16,50 efg	19,75 ef
18	PL-BL16	10,75 b	17,75 a	21,50 a	25,25 b
19	CL-ĐT	7,00 ij	8,75 hi	10,50 i	12,50 g
20	CTA1-HG	7,50 hi	10,50 g	13,00 h	13,75 g
21	HB-BL2	10,75 b	11,75 f	17,00 def	19,50 ef
22	CTA2-HG	10,75 b	14,00 cd	15,75 fg	18,00 f
Mức ý nghĩa		**	**	**	**
CV (%)		8,82%	6,12%	6,33%	6,46%

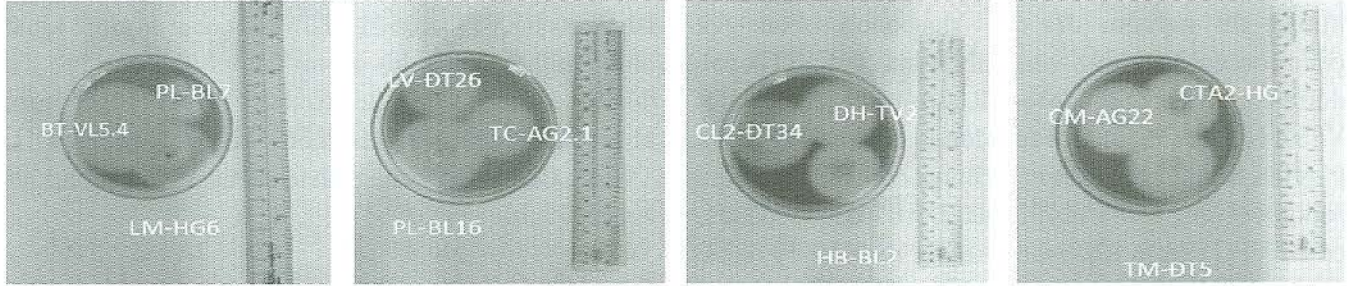
Ghi chú: Các giá trị ở cùng một cột dọc được theo sau bởi một hay nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 1% qua phép thử Duncan. **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%. NSKC: Ngày sau khi cấy.

Ở thời điểm 7 NSKC, 2 chủng BT-VL5.4 và PL-BL16 tiếp tục có BKVPG đều là 21,50 mm, lớn hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các chủng còn lại. Kế đến là 2 chủng CL2-ĐT34, LV-ĐT26 có BKVPG lần lượt là 19,00 mm và 18,75 mm tương đương nhau, không khác biệt ý nghĩa thống kê so với 2 chủng DH-TV2 và TĐ-ST8 nhưng khác biệt ý nghĩa thống kê với các chủng còn lại. Ở thời điểm 9 NSKC, chủng BT-VL5.4 có BKVPG lớn nhất là 27,00 mm khác biệt ý

nghĩa so với các chủng còn lại, kế đến là chủng PL-BL16 với BKVPG là 25,25 mm cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các chủng xạ khuẩn còn lại. Tiếp theo là chủng TĐ-ST8 có BKVPG là 23,00 mm tuy không khác biệt thống kê so với 4 chủng BT-VL3, CL2-ĐT34, LM-HG6 và LV-ĐT26 có BKVPG lần lượt là 22,00 mm; 21,75 mm; 21,75 mm và 22,00 mm nhưng cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng còn lại (Bảng 2).

Tóm lại, 7 chủng xạ khuẩn BT-VL5.4, PL-BL16, TĐ-ST8, BT-VL3, CL2-ĐT3.4, LM-HG6 và LV-ĐT26 có khả năng phân giải cellulose cao thể hiện qua

BKVPG lớn (hơn 20,00 mm) và kéo dài đến thời điểm 9 ngày sau khi cấy và 7 chủng xạ khuẩn này được chọn để sử dụng cho thí nghiệm tiếp theo.

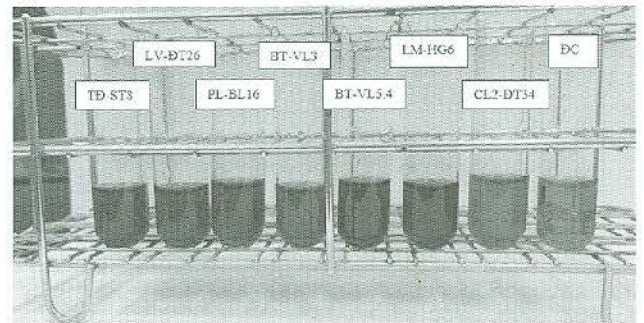


Hình 1. Khả năng phân giải cellulose của các chủng xạ khuẩn ở thời điểm 9 ngày sau khi cấy

3.2. Hàm lượng enzyme cellulase do các chủng xạ khuẩn tiết ra

Hàm lượng enzyme cellulase do các chủng xạ khuẩn tiết ra qua các thời điểm khảo sát được trình bày ở bảng 3. Ở thời điểm 3 ngày sau khi nuôi lactic (NSNL) hàm lượng enzyme cellulase của các chủng dao động từ 0,567 – 1,220 IU/ml và chủng LM-HG6 có hàm lượng enzyme cellulase là 1,220 IU/ml, tuy không khác biệt với 3 chủng BT-VL5.4, PL-BL16, TĐ-ST8 nhưng khác biệt ý nghĩa thống kê so với các chủng còn lại. Ở thời điểm 5 NSNL, hàm lượng enzyme cellulase của các chủng bắt đầu giảm, dao động từ 0,163 – 0,519 IU/ml và chủng BT-VL5.4 có hàm lượng enzyme cellulase là 0,519 IU/ml, cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các chủng còn lại. Ở thời điểm 7 NSNL, chủng BT-VL5.4 tiếp tục có hàm lượng enzyme cellulase tiết ra cao nhất là 0,451 IU/ml, cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với

các chủng còn lại. Ở thời điểm 9 NSNL, chủng BT-VL5.4 có hàm lượng enzyme cellulase là 0,117 IU/ml tuy không khác biệt so với 2 chủng PL-BL16 và LM-HG6 có hàm lượng enzyme cellulase lần lượt là 0,098 IU/ml và 0,087 IU/ml nhưng cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các chủng còn lại.



Hình 2. Sự biến thiên mật độ quang giữa các nghiệm thức ở thời điểm 3 ngày sau thí nghiệm

Bảng 3. Hàm lượng cellulase (IU/ml) của các chủng xạ khuẩn tiết ra ở các thời điểm khảo sát

STT	Nghiệm thức	Hàm lượng cellulase của các chủng xạ khuẩn			
		3 NSNL	5 NSNL	7 NSNL	9 NSNL
1	CL2-ĐT34	0,567 c	0,171 de	0,176 bc	0,053 bcd
2	LM-HG6	1,220a	0,265 b	0,163 bc	0,087abc
3	BT-VL5.4	1,206ab	0,519a	0,451a	0,117a
4	BT-VL3	1,162 b	0,222 bc	0,084 e	0,044 cd
5	LV-ĐT26	1,169 b	0,140 e	0,114 de	0,043 cd
6	PL-BL16	1,200ab	0,213 cd	0,198 b	0,098ab
7	TĐ-ST8	1,183ab	0,163 e	0,146 cd	0,027 d
Mức ý nghĩa		**	**	**	**
CV (%)		2,93%	13,40%	19,66%	37,48%

Ghi chú: Các giá trị ở cùng một cột dọc được theo sau bởi một hay nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 1% qua phép thử Duncan. **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%. NSNL: Ngày sau khi nuôi lactic.

Qua kết quả ở bảng 2 và 3 cho thấy các chủng xạ khuẩn thí nghiệm đều thể hiện khả năng tiết enzyme cellulase phân giải cellulose với nhiều mức độ khác

nhau và 3 chủng BT-VL5.4, PL-BL16 và LM-HG6 vừa có bán kính vòng phân giải lớn vừa có hàm lượng enzyme cellulase tiết ra cao và kéo dài đến thời điểm 9 ngày sau khi bố trí thí nghiệm so với các chủng xạ

khuẩn dùng trong thí nghiệm, vì vậy 3 chủng này được sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo. Kết quả thí nghiệm phù hợp với một số nghiên cứu trước cho rằng xạ khuẩn có khả năng tiết enzyme cellulase phân giải cellulose như kết quả nghiên cứu của Đậu Thị Dung (2010), đã xác định được 5 chủng xạ khuẩn có hàm lượng enzyme cellulase cao nhất là C₂ (0,417 IU/ml), C₃ (0,464 IU/ml), C₄ (0,434 IU/ml), C₆ (0,551 IU/ml) và C₇ (0,518 IU/ml). Theo Lam (2006) cho rằng khả năng tiết enzyme ngoại bào và đặc biệt là enzyme cellulase là một đặc tính tiêu biểu của xạ khuẩn vùng rế.

3.3. Khả năng phân hủy hữu cơ từ rơm rạ của các chủng xạ khuẩn trong điều kiện phòng thí nghiệm

3.3.1. Khả năng phân hủy rơm rạ của các chủng xạ khuẩn trong điều kiện phòng thí nghiệm

Khả năng phân hủy rơm rạ của các chủng xạ khuẩn thí nghiệm được trình bày ở bảng 4. Ở thời điểm 5 NSBT, các chủng xạ khuẩn đều cho thấy khả năng phân hủy rơm rạ với nhiều mức độ khác nhau, thể hiện qua khối lượng rơm rạ bị phân hủy dao động trong khoảng 0,514 g đến 0,523 g; cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng.

Bảng 4. Khối lượng rơm bị phân hủy bởi các chủng xạ khuẩn ở các thời điểm khảo sát

STT	Nghiệm thức chứa chủng	Khối lượng rơm bị phân hủy bởi các chủng xạ khuẩn ở các thời điểm khảo sát (g)			
		5 NSBT	10 NSBT	15 NSBL	20 NSBT
1	BT-VL5.4	0,523 a	0,546 a	0,609 a	0,728 ab
2	LM-HG6	0,514 a	0,538 a	0,563 a	0,640 bc
3	PL-BL16	0,514 a	0,558 a	0,614 a	0,841 a
4	ĐC	0,435 b	0,454 b	0,482 b	0,493 c
Mức ý nghĩa		**	**	**	**
CV (%)		4,95 %	6,24 %	4,86 %	17,61 %

Ghi chú: Các giá trị ở cùng một cột dọc được theo sau bởi một hay nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 1% qua phép thử Duncan. **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%. NSBT: Ngày sau khi bố trí thí nghiệm.

Ở thời điểm 10 NSBT, 3 chủng xạ khuẩn BT-VL5.4, LM-KH6 và PL-BL16 vẫn có khả năng phân hủy rơm rạ với khối lượng rơm rạ mất đi lần lượt là 0,546 g, 0,538 g và 0,558 g, không khác biệt ý nghĩa thống kê với nhau nhưng cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng. Kết quả tương tự ở thời điểm 15 NSBT, khối lượng rơm bị phân hủy của 3 chủng xạ khuẩn vẫn cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng. Ở thời điểm 20 NSBT, chủng PL-BL16 có khối lượng rơm rạ bị phân hủy là 0,841 g tuy không khác biệt so với nghiệm thức BT-VL5.4 có khối lượng rơm rạ bị phân hủy là 0,728 g; nhưng cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại.

3.3.2. Khối lượng tro còn lại của các nghiệm thức sau xử lý nhiệt

Khối lượng tro còn lại của các nghiệm thức sau xử lý nhiệt qua các thời điểm khảo sát được trình bày ở bảng 5. Ở thời điểm 5 NSBT, khối lượng tro còn lại sau khi xử lý nhiệt ở các nghiệm thức sử dụng xạ khuẩn dao động từ 0,431 g – 0,445 g, thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng. Ở thời điểm 10 NSBT và 15 NSBT, khối lượng tro còn lại ở tất các nghiệm thức có sử dụng xạ khuẩn vẫn thấp hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng. Ở thời điểm 20 NSBT, nghiệm thức chủng PL-BL16 có khối lượng tro còn lại sau khi xử lý nhiệt là 0,265 g không khác biệt với nghiệm thức chủng BT-VL5.4 nhưng thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại.

Bảng 5. Khối lượng tro còn lại của các nghiệm thức sau xử lý nhiệt

STT	Nghiệm thức chứa chủng	Khối lượng (g) tro còn lại ở các thời điểm khảo sát			
		5 NSBT	10 NSBT	15 NSBT	20 NSBT
1	BT-VL5.4	0,445 b	0,384 b	0,317 b	0,288 bc
2	LM-HG6	0,434 b	0,378 b	0,341 b	0,322 b
3	PL-BL16	0,431 b	0,379 b	0,308 b	0,265 c
4	ĐC	0,579 a	0,526 a	0,449 a	0,441 a
Mức ý nghĩa		**	**	**	**
CV (%)		9,74%	7,56%	7,09%	8,97%

Ghi chú: Các trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một hay những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê trong phép thử Duncan: ** khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; NSBT: Ngày sau khi bố trí thí nghiệm.

Qua kết quả ở bảng 4 và 5 cho thấy 2 chủng xạ khuẩn BT-VL5.4 và PL-BL16 có khả năng phân hủy hữu cơ từ rơm rạ cao và kéo dài đến thời điểm 20 ngày sau khi bố trí thí nghiệm. Khả năng phân hủy hữu cơ từ rơm rạ của các chủng xạ khuẩn này có thể được giải thích là do khả năng tiết ra enzyme cellulase phân hủy cellulose. Theo kết quả trình bày ở bảng 2 và 3 cho thấy, 2 chủng xạ khuẩn BT-VL5.4 và PL-BL16 có khả năng tiết ra enzyme cellulase cao. Thành phần hóa học của rơm rạ tính theo khối lượng khô gồm cellulose chiếm 60%, lignin chiếm 14%, protein chiếm 3,4% và lipid chiếm 1,9%, còn lại là các chất khác cho nên khi sử dụng các chủng xạ khuẩn này trong phân hủy hữu cơ từ rơm rạ thì enzyme cellulase sẽ phát huy tác dụng phân hủy cellulose làm cho khối lượng rơm rạ bị mất đi nhiều và khối lượng tro còn lại sau khi xử lý nhiệt thấp hơn so với nghiệm thức đối chứng. Nghiên cứu của Rathman và Ambili (2011) cho rằng chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. S7 có khả năng tiết ra enzyme cellulase cao và khả năng phân hủy cellulose từ xác bã thực vật mạnh ở điều kiện pH = 5 và nhiệt độ 40°C. Nghiên cứu của Nguyễn Thị Thu Thủy và Nguyễn Tiến Long (2018) đã tuyển chọn được 2 chủng xạ khuẩn 22TH và NH1 có khả năng phân giải cellulose mạnh nhất và khi ủ phế phụ phẩm nông nghiệp với hai chủng vi sinh vật này trong 4 tuần đã làm giảm 55,87% hàm lượng cellulose đồng ủ, hàm lượng đạm, lân, kali tổng số tăng lên đáng kể.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

- 3 chủng xạ khuẩn BT-VL5.4, PL-BL16 và LM-HG6 có khả năng tiết enzyme cellulase cao nhất trong số 22 chủng xạ khuẩn thí nghiệm với hàm lượng cellulase lần lượt là 0,117 IU/ml; 0,098 IU/ml và 0,087 IU/ml.

- 2 chủng xạ khuẩn BT-VL5.4 và PL-BL16 có khả năng phân hủy hữu cơ từ rơm rạ cao với khối lượng rơm rạ bị mất đi nhiều lần lượt là 0,728 g và 0,841 g và khối lượng tro còn lại sau khi được xử lý nhiệt thấp lần lượt là 0,288 g và 0,265 g.

- Đề xuất khảo sát khả năng phân hủy hữu cơ từ rơm rạ của 2 chủng xạ khuẩn BT-VL5.4 và PL-BL16 trong điều kiện nhà lưới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Nông nghiệp và PTNN, 2019. Bản tin thị trường nông sản.
2. Đậu Thị Dung, 2010. Nghiên cứu khả năng sinh tổng hợp cellulase của các chủng xạ khuẩn ưa nhiệt thu thập tại Buôn Ma Thuột. Luận văn Thạc sĩ sinh học, Trường Đại học Tây Nguyên.
3. IRRI, Knowledge Bank, 2003. Rice straw properties. http://www.knowledge_bank.irri.org/troprice/rice_straw.htm
4. Nguyễn Xuân Thành, Nguyễn Bá Hiên, Hoàng Hải và Vũ Thị Hoan, 2005. *Giáo trình vi sinh vật công nghiệp*. Nhà xuất bản Giáo dục.
5. Henric, C. W., J. D. Doyle and B. Hugley, 1995. A new solid medium for enumerating cellulose – utilizing bacteria in soil. *Applied and environmental microbiology*, 61 (5): 2016-2019.
6. Lam, K. S, 2006. Discovery of novel metabolites from marine *Actinomycetes*. *Current Opinion in Microbiology*, 9: 245-251.
7. Lê Minh Tường, Trần Thị Thu Em, 2014. Khảo sát khả năng đối kháng của các chủng xạ khuẩn đối với nấm *Pyricularia oryzae* gây bệnh đạo

ôn hại lúa. *Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ*. 120-126.

8. Nguyễn Thị Thu Thủy và Nguyễn Tiến Long, 2018. Vi sinh vật phân giải cellulose mạnh trong sản xuất phân hữu cơ từ phế phụ phẩm nông nghiệp và ảnh hưởng của chúng đối với giống lạc 114 tại Hương Trà, Thừa Thiên - Huế. *Tạp chí Khoa học - Đại học Huế*. 127 (3B) 5-9.

9. Nguyễn Ngọc Đệ, 2008. *Giáo trình cây lúa*. Nhà xuất bản Nông nghiệp.

10. Rahna. K. R. and M. Ambili, 2009. Cellulase Enzyme Production by *Streptomyces* Sp Using Fruit Waste as Substrate. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(12): 1114-1118.

EVALUATION OF STRAW DEGRADATION POTENTIAL OF ACTINOMYCETES ISOLATED IN MEKONG DELTA

Ho Chi That¹, Pham Mai Hoang Duy¹ and Le Minh Tuong²

¹Bachelor student in Plant protection major, Cantho University

²College of Agriculture, Cantho University

Email: lmtuong@ctu.edu.vn

Summary

The study was conducted at Plant Protection Department, Can Tho University to screen actinomycetes isolates able to ability in degrading straw. Cellulose degradation potential of 22 studied actinomycetes isolated were arranged completely randomized design with 4 replications. The results showed that 7 studied actinomycetes isolates, BT-VL5.4, PL-BL16, TĐ-ST8, BT-VL3, CL2-ĐT34, LM-HG6 and LV-ĐT26 able to high ability in degrading cellulose based on cellulolytic activity as the cellulose lyses halo radius of 20 mm higher and lasted at 9 days after testing. Evaluation the production of cellulase of 7 studied actinomycetes isolates with 4 replications show that BT-VL5.4, PL-BL16 and LM-HG6 were the best with production of cellulase reaches 0.117 IU/ml; 0.098 IU/ml and 0.087 IU/ml at 9 days after testing. The ability in degrading straw of 3 studied actinomycetes isolated (BT-VL5.4, PL-BL16 and LM-HG6) were conducted at Plant Protection Department with 4 replications. The results showed that 2 studied actinomycetes isolates (BT-VL5.4, PL-BL16) were able to high ability in degrading straw with weight loss of straw. They were 0.841 and 0.728 g respectively and the remaining ash weight after the low heat treatment were 0.265 g and 0.288 g respectively and significantly different from the control treatment.

Keywords: *Actinomycetes, cellulose, degrading - organic.*

Người phản biện: PGS.TS. Lê Như Kiều

Ngày nhận bài: 7/9/2020

Ngày thông qua phản biện: 8/10/2020

Ngày duyệt đăng: 15/10/2020