

Parasitism of *Trichoderma* and *Paecilomyces* on *Meloidogyne* causing root-knot in pepper plants

Truong Thi Ngoc Han, Vang Thi Tuyet Loan,
Ly Lan Phuong, Nguyen Thi Thanh Xuan

Abstract

The study of parasitism of *Trichoderma* and *Paecilomyces* on *Meloidogyne* causing root-knot in pepper plant was carried out to evaluate the effectiveness of *Trichoderma* sp. and *Paecilomyces* sp. on: (1) *Meloidogyne* sp.'s eggs; (2) female *Meloidogyne* sp.; (3) effects of extracts of them on *Meloidogyne* sp. The results showed that *Trichoderma* sp. infected nematode eggs 89.6 % at 7 days after exposure (DAE) and infected female nematode 100% 2 DAE for the treatment with *Paecilomyces* sp. infected nematode eggs 95.7% at 7 DAE and infected female nematode 96.7% 5 DAE. The fungal extracts of *Trichoderma* sp., *Paecilomyces* sp. and mixed 50% *Trichoderma* sp. + 50% *Paecilomyces* sp. showed excellent effectiveness after 48 hours which mortality rate was 95.2%, 95.0% and 96.5% respectively. And after 72 hours, all treatments delivered 100% mortality. The results showed *Trichoderma* sp. and *Paecilomyces* sp. have potential for use as biocontrol agents.

Keywords: Nematode, pepper plants, *Meloidogyne* sp., *Trichoderma* sp., *Paecilomyces* sp.

Ngày nhận bài: 10/12/2019

Ngày phản biện: 15/12/2019

Người phản biện: TS. Trương Hồng

Ngày duyệt đăng: 13/01/2020

PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN VÀ ĐỊNH DANH VI KHUẨN CÓ KHẢ NĂNG PHÂN HỦY CELLULOSE ĐỂ XỬ LÝ BÃ Bùn MÍA

Đỗ Năng Vịnh¹, Lê Như Kiểu², Lê Thị Thanh Thủy²,
Hà Thị Thúy¹, Mai Đức Chung¹, Nguyễn Văn Toàn¹,
Mai Thị Vân Khánh¹, Lê Trung Hiếu¹, Nguyễn Thành Đức¹

TÓM TẮT

Ở Việt Nam, có nhiều biện pháp xử lý bã mía, rỉ mật và bã bùn mía do sản xuất mía đường hàng năm tạo ra, trong đó ứng dụng vi sinh vật là biện pháp hiệu quả và khả thi nhất. Bài báo trình bày kết quả phân lập các chủng vi sinh vật có khả năng phân hủy bã mía thành phân hữu cơ vi sinh. Từ 20 mẫu đất, phân ủ từ gốc rạ, lá mía thu thập tại Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Tĩnh, đã phân lập được 15 chủng vi sinh vật khác nhau, trong đó có 5 chủng vi khuẩn và 10 chủng xạ khuẩn. Hai chủng X-VDT3 và X-VDT6 có khả năng phân hủy cellulose mạnh nhất trong tổng số 15 chủng, đường kính vòng phân giải đạt từ 29 - 30 mm, phân hủy bã bùn mía trong 25 ngày đạt yêu cầu của phân hữu cơ vi sinh và được xác định là *Streptomyces phaeoluteigriseus* và *Streptomyces matensis*. Đây là 2 chủng tiềm năng trong xử lý bã bùn mía để sản xuất phân hữu cơ vi sinh.

Từ khóa: Bã bùn mía, cellulose, phân hữu cơ vi sinh, vi sinh vật, xạ khuẩn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo Quyết định phê duyệt đề án phát triển mía đường đến năm 2020, định hướng đến năm 2030, ngày 18 tháng 4 năm 2018 của Bộ NN&PTNT cho thấy, sản xuất mía đường Việt Nam hàng năm tạo ra khoảng 7,7 triệu tấn bã mía, 1.137 triệu tấn rỉ mật và 1.149 triệu tấn bã bùn mía. Trước đây, khoảng 80% lượng bã mía này được dùng để làm nhiên liệu cho các lò đốt hơi trong các nhà máy sản xuất đường và sinh ra 50.000 tấn tro, trong khi 20% lượng bã mía còn lại (khoảng 500.000 tấn) được dùng làm ván ép.

Mật rỉ đường dùng để sản xuất cồn sinh học, mì chính hoặc ứng dụng các công nghệ vi sinh để chế biến thành thức ăn phục vụ cho ngành chăn nuôi. Riêng tro sau khi đốt bã mía và bã bùn mía còn lại không được sử dụng cho bất cứ mục đích nào khác phải đổ bỏ như rác thải và điều này dẫn đến ô nhiễm môi trường nghiêm trọng, vì trong bã bùn mía có chứa một lượng dinh dưỡng cao như đạm, lân, lưu huỳnh và canxi. Nếu nguồn bã bùn mía này được sử dụng làm nguồn phân hữu cơ bón cho đất và cây trồng, đặc biệt là cây mía sẽ giúp cải thiện

¹ Viện Di truyền Nông nghiệp; ² Viện Thổ nhưỡng Nông hóa

chất lượng và độ phì nhiêu đất cũng như năng suất mía. Đứng trước tình hình đó, đã có nhiều giải pháp được đặt ra như sử dụng nguồn chất thải này làm thức ăn trong lĩnh vực chăn nuôi, nhưng chỉ sử dụng được những loại bã mía sạch, chất lượng tốt, do đó, vấn đề chỉ được giải quyết một phần. Lượng lớn bã bùn mía vẫn chưa được giải quyết dẫn đến ô nhiễm môi trường do mùi hôi của bã bùn mía. Việc tận dụng bã bùn mía làm phân hữu cơ vi sinh cho đất và cây trồng là một trong những giải pháp được cho là có tính khả thi nhất xét cả về mặt kinh tế và môi trường vì sẽ trả lại một lượng hữu cơ quan trọng cho đất trồng mía và giúp tăng năng suất mía. Kết quả tính toán cho thấy để trồng được 250.000 ha mía, ngoài phân bón vô cơ (đạm - lân - kali) tối thiểu cần phải bón thêm 4 - 5 tấn phân hữu cơ cho 1 ha, tức là phải cần 1 triệu tấn phân hữu cơ bón cho 250.000 ha. Việc sử dụng vi sinh vật để phân hủy hiệu quả bã bùn mía để làm phân hữu cơ cho cây mía thật sự cần thiết do trong thành phần của bã bùn mía gồm bã bùn, váng bột (chiếm 1 - 4% so với cây mía), chất xơ, đường, protein, lipid, v.v... đây là thành phần rất tốt cho phân hữu cơ vi sinh, tuy nhiên, các nghiên cứu về phân lập và tuyển chọn vi sinh phân phân hủy cellulose của bã bùn mía còn rất hạn chế. Do vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục tiêu phân lập, tuyển chọn và định danh vi sinh vật phân giải cellulose của bã bùn mía để xử lý bã bùn mía của các nhà máy đường.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Hai mươi mẫu đất trồng mía, bã mía thu thập tại nhà máy đường Lam Sơn, Thanh Hóa, phân ủ từ rơm rạ thu thập tại xã Nghĩa Đức, huyện Nghĩa Đàn, tỉnh Nghệ An và xã Cẩm Mỹ, huyện Cẩm Xuyên, tỉnh Hà Tĩnh, bùn bã mía đã được sơ chế đảm bảo điều kiện để ủ với dịch vi sinh vật, phân NPK (2 : 2 : 1).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân lập vi sinh vật từ mẫu đất trồng mía

Mẫu đất và phân ủ được phơi khô trong tủ ổn nhiệt ở nhiệt độ 37°C trong khoảng 12 - 18 giờ, sau đó mẫu đất được nghiền nhỏ và được sàng qua rây có kích thước 2 mm × 2 mm. Hoà tan 1 g mẫu sau xử lý trong 9 ml nước cất vô trùng được chuẩn bị sẵn trong ống nghiệm 14 ml và trộn đều trong

10 phút bằng máy Vortex, sau đó để yên trong 15 phút. Hút 1 mL dịch huyền phù chuyển sang ống nghiệm 14 ml chứa 9 ml nước cất khử trùng để pha loãng được nồng độ pha loãng 10^{-2} . Lặp lại quy trình đến nồng độ pha loãng đạt 10^{-5} - 10^{-7} (TCVN 6168, 2002). Hút 100 µl dịch huyền phù ở các nồng độ pha loãng từ 10^{-4} đến 10^{-6} cấy trên đĩa petri chứa môi trường Gauze I (K_2HPO_4 : 0,5 g; KH_2PO_4 : 0,5 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; NaCl: 0,5 g; KNO_3 : 1 g; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,01 g; Tinh bột tan: 20 g; thạch: 12 g; H_2O : 1.000 ml; pH = 7) và môi trường Hans (K_2HPO_4 : 0,5 g; KH_2PO_4 : 0,5 g; $(NH_4)_2SO_4$: 1 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,1 g; $CaCl_2$: 0,1 g; NaCl: 6 g; Cao nấm men: 0,1 g; CMC: 0,1 g; Thạch: 12 g; H_2O : 1.000 ml; pH = 7). Đặt mẫu trong tủ ẩm ở nhiệt độ 30°C trong 48 giờ, sau đó quan sát sự phát triển của các khuẩn lạc sao cho có thể thấy rõ các khuẩn lạc riêng biệt. Các khuẩn lạc có hình dạng, màu sắc khác nhau được tách riêng và làm thuần sau đó được lưu trữ trong ống nghiệm chứa môi trường nước muối sinh lý ở nhiệt độ 4°C để sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.

2.2.2. Tuyển chọn vi sinh vật có khả năng sinh enzyme cellulase mạnh

Các dòng vi sinh vật phân lập được nuôi cấy trên môi trường khoáng tối thiểu Delafield (Delafield *et al.*, 1965) ở 30°C trong 3 ngày để kích hoạt lại khả năng sinh tổng hợp enzyme cellulase của các dòng vi sinh vật phân lập. Tiếp theo, dùng que cấy chuyển sinh khối vi sinh vật vào bình tam giác 100 mL chứa 45 mL môi trường khoáng tối thiểu Delafield lỏng (gồm 0,5 g $(NH_4)_2SO_4$; 0,5 g K_2HPO_4 ; 0,5 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,001 g NaCl; 2 g Agar) bổ sung 5 g bột giấy đã được khử trùng ở 121°C trong 20 phút). Các bình tam giác chứa mẫu được đặt trên máy lắc tròn với tốc độ 150 vòng/phút ở nhiệt độ 37°C trong 48 giờ. Hoạt tính của enzyme cellulase được xác định theo phương pháp định tính khuếch tán trên đĩa thạch của Williams (1983) và được mô tả như sau: Sinh khối của vi sinh vật sau khi nuôi cấy được li tâm ở tốc độ 12.000 vòng/phút, loại bỏ phần sinh khối, thu phần dịch môi trường nuôi cấy ở bên trên, nhỏ 1 mL dịch môi trường vào các lỗ thạch đã được khoan sẵn bằng dụng cụ khoan chuyên dụng trên các đĩa Petri chứa môi trường CMC (gồm 1 g $(NH_4)_2SO_4$; 1 g K_2HPO_4 ; 0,5 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,001 g NaCl; 10 g CMC; 2 g Agar, thêm nước đến thể tích 1 lít và điều chỉnh pH = 7). Đặt các đĩa thạch trong tủ ủ trong 24 giờ, sau đó cho 1 ml dịch Congo Red (1 g/lít) lên

đều trên bề mặt môi trường trong 15 phút, cuối cùng rửa với dung dịch muối NaCl 1M. Hoạt tính enzyme cellulase phân giải cellulose được xác định bằng kích thước vòng phân giải, vòng tròn trong suốt bao quanh lỗ thạch (hiệu số giữa đường kính vòng tròn trong suốt (D) và đường kính lỗ thạch (d)).

2.2.3. Xác định khả năng phân hủy bột giấy và bã bùn mía của các chủng vi sinh vật phân lập

Cho 5 g bột giấy hoặc bã bùn mía riêng biệt (sấy khô ở 105°C) vào 2 bình tam giác 100 mL chứa sẵn 45 mL môi trường Delafield lỏng, khử trùng ở 121°C, 30 phút, để nguội đến nhiệt độ phòng, bổ sung 1% dịch vi sinh vật có mật độ 10⁹CFU/ml. Các bình tam giác chứa mẫu được nuôi trên máy lắc tròn với tốc độ 150 vòng/phút ở nhiệt độ 30°C trong vòng 7 ngày cho môi trường chứa bột giấy và 10 ngày cho môi trường chứa bã bùn mía. Tiến hành thu sinh khối bột giấy và bã bùn mía còn lại sau thí nghiệm bằng cách chuyển toàn bộ môi trường nuôi cấy trong bình tam giác chứa giấy và bã bùn mía qua giấy lọc và tiến hành sấy giấy lọc chứa giấy hoặc bã bùn mía trong tủ sấy ở 105°C trong 24 giờ. Xác định phần trăm phân hủy của hai vật liệu (%) theo công thức: Phần trăm phân hủy (%) = (Khối lượng ban đầu – Khối lượng sau sấy)/khối lượng ban đầu × 100.

2.2.4. Phương pháp định danh vi khuẩn bằng giải mã trình tự đoạn gen 16S rRNA

Để định danh hai chủng vi khuẩn có hoạt tính phân hủy cellulose mạnh nhất ký hiệu X-VDT3 và X-VDT6, DNA của hai chủng vi khuẩn này đã được tách chiết với bộ kit GeneJET Genomic DNA Purification Kit (K0721-Thermo). Sử dụng cặp mồi 27F (GAG AGT TTG ATC CTG GCT CAG) và 1495R (CTA CGG CTA CCT TGT TAC GA) để nhân đoạn trình tự 16S rRNA có kích thước khoảng 1,5kb. Sản phẩm PCR sau đó được giải mã trình tự tại công ty 1st BASE, Malaysia. Kết quả giải trình tự được so sánh trình tự (Nucleotid Blast) với cơ sở dữ liệu của ngân hàng gene thế giới để xác định tên chi, loài của hai chủng vi khuẩn trong nghiên cứu này.

2.2.5. Đánh giá hiệu quả phân hủy bã bùn mía của hai chủng vi khuẩn tuyển chọn ở điều kiện nhà lưới

Bã bùn mía được thu tại nhà máy đường Lam Sơn, Thanh Hóa, độ ẩm khoảng 50%, 2 chủng vi sinh vật X-VDT3 và X-VDT6 được nhân sinh khối riêng biệt, tạo dung dịch có mật độ 10⁹CFU/ml. Thí nghiệm gồm 3 công thức:

- Công thức 1: 500 kg bã bùn mía + 1% NPK (2 : 2 : 1) + 3 lít nước sạch (đối chứng).

- Công thức 2: 500 kg bã bùn mía + 1% NPK (2 : 2 : 1) + 0,5 lít dịch chủng X-VDT3

- Công thức 3: 500 kg bã bùn mía + 1% NPK (2 : 2 : 1) + 0,5 lít dịch chủng X-VDT6

0,5 lít dịch vi sinh vật được hòa với 3 lít nước sạch, phun rồi trộn đều với bùn bã mía, tạo đồng ù cao 0,8 m, rộng 1m, phủ bạt kín để giữ nhiệt, tăng khả năng hoạt động của vi sinh vật, đảo trộn 2 lần vào thời điểm sau 1 tuần, 2 tuần và duy trì ở trạng thái đó trong 25 - 28 ngày.

2.2.6. Đánh giá chất lượng sản phẩm sau xử lý

Sản phẩm sau xử lý được đánh giá chất lượng theo Nghị định 108/NĐ-CP ngày 20/09/2017. Các chỉ tiêu về: độ ẩm (TCVN 6648:2000), pH (TCVN 5979:2007), OM (TCVB 8941-2011), mật độ vi sinh vật (TCVN 4884:2005) được phân tích tại phòng phân tích trung tâm của Viện Thổ nhưỡng Nông hóa.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập các chủng vi sinh vật có khả năng phân hủy cellulose

Việc lựa chọn các chủng vi sinh vật có khả năng phân hủy cellulose được dựa trên các nguyên tắc: Có hoạt tính phân hủy cellulose, sinh trưởng và phát triển tốt trên cơ chất hữu cơ, không độc đối với người, động, thực vật, vi sinh vật hữu ích, nhân sinh khối dễ dàng và thuận lợi cho việc sản xuất chế phẩm.

Từ các mẫu (đất, phân ủ) thu được ở ba tỉnh Hà Tĩnh, Nghệ An và Thanh Hóa đã phân lập được 15 chủng vi sinh vật thuộc nhóm có hoạt tính phân hủy cellulose. Kết quả phân lập các chủng vi sinh vật có khả năng phân hủy cellulose được trình bày ở bảng 1. Qua quan sát hình thái khuẩn lạc bên ngoài, chúng tôi nhận thấy có 5 chủng vi khuẩn ký hiệu X-VDT1, X-VDT2, X-VDT4, X-VDT5 và X-VDT13 và 10 chủng xạ khuẩn có ký hiệu. X-VDT3, X-VDT6, X-VDT7, X-VDT8, X-VDT9, X-VDT10, X-VDT11, X-VDT12, X-VDT14 và X-VDT15. Nhìn chung, các chủng vi sinh vật phân lập được có hình dạng, kích thước và màu sắc khuẩn lạc đa dạng và rất khác nhau, cụ thể như sau: Tròn, lồi, dẹt, chủ yếu có màu trắng, trắng đục hay trắng ngà.

Bảng 1. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc của các chủng vi sinh vật có khả năng phân hủy cellulose phân lập được từ các mẫu đất và phân hữu cơ

TT	Nguồn gốc phân lập	Ký hiệu	Đặc điểm hình thái khuẩn lạc		
			Hình dạng	Kích cỡ (mm)	Màu sắc
1	Mẫu đất - Thanh Hóa	X-VDT1	Tròn, có viền đồng tâm	3 - 4	Trắng đục
2	Mẫu đất - Thanh Hóa	X-VDT2	Tròn, viền nhăn	3 - 4	Trắng đục
3	Mẫu đất - Thanh Hóa	X-VDT3	Tròn, dẹt, nhăn mép răng cưa	1 - 2	Trắng bông
4	Mẫu bùn mía - Thanh Hóa	X-VDT4	Tròn, lõi nhầy	2 - 3	Trong suốt
5	Mẫu bùn mía - Thanh Hóa	X-VDT5	Tròn, mép răng cưa	3 - 4	Trắng bông
6	Bùn mía - Thanh Hóa	X-VDT6	Tròn, bông	1 - 2	Trắng đục
7	Mẫu phân ủ rơm rạ - Nghệ An	X-VDT7	Tròn, viền nhăn	3 - 4	Trắng đục
8	Mẫu phân ủ rơm rạ - Nghệ An	X-VDT8	Tròn, lõi, nhầy	3 - 4	Trắng ngà
9	Mẫu phân ủ rơm rạ - Nghệ An	X-VDT9	Tròn, nhầy	3 - 4	Trắng đục
10	Mẫu phân ủ rơm rạ - Nghệ An	X-VDT10	Tròn, lõi, nhầy	2 - 3	Trắng đục
11	Mẫu phân ủ rơm rạ - Nghệ An	X-VDT11	Tròn, mép răng cưa	3 - 4	Trắng bông
12	Mẫu phân ủ rơm rạ - Hà Tĩnh	X-VDT12	Tròn, viền nhăn	3 - 4	Trắng
13	Mẫu phân ủ rơm rạ - Hà Tĩnh	X-VDT13	Tròn, lõi	2,5 - 3	Trắng sữa
14	Mẫu phân ủ rơm rạ - Hà Tĩnh	X-VDT14	Tròn, dẹt, có viền đồng tâm	3 - 4	Trắng đục
15	Mẫu phân ủ rơm rạ - Hà Tĩnh	X-VDT15	Tròn, viền nhăn	1,5 - 2	Trắng

3.2. Định tính khả năng sinh tổng hợp enzyme cellulase của các chủng vi sinh vật phân lập

Đánh giá định tính khả năng phân giải cellulose của các chủng vsv theo phương pháp của Williams

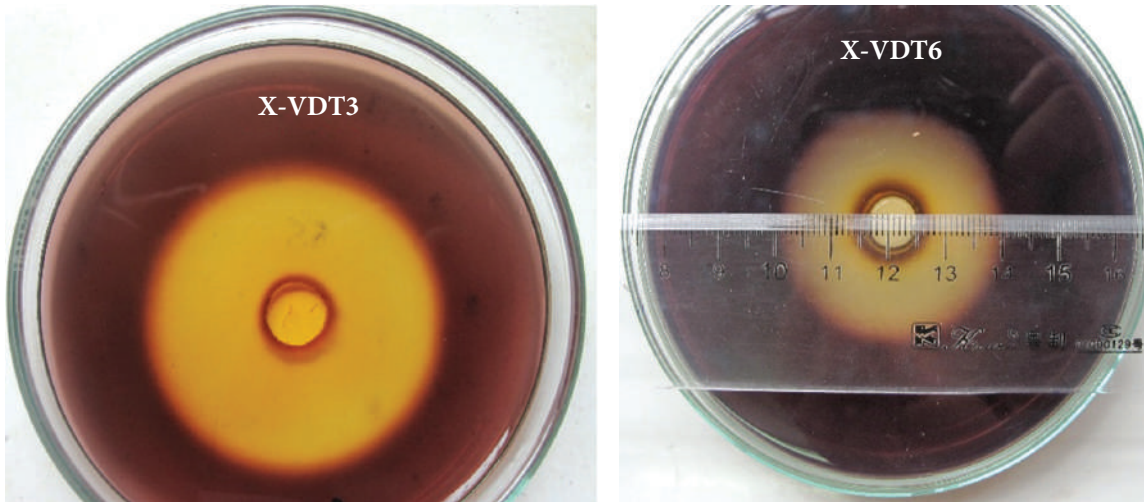
(1983), hoạt tính phân giải cellulose được thể hiện bằng vòng tròn trong suốt bao quanh lỗ thạch. Kết quả thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Đánh giá hoạt tính phân giải CMC của các chủng vi sinh vật phân lập

TT	Ký hiệu chủng	Đường kính vòng phân giải CMC (D-d, mm)	TT	Ký hiệu chủng	Đường kính vòng phân giải CMC (D-d, mm)
1	X-VDT1	15	9	X-VDT9	12
2	X-VDT2	8	10	X-VDT10	10
3	X-VDT3	30	11	X-VDT11	15
4	X-VDT4	10	12	X-VDT12	13
5	X-VDT5	12	13	X-VDT13	12
6	X-VDT6	29	14	X-VDT14	20
7	X-VDT7	15	15	X-VDT15	14
8	X-VDT8	17			

Số liệu ở bảng 2 cho thấy: Nhìn chung, hoạt tính phân giải cellulose của các chủng vi sinh vật phân lập dao động mạnh từ 8 mm - 30 mm. Trong số các chủng vi khuẩn và xạ khuẩn đã phân lập, chúng tôi lựa chọn được 02 chủng xạ khuẩn là X-VDT3, X-VDT6 có vòng phân giải CMC cao nhất tương ứng đạt 30 mm và 29 mm (Hình 1). Các chủng VSV

này được cấy truyền 5 lần liên tục, lưu giữ và đánh giá hoạt tính phân giải CMC. Kết quả cho thấy sau 5 lần cấy truyền hoạt tính phân giải CMC của các chủng vẫn duy trì tính ổn định, vì vậy các chủng X-VDT3, X-VDT6 được lưu giữ để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 1. Hoạt tính phân giải cellulose của chủng X-VDT3 và X-VDT6 (vòng tròn trong suốt bao quanh lỗ thạch)

3.3. Kết quả đánh giá khả năng phân giải bột giấy và bã bùn mía của các chủng vi khuẩn

Khả năng phân giải cellulose của các nguyên liệu là một trong những tiêu chí đánh giá hiệu quả của các vi khuẩn trong việc phân giải các loại chất thải hữu cơ nói chung và bã bùn mía nói riêng.

Thí nghiệm đánh giá khả năng phân giải bột giấy và bã bùn mía của các chủng vi khuẩn được lựa chọn nhằm đánh giá khả năng phân giải cellulose làm cơ sở trong xử lý nguyên liệu chứa cellulose. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Khả năng phân giải bột giấy, bã bùn mía của các chủng vi khuẩn

STT	Ký hiệu chủng	Đường kính vòng phân giải CMC (mm)	Tỷ lệ hao hụt bột giấy sau 7 ngày xử lý (%)	Tỷ lệ hao hụt bã bùn mía sau 10 ngày xử lý (%)
1	X-VDT3	30,0	57,70	56,40
2	X-VDT6	29,0	55,70	54,50

Số liệu ở bảng 3 cho thấy, chủng X-VDT3 vừa có khả năng phân giải bột giấy (đạt 57,7 %) vừa phân giải bã bùn mía (đạt 56,4 %). Chủng X-VDT6 vừa có khả năng phân giải bột giấy (55,70 %) vừa có khả năng phân giải bã bùn mía (54,50 %). Do đó, 2 chủng X-VDT3 và X-VDT6 được lựa chọn để tiếp tục nghiên cứu.

3.4. Định danh các chủng vi sinh vật có hoạt tính

Kết quả định danh hai chủng vi sinh vật X-VDT3 và X-VDT6 có hoạt tính phân giải cellulose mạnh nhất cho thấy, trình tự gen 16S rRNA của chủng X-VDT3 tương đồng 98,43% với trình tự 16S rRNA với mã số NR_042097, do vậy chủng X-VDT3 được xác định là *Streptomyces phaeoluteigriseus*. Tương tự, chủng X-VDT6 có độ tương đồng 100% với

trình tự 16S rRNA có mã số NR_116076, nên chủng X-VDT6 được xác định là *Streptomyces matensis*.

3.5. Kết quả thử nghiệm xử lý bã bùn mía bằng vi sinh vật

Sau khi tiến hành đồng ủ sau 25 ngày, nguyên liệu được phân tích chất lượng, kết quả được trình bày ở bảng 4.

Số liệu ở bảng 4 cho thấy: Sau 25 ngày ủ, bã bùn mía ở công thức 1, 2 (có xử lý bằng chủng X-VDT3 và X-VDT6) có màu đen, hoai mục và xốp hơn đối chứng. So với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Ngọc Quý và cộng tác viên (2016) thì thời gian ủ ngắn hơn 7 ngày. Các chỉ tiêu về mật độ vi sinh vật có ích, pH_{H₂O}, độ ẩm, OM đều đạt yêu cầu so với tiêu chuẩn phân hữu cơ vi sinh hiện hành.

Bảng 4. Kết quả xử lý bã bunn mía bằng vi sinh vật phân giải cellulose

Chỉ tiêu	Đơn vị tính	Trước ủ			Sau ủ			Tiêu chuẩn phân hữu cơ vi sinh
		ĐC	CT1 (X-VDT3)	CT2 (X-VDT6)	ĐC	CT1 (X-VDT3)	CT2 (X-VDT6)	
Độ ẩm	%	61,22	60,43	60,43	38,31	29,21	28,83	≤ 30
pH _{H2O}		6,1	6,1	6,1	4,9	5,8	5,9	≥ 5,0
Độ hoai		-	-	-	Chưa hoai	Hoai	Hoai	
Màu sắc		Vàng xám	Vàng xám	Vàng xám	Xám nâu	Đen, tối, xốp	Đen, tối, xốp	
Hàm lượng chất hữu cơ (OM)	%	17,94	17,94	17,94	17,27	16,50	16,20	≥ 15
Mật độ xạ khuẩn	× 10 ⁶ CFU/g					3,5	2,8	≥ 1,0 × 10 ⁶ CFU/g

IV. KẾT LUẬN

Từ 20 mẫu đất, phân ủ từ gốc rạ, lá mía thu thập tại Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Tĩnh, đã phân lập được 15 chủng vi sinh vật khác nhau, trong đó có 5 chủng vi khuẩn và 10 chủng xạ khuẩn. Trong số các chủng phân lập được, hai chủng ký hiệu là X-VDT3 và X-VDT6 có khả năng phân hủy cellulose mạnh nhất với đường kính vòng phân giải đạt tương ứng là 30 mm và 29 mm. Sử dụng hai chủng xạ khuẩn này để phân hủy bã bunn mía trong 25 ngày, sản phẩm ủ đạt yêu cầu hiện hành của phân hữu cơ vi sinh. Hai chủng xạ khuẩn này đã được xác định là *Streptomyces phaeoluteigriseus* và *Streptomyces matensis*. Đây là 2 chủng tiềm năng trong xử lý bã bunn mía để sản xuất phân hữu cơ vi sinh.

LỜI CẢM ƠN

Kết quả nghiên cứu được hỗ trợ kinh phí từ đề tài “Nghiên cứu sản xuất và ứng dụng một số vật liệu mới (chất hấp thụ, hạt cải tạo đất và vải địa kỹ thuật) từ phụ phẩm mía đường và lúa để nâng cao giá trị gia tăng và phục vụ nông nghiệp bền vững” thuộc chương trình Nghị Định thư với CHLB Đức, mã số NĐT.22.GER/16 của Bộ Khoa học và Công nghệ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bộ Khoa học và Công nghệ, 2008. TCVN 6168-2002.

Tiêu chuẩn Quốc gia về Chế phẩm vi sinh vật phân giải cellulose.

Bộ Nông nghiệp và PTNT, 2018. Quyết định phê duyệt đề án phát triển mía đường đến năm 2020, định hướng đến năm 2030, ngày 18 tháng 4 năm 2018 của Bộ NN&PTNT.

Chính phủ, 2017. Nghị định 108/NĐ-CP ngày 20/9/2017 về Quản lý phân bón.

Nguyễn Ngọc Quý, Tạ Thu Hằng, Lê Tất Khương, Đoàn Văn Tú, 2016. Nghiên cứu xử lý nguồn bã thải dong riềng thành phân hữu cơ vi sinh bón cho cây dong riềng. *Tạp chí khoa học Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, (6): 18-21.

Viện Thổ Nhuỡng Nông hóa, 2017. Quyết định 09/QĐ-TNNH-KH ngày 06/01/2017 về việc “Ban hành bảng giá phân tích các chỉ tiêu trong đất, nước, phân bón, cây trồng và vi sinh vật”.

Ryckeboer, Jaak & Mergaert, J & Vaes, K & Klammer, S & De Clercq, Deborah & Coosemans, J & Insam, Heribert & Swings, Jean, 2003. A survey of bacteria and fungi occurring during composting and self-heating processes. *Annals of Microbiology*, 53 (4): 349-410.

Williams A. G., 1983. Staining reactions for the detection of hemicellulose-degrading bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.*, 20: 253-258.

Isolation, selection and identification cellulose decomposing bacteria for sugar cane bagasse waste treatment from agricultural soils and organic fertilizers

Do Nang Vinh, Le Nhu Kieu, Le Thi Thanh Thuy, Ha Thi Thuy, Mai Duc Chung, Nguyen Van Toan, Mai Thi Van Khanh, Le Trung Hieu, Nguyen Thanh Duc

Abstract

Among treatment measures of bagasse, molasses and press-mud, generated by sugar production In Vietnam, use of microorganisms is an effective and promising way. In this study, microorganisms were isolated for biodegrading

press-mud to bio fertilizer. Fifteen different microorganisms were isolated from 20 collected samples from the rice field or sugarcane field in Thanh Hoa, Nghe An, Ha Tinh province. Among 15 isolated microorganisms there were five bacteria strains and 10 actinomyces strains. X-VDT3 strain and X-VDT6 strain showed the highest cellulose degradation with a diameter of the degrade zone of 29 - 30 mm, respectively. The press-mud after 25 days treated with these strains was determined as standard biofertilizers. X-VDT3 and X-VDT6 were identified as *Streptomyces phaeoluteigriseus* and *Streptomyces matensis*, they are potential strains for press-mud treatment.

Keywords: Press-mud, cellulose, biofertilizer, microorganisms, actinomyces

Ngày nhận bài: 16/12/2019
Ngày phản biện: 12/01/2020

Người phản biện: TS. Phạm Ngọc Tuấn
Ngày duyệt đăng: 13/01/2020

BƯỚC ĐẦU ỨNG DỤNG TẢO BÁM XỬ LÝ NƯỚC THẢI SINH HOẠT VÀ NƯỚC THẢI CHĂN NUÔI

Đỗ Phương Chi¹, Đinh Tiến Dũng¹,
Vũ Phạm Thái¹, Nguyễn Thị Thu Hà²

TÓM TẮT

Sử dụng nước thải sinh hoạt và nước thải chăn nuôi (ô nhiễm hữu cơ, độ đục, dinh dưỡng và vi sinh vật) để tạo màng tảo bám và bước đầu ứng dụng xử lý. Tảo bám bổ sung phát triển trên vật liệu lọc dạng hạt nhựa nhanh nhất, sau đó đến đất sét nung, xơ dừa và cuối cùng là sỏi và đá cuội, trong đó mật độ đạt đến khoảng 18×23^6 TB/cm² vào ngày thứ 9 - 12 và ổn định đến ngày thứ 21. Các chi thích hợp với điều kiện xử lý nước thải là *Cyclotella*, *Navicula*, *Nitzschia* (tảo cát), *Euglena* (tảo mắt), *Closterium*, *Pediastrum*, *Ulothrix* (tảo lục) và *Aphanothece* (tảo lam). Sử dụng màng tảo đã hình thành để xử lý nước thải cho kết quả đạt quy chuẩn sau 3 ngày đối với nước thải sinh hoạt và 05 ngày đối với nước thải chăn nuôi. Hiệu quả xử lý phần lớn các thông số hữu cơ và dinh dưỡng đều đạt trên 65% đối với tất cả các công thức thí nghiệm đặc biệt đạt trên 80% đối với N và P; trên 94% đối với coliform.

Từ khóa: Nước thải giàu N và P, tảo bám, vật liệu lọc, xử lý nước thải

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nước thải giàu Nitơ và Photpho không chỉ là một trong những vấn đề môi trường của Việt Nam hiện nay mà còn là vấn đề quan trọng nhất trong các hiện tượng ô nhiễm môi trường ở nông thôn - nơi chiếm tới trên 70% dân số cả nước (Bộ Tài nguyên và Môi trường, 2014). Chúng đến từ các nguồn nước thải sinh hoạt, chăn nuôi, làng nghề chế biến lương thực, thực phẩm và nước chảy tràn qua khu vực sản xuất nông nghiệp. Nếu như các nguồn thải khác có thể tiến hành kiểm soát trong quá trình sản xuất để giảm phát thải dinh dưỡng (ví dụ hạn chế và thay đổi phương thức sử dụng phân bón, đệm lót sinh học trong chăn nuôi), thì nước thải sinh hoạt chỉ có thể tiến hành kiểm soát cuối nguồn.

Khác với các công nghệ hóa lý, bãi lọc trồng cây gần đây được biết đến như một giải pháp công nghệ sinh thái xử lý nước thải trong điều kiện tự nhiên đạt hiệu quả cao, thân thiện với môi trường, chi phí thấp và ổn định (Nguyễn Việt Anh, 2005), có thể áp dụng

ở đất cạn và đất ngập nước. Việc ứng dụng tảo vào xử lý nước thải không quá mới mẻ nhưng có tiềm năng ứng dụng rộng rãi trên nhiều điều kiện sinh thái khác nhau (Nguyễn Văn Tuyên, 2003) bao gồm cả dạng sống lơ lửng và bám dính. Nếu dạng sống lơ lửng của tảo đem lại hiệu quả khá cao do tốc độ sinh trưởng nhanh (Nguyễn Thị Thu Hà và *ctv.*, 2016) thì việc sử dụng tảo bám sẽ đem lại lợi ích cao hơn do dễ thu hồi sinh khối trong và sau quá trình xử lý nước thải (Azim *et al.*, 2005; Wu, 2017). Tuy nhiên, sinh trưởng của tảo bám phụ thuộc chặt chẽ vào quần xã gốc ban đầu và vật chất nền (Horner *et al.*, 1990). Vì vậy để bước đầu ứng dụng tảo bám trong xử lý nước thải sinh hoạt và chăn nuôi, trong nghiên cứu này thử nghiệm khả năng sinh trưởng của tảo bám trên những vật liệu xử lý khác nhau.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Vật liệu lọc sử dụng: sỏi, đá cuội, đất sét nung,

¹ Trung tâm Phân tích và Chuyển giao công nghệ môi trường, Viện Môi trường Nông nghiệp

² Bộ môn Công nghệ Môi trường, Khoa Môi trường, Học viện Nông nghiệp Việt Nam