

## TUYỂN CHỌN CÁC CHỦNG VI SINH VẬT ĐỂ XỬ LÝ NHANH RƠM RẠ THÀNH PHẦN BÓN HỮU CƠ

Lê Thị Thanh Thủy<sup>1</sup>, Lê Như Kiều<sup>1</sup>,  
Nguyễn Việt Hiệp<sup>1</sup>, Trần Thị Lua<sup>1</sup>,  
Nguyễn Thị Thu Hằng<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Yên<sup>1</sup>, Nguyễn  
Thị Hiền<sup>1</sup>, Trần Thị Ngọc Sơn<sup>2</sup>

### SUMMARY

#### Selection of microorganisms to treat rice straw rapidly getting biofertilizer

02 bacterial strains and 02 actinomyces were selected from 08 isolates that have highest activity of cellulose decomposition. These strains will be used for production of microbial preparation. The selected strains were assess optimum conditions for growth, development. Microbial preparation was produced from mix of bacteria and actinomyces (VK2, VK3, XK3, XK5). The application of microbial preparation contained microorganisms that have high activity of cellulose decomposition not only shorten time of compost, improved the quality of mature compost as total of N, P, K level, density of aerobic microorganisms is  $7,4 \times 10^8$  CFU/g but also decrease environmental pollution (bad smell and waste water from compost were less than control).

**Keywords:** Cellulose, rice straw, composting

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam cây lúa là cây trồng chính, sản lượng lúa trung bình hàng năm khoảng 38,89 triệu tấn lúa (*Tổng cục Thống kê năm 2010*). Trung bình một tấn lúa cho ra 1,2 tấn rơm rạ khô, như vậy với sản lượng lúa hiện nay, riêng lượng rơm rạ có thể thu gom được khoảng 46,67 triệu tấn. Ở khu vực đồng bằng sông Hồng (ĐBSH), xử lý rơm rạ sau mỗi vụ thu hoạch lúa vẫn chưa có cách làm hữu hiệu. Ở nhiều tỉnh, thành như: Hà Nội, Hưng Yên, Nam Định, Nghệ An... đã xảy ra các hiện tượng đốt đồng hàng loạt ở bất kể thời gian nào, gây ô nhiễm môi trường nghiêm trọng, ảnh hưởng đến cuộc sống, sinh hoạt của các khu dân cư. Mặt khác, các loại phế phụ phẩm nông nghiệp như rơm rạ chứa một lượng dinh dưỡng khá lớn, nếu được tái sử dụng lại sẽ rất có ích cho cây trồng. Dinh dưỡng trong rơm rạ trung bình chứa khoảng 0,6% N, 0,1% P, 0,1% S, 1,5% K, 5% Si và 40% C...

(Ponnamperuma, 1984). Xử lý phụ phẩm nông nghiệp bằng phương pháp công nghệ sinh học (CNSH) đã được nghiên cứu ở Việt Nam với việc sử dụng cả nguồn vi khuẩn, xạ khuẩn và nấm sợi. Tuy nhiên công nghệ chưa ổn định, thời gian xử lý còn dài. Vì vậy, nghiên cứu này đặt ra mục tiêu tuyển chọn các chủng vi sinh vật có hoạt tính phân giải xenlulo cao để xử lý nhanh rơm rạ, rút ngắn quá trình ủ, nhằm hạn chế nguồn sâu bệnh, tạo nguồn phân bón hữu cơ từ rơm rạ, bón trả lại cho ruộng lúa, góp phần nâng cao dinh dưỡng đất, giảm thiểu ô nhiễm môi trường.

### II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 1. Vật liệu nghiên cứu

20 chủng vi sinh vật (VSV) phân giải xenlulo phân lập từ các mẫu phân bón hữu cơ (compost), các mẫu đất và rác thải xung quanh Hà Nội; hóa chất và dụng cụ cần thiết sử dụng trong nuôi cấy và đánh giá hoạt tính phân giải xenlulo của các chủng

<sup>1</sup> Viện Thổ nhưỡng Nông hóa; <sup>2</sup> Viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long

VSV; các môi trường Hans, Gauze, Czapeck sử dụng trong nuôi cấy VSV.

**2. Phương pháp nghiên cứu**

- Kiểm tra mật độ vi sinh vật theo phương pháp Koch.

- Xác định các điều kiện sinh trưởng, phát triển của VSV theo phương pháp VSV thông dụng.

- Xác định định tính hoạt tính CMC-aza (Williams, 1983).

- Xác định khả năng phân giải lignoxenuloza bằng tỷ lệ giảm trọng lượng của mẫu thí nghiệm so với mẫu đối chứng. Mẫu thí nghiệm và đối chứng sau khi xử lý được rửa sạch, loại bỏ tạp chất hòa tan và sấy khô phần còn lại chưa phân hủy được. Tỷ lệ giảm trọng lượng của mẫu thí nghiệm so với mẫu đối chứng được tính theo công thức:

$$X(\%) = \frac{m_0 - m_t}{m_0} \times 100$$

Trong đó: X: % độ giảm trọng lượng của mẫu thí nghiệm; m<sub>t</sub>: Trọng lượng khô

còn lại của mẫu thí nghiệm; m<sub>0</sub>: Trọng lượng khô còn lại của mẫu đối chứng.

- Phương pháp ủ xử lý rơm rạ: Rơm rạ sau thu hoạch được cắt ngắn khoảng 10-15 cm, xử lý qua nước vôi trong trước khi ủ; sau đó phối trộn với chế phẩm vi sinh vật 3kg/tấn cơ chất và phụ gia. Các chỉ tiêu theo dõi: Nhiệt độ, pH, biên động quần thể vi sinh vật trong đồng ủ, tỷ lệ C/N, P tổng số, K tổng số.

**III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**1. Tuyển chọn các chủng vi sinh vật có hoạt tính phân giải xenlulo mạnh**

Từ 20 chủng VSV (vi khuẩn và xạ khuẩn) có khả năng phân giải xenlulo, phân lập từ các mẫu phân bón hữu cơ (compost), các mẫu đất và rác thải xung quanh Hà Nội, đã tuyển chọn được 8 chủng VSV có hoạt tính phân giải xenlulo mạnh nhất. Kết quả được tổng hợp trong bảng 1 cho thấy hầu hết các chủng là xạ khuẩn, chỉ có 2/8 chủng là vi khuẩn.

*Bảng 1. Các chủng vi sinh vật phân lập, tuyển chọn có hoạt tính phân giải xenlulo cao*

STT	Ký hiệu chủng	Nguồn phân lập	Khả năng phân giải xenlulo (D-d, mm)	STT	Ký hiệu chủng	Nguồn phân lập	Khả năng phân giải xenlulo (D-d, mm)
1	XK1	Đất trồng rau màu	15	11	XK22	Rác thải (mẫu ủ)	16
2	XK2	Đất trồng rau màu	17	12	XK26	Rác thải (mẫu ủ)	16
3	<b>XK3</b>	Đất trồng rau màu	<u>25</u>	13	XK28	Rác thải (mẫu ủ)	15
4	<b>XK4</b>	Đất trồng rau màu	<u>22</u>	14	<b>XK48</b>	Rác thải (mẫu ủ)	<u>22</u>
5	<b>XK5</b>	Đất trồng rau màu	<u>30</u>	15	<b>XK49</b>	Rác thải (mẫu ủ)	<u>28</u>
6	XK6	Phân bón hữu cơ	15	16	XK54	Rác thải (ủ chín)	17
7	XK7	Phân bón hữu cơ	16	17	<b>VK2</b>	Rác thải (ủ chín)	<u>31</u>
8	<b>XK9</b>	Phân bón hữu cơ	<u>20</u>	18	<b>VK3</b>	Rác thải (mẫu ủ)	<u>30</u>
9	XK12	Phân bón hữu cơ	18	19	VK4	Rác thải (mẫu ủ)	16
10	XK15	Phân bón hữu cơ	18	20	VK5	Rác thải (mẫu ủ)	18

Đánh giá khả năng phân giải rơm rạ của 08 chủng vi sinh vật tuyển chọn bằng việc xác định mức độ giảm trọng lượng của mẫu rơm rạ được xử lý vi sinh vật phân giải

xenlulo, so với mẫu rơm rạ không bổ sung vi sinh vật sau thí nghiệm. Kết quả được thể hiện ở bảng 2.

*Bảng 2. Tỷ lệ giảm trọng lượng rơm trong bình ủ ở 37 °C sau 7 ngày nhiễm vi sinh vật (20/5/2009 - 27/5/2009)*

Mẫu ủ	Tỷ lệ giảm trọng lượng so với mẫu đối chứng (%)
XK3	10,2 ± 0,26
XK4	9,8 ± 0,15
XK5	10,3 ± 0,05
XK9	6,2 ± 0,30
XK48	9,3 ± 0,35
XK49	8,1 ± 0,25
VK2	10,8 ± 0,20
VK3	12,3 ± 0,32
Mẫu đối chứng	-

Kết quả bảng 2 cho thấy, bổ sung các chủng VSV đã có hiệu quả làm giảm khối lượng rơm trong bình ủ so với mẫu không bổ sung VSV. Trong số các chủng VSV bổ sung các chủng XK3, XK5, VK2, VK3 cho kết quả giảm khối lượng cao nhất. Đây là

các chủng tiềm năng để sản xuất chế phẩm vi sinh vật phân giải xenlulo.

Một số đặc điểm sinh học của các chủng vi sinh vật tuyển chọn như: Nhu cầu oxy, pH, nhiệt độ... được thể hiện trong bảng 3.

*Bảng 3. Đặc điểm sinh học của các chủng vi sinh vật tuyển chọn*

Ký hiệu chủng	Nhu cầu oxy	Gram	Điều kiện thích hợp			
			pH	Nhiệt độ (°C)	Môi trường	Nồng độ NaCl (%)
VK2	+	+	6,5 - 7,5	28 - 30	Hans	0,05 - 0,6
VK3	+	+	6,5 - 7,5	28 - 30	Hans	0,05 - 0,6
XK3	+	+	6,5 - 7,5	30 - 35	Gauze	0,05 - 0,6
XK5	+	+	6,5 - 7,5	30 - 35	Gauze	0,05 - 0,6

Gauze I: Môi trường Gauze bổ sung thêm bột CMC

Qua bảng 3 thấy rằng, các chủng xạ khuẩn và vi khuẩn lựa chọn đều có nhu cầu oxy, phát triển tốt trong điều kiện nhiệt độ từ 28 - 35°C, là vi khuẩn Gram dương, chịu pH trong khoảng từ 6,5 đến 7,5 nhưng phát triển tốt nhất ở pH = 7.

## **2. Lựa chọn bộ chủng giống vi sinh vật sản xuất chế phẩm phân giải xenlulo**

Theo nhiều nghiên cứu cho thấy, chế phẩm chứa hỗn hợp chủng VSV có hiệu quả hơn chế phẩm đơn chủng. Từ các kết quả đánh giá hoạt tính phân giải xenlulo và

mức độ giảm trọng lượng của mẫu rơm rạ sau xử lý vi sinh đã chọn ra được 2 chủng xạ khuẩn XK3, XK5 và 2 chủng vi khuẩn VK2, VK3 làm nguồn vật liệu để sản xuất chế phẩm. Tiến hành đánh giá, xác định định tính tác động tương hỗ giữa các chủng bằng phương pháp cấy vạch tiếp xúc giữa các chủng VSV trên cùng môi trường dinh dưỡng. Kết quả cho thấy các chủng VSV không kìm hãm sự phát triển của nhau. Như vậy có thể sử dụng các chủng VSV trong sản xuất chế phẩm.

Các chủng vi sinh vật tuyển chọn tiếp tục được đánh giá khả năng tồn tại và hoạt tính sinh học trong cơ chất hữu cơ (cám, ngô, trấu) ở dạng đơn lẻ và hỗn hợp, để khẳng định khả năng sử dụng hỗn hợp 4 chủng vi sinh vật tuyển chọn để sản xuất chế phẩm. 2 chủng **xạ khuẩn** XK3, XK5

và 2 chủng **vi khuẩn** VK2, VK3 được nhiễm vào chất mang cám: Ngô: Trấu tỷ lệ 2:1:1 với mật độ  $10^9 - 10^{10}$  CFU/ml. Mật độ tế bào và hoạt tính sinh học của các chủng vi sinh vật được kiểm tra sau 1 đến 4 tuần sau khi nhiễm. Kết quả thể hiện trong các bảng 4, 5.

Bảng 4. Mật độ tế bào các chủng VSV khi nhiễm vào chất mang sau các thời gian khác nhau

Thời gian theo dõi	Mật độ tế bào (CFU/g) trong chế phẩm nhiễm hỗn hợp		Mật độ tế bào (CFU/g) trong chế phẩm nhiễm đơn lẻ			
	Vi khuẩn	Xạ khuẩn	VK2	VK3	XK3	XK5
0 giờ	$2,1 \times 10^{10}$	$4,2 \times 10^{10}$	$1,5 \times 10^9$	$2,8 \times 10^9$	$1,0 \times 10^{10}$	$3,0 \times 10^{10}$
1 tuần	$2,8 \times 10^{10}$	$3,4 \times 10^{10}$	$2,0 \times 10^9$	$1,7 \times 10^9$	$3,6 \times 10^{10}$	$2,9 \times 10^{10}$
4 tuần	$1,6 \times 10^{10}$	$3,7 \times 10^{10}$	$1,1 \times 10^9$	$3,4 \times 10^9$	$2,4 \times 10^{10}$	$2,8 \times 10^{10}$

Bảng 5. Hoạt tính các chủng VSV khi nhiễm vào chất mang sau các thời gian khác nhau

Thời gian theo dõi	Kích thước vòng phân giải xenlulo: D-d (mm) của hỗn hợp chủng VSV	Kích thước vòng phân giải xenlulo: D-d (mm) của đơn chủng VSV			
		VK2	VK3	XK3	XK5
0 giờ	-	31	30	25	30
1 tuần	67	31	30	25	30
4 tuần	60	27	27	25	29

(-): Không kiểm tra

Kết quả bảng 4, 5 cho thấy, mật độ tế bào các chủng vi khuẩn và xạ khuẩn trong chất mang nhiễm hỗn hợp sau 4 tuần đạt  $10^{10}$  CFU/ml. Nhìn chung không thay đổi nhiều so với nhiễm đơn chủng. Tuy nhiên, hoạt tính phân giải xenlulo của các chủng vi khuẩn và xạ khuẩn trong chế phẩm hỗn hợp tăng mạnh gấp đôi so với hoạt tính của các chủng trong chế phẩm nhiễm đơn lẻ, cụ thể sau 4 tuần nhiễm các chủng vi sinh vật vào chất mang, đường kính vòng phân giải xenlulo đo được trong chế phẩm hỗn hợp đạt 60 cm, trong khi đó trong các chế phẩm nhiễm đơn chủng đạt 27 cm (nhiễm VK2), 27 cm (VK3), 25 cm (XK3), 29 cm (XK5).

### 3. Hiệu quả của chế phẩm vi sinh vật

Rơm khô được cân cho vào thùng nhựa (5kg/thùng), xử lý qua nước sôi trong trước khi ủ, trộn đều chế phẩm VSV phân giải xenlulo chứa hỗn hợp 4 chủng VK2, VK3, XK3, XK5 với rơm, liều lượng 3 kg/tấn rơm. Tưới nước đảm bảo độ ẩm từ 45 - 50%, sau đó đậy kín. Thời gian đảo rơm lần 1 sau 1 tuần ủ, lần 2 sau 3 tuần ủ. Trước và trong quá trình ủ 1, 2, 3, 4 tuần lấy mẫu để phân tích chỉ tiêu nhiệt độ, pH, chất hữu cơ (%), N, P, K tổng số, C/N, mật độ tế bào vi sinh vật.

*Bảng 6. Sự thay đổi nhiệt độ, pH và biến động VSV hiếu khí phân giải xenlulo trong đồng ủ sau 28 ngày xử lý chế phẩm*

Ngày	Nhiệt độ	pH	Mật độ VSV hiếu khí tổng số (cfu/g x10 <sup>8</sup> )	Mật độ vi khuẩn hiếu khí phân giải xenlulo (cfu/g x10 <sup>6</sup> )	Mật độ xạ khuẩn hiếu khí phân giải xenlulo (cfu/g x10 <sup>6</sup> )
0	31,0	7,5	20	18	16
2	44,5	7,5	21	20	25
7	39,0	8,7	54	44	59
14	35,5	8,3	96	70	82
21	32,5	8,3	79	68	70
28	30,7	7,0	74	63	76

Kết quả bảng 6 cho thấy rằng, nhiệt độ của bê ủ tăng dần lên sau khi ủ, đạt cao nhất vào ngày thứ 2 đến ngày thứ 7 (sau 2 ngày nhiệt độ đạt 44,5 °C), sau đó giảm dần, thấp nhất vào tuần thứ tư sau ủ. Biến động nhiệt độ trong quá trình ủ cũng chứng tỏ các chủng vi khuẩn và xạ khuẩn đã sử dụng cơ chất trong đồng ủ như một nguồn dinh dưỡng và quá trình phân giải các hợp chất giàu xenlulo này đã giải phóng lượng nhiệt lớn ra môi trường xung quanh, nhiệt độ tăng cao nhất trong quá trình ủ chỉ đạt 44,5°C có thể do khối lượng cơ chất ủ quá nhỏ 5 kg/thùng ủ. Nhiệt độ tăng cao trong

khoảng 45 °C - 55 °C hầu hết các vi sinh vật gây bệnh bị tiêu diệt. pH của đồng ủ cũng tăng dần theo hướng kiềm sau ủ, sau một thời gian pH lại có xu thế hơi giảm. Sau ủ 1 tuần pH đạt 8,7; sau 2- 3 tuần pH lại có xu thế hơi giảm, thấp hơn đạt 8,3 và sau 4 tuần pH đo được là 7,0. Thời gian ủ có mật độ VSV hiếu khí nhiều nhất là sau 14 ngày (đạt 96 x 10<sup>8</sup> cfu/g). Trong đồng ủ, mật độ vi khuẩn và xạ khuẩn tăng lên rõ rệt sau ủ, điều này chứng tỏ rằng các yếu tố dinh dưỡng và điều kiện trong đồng ủ rất phù hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của các chủng vi khuẩn và xạ khuẩn.

*Bảng 7. Một số chỉ tiêu hóa học cơ chất rơm rạ sau 4 tuần xử lý ủ chế phẩm vi sinh*

TT	Công thức	Chỉ tiêu hóa học				
		Σ C %	Σ N %	Σ P %	Σ K %	C/N
1	Đối chứng	33,38	1,08	0,36	1,61	30,91
2	Thí nghiệm	25,40	1,33	0,46	1,18	<u>19,10</u>
3	CV %	1,90	7,00	7,20	7,70	7,40
4	LSD 0.05	1,18	0,18	0,76	0,30	3,84

Qua kết quả bảng 7 cho thấy hàm lượng N, P tổng số trong mẫu ủ có bổ sung chế phẩm VSV cao hơn so với mẫu ủ nhờ VSV tự nhiên (đối chứng), hàm lượng C, K tổng số lại thấp hơn so với mẫu đối chứng. Sau 4 tuần

ủ các công thức bổ sung chế phẩm vi sinh, tỷ lệ C/N đạt 19,10 (theo nhiều tài liệu tỷ lệ C/N như vậy đảm bảo phân ủ chín [4,5]), trong khi công thức đối chứng tỷ lệ C/N vẫn cao, phân ủ chưa chín, cần tiếp tục ủ.

*Bảng 8. Một số chỉ tiêu so sánh giữa việc ủ nhờ VSV tự nhiên và ủ nhờ bổ sung VSV*

Chỉ tiêu	Đồng ủ	
	VSV tự nhiên	Bổ sung chế phẩm
Thời gian ủ trung bình	60 ngày	28 ngày
Mùi - nước rác chảy ra	hơi lâu, nhiều	ít hơn nhiều
Tỷ lệ giảm chiều cao đồng ủ (%)	20	50
Độ mềm rơm ủ	Sợi khô, cứng hơn	Sợi mềm, mủn nhanh hơn

Như vậy, ngoài các điều kiện nhiệt độ, độ ẩm, độ thông khí thích hợp thì việc bổ sung thêm một bộ giống VSV hỗn hợp vào bề ử là vô cùng hữu ích. Điều này đã rút ngắn thời gian ử, nâng cao chất lượng phân thành phẩm, giảm ô nhiễm môi trường.

#### IV. KẾT LUẬN

- Từ 8 chủng VSV có hoạt tính phân giải xenlulo mạnh nhất đã chọn ra được 2 chủng vi khuẩn VK2, VK3 và 2 chủng xạ khuẩn XK3, XK5 làm nguồn vật liệu để sản xuất chế phẩm.

- Chế phẩm vi sinh vật đã được sản xuất từ hỗn hợp chủng vi khuẩn và xạ khuẩn (XK3, XK5, VK2, VK3).

- Bổ sung chế phẩm vi sinh vào đồng ử xử lý rơm rạ không những rút ngắn được thời gian ử so với ử tự nhiên không bổ sung vi sinh vật, nâng cao chất lượng phân thành phẩm như hàm lượng N,P,K tổng số, mật độ VSV tổng số, xạ khuẩn phân giải xenlulo cao hơn mẫu đối chứng mà còn giảm thiểu được ô nhiễm môi trường (mùi và nước rỉ rác ít hơn).

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Lâm Dũng, Phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học, tập 1-2, NXB Khoa học và Kỹ thuật, 1978.
2. Lê Văn Nhung, 2001. Công nghệ xử lý một số phế thải nông phẩm chủ yếu.
3. Lê Thị Thanh Thủy, Phạm Văn Toàn, 2001. Bước đầu nghiên cứu khả năng sử dụng vi sinh vật phân giải xenlulo trong chuyển hóa nhanh rơm rạ làm phân bón.
4. Berghem, L. E.R., Peterson L.G. (1973), A mechanism of enzymatic cellulose degradation, Eur. J. Bioch.
5. Hang, RT. 1980. Composting engineering principles and practice. Ann. Arbor. Sci. Michigan.
6. Ponnamperruma F.N, 1984. Straw as a source of nutrients for wetland rice. In Organic matter and Rice. IRRI. Los Banos, Philippines, pp.117-137

Người phản biện:  
TS. Nguyễn Văn Viết

## NGHIÊN CỨU CHẾ BIẾN PHÂN HỮU CƠ VI SINH TỪ VỎ CÀ PHÊ

Trình Công Tư<sup>1</sup>

### SUMMARY

#### To process microorganism compost from coffee husk

The data of analysis indicated that coffee husk contained 27.3 - 28.8% OC, 1.94 - 2.02% N, 0.18 - 0.21% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, more 3% K<sub>2</sub>O and some micro elements. The processed experiment of coffee husk was implemented at Dak Lak province in 2008, consisted of treatments of coffee husk; coffee husk with compost 1 (*Trichoderma sp*, *Streptomyces owasiensis*); and coffee husk with compost 2 (*Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces thermocoprophilus*). The results showed that composting coffee husk with microorganism groups reduced in acidity, OC content and C/N ratio of materials, in comparison with control (pH<sub>H<sub>2</sub>O</sub> form 4.8 up to 5.2 - 5.6; OC from 28.4% down to 21.3% - 22.8%; C/N ratio from 15.3 down to 11.0 - 11.3).

Keywords: Microorganism compost, coffee husk, Dak Lak.

<sup>1</sup> Trung tâm Nghiên cứu Đất, Phân bón và Môi trường Tây Nguyên.