

PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN VI SINH VẬT ĐỂ XỬ LÝ PHỤ PHẨM SAU THU HOẠCH CÂY GAI XANH (*Boehmeria nivea* (L.) Gaudich)

Đinh Hồng Duyên*, Lò Văn Sơn

Khoa Tài nguyên và Môi trường, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: dhduyen@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 03.06.2025

Ngày chấp nhận đăng: 09.09.2025

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm mục đích tuyển chọn được bộ giống vi sinh vật, tạo chế phẩm xử lý phụ phẩm sau thu hoạch cây gai xanh thành nguyên liệu sản xuất phân bón hữu cơ. Vi sinh vật được phân lập bằng cách pha loãng mẫu và nuôi trên môi trường phân lập vi sinh vật phân giải cellulose, sau đó tuyển chọn bằng cách nuôi cấy trực tiếp ở các điều kiện khác nhau. Kết quả đã xác định được 4 chủng vi sinh vật, gồm *Penicillium* sp.N5, *Streptomyces* sp.X6, *Bacillus* sp.V14, *Bacillus* sp.V24 có hoạt tính enzyme cellulase đạt 18,1-25,0mm, CMCase đạt 16,7-22,4mm, amylase đạt 11,7-18,0mm và protease đạt 18,2-20,4mm. Bốn chủng vi sinh vật tuyển chọn có khả năng sinh trưởng và hoạt tính enzyme cellulase, CMCase, amylase, protease ổn định ở pH 4-8, nhiệt độ 20-60°C và có khả năng kháng streptomycin ở nồng độ 300-1.000 mg/l. Phụ phẩm sau thu hoạch cây gai xanh được thử nghiệm xử lý bằng phương pháp ủ đông, sử dụng tổ hợp các vi sinh vật tuyển chọn, nhiệt độ khối ủ đạt cực đại 52°C sau 5 ngày ủ và sau 35 ngày, nguyên liệu sau ủ có hàm lượng nitơ tổng số đạt 0,21-0,35% và tỷ lệ C/N đạt 74,6-130,7. Nguyên liệu sau 35 ngày ủ có thể sử dụng làm nguyên liệu sản xuất phân bón.

Từ khóa: Vi sinh vật phân giải cellulose, hoạt tính sinh học, cây gai xanh, xử lý phụ phẩm sau thu hoạch.

Isolation and Selection of Microorganism for Treatment of Post-harvest by-Products of Green Ramie (*Boehmeria nivea* (L.) Gaudich)

ABSTRACT

This study aimed to select a microbial consortium for developing a bio-product for treatment of post-harvest by-products of green ramie (*Boehmeria nivea* (L.) Gaudich) into raw materials for organic fertilizer production. Microorganisms were isolated by serial dilution and cultured on selective media for cellulose-degrading strains, followed by screening under different cultivation conditions. Four selected strains, *Penicillium* sp.N5, *Streptomyces* sp.X6, *Bacillus* sp.V14, and *Bacillus* sp.V24, exhibited cellulase activity of 18.1-25.0mm, CMCase activity of 16.7-22.4mm, amylase activity of 11.7-18.0mm, and protease activity of 18.2-20.4mm. These strains maintained growth and enzyme activities (cellulase, CMCase, amylase, protease) at pH 4-8 and temperatures of 20-60°C, and demonstrated streptomycin resistance at 300-1,000 mg/l. Composting trials using the selected microbial consortium achieved a maximum temperature of 52°C after 5 days, with total nitrogen content of the composted material reaching 0.21-0.35% and C/N ratio 74.6-130.7, after 35 days. The final product met the criteria for use as raw material in organic fertilizer production.

Keywords: Cellulose degrading microorganisms, bioactivity, green ramie, post-harvest by-products treatment.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây gai xanh (*Boehmeria nivea* (L.) Gaudich) là cây bản địa của Việt Nam, có giá trị kinh tế cao, được trồng để lấy sợi, lấy lá (Bảo Hân & Mai Luận, 2022) và làm thuốc chữa bệnh (Đỗ Tất Lợi, 2001). Sợi vỏ gai xanh là loại đặc

chủng, trắng dài, óng mượt, độ bền cao, thấm nước và dễ nhuộm màu nên được đánh giá cao trong ngành dệt may (Banerjee & cs., 2015). Từ năm 2003, diện tích trồng cây gai xanh ở Việt Nam tăng nhanh, đến 2022 diện tích khoảng 1.600-2.000ha, với nhiều giống mới như AP1 được nhân rộng ở nhiều vùng. Cây gai có tốc độ

sinh trưởng nhanh, cho năng suất cao, hiện chủ yếu được trồng để lấy sợi hoặc lá, do đó tạo ra lượng lớn phụ phẩm sau mỗi đợt thu hoạch (thân, cành, lá, lõi) (Đỗ Tuấn & Nguyễn Sâm, 2022). Các bộ phận khác nhau của cây có thành phần hoá học khác nhau (Angelini & Tavarini, 2013), trong đó thân cây chứa 68,6-76,2% cellulose; 13,1-14,6% hemicellulose; 0,6-0,7% lignin; 1,9-2,1% pectin (Batra, 2007). Ước tính, sau khi lấy sợi, lượng vật chất khô còn lại khoảng 24 tấn/ha/năm, hàm lượng protein thô 17% (Kipriotis & cs., 2015), như vậy phụ phẩm sau thu hoạch cây gai xanh (PPcg) có hàm lượng chất xơ cao và khó phân huỷ. Trước đây, nguồn phụ phẩm này được sử dụng làm thức ăn cho gia súc, ủ hoai theo phương pháp truyền thống. Tuy nhiên hiện nay, tại những vùng trồng lớn, nguồn phụ phẩm này chủ yếu được xử lý theo phương pháp đốt. Việc đốt PPcg nói riêng, cũng như việc đốt phụ phẩm nông nghiệp sau thu hoạch làm phát sinh các khí nhà kính, gây ô nhiễm môi trường, ảnh hưởng trực tiếp tới sức khoẻ người dân và đặc biệt là làm mất đi nguồn chất dinh dưỡng của đất (Bộ Tài nguyên và Môi trường, 2022).

Vì vậy, xử lý PPcg thành phân bón hữu cơ là việc làm cần thiết vừa xử lý nguồn thải, bảo vệ môi trường, vừa trả lại nguồn dinh dưỡng cho đất. Hiện nay có nhiều chế phẩm vi sinh vật (VSV) thương mại xử lý phụ phẩm thành phân bón hữu cơ, tuy nhiên nhiều tác giả vẫn tiến hành tuyển chọn VSV và sản xuất chế phẩm để xử lý phụ phẩm vì nhận thấy việc tìm ra chế phẩm VSV phân huỷ tốt nhất, hiệu quả nhất cho từng nguồn thải là việc làm cần thiết (Nguyễn Xuân Thành & cs., 2011; Nguyễn Thị Thu Thủy & cs., 2017; Kshitipati & cs., 2023). Nghiên cứu này nhằm mục đích tuyển chọn bộ giống VSV bản địa có hoạt tính sinh học cao để sản xuất chế phẩm xử lý PPcg, làm cơ sở cho nghiên cứu để xuất giải pháp xử lý PPcg làm phân bón, phục vụ sản xuất nông nghiệp tuần hoàn.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu và địa điểm

Vật liệu nghiên cứu gồm 10 mẫu thân lá cây gai hoai mục, 10 mẫu đất trồng gai tại khu

vực trồng cây gai xanh của Công ty An Phước, huyện Cẩm Thủy, tỉnh Thanh Hóa và PPcg giống AP1 của Công ty An Phước.

Chế phẩm VSV đề tài được tạo ra bằng cách trộn sinh khối các chủng VSV tuyển chọn theo tỷ lệ 1:1:1:1 với chất mang gồm 50% cám gạo, 50% bột đậu tương đã khử trùng. Chế phẩm có mật độ VSV hữu ích đạt $1,4-5,5 \times 10^8$ CFU/g và mật độ VSV tạp là $4,2 \times 10^3$ CFU/g.

Nghiên cứu được thực hiện tại Bộ môn Vi sinh vật, Khoa Tài nguyên và Môi trường, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập VSV phân giải cellulose

Pha loãng thập phân mẫu phân lập, lấy 0,05ml dịch pha loãng ở nồng độ 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} nhỏ lên môi trường Asparagine, Gauze và môi trường Hans theo TCVN6168:2002, chang đều và nuôi ở nhiệt độ 28°C . Sau 2-5 ngày, chọn lọc khuẩn lạc có vòng trong suốt bao quanh, làm thuần và giữ giống trên môi trường chuyên tính (môi trường Martin cho nấm, môi trường Gauze1 cho xạ khuẩn, môi trường LB cho vi khuẩn).

2.2.2. Tuyển chọn VSV

Khả năng phân giải CMC, cellulose, tinh bột, protein được đánh giá theo phương pháp khuếch tán trên môi trường thạch đĩa (William, 1983), trong đó hoạt tính phân giải được tính theo công thức: $D - d$ (mm), D: đường kính vòng phân giải, d: đường kính lỗ đục.

Ảnh hưởng của pH, nhiệt độ đến sinh trưởng và hoạt tính enzyme ngoại bào của các chủng VSV được đánh giá bằng cách nuôi cấy trong môi trường có pH 4, 5, 6, 7, 8 trên máy lắc, tốc độ 150 vòng/phút hoặc ở nhiệt độ 20, 30, 40, 50, 60°C , xác định pH môi trường, sinh khối VSV và hoạt tính enzyme sau 5 ngày nuôi và tuyển chọn chủng VSV có hoạt tính enzyme ổn định ở các điều kiện pH và nhiệt độ khác nhau.

Khả năng kháng kháng sinh của các chủng VSV được đánh giá bằng cách cấy trong môi trường bổ sung streptomycin với nồng độ 300, 500, 800, 1.000 mg/l, nuôi trên máy lắc tốc độ 150 vòng/phút. Xác định pH sau nuôi cấy, sinh

khối và hoạt tính enzyme sau 5 ngày nuôi và tuyển chọn chủng VSV có khả năng kháng kháng sinh cao.

Đánh giá tính đối kháng giữa các chủng VSV tuyển chọn theo TCVN 9300:2014.

2.2.3. Định danh VSV

Các chủng VSV được nuôi trên môi trường chuyên tính, sau 16, 24, 48, 72 giờ, nếu khuẩn lạc xuất hiện thì xác định thời gian mọc. Sau 120 giờ, quan sát mô tả hình thái, đo kích thước khuẩn lạc. Tiến hành nhuộm Gram với vi khuẩn, xạ khuẩn; làm tiêu bản soi tươi với xạ khuẩn, nấm (Nguyễn Xuân Thành & cs., 2011). Quan sát tiêu bản dưới kính hiển vi ở vật kính 40x, 100x và định danh VSV dựa vào khóa phân loại của Bergey (Noel & cs., 1989; Michael & cs., 2012) và Raper & Thom (1949).

2.2.4. Xử lý phụ phẩm sau thu hoạch cây gai xanh

Thử nghiệm xử lý PPcg được thực hiện với 6 công thức (đồng ủ) khối lượng 100 kg/công thức, gồm: CT1 (Đôi chứng); CT2 (Chế phẩm VSV đề tài); CT3 (Chế phẩm VSV thương mại); CT4 (Phụ gia); CT5 (Phụ gia + Chế phẩm VSV đề tài); CT6 (Phụ gia + Chế phẩm VSV thương mại).

Phụ gia sử dụng gồm 1,3kg ure + 1,25kg surper lân + 0,65kg phân KCl, 1kg vôi bột, 1,5kg phân trâu bò (Nguyễn Xuân Thành & cs., 2004). Chế phẩm VSV được bổ sung là 0,1% khối lượng nguyên liệu ủ, trong đó chế phẩm VSV thương mại chứa *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Sacharomyces*, *Streptomyces* và nhiều VSV khác. Nguyên liệu ủ được bổ sung nước bảo đảm độ ẩm 50-60% và dùng bạt che kín.

Nhiệt độ đồng ủ được đo hàng ngày bằng nhiệt kế, xác định độ hoai (TCVN 7185:2002). Sau 35 ngày ủ, lấy mẫu và phân tích các chỉ tiêu: pH-TCVN5979:2007; OC (%) - TCVN9294:2012; K₂O (%) - TCVN8562:2010; P₂O₅ (%) - TCVN8563:2010; N (%) - TCVN8557:2010.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý trung bình bằng phần mềm Excel 2010, chỉ lấy giá trị trung bình để trình bày kết quả.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập, tuyển chọn VSV có khả năng phân giải cellulose

3.1.1. Phân lập VSV có khả năng phân giải cellulose

Định hướng phân lập, tuyển chọn VSV có khả năng phân giải cellulose từ nguồn thải để sản xuất chế phẩm xử lý chính nguồn thải đó và tạo ra các loại phân bón hữu cơ đã được rất nhiều nhà khoa học công bố như Nguyễn Thị Thu Thủy & cs. (2017), Kshitipati & cs. (2023). Trong nghiên cứu này, từ 20 mẫu đất và thân lá gai hoai mục đã phân lập được 48 chủng VSV phân giải cellulose: 10 chủng nấm mốc (kí hiệu từ N1 đến N10), 14 chủng xạ khuẩn (X1 đến X14), 24 chủng vi khuẩn (V1 đến V24). Đa phần các chủng VSV có thời gian mọc nhanh, mọc trước 16 giờ, chỉ có N3, N7, X9 mọc sau 24 giờ và N8, X6 mọc sau 36 giờ.

3.1.2. Đánh giá hoạt tính enzyme ngoại bào của các chủng VSV

Dựa trên kết quả đánh giá hoạt tính enzyme ngoại của 48 chủng VSV phân lập, đã chọn ra 14 chủng gồm 4 chủng nấm (N3, N5, N8, N10), 6 chủng xạ khuẩn (X4, X6, X9, X10, X12, X14), 4 chủng vi khuẩn (V5, V7, V14, V24) có đủ cả 4 nhóm hoạt tính enzyme ngoại bào cellulase, CMCase, amylase, protease (Bảng 1). Kết quả này tương tự nghiên cứu của Nguyễn Thị Thúy Nga (2010) đã tuyển chọn được 4 chủng VSV có kích thước vòng phân giải cellulose 18,5-25mm (DT1, DT2, XN1, PV1) để sản xuất phân vi sinh dùng trong lâm nghiệp. Kshitipati & cs. (2023) dựa trên khả năng phân huỷ cellulose cũng đã tuyển chọn được 5 chủng vi khuẩn bản địa nhằm ứng dụng trong quá trình ủ rác thải hữu cơ. Như vậy, 14 chủng VSV lựa chọn có vòng phân giải cellulose từ 17,6-25mm, cho thấy tiềm năng ứng dụng trong xử lý chất thải hữu cơ và sản xuất phân bón hữu cơ.

3.1.3. Ảnh hưởng của pH đến sinh trưởng và hoạt tính enzyme ngoại bào của VSV

pH của đồng ủ thường dao động từ 5-8,5 (Roger, 1993), do đó các nghiên cứu đều lựa chọn

các chủng VSV có thể sinh trưởng được ở ngưỡng pH rộng từ 4-8 để làm giống sản xuất chế phẩm VSV (Nguyễn Thị Thu Thủy & cs., 2017; Đinh Hồng Duyên & cs., 2017). Bảng 2 cho thấy: 2 chủng nấm (N5, N8) và 4 chủng vi khuẩn (V5, V7, V14, V24) có sinh khối và hoạt tính enzyme ngoại bào ổn định; 2 chủng xạ khuẩn (X9, X12) không ổn định khi pH môi trường thay đổi. Vì vậy, chọn 10 chủng VSV để tiếp tục tuyển chọn gồm 2 nấm (N5, N8), 4 xạ khuẩn (X4, X6, X10, X14), 4 vi khuẩn (V5, V7, V14, V24).

3.1.4. Xác định khả năng kháng kháng sinh của VSV

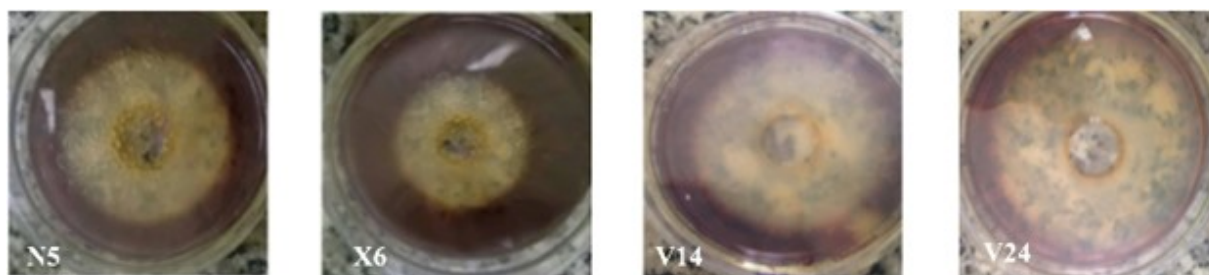
Theo Nguyễn Xuân Thành & cs. (2011) những chủng VSV có khả năng sinh trưởng ở môi

trường có hàm lượng kháng sinh cao là những chủng có khả năng thích nghi cao với sự thay đổi của môi trường, có sức sống cao, cạnh tranh tốt. Đặng Thị Thu & Lê Văn Hoàng (2004) khẳng định xạ khuẩn thường có khả năng sinh kháng sinh, nên khả năng kháng kháng sinh của xạ khuẩn tốt hơn nấm và vi khuẩn.

Bảng 3 cho thấy khi nồng độ kháng sinh tăng dần thì sinh khối và hoạt tính enzyme ngoại bào của chủng N8, X14, V5, V7 giảm rõ rệt, sinh khối và hoạt tính enzyme của 6 chủng VSV gồm 1 chủng nấm (N5), 3 chủng xạ khuẩn (X4, X6, X10), 2 chủng vi khuẩn (V14, V24) vẫn ổn định, do vậy giữ lại 6 chủng này để tiếp tục tuyển chọn.

Bảng 1. Hoạt tính enzyme ngoại bào của 14 chủng VSV tuyển chọn

Chủng VSV	Hoạt tính enzyme (D – d, mm)			
	Cellulase	CMCase	Amylase	Protease
N3	18,3	16,4	9,8	17,8
N5	19,7	17,4	11,7	18,2
N8	20,1	18,5	12,5	17,6
N10	17,9	15,4	13,1	19,4
X4	17,6	15,8	12,6	15,6
X6	18,1	16,7	15,4	18,2
X9	20,5	18,6	17,3	17,3
X10	18,7	15,4	14,6	12,1
X12	19,3	18,2	16,2	16,4
X14	19,6	18,4	17,4	17,8
V5	23,0	20,1	17,0	20,1
V7	21,0	19,6	17,8	18,6
V14	24,0	22,4	16,7	21,0
V24	25,0	21,0	18,0	20,4



Hình 1. Vòng phân giải cellulose của chủng N5, X6, V14, V24

Bảng 2. Ảnh hưởng của pH đến sinh khối và hoạt tính enzyme ngoại bào của VSV

Mức pHtn	Chỉ tiêu	Chủng VSV													
		N3	N5	N8	N10	X4	X6	X9	X10	X12	X14	V5	V7	V14	V24
pH4	pHsn	4,91	4,72	4,67	4,59	4,19	4,37	4,3	4,23	4,83	4,63	8,63	6,85	7,06	8,51
	SK	8,49	7,66	8,51	8,75	1,64	2,21	2,1	2,59	2,37	2,49	1,8	1,29	1,36	1,43
	C	17,8	20,4	19,1	18,9	19,2	20,7	17,2	17,8	18,2	20,7	18,5	17,4	18,0	19,2
	A	13,6	17,5	16,5	16,8	17,7	17,6	16,1	16,8	17,7	16,6	16,2	17,0	15,0	14,3
	P	14,7	21,6	18,9	17,6	15,4	15,8	15,4	15,9	16,4	16,9	17,3	18,0	21,0	17,8
pH5	pHsn	5,1	5,25	5,18	5,45	6,19	6,26	5,96	5,24	6,12	6,12	7,12	6,98	8,53	8,54
	SK	9,1	10,3	9,3	10,7	1,76	2,5	2,52	2,31	3,11	3,11	2,54	2,43	2,26	2,21
	C	18,9	21,0	19,6	17,9	20,1	21,3	18,2	17,9	16,1	19,5	22,3	20,6	20,1	23,5
	A	14,7	18,5	15,5	6,2	18,7	19,5	17,2	15,4	15,6	17,5	17,5	14,0	17,5	16,0
	P	16,0	21,8	18,8	15,6	17,6	18,4	16,7	14,3	16,8	15,4	19,6	20,0	20,5	22,5
pH6	pHsn	5,93	5,30	5,56	5,43	6,83	7,06	6,78	6,51	6,43	6,68	7,19	7,09	8,62	7,72
	SK	8,94	7,94	8,96	7,9	1,85	3,55	2,64	2,33	2,26	3,36	2,74	2,31	2,47	2,95
	C	16,1	18,9	21,3	16,5	21,2	25,0	16,2	17,2	15,7	27,2	27,0	22,5	21,7	25,9
	A	13,3	15,6	14,5	15,3	18,1	17,6	14,5	15,4	13,4	19,5	19,2	20,5	17,0	22,8
	P	16,6	19,5	16,9	12,8	18,9	16,2	14,4	13,1	14,5	18,4	24,4	21,0	23,2	19,8
pH7	pHsn	5,35	5,41	5,39	5,42	6,72	6,65	6,38	6,24	6,78	6,76	7,59	7,84	7,86	8,55
	SK	8,91	7,95	8,59	8,4	2,19	3,91	3,14	3,65	2,95	3,49	2,97	3,32	3,13	2,16
	C	15,7	21,8	20,7	15,6	18,2	23,7	14,7	18,5	16,3	24,2	30,1	26,3	22,6	27,8
	A	12,5	17,3	13,9	14,8	19,5	19,5	12,5	15,7	15,7	23,5	20,5	20,3	21,5	20,3
	P	18,1	20,7	18,9	19,4	17,6	16,9	9,4	13,2	15,8	21,4	17,2	19,9	19,7	26,7
pH8	pHsn	5,75	5,35	5,44	5,56	7,69	7,61	6,23	7,83	7,25	7,63	7,33	7,21	8,56	8,21
	SK	7,6	7,8	7,60	6,5	2,42	3,04	3,14	2,63	2,56	3,27	2,28	2,35	2,78	2,65
	C	14,5	21,3	21,9	13,7	17,9	23,2	12,7	19,3	15,1	22,3	25,6	23,4	22,5	26,7
	A	11,6	15,8	13,5	14,6	15,5	18,5	9,5	17,5	14,7	19,15	22,0	21,5	22,4	20,0
	P	16,4	27,9	20,3	13,6	14,8	20,4	8,7	18,4	13,7	18,4	27,4	17,0	20,0	30,0

Ghi chú: pHtn: pH trước nuôi; pHsn: pH sau nuôi; SK (g/L): sinh khối; Hoạt tính enzyme D-d, mm, gồm C: cellulase; A: amylase; P: protease.

3.1.5. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sinh trưởng và hoạt tính enzyme ngoại bào của VSV

Nhiệt độ quá thấp hay quá cao đều làm chậm quá trình tổng hợp enzyme hoặc làm biến tính enzyme, ảnh hưởng tới phát triển và hoạt động của VSV (Mujahid & cs., 2015). Nhiệt độ trong quá trình ủ thường sẽ tăng đến 60-70°C (Eliot, 1997), do đó cần tuyển chọn các chủng VSV có thể sinh trưởng ở các mức nhiệt độ khác nhau. Bảng 4 cho thấy: 20-40°C là khoảng nhiệt độ thích hợp cho các chủng VSV; trong đó các

chủng N5, X6 và V14, V24 vẫn giữ được hoạt tính enzyme ổn định khi nhiệt độ thay đổi, do vậy giữ lại những chủng này để đánh giá tính đối kháng giữa các chủng.

3.1.6. Khả năng đối kháng giữa các chủng VSV tuyển chọn

Hiện tượng VSV đối kháng nhau khá phổ biến trong tự nhiên, đặc biệt là ở các chủng xạ khuẩn do khả năng sinh kháng sinh, khi đó chủng đối kháng sẽ ức chế hoặc tiêu diệt sự sinh trưởng của chủng bị đối kháng. Nguyễn Thị Thuý Nga (2010), Đinh Hồng Duyên & cs.

(2017) khi tuyển chọn VSV để sản xuất chế phẩm cũng đều kiểm tra tính đối kháng giữa các chủng VSV và đã loại đi các chủng ức chế sinh trưởng các chủng khác. Kết quả nghiên cứu tính đối kháng giữa 4 chủng tuyển chọn cho thấy không có chủng nào đối kháng nhau, do đó có thể phối trộn các chủng này khi sản xuất chế phẩm nhằm tăng cường hiệu quả xử lý (Hình 2).

3.1.7. Sơ bộ định danh VSV

Trên môi trường Martin, nấm N5 lúc đầu có khuẩn lạc màu trắng, bề mặt trơn, nhẵn; sau 5 ngày, khuẩn lạc đạt kích thước 0,5-1cm và có màu xanh lục, có sợi ngắn. Cơ quan sinh sản hình bàn tay, bào tử trần, hình cầu. So sánh với khoá phân loại của Raper & Thom (1949), sơ bộ nhận dạng N5 thuộc chi *Penicillium*, đặt tên là *Penicillium* sp.N5.

Trên môi trường Gauze1, khuẩn lạc của chủng xạ khuẩn X6 có màu trắng, dạng da, có bề mặt lồi, có vòng đồng tâm, kích thước khuẩn

lạc đạt 1-3mm sau 5 ngày nuôi. Khuẩn ty dài, không đứt đoạn, từ sợi chính phân ra làm nhiều sợi nhánh đan xen vào nhau, sợi mang bào tử thẳng hơi cong (RF) và bắt màu tím khi nhuộm Gram. So sánh với khoá phân loại của Michael & cs. (2015), sơ bộ nhận dạng X6 thuộc chi *Streptomyces*, đặt tên là *Streptomyces* sp.X6.

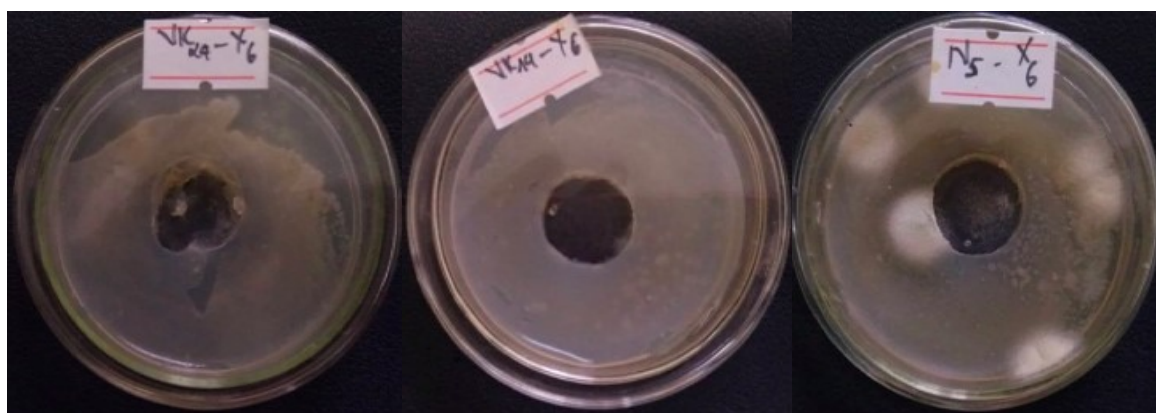
Trên môi trường LB, vi khuẩn V14 có khuẩn lạc màu trắng, hơi nhầy, lồi, tròn, bóng, kích thước khuẩn lạc đạt 1,5-2,0mm sau 5 ngày nuôi; tế bào dạng que ngắn, hai đầu tròn, bắt màu tím khi nhuộm gram, tồn tại đơn lẻ hoặc thành đám. Trên môi trường LB, vi khuẩn V24 có khuẩn lạc màu trắng, hơi khô, lồi, tròn, bóng, kích thước khuẩn lạc đạt 1,0-2,0mm sau 5 ngày nuôi; tế bào dạng que ngắn, hai đầu tròn, bắt màu tím khi nhuộm gram, tồn tại đơn lẻ hoặc thành đám. So sánh với khoá phân loại của Noel & cs. (1989), sơ bộ nhận dạng V14 và V24 thuộc chi *Bacillus*, đặt tên là *Bacillus* sp.V14 và *Bacillus* sp.V24.

Bảng 3. Ảnh hưởng của kháng sinh đến sinh khối và hoạt tính enzyme ngoại bào của VSV

Mức kháng sinh (mg/l)	Chỉ tiêu	Chủng VSV									
		N5	N8	X4	X6	X10	X14	V5	V7	V14	V24
300	pHsn	4,23	4,14	6,68	6,54	7,26	6,65	8,6	7,28	7,21	6,94
	SK	6,51	5,24	1,79	1,74	1,60	2,77	1,97	1,88	1,78	1,92
	C	19,6	20,1	18,7	14,6	17,5	18,7	14,3	15,4	17,2	11,4
	A	17,8	18,4	17,0	18,3	16,5	15,3	10,8	16,2	14,7	13,4
	P	15,3	16,9	15,4	13,3	15,7	11,5	11,7	13,5	15,1	14,3
500	pHsn	4,39	4,43	6,45	5,67	6,84	6,68	7,04	7,35	7,11	6,51
	SK	5,60	4,72	1,68	1,52	1,81	1,92	1,67	1,51	1,66	1,84
	C	22,2	19,9	18,9	11,4	16,4	15,9	12,1	13,0	15,4	16,2
	A	15,7	17,6	16,7	17,6	15,4	12,4	6,5	15,1	12,1	8,7
	P	14,2	15,4	13,1	11,2	13,6	8,3	9,8	10,2	14,2	12,1
800	pHsn	4,21	4,64	5,64	4,78	6,55	6,63	6,23	7,25	6,72	6,32
	SK	4,55	3,98	1,46	1,37	1,74	1,07	1,54	1,57	1,51	1,85
	C	21,4	17,4	16,9	15,8	16,6	13,1	10,62	10,6	12,1	15,7
	A	15,4	14,5	15,8	15,9	13,4	10,4	5,4	15,3	12,7	6,7
	P	12,1	11,7	12,9	9,6	12,1	5,8	7,5	9,8	13,1	13,7
1.000	pHsn	4,58	4,29	4,34	3,21	5,24	6,62	5,54	6,57	6,54	6,11
	SK	4,31	3,61	1,28	1,17	1,58	0,61	1,34	1,43	1,43	1,82
	C	16,8	15,1	17,0	12,7	14,4	12,4	9,69	8,97	13,6	11,2
	A	12,4	11,7	12,1	14,9	11,4	9,3	4,7	14,7	11,3	5,63
	P	10,5	9,8	10,7	8,7	10,5	4,7	7,2	8,7	12,7	11,6

Bảng 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sinh khối và hoạt tính enzyme ngoại bào của VSV

Chỉ tiêu	Nhiệt độ (°C)	Chủng VSV					
		N5	X4	X6	X10	V14	V24
pH	20	5,41	8,75	7,91	8,85	7,64	7,26
	30	5,40	8,60	8,85	8,62	7,56	7,25
	40	5,35	8,20	8,57	8,99	7,21	7,03
	50	5,36	7,77	8,34	8,24	6,83	6,77
	60	5,22	7,81	8,09	8,38	5,94	6,06
SK	20	2,96	3,08	3,12	3,5	1,93	1,1
	30	4,77	3,38	3,33	3,69	3,82	1,58
	40	3,37	3,16	3,07	2,86	2,3	1,6
	50	1,13	2,75	2,32	2,24	1,23	0,96
	60	1,93	1,62	1,71	1,19	1,39	0,93
C	20	25,0	28,43	20,56	31,6	22,3	19,89
	30	29,9	31,90	24,35	32,8	23,9	21,85
	40	27,7	27,72	29,51	28,74	17,9	16,92
	50	28,5	24,80	27,10	24,26	15,8	14,8
	60	25,1	20,95	19,95	19,37	15,3	13,09
A	20	19,7	17,32	18,64	19,56	16,8	18,3
	30	19,4	25,2	22,24	20,2	19,1	18,42
	40	18,1	19,7	20,43	16,74	15,8	14,7
	50	13,8	13,5	15,22	14,33	15,3	14,29
	60	11,7	9,81	18,12	11,14	13,8	12,8
P	20	23,4	24,6	18,17	16,73	22,4	20,1
	30	21,6	24,1	18,56	24,2	23,3	19,39
	40	20,7	18,45	19,47	22,6	18,3	17,8
	50	15,1	13,15	15,36	17,4	16,3	14,9
	60	18,5	10,32	19,25	13,88	15,8	14,63



Ghi chú: Dịch chủng X6 được đưa vào các giếng khoan.

Hình 2. Đánh giá tính đối kháng của X6 với chủng V14, V24, N5

Theo Đặng Thị Thu & Lê Văn Hoàng (2004), Đinh Hồng Duyên & cs. (2017), Nguyễn Xuân Thành & cs. (2004; 2011) rất nhiều loài VSV thuộc chi *Bacillus*, *Streptomyces*, *Penicillium* có khả năng phân huỷ mạnh chất hữu cơ có chứa cellulose, lignin, tinh bột, protein và được sử dụng trong sản phẩm thương mại trên thị trường. Như vậy bước đầu nhận thấy 4 chủng VSV được lựa chọn rất có tiềm năng, tuy nhiên cần có những nghiên cứu tiếp theo như định danh bằng sinh học phân tử, xác định cấp độ an toàn sinh học, nghiên cứu điều kiện nhân giống, sản xuất chế phẩm và thử nghiệm trên quy mô lớn...

3.2. Kết quả xử lý phụ phẩm sau thu hoạch cây gai xanh bằng chế phẩm VSV

3.2.1. Diễn biến nhiệt độ trong quá trình ủ

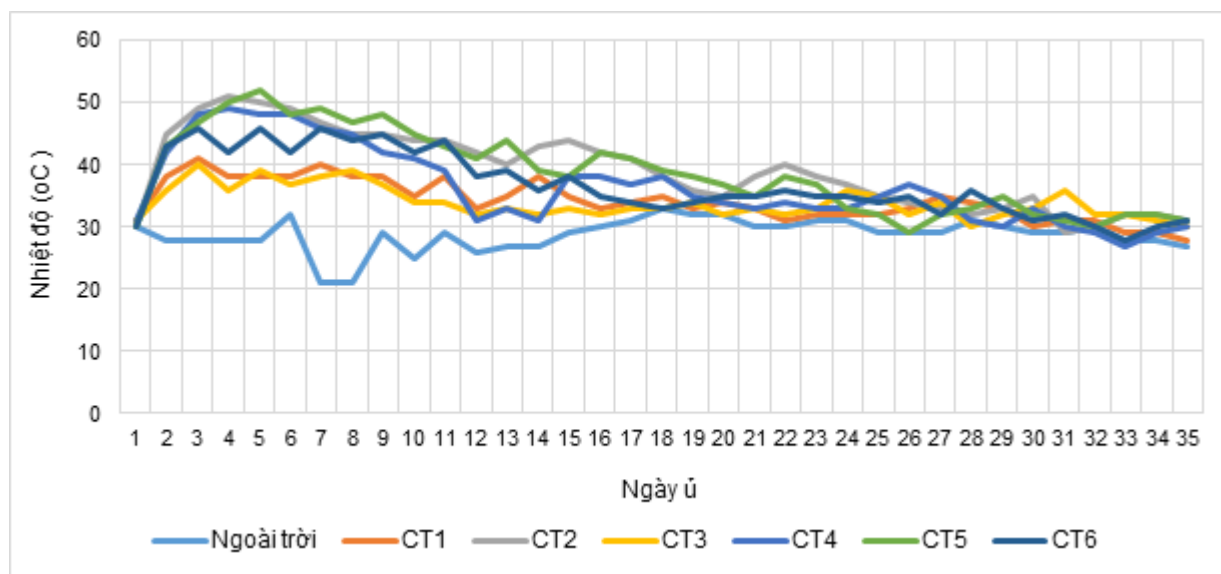
Eliot (1997) khẳng định khi thiết kế và che kín đống ủ lại, VSV sẽ tiết ra enzyme ngoại bào phân huỷ các chất hữu cơ và làm tăng nhiệt độ đống ủ. Do đống ủ nhỏ, nên nhiệt độ đống ủ đạt cao nhất là 52°C, tuy nhiên vẫn nhận thấy nguyên tắc: công thức có bổ sung chế phẩm VSV hoặc có phụ gia sẽ có nhiệt độ đống ủ cao hơn; công thức sử dụng chế phẩm sản xuất từ các chủng bản địa phân lập được (CT2, CT5) đạt nhiệt độ cực đại (51, 52°C sau 4, 5 ngày ủ) cao hơn các công thức còn lại (Hình 3). Phụ gia giúp

cân bằng tỷ lệ C/N và cung cấp dinh dưỡng để tiêu cho VSV sinh trưởng phát triển; chế phẩm VSV cung cấp thêm các chủng VSV, tiết ra enzyme ngoại bào phân huỷ các chất hữu cơ, đây là nguyên nhân giúp tăng nhiệt đống ủ.

3.2.2. Chất lượng nguyên liệu sau 35 ngày ủ

Đến ngày thứ 35 sau ủ, nhận thấy tại công thức có sử dụng chế phẩm VSV để tãi (CT2, CT5) nguyên liệu đạt độ hoai mục tốt, nguyên liệu có màu đen, dễ vỡ vụn khi tác động đến. Các đống ủ còn lại nguyên liệu chưa hoai mục, tiếp tục ủ và theo dõi, nhận thấy để đạt độ hoai mục tốt, CT3 cần thêm 20 ngày ủ, CT1 và CT4 (công thức không có chế phẩm VSV) cần thêm 30 ngày ủ.

Lấy mẫu sau ủ ở ngày 35, kết quả phân tích chất lượng bảng 5 cho thấy: Nts ở nguyên liệu sau ủ rất thấp, chỉ đạt 0,21-0,35%; tỷ lệ C/N rất cao, thấp nhất ở CT5 (74,6) và cao nhất ở CT1 (130,7). Đinh Hồng Duyên & cs. (2017), đã công bố, nguyên liệu sau 35 ngày ủ phụ phẩm sau thu hoạch quả vải với chế phẩm VSV tự tuyển chọn có Nts thấp (0,31%) và tỷ lệ C/N cao (88,58). Tuy nhiên, Đinh Hồng Duyên & Lò Văn Sơn (2024) nhận thấy khi ủ nguồn nguyên liệu giàu nitơ như phân gà với than bùn, trấu hun, mùn cưa thì chỉ cần sau 30 ngày ủ là chất lượng nguyên liệu đã đạt tiêu chuẩn phân bón.



Hình 3. Diễn biến nhiệt độ của các đống ủ



Hình 4. Nguyên liệu sau 35 ngày ủ của CT1, CT2, CT5

Bảng 5. Chất lượng nguyên liệu sau 35 ngày ủ

Công thức	Chỉ tiêu	pH	Độ hoai	OM (%)	N (%)	K ₂ O (%)	P ₂ O ₅ (%)	Tỉ lệ (C/N)
CT1		6,62	Chưa hoai	60,4	0,21	1,25	0,25	130,7
CT2		6,52	Hoai	56,5	0,30	1,41	0,37	85,6
CT3		6,65	Chưa hoai	58,2	0,25	1,30	0,30	105,8
CT4		6,67	Chưa hoai	58,4	0,23	1,28	0,28	115,4
CT5		6,43	Hoai	57,4	0,35	1,44	0,43	74,6
CT6		6,69	Hoai	58,0	0,26	1,29	0,32	101,4

Ghi chú: OM: Organic matter-Chất hữu cơ; N: Nitơ; C/N: Carbon/Nitơ.

Theo Williams & cs. (1999), tốc độ tiêu thụ carbon nhanh hơn nitơ khoảng 25-30 lần, do đó tỷ lệ C/N cho phép khi phối trộn nguyên liệu để ủ phân là 20:01-50:01 và tỷ lệ tốt nhất cho VSV phân huỷ là 25:1 đến 30:1. Vì vậy, khi ủ các nguyên liệu giàu cellulose như PPcg (Batra, 2007) cần tính toán tỷ lệ C/N để phối trộn thêm các nguồn nguyên liệu giàu nitơ như phân chuồng hoặc cần tái chế nguyên liệu sau ủ thành loại phân bón hữu cơ mong muốn đạt quy chuẩn hiện hành.

Kết quả của nghiên cứu này tương tự như nghiên cứu của Đinh Hồng Duyên & cs. (2017), Nguyễn Thị Thu Thủy & cs. (2027), Kshitipati & cs. (2023), cho thấy chế phẩm VSV được sản xuất từ các chủng VSV bản địa, phân lập được từ chính thân lá gai hoai mục, có hoạt tính sinh học cao, nên có ưu thế hơn chế phẩm thương mại.

4. KẾT LUẬN

Từ 20 mẫu đất và thân lá cây gai hoai mục, nghiên cứu đã chọn được 48 chủng trên môi

trường phân lập VSV phân giải cellulose và tuyển chọn được 4 chủng VSV là *Penicillium* sp.N5, *Streptomyces* sp.X6, *Bacillus* sp.V14 và *Bacillus* sp.V24 có hoạt tính enzyme cellulase đạt 18,1-25,0mm, CMCase đạt 16,7-22,4mm, amylase đạt 11,7-18,0mm và protease đạt 18,2-20,4mm. Sinh khối, hoạt tính enzyme ngoại bào của 4 chủng này ổn định ở các điều kiện đánh giá khi nuôi cấy: pH (4-8), nhiệt độ (20-60°C), kháng sinh (300-1.000 mg/l streptomycin).

Chế phẩm có mật độ VSV hữu ích đạt $1,4-5,5 \times 10^8$ CFU/g, được tạo ra bằng cách trộn sinh khối 4 chủng VSV tuyển chọn theo tỷ lệ 1:1:1:1 với chất mang gồm 50% cám gạo, 50% bột đậu tương đã khử trùng. Bổ sung 0,1% chế phẩm vào khối lượng PPcg để ủ đồng, nhiệt độ khối ủ đạt cực đại 52°C sau 5 ngày ủ và sau 35 ngày ủ, nguyên liệu có hàm lượng nitơ tổng số đạt 0,21-0,35% và tỷ lệ C/N đạt 74,6-130,7. Nguyên liệu sau 35 ngày ủ có thể sử dụng làm nguyên liệu sản xuất phân bón. Tuy nhiên, PPcg có hàm lượng cellulose cao nên cần tái chế nguyên liệu sau ủ này thành loại phân

bón hữu cơ mong muốn trước khi bón cho đất và cây nhằm đạt được hiệu quả cao nhất khi sử dụng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Angelini L.G. & Tavarini S. (2013). Ramie [*Boehmeria nivea* (L.) Gaud.] as a potential new fibre crop for the Mediterranean region: Growth, crop yield and fibre quality in a long-term field experiment in Central Italy. *Industrial Crops and Products*. 51: 138-144.
- Banerjee P., Ray D.P., Biswas P.K. (2015). Quality attributes off North-East Himalayan soil for cultivation of Ramie (*Boehmeria nivea* L. Gaudich.). *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology*. 8(4): 799-884.
- Batra S.K. (2007). *Handbook of fiber chemistry* (3rd ed.). Boca Raton, NY: Menachen Lewin, CRC Press Taylor & Francis.
- Bảo Hân & Mai Luận (2022). Cơ hội từ cây gai xanh. Truy cập từ <https://nhandan.vn/co-hoi-tu-cay-gai-xanh-post698710.html> ngày 10/03/2025.
- Bộ Khoa học và Công nghệ (2002). Tiêu chuẩn quốc gia TCVN6168:2002. Chế phẩm vi sinh vật phân giải xenlulo.
- Bộ Khoa học và Công nghệ (2002). Tiêu chuẩn quốc gia TCVN7185:2002. Phân hữu cơ vi sinh vật.
- Bộ Khoa học và Công nghệ (2007). Tiêu chuẩn quốc gia TCVN5979:2007. Chất lượng đất - Xác định pH.
- Bộ Khoa học và Công nghệ (2010). Tiêu chuẩn quốc gia TCVN8562:2010. Phân bón - Phương pháp xác định kali tổng số.
- Bộ Khoa học và Công nghệ (2010). Tiêu chuẩn quốc gia TCVN8557:2010. Phân bón-Phương pháp xác định nitơ tổng số.
- Bộ Khoa học và Công nghệ (2012). Tiêu chuẩn quốc gia TCVN9294:2012. Phân bón-Xác định các bon hữu cơ tổng số bằng phương pháp Walkley Black.
- Bộ Khoa học và Công nghệ (2014). TCVN9300:2014. Vi sinh vật-Phương pháp đánh giá hoạt tính đối kháng của vi sinh vật đối kháng với vi khuẩn *Ralstonia solanacearum smith* gây bệnh héo xanh trên cây trồng cạn.
- Bộ Tài nguyên và Môi trường (2022). Báo cáo hiện trạng môi trường quốc gia 2021.
- Đặng Thị Thu & Lê Văn Hoàng (2004). Nghiên cứu sử dụng vi sinh vật phân giải xenlulo, tinh bột trong xử lý phụ phẩm nông nghiệp, phụ phẩm chế biến thực phẩm. Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật.
- Đỗ Tất Lợi (2001). Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Y học.
- Đỗ Tuấn, Nguyễn Sâm (2022). Phát triển sản xuất cây gai xanh làm nguyên liệu chế biến sợi phục vụ ngành dệt may các tỉnh phía Bắc. *Bản tin Khuyến nông Việt Nam*. 01-2022:5.
- Đinh Hồng Duyên, Nguyễn Thế Bình & Vũ Thanh Hải (2017). Tuyển chọn vi khuẩn có khả năng phân huỷ phế phụ phẩm sau thu hoạch quả vải. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 53(B): 61-70.
- Đinh Hồng Duyên & Lò Văn Sơn (2024). Nghiên cứu sử dụng một số nguồn nguyên liệu hữu cơ trong xử lý phân gà thành phân hữu cơ tại huyện Chương Mỹ, thành phố Hà Nội. *Kỷ yếu hội thảo khoa học nữ cán bộ viên chức năm 2024*. NXB Học viện Nông nghiệp Việt Nam. tr. 102-109.
- Eliot E. (1997). *The science of composting*. CRC Press LLC, United States of America.
- Kipriotis E., Heping X., Vafeiadakis T., Kiprioti M. & Alexopoulou E. (2015). Ramie and kenaf as feed crops. *Industrial Crops and Products*. 68: 126-130.
- Kshitipati P., Ranjan K.P., Debadatta S., Narayan P., Sanjib K.S., Sushanta K.P., Akshaya K.S. (2023). Isolation, characterization and identification of cellulose-degrading bacteria for composting of agro-waste. *Biomass conversion and biorefinery*. 15(4): 4925-4939.
- Michael G., Peter K., Hans J.B., Martha E.T., Ken-ichiro S., Wolfgang L., William B.W. (2012). *Bergey's Manual of systematic Bacteriology*. Volume 5. The Actinobacteria.
- Mujahid T.Y., Subhan S.A., Wahab A., Masnoon J., Ahmed N., Abbas T. (2015). Effects of different physical and chemical parameters on phosphate solubilization activity of plant growth promoting bacteria isolated from indigenous soil. *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences*. 5: 64-70.
- Noel R.K., James T.S., Daniel R.B., Brian P.H., Bruce J.P., Naomi L.W., Wolfgang L., William B.W. (1989). *Bergey's Manual of systematic Bacteriology*. Volume 4: The Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae, Verrucomicrobia, Chlamydiae, and Planctomycetes.
- Nguyễn Xuân Thành, Vũ Thị Hoàn, Đinh Hồng Duyên & Nguyễn Thế Bình (2004). Xây dựng quy trình sản xuất chế phẩm vi sinh vật xử lý tàn dư thực vật trên đồng ruộng thành phân hữu cơ tại chỗ bón cho cây trồng. Báo cáo đề tài nghiên cứu khoa học cấp Bộ, B2004-32-66.
- Nguyễn Xuân Thành, Vũ Thị Xuân Hương, Phan Quốc Hưng, Đoàn Văn Điềm, Phan Trung Quý, Đinh Hồng Duyên & Nguyễn Thế Bình (2011). *Giáo trình Công nghệ sinh học xử lý môi trường*. Nhà xuất bản Lao động - Xã hội.

- Nguyễn Thị Thu Thủy, Trần Thị Xuân Phương, Cao Thị Dung, Lê Thị Hương Xuân & Trương Thị Hồng Hải (2017). Phân lập và tuyển chọn một số chủng vi sinh vật có khả năng phân giải cellulose và bước đầu ứng dụng trong xử lý phế phụ phẩm nông nghiệp làm phân hữu cơ vi sinh. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp. 1(1): 159-168.
- Nguyễn Thị Thuý Nga (2010). Phân lập, tuyển chọn vi sinh vật có khả năng phân giải xenlulo hiệu lực cao, phù hợp với điều kiện đất bạc màu và đặc điểm sinh học của chúng để sản xuất phân vi sinh cho cây lâm nghiệp. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp. 4: 101-108.
- Raper K.B., Thom C. (1949). A manual of the penicillia. Baltimore, Williams & Wilkins Co.
- Roger T.H. (1993). The Practical Handbook of Compost engineering. CRC Press LLC, United States of America.
- William S. (1983). Staining reaction for detection of hemicellulose degrading. Microbiol. Letters. 20: 253-258.
- Williams J.D., Glover T., Donald J.O. & Goff B. (1999). Compost Handbook. Alabama Cooperative Extension Service-Auburn University.