

# **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**

*Nguyễn Thị Thúy Nga*

*Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam*

## **TÓM TẮT**

Trong những năm gần đây, hiện tượng sa mạc hóa và cháy rừng ngày càng tăng rõ rệt. Một trong những nguyên nhân cháy rừng đó là do mật độ cành khô lá rụng nằm trên mặt đất dưới tán rừng lớn. Sử dụng vi sinh vật phân giải xenlulo có sẵn trong đất để sản xuất phân vi sinh có khả năng phân giải cành khô lá rụng trên mặt đất dưới tán rừng, làm giảm nguy cơ cháy rừng và tăng độ phì cho đất. Từ 30 mẫu đất thu thập từ đất trống đồi núi trọc đã phân lập được 25 chủng vi sinh vật có khả năng phân giải xenlulo, trong đó có 10 chủng vi sinh vật có khả năng phân giải xenlulo mạnh, có đường kính vòng phân giải >15mm. Có 5 chủng có khả năng phân giải xenlulo mạnh gồm chủng ĐT2, ĐV2 XN1, PV1 và ĐT1 có đường kính vòng phân giải lớn hơn 20mm. Từ các chủng có hiệu lực mạnh đã chọn được 2 chủng ĐT2 và ĐV2 có hiệu lực phân giải xenlulo rất mạnh với đường kính vòng phân giải  $\geq 25$ mm. Chủng ĐT2 phù hợp với môi trường dinh dưỡng PD, thời gian nuôi cấy nhân sinh khô khoảng từ 5 – 6 ngày đạt mật độ tế bào tối đa khi nuôi cấy ở nhiệt độ trong khoảng từ 35 – 40<sup>0</sup>C. Chủng ĐV2 phù hợp với môi trường dinh dưỡng Hutchinson không có agar, thời gian nuôi cấy nhân sinh khô là khoảng 6 ngày đạt mật độ tế bào hữu hiệu cao nhất khi chúng được nuôi cấy trong điều kiện nhiệt độ 30<sup>0</sup>C. Có thể ứng dụng 2 chủng này làm phân bón vi sinh hỗn hợp để phân giải cành khô lá rụng trên mặt đất dưới tán rừng, làm giảm nguy cơ cháy rừng và tăng độ phì cho đất.

**Từ khóa:** Phân lập, tuyển chọn, vi sinh vật phân giải xenlulo

## **ĐẶT VẤN ĐỀ**

Hiện tượng sa mạc hoá - đất bị bạc màu và mất thảm thực vật che phủ đang tăng nhanh ở nhiều khu vực. Theo số liệu của FAO/UNESCO (năm 2006), trên thế giới có hàng tỷ héctơ đất bị bạc màu, tập trung nhiều nhất ở Châu Á, Châu Phi, Châu Mỹ, nhiệt đới. Kết quả tính toán cho thấy tốc độ bạc màu hiện tại khoảng 5 - 7 triệu ha/năm. Diện tích đất canh tác trên đầu người giảm nhanh từ 0,5 héctơ/người xuống còn 0,2 héctơ/người. Ở Việt Nam, theo thống kê của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (năm 2007), cả nước có 21 triệu ha đất canh tác nông - lâm nghiệp. Trong đó phần lớn diện tích đất có hàm lượng dinh dưỡng thấp, đặc biệt có tới 9,34 triệu ha đất hoang hoá, trong đó có 5,06 triệu ha đất chưa sử dụng và 2 triệu ha đất đang được sử dụng bị thoái hóa nặng. Trong đó cháy rừng cũng là một trong những nguyên nhân gây nên thoái hóa đất. Vấn nạn cháy rừng luôn được sự quan tâm trên toàn cầu. Như ở Nga vụ cháy rừng tháng 7 năm 2010 ước tính thiệt hại lên đến 15 tỷ đô la Mỹ. Năm 2009 ở Úc có tới 173 nạn nhân thiệt mạng trong vụ cháy rừng. Theo Cục Kiểm lâm, ở nước ta, năm 2009 diện tích rừng bị cháy trên toàn quốc khoảng 1.500ha. Nhưng chỉ từ đầu năm 2010 đến nay, cả nước đã xảy ra không dưới 15 vụ cháy rừng với mức độ nghiêm trọng, thiêu rụi hơn 1.100ha rừng. Theo thống kê, hầu hết những vụ cháy rừng thường xảy ra khi có ba điều kiện: Thời tiết khô hanh; mật độ cành khô lá rụng, thảm cỏ, nằm trên mặt đất dưới tán rừng lớn và đủ khô để cháy; có nguồn phát lửa. Trong khi đó, việc xử lý các chất thải hữu cơ chứa xenlulo bằng công nghệ sinh học, đặc biệt sử dụng các enzyme cellulose peroxidase ngoại bào từ vi sinh vật sẽ có nhiều ưu điểm về cả mặt kỹ thuật, kinh tế và môi trường. Vi sinh vật phân giải xenlulo có khả năng phân giải cành khô lá rụng trên mặt đất dưới tán rừng,

làm giảm nguy cơ cháy rừng, tăng độ phì cho đất. Bài viết dưới đây trình bày kết quả phân lập, tuyển chọn vi sinh vật có khả năng phân giải xenlulo hiệu lực cao, để sản xuất phân vi sinh cho cây lâm nghiệp, phân giải cành khô lá rụng trên mặt đất dưới tán rừng, nhằm tăng độ phì của đất, giảm nguy cơ cháy rừng và quá trình thoái hóa đất ở Việt Nam.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### Vật liệu nghiên cứu

Thu thập 30 mẫu đất tại các vùng đồi núi trọc, trong đó 10 mẫu thu tại Lục Ngạn - Bắc Giang, 10 mẫu thu tại Can Lộc - Hà Tĩnh, 10 mẫu thu tại Phường Bùi Thị Xuân - Quy Nhơn. Độ sâu tầng đất thu mẫu từ 0 – 15cm.

### Phương pháp nghiên cứu

**Phương pháp phân lập chủng vi khuẩn phân giải xenlulo:** Chuẩn bị các đĩa petri có môi trường Hutchinson, hấp khử trùng ở 1atm, trong 30 phút. Cấy 0,1ml dịch huyền phù từ độ pha loãng  $10^{-2}$  đến  $10^{-6}$  (Sử dụng phương pháp pha loãng tới hạn của Jame B. Sinclair and Orkar Dev Dhingra) trang đều lên bề mặt bằng que cấy trang. Sau đó dùng kẹp sắt đã khử trùng trên ngọn lửa đặt 1 khoanh giấy lọc vô trùng áp sát lên bề mặt. Mỗi độ pha loãng lặp lại 3 lần. Nuôi cấy ở 28-30°C trong khoảng 12 - 14 ngày. Quan sát thấy vi khuẩn mọc rải rác thành vòng tròn trên giấy lọc. Tách riêng từng chủng khuẩn và ghi ký mã hiệu cho từng chủng.

### Phương pháp tuyển chọn vi sinh vật phân giải hợp chất hữu cơ xenlulo:

+) Chuẩn bị môi trường thử có chứa ( 0,5g CMC+ 18g Agar)/ 1 lít H<sub>2</sub>O. Môi trường được hấp khử trùng ở 1atm, trong 30 phút sau đó đổ ra hộp Petri

+) Chuẩn bị thuốc thử dung dịch công gô đỏ 0,25%

+) Thu dịch chiết chứa enzyme: Cấy các chủng vi sinh vật đã phân lập ở trên vào các bình tam giác 250ml chứa môi trường đã chuẩn bị trong điều kiện vô trùng. Nuôi cấy vi khuẩn trong môi trường không agar, pH = 6.8, tốc độ lắc 200 vòng/ phút, ở nhiệt độ 37<sup>0</sup> C, thời gian 12 – 14 giờ. Thu enzyme ngoại bào trong dịch nuôi cấy bằng phương pháp ly tâm với vận tốc 5000 vòng/ phút trong thời gian 20 phút. (Dịch chiết chứa enzyme ngoại bào là lớp nước trong phía trên, tiến hành thử hoạt tính enzyme ngoại bào).

Dùng khoan đường kính 10mm đục lỗ thạch ở chính giữa hộp lòng. Đổ đầy giếng dịch enzym thô, để trong tủ lạnh trong 2 ngày. Lấy 1ml dung dịch thuốc thử dung dịch công gô đỏ dàn đều trên bề mặt thạch. Nếu enzym có hiệu lực thì xung quanh lỗ khoan xuất hiện một vòng trong suốt - vòng thủy phân. Phần ngoài sẽ có màu đỏ của thuốc nhuộm công gô.

- Đường kính vòng phân giải được tính theo công thức

$$V(\text{mm}) = D(\text{mm}) - d(\text{mm})$$

D: Đường kính vòng phân giải,      d: đường kính lỗ khoan

- Đường kính vòng thủy phân càng lớn cho thấy hoạt lực của enzym ngoại bào càng mạnh

### Phương pháp nghiên cứu điều kiện sinh trưởng phát triển tối ưu cho chủng vi sinh vật phân giải xenlulo

- **Phương pháp xác định môi trường dinh dưỡng:** Vi khuẩn được nuôi cấy ở nhiệt độ 30<sup>0</sup>C, tốc độ lắc 200 vòng/phút trên 3 loại môi trường: Môi trường 1, (môi trường PD). Môi trường 2, (môi trường PD có chứa 1% CMC). Môi trường 3 (môi trường Hutchinson). Sau 120 giờ xác định số lượng tế bào vi khuẩn bằng phương pháp pha loãng tới hạn.

- **Phương pháp xác định thời gian nuôi cấy:** Vi khuẩn được nuôi cấy trên môi trường Hutchinson không có Agar, ở 30<sup>0</sup>C, lắc ở 200 vòng/phút. Sau các thời gian 48giờ, 72giờ, 96giờ 120giờ và 144giờ lấy ra xác định số lượng tế bào vi khuẩn bằng phương pháp pha loãng tới hạn.

- **Phương pháp xác định ảnh hưởng của nhiệt độ đến mật độ tế bào vi khuẩn:** Thí nghiệm được thực hiện trên trường môi trường Hutchinson không có agar, lắc 200 vòng/phút; nuôi ở các nhiệt độ 10<sup>0</sup>C, 15<sup>0</sup>C, 20<sup>0</sup>C, 25<sup>0</sup>C, 30<sup>0</sup>C, 35<sup>0</sup>C, 40<sup>0</sup>C. Sau 120 giờ nuôi cấy xác định số lượng tế bào vi khuẩn bằng phương pháp pha loãng tới hạn.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

### Phân lập các chủng vi sinh vật phân giải hợp chất hữu cơ xenlulo

Với 30 mẫu đất đã phân lập được 25 chủng vi sinh vật có khả năng phân giải hợp chất hữu cơ xenlulo với hình dạng, kích thước màu sắc và độ phân giải xenlulo khác nhau. Kết quả được trình bày ở bảng 1

**Bảng 1. Đặc điểm của các chủng vi sinh vật phân giải xenlulo**

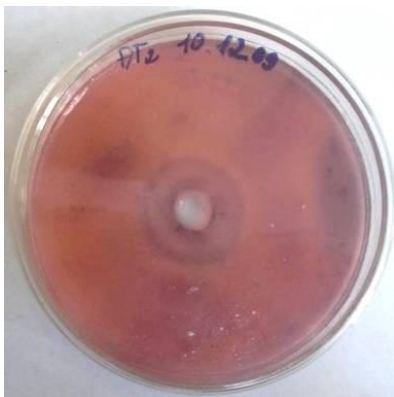
TT	Ký hiệu chủng	Mật độ (CFU/g)	Hình dạng	Màu sắc	Mức độ phân giải xenlulo (mm)
1	PT <sub>1</sub>	4,8 x 10 <sup>2</sup>	Mọc tròn	Hơi vàng	18,5
2	PT <sub>2</sub>	4,0 x 10	Mọc tua	Xám	16
3	XS <sub>1</sub>	3,9 x 10	Xù xì	Vàng xám	14
4	XS <sub>3</sub>	4,1 x 10 <sup>2</sup>	Mọc dích dắc	Trắng đục	10,5
5	XQ <sub>1</sub>	3,9 x 10 <sup>2</sup>	Mọc sun sun	Nâu	12,5
6	XQ <sub>4</sub>	6,1 x 10	Mọc tròn	Trắng trong	17
7	ĐV <sub>1</sub>	3,7 x 10 <sup>2</sup>	Mọc tròn	Tím nhạt	18.5
8	ĐV <sub>2</sub>	5,5 x 10 <sup>2</sup>	Mọc tròn	Vàng chanh	26
9	XD <sub>2</sub>	10 x 10 <sup>2</sup>	Mọc tròn	Vàng xám	17
10	XN <sub>1</sub>	7,0 x 10 <sup>2</sup>	Mọc tua	Trắng trong	20,5
11	XN <sub>2</sub>	3,0 x 10	Mọc tròn	Vàng xẫm	12
12	XNS <sub>1</sub>	5,0 x 10	Mọc dích dắc	Vàng xám	9
13	ĐT <sub>1</sub>	5,1 x 10	Mọc tròn	Trắng ngà vàng	20
14	ĐT <sub>2</sub>	10 x 10 <sup>3</sup>	Mọc tua	Trắng	25
15	XPa <sub>1</sub>	4,5 x 10	Mọc tròn	Hơi hồng	7.5
16	XPa <sub>2</sub>	10 x 10 <sup>2</sup>	Mọc tròn	Vàng chanh	10
17	PV <sub>1</sub>	4,0 x 10 <sup>2</sup>	Mọc tròn	Xám	20,5
18	XPc <sub>1</sub>	5,2 x 10 <sup>2</sup>	Mọc tròn	Vàng xám	9
19	XPc <sub>2</sub>	10 x 10 <sup>2</sup>	Mọc tròn	Trắng trong	13,5
20	XPd <sub>1</sub>	4,7 x 10	Mọc sun sun	Vàng xẫm	12.5
21	XPd <sub>2</sub>	10 x 10 <sup>2</sup>	Mọc tua	Vàng xám	13

22	XPb <sub>1</sub>	4,5 x 10	Mọc tua	Trắng	12,5
23	XPb <sub>2</sub>	4,0 x 10 <sup>2</sup>	Mọc tua	Trắng đục	17
24	XNc <sub>2</sub>	3,2 x 10 <sup>2</sup>	Mọc tròn	Hồng	6.5
25	XNc <sub>1</sub>	3,0 x 10 <sup>2</sup>	Mọc tròn	Trắng trong	9.5

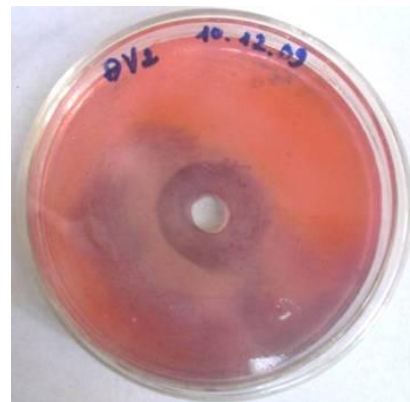
Qua bảng trên cho thấy với 30 mẫu đất trồng đồi núi trọc phân lập được 25 chủng vi sinh vật có khả năng phân giải xenlulo. Các chủng vi sinh vật có màu sắc rất phong phú trắng, vàng, tím, hồng, nâu vv..... Các chủng có khả năng phân giải xenlulo cũng không giống nhau. Những chủng có khả năng phân giải xenlulo mạnh gồm 5 chủng ĐT2, ĐV2 XN1, PV1 và ĐT1 có đường kính vòng phân giải lớn hơn 20mm; (chiếm 20% tổng số chủng phân lập được). Trong đó 2 chủng có hiệu lực phân giải xenlulo rất mạnh ( $\geq 25$ mm) là chủng ĐT2, ĐV2. Phân lập được 15 chủng có đường kính vòng phân giải xenlulo đạt từ 10 đến 20cm. (chiếm 60% tổng số chủng phân lập được); có 5 chủng có khả năng phân giải xenlulo ở mức độ yếu. Qua bảng tổng hợp trên cũng cho thấy rằng, mật độ vi sinh vật phân lập được có khả năng phân giải xenlulo ở các vùng đất này là khá khiêm tốn, chỉ đạt từ  $3 \times 10$  đến  $5,5 \times 10^2$  (CFU/g). Trong khi mật độ trung bình của các vi sinh vật phân lập được đạt từ  $10^3$  đến  $10^4$  (CFU/g).

### **Kết quả tuyển chọn chủng có hiệu lực cao**

Căn cứ vào đường kính vòng phân giải của các chủng vi khuẩn phân giải xenlulo, (Bảng 1), đã chọn 2 chủng có đường kính vòng phân giải lớn nhất là chủng: ĐT2, ĐV2 (Hình 1 và 2), có đường kính vòng phân giải  $> 25$ mm, đưa vào nghiên cứu điều kiện sinh trưởng phát triển tối ưu cho chủng vi sinh vật phân giải xenlulo.



Hình 1. Vòng phân giải xenlulo của chủng ĐT2



Hình 2. Vòng phân giải xenlulo của chủng ĐV2

### **Nghiên cứu điều kiện sinh trưởng phát triển tối ưu cho chủng vi sinh vật phân giải xenlulo**

#### **Kết quả xác định môi trường dinh dưỡng**

Mỗi vi sinh vật có môi trường dinh dưỡng phù hợp khác nhau được thể hiện ở khả năng sinh trưởng (mật độ tế bào hữu hiệu trên 1ml dung dịch nuôi cấy là lớn nhất). Chính vì vậy nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng đến mật độ tế bào vi khuẩn giúp chúng ta biết được trên môi trường nào vi khuẩn có khả năng sinh trưởng và phát triển tốt nhất, từ đó xác định được môi trường nhân sinh khối tốt nhất. Thí nghiệm được thực hiện trên 3 môi trường dinh dưỡng khác nhau, kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 2.

**Bảng 2. Ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng đến mật độ tế bào vi khuẩn phân giải xenlulo**

TT	Môi trường dinh dưỡng	Mật độ tế bào hữu hiệu của các chủng vi khuẩn phân giải xenlulo (CFU/ml)	
		ĐT2	ĐV2
1	Môi trường PD	$10,2 \times 10^8$	$6,4 \times 10^8$
2	Môi trường PD 1% CMC	$24,4 \times 10^7$	$9,8 \times 10^8$
3	Môi trường Hutchinson không có agar	$72,0 \times 10^7$	$11,4 \times 10^8$

Khi các chủng khuẩn được cấy vào 3 môi trường khác nhau, ban đầu chúng đều ở dạng dịch trong và lỏng, sau thời gian nuôi 120 giờ với tốc độ lắc 200 vòng/phút, ở nhiệt độ 30°C, các dịch khuẩn trở nên đục và đặc sánh. Như vậy, trên cả 3 môi trường dinh dưỡng các chủng khuẩn đều có khả năng sinh trưởng và phát triển. Nhưng qua kết quả ở bảng 2 cho thấy có sự khác nhau đáng kể về mật độ tế bào của các chủng khi được nuôi ở các môi trường khác nhau. Chủng ĐV2 thích hợp trên cả 3 môi trường nuôi cấy, nhưng mật độ tế bào của chúng đạt cực đại là  $11,4 \times 10^8$  (CFU/ml) khi chúng được nuôi cấy trên môi trường Hutchinson không có agar. Chủng ĐT2 thích hợp trên cả 2 môi trường là môi trường PD và môi trường Hutchinson không có agar, nhưng mật độ tế bào đạt cực đại  $10,2 \times 10^8$  (CFU/ml) khi chúng được nuôi cấy trên môi trường PD. Trong khi chủng ĐT2 có mật độ tế bào chỉ đạt  $24,4 \times 10^7$  CFU/ml (khi được nuôi cấy trên môi trường PD 1% CMC (bằng 1/5 mật độ tế bào khi nuôi cấy ở môi trường PD)). Từ kết quả trên cho thấy chủng ĐT2 phù hợp với môi trường dinh dưỡng PD, chủng ĐV2 phù hợp với môi trường dinh dưỡng Hutchinson không có agar.

### Kết quả xác định thời gian nuôi cấy

Mỗi loài sinh vật nói riêng và vi sinh vật nói chung có tốc độ phát triển khác nhau theo thời gian. Có loài phát triển rất nhanh ở thời gian đầu và chậm lại ở thời gian sau, nhưng cũng có loài phát triển chậm ở thời gian đầu và tăng tốc rất nhanh ở thời gian sau. Vì vậy, nghiên cứu thời gian đạt mật độ tế bào hữu hiệu của các chủng vi khuẩn là cần thiết, để thuận lợi cho việc nhân sinh khối vi khuẩn sản xuất chế phẩm. Thí nghiệm về ảnh hưởng thời gian nuôi cấy đến mật độ tế bào vi khuẩn được thực hiện trên 5 khoảng thời gian nuôi cấy khác nhau, kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 3.

**Bảng 3. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến mật độ tế bào vi khuẩn phân giải xenlulo**

TT	Thời gian nuôi cấy	Mật độ tế bào hữu hiệu của các chủng vi khuẩn phân giải xenlulo (CFU/ml)	
		ĐT2	ĐV2
1	Sau 48 giờ	$24 \times 10^5$	$10 \times 10^5$
2	Sau 72 giờ	$30 \times 10^6$	$14 \times 10^6$
3	Sau 96 giờ	$15 \times 10^7$	$8 \times 10^7$
4	Sau 120 giờ	$24 \times 10^8$	$68 \times 10^7$
5	Sau 144 giờ	$22,5 \times 10^8$	$15 \times 10^8$

Thời gian nuôi cấy các chủng vi khuẩn khác nhau thì mật độ tế bào hữu hiệu đạt được là khác nhau. Ở cả 2 chủng ĐT2 và ĐV2 đều theo quy luật thời gian tăng thì mật độ tế bào hữu hiệu tăng, đạt cực đại ở thời gian nhất định. Như trong 2 ngày đầu (48 giờ) nuôi cấy mật độ tế bào vi khuẩn có trong 1ml dung dịch ở cả 2 chủng đều đạt thấp, chỉ từ  $10 \times 10^5 - 24 \times 10^5$  CFU/ml. Sau đó chủng ĐT2 đạt mật độ tế bào hữu hiệu cực đại vào ngày thứ 5 (120 giờ) với mật độ tế bào hữu hiệu đạt được là  $24 \times 10^8$  CFU/ml, sau đó mật độ tế bào hữu hiệu giảm nhẹ sau ngày thứ 6 (144 giờ) chỉ còn  $22,5 \times 10^8$  CFU/ml. Còn chủng ĐV2 có mật độ tế bào hữu hiệu đạt cực đại là  $15 \times 10^8$  CFU/ml, sau ngày thứ 6 (120 giờ). Như vậy chủng ĐT2 phù hợp với thời gian nuôi cấy nhân sinh khối khoảng từ 5 – 6 ngày, còn chủng ĐV2 phù hợp với thời gian nuôi cấy nhân sinh khối là khoảng 6 ngày.

#### **Kết quả xác định ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự phát triển mật độ tế bào vi khuẩn**

Sự phù hợp của nhiệt độ đến từng chủng vi khuẩn biểu hiện ở khả năng sinh trưởng của chúng (mật độ tế bào hữu hiệu trên 1ml dung dịch nuôi cấy là lớn nhất). Ở mỗi loài vi khuẩn thì sự phù hợp với các nhiệt độ là khác nhau để đảm bảo được mật độ tế bào hữu hiệu tối ưu. Thí nghiệm được thực hiện trên 6 chế độ nhiệt độ khác nhau  $10^{\circ}\text{C}$ ,  $15^{\circ}\text{C}$ ,  $20^{\circ}\text{C}$ ,  $25^{\circ}\text{C}$ ,  $30^{\circ}\text{C}$ ,  $35^{\circ}\text{C}$ ,  $40^{\circ}\text{C}$ , kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 4.

**Bảng 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy đến mật độ tế bào vi khuẩn phân giải xenlulo**

TT	Nhiệt độ nuôi cấy	Mật độ tế bào hữu hiệu của các chủng vi khuẩn phân giải xenlulo (CFU/ml)	
		ĐT2	ĐV2
1	$t^0 = 10^{\circ}\text{C}$	$5 \times 10^3$	$24 \times 10^3$
2	$t^0 = 15^{\circ}\text{C}$	$47 \times 10^4$	$17 \times 10^5$
3	$t^0 = 20^{\circ}\text{C}$	$40 \times 10^6$	$12 \times 10^7$
4	$t^0 = 25^{\circ}\text{C}$	$15 \times 10^7$	$58 \times 10^7$
5	$t^0 = 30^{\circ}\text{C}$	$24 \times 10^8$	$68 \times 10^8$
6	$t^0 = 35^{\circ}\text{C}$	$88 \times 10^8$	$65 \times 10^8$
7	$t^0 = 40^{\circ}\text{C}$	$78 \times 10^8$	$15 \times 10^8$

Sự phát triển của vi khuẩn phân giải chất hữu cơ xenlulo, phụ thuộc rất lớn vào nhiệt độ. Kết quả ở bảng 4 cho thấy khi ở nhiệt độ thấp các chủng vi khuẩn này phát triển rất chậm. Như ở nhiệt độ là  $10^{\circ}\text{C}$  mật độ vi khuẩn chỉ đạt từ  $5 \times 10^3 - 24 \times 10^3$  CFU/ml. Trong khi đó ở nhiệt độ cao là  $35^{\circ}\text{C}$  mật độ cả 2 chủng đều tăng, đạt  $65 \times 10^8 - 88 \times 10^8$  CFU/ml. Ở các nhiệt độ từ 15 đến  $25^{\circ}\text{C}$  các chủng vi khuẩn cũng phát triển nhưng chưa đạt được mật độ tối ưu. Kết quả trên cho thấy chủng vi khuẩn ĐT2 đạt mật độ tế bào hữu hiệu khi chúng được nuôi cấy, nhân sinh khối trong điều kiện nhiệt độ trong khoảng từ 35 –  $40^{\circ}\text{C}$  là  $88 \times 10^8$  CFU/ml. Chủng ĐV2 đạt mật độ tế bào hữu hiệu khi chúng được nuôi cấy, nhân sinh khối trong điều kiện nhiệt độ  $30^{\circ}\text{C}$ .

#### **KẾT LUẬN**

Từ 30 mẫu đất phân lập được 25 chủng vi sinh vật có khả năng phân giải xenlulo từ đất trống đồi núi trọc, trong đó đã tuyển chọn được 10 chủng vi sinh vật có khả năng phân giải xenlulo mạnh, có đường kính vòng phân giải >15mm, chiếm 40% tổng số chủng phân lập được. Có 5 chủng có khả năng phân giải xenlulo mạnh gồm chủng ĐT2, ĐV2 XN1, PV1 và ĐT1 có đường kính vòng phân giải lớn hơn 20mm; chiếm 20% tổng số chủng phân lập được. Trong đó chọn 2 chủng có hiệu lực phân giải xenlulo rất mạnh (đường kính vòng phân giải  $\geq$  25mm) là chủng ĐT2, ĐV2.

Chủng ĐT2 phù hợp với môi trường dinh dưỡng PD, thời gian nuôi cấy nhân sinh khối khoảng từ 5 – 6 ngày, đạt mật độ tế bào tối đa khi nuôi cấy ở nhiệt độ trong khoảng từ 35 – 40<sup>0</sup>C. Chủng ĐV2 phù hợp với môi trường dinh dưỡng Hutchinson không có agar, thời gian nuôi cấy nhân sinh khối là khoảng 6 ngày, đạt mật độ tế bào hữu hiệu khi chúng được nuôi cấy, nhân sinh khối trong điều kiện nhiệt độ 30<sup>0</sup>C.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Lâm Dũng, Phạm Văn Ty, 1998. Vi sinh vật học, Nhà xuất bản Giáo dục, Hà Nội.  
Phan Đức, 2007. “Hai triệu ha đất đang sử dụng ở Việt Nam bị thoái hoá nặng”, Thời báo Việt, Ngày 16 tháng 06 năm 2007  
Lê Hải Đường, 2006. “Chống thoái hóa đất sử dụng hiệu quả tài nguyên đất nhằm phát triển bền vững”. Thời báo kinh tế Việt Nam, ngày 14 tháng 06 năm 2006.  
James B. Sinclair and Orkar Dev Dhingra, 1995. Basic plant pathology methods.  
Jinwi Kim, 2000. Isolation and purification of antifungal compound and lactamase inhibitor from endophytic bacteria MS thesis, SNU.

### **ISOLATING AND SCREENING MICRO-ORGANISMS HIGHLY DISOLVEABLE XENLULO AND COMPATIBLE WITH ERODED SOILS, CHARACTERING THEIR PHYSIOLOGIES/BIOLOGY IN ORDER TO PRODUCING BIO-FERTILIZER FOR FOREST TREES.**

*Nguyen Thi Thuy Nga*

*Forest Science Institute of Vietnam*

Forest fires which have been recently occurred seriously are one of main reasons causing remarkably soil erosion in the world. These result from the retain of firing materials on ground. Using xenlulo-dissolving bacteria which are living on that soil is one of the excellant approaches to disintergrate the material to reduce the firing risks along with increasing the humic soil. Twenty five strains able to dissolve xenlulo were isolated from 30 soil samples collected from barelands. Of which, there were 10, 3, and 2 strains the xenlulo-dissolved rings reached around 15mm, 20mm, and 25mm, respectively. The best strain DT2 growth well on the PD medium and took about 6 days for full growth under liquid culture at 35-40<sup>0</sup>C. The other best strain DV2 was relatively appropriate with the Hutchinson's Agar-free nutrient media at 30<sup>0</sup>C. These might be potential strains to produce bio-fertilizer with the aims of dissolving vegetation and slash on forest ground to reduce the risk of forest fire and increase the humic soil.

**Keywords:** Isolation, screening, micro-organisms dissolveable xenlulo