

PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN CHỦNG VI SINH VẬT CÓ KHẢ NĂNG PHÂN GIẢI PHOSPHATE KHÓ TAN TỪ ĐẤT RỪNG XUÂN LIÊN

Nguyễn Văn Giang¹, Nguyễn Đức Thái¹

TÓM TẮT

Bài báo trình bày kết quả tuyển chọn các chủng vi sinh vật có khả năng phân giải phosphate từ đất Vườn Quốc gia Xuân Liên. Từ các mẫu đất thu tại Vườn Quốc gia Xuân Liên, dựa trên hoạt tính phân giải phosphate canxi, 25 chủng vi sinh vật đã được phân lập, trong đó chủng XL3.1 và RL4 biểu hiện hoạt tính phân giải $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ mạnh nhất, tương ứng là 470,47 $\mu\text{g/ml}$ và 459,58 $\mu\text{g/ml}$. Hai chủng này cũng có khả năng phân giải cả AlPO_4 , FePO_4 , cố định N_2 và tổng hợp IAA. Khi được nuôi ở nhiệt độ từ 25 - 30°C, pH 7 trong môi trường có nguồn carbon, nitơ thích hợp nhất như: glucose, lactose, maltose, pepton, yeast extract và KNO_3 , hai chủng XL3.1 và RL4 đều phát triển tốt và biểu hiện hoạt tính phân giải phosphate cao nhất.

Từ khóa: Vi sinh vật phân giải phosphate, cố định N_2 , tổng hợp IAA

ĐẶT VẤN ĐỀ

Photpho (P) là nguyên tố quan trọng thứ 2 trong 3 nguyên tố dinh dưỡng đa lượng chính của cây trồng (N, P, K). Photpho có tác dụng thúc đẩy phát triển và tăng khả năng chống chịu của cây trồng. Thiếu photpho, sự hình thành tế bào mới bị chậm lại, cây còi cọc ít phân cành, đẻ nhánh, lá có màu xanh lục bần, không sáng, năng suất cây trồng bị giảm sút nghiêm trọng, ngay cả khi được cung cấp đủ nitơ (Havlin *et al.*, 1999). Tính khả dụng sinh học của photpho trong đất bị giới hạn vì phosphate trong đất tồn tại chủ yếu ở dạng không hòa tan (Lowell Busman *et al.*, 2009). Chỉ có 0,1% trong tổng số P là khả dụng, không đủ đáp ứng cho nhu cầu của cây trồng. Để đáp ứng đầy đủ nhu cầu dinh dưỡng cho cây trồng, photpho thường được bón vào đất dưới dạng phân bón hóa học. Quá trình tổng hợp và sử dụng phân bón hóa học photpho đòi hỏi chi phí lớn và có tác động lâu dài đến môi trường gây ra hiện tượng phú dưỡng, làm tăng lượng khí thải carbon (Sharma *et al.*, 2013) đồng thời làm chết các vi sinh vật có lợi vốn tồn tại tự nhiên trong đất, phá hủy cấu trúc địa lý tự nhiên của đất dẫn đến đất đai bị chai cứng, bạc màu, làm giảm năng suất cây trồng và gây ảnh hưởng đến sản xuất nông nghiệp lâu dài.

Khai thác và sử dụng vi sinh vật phân giải phosphate (Phosphate Solubilizing Microorganisms/PSMs) được xem như là biện pháp thân thiện với môi trường và cung cấp photpho tốt nhất cho cây trồng. Các PSMs không những làm tăng lượng phosphate dễ tiêu trong đất mà còn làm tăng lượng nitơ sinh học hoặc tăng cường sự sẵn có của các nguyên tố vi lượng khác như sắt, kẽm, silic, đồng... đồng thời các vi sinh vật này khi bón vào đất có khả năng sản sinh các yếu tố thúc đẩy sự sinh trưởng thực vật

(Kucey, 1983; Sharma *et al.*, 2013). Một số tác giả như Nguyễn Văn Giang và cộng sự (2015), Trần Thị Huế và cộng sự (2015) đã phân lập được một số chủng vi khuẩn có khả năng phân giải phosphate khó tan từ đất trồng lúa, trồng chè. Các nghiên cứu về vi sinh vật phân giải phosphate khó tan từ đất rừng còn hạn chế. Vườn Quốc gia Xuân Liên thuộc Khu bảo tồn thiên nhiên Xuân Liên, nằm ở vùng rừng thượng nguồn sông Chu thuộc huyện Thường Xuân, nằm ở phía Tây tỉnh Thanh Hóa, là nơi bảo tồn nhiều loại động vật, thực vật quý. Đất ở đây ẩm, được phủ lớp thảm mục từ lá, cành cây. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân lập và tuyển chọn chủng vi sinh vật có khả năng phân giải phosphate khó tan từ đất rừng Xuân Liên, làm phong phú thêm nguồn vật liệu trong sản xuất chế phẩm phân bón sinh học

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu đất được lấy từ Vườn Quốc gia Xuân Liên (Thanh Hóa), các chủng vi sinh vật có khả năng phân giải phosphate khó tan.

Các môi trường được sử dụng: 1/ Môi trường NBRIP (g/l): glucose 10; $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 5; $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,25; KCl 0,2; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,1, pH 7,0; 2/ Môi trường Buck's (g/l): MgSO_4 0,2; K_2HPO_4 0,8; KH_2PO_4 0,2; CaSO_4 0,13, FeCl_2 0,00145, Na_2MoO_4 0,000253; Sucrose 20; 3/ Môi trường O-CAS: Chrome azurol S (CAS) 60,5 mg, hexadecyltrimethyl amoni bromua (HDTMA) 72,9 mg, Piperazin-1,4-bis (axit 2-ethanesulfonic) (PIPETS) 30,24 g, và 1mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ trong 10 mM HCl 10 ml. Agar (0,9% w/v); 4/ Môi trường LB (g/l): pepton 10, NaCl 5, yeast extract 5.

¹Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập các chủng vi sinh vật

Các chủng vi sinh vật có khả năng phân giải phosphate khó tan từ các mẫu đất thí nghiệm được phân lập trên môi trường NBRIP (Chung *et al.*, 2005). Mẫu đất được phơi khô, nghiền mịn, pha loãng tới nồng độ 10^{-6} . Cấy trong 50 μ l dịch pha loãng trên đĩa Petri chứa môi trường NBRIP, các đĩa này được ủ ở 30°C . Các chủng vi khuẩn có khả năng phân giải phosphate khó tan sẽ hòa tan canxi phosphate trong môi trường làm cho xung quanh miến khuẩn lạc của chúng có màu sáng trong. Hoạt độ phân giải phosphate khó tan của các chủng vi khuẩn phân lập được xác định dựa trên nồng độ PO_4^{3-} có trong dịch nuôi cấy bằng phương pháp xanh molybdate (Nguyễn Văn Giang và cộng sự, 2015) thông qua giá trị OD đo được tại bước sóng 820nm. Mối tương quan giữa giá trị OD và nồng độ PO_4^{3-} trong dung dịch thể hiện qua phương trình: Y (giá trị OD) = $0.9308x - 0.0955$ với $R^2 = 0.9924$.

2.2.2 Đánh giá ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy (nhiệt độ, pH, nguồn carbon, nitơ)

Các chủng vi sinh vật được tuyển chọn được nuôi cấy trong môi trường NBRIP với các giá trị pH thay đổi từ 5 - 10, nhiệt độ 5°C , 17°C , 25°C , 30°C , 35°C , 40°C với mỗi thông số thí nghiệm đều có bình môi trường không tiếp giống vi sinh vật làm đối chứng, trong điều kiện nuôi lắc và nuôi tĩnh, nguồn carbon, nitơ trong môi trường NBRIP lần lượt được thay thế bằng glucose, fructose, xylose, maltose, manitose, lactose, sucrose, ribose, dextrin, $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaNO_3 , KNO_3 , NH_4NO_3 , NH_4Cl , Pepton, Yeast extract (YE). Môi trường không có cacbon và nitơ là đối chứng âm. Sau 4 ngày tiến hành li tâm dịch nuôi và xác định hàm lượng PO_4^{3-} .

2.2.3 Khảo sát khả năng sinh IAA và cố định N_2

Khả năng sinh IAA của các chủng vi sinh vật thí nghiệm được xác định theo Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 10784:2015 và khả năng cố định N_2

- theo phương pháp được mô tả bởi Qurban và cộng sự (2011).

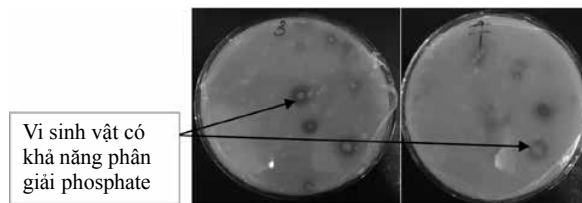
2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thí nghiệm được tiến hành tại Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam từ tháng 5 đến tháng 12/2016.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

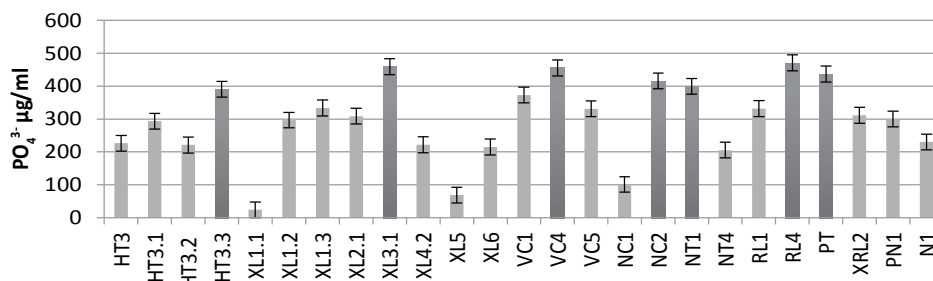
Phân lập, tuyển chọn chủng vi sinh vật phân giải phosphate khó tan.

Từ các mẫu đất rừng Xuân Liên, sau khi tiến hành phân lập trên môi trường NBRIP, chúng tôi đã chọn được 25 chủng vi sinh vật có khả năng phân giải phosphate khó tan dựa trên sự xuất hiện các vòng phân giải $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.



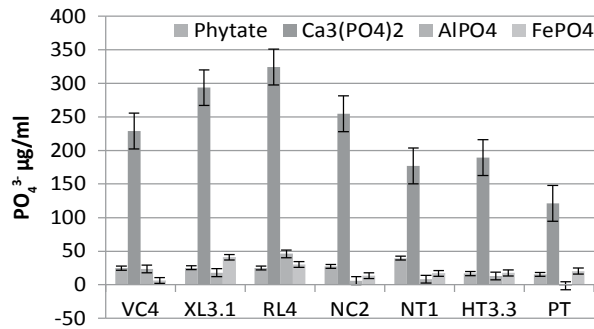
Hình 1. Vi sinh vật phân giải phosphate mọc trên môi trường NBRIP

Sau 4 ngày nuôi cấy, 7 trong số 25 chủng thí nghiệm có hoạt tính phân giải phosphate mạnh nhất là RL4 (470,47 $\mu\text{g}/\text{ml}$), XL3.1 (459,58 $\mu\text{g}/\text{ml}$), PT (436,73 $\mu\text{g}/\text{ml}$), VC4 (455,52 $\mu\text{g}/\text{ml}$), NC2 (415,58 $\mu\text{g}/\text{ml}$), NT1 (399,14 $\mu\text{g}/\text{ml}$), HT3.3 (391,02 $\mu\text{g}/\text{ml}$) trong khi đó chủng có hoạt tính yếu nhất là XL1.1 (24,12 $\mu\text{g}/\text{ml}$) (Hình 2). Kết quả này cao hơn kết quả đã được công bố bởi Nguyễn Văn Giang và cộng sự (2015), tuy nhiên thấp hơn kết quả thu được trong nghiên cứu của Buddhi và Min-Ho Yoon (2013). Tofazzal và các cộng sự (2007) khi khảo sát khả năng phân giải phosphate của các chủng vi sinh vật từ rễ lúa cũng thu được kết quả tương đương và cao hơn một chút. Từ kết quả đó chọn 7 chủng có hoạt tính phân giải phosphate canxi mạnh nhất để tiến hành thử hoạt độ phân giải trên các nguồn phosphate khó tan khác là AlPO_4 , FePO_4 và phytate.



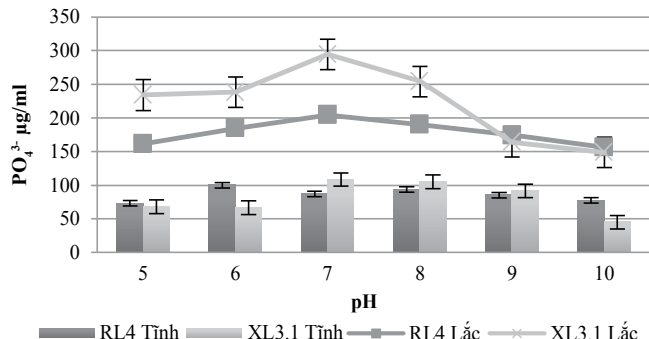
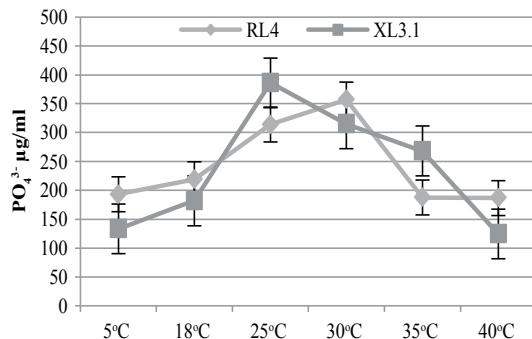
Hình 2. Hoạt độ phân giải phosphate của các chủng vi sinh vật mới phân lập

Tất cả 7 chủng đều có khả năng phân giải các nguồn phosphate này, tuy nhiên hoạt độ phân giải phosphate canxi vẫn cao nhất, do dạng này dễ bị hòa tan hơn $AlPO_4$, $FePO_4$. Các chủng này có thể tổng hợp enzyme phosphatase nên có thể phân giải phytate để giải phóng từ 1 đến 6 gốc phosphate từ phân tử phytate, do đó hoạt độ phân giải phytate của chúng khác nhau (Hình 3).



Hình 3. Hoạt độ phân giải một số dạng phosphate khó tan của 7 chủng thí nghiệm

Hoạt độ phân giải $AlPO_4$, $FePO_4$ của 7 chủng vi sinh vật trong thí nghiệm này cao hơn của các chủng đã được Trần Thị Huệ và cộng sự (2015) công bố.



Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ (A) và pH (B) đến hoạt độ phân giải phosphate của chủng XL3.1 và RL4

Talat và cộng sự (2015) đã khẳng định khả năng hòa tan phosphate của các chủng tăng lên xung quanh ngưỡng nhiệt độ 25 - 30°C, khi nhiệt độ cao hơn thì hoạt tính giảm trong khi sinh khối vi sinh vật vẫn phát triển mạnh. Mardad và cộng sự (2014) chỉ ra 30°C là nhiệt độ tối ưu cho tất cả các chủng vi sinh vật phân giải phosphate và nhận thấy chúng có thể phân giải phosphatase ở 4°C. Sonia và Saksham (2016) cho thấy 40°C là nhiệt độ tối ưu cho sự phát triển và hòa tan phosphate của các chủng vi sinh vật trong nghiên cứu của mình. Điều này cho thấy các hoạt động trao đổi chất của các chủng vi sinh vật khác nhau có liên quan đến nhiệt độ của môi trường.

Chủng XL3.1 và RL4 biểu hiện khả năng phân giải mạnh nhất, nên được chọn để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo. Hai chủng này có tế bào dạng thẳng, gram âm, mẫu sắc khuẩn lạc trắng ngà.

3.2. Ảnh hưởng của một số điều kiện nuôi cấy đến khả năng phân giải phosphate khó tan của các chủng XL3.1 và RL4

3.2.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Mỗi chủng vi sinh vật khác nhau có một khoảng nhiệt độ thích hợp khác nhau mà tại đó chúng sinh trưởng phát triển và thể hiện hoạt tính sinh học mạnh nhất. Trong nghiên cứu này hai chủng XL3.1 và RL4 biểu hiện khả năng phân giải phosphate khó tan mạnh nhất tại nhiệt độ từ 25 - 30°C, nhiệt độ thấp hay cao hơn đều làm giảm khả năng phân giải cơ chất của hai chủng này (hình 4A). Chủng RL4 có hoạt tính mạnh nhất tại 30°C (đạt 357,2 µg/l), tăng đến 35°C hoạt tính của chủng này giảm mạnh (chỉ còn 187,78 µg/l), tại 40°C thì hoạt tính có xu hướng đi ngang không tiếp tục giảm. Chủng XL3.1 có hoạt tính mạnh nhất tại 25°C (đạt 386,2 µg/l), tại 30°C hoạt tính bắt đầu giảm, đến 40°C sự sụt giảm mạnh hoạt tính được ghi nhận.

3.2.2. Ảnh hưởng của pH môi trường nuôi

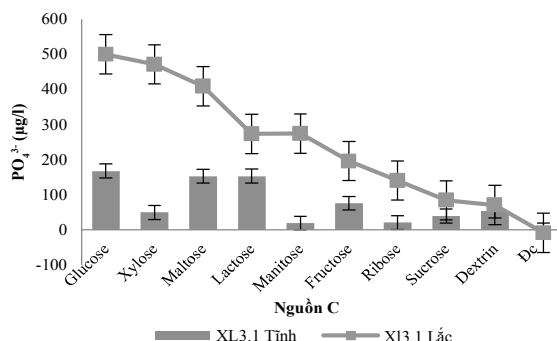
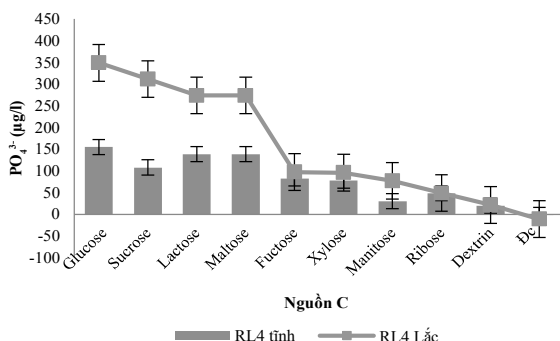
Hai chủng vi khuẩn XL3.1 và RL4 đều sinh trưởng được trong khoảng pH nghiên cứu (hình 4B). Trong điều kiện nuôi tĩnh chủng RL4 có hoạt tính phân giải phosphate mạnh nhất tại pH 6 (100,24 µg/l) và yếu nhất tại pH 10 (45,23 µg/l), chủng XL3.1 hoạt tính mạnh nhất tại pH 7 (108,45 µg/l) và yếu tại pH 5 (73,37 µg/l). Trong điều kiện nuôi lắc cả hai chủng đều có hoạt tính mạnh nhất tại pH7 (hoạt độ của chủng RL4 đạt 204,62 µg/l; của chủng XL3.1 (294,4 µg/l). Talat và cộng sự (2015) cũng chỉ ra các chủng nghiên cứu có hoạt tính phân giải phosphate trong khoảng pH 5-8, tối ưu tại pH từ 6 đến 7, một số chủng khi pH tăng lên đến 8 thì hoàn toàn mất hoạt

tính. Nguyễn Văn Giang và cộng sự (2015) cũng kết luận tương tự.

3.2.3. Ảnh hưởng của nguồn carbon và nitơ

Vi sinh vật có thể sử dụng nhiều nguồn carbon khác nhau để sinh trưởng, phát triển và biểu hiện các hoạt tính. Trong thí nghiệm này hai chủng XL3.1 và RL4 được nuôi trong môi trường NBRIP nhưng có sự thay đổi về nguồn carbon. Các nguồn carbon

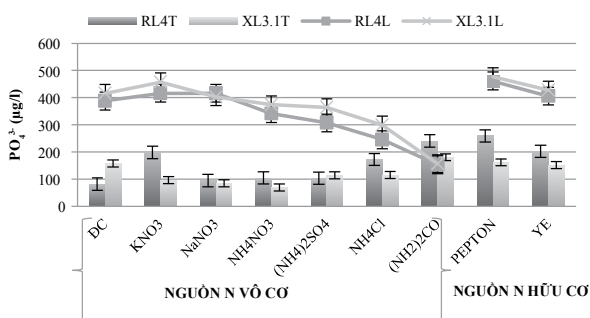
được sử dụng là glucose, fructose, xylose, maltose, manitose, lactose, sucrose, ribose, dextrin, các nguồn nitơ là $(NH_2)_2CO$, $(NH_4)_2SO_4$, $NaNO_3$, KNO_3 , NH_4NO_3 , NH_4Cl , Pepton, Yeast extract (YE). Môi trường không có cacbon và nitơ là đối chứng âm. Các nguồn carbon khác nhau đã làm thay đổi khả năng phân giải phosphate của hai chủng XL3.1 và RL4 (Hình 5).



Hình 5. Ảnh hưởng của nguồn carbon đến khả năng phân giải phosphate của chủng RL4 và XL3.1

Hoạt tính phân giải phosphate mạnh nhất của hai chủng trong cả hai điều kiện nuôi tĩnh và lắc trong môi trường nuôi cấy có nguồn C là glucose (hoạt độ phân giải phosphate của chủng RL4 khi nuôi lắc đạt 348,89 µg/l, nuôi tĩnh - 154,72 µg/l; tương tự chủng XL3, khi nuôi lắc - 499,43 µg/l, nuôi tĩnh - 167,84 µg/l). Khi trong môi trường dinh dưỡng không có C thì hai chủng mất hoàn toàn khả năng phân giải phosphate khó tan do chúng không có nguồn năng lượng cũng như cơ chất để sinh trưởng và tổng hợp enzyme phân giải phosphate.

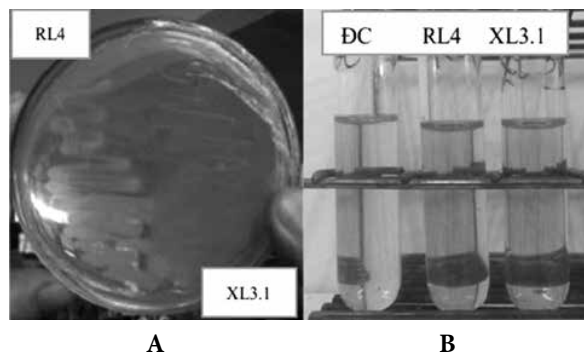
Hai chủng XL3.1 và RL4 đều sinh trưởng và biểu hiện hoạt tính phân giải phosphat khó tan khi được nuôi trên môi trường với nguồn nitơ khác nhau. Hoạt tính của hai chủng khá mạnh khi chúng được nuôi trong môi trường có nguồn N là pepton, yeast extract và KNO_3 . Khi nuôi lắc, chủng XL3.1 và RL4 có hoạt tính phân giải phosphate mạnh hơn khi nuôi tĩnh.



Hình 6. Ảnh hưởng của nguồn nitơ đến khả năng phân giải phosphate của chủng RL4 và XL3.1

3.2.4. Khả năng tổng hợp IAA và cố định N_2

Các chủng vi khuẩn tuyển chọn được nuôi cấy để thử khả năng sinh IAA với mục đích tìm kiếm các chủng vi khuẩn vừa có khả năng phân giải phosphate khó tan vừa có khả năng sinh IAA nhằm bổ sung vào các chế phẩm hoặc phân bón sinh học. Các chủng XL3.1 và RL4 được nuôi cấy trong môi trường LB có bổ sung L-tryptophan, sau đó thu dịch ly tâm và thử với thuốc thử Salkowski, mẫu có sinh IAA sẽ chuyển sang màu hồng, nồng độ IAA sinh ra nhiều có thể làm cho dịch nuôi cấy chuyển thành màu đỏ (Hình 7A). Cường độ màu đậm hay nhạt phụ thuộc vào khả năng sinh IAA của từng chủng vi khuẩn. Dịch nuôi cấy hai chủng XL3.1 và RL4 đã thay đổi màu sau khi bổ sung thuốc thử Salkowski, chứng tỏ chúng đã tổng hợp phytohormone IAA.



Hình 7. Khả năng sinh IAA (A) và cố định nitơ (B) của chủng XL3.1 và RL4

Chủng XL3.1 và RL4 được nuôi trên đĩa petri chứa môi trường Buck's không có nitơ, chủng nào có khả năng mọc được chứng tỏ có khả năng cố định N. Kết quả thu được cả hai chủng đều có khả năng cố định N tự do (Hình 7B). Trần Thị Giang và cộng sự năm 2014 cũng đã phân lập được 63 chủng vi sinh vật vừa có khả năng cố định N và phân giải phosphate khó tan.

IV. KẾT LUẬN

- 25 chủng vi sinh vật có khả năng phân giải phosphate khó tan được phân lập và tuyển chọn từ các mẫu đất thu thập tại Vườn Quốc gia Xuân Liên, trong đó hai chủng XL3.1 và RL4 vừa có hoạt tính phân giải phosphate mạnh nhất (lần lượt đạt 470,47 µg/ml và 459,58 µg/ml),

- Hai chủng XL3.1 và RL4 sinh trưởng phát triển tốt và biểu hiện hoạt tính phân giải phosphate mạnh tại 25 - 30°C, pH7, nguồn carbon, nitơ thích hợp nhất là glucose, tiếp theo là lactose, maltose, pepton, yeast extract và KNO₃. Đây là các chủng vi sinh vật có tiềm năng bổ sung vào các chế phẩm hoặc phân bón sinh học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Văn Giang, Hoàng Thị Vân, Trần Thị Đào, Trần Thị Huế, 2015. Phân lập và nghiên cứu đặc điểm của một số chủng vi khuẩn có khả năng phân giải phốt phát khó tan trong đất. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 13(2A): 753-762.

Trần Thị Giang, Nguyễn Thị Quyên, Cao Ngọc Diệp, 2014. Phân lập và nhận diện vi khuẩn vùng rễ kích thích sinh trưởng (PGPR) từ một số loại rau ăn lá trồng tại thành phố Cần Thơ. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ, Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học*, 35: 65-73.

Trần Thị Huế, Tống Kim Thuần, Nguyễn Văn Giang, 2015. Phân lập và tuyển chọn các chủng vi sinh vật phân giải phốt phát sắt, phốt phát nhôm từ đất trồng chè Shan Yên Bái. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, Số 6(59), 97-102.

Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 10784: 2015 về Vi sinh vật - Xác định khả năng sinh tổng hợp axit 3-indol-acetic (IAA).

Buddhi Charana Walpola and Min-Ho Yoon, 2013. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria and their co-inoculation efficiency on tomato plant growth and phosphorous uptake. *African Journal of Microbiology Research*, Vol. 7(3):266-275.

Chung H, Park M, Madhaiyan M, Seshadri S, Song J, Cho H, Sa T, 2005. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of crop plants of Korea. *Soil Biol Biochem* 37 (10):1970-1974.

Havlin, J.L., J.D. Beaton, S.L. Tisdale, and W.L. Nelson. 1999. Soil Fertility and Fertilizers. 6th Edition. *Prentice Hall. Upper Saddle River, NJ*. 499 p.

Kucey, R. M. N., 1983. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. *Can. J. Soil Sci.* 63:671-678.

Lowell Busman, John Lamb, Gyles Randall, George Rehm, and Michael Schmitt, 2009. The nature of phosphorus in soils. University of Minnesota <http://www.extension.umn.edu/>

Mardad I, Serrano A, Soukri A., 2014. Effect of Carbon, Nitrogen Sources and Abiotic Stress on Phosphate Solubilization by Bacterial Strains Isolated from a Moroccan Rock Phosphate Deposit. *J Adv Chem Eng* 1:102.

Qurban Ali Panhwar, Radziah Othman, Zaharah Abdul Rahman, Sariah Meon and Mohd Razi Ismail, 2011. Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from aerobic rice. *African Journal of Biotechnology* Vol. 11(11), pp. 2711-2719.

Sharma Seema B, Riyaz Z Sayyed, Mrugesh H Trivedi and Thivakaran A Gobi, 2013. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *Springer Plus* 2013, 2:587.

Sonia Sethi & Saksham Gupta, 2016. Optimisation of Parameters for Fermentation Conditions of Phosphate Solubilising Bacteria. *G.J.B.A.H.S.*, - Vol.5(2):35-39.

Tofazzal Islam Md., Abhinandan Deora, Yasuyuki Hashidoko, Atiqur Rahman, Toshiaki Ito and Satoshi Tahara, 2007. Isolation and Identification of Potential Phosphate Solubilizing Bacteria from the Rhizosphere of *Oryza sativa* L. cv. BR29 of Bangladesh. <http://bitlsbmrau.org/wp-content/uploads/2014/01/PSB-ZNC2007.pdf>

Talat Yasmeen Mujahid, Syed Abdus Subhan, Abdul Wahab, Javeria Masnoon, Nuzhat Ahmed and Tanveer Abbas, 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*, 64-70.

Isolation and selection of potential phosphate solubilizing bacterial strains from soil of Xuan Lien National park

Nguyen Van Giang, Nguyen Duc Thai

Abstract

This study was conducted to isolate and select microbial strains that can solubilize phosphate from soil of Xuan Lien National park. 25 bacterial strains which could solubilize phosphate from soil samples of Xuan Lien National park were isolated. Based on concentration of PO_4^{3-} released in cultivation media, two strains XL3.1 and RL4 were selected. Strains XL3.1 and RL4 exhibited N_2 -fixing and IAA producing ability. When culturing at 25-30°C, pH7 in medium with suitable carbon and nitrogen sources such as glucose, lactose, maltose, peptone, yeast extract and KNO_3 , these two strains developed well and expressed the highest capability of phosphate solubilization.

Key words: Phosphate solubilizing microorganisms (PSM), N_2 -fixing, IAA production

Ngày nhận bài: 6/6/2017

Ngày phản biện: 13/6/2017

Người phản biện: PGS.TS. Lê Như Kiều

Ngày duyệt đăng: 25/6/2017

TUYỂN CHỌN CHỦNG NẤM MEN, NẤM MỐC TỪ BÁNH MEN LÁ ỨNG DỤNG TRONG NÂNG CAO CHẤT LƯỢNG RƯỢU LÀNG NGHỀ TẠI HÀ GIANG

Phạm Anh Tuấn¹, Hoàng Văn Đạt¹, Hồ Tuấn Anh²

TÓM TẮT

Nghiên cứu tiến hành tuyển chọn chủng nấm men, nấm mốc từ các vi sinh vật có trong các loại bánh men của các làng nghề sản xuất rượu tại các huyện Hoàng Su Phì và Quản Bạ, tỉnh Hà Giang. Kết quả đã tuyển chọn được chủng nấm mốc *Aspergillus niger* NLN.218 hỗ trợ thủy phân tinh bột và chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* RLN.168 có hiệu suất lên men đạt 93,07% ở nồng độ đường 18,14%, nồng độ cồn đạt 11,2% v/v. Kết quả đánh giá cảm quan cho thấy tất cả các mẫu thử nghiệm có điểm cảm quan thị hiếu cao hơn mẫu đối chứng được sản xuất từ loại bánh men truyền thống. Triển khai sản xuất thử nghiệm ở quy mô rộng hơn, kết quả đạt được cho thấy hiệu suất trung bình đạt từ 1,29 - 1,514 kg nguyên liệu/ lít rượu 30% v/v, tăng 6,5 - 24% so với bánh men lá truyền thống.

Từ khóa: Nấm mốc, nấm men, rượu làng nghề, bánh men lá, đánh giá cảm quan

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo thống kê của sở Công thương tỉnh Hà Giang, đến năm 2014, toàn tỉnh có 17 cơ sở tham gia sản xuất kinh doanh rượu chủ yếu theo mô hình Hợp tác xã với năng lực sản xuất khoảng 160.000 lít/năm. Các thương hiệu rượu truyền thống đã đạt được nhiều giải thưởng chất lượng bao gồm rượu Nàng Đôn xã Nàng Đôn, huyện Hoàng Su Phì, rượu Thanh Vân xã Thanh Vân, huyện Quản Bạ. Tuy nhiên do điều kiện sản xuất thủ công chủ yếu dựa trên kinh nghiệm của người sản xuất nên chất lượng rượu cũng như hiệu suất thu hồi chưa ổn định (HABECO, 2103).

Đối với sản phẩm rượu làng nghề, chất lượng bánh men quyết định hiệu suất lên men và hương, vị rượu sản phẩm. Bánh men là môi trường nuôi dưỡng và bảo quản hệ vi sinh vật có lợi trong sản xuất rượu thủ công. Nấm mốc sinh tổng hợp enzyme α -amylase

và glucoamylase xúc tác quá trình thủy phân tinh bột tạo thành dextrin và các loại đường có khả năng lên men. Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* có vai trò quan trọng trong quá trình chuyển hóa đường thành cồn, tạo các thành phần hương và các sản phẩm phụ khác của quá trình lên men (Lương Đức Phẩm, 2009). Nghiên cứu thành phần vi sinh vật có trong bánh men rượu tại các làng nghề Hà Giang, nhóm nghiên cứu của Viện Kỹ thuật Bia - Rượu - Nước giải khát đã xác định được 4 chủng nấm mốc là *Aspergillus oryzae* NLN.216, *Aspergillus niger* NLN.217, *Aspergillus niger* NLN.218, *Mucor sp.* NLN.219 và 05 chủng nấm men là *Saccharomyces cerevisiae* RLN.168, RLN.169, RLN.170, RLN.171, RLN.172. Nhằm nâng cao chất lượng và duy trì được các tính chất cảm quan đặc trưng của rượu làng nghề, việc tuyển chọn chủng nấm men, nấm mốc từ các vi sinh vật từ nguồn bánh men lá của các làng nghề, ứng dụng sản xuất bánh men giống là cần thiết.

¹ Viện kỹ thuật Bia - Rượu - Nước giải khát, Tổng Công ty cổ phần Bia - Rượu - Nước giải khát Hà Nội

² Trường Đại học Kinh tế Kỹ thuật Công nghiệp