

lục tố trong lá giảm nhẹ; hàm lượng Cl và Na (%) tích lũy trong lá thấp hơn so với các giống mẫn cảm với mặn.

- Các giống bưởi Bông, bưởi Đường Hồng, bưởi Hồng Đường, bưởi Bung, Sảnh, Tắc, Tắc x bưởi Lòng Cổ Cò, Tắc x bưởi Da Xanh có khả năng chống chịu mặn ở nồng độ NaCl 8<sup>0</sup>/<sub>00</sub> trong điều kiện nhà lưới.

## **2. Đề nghị**

Tiếp tục đánh giá khả năng tiếp hợp của các gốc ghép được chống chịu mặn được tuyển chọn với các giống cây có mùi thương phẩm để chọn ra tổ hợp ghép tốt nhất cho điều kiện mặn của vùng đồng bằng sông Cửu Long.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Abou-El-Khashab A.M., El-Sammak A.F., Elaidy A.A., Salama M.I., Riege M.(1997). *Paclbutrazol reduces some negative effects of salt stress in peach*. J.Am. Soc. Hort. Sci. 122. P: 43-46.

2. Banuls J., Serna M.D., Legaz F., Talon M., Primo-Millo E.(1996). *Factors underlying the response to salt stress in citrus plants*. Proc. Int. Soc. Citriculture 2. P: 1057-1061.
4. El- Hammady, A.M.; Abou- Rawash, M; Abou- Aziz, A.; Abdel- Hamid, N.; Abdel- Noneim, E.(1995). *Impact of irrigation with salinized water on growth and mineral content of some citrus rootstock seedlings*. Horticulture Abstracts volume 67. No.6. P: 675.
5. Palaniappan, R., and K.L. Chadha.(1993). *Salt tolerance in fruit crops*. Advances in horticulture. volume 2- Fruit crops: Part 2. Malhotra Publishing House. India. P: 1073-1087.
6. Salem, A.T., and El-Khorieby M.K.(1989). *Response of some citrus rootstocks to different types of chloride salt treatments*. Ann. Agric. Sci.Cairo 341. P:1123-1137.

**Người phản biện:**  
**TS. Nguyễn Văn Hòa**

## **KHẢ NĂNG SỬ DỤNG CHẾ PHẨM XẠ KHUẨN TRONG XỬ LÝ PHẾ THẢI CHĂN NUÔI LỢN DẠNG RẪN**

Lương Hữu Thành, Lê Thị Thanh Thủy, Hứa Thị Sơn,  
Nguyễn Ngọc Quỳnh, Nguyễn Thị Hằng Nga,  
Phạm Văn Toàn, Nguyễn Văn Cách

### **SUMMARY**

**“Study on Actinomyces production to rapid composting pig’s waste to makes organic fertilizer**

“Study on Actinomyces production to rapid composting pig’s waste to makes organic fertilizer” is conducted to produce a bio production apply for rapid composting of pig’s waste with the aim restrict it’s environment poluttion and to makes organic fertilizer production for agriculture. Species of Actinomyces are selected have capable of break up organic compounds as cellulose, starch. According to European Comunity, Actinomyces are selected have high biosaferty and they are permission to apply in common. After treatment with Actinomyces production, the production from pig’s waste can uses as organic fertilizer for cultivation.

Keywords: Actinomyces production.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trên thị trường Việt Nam hiện đang tồn tại nhiều loại sản phẩm vi sinh vật sử dụng cho xử lý phế thải hữu cơ, bao gồm cả xử lý phế thải chăn nuôi (chế phẩm Biomix, Compost Maker, EM, EMUNI.v.v.) tuy nhiên các công trình công bố liên quan đến xử lý chất thải chăn nuôi vẫn còn rất hạn chế, ứng dụng các chế phẩm vi sinh vật trong xử lý phế thải chăn nuôi còn ở phạm vi và qui mô nhỏ. Các chế phẩm vi sinh vật nghiên cứu và phát triển tại thị trường Việt Nam đều có đặc điểm chung là được sản xuất dựa trên tổ hợp các vi sinh vật: xạ khuẩn, vi khuẩn, nấm mốc, nấm men và các chủng vi sinh vật này có hoạt tính chuyển hóa hợp chất hữu cơ giàu cacbon, photphat khó tan, protein, lipid...

Xạ khuẩn là nhóm vi sinh vật phân bố rộng rãi trong tự nhiên và có thể tìm thấy trong hầu hết các môi trường: đất, nước, không khí, thậm chí cả những môi trường mà cả vi khuẩn và nấm mốc không phát triển được. Với bộ gen lớn gấp đôi so với vi khuẩn nên khả năng trao đổi chất của xạ khuẩn rất đa dạng. Trong tự nhiên xạ khuẩn đóng vai trò quan trọng trong chuyển hóa các hợp chất hữu cơ, axit amin... nhờ các enzym ngoại bào, đặc biệt xạ khuẩn có khả năng thích nghi với điều kiện ngoại cảnh khắc nghiệt cao. Cho đến nay chưa có chế phẩm xạ khuẩn nào được nghiên cứu sử dụng cho mục đích xử lý phế thải hữu cơ nói chung và phế thải chăn nuôi dạng rắn nói riêng.

Nhằm tiếp tục tạo ra chế phẩm vi sinh vật phục vụ cho nhu cầu ngày càng lớn của việc xử lý phế thải chăn nuôi làm phân bón sinh học, việc kế thừa các kết quả nghiên cứu và tiếp tục tuyển chọn những nhóm vi sinh vật có khả năng thích nghi, sinh trưởng tốt, hoạt tính sinh học cao và ổn định, thân thiện với môi trường nhằm mục đích nâng cao hiệu quả xử lý phế thải chăn nuôi có ý nghĩa hết sức thiết thực. Với mục đích trên, đề tài: ***“Nghiên cứu sử dụng chế phẩm xạ khuẩn xử lý nhanh phế thải chăn nuôi lợn làm phân bón hữu cơ sinh học”*** được thực hiện với mục tiêu ứng dụng và phát triển

công nghệ vi sinh vật trong xử lý chất thải rắn phát thải trong quá trình chăn nuôi, tái sử dụng phế thải chăn nuôi cho sản xuất nông nghiệp và hướng tới một nền nông nghiệp hữu cơ bền vững.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Vật liệu nghiên cứu

Bộ chủng giống xạ khuẩn phân giải cellulose được lưu giữ tại Viện Môi trường Nông nghiệp

Hóa chất và thiết bị cần thiết trong phân tích, đánh giá các chủng xạ khuẩn.

### 2. Phương pháp nghiên cứu

+ Sử dụng các phương pháp nghiên cứu thường qui được sử dụng rộng rãi trong phòng thí nghiệm về vi sinh vật.

+ Xác định tên các chủng xạ khuẩn: sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử giải trình tự đoạn gen 16s ARN riboxom của các chủng vi khuẩn nghiên cứu, so sánh với các trình tự có sẵn trong ngân hàng gen quốc tế EMBL bằng phương pháp FASTA 33 để định loại đến loài các chủng vi sinh vật. Cặp môi được thiết kế dựa trên trình tự đoạn gen mã hóa 16s ARN riboxom của chủng *E.coli* (J01695), tương ứng với các vị trí nucleotid 15-33 (cho môi xuôi) và 1548-1532 (cho môi ngược). Trình tự nucleotit của các chủng nghiên cứu được giải trình tự trên máy tự động ABI-377 của Hãng Perkin-Elmer (Mỹ), sau đó được xử lý bằng chương trình SeqEd1.03 và chương trình AssemblyLIGN 1.9 trong hệ chương trình MacVector 6.5.3 (Oxford Molecular Inc.), thí nghiệm được tiến hành tại Trung tâm Công nghệ Sinh học - Đại học Quốc gia Hà Nội. Truy cập Ngân hàng Gen bằng chương trình Entrez/nucleotide/ tìm kiếm các trình tự gen 16s ARN riboxom của vi khuẩn. So sánh đối chiếu và xử lý số liệu của tất cả các chuỗi bằng chương trình GENDOC2.5. Thành phần nucleotit được thu nhận bằng cách sử dụng bộ mã của vi sinh vật bậc thấp (vi khuẩn) trong Ngân hàng Gen (bảng mã di truyền số 11) thông qua chương trình

GENDOC 2.5. Tên vi sinh vật được xác định với xác suất tương đồng cao nhất.

### III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 1. Tuyển chọn bộ chủng xạ khuẩn

- *Chủng xạ khuẩn phân giải cellulose*

Để phục vụ cho công tác nghiên cứu sản xuất chế phẩm xạ khuẩn xử lý phế thải

chăn nuôi, đề tài đã tiến hành lựa chọn bộ chủng xạ khuẩn có hoạt tính sinh học phân giải cellulose dựa vào bộ sưu tập giống vi sinh vật được lưu giữ tại Bộ môn Sinh học Môi trường - Viện Môi trường Nông nghiệp. Kết quả tuyển chọn chủng xạ khuẩn được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Hoạt tính sinh học của các chủng xạ khuẩn.

Ký hiệu chủng	Mật độ tế bào (CFU/ml)	Hoạt tính phân giải cellulose (qua hiệu số đường kính vòng phân giải CMC (D-d) cm)	Hàm lượng cellulose trong phế thải chăn nuôi lợn (%)		
			Trước xử lý	Đối chứng	Xử lý với dịch xạ khuẩn
SHX.01	3,8.10 <sup>8</sup>	+	9	8,6	8,5
SHX.02	3,8.10 <sup>8</sup>	2,2			8,4
SHX.03	4,9.10 <sup>8</sup>	5,6			3,2
SHX.04	3,0.10 <sup>8</sup>	-			8,6
SHX.05	4,2.10 <sup>8</sup>	-			8,6
SHX.06	4,5.10 <sup>8</sup>	4,8			4,0

Ghi chú: (+): Quan sát được vòng phân giải nhưng đường kính (Đk) vòng phân giải nhỏ < 1 cm.

(-): Hoạt tính không xác định được.

Kết quả nghiên cứu cho thấy trong 6 chủng xạ khuẩn được phân lập từ các nguồn gốc khác nhau, chủng xạ khuẩn có ký hiệu SHX.03 và SHX.06 có hoạt tính phân giải cellulose thông qua đường kính vòng phân giải CMC cao (D-d = 4,8÷5,6 cm) và khi được bổ sung vào phế thải chăn nuôi đã làm giảm hàm lượng cellulose có

trong phế thải chăn nuôi lợn đã giảm đến >55% so với ban đầu và không bổ sung chế phẩm vi sinh vật.

- Chủng xạ khuẩn phân giải tinh bột:

Kết quả tuyển chọn chủng xạ khuẩn có hoạt tính phân giải tinh bột được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Hoạt tính sinh học của chủng xạ khuẩn

Ký hiệu chủng	Mật độ tế bào (CFU/ml)	Hoạt tính phân giải tinh bột ((D-d) cm)	Hàm lượng tinh bột trong phế thải chăn nuôi lợn (%)		
			Trước xử lý	Đối chứng	Xử lý với dịch xạ khuẩn
SHX.11	3,6.10 <sup>8</sup>	2,8	20	18	8
SHX.12	4,5.10 <sup>8</sup>	+			17
SHX.13	3,4.10 <sup>8</sup>	+			17
SHX.14	4,2.10 <sup>8</sup>	-			18
SHX.15	3,5.10 <sup>8</sup>	4,1			3,0
SHX.16	4,0.10 <sup>8</sup>	+			17

Ghi chú: (+): Quan sát được vòng phân giải nhưng Đk vòng phân giải nhỏ < 1 cm.

(-): Hoạt tính không xác định được.

Kết quả nghiên cứu cho thấy các chủng xạ khuẩn khác sử dụng trong nghiên cứu đều có hoạt tính phân giải tinh bột trong đó chủng SHX.11 và SHX.15 có hoạt tính phân giải tinh bột cao nhất. Sau 72 giờ nuôi cấy lác chủng SHX.11 đạt mật độ tế bào  $>10^8$  CFU/ml, đường kính vòng phân giải tinh bột (D-d) = 2,8 cm. Chủng SHX.15 có đường kính vòng phân giải tinh bột (D-d) = 4,2 cm và mật độ tế bào đạt  $>10^8$  CFU/ml sau 72 giờ nuôi cấy lác. Khi bổ sung chủng SHX.11 và SHX.15 vào phế thải chăn nuôi, hàm lượng tinh bột trong phế thải chăn nuôi lợn đã giảm đến  $>60-85\%$  so với ban đầu và không bổ sung chế phẩm vi sinh vật.

Dựa vào kết quả nghiên cứu thu được trong bảng số liệu 1 và 2, đề tài lựa chọn chủng xạ khuẩn có ký hiệu SHX.03,

SHX.06, SHX.11 và SHX.15 làm vật liệu phục vụ cho các nghiên cứu tiếp theo.

## 2. Khả năng tổ hợp các chủng xạ khuẩn sử dụng cho xử lý phế thải chăn nuôi

- *Mối quan hệ giữa các chủng xạ khuẩn được lựa chọn*

Trên cơ sở hoạt tính sinh học đã biết của các chủng xạ khuẩn lựa chọn, đề tài đã tiến hành nghiên cứu khả năng các tổ hợp của các chủng xạ khuẩn sử dụng cho xử lý phế thải chăn nuôi dạng rắn. Thử nghiệm xác định đặc tính cạnh tranh, đối kháng và khả năng tồn tại của các chủng xạ khuẩn đã được tuyển chọn được triển khai theo phương pháp cấy vạch trên môi trường thạch đĩa Gause và ảnh chụp kết quả nghiên cứu được trình bày trong hình 1.



Hình 1: Mối quan hệ giữa các chủng xạ khuẩn

Kết quả nghiên cứu cho thấy không xuất hiện vùng ức chế tại các điểm giao nhau giữa các đường cấy các chủng SHX.03, SHX.06 và SHX.15; trong khi đó chủng SHX.11 không phát triển khi được cấy cùng với chủng SHX.03 và SHX.06. Kết quả nghiên cứu thu được cho phép rút ra tổ hợp gồm 3 chủng xạ khuẩn là SHX.03, SHX.06 và SHX.15, các chủng xạ khuẩn này có khả năng cùng tồn tại mà không cạnh tranh hay ức chế lẫn nhau.

## 3. Mức độ an toàn sinh học của các chủng xạ khuẩn

Với mục tiêu phát triển chế phẩm sinh học thân thiện với môi trường, an toàn với

người và động thực vật, đề tài đã tiến hành giải trình tự đoạn gen mã hoá 16S rDNA đối với các chủng xạ khuẩn SHX.03, SHX.06 và SHX.15 để định tên đến loài các chủng xạ khuẩn. Kết quả định tên cho thấy chủng SHX.03 có trình tự 16S rDNA tương đồng với chủng: *Streptomyces thermocoprophilus*; chủng SHX.06 có trình tự 16S rDNA tương đồng với chủng: *Streptomyces livido clavatus*\_AB184539; chủng SHX.11 có trình tự 16S rDNA tương đồng tương đồng với *Streptomyces rochei*\_GQ392058; chủng SHX.15 có trình tự 16S rDNA tương đồng tương đồng với *Streptomyces griseosporus*\_AB184419.

Đối chiếu với danh mục các loài vi sinh vật an toàn của Cộng đồng châu Âu cũng như danh mục các loài vi sinh vật bị hạn chế sử dụng cho thấy các chủng xạ khuẩn lựa chọn đều không nằm trong nhóm vi sinh vật bị hạn chế sử dụng. Cùng với kết quả phân loại theo cấu trúc 16S rDNA nêu trên, đề tài đã xác định được các chủng SHX.03, SHX.06 và SHX.15 có thể ứng dụng trong xử lý phế thải chăn nuôi.

**Bảng 3. Kết quả định tên các chủng xạ khuẩn**

Ký hiệu chủng	Tên xác định	An toàn sinh học
SHX.03	<i>Streptomyces thermocoprophilus</i>	Mức 2
SHX.06	<i>Streptomyces livido clavatus</i> _AB184539	Mức 2
SHX.15	<i>Streptomyces griseosporus</i> _AB184419	Mức 2

**4. Khả năng sử dụng chế phẩm xạ khuẩn trong xử lý phế thải chăn nuôi lợn dạng rắn**

Đề tài còn tiến hành đánh giá sự thay đổi tính chất lý, hóa học của các nguồn

nguyên liệu trước và sau khi ủ, có so sánh với mẫu đối chứng không sử dụng chế phẩm xạ khuẩn và thu được kết quả như sau:

**Bảng 4. Thành phần lý, hoá học của phế thải chăn nuôi lợn.**

Mẫu	Chỉ tiêu phân tích						
	Độ ẩm (%)	pH	Cellulose (%)	Tinh bột (%)	N (%)	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (%)	K <sub>2</sub> O (%)
Chưa xử lý	72	5,3	9,6	19	0,8	0,17	0,37
CT đối chứng	55	5,8	8,3	16	0,6	0,16	0,35
CT thí nghiệm	25	6,9	3,1	2	1,4	0,30	0,37

Số liệu bảng 4 cho thấy có sự thay đổi rõ rệt về chỉ tiêu cellulose và tinh bột trong công thức có sử dụng chế phẩm xạ khuẩn, hàm lượng cellulose đã giảm đến 68% và hàm lượng tinh bột đã giảm đến 90%, kết quả này chứng tỏ các chủng xạ khuẩn trong chế phẩm đã phát huy được tác dụng phân hủy các hợp chất hữu cơ giàu cacbon trong phế thải chăn nuôi. Kết quả phân tích cũng cho thấy độ ẩm của nguyên liệu đã giảm

manh so với công thức đối chứng và phế thải chăn nuôi không xử lý, điều này là do nhiệt độ đồng ủ tăng cao là một trong những tác nhân làm khô nguyên nguyên liệu. Hàm lượng N tổng số, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> tổng số trong công thức có sử dụng xạ khuẩn tăng hơn so với phế thải chăn nuôi, điều này có thể do độ ẩm của nguyên liệu đã giảm nhiều so với ban đầu dẫn đến sự thay đổi về thành phần trong sản phẩm tạo thành.

**Bảng 5. Chất lượng của phân bón HCSH chế biến từ phế thải chăn nuôi**

Chất lượng phân HCSH theo Quyết định số 100/2008 QĐ- BNN		Phân bón HCSH chế biến từ phế thải chăn nuôi lợn
Độ ẩm (%)	≤ 20	20
pH	Không qui định	6,9
OM (%)	≥ 22,0	24,5
N <sub>ts</sub> (%)	≥ 2,5	2,5
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (%)	Không qui định	0,34
K <sub>2</sub> O (%)	Không qui định	0,40
Độ hoai mục	Không tăng quá 0,5 <sup>0</sup> C	Không tăng quá 0,5 <sup>0</sup> C
Mật độ <i>Coliform</i>	0 CFU/25g	0 CFU/25g
Mật độ <i>Salmonella</i>	0 CFU/25g	0 CFU/25g

Số liệu trong bảng 4 ngoài các chỉ tiêu dinh dưỡng như OM, Nts, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, K<sub>2</sub>O, chỉ tiêu *Coliform* và *Salmonella* cũng đảm bảo theo yêu cầu của Quyết định số 100/2008 QĐ- BNN, điều này chứng tỏ nhiệt độ trong đống ủ lên cao không những đẩy nhanh quá trình chuyển hóa hợp chất hữu cơ mà còn có tác dụng ức chế và tiêu diệt vi sinh vật gây bệnh trong phế thải chăn nuôi lợn. Kết quả trình bày trong bảng 4, 5 cho thấy sản phẩm phân bón hữu cơ sinh học chế biến từ phế thải chăn nuôi dạng rắn nhờ tác nhân sinh học là xạ khuẩn đảm bảo chất lượng theo quyết định 100 của Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, đủ điều kiện để đưa ra áp dụng rộng rãi đối với cây trồng.

#### IV. KẾT LUẬN

- Đã tuyển chọn được 01 tổ hợp gồm 03 chủng xạ khuẩn có hoạt tính phân giải cellulose và tinh bột sử dụng để sản xuất chế phẩm xạ khuẩn trong xử lý phế thải chăn nuôi lợn dạng rắn.

- Kết quả phân loại xác định các chủng xạ khuẩn trong tổ hợp thuộc các loài *Streptomyces thermocoprophilus*, *Streptomyces lividoclavatus*, *Streptomyces griseosporus*. Các chủng xạ khuẩn này được xếp vào nhóm vi sinh vật có đo an toàn sinh học cấp 2, có thể ứng dụng rộng rãi trong sản xuất chế phẩm vi sinh vật xử lý nhanh phế thải chăn nuôi.

Kết quả đánh giá khả năng sử dụng chế phẩm xạ khuẩn trong xử lý nhanh phế thải lợn dạng rắn cho thấy sản phẩm sau xử lý đảm bảo chất lượng theo Quyết định số 100/2008 QĐ - BNN của Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bùi Huy Hiền và cộng sự (2011), Báo cáo tổng kết nghiệm thu đề tài “Nghiên cứu chế phẩm vi sinh vật xử lý nhanh phế thải chăn nuôi” Thuộc chương trình Công nghệ Sinh học - Bộ NN& PTNT.
2. TCVN 6168: 2002, Phân bón VSV phân giải xenluloza - cellulose degrading microbial fertilizer
3. *Bergey's manual of determination of bacteria* (1986), Academic pressInc, London and New York
4. Coughlan M. and Mayer F. (1998), *Cellulose decomposing bacteria and their enzyme system*, The procyotes, chapter 20, 460-502
5. R.V. Mirsa, R.N. Roy, H. Hiraoka (2003), *On-farm composting method*, Food and Agriculture Organization of the United nations- Rome.

**Người phản biện:**

**TS. Nguyễn Hồng Sơn**

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU TUYỂN CHỌN VÀ KHẢO NGHIỆM GIỐNG NHÃN TẠI HUYỆN SÔNG MÃ, TỈNH SƠN LA

Nguyễn Văn Nghiêm, Nguyễn Thị Bích Hồng,  
Ngô Xuân Phong, Nguyễn Ngọc Tú

#### SUMMARY

##### Selection of longan varieties for Song Ma district, Sonla province

Song Ma - a mountainous District of Son La Province, is a specialization area (about 5000 ha) for Longan production. In bumper crops farmers can get 18 - 20 thousand tons productivity a year. However, product quality and appearance has been remained at low standard due to the fact that seedlings are propagated from non - selection or unclear original seed.

Aiming to improve Longan quality and production benefit for Song Ma, the Fruit and Vegetable Research Institute (FAVRI) under ADB funding, conducted the research toward improved grafting