



VI SINH VẬT PHÂN GIẢI CELLULOSE MẠNH TRONG SẢN XUẤT PHÂN HỮU CƠ TỪ PHẾ PHỤ PHẨM NÔNG NGHIỆP VÀ ẢNH HƯỞNG CỦA CHÚNG ĐỐI VỚI GIỐNG LẠC L14 TẠI HƯƠNG TRÀ, THỪA THIÊN HUẾ

Nguyễn Thị Thu Thủy*, Nguyễn Tiến Long

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, 102 Phùng Hưng, Huế, Việt Nam

Tóm tắt: Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tuyển chọn được chủng xạ khuẩn 22TH và vi khuẩn NH1 có khả năng phân giải cellulose mạnh. Tiếp đến, 2 chủng vi sinh vật này được phối trộn với chất mang là cám gạo và bột bắp theo tỷ lệ 1:3 với 50 ml nước cất thành trùng cho 1 kg. Ủ phân hữu cơ từ phế phụ phẩm nông nghiệp với hỗn hợp trên và so sánh chất lượng phân bón, khả năng phân giải cellulose với công thức không bổ sung hỗn hợp vi sinh vật (mẫu đối chứng). Kết quả cho thấy ủ phế phụ phẩm nông nghiệp với hai chủng vi sinh vật tuyển chọn cho hàm lượng cellulose giảm 55,87 % so với đối chứng và hàm lượng đạm, lân, kali tổng số đều tăng hơn so với đối chứng. Thử nghiệm ảnh hưởng của các liều lượng phân ủ khác nhau đến giống lạc L14 tại thị xã Hương Trà, tỉnh Thừa Thiên Huế cho thấy bón 8 hoặc 9 tấn phân hữu cơ ù/ha có ảnh hưởng tốt nhất đến sinh trưởng, phát triển và năng suất thực thu của giống lạc L14. Phân tích di truyền phân tử cho thấy chủng xạ khuẩn 22TH đồng hình 100 % với loài *Streptomyces olivochromogenes* và chủng vi khuẩn NH1 đồng hình 99 % với loài *Bacillus amyloliquefaciens*.

Từ khóa: cellulose, phân hữu cơ, phế phụ phẩm nông nghiệp, giống lạc L14

1 Đặt vấn đề

Hiện nay, vấn đề ô nhiễm ở vùng nông thôn đang ở mức đáng báo động, không chỉ từ việc sử dụng tràn lan thuốc bảo vệ thực vật, phân bón hóa học mà còn một phần ảnh hưởng không nhỏ từ việc sử dụng phế phụ phẩm nông nghiệp chưa hợp lý. Sau mùa thu hoạch, hầu hết phụ phẩm từ rom rạ, rế, thân cây... thường bị vứt lại hoặc đốt trên đồng ruộng gây ô nhiễm môi trường trầm trọng. Ở khía cạnh môi trường, phế phụ phẩm nông nghiệp là một nguồn tài nguyên. Việc sử dụng phế phụ phẩm nông nghiệp làm phân hữu cơ là giải pháp tối ưu hiện nay vì vừa giảm chất thải lại vừa tận dụng để làm phân hữu cơ cung cấp dinh dưỡng cho cây trồng [11].

Việc xử lý phế phụ phẩm nông nghiệp bằng công nghệ vi sinh, đặc biệt sử dụng các enzyme cellulase, peroxidase ngoại bào từ vi sinh vật đem lại rất nhiều lợi ích [10]. Các loài vi sinh vật này đều có sẵn trong tự nhiên mà số lượng rất phong phú [3]. Chúng thuộc nhóm nấm

* Liên hệ: nguyenthithuthuy@huanf.edu.vn

sợi, xạ khuẩn, vi khuẩn và trong một số trường hợp còn thấy cả nấm men cũng tham gia quá trình phân giải này. Các nhà khoa học trên thế giới và ở Việt Nam đã nghiên cứu tuyển chọn được nhiều loài vi sinh vật có khả năng phân giải xenlulo mạnh nhằm ứng dụng trong phân hủy phế phụ phẩm nông lâm nghiệp thành phân hữu cơ trả lại cho đất [1]; [9]; [7].

Như vậy, việc nghiên cứu tuyển chọn các vi sinh vật có khả năng phân giải phế phụ phẩm nông nghiệp làm cơ chất để sản xuất phân hữu cơ sẽ đem lại nhiều lợi ích. Một mặt, vừa giảm ô nhiễm môi trường nông thôn, giảm phát thải khí nhà kính; mặt khác, cung cấp nguồn dinh dưỡng thiết yếu cho cây trồng. Do đó việc tiến hành nghiên cứu tuyển chọn các chủng vi sinh vật phân giải cellulose mạnh để sản xuất phân hữu cơ vi sinh từ phế phụ phẩm nông nghiệp và nghiên cứu ảnh hưởng của chúng đối với giống lạc L14 là cần thiết và có ý nghĩa quan trọng.

2 Vật liệu và phương pháp

2.1 Vật liệu

– 2 chủng nấm 16XC, 2 chủng xạ khuẩn 17TH và 22TH, 1 chủng vi khuẩn NH1 đã tuyển chọn và bảo quản tại Khoa Nông học, Trường Đại học Nông lâm, Đại học Huế.

– Phế thải nông nghiệp bao gồm: Rơm rạ sau khi thu hoạch, bèo tây, thân ngô, lạc đậu. Trong đó rơm rạ, thân ngô, lạc, đậu được thu ở các hộ nông dân và bèo tây được thu ở các ao hồ tại Hương Trà, Thừa Thiên Huế.

– Giống lạc L14: do trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Đậu đỗ - Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm chọn lọc.

2.2 Phương pháp

Xác định khả năng phân giải cellulose của các chủng nấm, xạ khuẩn và vi khuẩn

Khả năng phân giải cellulose của các chủng vi sinh vật được xác định bằng phương pháp khuếch tán enzyme cellulaze trên môi trường thạch đĩa (agar, CMC), nhuộm dung dịch Congo đỏ và đo đường kính vòng phân giải [12]; [4].

Ủ phế phụ phẩm nông nghiệp có sử dụng các chủng vi sinh vật tuyển chọn

– Nguyên liệu phế phụ phẩm bao gồm 200 kg rơm rạ, phế thải sau trồng nấm; 120 kg bèo tây; 80 kg thân cây ngô, đậu, lạc.

– Tạo hỗn hợp vi sinh vật: tiến hành cấy xạ khuẩn 22TH và vi khuẩn NH1 vào chất mang là cám gạo và bột bắp (tỷ lệ 3:1) với 50 ml nước cất vô trùng cho 1 kg. Tiến hành nuôi ở nhiệt độ

phòng thí nghiệm ($28 \pm 20^\circ\text{C}$) và sau 7 ngày đếm số lượng bào tử; kết quả thu được là: $5,06 \times 10^8$ CFU/g, phù hợp với tiêu chuẩn về chế phẩm vi sinh ($>10^8$ CFU/g) [6].

Bảng 1. Công thức thí nghiệm ủ phân hữu cơ

Công thức	Khối lượng phế phụ phẩm (kg)	Thành phần vi sinh vật phân giải cellulose	Tỷ lệ cấy giống (%)
I (Đối chứng)	200	Không bổ sung vi sinh vật	0
II	200	Bổ sung các chủng xạ khuẩn 22TH và vi khuẩn NH1	5

– Thí nghiệm ủ phân hữu cơ gồm 2 công thức (Bảng 1). Ủ hỗn hợp trên nền xi măng, trộn đều 200 kg nguyên liệu ủ + 0,4 kg vôi và 0,5 kg supe lân, ủ trong 7 ngày, sau đó trộn đều với hỗn hợp vi sinh vật, nén chặt, xếp thành đống cao 70 cm, phủ kín bạt. Thời gian ủ: 30 ngày [5].

– Sau 30 ngày ủ đánh giá hàm lượng đạm tổng số (N %) theo TCVN6498:1999, lân tổng số (P_2O_5 %) theo TCVN 8940:2011; kali tổng số (K_2O %) theo TCVN 8660:2011 và hàm lượng cellulose của công thức ủ có bổ sung hỗn hợp vi sinh vật so với đối chứng (không bổ sung vi sinh vật) để đánh giá hiệu quả của hỗn hợp vi sinh vật.

Định danh vi sinh vật tuyển chọn

Định danh bằng phương pháp giải trình tự đoạn gen mã hóa 16S rRNA của vi khuẩn NH1 và xạ khuẩn 22TH theo phương pháp của Sanger và cs, 1977 [8] sử dụng máy đọc trình tự tự động ABI PRISM 3100 Avant Data Collection v1.0 và Sequence Analysis. Trình tự của đoạn gene mã hóa 16S rRNA của mẫu được so sánh với các đoạn gene mã hóa 16S rRNA đã được công bố trên Blast Search. Sử dụng phần mềm Clustal X, Bioedit để phân loại chủng vi sinh vật.

Đánh giá ảnh hưởng của liều lượng phân hữu cơ vi sinh tạo ra đến sinh trưởng, phát triển và năng suất giống lạc L14

Thời gian thực hiện thí nghiệm: vụ lạc Xuân 2017 (12/1–20/5/2017)

Mật độ gieo trồng: 33 cây/m².

Thí nghiệm gồm 5 công thức được bố trí theo khối hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần nhắc lại. Diện tích ô thí nghiệm là 10 m², lượng phân bón như trong Bảng 2.

Các chỉ tiêu theo dõi:

– Chỉ tiêu sinh trưởng, phát triển và năng suất: Theo Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về khảo nghiệm giá trị canh tác và sử dụng của giống lạc (QCVN 01–57:2011/BNNPTNT).

– Chỉ tiêu về tính chất hoá học đất: Mẫu đất được lấy ở tầng 0–20 cm trước và sau thí nghiệm được phơi khô trong không khí và phân tích các chỉ tiêu sau: pH_{KCl} bằng phương pháp

pH mét. Hàm lượng các bon hữu cơ (OC %) theo TCVN 8941:2011; nitơ tổng số theo TCVN 6498:1999; phốt pho tổng số (P_2O_5 %) theo TCVN 8940:2011; kali tổng số (K_2O) theo TCVN 8660:2011.

– Hiệu quả kinh tế: Lãi thuần = Tổng thu – Tổng chi; VCR = Tổng thu tăng do sử dụng phân bón hữu cơ / tổng chi tăng do sử dụng phân hữu cơ.

Bảng 2. Công thức phân bón trong thí nghiệm

Công thức thí nghiệm	Lượng phân bón cho 1 ha
CT1 (đối chứng) = Nền	30 kg N + 60 kg P_2O_5 + 60 kg K_2O + 400 kg vôi
CT2	8 tấn phân chuồng + Nền
CT3	7 tấn phân ủ phế phụ phẩm + Nền
CT4	8 tấn phân ủ phế phụ phẩm + Nền
CT5	9 tấn phân ủ phế phụ phẩm + Nền

Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel 2007 và Statistix 10.0.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Tuyển chọn và định danh các chủng vi sinh vật phân giải cellulose mạnh

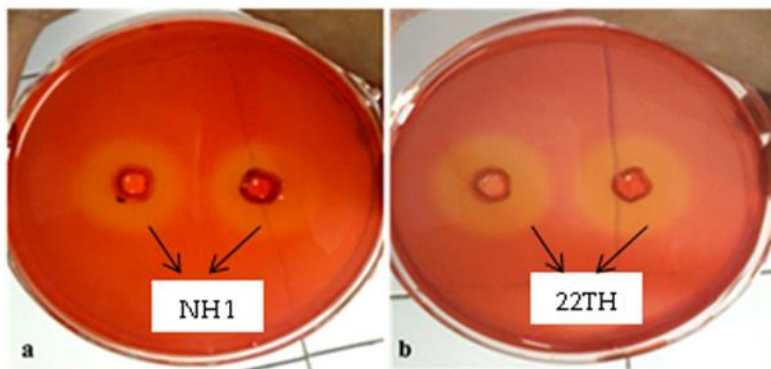
Tuyển chọn các chủng vi sinh vật có hoạt tính phân giải cellulose

Bảng 3 cho thấy đường kính vòng phân giải của chủng nấm đạt 21 mm, của 2 chủng xạ khuẩn lần lượt đạt 22,6 mm và 24,3 mm và của chủng vi khuẩn đạt 22,8 mm. So sánh đường kính vòng phân giải của các dịch chiết enzyme từ chủng nấm mốc 16XC, 2 chủng xạ khuẩn 17TH và 22TH và 1 chủng vi khuẩn NH1 cho thấy chủng xạ khuẩn 22TH và chủng vi khuẩn NH1 có hoạt lực mạnh hơn (Hình 1) nên chúng tôi chọn hai chủng này cho các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 3. Đường kính vòng phân giải cellulose của các chủng vi sinh vật tuyển chọn

Chủng vi sinh vật	Ký hiệu	Đường kính vòng phân giải $D - d$ (mm)
Nấm mốc	16XC	21,0 ^a ± 0,2
Xạ khuẩn	22TH	24,3 ^c ± 0,1
Xạ khuẩn	17TH	22,6 ^b ± 0,1
Vi khuẩn	NH1	22,8 ^b ± 0,2

Ghi chú: a, b, c chỉ ra các công thức có cùng ký tự trong cùng một cột không có sự sai khác tại mức có ý nghĩa 0,05



Hình 1. Đường kính vòng phân giải cellulose của 2 chủng vi sinh vật được tuyển chọn (a. chủng vi khuẩn NH1; b. chủng xạ khuẩn 22TH)

Đánh giá khả năng chuyển hóa phế phụ phẩm nông nghiệp của các chủng vi sinh vật tuyển chọn và định danh loài

Đánh giá khả năng chuyển hóa phế phụ phẩm nông nghiệp của các chủng vi sinh vật tuyển chọn

Để tìm hiểu khả năng phân giải phế phụ phẩm nông nghiệp giàu cellulose của 2 chủng vi sinh vật tuyển chọn, chúng tôi tiến hành thí nghiệm ủ các phế phụ phẩm nông nghiệp với chế phẩm vi sinh vật gồm chủng xạ khuẩn 22TH và vi khuẩn NH1 ở điều kiện tự nhiên trong 30 ngày. Một số chỉ tiêu được chúng tôi theo dõi và có kết quả trình bày ở Bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của chế phẩm vi sinh vật đến khả năng phân giải cellulose và chất lượng khối ủ

Công thức	Hàm lượng cellulose (%)		Chất lượng phân bón (%)		
	Bắt đầu ủ	Kết thúc ủ	N tổng số	P ₂ O ₅ tổng số	K ₂ O tổng số
CT1 (đ/c)	14,5 ^a	11,2 ^a	0,83	0,36	0,63
CT2	14,5 ^a	4,8 ^b	1,22	0,45	0,76

Ghi chú: a, b chỉ ra các công thức có cùng ký tự trong cùng một cột không có sự sai khác tại mức có ý nghĩa 0,05

Bảng 4 cho thấy trước khi bổ sung chế phẩm vi sinh vật tuyển chọn thì các công thức thí nghiệm có hàm lượng cellulose tương đương nhau. Khi kết thúc ủ, ở cả 2 công thức, hàm lượng cellulose giảm xuống nhưng có sự chênh lệch rất lớn. Như vậy, trong quá trình ủ phân, vi sinh vật có sẵn trong rơm rạ và được bổ sung thêm đã phân hủy cellulose làm cho hàm lượng cellulose giảm đáng kể, hàm lượng cellulose sau ủ giảm mạnh so với đối chứng (giảm 55,87 % so với đối chứng). Điều này phản ánh khả năng phân giải các hợp chất hữu cơ khó tiêu rất tốt của các chủng vi sinh vật tuyển chọn.

Đạm, lân, kali là các nguyên tố dinh dưỡng cần thiết và quyết định năng suất của cây trồng. Xác định hàm lượng đạm, lân, kali tổng số trong phân hữu cơ để xem xét khả năng cung cấp N, P, K từ trong phân, làm cơ sở bổ sung lượng phân bón hóa học cho cây. Kết quả ở Bảng 2 cho thấy hàm lượng đạm, lân, kali tổng số ở công thức bổ sung chế phẩm vi sinh vật tuyển chọn đều tăng lên và cao hơn so với công thức không bổ sung vi sinh vật. So với một số kết quả nghiên cứu về chất lượng của phân hữu cơ vi sinh ủ từ phụ phẩm nông nghiệp thì hàm lượng đạm, lân, kali tổng số trong đồng ủ của chúng tôi tương đương hoặc cao hơn một số nghiên cứu khác [10]; [5].

Định danh các loài vi sinh vật tuyển chọn

Để xác định chính xác tên loài của 2 chủng vi sinh vật tuyển chọn, chúng tôi định danh dựa trên trình tự gen 16S rRNA của vi khuẩn NH1 và xạ khuẩn 22TH. Kết quả giải trình tự gen 16S rRNA được so sánh với các trình tự gen đã công bố trên Genbank cho kết quả ở Bảng 5.

Bảng 5. Mối quan hệ di truyền của các chủng VSV phân giải cellulose

Chủng VSV	Chiều dài trình tự so sánh (nu)	Chủng VSV đồng hình	Mức độ tương đồng (%)
NH1	531	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	99
22TH	464	<i>Streptomyces olivochromogenes</i>	100

Bảng 6. Trình tự đoạn gen 16S rRNA của chủng vi khuẩn NH1

Query	4	GGAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCG	63
Sbjct	7	GGAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGA	66
Query	64	GCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCTGATGTTAGCGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGT	123
Sbjct	67	GCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCTGATGTTAGCGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGT	126
Query	124	AACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGCTAATACCGGATGGTTGTCT	183
Sbjct	127	AACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGCTAATACCGGATGGTTGTCT	186
Query	184	GAACCGCATGGTTCAGACATAAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGG	243
Sbjct	187	GGACCGCATGGTTCAGACATAAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGG	246
Query	244	CGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAG	303
Sbjct	247	CGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAG	306
Query	304	AGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTA	363
Sbjct	307	AGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTA	366
Query	364	GGGAATCTCCGCAATGGACGAAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTT	423
Sbjct	367	GGGAATCTCCGCAATGGACGAAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTT	426
Query	424	TTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCCGTTCAAATAGGGCGGCACC	483
Sbjct	427	TTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCCGTTCAAATAGGGCGGCACC	486
Query	484	TTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCG	534
Sbjct	487	TTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCG	537

Bảng 7. Trình tự đoạn gen 16S rRNA của chủng 22TH

Query	10	ACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAACCTCCTTCGGGAGGG	69
Sbjct	1	ACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAACCTCCTTCGGGAGGG	60
Query	70	GATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACAAGCC	129
Sbjct	61	GATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACAAGCC	120

Query 130	CTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATACGAGCCTCCAAGGCATCTTGGAGGTTGGAAAGCT	189
Sbjct 121	CTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATACGAGCCTCCAAGGCATCTTGGAGGTTGGAAAGCT	180
Query 190	CCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGGGCTATCAGCTTGTGGTGAGGTAACGGCTCACCAA	249
Sbjct 181	CCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGGGCTATCAGCTTGTGGTGAGGTAACGGCTCACCAA	240
Query 250	GGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCC	309
Sbjct 241	GGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCC	300
Query 310	CAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAG	369
Sbjct 301	CAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAG	360
Query 370	CGACGCCCGGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAAGC	429
Sbjct 361	CGACGCCCGGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAAGC	420
Query 430	GAGAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGC	473
Sbjct 421	GAGAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGC	464

Kết quả phân tích trình tự gen 16S rRNA của chủng vi khuẩn NH1 tương đồng 99 % với trình tự đoạn gen 16S rRNA của với chủng *Bacillus amyloliquefaciens* (nucleotid không tương đồng được bôi đỏ trong Bảng 6). Chủng NH1 được xếp vào chi *Bacillus*, loài *amyloliquefaciens*. Kết quả phân tích trình tự đoạn gen 16S rRNA của chủng 22TH là tương đồng 100 % với trình tự đoạn gen 16S rRNA của chủng *Streptomyces olivochromogene* (Bảng 7). Chủng 22TH được xếp vào chi *Streptomyces*, loài *olivochromogenes*.

3.2 Khả năng sử dụng phế phụ phẩm nông nghiệp xử lý bằng chế phẩm vi sinh vật làm phân bón cho lạc

Ảnh hưởng của liều lượng phân hữu cơ ủ đến chiều cao thân chính của cây lạc qua các thời kỳ

Chiều cao của cây lạc ở các công thức tăng dần theo sự sinh trưởng và phát triển của cây và đạt lớn nhất vào thời kỳ thu hoạch. Ở cùng một thời kỳ sinh trưởng, các công thức có lượng phân bón khác nhau thì chiều cao cây lạc có sự khác nhau (Bảng 8).

Ở thời kỳ phân cành, chiều cao cây lạc dao động từ 4,54 cm đến 5,25 cm. Trong đó, cao nhất là 2 công thức 4 và 5 (bón với 8 và 9 tấn phân hữu cơ ủ) có chiều cao thân chính cao nhất và công thức có chiều cao cây thấp nhất là CT1 (4,54 cm).

Ở thời kỳ kết thúc hoa chiều cao cây giữa các công thức biến động từ 24,3 cm đến 28,31 cm. Chiều cao cây cao nhất là CT4 và CT5 (27,57 cm và 28,31 cm). Trong khi đó công thức 3 có chiều cao cây tương đương công thức đối chứng và thấp hơn tất cả các công thức còn lại với sai khác có ý nghĩa thống kê.

Đến giai đoạn thu hoạch, chiều cao cây của hầu hết các công thức sử dụng phân hữu cơ ủ tương đương nhau và tương đương với công thức bón phân chuồng. Chỉ riêng CT3 (bón 7 tấn phân ủ/ha) cho chiều cao thân chính thấp hơn các công thức còn lại.

Bảng 8. Ảnh hưởng của phân hữu cơ ủ đến chiều cao thân chính của cây lạc trong vụ Xuân 2017 (cm)

Công thức	Bắt đầu phân cành cấp 1	Bắt đầu ra hoa	Kết thúc hoa	Thu hoạch
CT1 (đ/c)	4,54 ^b	16,55 ^b	24,30 ^b	31,20 ^b
CT2	4,97 ^{ab}	20,69 ^a	26,17 ^{ab}	35,67 ^a
CT3	4,94 ^{ab}	19,63 ^a	25,65 ^b	33,50 ^{ab}
CT4	5,25 ^a	21,49 ^a	27,57 ^a	36,13 ^a
CT5	5,20 ^a	21,96 ^a	28,31 ^a	37,50 ^a
<i>LSD</i> _{0,05}	0,55	2,34	1,77	3,56

Ghi chú: a, b chỉ ra các công thức có cùng ký tự trong cùng một cột không có sự sai khác tại mức có ý nghĩa 0,05

Ảnh hưởng của liều lượng phân hữu cơ ủ đến số lá trên thân chính của cây lạc

Kết quả nghiên cứu cho thấy số lá trên thân chính có sự sai khác về mặt thống kê giữa các công thức ở hầu hết các giai đoạn sinh trưởng, ngoại trừ giai đoạn ra hoa rộ (Bảng 9).

Bảng 9. Ảnh hưởng của liều lượng phân hữu cơ ủ đến số lá trên thân chính của cây lạc trong vụ Xuân 2017 (lá/thân chính)

Công thức	Giai đoạn sinh trưởng				
	Phân cành cấp 1	Bắt đầu ra hoa	Ra hoa rộ	Kết thúc hoa	Thu hoạch
CT1	6,7 ^a	17,77 ^{bc}	25,23 ^a	36,1 ^{cd}	39,6 ^{bc}
CT2	6,5 ^a	21,57 ^a	24,67 ^a	39,57 ^a	41,2 ^a
CT3	5,9 ^b	20,63 ^{ab}	24,93 ^a	37,5 ^{bc}	40,5 ^{abc}
CT4	6,5 ^a	21,43 ^a	23,22 ^a	39,63 ^{ab}	43,17 ^a
CT5	6,7 ^a	22,37 ^a	24,13 ^a	40,03 ^a	42,7 ^{ab}
<i>LSD</i> _{0,05}	0,21	2,12	2,3	2,26	3,35

Ghi chú: a, b, c chỉ ra các công thức có cùng ký tự trong cùng một cột không có sự sai khác tại mức có ý nghĩa 0,05

Ở giai đoạn bắt đầu ra hoa, số lá trên thân chính của tất cả các công thức thí nghiệm đều cao hơn số lá ở công thức đối chứng với sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê, trong đó CT5 đạt số lá trên thân chính cao nhất (22,37 lá). Giai đoạn thu hoạch, số lá trên thân chính đạt cao nhất ở CT4 (43,17 lá), tiếp đến là CT5 (42,7 lá), thấp nhất ở CT1 (39,6 lá). Như vậy, liều lượng phân hữu cơ ủ từ các phụ phẩm nông nghiệp tại địa phương có ảnh hưởng tới số lá trên thân chính của cây lạc so với công thức đối chứng, trong đó sử dụng 8 và 9 tấn phân hữu cơ ủ hoặc 8 tấn phân chuồng đều cho số lá trên thân chính tương đương nhau và đạt cao nhất.

Ảnh hưởng của liều lượng phân hữu cơ ủ đến khả năng phân cành và chiều dài cành cấp 1 của cây lạc

Trong các công thức thí nghiệm, CT5 có tổng số cành cao nhất 7,83 cành/cây và tổng số cành thấp nhất ở CT1 và CT3, đạt lần lượt 7,07 cành/cây và 7,10 cành/cây (Bảng 10). Chiều dài cành cấp 1 đầu tiên ở các công thức bón phân hữu cơ ủ và bón phân chuồng không có sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê, nhưng chúng có sự sai khác có ý nghĩa thống kê với công thức đối chứng (không bón phân hữu cơ). Như vậy, sử dụng 8 và 9 tấn phân hữu cơ tạo ra từ phụ phẩm nông nghiệp hoặc 8 tấn phân chuồng đã làm tăng tổng số cành trên cây và đã ảnh hưởng đến chiều dài cành cấp 1 đầu tiên của cây lạc.

Bảng 10. Ảnh hưởng của liều lượng phân hữu cơ ủ đến khả năng phân cành và chiều dài cành cấp 1 của cây lạc trong vụ Xuân 2017

Công thức	Số cành cấp 1/cây (cành)	Số cành cấp 2/cây (cành)	Tổng số cành/cây (cành)	Chiều dài cành cấp 1 đầu tiên (cm)
CT1	4,57 ^a	2,31 ^b	7,07 ^{bc}	37,45 ^b
CT2	4,59 ^a	2,91 ^{ab}	7,24 ^{ab}	41,27 ^a
CT3	4,53 ^{ab}	2,57 ^{abc}	7,10 ^{bc}	39,90 ^a
CT4	4,73 ^a	2,87 ^{ab}	7,30 ^{ab}	42,25 ^a
CT5	4,60 ^a	3,23 ^a	7,83 ^a	42,70 ^a
<i>LSD</i> _{0,05}	0,56	0,71	0,99	3,13

Ghi chú: a, b, c chỉ ra các công thức có cùng ký tự trong cùng một cột không có sự sai khác tại mức có ý nghĩa 0,05

Ảnh hưởng của liều lượng phân hữu cơ ủ tạo ra đến sự ra hoa của lạc

Bảng 11 cho thấy các công thức phân bón với liều lượng khác nhau không ảnh hưởng tới tổng thời gian ra hoa và số đợt ra hoa rộ, nhưng đã ảnh hưởng đến tổng số hoa trên cây và tỷ lệ hoa hữu hiệu. Tổng số hoa trên cây dao động 50,13–56,3 hoa/cây; các công thức có số hoa cao nhất là CT2, CT4 và CT5 đạt lần lượt là 53,7; 54,1 và 54,6 hoa/cây; thấp nhất ở CT1 chỉ đạt 50,13 hoa/cây. Tỷ lệ hoa hữu hiệu không có sự khác biệt lớn giữa các công thức, trong đó CT5 có tỷ lệ hoa hữu hiệu đạt cao nhất (25,04 %) và công thức 1 có tỷ lệ hoa hữu hiệu đạt thấp nhất (23,29 %).

Bảng 11. Ảnh hưởng của liều lượng phân hữu cơ ủ đến sự ra hoa của lạc trong vụ Xuân 2017

Công thức	Tổng thời gian ra hoa (ngày)	số đợt ra hoa rộ (đợt)	số hoa 10 ngày đầu (hoa)	số hoa 20 ngày đầu (hoa)	tổng số hoa/cây (hoa)	Tỷ lệ hoa hữu hiệu (%)
CT1	22	2	28,67 ^a	40,20 ^a	50,13 ^b	23,29
CT2	22	2	30,30 ^a	42,50 ^a	53,70 ^a	24,74
CT3	22	2	31,47 ^a	42,70 ^a	52,30 ^{ab}	24,65
CT4	22	2	29,93 ^a	42,83 ^a	54,10 ^a	24,98
CT5	22	2	30,63 ^a	41,17 ^a	54,60 ^a	25,04
LSD _{0,05}	–	–	3,71	3,9	3,34	

Ghi chú: a, b chỉ ra các công thức có cùng ký tự trong cùng một cột không có sự sai khác tại mức có ý nghĩa 0,05

Tóm lại, các công thức sử dụng các liều lượng phân hữu cơ được ủ từ phụ phẩm nông nghiệp với các chủng xạ khuẩn *Bacillus amyloliquefaciens* và vi khuẩn *Streptomyces olivochromogenes* đều có ảnh hưởng đến chiều cao, số lá/thân chính, tổng số cành, chiều dài cành cấp 1; tổng số hoa và tỷ lệ hoa hữu hiệu của cây lạc khá rõ. Hầu hết các chỉ tiêu sinh trưởng, phát triển này đều đạt cao nhất ở CT4, CT5 (bón 8 và 9 tấn phân hữu cơ ủ) và CT2 (bón 8 tấn phân chuồng).

Ảnh hưởng của liều lượng phân hữu cơ ủ đến yếu tố cấu thành năng suất và năng suất lạc

Từ Bảng 12 chúng tôi nhận thấy tất cả các công thức phân bón đều không ảnh hưởng tới tổng số quả trên cây và tổng số quả chắc trên cây, không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, khối lượng 100 quả và năng suất thực thu lại có sự khác nhau giữa các công thức thí nghiệm so với đối chứng và giữa các công thức thí nghiệm với nhau.

Khối lượng 100 quả là chỉ tiêu quyết định năng suất của các công thức thí nghiệm. Khối lượng 100 quả đạt cao nhất ở CT5 (159,97 g), tiếp đến ở CT2 và CT4 (152,8 g và 153,13 g), thấp nhất ở trên CT1 và CT3 (142,93 và 147,3 g). Năng suất thực thu là chỉ tiêu quan trọng để đánh giá hiệu quả của việc sử dụng phân hữu cơ ủ từ phụ phẩm nông nghiệp đến quá trình sinh trưởng, phát triển và năng suất của cây lạc. Năng suất thực thu của CT2, CT4 và CT5 đạt cao hơn các công thức còn lại với sự sai khác có ý nghĩa thống kê, trong đó đạt cao nhất ở CT5 (34,88 tạ/ha) và thấp nhất ở CT1 (28,3 tạ/ha).

Bón phân hữu cơ ủ với hàm lượng 8 và 9 tấn/ha ở CT4 và CT5 đều cho năng suất lạc cao nhất, tương đương hoặc cao hơn công thức 2 (8 tấn phân chuồng/ha). Điều này cho thấy thành phần các chất dinh dưỡng trong phân bón hữu cơ ủ đã bổ sung dinh dưỡng kịp thời cho lạc tạo điều kiện cho lạc sinh trưởng, phát triển tốt và nâng cao được năng suất. Trong điều kiện phân chuồng ngày càng thiếu, sử dụng phân hữu cơ ủ từ phế phụ phẩm nông nghiệp nhằm

thay thế phân chuồng đang được nhiều nhà nghiên cứu quan tâm. Trong nghiên cứu này, sử dụng 8 hoặc 9 tấn phân hữu cơ ủ từ phế phụ phẩm nông nghiệp có bổ sung vi sinh vật đã cung cấp đủ dinh dưỡng cho cây lạc giúp cây phát triển về thân lá, tăng số hoa, số quả, từ đó làm tăng năng suất thực thu.

Bảng 12. Ảnh hưởng của liều lượng phân hữu cơ ủ đến yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của lạc

Công thức	Tổng số quả/cây (quả)	Số quả chắc/cây (quả)	P100 quả (gam)	NSLT (tạ/ha)	NSTT (tạ/ha)
CT1	21,23 ^{ab}	12,90 ^{ab}	142,93 ^{bc}	48,98 ^b	28,30 ^{cd}
CT2	24,80 ^a	14,47 ^a	152,80 ^{ab}	53,08 ^{ab}	33,72 ^{ab}
CT3	22,60 ^{ab}	13,40 ^a	147,30 ^b	51,36 ^{ab}	30,13 ^b
CT4	23,13 ^a	14,50 ^a	153,13 ^{ab}	54,96 ^{ab}	33,58 ^{ab}
CT5	23,70 ^{ab}	15,10 ^a	159,97 ^a	59,61 ^a	34,88 ^a
LSD _{0,05}	5,34	3,64	9,11	8,94	4,17

Ghi chú: a, b chỉ ra các công thức có cùng ký tự trong cùng một cột không có sự sai khác tại mức có ý nghĩa 0,05

Hiệu quả kinh tế của các lượng phân hữu cơ ủ bón cho giống lạc L14

Để đánh giá khả năng ứng dụng lượng phân hữu cơ ủ đối với cây trồng nói chung và giống lạc L14 nói riêng, thì việc đánh giá hiệu quả kinh tế là rất cần thiết.

Bảng 13. Hiệu quả kinh tế của việc sử dụng các liều lượng phân hữu cơ ủ cho giống lạc L14

Công thức	Chi phí tăng thêm so với đối chứng (1000 đồng)	Năng suất tăng so với đối chứng (tạ/ha)	Tổng thu tăng so với đối chứng (1000 đồng)	Lãi ròng so với đối chứng (1000 đồng)	VCR
CT1	–	–	–	–	–
CT2	1.500	5,42	9.756	8.256	5,50
CT3	1.312	1,83	3.294	1.982	1,51
CT4	1.500	5,28	9.504	8.004	5,34
CT5	1.687	6,58	11.844	10.157	6,02

So với đối chứng, CT3 cho lãi ròng thấp nhất, mặc dù CT3 có chi phí tăng thêm so với đối chứng thấp nhất, nhưng do năng suất thực thu thấp nên lãi ròng thấp hơn so với tất cả các công thức còn lại. Công thức 5 có lãi ròng tăng so với đối chứng cao nhất, tiếp đến là CT4 và CT2 có lãi ròng tăng so với đối chứng tương đương nhau. Các công thức có năng suất cao dẫn đến tổng thu cao hơn và lợi nhuận đạt cao.

Tỷ suất lợi nhuận VCR là tỷ số phản ánh tiền lãi thu được so với chi phí bỏ ra trong sản xuất. VCR càng cao thì càng có hiệu quả trong đầu tư sản xuất. Kết quả ở Bảng 13 cho thấy các công thức phân bón CT2, CT4 và CT5 đều cho VCR > 3; trong đó, CT5 (bón 9 tấn phân hữu cơ ù/ha) có VCR cao nhất 6,02 và CT3 có VCR thấp nhất chỉ đạt 1,51. Qua kết quả này cho thấy bón phân hữu cơ ù từ phế phụ phẩm nông nghiệp có thể là một trong những lựa chọn hữu ích đối với người nông dân trong điều kiện ngày càng khan hiếm nguồn phân chuồng.

Ảnh hưởng của các công thức phân bón đến một số tính chất hoá học đất trồng lạc

Bón phân không chỉ làm tăng năng suất lạc mà còn có tác dụng cải thiện độ phì của đất. Kết quả phân tích một số tính chất hoá học của đất trước và sau thí nghiệm được trình bày ở Bảng 14.

Bảng 14. Ảnh hưởng của phân hữu cơ ù đến một số tính chất hóa học của đất trồng lạc

Công thức	pH _{KCl}	OC (%)	N (%)	K ₂ O (%)	P ₂ O ₅ (%)
Trước TN	4,97	1,37	0,09	0,30	0,05
CT1	4,99	1,55	0,13	0,35	0,05
CT2	5,56	1,66	0,11	0,40	0,06
CT3	5,80	1,64	0,13	0,28	0,05
CT4	5,81	1,73	0,11	0,30	0,06
CT5	5,50	1,69	0,11	0,36	0,07

Bảng 14 cho thấy:

– Độ chua trao đổi của đất trước và sau thí nghiệm có sự thay đổi nhưng không đáng kể. Sau thí nghiệm pH_{KCl} có tăng lên, dao động ở các công thức thí nghiệm từ 4,99–5,81. Nhìn chung, độ chua của đất có sự cải thiện khi bón tăng hàm lượng phân hữu cơ ù, nhưng vẫn nằm trong khoảng chua.

– Hàm lượng các bon hữu cơ (OC) là một chỉ tiêu quan trọng để đánh giá độ phì của đất, kho dự trữ thức ăn cho cây trồng. Kết quả phân tích hàm lượng các bon hữu cơ cho thấy sau thí nghiệm các công thức bón phân hữu cơ ù đều có hàm lượng các bon hữu cơ tăng lên, đặc biệt ở 2 công thức 4 và 5.

– Hàm lượng đạm tổng số của các công thức thí nghiệm trước và sau khi thí nghiệm có sự chênh lệch nhưng không đáng kể. Kết quả phân tích hàm lượng lân và kali tổng số trước và sau thí nghiệm hầu như không có sự thay đổi.

Nhìn chung, việc bón phân hữu cơ được ù từ các phụ phẩm nông nghiệp có tác dụng cải thiện tính chất của đất. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu đánh giá vai trò của phân hữu cơ và khả năng thay thế phân hóa học của Giller và cs., 1998 [3].

4 Kết luận và đề nghị

– Tuyển chọn được chủng xạ khuẩn 22TH và chủng vi khuẩn NH1 có khả năng phân giải cellulose mạnh nhất (đường kính vòng phân giải > 22 mm). Ủ phế phụ phẩm nông nghiệp với hai chủng vi sinh vật này trong 4 tuần đã làm giảm 55,87 % hàm lượng cellulose đồng ủ, hàm lượng đạm, lân, kali tổng số tăng lên đáng kể. Bằng phân tích di truyền phân tử đã xác định được xạ khuẩn 22TH là loài *Streptomyces olivochromogenes*, vi khuẩn NH1 là loài *Bacillus amyloliquefaciens*.

– Bón phân hữu cơ ủ với liều lượng 8 hoặc 9 tấn/ha đã làm tăng số lá trên thân chính, tổng số cành, tổng số hoa/cây, tỷ lệ hoa hữu hiệu, số quả chắc trên cây, khối lượng 100 quả, năng suất lí thuyết và năng suất thực thu của giống lạc L14. Hai mức bón này cũng đạt hiệu quả kinh tế cao nhất.

Lời cảm ơn

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn đề tài mang mã số DHH2016–02–77 đã tài trợ kinh phí để thực hiện nghiên cứu này.

Tài liệu tham khảo

1. Behera B. C., Parida S., Dutta S. K., Thatoi H. N. (2014), Isolation and Identification of xenlulo degrading bacteria from mangrove soil of Mahanadi River Delta and their cellulase production ability, *American Journal of Microbiological Research* 2 (1), 41–46.
2. Gautam S. P., Bundela P. S., Pandey A. K., Jamaluddin, Awasthi M. K., Sarsaiya S. (2012), Diversity of cellulolytic microbes and the biodegradation of municipal solid waste by a potential strain, *International Journal of Microbiol.*, article ID 325907, 1–13.
3. Giller, K. E., E. Witter và S.P McGrath (1998), Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils, *A review, Soil Biol. Biochem*, 30, 247–261.
4. Phạm Thị Ngọc Lan (2012), *Giáo trình thực tập vi sinh vật học*, Nxb. Đại học Huế.
5. Trần Thị Lệ, Trần Thị Thu Hà, Nguyễn Thị Thanh, Nguyễn Xuân Kỳ (2012), Tuyển chọn chủng nấm *Trichoderma* spp. phân giải cellulose mạnh để sản xuất phân hữu cơ vi sinh và nghiên cứu ảnh hưởng của chúng đối với giống đậu xanh 208 vụ Xuân 2011 tại HTX Hương Long, thành phố Huế, *Tạp chí Khoa học Đại học Huế*, 71(2), 203–214.
6. Nguyễn Văn Mùi (2001), *Thực hành Hóa Sinh Học*, Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
7. Nguyễn Thị Thuý Nga, Phạm Quang Nam, Lê Xuân Phúc, Phạm Quang Thu, Nguyễn Minh Chí (2015), Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn phân giải xenlulo sản xuất phân hữu cơ sinh học, *Tạp chí Khoa học Lâm Nghiệp*, 2, 3841–3850.

8. Sanger F., S. Nicklen, and A. R. Coulson (1977), DNA sequencing with chain-terminating inhibitors, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74 (12), 5463–5467.
9. Võ Văn Phước Quê và Cao Ngọc Điệp (2011), Phân lập và nhận diện vi khuẩn phân giải cellulose, *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 18a, 177–184.
10. Trần Thị Anh Thu, Trần Thị Ngọc Sơn, Nguyễn Ngọc Nam, Lưu Hồng Mẫn (2011), Ảnh hưởng của rom rạ xử lý bằng *Trichoderma* spp. Đến năng suất, độ phì nhiêu đất và hiệu quả kinh tế lúa hè thu 2010 tại Đồng bằng Sông Cửu Long, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, 4, 23–31.
11. Hà Thanh Toàn, Cao Ngọc Điệp, Trần Lê Kim Ngân, Nguyễn Thu Phương, Mai Thu Thảo, Bùi Thế Vinh (2008), Phân lập vi khuẩn phân giải xelulo, tinh bột và protein trong nước rỉ từ bãi rác ở Thành phố Cần Thơ, *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 10, 195–202.
12. Tolan J.S., Foody B. (1999), Cellulase from submerged fermentation. In: *Advances in Biochemical Engineering, Biotechnology*, 65, 41–67.

CELLULOSE-DECOMPOSING MICROORGANISMS TO PRODUCE ORGANIC FERTILIZER FROM AGRICULTURAL WASTE AND THEIR INFLUENCE ON GROUNDNUT ACCESSION L14 IN HUONG TRA, THUA THIEN HUE

Nguyen Thi Thu Thuy*, Nguyen Tien Long

HU – University of Agriculture and Forestry, 102 Phung Hung St., Hue, Vietnam

Abstract: In this study, two strains of microorganisms, namely 22TH (actinomycetes) and NH1 (bacteria) were selected which were able to degrade cellulose significantly. Then, they were mixed with rice bran and corn flour at the ratio 1:3 with 50 ml sterilized distilled water for 1 kg. Agricultural wastes were fermented with this mixture and compared with the control in terms of quality. The application of the selected microorganisms in making compost from agricultural waste showed that the content of cellulose decreased 55,87 % in comparison with that of the control and the nutrient contents (the total of N, P₂O₅, K₂O) were also higher. After that, the effects of this microorganic compost with different amounts over groundnut accession L14 were tested in Huong Tra district, Thua Thien Hue province. The results showed that the application of 8 or 9 tons of compost/ha had the best effect on the growth, development and actual yield of groundnut accession L14. The molecular identification showed that strain 22TH had 100 % similarity to that of *Streptomyces olivochromogenes* and strain NH1 was 99 % homogeneous to that of *Bacillus amyloliquefaciens*.

Keywords: cellulose, organic fertilizer, agricultural waste, groundnut accession L1