

DOI:10.22144/ctu.jvn.2019.166

## PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN MỘT SỐ ĐÒNG NẤM BẢN ĐỊA CÓ KHẢ NĂNG PHÂN HỦY VẬT LIỆU HỮU CƠ TỪ ĐẤT NÔNG NGHIỆP Ở TỈNH SÓC TRĂNG

Quách Thị Trúc Ly<sup>1</sup> và Nguyễn Khởi Nghĩa<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Học viên cao học Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup>Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Khởi Nghĩa (email: [nknghia@ctu.edu.vn](mailto:nknghia@ctu.edu.vn))

### ABSTRACT

The study was aimed at isolating and selecting indigenous fungi capable in decomposing organic materials from 14 different indigenous microorganism communities collected from various different farming ecosystems in Soc Trang province. The Bushnell Haas Medium (BHM) containing 1% carboxymethyl cellulose (CMC) was used to isolate fungi and to qualify for cellulase enzyme activity with Congo Red 0.25% reagent. The activity of cellulase enzyme was determined by 2- hydroxy – 3,5 - dinitrobenzoic acid reagent (DNS) at a wavelength of 540 nm. Decomposition efficacy of selected fungi for organic materials was determined by the mass loss method after 30 days of inoculation under laboratory conditions. The results showed that 56 indigenous fungi were isolated and of which 36 produced a halo zone of 1.67 to 25.7 mm in diameter. The cellulase enzyme activity of 10 selected fungi ranged from 2.52 to 16.5 UI/mL/h. Results from the decomposition experiments for three different organic materials revealed that H3-1, H9-6 and H4-7 were found to be the highest decomposers for rice straw, cattail and water hyacinth with 59.13%, 78.3% and 63.1% dry mass loss, respectively after one month. Especially, isolate labeled as H7-4 decomposed very well for 3 types of materials with a total dry mass loss up to 40.7, 68.7 and 47.9%, respectively after one month. Results from 28S rRNA sequences of four selected fungi indicated that H9-6 had 100% of similarity index with *Aspergillus oryzae* and 3 other remained fungi (H3-1, H4-7 and H7-4) were highly homologous with *Aspergillus niger*.

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 17/08/2019

Ngày nhận bài sửa: 14/09/2019

Ngày duyệt đăng: 26/12/2019

### Title:

Isolation and selection of indigenous fungi capable in decomposing organic materials from various different farming ecosystems in Soc Trang province

### Từ khóa:

*Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, enzyme cellulase, nấm bản địa, phân hủy sinh học, vật liệu hữu cơ

### Keywords:

*Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, cellulase enzyme, decomposition, indigenous fungi, organic materials

### TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm phân lập một số dòng nấm từ 14 hệ vi sinh vật bản địa trên hệ cây trồng khác nhau ở tỉnh Sóc Trăng có khả năng phân hủy vật liệu hữu cơ. Môi trường Bushnell Haas Medium (BHM) bổ sung 1% carboxymethyl cellulose (CMC) dùng để phân lập và khảo sát khả năng tổng hợp enzyme cellulase bằng thuốc thử Congo Red 0.25%. Hoạt độ enzyme cellulase được xác định bằng thuốc thử 2- hydroxy - 3,5 – dinitrobenzoic acid (DNS) ở bước sóng 540 nm. Khả năng phân hủy hữu cơ được xác định bằng trọng lượng khô mất đi sau 30 ngày nuôi cấy. Kết quả cho thấy có 56 dòng nấm được phân lập, trong đó 36 dòng có đường kính vòng halo dao động từ 1,67 mm đến 25,7 mm. Hoạt độ enzyme của 10 dòng nấm tuyển chọn dao động từ 2,52 đến 16,5 UI/mL/h. Các dòng nấm phân hủy rơm, bèo bôn và lục bình cao nhất lần lượt gồm H3-1 (59,13%), H9-6 (78,3%) và H4-7 (63,1%). Dòng nấm H7-4 phân hủy tốt cả 3 loại vật liệu thí nghiệm với tỉ lệ lần lượt 40,7, 68,7 và 47,9%. Giải trình tự đoạn gen vùng 28S rRNA cho thấy dòng H9-6 có quan hệ gần gũi với loài nấm *Aspergillus oryzae* và 3 dòng còn lại gồm H3-1, H4-7, H7-4 có quan hệ gần gũi với loài *Aspergillus niger*.

Trích dẫn: Quách Thị Trúc Ly và Nguyễn Khởi Nghĩa, 2019. Phân lập và tuyển chọn một số dòng nấm bản địa có khả năng phân hủy vật liệu hữu cơ từ đất nông nghiệp ở tỉnh Sóc Trăng. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(6B): 38-46.

## 1 GIỚI THIỆU

Sóc Trăng phát triển mạnh với các loại cây trồng như lúa, cây ăn trái và các loại rau màu. Trong đó, lúa là cây trồng chủ lực mang lại hiệu quả về kinh tế, tuy nhiên lượng rơm, rạ tạo ra sau mỗi vụ thu hoạch khá lớn và hầu hết rơm, rạ chưa có biện pháp xử lý hiệu quả nên dẫn đến gây ô nhiễm môi trường. Bên cạnh lúa, bần bòn (*Typha orientalis*) cũng là cây trồng mang lại hiệu quả kinh tế cao ở Sóc Trăng, khi thu hoạch người dân chỉ lấy phần lõi non để bán và tiêu thụ, trong khi các phần còn lại gồm lá và thân cây bần bòn được thải trực tiếp ra sông hoặc kênh mương gây tắc nghẽn dòng chảy của nước, giao thông và ô nhiễm nguồn nước. Ngoài ra, Sóc Trăng đang gặp khó khăn trong việc giải quyết tình trạng tắc nghẽn dòng chảy lưu thông trên các mương, kênh rạch và sông do sự phát triển quá nhanh của lục bình (*Eichhornia crassipes*). Mặc dù hầu hết các gia đình ở nông thôn đều có hoạt động trồng trọt và chăn nuôi, tuy nhiên, các nguồn phụ phế phẩm nông nghiệp vẫn chưa được tận dụng để làm phân bón hữu cơ cho đất và cây trồng nhằm hạn chế ô nhiễm môi trường sinh thái. Việc phân hủy các phụ phế phẩm nông nghiệp hữu cơ được thực hiện bởi vi sinh vật nhằm cho ra một dạng phân bón hữu cơ cung cấp dưỡng chất cho đất và cây trồng. Thông qua quá trình phân hủy chất hữu cơ các vi sinh vật sử dụng carbon hữu cơ để phát triển sinh khối, chuyển hóa và phóng thích các chất vô cơ có nguồn gốc từ hữu cơ. Phân hữu cơ có nguồn gốc từ phụ phế phẩm nông nghiệp như xác bã thực vật, động vật, phân chuồng, ... có tác dụng phục hồi lại tài nguyên đất, làm giàu hệ sinh vật đất, cân bằng hệ sinh thái đất và hạn chế bệnh hại trên cây trồng vì trong phân hữu cơ có chứa lượng lớn vi sinh vật có ích (Võ Thị Ngọc Cẩm và *ctv.*, 2015). Các nghiên cứu trước đây cũng cho thấy việc ủ phân hữu cơ từ các phụ phẩm nông nghiệp để bón lại cho đất canh tác giúp cải tạo chất lượng đất, năng suất cây trồng và chất lượng nông sản góp phần phát triển canh tác nông nghiệp sạch và hữu cơ (Nguyễn Thị Thu Thủy và Nguyễn Tiến Long, 2018).

Nấm là một trong những nhóm vi sinh vật có khả năng phân hủy tốt các vật liệu hữu cơ chứa cellulose và lignin so với các nhóm vi sinh vật khác như vi khuẩn và xạ khuẩn do chúng có khả năng phát triển sinh khối nhanh và tổng hợp được nhiều enzyme nội và ngoại bào để phân giải

cellulose và lignin (Nguyễn Ngọc Trúc Ngân và Phạm Thị Ngọc Lan, 2014). Một số kết quả nghiên cứu trước đây cho thấy khi bổ sung nấm vào rơm rạ như *Arpergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Pseudomonas*, *Trichoderma viride* và *Aspergillus fumigatus* (PH-C5), *Penicillium janthinellum* (PH-L3), *Aspergillus fumigatus* (PH-L4) và *Rhizomucor variabilis* (PH-L6) giúp gia tăng tốc độ phân hủy rơm rạ so với đối chứng, giảm tỷ lệ C/N và gia tăng hàm lượng các chất N, P và K (Gaur *et al.*, 1990; Ramaswami and Tran Thi Ngoc Son, 1996; Lê Thị Thanh Thủy và Phạm Văn Toàn, 2001; Võ Thị Ngọc Cẩm và *ctv.*, 2015). Như vậy, việc nghiên cứu tuyển chọn các dòng nấm bản địa có khả năng phân giải nhanh phụ phế phẩm nông nghiệp chứa cellulose sẽ mang lại nhiều lợi ích thiết thực trong hoạt động nông nghiệp. Trước tiên, việc sử dụng các dòng nấm phân hủy nhanh phụ phế phẩm nông nghiệp hữu cơ giúp làm giảm ô nhiễm môi trường khu vực nông thôn tại địa phương và giúp làm giảm phát thải khí gây hiệu ứng nhà kính. Bên cạnh đó, việc sử dụng các dòng nấm bản địa phân hủy tốt các phụ phế phẩm nông nghiệp hữu cơ để tạo ra một dạng phân hữu cơ cung cấp dinh dưỡng thiết yếu cho đất và cây trồng, góp phần xây dựng một nông nghiệp sạch, hữu cơ và bền vững cho tỉnh Sóc Trăng. Do đó, nghiên cứu phân lập và tuyển chọn một số dòng nấm bản địa trong hệ vi sinh vật bản địa thu thập từ đất canh tác nông nghiệp có mô hình cây trồng khác nhau trong tỉnh Sóc Trăng có khả năng phân hủy nhanh vật liệu hữu cơ chứa cellulose là cần thiết và có ý nghĩa quan trọng.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1 Phân lập một số dòng nấm từ các hệ vi sinh vật đất bản địa trên các mô hình canh tác cây trồng khác nhau ở tỉnh Sóc Trăng

#### 2.1.1 Thu hệ vi sinh vật đất bản địa

Bảng 1 trình bày thông tin về địa điểm thu thập 14 hệ vi sinh vật đất bản địa ở 14 mô hình canh tác cây trồng khác nhau của tỉnh Sóc Trăng để phân lập nấm phân hủy cellulose. Cách thu hệ vi sinh vật đất bản địa được thực hiện theo qui trình thu mẫu của Xa *et al.* (2018). Trong đó, mẫu côm chứa vi sinh vật được cho vào bình thủy tinh có nắp đậy, hệ vi sinh vật này gọi là IMO1. Sau đó, IMO1 được trộn với đường cát theo tỉ lệ khối lượng 1:1 và được ủ lên men ở điều kiện mát và thoáng khí trong một tuần. Khi đó hỗn hợp vi sinh vật này được gọi là IMO2, dòng mẫu IMO2 này để phân lập nấm có chức năng phân hủy cellulose.

**Bảng 1: Địa điểm thu hệ vi sinh vật đất bản địa từ 14 hệ sinh thái cây trồng ở tỉnh Sóc Trăng**

STT	Kí hiệu	Mô hình canh tác	Địa điểm
1	Hệ 1 (H1)	Đất trồng tre	Châu Thành
2	Hệ 2 (H2)	Trồng luân canh (Bắp, dưa hấu và bí rợ)	Kế Sách
3	Hệ 3 (H3)	Chuối	Phường 7, thị xã Sóc Trăng
4	Hệ 4 (H4)	Hành tím	Vinh Châu
5	Hệ 5 (H5)	Rau diếp	Phường 3, thị xã Sóc Trăng
6	Hệ 6 (H6)	Bắp	Thạnh Trị
7	Hệ 7 (H7)	Dưa hấu	Long Phú
8	Hệ 8 (H8)	Cỏ hoang	Long Phú
9	Hệ 9 (H9)	Lúa	Mỹ Xuyên
10	Hệ 10 (H10)	Rau ăn lá	Mỹ Xuyên
11	Hệ 11 (H11)	Cam	Kế Sách
12	Hệ 12 (H12)	Bưởi	Kế Sách
13	Hệ 13 (H13)	Ồi	Kế Sách
14	Hệ 14 (H14)	Mía	Cù Lao Dung

**2.1.2 Phân lập nấm phân hủy vật liệu hữu cơ chứa cellulose**

Cân 1 gam mẫu VSV lên men IMO2 cho vào Falcon 50 mL có chứa sẵn 9 mL dung dịch buffer phosphate, sau đó mẫu được đặt trên máy lắc ngang tốc độ 150 vòng/phút trong 1 giờ, vortex mẫu, hút 0,1 mL dung dịch chứa vi sinh vật và trải đều lên trên bề mặt môi trường Bushnell Haas Medium (BHM) có bổ sung 1% carboxymethyl cellulose (CMC) bằng que chĩa, tiếp theo đem mẫu ủ trong tối ở điều kiện nhiệt độ phòng trong 4 ngày, sau đó chọn các khuẩn lạc nấm khác nhau về hình dạng, màu sắc và kích thước khuẩn ty hiện diện trên môi trường nuôi cấy. Tiếp theo các dòng nấm phân lập được tách ròng bằng cách cấy chuyển liên tục 5 lần trên môi trường nuôi cấy PDA để đạt các dòng nấm thuần. Thành phần môi trường BHM trong 1 lít nước cất bao gồm: 10 g CMC, 15 g Agar, 0,2 g MgSO<sub>4</sub> x7H<sub>2</sub>O, 1 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 g NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 0,05 g FeCl<sub>3</sub>x6H<sub>2</sub>O và 0,02 g CaCl<sub>2</sub>.

**2.2 Định tính khả năng tổng hợp enzyme cellulase của các dòng nấm phân lập**

**2.2.1 Chuẩn bị nguồn nấm**

Các dòng nấm phân lập được nuôi cấy trên môi trường PDA trong hai ngày, trong tối và ở điều kiện phòng thí nghiệm.

**2.2.2 Bố trí thí nghiệm**

Định tính khả năng tổng hợp enzyme cellulase bằng thuốc thử Congo Red (Sazci *et al.*, 1986) với cách thực hiện như sau: dùng Pasteur pipette có đường kính 0,6 cm để cắt 1 khối agar chứa sợi nấm đang phát triển tốt đã chuẩn bị ở mục 2.2.1 và đặt 1 khối agar này vào giữa đĩa petri chứa môi trường BHM agar bổ sung 1% CMC, nghiệm thức đối chứng được thực hiện tương tự nhưng dùng khối agar không chứa nấm; thí nghiệm được thực hiện với 3 lặp lại cho mỗi dòng nấm, tương ứng với 3

đĩa petri. Các đĩa petri chứa mẫu được đặt ở điều kiện phòng thí nghiệm trong tối, trong 3 ngày. Sau đó, dùng spatula để loại bỏ hệ sợi nấm phát triển ở vị trí khuẩn lạc nấm bên trên bề mặt môi trường agar, rửa 1 lần bằng dung dịch NaCl 1M, tiếp theo nhỏ 1 mL dung dịch Congo Red 0,25% lên trên bề mặt khuẩn lạc nấm vừa cạo bỏ sinh khối, để yên trong 5 phút, sau đó rửa sạch bề mặt đĩa môi trường agar từ 3 đến 4 lần bằng dung dịch NaCl 1M. Quan sát và tiến hành đo đường kính vòng halo (vòng sáng) của nấm tạo ra, đường kính vòng halo càng lớn chứng tỏ khả năng phân giải CMC càng cao.

**2.3 Định lượng khả năng tổng hợp enzyme cellulase của 10 dòng nấm tuyển chọn trong môi trường nuôi cấy lỏng**

**2.3.1 Chuẩn bị nguồn nấm**

Mười dòng nấm được chọn trong thí nghiệm này thuộc các nhóm có đường kính vòng halo cao (gồm các dòng H7-4, H3-1, H9-6, H4-7 và H7-3), đường kính vòng halo trung bình (dòng H1-2), đường kính vòng halo thấp (dòng H2-1) và không tạo vòng halo (gồm dòng H10-5, H11-2 và H13-1) được nuôi cấy trên môi trường PDA trong hai ngày, trong tối và ở điều kiện phòng thí nghiệm.

**2.3.2 Bố trí thí nghiệm**

Dùng Pasteur pipette có đường kính 0,6 cm để cắt 3 khối agar chứa hệ sợi nấm đang phát triển đã chuẩn bị ở mục 2.3.1 và cho 3 khối agar này vào trong bình tam giác 100 mL chứa 20 mL môi trường BHM lỏng có bổ sung 1% CMC, sau đó đặt các bình tam giác chứa mẫu trên máy lắc ngang với tốc độ 120 vòng/phút, ở nhiệt độ phòng thí nghiệm trong ba ngày. Hút 1,5 mL dịch môi trường nuôi cấy lỏng cho vào Eppendorf 2 mL, sau đó ly tâm lấy vụn với vận tốc 12000 vòng/phút trong thời gian 5 phút, tiếp theo hút 1mL dịch môi trường nuôi cấy nấm sau ly tâm cho vào ống nghiệm 20 mL và đem ủ ở nhiệt độ 40°C trong 5 phút; dung dịch CMC

1% cũng được đem đi ủ ở nhiệt độ 40°C trong 5 phút để ổn định nhiệt độ môi trường giúp enzyme cellulase hoạt động tốt hơn. Tiến hành hút 1mL dung dịch CMC 1% đã ủ cho vào các ống nghiệm chứa mẫu, tiếp tục đem các ống nghiệm chứa mẫu ủ ở nhiệt độ 40°C trong 10 phút để phản ứng giữa enzyme với CMC được diễn ra. Tiếp theo cho vào ống nghiệm chứa mẫu 2mL dung dịch DNS, lắc đều, sau đó đặt vào trong water bath ở nhiệt độ 80°C trong 5 phút, để nguội và cuối cùng là đo trên máy quang phổ ở bước sóng 540 nm kết hợp với đường chuẩn đường glucose; các ống nghiệm chứa mẫu đường chuẩn cũng được thực hiện tương tự nhưng không cho dịch trích enzyme từ nấm vào. Thí nghiệm được thực hiện với ba lần lặp lại cho mỗi dòng nấm.

**2.4 Khả năng phân hủy một số vật liệu hữu cơ chứa cellulose tiết trùng của 10 dòng nấm phân lập được tuyển chọn**

**2.4.1 Chuẩn bị nguồn nấm**

Qui trình chuẩn bị nguồn nấm cho mười dòng nấm ký hiệu H7-4, H3-1, H9-6, H4-7, H7-3, H1-2, H2-1, H10-5, H11-2 và H13-1 được thực hiện tương tự mục 2.3.1.

**2.4.2 Bố trí thí nghiệm**

Cân 5 g (trọng lượng khô) mỗi vật liệu hữu cơ cho vào bình tam giác thủy tinh 250 mL và hiệu chỉnh ẩm độ các vật liệu về 80%, sau đó tiến hành tiết trùng các bình tam giác chứa vật liệu hữu cơ bằng nồi hấp tiết trùng ở nhiệt độ 121°C trong 20 phút. Sau đó, cho vào 3 khối agar (đường kính 6 mm) chứa sợi nấm đang phát triển vào bình tam giác, trộn đều và đập nút gọn, tiếp theo đặt các bình tam giác chứa mẫu được đặt ở điều kiện phòng thí nghiệm và trong tối. Nghiệm thức đối chứng dương chủng sản phẩm TRICHO-ĐHCT dạng bột của Trường Đại học Cần Thơ theo khuyến cáo trên bao bì. Nghiệm thức đối chứng âm cũng được thực hiện tương tự nhưng không chủng nấm vào vật liệu hữu cơ. Thí nghiệm được bố trí với 3 lần lặp lại cho mỗi dòng nấm cho mỗi vật liệu hữu cơ tương ứng với 3 bình tam giác chứa mẫu. Kiểm tra ẩm độ của vật liệu thường xuyên để giữ ẩm độ ổn định trong suốt thời gian thí nghiệm. Sau 30 ngày nuôi cấy, các bình tam giác chứa mẫu vật liệu hữu cơ được sấy ở nhiệt độ 105°C trong 12 giờ trong tủ sấy, sau đó đem cân để xác định trọng lượng khô

của vật liệu hữu cơ giảm do nấm phân hủy theo công thức sau:

$$\text{Phần trăm phân hủy vật liệu hữu cơ (\%)} = ((\text{Khối lượng ban đầu} - \text{Khối lượng sau thí nghiệm}) / \text{Khối lượng ban đầu}) \times 100.$$

**2.5 Giải mã trình tự đoạn gene 28S rRNA của bốn dòng nấm tuyển chọn**

DNA của nấm được trích bằng CTAB 3% dựa theo quy trình của Ihrmark *et al.* (2012). Sử dụng cặp mồi LROR/LR6 (Raja *et al.*, 2000) nhắm vào vùng 28S cho phản ứng PCR. Thành phần của một phản ứng PCR bao gồm (thể tích/1 phản ứng): 5 µL Dream taq buffer (5x); 0,5 µL mồi xuôi LROR (10 µM); 0,5 µL mồi ngược LR6 (10 µM); 10 µL DNA tinh sạch được pha loãng 50 lần; 5,625 µL nước (không chứa DNA); 0,5 µL dNTP (10 mM); 2,75 µL MgCl<sub>2</sub> (25 mM) và 0,125 µL Dream taq (5 U/µL). Chương trình nhiệt của phản ứng PCR gồm: bước 1: 94°C trong 5 phút; bước 2: 35 chu kì, gồm 94°C trong 30 giây; 55°C trong 30 giây và 72°C trong 30 giây và bước 3: 72°C trong 7 phút. Kiểm tra sản phẩm PCR trên gel agarose trước khi giải trình tự đoạn gen. Kết quả giải trình tự đoạn gen sẽ được nhận dạng trên ngân hàng gene NCBI <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> để xác định tên loài của bốn dòng nấm tuyển chọn.

**3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1 Đặc tính hóa học của một số vật liệu hữu cơ thí nghiệm**

Kết quả phân tích đặc tính hóa học của ba vật liệu hữu cơ sử dụng trong thí nghiệm gồm rom, lá bồn bồn và lục bình được trình bày trong Bảng 2. Kết quả cho thấy trong các vật liệu hữu cơ thí nghiệm, lá bồn bồn có thành phần dinh dưỡng cao nhất thông qua các thông số như hàm lượng carbon tổng số (52,0%), đạm tổng số (2,35%), lân tổng số (1,23%) và tỷ lệ C:N đạt 22. Điều này cho thấy lá bồn bồn có tiềm năng cung cấp dinh dưỡng hữu dụng cao cho đất và cây trồng, đặc biệt là đạm, lân và kali. Trong khi đó, các vật liệu hữu cơ còn lại như: rom và lục bình chủ yếu là hàm lượng carbon (chiếm trên 40%), các thành phần dinh dưỡng còn lại như đạm tổng số, lân tổng số và kali tổng số thấp hơn rất nhiều so với các thành phần dinh dưỡng này trong lá bồn bồn và tỷ lệ C:N rất cao (C:N của rom là 92 và lục bình là 87).

**Bảng 2: Một số đặc tính hóa học của ba vật liệu hữu cơ dùng trong thí nghiệm**

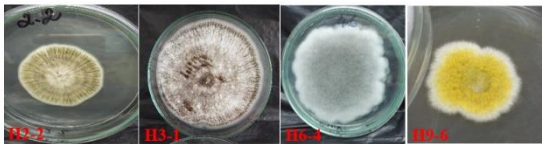
STT	Mẫu	C <sub>Ts</sub> (%)	N <sub>Ts</sub> (%)	P <sub>Ts</sub> (%)	K <sub>Ts</sub> (%)	Tỷ lệ C/N
1	Rom	57,3	0,62	0,27	2,05	92
2	Lục bình	47,6	0,55	0,36	5,38	87
3	Bồn bồn	52,0	2,35	1,23	6,94	22

\* Ghi chú: C: carbon, N: đạm, P: lân, K: kali và Ts là tổng số

### 3.2 Phân lập các dòng nấm phân hủy cellulose từ các hệ vi sinh vật đất bản địa ở nhiều mô hình canh tác cây trồng khác nhau ở tỉnh Sóc Trăng

Từ 14 mẫu cộng đồng vi sinh vật (IMO) đất bản địa thu từ đất nông nghiệp với các mô hình canh tác khác nhau ở tỉnh Sóc Trăng đã phân lập được 56 dòng nấm có tiềm năng phân hủy vật liệu hữu cơ chứa cellulose. Kết quả mô tả hình thái khuẩn lạc nấm cho thấy có sự đa dạng về màu sắc khuẩn lạc, hình dạng, độ nổi, dạng rìa cũng như đặc điểm khuẩn lạc của mặt trên và mặt dưới của đĩa petri.

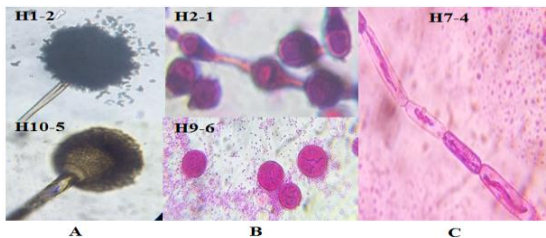
**Dạng khuẩn lạc:** khuẩn lạc có hai dạng tròn đều và không đều, trong đó khuẩn lạc có dạng không đều chiếm đa số với tỉ lệ 78,57%, còn lại là dạng tròn đều với tỉ lệ 21,43%.



**Hình 1: Hình dạng và màu sắc khuẩn lạc điển hình của một số dòng nấm phân lập**

**Màu sắc khuẩn lạc:** khuẩn lạc nấm có màu sắc rất đa dạng như màu trắng, màu đen, màu vàng, màu nâu, màu xám và màu xanh. Trong đó màu trắng chiếm 26,85%, màu đen chiếm 19,64%, màu vàng chiếm 7,1%, màu xanh chiếm 23,21%, màu xám chiếm 14,3%, còn lại là màu nâu 8,9% (Hình 1).

**Hình thái bào tử và hệ sợi của 10 dòng nấm tuyển chọn**



**Hình 2: Hình thái bào tử và hệ sợi điển hình của nấm phân lập**

A: Dạng cuống bào tử (vật kính 10X), B: Dạng elip (H2-1) và dạng cầu (H9-6) (vật kính 100X), C: Sợi nấm có vách ngăn (vật kính 100X)

Mùi dòng nấm H7-4, H3-1, H9-6, H4-7, H7-3, H1-2, H2-1, H10-5, H13-1 và H11-2 đều là các dòng nấm thuộc chi *Aspergillus* (dựa vào hình thái cuống bào tử). Cuống bào tử phình to ở phần đầu

(thể bình) bên trên đỉnh các bào tử (Hình 2A). Hình dạng bào tử nấm có 2 dạng: hình cầu (90%) và hình elip (10%) (Hình 2B). Sợi nấm có vách ngăn chiếm tỉ lệ 100% (Hình 2C).

### 3.3 Định tính khả năng tổng hợp enzyme cellulase của các dòng nấm phân lập

Kết quả định tính khả năng tổng hợp enzyme cellulase của 56 dòng nấm phân lập trên môi trường BHM agar có bổ sung 1% CMC sau 3 ngày nuôi cấy có 36 dòng nấm (Bảng 3) có khả năng tổng hợp enzyme cellulase với đường kính vòng halo tạo thành khác nhau và 20 dòng nấm không tạo vòng halo mặc dù các dòng nấm này phát triển và tạo hệ sợi nấm rất nhanh trên bề mặt môi trường. Đường kính vòng halo được tạo ra bởi 36 dòng nấm khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) khi so sánh với nhau và dao động từ 1,67 mm đến 25,7 mm. Cụ thể, ba dòng nấm ký hiệu H7-4, H3-1 và H9-6 có đường kính vòng halo lớn nhất lần lượt đạt 25,7 mm, 24 mm và 22 mm (Hình 3). Ngoài ra, còn có 14 dòng nấm ký hiệu H1-2, H2-3, H2-4, H2-5, H3-3, H3-4, H4-1, H4-5, H4-6, H4-7, H7-2, H7-3, H9-2 và H9-3 có đường kính vòng halo dao động từ 10mm đến 20mm và 19 dòng nấm ký hiệu H1-1, H2-1, H2-2, H3-2, H4-2, H4-3, H4-4, H5-1, H5-1, H6-1, H6-2, H6-3, H6-5, H7-1, H8-1, H8-4, H9-1, H9-4 và H9-5 có đường kính vòng halo dưới 10 mm. So với nghiên cứu trước đây của Nguyễn Ngô Yến Ngọc và *ctv.* (2014) cho thấy dòng nấm chủng 10 có đường kính vòng phân giải đạt 11 mm sau 4 ngày thí nghiệm, trong khi đó có rất nhiều dòng nấm trong nghiên cứu này có đường kính vòng phân giải cao hơn rất nhiều, đặc biệt là dòng nấm H7-4 có đường kính vòng phân giải đạt 25,7 mm cao hơn gấp 2 lần so với chủng nấm 10. Dựa vào kết quả đường kính vòng halo của các dòng nấm phân lập ở Bảng 3 đã chọn ra 5 dòng nấm có đường kính vòng halo cao nhất (gồm H7-4, H3-1, H9-6, H7-3 và H4-7), 1 dòng nấm có đường kính vòng halo trung bình và thấp (gồm H1-2 và H2-1) và 3 dòng nấm không tạo vòng halo gồm (H10-5, H13-1 và H11-2) để thí nghiệm tiếp theo.



**Hình 3: Đường kính vòng phân giải của 3 dòng nấm tuyển chọn**

**Bảng 3: Đường kính vòng halo phân giải cellulose của 36 dòng nấm phân lập**

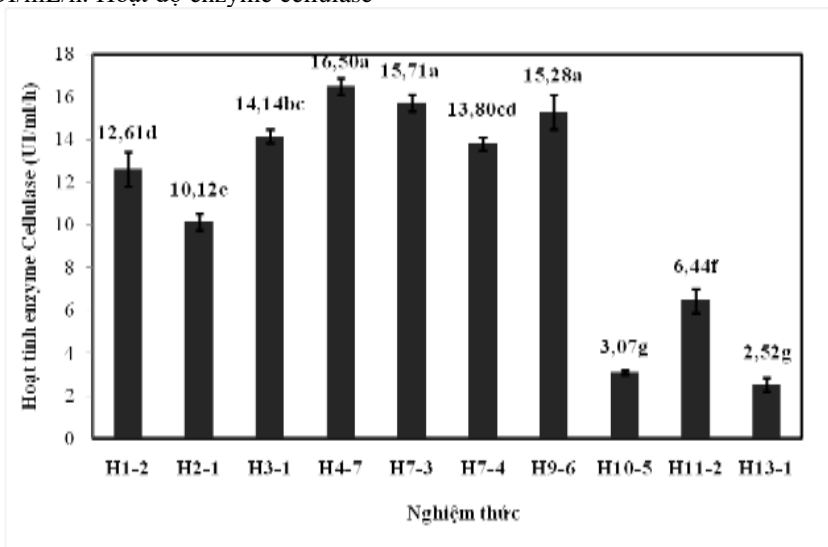
STT	Dòng nấm	Đường kính vòng halo (mm)	STT	Dòng nấm	Đường kính vòng halo (mm)
1	H1-1	7,17 <sup>nop</sup>	19	H5-1	3,67 <sup>rstu</sup>
2	H1-2	10,00 <sup>ijkmn</sup>	20	H5-2	8,67 <sup>mno</sup>
3	H2-1	2,00 <sup>uv</sup>	21	H6-1	8,33 <sup>mno</sup>
4	H2-2	4,33 <sup>qrst</sup>	22	H6-2	6,67 <sup>opq</sup>
5	H2-3	11,32 <sup>ghijk</sup>	23	H6-3	8,37 <sup>mno</sup>
6	H2-4	11,67 <sup>ghijk</sup>	24	H6-5	3,63 <sup>rstu</sup>
7	H2-5	15,67 <sup>ef</sup>	25	H7-1	6,00 <sup>pqr</sup>
8	H3-1	24,00 <sup>ab</sup>	26	H7-2	13,67 <sup>fg</sup>
9	H3-2	8,77 <sup>lmno</sup>	27	H7-3	16,30 <sup>e</sup>
10	H3-3	17,30 <sup>de</sup>	28	H7-4	25,70 <sup>a</sup>
11	H3-4	15,67 <sup>ef</sup>	29	H8-1	4,00 <sup>rstu</sup>
12	H4-1	17,00 <sup>e</sup>	30	H8-4	9,13 <sup>klmn</sup>
13	H4-2	3,33 <sup>stu</sup>	31	H9-1	3,00 <sup>stu</sup>
14	H4-3	4,67 <sup>qrs</sup>	32	H9-2	12,03 <sup>ghi</sup>
15	H4-4	1,67 <sup>uv</sup>	33	H9-3	11,10 <sup>hijkl</sup>
16	H4-5	13,30 <sup>fgh</sup>	34	H9-4	9,30 <sup>ijklmn</sup>
17	H4-6	15,00 <sup>ef</sup>	35	H9-5	4,20 <sup>rst</sup>
18	H4-7	19,67 <sup>cd</sup>	36	H9-6	22,00 <sup>bc</sup>

\*Ghi chú: Trong cùng một cột, những số có chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5%

**3.4 Định lượng khả năng tổng hợp enzyme cellulase của 10 dòng nấm phân lập được tuyển chọn trong môi trường nuôi cấy lỏng**

Kết quả định lượng khả năng tổng hợp enzyme cellulase của 10 dòng nấm tuyển chọn trong môi trường BHM lỏng chứa 1% CMC được trình bày ở Hình 4. Nhìn chung, hoạt độ enzyme cellulase do 10 dòng nấm tổng hợp khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) khi so sánh với nhau và dao động từ 2,52 đến 16,5 UI/mL/h. Trong đó, 3 dòng nấm cho hoạt độ enzyme cao nhất gồm H4-7, H7-3 và H9-6 với hoạt độ enzyme cellulase lần lượt đạt 16,5, 15,71 và 15,28 UI/mL/h. Hoạt độ enzyme cellulase

của 3 dòng nấm H11-2, H10-5 và H13-1 thấp nhất và lần lượt đạt 6,44, 3,07 và 2,52 UI/mL/h. So với các nghiên cứu trước đây hoạt độ enzyme cellulase của 3 dòng nấm H9-6, H4-7 và H7-3 cao hơn đáng kể. Cụ thể ở nghiên cứu của Acharya and Modi (2008) cho thấy hoạt độ enzyme cellulase của dòng nấm *Aspergillus niger* đạt cao nhất ở 0,0925 UI/mL sau 96 giờ nuôi cấy ở nhiệt độ 28°C. Trong khi kết quả nghiên cứu của Laamerad and Ansari (2015) cho thấy hoạt độ enzyme cellulase của nấm *Tricoderma reesi* đạt cao nhất ở 4,29 UI/mL sau 48 giờ.



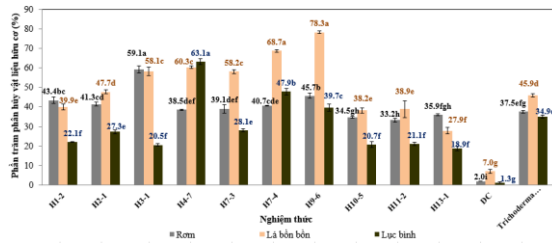
**Hình 4: Hàm lượng enzyme cellulase trong môi trường BHM 1%CMC lỏng của 10 dòng nấm tuyển chọn (n = 3, độ lệch chuẩn)**

Kết quả phân tích tương quan cho thấy có mối tương quan thuận được tìm thấy giữa kết quả định tính hoạt độ enzyme cellulase thông qua việc xác định đường kính vòng phân giải (halo) trên môi trường agar với kết quả định lượng khả năng tổng hợp enzyme cellulase trong môi trường nuôi cấy lỏng với hệ số tương quan  $r = 0,74$ . Như vậy kết quả khảo sát đường kính vòng phân giải (halo) cũng có thể dùng thay thế cho kết quả định lượng hoạt độ enzyme cellulase trong môi trường nuôi cấy lỏng.

### 3.5 Khả năng phân hủy rơm, lá bòn bòn và lục bình tiết trùng của 10 dòng nấm phân lập

#### 3.5.1 Rơm

Kết quả đánh giá khả năng phân hủy rơm sau 30 ngày thí nghiệm của 10 dòng nấm phân lập và chế phẩm *Trichoderma* sp. (sản phẩm của Trường Đại học Cần Thơ) được trình bày ở Hình 5.



**Hình 5: Phần trăm phân hủy ba vật liệu hữu cơ tiết trùng (rơm, lá bòn bòn và lục bình) của 10 dòng nấm thử nghiệm sau 30 ngày nuôi cấy (n=3, độ lệch chuẩn)**

Nhìn chung, tất cả 10 dòng nấm thử nghiệm đều có khả năng phân hủy rơm cao hơn và khác biệt nhau có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với nghiệm thức đối chứng. Khả năng phân hủy rơm của 10 dòng nấm thử nghiệm dao động từ 34,53% đến 59,13%. Trong đó dòng nấm H3-1 có phần trăm phân hủy rơm cao nhất, đạt 59,13% và khác biệt có nghĩa thống kê so với các dòng nấm còn lại (dao động từ 33,2% - 45,7%). Chế phẩm *Trichoderma* sp. của Đại học Cần Thơ phân hủy 37,53% trọng lượng rơm khô sau 30 ngày thí nghiệm, thấp hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với dòng nấm H3-1. Nghiệm thức đối chứng có trọng lượng rơm giảm 2,01% sau 30 ngày thí nghiệm. So với kết quả nghiên cứu của Võ Thị Ngọc Cẩm và ctv. (2015) dòng nấm H3-1 phân hủy cao hơn so với dòng nấm *Aspergillus fumigatus* (PH-C5) (47.6%) đã phân lập từ đất thâm canh lúa ở xã Phong Hòa (Đồng Tháp), trong khi kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Thu Thủy và ctv. (2017) cho thấy dòng nấm mốc 6NH phân lập ở bãi rác tỉnh Thừa Thiên Huế sau 45 ngày thí nghiệm phân hủy được 47,39% trọng lượng rơm khô thấp

hơn dòng nấm kí hiệu H3-1 trong nghiên cứu này. Tóm lại, cả 10 dòng nấm thử nghiệm đều có khả năng phân hủy rơm cao và dòng nấm H3-1 là dòng thể hiện khả năng phân hủy cao nhất đối với vật liệu rơm và do đó, được chọn để định danh.

Kết quả phân tích tương quan giữa phần trăm phân hủy rơm và hoạt độ của enzyme cellulase cho thấy hệ số tương quan  $r = 0,29$ . Như vậy, hoạt độ enzyme cellulase và phần trăm phân hủy rơm của 10 dòng nấm tuyển chọn không có mối tương quan với nhau. Kết quả cho thấy rằng enzyme cellulase không phải là enzyme then chốt tham gia vào việc phân hủy rơm lúa và việc phân hủy rơm lúa bởi các dòng nấm thử nghiệm được quyết định chủ yếu bởi các enzyme khác, bên cạnh enzyme cellulase.

#### 3.5.2 Lá bòn bòn

Kết quả khảo sát khả năng phân hủy lá bòn bòn sau 30 ngày thí nghiệm ở điều kiện phòng thí nghiệm của 10 dòng nấm phân lập và chế phẩm nấm *Trichoderma* sp. của Trường Đại học Cần Thơ được trình bày ở Hình 5 cho thấy tất cả 10 dòng nấm thử nghiệm đều có khả năng phân hủy lá bòn bòn cao, cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) khi so sánh với nghiệm thức đối chứng. Khả năng phân hủy lá bòn bòn của 10 dòng nấm thử nghiệm dao động từ 27,87% đến 78,27%. Dòng nấm H9-6 thể hiện khả năng phân hủy lá bòn bòn cao nhất, đạt 78,27%, kể đến là dòng nấm H7-4, đạt 68,7% và thấp nhất là dòng nấm H11-1 có tỉ lệ phân hủy đạt 27,87%. Các dòng nấm còn lại có tỉ lệ phân hủy lá bòn bòn dao động từ 38,2% đến 60,3%. Nghiệm thức chủng chế phẩm nấm *Trichoderma* sp. của Đại học Cần Thơ phân hủy được 45,87% trọng lượng lá bòn bòn khô sau 30 ngày thí nghiệm, thấp hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với dòng nấm H9-6. Tóm lại, cả 10 dòng nấm thử nghiệm đều có khả năng phân hủy cao lá bòn bòn. Dòng nấm H9-6 bên cạnh thể hiện khả năng phân hủy cao đối với vật liệu lá bòn bòn còn phân hủy cao vật liệu rơm và do đó, dòng nấm H9-6 được chọn để định danh.

Kết quả phân tích tương quan với hệ số tương quan  $r = 0,68$  cho thấy giữa hoạt độ enzyme cellulase và phần trăm phân hủy lá bòn bòn của 10 dòng nấm tuyển chọn có tương quan thuận và enzyme cellulase có vai trò quan trọng và then chốt quyết định khả năng phân hủy bòn bòn bên cạnh một số enzyme khác.

#### 3.5.3 Lục bình

Kết quả khảo sát khả năng phân hủy lục bình sau 30 ngày của 10 dòng nấm phân lập và chế phẩm nấm *Trichoderma* sp. Trường Đại học Cần Thơ được trình bày ở Hình 5. Kết quả cho thấy cả 10 dòng nấm thử nghiệm đều có khả năng phân

hủy lực bình cao, khác biệt thống kê khi so sánh với nhau và đều cao hơn so với nghiệm thức đối chứng ( $p < 0,05$ ). Phần trăm phân hủy lực bình của 10 dòng nấm thử nghiệm dao động từ 18,9% đến 63,1%. Trong đó dòng nấm H4-7 cho khả năng phân hủy lực bình cao nhất, đạt 63,13%, kể đến dòng nấm H7-4 có khả năng phân hủy 47,9% vật liệu lực bình và được xếp vào hàng thứ hai. Đứng hàng thứ ba trong nhóm cao nhất là dòng nấm H7-4 có tỉ lệ phân hủy lực bình đạt 39,7%. Nghiệm thức chủng chế phẩm nấm *Trichoderma* sp. của Đại học Cần Thơ phân hủy 35,53% trọng lượng lực bình khô sau 30 ngày thí nghiệm, thấp hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với ba dòng nấm H4-7, H7-4 và H9-6. Ngoài ra, dòng nấm H7-4 thể hiện khả năng phân hủy bền bền cao bên cạnh phân hủy lực bình. Vì vậy dòng nấm H7-4 được chọn để định danh tên loài.

Kết quả phân tích tương quan với hệ số tương quan  $r = 0,39$  cho thấy giữa hoạt độ enzyme cellulase và phần trăm phân hủy lực bình của 10 dòng nấm thử nghiệm sau 30 ngày thí nghiệm không tìm thấy bất cứ mối tương quan nào. Do đó, enzyme cellulase không phải là enzyme then chốt tham gia vào việc phân hủy lực bình và việc phân hủy lực bình bởi các dòng nấm thử nghiệm được quyết định chủ yếu bởi các enzyme khác, bên cạnh enzyme cellulase.

Từ kết quả phân hủy lực bình và rom lúa cho thấy cả 10 dòng nấm thử nghiệm đều có tỉ lệ phân hủy thấp và chậm hơn so với kết quả phân hủy lá bòn bòn. Lá bòn bòn chứa hàm lượng dinh dưỡng cao, đặc biệt là hàm lượng đạm nên có tỉ lệ C/N của vật liệu lá bòn bòn thấp hơn rất nhiều so với hai vật liệu còn lại là rom và lực bình. Điều này ảnh hưởng đến tốc độ phân hủy của hai vật liệu này của 10 dòng nấm thử nghiệm. Tóm lại, kết quả khảo sát khả năng phân hủy 3 vật liệu hữu cơ đã cho thấy các dòng nấm phân hủy tốt nhất đối với vật liệu lá bòn bòn, kể đến là vật liệu rom và cuối cùng là lực bình. Trong đó dòng nấm kí hiệu là H9-6 phân hủy tốt nhất vật liệu lá bòn bòn với tỉ lệ chất khô bị phân hủy cao, đạt 78,3%. Dòng nấm kí hiệu

H3-1 phân hủy tốt nhất vật liệu rom và đạt 59,1% chất khô bị phân hủy và dòng nấm H4-7 phân hủy lực bình tốt nhất, đạt 63,1%. Ngoài ra, dòng nấm H7-4 phân hủy tốt, ổn định cả 3 vật liệu thử nghiệm gồm rom, lá bòn bòn và lực bình với phần trăm phân hủy lần lượt đạt 40,7, 68,7 và 47,9%. Do đó 4 dòng nấm kí hiệu là H3-1, H4-7, H7-4 và H9-6 được chọn giải trình tự đoạn gen mã hóa bán đơn vị 28S ARN ribosomes.

**3.6 Định danh bốn dòng nấm H9-6, H7-4, H4-7 và H3-1 phân hủy tốt vật liệu hữu cơ bằng phương pháp giải mã trình tự đoạn 28S rRNA**

Kết quả giải mã trình tự đoạn gene 28S rRNA của bốn dòng nấm cho thấy dòng nấm H9-6 tương đồng với đoạn 28S rRNA của loài nấm *Aspergillus oryzae* với độ tương đồng là 100%, và cả ba dòng nấm H3-1, H4-7 và H7-4 tương đồng với đoạn 28S rRNA của loài nấm *Aspergillus niger* với tính đồng hình lần lượt là 100%, 99% và 100% (Bảng 4). Các kết quả nghiên cứu trước đây dòng nấm *Aspergillus niger* và *Aspergillus oryzae* được chứng minh có khả năng phân hủy cellulose nhanh và đồng thời có vai trò quan trọng trong việc tổng hợp các enzyme glucosidase ứng dụng chế biến thực phẩm, sản xuất gluconic acid, định lượng glucose trong quá trình lên men và chẩn đoán trong y học (Liu *et al.*, 1999; Nguyễn Thúy Hương và *ctv.*, 2011). Theo Nguyễn Văn Thao và *ctv.* (2015) việc sử dụng chế phẩm sinh học có chứa dòng nấm như *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger* làm tăng hiệu quả ủ phân hữu cơ sau 30 ngày thí nghiệm, tăng tỉ lệ N tổng số lên 1,04%, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> hữu hiệu là 187,9 mg/100 g và K<sub>2</sub>O hữu hiệu đạt 416,2 mg/100 g. Ngoài ra, khi bón phân hữu cơ giúp hạn chế sự phát triển của *E. coli* và *Salmonella*, đồng thời làm tăng mật độ các vi khuẩn chuyển hóa NH<sub>4</sub><sup>+</sup> và vi khuẩn phân giải cellulose, cải thiện năng suất cải nhíp lên 1,18 kg/m<sup>2</sup>. Tóm lại, bốn dòng nấm được định danh là *Aspergillus oryzae* H9-6, *Aspergillus niger* H3-1, *Aspergillus niger* H4-7 và *Aspergillus niger* H7-4 có ích cho cây trồng và có triển vọng rất lớn trong việc sản xuất phân bón hữu cơ và sinh học cho cây trồng.

**Bảng 4: Kết quả định danh bốn dòng nấm H9-6, H7-4, H4-7 và H3-1 theo độ tương đồng của đoạn 28S rRNA**

TT	Dòng	Độ tương đồng (%)	Các dòng nấm trên cơ sở dữ liệu		Định danh
			Nấm	Số đăng kí	
1	H9-6	100	<i>Aspergillus oryzae</i>	AP007173.1	<i>Aspergillus oryzae</i> H9-6
2	H3-1	100	<i>Aspergillus niger</i>	AM270052.1	<i>Aspergillus niger</i> H3-1
3	H4-7	99	<i>Aspergillus niger</i>	AM270052.1	<i>Aspergillus niger</i> H4-7
4	H7-4	100	<i>Aspergillus niger</i>	AM270052.1	<i>Aspergillus niger</i> H7-4

**4 KẾT LUẬN**

Bốn dòng nấm có kí hiệu H3-1, H4-7, H7-4 và H9-6 được phân lập từ đất hệ vi sinh vật đất bản

địa của đất trồng chuối, đất trồng hành tím, đất trồng dưa hấu và đất trồng lúa ở Sóc Trăng có khả năng tổng hợp enzyme cellulase cao với hoạt độ



enzyme cellulase lần lượt 14,14; 16,50; 13,8 và 15,28 UI/mL/h đồng thời có khả năng phân hủy rất cao 3 vật liệu hữu cơ chứa cellulose gồm rơm, lá bòn bòn và lục bình, đặc biệt 3 dòng nấm H4-7, H7-4 và H9-6 có khả năng phân hủy cao và ổn định đối với cả 3 nguồn vật liệu. Bốn dòng nấm này được định danh theo thứ tự lần lượt *Aspergillus niger* H3-1, *Aspergillus niger* H4-7, *Aspergillus niger* H7-4 và *Aspergillus oryzae* H9-6. Các dòng nấm này có tiềm năng ứng dụng cao trong xử lý các phụ phẩm nông nghiệp để làm phân bón hữu cơ giúp cải tạo đất, tăng sinh trưởng, năng suất và chất lượng cây trồng.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Acharya, P.B., and Modi, H.A., 2008. Optimization for cellulase production by *Aspergillus niger* using saw dust as substrate. African Journal of Biotechnology, 7(22): 4147-4152.
- Gaur, A.C., Neelakantan, S., and Dargan, K.S., 1990. Organic manures. I.C.A.R. New Delhi. India, 6: 159-176.
- Ihrmark, K., Bodeker, I.T.M., Cruz-Martinez, K., et al., 2012. New primers to amplify the fungal ITS2 region – evaluation by 454-sequencing of artificial and natural communities. FEMS Microbiology Ecology, 82(3): 666-677.
- Laamerad, B., and Ansari, P., 2015. Increased production and activity of cellulase enzyme of *Trichoderma reesei* by using gibberellin hormone. Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran, 26(4): 315-319.
- Lê Thị Thanh Thủy và Phạm Văn Toàn, 2001. Bước đầu nghiên cứu khả năng sử dụng vi sinh vật phân giải cellulose trong chuyển hóa nhanh rơm rạ làm phân bón. Hội thảo quốc tế sinh học, Hà Nội, Việt Nam. Tr: 443-448.
- Liu, J.Z., Yang, H.Y., Weng, L.P., and Ji, L.N., 1999. Synthesis of glucose oxidase and catalase by *Aspergillus niger* in resting cell culture system. Letter in Applied Microbiology, 29(5): 337-341.
- Nguyễn Ngọc Trúc Ngân và Phạm Thị Ngọc Lan, 2014. Tìm hiểu khả năng phân giải cellulose của vi sinh vật phân lập từ chất thải rắn của nhà máy focovev Thừa Thiên Huế. Tạp chí khoa học và công nghệ, Trường Đại học Khoa học Huế, 1: 135-142.
- Nguyễn Ngô Yến Ngọc, Lê Bảo Uyên và Bùi Minh Trí, 2014. Phân lập đánh giá và tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy một số chủng vi sinh vật có khả năng phân hủy đồng thời lignin và cellulose. Tạp chí sinh học Trường Đại học Khoa học tự nhiên Thành phố Hồ Chí Minh, 36: 34-41.
- Nguyễn Thị Thu Thủy và Nguyễn Tiến Long, 2018. 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. Tạp chí Khoa học Đại học Huế, 127(3B): 5-19.
- Nguyễn Thị Thu Thủy, Trương Thị Hồng Hải, Trần Thị Xuân Phương, Cao Thị Dung và Lê Thị Hương Xuân, 2017. Phân lập, tuyển chọn một số chủng vi sinh có khả năng phân giải cellulose và bước đầu ứng dụng trong xử lý phụ phẩm nông nghiệp làm phân bón hữu cơ vi sinh. Tạp chí khoa học và công nghệ nông nghiệp, 1(1): 159-168.
- Nguyễn Thúy Hoàng, Ngô Tiến Hiển, Nguyễn Minh Thu, Khuất Thị Thủy, Đàm Lam Thanh và Trần Thị Châu, 2011. Tuyển chọn chủng nấm mốc *Aspergillus* sp. có khả năng sinh tổng hợp Glucooxydaza cao. Tạp chí Khoa học và Công nghệ, 49(2): 117-223.
- Nguyễn Văn Thao, Nguyễn Thị Lan Anh, Nguyễn Thị Minh, Nguyễn Thu Hà và Đỗ Nguyên Hải., 2015. Nghiên cứu chế phẩm vi sinh vật để sản xuất phân hữu cơ từ bã nấm và phân gà. Tạp chí Khoa học và Phát triển, 13(8): 1415-1423.
- Raja, A.H., Miller, N.A., Pearce, J.C. and Oberlies, H.N., 2000. Fungal identification using molecular tools: A primer for the natural products research community. Journal of Natural Products, 80(3): 756-770.
- Ramaswami, P.P., and Tran Thi Ngoc Son., 1996. Quality compost from agricultural wastes. Paper presented at the National workshop on Organic farming for sustainable agriculture held at Hyderabad, A.P., India: 18-20.
- Sazci, A., Erenler, K., and Radford, A., 1986. Detection of cellulolytic fungi by using Congo red as an indicator: a comparative study with the dinitrosalicylic acid reagent method. Journal of Applied Bacteriology, 61(6): 559-562.
- Võ Thị Ngọc Cẩm, Dương Minh Viễn, Nguyễn Khởi Nghĩa và ctv., 2015. Phân lập và tuyển chọn một số dòng nấm bản địa phân hủy một số vật liệu hữu cơ từ nền đất thâm canh lúa tại xã Phong Hòa huyện Lai Vung tỉnh Đồng Tháp. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, 36: 1-11.
- Xa, L.T., Thao, N.T.P., and Nghia, N.K., 2018. Phosphate solubilization, indole-3-acetic acid synthesis and nitrogen fixation ability of various indigenous microorganism communities from different agri-ecosystem habitats. Can Tho University Journal of Science, 54: 39-48.