

ĐÁNH GIÁ ĐẶC TÍNH SINH HỌC VÀ ĐỊNH TÊN NẤM DÙNG TRONG XỬ LÝ PHẾ THẢI NÔNG NGHIỆP

Biological Assessment and Classification of Micro - Fungus Used for Agricultural Waste Treatment

Đinh Hồng Duyên, Phạm Thị Thảo Nguyên, Phạm Thuý Kiều

Khoa Tài nguyên và Môi trường, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

Địa chỉ email tác giả liên lạc: dhduyen@hua.edu.vn

TÓM TẮT

Việc phân lập tuyển chọn các chủng vi sinh vật để xử lý phế thải nông nghiệp sẽ rút ngắn thời gian và nâng cao chất lượng của phân ủ. Bằng phương pháp đánh giá khả năng phân giải tinh bột, xenluloza, CMC, khả năng sinh trưởng ở các ngưỡng pH khác nhau, khả năng kháng kháng sinh, từ 27 chủng nấm được phân lập đã tuyển chọn được 4 chủng nấm có hoạt tính sinh học cao. Đã phân loại và đánh giá mức độ an toàn của các chủng nấm, kết quả lựa chọn ra 3 chủng nấm thuộc nhóm an toàn: N₄: *Rhizopus oryzae*, N₁₈: *Aspergillus oryzae* và N₂₄: *Penicillium mali*. Sử dụng chế phẩm vi sinh vật được sản xuất từ 3 chủng nấm trên và 2 chủng vi sinh vật của bộ môn vi sinh vật (1 chủng xạ khuẩn, 1 chủng vi khuẩn) cho thấy đã rút ngắn thời gian ủ và làm tăng chất lượng của đồng ủ: ở công thức có bổ sung chế phẩm vi sinh vật sau 40 ngày độ hoai đã đạt 80%, còn ở công thức đối chứng độ hoai chỉ đạt 40%; hàm lượng các chất dinh dưỡng trong đồng ủ có bổ sung chế phẩm vi sinh vật (N% là 0,60%) cao hơn đồng ủ đối chứng (N% là 0,40%) và cao hơn trước khi ủ.

Từ khoá: Nấm; phân loại, phế thải nông nghiệp, xenluloza.

SUMMARY

Isolating and collecting microorganisms for treatment of plant residues in the field will make the time of composting shorter and improve quality of the compost. We isolated 27 fungus isolates from agricultural wastes on PDA, Czapek, and Richard cultures. After assessing biological activities, we chose 4 isolates that had high activities. On observing morphological characteristics, comparing with classification systems and accessing biosafety level, we chose 3 fungus isolates that had safety in 1 group.: N₄ - *Rhizopus oryzae*, N₁₈ - *Aspergillus oryzae* and N₂₄: *Penicillium mali*

Using micro-product that was made from 3 isolated fungus and 2 strains (actinomyces and bacteria) showed that: after 40 days, the rate of humus in composting of straw was 80% compares to only 40% for the control. nutrient contents in the compost with micro-product (0.60% N) were higher than those in the compost without micro-product (0.40% N).

Key words: Agricultural waste, cellulase, classification, Fungi.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam là một nước nông nghiệp với khoảng 74% dân số làm nghề nông. Hàng năm, hàng triệu tấn phế thải nông nghiệp rơm rạ, lõi ngô, hành tỏi, rau quả... được để

lại trên đồng ruộng, nương rẫy. Tất cả lượng phế thải này đa phần bị đốt, phần còn lại trở thành phế thải gây ô nhiễm nghiêm trọng môi trường và nguồn nước, trong khi đó đất đai lại thiếu trầm trọng nguồn dinh dưỡng cho cây.

Phế thải nông nghiệp là loại phế thải có thời gian phân huỷ tự nhiên dài vì có chứa hàm lượng xenluloza, lignin, tinh bột... cao. Thực tế, đã có nhiều đề tài phân lập, tuyển chọn các chủng vi sinh vật để làm giống sản xuất chế phẩm vi sinh vật xử lý phế thải nông nghiệp, nhằm rút ngắn thời gian và nâng cao chất lượng phân ủ như đề tài cấp Nhà nước KHCN 02-04 đã phân lập được 58 chủng nấm (Phạm Văn Ty, 1998). Theo Gotas (1970) và Stuzeberger (1971), nấm là nhóm vi sinh vật có khả năng phân huỷ phế thải rất cao vì chúng có khả năng tiết ra nhiều loại enzym ngoại bào với lượng lớn và đầy đủ thành phần, ngoài ra nấm còn có khả năng nhân nhanh sinh khối trong một thời gian ngắn và có khả năng thích ứng cao với sự thay đổi của điều kiện môi trường sống.

Vì vậy, nghiên cứu này tiến hành phân lập, tuyển chọn các chủng nấm có khả năng phân huỷ mạnh xenlulaza, tinh bột để sản xuất chế phẩm vi sinh vật xử lý phế thải nông nghiệp.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

Các mẫu phế thải nông nghiệp: rơm rạ, hành tỏi, rau quả đã hoai mục.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Từ các mẫu phế thải nông nghiệp, các chủng nấm được phân lập trên các môi trường khác nhau (môi trường PDA, Sabouraud, Czapek, Czapek - Dox, Martin) theo phương pháp loại trực tiếp trên đĩa môi trường thạch đĩa. Sau đó, tiến hành đánh giá đặc tính sinh học của các chủng nấm đã phân lập được bằng cách xác định thời gian mọc, hình thái kích thước khuẩn lạc, ngưỡng pH thích hợp, khả năng kháng kháng sinh bằng cách nuôi cấy trực tiếp trên môi trường thạch đĩa ở các điều kiện khác nhau. Để xác

định thời gian mọc, hình thái, kích thước khuẩn lạc, tiến hành nuôi cấy các chủng nấm trên môi trường thạch đĩa chuyên tính ở 28°C, trong 5 ngày. Sau 2 - 3 ngày nuôi ở 28°C đo kích thước và đếm số lượng khuẩn lạc. Hoạt tính CMCaza, xenlulaza, amylaza được xác định theo phương pháp khuếch tán phóng xạ trên môi trường thạch đĩa (William, 1983). Dựa trên các đặc điểm sinh học của các chủng nấm phân lập, tuyển chọn các chủng nấm có khả năng phân huỷ mạnh phế thải nông nghiệp và kết hợp với các chủng vi sinh vật khác để sản xuất chế phẩm vi sinh vật theo phương pháp hợp chủng.

Nghiên cứu đặc điểm hình thái và đặc điểm phân loại của các chủng nấm đã phân lập được. Dựa trên các đặc điểm hình thái, kích thước khuẩn lạc, cuống sinh bào tử, bào tử... so sánh với khóa phân loại của Schipper (1979) và Klick (2004), nghiên cứu này đã định tên đến loài cho các chủng nấm có hoạt tính sinh học cao, sau đó đánh giá mức độ an toàn của những chủng nấm này trên BSAS.

Tiến hành sản xuất chế phẩm và xử lý rơm rạ theo Nguyễn Xuân Thành (2004). Rơm rạ được thu gom trên đồng ruộng bằng phương pháp phân loại và không cần phải băm chặt trước khi xử lý. Sử dụng chế phẩm vi sinh vật có hoà thêm nước sạch phun và rắc đều vào đồng ủ thí nghiệm (10 lít, 10 kg/1 tấn phế thải nông nghiệp) (lượng nước phun vào đồng ủ được tính toán để đảm bảo độ ẩm của đồng ủ đạt từ 50 - 70%), còn đồng ủ đối chứng thì để nguyên. Quy trình xử lý theo phương pháp bán hiếu khí, trong thời gian 40 ngày. Sau 40 ngày tiến hành phân tích các chỉ tiêu trong đồng ủ phế thải rơm rạ trước và sau khi xử lý bằng chế phẩm vi sinh vật để đánh giá hiệu quả của chế phẩm vi sinh vật. Theo dõi các chỉ tiêu pH, N%, P₂O₅%, K₂O%, OC% trong đồng ủ. Phương pháp phân tích tiến hành theo Viện Thổ nhưỡng Nông hóa (1998).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá đặc tính sinh học của các chủng nấm phân lập từ phế thải nông nghiệp

Kết quả đã phân lập và thuần khiết được 27 chủng nấm, ký hiệu từ N₁-N₂₇.

3.1.1. Xác định hoạt tính phân giải CMC, xenlulaza, tinh bột

Trong 27 chủng nấm thu được, 15 chủng nấm bị lược bỏ do chúng không có khả năng phân hủy CMC, xenlulaza và tinh bột hoặc kích thước vòng phân giải nhỏ (Bảng 1). Ngoài ra, những chủng nấm có khả năng phân giải CMC nhưng lại không có khả năng phân hủy xenluloza cũng bị loại bỏ, bởi vì quá trình phân giải xenluloza tự nhiên cần

có sự tham gia của phức hệ enzym, trong đó có enzym phân hủy CMC. Trong các chủng nấm còn lại vừa có khả năng phân hủy tinh bột, vừa có khả năng phân hủy CMC, có 6 chủng nấm (N₁, N₄, N₁₁, N₁₈, N₂₂, N₂₄) có hoạt tính enzym mạnh nhất được giữ lại để tiếp tục đánh giá các hoạt tính sinh học khác.

3.1.2. Xác định thời gian mọc, hình thái, kích thước khuẩn lạc

Số liệu ở bảng 2 cho thấy, 6 chủng nấm đều mọc sau 16h nuôi cấy. Theo bảng phân loại của Bergey (1984) thì 6 chủng này thuộc nhóm mọc nhanh (mọc trước 72h). Khuẩn lạc của các chủng nấm có màu từ trắng, màu vàng, đến màu xanh, xanh rêu đậm, kích thước khuẩn lạc của nấm sau 5 ngày nuôi cấy dao động từ 2 - 3 mm ở nấm N₂₂ đến 5 - 8 mm ở nấm N₄.

Bảng 1. Hoạt tính enzym CMCaza, xenlulaza và amylaza của 27 chủng nấm

STT	Chủng VSV	Hoạt tính enzym (mm)		
		CMCaza	Xenlulaza	Amylaza
1	N ₁	21,5	22	70
2	N ₂	8,5	0	15
3	N ₃	19,7	14	0
4	N ₄	20,8	70	70
5	N ₅	11,7	0	0
6	N ₆	18,2	17,5	0
7	N ₇	20,5	15,3	0
8	N ₈	15	14,3	16,6
9	N ₉	0	0	0
10	N ₁₀	19,7	17	17
11	N ₁₁	23,9	70	70
12	N ₁₂	6,7	19	12
13	N ₁₃	16,7	19,3	22
14	N ₁₄	8	1,47	13
15	N ₁₅	0	0	0
16	N ₁₆	7,8	20	23,5
17	N ₁₇	13,2	11,2	19,6
18	N ₁₈	31,9	70	28,3
19	N ₁₉	17,4	14,3	25,3
20	N ₂₀	8	0	18,2
21	N ₂₁	14,1	38,3	27
22	N ₂₂	23,7	28	70
23	N ₂₃	16	12	0
24	N ₂₄	25	28,3	24
25	N ₂₅	19,5	18	0
26	N ₂₆	19,0	14,3	70
27	N ₂₇	13,5	0	0

Bảng 2. Thời gian mọc, hình thái, kích thước khuẩn lạc của 6 chủng nấm

Chủng VSV	Thời gian mọc (h)	Kích thước khuẩn lạc sau 5 ngày nuôi cấy (mm)	Hình thái khuẩn lạc sau 72h
N ₁	16	1 - 2	Khuẩn lạc màu xanh, hơi vàng, sợi ngắn
N ₄	16	5 - 8	Khuẩn lạc khi còn non có màu trắng, sợi dài, về sau thành màu nâu xám
N ₁₁	16	5 - 6	Khuẩn lạc màu xanh rêu đậm, mặt trái màu kem nhạt, bào tử trên bề mặt tạo thành đám dày đặc
N ₁₈	16	4 - 5	Khuẩn lạc dạng bông xốp, màu vàng hơi xanh, sợi ngắn
N ₂₂	16	2 - 3	Khuẩn lạc màu trắng ngà, sợi bông, xốp
N ₂₄	16	4 - 5	Khuẩn lạc màu xanh rêu đậm, sợi ngắn, trên bề mặt xuất hiện những đám sợi khí sinh màu trắng.

Bảng 3. Khả năng sinh trưởng, phát triển của 6 chủng nấm ở các ngưỡng pH khác nhau

Chủng VSV	Đơn vị tính	pH ban đầu				
		pH=5	pH=6	pH=7	pH=8	pH=9
N ₁	x10 ⁵ (CFU/ml)	2,2	2,6	1,65	0,85	-
N ₄	x10 ⁵ (CFU/ml)	2,25	2,46	3,98	2,10	1,00
N ₁₁	x10 ⁵ (CFU/ml)	5,4	6,25	6,75	5,25	1,70
N ₁₈	x10 ⁵ (CFU/ml)	3,45	6,25	6,8	3,85	2,5
N ₂₂	x10 ⁵ (CFU/ml)	2,2	3,4	2,0	1,6	0,5
N ₂₄	x10 ⁵ (CFU/ml)	3,15	3,40	3,65	2,54	1,5

3.1.3. Khả năng sinh trưởng, phát triển của các chủng nấm ở các ngưỡng pH khác nhau

Theo Rynk & cs. (1992) và Gray và Biddlestone (1971), hầu hết quá trình ủ phân, ủ phân hữu cơ xảy ra trong khoảng pH từ 5,5 đến 9 và khoảng pH thích hợp nhất cho quá trình ủ phân là từ 6,5 đến 8. Số liệu ở bảng 3 cho thấy, 4 chủng nấm N₄, N₁₁, N₁₈, N₂₄ có khả năng sinh trưởng, phát triển mạnh trong dải pH rất rộng từ 5 đến 9.

3.1.4. Khả năng kháng kháng sinh của các chủng nấm

Các chủng vi sinh vật chịu được nồng độ kháng sinh cao thì các chủng đó có khả năng chống chịu với điều kiện môi trường sống tốt hơn, có sức sống cao, sức cạnh tranh lớn, dẫn đến phát huy thế mạnh tốt. Sáu chủng nấm nghiên cứu đều có khả năng phát triển tốt ở môi trường có nồng độ Streptomycin từ thấp đến trung bình (300 - 500 mg/l môi trường), mọc yếu dần ở các nồng độ cao hơn (từ 500 -

1000 mg/l môi trường). Trong đó, đáng chú ý nhất là 4 chủng N₄, N₁₁, N₁₈, N₂₄ có thể sinh trưởng mạnh ở nồng độ kháng sinh cao 1000 mg/l môi trường nuôi cấy (Bảng 4).

3.1.5. Lựa chọn các chủng nấm có hoạt tính sinh học cao

Các chủng vi sinh vật được lựa chọn nhằm mục đích sản xuất chế phẩm phải có hoạt tính sinh học cao: có khả năng phân giải mạnh ligno-xenlulo, tinh bột, có thời gian mọc nhanh, kích thước khuẩn lạc lớn, thích ứng rộng ở các mức pH và nhiệt độ khác nhau, có khả năng kháng kháng sinh. Các chủng vi sinh vật có hoạt tính sinh học cao thì khi sử dụng sẽ nhân nhanh sinh khối trong một thời gian ngắn, tiết ra một lượng lớn enzym phân giải và chịu được các điều kiện thay đổi của môi trường, do đó sẽ rút ngắn thời gian phân giải chất hữu cơ.

Từ các kết quả đạt được (Bảng 1, 2, 3, 4), nghiên cứu đã chọn được 4 chủng nấm có hoạt tính sinh học cao đó là: N₄, N₁₁, N₁₈, N₂₄.

Bảng 4. Khả năng kháng kháng sinh của các chủng nấm

Chủng	Đơn vị tính	Nồng độ chất kháng sinh (mg/l)			
		C ₃₀₀	C ₅₀₀	C ₈₀₀	C ₁₀₀₀
N ₁	x10 ⁵ (CFU/ml)	1,17	1,05	0,86	0,5
N ₄	x10 ⁵ (CFU/ml)	6,10	4,86	4,78	2,24
N ₁₁	x10 ⁵ (CFU/ml)	8,60	5,25	4,9	2,1
N ₁₈	x10 ⁵ (CFU/ml)	11,7	6,83	3,8	2,3
N ₂₂	x10 ⁵ (CFU/ml)	5,8	3,85	3,5	2,85
N ₂₄	x10 ⁵ (CFU/ml)	10,6	5,96	4,83	3,6

3.2. Nghiên cứu đặc điểm hình thái và đặc điểm phân loại của các chủng nấm

Dựa trên các đặc điểm hình thái, kích thước khuẩn lạc, cuống sinh bào tử, bào tử..., so sánh với khóa phân loại của Schipper (1979) và Klick (2004), 4 chủng nấm có hoạt tính sinh học cao đã được định tên đến loài.

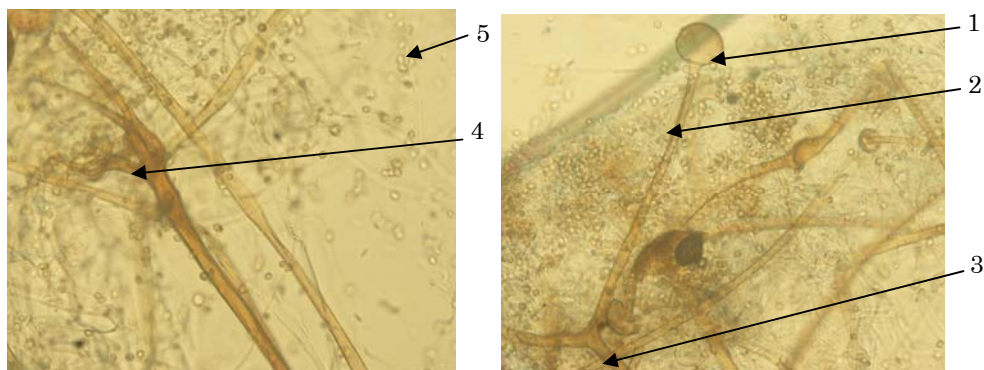
3.2.1. Chủng N₄

Trên môi trường thạch khoai tây, khuẩn lạc phát triển rất nhanh tại 25°C, đạt 5 - 8 mm chiều cao. Khi còn non, hệ sợi có màu trắng, về sau thành màu nâu xám.

Rễ giả có kích thước trung bình, đường kính 7,6 µm, dài từ 100 - 200 µm. Cuống bào

tử dài 1500 µm và rộng 10 - 20 µm nhẵn, không có vách ngăn, mọc đơn lẻ hoặc tạo chùm từ thân bò (stolon), đối diện rễ giả rhizoids. Trên bề mặt có nhiều mấu nổi hình nón, từ đó sinh ra các bào tử nhỏ. Túi bào tử hình cầu, xuất hiện thể bột mịn trên bề mặt, đường kính trong lên đến 175 µm. Lõi bào tử có hình cầu hoặc hình oval, dài 130 µm. Bào tử nhỏ có hình dạng khác nhau, từ hình cầu đến elip, dài lên đến 8 µm. Hạt bào tử có rãnh cửa trên bề mặt. Xuất hiện bào tử tiếp hợp, khi còn non có màu nâu đỏ, về già có màu nâu.

Các đặc điểm phân loại đến loài của *Rhizopus oryzae* (Schipper; 1979) cho ở hình 1.



Hình 1. Hình dạng rễ giả rhizoids và hình dạng cơ quan sinh sản

1 - Túi bào tử; 2 - Cuống sinh bào tử; 3 - Thân bò; 4 - Rễ giả; 5 - Bào tử nhỏ

3.2.2. *Chủng N₁₁*

Khuẩn lạc được phát triển nhanh 5 - 6 mm sau 10 ngày nuôi cấy ở nhiệt độ 25°C (môi trường PDA), sợi nấm màu trắng, bào tử trên bề mặt khuẩn lạc tạo thành đám dày đặc, màu xanh rêu. Mặt trái màu kem nhạt.

Cuống sinh bào tử không màu, nhẵn, kích thước đạt từ 30 - 150 µm, phần cuối cùng của cuống sinh bào tử phình to, tạo thành bong hình cầu, gân cầu kích thước 25 - 50 µm. Thể bình 1 tầng, bao phủ 1/3 diện tích bề mặt bong. Kích thước 2-4 x 1,5-2 µm. Bào tử hình cầu, kích thước đạt 3 - 5 µm. Hình dạng điển hình của loài *Aspergillus fumigatus* cho ở hình 2.

3.2.3. *Chủng N₁₈*

Khuẩn lạc dạng bông xốp, phát triển nhanh, màu xanh rêu, kích thước đạt 4 - 5 mm sau 7 ngày nuôi cấy.

Cuống sinh bào tử rập, đường kính 3 - 8 m. Chiều dài có khi tới 200 µm. Phần cuối cuống phình to thành bong, kích thước 20 - 55 µm. Thể bình hai tầng, bao phủ 2/3 đến toàn bộ bề mặt bong. Kích thước thể bình sơ cấp: 2 - 2,5 x 5 - 8 µm. Kích thước thể bình thứ cấp: 1,5 - 2 x 2 - 5 µm. Bào tử tương đối nhẵn, thay đổi về hình dạng và kích thước.

Từ hình cầu, đến gần cầu, hình ovan, hạt chanh,... Kích thước từ 3 - 5 - 6 µm thậm chí lên tới 9 µm.

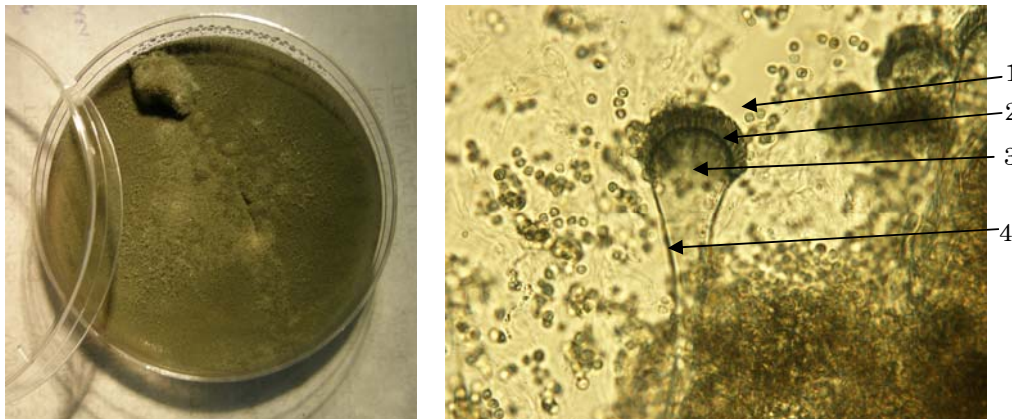
So sánh với khóa phân loại của Klick (2004), chúng tôi khẳng định chủng này thuộc về loài *Aspergillus oryzae* (Hình 3)

3.2.4. *Chủng N₂₄*

Trên môi trường thạch khoai tây, khuẩn lạc phát triển rất nhanh đạt kích thước 4 - 5 mm sau 4 - 5 ngày nuôi cấy, sau đó lan kín hộp petri. Tạo những rãnh đồng tâm với sự hình thành các đám bào tử và các sợi khí sinh xen kẽ. Mặt phải khuẩn lạc màu xanh rêu, trên bề mặt xuất hiện những đám sợi khí sinh màu trắng. Mặt trái khuẩn lạc màu trắng ngà, khi già ngả sang màu nâu nhạt.

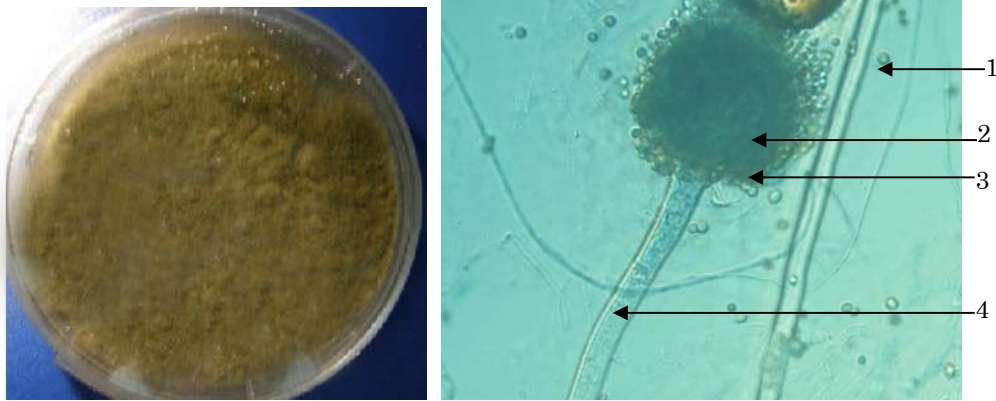
Cuống sinh bào tử phân nhánh, tạo hình chổi điển hình, bao gồm 4 - 6 cuống sinh bào tử thứ cấp kích thước 2,5 - 3,5 - 15 - 25 µm, tại mỗi đỉnh cuống sinh bào tử thứ cấp sinh ra mỗi cụm thể bình (3 - 5 thể bình trên mỗi cuống). Kích thước thể bình 2-2,5 x 8-12 µm. Bào tử hình elip, kích thước 3 - 3,5 µm, sau trở thành hình cầu, gân cầu.

Hình dạng điển hình của loài *Penicillium mali* (Raper và Fennell, 1965) có ở hình 4.



Hình 2. Hình dạng khuẩn lạc, bào tử, cuống sinh bào tử của chủng N11

1- Bào tử; 2- Bong bào tử; 3- Thể bình; 4- Cuống sinh bào tử

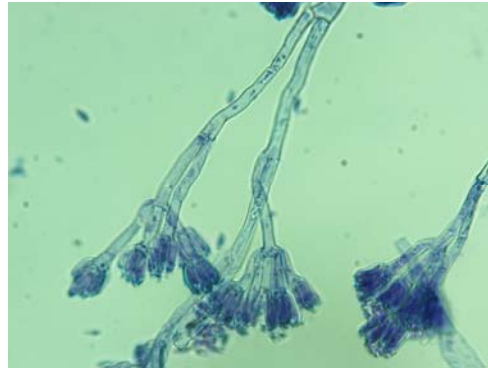


Hình 3. Hình dạng khuẩn lạc, cơ quan sinh sản của chủng N18

1- Bào tử; 2 - Bọng bào tử; 3 - Thể bình; 4 - Cuống sinh bào tử



Hình dạng khuẩn lạc chủng N24



Hình dạng cuống sinh bào tử chủng N24

Hình 4. Hình dạng khuẩn lạc, cơ quan sinh sản của chủng N24

Đánh giá mức độ an toàn của những chủng nấm này trên BSAS đã cho thấy N₁₁: *Aspergillus fumigatus* là loài nấm độc thuộc nhóm an toàn mức 2 nên không thể sử dụng chủng nấm này để sản xuất chế phẩm vi sinh vật. Còn 3 chủng nấm còn lại N₄: *Rhizopus oryzae*, N₁₈: *Aspergillus oryzae*, N₂₄: *Penicillium mali* đều thuộc nhóm an toàn 1 có thể được sử dụng để sản xuất chế phẩm vi sinh vật.

3.3. Sử dụng chế phẩm vi sinh vật xử lý rơm rạ

Sự chuyển hóa vật chất trong tự nhiên hết sức phức tạp. Sự phức tạp này biểu hiện

ở sự phát triển đa dạng nhiều loài vi sinh vật trong phế thải tạo ra sự giao thoa của sự sống. Sự phức tạp còn nằm ở sự đa dạng vật chất trong phế thải. Do đó, việc xử lý phế thải không phải là sử dụng một loài vi sinh vật thuần khiết nào đó mà là cả một hỗn hợp nhiều loài, tạo ra sự chuyển hóa hài hòa trong toàn bộ chuỗi vận chuyển. Mỗi loài vi sinh vật sẽ thực hiện một hoặc vài mắt xích trong toàn bộ chuỗi chuyển hóa. Vì vậy, nghiên cứu này sử dụng thêm 1 chủng vi khuẩn (VK₁₄) và 1 chủng xạ khuẩn (XK₇) của bộ môn vi sinh vật, sau đó tiến hành sản xuất chế phẩm và xử lý rơm rạ.

Bảng 5. Kết quả phân tích đồng ủ rơm rạ trước và sau khi xử lý

Chỉ tiêu	Thời gian	Trước khi ủ	Sau ủ 40 ngày	
			Đồng ủ đối chứng	Đồng ủ thí nghiệm
Tỷ lệ mùn hóa (%)		0	45	80
pH _{KCL}		6,54	6,62	6,78
OC (%)		34,13	26,63	21,96
N (%)		0,21	0,40	0,60
P ₂ O ₅ (%)		0,18	0,65	0,89
K ₂ O (%)		1,51	1,76	1,95

Sau 40 ngày ủ, ở đồng ủ rơm rạ có xử lý chế phẩm vi sinh vật (đồng ủ thí nghiệm) có màu đen, xốp, rất dễ vỡ vụn (Bảng 5). Tỷ lệ mùn hóa đạt 80%, chứng tỏ rơm rạ sau ủ 40 ngày bằng chế phẩm vi sinh vật có thể đem sử dụng như là phân hữu cơ, trong khi đó ở đồng ủ đối chứng chỉ đạt 45%, chứng tỏ đồng ủ đối chứng vẫn phải tiếp tục ủ. Tiếp tục theo dõi thì thấy sau 3 tháng đồng ủ đối chứng mới đạt tỷ lệ mùn hóa 80%. OC% giảm xuống từ 34,13% ở đồng phế thải trước khi ủ xuống chỉ còn 21,96% ở đồng ủ được xử lý chế phẩm vi sinh vật. Hàm lượng NPK (%) sau khi ủ ở đồng ủ thí nghiệm cao hơn hẳn trước khi ủ và cao hơn ở đồng ủ đối chứng, N (%) sau khi ủ ở đồng ủ thí nghiệm cao hơn gần gấp 3 lần so với trước khi ủ và cao hơn 1,5 lần so với đồng ủ đối chứng.

Điều này chứng tỏ ở đồng ủ thí nghiệm chế phẩm vi sinh vật đã chuyển hóa mạnh các chất hữu cơ khó phân huỷ thành các chất dễ tiêu, giúp rút ngắn quá trình ủ và tăng hàm lượng dinh dưỡng cho phân ủ.

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Từ các mẫu phế thải nông nghiệp đã phân lập, thuần khiết được 27 chủng nấm. Sau khi đánh giá các đặc tính sinh học, đã chọn ra được 4 chủng nấm (N₄, N₁₁, N₁₈, N₂₄) có khả năng phân huỷ mạnh xenlulaza, tinh bột.

Qua quan sát đặc điểm hình thái và so sánh với các khóa phân loại đã xác định được

N₄ là *Rhizopus oryzae*, N₁₁ là *Aspergillus fumigatus*, N₁₈ *Aspergillus oryzae* và , N₂₄: *Penicillium mali*.

Lựa chọn 3 chủng nấm thuộc nhóm an toàn 1 là: N₄: *Rhizopus oryzae*, N₁₈: *Aspergillus oryzae* và N₂₄: *Penicillium mali* để sản xuất chế phẩm.

Sử dụng chế phẩm vi sinh vật được sản xuất từ 3 chủng nấm kết hợp với 1 chủng vi khuẩn và 1 chủng xạ khuẩn của Bộ môn Vi sinh vật cho thấy đã rút ngắn thời gian ủ từ 3 tháng xuống còn 40 ngày, đồng thời tăng hàm lượng dinh dưỡng lên 1,5 lần cho phân ủ.

4.2. Kiến nghị

Việc định tên các chủng nấm bằng phương pháp hình thái và so sánh với các khóa phân loại trong nhiều trường hợp là rất chính xác và có thể định tên đến loài. Tuy nhiên để chính xác nhất và có thể định tên đến chi thì cần sử dụng phương pháp sinh học phân tử. Ngoài ra chúng ta cũng cần phân lập các chủng vi khuẩn, cũng như các chủng xạ khuẩn có hoạt tính sinh học cao và tìm hiểu các điều kiện tối ưu cho quá trình ủ để giúp xử lý phế thải nông nghiệp đạt hiệu quả cao nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bergey (1984). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Editor in Chief: Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 72p.251illus.

- Gray K.R, Biddlestone A.J (1971). "A review of composting: part 1 - The practical process", *Process Biochemistry* 6 (6), pp. 32-36.
- Klich Maren A. (2004). Identification of common *Aspergillus*, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht. The Netherlands.
- Raper and Fennell (1965). The taxonomic systems of *Aspergillus*, Huntington, N.Y. R.E. Krieger Publishing.
- Rynk.R, Van de Kamp M., Willson G.B., Singley M.E., Richard T.L., Kolega J.J., Gouin F.R., Laliberty J. L., Kay D., Murphy D.W., Hoitink H.A and Brinton W.F. (1992). *On - Farm Composting Handbook*, Ithaca, NY: Cooperative Extension, Northeast Regional agricultural Engineering Service, pp. 45 - 61.
- Nguyễn Xuân Thành và cs. (2003). Giáo trình công nghệ vi sinh vật trong nông nghiệp và xử lý ô nhiễm môi trường, NXB. Nông nghiệp, tr. 23-50.
- Nguyễn Xuân Thành và Đinh Hồng Duyên và Nguyễn Thế Bình (2008). Báo cáo đề tài KHCN cấp thành phố Hải Dương, mã số: MT20-DHNN1-08 về "Áp dụng công nghệ sản xuất phân bón hữu cơ tại chỗ từ phế thải đồng ruộng bằng phương pháp sinh học bón cho cây trồng và góp phần giảm thiểu ô nhiễm môi trường tỉnh Hải Dương", tr. 33-35.
- Nguyễn Xuân Thành (2004). Xây dựng quy trình xử lý tàn dư thực vật và tái chế thành phân hữu cơ bón cho cây trồng. Đề tài cấp Bộ, mã số B2004-32-66.
- Viện Thổ nhưỡng Nông hoá (1998). Sổ tay phân tích Đất, Nước, Phân bón, Cây trồng. NXB. Nông nghiệp, Hà Nội.