

## TUYỂN CHỌN VÀ ỨNG DỤNG CÁC VI SINH VẬT HỮU ÍCH ĐỂ XỬ LÝ PHỤ PHẨM SAU TRỒNG NẤM LÀM PHÂN BÓN HỮU CƠ VI SINH

Nguyễn Khoa Trường<sup>1</sup>, Lê Ngọc Triệu<sup>1</sup>, Lê Thị Anh Tú<sup>1</sup>, Hoàng Việt Hậu<sup>1</sup>,  
Nguyễn Thị Bích Liên<sup>1</sup>, Phan Trung Trực<sup>1</sup>, Mai Thị Mỹ Lanh<sup>1</sup>, Nguyễn Phương Đại Nguyễn<sup>2</sup>  
Ngày nhận bài: 13/11/2024; Ngày phản biện thông qua: 16/12/2024; Ngày duyệt đăng: 15/01/2025

### TÓM TẮT

Qua quá trình phân lập và đánh giá hoạt tính, đã tuyển chọn được các chủng vi sinh vật hữu ích, các chủng này được bổ sung trong quá trình xử lý phụ phẩm trồng nấm để tạo nguồn phân hữu cơ vi sinh phục vụ canh tác nông nghiệp, đánh giá hiệu quả của nguồn phân này được thể hiện trong các thực nghiệm canh tác cây Bò công anh (*Taraxacum officinale* (L.) Weber). Nghiên cứu này đã tuyển chọn được chủng NLD8 là loài *Rhizobium* sp., có khả năng cố định đạm ở mức 3,42 mg N/L; 1,88 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/L; chủng PDT5 là loài *Burkholderia arboris* có khả năng chuyển hóa lân khó tiêu ở mức 13,62 mg/L và chủng IDL3 là loài *Klebsiella variicola* có khả năng sản sinh IAA ở mức 221,20 µg IAA/mL. Quá trình xử lý phụ phẩm trồng nấm có sử dụng các chủng vi khuẩn được tuyển chọn theo phương pháp ủ có kiểm soát và cung cấp khí định kỳ cho thấy hiệu quả chuyển hóa cơ chất cao. Sau 75 ngày ủ, sản phẩm phân hữu cơ vi sinh thu được có các chỉ tiêu hóa lý đáp ứng các yêu cầu của Quy chuẩn Việt Nam về chất lượng phân hữu cơ vi sinh, cụ thể là độ pH ở mức 5,6; độ ẩm 58%, hàm lượng nitơ tổng số đạt 1,93%; hàm lượng lân đạt 0,95%, hàm lượng kali đạt 1,76% và hàm lượng chất hữu cơ đạt 41,2%. Sử dụng phân bón hữu cơ vi sinh được tạo ra từ phụ phẩm sau trồng nấm bổ sung vào đất trồng cây Bò công anh giúp tỷ lệ nảy mầm đạt 98,89% và năng suất thu được cao hơn so với nghiệm thức đối chứng. Nghiên cứu này bước đầu góp phần xử lý phụ phẩm trồng nấm tạo phân bón hữu cơ vi sinh đạt chất lượng, hỗ trợ trong canh tác nông nghiệp, giảm thiểu ô nhiễm môi trường, tham gia vào việc nâng cao giá trị kinh tế và phát triển nông nghiệp bền vững.

**Từ khóa:** Bò công anh, cố định đạm, chuyển hóa lân, IAA, phế phụ phẩm trồng nấm.

### 1. MỞ ĐẦU

Nấm là loại thực phẩm giàu nguồn dinh dưỡng, chứa nhiều protein, vitamin và các acid amin thiết yếu, được sử dụng và nuôi trồng trên khắp thế giới. Hiện nay có nhiều đơn vị tham gia vào mô hình nuôi trồng và chế biến các sản phẩm từ nấm đạt chất lượng cao và đáp ứng được nhu cầu của thị trường góp phần nâng cao giá trị của ngành nấm nước ta (Nguyễn Hữu Hỷ và cộng sự, 2015). Để đáp ứng nhu cầu sử dụng nấm để làm thực phẩm ngày càng cao, các đơn vị phải mở rộng quy mô sản xuất, điều này dẫn đến lượng phế phụ phẩm từ ngành trồng và chế biến nấm phát sinh ngày càng nhiều. Trong khi đó, chỉ một phần phế phụ phẩm này được xử lý, phần lớn còn lại bị thải bỏ và trở thành nguyên nhân gây ô nhiễm môi trường. Đây không chỉ là sự lãng phí nguồn nguyên liệu hữu cơ do bã nấm còn tồn dư nhiều chất dinh dưỡng dẫn đến hiệu quả sản xuất không cao mà còn là việc sản xuất kém bền vững khi mô hình nông nghiệp tuần hoàn chưa được khai thác, áp dụng (Đào Văn Thông và cộng sự, 2015; Nguyễn Thị Minh, 2016). Tại Đà Lạt nói riêng, Lâm Đồng nói chung thì nấm Hương là loài nấm ăn và nấm Linh chi là loài nấm dược liệu có thể mạnh trong sản xuất và được nuôi

trồng khá phổ biến.

Hiện nay các phương pháp xử lý bã nấm bằng vi sinh vật đang dần trở nên phổ biến thay thế cho các phương pháp lạc hậu trước đây. Bằng cách sử dụng các chủng vi sinh vật như *Trichoderma*, *Bacillus*, *Streptomyces*,... có khả năng chuyển hóa các hợp chất hữu cơ vốn có khả năng gây ô nhiễm môi trường nông nghiệp thành những sản phẩm có thể tận dụng trong canh tác nông nghiệp nhằm tăng cường lợi ích theo hướng tuần hoàn và tiết kiệm (Riker, 2017). Tuy nhiên, trong quá trình xử lý, khi nhiệt độ đồng ủ tăng cao thì có khả năng gây ức chế các chủng vi sinh vật có ích dẫn đến quá trình chuyển hóa xảy ra chậm, do đó việc ứng dụng các chủng vi sinh vật chịu nhiệt có khả năng phân giải cellulose là cần thiết trong quá trình xử lý này. Ngoài ra, việc kết hợp với các chủng vi sinh vật có khả năng cố định đạm, chuyển hóa lân và sinh tổng hợp IAA giúp làm tăng chất lượng sản phẩm sau ủ, đáp ứng được nhiều nhu cầu sinh lý cây trồng khác nhau trong quá trình canh tác.

Cây Bò công anh (*Taraxacum officinale* (L.) Weber) phân bố ở những vùng núi cao như Đà Lạt, Sa Pa, Tam Đảo là loài cây dược liệu với nhiều

<sup>1</sup>Khoa Sinh học, Trường Đại học Đà Lạt;

<sup>2</sup>Khoa Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, Trường Đại học Tây Nguyên;

Tác giả liên hệ: Nguyễn Phương Đại Nguyễn; ĐT: 0914032103; Email: npdnguyen@ttn.edu.vn.

được chất quý và từ lâu đã được sử dụng như một loại thảo dược có tác dụng trong việc điều trị bệnh về gan, giải độc, lợi tiểu,... (Phạm Công Đoàn và cộng sự, 2008; Đỗ Tất Lợi, 2019). Hiện nay, tại Việt Nam cây Bồ công anh được trồng để sản xuất các thực phẩm chức năng có tác dụng bổ sung chất chống oxy hóa, giảm cholesterol,... (Nguyễn Việt Dũng và cộng sự, 2024). Bên cạnh đó loài cây này được xem là giàu tiềm năng phát triển theo hướng canh tác hữu cơ tại Đà Lạt và các vùng lân cận để tạo nguồn dược liệu trong tương lai gần, tuy nhiên các quy trình canh tác theo hướng này còn chưa được nghiên cứu.

Trước bối cảnh mang tính thời sự như trên tại địa phương, nghiên cứu này được thực hiện nhằm tận dụng các nguồn phế phụ phẩm trong quá trình trồng và chế biến nấm tại tỉnh Lâm Đồng, góp phần vào phát triển nông nghiệp tuần hoàn bằng cách tuyển chọn và sử dụng các chủng vi sinh vật có khả năng cố định đạm, chuyển hóa lân để tạo ra phân hữu cơ vi sinh, thử nghiệm nguồn phân này trong canh tác cây Bồ công anh hướng đến nâng cao năng suất cũng như hiệu quả canh tác của loại cây dược liệu này.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các mẫu đất được thu tại các huyện Đơn Dương, Đức Trọng, Lạc Dương và thành phố Đà Lạt tại các khu vực. Mẫu được lấy như sau: gạt bỏ 3 – 5 cm đất bề mặt, mẫu đất được lấy ở độ sâu từ 5 – 20 cm, trong quá trình thu mẫu có ghi chép rõ ràng về đặc điểm mẫu, vị trí và thời gian thu mẫu. Các mẫu được bảo quản trong túi polyetylen vô trùng có ký hiệu và được chuyển về phòng thí nghiệm bằng thùng chứa mẫu chuyên dụng (TCVN 7538 - 2:2005).

Các chủng vi sinh vật chịu nhiệt và có khả năng phân giải cellulose mạnh để thực hiện ủ bã nấm được cung cấp bởi Phòng thí nghiệm Công nghệ vi sinh, khoa Sinh học, trường Đại học Đà Lạt, bao gồm: *Trichoderma longibrachiatum*, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces thermocophilus*.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Phương pháp phân lập vi sinh vật

Các chủng vi sinh vật được phân lập theo phương pháp pha loãng cây trái (Koch, 1883).

Đối với các chủng vi sinh vật có khả năng cố định đạm, tiến hành phân lập trên môi trường Ashby, nuôi ở 30°C trong khoảng 24 - 48 giờ. Xác định các chủng vi sinh vật có khả năng cố định đạm bằng cách quan sát sự xuất hiện và tách riêng, cấy

chuyển các khuẩn lạc đặc trưng trên môi trường Ashby (khuẩn lạc tròn, lồi, nhẵn bóng, nhầy và gần như trong suốt).

Đối với các chủng vi sinh vật có khả năng phân giải lân, tiến hành phân lập trên môi trường NBRIP (National Botanical Research Institute's phosphate), nuôi ở 30°C trong khoảng 24 - 48 giờ. Xác định các chủng vi sinh vật có khả năng chuyển hóa lân thông qua việc quan sát sự xuất hiện vòng phân giải xuất hiện xung quanh khuẩn lạc trên môi trường NBRIP.

Đối với các chủng vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp IAA, tiến hành phân lập trên môi trường NA có bổ sung Tryptophan, nuôi ở 30°C trong vòng 24 - 48 giờ. Xác định các chủng vi sinh vật có khả năng sản sinh IAA bằng cách quan sát sự xuất hiện và tách riêng, cấy chuyển các khuẩn lạc trên cùng môi trường nhưng ở dạng lỏng (không bổ sung agar), sau đó định tính IAA bằng thuốc thử Salkowski (Gordon & Weber, 1951).

#### 2.2.2. Tuyển chọn các chủng vi sinh vật có khả năng cố định đạm, phân giải lân và sinh tổng hợp IAA

Định tính khả năng cố định nitơ của các chủng vi sinh vật phân lập bằng phương pháp so màu với thuốc thử Nessler. Định lượng nitơ tổng số theo TCVN 8557:2010 và hàm lượng đạm amoni ( $\text{NH}_4^+$ ) theo TCVN 5988:1995.

Định tính khả năng phân giải lân được xác định bằng cách quan sát vòng phân giải (vòng sáng quanh khuẩn lạc), đường kính vòng phân giải được tính bằng công thức  $D = D_2 - D_1$  trong đó  $D_2$  là đường kính vòng phân giải,  $D_1$  là đường kính khuẩn lạc. Bên cạnh đó, hàm lượng lân khó tan được xác định dựa trên nồng độ  $\text{PO}_4^{3-}$  có trong dịch nuôi cấy bằng phương pháp so màu xanh molybdate (Vũ Thị Minh Đức, 2001). Các chủng vi khuẩn và vi nấm được nuôi cấy trong bình tam giác chứa 50 mL môi trường NBRIP lỏng, ở nhiệt độ 30°C, tốc độ lắc 150 vòng/phút, trong 72 giờ; dịch nuôi cấy được ly tâm ở tốc độ 4.000 vòng/phút trong 20 phút, hút 5 mL dịch nổi sau ly tâm, bổ sung 2 mL dung dịch Amonium molybdate 2,5% và  $\text{SnCl}_2$  2,5%, xử lý và so màu ở bước sóng  $\lambda = 720 \text{ nm}$ .

Định lượng hàm lượng IAA được tạo ra bởi các vi sinh vật tuyển chọn: Vi sinh vật được nuôi trong môi trường bổ sung 0,1% Tryptophan ở điều kiện 35°C trong vòng 72 giờ và định lượng bằng thuốc thử Salkowski (Gordon & Weber, 1951). Hỗn hợp phản ứng gồm 2 mL dịch sau ly tâm cho vào 8 mL thuốc thử Salkowski. Phản ứng được lắc đều, ủ tối trong 25 phút trước khi được đo trên máy đo quang

phổ ở bước sóng 530 nm để định lượng IAA theo phương pháp tương quan mật độ quang (TCVN 10784:2015).

Các chủng vi sinh vật qua tuyển chọn được nhân nuôi ở điều kiện vô trùng trong môi trường lỏng với các điều kiện thích hợp, khi mật độ sinh khối đạt  $\geq 10^9$  CFU/mL thì kết thúc quá trình nhân sinh khối. Lượng sinh khối này được sử dụng để xử lý phế phụ phẩm trồng và chế biến nấm.

### 2.2.3. Định danh các chủng vi sinh vật đã tuyển chọn

Tách chiết DNA của các chủng vi sinh vật qua tuyển chọn theo phương pháp CTAB có cải tiến (Nara, 2006). Đối với vi khuẩn và xạ khuẩn, DNA sau khi tách chiết được sử dụng để làm khuôn mẫu để tiến hành thực hiện phản ứng PCR nhằm khuếch đại vùng 16S-rRNA. Cặp mồi được sử dụng để khuếch đại là 27F (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC-3') và 1492R (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC-3') (Gardes et al. 1993). Các sản phẩm PCR được tinh sạch bằng kit chuyên dụng và giải trình tự theo phương pháp Sanger tại Công ty 1<sup>st</sup> BASE (Singapore). Sử dụng công cụ BLAST để tìm và so sánh trình tự DNA của các chủng vi sinh vật qua tuyển chọn với trình tự với các trình tự tương đồng cao ghi nhận cho các taxon từ dữ liệu trên Ngân hàng gene NCBI. Kết quả định danh các chủng vi khuẩn được dựa trên việc kết hợp cả dữ liệu phân tử và đặc điểm hình thái các nghiên cứu có trước.

### 2.2.4. Xử lý phế phụ phẩm trồng và chế biến nấm tạo phân bón hữu cơ vi sinh

Sử dụng 5 m<sup>3</sup> bã thải sau trồng nấm (với tỷ lệ 50% bã thải nấm Hương và 50% bã thải nấm Linh chi, bổ sung 0,1 m<sup>3</sup> phân bò/m<sup>3</sup> và 5 kg phân N-P-K với tỷ lệ 16-16-8/1 m<sup>3</sup> nguyên liệu ủ) được xử lý với các chủng vi sinh vật chịu nhiệt có khả năng phân giải cellulose (chế phẩm chứa các loại vi sinh vật gồm *Trichoderma longibrachiatum*, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces thermocoprophilus* (mật độ các chủng đạt  $10^9$  CFU/mL), tỷ lệ bổ sung 1,5 lít/m<sup>3</sup>) theo phương pháp ủ đống có cung cấp khí định kỳ: nguyên liệu sau khi được trộn đều thì được chất thành đống cao từ 1-1,2 m (với các đường ống dẫn khí được đặt trước vào bên trong đống ủ), sau đó được phủ kín bằng bạt. Định kỳ từ 3 – 5 ngày tiến hành thổi khí vào đống ủ một lần, mỗi lần thổi từ 3 – 4 giờ cho đến khi kết thúc quá trình xử lý (Đình Xuân Thắng và Nguyễn Văn Phước, 2015). Sau thời gian 60 ngày, tiến hành đảo trộn đống ủ và bổ sung các chủng vi sinh vật cố định đạm, phân giải lân, sinh tổng hợp IAA với mật độ  $10^9$  CFU/mL, tỷ lệ bổ sung là 1,5 lít/m<sup>3</sup>. Tiếp tục quá trình ủ 15 ngày sau đó dừng quá trình ủ, đảo trộn, hạ thấp đống ủ để giảm độ ẩm và tiến hành thu mẫu để xác

định các chỉ tiêu về độ ẩm (TCVN 5815:2000), pH (TCVN 5979:1995), hàm lượng nitơ tổng số, lân tổng số, kali tổng số (TCVN 5815:2001), hàm lượng chất hữu cơ (TCVN 4050-1985) và mật độ vi sinh vật hữu ích (TCVN 6166:1996, TCVN 6167:1966) trong sản phẩm phân hữu cơ vi sinh thành phẩm.

### 2.2.5. Đánh giá sự ảnh hưởng của phân hữu cơ vi sinh đến khả năng nảy mầm của hạt Bò công anh

Thí nghiệm được bố trí với 3 nghiệm thức: NT1: Hạt được gieo trên đất; NT2: Hạt được gieo trên giá thể hữu cơ; NT3: Hạt được gieo trên giá thể hữu cơ có bổ sung 5% phân hữu cơ vi sinh. Giá thể hữu cơ sử dụng trong thực nghiệm này có nguồn gốc từ bã nấm. Mỗi nghiệm thức gieo 30 hạt giống Bò công anh trong khay nhựa chứa 1 kg đất hoặc giá thể, lặp lại 3 lần, chế độ chăm sóc giữa các nghiệm thức là như nhau. Tỷ lệ nảy mầm của hạt được ghi nhận định kỳ mỗi ngày từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 7 từ lúc gieo.

### 2.2.6. Đánh giá sự ảnh hưởng của phân hữu cơ vi sinh đến khả năng sinh trưởng của cây Bò công anh

Các cây con có kích thước tương đồng nhau từ việc gieo 2.000 hạt Bò công anh trong điều kiện tốt nhất cho sự nảy mầm được chọn để bố trí thí nghiệm về ảnh hưởng của phân hữu cơ vi sinh đến khả năng sinh trưởng của cây Bò công anh trồng trên giá thể hữu cơ có nguồn gốc từ bã nấm. Các cây được trồng với mật độ 20 cm × 20 cm trong điều kiện dưới mái che, chế độ chăm sóc như nhau, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần, mỗi lô thí nghiệm trồng 30 cây. Các nghiệm thức trong thực nghiệm này bao gồm:

NT1: Trồng cây trên giá thể (không sử dụng phân bón hữu cơ vi sinh tạo ra).

NT2: Trồng cây trên giá thể có bón lót phân hữu cơ vi sinh tạo ra với lượng 200 kg/1.000m<sup>2</sup>.

NT3: Trồng cây trên giá thể có bón thúc phân hữu cơ vi sinh tạo ra thông qua các lần bón:

Lần 1: Bón khi cây bén rễ, chồi xanh (1 - 2 tuần sau trồng) với lượng 60 kg/1.000m<sup>2</sup>.

Lần 2: Bón sau khi trồng 1 – 1,5 tháng với lượng 100 kg/1.000m<sup>2</sup>.

Lần 3: Bón sau trồng 2 – 2,5 tháng với lượng 40 kg/1.000m<sup>2</sup>.

NT4: Trồng cây trên giá thể có bón lót và bón thúc phân hữu cơ vi sinh tạo ra thông qua các lần bón:

Bón lót với lượng 100 kg/1.000m<sup>2</sup>.

Bón thúc lần 1: Sau khi trồng 1 – 1,5 tháng với lượng 50 kg/1.000m<sup>2</sup>.

Bón thúc lần 2: Sau trồng 2 – 2,5 tháng với lượng 50 kg/1.000m<sup>2</sup>.

Các chỉ tiêu ghi nhận sau 60 ngày trồng bao gồm: chiều cao cây, số lá/cây, năng suất (trọng lượng tươi, trọng lượng khô/cây). Trong mỗi lần lặp của nghiệm thức, 30 cây Bò công anh được thu hái để đo đạc và ghi nhận số liệu.

2.2.7. Xử lý số liệu

Các số liệu về chỉ tiêu đối với phân bón, tỷ lệ nảy mầm và khả năng sinh trưởng của cây Bò công anh được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel

**Bảng 1. Kết quả phân lập các chủng vi sinh vật có khả năng cố định đạm, chuyển hóa lân, sinh tổng hợp IAA**

STT	Địa điểm phân lập	Mật độ các chủng vi sinh vật (CFU/g)		
		Cố định đạm	Chuyển hóa lân	Sinh tổng hợp IAA
1	Đơn Dương	6,2×10 <sup>6</sup>	1,2×10 <sup>5</sup>	7,8×10 <sup>5</sup>
2	Đức Trọng	3,4×10 <sup>5</sup>	8,9×10 <sup>6</sup>	7,7×10 <sup>6</sup>
3	Lạc Dương	1,5×10 <sup>6</sup>	5,6×10 <sup>5</sup>	1,0×10 <sup>7</sup>
4	Đà Lạt	4,9×10 <sup>6</sup>	3,3×10 <sup>6</sup>	9,1×10 <sup>5</sup>

Dữ liệu từ bảng 1 cho thấy các địa điểm khác nhau có mật độ khác nhau của các nhóm vi sinh vật có khả năng cố định đạm, chuyển hóa lân và sinh tổng hợp IAA. So sánh giữa các khu vực, Đức Trọng là địa điểm có mật độ vi sinh vật phân chuyển hóa và sinh tổng hợp IAA tương đối cao nhưng mật độ của các chủng cố định đạm tại đây lại thấp; Đà Lạt có mật độ của cả ba nhóm vi sinh vật ở mức trung bình, cho thấy môi trường tại đây có thể hỗ trợ đồng đều cho sự phát triển của vi sinh vật đa chức năng; tại Lạc Dương tuy có mật độ vi sinh vật sinh tổng hợp IAA vượt trội, có thể là một yếu tố cần quan tâm trong nghiên cứu nhưng mật độ nhóm vi sinh vật cố định đạm và chuyển hóa lân ở mức trung bình thấp; tại Đơn Dương có

với công cụ Data Analysis, phân hạng thống kê bằng phần mềm R.

**3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1. Tuyển chọn các chủng vi sinh vật có khả năng cố định đạm, chuyển hóa lân, sinh tổng hợp IAA**

Nghiên cứu này đã phân lập được các chủng vi sinh vật có khả năng cố định đạm, chuyển hóa lân và sinh tổng hợp IAA tại các vùng thu mẫu khác nhau, chi tiết được thể hiện tại bảng 1.

mật độ vi sinh vật cố định đạm cao nhưng mật độ vi sinh vật chuyển hóa lân và sinh tổng hợp IAA ở mức thấp. Có thể nhận thấy rằng Đức Trọng và Đà Lạt có thể là hai địa điểm có tiềm năng nghiên cứu các chủng vi sinh vật cố định đạm, phân giải lân và sinh tổng hợp IAA nhất.

**3.2. Tuyển chọn các chủng vi sinh vật cố định đạm, phân giải lân và sinh tổng hợp IAA**

Đánh giá các hoạt tính sinh học của các chủng vi sinh vật đã phân lập, sơ bộ tuyển chọn được 2 chủng vi khuẩn cố định đạm, 2 chủng vi khuẩn có khả năng phân giải lân và 2 chủng vi khuẩn có khả năng sinh tổng hợp IAA, chi tiết được thể hiện tại bảng 2.

**Bảng 2. Kết quả tuyển chọn sơ bộ các chủng vi sinh vật cố định đạm, phân giải lân và sinh tổng hợp IAA**

STT	Ký hiệu mẫu	Hoạt tính sinh học			
		Cố định đạm		Phân giải lân (mg/L)	IAA (µg/mL)
		Nitơ tổng (mg/L)	Amoni (mg/L)		
1	NDD2	3,71	1,53	-	-
2	NLD8	3,42	1,88	-	-
3	PDT5	-	-	13,62	-
4	PDL1	-	-	10,23	-
5	IDL3	-	-	-	221,20
6	IDD4	-	-	-	120,61

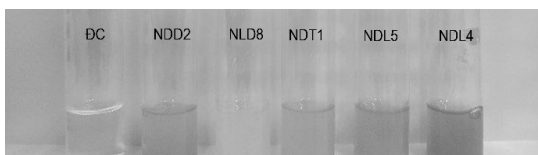
Từ các chủng vi sinh vật đã phân lập, chúng tôi tuyển chọn được 2 chủng vi khuẩn có khả năng cố định đạm với hàm lượng nitơ tổng số đạt từ 3,42 – 3,71 mg/L và hàm lượng amoni đạt từ 1,53 - 1,88

mg/L; hai chủng vi khuẩn có khả năng phân giải lân với hàm lượng PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> ghi nhận ở mức 10,23 – 13,62 mg/L, chủng vi khuẩn sinh tổng hợp IAA với hàm lượng IAA tổng hợp được là 120,61 và

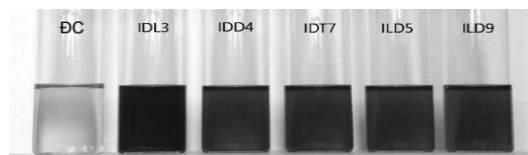
221,20 µg/mL.

So sánh với nghiên cứu của Nguyễn Thị Thanh Mai và cộng sự (2018) và nghiên cứu của Nguyễn Hoàng Nhựt Lynch và Nguyễn Hữu Hiệp (2019), có thể nhận thấy rằng hoạt tính chuyển hóa lân của các chủng khảo sát trong nghiên cứu hiện hành thấp hơn so với kết quả từ các nghiên cứu trên (lần lượt là 107,25 mg/L – 145,55 mg/L và 191,6 đến 241,3 mg/L). Tuy nhiên, hàm lượng đạm cố định được

của các chủng vi khuẩn trong nghiên cứu này lại cao hơn so với chủng vi sinh vật trong nghiên cứu của Nguyễn Hoàng Nhựt Lynch và Nguyễn Hữu Hiệp (2019), cụ thể là 0,289 (mg/L NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). Xem xét về khả năng sinh tổng hợp IAA, hai chủng vi khuẩn trong nghiên cứu này có khả năng tạo ra lượng IAA cao hơn nhiều so với các chủng trong hai nghiên cứu trên (lần lượt là 68,79 µg/mL và 19,206 µg/mL).



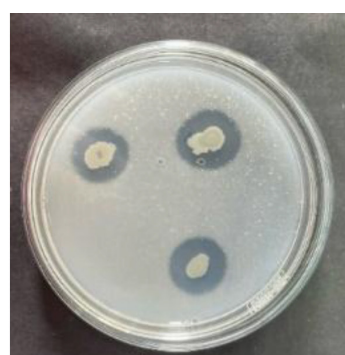
Hình 1. Khả năng cố định đạm của vi khuẩn



Hình 2. Khả năng tổng hợp IAA của vi khuẩn



PDL1



PDT5

Hình 3. Khả năng phân giải lân của các chủng vi khuẩn tuyển chọn

Để tập trung hơn cho các nghiên cứu chuyên sâu cũng như tạo điều kiện thuận lợi hơn trong việc ứng dụng kết quả nghiên cứu vào thực tiễn, các chủng vi sinh vật có hoạt tính mạnh hơn được tuyển chọn chính thức để định danh và thực hiện các thực nghiệm tiếp theo gồm: chủng vi khuẩn có khả năng cố định đạm là NLD8 với hàm lượng nitơ tổng số đạt 3,42 mg/L và hàm lượng amoni đạt 1,88 mg/L; chủng vi khuẩn có khả năng chuyển

hóa lân là PDT5 với lượng lân được phân giải là 13,62 mg/L và chủng IDL3 có khả năng sinh tổng hợp IAA với lượng 221,20 µg IAA/mL.

### 3.3. Định danh các chủng vi sinh vật đã tuyển chọn

Dựa trên dữ liệu từ vùng gen 16S-rRNA của các chủng vi khuẩn đã tuyển chọn, kết quả chi tiết về các ứng viên tiềm năng cho việc định loại dựa trên dữ liệu phân tử được thể hiện trong Bảng 3.

Bảng 3. Kết quả định danh sinh học phân tử của các chủng vi khuẩn đã tuyển chọn

TT	Ký hiệu mẫu	Các trình tự tương đồng cao từ Ngân hàng gene		
		Mức độ tương đồng	Taxon	Mã số truy cập genbank
1	NLD8	99,63%	<i>Agrobacterium deltaense</i>	OL824900
		99,63%	<i>Rhizobium</i> sp.	KF263563, HE652093, JX436337, MN211547
		99,63%	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	CP039923, JQ659808, ON704971
2	PDT5	100%	<i>Burkholderia</i> sp.	HQ231922, HM624043
		99,93%	<i>Burkholderia arboris</i>	ON738625
		99,86%	<i>Burkholderia arboris</i>	CP109821
		99,79%	<i>Burkholderia arboris</i>	AB458219, CP109822, ON738626

TT	Ký hiệu mẫu	Các trình tự tương đồng cao từ Ngân hàng gene		
		Mức độ tương đồng	Taxon	Mã số truy cập genbank
3	IDL3	100%	<i>Klebsiella pneumniae</i>	MK404621
		100%	<i>Klebsiella variicola</i>	CP141735, CP129755, CP113789, CP084767
		99,93%	<i>Klebsiella pneumniae</i>	CP052356, CP126622

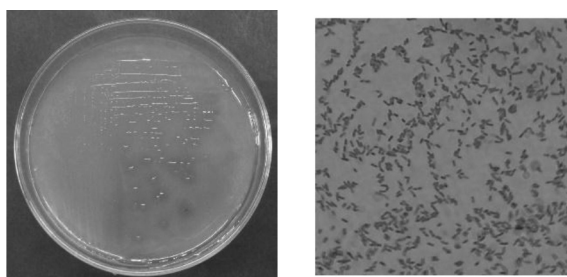
So sánh đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào giữa các dòng vi khuẩn qua tuyển chọn với các mô tả cho các taxon ứng viên định danh dựa trên dữ liệu phân tử trong các nghiên cứu có trước, có thể nhận thấy:

Mẫu NLD8 có đặc điểm: Khuẩn lạc tròn, màu trắng trong, bề mặt bóng nhẵn; nhầy nhớt; trực khuẩn, gram âm (Hình 4). Đặc điểm này được ghi nhận cho nhiều loài thuộc chi. Theo đó, dựa trên cả đặc điểm hình thái và dữ liệu phân tử, mẫu NLD8 thuộc về loài *Rhizobium* chưa xác định *Rhizobium* sp.

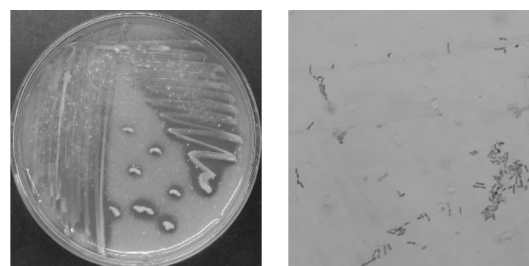
Mẫu PDT5 có đặc điểm: Khuẩn lạc tròn, màu vàng, rìa đều, bề mặt nhẵn; trực khuẩn, gram âm

(Hình 5). Các đặc điểm tương tự được ghi nhận trong mô tả cho loài *Burkholderia arboris* trong nghiên cứu của Meng và cộng sự (2024) và khóa phân loại của của Bergey (Bergey's & Holt, 1994). Theo đó, dựa trên cả đặc điểm hình thái và dữ liệu phân tử, mẫu BDD2 thuộc về loài *Burkholderia arboris*.

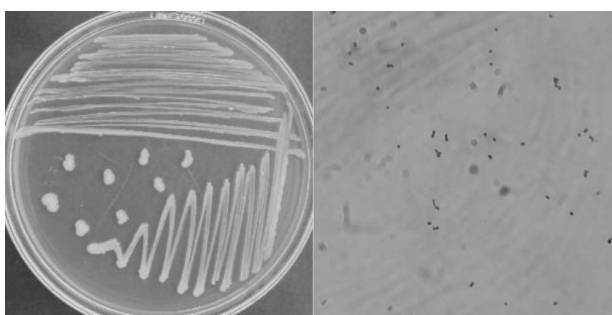
Mẫu IDL3 có đặc điểm khuẩn lạc hình tròn màu trắng sữa, bề mặt trơn, dạng hình nón, viền trơn; trực khuẩn, gram âm (Hình 6). Các đặc điểm tương tự được ghi nhận trong mô tả cho loài *Klebsiella variicola* trong nghiên cứu của Yu và cộng sự (2021) và khóa phân loại của Bergey (Bergey's & Holt, 1994).



**Hình 4.** Đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào các chủng vi khuẩn *Rhizobium* sp. (Môi trường Ashby, độ phóng đại x100, thời điểm 48 giờ)



**Hình 5.** Đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào các chủng vi khuẩn *Burkholderia arboris* (Môi trường NBRIP, độ phóng đại x100, thời điểm 48 giờ)



**Hình 6.** Đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào các chủng vi sinh vật *Klebsiella variicola* (Môi trường NA, độ phóng đại x100, thời điểm 48 giờ)

### 3.4. Kết quả nghiên cứu nhân nuôi các chủng vi sinh vật qua tuyển chọn sơ bộ

Các chủng vi sinh vật tuyển chọn được nhân nuôi với các môi trường và điều kiện thích hợp,

mật độ sinh khối ghi nhận  $\geq 10^9$  CFU/mL, chi tiết về môi trường và điều kiện nhân nuôi được thể hiện tại bảng 4.

**Bảng 4. Điều kiện thích hợp để nhân sinh khối các chủng vi sinh vật**

Chủng vi sinh vật	pH	Nhiệt độ (°C)	Tốc độ khuấy (rpm)	Thời gian (giờ)	Môi trường	Mật độ (CFU/mL)
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	6	32	150	72	PDA (Dịch chiết khoai tây 250mL; Dextrose 20g)	1,23 x 10 <sup>9</sup>
<i>Bacillus subtilis</i>	6,5	37	200	72	MRS (peptone 10g; cao thịt 10g; cao nấm men 5g; Glucose 20g; KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 2g; CH <sub>3</sub> COONa 5g; Amoni citrate 5g; MnSO <sub>4</sub> vết)	5,57 x 10 <sup>9</sup>
<i>Streptomyces thermocoprophilus</i>	5,5	32	150	96	Gause (Tinh bột tan 20g; K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 0,5g; MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O 0,5g; KNO <sub>3</sub> 1g; FeSO <sub>4</sub> 0,001g)	3,14 x 10 <sup>9</sup>
<i>Rhizobium</i> sp.	7	30	200	48	Ashby (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0,2g; K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,1g; CaCO <sub>3</sub> 5g; MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O 0,2g; NaCl 0,2g; Glucose 20g)	1,79 x 10 <sup>9</sup>
<i>Burkholderia</i> sp.	6,5	30	200	48	NBRIP cải tiến (Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> 5g; MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O 5g; MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O 0,25g; KCl 0,2g; (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,1g; Sucrose 20g; Dịch chiết giá đỗ 250mL)	3,45 x 10 <sup>9</sup>
<i>Klebsiella variicola</i>	6,5	30	200	48	MRS cải tiến (Peptone 5g; Yeast extract 2,5g; Glucose 20g; Cao thịt 5g; KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 2g; MgSO <sub>4</sub> 0,38g; CH <sub>3</sub> COONa 3g; dịch chiết giá đỗ 250 mL; Tryptophan 0,1%)	2,01 x 10 <sup>9</sup>

**3.5. Đánh giá chất lượng phân hữu cơ vi sinh**

Sau 60 ngày xử lý với các chủng vi sinh vật chịu nhiệt có khả năng phân giải cellulose, ba chủng vi sinh vật có khả năng cố định đạm, phân giải lân và

sinh tổng hợp IAA qua tuyển chọn được bổ sung thêm vào đồng ủ. Sau 15 ngày ủ tiếp, chất lượng của phân bón hữu cơ vi sinh được đánh giá thông qua các chỉ tiêu khác nhau, kết quả được trình bày tại bảng 5.

**Bảng 5. So sánh các chỉ tiêu hóa lý và vi sinh giữa nguyên liệu trước xử lý và thành phẩm phân bón hữu cơ vi sinh**

STT	Chỉ tiêu	Nguyên liệu trước xử lý	Thành phẩm sau xử lý
1	Đánh giá cảm quan	Nguyên liệu thô, kích thước hạt lớn, có màu vàng nhạt hoặc xám nâu.	Sản phẩm mịn, kích thước hạt nhỏ, tơi xốp, có màu nâu đen, mùi của bã xác thực vật phân hủy.
2	pH	5,80	5,60
3	Độ ẩm (%)	59,30	24,50%
4	Hàm lượng nitơ tổng số (%)	1,33	1,93
5	Hàm lượng lân tổng số (%)	0,45	0,95
6	Hàm lượng kali tổng số (%)	1,52	1,76
7	Hàm lượng chất hữu cơ (%)	38,50	41,20
8	Vi sinh vật cố định đạm (CFU/g)		6,40 x 10 <sup>6</sup>
9	Vi sinh vật phân giải lân (CFU/g)		8,10 x 10 <sup>6</sup>
10	Vi sinh vật sinh tổng hợp IAA (CFU/g)		5,50 x 10 <sup>6</sup>

Kết quả từ bảng 5 cho thấy rằng phương pháp ủ có thổi khí định kỳ kết hợp với hoạt động của bộ chủng vi sinh vật chịu nhiệt có khả năng phân giải cellulose cho hiệu quả xử lý bã nấm cao hơn so với các phương pháp xử lý truyền thống. Kết quả đánh giá cảm quan cho thấy sự chuyển đổi từ trạng thái thô, kích thước hạt nguyên liệu lớn và mùi đặc trưng của bã nấm sang trạng thái mịn, tơi xốp và mùi đặc trưng của phân bón hữu cơ vi sinh, điều này chứng tỏ tính hiệu quả của các chủng vi sinh vật trong xử lý bã nấm. Đồng thời, tỷ lệ chất hữu cơ được xử lý theo phương pháp này đạt 41,20%, cao hơn hàm lượng chất hữu cơ theo báo cáo của Nguyễn Thị Minh (2016) là 28,50%. Hàm lượng nitơ tổng số, lân tổng số là tương đương với nghiên cứu của Nguyễn Thị Minh (2016), điều này cho thấy hiệu quả của các chủng vi sinh vật tuyển chọn trong việc xử lý phế phụ phẩm trồng và chế biến nấm tạo phân bón hữu cơ vi sinh. Ngoài ra, hàm lượng nitơ tổng số đạt 1,93%, hàm lượng lân tổng

số đạt 0,95% và hàm lượng kali tổng số đạt 1,76% đều ở mức khá, có thể ứng dụng làm phân bón hữu cơ vi sinh cho cây trồng. Hơn thế nữa, mật độ các chủng vi sinh vật tuyển chọn trong phân hữu cơ sau ủ ( $5,50 - 8,10 \times 10^6$  CFU/g) đạt so với yêu cầu về phân hữu cơ vi sinh là  $\geq 10^6$  CFU/g. Như vậy, chất lượng sản phẩm phân hữu cơ vi sinh được sản xuất từ phế phụ phẩm trồng nấm hoàn toàn có thể đáp ứng được các yêu cầu về phân bón hữu cơ vi sinh theo Quy chuẩn Việt Nam về Chất lượng phân bón (Bảng 19 QCVN 01-189:2019/BNNPTNT).

**3.6. Đánh giá sự ảnh hưởng của phân hữu cơ vi sinh đến khả năng nảy mầm của hạt Bò công anh**

Kết quả theo dõi các nghiệm thức sau 7 ngày trong cùng một điều kiện chăm sóc cho thấy hạt Bò công anh gieo trong giá thể bổ sung phân hữu cơ vi sinh có tỷ lệ nảy mầm cao hơn so với gieo trên đất và trên giá thể không bổ sung phân hữu cơ vi sinh, kết quả cụ thể được trình bày tại bảng 6.

**Bảng 6. Tỷ lệ nảy mầm của hạt Bò công anh trên những giá thể khác nhau**

Nghiệm thức	Tỷ lệ nảy mầm của hạt Bò công anh (%)				
	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5	Ngày 6	Ngày 7
NT1	10,00 <sup>b</sup> ± 1,00	31,11 <sup>b</sup> ± 1,52	72,22 <sup>b</sup> ± 3,51	84,44 <sup>b</sup> ± 3,05	93,33 <sup>c</sup> ± 1,00
NT2	21,11 <sup>a</sup> ± 1,52	30,00 <sup>b</sup> ± 1,00	84,44 <sup>a</sup> ± 3,78	90,00 <sup>a</sup> ± 2,64	96,67 <sup>b</sup> ± 1,00
NT3	18,89 <sup>a</sup> ± 2,08	43,33 <sup>a</sup> ± 1,73	71,11 <sup>b</sup> ± 4,50	91,11 <sup>a</sup> ± 1,15	98,89 <sup>a</sup> ± 0,57

NT1: Trên đất; NT2: Trên giá thể hữu cơ; NT3: Gieo trên giá thể có bổ sung phân hữu cơ vi sinh.

Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi một hoặc những chữ cái giống nhau biểu thị sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% (theo phép thử Tukey HSD).

Các chủng vi sinh vật có khả năng cố định đạm, chuyển hóa lân và sinh tổng hợp IAA được bổ sung vào phân hữu cơ vi sinh đã thể hiện khả năng làm tăng tỷ lệ nảy mầm của hạt Bò công anh lên đến 98,89% là cao hơn một cách có ý nghĩa so với tỷ lệ nảy mầm khi không bổ sung các chủng vi sinh vật tuyển chọn. Điều này đã góp phần minh chứng

cho hiệu quả của phân bón từ phế phụ phẩm trồng và chế biến nấm có bổ sung các chủng vi sinh vật có lợi trong nhân giống hữu tính cây Bò công anh, góp phần tăng hiệu quả kinh tế nông nghiệp.

**3.7. Đánh giá sự ảnh hưởng của phân hữu cơ vi sinh đến khả năng sinh trưởng của cây Bò công anh**

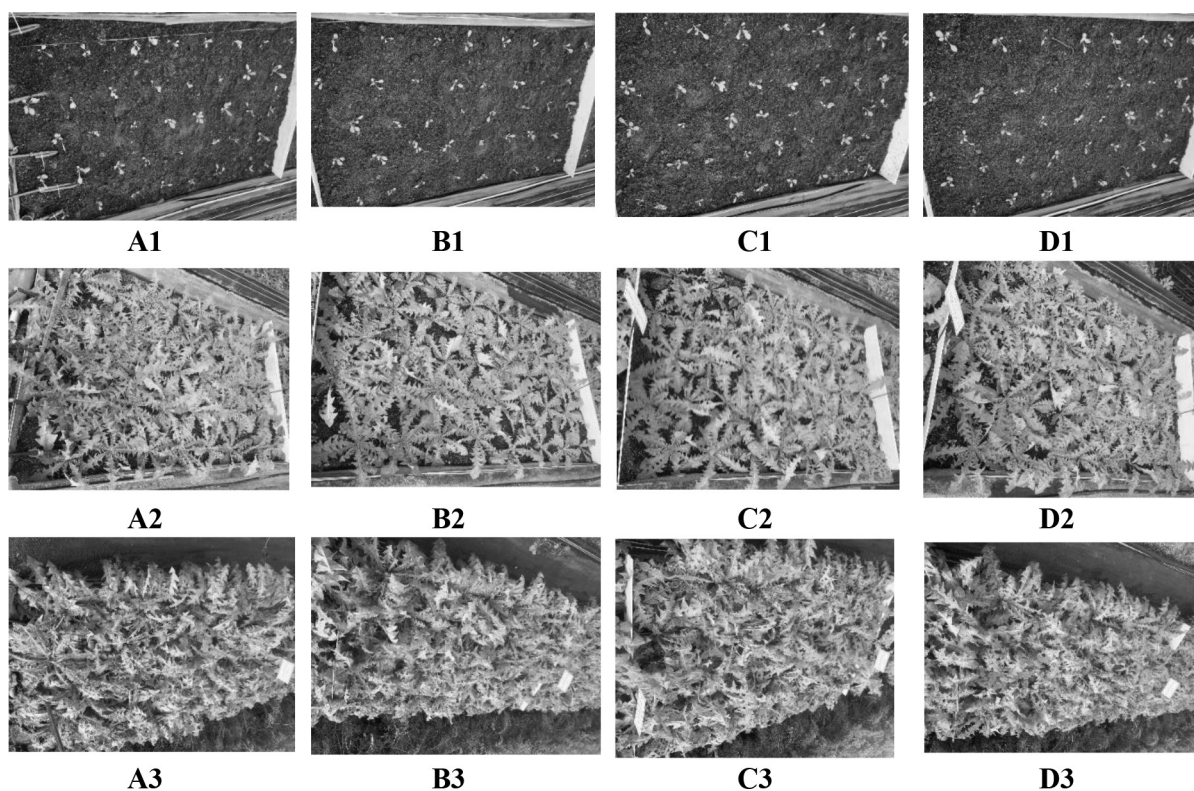
Sau 60 ngày trồng và chăm sóc với cùng chế độ, các thông số về sinh trưởng và yếu tố cấu thành năng suất của cây Bò công anh theo các nghiệm thức được ghi nhận và trình bày chi tiết tại Bảng 7.

**Bảng 7. Khả năng sinh trưởng và yếu tố cấu thành năng suất của cây Bò công anh**

Nghiệm thức	Chiều cao cây (cm/tháng)	Số lá (lá/tháng)	Trọng lượng tươi (g)	Trọng lượng khô (g)
NT1	21,38 <sup>c</sup> ± 0,95	17,68 <sup>c</sup> ± 0,77	138,88 <sup>b</sup> ± 1,63	16,78 <sup>d</sup> ± 0,30
NT2	23,46 <sup>b</sup> ± 0,45	18,77 <sup>bc</sup> ± 1,75	149,85 <sup>a</sup> ± 5,00	17,54 <sup>bc</sup> ± 2,30
NT3	25,15 <sup>b</sup> ± 1,98	20,08 <sup>ab</sup> ± 2,56	155,14 <sup>a</sup> ± 3,64	19,60 <sup>ab</sup> ± 1,57
NT4	27,18 <sup>a</sup> ± 0,98	22,42 <sup>a</sup> ± 0,98	159,03 <sup>a</sup> ± 1,45	20,33 <sup>a</sup> ± 0,28

NT1: Trồng cây trên giá thể; NT2: Trồng cây trên giá thể có bón lót phân hữu cơ vi sinh (200 kg PHCVS/1000m<sup>2</sup>); NT3: Trồng cây trên giá thể có bón thúc phân hữu cơ vi sinh; NT4: Trồng cây trên giá thể có bón lót và bón thúc phân hữu cơ vi sinh. Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi một hoặc những chữ cái giống nhau biểu thị sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% (theo phép thử Tukey HSD).





**Hình 7. Sự sinh trưởng của cây Bò công anh qua các mốc thời gian trồng**

*Ghi chú: A: NT1; B: NT2; C: NT3; D: NT4; 1: sau 1 ngày trồng; 2: sau 30 ngày trồng; 3: sau 60 ngày trồng*

Các kết quả ghi nhận được theo các chỉ tiêu theo dõi về sinh trưởng cho thấy cây Bò công anh trồng trên giá thể có bổ sung phân hữu cơ vi sinh cho thấy sinh trưởng cao hơn so với nghiệm thức không bổ sung một cách có ý nghĩa, cụ thể là chiều cao cây cao hơn từ 2,02 đến 5,80 cm, số lá tăng nhiều hơn từ 1,09 đến 4,74 lá, trọng lượng tươi nặng hơn từ 10,09 đến 20,15 g và trọng lượng khô lớn hơn từ 0,76 đến 3,55 g. Với cùng lượng phân bón hữu cơ vi sinh được tạo ra trong nghiên cứu, việc bổ sung phân bón theo phương thức chỉ bón lót không hiệu quả bằng phương thức chỉ bón thúc, và phương thức kết hợp giữa bón lót và bón thúc cho hiệu quả cao nhất. Điều này đã chứng minh chất lượng và hiệu quả của sản phẩm phân bón được xử lý từ phế phụ phẩm trồng nấm mà vai trò của bộ chủng vi sinh vật qua tuyển chọn đóng một vai trò quan trọng. Ngoài ra, trong quá trình trồng trên giá thể có bón phân hữu cơ vi sinh cũng không ghi nhận sự xuất hiện bệnh hại trên cây bò công anh, điều này có thể là do tác động của các chủng vi sinh vật có trong phân bón còn có khả năng đối kháng với các vi sinh vật có hại. Hiện tượng này cũng được ghi nhận trong nghiên cứu tương tự của tác giả Nguyễn Thị Minh (2016).

Từ các kết quả có được, có thể thấy rằng việc ứng dụng các chủng vi sinh vật có lợi như vi sinh

vật cố định đạm, phân giải lân và sinh tổng hợp IAA kết hợp với các chủng vi sinh vật chịu nhiệt có khả năng phân giải cellulose trong xử lý phế phụ phẩm nấm có thể tạo ra nguồn phân hữu cơ vi sinh đạt chất lượng tốt. Sản phẩm này có các đặc điểm ưu việt về thành phần dinh dưỡng và chất lượng, giúp cải thiện đáng kể quá trình sinh trưởng và năng suất của cây Bò công anh mà không cần sử dụng đến các loại thuốc có thành phần và chất điều hòa sinh trưởng thực vật. Đồng thời, phương thức xử lý này cũng thể hiện tính bền vững khi giúp tiết kiệm chi phí sản xuất phân bón, giảm thiểu đáng kể lượng phế thải nấm vón có khả năng gây ô nhiễm thải ra môi trường. Nghiên cứu còn mở ra hướng ứng dụng rộng rãi hơn của chế phẩm phân hữu cơ vi sinh từ phế phẩm nấm, không chỉ giới hạn ở đối tượng Bò công anh mà còn có thể mở rộng cho các loại cây trồng khác. Có thể xem kết quả nghiên cứu này là một trong các cơ sở đóng góp cho việc phát triển nông nghiệp theo hướng tuần hoàn, bền vững, thân thiện với môi trường và đáp ứng nhu cầu về các sản phẩm nông sản an toàn và chất lượng cao.

#### **4. KẾT LUẬN**

Nghiên cứu này đã tuyển chọn các chủng vi sinh vật có khả năng cố định đạm, chuyển hóa lân và sinh tổng hợp IAA được phân lập từ đất tại tỉnh

Lâm Đồng để ứng dụng trong sản xuất phân hữu cơ vi sinh từ phế phụ phẩm nấm. Các chủng vi khuẩn tuyển chọn được gồm chủng NLD8 thuộc loài *Rhizobium* sp. có khả năng cố định đạm, chủng vi khuẩn PDT5 thuộc loài *Burkholderia arboris* có khả năng phân giải lân và chủng IDL3 thuộc loài *Klebsiella variicola* có khả năng sinh tổng hợp IAA. Các chủng vi sinh vật chịu nhiệt có khả năng phân giải cellulose cũng được sử dụng để xử lý bã nấm từ quá trình nuôi trồng và chế biến nấm thành phân bón hữu cơ vi sinh. Sau 75 ngày xử lý, sản phẩm phân bón đạt được các chỉ tiêu hóa lý và vi sinh theo Quy chuẩn Việt Nam về Chất lượng phân bón như pH, độ ẩm trong mức cho phép, hàm lượng các khoáng đa lượng và chất hữu cơ đạt trên mức yêu cầu và cao hơn đáng kể so với nguyên liệu ban đầu và phân được tạo ra theo các phương pháp xử lý truyền thống.

Chất lượng và hiệu quả của sản phẩm phân bón hữu cơ vi sinh tạo ra trong nghiên cứu còn được thể

hiện thông qua việc sử dụng chúng để bón trong quá trình trồng cây Bò công anh để đánh giá khả năng ứng dụng thực tế. Kết quả cho thấy hạt Bò công anh khi gieo trong giá thể có bổ sung phân hữu cơ vi sinh đạt tỷ lệ nảy mầm cao hơn đáng kể so với hạt gieo trên đất tự nhiên và giá thể hữu cơ không có phân vi sinh. Sau 60 ngày, các thông số sinh trưởng và các yếu tố cấu thành năng suất của cây Bò công anh ở các nghiệm thức sử dụng phân hữu cơ vi sinh, đặc biệt ở nghiệm thức có bổ sung phân hữu cơ vi sinh theo phương thức bón lót kết hợp với bón thúc là cao hơn so với không sử dụng.

**Lời cảm ơn:** Công trình này là sản phẩm của đề tài “Nghiên cứu xây dựng công nghệ xử lý chất thải từ nguồn phụ phẩm công nghệ trồng và chế biến nấm để phục vụ sản xuất nông nghiệp bền vững” Mã số: CT2022.02.TDL.06. Nhóm nghiên cứu xin gửi lời cảm ơn đến Bộ Giáo dục và Đào tạo cùng Trường Đại học Đà Lạt đã tài trợ kinh phí cho nghiên cứu này.

## SELECTION AND APPLICATION OF BENEFICIAL MICROORGANISMS TO PROCESS POST-MUSHROOM-GROWING BY-PRODUCTS INTO MICROBIAL ORGANIC FERTILIZER

Nguyen Khoa Trung<sup>1</sup>, Le Ngoc Trieu<sup>1</sup>, Le Thi Anh Tu<sup>1</sup>, Hoang Viet Hau<sup>1</sup>,  
Nguyen Thi Bich Lien<sup>1</sup>, Phan Trung Truc<sup>1</sup>, Mai Thi My Lanh<sup>1</sup>, Nguyen Phuong Dai Nguyen<sup>2</sup>

Received Date: 13/11/2024; Revised Date: 16/12/2024; Accepted for Publication: 15/01/2025

### ABSTRACT

Through isolation and activity testing, three useful bacterial strains were selected. These strains were applied in the treatment of mushroom growing by-products to create microbial organic fertilizer for cultivation purposes. The effectiveness of this fertilizer was demonstrated in experiments involving the cultivation of Dandelion (*Taraxacum officinale*). The nitrogen-fixing bacterial strain, NLD8, belonging to *Rhizobium* sp., fixed nitrogen at a level of 3.42 mg N/L and 1.88 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/L. The phosphate-solubilizing strain, PDT5, belonging to *Burkholderia arboris*, solubilized phosphate at a level of 13.62 mg/L. The IAA-synthesizing strain, IDL3, belonging to *Klebsiella variicola*, produced IAA at a concentration of 221.20 µg IAA/mL. The by-products treatment process, which used selected bacterial strains and a controlled composting method with periodic air supplementation, demonstrated high substrate decomposition efficiency. After 75 days of incubation, the resulting microbial organic fertilizer exhibited suitable physicochemical properties that met the Vietnam Standard for the quality of microbial organic fertilizers, including a pH of 5.6, humidity of 58%, total nitrogen content of 1.93%, phosphorus content of 0.95%, potassium content of 1.76%, and organic matter content of 41.2%. By adding this fertilizer to the cultivation soil, the germination rate of Dandelion seeds reached 98.98% and the yield

<sup>1</sup>Faculty of Biology, Da Lat University;

<sup>2</sup>Faculty of Natural Sciences and Technology, Tay Nguyen University;

Corresponding author: Nguyen Phuong Dai Nguyen; Phone: 0914032103; Email: npdnguyen@ttn.edu.vn.

was higher than the control. The current study initially contributes to the treatment of mushroom growing by-products to create good quality microbial organic fertilizer, supporting in agricultural cultivation, minimizing environmental pollution, and participating in increasing economic value and sustainable agricultural development.

**Keywords:** *Dandelion, nitrogen fixation, phosphate solubilisation, IAA, mushroom by-products.*

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bergey's, D. H., & Holt, J. G., (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Publisher: William và Wilkins, England.
- Đào Văn Thông, Lương Hữu Thành, Vũ Thuý Nga (2015). *Quy trình xử lý phế phụ phẩm trồng nấm làm phân bón hữu cơ vi sinh vật*. Viện Môi trường Nông nghiệp.
- Đình Xuân Thắng và Nguyễn Văn Phước (2015). *Giáo trình Công nghệ xử lý chất thải rắn*. Viện Môi trường và Tài nguyên, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.
- Đỗ Tất Lợi (2019). *Cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. NXB Hồng Đức.
- Gardes, M., Bruns, T. D. (1993). ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology*, 2 (2): 113 - 118.
- Gordon, S. A., and Weber, R. P. (1951). Colorimetric estimation of indoleacetic acid. *Plant Physiology*, 26(1), 192-195.
- Koch, R. (1883). *Über die neuen Untersuchungsmethoden zum Nachweis der Mikrokosmen in Boden, Luft und Wasser Aertzliches Vereinsblatt f., Deutschland*.
- Meng, X., Luo, Y., Zhao, X., Fu, Y., Zou, L., Cai, H., ... & Tu, M. (2024). Isolation, Identification, and Biocontrol Mechanisms of Endophytic *Burkholderia arboris* DHR18 from Rubber Tree against Red Root Rot Disease. *Microorganisms*, 12(9), 1793.
- Nara, K. (2006). Ectomycorrhizal networks and seedling establishment during early primary succession. *New Phytol.* 169:169–178
- Nguyễn Hoàng Nhật Linh và Nguyễn Hữu Hiệp (2019) Tuyển chọn vi khuẩn có khả năng cố định đạm, phân giải lân, tổng hợp IAA nội sinh trong cây cà phê vối (*Coffea canephora* Pierre ex. A. Fronehner) trồng tại tỉnh Đắk Lắk. *Tạp chí Khoa học – Trường Đại học Cần Thơ*. 55(2): 34-40.
- Nguyễn Hữu Hỷ, Nguyễn Duy Trinh, Ngô Thị Bích Ngọc, Nguyễn Thị My (2015). Thực trạng và giải pháp phát triển ngành nấm tại các tỉnh phía Nam. Truy cập ngày 26/05/2021 tại Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp <http://iasvn.org/homepage/Thuc-trang-va-giai-phap-phat-trien-nganh-nam-tai-cac-tinh-phia-Nam-7635.html>
- Nguyễn Thị Minh (2016). Nghiên cứu xử lý phế phụ phẩm trồng nấm làm giá thể hữu cơ trồng rau an toàn. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam* 14 (11), 1781-1788.
- Nguyễn Thị Thanh Mai, Chu Đức Hà, Phạm Phương Thu và Nguyễn Văn Giang (2018). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn phân giải lân, kali khó tan từ đất trồng cà phê tại khu vực Tây Nguyên. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp*. 60(5): 34-38.
- Nguyễn Việt Dũng, Phạm Thị Phương, Thái Quốc Hưng, Huỳnh Lôi, Huỳnh Ngọc Thụy, (2024). Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính chống oxy hóa của cây Bồ công anh lùn (*Taraxacum officinael* Wigg. Asteraceae). *TNU Journal of Science and Technology*, 229(05):3-11
- Phạm Công Đoàn, Nguyễn Ngọc Hạnh, Phùng Văn Trung và Phan Nhật Minh (2008). Kết quả bước đầu khảo sát thành phần hóa học cây Bồ Công Anh (*Taraxacum officinael* Wigg.). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 9,227-231.
- Riker, D. L. (2017). Spent Mushroom Substrate Uses. *Edible and Medicinal Mushroom: Technology and Applications*, 427 - 454.
- TCVN 10784:2015. Vi sinh vật - xác định khả năng sinh tổng hợp acid 3-Indol-Acetic (IAA).
- TCVN 4050-1985. Đất trồng trọt – phương pháp xác định tổng số chất hữu cơ.
- TCVN 5815:2001. Phân hỗn hợp NPK- Phương pháp thử.
- TCVN 5979: 2007. Chất lượng đất – xác định pH

- TCVN 5988:1995 (ISO 5664: 1984) về chất lượng nước - xác định amoni - phương pháp chung cất và chuẩn độ.
- TCVN 6167:1996. Phân bón vi sinh vật phân giải hợp chất photpho khó tan.
- TCVN 7538 - 2:2005. Chất lượng đất - Hướng dẫn kỹ thuật lấy mẫu.
- TCVN 8557:2010 về phân bón - Phương pháp xác định nitơ tổng số.
- TCVN: 6166:1996. Phân bón vi sinh vật cố định nitơ.
- Vũ Thị Minh Đức (2001). *Thực tập vi sinh vật học*. Đại học Quốc gia Hà Nội.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J., (1990). *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics*. PCR protocols: a Guide to Methods and Applications, 18 (1): 315 – 322
- Yu, R., Man, M., Yu, Z., Wu, X., Shen, L., Liu, Y., ... & Zeng, W. (2021). A high-efficiency *Klebsiella variicola* H12-CMC-FeS@ biochar for chromium removal from aqueous solution. *Scientific Reports*, 11(1), 6611.