

TUYỂN CHỌN CHỦNG XẠ KHUẨN CÓ HOẠT TÍNH CELLULASE CAO TỪ ĐẤT TRỒNG LÚA TẠI XÃ VÕ NHAI, TỈNH THÁI NGUYÊN

Trần Văn Chí*, Phạm Thị Tuyết Mai, Nguyễn Thị Giang

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên

*Tác giả liên hệ: tranvanchi@tuaf.edu.vn

Nhận bài: 17/07/2025 Hoàn thành phản biện: 05/09/2025 Chấp nhận bài: 11/09/2025

TÓM TẮT

Các chủng vi sinh vật thể hiện hoạt tính enzyme cellulase mạnh đóng vai trò quan trọng trong đẩy nhanh quá trình phân hủy rơm rạ và tạo mùn hữu cơ trên đất trồng lúa. Do vậy, mục tiêu của nghiên cứu là tuyển chọn được chủng xạ khuẩn có hoạt tính enzyme cellulase cao và xác định các điều kiện nuôi cấy phù hợp cho tổng hợp enzyme cellulase. Kết quả nghiên cứu đã phân lập từ 12 mẫu đất trồng lúa tại xã Võ Nhai, tỉnh Thái Nguyên được 6 chủng xạ khuẩn có khả năng phân giải cellulose và xác định được chủng DC-33 có đường kính vòng phân giải CMC lớn nhất đạt 25,5 mm và hoạt tính enzyme cellulase cao nhất, đạt 21,15 U/mL. Kết quả định danh phân tử cho thấy chủng DC-33 có trình tự gen 16S rRNA tương đồng 99,79 % với *Streptomyces althioticus* NRRL B-3981T (AY999791) và được đặt tên là *Streptomyces althioticus* DC-33. Hoạt tính tổng hợp enzyme cellulase của chủng DC-33 đạt 29,35 U/mL sau 6 ngày nuôi cấy trong môi trường chứa 2 % CMC, pH = 7, nhiệt độ 40°C. Kết quả của nghiên cứu cho thấy chủng xạ khuẩn *Streptomyces althioticus* DC-33 có tiềm năng ứng dụng trong xử lý rơm rạ để sản xuất phân bón hữu cơ vi sinh phục vụ sản xuất nông nghiệp an toàn và bền vững.

Từ khóa: Điều kiện nuôi cấy, Hoạt tính enzyme cellulase, *Streptomyces althioticus*, Xạ khuẩn

SELECTION OF ACTINOMYCES STRAINS WITH HIGH CELLULASE ACTIVITY ISOLATED FROM RICE SOIL IN VO NHAI COMMUNE, THAI NGUYEN PROVINCE

Tran Van Chi*, Pham Thi Tuyen Mai, Nguyen Thi Giang

University of Agriculture and Forestry, Thai Nguyen University

*Corresponding author: tranvanchi@tuaf.edu.vn

Received: 17/07/2025

Revised: 05/09/2025

Accepted: 11/09/2025

ABSTRACT

Microbial strains exhibiting strong cellulase enzyme activity play an important role in accelerating the decomposition of straw and creating organic humus on rice fields. Thus, the objective of this study was to select an actinomyces strain with high cellulase activity and to determine suitable conditions of cultivation for cellulase production. From 12 paddy soil samples collected in Vo Nhai commune, Thai Nguyen province, six actinomyces strains capable of degrading cellulose were isolated. Among them, strain DC-33 exhibited the largest CMC hydrolysis zone with a diameter of 25.5 mm and the highest cellulase activity, reaching 21.15 U/mL. Molecular identification based on 16S rRNA gene sequencing revealed that strain DC-33 shared 99.79 % sequence similarity with *Streptomyces althioticus* NRRL B-3981^T (AY999791) and was designated as *Streptomyces althioticus* DC-33. The cellulase production of DC-33 reached 29.35 U/mL after six days of cultivation in the medium containing 2% CMC, at pH = 7 and 40°C. These findings suggest that *Streptomyces althioticus* DC-33 holds promising potential for application in rice straw degradation to produce microbial organic fertilizers, contributing to safe and sustainable agricultural production.

Keywords: Culture conditions, Cellulase activity, *Streptomyces althioticus*, Actinomyces

1. MỞ ĐẦU

Tại Thái Nguyên, lúa là cây trồng chính để đảm bảo an ninh lương thực và phát triển kinh tế của tỉnh (Nguyễn Thị Quỳnh và cs., 2023). Sản xuất được một tấn lúa trung bình sẽ cho ra 1,2 tấn rơm rạ khô (Lê Thị Thanh Thủy và cs., 2011). Với diện tích đất trồng lúa khoảng 70,0 nghìn ha và năng suất trung bình 5,5 tấn/ha, hàng năm Thái Nguyên có khoảng 462 nghìn tấn rơm rạ (Nguyễn Thị Quỳnh và cs., 2023). Thực tế tại Thái Nguyên thường xảy ra tình trạng người dân đốt rơm rạ ngay tại đồng, đây là nguyên nhân dẫn đến thoái hóa đất và gây ô nhiễm môi trường, ảnh hưởng tiêu cực đến sức khỏe và chất lượng cuộc sống của cộng đồng (Lê Thị Thanh Thủy và cs., 2011).

Trong canh tác cây trồng, để hạn chế những tác động không mong muốn của phân bón vô cơ, như làm ô nhiễm nước ngầm, giảm độ phì và đa dạng sinh học của đất (Alok và cs., 2017), có thể ảnh hưởng tiêu cực đến sức khỏe con người (Ladha và cs., 2005),... đã có một số công bố về ứng dụng phân hữu cơ vi sinh chứa vi sinh vật có hoạt tính phân giải cellulose (Trần Hoàng Dũng và cs., 2018), cố định đạm, kích thích sinh trưởng (Hoàng Thị Lan Anh và cs., 2024), phân giải lân (Lê Thị Thanh Thủy và cs., 2012), ... giúp gia tăng độ phì, cải thiện hệ vi sinh vật đất và nâng cao năng suất cây trồng, hướng đến nền nông nghiệp an toàn và thân thiện với môi trường (Son & Ramaswami, 1997). Vì vậy, thúc đẩy nhanh quá trình phân hủy rơm rạ và tạo mùn hữu cơ, cần có sự tham gia của các chủng vi sinh vật thể hiện hoạt tính enzyme cellulase mạnh. Xạ khuẩn có các đặc tính sinh lý, chuyển hóa đa dạng, có khả năng sinh tổng hợp nhiều loại enzyme ngoại bào, góp phần duy trì và cân bằng hệ sinh thái đất (Mukesh và cs., 2014; Jog và cs., 2012). Theo Grigorevski và cs. (2005), cellulase từ xạ khuẩn thuộc chi *Streptomyces* được ứng dụng trong quá trình phân hủy cellulose, hemicellulose, lignin có khả năng chịu nhiệt

tốt. Bên cạnh đó, sự có mặt của xạ khuẩn trong đất có thể ức chế sự phát triển và khả năng kháng kháng sinh của mầm bệnh (Cai và cs., 2008). Nghiên cứu được thực hiện nhằm mục đích phân lập, tuyển chọn chủng xạ khuẩn có hoạt tính enzyme cellulase và xác định các điều kiện nuôi cấy phù hợp cho tổng hợp enzyme cellulase làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo về ứng dụng để sản xuất phân hữu cơ vi sinh phục vụ phát triển nông nghiệp tuần hoàn.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu sử dụng trong nghiên cứu là các mẫu đất trồng lúa tại xã Võ Nhai, tỉnh Thái Nguyên và các môi trường nuôi cấy xạ khuẩn, gồm môi trường Gause I cải biến (GCMC): 10 g Carboxy Methyl Cellulose (CMC); 0,5 g K_2HPO_4 ; 0,5 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 1,0 g KNO_3 ; 0,5 g NaCl; 0,01 g $FeSO_4$; 20,0 g agar (nếu làm môi trường thạch đĩa); nước cất 1000 mL; pH = 7,2-7,4 (Nguyễn Thị Diệu Hạnh và cs., 2021) và môi trường dịch thể Tryptic soy broth: 17,0 g peptone casein; 3,0 g peptone đậu nành; 5,0 g NaCl; 2,5 g K_2HPO_4 ; 2,5 g glucose; 1000 mL nước cất; pH = 7,3 (Nguyễn Viết Hưng và cs., 2020).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân lập xạ khuẩn phân giải cellulose

12 mẫu đất trồng lúa ở các thôn Đình Cả, Phú Thượng, Lâu Thượng thuộc xã Võ Nhai, tỉnh Thái Nguyên được thu thập và xử lý theo TCVN 7538 - 6:2010. Cân 1 g mẫu đất trồng lúa pha loãng với 100 mL nước cất đã được khử trùng, lắc 15 phút, sau đó hút 20 μ L trải đều trên môi trường GCMC, ủ nuôi trong 5 – 10 ngày ở 37°C. Quan sát và nhận diện các khuẩn lạc đặc trưng của xạ khuẩn và tiến hành cấy ria trên môi trường thạch đĩa GCMC cho đến khi thu được các chủng xạ khuẩn thuần (Sette và cs., 2005).

2.2.2. Phương pháp xác định đặc điểm hình thái, sinh lý chủng xạ khuẩn phân lập

Hình thái vi thể của xạ khuẩn được kiểm tra sau khi nuôi trên môi trường GCMC trong 5-7 ngày ở 37°C. Cấu trúc cuống sinh bào tử được quan sát trên tiêu bản phòng ẩm bằng kính hiển vi quang học ở độ phóng đại 1000 lần (Nguyễn Thị Diệu Hạnh và cs., 2021) và kính hiển điện tử quét.

Đặc điểm hình thái khuẩn lạc của xạ khuẩn, gồm màu sắc của khuẩn ty khí sinh (KTKS), màu sắc của khuẩn ty cơ chất (KTCC) và khảo sát sự hình thành sắc tố melanin được tiến hành theo phương pháp được mô tả bởi Shirling và Gottlieb (1966).

2.2.3. Phương pháp xác định hoạt tính enzyme

Trích ly enzyme: Chủng xạ khuẩn có khả năng tạo đường kính vòng phân giải CMC được nuôi trong 100 mL môi trường môi trường GCMC trong 7 ngày (với tỉ lệ giống khởi động 1 %), trên máy lắc, tốc độ 150 vòng/phút ở 37°C, sau đó hút 10 mL canh trường và ly tâm 5000 vòng/phút trong 20 phút, loại bỏ sinh khối, lọc lấy phần dịch trong và sử dụng như dung dịch enzyme ngoại bào (Võ Văn Phước Quê và Cao Ngọc Diệp, 2011).

Định tính hoạt tính enzyme cellulase: Trên môi trường thạch đĩa GCMC đục thời thạch có đường kính 8 mm. Nhỏ 100 μ L dịch trích ly enzyme ở trên vào giếng thạch đã đục sẵn, đặt nhiệt độ 4°C trong 6 giờ, chuyển sang tủ ấm 37°C trong 24 giờ; hiện màu vòng phân giải cơ chất bằng thuốc nhuộm Lugol. Kích thước vòng phân giải (ΔD , mm): $\Delta D = D - d$. Trong đó: D: Đường kính vòng phân giải và d: Đường kính lỗ thạch (Bui, 2014). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần và tiến hành cấy 6 chủng trên cùng 1 đĩa thạch.

Định lượng hoạt tính enzyme cellulase: Việc xác định hoạt tính cellulase thực hiện theo mô tả của Miller (1959)

(được trích dẫn bởi Chu Thanh Bình, 2024a), khi đường khử (sản phẩm từ quá trình phân hủy cellulose) phản ứng với thuốc thử DNS (3,5-dinitrosalicylic acid) có màu vàng chanh tạo thành 3-amino 5-nitro salicylic acid có màu đỏ cam và hấp thụ cực đại ở bước sóng 540 nm và cường độ màu tỷ lệ thuận với lượng đường khử được tạo. Hỗn hợp phản ứng gồm 300 μ L CMC 1 % (trong đệm acetate, pH 5,0) với 150 μ L dịch trích ly enzyme thu được ở trên, ủ ở 50°C trong 30 phút. Ngừng phản ứng bằng cách bổ sung 600 μ L DNS, rồi đun sôi hỗn hợp trong 5 phút để tạo màu. Tiến hành đo độ hấp phụ quang của sản phẩm sau phản ứng ở bước sóng 540 nm. Một đơn vị hoạt tính enzyme là lượng enzyme có khả năng xúc tác chuyển hóa 1 μ mol glucose tương đương trong 1 phút ở điều kiện thí nghiệm (pH = 5,0; nhiệt độ 50°C).

2.2.4. Định danh chủng xạ khuẩn tuyển chọn

Chủng tuyển chọn được nuôi trong môi trường dịch thể Tryptic soy broth sau 24 giờ ở 37°C, tốc độ lắc 150 vòng/phút (Nguyễn Viết Hưng và cs., 2020). Sinh khối tế bào được thu bằng cách ly tâm và đem tách chiết DNA tổng số theo mô tả của Sambrook và Russell (2001). Trình tự gen 16S rRNA được khuếch đại bằng phương pháp PCR, sử dụng cặp mồi 27F 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3' và 1492R 5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3' (Frank và cs., 2008). Sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel agarose 1 % và gửi đọc trình tự tại công ty Macrogen (Hàn Quốc). Trình tự gen 16S rRNA của chủng tuyển chọn được so sánh với các trình tự được công bố, sử dụng phần mềm EzTaxon server. Sơ đồ phả hệ của chủng được xây dựng dựa trên phần mềm MEGA v7.0 (Kumar và cs., 2016).

2.2.5. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ chất cảm ứng, nhiệt độ, pH môi trường và thời gian nuôi đến hoạt tính enzyme cellulase của chủng tuyển chọn

Nuôi cấy chủng xạ khuẩn tuyển chọn trong môi trường GCMC lỏng với nồng độ CMC thay đổi từ 0,5 đến 2,5 % với bước nhảy 0,5 trên máy lắc, tốc độ 150 vòng/phút ở 37°C, xác định hoạt tính cellulose sau 7 ngày nuôi cấy.

Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ, pH môi trường và thời gian nuôi cấy được thực hiện thông qua việc xác định hoạt tính cellulase, khi nuôi cấy chủng xạ khuẩn tuyển chọn ở nhiệt độ 37°C, 40°C, 45°C và 50°C, pH từ 6,0 đến 8,0 với bước nhảy 0,5 sau 7 ngày nuôi cấy và thời gian nuôi cấy 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ngày trên môi trường chứa nồng độ CMC, pH và nhiệt độ cho hoạt tính enzyme cellulase cao nhất.

Mỗi điều kiện khảo sát được thực hiện với 3 lặp lại độc lập ($n = 3$), kết quả trình bày dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn.

2.2.6. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý thống kê bởi phần mềm JASP 0.19.3.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và định tính hoạt tính sinh cellulase các chủng xạ từ mẫu đất trồng lúa

Từ 12 mẫu đất trồng lúa, 6 chủng xạ khuẩn tạo vòng phân giải CMC đã được phân lập và làm thuần. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc, khuẩn ty của 6 chủng phân lập được mô tả tại Bảng 1 cho biết, khuẩn lạc của các chủng phân lập có hình tròn, bề mặt lồi và phẳng, mép có ria răng cưa hoặc gọn, màu xám và trắng-xám, không sinh sắc tố melanin. Đặc điểm và hình thái khuẩn lạc của các chủng phân lập tương đồng với khuẩn lạc xạ khuẩn được phân lập từ mẫu đất được thu tập tại Thái Nguyên của Đỗ Thị Hiền và cs. (2014), Lê Thị Hiền và cs. (2019) và chủng xạ khuẩn DH3.4 được phân lập ở Đồng bằng Sông Cửu Long của Phạm Thị Tuyết Ngân và cs. (2021). Bào tử của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn có dạng hình cầu, bề mặt nhẵn, kích thước 1,0-1,3 $\times$ 0,5-0,7 μ m (Hình 1).

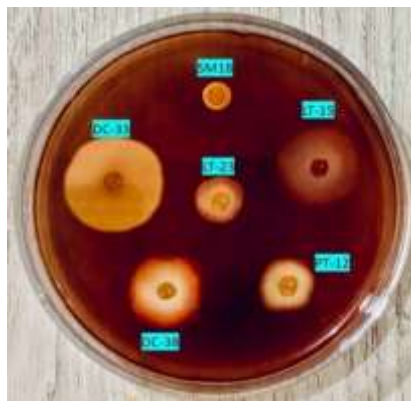
Bảng 1. Đặc điểm nhận diện ban đầu các chủng xạ khuẩn mới phân lập

	Nguồn mẫu phân lập tại xã Võ Nhại	Đặc điểm khuẩn lạc	Đường kính vòng phân giải CMC (mm)	KTKS	Sắc tố KTCC	Melanin
DC-33	Đình Cả	Khuẩn lạc tròn, bề mặt lồi, mép hình răng cưa	25,5 ^a $\pm$ 0,72	Trắng-xám	Vàng chanh	K
DC-38	Đình Cả	Khuẩn lạc tròn, bề mặt lồi, mép gọn	12,3 ^c $\pm$ 0,46	Trắng - xám	Vàng cam	K
LT-15	Lâu Thượng	Khuẩn lạc tròn, bề mặt phẳng, mép gọn	18,5 ^b $\pm$ 0,63	Xám	Trắng	K
LT-23	Lâu Thượng	Khuẩn lạc tròn, bề mặt phẳng, mép hình răng cưa	5,6 ^e $\pm$ 0,27	Xám	Nâu	K
PT-12	Phú Thượng	Khuẩn lạc tròn, bề mặt phẳng, mép hình răng cưa	9,5 ^d $\pm$ 0,41	Xám	Nâu	K
SM-18	Phú Thượng	Khuẩn lạc tròn, bề mặt lồi, mép gọn	3,5 ^f $\pm$ 0,22	Xám	Xám nhạt	K

K: không sinh sắc tố melanin; Trên cùng một cột, các giá trị có ký tự khác nhau thì khác nhau có nghĩa ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$; KTKS: Khuẩn ty ký sinh; KTCC: Khuẩn ty cơ chất.



Hình 1. Hình ảnh bào tử của chủng DC-33 trên kính hiển vi điện tử quét



Hình 2. Đường kính vòng phân giải CMC của các chủng phân lập

Đánh giá định tính khả năng phân giải CMC các chủng xạ khuẩn phân lập thể hiện trên Hình 2 cho thấy, đường kính vòng phân giải CMC các chủng khác nhau có ý nghĩa và dao động từ 3,5 mm đến 25,5 mm, trong đó, chủng DC-33 có đường kính vòng phân giải lớn nhất, đạt 25,5 mm. Theo Nguyễn Thị Diệu Hạnh và cs. (2021), xạ khuẩn có đường kính vòng phân giải CMC > 20 mm thuộc nhóm vi sinh vật có hoạt tính enzyme cellulase mạnh.

Kết quả đánh giá định lượng khả năng phân giải CMC của các chủng xạ khuẩn phân lập được tổng hợp trong Bảng 2 đã xác định được đường kính vòng phân

giải CMC và hoạt tính enzyme cellulase của các chủng xạ khuẩn nghiên cứu có sự tương đồng tuyến tính, trong đó chủng DC-33 thể hiện hoạt tính enzyme cellulase cao nhất, đạt 21,15 U/mL, khác biệt có ý nghĩa so với các chủng khác. Hoạt tính enzyme cellulase của DC-33 cao hơn hoạt tính enzyme cellulase của các chủng xạ khuẩn được Pinky và cs. (2013), Mahmoud và cs. (2014) và Arunn và cs. (2021) công bố và tương đương với hoạt tính cellulase của chủng *Streptomyces thermocarboxydus* MIP-GN36 được Chu Thanh Bình (2024a) công bố gần đây. Chủng DC-33 được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 2. Hoạt tính sinh enzyme cellulase của các chủng mới phân lập

Ký hiệu chủng	Hoạt tính cellulase (U/mL)
DC-33	21,15 ^a ± 0,83
DC-38	4,29 ^c ± 0,28
PT-12	0,62 ^d ± 0,06
LT-15	15,62 ^b ± 0,77
LT-23	0,36 ^e ± 0,04
SM-18	0,23 ^f ± 0,03

Trên cùng một cột, các giá trị có ký tự khác nhau thì khác nhau có nghĩa ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$

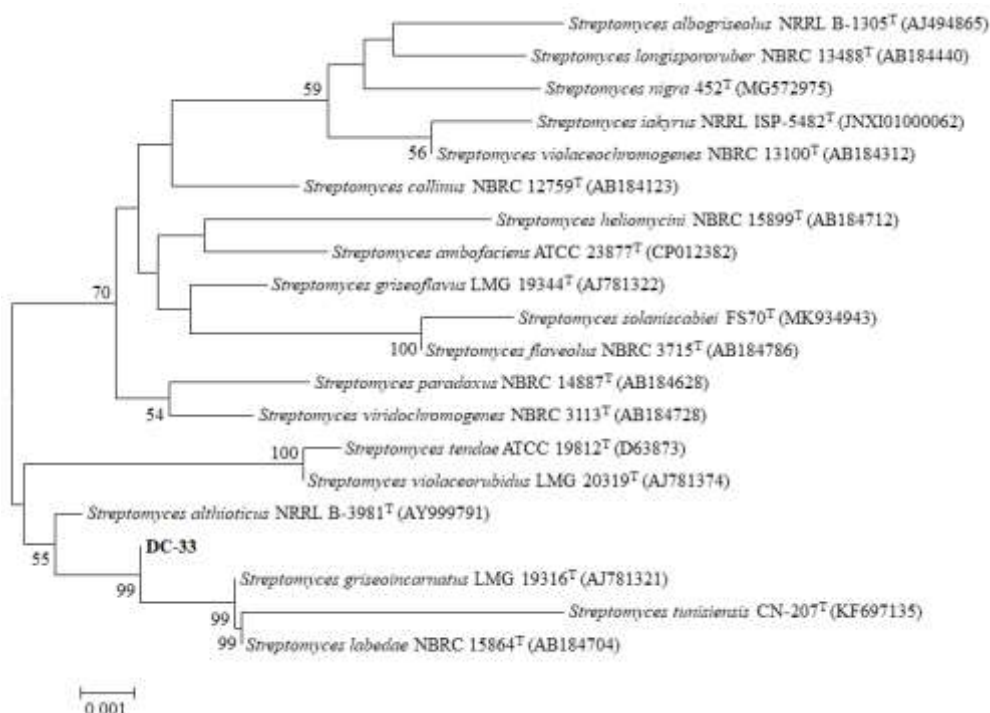
3.2. Định danh xạ khuẩn tuyển chọn

Trình tự 16S rRNA của chủng DC-33 có kích thước 1470 bp và được so sánh với các loài chuẩn đã được công bố trên Eztaxon, cho thấy chủng DC-33 tương đồng 99,79 % với *Streptomyces althioticus* NRRL B-3981^T (AY999791) (Bảng 3).

Theo sơ đồ phả hệ, chủng DC-33 cùng nhánh với *Streptomyces althioticus* NRRL B-3981^T (AY999791) và được sắp xếp cùng nhóm với các thành viên của chi *Streptomyces* (Hình 3). Chủng DC-33 thuộc chi *Streptomyces* và được đặt tên là *Streptomyces althioticus* DC-33.

Bảng 3. Kết quả so sánh trình tự gen 16S rRNA của chủng DC-33 với các loài gần nhất

Loài gần nhất	Mức độ tương đồng (%)	Số nucleotide sai khác
<i>Streptomyces althioticus</i> NRRL B-3981 ^T (AY999791)	99,79	3/1440
<i>Streptomyces griseoflavus</i> LMG 19344 ^T (AJ781322)	99,72	4/1447
<i>Streptomyces griseoincarnatus</i> LMG 19316 ^T (AJ781321)	99,72	4/1447
<i>Streptomyces labedae</i> NBRC 15864 ^T (AB184704)	99,72	4/1437
<i>Streptomyces viridochromogenes</i> NBRC 3113 ^T (AB184728)	99,38	9/1446
<i>Streptomyces albogriseolus</i> NRRL B-1305 ^T (AJ494865)	99,31	10/1447
<i>Streptomyces heliomycini</i> NBRC 15899 ^T (AB184712)	99,31	10/1447
<i>Streptomyces paradoxus</i> NBRC 14887 ^T (AB184628)	99,31	10/1447
<i>Streptomyces ambofaciens</i> ATCC 23877 ^T (CP012382)	99,24	11/1447
<i>Streptomyces violaceochromogenes</i> NBRC 13100 ^T (AB184312)	99,24	11/1440
<i>Streptomyces collinus</i> NBRC 12759 ^T (AB184123)	99,24	11/1438
<i>Streptomyces longisororuber</i> NBRC 13488 ^T (AB184440)	99,23	11/1420
<i>Streptomyces tendae</i> ATCC 19812 ^T (D63873)	99,17	12/1447
<i>Streptomyces flaveolus</i> NBRC 3715 ^T (AB184786)	99,17	12/1447
<i>Streptomyces violaceorubidus</i> LMG 20319 ^T (AJ781374)	99,17	12/1446
<i>Streptomyces tunisiensis</i> CN-207 ^T (KF697135)	99,13	12/1382
<i>Streptomyces nigra</i> 452 ^T (MG572975)	99,10	13/1447
<i>Streptomyces solaniscabiei</i> FS70 ^T (MK934943)	98,97	14/1358
<i>Streptomyces iakyrus</i> NRRL ISP-5482 ^T (JNXI01000062)	98,96	15/1447
<i>Streptomyces thinghirensis</i> DSM 41919 ^T (FM202482)	98,96	15/1447

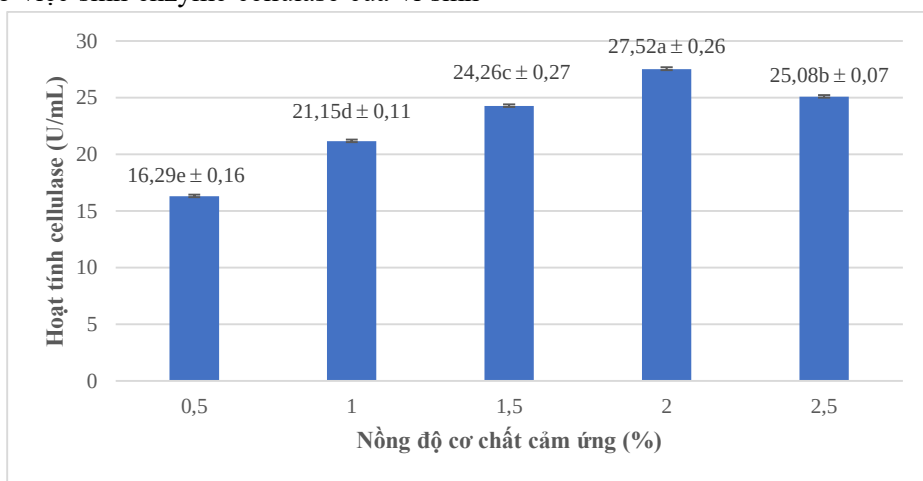


Hình 3. Sơ đồ phả hệ của chủng DC-33 với các loài gần nhất thuộc chi *Streptomyces* dựa vào trình tự gen 16S rRNA

3.3. Ảnh hưởng của hàm lượng cơ chất cảm ứng đến hoạt tính cellulase từ chủng DC-33

CMC được coi là cơ chất cảm ứng cho việc sinh enzyme cellulase của vi sinh

vật (Chu Thanh Bình, 2024a). Kết quả đánh giá ảnh hưởng của hàm lượng chất cảm ứng trong môi trường GCMC được thể hiện tại Hình 4.



Hình 4. Ảnh hưởng của nồng độ cơ chất cảm ứng đến hoạt tính enzyme cellulase của chủng DC-33 khi nuôi trên môi trường GCMC

Kết quả Hình 4 cho thấy, hoạt tính enzyme cellulase tăng tỷ lệ thuận với hàm lượng cơ chất cảm ứng (CMC) từ 0,5 % đến 2,0 % và đạt giá trị lớn nhất là 27,52 U/mL

ở nồng độ CMC 2 % CMC. Kết quả này phù hợp với kết luận của Yati và cs. (2019) về sự tổng hợp cellulase của vi sinh vật sẽ cao hơn nếu hàm lượng CMC ở ngưỡng 1,75-

2,0 %. Với hàm lượng CMC 2,5 %, hoạt tính cellulase giảm. Chu Thanh Bình (2024a) cho biết nồng độ chất cảm ứng thừa sẽ ức chế quá trình sinh tổng hợp enzyme. Như vậy đối với chủng DC-33, nồng độ chất cảm ứng CMC phù hợp để thu được hoạt tính cellulase cao nhất là 2 %.

3.4. Ảnh hưởng của một số điều kiện nuôi cấy đến hoạt tính enzyme cellulase của DC-33

Theo Chu Thanh Bình (2024b); Yati và cs. (2019); Mahmoud và cs. (2014); Pinky và cs. (2013), pH môi trường, nhiệt độ và thời gian nuôi cấy là các tham số ảnh hưởng trực tiếp đến hoạt tính enzyme cellulase của xạ khuẩn thuộc chi *Streptomyces*. Kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của 3 yếu tố trên đến hoạt tính cellulase của chủng DC-33 tổng hợp trong Bảng 4 cho thấy, pH môi trường, nhiệt độ và thời gian nuôi cấy đều ảnh hưởng đến hoạt tính cellulase với các mức độ khác nhau, trong đó nhiệt độ nuôi cấy 40°C hoạt tính

enzyme cellulase đạt cao nhất là 29,38 U/mL) sai khác có ý nghĩa với các nhiệt độ còn lại. Kết quả nghiên cứu tương đồng với công bố của Yati và cs. (2019) khi nghiên cứu về điều kiện nhiệt độ tối ưu để chủng *Streptomyces macrosporeus* BB32 tổng hợp cellulase, nhưng lại thấp hơn so với công bố của Chu Thanh Bình (2024a) và Pinky và cs. (2013) khi các tác giả đều chứng minh được chủng nghiên cứu thuộc chi *Streptomyces* thể hiện hoạt tính cellulase cao nhất ở 45°C. Một công bố khác của Mahmoud và cs. (2014) về nhiệt độ thích hợp để đạt hoạt tính enzyme cellulase cao nhất của chủng *Streptomyces* C188 là 50°C. Lý do có khác biệt về ảnh hưởng của nhiệt độ thích hợp để sản xuất cellulase là bởi sự phụ thuộc vào chủng vi sinh vật và sự biến đổi của chúng (Immanuel và cs., 2006), nghĩa là đặc điểm của giống sẽ quyết định điều kiện thích hợp cho sự tổng hợp cellulase có hoạt độ khác nhau (Đặng Thị Thanh Tâm và cs., 2023).

Bảng 4. Ảnh hưởng của pH môi trường, nhiệt độ và thời gian nuôi cấy đến hoạt tính enzyme cellulase sinh bởi chủng DC-33

Yếu tố khảo sát	Giá trị	Hoạt tính cellulase (U/mL)
Nhiệt độ	37°C	27,52 ^b ± 0,43
	40°C	29,38 ^a ± 0,69
	45°C	23,71 ^c ± 0,65
	50°C	8,83 ^d ± 0,38
pH	6,0	7,62 ^e ± 0,31
	6,5	18,69 ^c ± 0,54
	7,0	29,41 ^a ± 0,40
	7,5	28,65 ^b ± 0,22
	8,0	12,59 ^d ± 0,47
Thời gian nuôi cấy	2 ngày	5,86 ^f ± 0,28
	3 ngày	8,27 ^e ± 0,34
	4 ngày	14,25 ^d ± 0,41
	5 ngày	23,55 ^c ± 0,57
	6 ngày	29,35 ^a ± 0,63
	7 ngày	29,42 ^a ± 0,68
	8 ngày	27,17 ^b ± 0,59

Trên cùng một cột của một yếu tố khảo sát, các giá trị có ký tự khác nhau thì khác nhau có nghĩa ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$, sau dấu $\pm$ là độ lệch chuẩn

Tương tự nhiệt độ nuôi cấy, pH ban đầu của môi trường cũng ảnh hưởng khá sâu sắc đến hoạt tính enzyme cellulase của chủng DC-33. Theo đó, pH ban đầu của môi trường GCMC phù hợp nhất để nuôi DC-33 cho hoạt tính enzyme này thể hiện cao nhất ở pH = 7,0. Kết quả này phù hợp với công bố trước đó của Chu Thanh Bình (2024a) và Pinky và cs. (2013) về pH nuôi cấy phù hợp cho một số chủng thuộc chi *Streptomyces* là 7,0. Về thời gian nuôi cấy, sau 7 ngày đạt giá trị hoạt độ enzyme cellulase cao nhất, tuy nhiên không có sai khác về mặt thống kê so với sau 6 ngày nuôi. Vì vậy để tiết kiệm chi phí vận hành trong sản xuất, thời gian nuôi cấy phù hợp nhất với chủng DC-33 trên môi trường GCMC với pH = 7,0 ở nhiệt độ 40°C là 6 ngày.

4. KẾT LUẬN

Từ 12 mẫu đất trồng lúa tại xã Võ Nhai, tỉnh Thái Nguyên đã phân lập được 6 chủng xạ khuẩn có hoạt tính phân giải CMC và tuyển chọn được chủng DC-33 có đường kính vòng phân giải CMC lớn nhất đạt 25,5 mm và hoạt tính enzyme cellulase đạt 21,15 U/mL. Trình tự 16S rRNA của chủng DC-33 có kích thước 1470 bp tương đồng 99,79% với *Streptomyces althioticus* NRRL B-3981^T (AY999791) và được đặt tên là *Streptomyces althioticus* DC-33. Chủng *Streptomyces althioticus* DC-33 có hoạt tính enzyme cellulase cao nhất là 29,35 U/mL trong môi trường có nồng độ CMC 2,0 %; pH = 7, nhiệt độ 40°C và thời gian nuôi cấy 6 ngày.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu tiếng Việt

Hoàng Thị Lan Anh, Nguyễn Thị Giang, Nguyễn Mạnh Tuấn, Phạm Thị Tuyết Mai và Trần Văn Chí. (2024). Nghiên cứu đánh giá khả năng cố định nitơ và sinh tổng hợp Indole-3-acetic acid (IAA) của chủng vi khuẩn *Flavobacterium anhuiense* MN47 phân lập từ đất trồng chè tại Thái Nguyên.

Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 66(6), 34-39, 2024.

Bộ Khoa học và Công nghệ Việt Nam. (2010). TCVN 7538-6:2010. Phần 6: Hướng dẫn về thu thập, xử lý và bảo quản mẫu đất ở điều kiện hiếu khí để đánh giá các quá trình hoạt động, sinh khối và tính đa dạng của vi sinh vật trong phòng thí nghiệm.

Chu Thanh Bình. (2024a). Nghiên cứu một số điều kiện sinh tổng hợp cellulase ngoại bào từ chủng MIP_GN36 ứng dụng trong xử lý môi trường. *Tạp chí Y học Quân Sự*, 371, 44-47.

Chu Thanh Bình. (2024b). Hoạt tính đối kháng với vi sinh vật gây bệnh cho người của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* MIP_GN36 phân lập từ đất vùng rễ Gừng (*Zingiber officinale*). *Tạp chí Y học Quân sự*, 369, 52 – 57.

Trần Hoàng Dũng, Huỳnh Văn Hiếu, Trần Duy Dương và Nguyễn Thành Công. (2018). Phân lập các chủng vi sinh vật có khả năng phân giải cellulose mạnh phục vụ sản xuất chế phẩm phân hủy rơm rạ. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 60(6), 32-36.

Nguyễn Thị Diệu Hạnh, Hứa Trường Chinh, Đặng Bích Ngân, Nguyễn Thị Thanh Thúy, Nguyễn Ngọc Ân và Phạm Tấn Việt. (2021). Phân lập và tuyển chọn xạ khuẩn có khả năng sinh các hợp chất có hoạt tính cao. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Trường Đại học Công nghiệp thành phố Hồ Chí Minh*, 53B, 56-67.

Lê Thị Hiền, Đinh Văn Lợi, Vũ Thị Vân và Nguyễn Văn Giang. (2014). Phân lập và tuyển chọn các chủng xạ khuẩn (*Streptomyces* spp.) đối kháng nấm bệnh cây. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 12(5), 656-664.

Đỗ Thị Hiền, Đỗ Bích Duệ, Nguyễn Mạnh Tuấn và Nguyễn Xuân Vũ. (2019). Phân lập và tuyển chọn chủng xạ khuẩn sinh kháng sinh ức chế sinh trưởng vi khuẩn gram dương. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Thái Nguyên*, 197(04), 127-133.

Nguyễn Viết Hưng, Đỗ Thị Hiền và Nguyễn Mạnh Tuấn. (2020). Tuyển chọn và định danh chủng xạ khuẩn có hoạt tính kháng nấm gây bệnh thực vật. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Thái Nguyên*, 225(08), 448-453.

Phạm Thị Tuyết Ngân, Vũ Hùng Hải, Vũ Ngọc Út và Huỳnh Trường Giang. (2021). Phân lập và tuyển chọn một số chủng xạ khuẩn có khả năng phân hủy chất hữu cơ và kháng

- khuẩn ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 57: Chuyên đề thủy sản, 99-106.
- Võ Văn Phước Quê và Cao Ngọc Diệp. (2011). Phân lập và nhận diện vi khuẩn phân giải cellulose. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 18a, 177-184.
- Nguyễn Thị Quỳnh, Hoàng Kim Diệu, Vũ Thị Nguyên, Lê Thị Kiều Oanh và Phạm Thị Thu Huyền. (2023). Đánh giá thực trạng canh tác lúa nước tại tỉnh Thái Nguyên, Việt Nam. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Thái Nguyên*, 228(09), 59-66.
- Đặng Thị Thanh Tâm, Trần Thị Yến và Nguyễn Thanh Huyền. (2023). Đánh giá đặc điểm chủng vi khuẩn tiềm năng phân giải cellulose phân lập từ phụ phẩm chế biến gỗ. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 21(8), 1028-1036.
- Lê Thị Thanh Thủy, Lê Như Kiều, Nguyễn Việt Hiệp, Trần Thị Lua, Nguyễn Thị Thu Hằng, Nguyễn Thị Yên, Nguyễn Thị Hiền và Trần Thị Ngọc Sơn. (2011). Tuyển chọn các chủng vi sinh vật để xử lý nhanh rơm rạ thành phân bón hữu cơ. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 1(13), 48-53.
- Lê Thị Thanh Thủy, Lê Như Kiều, Nguyễn Thị Thu Hằng, Trần Thị Huệ, Lê Thị Giang và Nguyễn Thị Hiền. (2012). Tuyển chọn các chủng vi sinh vật hữu ích để sản xuất phân hữu cơ vi sinh cho cây chè ở Yên Bái. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 5(23), 120-127.
- 2. Tài liệu tiếng nước ngoài**
- Arunn, J. R., Sivaperumal, P., Anitha, R., & Lakshmi, T. (2021). Isolation of Cellulose Producing Marine *Streptomyces* Sp. from Sediment Samples and their Antioxidants Properties. *Journal of Research in Medical and Dental Science*, 9(11), 223-229.
- Bui, H. B. (2014). Isolation of cellulolytic bacteria, including actinomycetes, from coffee exocarps in coffee-producing areas in Vietnam. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 3(48), 1-8.
- Cai, G. L., Wei, C. L., Ji, Y. Q., Hui, M. W., Ting, L., & De, W. L. (2008). Identification of an antifungal metabolite produced by a potential biocontrol actinomycetes strain A01. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39(4), 701-707.
- Frank, J. A., Reich, C. I., Sharma, S., Weisbaum, J. S., Wilson, B. A., & Olsen G. J. (2008). Critical evaluation of two primers commonly used for amplification of bacterial 16S rRNA genes. *Applied Environmental Microbiology*, 74(8), 2461-2470.
- Grigorevski, A. L. de Lima, Rodrigo, P. do Nascimento, Elba, P. da Silva B., & Rosalie, R. R. C. (2005). *Streptomyces drozdowiczii* cellulase production using agro-industrial by-products and its potential use in the detergent and textile industries. *Enzyme and Microbial Technology*, 37(2), 272-277.
- Immanuel, G., Dhanusha, R., Prema, P., & Palavesam A. (2006). Effect of different growth parameters on endoglucanase enzyme activity by bacteria isolated from coir retting effluents of estuarine environment. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 3(1), 25-34.
- Jog, R., Nareshkumar, G., & Rajkumar, S. (2012). Plant growth promoting potential and soil enzyme production of the most abundant *Streptomyces* spp. from wheat rhizosphere. *Journal of Applied Microbiology*, 113(5), 1154-1164.
- Kumar, S., Stecher, G. & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33, 870-1974.
- Ladha, J.K., Himanshu, P., Timothy, J.K, Six, J., & Chris V. K. (2005). Efficiency of fertilizer Nitrogen in cereal production: Retrospects and prospects. *Advances in Agronomy*, 87, 85-156.
- Mahmoud, A. Y., Asif, A. M. J., & Hani, Z. A. (2014). Production, purification and characterization of cellulase from *Streptomyces* sp.. *African Journal of Microbiology Research*, 8(4), 348-354.
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426-428.
- Mukesh, S., Pinki, D., & Meenakshi, C. (2014). Actinomycetes: Source, Identification, and Their Applications. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(2), 801-832.
- Pinky, P., Tanuja, S., & Sheila, B. (2013). Characterization of the cellulolytic enzyme produced by *Streptomyces griseorubens* (Accession No. AB184139) isolated from

- Indian soil. *Journal of King Saud University - Science*, 25, 245–250.
- Sambrook, J., & Russell, D. W. (2001). Molecular Cloning: a Laboratory Manual, 3rd Ed., In *Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York*, 1-170.
- Sette, L. D., Valeria, M. De Oliveira, & Gilson, P. M. (2005). Isolation and characterization of alachlor-degrading actinomycetes from soil. *Antonie Van Leeuwenhoek: Journal of Microbiology*, 87(2), 81-89.
- Shirling, E. B., & Gottlieb, D. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 16(3), 313-340.
- Son, T.T.N., & Ramaswami, P.P. (1997). Bioconversion of organic wastes for sustainable agriculture. *Omonrice*, 5, 56-61.
- Yati, S., Nandang, S., Evi, T., & Titin, Y. (2019). Characterization of cellulase enzyme produced by two selected Strain of *Streptomyces Macrosporeus* isolated from soil in Indonesia. *Makara Journal of Science*, 23(2), 65-71.