

TUYỂN CHỌN CÁC CHỦNG VI KHUẨN PHÂN HỦY CELLULOSE VÀ LÊN MEN LACTIC ĐỂ XỬ LÝ BÃ SẴN LÀM THỨC ĂN CHĂN NUÔI

Phạm Thị Thu Hoàn¹, A Công², Phạm Thị Ngọc Lan², Ngô Thị Bảo Châu^{2*}

¹Trường THPT Nguyễn Trãi, thị xã An Khê, tỉnh Gia Lai

²Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

*Email: baochau1601@gmail.com

Ngày nhận bài: 22/8/2022; ngày hoàn thành phản biện: 23/8/2022; ngày duyệt đăng: 4/4/2023

TÓM TẮT

Việc tìm kiếm các chủng vi khuẩn có khả năng phân huỷ cellulose mạnh và lên men lactic rất có ý nghĩa trong việc xử lý bã sắn làm thức ăn chăn nuôi đồng thời góp phần giảm thiểu tình trạng ô nhiễm môi trường sản xuất của các cơ sở sản xuất tinh bột sắn. Từ các mẫu bã sắn, các thực phẩm và phế phụ phẩm lên men lactic trên địa bàn tỉnh Gia Lai đã phân lập được 46 chủng vi khuẩn có khả năng phân huỷ cellulose và 56 chủng vi khuẩn lactic. Đã tuyển chọn được chủng C7 có khả năng phân huỷ cellulose mạnh với đường kính vòng khuếch tán enzyme cellulase đạt 21,5 mm và chủng L14 có khả năng lên men lactic tạo vạch hòa tan CaCO₃ lớn với hàm lượng acid lactic tích lũy là 19,41 mg/mL. Bằng phương pháp giải trình tự 16S RNA, chủng các chủng vi khuẩn C7 và chủng L14 được định danh lần lượt là *Priestia megaterium* và *Lactiplantibacillus plantarum*.

Từ khoá: bã sắn, lên men lactic, phân huỷ cellulose, vi khuẩn.

1. MỞ ĐẦU

Vùng đất của tỉnh Gia Lai phù hợp với nhiều loại cây trồng có giá trị kinh tế cao trong đó có cây sắn. Hiện tại vùng này đang tập trung sản xuất tinh bột sắn với quy mô lớn là các nhà máy công nghiệp cho đến các hộ gia đình đã cung cấp lượng lớn sản phẩm tinh bột sắn cho các cơ sở sản xuất công nghiệp trong tỉnh và là mặt hàng xuất khẩu đem lại giá trị kinh tế đáng kể góp phần nâng cao đời sống của người dân nơi đây.

Tuy nhiên, thành phần của bã sắn chủ yếu là cellulose với độ tiêu hóa thấp còn chứa một lượng acid cyanhydric, nên bã này ít được tái sử dụng nên thường tồn đọng nhiều sau sản xuất. Tại đa số các cơ sở sản xuất, bã sắn thường được chất đống trên sân bãi, sau thời gian khoảng vài ngày sẽ lên men gây mùi hôi thối. Thêm vào đó, khi thời

tiết thuận lợi, nhiều loại nấm mốc phát triển mạnh trên bề mặt khối bã có thể tạo lớp bào tử dày rất dễ phát tán vào không khí gây ô nhiễm môi trường trầm trọng và ảnh hưởng tới sức khoẻ con người.

Để nâng cao giá trị dinh dưỡng của nguồn bã thải này khi sử dụng làm thức ăn chăn nuôi đồng thời góp phần giảm thiểu tình trạng ô nhiễm môi trường xung quanh khu vực sản xuất, chúng tôi tiến hành nghiên cứu “Tuyển chọn chủng vi khuẩn phân hủy cellulose và lên men lactic để xử lý bã sắn làm thức ăn chăn nuôi” nhằm sử dụng hiệu quả các chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose và lên men lactic mạnh trong sản xuất thức ăn chăn nuôi từ các nguồn phế phụ phẩm nông nghiệp.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Các chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose mạnh được phân lập từ nguồn bã sắn thu ở địa bàn tỉnh Gia Lai.

- Các chủng vi khuẩn lactic được phân lập từ các loại rau củ quả muối chua truyền thống trên địa bàn thị xã An Khê, tỉnh Gia Lai.

- Môi trường Vinogradski (g/L): CMC (5); KNO₃ (4); MnSO₄ (0,01); CaCO₃ (3); FeSO₄ (0,01); Glucose (20); KCl (0,1); Agar (20); NaCl (0,5); MgSO₄.7H₂O (0,5) [2].

- Môi trường MRS (Man Rogosa Sharpe) bổ sung CaCO₃ (g/L): Agar (20); Glucose (20); Peptone (10); Cao thịt (10); Cao nấm men (5); CH₃COONa (5); CaCO₃ (5); Ammonium citrate (2); K₂HPO₄ (2); MgSO₄.7H₂O (2); MnSO₄ (0,05); Tween 80 (1 mL) [2].

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- *Phương pháp phân lập và đếm số lượng tế bào*: sử dụng phương pháp Koch để phân lập vi khuẩn phân hủy cellulose trên môi trường Vinogradski và vi khuẩn lactic trên môi trường MRS. Số lượng tế bào vi khuẩn được xác định bằng phương pháp đếm gián tiếp thông qua khuẩn lạc mọc trên môi trường thạch đĩa [2].

- *Xác định khả năng phân hủy cellulose của vi khuẩn*: Cấy vạch các chủng vi khuẩn trên môi trường Vinogradski thạch đĩa với nguồn carbon là CMC. Đặt các đĩa Petri vào tủ ấm ở nhiệt độ 30°C. Sau 4 ngày nhuộm mẫu bằng thuốc thử Lugol [2].

- *Xác định hoạt tính cellulase bằng phương pháp khuếch tán trên thạch*: Nuôi cấy lắc các chủng vi khuẩn trong môi trường Vinogradski dịch thể ở nhiệt độ 30°C. Sau 4 ngày, thu dịch enzyme ngoại bào. Lấy 100 µL dịch enzyme cho vào lỗ đục trên đĩa thạch - CMC, sau khi khuếch tán enzyme ở 4°C trong 6 – 8 giờ các đĩa thạch được ủ ở 37°C, sau 24 giờ nhuộm đĩa thạch bằng thuốc thử Lugol. Xác định hoạt tính cellulase bằng cách đo đường kính vòng thủy phân CMC [2]. Đồng thời sau nuôi cấy thu phần

cạn, sấy khô đến khối lượng không đổi để xác định sinh khối khô.

- *Sơ tuyển các chủng vi khuẩn sinh acid lactic*: Cấy vạch các chủng vi khuẩn lên môi trường MRS có bổ sung CaCO_3 và nuôi sau 60 giờ ở nhiệt độ 30°C . Đo kích thước vạch cấy (d) và vạch hòa tan CaCO_3 (D). Hiệu số giữa D và d phản ánh khả năng sinh acid lactic của mỗi chủng vi khuẩn [2].

- *Xác định một số đặc điểm hình thái của vi khuẩn*: quan sát khuẩn lạc vi khuẩn trên các môi trường tương ứng, nhuộm đơn tiêu bản để quan sát tế bào [2].

- *Định danh các chủng vi khuẩn*: Tách chiết DNA tổng số của vi khuẩn; khuếch đại trình tự gene vùng ITS bằng kỹ thuật PCR rồi xác định trình tự gen vùng ITS theo nguyên lý của phương pháp Sanger cải tiến, sử dụng máy đọc trình tự tự động ABI 3130XL [7]. Phân tích kết quả bằng phần mềm Sequencing Analysis 5.3 và trình tự này được so sánh với các trình tự gene vùng ITS trên ngân hàng dữ liệu NCBI bằng công cụ BLAST để định danh chủng vi khuẩn [8].

- *Xử lý số liệu*: thí nghiệm lặp lại ba lần, số liệu được xử lý bằng thống kê mô tả (Microsoft Excel 2010) và phân tích ANOVA (Duncan's test $p < 0,05$) bằng chương trình SPSS 20.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập, xác định số lượng và tuyển chọn chủng vi khuẩn phân hủy cellulose

3.1.1. Phân lập, đếm số lượng vi khuẩn phân hủy cellulose

Từ 09 mẫu bã sắn (BS) thu thập trên địa bàn tỉnh Gia Lai, chúng tôi đã tiến hành phân lập và thuần khiết được 46 chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose. Kết quả xác định số lượng khuẩn lạc vi khuẩn phân hủy cellulose được trình bày ở bảng 3.1.

Bảng 3.1. Số lượng vi khuẩn phân hủy cellulose trong các mẫu phân lập

STT	Mẫu bã sắn (BS)	pH mẫu	CFU/g mẫu khô ($\times 10^5$)
1	BS1	5,3	13,7
2	BS2	4,9	17,2
3	BS3	5,1	33,0
4	BS4	4,4	30,4
5	BS5	5,0	32,2
6	BS6	5,1	9,8
7	BS7	4,4	12,7
8	BS8	4,7	21,8
9	BS9	5,2	14,9

Ghi chú: CFU (colonie forming unit) – đơn vị hình thành khuẩn lạc

Qua kết quả ở bảng 3.1 cho thấy, số lượng vi khuẩn phân giải cellulose trong các mẫu bã sắn có sự biến động khá lớn từ $9,8 \times 10^5$ đến $33,0 \times 10^5$ CFU/g. pH mẫu của bã sắn khá thấp với mức acid trung bình nên cũng ảnh hưởng khá lớn đến số lượng của vi khuẩn nói chung ở trong mẫu. Theo nghiên cứu của Nguyễn Ngọc Trúc Ngân, Phạm Thị Ngọc Lan (2014), khi tìm hiểu khả năng phân hủy cellulose của vi sinh vật phân lập từ chất thải rắn của nhà máy tinh bột sắn Thừa Thiên Huế cho thấy số lượng vi khuẩn trong các mẫu gỗ thấp hơn rất nhiều so với các mẫu nghiên cứu của chúng tôi [5].

3.1.2. Đánh giá và tuyển chọn chủng vi khuẩn phân hủy cellulose mạnh

Để đánh giá khả năng phân giải cellulose cũng như tốc độ sinh trưởng phát triển của các chủng vi khuẩn phân lập, tiến hành nuôi cấy vạch trên môi trường Vinogradski thạch đĩa với nguồn carbon là CMC. Kết quả được trình bày ở bảng 3.2.

Bảng 3.2. Khả năng phân hủy cellulose của các chủng vi khuẩn phân lập

Mức độ phân hủy	Kích thước vạch phân hủy (mm)	Số chủng	Tỷ lệ (%)
Yếu	<5	10	21,7
Trung bình	$\leq 5 \leq 10$	17	37,0
Mạnh	<10 <20	14	30,4
Rất mạnh	≥ 20	5	10,9

Qua bảng 3.2 cho thấy, tất cả các chủng vi khuẩn phân lập được đều có khả năng phân hủy cellulose nhưng ở các mức độ khác nhau. Chủng vi khuẩn có đường kính phân hủy cellulose ở mức trung bình chiếm tỉ lệ cao nhất đạt 37%, sau đó là chủng mạnh - 30,4%, chủng yếu - 21,7% và thấp nhất là chủng rất mạnh, chỉ chiếm tỉ lệ 10,9%.

Trong số 46 chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose đã phân lập được, chúng tôi chọn 5 chủng có đường kính thủy phân CMC lớn để tiến hành tuyển chọn chủng có hoạt tính mạnh nhất bằng nuôi cấy lắc tạo enzyme trong môi trường Vinogradski dịch thể. Hoạt tính enzyme cellulase được thể hiện qua đường kính vòng thủy phân CMC. Kết quả được trình bày ở bảng 3.3.

Bảng 3.3. Hoạt tính enzyme cellulase và sinh khối tích lũy của các chủng vi khuẩn tuyển chọn

STT	Chủng vi khuẩn	Đường kính vòng thủy phân (mm)	Sinh khối khô (mg/mL)
1	C2	13,0 ^b	0,30 ^c
2	C7	21,5 ^a	0,37 ^a
3	C8	11,5 ^c	0,18 ^e
4	C9	12,5 ^c	0,22 ^d
5	C42	17,0 ^b	0,24 ^c

Ghi chú: Sự sai khác giữa các chữ cái trên cùng một cột biểu hiện sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (Ducans' test)

Qua kết quả phân tích cho thấy, các chủng vi khuẩn tuyển chọn có khả năng phân hủy cellulose với đường kính vòng thủy phân CMC đạt 11,5-21,5 mm đồng thời sinh khối tích lũy ở mức trung bình đến mạnh tùy thuộc chủng (0,18-0,37 mg/mL). Do đây chỉ mới ở bước sơ tuyển để sàng lọc chủng có hoạt tính cellulase mạnh nên chưa đảm bảo điều kiện nuôi cấy tối ưu để thể hiện hoạt tính enzyme mạnh nhất. Tuy vậy với chủng C7 vẫn thể hiện đường kính vòng thủy phân của dịch chiết enzyme khá cao, đạt 21,5 mm và sinh khối khô đạt 0,37 mg/mL.

3.2. Phân lập, xác định số lượng và tuyển chọn chủng vi khuẩn lactic

3.2.1. Phân lập, đếm số lượng vi khuẩn lactic

Từ 13 mẫu thực phẩm và phế phụ phẩm lên men lactic thu thập trên địa bàn tỉnh Gia Lai đã tiến hành phân lập được 56 chủng vi khuẩn lactic trên môi trường MRS ở nhiệt độ nuôi cấy 30°C trong 48 giờ. Số lượng vi khuẩn lactic trong các mẫu nghiên cứu được trình bày ở bảng 3.4.

Bảng 3.4. Số lượng vi khuẩn lactic từ các mẫu phân lập

STT	Loại mẫu	Kí hiệu mẫu	Số lượng vi khuẩn lactic (10^6 CFU/g mẫu)
1	Nước cải chua	CC1	56,3
2	Nước giá chua	GC1	217,3
3	Nước cải chua	CC2	1458,7
4	Nước bầu chua	BC1	760,4
5	Nước môn chua	MC1	33,2
6	Nước giá chua	GC2	17,5
7	Nước măng chua	MC1	131,4
9	Nước môn chua	MC2	28,8
10	Kim chi	KC1	24,3
11	Nước cà muối	CC1	265,7
12	Kim chi	KC2	37,6
13	Tôm chua	TC1	658,8

Ghi chú: CFU: Colony Forming Unit (đơn vị hình thành khuẩn lạc)

Kết quả phân tích cho thấy, số lượng tế bào vi khuẩn khá khác biệt ở các mẫu phân lập. Số lượng vi khuẩn dao động trong khoảng $17,5 \times 10^6$ – $1458,7 \times 10^6$ CFU/mL, cao nhất ở mẫu nước cải chua, thấp nhất là mẫu nước giá chua.

3.2.2. Đánh giá và tuyển chọn chủng vi khuẩn lactic

Để đánh giá khả năng sinh acid lactic và tích lũy sinh khối của các chủng vi khuẩn lactic đã phân lập, chúng tôi tiến hành nuôi cấy các chủng vi khuẩn theo phương pháp cấy vạch trên môi trường thạch đĩa MRS có bổ sung CaCO_3 . Những chủng vi khuẩn có khả năng sản sinh acid lactic sẽ hòa tan CaCO_3 tạo vùng trong suốt xung quanh vạch cấy. Kết quả được trình bày ở bảng 3.5.

Bảng 3.5. Khả năng hòa tan CaCO_3 của các chủng vi khuẩn phân lập

Khả năng hòa tan CaCO_3	Hiệu số vạch (D-d) (mm)	Số chủng	Tỉ lệ (%)
Yếu	$D-d \leq 5$	37	66,07
Trung bình	$5 < D-d \leq 10$	7	12,50
Mạnh	$10 < D-d \leq 15$	10	17,85
Rất mạnh	$D-d > 15$	2	3,58

Từ bảng 3.5 cho thấy, tỉ lệ các chủng vi khuẩn có khả năng sinh acid lactic ở các mức độ khác nhau là khác nhau và có sự chênh lệch khá lớn. Tỉ lệ các chủng có khả năng sinh acid mạnh và rất mạnh chiếm tỉ lệ thấp trong 56 chủng phân lập. Chỉ có 02 chủng có khả năng sinh acid rất mạnh, đạt 3,57%. Với 56 chủng phân lập, chọn 05 chủng có vạch hòa tan CaCO_3 lớn là L4, L14, L20, L35, L54 tiếp tục khảo sát khả năng tạo acid lactic bằng cách nuôi cấy tĩnh các chủng này trong môi trường MRS dịch thể. Sau 72 giờ định lượng acid lactic tạo thành. Kết quả được trình bày ở bảng 3.6.

Bảng 3.6. Kích thước vạch hòa tan CaCO_3 và hàm lượng acid lactic tích lũy của 5 chủng vi khuẩn lactic

STT	Chủng vi khuẩn	Kích thước vạch hòa tan CaCO_3 (mm)	Hàm lượng acid lactic (mg/mL)
1	L7	18,32 ^b	17,11 ^b
2	L14	20,31 ^a	19,41 ^a
3	L20	10,73 ^d	9,27 ^e
4	L35	12,64 ^c	11,76 ^d
5	L54	13,36 ^c	14,66 ^c

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ sự sai khác trung bình mẫu có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (Duncan's test).

Với 05 chủng vi khuẩn lactic khi lên men cho hàm lượng acid lactic dao động từ 14,6 – 21,4 mg/mL. Trong đó chủng L14 thể hiện khả năng lên men lactic mạnh với vạch hòa tan CaCO_3 đạt 20,31 mm và hàm lượng acid lactic tích lũy là 19,41 mg/mL.

So sánh với nghiên cứu của Nguyễn Thị Minh Hằng (2013) về vi khuẩn lactic từ sản phẩm muối chua truyền thống có lượng acid lactic tạo thành chỉ 1,93 – 2,18 mg/mL [1]. Nghiên cứu của Nguyễn Thế Trang (2008) với 15 chủng vi khuẩn lactic lên men cho hàm lượng acid lactic đạt từ 0,48 – 24,74 mg/mL [6]. Các nghiên cứu của Đào Thị Lương (2010) và Vũ Xuân Nam (2016) cho thấy hàm lượng acid lactic đạt trong khoảng 8 – 29 mg/mL sau 48 giờ lên men ở 30°C [3], [4].

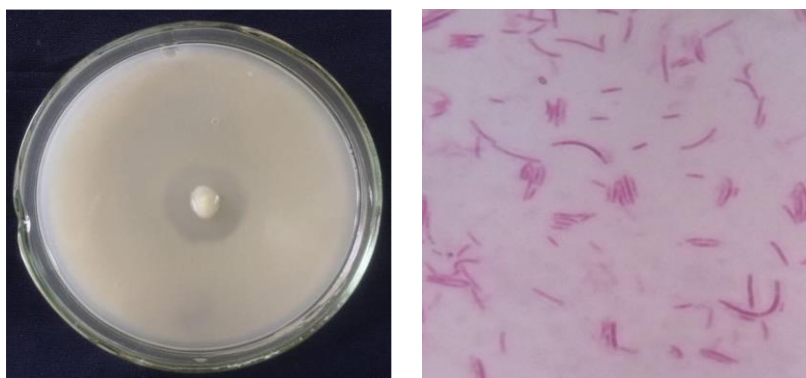
3.3. Đặc điểm hình thái và định danh các chủng vi khuẩn

3.3.1. Chủng vi khuẩn C7 phân hủy cellulose

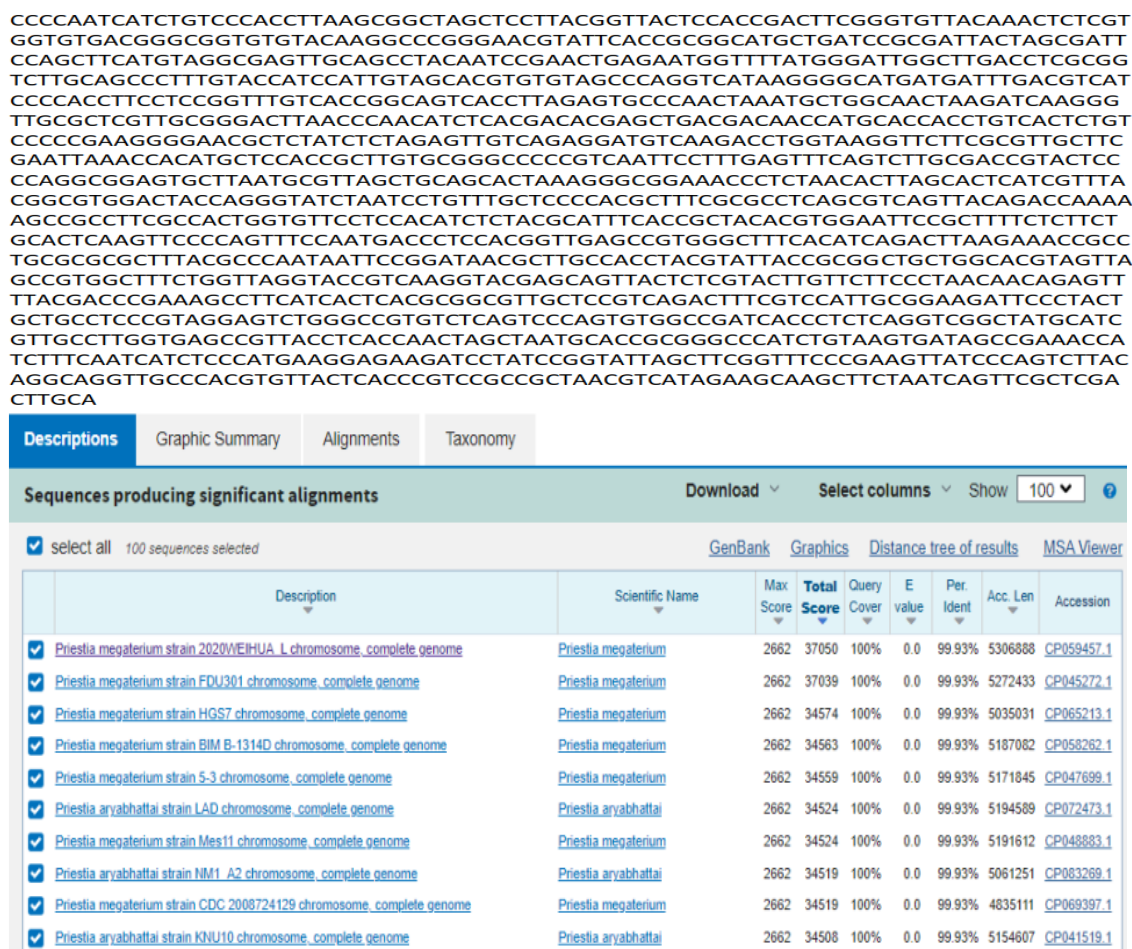
Chủng C7 được nuôi cấy trên môi trường Vinogradski thạch đĩa, khuẩn lạc có đặc điểm sau: kích thước khoảng 5 -6 mm sau 4 ngày nuôi cấy có màu xám nhạt, mép tròn, bề mặt trơn, không tiết sắc tố ra môi trường (hình 3.1a).

Quan sát tiêu bản nhuộm đơn chủng C7: tế bào VK có hình que, kích thước khá lớn, nằm riêng lẻ hoặc kết chuỗi ngắn (hình 3.1b).

Chủng C7 được định danh ở phòng thí nghiệm Sinh học phân tử, công ty Trách nhiệm hữu hạn dịch vụ và thương mại Nam Khoa, thành phố Hồ Chí Minh. Kết quả được so sánh với dữ liệu Genbank trên trang web NCBI bằng công cụ Blast Search. Trình tự này tương đồng 99,93% với trình tự đoạn nucleotide 16S rRNA của chủng vi khuẩn *Priestia megaterium* 2020WEIHUA đã được đăng ký trong Genbank và với giá trị E - value bằng 0,0 mã số truy cập là CP059457.1 (hình 3.2).



Hình 3.1. Khuẩn lạc (a) và hình thái tế bào (b) của chủng C7 (x100)



Hình 3.2. Kết quả giải trình tự 16S rRNA của chủng C7 và tra cứu trên Blast Search

3.3.2. Chủng vi khuẩn lactic L14

Nuôi cấy chủng vi khuẩn L14 trên môi trường MRS thạch đĩa, sau 60 giờ, khuẩn lạc có hình dạng tròn, bờ đều, kích thước 2 – 2,5 mm, tron láng bóng, màu trắng đục (hình 3.3a).

Quan sát tiêu bản nhuộm đơn chủng L14: tế bào VK có hình que ngắn, nằm riêng lẻ hoặc kết chuỗi ngắn (hình 3.3b).



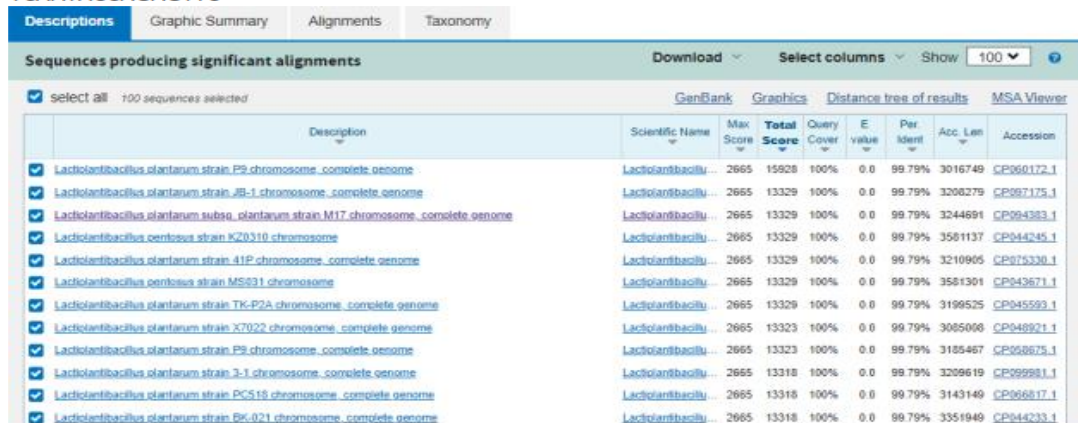
Hình 3.3. Khuẩn lạc (a) và hình thái tế bào (b) của chủng L14 (x100)

Chủng L14 được định danh bằng giải trình tự đoạn nucleotide 16S rRNA. Kết quả được so sánh với dữ liệu Genebank trên trang web NCBI bằng công cụ BLAST SEARCH. Trình tự này tương đồng 99,79% với trình tự của chủng vi khuẩn *Lactiplantibacillus plantarum* M17 mã số truy cập CP094383.1 đã được đăng ký trong Genebank (hình 3.4).

```

TTCACCCCTAATCATCTGTCCCACCTTAGAGCGGCTGAGTTCCTAAAAGAGTTACCCACCGACTTTGGGTGTTACA
AACTCTCATGGTGTGACGGGGCGGTGTGTACAAGGCCGGGAAACGTATTACCCGCGGCATGCTGATCCGCGATTA
CTAGCGATTCCGACTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAAGTGAAGTGGCTTTAAGAGATTAGCTTA
CTCTCGCGAGTTCCCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCAGTGTGTAGCCAGGTATAAGGGGTCATGATGAT
TTGACGTATCCCACCTTCTCCGGTTTGTACCAGGCTCACCAGAGTGCCCAACTTAATGCTGGCAACTGA
TAATAAGGGTTCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAAACATCTCAGCACAGAGCTGACGACAACCATGCACCACCT
GTATCCATGTCCCCGAAGGGAAACGTCTAATCTCTTAGATTGATAGTATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCC
TAGCTTCGAATTAACACCATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGCCTTTCAGCC
GTACTCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGACAGCACTGAAGGGCGGAAACCCTCAACACTTAGCATTA
TCGTTTACGGTATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGTACCATACTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAG
ACCAGACAGCCGCTTCGCCACTGGTGTCTTCCATATATCTACGCATTTACCCGCTACACATGGAGTTCCACTGTC
CTCTTCTGCACTCAAGTTTCCCAGTTTCCGATGCTACTTTCGGTTGAGCCGAAGGCTTTCACATCAAGAAAA
ACCGCTCGCGCTCGTTTACGCCAATAAATCCGGACAACGCTTGCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCAC
GTAGTTACCGTGGCTTCTGGTTAAATACCGTCAATACCTGAACAGTTACTCTCAGATATGTTCTTCTTAACAAC
AGAGTTTTACGAGCCGAAACCCTTCTCACTCAGCGGGCGTTGCTCCATCAGACTTTCGTCCATTGTGGAAGATT
CCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTTTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAATGTGGCCGATTACCCTCAGGTCGGCTAC
GTATCCCGCATGGTGAGCCGTTACCCACCATCTAGCTAATACGCCGCGGGACCATCCAAAAGTGATAGCCGA
AGCCATCTTCAAACCTCGGACCATGCGGTCCAAGTTGTTATGCGGTATTAGCATCTGTTCCAGGTGTTATCCCC
GCTTCTGGGCGAGTTTCCCACGTGTTACTACCCAGTTCGCCACTCACTCAAATGTAATCATGATGCAAGCACCAA
TCAATACCAGAGTTC

```



Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc. Len	Accession
Lactiplantibacillus plantarum strain P9 chromosome complete genome	Lactiplantibacillu...	2665	15628	100%	0.0	99.79%	3016749	CP060172.1
Lactiplantibacillus plantarum strain JB-1 chromosome complete genome	Lactiplantibacillu...	2665	13329	100%	0.0	99.79%	3206279	CP087175.1
Lactiplantibacillus plantarum subsp. plantarum strain M17 chromosome complete genome	Lactiplantibacillu...	2665	13329	100%	0.0	99.79%	3244691	CP094383.1
Lactiplantibacillus cereus strain K20310 chromosome	Lactiplantibacillu...	2665	13329	100%	0.0	99.79%	3581137	CP044245.1
Lactiplantibacillus plantarum strain 41P chromosome complete genome	Lactiplantibacillu...	2665	13329	100%	0.0	99.79%	3210965	CP076330.1
Lactiplantibacillus cereus strain MS031 chromosome	Lactiplantibacillu...	2665	13329	100%	0.0	99.79%	3581301	CP043671.1
Lactiplantibacillus plantarum strain TK-P2A chromosome complete genome	Lactiplantibacillu...	2665	13329	100%	0.0	99.79%	3199525	CP045593.1
Lactiplantibacillus plantarum strain X7022 chromosome complete genome	Lactiplantibacillu...	2665	13323	100%	0.0	99.79%	3065068	CP048921.1
Lactiplantibacillus plantarum strain P9 chromosome complete genome	Lactiplantibacillu...	2665	13323	100%	0.0	99.79%	3185467	CP068675.1
Lactiplantibacillus plantarum strain 3-1 chromosome complete genome	Lactiplantibacillu...	2665	13318	100%	0.0	99.79%	3209619	CP099981.1
Lactiplantibacillus plantarum strain PCS18 chromosome complete genome	Lactiplantibacillu...	2665	13318	100%	0.0	99.79%	3143149	CP066617.1
Lactiplantibacillus plantarum strain PK-021 chromosome complete genome	Lactiplantibacillu...	2665	13318	100%	0.0	99.79%	3351949	CP044233.1

Hình 3.4. Kết quả giải trình tự 16S rRNA của chủng L14 và tra cứu trên Blast Search

4. KẾT LUẬN

1. Từ 9 mẫu bã sắn ở tỉnh Gia Lai đã phân lập được 46 chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose. Từ 13 mẫu thực phẩm và phế phụ phẩm lên men đã phân lập được 56 chủng vi khuẩn lactic.

2. Tuyển chọn được chủng vi khuẩn phân giải cellulose mạnh là C7. Chủng C7 tương đồng 99,93% với trình tự gen vùng 16S rRNA của chủng *Priestia megaterium* 2020WEIHUA với mã số truy cập là CP059457.1.

3. Tuyển chọn được chủng vi khuẩn lactic có khả năng lên men mạnh là L14. Chủng L14 tương đồng 99,79% với trình tự gen vùng 16S rRNA của chủng *Lactiplantibacillus plantarum* M17 với mã số truy cập là CP094383.1.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Nguyễn Thị Minh Hằng, Nguyễn Minh Thu (2013), "Phân lập tuyển chọn một số chủng vi khuẩn lactic có khả năng sinh tổng hợp amylase và bacteriocin", *Tạp chí khoa học và công nghệ lâm nghiệp số 3 (1)*, tr: 2 – 10.
- [2]. Phạm Thị Ngọc Lan (2012), *Giáo trình thực tập vi sinh vật*, Nhà xuất bản Đại học Huế
- [3]. Đào Thị Lương và cộng sự (2010), "Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn lactic dùng trong chế biến và bảo quản thức ăn thô xanh và phụ phẩm nông nghiệp cho gia súc", *Di truyền học và ứng dụng – chuyên san công nghệ sinh học, số 6*.
- [4]. Vũ Xuân Nam, Đỗ Tất Thịnh (2016), "Tuyển chọn các chủng vi khuẩn tiềm năng cho lên men sinh acid lactic", *Tạp chí khoa học và công nghệ nhiệt đới số (11), (12)*.
- [5]. Nguyễn Ngọc Trúc Ngân, Phạm Thị Ngọc Lan (2014), Tìm hiểu khả năng phân giải cellulose của vi sinh vật phân lập từ chất thải rắn của nhà máy FOCOCEV Thừa Thiên Huế, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Trường ĐH Khoa Học Huế, Tập 2*, 45-51.
- [6]. Nguyễn Thế Trang, Trần Đình Mấn (2008), "Một số đặc điểm phân loại của hai chủng vi khuẩn lactic HN11 và HN34 sinh tổng hợp L+(-) axit lactic phân lập tại Việt Nam", *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 6(4):505-511.
- [7]. Sambrook J. and Russell D. W. (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, New York, pp. 35 – 68.
- [8]. Verschuere L. et al (2000). Probiotic bacterias biological control agents in aquaculture. *Microbiology & Molecular Biology Reviews*, 64, pp. 655 – 671.

SELECTION OF CELLULOSE-DEGRADING AND LACTIC-FERMENTING BACTERIA STRAINS FOR PROCESSING CASSAVA RESIDUES AS ANIMAL FEED

Pham Thi Thu Hoan¹, A Cong², Pham Thi Ngoc Lan², Ngo Thi Bao Chau^{2*}

¹ Nguyen Trai High School, An Khe town, Gia Lai province,

² Faculty of Biology, University of Sciences, Hue University

*Email: baochau1601@gmail.com

ABSTRACT

The selection of bacteria strains capable of effective cellulose decomposition and lactic fermentation is significant in treating cassava residues for animal feed and, at the same time, contributes to minimizing environmental pollution of cassava production facilities. From samples of cassava residues, food, and lactic acid fermentation by-products in Gia Lai province, we have isolated 46 cellulose-degrading bacteria strains and 56 lactic-fermenting bacteria strains. Among them, strain C7 has strong cellulose decomposition ability with cellulase enzyme diffusion ring diameter reaching 21.5 mm, while strain L14 has the ability to ferment lactic acid strongly, creating a large CaCO₃ solubility line with accumulated lactic acid content of 19.41 mg/mL. By 16S RNA sequencing method, bacteria strains C7 and L14 were identified as *Priestia megaterium* and *Lactiplantibacillus plantarum*, respectively.

Keywords: cassava residue, lactic fermentation, cellulose decomposition, bacteria.



Ngô Thị Bảo Châu sinh ngày 16/01/1987 tại Thừa Thiên Huế. Năm 2009, bà tốt nghiệp Cử nhân Sinh học tại Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế. Năm 2017, bà tốt nghiệp Thạc sĩ chuyên ngành Sinh học Thực nghiệm tại Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế. Hiện nay, bà công tác tại Khoa Sinh học, trường Đại học Khoa học, Đại học Huế.

Lĩnh vực nghiên cứu: Vi sinh vật học.

Tuyển chọn các chủng vi khuẩn phân hủy cellulose và lên men lactic để xử lý bã sắn ...
