

Tuyển chọn chủng vi khuẩn có hoạt lực cao về khả năng phân giải cellulose từ đất trồng chè tại xã Tân Cương, tỉnh Thái Nguyên

Trần Văn Chí^{1*}, Phạm Thị Tuyết Mai¹, Nguyễn Thị Giang¹, Ngô Xuân Bình¹, Nguyễn Mạnh Tuấn²

¹Trường Đại học Nông Lâm – Đại học Thái Nguyên

²Viện Khoa học Sự sống – Đại học Thái Nguyên

Selection of bacteria showing high activity in degrading cellulose isolated from green tea cultivation soil in Tan Cuong commune, Thai Nguyen province

Tran Van Chi^{1*}, Pham Thi Tuyen Mai¹, Nguyen Thi Giang¹, Ngo Xuan Binh¹, Nguyen Manh Tuan²

¹Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry – Thai Nguyen University

²Institute of Life Sciences – Thai Nguyen University

*Corresponding author: tranvanchi@tuaf.edu.vn

<https://doi.org/10.55250/jo.vnuf.14.6.2025.013-021>

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu là lựa chọn chủng vi khuẩn tiềm năng có khả năng phân giải cellulose. Từ 15 mẫu đất trồng chè thu được tại xã Tân Cương, tỉnh Thái Nguyên đã tuyển chọn được chủng DECE-18 có hoạt tính sinh enzyme cellulase cao nhất, thể hiện ở hoạt độ của 3 enzyme Endoglucanase, Exoglucanase và β -glucosidase lần lượt đạt: 25,56 (U/ml); 3,65(U/ml) và 46,28 (U/ml). Trình tự gen 16S rRNA của chủng DECE-18 được so sánh với các loài đã công bố trên EzTaxon cho thấy, DECE-18 có mức độ tương đồng cao nhất (99,36%) với chủng *Cellulomonas shaoxiangyii* Z28^T (MK761147). Sơ đồ phả hệ cho thấy chủng DECE-18 thuộc chi *Cellulomonas*, cùng nhánh và gần nhất với *Cellulomonas shaoxiangyii* Z28^T (MK761147). Vì vậy, chủng DECE-18 được xác định danh pháp khoa học là *Cellulomonas shaoxiangyii* DECE-18. Khảo sát một số điều kiện nuôi cấy chủng DECE-18 trên môi trường CMC cho thấy, ở 40°C và pH 6,0-8,0 là thích hợp để chủng thể hiện hoạt tính enzyme cellulase cao nhất. Với hoạt tính đã thể hiện, chủng *Cellulomonas shaoxiangyii* DECE-18 rất có tiềm năng cho việc nghiên cứu tạo chế phẩm góp phần xử lý cellulose làm giàu thêm chất hữu cơ dễ hấp thụ cho cây chè được trồng tại xã Tân Cương, tỉnh Thái Nguyên.

ABSTRACT

The objective of the study was to select potential bacterial strains capable of degrading cellulose. From 15 green tea cultivation soil samples collected in Tan Cuong commune, Thai Nguyen province, DECE-18 strain was selected with the highest cellulase enzyme activity, shown in the activities of the three enzymes Endoglucanase, Exoglucanase and β -glucosidase reaching: 25.56 (U/ml); 3.65 (U/ml) and 46.28 (U/ml). The 16S rRNA gene sequence of DECE-18 was compared with species published on EzTaxon, showing that DECE-18 has the highest similarity (99.36%) to *Cellulomonas shaoxiangyii* Z28^T (MK761147). The phylogenetic diagram shows that DECE-18 belongs to the genus *Cellulomonas*, in the same clade and closest to *Cellulomonas shaoxiangyii* Z28^T (MK761147). Therefore, the DECE-18 was identified by the scientific name *Cellulomonas shaoxiangyii* DECE-18. A survey of some conditions for culturing the DECE-18 on CMC medium showed that 40°C and pH 6.0-8.0 were suitable for the strain to express the highest cellulase enzyme activity. With the demonstrated activity, the *Cellulomonas shaoxiangyii* DECE-18 has great potential for creating preparations that contribute to the treatment of cellulose to enrich easily absorbed organic sources for tea plants grown in Tan Cuong commune, Thai Nguyen province.

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 28/06/2025

Ngày phản biện: 18/08/2025

Ngày quyết định đăng: 15/09/2025

Từ khóa:

Cellulomonas, đất trồng chè, phân giải cellulose, tuyển chọn, vi khuẩn.

Keywords:

Bacteria, *Cellulomonas*, degradation of cellulose, green tea cultivation soil, selection.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Phụ phẩm của ngành trồng trọt chứa 35-50% là cellulose – một loại polysaccharide cao phân tử khó phân hủy [1, 2]. Thực trạng hiện nay cho thấy, người nông dân thường xử lý phụ phẩm (như rơm rạ) bằng cách đốt ngay ở ngoài đồng ruộng. Đây là nguyên nhân gây ô nhiễm môi trường, làm bốc hơi dinh dưỡng bề mặt và thoái hóa đất [3]. Tuy nhiên, Trong tự nhiên có nhiều loại vi sinh vật có khả năng sinh ra các enzyme xúc tác quá trình phân giải cellulose, góp phần quan trọng trong việc nâng cao độ phì nhiêu của đất [4-8].

Thái Nguyên là địa phương luôn dẫn đầu về diện tích chè trong cả nước và chè được xác định là cây trồng chủ lực của tỉnh góp phần làm giàu cho người nông dân. Nhưng sản phẩm Trà Thái Nguyên hiện vẫn chủ yếu tiêu thụ nội địa, xuất khẩu chỉ chiếm khoảng 20% nên chưa tương xứng với tiềm năng, bởi việc phát triển cây chè của tỉnh vẫn còn nhiều hạn chế, nhất là diện tích chè sản xuất theo quy trình VietGAP còn thấp [9]. Vì vậy, để nâng cao giá trị gia tăng và phát triển bền vững cây chè, đẩy mạnh xuất khẩu, việc sản xuất chè đảm bảo chất lượng và vệ sinh an toàn thực phẩm được đặt lên hàng đầu. Khi canh tác, phân bón luôn đóng vai trò chủ đạo, ảnh hưởng lớn đến năng suất, an toàn sản phẩm. Và trong những năm gần đây, phân vô cơ được người nông dân sử dụng chính [10]. Việc này có thể gây ra những tác động môi trường khó lường như làm ô nhiễm nước ngầm, giảm độ phì nhiêu của đất và đa dạng sinh học [11-14] và có thể ảnh hưởng tiêu cực đến sức khỏe con người [15]. Để khắc phục những hạn chế trên, việc sử dụng phân hữu cơ chứa các vi sinh vật hữu ích như có hoạt tính cố định nitơ, sinh tổng hợp kích thích sinh trưởng [16], phân giải lân [17], phân giải cellulose [18, 19]... là một trong những giải pháp đang được quan tâm nghiên cứu, vì chúng sẽ góp phần giúp hạn chế việc sử dụng các loại phân bón hóa học [20]. Do đó, việc nghiên cứu sử dụng phân hữu cơ vi sinh để dần thay thế phân vô cơ trên cây chè sẽ góp phần vào hoàn thiện quy trình sản xuất chè an toàn. Trong quy trình sản xuất phân hữu cơ vi sinh, cần thiết phải có những vi

sinh vật phân giải mạnh nguồn cơ chất phức tạp (trong đó có cellulose) nên việc tìm kiếm, tuyển chọn chủng vi sinh vật có hoạt tính cao về khả năng phân giải cellulose là rất cần thiết.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Các chủng vi sinh vật có hoạt tính phân giải cellulose được phân lập từ mẫu đất trồng chè tại xã Tân Cương, tỉnh Thái Nguyên.

2.2. Hóa chất, môi trường

Môi trường Carboxy Methyl Cellulose (CMC) gồm: 1g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 1g K_2HPO_4 ; 0,5g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,001g NaCl; 10g CMC; 2g Agar (nếu làm môi trường thạch đĩa), thêm nước đến thể tích 1 lít và điều chỉnh pH = 7 [21].

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp thu mẫu

Thực hiện thu mẫu đất ở các đồi chè kinh doanh (5 năm tuổi, trồng giống chè trung du) tại xã Tân Cương, tỉnh Thái Nguyên theo TCVN 7538-6:2010 [22]. Mẫu được lấy ở độ sâu 6 - 15cm, sau khi đã loại bỏ khoảng 3-5 cm phần đất và tàn dư thực vật. Tổng số 15 mẫu, được thu thập tại đồi chè trồng tại các xóm: Hồng Thái, Nam Thái, Guộc, Soi Vàng và Y Na – mỗi xóm 03 mẫu.

2.3.2. Phương pháp phân lập vi khuẩn phân giải cellulose

Phân lập trên môi trường CMC: cân 1 g mẫu đất trồng chè pha loãng với 100 ml nước cất đã được khử trùng, lắc 15 phút, sau đó hút 20μl trải đều trên môi trường CMC. Ủ môi trường 2 – 3 ngày ở 30°C, tách từng khuẩn lạc thu được những dòng vi khuẩn riêng biệt [1, 23].

2.3.3. Phương pháp xác định hoạt tính enzyme

Trích ly enzyme: chọn những chủng vi khuẩn có khả năng tạo đường kính vòng phân giải CMC tốt nhất, nuôi trong 100 ml môi trường môi trường CMC trong 3 ngày (với tỉ lệ giống khởi động 1%), ở điều kiện 30°C, sau đó hút 10 ml canh trường và ly tâm 5000 rpm trong 20 phút, loại bỏ sinh khối, lấy phần dịch trong sử dụng như dung dịch enzyme ngoại bào [1].

Khảo sát hoạt tính enzyme cellulase: hệ enzyme cellulase gồm endoglucanase, exoglucanase và β -glucosidase. Hoạt tính enzyme endoglucanase được đo bằng cách cho

1ml enzyme phản ứng với 1 ml CMC (1% CMC trong dung dịch đệm acetate pH5) ở 40°C trong 30 phút, đo lượng đường khử sinh ra bằng phương pháp của Nelson (1944) [24]. Hoạt tính enzyme exoglucanase: cho 1ml enzyme phản ứng với 1 ml Cellulose powder (1% Cellulose powder trong dung dịch đệm acetate pH5) ở 40°C trong 2 giờ, đo lượng đường khử sinh ra bằng phương pháp của Nelson. Hoạt tính enzyme β -glucosidase: cho 1ml enzyme phản ứng với 1ml Cellobiose (0,2% Cellobiose trong dung dịch đệm acetate pH5) ở 40°C trong 1 giờ, đo lượng đường khử sinh ra bằng phương pháp của Nelson. Đơn vị hoạt tính enzyme (U/ml): là lượng đường khử sinh ra trong 1 phút trên 1 ml enzyme ở điều kiện 40°C và pH5 [1].

2.3.4. Khảo sát ảnh hưởng của pH và nhiệt độ đến khả năng sinh cellulase của chủng tuyển chọn

Chủng tuyển chọn được cấy trong môi trường dịch thể CMC ở nhiệt độ 30°C với các mức pH từ 4,0 - 9,0 (bước nhảy 1,0). Sau 3 ngày, dịch nuôi cấy được đem đi đánh giá hoạt tính cellulase.

Tiếp theo, chủng tuyển chọn được cấy trong môi trường dịch thể CMC với pH phù hợp (đã được khảo sát ở trên) với nhiệt độ dao động từ 25 - 50°C (bước nhảy 5°C). Sau 3 ngày, dịch nuôi cấy đem đi đánh giá hoạt tính cellulase.

2.3.5. Nhận diện vi khuẩn tuyển chọn bằng phương pháp sinh học phân tử

Chủng tuyển chọn được nuôi trong môi

trường CMC lỏng trong 36 giờ ở 30°C, nuôi lắc ở 130 rpm. Thu sinh khối tế của chủng tuyển chọn bằng ly tâm và được tách chiết DNA tổng số theo phương pháp của Sambrook và Russell (2011) [25]. Trình tự gen 16S rRNA của chủng được khuếch đại bằng cặp mồi 27F 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3' và 1492R 5'-TACGGYTACCTTGTACGACTT-3' với thành phần và điều kiện phản ứng PCR theo mô tả của Klindworth và cộng sự (2013) [26]. Sản phẩm PCR được giải trình tự tại Công ty Macrogen (Seoul, Hàn Quốc).

Trình tự gen 16S rRNA của chủng tuyển chọn được so sánh với dữ liệu loài chuẩn công bố trên EzBioCloud [27], với giới hạn phân loại về mức độ tương đồng trình tự gen 16S rRNA theo mô tả của Browne và cộng sự (2016) [28]. Sơ đồ phả hệ của chủng vi khuẩn cũng được xây dựng để xác định vị trí phân loại thông qua phần mềm MEGA v7.0 [29].

2.3.6. Xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả nghiên cứu được tổng hợp bằng phần mềm Microsoft excel 2015 và được xử lý thống kê bởi phần mềm JASP 0.19.3.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập chủng vi khuẩn có khả năng phân giải cellulose

Từ 15 mẫu đất trồng chè, phân lập được 5 chủng vi khuẩn có đặc điểm hình thái khuẩn lạc, tế bào và đường kính vòng phân giải cellulose khác nhau, được mô tả chi tiết tại Bảng 1.

Bảng 1. Đặc điểm nhận diện ban đầu các chủng phân giải cellulose mới phân lập

TT	Ký hiệu chủng	Nguồn mẫu phân lập tại xã Tân Cương	Đặc điểm khuẩn lạc	Hình thái tế bào	Gram	Đường kính vòng phân giải CMC (cm)
1	YCE-3	Xóm Y Na	Trắng sữa, lồi, gọn, trơn	Que ngắn	+	1,5 ^{bc}
2	GCE-6	Xóm Guộc	Trắng sữa, dẹt, có ria, nhẵn	Cầu nhỏ	+	0,9 ^d
3	DECE-18	Xóm Hồng Thái	Trắng ngà, lồi, gọn, trơn	Que Ngắn	+	2,3 ^a
4	DECE-23	Xóm Hồng Thái	Trắng sữa, lồi, gọn, trơn	Que Ngắn	+	1,7 ^b
5	SCE-15	Xóm Soi Vàng	Trắng ngà, dẹt, gọn, trơn	Que Ngắn	+	1,2 ^{cd}

Ghi chú: Trên cùng một cột, các giá trị có số mũ khác nhau thì khác nhau có nghĩa ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

Kết quả Bảng 1 cho thấy, cả 5 chủng đều sống và phát triển được trên môi trường có nguồn hydrocacbon duy nhất là CMC, cho phép kết luận sơ bộ chúng có khả năng sinh enzyme cellulase phân giải cellulose. Các chủng vi khuẩn mới được phân lập có đặc điểm khuẩn lạc khá đa dạng, tuy nhiên hình thái tế bào tập trung ở dạng que ngắn (4/5 chủng), chúng đều thể hiện là vi khuẩn có tính chất Gram dương, đường kính vòng phân giải của các chủng khác nhau ở mức có ý nghĩa thống kê. Trong đó, chủng thể hiện đường kính vòng phân giải cellulose lớn nhất là DECE-18 (đạt 2,3 cm) và nhỏ nhất là chủng GCE-6 (đạt 0,9 cm). Kết quả này có sự tương đồng với công bố của Mai Thi và cộng sự (2017) về khả năng phân giải

cellulose của 10 chủng phân lập từ sùng và trùn đất có đường kính từ 0,3 – 2,38 cm [30]; hay công bố của Đặng Quang Hải và Trần Thị Thanh Thủy (2022) về ba chủng (CT1, CT10, R35) được phân lập, tuyển chọn từ rơm rạ hoai mục và chất thải sinh hoạt hữu cơ cho đường kính phân giải CMC dao động từ 1,9 – 2,2 cm [31].

3.2. Khảo sát khả năng sinh enzyme cellulase của vi khuẩn đã phân lập

Để xác định được sự liên quan tuyến tính giữa đường kính vòng phân giải CMC (Bảng 1) và khả năng sinh enzyme phân giải, 5 chủng mới được phân lập đã được sử dụng để đánh giá hoạt tính sinh enzyme Endoglucanase, Exoglucanase, và β -glucosidase, kết quả được thể hiện tại Bảng 2.

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

TT	Ký hiệu chủng	Hoạt tính enzyme (U/ml)		
		Endoglucanase	Exoglucanase	β -glucosidase
1	YCE-3	14,52 ^c	2,32 ^c	32,36 ^c
2	GCE-6	4,69 ^e	1,25 ^e	16,45 ^e
3	DECE-18	25,56 ^a	3,65 ^a	46,28 ^a
4	DECE-23	21,27 ^b	3,12 ^b	40,17 ^b
5	SCE-15	11,16 ^d	1,89 ^d	23,59 ^d

Ghi chú: Trên cùng một cột, các giá trị có số mũ khác nhau thì khác nhau có nghĩa ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

Hoạt tính 3 loại enzyme (Endoglucanase, Exoglucanase, và β -glucosidase) phân giải cellulose có sự khác biệt rõ rệt giữa các chủng, phản ánh tiềm năng sinh enzyme đa dạng của chúng. Chủng DECE-18 nổi bật với hoạt tính sinh cao nhất cho cả ba enzyme, đặc biệt là β -glucosidase - enzyme quan trọng trong bước phân giải cuối cùng chuyển đổi các sản phẩm trung gian thành glucose, giúp quá trình phân giải cellulose diễn ra hiệu quả và liên tục [32]. Ngược lại, chủng GCE-6 có hoạt tính thấp nhất và cho hiệu quả phân giải cellulose kém hơn. Và hoạt tính sinh các loại enzyme được nghiên cứu cũng tỷ lệ tuyến tính với đường kính vòng phân giải của từng chủng (Bảng 1).

Hoạt tính enzyme của 5 chủng trong nghiên cứu này tương đương và cao hơn so với công bố của Võ Văn Phước Quê và Cao Ngọc Diệp (2011), Khi nghiên cứu 4 chủng vi khuẩn Q4, Q5, Q8 và Q9 đều có hoạt tính endoglucanase, exoglucanase và β -glucosidase và lần lượt đạt: 19,44 - 25,43 U/ml (endoglucanases); 1,31 - 1,5 U/ml (exoglucanase); 40,41 - 44,37 U/ml (β -glucosidase) [1]. Và cao hơn nhiều lần so với công bố trước đó của Mai Thi và cộng sự (2017) khi công bố hoạt tính enzyme exoglucanases và exoglucanases của chủng CS2 lần lượt đạt 0,043 U/ml và 0,041 U/ml [30]. Và so với công bố của Saurabh Singh và cộng sự (2011) khi nghiên cứu về hoạt tính enzyme endoglucanases,

exoglucanases, β -glucosidases của một số chủng *Bacillus* lần lượt là 0,35 U/ml, 0,06 U/ml và 8 U/ml [33]. Như vậy, trong 5 chủng mới phân lập, DECE-18 thể hiện hoạt tính phân giải cellulose vượt trội. Đồng thời, theo kết luận của Đặng Thị Thanh Tâm và cộng sự (2023) [34], chủng có khả năng tạo đường kính vòng phân giải CMC > 20 mm được xếp vào nhóm có hoạt tính cellulase cao, nên DECE-18 có tiềm năng nhất trong số 5 chủng đã phân lập và sẽ được lựa chọn để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

3.3. Định danh chủng vi khuẩn DECE-18

Trình tự gen 16S rRNA phân lập được từ chủng DECE-18 có kích thước 1449 bp được so

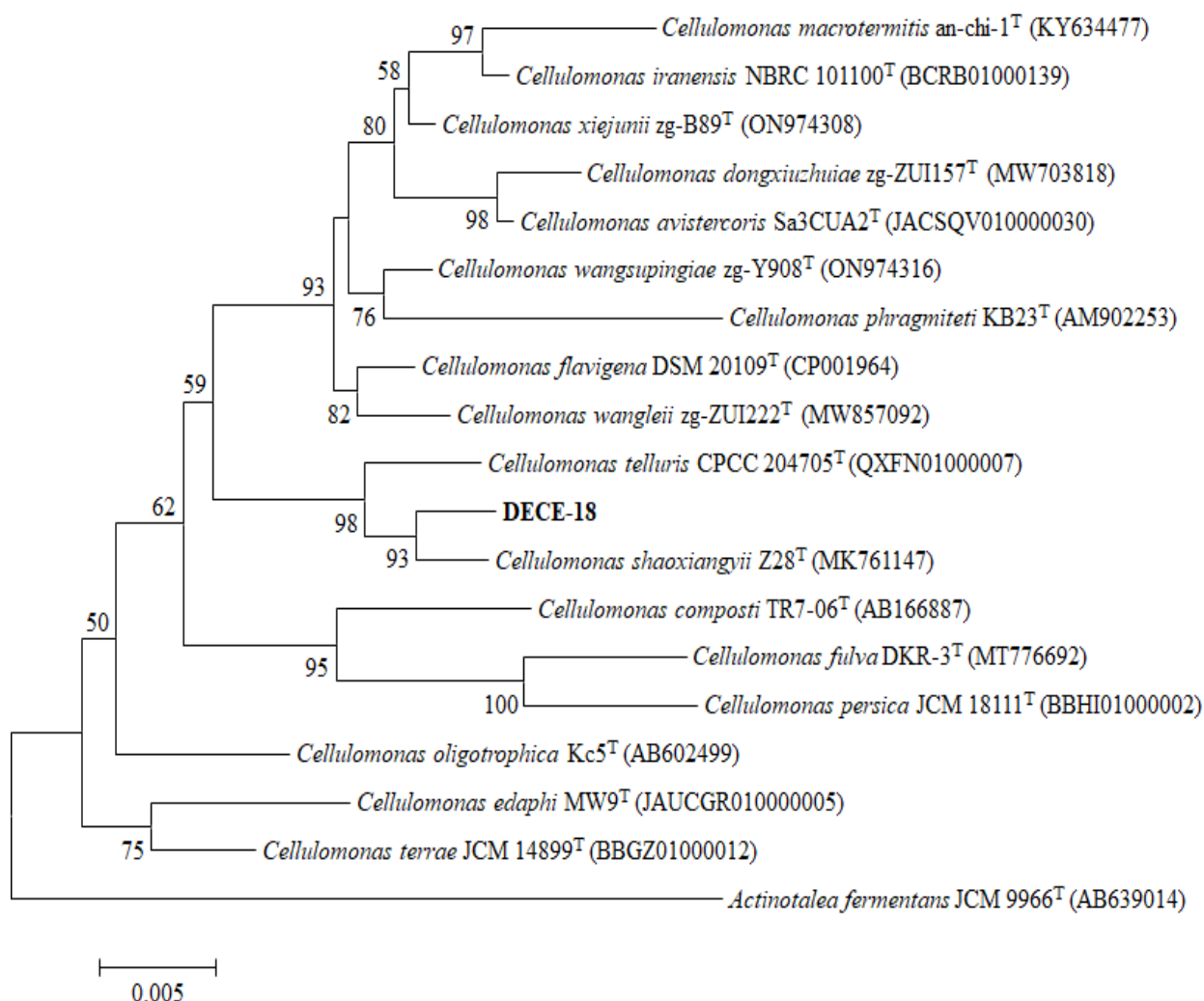
sánh với các loài chuẩn, kết quả được thể hiện ở Bảng 3. Chủng DECE-18 gần nhất (99,36%) với *Cellulomonas shaoxiangyii* Z28^T (MK761147); 98,86% với *Cellulomonas telluris* CPCC 204705^T (QXFN01000007); 98,08% với *Cellulomonas flavigena* DSM 20109^T (CP001964) và từ 96,63 - 98,01% với các thành viên khác của chi *Cellulomonas*. Kết quả so sánh trình tự gen 16S rRNA giữa DECE-18 và *Cellulomonas shaoxiangyii* Z28^T (MK761147) với 9/1407 nucleotide khác biệt, mức tương đồng > 98,7% về loài đã được công bố bởi Browne và cộng sự (2016) [28].

Bảng 3. Kết quả so sánh trình tự gen 16S rRNA của chủng DECE-18 với các loài gần nhất của chi *Cellulomonas*

Loài gần nhất	Độ tương đồng (%)	Số nucleotide sai khác
<i>Cellulomonas shaoxiangyii</i> Z28 ^T (MK761147)	99,36	9/1407
<i>Cellulomonas telluris</i> CPCC 204705 ^T (QXFN01000007)	98,86	16/1407
<i>Cellulomonas flavigena</i> DSM 20109 ^T (CP001964)	98,08	27/1407
<i>Cellulomonas wangleii</i> zg-ZUI222 ^T (MW857092)	98,01	28/1407
<i>Cellulomonas oligotrophica</i> Kc5 ^T (AB602499)	97,87	30/1407
<i>Cellulomonas xiejunii</i> zg-B89 ^T (ON974308)	97,87	30/1407
<i>Cellulomonas wangsupingiae</i> zg-Y908 ^T (ON974316)	97,73	32/1407
<i>Cellulomonas iranensis</i> NBRC 101100 ^T (BCRB01000139)	97,65	33/1407
<i>Cellulomonas avistercoris</i> Sa3CUA2 ^T (JACSQV010000030)	97,65	33/1404
<i>Cellulomonas dongxiuzhuiae</i> zg-ZUI157 ^T (MW703818)	97,36	37/1404
<i>Cellulomonas terrae</i> JCM 14899 ^T (BBGZ01000012)	97,30	38/1407
<i>Cellulomonas edaphi</i> MW9 ^T (JAUCGR010000005)	97,08	41/1406
<i>Cellulomonas macrotermidis</i> an-chi-1 ^T (KY634477)	97,08	41/1405
<i>Cellulomonas composti</i> TR7-06 ^T (AB166887)	96,87	44/1405
<i>Cellulomonas persica</i> JCM 18111 ^T (BBHI01000002)	96,73	46/1406
<i>Cellulomonas phragmiteti</i> KB23 ^T (AM902253)	96,72	46/1404
<i>Cellulomonas fulva</i> DKR-3 ^T (MT776692)	96,65	47/1405
<i>Cellulomonas gelida</i> DSM 20111 ^T (X83800)	96,63	47/1393

Đồng thời, sơ đồ phả hệ của DECE-18 được xây dựng dựa vào trình tự gen 16S rRNA với các chủng chuẩn gần nhất thể hiện DECE-18 cùng nhánh với *Cellulomonas shaoxiangyii* Z28^T (MK761147) và được sắp xếp cùng nhóm với

các thành viên của chi *Cellulomonas* (Hình 1). Từ dữ liệu so sánh trình tự gen 16S rRNA và sơ đồ phả hệ, chủng DECE-18 được phân loại thuộc chi *Cellulomonas*, với tên gọi là *Cellulomonas shaoxiangyii* DECE-18.



Hình 1. Sơ đồ phả hệ của chủng DECE-18 với các loài gần nhất thuộc chi *Cellulomonas* dựa vào trình tự gen 16S rRNA

3.4. Ảnh hưởng của pH môi trường nuôi cấy đến hoạt tính cellulase của DECE-18

Giá trị pH là yếu tố môi trường quan trọng kiểm soát sự phát triển, hoạt động của vi khuẩn

và ảnh hưởng đến đặc tính trao đổi chất của chúng [35]. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của pH môi trường đến hoạt tính cellulase của chủng DECE-18 được thể hiện tại Bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh enzyme cellulase của DECE-18

pH môi trường	Hoạt tính enzyme (U/ml)		
	Endoglucanase	Exoglucanase	β -glucosidase
4,0	1,52 ^d	0,45 ^d	2,16 ^d
5,0	8,19 ^c	1,83 ^c	12,36 ^c
6,0	26,15 ^a	3,97 ^a	47,34 ^a
7,0	25,56 ^a	3,65 ^a	46,28 ^a
8,0	24,92 ^a	3,32 ^{ab}	45,92 ^a
9,0	16,85 ^b	2,68 ^b	31,85 ^b

Ghi chú: Trên cùng một cột, các giá trị có số mũ khác nhau thì khác nhau có nghĩa ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

Kết quả Bảng 4 cho thấy, hoạt tính enzyme cellulase của DECE-18 tăng khi pH môi trường tăng, cả 3 loại enzyme được khảo sát cho hoạt độ mạnh nhất khi nuôi cấy vi khuẩn trong dải pH từ 6,0 – 8,0 và cao nhất ở pH6, tuy nhiên giá trị giữa pH6, pH7 và pH8 không có sự khác biệt thống kê. Điều này rất có ý nghĩa trong sản xuất thực tế, bởi xử lý các phế phụ phẩm chứa cellulose trong tự nhiên pH thường dao động trong khoảng 6-8 [36]. Kết quả này phù hợp với công bố của Sangkharak và cộng sự (2012) [37] khi nghiên cứu hoạt tính enzyme của

Cellulomonas sp. TSU-03 và các biến chủng của nó đều cho hoạt tính enzyme thể hiện tốt nhất ở pH6. Do vậy, môi trường CMC với pH6 sẽ được sử dụng để phục vụ cho nghiên cứu tiếp theo.

3.5. Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy đến hoạt tính cellulase của DECE-18

Cùng với pH môi trường thì nhiệt độ nuôi cấy cũng là nhân tố đóng vai trò quan trọng trong việc tổng hợp cellulase của vi sinh vật [34]. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy đến hoạt tính enzyme cellulase của DECE-18 được trình bày tại Bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng sinh cellulase của DECE-18

Nhiệt độ nuôi cấy (°C)	Hoạt tính enzyme (U/ml)		
	Endoglucanase	Exoglucanase	β-glucosidase
25	24,37 ^d	3,38 ^c	42,17 ^d
30	26,15 ^c	3,97 ^b	47,34 ^c
35	29 ^b	4,12 ^{ab}	48,55 ^b
40	32^a	4,23^a	50,27^a
45	24 ^e	3,04 ^d	41,42 ^e
50	15 ^f	1,18 ^e	22,58 ^f

Ghi chú: Trên cùng một cột, các giá trị có số mũ khác nhau thì khác nhau có nghĩa ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

Kết quả Bảng 5 cho thấy, nhiệt độ nuôi cấy cho DECE-18 từ 25-40°C tỷ lệ thuận với hoạt tính enzyme cellulase của chủng và quá 40°C hoạt tính này bị giảm mạnh. Như vậy, điều kiện nhiệt độ thích hợp để nuôi cấy chủng DECE-18 cho hoạt tính enzyme cellulase tốt nhất là 40°C. Kết quả này có sự khác biệt nhất định khi so sánh với công bố của Sangkharak và cộng sự (2011) [38] khi nghiên cứu nhiệt độ để sản xuất cellulase tối ưu của chủng *Cellulomonas* sp. strain TSU-03 là 35°C. Tuy nhiên, sự khác biệt này là có cơ sở, bởi các nghiên cứu trước đó trong điều kiện phòng thí nghiệm cũng như ở quy mô công nghiệp đã chỉ ra rằng, nhiệt độ thích hợp để sản xuất cellulase phụ thuộc vào chủng vi khuẩn và sự biến đổi của chúng [39], tức là tùy từng chủng mà điều kiện thích hợp cho sự tổng hợp cellulase có hoạt độ cao là khác nhau [34].

4. KẾT LUẬN

Từ 15 mẫu đất trồng chè tại xã Tân Cương, tỉnh Thái Nguyên đã phân lập được 5 chủng vi

khuẩn có hoạt tính phân giải cellulose thông qua vòng phân giải CMC trong môi trường thạch đĩa, chủng DECE-18 được tuyển chọn với hoạt tính sinh enzyme Endoglucanase, Exoglucanase và β-glucosidase phân giải cellulose cao nhất và lần lượt đạt: 25,56 (U/ml); 3,65(U/ml); 46,28 (U/ml). Chủng DECE-18 được định danh với pháp danh khoa học là *Cellulomonas shaoxiangyui* DECE-18 và thể hiện hoạt tính phân giải cellulose cao nhất trong điều kiện nhiệt độ 40°C, pH môi trường 6-8.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Võ Văn Phước Quê & Cao Ngọc Diệp (2011). Phân lập và nhận diện vi khuẩn phân giải cellulose. Tạp chí Khoa học - Đại học Cần Thơ. 18a: 177-184.
- [2]. TSchwarz W. H. (2001). The cellulosome and cellulose degradation by anaerobic bacteria. Appl. Microbiol. Biotechnol. 56: 634-649.
- [3]. Nguyễn Mậu Dũng (2012). Ước tính lượng khí thải từ đốt rơm rạ ngoài đồng ruộng ở vùng Đồng bằng sông Hồng. Tạp chí Khoa học và phát triển. 10: 190-198.
- [4]. Bernhard Seiboth, Silvia Herold & Christian P. Kubicek (2012). Metabolic engineering of inducer formation for cellulase and hemicellulase gene

expression in *Trichoderma reesei*. Subcellular Biochemistry. 64: 367-390.

[5]. Simo Ellila, Lucas Fonseca, Cristiane Uchima, Junio Cota, Gustavo Henrique Goldman, Markku Saloheimo, Vera Sacon & Matti Siika-aho (2017). Development of a low-cost cellulase production process using *Trichoderma reesei* for Brazilian biorefineries. Biotechnology for Biofuels. 10 (30): 1-17. DOI: 10.1186/s13068-017-0717-0.

[6]. V. Juturu & J. C. Wu (2014). Microbial cellulases: Engineering, production and applications. Renewable and Sustainable Energy Review. 33: 188-203.

[7]. T. Kanda (2003). Mechanism of cellulase action on cellulose structure. Journal of Applied Glycoscience. 50(1): 77-81.

[8]. Chi-Ming Lo, Qin Zhang, Nicholas V. Callow & Lu-Kwang Ju (2010). Cellulase production by continuous culture of *Trichoderma reesei* Rut C30 using acid hydrolysate prepared to retain more oligosaccharides for induction. Bioresource Technology. 101(2): 717-723. DOI: 10.1016/j.biortech.2009.08.056

[9]. Đồng Duy Khánh, Dương Quỳnh Phương, Nguyễn Xuân Trường & Nguyễn Hồng Ly (2023). Phát triển làng nghề chè truyền thống tỉnh Thái Nguyên: Thực tiễn tại một số làng nghề ở vùng chè Tân Cương, Trại Cài và La Bằng. Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Thái Nguyên. 228(08): 109-117.

DOI: 10.34238/tnu-jst.7169].

[10]. Nguyễn Văn Quảng (2017). Nghiên cứu phát triển cây chè đạt tiêu chuẩn VietGAP tại Tây Nguyên. Báo cáo tổng kết đề tài cấp Bộ, Viện Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp Tây Nguyên.

[11]. Alok Kumar Yadav, Saurabh Saraswat, Preeti Sirohi, Manjoo Rani, Sameer Srivastava, Manish Pratap, Singh & Nand K. Singh (2017). Antimicrobial Action of Methanolic Seed Extracts of *Syzygium cumini* Linn. on *Bacillus subtilis*. AMB Express. 7: 1-10.

DOI: 10.1186/s13568-017-0500-4.

[12]. Jayanta Bhaduri, Pritam Kundu, Debarpan Mitra & Subhash Kanti Roy (2016). Isolation and characterisation of nitrogen fixing bacteria (*Azotobacter sp.*) from tea field soil of Dooars and Darjeeling region of North Bengal, India. International Journal of Engineering Science Invention. 5(8): 46-51.

[13]. G. Gao & R. Tao (2001). Experiment studies on the hygienics of As, Ba, Cd, Pb in tea. Chinese Journal of Food Hygiene. 6: 12-14.

[14]. Yasir Arafat, Xiaoya Wei, Yuhang Jiang, Ting Chen, Hafiz Sohaib Ahmed Saqib, Sheng Lin & Wenxiong Lin (2017). Spatial distribution patterns of root-associated bacterial communities mediated by root exudates in different aged ratooning tea monoculture systems. International Journal of Molecular Sciences.

18(8): 17-27. DOI: 10.3390/ijms18081727.

[15]. Ladha J.K., Himanshu P., Timothy J.K., J. Six, & Chris V.K. (2005). Efficiency of fertilizer Nitrogen in cereal production: Retrospects and prospects. Advances in Agronomy. 87: 85-156.

[16]. Hoàng Thị Lan Anh, Nguyễn Thị Giang, Nguyễn Mạnh Tuấn, Phạm Thị Tuyết Mai & 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 anhuense* MN47 phân lập từ đất trồng chè tại Thái Nguyên. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam. 66(6): 34-39. DOI: 10.31276/VJST.66(6).34-39.

[17]. Lê Thị Thanh Thủy, Lê Như Kiều, Nguyễn Thị Thu Hằng, Trần Thị Huế, Lê Thị Giang & 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.

[18]. Dương Hoa Xô (2016). Nghiên cứu tạo chế phẩm vi sinh phân giải cellulose để xử lý lục bình làm nguyên liệu sản xuất phân bón hữu cơ. Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam. 8(69): 93-101.

[19]. Trần Hoàng Dũng, Huỳnh Văn Hiếu, Trần Duy Dương & 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.

[20]. Orr H.C., James A., Leifert C., Cooper J.M. & Cummings S.P. (2011). Diversity and activity of free-living nitrogen-fixing bacteria and total bacteria in organic and conventionally managed soils. Applied and Environmental Microbiology. 77: 911-919.

[21]. Nguyễn Huỳnh Thúy Diêu, Ngô Thanh Phong, Phạm Thị Bình Nguyên & Bùi Thế Vinh (2022). Xác định khả năng phân giải carboxymethyl cellulose và cellulose của các vi sinh vật phân lập từ ruột mối dưới đất (termitidae) thu nhận tại huyện Mang Thít, tỉnh Vĩnh Long. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Tập 58, Số chuyên đề: Khoa học tự nhiên (2): 186-191. DOI: 0.22144/ctu.jvn.2022.136.

[22]. TCVN 7538-6:2010 (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.

[23]. Ulrich A., G. Klimke & S. Wirth (2008). Diversity and Activity of Cellulose-Decomposing Bacteria, Isolated from a Sandy and a Loamy Soil after Long-Term Manure Application. Microbial Ecology. 55: 512-522.

[24]. N. Nelson (1944). A photometric adaptation of the somogyi method for the determination of glucose. Journal of Biological Chemistry. 153(2): 375-380.

[25]. J. Sambrook & D. W. Russell (2001). Molecular Cloning: a Laboratory Manual, 3rd Ed. In Cold Spring

Harbor Laboratory Press, New York: 1-170.

[26]. Klindworth A., Pruesse E., Schweer T., Peplies J., Quast C., Horn M. & Glöckner F. O. (2013). Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Research*. 41(1): 1-11. DOI: 10.1093/nar/gks808

[27]. Chun J., Lee J.H., Jung Y., Kim M., Kim S., Kim B.K. & Lim Y.W. (2007). EzTaxon: a web-based tool for the identification of prokaryotes based on 16S ribosomal RNA gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 57(10): 2259-2261. DOI: 10.1099/ijs.0.64915-0

[28]. Hilary P. Browne, Samuel. C. Forster, Blessing O. Anonye, Nitin Kumar, B. Anne Neville, Mark D. Stares, David Goulding & Trevor D. Lawley (2016). Culturing of "unculturable" human microbiota reveals novel taxa and extensive sporulation. *Nature*. 533(7604): 543-546. DOI: 10.1038/nature17645

[29]. Kumar S., Stecher G. & Tamura K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*. 33: 1870-1974.

[30]. Mai Thi, Nguyễn Hữu Hiệp & Dương Ngọc Thuý (2017). Phân lập, nhận diện vi khuẩn phân hủy cellulose từ sùng (*Holotrichia parallela*) và trùn đất (*Lubricus terrestris*). *Tạp chí Khoa học Công nghệ Trường Đại học Cần Thơ*. 50(B): 81-90.

[31]. Đặng Quang Hải & Trần Thị Thanh Thủy (2022). Phân lập, tuyển chọn và định danh một số chủng vi sinh vật có lợi và bước đầu ứng dụng trong xử lý chất thải rắn hữu cơ làm phân bón hữu cơ sinh học. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Đà Nẵng*. 20(5): 56-61.

[32]. Georg Nero, Kairi Kivirand, Sana Ben Othman & Toonika Rinken (2022). Amperometric method for the determination of cellulase activity and its optimization using response surface method. *Journal of Analytical Science and Technology*. 13(21): 1-9. DOI: 10.1186/s40543-022-00331-8].

[33]. Saurabh Singh, Durgesh Kumar Jaiswal, Nallusamy Sivakumar & Jay Prakash Verma (2019). Developing Efficient Thermophilic Cellulose Degrading Consortium for Glucose Production From Different Agro-Residues. *Frontiers in Energy research*. 2(61): 1-13. DOI: 10.3389/fenrg.2019.00061.

[34]. Đặng Thị Thanh Tâm, Trần Thị Yến & 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.

[35]. Nasrin Razmi, Maryna Lazouskaya, Ivana Pajcin, Bojan Petrovic, Jovana Grahovac, Mitar Simic, Magnus Willander, Omer Nur & Goran M. Stojanovic (2023). Monitoring the effect of pH on the growth of pathogenic bacteria using electrical impedance spectroscopy. *Sciencedirect: Results in Engineering*. 20(101425): 1-9. DOI: 10.1016/j.rineng.2023.101425.

[36]. H. A. Farag, M. Y. EL-Mersfey & H. A. Radwan (2007). A Simple and Novel Bioreactor for Agricultural and Municipal solidWastes Recycling. *The Third Conference of Sustainable Agricultural Development. Faculty of Agriculture, Fayoum University*. 12(14): 79-82.

[37]. Kanokphorn Sangkharak, Piyaporn Vangsirikul & Siripa Jantachatt (2012). Strain improvement and optimization for enhanced production of cellulase in *Cellulomonas* sp. TSU-03. *African Journal of Microbiology Research*. 6(5): 1079-1084. DOI: 10.5897/AJMR11.1550.

[38]. Kanokphorn Sangkharak, Piyaporn Vangsirikul & Siripa Jantachatt (2011). Isolation of novel cellulase from agricultural soil and application for ethanol production. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*. 2(2):230-239.

[39]. 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.