



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN  
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)  
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



**2-0003946**

(51) **C12N 1/20**  
2022.01

(13) **Y**

---

(21) 2-2024-00054

(22) 04/11/2020

(67) 1-2020-06426

(45) 27/01/2025 442

(43) 25/05/2022 410

(73) Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam (VN)  
46, Đức Thắng, Bắc Từ Liêm, Hà Nội

(72) Vũ Văn Định (VN).

---

(54) **CHẾ PHẨM SINH HỌC PHÂN HỦY NHANH VẬT LIỆU CHÁY DƯỚI TÁN  
RỪNG THÔNG**

(21) 2-2024-00054

(57) Giải pháp hữu ích đề xuất chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông bao gồm: hỗn hợp các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza bao gồm *Penicillium glabrum* SSN9; *Penicillium sclerotiorum* SSN5.3; *Talaromyces pinophilus* HBN4.5; *Trichoderma citrinoviride* LBN8.1 và vi sinh vật sinh màng nhầy *Bacillus aryabhattai* P16.1; *Paenibacillus jamilae* P73, với lượng nằm trong khoảng từ 20-30%; chất mang với lượng nằm trong khoảng từ 65-78%; và chất dinh dưỡng bổ sung là apatits với lượng nằm trong khoảng từ 2-5%.

Chế phẩm theo giải pháp hữu ích có tác dụng phân hủy nhanh và tăng độ ẩm của vật liệu cháy dưới tán rừng thông, cải tạo đất và tăng khả năng sinh trưởng của rừng trồng thông.

### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Giải pháp hữu ích đề cập đến chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông. Cụ thể là, giải pháp hữu ích đề cập đến chế phẩm sinh học (PCCR) có chứa các chủng vi sinh vật có khả năng phân hủy xenluloza và các chủng vi sinh vật có khả năng sinh màng nhầy (polysacarit) phân lập được từ các mẫu đất, mùn thu thập từ các khu vực rừng thông ở Việt Nam.

### **Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích**

Tính đến 31/12/2019, diện tích rừng toàn quốc 14.609.220 ha, trong đó: rừng tự nhiên 10.292.434 ha, rừng trồng là 4.316.786 ha theo Quyết định số 1423/QĐ - BNN - TCLN ngày 15/4/2020 của Bộ Nông nghiệp và PTNT. Trong các loại rừng, thông có diện tích khoảng 400.000 ha, rừng thông có nguy cơ cháy rất cao và khi cháy lửa lan nhanh, rất khó dập tắt do rừng thông thường có khối lượng vật liệu cháy dưới tán rừng lớn và khó phân hủy tự nhiên: Ở Hoàn Bồ, Quảng Ninh, thông nhựa 9-10 tuổi; 22 tuổi có khối lượng trung bình lần lượt là 8,9 tấn/ha; 10,4 tấn/ha; thông đuôi ngựa 9-10 tuổi; 15-16 tuổi; 22 tuổi có khối lượng vật liệu cháy (VLC) trung bình lần lượt là: 7,9 tấn/ha; 9,8 tấn/ha; 10,8 tấn/ha. Thông nhựa 8 tuổi, 15 tuổi, 20 tuổi ở Hà Trung, Thanh Hóa có khối lượng vật liệu cháy trung bình lần lượt là: 7,3 tấn/ha; 8,7 tấn/ha; 9,4 tấn/ha. Thông nhựa 9 tuổi, 14 tuổi, 20 tuổi ở Nam Đàn, Nghệ An có khối lượng vật liệu cháy trung bình lần lượt 7,82 tấn/ha; 9,3 tấn/ha; 10,8 tấn/ha (Bé Minh Châu, 2002).

Để hạn chế khả năng cháy rừng thông hiện nay thường áp dụng biện pháp làm giảm vật liệu cháy bằng cách đốt trước có kiểm soát hoặc đưa vật liệu cháy ra khỏi rừng. Các biện pháp này thường mất nhiều công, tốn kém về mặt kinh tế. Ngoài ra biện pháp đốt trước còn tiềm ẩn nhiều nguy cơ cháy rừng nếu không được chuẩn bị kỹ lưỡng về nhân lực dập lửa khi có phát sinh đám cháy. Bên cạnh

đó, phương pháp này còn tiêu diệt hệ vi sinh vật, côn trùng trên mặt đất và các loại cây tái sinh, ảnh hưởng đến sự sinh trưởng, phát triển của những khu vực rừng thông gần lửa. Ngược lại, nếu đốt hết vật liệu cháy tới mùa mưa đất sẽ bị xói mòn và cây không còn khả năng tái sinh, làm giảm lượng mùn và các chất dinh dưỡng có trong đất và vật liệu cháy. Vật liệu chỉ có thể cháy khi có độ ẩm thấp, nếu độ ẩm cao ở một mức độ nhất định thì vật liệu không thể bắt cháy được hoặc có cháy thì quá trình cháy cũng sẽ tự tắt (Brown A.A, 1979).

Ở Việt Nam trong những năm gần đây do biến đổi của khí hậu như thời tiết nắng nóng, khô hạn kéo dài vào mùa khô và rét đậm rét hại vào mùa đông làm gia tăng rất nhanh khối lượng vật liệu cháy dưới tán rừng. Biện pháp nhằm tận dụng vật liệu cháy có hiệu quả hơn đó là sử dụng chế phẩm sinh học phân giải xenluloza và tăng độ ẩm giúp phân giải vật liệu cháy thành phân hữu cơ bón cho đất, góp phần cải thiện độ phì nhiêu đất và hạn chế khả năng cháy rừng. Theo nghiên cứu của Weitmann (1918) đã xác định được mối quan hệ chặt chẽ giữa hàm lượng nước trong vật liệu cháy là thảm khô, thảm mục và cỏ dại với khả năng phát sinh cháy rừng. Hàm lượng nước của vật liệu cháy lớn hơn 25% không phát sinh cháy rừng; hàm lượng nước của vật liệu cháy từ 15 - 25% khó phát sinh cháy rừng; hàm lượng nước của vật liệu cháy từ 13 -15% dễ phát sinh cháy rừng; hàm lượng nước của vật liệu cháy từ 10 - 13% cháy rừng ở mức độ nguy hiểm; hàm lượng nước của vật liệu cháy nhỏ hơn 10% cháy rừng ở mức độ cực kỳ nguy hiểm.

Do đó, cần sản xuất được chế phẩm sinh học đưa vào ứng dụng mang lại hiệu quả cao trong công tác phòng chống cháy rừng, thời gian phân hủy vật liệu cháy dưới tán rừng thông xảy ra nhanh hơn và tiết kiệm chi phí.

### **Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích**

Giải pháp hữu ích đề xuất chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông giải quyết các hạn chế nêu ra ở trên.

Mục đích của giải pháp hữu ích là đề xuất chế phẩm sinh học dùng để phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông, tăng độ ẩm cho vật liệu cháy nhằm

hạn chế khả năng cháy rừng thông ở Việt Nam. Chế phẩm sinh học phân hủy vật liệu cháy dưới tán rừng thông thành phân hữu cơ giúp cải thiện tính chất lý hóa của đất, giúp cây rừng sinh trưởng và phát triển tốt, tăng hiệu quả về mặt kinh tế và bảo vệ được môi trường sinh thái.

Chế phẩm sinh học phân hủy vật liệu cháy dưới tán rừng thông theo giải pháp hữu ích bao gồm VSV phân giải xenluloza và VSV sinh màng nhầy góp phần hạn chế được những vấn đề tồn tại của tình trạng kỹ thuật, trong đó giúp xử lý vật liệu cháy dưới tán rừng, góp phần hạn chế khả năng cháy rừng, tăng độ ẩm, dinh dưỡng cho đất trồng rừng, tăng hiệu quả trồng rừng bằng chế phẩm sinh học (PCCR) dựa trên khả năng phân hủy vật liệu cháy của vi sinh vật phân giải xenluloza và vi sinh vật sinh màng nhầy, khả năng duy trì, tạo độ ẩm của vi sinh vật sinh màng nhầy. Chế phẩm sinh học đưa vào ứng dụng mang lại hiệu quả cao trong công tác phòng chống cháy rừng, thời gian phân hủy vật liệu cháy dưới tán rừng thông xảy ra nhanh hơn và tiết kiệm chi phí.

Cụ thể, giải pháp hữu ích đề xuất chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông bao gồm:

- Hỗn hợp các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza bao gồm *Penicillium glabrum* SSN9; *Penicillium sclerotiorum* SSN5.3; *Talaromyces pinophilus* HBN4.5; *Trichoderma citrinoviride* LBN8.1 và vi sinh vật sinh màng nhầy *Bacillus aryabhatai* P16.1; *Paenibacillus jamilae* P73, với lượng nằm trong khoảng từ 20-30%;

- Chất mang với lượng nằm trong khoảng từ 65-78%;

- Chất dinh dưỡng bổ sung là apatits với lượng nằm trong khoảng từ 2-5%.

Theo một phương án khác, giải pháp hữu ích đề cập tới chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông trong đó:

- Hỗn hợp các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza và vi sinh vật sinh màng nhầy có mặt với lượng nằm trong khoảng 20-25%.

Theo một phương án khác, giải pháp hữu ích đề cập tới chế phẩm sinh học

phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông trong đó:

- Hỗn hợp các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza và vi sinh vật sinh màng nhầy có mặt với lượng nằm trong khoảng 21-23%.

Theo một phương án khác, giải pháp hữu ích đề cập tới chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông trong đó:

- Các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza được sử dụng nhân sinh khối theo phương pháp lên men xốp.

Theo một phương án khác, giải pháp hữu ích đề cập tới chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông trong đó:

- Các chủng vi sinh vật sinh màng nhầy được tạo sinh khối theo phương pháp lên men chìm.

Theo một phương án khác, giải pháp hữu ích đề cập tới chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông trong đó:

- Các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza và vi sinh vật sinh màng nhầy được phân lập và tuyển chọn từ đất và mùn dưới tán rừng thông, có hoạt tính sinh học cao và sức sống cao có khả năng tồn tại ở các điều kiện sinh thái của Việt Nam.

Theo một phương án khác, giải pháp hữu ích đề cập tới chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông trong đó:

- Sự liên kết của các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza và các chủng vi sinh vật sinh màng nhầy làm tăng khả năng phân hủy và tăng độ ẩm của vật liệu cháy dưới tán rừng thông, nhờ vậy làm giảm nguy cơ cháy rừng thông.

Theo một phương án khác, giải pháp hữu ích đề cập tới chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông trong đó:

- Chất mang được sử dụng trong chế phẩm là mùn hữu cơ.

Theo một phương án khác, giải pháp hữu ích đề cập tới chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông trong đó:

- Các chất dinh dưỡng bổ sung được sử dụng trong chế phẩm nằm trong khoảng 3- 4% trọng lượng của chế phẩm.

### **Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích**

Theo khía cạnh thứ nhất, giải pháp hữu ích đề xuất chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông bao gồm:

- Hỗn hợp các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza bao gồm *Penicillium glabrum* SSN9; *Penicillium sclerotiorum* SSN5.3; *Talaromyces pinophilus* HBN4.5; *Trichoderma citrinoviride* LBN8.1 và vi sinh vật sinh màng nhầy *Bacillus aryabhattai* P16.1; *Paenibacillus jamilae* P73;

- Chất mang;

- Chất dinh dưỡng bổ sung là apatits.

Đặc điểm thứ nhất của chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông theo phương án này là hỗn hợp các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza bao gồm *Penicillium glabrum* SSN9; *Penicillium sclerotiorum* SSN5.3; *Talaromyces pinophilus* HBN4.5; *Trichoderma citrinoviride* LBN8.1 và vi sinh vật sinh màng nhầy *Bacillus aryabhattai* P16.1; *Paenibacillus jamilae* P73, với lượng nằm trong khoảng từ 20-30%. Hỗn hợp các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza *Penicillium glabrum* SSN9; *Penicillium sclerotiorum* SSN5.3; *Talaromyces pinophilus* HBN4.5; *Trichoderma citrinoviride* LBN8.1 và vi sinh vật sinh màng nhầy *Bacillus aryabhattai* P16.1; *Paenibacillus jamilae* P73 với lượng tốt hơn là trong khoảng 20-25%, tốt hơn nữa trong khoảng 21-23%. Các chủng nấm phân giải xenluloza được sử dụng nhân sinh khối theo phương pháp lên men xộp; các chủng vi sinh vật sinh màng nhầy được tạo sinh khối theo phương pháp lên men chìm. Các chủng vi sinh vật trong chế phẩm bao gồm: vi sinh vật phân giải xenluloza *Penicillium glabrum* SSN9; *Penicillium sclerotiorum* SSN5.3; *Talaromyces pinophilus* HBN4.5; *Trichoderma citrinoviride* LBN8.1 và vi sinh vật sinh màng nhầy *Bacillus aryabhattai* P16.1; *Paembacillus jamilae* P73 được phân lập và tuyển chọn từ đất và mùn dưới tán rừng thông, có hoạt tính sinh

học cao và sức sống cao có khả năng tồn tại ở các điều kiện sinh thái của Việt Nam. Sự liên kết của các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza và các chủng vi sinh vật sinh màng nhầy làm tăng khả năng phân hủy và tăng độ ẩm của vật liệu cháy dưới tán rừng thông. Do đó giảm nguy cơ cháy rừng thông ở Việt Nam.

Đặc điểm thứ hai của chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông theo phương án này là chất mang với lượng nằm trong khoảng từ 65-78%. Chất mang được sử dụng trong chế phẩm là mùn hữu cơ.

Đặc điểm thứ ba của chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông theo phương án này là chất dinh dưỡng bổ sung là apatits với lượng nằm trong khoảng từ 2-5%. Tốt hơn là, các chất dinh dưỡng bổ sung được sử dụng trong chế phẩm nằm trong khoảng 3-5% trọng lượng của chế phẩm.

Theo khía cạnh tiếp theo, giải pháp hữu ích đề xuất chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông trong đó:

- Hỗn hợp các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza và vi sinh vật sinh màng nhầy có mặt với lượng nằm trong khoảng 20-25%.

Theo khía cạnh tiếp theo, giải pháp hữu ích đề xuất chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông trong đó:

- Hỗn hợp các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza và vi sinh vật sinh màng nhầy có mặt với lượng nằm trong khoảng 21-23%.

Theo khía cạnh tiếp theo, giải pháp hữu ích đề xuất chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông trong đó:

- Các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza được sử dụng nhân sinh khối theo phương pháp lên men xốp.

Theo khía cạnh tiếp theo, giải pháp hữu ích đề xuất chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông trong đó:

- Các chủng vi sinh vật sinh màng nhầy được tạo sinh khối theo phương pháp lên men chìm.

Theo khía cạnh tiếp theo, giải pháp hữu ích đề xuất chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông trong đó:

- Các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza và vi sinh vật sinh màng nhầy được phân lập và tuyển chọn từ đất và mùn dưới tán rừng thông, có hoạt tính sinh học cao và sức sống cao có khả năng tồn tại ở các điều kiện sinh thái của Việt Nam.

Theo khía cạnh tiếp theo, giải pháp hữu ích đề xuất chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông trong đó:

- Sự liên kết của các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza và các chủng vi sinh vật sinh màng nhầy làm tăng khả năng phân hủy và tăng độ ẩm của vật liệu cháy dưới tán rừng thông, nhờ vậy làm giảm nguy cơ cháy rừng thông.

Theo khía cạnh tiếp theo, giải pháp hữu ích đề xuất chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông trong đó:

- Chất mang được sử dụng trong chế phẩm là mùn hữu cơ.

Theo khía cạnh tiếp theo, giải pháp hữu ích đề xuất chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông trong đó:

- Các chất dinh dưỡng bổ sung được sử dụng trong chế phẩm nằm trong khoảng 3- 4% trọng lượng của chế phẩm.

Chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng theo giải pháp hữu ích thu được trên cơ sở bào tử của các chủng nấm có khả năng phân hủy vật liệu cháy tốt (*Penicillium glabrum* SSN9; *Penicillium sclerotiorum* SSN5.3; *Talaromyces pinophilus* HBN4.5; *Trichoderma citrinoviride* LBN8.1) và các chủng sinh màng nhầy (*Bacillus aryabhatai* P16.1; *Paenibacillus jamilae* P73) tạo độ ẩm cho vật liệu cháy. Các chủng này được phân lập từ đất và mùn dưới tán rừng thông, do đó chế phẩm thu được có giá thành rẻ và có thể được ứng dụng rộng rãi vì ở Việt Nam hiện nay có khoảng 400.000 ha rừng trồng thông các loại. Khối lượng vật liệu cháy dưới tán rừng trồng thông là rất lớn. Chế phẩm sinh học phân hủy vật liệu cháy, dưới tán rừng thông thành phần hữu cơ giúp cải thiện tính

chất lý, hóa của đất, giúp cây rừng sinh trưởng và phát triển tốt.

### **Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích**

Ví dụ 1: Phân lập tuyển chọn các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza

Các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza bao gồm: (*Penicillium glabrum* SSN9; *Penicillium sclerotiorum* SSN5.3; *Talaromyces pinophilus* HBN4.5; *Trichoderma citrinoviride* LBN8.1) được phân lập và tuyển chọn từ mẫu đất và mùn dưới tán rừng thông tại phòng thí nghiệm Trung tâm nghiên cứu Bảo vệ rừng Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam. Phân lập tuyển chọn vi sinh vật phân giải xenluloza trên môi trường CMC: Cân 1g mẫu đất dưới tán rừng thông pha loãng với 100ml nước cất khử trùng, lắc 15 phút, sau đó hút 20 $\mu$ l trải đều trên môi trường CMC (Ulrich *et al.*, 2008; Ryckeboer *et al.*, 2002). Ủ đĩa petri đã trang ở tủ định ôn 30°C. Sau 2-3 ngày, tách riêng từng khuẩn lạc, thu được những chủng vi khuẩn riêng biệt. Môi trường CMC gồm: 1g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,5g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,001g NaCl, 10g CMC, 20g thạch trắng, thêm nước đến thể tích 1 lít và điều chỉnh pH 7.

Đánh giá khả năng phân giải CMC của các chủng vi sinh vật:

Cấy vi sinh vật phân giải xenluloza vào tâm đĩa petri chứa môi trường CMC, ủ 3 ngày ở nhiệt độ 30°C. Sau đó, nhuộm đĩa môi trường đã cấy vi sinh vật bằng dung dịch Congo đỏ (1g/lít) trong 15 phút, cuối cùng rửa với dung dịch muối NaCl 1M. Vi sinh vật phân giải CMC sẽ tạo vùng không màu xung quanh khuẩn lạc. Công thức tính khả năng phân giải:  $V = D - d$  (mm) D: đường kính vòng phân giải (mm); d: đường kính khuẩn lạc (mm).

Ví dụ 2: Nhân sinh khối vi sinh vật phân giải xenluloza

Các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza bao gồm: (*Penicillium glabrum* SSN9; *Penicillium sclerotiorum* SSN5.3; *Talaromyces pinophilus* HBN4.5; *Trichoderma citrinoviride* LBN8.1) cần được hoạt hóa để sử dụng bằng cách làm tan băng đến nhiệt độ phòng, sau đó lần lượt được đem cấy riêng biệt trên các ống thạch nghiêng chứa môi trường PDA (khoai tây: 200 gam; D-glucoza: 20 gam;

thạch trắng: 15-18 gam; nước cất 1000ml). Khử trùng môi trường thạch trong ống nghiệm ở nhiệt độ 121°C, thời gian 20 phút. Khi môi trường còn nóng (60-70°C), đặt nghiêng 30° để cho thạch tạo thành mặt phẳng nghiêng. Cấy giống từng chủng từ ống giống gốc sang ống thạch nghiêng mới chuẩn bị. Nuôi VSV trong tủ định ôn ở thang nhiệt độ 25°C thời gian 120 giờ sau đó cấy truyền lần lượt 4 chủng VSV phân hủy xenluloza *Penicillium glabrum* SSN9; *Penicillium sclerotiorum* SSN5.3; *Talaromyces pinophilus* HBN4.5; *Trichoderma citrinoviride* LBN8.1 vào các đĩa riêng biệt chứa môi trường nhân giống cấp 1, các thao tác cấy truyền được thực hiện trong tủ cấy vô trùng. Nuôi ở tủ định ôn ở thang nhiệt độ 25°C trong thời gian 72 giờ.

#### + Sản xuất giống trên môi trường lỏng

Chuẩn bị các bình tam giác 500ml (có nút bông), sấy tiệt trùng thời gian 1 giờ ở nhiệt độ 160°C. Cho vào mỗi bình 250ml môi trường PD lỏng với VSV phân hủy xenluloza; khử trùng môi trường nhân giống cấp 2 ở nhiệt độ 121°C, thời gian 30 phút, để nguội về nhiệt độ phòng mới cấy giống. Cấy truyền lần lượt 4 chủng VSV phân hủy xenluloza *Penicillium glabrum* SSN9; *Penicillium sclerotiorum* SSN5.3; *Talaromyces pinophilus* HBN4.5; *Trichoderma citrinoviride* LBNS.1 từ giống cấp 1 vào các bình riêng biệt chứa môi trường nhân giống cấp 2. Các thao tác cấy truyền vào bình tam giác được thực hiện trong tủ cấy vô trùng. Dùng máy lắc nhân sinh khối các chủng VSV với tốc độ 150 vòng/phút, ở nhiệt độ 25°C, sau thời gian 72 giờ thu được các bình giống cấp 2 chứa từng loại vi sinh vật phân hủy xenluloza.

Môi trường PD: khoai tây: 200 gam; D-glucoza: 20 gam; nước cất: 1000ml. Khoai tây rửa sạch cắt thành miếng có kích thước 1.1.1 cm cho vào nồi và đổ 1000ml nước đun sôi. Sau thời gian 30 phút tính từ lúc sôi, lọc lấy nước trong, bổ sung nước cho đủ 1000ml. Cho D-glucoza vào hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C trong thời gian 20 phút.

#### + Lên men xốp

Gạo nứt ngâm thời gian 6 giờ, để ráo nước. Trộn với cám gạo, bột nhẹ, đường glucoza theo tỷ lệ thích hợp (CT cho 1kg hỗn hợp):

+ 87,5% gạo nứt (875 gam)

+ 10% cám gạo (100 gam)

+ 1% bột nhẹ (10 gam)

+ 1,5% đường glucoza (15 gam)

Các thành phần được trộn đều, đóng túi chịu nhiệt (1,5kg cho mỗi túi) và hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C trong thời gian 30 phút. Sau đó, đổ ra thùng chứa đã được khử trùng sạch với cồn (sử dụng thùng màu trắng trong; kích thước 52x37x20cm; mỗi thùng chứa 3-5kg hỗn hợp) và để nguội. Sau thời gian 24 giờ, tiến hành cấy giống cấp 2 vào môi trường lên men xốp cho vi sinh vật phân hủy xenluloza đã chuẩn bị. Nuôi ở phòng tối, nhiệt độ 25°C. Sau 3 ngày, kiểm tra và trộn đều hỗn hợp để các chủng VSV lên đều. Sau 10 ngày, đưa hỗn hợp ra sáng để vi sinh vật sinh bào tử. Sau 3 tuần, bào tử nấm sẽ ăn kín môi trường lên men xốp.

Ví dụ 3: Phân lập tuyển chọn vi sinh vật sinh màng nhầy

Hai chủng vi sinh vật sinh màng nhầy (*Bacillus aryabhattai* P16.1; *Paenibacillus jamilae* P73) được Trung tâm nghiên cứu Bảo vệ rừng Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam phân lập và tuyển chọn từ mẫu đất và mùn dưới tán rừng thông trên môi trường AT, nuôi cấy lắc trong tủ ấm ở nhiệt độ 30°C trong 2 ngày. Dung dịch thu được gọi là dịch làm giàu. Dùng pipet vô trùng lấy 1ml dung dịch cho vào ống nghiệm có chứa 9ml nước muối sinh lý đã chuẩn bị sẵn, tránh chạm pipet vào dịch pha loãng có nồng độ là  $10^{-1}$ . Tiếp tục pha loãng để đạt được độ pha loãng  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ . Dùng pipet vô trùng khác lấy 0,1ml dung dịch mẫu pha loãng cấy vào đĩa Petri chứa môi trường AT (20g CaCO<sub>3</sub>; 20g D-Glucoza; 0,8g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0,5g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,2g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,1g FeCl<sub>3</sub>. 6H<sub>2</sub>O; 0,05g Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O; 12 thạch trắng; nước cất 1000ml). Dùng que gạt vô trùng gạt đều cho đến khi dung dịch mẫu thấm đều trên bề mặt thạch, đợi bề mặt thạch khô, úp

ngược đĩa petri, nuôi trong tủ ấm ở nhiệt độ 30°C trong thời gian từ 3 đến 5 ngày; quan sát và thu những khuẩn lạc có khả năng sinh màng nhầy trên bề mặt thạch. Các khuẩn lạc sau khi phân lập được làm thuần bằng phương pháp cấy ria trên đĩa thạch chứa môi trường AT. Nuôi trong tủ ấm ở nhiệt độ 30°C trong thời gian từ 3 đến 5 ngày.

Đánh hàm lượng polysaccarit của các chủng vi sinh vật sinh màng nhầy phân lập được:

Lấy một vòng que cấy vi sinh vật cấy vào bình tam giác chứa môi trường AT dịch thể đã chuẩn bị sẵn. Nuôi lắc ở tốc độ 150 vòng/phút, nhiệt độ từ 28°C đến 30°C, trong thời gian 4 ngày; đảm bảo dịch nuôi cấy vi khuẩn có mật độ tế bào vi khuẩn  $> 10^8$  CFU/ml. Rót từ từ còn tuyệt đối vào 100ml dịch nuôi cấy vi khuẩn, vừa rót vừa khuấy cho đến khi polysaccarit kết tủa hoàn toàn. Lượng còn dùng để kết tủa bằng 2 lần dịch nuôi cấy. Lọc qua giấy lọc, thu kết tủa, sấy khô ở nhiệt độ 100°C đến khối lượng không đổi. Lượng polysaccarit tạo thành được tính bằng hiệu số của mẫu sấy trừ đi trọng lượng khô ban đầu của giấy lọc.

Ví dụ 4: Nhân sinh khối vi sinh vật sinh màng nhầy

Nhân giống cấp 1 sử dụng môi trường chuyên biệt trên đĩa petri

Hai chủng VSV sinh màng nhầy *Bacillus aryabhattai* P16.1; *Paenibacillus jamilae* P73 cần được hoạt hóa để sử dụng bằng cách làm tan băng đến nhiệt độ phòng sau đó nuôi cấy vi sinh vật sinh màng nhầy trong tủ định ôn ở thang nhiệt độ 25°C trong khoảng 120 giờ, cấy truyền lần lượt hai chủng vi sinh vật sinh màng nhầy *Bacillus aryabhattai* P16.1; *Paenibacillus jamilae* P73 vào từng đĩa riêng biệt chứa môi trường nhân giống cấp 1, các thao tác cấy truyền được thực hiện trong tủ cấy vô trùng. Nuôi ở tủ định ôn ở thang nhiệt độ 25°C trong thời gian 72 giờ.

Môi trường AT đặc gồm: 20g CaCO<sub>3</sub>; 20g D-glucoza; 0,8g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0,5g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,2g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,1g FeCl<sub>3</sub>. 6H<sub>2</sub>O; 0,05g Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O; thạch trắng: 16-19 gam; nước cất 1000ml. Chuẩn bị các bình tam giác 500ml (có nút

bông), sấy tiệt trùng thời gian 1 giờ ở nhiệt độ 160°C. Cho vào mỗi bình 250ml môi trường AT lỏng (20g CaCO<sub>3</sub>; 20g D-Glucose; 0,8g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0,5g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,2g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,1 FeCl<sub>3</sub>. 6H<sub>2</sub>O; 0,05g Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2 H<sub>2</sub>O; Nước cất 1000ml) khử trùng môi trường ở 121°C, thời gian 20 phút. Đổ nguội về nhiệt độ phòng tiến hành cấy truyền lần lượt hai chủng VSV sinh màng nhầy *Bacillus aryabhatai* P16.1; *Paenibacillus jamilae* P73 từ giống cấp 1 vào từng bình riêng biệt chứa môi trường. Các thao tác cấy truyền vào bình tam giác được thực hiện trong tủ cấy vô trùng. Dùng máy lắc nhân sinh khối các chủng với tốc độ 150 vòng/phút ở nhiệt độ 25°C, sau thời gian 72 giờ thu được các bình sinh khối của các chủng vi sinh vật sinh màng nhầy. Ly tâm với tốc độ 10.000 vòng/phút trong vòng 20 phút để loại bỏ bớt dịch.

Ví dụ 5: Tỷ lệ trộn cho 1kg chế phẩm

- + 75 % mùn hữu cơ (0,75kg)
- + 20% vsv phân hủy xenluloza (0,2kg)
- + 2% vsv sinh màng nhầy (0.02kg)
- + 3% Apatits (0,03 kg)

Sản phẩm được đóng gói ghi rõ nguồn gốc xuất xứ, thành phần, công dụng, hướng dẫn sử dụng, thời gian sản xuất, thời hạn sử dụng.

### **Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích**

Chế phẩm theo giải pháp hữu ích có tác dụng phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông, tăng độ ẩm cho vật liệu cháy nhằm hạn chế khả năng cháy rừng thông ở Việt Nam. Phân hủy vật liệu cháy dưới tán rừng thông thành phân hữu cơ giúp cải thiện tính chất lý hóa của đất, giúp cây rừng sinh trưởng và phát triển tốt, tăng hiệu quả về mặt kinh tế và bảo vệ được môi trường sinh thái.

Mặc dù các mô tả nêu trên chứa nhiều chi tiết cụ thể, chúng không được coi là giới hạn về phương án thực thi giải pháp hữu ích, mà chỉ nhằm mục đích minh họa một số phương án thực thi được ưu tiên.

## YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông bao gồm:

- Hỗn hợp các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza bao gồm *Penicillium glabrum* SSN9; *Penicillium sclerotiorum* SSN5.3; *Talaromyces pinophilus* HBN4.5; *Trichoderma citrinoviride* LBN8.1 và vi sinh vật sinh màng nhầy *Bacillus aryabhattai* P16.1; *Paenibacillus jamilae* P73, với lượng nằm trong khoảng từ 20-30%;

- Chất mang với lượng nằm trong khoảng từ 65-78%; và

- Chất dinh dưỡng bổ sung là apatits với lượng nằm trong khoảng từ 2-5%.

2. Chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông theo điểm 1, trong đó hỗn hợp các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza và vi sinh vật sinh màng nhầy có mặt với lượng nằm trong khoảng 20-25%.

3. Chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông theo điểm 1 hoặc 2, trong đó hỗn hợp các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza và vi sinh vật sinh màng nhầy có mặt với lượng nằm trong khoảng 21-23%.

4. Chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-3, trong đó các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza được sử dụng nhân sinh khối theo phương pháp lên men xốp.

5. Chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-3, trong đó các chủng vi sinh vật sinh màng nhầy được tạo sinh khối theo phương pháp lên men chìm.

6. Chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-5, trong đó các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza và vi sinh vật sinh màng nhầy được phân lập và tuyển chọn từ đất và mùn dưới tán rừng thông, có hoạt tính sinh học cao và sức sống cao có khả năng tồn tại ở các điều kiện sinh thái của Việt Nam.

7. Chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-6, trong đó sự liên kết của các chủng vi sinh vật phân giải xenluloza và các chủng vi sinh vật sinh màng nhầy làm tăng khả năng phân hủy và tăng độ ẩm của vật liệu cháy dưới tán rừng thông, nhờ vậy làm giảm nguy cơ cháy rừng thông.
8. Chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-7, trong đó chất mang được sử dụng trong chế phẩm là mùn hữu cơ.
9. Chế phẩm sinh học phân hủy nhanh vật liệu cháy dưới tán rừng thông theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-8, trong đó các chất dinh dưỡng bổ sung được sử dụng trong chế phẩm nằm trong khoảng 3- 4% trọng lượng của chế phẩm.