

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN CHỦNG VI KHUẨN PHÂN HỦY THUỐC TRỪ SÂU DIAZINON TRÊN ĐẤT CHUYỀN MÀU Ở MỘT SỐ TỈNH ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Nguyễn Văn Lệ¹, Dương Minh Viễn², Đỗ Thị Xuân²

TÓM TẮT

Kết quả bố trí thí nghiệm cho thấy 10 nhóm vi khuẩn có khả năng phân hủy hiệu quả Diazinon trong tổng số 21 nhóm vi khuẩn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng, giảm từ 14,3 đến 37,9% sau 14 ngày nuôi ủ. Các nhóm vi khuẩn phân hủy Diazinon mạnh nhất được chọn để phân lập vi khuẩn gồm CL7, CM1, HA10, HA7, TA3 và TA4. Kết quả phân lập được 87 dòng vi khuẩn, nhưng chỉ có 15 dòng vi khuẩn có khả năng phát triển trong môi trường khoáng tối thiểu có bổ sung Diazinon 20 ppm. Trong số các dòng vi khuẩn phân lập thì có 4 dòng vi khuẩn có khả năng phân hủy thuốc trừ sâu Diazinon hiệu quả từ 15,4% đến 27,9% sau 30 ngày nuôi ủ và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng gồm các dòng HA7.4, TA3.2, TA4.17, HA7.1. Trong đó, dòng vi khuẩn HA7.1 có khả năng phân hủy Diazinon mạnh nhất và sau 7 ngày nuôi ủ hàm lượng Diazinon giảm cao nhất (19,7%) và mật độ tế bào vi khuẩn tăng cao nhất so với các khoảng thời gian còn lại. Ba thí nghiệm nhằm khảo sát ảnh hưởng của các điều kiện môi trường (nhiệt độ, pH, nguồn các bon) đến sự tăng trưởng mật độ tế bào vi khuẩn trong dung dịch khoáng tối thiểu sau 5 ngày nuôi ủ ở điều kiện phòng thí nghiệm. Kết quả cho thấy đa số các dòng vi khuẩn tăng mật độ tế bào cao nhất ở 30°C, pH = 7 và nguồn các bon là TSB.

Từ khóa: Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL), thuốc trừ sâu diazinon, vi khuẩn.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhằm đáp ứng nhu cầu lương thực và xuất khẩu, quá trình thâm canh tăng năng suất dẫn đến gia tăng nhu cầu sử dụng thuốc bảo vệ thực vật hóa học. Bên cạnh vai trò phòng trừ sâu, bệnh và cỏ dại, thuốc bảo vệ thực vật (BTVT) đã trực tiếp hoặc gián tiếp ảnh hưởng đến môi trường và sức khỏe con người (Oanh *et al.*, 2011). Cùng với quá trình thâm canh tăng vụ trong sản xuất nông nghiệp, thuốc BTVT được sử dụng ở ĐBSCL nói riêng và Việt Nam nói chung ngày càng tăng cả về số lượng và chủng loại. Thuốc BTVT đóng vai trò quan trọng trong sản xuất nông nghiệp, trong thực tế sản xuất nhiều trường hợp nông dân sử dụng thuốc BTVT sai cả về chủng loại và liều lượng, thường cao hơn so với liều lượng khuyến cáo. Vì thế, vấn đề ô nhiễm môi trường đất, nước là vấn đề cần được quan tâm.

Nhiều nghiên cứu cho thấy một số chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy thuốc BTVT thuộc

nhóm lân hữu cơ có độ độc cao và thời gian lưu tồn lâu dài trong đất. Các vi khuẩn như *Arthrobacter* và *Streptomyces* có khả năng phân hủy nhanh Diazinon trong đất (Haim, Bert, 1968). Theo kết quả nghiên cứu của Cycon và đồng tác giả (2009) ba chủng vi khuẩn: *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens* và *Pseudomonas* sp. đều có khả năng phân hủy Diazinon trong môi trường MSM (mineral salt medium – muối khoáng trung tính) có bổ sung Diazinon (50 ppm) như là nguồn các bon duy nhất. Thí nghiệm kiểm chứng cho thấy, sau 14 ngày 80-92% lượng Diazinon ban đầu đã phân hủy bởi hệ vi sinh vật gồm 3 chủng vi khuẩn trên.

Vi khuẩn có khả năng phân hủy Diazinon được tìm thấy trong bùn là *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Corynebacterium* và *Pseudomonas*. Kết quả nghiên cứu cho thấy trong đất tiết trùng có bổ sung vi khuẩn trên thì thời gian bán hủy Diazinon ngắn hơn so với đất tiết trùng không bổ sung vi khuẩn (Kanazawa, 1987). Một nghiên cứu khác ở Iran đã xác định khi có sự hiện diện của 3 chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp., *Flavobacterium* sp. và *Agmobacterium* sp. (Ghasempour *et al.*, 2002) thì quá trình phân hủy Diazinon trong ruộng lúa nhanh hơn. Bên cạnh đó, theo nghiên cứu của Yaghoob và đồng tác giả (2010)

¹ Nghiên cứu sinh - Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học-Trường Đại học Cần Thơ

² Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng-Đại học Cần Thơ

trong trầm tích ở một số hồ ở Iran có nhiều vi khuẩn có khả năng phân hủy Diazinon như: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Acinebacterium*, *Alcaligenes*, *Serratia*, *Salmonella*, *Citrobacter* và *Providencia*.

Trong khi đó, ở Việt Nam chưa có nhiều nghiên cứu về vai trò của vi khuẩn phân hủy Diazinon trong đất canh tác nông nghiệp. Tuy nhiên, gần đây nghiên cứu của Lê Thị Trinh (2013) đã phân lập được 3 chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy Diazinon thuộc chi *Bacillus* từ đất cát pha bùn ở Hà Nội. Sau thời gian 43 ngày nhiễm vi khuẩn thì hàm lượng Diazinon giảm 73,8%. Những kết quả trên cho thấy việc phân lập các dòng vi khuẩn có khả năng phân hủy Diazinon rất khả thi.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Đất sử dụng cho thí nghiệm gồm 21 mẫu thu được thu tại 4 tỉnh ở ĐBSCL.

Dung dịch đệm photphat (Phosphate Buffer) dùng để trích vi khuẩn từ đất: 23,99 g NaH_2PO_4 và 15,59 g Na_2HPO_4 pha trong một lít nước cất.

Môi trường Tryptose Soybean Agar (TSA): 30 g Tryptone Soya Broth (TSB), 15 g aga pha trong một lít nước cất.

Môi trường khoáng tối thiểu: 870 ml nước khử khoáng, 25 ml dung dịch đệm (35 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 4 g KH_2PO_4 pha trong một lít nước cất), 100 ml dung dịch muối khoáng (10 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 2 g $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 1 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, pha trong một lít nước cất) và 5 ml dung dịch vi lượng (8,2 mg $\text{MnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1,5 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 2 mg ZnCl_2 , 0,6 mg, $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 2 mg KBr , 5,8 mg $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 470 mg $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 4 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 3 mg $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,7 mg $\text{LiCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$, 1 mg H_3BO_3 , 2 mg KI).

Chất chuẩn Diazinon của Accustandard. Các chủng vi khuẩn sử dụng trong thí nghiệm là các chủng vi khuẩn bản địa phân lập từ đất canh tác rau, màu.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu mẫu đất

Các mẫu đất được thu về phòng thí nghiệm từ mô hình chuyên canh rau, màu ở huyện Bình Minh (tỉnh Vĩnh Long), huyện Bình Tân (tỉnh Vĩnh Long), huyện Cai Lậy (tỉnh Tiền Giang), huyện Chợ Mới

(tỉnh An Giang) và huyện Phụng Hiệp (tỉnh Hậu Giang).

Sử dụng khoan để lấy đất ở độ sâu 0-10 cm. Mỗi địa điểm thu mẫu lấy ngẫu nhiên 5 điểm và trộn đều thành một mẫu. Mẫu đất được gói trong giấy nhôm và trữ trong thùng lạnh trong quá trình vận chuyển về phòng thí nghiệm

2.2.2. Làm giàu mật độ nhóm vi khuẩn và đánh giá khả năng phân hủy Diazinon của chúng

Sử dụng môi trường khoáng tối thiểu có bổ sung Diazinon (20 ppm) để làm giàu cộng đồng vi khuẩn phân hủy Diazinon. Mẫu đất sau khi được trộn đều, cân 10 g cho vào chai thủy tinh 250 ml và bổ sung 100 ml dung dịch đệm photphat, lắc với tốc độ 130 vòng/phút trong 1 giờ, để lắng 15 phút sau đó hút 1000 μl dung dịch trên cho vào các bình tam giác 100 ml đã chuẩn bị sẵn môi trường khoáng tối thiểu (MSM) với Diazinon (20 ppm). Các bình tam giác trên được lắc ngang liên tục với tốc độ 90 vòng/phút. Khi môi trường trở nên đục theo thời gian nuôi thì chuyển dung dịch từ các bình tam giác trên sang bình tam giác khác với môi trường MSM mới có bổ sung Diazinon (20 ppm). Quá trình cấy chuyển được lặp lại khoảng 4-5 lần. Kết thúc quá trình làm giàu, tiến hành đánh giá khả năng phân hủy thuốc Diazinon với hai nghiệm thức:

- Nghiệm thức 1: Đối chứng (Dung dịch khoáng tối thiểu + Diazinon 20 ppm).

- Nghiệm thức 2: Dung dịch khoáng tối thiểu + Diazinon 20 ppm + vi khuẩn (21 nhóm vi khuẩn).

Sau 14 ngày nuôi các nhóm vi khuẩn, tiến hành trích mẫu và phân tích mẫu để xác định hàm lượng Diazinon còn lại.

2.2.3. Tách dòng vi khuẩn và đánh giá khả năng phân hủy Diazinon

Nhóm vi khuẩn có khả năng phân hủy Diazinon được pha loãng ở nhiều nồng độ khác nhau (từ 10^1 đến 10^8). Hút 50 μl dung dịch huyền phù vi sinh vật đã pha loãng nhỏ lên môi trường đặc TSA và dùng que cấy tráng đều đến khi bề mặt môi trường khô. Các đĩa petri được ủ 3 đến 5 ngày trong điều kiện không có ánh sáng ở nhiệt độ phòng. Tiếp tục phân dạng khuẩn lạc và cấy ria từng dạng khuẩn lạc trên mỗi đĩa petri để tạo khuẩn lạc rời rạc. Sau khi được các dòng vi khuẩn thuần và chuyển nuôi trong ống nghiệm chứa 5 ml môi trường khoáng tối thiểu có bổ sung Diazinon 20 ppm.

Mỗi dòng vi khuẩn được bố trí thí nghiệm trên hai nghiệm thức:

- Nghiệm thức 1: Môi trường khoáng tối thiểu + thuốc Diazinon (20 ppm) (Đối chứng).

- Nghiệm thức 2: Môi trường khoáng tối thiểu + thuốc Diazinon (20 ppm) + Vi khuẩn.

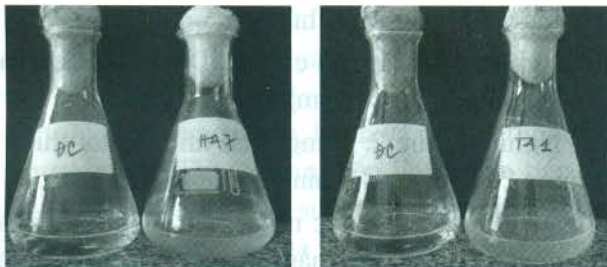
2.2.4. Phương pháp xử lý, phân tích và thống kê số liệu

Sử dụng công cụ Microsoft Excel để tính phần trăm phân hủy và vẽ đồ thị. Phần mềm Minitab được sử dụng để so sánh sự khác biệt giữa các cặp số liệu với nhau.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Làm giàu mật độ tế bào nhóm vi khuẩn và khảo sát khả năng phân hủy Diazinon của chúng

Từ 21 mẫu đất gồm 4 mẫu ở Cai Lậy, 4 mẫu ở Bình Minh, 4 mẫu ở Bình Tân, 5 mẫu ở Hòa An và 4 mẫu ở Chợ Mới đã làm giàu thành công 21 nhóm vi khuẩn. Sau 3-5 ngày nuôi cấy thì môi trường chuyển sang đục hơn so với đối chứng, điều này chứng tỏ vi khuẩn có thể phát triển và có sự gia tăng về mật độ trong môi trường khoáng tối thiểu có bổ sung Diazinon 20 ppm như là nguồn các bon (Hình 1). Tuy nhiên, mỗi nhóm vi khuẩn có độ đục khác nhau.

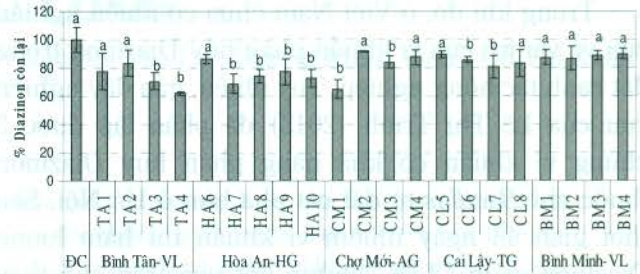


Hình 1. Sự phát triển của cộng đồng vi khuẩn trong môi trường khoáng tối thiểu

Ghi chú: ĐC: Môi trường khoáng tối thiểu + Diazinon 20 ppm

Thí nghiệm đánh giá khả năng phân hủy Diazinon trong môi trường khoáng tối thiểu của 21 cộng đồng bao gồm 4 ở mỗi địa điểm Bình Tân, Chợ Mới, Cai Lậy, Bình Minh và 5 ở Hòa An. Kết quả sau 14 ngày nuôi cấy, có 10 cộng đồng vi khuẩn phân hủy Diazinon 14,3-37,9% và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng (Hình 2). Kết quả trên cho thấy xác suất tìm được cộng đồng vi khuẩn có khả năng phân hủy Diazinon rất cao 50% - 80% (ngoại trừ địa điểm Bình Minh-Vĩnh Long). Trong đó, tại địa điểm Hòa An số cộng đồng có khả năng phân hủy thuốc trừ sâu

Diazinon chiếm tỷ lệ cao nhất (80%) có thể là do ở đây cây trồng là mía, nông dân thường xuyên sử dụng thuốc trừ sâu có hoạt chất Diazinon ở dạng hạt (Basudin) để bón vào gốc mía với lượng lớn nhằm tiêu diệt sâu hại.

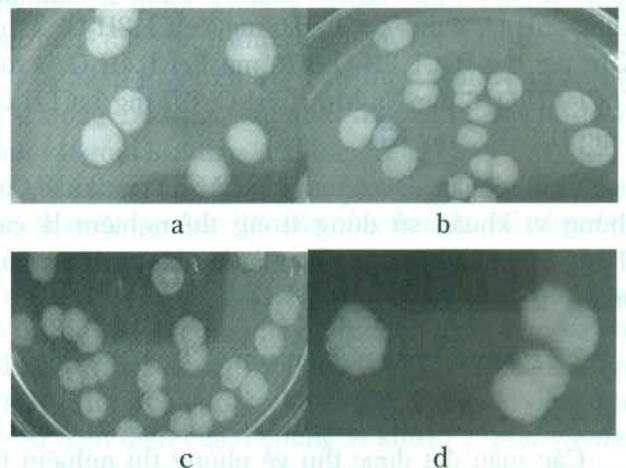


Hình 2. Sự phân hủy Diazinon của cộng đồng vi khuẩn sau 14 ngày nuôi cấy

Ghi chú: ĐC: Đối chứng

3.2. Kết quả phân lập vi khuẩn trên môi trường TSA

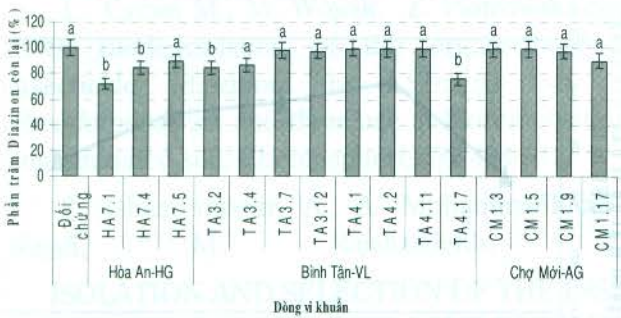
Từ 21 cộng đồng đã làm giàu và khảo sát khả năng phân hủy thuốc trừ sâu Diazinon trong dung dịch khoáng tối thiểu, sáu cộng đồng: CM1, CL7, HA7, HA10, TA3 và TA4 được chọn để phân lập vi khuẩn. Sử dụng môi trường TSA để phân lập vi khuẩn hiếu khí. Kết quả phân lập được 87 dòng vi khuẩn từ 6 cộng đồng trên. Tuy nhiên, khi chuyển các dòng vi khuẩn đã thuần vào môi trường khoáng tối thiểu có chứa Diazinon (20 ppm) thì chỉ có 15 dòng gây đục môi trường. Điều này chứng tỏ rằng các dòng vi khuẩn phát triển được trong môi trường có chứa thuốc Diazinon và có khả năng phân hủy thuốc trừ sâu Diazinon. Hình thái khuẩn lạc một số dòng vi khuẩn được miêu tả ở hình 3.



Hình 3. Hình dạng khuẩn lạc của một số dòng phân lập trên môi trường TSA: (a) dòng HA7.1, (b) dòng HA7.4, (c) dòng TA4.17 và (d) dòng TA3.2

3.3. Khả năng phân hủy Diazinon của các dòng vi khuẩn trong môi trường khoáng tối thiểu

Trong số các dòng vi khuẩn phân lập được, chọn các dòng vi khuẩn có khả năng gây phát triển trong môi trường MSM có chứa thuốc trừ sâu Diazinon 20 ppm để bố trí thí nghiệm khảo sát khả năng phân hủy Diazinon. Thực hiện trích mẫu sau 30 ngày nuôi cấy để phân tích hàm lượng Diazinon còn lại trong các mẫu, kết quả hàm lượng Diazinon trong một số mẫu thấp hơn so với đối chứng (Hình 4). Kết quả cho thấy, sau 30 ngày nuôi cấy, các nghiệm thức có bổ sung các dòng vi khuẩn HA7.1, HA7.4, TA3.2 và TA4.17 thì hàm lượng Diazinon giảm so với đối chứng lần lượt là 27,9%, 15,4%, 15,7% và 24,2% và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng. Điều này chứng tỏ rằng các dòng vi khuẩn trên có khả năng phân hủy Diazinon và có thể sử dụng sản phẩm phân hủy Diazinon như nguồn các bon (Yaghoob Tahery *et al.*, 2010).



Hình 4. Khả năng phân hủy Diazinon của các dòng vi khuẩn sau 30 ngày nuôi trong môi trường khoáng tối thiểu

Kết quả trên cho thấy dòng vi khuẩn HA7.1 có tốc độ phân hủy hoạt chất thuốc trừ sâu Diazinon cao nhất đạt 0,93%/ngày. Kết quả này tương tự như kết quả nghiên cứu của Lê Thị Trinh (2014) về khả năng phân hủy Diazinon của các dòng vi khuẩn phân lập được từ bùn đáy ao với tốc độ phân hủy đạt 1,72%/ngày. Tuy nhiên tốc độ phân hủy thuốc Diazinon có thể phụ thuộc vào nhiều yếu tố như điều kiện môi trường nuôi cấy và dòng vi khuẩn.

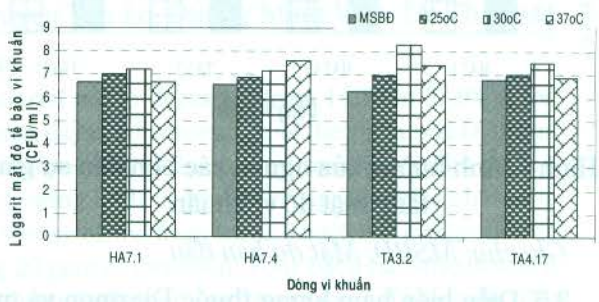
Đối với các dòng vi khuẩn còn lại hàm lượng thuốc trừ sâu Diazinon còn lại trong mẫu nuôi thấp hơn so với đối chứng nhưng không khác biệt so với đối chứng mặc dù các dòng vi khuẩn này được phân lập từ các cộng đồng có khả năng phân hủy Diazinon (dao động 19,4% - 37,9%). Nguyên nhân lấy lại được giải thích là do trong cộng đồng có nhiều nhóm vi khuẩn, có cả nhóm vi khuẩn phân

hủy Diazinon lẫn nhóm không phân hủy Diazinon. Bản thân một dòng vi khuẩn có thể không tự phân hủy nhưng khi ở trong một cộng đồng vi khuẩn chúng có thể hỗ trợ nhau, mỗi dòng vi khuẩn sẽ đóng vai trò góp phần vào sự phân hủy Diazinon nhờ đó mà cộng đồng vi khuẩn phân hủy Diazinon tốt hơn.

Bên cạnh các dòng vi khuẩn có khả năng phân hủy thuốc Diazinon gây đục môi trường nuôi thì các dòng vi khuẩn không phân hủy thuốc Diazinon vẫn gây đục môi trường nuôi có chứa Diazinon 20 ppm. Nguyên nhân là do chúng có thể sử dụng các dưỡng chất tạp nhiễm từ môi trường phân lập hoặc sử dụng sản phẩm phân hủy từ vi khuẩn chết trong quá trình nuôi ủ, nhờ đó vi khuẩn phát triển và làm đục môi trường nuôi.

3.4. Ảnh hưởng của điều kiện ngoại cảnh đến sự thay đổi mật độ của các dòng vi khuẩn

Thí nghiệm được bố trí để nghiên cứu về ảnh hưởng của nhiệt độ đến mật độ tế bào vi khuẩn sau thời gian nuôi ủ là 5 ngày trong ống nghiệm chứa 5 ml dung dịch khoáng tối thiểu có bổ sung Diazinon 20 ppm. Kết quả thí nghiệm cho thấy có 3 dòng vi khuẩn mật độ tế bào tăng cao nhất ở 30°C (HA7.1, TA3.2, TA4.17) và một dòng vi khuẩn gia tăng mật độ tế bào cao nhất ở 37°C (HA7.4) (Hình 5). Kết quả trên cho thấy nhiệt độ có vai trò quan trọng đối với sự gia tăng mật độ tế bào vi khuẩn.

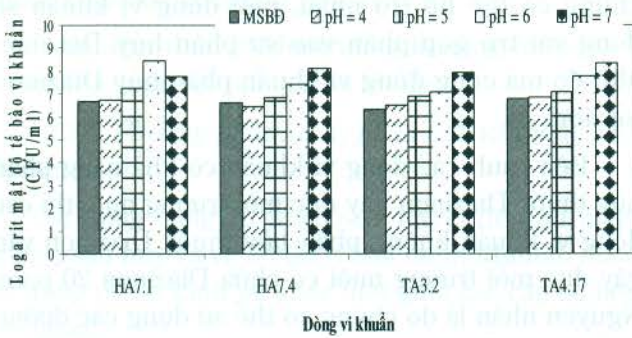


Hình 5. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự gia tăng mật độ tế bào vi khuẩn sau 5 ngày nuôi ủ

Ghi chú: MSBD: Mật độ tế bào ban đầu

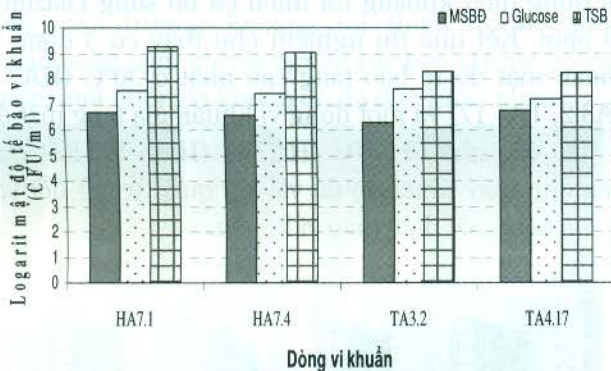
Các dòng vi khuẩn HA7.1, HA7.4, TA3.2 và TA4.17 có khả năng phân hủy hiệu quả hoạt chất thuốc trừ sâu Diazinon được bố trí thí nghiệm để nghiên cứu sự ảnh hưởng của pH đến mật độ vi khuẩn. Mật độ vi khuẩn được xác định vào thời điểm ban đầu và sau thời gian nuôi ủ 5 ngày trong ống nghiệm chứa 5 ml dung dịch khoáng tối thiểu có bổ sung nguồn các bon TSB 0,5%. Kết quả thí nghiệm

cho thấy có 3 dòng vi khuẩn mật độ tăng cao nhất ở pH = 7 (HA7.4, TA3.2, TA4.17) và một dòng vi khuẩn gia tăng mật độ cao nhất ở pH = 6 (HA7.1) (Hình 6).



Hình 6. Ảnh hưởng của pH đến sự gia tăng mật độ vi khuẩn sau 5 ngày nuôi ủ

Thí nghiệm được bố trí để nghiên cứu về ảnh hưởng của nguồn các bon (glucoza, TSB) đến mật độ vi khuẩn sau thời gian nuôi ủ là 5 ngày trong ống nghiệm chứa 5 ml dung dịch khoáng tối thiểu có bổ sung nguồn các bon TSB 0,5% hoặc glucoza 0,5%. Kết quả thí nghiệm cho thấy tất cả 4 dòng vi khuẩn mật độ tăng cao nhất với nguồn các bon là TSB (Hình 7).



Hình 7. Ảnh hưởng của nguồn các bon đến sự gia tăng mật độ vi khuẩn

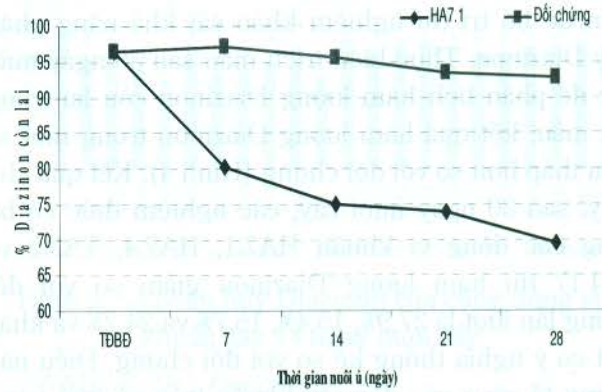
Ghi chú: MSBD: Mật độ ban đầu

3.5. Diễn biến hàm lượng thuốc Diazinon và mật độ vi khuẩn theo thời gian nuôi

Diễn biến phân hủy Diazinon theo thời gian được thực hiện với dòng vi khuẩn có khả năng phân hủy Diazinon cao nhất là HA7.1. Vi khuẩn được nuôi trong môi trường khoáng tối thiểu có bổ sung Diazinon ở nồng độ 20 ppm trong thể tích 5 ml và có đối chứng để khảo sát diễn biến phân hủy Diazinon vào các thời điểm 1, 7, 14, 21 và 28 ngày sau khi nuôi ủ.

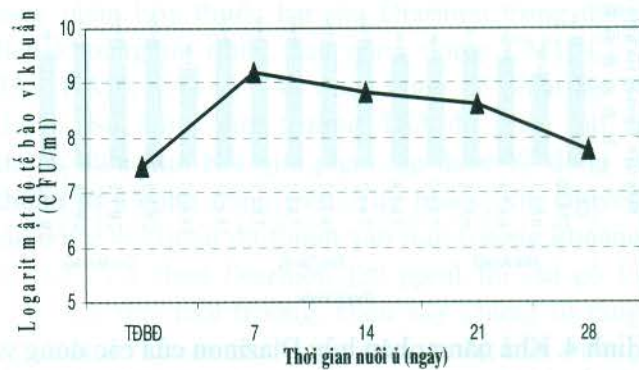
Kết quả theo dõi cho thấy sau 7 ngày nuôi ủ, hàm lượng Diazinon bị phân hủy mạnh nhất (19,7%)

so với các khoảng thời gian khảo sát. Sau đó, tốc độ phân hủy Diazinon chậm lại so với thời gian 7 ngày đầu và hàm lượng Diazinon trong môi trường chỉ còn khoảng 70% vào thời điểm 28 ngày ủ so với hàm lượng khi bắt đầu nuôi ủ (Hình 8).



Hình 8. Khả năng phân hủy Diazinon của dòng vi khuẩn HA7.1 theo thời gian ủ.

Ghi chú: TĐBD: Thời điểm bắt đầu nuôi ủ



Hình 9. Sự thay đổi mật độ theo thời gian nuôi ủ của dòng vi khuẩn HA7.1

Ghi chú: TĐBD: Thời điểm bắt đầu nuôi ủ

Bên cạnh theo dõi hàm lượng Diazinon trong môi trường nuôi ủ theo thời gian, sự thay đổi mật độ của dòng vi khuẩn HA7.1 cũng được theo dõi. Kết quả theo dõi cho thấy mật độ vi khuẩn của dòng vi khuẩn này trong giai đoạn trước 7 ngày tăng mạnh (Hình 9). Đối chiếu kết quả này với diễn biến suy giảm mạnh hàm lượng Diazinon trong giai đoạn này (Hình 8) có thể đưa đến giả định vi khuẩn đã tiêu thụ hoạt chất Diazinon nên gia tăng mật số. Sau 7 ngày ủ, cùng với sự suy giảm tốc độ phân hủy Diazinon là sự suy giảm mật độ vi khuẩn trong môi trường nuôi. Nguyên nhân có thể liên quan đến hàm lượng Diazinon, hàm lượng dưỡng chất khoáng trong môi trường giảm và tích lũy độc tố từ các sản phẩm chuyển hóa.

4. KẾT LUẬN

Các nhóm vi khuẩn có khả năng phân hủy hoạt chất Diazinon cao hơn so với các dòng vi khuẩn phân lập từ các nhóm vi khuẩn tương ứng.

Phân lập được 4 dòng vi khuẩn HA7.4, TA3.2, TA4.17, HA7.1 có khả năng phân hủy làm giảm hàm lượng Diazinon trong môi trường khoáng tối thiểu từ 15,4% đến 27,9%.

Đa số các dòng vi khuẩn được nghiên cứu (HA7.4, TA3.2, TA4.17, HA7.1) đều gia tăng mật độ tế bào cao nhất trong điều kiện nhiệt độ 30°C, pH = 7 và nguồn các bon bổ sung là TSB.

Dòng vi khuẩn HA7.1 có khả năng phân hủy thuốc Diazinon với tốc độ mạnh nhất trong giai đoạn trước 7 ngày nuôi ủ so với các khoảng thời gian còn lại. Gia tăng mật độ cao nhất cũng trong giai đoạn trước 7 ngày nuôi ủ ở điều kiện nhiệt độ phòng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cycon M., M. Wójcik, Z. Piotrowska-Seget, 2009. Biodegradation of the organophosphorus insecticide diazinon by *Serratia sp.* and *Pseudomonas sp.* and their use in bioremediation of contaminated soil. *Chemosphere*, 76: 494-501.

2. Ghassempour, A., A. Mohammadkhah, F. Najafi, M. Rajabzadehb, 2002.

Monitoring of the pesticide Diazinon in soil, stem and surface water of rice fields *Analytical Science*, 18: 779-783.

3. Haim, B. G. and M. Z. Bert, 1968. Degradation of diazinon by synergistic microbial action. *Nature*, 217: 1183 – 1184.

4. Kanazawa J., 1987. Biodegradability of pesticides in water by microbes in activated sludge, soil and sediment, *Eviron. Monitoring and assessment*, 9(1): 57-70.

5. Lê Thị Trinh, 2013. Bước đầu nghiên cứu chủng vi sinh vật trong đất cát pha nhiều mùn có khả năng tham gia quá trình phân hủy thuốc trừ sâu cơ photpho chứa hoạt chất diazinon. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Việt Nam*, 15: 47-50.

6. Nguyễn Thị Phi Oanh, Hứa Văn Ủ và Dirk Spkhoanael, 2011. Vi khuẩn phân hủy 2,4-D trong đất lúa ở Tiền Giang và Sóc Trăng. *Tạp chí Khoa học*, 18a: 65-70.

7. Yaghoob T., K. Farshid, D. Mehdi, A. M. Amir, Siamak Mahmoodi Sivand and Hazandy Abdul-Hamid, 2010. Isolation and identification of diazinon degrading bacteria from fresh water: A case study on the sediments of Lake Parishan in Iran. *World journal of Fish and Marine Sciences*, 2(3): 240-245.

ISOLATION AND SELECTION OF THE INSECTICIDE DIAZINON DEGRADING BACTERIA FROM VEGETABLE CULTIVATED LAND IN SOME PROVINCES OF THE MEKONG DELTA OF VIETNAM

Nguyen Van Le, Duong Minh Vien, Do Thi Xuan

Summary

Results set up experiment showed that 10 out of 21 bacterial group degraded from 14.3% to 37.9% of the initially applied Diazinon concentration within 14 incubation days and percentage of the remained Diazinon the liquid culture of these group was significantly lower than that of the control treatment. The six top bacterial group (CL7, CM1, HA10, HA7, TA3 and TA4) showing high degradation capacity were chosen to isolate single strains. 15 out of 87 bacterial strains which were isolated from these 6 bacterial group showed a growing capacity in in minimal salt medium containing 20 ppm of Diazinon. Four bacterial strains which were coded namely as HA7.4, TA3.2, TA4.17 and HA7.1 showed efficiently in degradation of Diazinon. The degradation capacity of these single strains varied from 15.4% to 27.9% of the initially applied concentration in 30 incubation days and was significantly different from the control treatment. Three other experiments were established under the laboratory conditions to test the effects of environmental conditions such as temperature, pH and carbon source on the growth of some selected strains in minimal salt medium in 5 days. Results showed that bacterial cell numbers were obtained at the highest numbers when grown under conditions of 30°C, pH of the medium = 7 and TSB as a carbon source.

Key word: *Bacterium, Diazinon, Mekong delta, insecticide.*

Người phản biện: TS. Lê Như Kiều

Ngày nhận bài: 7/5/2015

Ngày thông qua phản biện: 8/6/2015

Ngày duyệt đăng: 15/6/2015