

TUYỂN CHỌN VÀ ĐÁNH GIÁ SỰ ĐA DẠNG CỦA CÁC QUẦN XÃ VI KHUẨN HIẾU KHÍ PHÂN HỦY CHLORPYRIFOS ETHYL TRONG ĐẤT CANH TÁC NÔNG NGHIỆP Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Trương Quốc Tất^{1*}, Dương Minh Viễn²

¹ Khoa Nông nghiệp và Công nghệ Thực phẩm - Trường Đại học Tiền Giang

² Khoa Nông nghiệp - Trường Đại học Cần Thơ

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này là làm giàu mật số, tuyển chọn và đánh giá sự đa dạng của các quần xã vi khuẩn hiếu khí có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl trong đất phèn và đất phù sa chuyên lúa, lúa - màu và chuyên màu. 50 mẫu đất được thu, trong đó 35 mẫu đất được thu ngoài đồng bằng cách sử dụng khoan có đường kính 5 cm để lấy mẫu ở độ sâu 0 - 20 cm tại 10 điểm khác nhau phân bố đều trên mỗi ruộng; 15 mẫu đất ở nhà lưới được thu bằng khoan nhỏ có đường kính 3 cm để lấy mẫu ở độ sâu 0 - 20 cm tại 5 điểm khác nhau phân bố đều trên mỗi chậu. Quần xã vi khuẩn trong các mẫu đất được nuôi trong môi trường khoáng tối thiểu có bổ sung chlorpyrifos ethyl nồng độ 20 ppm như là nguồn carbon duy nhất để làm giàu mật số quần xã vi khuẩn có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl. Sau 30 ngày nuôi cấy, mẫu nuôi được trích và phân tích để xác định hàm lượng chlorpyrifos ethyl còn lại. Sau khi đã tuyển chọn được các quần xã vi khuẩn có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl, hỗn hợp DNA của mỗi quần xã vi khuẩn này được trích và sử dụng kỹ thuật PCR-DGGE với cặp mồi 341F-GC/534R, sử dụng phần mềm Gel-Compare để phân tích sự đa dạng và độ tương đồng của cấu trúc quần xã vi khuẩn có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl. Kết quả đã tuyển chọn được 7 quần xã vi khuẩn có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl mạnh (4 quần xã từ đất phèn và đất phù sa ở điều kiện đồng ruộng và 3 quần xã từ đất phù sa ở điều kiện nhà lưới). Kết quả phân tích sự đa dạng di truyền của các quần xã vi khuẩn phân hủy chlorpyrifos ethyl cho thấy 2 quần xã vi khuẩn thu thập từ đất phèn chuyên lúa ở huyện Phụng Hiệp, tỉnh Hậu Giang có độ tương đồng khoảng 15%; hai quần xã vi khuẩn thu thập từ đất phù sa chuyên màu và luân canh lúa - màu (mẫu đất ở vụ màu) có độ tương đồng khoảng 55%; ba quần xã vi khuẩn thu thập từ đất phù sa ở nhà lưới có cấu trúc tương đồng 57 - 85%.

Từ khóa: Chlorpyrifos ethyl, vi khuẩn hiếu khí, đất phèn, đất phù sa, chuyên lúa, lúa-màu, chuyên màu.

MỞ ĐẦU

Chlorpyrifos ethyl là hoạt chất diệt côn trùng gốc lân hữu cơ, thuộc nhóm độc II, có tính chất gây độc thần kinh ở mức cao. Chlorpyrifos ethyl có DT50 khoảng 60 - 100 ngày nên phân giải chậm trong đất (Trần Quang Hùng, 1999). Chlorpyrifos ethyl có khả năng hấp phụ hoàn toàn vào đất do có chỉ số Koc khá cao, dao động từ 652-30.381 l/kg (Gebremariam *et al.*, 2012). Khi chlorpyrifos ethyl vào trong đất sẽ chịu ảnh hưởng bởi các yếu tố lý, hóa, sinh. Những yếu tố này có thể kết hợp làm ảnh hưởng đến tính bền của thuốc, bao gồm sự phân hủy hóa học và sinh học, hay làm ảnh hưởng đến tính di động của thuốc, bao gồm sự hấp phụ trên tầng mặt, sự hấp thụ từ thực vật, bay hơi, xói mòn do gió, rửa trôi và trực di (Galani *et al.*, 2010). Sự phân hủy sinh học chlorpyrifos ethyl được nhiều nhà nghiên cứu đặc biệt quan tâm vì phương pháp này vừa tốn ít chi phí lại thân thiện với môi trường và con người. Nhiều nhà nghiên cứu đã phân lập được các dòng vi khuẩn có khả năng phân hủy tốt chlorpyrifos ethyl như: dòng vi khuẩn như *Enterobacter* chủng B14 (Singh *et al.*, 2004), *Alcaligenes faecalis* DSP3 (Yang *et al.*, 2006), *Paracoccus*-TRP (Gangming Xu *et al.*, 2008). Trong đất canh tác lúa ở Đồng bằng sông Cửu Long, chlorpyrifos ethyl cũng được sử dụng khá phổ biến với liều lượng cao hơn quy định cho phép. Vì vậy khi lưu tồn lại trong đất nông nghiệp, chlorpyrifos ethyl có thể bị phân hủy sinh học bởi vi khuẩn hiếu khí hoặc kỵ khí. Dựa vào các kết quả nghiên cứu trước đây cho thấy việc phân lập vi khuẩn hiếu khí có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl là rất khả thi. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu: làm giàu mật số, tuyển chọn và đánh giá sự đa dạng của các quần xã vi khuẩn hiếu khí có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Địa điểm và số ruộng thu mẫu đất: Đất phù sa được thu ở huyện Bình Tân và Bình Minh, tỉnh Vĩnh Long; huyện Cai Lậy, tỉnh Tiền Giang và đất phèn được thu ở huyện Phụng Hiệp, tỉnh Hậu Giang, mẫu đất phù sa ở nhà lưới.

Phương pháp thu mẫu đất: 35 mẫu đất ngoài đồng được thu bằng cách sử dụng khoan có đường kính 5 cm để lấy mẫu ở độ sâu 0 - 20 cm tại 10 điểm khác nhau phân bố đều trên mỗi ruộng, mẫu đất được trộn đều và trữ tạm thời trong túi nylon. Trong 35 mẫu đất ngoài đồng gồm: 8 mẫu đất thu thập từ đất phù sa chuyên lúa, 9 mẫu đất thu thập từ đất phù sa luân canh lúa-màu, 5 mẫu đất thu thập từ đất phèn chuyên màu và 8 mẫu đất thu thập từ đất phù sa chuyên màu. Mười lăm mẫu đất ở nhà lưới (mỗi mô hình 5 mẫu, trong đó có 4 mẫu trồng cây cho

mỗi mô hình và 1 mẫu không trồng cây làm đối chứng cho mô hình tương ứng) được thu bằng khoan nhỏ có đường kính 3 cm, lấy mẫu ở độ sâu 0 - 20 cm tại 5 điểm khác nhau phân bố đều trên mỗi chậu.

Sau khi các mẫu đất được thu về phòng thí nghiệm, quần xã vi khuẩn trong các mẫu đất được làm giàu mật số bằng cách tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của quần xã vi khuẩn phân hủy chlorpyrifos ethyl hoạt động nhân mật số. Môi trường khoáng tối thiểu có bổ sung chlorpyrifos ethyl nồng độ 20 ppm được sử dụng để làm giàu mật số quần xã vi khuẩn có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl (Zhu *et al.*, 2010). Mẫu đất được trộn đều, cân 10 g cho vào chai thủy tinh loại 250 mL có nắp đậy, bổ sung 100 mL dung dịch đệm phosphate, lắc với tốc độ 130 vòng/phút trong 1 giờ. Sau đó, hút 1 mL dung dịch trên vào bình tam giác loại 100 mL đã chuẩn bị sẵn môi trường khoáng tối thiểu có bổ sung chlorpyrifos ethyl nồng độ 20 ppm với thể tích nuôi là 24 mL. Do trong dung dịch quá trình quang phân chlorpyrifos ethyl diễn ra rất nhanh chóng. Chu kì bán rã chỉ trong một tháng ở điều kiện nắng nóng (Havens *et al.*, 1992). Vì vậy, nhằm hạn chế tối thiểu quá trình quang phân chlorpyrifos ethyl diễn ra, các bình tam giác nuôi vi khuẩn được lắc liên tục trong tối trên máy lắc tròn với tốc độ 90 vòng/phút (tạo khả năng trao đổi oxy tốt cho dung dịch) ở nhiệt độ phòng thí nghiệm. Dung dịch vi khuẩn ở giai đoạn này được xem là thể hệ nuôi cấy đầu tiên. Khi môi trường trở nên đục theo thời gian nuôi, hút 1 mL dung dịch vi khuẩn của thể hệ nuôi cấy đầu tiên cho vào bình tam giác 100 mL đã tiệt trùng chứa môi trường khoáng tối thiểu mới có bổ sung chlorpyrifos ethyl nồng độ 20 ppm. Quá trình cấy chuyển được lặp lại như vậy 5 lần để tăng mật số quần xã vi khuẩn có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl (đánh giá dựa trên sự gia tăng độ đục của dung dịch sau khoảng 7-10 ngày nuôi cấy). Sau khi mật số quần xã vi khuẩn đã được làm giàu, thí nghiệm được thực hiện nhằm đánh giá khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl của chúng với 2 nghiệm thức cho mỗi quần xã vi khuẩn, mỗi nghiệm thức với 3 lần lặp lại như sau:

Nghiệm thức 1: Đối chứng (4 mL dung dịch khoáng tối thiểu có bổ sung chlorpyrifos ethyl nồng độ 20 ppm)

Nghiệm thức 2: 4 mL dung dịch khoáng tối thiểu có bổ sung chlorpyrifos ethyl nồng độ 20 ppm và 100 μ L dung dịch vi khuẩn (các quần xã vi khuẩn đã được làm giàu mật số ở lần cấy chuyển thứ 5)

Sau 30 ngày nuôi cấy, mẫu nuôi được trích và phân tích để xác định hàm lượng chlorpyrifos ethyl còn lại. Mẫu được trích với hỗn hợp dung môi Toluene: Acetone (2:1) và hàm lượng chlorpyrifos ethyl được đo bằng máy HPLC (Shimadzu-LC20A).

Sau khi đã tuyển chọn được các quần xã vi khuẩn có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl, hỗn hợp DNA của mỗi quần xã vi khuẩn này được trích theo quy trình của Ihmark và đồng tác giả (2012). Sau đó, kỹ thuật PCR-DGGE với cặp mồi 341F-GC/534R được thực hiện và sử dụng phần mềm Gel-Compare để phân tích sự đa dạng và độ tương đồng của cấu trúc quần xã vi khuẩn có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl.

Phân tích và xử lý số liệu

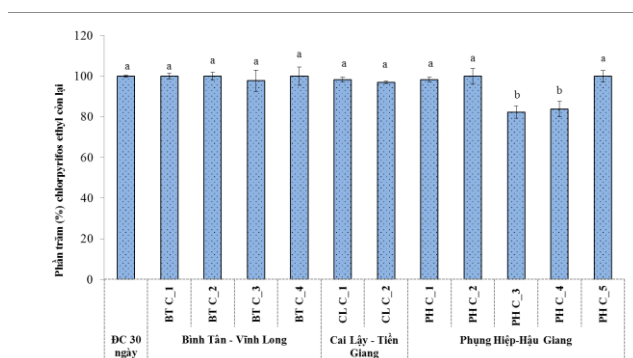
Số liệu đã được nhập bằng phần mềm Excel và xử lý thống kê bằng phần mềm Minitab 16.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả làm giàu mật số và tuyển chọn quần xã vi khuẩn hiếu khí bản địa có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl trong đất phèn và đất phù sa chuyên canh lúa

Các quần xã vi khuẩn mục tiêu được làm giàu mật số trong môi trường khoáng tối thiểu có bổ sung chlorpyrifos ethyl nồng độ 20 ppm. Sau thời gian nuôi cấy khoảng 7 - 10 ngày các dịch nuôi chuyển sang đục hơn so với đối chứng âm, chứng tỏ có vi khuẩn phát triển và có sự gia tăng về mật số. Tuy nhiên, độ đục giữa các mẫu có sự khác nhau. Sau đó, dung dịch nuôi tiếp tục được chuyển sang môi trường khoáng tối thiểu mới có bổ sung chlorpyrifos ethyl ở nồng độ 20 ppm để làm giàu mật số vi khuẩn mục tiêu.

Thí nghiệm nhằm đánh giá khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl trong môi trường khoáng tối thiểu được thực hiện với từng quần xã vi khuẩn tổng số 11 quần xã vi khuẩn có được. Kết quả phân tích hàm lượng chlorpyrifos ethyl còn lại trong các mẫu sau 30 ngày nuôi cấy được thể hiện qua Hình 1.



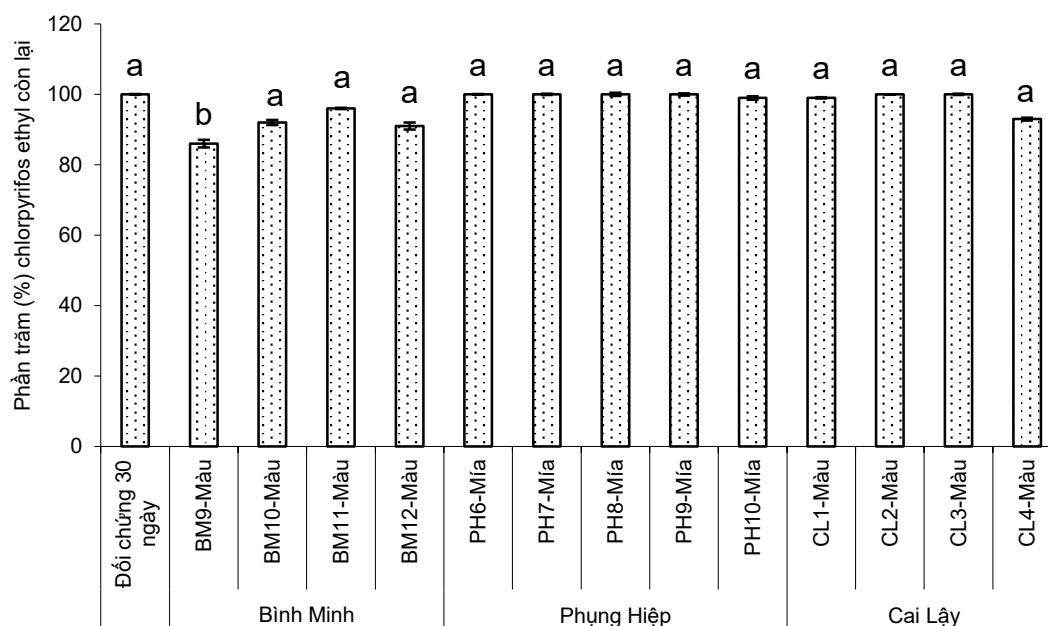
Hình 1. Phần trăm phân hủy chlorpyrifos ethyl của quần xã vi khuẩn trong môi trường khoáng tối thiểu sau 30 ngày nuôi cấy

Kết quả phân tích ở Hình 1 cho thấy, sau 30 ngày nuôi cấy có 2 quần xã vi khuẩn ký hiệu PH_C3 (thu thập trên đất phèn chuyên trồng lúa ở Phùng Hiệp) và PH_C4 (thu thập trên đất phèn chuyên trồng lúa ở Phùng Hiệp) có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl. Quần xã vi khuẩn ký hiệu PH_C3 và PH_C4 phân hủy được lần lượt 17,6% và 16,2% chlorpyrifos ethyl. Với các quần xã vi khuẩn còn lại, vẫn tạo độ đục so với đối chứng, tuy nhiên kết quả phân tích mẫu cho thấy hàm lượng chlorpyrifos ethyl còn lại khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với đối chứng.

Như vậy, 2 quần xã vi khuẩn trong đất phèn chuyên trồng lúa ở huyện Phùng Hiệp, tỉnh Hậu Giang có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl, trong khi 9 quần xã vi khuẩn còn lại trong đất phù sa chuyên trồng lúa thì không có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl.

Kết quả làm giàu mật số và tuyển chọn các quần xã vi khuẩn bản địa có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl trong đất phèn và đất phù sa chuyên màu

Các mẫu đất sử dụng để tuyển chọn quần xã vi khuẩn có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl gồm 13 mẫu từ các ruộng chuyên màu, trong đó có 8 mẫu đất phù sa và 5 mẫu đất phèn. Kết quả phân tích hàm lượng chlorpyrifos ethyl còn lại trong các mẫu sau 30 ngày nuôi cấy được trình bày ở Hình 2.

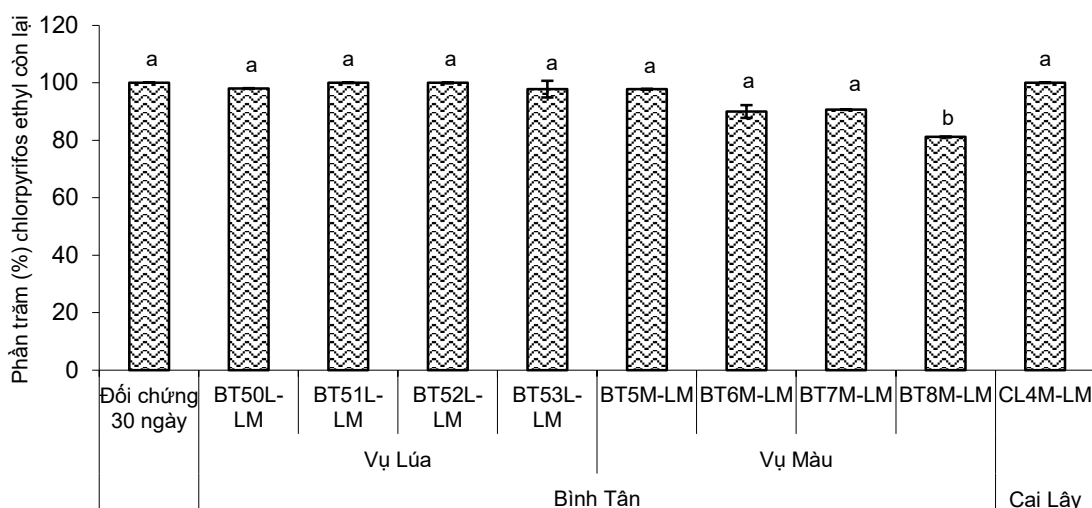


Hình 2. Phần trăm phân hủy chlorpyrifos của quần xã vi khuẩn trong môi trường khoáng tối thiểu sau 30 ngày nuôi cấy

Kết quả ở Hình 2 cho thấy, sau 30 ngày nuôi cấy có 1 quần xã vi khuẩn ký hiệu BM9-Màu (được thu thập trên đất phù sa chuyên màu ở huyện Bình Minh, tỉnh Vĩnh Long) có khả năng phân hủy 14% chlorpyrifos ethyl. Với các quần xã vi khuẩn còn lại, vẫn tạo độ đục so với đối chứng, tuy nhiên hàm lượng chlorpyrifos ethyl còn lại khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với đối chứng.

Kết quả làm giàu mật số và tuyển chọn các quần xã vi khuẩn phân hủy chlorpyrifos ethyl từ đất phù sa luân canh lúa - màu

Các mẫu đất sử dụng để làm giàu mật số và tuyển chọn quần xã vi khuẩn phân hủy chlorpyrifos ethyl gồm 9 mẫu đất phù sa trên mô hình luân canh lúa - màu. Trong đó gồm 1 mẫu ở Cai Lậy (vụ màu), 8 mẫu ở Bình Tân (4 mẫu vụ lúa, 4 mẫu vụ màu). Kết quả phân tích hàm lượng chlorpyrifos ethyl trong các mẫu nuôi có giảm so với mẫu đối chứng (Hình 3).



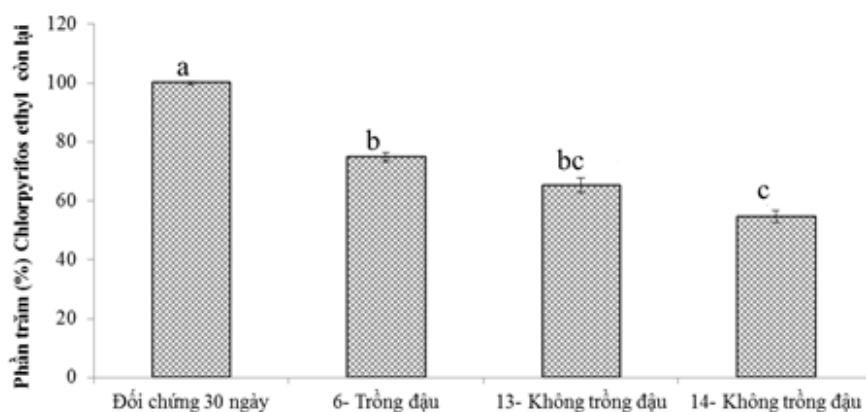
Ghi chú: BT: Bình Tân; CL: Cai Lậy; L- LM: Lúa- Lúa_Màu; M-LM: Màu- Lúa_Màu

Hình 3. Phần trăm phân hủy chlorpyrifos của quần xã vi khuẩn trong môi trường khoáng tối thiểu sau 30 ngày nuôi cấy

Kết quả ở Hình 3 cho thấy, sau 30 ngày nuôi cấy có 1 quần xã vi khuẩn ký hiệu BT8M_LM (thu thập trên đất phù sa luân canh lúa-màu tại Bình Tân) có khả năng phân hủy 18,85% chlorpyrifos ethyl. Các quần xã vi khuẩn còn lại, tuy dung dịch nuôi vẫn tạo độ đục so với đối chứng nhưng hàm lượng chlorpyrifos ethyl còn lại khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với đối chứng.

Kết quả làm giàu mật số và tuyển chọn các quần xã vi khuẩn phân hủy chlorpyrifos ethyl trong đất phù sa ở điều kiện nhà lưới

Các mẫu đất sử dụng để làm giàu mật số và tuyển chọn quần xã vi khuẩn có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl gồm 15 mẫu đất trên 3 mô hình canh tác chuyên lúa (5 mẫu: 4 mẫu trồng lúa và 1 mẫu đối chứng không trồng lúa), 2 lúa - 1 màu (5 mẫu ở vụ lúa: 4 mẫu trồng lúa và 1 mẫu không trồng lúa) và chuyên màu (5 mẫu: 4 mẫu trồng đậu và 1 mẫu không trồng đậu). Sau 30 ngày nuôi cấy, kết quả phân tích hàm lượng chlorpyrifos ethyl cho thấy chỉ có 3 trong tổng số 15 quần xã vi khuẩn có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl. Khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl của 3 quần xã vi khuẩn được trình bày ở Hình 4.



Hình 4. Phần trăm phân hủy chlorpyrifos ethyl của 3 quần xã vi khuẩn

Kết quả thí nghiệm được trình bày ở Hình 4 cho thấy hàm lượng chlorpyrifos ethyl trung bình còn lại ở 3 mẫu đất ký hiệu 6-Trồng đậu, 13-Không trồng đậu và 14-Không trồng đậu giảm và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng ở thời điểm 30 ngày. Điều này chứng tỏ quần xã vi khuẩn trong 3 mẫu đất ký hiệu 6-Trồng đậu, 13-Không trồng đậu và 14-Không trồng đậu có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl và phần trăm phân hủy lần lượt là 25,1%, 34,8% và 45,3%. Như vậy, đất ở điều kiện hiếu khí (mô hình chuyên màu nhưng không trồng cây)

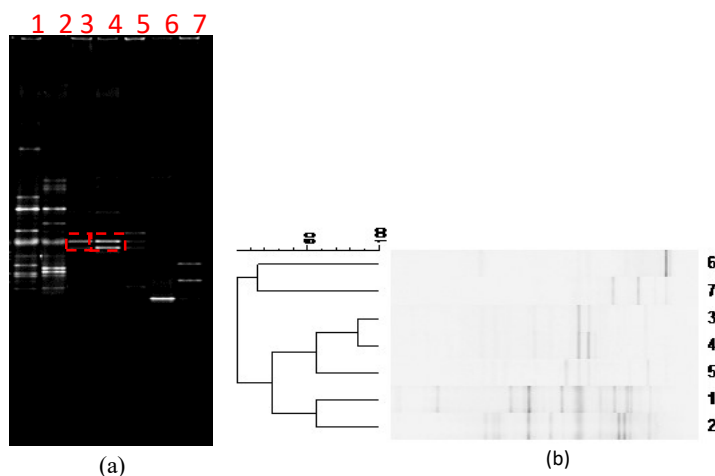
đã tuyển chọn được 2 quần xã vi khuẩn có khả năng phân hủy tốt chlorpyrifos ethyl và trên mô hình 2 lúa - 1 màu đã tuyển chọn được 1 quần xã vi khuẩn có khả năng phân hủy tốt chlorpyrifos ethyl từ đất trồng đậu. Kết quả của thí nghiệm này cho thấy mô hình canh tác và cây trồng đã ảnh hưởng đến quá trình hình thành các quần xã vi khuẩn có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl. Cụ thể, trong điều kiện thoáng khí (đất chuyên màu) và không trồng cây hoặc điều kiện ngập khô xen kẽ (2 lúa - 1 màu) và trồng cây đậu là điều kiện thuận lợi để giúp hình thành các quần xã vi khuẩn hiếu khí có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl. Đồng thời, các quần xã vi khuẩn này đã góp phần thúc đẩy quá trình phân hủy chlorpyrifos ethyl trong đất.

Kết quả đánh giá sự đa dạng về cấu trúc di truyền của các quần xã vi khuẩn có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl đã được tuyển chọn

7 quần xã vi khuẩn có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl mạnh được tuyển chọn để đánh giá sự đa dạng di truyền (trong đó 2 quần xã từ đất phèn chuyên lúa, 1 quần xã từ đất phù sa chuyên màu, 1 quần xã từ đất phù sa luân canh lúa - màu và 3 quần xã từ đất phù sa trong điều kiện nhà lưới). Kết quả sự đa dạng về cấu trúc và độ tương đồng của 7 quần xã vi khuẩn được trình bày ở Hình 5a và 5b. Trong điện di đồ Hình 5a các giếng 1, 2, 6 và 7 là cấu trúc của 4 quần xã vi khuẩn có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl đã tuyển chọn được từ đất phèn và đất phù sa ở điều kiện ngoài đồng. Trong đó, 2 quần xã vi khuẩn (giếng 6 và 7) có nguồn gốc từ đất phèn chuyên lúa ở huyện Phụng Hiệp, tỉnh Hậu Giang có độ tương đồng khoảng 15% (Hình 5b) và có ít vạch DNA. Điều này chứng tỏ trong 2 quần xã vi khuẩn này có ít loài vi khuẩn hơn các quần xã vi khuẩn khác. Bên cạnh đó, ở giếng số 1 và 2 là cấu trúc của 2 quần xã vi khuẩn có nguồn gốc từ đất phù sa chuyên màu và luân canh lúa - màu (mẫu đất ở vụ màu) có độ tương đồng khoảng 55% và có nhiều vạch DNA. Điều này chứng tỏ trong 2 quần xã vi khuẩn này có nhiều loài vi khuẩn hơn các quần xã vi khuẩn khác (Hình 5b). Qua kết quả cho thấy trên cùng 1 loại đất (đất phèn hoặc đất phù sa), cùng điều kiện môi trường thoáng khí hoặc yếm khí và cùng 1 hình thức tuyển chọn ở phòng thí nghiệm (nuôi trong dung dịch khoáng tối thiểu có bổ sung chlorpyrifos ethyl) đã tuyển chọn được các quần xã vi khuẩn có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl có cấu trúc với xu hướng tương đồng với nhau. Đồng thời kết quả điện di đồ còn cho thấy 2 quần xã vi khuẩn được tuyển chọn từ đất phù sa (giếng 1 và 2) có sự đa dạng về loài vi khuẩn cao hơn 2 quần xã vi khuẩn được chọn lọc từ đất phèn (giếng 6 và 7). Kết quả này phù hợp với kết quả phân lập các dòng vi khuẩn có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl từ đất phèn và đất phù sa của 3 mô hình canh tác chuyên lúa, lúa - màu và chuyên màu.

Mặt khác, các giếng 3, 4 và 5 là cấu trúc của những quần xã vi khuẩn có nguồn gốc từ đất phù sa trong điều kiện nhà lưới. Trong đó, quần xã vi khuẩn ở giếng 3 và 4 có cấu trúc tương đồng 85% và 2 quần xã này tương đồng với quần xã vi khuẩn ở giếng 5 khoảng 57% (Hình 5b). Hai quần xã vi khuẩn ở giếng 3 và 4 có độ tương đồng cao là do được tuyển chọn trong điều kiện giống nhau: môi trường hiếu khí, có phun chlorpyrifos ethyl và không trồng cây. Điều này cho thấy, từ 1 quần xã vi khuẩn ban đầu (một mẫu đất phù sa chuyên lúa được thu ở Cai Lậy), qua thời gian dài (3 năm bố trí thí nghiệm trong chậu), với điều kiện chọn lọc khác nhau (thay đổi mô hình canh tác), tạo nên áp lực chọn lọc khác nhau dẫn đến sự hình thành 2 nhóm quần xã vi khuẩn có cấu trúc khác nhau. Ngoài ra, ở mỗi giếng có những vạch DNA (các vạch được đánh dấu ở giếng 3, 4) đậm hơn các vạch còn lại trong cùng 1 giếng (Hình 5a), rất có thể đây là những vạch DNA của những dòng vi khuẩn có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl nên chúng đã gia tăng mật số trong môi trường khoáng tối thiểu có bổ sung chlorpyrifos ethyl.

Như vậy, kết quả của nghiên cứu này chứng minh được rằng mô hình canh tác đã trực tiếp quyết định đến cấu trúc, đến thành phần loài của quần xã vi khuẩn có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl.



Hình 5. Điện di đồ sản phẩm PCR-DGGE (a) và độ tương đồng (b) của 7 quần xã vi khuẩn đã tuyển chọn

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã tuyển chọn được 7 quần xã vi khuẩn có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl (4 quần xã từ đất phèn và đất phù sa ở điều kiện đồng ruộng, 3 quần xã từ đất phù sa ở điều kiện nhà lưới). Trong đó, 3 quần xã vi khuẩn được phân lập từ đất ở điều kiện nhà lưới có khả năng phân hủy chlorpyrifos ethyl cao hơn 4 quần xã vi khuẩn được tuyển chọn từ đất ở điều kiện đồng ruộng. Kết quả phân tích sự đa dạng di truyền của các quần xã vi khuẩn phân hủy chlorpyrifos ethyl cho thấy 7 quần xã vi khuẩn có khả năng phân hủy Chlorpyrifos ethyl đã được tuyển chọn có độ tương đồng 15 - 85%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Galani STS, Ageen M, Shah H, Raza S (2010). Chlorpyrifos degradation in soil and its effect on soil microorganisms. *J Ani Plant Sci*: 99-102.
- Gangming Xu, Wei Z, Li Y, Shenghui W, Jingshun Z, Yanchun Y (2008). Biodegradation of chlorpyrifos and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol by a newly isolated *Paracoccus* sp. TRP. *Int Biodeterior Biodegrade* 62(1): 51-56.
- Gebremariam SY, Beutel MW, Yonge DR, Flury M, Harsh JB (2012). Adsorption and desorption of chlorpyrifos to soils and sediments. *Rev Environ Contam Toxicol* 215: 123-75.
- Havens PL, Kieatiwong S, Shepler K (1992). The Photochemical Degradation of Chlorpyrifos on Soil by Natural Sunlight. PTRL Project No 254W. Unpublished.
- Ihrmark K, Inga TM, Bödeker KCM, Hanna F, Ariana K, Jessica S, Ylva S, Jan S, Mikael BD, Karina EC, Björn DL (2012). New primers to amplify the fungal ITS2 region - evaluation by 454-sequencing of artificial and natural communities. Article first published online: DOI: 10.1111/j.1574-6941.2012.01437.x.
- Singh BK, Walker A, Morgan JAW, Wright DJ (2004). Biodegradation of chlorpyrifos by *Enterobacter* strain B-14 and its use in bioremediation of contaminated Soils. *Appl Environ Microbiol* 70: 4855-4863.
- Trần Quang Hùng (1999). *Thuốc bảo vệ thực vật*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội. 350 trang.
- Yang C, Liu N, Xinmin G, Qiao C (2006). Cloning of mpd gene from a chlorpyrifos-degrading bacterium and use of this strain in bioremediation of contaminated soil. *FEMS Microb Rev* 265: 118-125.
- Zhu J, Zheo Y, Qiu J (2010). Isolation and Application of a Chlorpyrifos degrading *Bacillus licheniformis* ZHU-1. *Afr J Microbiol Res* 4(24): 2716-2719.

SELECTION AND EVALUATION OF DIVERSITY AEROBIC BACTERIA COMMUNITIES WHICH CHLORPYRIFOS-DEGRATING IN SOIL AGRICULTURE IN THE MEKONG DELTA

Truong Quoc Tat^{1*}, Duong Minh Vien²

¹ The Faculty of Agriculture and Food Technology - Tien Giang University

² The Faculty of Agriculture - Can Tho University

SUMMARY

The objective of this study is to enrich the population, select and evaluate the diversity of aerobic bacteria communities capable of Chlorpyrifos-degrading in soil paddy rice, rice-upland crop, upland crop. Fifty soil samples, include 35 soil samples were taken from soil in field which was collected 10 points/field randomly from 0 - 20 cm depth and 15 soil samples were taken from soil in the greenhouse which was collected 5 points/bowl. Chlorpyrifos-degrading bacteria was isolated from the soil samples by the enrichment culture technique on mineral salt minimum added chlorpyrifos (20ppm), using chlorpyrifos as the sole source of carbon. After 30 days incubation, samples were extracted and analyzed to determine the remaining chlorpyrifos content. After selecting bacteria communities, the DNA mixture of each bacterial community was extracted and run PCR-DGGE with 341F-GC/534R primers, Gel-compare software was used to compare the similar between bacterial communities. The results showed that there were 7 chlorpyrifos degradable-bacterial communities were selected. Among them, 4 bacterial communities were selected from 4 soil samples in field and 3 bacterial communities were selected from 3 soil samples in the greenhouse. Results of analyzing the genetic diversity of the disintegrating bacteria communities of chlorpyrifos show that the two bacterial communities originating from acid sulphate soil in Hau Giang province have similarity about 15%; two bacterial communities originating from alluvial soil specializing in upland crop and rice-upland crop (soil sample in upland crop) have the similarity about 55%; The three bacterial communities are derived from alluvial soil in the greenhouse structure with homogeneity of 57-85%.

Keywords: Chlorpyrifos ethyl, aerobic bacteria, paddy rice, rice-upland crop, upland crop, alluvial soil, acid sulfate soil.

* Author for correspondence: Tel: 0778739392; Email: truongquocatat@tgu.edu.vn