

NGHIÊN CỨU SỰ BIẾN ĐỘNG CẤU TRÚC CỦA TẬP ĐOÀN VI SINH VẬT TRONG QUÁ TRÌNH XỬ LÝ ĐẤT BỊ NHIỄM CHẤT DIỆT CỎ CHỨA ĐI-Ô-XIN Ở QUY MÔ HIỆN TRƯỜNG BẰNG CÔNG NGHỆ PHÂN HỦY SINH HỌC

NGUYỄN BÁ HỮU, ĐẶNG THỊ CẨM HÀ

Viện Công nghệ sinh học

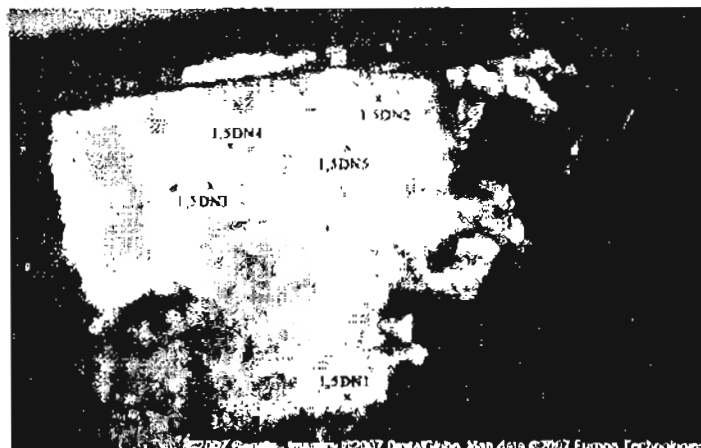
Công nghệ phân hủy sinh học đang được triển khai để xử lý đất bị nhiễm chất diệt cỏ chứa đi-ô-xin (DC) tại căn cứ quân sự cũ của Mỹ ở sân bay Đà Nẵng và có các kết quả rất tốt [2]. Tuy nhiên, để áp dụng công nghệ này ở quy mô lớn, cần có các nghiên cứu thử nghiệm ở quy mô nhỏ hiện trường nhằm theo dõi, điều khiển tập đoàn vi sinh vật cũng như xác định các điều kiện thuận lợi cho quá trình khử độc. Vi sinh vật nuôi cấy được chỉ chiếm khoảng 0,01 - 10% tổng số vi sinh vật ở tự nhiên [11]. Do vậy, để đánh giá chính xác tập đoàn vi sinh vật trong tự nhiên cũng như trong quá trình xử lý, cần có các công cụ và phương pháp thích hợp. Hiện nay, kỹ thuật sinh học phân tử dựa trên phân tích axit nucleic, trong đó có phân tích SSCP (đa hình cấu trúc sợi đơn) của gen 16S rARN, đang được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu sinh thái học vi sinh vật [11, 12]. Trong nghiên cứu này, kỹ thuật SSCP đã được sử dụng để đánh giá sự biến động cấu trúc của tập đoàn vi sinh vật trong các công thức xử lý khử độc đất bị nhiễm nồng độ khác nhau của chất

DC ở quy mô nhỏ hiện trường 1,5 m³ tại Đà Nẵng. Các kết quả thu được sẽ giúp các nhà khoa học và công nghệ điều khiển hoạt động của các nhóm vi sinh vật để tăng khả năng chuyển hoá, phân hủy các chất DC.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Mẫu đất nhiễm

Đất tại 5 điểm có hàm lượng DC khác nhau tại căn cứ quân sự cũ ở sân bay Đà Nẵng, được lấy ở diện tích khoảng 3 m²/điểm với chiều sâu 60 cm. Đất tại mỗi điểm được trộn đều và lấy khoảng 1300 kg đất cho vào các thùng nhựa có thể tích 1,5 m³. Thử nghiệm khử độc được tiến hành ở 5 thùng có ký hiệu từ 1,5 DN1 đến 1,5 DN5 (hình 1). Các thùng này được bổ sung nước, nguồn nitơ, photpho, chất hoạt động bề mặt sinh học và các nguồn cacbon.... Mẫu đất trong các công thức xử lý được lấy ở 3 đợt, mỗi đợt cách nhau khoảng 6 tháng. Mẫu được bảo quản ở 4°C đến khi phân tích.



Hình 1. Sơ đồ 5 vị trí thử nghiệm xử lý đất bị nhiễm chất DC tại căn cứ quân sự cũ của Mỹ tại sân bay Đà Nẵng

2. Tách ADN tổng số và PCR

ADN tổng số từ các mẫu đất được tách và làm sạch theo Fast Prep Soil DNA Extraction Kit (Bio101). Cặp mồi Com1 và Com2 được dùng để nhân đoạn gen 16S rARN khoảng 400 bp, hỗn hợp phản ứng và chu trình nhiệt được thực hiện như mô tả của Nguyễn Bá Hữu và cs. [12].

3. PCR-SSCP

Sản phẩm PCR được làm sạch bởi kit QIAquick, cắt sợi đơn có mồi Com2 bằng enzym lamda exonuclêaza ở nhiệt độ 37°C. Tiếp theo, làm sạch ADN sợi đơn, hoà trong 6 µl chất mẫu SSCP và biến tính ADN ở nhiệt độ 94°C. Chạy điện di mẫu ADN trên thiết bị Bio-Rad DCode™ ở 250V trong 18 giờ, ở nhiệt độ 20°C trên gel MDE 0,625X trong đệm TBE IX. Mẫu ADN được nhuộm bạc, cắt và thời ADN.

4. Xác định trình tự nucleotit của gen và phân tích độ đa dạng dựa trên cây phát sinh chủng loại

Trình tự nucleotit của đoạn gen 16S rARN được xác định trên máy xác định trình tự nucleotit tự động ABI PRISM 3130xl Genetic Analyzer và xử lý bởi phần mềm Sequencher version 4.0.5. Cây phát sinh chủng loại của các đoạn gen 16S rARN trong mẫu đất được thiết kế theo mô tả của Nguyễn Bá Hữu và cs. [13] dựa trên sự so sánh trình tự của đoạn gen 16S rARN với cơ sở dữ liệu GenBank và Ribosome Database Project (RDP). Các trình tự của đoạn gen 16S rARN được đăng ký trên GenBank.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Độ đa dạng vi sinh vật trong các mẫu đất bị nhiễm chất DC

ADN tổng số của 15 mẫu đất được chiết và làm sạch theo kit Fast Prep Soil DNA Extraction. Khi tiến hành PCR nhân vùng V4 đến V5 của gen mã hóa 16S rARN, đều thu được sản phẩm PCR có kích thước khoảng 400 bp như tính toán lý thuyết từ ADN tổng số của tất cả các mẫu.

Sản phẩm PCR được làm sạch, cắt sợi đơn có mồi phosphorylated bằng enzym exonuclêaza và sau đó phân tách các sợi đơn trên gel acrylamit như mô tả ở phần phương pháp (hình 2). Kết quả cho thấy mức độ đa dạng khác nhau giữa các công thức xử lý và giữa các đợt lấy mẫu. Các

công thức 1,5DN4 và 1,5DN5 có độ đa dạng thấp hơn so với các công thức xử lý khác. Tập đoàn vi sinh vật trong công thức xử lý 1,5DN1 có độ đa dạng vi sinh vật lớn nhất trong 5 công thức xử lý. Mẫu đất của công thức xử lý này được lấy tại mép của bãi nhiễm nơi có cỏ mọc. Hàm lượng các chất DC thấp hơn các mẫu ở giữa bãi như 1,5DN3, 1,5DN4 và 1,5DN5. Mẫu 1,5DN5 ở giữa bãi bị nhiễm độc cao nhất. Mẫu đất 1,5DN4 có độ ẩm thấp và hàm lượng các chất DC cao. Như vậy, hàm lượng các chất DC tại các công thức xử lý có thể đã ảnh hưởng đến tính đa dạng cấu trúc của tập đoàn vi sinh vật ở các mẫu đất này. Các công bố của các tác giả khác trên thế giới đều cho thấy ảnh hưởng tương tự của các chất DC đến tập đoàn vi sinh vật đất [9, 17].

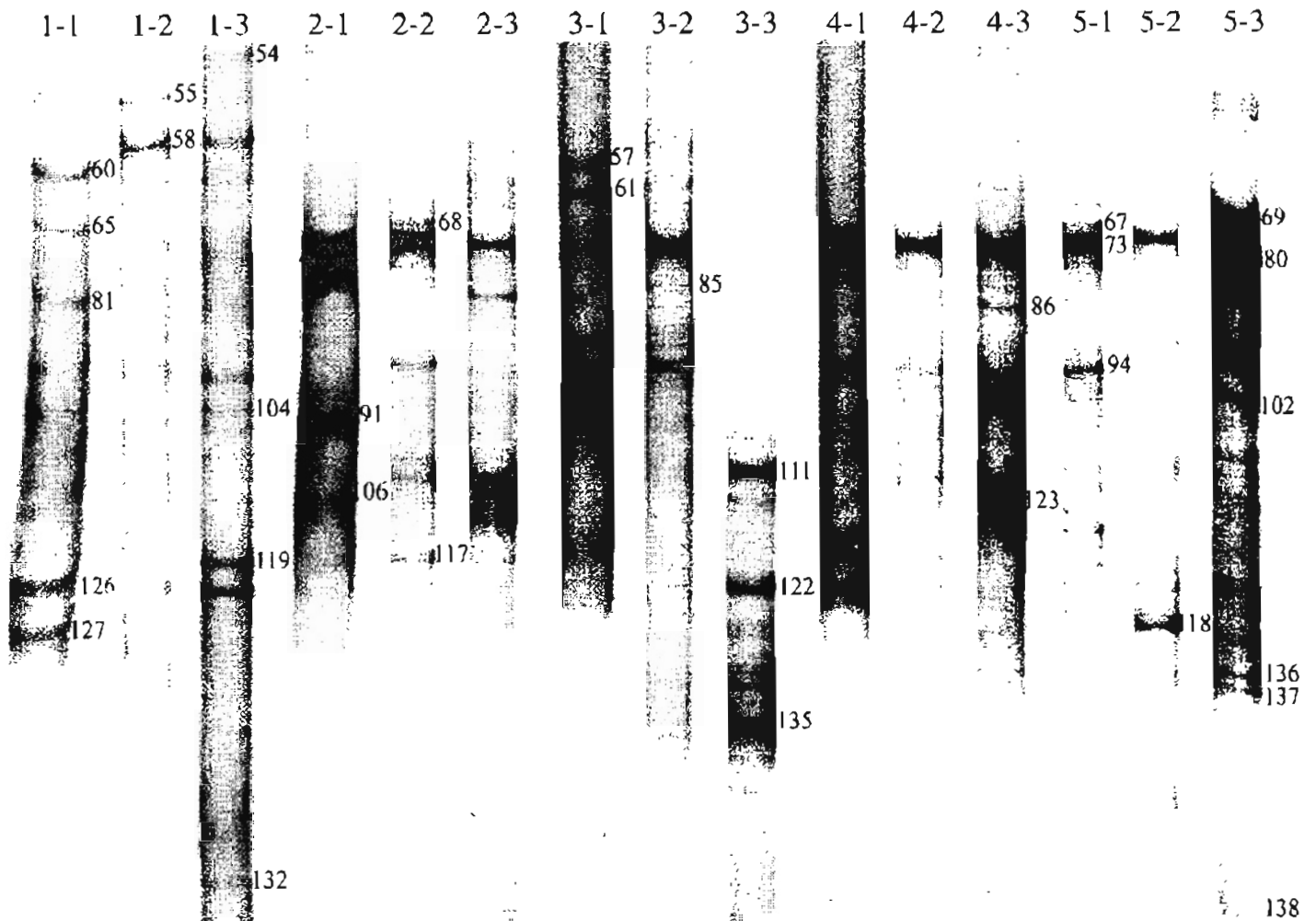
Mục đích của thử nghiệm là xác định ở nồng độ chất DC nào, công nghệ phân hủy sinh học vẫn có hiệu quả khử độc. Ở công thức 1,5DN5, nồng độ di-ô-xin tương đối cao, tổng độ độc lên tới hơn 260.000 pg TEQ/g đất [2].

Kết quả nghiên cứu sự biến động của tập đoàn vi sinh vật thông qua nuôi cấy trong các công thức xử lý đất bị nhiễm chất DC tại Đà Nẵng (1,5 m³) cho thấy 8 loại vi khuẩn thật và 2 loại xạ khuẩn đã được phân lập [2]. Tuy nhiên, trên gel SSCP, số lượng băng ADN nhiều hơn hẳn. Một số băng ADN đậm và đặc trưng đã được cắt từ gel và xác định trình tự. Kết quả ở bảng 1 và hình 2 cho thấy các dòng thuộc 8 lớp vi khuẩn khác nhau. Các lớp này bao gồm *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, *Deltaproteobacteria*, *Acidobacteria*, *Bacteroides*, *Sphingobacteria* và *Bacilli*. Công bố gần đây của Nguyễn Bá Hữu và cs. [12] cho thấy có sự tồn tại của 5 lớp vi khuẩn bao gồm *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, *Actinobacteria*, và *Acidobacteria* trong 9 mẫu tại bãi bị nhiễm chất DC ở Đà Nẵng. Như vậy, cũng bằng kỹ thuật SSCP, đã phát hiện thêm sự có mặt của bốn lớp vi khuẩn *Deltaproteobacteria*, *Bacteroides*, *Sphingobacteria* và *Bacilli*. Tuy nhiên, nhóm vi khuẩn *Actinobacteria* chưa được tìm thấy trong số các dòng ở các công thức xử lý 1,5DN.

Trong một nghiên cứu khác xử lý đất bị nhiễm chất DC tại Đà Nẵng ở quy mô 0,5 m³, Nguyễn Bá Hữu và cs. cũng sử dụng kỹ thuật tương tự đã phát hiện 7 lớp vi khuẩn bao gồm *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*,

Gammaproteobacteria, *Clostridia*, *Actinobacteria*, *Bacteroides* và *Bacilli* trong các công thức 0,5DN. So sánh cấu trúc của tập đoàn vi sinh vật trong hai quy mô xử lý đất bị nhiễm cho thấy có sự khác nhau rõ rệt. Sự khác biệt giữa các công thức 1,5DN và 0,5DN là đất ở các công thức 0,5DN được lấy tại một điểm và trộn đồng nhất. Trong các công thức xử lý 0,5 m³, đã phát hiện

một số dòng có quan hệ gần gũi với các vi khuẩn kỵ khí *Clostridium*, *Tissierella*, vi khuẩn kỵ khí tùy tiện *Lactobacillus* và *Dysgonomonas mossii*. Trong các công thức xử lý 0,5 m³, có bổ sung phụ phẩm từ sản xuất đường và các chất hoạt động bề mặt sinh học nên có thể là nguồn dinh dưỡng thuận lợi hơn cho sự phát triển của các nhóm vi sinh vật kể trên.

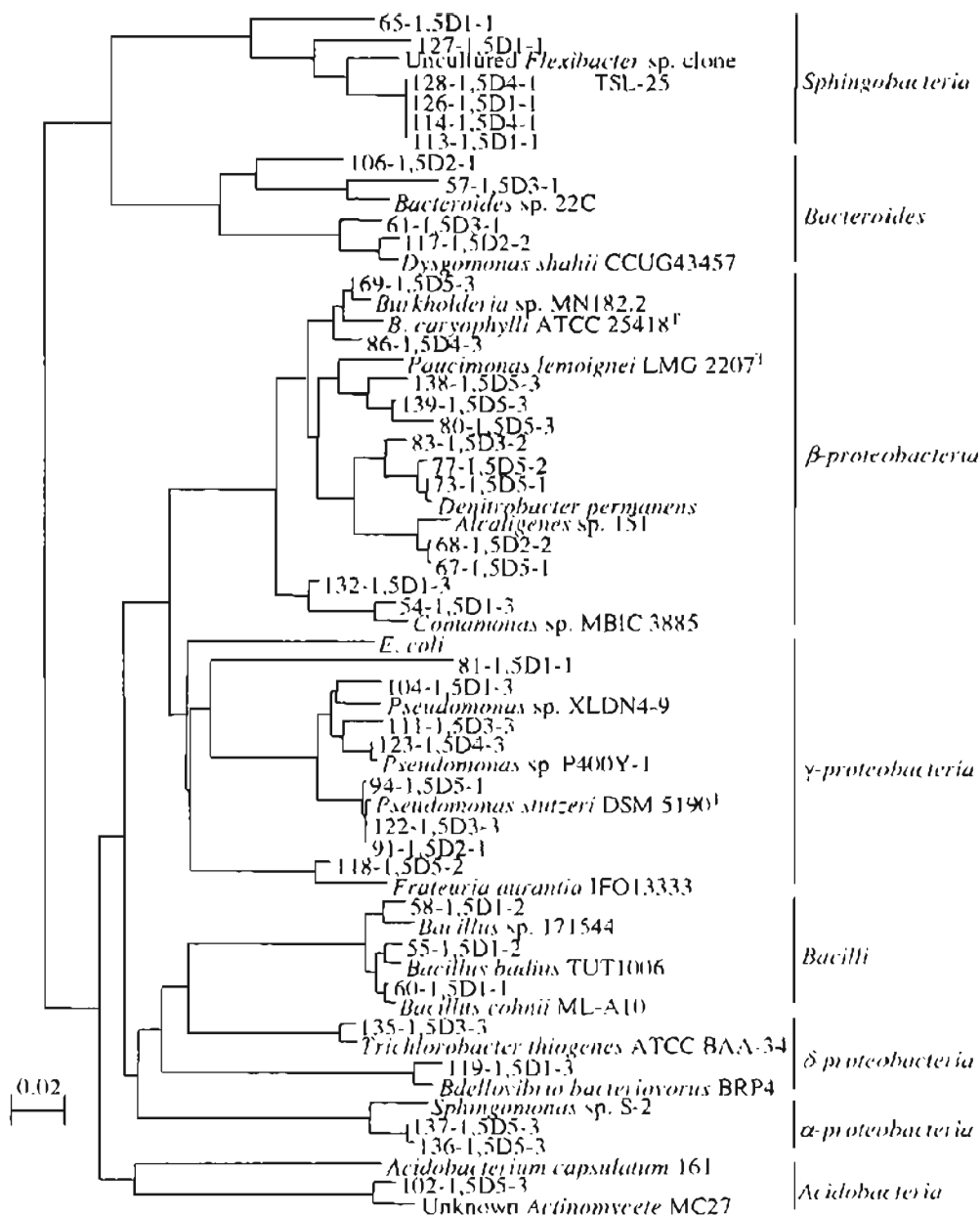


Hình 2. Điện di đồ SSCP đoạn gen 16S rARN trong các tập đoàn sinh vật ở các công thức khử độc đất bị nhiễm chất DC

(1- 1). 5DN1; (2- 1). 5DN2; (3- 1). 5ND3; 4- 1,5DN4, 5- 1,5ND5; 1-1, 1-2... đến 5-3, tương ứng với ba đợt lấy mẫu ở 5 công thức xử lý Số ghi bên phải các băng ADN là tên của các dòng được xác định trình tự nucleôtit

Hiện nay, nhiều nhóm vi sinh vật kỵ khí khử loại clo đã được phát hiện [6]. Đặc biệt, hai chủng vi khuẩn *Dehalococcoides* sp. CBDB1 và *Dehalococcoides* sp. 195 có khả năng khử loại clo của các hợp chất di-ô-xin chứa nhiều clo thành di-ô-xin với số nguyên tử clo ít hơn, thậm chí đến hợp chất di-ô-xin không có clo [3, 6]. Trong công bố gần đây, Nguyễn Bá Hữu và cs. [13] đã phát hiện sự tồn tại của nhóm vi khuẩn này trong công thức “chôn lấp tích cực” 10DNT khử độc đất bị nhiễm chất DC tại Đà Nẵng bằng

công nghệ phân hủy sinh học. Tuy nhiên, điều kiện kỵ khí ở các công thức xử lý 1,5 m³ đều không cao như ở công thức 10DNT; ngoài ra, để phát hiện nhóm *Dehalococcoides*, cần phải sử dụng kỹ thuật PCR lồng với mỗi đặc hiệu cho nhóm vi sinh vật này. Trong nghiên cứu này, đã phát hiện sự tồn tại của các nhóm vi khuẩn kỵ khí khử loại clo như *Trichlorobacter thiogenes*. Vi khuẩn này cũng được tìm thấy trong các bùn bị nhiễm di-ô-xin ở Bitterfel, CHLB Đức [1].



Hình 3. Cây phát sinh chủng loại của một số dòng được tách từ gel SSCP ở các công thức xử lý đất nhiễm chất DC tại Đà Nẵng ở quy mô 1,5 m³ và các chủng vi khuẩn đại diện trên GenBank. Thước đo phản ánh sự sai khác của 2 nucleôtit trên 100 nucleôtit so sánh

Bên cạnh sự phát hiện của chi vi khuẩn kỵ khí kể trên, một số nhóm vi sinh vật khác cũng được tìm thấy ở các công thức xử lý 1,5DN1 đến 1,5DN5. Đáng lưu ý ở đây là vi khuẩn của các chi *Pseudomonas*, *Escheria* và *Citrobacter*. Do có bổ sung nước từ các ao, hồ lân cận nên vi khuẩn thuộc hai chi *Escheria* và *Citrobacter* tồn tại sẵn trong nguồn nước này có thể đã đi vào các công thức xử lý. Trong các đợt lấy mẫu, đều phát hiện nhóm vi khuẩn *Pseudomonas*, trong đó có *P. stutzeri*. Kết quả ở hình 3 và bảng 1 cho thấy các dòng có mức tương đồng cao với vi khuẩn *P. stutzeri* phân bố khá phổ biến và trội trong các công thức xử lý. Một số chủng

Pseudomonas sp. HH69, *P. resinovorans* CA10, *P. fluorescens* TTC1, *P. fluorescens* BS243, *P. aeruginosa*, *P. putida* G7, *P. putida* BS291, *P. putida* PH-01, *Pseudomonas* sp. F274, *P. stutzeri* OM1, *P. stutzeri* ATCC 31258 và *P. veronii* PH-0 có khả năng chuyển hoá dibenzofuran, di-ô-xin và các hợp chất tương tự [5, 7]. Sự tồn tại của vi khuẩn *P. stutzeri* cho thấy quá trình xử lý đã tạo điều kiện thuận lợi cho sự sinh trưởng của vi khuẩn này. Tuy nhiên, cần có các nghiên cứu sâu hơn để đánh giá vai trò của nhóm vi khuẩn này, cũng như các nhóm vi khuẩn khác trong quá trình làm sạch chất ô nhiễm.

Mối quan hệ giữa một số dòng đại diện được tách từ gel SSCP và các vi khuẩn đã công bố

Dòng	Số đăng ký GenBank	Mối quan hệ với các vi khuẩn đã công bố		
		Lớp	Vi khuẩn gần gũi nhất	% tương đồng
54-1,5DN1-3	EF490615		<i>Comamonas</i> sp. OS-3	95,6
67-1,5DN5-1	EF490617		Arsenite-oxidizing bacterium ' <i>Alcaligenes fecalis</i> (HLE)'	95,1
68-1,5DN2-2	EF490608		<i>Achromobacter xylosoxidans</i> TKW4	98,2
69-1,5DN5-3	EF490616	Beta-	<i>Burkholderiaceae</i> bacterium 005-D	93,9
73-1,5DN5-1	EF490609	proteobacteria	<i>Alcaligenes</i> sp. NKNTAU	95,4
77-1,5DN5-2	EF490635		Uncultured <i>Alcaligenes</i> bacterium 015B-B03	98,8
80-1,5DN5-3	EF490607		<i>Limnobacter thiooxidans</i> CS-K2 ^T	82,2
83-1,5DN3-2	EF490619		<i>Alcaligenes defragrans</i> 54Pin ^T	97,5
86-1,5DN4-3	EF490618		<i>Burkholderia brasiliensis</i> M130	83,5
55-1,5DN1-2	EF490636		<i>Bacillus badius</i> ATCC 14574 ^T	95,9
58-1,5DN1-2	EF490610	Bacilli	<i>Bacillus azotoformans</i> DSM1046 ^T	91,3
60-1,5DN1-1	EF490629		<i>Bacillus</i> sp. LMG 18435	98,1
57-1,5DN3-1	EF490612		Uncultured <i>Dysgonomonas</i> bacterium KF-Gitt2-47	69,5
61-1,5DN3-1	EF490631		<i>Dysgonomonas mossii</i> CCUG 43457 ^T	96,2
65-1,5DN1-1	EF490634		Uncultured <i>Bacteroidetes</i> bacterium Blfcii37	77,6
106-1,5DN2-1	EF490632	Bacteroidetes	Uncultured <i>Dysgonomonas</i> bacterium 5.35	68,0
113-1,5DN1-1	EF490638		Uncultured <i>Bacteroidetes</i> bacterium KD4-19	81,1
114-1,5DN4-1	EF490605		Uncultured <i>Bacteroidetes</i> bacterium KD4-19	79,6
117-1,5DN2-2	EF490611		<i>Dysgonomonas mossii</i> CCUG 43457 ^T	98,0
126-1,5DN1-1	EF490630		Uncultured <i>Bacteroidetes</i> bacterium KD4-19	81,2
128-1,5DN4-1	EF490606		Uncultured <i>Bacteroidetes</i> bacterium KD4-19	81,3
91-1,5DN2-1	EF490624		<i>Pseudomonas stutzeri</i> DSM 5190 ^T	99,2
94-1,5DN5-1	EF490633		<i>Pseudomonas stutzeri</i> 24a50	95,8
104-1,5DN1-3	EF490622	Gamma-	<i>Pseudomonas</i> sp. B13	99,4
122-1,5DN3-3	EF490623	proteobacteria	<i>Pseudomonas stutzeri</i> BG-2	98,5
123-1,5DN4-3	EF490604		<i>Pseudomonas</i> sp. P400Y-1	98,3
118-1,5DN5-2	EF490625		<i>Xanthomonadaceae</i> bacterium DR2A-55G1	91,9
102-1,5DN5-3	EF490639	Acidobacteria	Uncultured <i>Acidobacteria</i> bacterium YNPRH5A	98,5
119-1,5DN1-3	EF490614	Delta-	<i>Bdellovibrio bacteriovorus</i> BEP2	90,1
135-1,5DN3-3	EF490613	proteobacteria	<i>Geobacter</i> sp. CdA-2	91,2
127-1,5DN1-1	EF490637	Sphingobacteria	Uncultured gold mine bacterium D17	84,1
136-1,5DN5-3	EF490628	Alpha-	Uncultured <i>Sphingomonas</i> bacterium WD208	90,7
137-1,5DN5-3	EF490627	proteobacteria	Uncultured <i>Sphingomonas</i> bacterium WD208	90,5

Trong tất cả các công thức xử lý, đều thấy sự hiện diện của các băng ADN trội và có quan hệ gần với các vi khuẩn thuộc các chi *Burkholderia*, *Alcaligenes*, *Comamonas* và *Achromobacter* trong lớp *Beta Proteobacteria*. Các vi khuẩn thuộc các chi này cũng là những nhóm chiếm ưu thế trong các mẫu đất thu thập tại các vị trí khác nhau ở bãi nhiễm này. Nhiều vi khuẩn thuộc lớp này có khả năng sử dụng 2,4-D, 2,4,5-T, di-ô-xin và các hợp chất tương tự [5, 8]. Kết quả trong nghiên cứu này cũng phù hợp với một số phát hiện của các tác giả khác về độ đa dạng vi sinh vật trong đất bị nhiễm chất diệt cỏ, và PCB (polychlorinated biphenyl). Nghiên cứu của Rice và cs. cho thấy các tác động chọn lọc tự nhiên của vi khuẩn sử dụng 2,4-D và 2,4,5-T trong đất bị nhiễm chất DC ở căn cứ quân sự ở Florida-Mỹ [15]. Vi khuẩn sử dụng 2,4-D và 2,4,5-T phân lập được có quan hệ cao với các loài của chi *Burkholderia* [15]. Công bố của Tiedje và cs. cũng cho thấy các chủng vi khuẩn chiếm ưu thế trong đất có sử dụng 2,4-D thuộc về chi *Burkholderia* [17]. Nogales và cs. khi đánh giá độ đa dạng vi sinh vật trong đất bị nhiễm PCB (dạng hợp chất có cấu trúc tương tự di-ô-xin) đã phát hiện vi khuẩn thuộc chi *Burkholderia* chiếm ưu thế trong tập đoàn vi sinh vật [14].

Kết quả đánh giá sự biến động cấu trúc của tập đoàn sinh vật cho thấy sự tồn tại của các nhóm vi sinh vật khác nhau, trong đó có các nhóm có thể phân hủy các chất diệt cỏ và di-ô-xin. Kết quả phân tích tổng độ độc trong các công thức xử lý đã khẳng định hiệu quả của việc xử lý khử độc; ở công thức xử lý 1,5DN2, độ độc giảm khoảng 500 pg TEQ/g đất khô/tháng. Đặc biệt, ở công thức 1,5DN5, sau 2 năm xử lý độ độc giảm 51,7% [2]. So với các nghiên cứu của các tác giả khác [4, 10] thì công nghệ phân hủy sinh học tại các công thức xử lý đất bị nhiễm chất DC tại Đà Nẵng đã đạt hiệu quả rất tốt.

III. KẾT LUẬN

Đã khảo sát sự biến động cấu trúc của tập đoàn vi sinh vật trong các công thức xử lý khử độc quy mô 1,5 m³ đất bị nhiễm chất DC ở căn cứ quân sự cũ của Mỹ tại sân bay Đà Nẵng. Giữa các công thức xử lý và giữa các đợt lấy mẫu, cũng có sự thay đổi về cấu trúc của tập đoàn vi sinh vật. Hai công thức 1,5DN4 và 1,5DN5 có độ

đa dạng vi sinh vật thấp hơn so với các công thức còn lại. Hai công thức 1,5DN1 và 1,5DN2 có độ đa dạng vi sinh vật cao nhất. Kết quả so sánh trình tự nuclêôtit các dòng được tách từ gel SSCP với các trình tự nuclêôtit của gen 16S rARN trên GenBank và RDP cho thấy các dòng này thuộc 8 lớp vi khuẩn khác nhau bao gồm *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, *Deltaproteobacteria*, *Acidobacteria*, *Bacteroides*, *Sphingobacteria* và *Bacilli*. Nhóm vi khuẩn *Pseudomonas*, trong đó có *P. Stutzeri* và các vi khuẩn thuộc các chi *Burkholderia*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Comamonas* trong lớp *Betaproteobacteria*, chiếm ưu thế trong các công thức xử lý.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bunge M., Lechner U., 2001: In A. Kornmuller (red.), Anaerobic Dehalogenation: 69-81. TU Verlag, Berlin.
2. Đặng Thị Cẩm Hà và cs., 2005: Báo cáo nghiệm thu đề tài nhà nước "Nghiên cứu, phát triển công nghệ phân hủy sinh học và kỹ thuật nhà chặm làm sạch ô nhiễm chất độc hóa học trong đất" thuộc chương trình 33. Trung tâm Thông tin Khoa học và Công nghệ quốc gia. Bộ Khoa học và Công nghệ.
3. Fennell D. E. et al., 2004: Environ. Sci. Technol., 38: 2075-2081.
4. Hiraishi A. et al., 2001: Appl. Microbiol. Biotechnol., 57: 248-256.
5. Hiraishi A., 2003: Microb. Environ., 18: 105-123.
6. Hiraishi A. et al., 2005: Microb. Environ., 20: 216-226.
7. Ishiguto T. et al., 2000: Environ. Technol., 21: 1309-1316.
8. Itoh K. et al., 2004: Appl. Environ. Microbiol., 70: 2110-2118.
9. Johnsen K. et al., 2001: Biol. Fertil. Soils, 33:443-453.
10. Kao C. M. et al., 2001: Chemosphere, 44: 1447-1454.
11. Kirk J. L. et al., 2004: Journal Microbiol. Methods, 58: 169-188.
12. Nguyễn Bá Hữu và cs., 2007: Tạp chí Công nghệ sinh học, 5(1): 123-132.

13. Nguyễn Bá Hữu và cs., 2006: Tạp chí Công nghệ sinh học, 4(4): 519-527. 501-512.
14. Nogales B. et al., 2001: Appl. Environ. Microbiol., 67: 1874-1884.
15. Rice J. F. et al., 2005: Biodegradation, 16: 13: 109-122.
16. Stellman J. M. et al., 2003: Nature, 422: 681-687.
17. Tiedje J. M. et al., 1999: Appl. Soil Ecol., 13: 109-122.

DISTRIBUTION OF MICROBIAL COMMUNITY STRUCTURE DURING BIOREMEDIATION TREATMENT OF HERBICIDE/DIOXIN CONTAMINATED SOIL AT FIELD SMALL SCALE

NGUYEN BA HUU, DANG THI CAM HA

SUMMARY

Analysis single strand conformation polymorphism (SSCP) of 16S rRNA gene fragment was used to study the change of bacterial community structure in 1.5 m³ biotreatment scale. There was a change on bacterial community structure between the 3 different sampling times. Biotreatment experiments 1.5DN4 and 1.5DN5 showed less diverse than other experiments. The most diverse were also found in two biotreatments 1.5DN1 and 1.5DN2. The DNA clones excised from SSCP gel were belonged to 8 different classes of *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, *Deltaproteobacteria*, *Acidobacteria*, *Bacteroides*, *Sphingobacteria* and *Bacilli*. *Pseudomonads* including *P. stutzeri* and other bacteria belonging to *Burkholderia*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Comamonas* genera of *Betaproteobacteria* were dominant organisms in biotreatments. Bacteria in *Pseudomonas* genus including *Pseudomonas stutzeri* and other representative bacteria in genera *Burkholderia*, *Alcaligenes*, *Kersteria*, *Delftia* in *Betaproteobacteria* were also dominated in all of biotreatments. Many bacteria of these genera are able to degrade 2,4-D, 2,4,5-T and dioxin. The results in this study providing fundamental bases for scientists and technologists to enhance the rate of detoxification of herbicide/dioxin as well as other toxic chemical contaminated soil in Vietnam.

Ngày nhận bài: 18-9-2007