

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN CÁC CHỦNG VI KHUẨN CÓ KHẢ NĂNG PHÂN GIẢI THUỐC TRỪ SÂU LÂN HỮU CƠ (DIMETHOAT)

PHẠM THỊ LỆ HÀ, TRẦN THỊ THỦY, NGUYỄN DUY HẠNG,
LÊ TẤT MUA

Viện nghiên cứu hạt nhân Đà Lạt

Thuốc trừ sâu lân hữu cơ là nhóm thuốc bảo vệ thực vật được sử dụng khá rộng rãi trên thế giới và ở Việt Nam, trong đó dimethoat là loại thuốc trừ sâu lân hữu cơ được sử dụng nhiều trong các vùng trồng cây rau mầu và cây công nghiệp [1-4]. Tuy nhiên, bên cạnh hiệu quả bảo vệ thực vật, nó gây ô nhiễm môi trường đất, môi trường nước và làm giảm sự đa dạng sinh học trong hai môi trường trên. Hơn thế nữa, nó còn làm giảm giá trị thương phẩm của các sản phẩm nông nghiệp [5-9].

Để xử lý dimethoat trong môi trường, các phương pháp vật lý và hóa học có thể sử dụng được, song nếu sử dụng phương pháp sinh học thì hiệu quả bảo vệ môi trường sẽ tốt hơn [10-16].

Ở Việt Nam cũng như trên thế giới, các công trình nghiên cứu về khả năng sử dụng vi sinh vật phân lập từ các vùng ô nhiễm để xử lý dimethoat hầu như chưa được công bố. Mục đích của nghiên cứu này là phân lập những vi khuẩn có khả năng phân giải dimethoat từ môi trường đất bị ô nhiễm và chọn lọc những vi khuẩn có hiệu năng phân giải dimethoat cao để sử dụng trong công nghệ xử lý ô nhiễm môi trường:

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đất dùng để phân lập là đất được lấy ở các vùng đã nhiều năm trồng các loại rau (súp lơ, ...).

Để phân lập vi khuẩn có khả năng phân giải dimethoat, sử dụng môi trường khoáng không có K_2HPO_4 theo Radosevich [13]. Bổ sung dimethoat với nồng độ 50 $\mu\text{g/ml}$.

Sinh khối được lấy từ dịch nuôi cấy vi khuẩn sau 5 ngày trên máy lắc 220 vòng/phút, ở nhiệt độ phòng $22 \pm 2^\circ\text{C}$, bằng cách ly tâm 10.000

vòng/phút trong 20 phút. Tách, sấy và cân trọng lượng khô.

Thử nghiệm ảnh hưởng của nồng độ thuốc trừ sâu dimethoat, của pH lên khả năng sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn, sử dụng môi trường thạch thường MPB [17], với nồng độ cao thật, pepton giảm đi 10 lần.

Dung dịch dimethoat trước khi bổ sung vào tất cả các môi trường nuôi cấy được lọc bằng màng lọc Millipore (Millex, Pháp), với đường kính lỗ $\phi = 0,22 \mu\text{m}$.

Phân tích dư lượng thuốc trừ sâu bằng máy sắc ký khí (Gas Chromatography-GC)

Phương pháp phân tích dựa theo Hans-Peter Thier and Hans Zeumer [18].

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Phân lập và xác định khả năng sinh trưởng, phát triển trên môi trường khoáng có bổ sung dimethoat của các chủng vi khuẩn

Quá trình phân lập vi khuẩn phân giải thuốc trừ sâu dimethoat được thực hiện trên môi trường khoáng Radosevich. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1 cho thấy, từ các mẫu đất trồng rau ở thành phố Đà Lạt, đã phân lập được 4 chủng vi khuẩn T, B, C và F có khả năng sinh trưởng, phát triển trên môi trường khoáng có bổ sung dimethoat với nồng độ 50 $\mu\text{g/ml}$. Trong đó, có chủng phát triển tốt như chủng T, đạt sinh khối 8,0 mg trong 100 ml môi trường nuôi cấy, nhưng cũng có chủng phát triển yếu như chủng B (5,3 mg).

Bảng 1 còn thể hiện rõ khả năng phân giải dimethoat của 4 chủng nói trên. Chủng T có khả

năng phân giải cao nhất là 15% sau 5 ngày nuôi cấy và chủng F là thấp nhất (10%).

Bảng 1

Khả năng sinh trưởng, phát triển của các chủng vi khuẩn trên môi trường khoáng có bổ sung 50 µg/ml thuốc trừ sâu dimethoat

STT	Chủng vi khuẩn	Sinh khối (µg)	Nồng độ còn lại (µg/ml)	Phân giải (%)
1	T	8,0	42,5	18
2	B	5,3	41,5	11
3	C	6,4	43,5	13
4	F	5,8	45,0	10

2. Ảnh hưởng của nồng độ thuốc trừ sâu dimethoat lên khả năng phân giải của các chủng vi khuẩn đã phân lập

Bảng 2

Khả năng phân giải thuốc trừ sâu dimethoat của các chủng vi khuẩn (sau 5 ngày nuôi cấy)

STT	Chủng vi khuẩn	Nồng độ ban đầu (µg/ml)							
		25		50		100		200	
		Sinh khối (mg)	Phân giải (%)	Sinh khối (mg)	Phân giải (%)	Sinh khối (mg)	Phân giải (%)	Sinh khối (mg)	Phân giải (%)
1	T	32,2	96,9	34,4	74,2	33,3	42,5	33,1	22,5
2	B	30,5	96,8	30,1	75,5	29,8	43,0	29,5	23,5
3	C	22,8	98,7	23,6	91,2	22,5	59,0	22,0	29,0
4	F	25,3	97,0	25,4	76,0	25,0	44,5	24,1	23,0
5	ĐC	0,0	3,0	0,0	3,0	0,0	3,0	0,0	3,0

Ghi chú: ĐC: đối chứng (không có vi khuẩn)

Bảng 2 cho thấy khả năng phân giải thuốc trừ sâu dimethoat của các chủng vi khuẩn sau 5 ngày nuôi cấy ở các nồng độ khác nhau là khác nhau. Nồng độ càng thấp thì khả năng phân giải càng cao; ở nồng độ nuôi cấy 200 µg/ml, tỷ lệ phân giải từ 22,5-29,0%; trong khi đó, ở nồng độ 25 µg/ml tỷ lệ này từ 96,8-98,7%. Trong 4 chủng, chủng C có độ phân giải cao nhất là 29,0% và chủng T có độ phân giải thấp nhất là 22,5%. Nồng độ dimethoat bổ sung trong môi trường còn ảnh hưởng đến sinh khối của vi khuẩn. Ở nồng độ 50 µg/ml, sinh khối đạt cao

nhất; ở các nồng độ khác, sinh khối tuy có giảm nhưng không đáng kể. Điều này phù hợp với kết quả đã được ghi nhận: khi bổ sung dimethoat trong môi trường đặc, kích thước của khuẩn lạc gia tăng đáng kể [15]. Như vậy, kết hợp bảng 1 và 2 cho thấy 4 chủng T, B, C và F có khả năng sử dụng thuốc trừ sâu dimethoat như một nguồn dinh dưỡng.

3. Khả năng sinh trưởng, phát triển của các chủng vi khuẩn trên môi trường có độ pH khác nhau

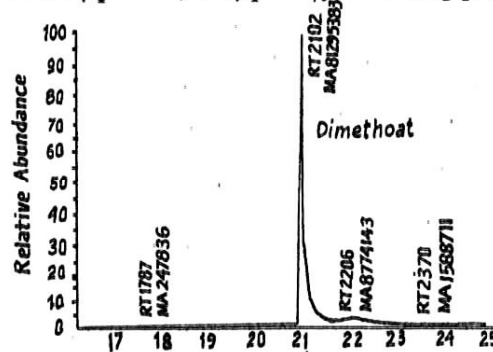
Chủng C có khả năng phân giải cao nhất,

Bảng 3

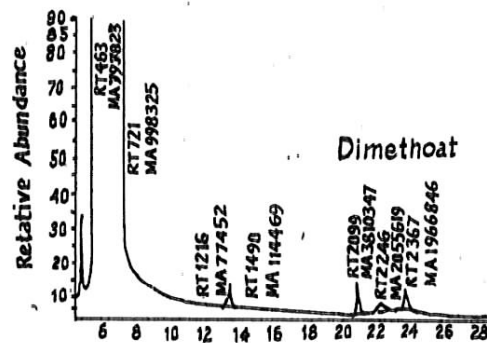
Ảnh hưởng của độ pH lên khả năng sinh trưởng, phát triển của hai chủng vi khuẩn T và C

pH	Đối chứng	Chủng T		Chủng C	
	Phân giải	Sinh khối (mg)	Phân giải (%)	Sinh khối (mg)	Phân giải (%)
5	1,7	12,4	20,6	12,9	22,2
6	1,8	18,4	29,7	14,4	35,3
7	3,0	34,4	74,2	23,6	91,2
8	3,2	33,5	74,1	23,5	91,3

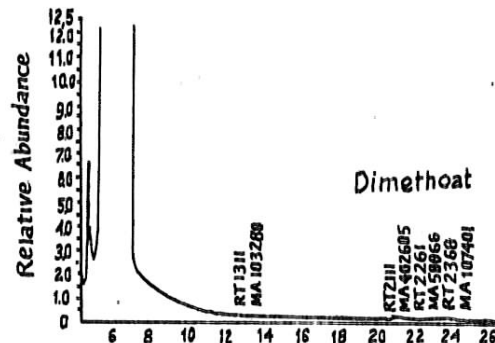
chủng T tuy khả năng phân giải thấp nhưng cho sinh khối lớn, quá trình nuôi cấy đơn giản nên cả hai được tiếp tục thử nghiệm ảnh hưởng của độ pH từ 5 đến 8 lên quá trình sinh trưởng và phát triển. Kết quả ở bảng 3 cho thấy độ pH càng tăng, sinh khối cũng như khả năng phân giải của hai chủng cũng tăng theo và đạt tối ưu ở độ pH = 7; ở độ pH này, khả năng phân giải gần như cao hơn cả.



Hình 1. Phổ đồ sắc ký của dimethoat trong môi trường không có vi khuẩn.



Hình 2. Phổ đồ sắc ký của dimethoat trong môi trường có chủng vi khuẩn T



Hình 3. Phổ đồ sắc ký của dimethoat trong môi trường có chủng vi khuẩn C

III. KẾT LUẬN

1. Bổ sung thuốc trừ sâu dimethoat 50 $\mu\text{g/ml}$ cho môi trường khoáng Radosevich, đã phân lập được 4 chủng vi khuẩn có khả năng sinh trưởng và phát triển trên môi trường có dimethoat như nguồn hữu cơ duy nhất.

2. Ảnh hưởng của nồng độ dimethoat lên sự sinh trưởng và phát triển cũng như khả năng phân giải dimethoat đã được xác định, trong đó khả năng phân giải thấp nhất ở nồng độ 200 $\mu\text{g/ml}$ của dimethoat và khả năng phân giải cao nhất ở nồng độ 25 $\mu\text{g/ml}$; sinh khối vi khuẩn đạt cao nhất ở nồng độ 50 $\mu\text{g/ml}$.

3. Hai chủng vi khuẩn T và C khi nuôi cấy ở pH = 7 cho sinh khối lớn nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Miller G. T. Jr., 1998: Environmental Sci., An Introduction, 2nd ed by wadsworth publishing Company, Blmont, California 94002.
2. Lê Văn Khoa, 1995: Môi trường và ô nhiễm. NXB Giáo dục, Hà Nội.
3. Trần Quang Hùng, 1995; Thuốc bảo vệ thực vật. NXB Nông nghiệp, Hà nội.
4. Sở Khoa học, Công nghệ và Môi trường tỉnh Lâm Đồng, 1999: Báo cáo hiện trạng môi trường tỉnh Lâm Đồng 1994-1999.
5. Nguyễn Thị Ngọc Ân, 1996: Con người và môi trường. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
6. Nguyễn Văn Tuyên, 1997: Sinh thái và môi trường. NXB Giáo dục, Hà Nội.
7. Lê Huy Bá, 1997: Môi trường, T. 1. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
8. Phạm Huy Lâm, 1997: Hóa chất nông nghiệp với môi trường. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
9. Lê Huy Bá, 1998: Sinh thái môi trường đất. NXB Nông nghiệp, Tp. Hồ Chí Minh.
10. Bollag J. M., Liu S.-Y., 1990: Biological transformation processes of pesticides, in Pesticides in the soil environment, SSSA Book Series, No. 2,667 S. Segoe Rd., Madison, WI 53711.
11. Madsen E. L., 1991: Environ. Sci. Technol., 25 (10): 1663.
12. Bollag J. -M., Myers C. J. and Minard R. D., 1992: Biological and chemical interactions of pesticides with soil organic matter. The science of the total environment, 123 /124: 297-302.
13. Radosevic M. et al., 1995: Degradation and mineralization of atrazina by a soil bacterial isolate. Applied and environmental Microbiology, 297-302.
14. Nguyễn Văn Uyên, Nguyễn Tiến Thắng, 1996: Những kiến thức cơ bản về công nghệ sinh học. NXB Giáo dục.
15. Trần Thị Thủy, Phạm Thị Lệ Hà, 2001: Khả năng sinh trưởng của vi khuẩn (T) trên môi trường có thuốc trừ sâu lân hữu cơ, Hội nghị Vật lý toàn quốc lần thứ IV, Hà Nội, tháng 3 năm 2001.
16. Doãn Thái Hòa và cs., 2001: Tạp chí Khoa học và Công nghệ, 39 (1): 46-51.
17. Nguyễn Lân Dũng và cs., 1976: Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh học vật, tập 2, NXB KH&KT, Hà Nội.
18. Manual of pesticide Residue Analysis, V.1, 1987: Edited by Hans Peter Thier and Hands Zeumes, Working Group "Analysis", Pesticide Commission, VCH Verlagsgesellschaft mbH, D-6910 Weinheim (Federal Republic of Germany).

ISOLATION AND SELECTION OF BACTERIA STRAINS WITH HIGH DIMETHOATE (ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDE) DECOMPOSING ACTIVITY

PHAM THI LE HA, TRAN THI THUY, NGUYEN DUY HANG, LE TAT MUA

SUMMARY

Four strains of bacteria, isolated from the agricultural soil of Dalat city, were capable to grow on the mineral medium with 50 µg dimethoate/ml. The effects of the concentration of dimethoate and of the pH on the growth and decomposing activity of these strains were determined. Cultured at the concentration of 50 µg dimethoate/ml and the pH 7, the strains T and C have the biggest dry biomass.

Ngày nhận bài: 20/2-2002