

DOI:10.22144/ctu.jvn.2020.150

## PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN CÁC DÒNG VI KHUẨN CÓ KHẢ NĂNG PHÂN HUỖ HOẠT CHẤT CARBOSULFAN TỪ ĐẤT TRỒNG LÚA CHUYÊN CANH Ở TỈNH HẬU GIANG

Dương Gia Linh<sup>1\*</sup> và Nguyễn Hữu Hiệp<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Học viên Cao học chuyên ngành Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup>Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Dương Gia Linh (email: [gialinh0817@gmail.com](mailto:gialinh0817@gmail.com))

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 18/06/2020

Ngày nhận bài sửa: 26/08/2020

Ngày duyệt đăng: 28/12/2020

### Title:

Isolation and selection of bacterial strains capable of degrading carbosulfan from paddy soils in Hau Giang province

### Từ khóa:

*Acinetobacter* sp., carbosulfan, *Stenotrophomonas* sp., phân huỷ sinh học, vi khuẩn

### Keywords:

*Acinetobacter* sp., bacteria, biodegradation, carbosulfan, *Stenotrophomonas* sp.

### ABSTRACT

The study was carried out on the basis of isolating and selecting of high activity bacteria strains for degrading carbosulfan from 3 rice crop soils in Hau Giang province. Investigating the ability of bacterial isolates to grow on the minimal mineral medium (MM) supplemented with carbosulfan concentration gradually increasing from 30 mg.L<sup>-1</sup> to 60 mg.L<sup>-1</sup> based on colony count method. Quantification of carbosulfan residues in liquid medium was done by mass chromatography technique. The research results showed that a total of 31 bacterial strains were isolated from rice-growing soils in Hau Giang province. Most of bacterial strains were short rods, negative Gram and move slowly. Sixteen bacterial strains could grow well in liquid MM supplemented with 20 mg.L<sup>-1</sup> carbosulfan. Among them, 8, 6, 7 and 6 bacterial strains showed their well-growing in liquid culture media supplemented with 30, 40, 50, and 60 mg.L<sup>-1</sup> carbosulfan after seventy-two hours of incubation, respectively. In particular, two bacterial strains designated as NB02 and NB04 could grow well in the liquid culture media containing 60 mg.L<sup>-1</sup> carbosulfan. They were identified as *Stenotrophomonas panacihumi* and *Acinetobacter calcoaceticus*, respectively. These two strains, in turn, degraded 82.3% and 75.0% of initial concentration of carbosulfan in the liquid MSM after 7 incubation days under the laboratory conditions, respectively, with an initial concentration of 60 mg.L<sup>-1</sup> carbosulfan.

### TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện trên các mẫu đất lúa chuyên canh 3 vụ ở tỉnh Hậu Giang nhằm mục tiêu phân lập và tuyển chọn một số dòng vi khuẩn có khả năng phân huỷ hoạt chất carbosulfan. Khảo sát khả năng tăng trưởng của vi khuẩn trên môi trường khoáng tối thiểu bổ sung carbosulfan nồng độ tăng dần từ 30 mg.L<sup>-1</sup> đến 60 mg.L<sup>-1</sup> dựa trên phương pháp đếm sống. Định lượng dư lượng carbosulfan trong dịch nuôi vi khuẩn bằng kỹ thuật sắc ký khối phổ. Kết quả cho thấy tổng cộng 31 dòng vi khuẩn đã được phân lập. Đa số các dòng phân lập có hình dạng que ngắn, Gram âm và di chuyển chậm. Tổng cộng 31 dòng vi khuẩn phát triển tốt trong môi trường khoáng tối thiểu lỏng bổ sung 20 mg.L<sup>-1</sup> carbosulfan. Trong đó, 8, 6, 7 và 6 dòng phát triển tốt trong môi trường lỏng bổ sung lần lượt 30, 40, 50 và 60 mg.L<sup>-1</sup> carbosulfan sau 72 giờ nuôi cấy. Trong đó, hai dòng vi khuẩn ký hiệu NB02 và NB04 phát triển mật số tốt trong môi trường lỏng chứa 60 mg.L<sup>-1</sup> carbosulfan được nhận diện lần lượt là loài vi khuẩn *Stenotrophomonas panacihumi* và *Acinetobacter calcoaceticus*. Hai dòng vi khuẩn này lần lượt phân huỷ 82,3% và 75,0% carbosulfan trong môi trường khoáng tối thiểu lỏng sau 7 ngày nuôi cấy ở điều kiện phòng thí nghiệm với nồng độ ban đầu là 60 mg.L<sup>-1</sup>.

Trích dẫn: Dương Gia Linh và Nguyễn Hữu Hiệp, 2020. Phân lập và tuyển chọn các dòng vi khuẩn có khả năng phân huỷ hoạt chất carbosulfan từ đất trồng lúa chuyên canh ở tỉnh Hậu Giang. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(6B): 119-127.

## 1 GIỚI THIỆU

Việc sử dụng thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) mặc dù mang lại nhiều lợi ích trong việc bảo vệ cây trồng khỏi sự xâm hại của côn trùng và bệnh hại nhằm duy trì năng suất, nhưng việc sử dụng quá mức thuốc BVTV có thể dẫn đến việc mất cân bằng hệ vi sinh vật đất, gây ô nhiễm môi trường và gây hại cho sức khỏe con người (Kalia and Gosal, 2011; Köhler and Triebkorn, 2013). Các nghiên cứu cho thấy trong đất canh tác nông nghiệp, thuốc BVTV là một trong những nguồn ô nhiễm lớn trong tổng độc chất hiện diện trong đất. Tuy nhiên, nhiều nông dân vẫn chưa nhận thức được tác hại của việc sử dụng lạm dụng các hoá chất độc hại trong canh tác, đặc biệt là thuốc BVTV (Boada *et al.*, 2016).

Thuốc trừ sâu carbamate đã được sử dụng rộng rãi ở vùng Đồng Bằng Cửu Long (ĐBSCL) và hoạt chất carbosulfan là một trong những hoạt chất thuốc trừ sâu thuộc nhóm carbamate được sử dụng phổ biến nhất ở khu vực này. Một trong những sản phẩm thương mại trên thị trường được sử dụng phổ biến để phòng trị sâu hại cây trồng chứa hoạt chất carbosulfan ở khu vực ĐBSCL là thuốc trừ sâu Sulfaron đây là hoạt chất gây độc cấp tính cao bằng cách ức chế acetylcholinesterase. Carbosulfan có thể gây độc qua đường uống, tiếp xúc qua da, có thể gây thiệt hại cho các cơ quan nhất định nếu tiếp xúc với hoá chất trong một thời gian dài. Ngộ độc carbosulfan có thể gây khó chịu, yếu cơ, chóng mặt, đỏ mồm, đau đầu, chảy nước bọt, buồn nôn, đau bụng và tiêu chảy. Ngoài ra, hoạt chất này còn có thể gây ức chế hệ thần kinh trung ương và phù phổi. Sự hiện diện của carbofuran trong mạch nước ngầm có thể gây độc cho người và các sinh vật thủy sinh (Tomlin, 1995).

Phản ứng quan phân của hoạt chất này chủ yếu trong dung dịch nước, thời gian bán huỷ dao động trong khoảng từ 1 – 4 ngày ở pH 7. Trong điều kiện thực tế đồng ruộng, carbosulfan được chuyển hóa đầu tiên thành carbofuran, sau đó đến 3-hydroxy-carbofuran và cuối cùng là 3-ketocarbofuran thông qua con đường đồng hoá (Tomlin, 1995). Đây là trường hợp đặc biệt khác so với các hoạt chất khác vì từ một hoạt chất thuốc trừ sâu có hoạt tính ít độc (carbosulfan, DL50 250 mg.kg<sup>-1</sup> cho chuột) được chuyển hóa thành dạng hoạt chất có độc tính cao hơn (carbofuran, DL50 8 mg.kg<sup>-1</sup> cho chuột) sau khi được phun vào trong đất (Tomlin, 1995). Do đó, việc ô nhiễm hoạt chất thuốc trừ sâu carbosulfan trong đất được đặc biệt quan tâm. Nghiên cứu trước

đây cũng cho thấy vi khuẩn đất có vai trò quan trọng trong phân hủy hoạt chất carbosulfan trong đất hiệu quả. Trong đó, vi khuẩn có ký hiệu CISH C-1 được phân lập từ đất trồng cây xoài có khả năng phân giải 91% carbosulfan có nồng độ ban đầu là 2% sau 28 ngày nuôi cấy trong môi trường khoáng tối thiểu (Neelima and Bhattacharjee, 2018). Sharif and Mollick (2013) đã phân lập một chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp. từ đất canh tác nông nghiệp có khả năng làm giảm hàm lượng carbosulfan trong đất.

Mỗi độc chất hữu cơ trong đất đều được một nhóm vi sinh vật tương ứng phân giải toàn bộ hay một phần. Thông qua quá trình tiến hoá, con đường phân hủy các hợp chất hữu cơ của vi sinh vật ngày càng hoàn thiện. Việc áp dụng phun liên tục có tính lặp lại hoạt chất carbosulfan có thể kích thích sự phát triển của nhóm vi sinh vật phân hủy hoạt chất thuốc trừ sâu này (Sahoo *et al.*, 1998). Nghiên cứu và ứng dụng vi sinh vật trong phân huỷ các hoạt chất thuốc BVTV độc hại đang thu hút được nhiều quan tâm và là hướng đi rất phù hợp vì tính hiệu quả và tiết kiệm chi phí trong xử lý. Tuy nhiên, nghiên cứu về phân lập và tuyển chọn vi khuẩn phân hủy hoạt chất carbosulfan từ đất canh tác lúa ở Việt Nam, đặc biệt là ở ĐBSCL còn rất hạn chế. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục tiêu phân lập và tuyển chọn các dòng vi khuẩn từ đất canh tác lúa 3 vụ ở tỉnh Hậu Giang có khả năng phân hủy hoạt chất để hướng đến việc xử lý đất ruộng lúa nhiễm độc với hoạt chất này.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Vật liệu

\* *Mẫu đất*: Tổng cộng 21 mẫu đất mặt từ các ruộng canh tác lúa trên 10 năm có sử dụng thuốc trừ sâu chứa hoạt chất carbosulfan tại 4 khu vực ở tỉnh Hậu Giang gồm: thành phố Vị Thanh, huyện Vị Thủy, huyện Phụng Hiệp và thị xã Ngã Bảy được thu thập. Tại mỗi vị trí thu mẫu tiến hành chọn 1 ruộng lúa và đất ruộng lúa được thu ở 3 vị trí khác nhau. Trọng lượng đất tại mỗi vị trí thu mẫu là 100 g đất ẩm với độ sâu 0-10 cm. Mẫu đất được thu vào thời điểm cuối vụ và chuẩn bị thu hoạch lúa. Mẫu đất được bảo quản trong các túi nilon vô trùng và mang về phòng thí nghiệm cho đến khi tiến hành phân lập vi khuẩn.

\* *Hoạt chất thuốc trừ sâu carbosulfan*: Thuốc trừ sâu sulfaron (chứa hoạt chất carbosulfan nồng độ 200 g/L) của công ty trách nhiệm hữu hạn Hoá nông Lúa Vàng.

## 2.2 Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1 Phân lập vi khuẩn có khả năng phân hủy hoạt chất carbosulfan trong môi trường MM lỏng bổ sung carbosulfan

Tiến hành cân 10 g đất của mỗi mẫu đất thu được cho vào bình tam giác 250 mL chứa 90 mL môi trường MM đã khử trùng bổ sung carbosulfan với nồng độ 20 mg.L<sup>-1</sup>. Thành phần môi trường MM : 4 g/L Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,8 g/L MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,8 g/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1 mL/L dung dịch vi lượng (Al(OH)<sub>3</sub>, SnCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, KI, LiCl, MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, NiSO<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O, BaCl<sub>2</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>MO<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.4H<sub>2</sub>O). Mẫu nuôi cấy được đưa lên máy lắc với tốc độ lắc 120 vòng/phút trong 7 ngày ở 30°C. Sau 7 ngày nuôi cấy, tiến hành hút 1 mL dung dịch môi trường nuôi cấy chứa vi sinh vật trong bình tam giác để pha loãng thành các dãy nồng độ: 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup> và 10<sup>-4</sup>. Hút 50 µL dung dịch mẫu từng nồng độ pha loãng trải sang đĩa petri chứa môi trường MM đặc có bổ sung carbosulfan 20 mg.L<sup>-1</sup>. Các đĩa petri chứa mẫu được ủ ở 30°C trong 96 giờ để vi khuẩn sinh trưởng và phát triển tốt. Chọn những khuẩn lạc vi khuẩn rời, khác biệt nhau về mặt hình thái để tách riêng sang các đĩa petri chứa môi trường MM đặc có bổ sung carbosulfan 20 mg.L<sup>-1</sup> mới cho tới khi quan sát dưới kính hiển vi cho đến khi chỉ có một dạng tế bào vi khuẩn trong thị trường của lam kính (Cao Ngọc Diệp và Nguyễn Hữu Hiệp, 2002).

### 2.2.2 Quan sát đặc điểm hình thái khuẩn lạc, tế bào và nhuộm Gram các dòng vi khuẩn phân lập

Quan sát và mô tả đặc điểm hình thái khuẩn lạc của các dòng vi khuẩn phân lập được thực hiện trên môi trường MM đặc có bổ sung carbosulfan nồng độ 20 mg.L<sup>-1</sup> ở nhiệt độ 30°C sau 5 ngày nuôi cấy dựa vào chỉ tiêu về: màu sắc, hình dạng, độ nổi và dạng bìa khuẩn lạc bằng mắt thường. Sau đó, tiến hành quan sát hình thái tế bào của các dòng vi khuẩn phân lập bằng phương pháp giọt ép dưới kính hiển vi quang học độ phóng đại 1.000 lần (Cao Ngọc Diệp và Nguyễn Hữu Hiệp, 2002). Cách thực hiện như sau: tiến hành nhỏ 20 µl nước cất vô trùng lên kính mang vật (lam), dùng kim cấy lấy một ít khuẩn lạc trải đều lên giọt nước trên kính, hạ nhẹ nhàng kính đậy vật (lamel) và nhỏ 1 giọt dầu lên lamel và quan sát mẫu vật dưới kính hiển vi quang học ở độ phóng đại 1.000 lần để xác định một số đặc tính như hình dạng, kích thước và sự chuyển động của vi khuẩn. Nhuộm Gram các dòng vi khuẩn phân lập bằng Crystal violet trong 2 phút, rửa lại bằng nước cất và ngâm trong dung dịch Lugol trong 1 phút, rửa lại bằng cồn 70%, nhuộm trong Safranin trong 1

phút và quan sát mẫu trên kính hiển vi quang học ở độ phóng đại 1.000 lần.

### 2.2.3 Khảo sát khả năng tăng trưởng của các dòng vi khuẩn trong môi trường nuôi cấy lỏng bổ sung carbosulfan ở các nồng độ khác nhau

\* *Chuẩn bị nguồn vi khuẩn:* Các dòng vi khuẩn phân lập được nuôi tăng sinh trong môi trường dinh dưỡng LB trong 24 giờ. Thành phần môi trường LB gồm (g.L<sup>-1</sup>): 10 g/L Tryptone, 5 g/L Yeast extract và 10 g/L NaCl. Hút 1 mL dịch nuôi vi khuẩn cho vào ống ly tâm 2 mL tiệt trùng, ly tâm lạnh ở 8.000 vòng/phút trong 10 phút, loại bỏ phần dịch trong ở bên trên để thu sinh khối vi khuẩn nằm phía dưới đáy. Cho 2 mL nước cất vô trùng vào Eppendorf chứa sinh khối vi khuẩn, vortex đều mẫu và đây là nguồn vi khuẩn để bố trí thí nghiệm.

\* *Bố trí thí nghiệm:* Hút lần lượt 1 mL dịch huyền phù vi khuẩn đã được chuẩn bị ở trên cho vào ống nghiệm 20 mL chứa 9 mL môi trường MM không chứa carbosulfan và ống nghiệm 20 mL chứa 9 mL môi trường MM bổ sung carbosulfan ở nồng độ 20 mg.L<sup>-1</sup> ở nhiệt độ 30°C trên máy lắc với tốc độ 120 vòng/phút trong 72 giờ. Mỗi dòng vi khuẩn thử nghiệm được thực hiện với 6 lặp lại tương ứng với 3 ống nghiệm cho môi trường có bổ sung carbosulfan và 3 ống nghiệm cho môi trường không bổ sung carbosulfan. Thí nghiệm được kéo dài trong 72 giờ. Dựa vào khả năng tăng trưởng của vi khuẩn ở môi trường nuôi cấy MM lỏng bổ sung carbosulfan 20 mg.L<sup>-1</sup>, tiến hành chọn ra các dòng vi khuẩn có khả năng tăng trưởng tốt ở nồng độ này để thực hiện thí nghiệm tương tự nhưng bổ sung carbosulfan ở nồng độ cao hơn gồm 30, 40, 50 và 60 mg.L<sup>-1</sup>. Chỉ tiêu theo dõi: mật số vi khuẩn trong môi trường nuôi cấy lỏng ở thời điểm 0 giờ và 72 giờ nuôi cấy được thực hiện bằng phương pháp đếm sống trên môi trường MM đặc bổ sung carbosulfan ở nồng độ tương ứng với môi trường nuôi cấy lỏng (Cao Ngọc Diệp và Nguyễn Hữu Hiệp, 2002). Khả năng tăng trưởng của vi khuẩn được xác định bằng cách lấy mật số vi khuẩn tổng ở thời điểm 0 giờ trừ cho mật số vi khuẩn tổng ở thời điểm 72 giờ. Sau đó, dựa vào mật số vi khuẩn chênh lệch giữa 0 và 72 giờ nuôi cấy để đánh giá và so sánh khả năng phát triển của từng dòng vi khuẩn trong môi trường nuôi cấy chứa các nồng độ carbosulfan khác nhau để tuyển chọn hai dòng vi khuẩn có khả năng tăng trưởng tốt nhất để thực hiện thí nghiệm tương tự trong môi trường nuôi cấy MM lỏng nhưng bổ sung carbosulfan ở nồng độ 60 mg.L<sup>-1</sup>. Thí nghiệm được thực hiện trong 7 ngày và mật số vi khuẩn được xác định ở các thời điểm 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 và 7 ngày sau

khí nuôi cấy bằng phương pháp đếm sống. Ngoài ra, dịch nuôi vi khuẩn sau 7 ngày thí nghiệm được tiến hành lọc qua giấy lọc Whatman loại 1, kích thước 11 micron để loại bỏ sinh khối vi khuẩn, thu lấy dịch không chứa tế bào vi khuẩn và gởi mẫu để xác định lượng hàm lượng carbosulfan còn lại trong môi trường nuôi cấy lỏng bằng phương pháp sắc ký ghép khối phổ trên máy GC/MS bởi Chi nhánh Cần Thơ – Trung tâm Dịch vụ Phân tích Thí nghiệm Tp.HCM. Mẫu phân tích trên hệ thống sắc ký khối phổ GCMS: Cột TG-5Ms Capillary (30m×0.25mm×0.25µm); khí mang Helium (He), với chương trình nhiệt: 50°C giữ 1 phút, tăng lên 180°C giữ 1 phút (30°C/phút), tăng lên 280°C giữ 10 phút (15°C/phút). Tốc độ bơm mẫu 1µL/5 phút, thời gian lưu mẫu 13,64 phút.

2.2.4 Nhận diện vi khuẩn bằng kỹ thuật sinh học phân tử

Dựa vào kết quả khảo sát định tính khả năng phân hủy hoạt chất carbosulfan của các dòng vi khuẩn trong môi trường nuôi cấy MM lỏng ở mục 2.2.3, tiến hành chọn hai dòng vi khuẩn thể hiện khả năng phân hủy carbosulfan tốt nhất để giải trình tự gen 16S rRNA. Trích DNA theo quy trình của Rogers and Bendich (1988). Khuếch đại vùng 16S rRNA bằng kỹ thuật PCR, sử dụng đoạn mồi 16S rRNA (Lane, 1991) được thiết kế với trình tự sau:

1492R 5'-TACGGTTACCTTGTTACGACT-3'  
27F 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTC-3'.

Các sản phẩm DNA sau khi đã được khuếch đại bằng phản ứng PCR lưu trữ ở 4°C và sẽ được phân tích bằng điện di trên gel agarose 1,5%. Gửi mẫu giải trình tự gen 16S rRNA được khuếch đại, so sánh kết quả giải trình tự với dữ liệu trên ngân hàng gene NCBI thế giới kết hợp đặc điểm tế bào để nhận diện vi khuẩn.

2.2.5 Xử lý thống kê

Số liệu thu thập được sau mỗi thí nghiệm được tổng hợp bằng chương trình Microsoft excel 2016 và được phân tích thống kê bằng chương trình Minitab 18.1 theo mô hình one-way ANOVA. So sánh trung bình sự khác biệt theo kiểm định Fisher với độ tin cậy 95%.

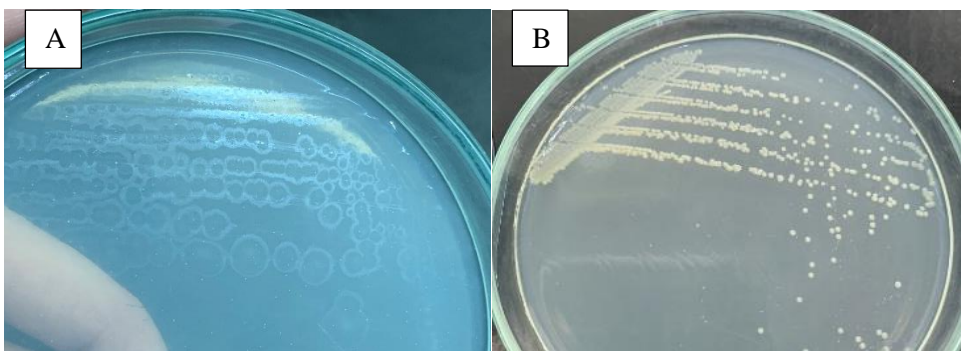
3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả phân lập vi khuẩn từ đất ruộng lúa có khả năng phân hủy hoạt chất carbosulfan

Qua các giai đoạn phân lập vi khuẩn từ 21 mẫu đất trồng lúa 3 vụ ở tỉnh Hậu Giang trong môi trường MM bổ sung 20 mg.L<sup>-1</sup> carbosulfan đã phân lập được 31 dòng vi khuẩn. Trong đó, các mẫu đất thu từ các ruộng ở khu vực thành phố Vị Thanh, huyện Vị Thủy, huyện Phụng Hiệp và thị xã Ngã Bảy có lần lượt 11 dòng (chiếm 35,5%), 8 dòng (chiếm 25,8%), 7 dòng (chiếm 22,6%) và 5 (chiếm 15,6%) dòng vi khuẩn được phân lập, các dòng vi khuẩn phân lập này có đặc tính chung là sinh trưởng và phát triển được trong môi trường MM lỏng chứa carbosulfan nồng độ 20 mg.L<sup>-1</sup> sau 48-96 giờ nuôi cấy.

3.2 Đặc tính hình thái khuẩn lạc và tế bào các dòng vi khuẩn phân lập

Các dòng vi khuẩn phân lập có khả năng phân hủy hoạt chất carbosulfan đa số có tốc độ phát triển về sinh khối và kích thước khuẩn lạc chậm, khuẩn lạc quan sát rõ chỉ sau 3-5 ngày ở nhiệt độ 30°C (Hình 1). Đa số khuẩn lạc của 31 dòng vi khuẩn phân lập từ đất trồng lúa 3 vụ có các đặc điểm như sau: hình tròn hoặc không đều, trắng trong, bìa nguyên, độ nổi mô và có kích thước trung bình (1 <x ≤ 5mm).



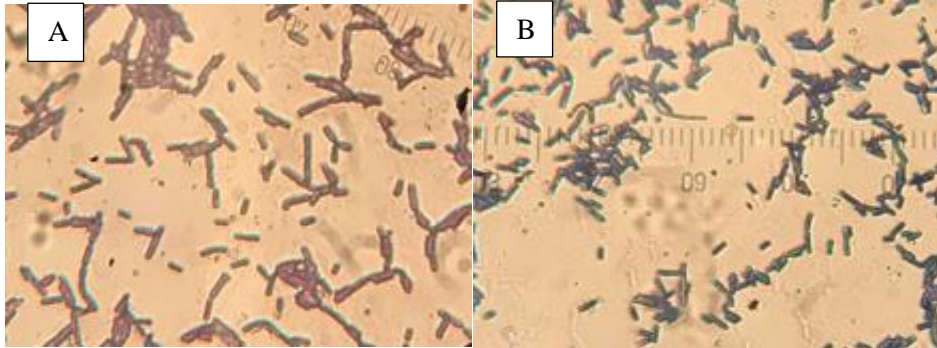
Hình 1: Hai dạng khuẩn lạc điển hình phát triển trên môi trường MM bổ sung carbosulfan trong tổng số các dòng vi khuẩn phân lập

A: Dòng vi khuẩn NB3: khuẩn lạc không đều, trắng trong, độ nổi lồi và nguyên; B: Dòng vi khuẩn VT08: khuẩn lạc dạng tròn, vàng đục, độ nổi mô và nguyên



Kết quả quan sát về hình thái tế bào của các dòng vi khuẩn phân lập bằng kính hiển vi quang học ở độ phóng đại 1000 cho thấy đa số hình thái tế bào của

31 dòng vi khuẩn phân lập từ đất trồng lúa 3 vụ có các đặc điểm như sau: dạng hình que ngắn, Gram âm và chuyển động chậm (Hình 2).



**Hình 2: Hình thái tế bào điển hình của các dòng vi khuẩn phân lập (hình chụp ở độ phóng đại 1.000 lần)**

A: Dòng vi khuẩn PH01: que dài và Gram âm; B: Dòng vi khuẩn VT08: que dài và Gram dương

**3.3 Khả năng tăng trưởng về mật số của 31 dòng vi khuẩn phân lập trong môi trường nuôi cấy lỏng có bổ sung 20 mg.L<sup>-1</sup> carbosulfan**

**Bảng 1: Mật số vi khuẩn tăng lên của 16 trong tổng số 31 dòng vi khuẩn phân lập được thử nghiệm sau 72 giờ nuôi cấy trong môi trường MM lỏng bổ sung carbosulfan nồng độ 20 mg.L<sup>-1</sup>**

STT	Dòng vi khuẩn	Mật số vi khuẩn tăng lên (log CFU/mL)
1	NB05	4,02 <sup>a</sup> ± 0,26
2	NB03	1,44 <sup>b</sup> ± 0,16
3	NB01	1,27 <sup>bc</sup> ± 0,04
4	NB04	0,93 <sup>cd</sup> ± 0,06
5	VT11	0,71 <sup>de</sup> ± 0,11
6	VT03	0,66 <sup>de</sup> ± 0,05
7	PH04	0,58 <sup>def</sup> ± 0,12
8	VT08	0,57 <sup>def</sup> ± 0,06
9	VT09	0,56 <sup>defg</sup> ± 0,21
10	PH01	0,49 <sup>efgh</sup> ± 0,07
11	VT07	0,40 <sup>efghi</sup> ± 0,09
12	VTU02	0,25 <sup>fghi</sup> ± 0,09
13	VT01	0,19 <sup>ghi</sup> ± 0,12
14	NB02	0,18 <sup>hi</sup> ± 0,10
15	VTU03	0,16 <sup>hi</sup> ± 0,08
16	VTU08	0,10 <sup>i</sup> ± 0,04
CV (%)		28,02

\*Ghi chú: Mật số vi khuẩn tăng lên sau 72 giờ nuôi cấy; Các giá trị trung bình có chữ theo sau trong cùng một cột giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê theo kiểm định Fisher với độ tin cậy 95%

Kết quả khảo sát về mật số tăng lên của 31 dòng vi khuẩn phân lập sau 72 giờ trong môi trường nuôi

cấy lỏng bổ sung 20 mg.L<sup>-1</sup> carbosulfan được trình bày trong Bảng 1. Kết quả cho thấy 16 trong tổng số 31 dòng vi khuẩn phân lập có mật số tăng lên sau 72 giờ nuôi cấy và chiếm 51,6% tổng các dòng thử nghiệm. Chúng tỏ vi khuẩn có thể đã sử dụng hoạt chất carbosulfan như nguồn carbon để sinh trưởng và phát triển. Còn lại 15 dòng trong tổng số 31 dòng vi khuẩn có mật số giảm sau 72 giờ nuôi cấy và chiếm tỷ lệ 48,4% các dòng thử nghiệm. Kết quả này có thể là do các dòng vi khuẩn này không có khả năng chống chịu, hay nói cách khác, các dòng vi khuẩn này không thể dùng carbon từ hoạt chất carbosulfan để làm nguồn năng lượng để nhân mật số lên trong môi trường nuôi cấy lỏng MM có bổ sung 20 mg.L<sup>-1</sup>, nên chúng không thể sinh trưởng và phát triển tốt. Do đó, 16 dòng vi khuẩn thể hiện sự tăng mật số sau 72 giờ nuôi cấy này được chọn để tiếp tục khảo sát khả năng tăng mật số trong môi trường nuôi cấy lỏng có nồng độ carbosulfan tăng cao hơn.

**3.4 Khả năng tăng trưởng về mật số của 16 dòng vi khuẩn tuyển chọn trong môi trường MM lỏng có bổ sung carbosulfan ở nồng độ 30 mg.L<sup>-1</sup>**

Kết quả khảo sát về mật số tăng lên của 16 dòng vi khuẩn tuyển chọn sau 72 giờ trong môi trường nuôi cấy lỏng bổ sung 30 mg.L<sup>-1</sup> carbosulfan được trình bày trong Bảng 2. Kết quả cho thấy có 8 trong tổng số 16 dòng vi khuẩn thử nghiệm (chiếm 50%) có mật số tăng sau 72 giờ nuôi cấy trong môi trường MM lỏng chứa carbosulfan với nồng độ 30 mg.L<sup>-1</sup>. Trong số các dòng vi khuẩn phát triển tốt về mật số ở nồng độ này, dòng vi khuẩn ký hiệu NB03 có mật số đạt 4,34 log CFU/mL là dòng vi khuẩn có khả

năng sinh trưởng và phát triển tốt nhất trong điều kiện môi trường này. Kế tiếp là các dòng VTU02, NB05, VT01 và NB02 có mật số lần lượt đạt 3,54 log CFU/mL, 3,41 log CFU/mL, 2,67 log CFU/mL và 2,46 log CFU/mL. Hai dòng vi khuẩn ký hiệu NB04 và VT03 có mật số vi khuẩn đạt lần lượt 0,17 log CFU/mL và 0,05 log CFU/mL sau 72 giờ nuôi cấy, kết quả này cho thấy hai dòng vi khuẩn này phát triển kém trong môi trường nuôi cấy lỏng chứa carbosulfan với nồng độ 30 mg.L<sup>-1</sup> và được thể hiện qua mật số vi khuẩn tăng lên thấp nhất.

**Bảng 2: Mật số vi khuẩn tăng lên của 8 trong tổng số 16 dòng vi khuẩn tuyển chọn sau 72 giờ nuôi cấy trong môi trường MM lỏng bổ sung carbosulfan nồng độ 30 mg.L<sup>-1</sup>**

STT	Dòng vi khuẩn	Mật số vi khuẩn tăng lên (log CFU/mL)
1	NB03	4,34 <sup>a</sup> ± 0,39
2	VTU02	3,54 <sup>b</sup> ± 0,02
3	NB05	3,41 <sup>b</sup> ± 0,14
4	VT01	2,67 <sup>c</sup> ± 0,18
5	NB02	2,46 <sup>c</sup> ± 0,20
6	VT08	1,14 <sup>d</sup> ± 0,32
7	NB04	0,17 <sup>e</sup> ± 0,12
8	VT03	0,05 <sup>e</sup> ± 0,08
CV (%)		34,52

\*Ghi chú: Mật số vi khuẩn tăng lên sau 72 giờ nuôi cấy; Các giá trị trung bình có chữ theo sau trong cùng một cột giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê theo kiểm định Fisher với độ tin cậy 95%

**3.5 Khả năng tăng trưởng về mật số của 16 dòng vi khuẩn tuyển chọn trong môi trường MM lỏng có bổ sung carbosulfan ở nồng độ 40 mg.L<sup>-1</sup>**

Kết quả khảo sát về mật số tăng lên của 16 dòng vi khuẩn tuyển chọn sau 72 giờ trong môi trường nuôi cấy lỏng bổ sung 40 mg.L<sup>-1</sup> carbosulfan được trình bày trong Bảng 3. Kết quả cho thấy có 6 trong tổng số 16 dòng vi khuẩn thử nghiệm (chiếm 37,5%) có mật số vi khuẩn tăng lên sau 72 giờ nuôi ở trong môi trường MM nuôi cấy lỏng chứa carbosulfan nồng độ 40 mg.L<sup>-1</sup>. Hầu hết các dòng vi khuẩn thử nghiệm có sức sinh trưởng và phát triển kém ở nồng độ này, chỉ duy nhất dòng NB03 là dòng vi khuẩn có mật số tăng cao (3,41 log CFU/mL) và khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh với các dòng vi khuẩn khác. Chứng tỏ dòng NB03 có khả năng thích nghi, sinh trưởng và phát triển tốt nhất trong điều kiện môi trường nuôi cấy này. Kế tiếp, ba dòng vi khuẩn ký hiệu PH04, NB01 và NB02 có mật số vi khuẩn tăng lên lần lượt đạt 0,89 log CFU/mL, 0,88 log CFU/mL và 0,85 log CFU/mL. Hai dòng vi

khẩn ký hiệu VT01 và NB05 có mật số vi khuẩn tăng lên thấp phát và lần lượt đạt 0,34 log CFU/mL và 0,18 log CFU/mL trong môi trường chứa carbosulfan nồng độ 40 mg.L<sup>-1</sup>.

**Bảng 3: Mật số vi khuẩn tăng lên của 6 trong tổng số 16 dòng vi khuẩn tuyển chọn sau 72 giờ nuôi cấy trong môi trường MM lỏng bổ sung carbosulfan nồng độ 40 mg.L<sup>-1</sup>**

STT	Dòng vi khuẩn	Mật số vi khuẩn tăng lên (log CFU/mL)
1	NB03	3,41 <sup>a</sup> ± 0,12
2	PH04	0,89 <sup>b</sup> ± 0,14
3	NB01	0,88 <sup>b</sup> ± 0,07
4	NB02	0,85 <sup>b</sup> ± 0,20
5	VT01	0,34 <sup>c</sup> ± 0,15
6	NB05	0,18 <sup>c</sup> ± 0,12
CV (%)		27,30

\*Ghi chú: Mật số vi khuẩn tăng lên sau 72 giờ nuôi cấy; Các giá trị trung bình có chữ theo sau trong cùng một cột giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê theo kiểm định Fisher với độ tin cậy 95%

**3.6 Khả năng tăng trưởng về mật số của 16 dòng vi khuẩn tuyển chọn trong môi trường MM lỏng có bổ sung carbosulfan ở nồng độ 50 mg.L<sup>-1</sup>**

**Bảng 4: Mật số vi khuẩn tăng lên của 7 trong tổng số 16 dòng vi khuẩn tuyển chọn sau 72 giờ nuôi cấy trong môi trường MM lỏng bổ sung carbosulfan nồng độ 50 mg.L<sup>-1</sup>**

STT	Dòng vi khuẩn	Mật số vi khuẩn tăng lên (log CFU/mL)
1	NB04	4,10 <sup>a</sup> ± 0,16
2	NB02	2,72 <sup>b</sup> ± 0,04
3	NB03	1,75 <sup>c</sup> ± 0,07
4	PH04	0,94 <sup>d</sup> ± 0,10
5	NB01	0,60 <sup>e</sup> ± 0,13
6	VT01	0,55 <sup>e</sup> ± 0,11
7	NB05	0,41 <sup>e</sup> ± 0,09
CV (%)		11,55

\*Ghi chú: Mật số vi khuẩn tăng lên sau 72 giờ nuôi cấy; Các giá trị trung bình có chữ theo sau trong cùng một cột giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê theo kiểm định Fisher với độ tin cậy 95%

Kết quả khảo sát về mật số tăng lên của 16 dòng vi khuẩn tuyển chọn sau 72 giờ trong môi trường nuôi cấy lỏng bổ sung 50 mg.L<sup>-1</sup> carbosulfan được trình bày trong Bảng 4. Kết quả cho thấy có 7 trong tổng số 16 dòng vi khuẩn tuyển chọn (chiếm 42,75%) có mật số vi khuẩn tăng lên sau 72 giờ nuôi cấy ở trong môi trường MM nuôi cấy lỏng chứa carbosulfan nồng độ 50 mg.L<sup>-1</sup>. Trong đó, dòng vi

khuẩn ký hiệu NB04 có mật số vi khuẩn tăng lên là 4,10 log CFU/mL, thể hiện khả năng sinh trưởng và phát triển mật số tốt nhất trong điều kiện môi trường nuôi cấy này. Kế tiếp, các dòng vi khuẩn ký hiệu NB02, NB03 và PH04 có mật số vi khuẩn tăng lên lần lượt đạt 2,72 log CFU/mL, 1,75 log CFU/mL và 0,94 log CFU/mL. Thêm vào đó, ba dòng vi khuẩn ký hiệu NB01, VT01 và NB05 có mật số vi khuẩn tăng lên thấp nhất và đạt lần lượt 0,60 log CFU/mL, 0,55 log CFU/mL và 0,41 log CFU/mL, thể hiện khả năng phát triển kém trong môi trường nuôi cấy lỏng chứa carbosulfan ở nồng độ 50 mg.L<sup>-1</sup>.

**3.7 Khả năng tăng trưởng về mật số của 16 dòng vi khuẩn tuyển chọn trong môi trường MM lỏng có bổ sung carbosulfan ở nồng độ 60 mg.L<sup>-1</sup>**

Kết quả khảo sát về mật số tăng lên của 16 dòng vi khuẩn tuyển chọn sau 72 giờ trong môi trường nuôi cấy lỏng bổ sung 60 mg.L<sup>-1</sup> carbosulfan được trình bày trong Bảng 5. Kết quả cho thấy có 6 trong tổng số 16 dòng vi khuẩn tuyển chọn (chiếm 37,5%) có mật số vi khuẩn tăng lên sau 72 giờ nuôi cấy ở trong môi trường MM nuôi cấy lỏng chứa carbosulfan nồng độ 60 mg.L<sup>-1</sup>. Cụ thể dòng vi khuẩn ký hiệu NB04 tăng 4,38 log CFU/mL mật số sau 72 giờ nuôi cấy, thể hiện khả năng sinh trưởng và phát triển tốt nhất trong điều kiện môi trường này. Kế tiếp, 3 dòng vi khuẩn ký hiệu NB02, NB05 và NB03 có mật số vi khuẩn tăng lên lần lượt đạt 3,62 log CFU/mL, 3,35 log CFU/mL và 3,04 log CFU/mL. Ngoài ra, hai dòng vi khuẩn ký hiệu NB01 và PH04 có mật số vi khuẩn tăng lên thấp nhất và đạt lần lượt 0,80 log CFU/mL và 0,57 log CFU/mL, cho thấy khả năng phát của chúng triển kém trong môi trường chứa carbosulfan với nồng độ 60 mg.L<sup>-1</sup>.

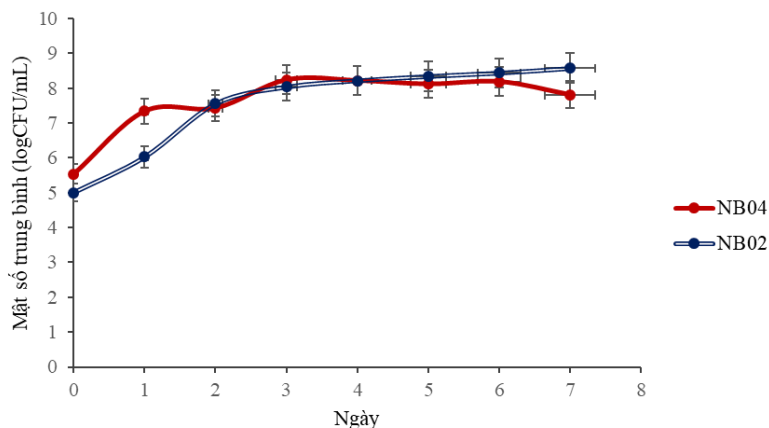
**Bảng 5: Mật số vi khuẩn tăng lên của 6 trong tổng số 16 dòng vi khuẩn tuyển chọn sau 72 giờ nuôi cấy trong môi trường MM lỏng bổ sung carbosulfan nồng độ 60 mg.L<sup>-1</sup>**

STT	Dòng vi khuẩn	Mật số vi khuẩn tăng lên (log CFU/mL)
1	NB04	4,38 <sup>a</sup> ± 0,12
2	NB02	3,62 <sup>b</sup> ± 0,19
3	NB05	3,35 <sup>b</sup> ± 0,04
4	NB03	3,04 <sup>c</sup> ± 0,04
5	NB01	0,80 <sup>d</sup> ± 0,08
6	PH04	0,57 <sup>d</sup> ± 0,11
CV (%)		6,49

\*Ghi chú: Mật số vi khuẩn tăng lên sau 72 giờ nuôi cấy; Các giá trị trung bình có chữ theo sau trong cùng một cột giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê theo kiểm định Fisher với độ tin cậy 95%

**3.8 Khả năng tăng trưởng về mật số của hai dòng vi khuẩn NB02 và NB04 tuyển chọn trong môi trường MM lỏng có bổ sung carbosulfan ở nồng độ 60 mg.L<sup>-1</sup>**

Kết quả khảo sát khả năng tăng mật số của 16 dòng vi khuẩn tuyển chọn trong môi trường MM lỏng có bổ sung carbosulfan ở nồng độ khác nhau cho thấy hai dòng vi khuẩn ký hiệu NB02 và NB04 sinh trưởng và phát triển tốt thông qua việc gia tăng mật số trong môi trường nuôi cấy MM lỏng có bổ sung hoạt chất carbosulfan ở nồng độ cao. Do đó, hai dòng này được tuyển chọn như là 2 dòng vi khuẩn tốt nhất để khảo sát việc tăng mật số của chúng trong 7 ngày thí nghiệm. Kết quả khảo sát khả năng sinh trưởng và phát triển của hai dòng vi khuẩn tuyển chọn NB02 và NB04 trong môi trường MM lỏng bổ sung carbosulfan với nồng độ 60 mg.L<sup>-1</sup> sau 7 ngày thí nghiệm được trình bày ở Hình 3.



**Hình 3: Khả năng tăng trưởng của dòng vi khuẩn NB02 và NB04 trong môi trường MM lỏng bổ sung carbosulfan nồng độ 60 mg.L<sup>-1</sup> trong 7 ngày nuôi cấy**

Nhìn chung, mật số của hai dòng vi khuẩn NB02 và NB04 tăng lên sau 7 ngày nuôi cấy trong môi trường MM lỏng bổ sung carbosulfan nồng độ 60 mg.L<sup>-1</sup> so với mật số hai dòng vi khuẩn ở ngày 0. Dòng vi khuẩn NB02 có mật số tăng từ 5 (log CFU/mL) ở ngày 0 lên đến 8,57 (log CFU/mL) ở ngày thứ 7. Như vậy mật số vi khuẩn dòng NB02 tăng lên 3,57 (log CFU/mL) sau 7 ngày nuôi cấy. Trong khi đó, dòng vi khuẩn NB04 có mật số tăng từ 5,53 (log CFU/mL) ở ngày 0 và tăng lên cao nhất ở ngày 3 (8,24 log CFU/mL) sau đó có xu hướng giảm dần theo thời gian thí nghiệm thông qua mật số vi khuẩn ở ngày 4, 5, 6 và 7 lần lượt giảm xuống còn 8,22 log CFU/mL, 8,12 log CFU/mL, 8,19 log CFU/mL và 7,8 log CFU/mL. Chứng tỏ đây là hai dòng vi khuẩn này có khả năng phân giải carbosulfan hiệu quả và vi khuẩn có thể đã sử dụng được hoạt chất thuốc trừ sâu này như nguồn carbon để nhân mật số.

**3.9 Khả năng phân hủy hoạt chất carbosulfan của hai dòng vi khuẩn NB02 và NB04**

**Bảng 6: Khả năng phân hủy hoạt chất carbosulfan của hai dòng vi khuẩn NB02 và NB04 trong môi trường MM lỏng bổ sung 60 mg.L<sup>-1</sup> carbosulfan trong 7 ngày nuôi cấy**

Dòng vi khuẩn	Lượng carbosulfan còn lại (mg.L <sup>-1</sup> )	Lượng carbosulfan phân giải (mg.L <sup>-1</sup> )	Phần trăm phân giải (%)
NB02	10,57	49,43	82,3
NB04	15,07	44,93	75,0

**3.10 Nhận diện hai dòng vi khuẩn NB02 và NB04 phân giải hoạt chất carbosulfan tốt nhất**

Kết quả giải trình tự gen 16S rRNA và nhận diện hai dòng vi khuẩn tuyển chọn NB02 và NB04 thể hiện khả năng phân giải hoạt chất carbosulfan tốt nhất được trình bày trong Bảng 7. Kết quả cho thấy dòng vi khuẩn ký hiệu NB02 có tổng cộng 921 nucleic tương đồng với trình tự gen 16S rRNA của dòng *Stenotrophomonas panacihumi* PA3-2 ở độ đồng hình 97,71%, với số đăng ký trên ngân hàng gen quốc tế là KX371621.1. Bên cạnh đó, dựa vào kết quả khảo sát về hình thái khuẩn lạc và tế bào của dòng vi khuẩn ký hiệu NB02 cho thấy đây là dòng vi khuẩn thuộc nhóm Gram âm, hình que, chuyển động và có độ tương đồng 97,71% với loài *Stenotrophomonas panacihumi* PA3-2 tìm thấy trên ngân hàng gene thế giới NCBI. Đây là chủng vi khuẩn phân hủy chuyên biệt hoạt chất polypropylen. Ngoài ra, nghiên cứu còn cho thấy, dòng vi khuẩn này phân hủy sinh học cả hoạt chất polypropylen phân tử thấp và polypropylen phân tử cao (Jeon and Kim, 2016). Một loại vi khuẩn oxy hóa arsenite được nhận diện dựa trên trình tự gen 16S rRNA cho thấy dòng này có mối liên hệ chặt chẽ với dòng vi

**NB04 tuyển chọn trong môi trường MM lỏng bổ sung 60 mg.L<sup>-1</sup> carbosulfan**

Kết quả khảo sát khả năng phân giải hoạt chất carbosulfan trong môi trường MM lỏng có bổ sung 60 mg.L<sup>-1</sup> carbosulfan sau 7 ngày thí nghiệm được trình bày trong Bảng 6. Kết quả cho thấy nồng độ carbosulfan trong dịch nuôi chủng dòng vi khuẩn NB02 giảm từ 60 mg.L<sup>-1</sup> còn 10,57 mg.L<sup>-1</sup>, chứng tỏ dòng vi khuẩn này đã phân hủy hết 82,3% lượng hoạt chất carbosulfan trong 7 ngày thí nghiệm. Trong khi đó, dịch nuôi chủng dòng vi khuẩn NB04 có bổ sung carbosulfan nồng độ ban đầu là 60 mg.L<sup>-1</sup>, sau 7 ngày thí nghiệm, nồng độ carbosulfan còn lại là 15,07 mg.L<sup>-1</sup>. Kết quả này cho thấy dòng vi khuẩn NB04 đã phân giải hết 75% hoạt chất carbosulfan ban đầu. Nghiên cứu của Garg Neelima and Bhattacharjee năm 2018, cho thấy dòng vi khuẩn có ký hiệu CISH C-1 được phân lập từ đất trồng cây xoài có khả năng phân giải 91% carbosulfan có nồng độ ban đầu là 2% sau 28 ngày nuôi cấy trong môi trường khoáng tối thiểu lỏng.

khuyến *Stenotrophomonas panacihumi*. Kết quả nghiên cứu khác cũng cho thấy dòng này đã oxy hóa hoàn toàn 500 μM arsenite thành arsenate trong vòng 12 giờ sau khi ủ trong môi trường tối thiểu (Bahar et al., 2012).

Bên cạnh đó, dòng vi khuẩn ký hiệu NB04 chứa 926 nucleic và tương đồng với trình tự gen 16S rRNA của dòng *Acinetobacter calcoaceticus* NA232 với độ đồng hình 98,65% và có số đăng ký trên ngân hàng gen quốc tế là MN006198.1 (Bảng 7). Dựa vào kết quả khảo sát về hình thái khuẩn lạc và tế bào của dòng vi khuẩn ký hiệu NB04 cho thấy đây là dòng vi khuẩn thuộc nhóm Gram âm, hình cầu đơn và chuyển động chậm. Các kết quả nghiên cứu trước đây cho thấy dòng vi khuẩn này có khả năng phân giải hoạt chất Bifenthrin (BF) (Tingting et al., 2012). Theo nghiên cứu của Zhao et al. (2014), dòng vi khuẩn *Acinetobacter calcoaceticus* phân lập từ rễ của cây họ bị nhiễm thuốc trừ sâu chlorpyrifos có khả năng phân giải 60% hoạt chất chlorpyrifos có nồng độ ban đầu là 100 mg/L trong 4 ngày và phân giải 60,2% chlorpyrifos trong đất bị nhiễm thuốc trừ sâu sau 18 ngày thí nghiệm. Ngoài ra, nghiên cứu cũng cho thấy dòng vi khuẩn này còn có chức năng hòa tan lân khó tan, tổng hợp hormone thực vật



(indole 3 acid acetic) và sản xuất siderophore. Như vậy, vi khuẩn này có thể có đồng thời chức

năng phân giải hoạt chất huộc trừ sâu và thúc đẩy tăng trưởng thực vật.

**Bảng 7: Kết quả định danh hai dòng vi khuẩn phân giải tốt hoạt chất carbosulfan NB02 và NB04 dựa vào thông tin BLAST trên NCBI**

Loài tương đồng	Số Nucleotide	Mức độ tương đồng(%)	Accession
<i>Stenotrophomonas panacihumi</i> PA3-2	1504	97,71	KX371621.1
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> NA232	1568	98,65	MN006198.1

#### 4 KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã phân lập được 31 dòng vi khuẩn từ đất trồng lúa có sử dụng hoạt chất carbosulfan ở tỉnh Hậu Giang. Đa số các dòng vi khuẩn phân lập thuộc nhóm Gram âm, que ngắn và chuyển động chậm. Có 16 dòng vi khuẩn phát triển tốt trên môi trường có carbosulfan ở nồng độ phân lập (20 mg.L<sup>-1</sup>). Trong đó, có 8 dòng vi khuẩn tăng trưởng tốt ở trong môi trường MM lỏng bổ sung 30 mg.L<sup>-1</sup> carbosulfan. Bảy dòng vi khuẩn tăng trưởng tốt ở trong môi trường MM lỏng bổ sung 50 mg.L<sup>-1</sup> carbosulfan. Có 6 dòng vi khuẩn tăng trưởng tốt ở trong môi trường MM lỏng bổ sung 40 và mg.L<sup>-1</sup> carbosulfan. Trong đó, dòng vi khuẩn có ký hiệu NB02 tương đồng với dòng *Stenotrophomonas panacihumi* và có khả năng phân giải 82,3% hoạt chất carbosulfan với nồng độ ban đầu là 60 mg.L<sup>-1</sup> sau 7 ngày nuôi cấy. Ngoài ra, dòng vi khuẩn ký hiệu NB05 tương đồng với dòng *Acinetobacter calcoaceticus* và phân giải 75% hoạt chất carbosulfan có nồng độ ban đầu là 60 mg.L<sup>-1</sup> sau 7 ngày nuôi cấy.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bahar, M.M., Megharaj, M. and Naidu, R. 2012. Arsenic bioremediation potential of a new arsenite-oxidizing bacterium *Stenotrophomonas* sp. MM-7 isolated from soil. *Biodegradation*, 23(6): 803-812.

Boada, L.D., Henríquez-Hernández, L.A., Zumbado, M., Almeida-González, M., Álvarez-León, E.E. and Navarro, P., et al., 2016. Organochlorine pesticides exposure and bladder cancer: evaluation from a gene-environment perspective in a hospital-based case-control study in the Canary Islands (Spain). *Journal of Agromedicine*, 21(1): 34-42.

Garg, N. and A.K. Bhattacharjee, 2018. Bacterial degradation of Imidacloprid and Carbosulfan under in-vitro conditions in mango (*Mangifera indica*)—a preliminary study. *Current Horticulture*, 6(2): 22-26.

Jeon, H.J. and M.N. Kim, 2016. Isolation of mesophilic bacterium for biodegradation of polypropylene. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 115: 244-249.

Kalia, A. and S.K. Gosal, 2011. Effect of pesticide application on soil microorganisms. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 57(6): 569-596.

Köhler, H.R. and R. Triebkorn, 2013. Wildlife ecotoxicology of pesticides: can we track effects to the population level and beyond?. *Science*, 341(6147): 759-765.

Lane, D. J., 1991. 16S/23S rRNA sequencing. *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*, 115-175 pp.

Sahoo, A., N. Sethunathan, and P.K. Sahoo, 1998. Microbial degradation of carbosulfan by carbosulfan-and carbosulfan-retreated rice soil suspension. *Journal of Environmental Science & Health Part B*, 33(4): 369-379.

Tingting L., D. Kunming and L. Miao, 2012. Isolation, identification and biodegradation characteristics of a bacterial strain able to degrade bifenthrin. *Nongye Huanjing KexueXuebao*. 31(6):1147–1152

Tomlin, C., 1995. *The pesticide manual*. Crop protection publ and Royal Chem, Three Edition. *Soc* 380–390 pp.

Zhao, L., F. Wang, and J. Zhao, 2014. Identification and functional characteristics of chlorpyrifos-degrading and plant growth promoting bacterium *Acinetobacter calcoaceticus*. *Journal of Basic Microbiology*, 54(5): 457-463.