



KHẢ NĂNG CỐ ĐỊNH VI KHUẨN PHÂN HỦY HOẠT CHẤT THUỐC TRỪ SÂU PROPOXUR (*Paracoccus* SP. P23-7) CỦA BIOCHAR

Nguyễn Khởi Nghĩa¹, Nguyễn Thị Kiều Oanh¹, Đỗ Hoàng Sang¹ và Lâm Tử Lăng¹

¹ Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 16/12/2014

Ngày chấp nhận: 09/06/2015

Title:

Immobilization of the pesticide Propoxur degrading bacteria, *Paracoccus* sp. P23-7 by biochar

Từ khóa:

Biochar, vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7, sự cố định, dung dịch nuôi cấy và Propoxur

Keywords:

Biochar, *Paracoccus* sp. P23-7, immobilization, liquid culture and Propoxur

ABSTRACT

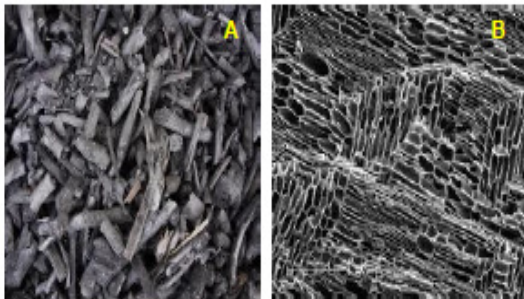
The objective of this study was to investigate the immobilization capacity of biochar for the pesticide Propoxur degrading bacteria, *Paracoccus* sp. P23-7. The experiment was conducted in 25 mL minimal salt medium solution containing 50 ppm Propoxur as the only carbon source for the growth of bacteria during the experimental course and lasted for 18 days. Three kinds of biochar materials were chosen to test their immobilization capacity for bacteria including wood biochar, charcoal and municipal waste biochar. Four replicates were performed for each treatment. The bacterial cell counting was observed at the time intervals of 0, 4, 6, 11 and 18 incubation days. Results showed that biochar have a capacity to immobilize *Paracoccus* sp. P23-7 in the liquid culture. The municipal waste biochar revealed the highest capacity of immobilization for *Paracoccus* sp. P23-7 as compared to two other biochars in the solution. However, each biochar material has a different capacity of immobilization and release for *Paracoccus* sp. P23-7. The treatment with biochar supplement increased significantly the cell amount of *Paracoccus* sp. P23-7 in 1 mL of the liquid solution and the total cell amount of *Paracoccus* sp. P23-7 (in 25 mL liquid solution and in 1,5 g biochar) as compared to the control treatment.

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm đánh giá khả năng cố định vi khuẩn phân hủy thuốc trừ sâu Propoxur, *Paracoccus* sp. P23-7 của biochar. Thí nghiệm được thực hiện trong 25 mL dung dịch khoáng tối thiểu lỏng chứa 50 ppm Propoxur như là nguồn carbon duy nhất cho vi khuẩn sinh trưởng và phát triển suốt thời gian thí nghiệm và được kéo dài trong 18 ngày. Ba vật liệu biochar khác nhau được chọn để kiểm tra khả năng cố định vi khuẩn của chúng bao gồm: biochar than củi, than đước và rác đô thị. Thí nghiệm được thực hiện với bốn lặp lại. Kết quả nghiên cứu cho thấy biochar có khả năng cố định vi khuẩn phân hủy thuốc trừ sâu *Paracoccus* sp. P23-7 trong môi trường khoáng tối thiểu lỏng. Biochar rác đô thị có khả năng cố định vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 cao hơn so với 2 vật liệu biochar còn lại (than củi và than đước). Tuy nhiên, khả năng cố định và phóng thích vi khuẩn phân hủy thuốc trừ sâu Propoxur, *Paracoccus* sp. P23-7 khác nhau giữa các vật liệu biochar. Bổ sung biochar vào trong môi trường nuôi cấy khoáng tối thiểu lỏng chứa 50 ppm hoạt chất thuốc trừ sâu Propoxur giúp gia tăng mật số vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 tự do trong 1 mL môi trường lỏng vào thời điểm ban đầu của thời gian nuôi cấy và tổng mật số vi khuẩn (trong 25 mL môi trường nuôi cấy và trong 1,5 g biochar).

1 GIỚI THIỆU

Biochar là một dạng than có nhiều lỗ hổng được sản xuất từ những nguồn nguyên liệu hữu cơ thô của những chất thải nông nghiệp, vườn hoặc rừng bởi tiến trình nhiệt phân, một sự đốt cháy không hoàn toàn và thiếu oxy (Ansari, 2009). Sản phẩm cuối cùng của tiến trình nhiệt phân là tạo ra những kẽ hở và những lỗ hổng giúp cho tiến trình hấp thu và cầm giữ nước, dinh dưỡng cũng như những chất ô nhiễm hữu cơ hoặc vô cơ của biochar diễn ra một cách hiệu quả (Hình 1). Biochar còn có chức năng như là một giá thể của sự sống nhằm bảo vệ vi sinh vật khỏi sự tấn công của các sinh vật khác (Pleasant, 2000). Biochar có khả năng hấp phụ các chất ô nhiễm hữu cơ mạnh hơn so với chất hữu cơ trong đất (Chen và *ctv.*, 2012), nên có thể hấp phụ mạnh những độc chất hữu cơ như: PAHs, nông dược,... khi bón vào trong đất (Chen và Yuan, 2011). Từ những lợi ích trên, biochar được đề nghị sử dụng như là chất mang dùng cho việc chủng vi sinh vật có lợi vào trong đất, nhưng hầu như hiện nay có rất ít nghiên cứu được công bố về ứng dụng của biochar nhằm vào việc chủng vi sinh vật có lợi như là một chất mang để xử lý đất bị ô nhiễm độc chất hữu cơ bằng biện pháp sinh học (Chen và *ctv.*, 2012).



Hình 1: Một dạng biochar (A) và nhiều lỗ hổng bên trong biochar (B)

Ở Việt Nam, nghiên cứu về ứng dụng của biochar trong việc cải tạo sức khỏe đất, đất phèn, đất bạc màu nhằm nâng cao năng suất cây trồng (lúa, bắp, rau muống,...) và giảm khí thải nhà kính mới được bắt đầu (Nguyễn Mỹ Hoa, 2013). Riêng ở Đồng bằng sông Cửu Long, nghiên cứu về ảnh hưởng của biochar lên năng suất cây trồng và cải thiện độ phì của đất chỉ mới bắt đầu được thực hiện (Southavong và *ctv.*, 2012). Tuy nhiên, ở Việt Nam hầu như chưa có nghiên cứu nào về việc sử dụng biochar như là chất mang để bảo vệ vi sinh vật khỏi sự tấn công của các sinh vật khác trong đất khi được chủng vào đất nhằm mục đích phục hồi đất ô nhiễm. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện

nhằm mục tiêu: Khảo sát và đánh giá khả năng cố định vi khuẩn phân hủy thuốc trừ sâu Propoxur, *Paracoccus* sp. P23-7 của 3 vật liệu biochar bao gồm: biochar than củi, biochar than đước và biochar rác đô thị làm cơ sở và nền tảng cho việc ứng dụng biochar như là chất mang để chủng vi khuẩn phân hủy rất hiệu quả thuốc trừ sâu Propoxur nhằm mục đích xử lý sinh học đất ô nhiễm.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Biochar và cách chuẩn bị biochar cho thí nghiệm

Ba dạng biochar khác nhau gồm: biochar than củi, biochar than đước và biochar rác đô thị được sử dụng trong nghiên cứu này. Biochar than đước được mua tại cửa hàng bán tạp hóa trong khu vực thành phố Cần Thơ. Trong khi hai vật liệu biochar còn lại: biochar than củi và biochar rác đô thị được cung cấp từ công ty sản xuất Biochar tại thành phố Hồ Chí Minh (Vina Energy Group). Trước khi sử dụng, biochar được tách ra thành những mảnh nhỏ bằng chày và được sàng qua rây có kích thước 2 x 2 mm. Sau đó, rửa sạch biochar với nước khử khoáng bằng cách cho biochar đã qua rây vào bình tam giác 500 mL chứa 250 mL nước khử khoáng, lắc trên máy lắc tròn với tốc độ 100 vòng x phút⁻¹. Thay nước khử khoáng sau mỗi 8 giờ. Lặp lại quy trình rửa biochar đến khi biochar sạch hoàn toàn (không làm đen màu nước khử khoáng khi lắc trên máy lắc). Biochar sau khi rửa sạch với nước khử khoáng được sấy khô kiệt ở 105°C qua đêm. Cân 1,5 g trọng lượng khô của biochar vào đĩa petri thủy tinh, đem tiệt trùng trong nồi hấp tiệt trùng ở 121°C trong 20 phút. Sau khi tiệt trùng, đĩa petri chứa biochar được sấy khô lần nữa ở 105°C trong hai giờ. Biochar đã sẵn sàng cho bố trí thí nghiệm.

2.2 Nguồn vi khuẩn

Dòng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 phân hủy chuyên biệt và rất hiệu quả thuốc trừ sâu Propoxur được phân lập từ mẫu đất trong kho bảo quản hành tím tại khu vực canh tác hành tím ở Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng (Đỗ Hoàng Sang, 2014) được chọn làm đối tượng nghiên cứu và được xem như là dòng vi khuẩn mẫu cho khả năng cố định vi khuẩn của biochar trong thí nghiệm này. Vi khuẩn được nuôi trong bình tam giác 100 mL chứa 25 mL dung dịch GYE (Glucose Yeast Extract) trong 3 ngày trên máy lắc với tốc độ 100 vòng x phút⁻¹. Thành phần của môi trường GYM trong 1 L dung dịch bao gồm: 10 g glucose và 10 g yeast extract. Sau đó, sinh khối vi khuẩn được thu hoạch bằng cách ly tâm 10.000 vòng x phút⁻¹ trên máy ly tâm. Lặp lại

4 lần việc rửa với nước khử khoáng tiệt trùng nhằm loại bỏ hoàn toàn dinh dưỡng và nguồn carbon còn sót lại trong môi trường nuôi cấy. Hiệu chỉnh độ đục của dung dịch chứa vi khuẩn với nước khử khoáng tiệt trùng bằng máy đo quang phổ về OD 600 nm = 0,7. Nguồn vi khuẩn đã sẵn sàng cho bố trí thí nghiệm. Xác định mật số vi khuẩn ban đầu sau khi hiệu chỉnh độ đục bằng phương pháp nhỏ giọt (Hoben và Somasegaran, 1982) bằng cách tiến hành pha loãng dung dịch vi khuẩn theo hệ số 10 với các nồng độ pha loãng khác nhau. Hút 50 µL dung dịch vi khuẩn của mỗi nồng độ pha loãng và nhỏ 5 giọt lên trên bề mặt môi trường TSB. Môi trường Tryptose Soybean Broth (TSB) chứa 30g Tryptose Soybean Broth và 15g agar pha trong một lít nước cất. Các đĩa môi trường TSB chứa vi khuẩn được đặt vào tủ ủ ở nhiệt độ 35°C trong ba ngày, sau đó, đếm mật số khuẩn lạc.

2.3 Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí trong điều kiện phòng thí nghiệm theo quy trình như sau: bình tam giác 100 mL chứa 24 mL dung dịch khoáng tối thiểu chứa 50 ppm Propoxur (sản phẩm của Dr. Ehrenstorfer GmbH, Đức), 1 mL dung dịch vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 đã được chuẩn bị sẵn (mục 2.2) và 1,5 g biochar đã chuẩn bị sẵn (mục 2.1). Thành phần của môi trường khoáng tối thiểu trong 1 L dung dịch gồm 3,75 g K₂HPO₄; 1 g KH₂PO₄; 0,25 g NaCl; 0,1 g MgSO₄.7H₂O và 0,01 g CaCl₂.H₂O. Môi trường được khử trùng ở 121°C kéo dài 20 phút trong nồi hấp tiệt trùng, sau đó bổ sung 10 mL dung dịch vi lượng vào môi trường vừa mới tiệt trùng. Thành phần vi lượng trong 1 L dung dịch như sau: 10 mg Na₂MoO₄.H₂O; 25 mg H₂BO₃; 15 mg ZnCl₂; 5 mg CuCl₂ và 10 mg FeCl₃. Dung dịch vi lượng được lọc với màng lọc tiệt trùng (Minisart NY 25, Sartorius Stedim Biotech, GmHbH, Germany, đường kính 0,20 µm). Thí nghiệm được thực hiện với 4 lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức và được kéo dài trong 18 ngày. Tổng cộng có 4 nghiệm thức trong thí nghiệm và được liệt kê như sau:

– Đối chứng: *Paracoccus* sp. P23-7 (3x10⁸ CFUs x mL⁻¹) + 50 ppm Propoxur

– *Paracoccus* sp. P23-7 (3x10⁸ CFUs x mL⁻¹) + 50 ppm Propoxur + 1,5 g Biochar than củi

– *Paracoccus* sp. P23-7 (3x10⁸ CFUs x mL⁻¹) + 50 ppm Propoxur + 1,5 g Biochar than đượ

– *Paracoccus* sp. P23-7 (3x10⁸ CFUs x mL⁻¹) + 50 ppm Propoxur + 1,5 g Biochar rác đô thị

2.4 Chỉ tiêu theo dõi

Mật số vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 trong 1 mL môi trường nuôi cấy lỏng, mật số vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong 1 g biochar (trọng lượng khô) và tổng mật số vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 trong 25 mL môi trường nuôi cấy lỏng và trong 1,5 g biochar vào các thời điểm: 0, 1, 4, 6, 11, và 18 ngày sau khi nuôi cấy.

Tham khảo mục 2.2 cho quy trình đếm mật số vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 trong môi trường nuôi cấy lỏng.

Quy trình đếm mật số vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong biochar được thực hiện như sau: Tại thời điểm thu mẫu, lấy một lượng xác định biochar trong bình tam giác nuôi cấy chia làm hai phần dưới điều kiện tiệt trùng: một phần với trọng lượng xác định dùng cho việc xác định ẩm độ biochar cho phần tính toán số liệu, phần còn lại cũng với trọng lượng xác định dùng cho việc đếm mật số vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong biochar. Phần biochar này được ngâm 10 phút trong nước khử khoáng tiệt trùng chứa trong đĩa pertri đã tiệt trùng, dùng kẹp tiệt trùng để rửa sạch biochar trong nước. Sau đó, thay nước khử khoáng tiệt trùng mới, tiếp tục lặp lại quy trình rửa biochar thêm 4 lần nữa nhằm loại bỏ hoàn toàn vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 tự do không bị cố định bởi biochar. Sau đó, cho biochar đã rửa sạch vào trong ống Eppendorf 2 mL tiệt trùng, nghiền nhuyễn biochar bằng đũa thủy tinh tiệt trùng, hút 1 mL dung dịch lân đậm tiệt trùng vào trong ống Eppendorf 2 mL chứa biochar đã nghiền, vortex trong 1 phút, pha loãng và chà trên đĩa agar TSB, đem ủ trong tủ ủ ở 30°C trong 3 ngày. Sau đó, đếm mật số vi khuẩn hiện diện trên đĩa. Thành phần 1 lít dung dịch lân đậm chứa 23,99 g NaH₂PO₄ và 15,59 g Na₂HPO₄ trong 1 lít nước khử khoáng.

2.5 Xử lý số liệu

Số liệu sau khi kết thúc thí nghiệm được tổng hợp, tính toán bằng phần mềm Excel và kiểm định thống kê với ANOVA bằng phần mềm Minitab 16.2.

3 KẾT QUẢ

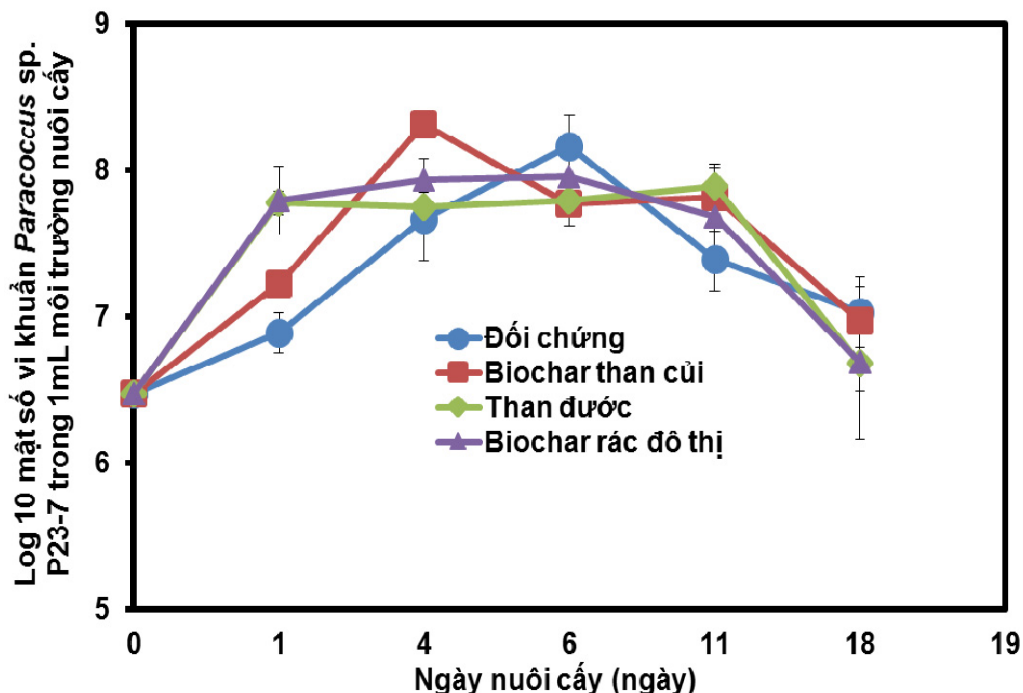
3.1 Sự phát triển mật số vi khuẩn phân hủy thuốc trừ sâu Propoxur, *Paracoccus* sp. P23-7 trong 1 mL môi trường nuôi cấy

Kết quả về sự phát triển mật số vi khuẩn phân hủy thuốc trừ sâu Propoxur, *Paracoccus* sp. P23-7 trong 1 mL môi trường nuôi cấy lỏng trong suốt 18

ngày bố trí thí nghiệm được trình bày trong Hình 2. Nhìn chung, mật số vi khuẩn phân hủy thuốc trừ sâu Propoxur, *Paracoccus* sp. P23-7 trong 1 mL dung dịch môi trường nuôi cấy cao và mật số vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 tăng dần trong giai đoạn từ 0 đến 6 ngày sau khi nuôi cấy. Mật số của dòng vi khuẩn này đạt cao nhất trong giai đoạn từ 4 – 6 ngày sau khi nuôi cấy, sau đó, giảm dần theo thời gian nuôi cấy. Điều này cho thấy vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 đã sử dụng carbon của thuốc trừ sâu Propoxur như là nguồn carbon duy nhất cho việc phát triển và nhân mật số trong giai đoạn 0 – 6 ngày. Điều này được chứng minh bằng nồng độ thuốc trừ sâu Propoxur trong môi trường nuôi cấy lỏng có chủng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 giảm xuống bằng 0 ppm tại thời điểm 4 ngày sau khi nuôi cấy (Đỗ Hoàng Sang, 2014). Tuy nhiên, sau đó, do mật số tăng nhanh, nhưng dinh dưỡng trong môi trường nuôi cấy đã cạn kiệt, nhất là nguồn carbon từ Propoxur, nên vi khuẩn đã giảm dần mật số theo thời gian.

So sánh mật số vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 trong 1 mL môi trường nuôi cấy lỏng giữa các nghiệm thức với nhau cho thấy có sự khác biệt thống kê giữa các nghiệm thức về mật số vi khuẩn vào 1 ngày sau khi nuôi cấy, trong khi các ngày thu

mẫu còn lại, mật số vi khuẩn trong 1 mL môi trường nuôi cấy lỏng không khác biệt thống kê giữa các nghiệm thức khi so sánh với nhau ($p < 0,05$). Vào thời điểm 1 ngày sau khi nuôi cấy, mật số vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 trong 1 mL môi trường nuôi cấy lỏng cao nhất ở hai nghiệm thức: biochar rác đô thị và biochar than được. Cả hai nghiệm thức này không khác biệt với nhau về mật số vi khuẩn. Kể đến là nghiệm thức biochar than củi và mật số vi khuẩn trong 1 mL môi trường nuôi cấy lỏng thấp nhất ở nghiệm thức đối chứng không có biochar. Mật số vi khuẩn chênh lệch giữa các nghiệm thức thí nghiệm so với đối chứng rõ ràng là từ biochar phóng thích ra. Điều này có thể giải thích là do biochar có những kẽ hở và những lỗ hổng giúp cho tiến trình hấp thu và cầm giữ nước, dinh dưỡng cũng như những chất ô nhiễm hữu cơ hoặc vô cơ diễn ra một cách hiệu quả đồng thời còn là một giá thể và là nơi trú ngụ lý tưởng nhằm bảo vệ và giúp vi sinh vật phát triển tốt (Pleasant, 2000), vi khuẩn có thể được phóng thích ra môi trường bên ngoài dễ dàng từ biochar. Như vậy, chủng biochar vào trong môi trường nuôi cấy lỏng chứa 50 ppm Propoxur giúp gia tăng mật số vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 tự do trong 1 mL môi trường lỏng vào thời điểm ban đầu của thời gian nuôi cấy.

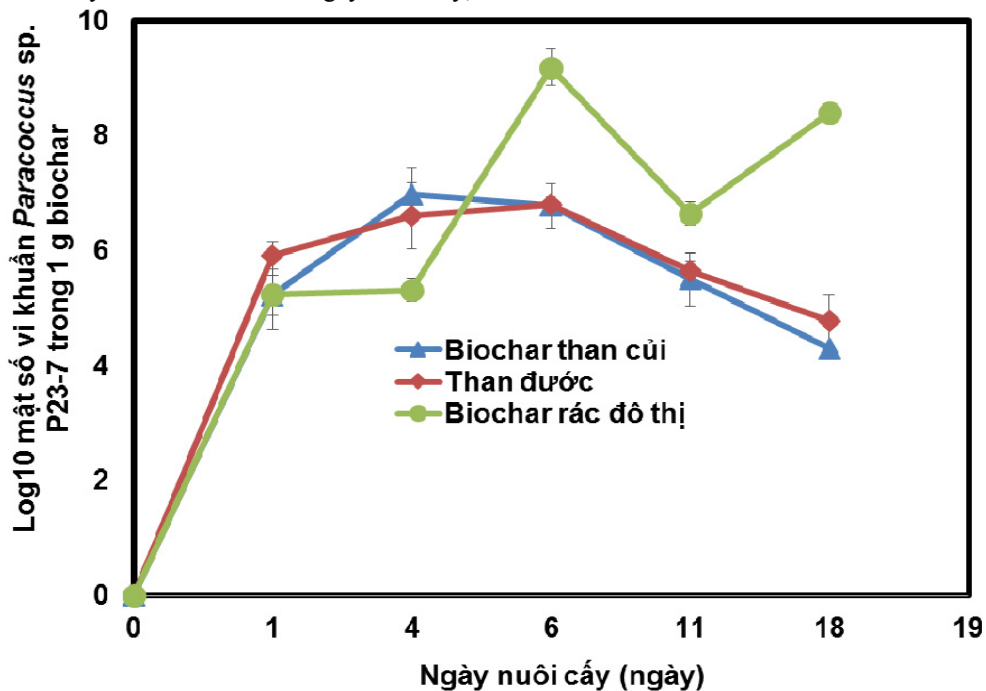


Hình 2: Sự phát triển mật số vi khuẩn phân hủy thuốc trừ sâu Propoxur, *Paracoccus* sp. P23-7 trong 1 mL môi trường nuôi cấy giữa các nghiệm thức (n=4, độ lệch chuẩn)

3.2 Khả năng cố định vi khuẩn phân hủy thuốc trừ sâu Propoxur, *Paracoccus* sp. P23-7 của 3 vật liệu biochar thử nghiệm

Kết quả về khả năng cố định vi khuẩn phân hủy thuốc trừ sâu Propoxur, *Paracoccus* sp. P23-7 trong môi trường khoáng tối thiểu lỏng của 3 vật liệu biochar khác nhau được trình bày trong Hình 3. Nhìn chung, khả năng cố định vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 của 3 vật liệu biochar là khá cao. Mật số vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 cố định bởi biochar có xu hướng tăng dần vào giai đoạn từ 0 đến 6 ngày sau khi nuôi cấy, sau đó, mật số giảm dần. Xu hướng tăng và giảm mật số vi khuẩn cố định trong biochar và trong môi trường nuôi cấy lỏng theo thời gian là giống nhau. Khi so sánh các nghiệm thức biochar với nhau về khả năng cố định và phát triển vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 vào các thời điểm thu mẫu cho thấy, hầu như ở tất cả thời điểm thu mẫu có sự khác biệt thống kê giữa các nghiệm thức, ngoại trừ vào thời điểm 1 ngày sau khi nuôi cấy. Vào thời điểm 4 ngày nuôi cấy,

mật số vi khuẩn bị cố định bởi biochar rác đô thị thấp nhất và khác biệt thống kê ($p < 0,05$) so với 2 vật liệu biochar còn lại (biochar than củi và than đước). Tuy nhiên, vào các ngày thu mẫu sau đó, mật số vi khuẩn bị cố định bởi biochar rác đô thị cao nhất và khác biệt thống kê ($p < 0,05$) so với 2 vật liệu biochar còn lại. Trong khi đó, mật số vi khuẩn bị cố định bởi 2 vật liệu biochar: than củi và than đước không khác biệt thống kê khi so sánh với nhau. Điều này cho thấy vật liệu sản xuất biochar khác nhau thể hiện khả năng cố định vi khuẩn phân hủy thuốc trừ sâu Propoxur, *Paracoccus* sp. P23-7 khác nhau. Bên cạnh đó, sự phát triển và phóng thích vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 ra ngoài môi trường nuôi cấy lỏng giữa các biochar cũng khác nhau. Điều này được thể hiện ở khả năng cố định vi khuẩn của biochar rác đô thị cao hơn 2 vật liệu biochar còn lại, nhưng khả năng phóng thích vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 của biochar này không khác biệt so với 2 biochar còn lại (Hình 2 trong mục 3.1).



Hình 3: Khả năng cố định vi khuẩn phân hủy thuốc trừ sâu Propoxur, *Paracoccus* sp. P23-7 của 3 vật liệu biochar thử nghiệm (n=4, độ lệch chuẩn)

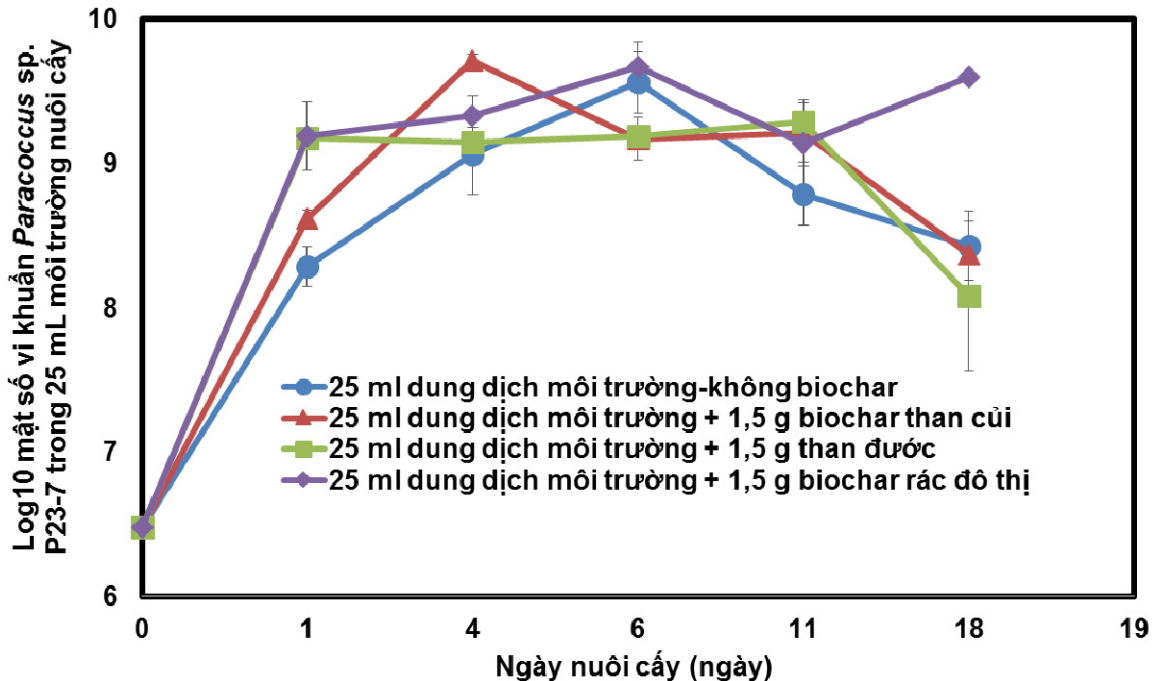
3.3 Tổng mật số vi khuẩn phân hủy thuốc trừ sâu Propoxur, *Paracoccus* sp. P23-7 trong 25 mL môi trường nuôi cấy và trong 1,5 g biochar

Kết quả tổng mật số vi khuẩn phân hủy thuốc trừ sâu Propoxur, *Paracoccus* sp. P23-7 (gồm tổng mật số vi khuẩn trong 25 mL dung dịch môi trường

nuôi cấy và trong 1,5 g biochar) được trình bày trong Hình 4. Nhìn chung, tổng mật số vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 phát triển theo thời gian là rất cao. Tương tự như hai chỉ tiêu về mật số vi khuẩn tự do trong 1 mL môi trường lỏng và mật số vi khuẩn bị cố định bởi biochar, tổng mật số vi

khuẩn cũng tăng dần trong thời gian từ 0 đến 6 ngày nuôi cấy. Mật số phát triển cao nhất ở ngày thứ 6 và sau đó giảm dần theo thời gian nuôi cấy. Điều này cho thấy vi khuẩn đã sử dụng nguồn carbon từ hoạt chất Propoxur cho sự sinh trưởng và phát triển trong giai đoạn 0 đến 6 ngày, sau đó, do sự cạn kiệt về nguồn dinh dưỡng trong môi trường nuôi cấy, đặc biệt là nguồn carbon từ hoạt chất Propoxur, vì vậy mật số vi khuẩn giảm xuống đáng kể. Tổng mật số vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 giữa các nghiệm thức có sự khác biệt thống kê vào các ngày thu mẫu 1, 6 và 18, trong khi đó, tổng mật số vi khuẩn vào các ngày thu mẫu còn lại không thể hiện sự khác biệt nào giữa các nghiệm thức. Vào thời điểm 1 ngày sau khi nuôi cấy, tổng mật số vi khuẩn cao nhất ở 2 nghiệm thức biochar: rác đô thị và than đước, và cả hai không khác biệt thống kê khi so sánh với nhau. Kế đến là nghiệm thức biochar than củi và thấp nhất là ở nghiệm thức đối chứng, không chủng biochar. Tiếp theo, vào các ngày thu mẫu 4 và 18, tổng mật số vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 lần lượt cao nhất ở các nghiệm thức: biochar than củi và biochar rác đô thị. Trong khi các nghiệm thức còn lại không khác biệt về tổng mật số vi khuẩn khi so sánh với nhau.

Như vậy, tổng mật số vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 (gồm trong 25 mL dung dịch môi trường và 1,5 g biochar) cao hơn ở nghiệm thức có bổ sung biochar. Việc mật số vi khuẩn cao hơn ở nghiệm thức bổ sung biochar so với nghiệm thức đối chứng cho thấy biochar có thể có chức năng như là giá thể sinh học do có những kẽ hở và những lỗ hổng giúp cho tiến trình hấp thụ và cầm giữ nước, dinh dưỡng cũng như những chất ô nhiễm hữu cơ hoặc vô cơ diễn ra một cách hiệu quả đồng thời còn là một giá thể và là nơi trú ngụ lý tưởng nhằm bảo vệ và giúp vi sinh vật phát triển tốt (Pleasant, 2000). Ngoài ra, tổng mật số vi khuẩn trong môi trường nuôi cấy lỏng giữa 3 nghiệm thức bổ sung biochar không giống nhau có thể là do mỗi vật liệu biochar khác nhau chứa hàm lượng và thành phần dinh dưỡng cần thiết cho phát triển hoặc ức chế vi sinh vật khác nhau. Thêm vào đó, đặc tính lý và hóa học của 3 vật liệu biochar thử nghiệm này cũng có thể đã khác nhau vì đặc tính lý, hóa học, hàm lượng và thành phần dinh dưỡng cũng như hàm lượng và thành phần hoạt chất ức chế phát triển vi sinh vật của từng loại biochar phụ thuộc rất nhiều vào vật liệu đầu vào và chế độ nhiệt dùng để sản xuất biochar (Lehmann và Gaunt, 2006).



Hình 4: Sự phát triển tổng mật số vi khuẩn phân hủy thuốc trừ sâu Propoxur, *Paracoccus* sp. P23-7 (gồm mật số vi khuẩn trong 25 mL môi trường nuôi cấy và trong 1,5 g biochar) (n=4, độ lệch chuẩn)

4 KẾT LUẬN

Biochar có khả năng cố định vi khuẩn phân hủy thuốc trừ sâu Propoxur, *Paracoccus* sp. P23-7 trong môi trường khoáng tối thiểu lỏng.

Bổ sung biochar vào trong môi trường nuôi cấy khoáng tối thiểu lỏng chứa 50 ppm hoạt chất thuốc trừ sâu Propoxur giúp gia tăng mật số vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 tự do trong 1 mL môi trường lỏng vào thời điểm ban đầu của thời gian nuôi cấy và tổng mật số vi khuẩn (trong 25 mL môi trường nuôi cấy và trong 1,5 g biochar).

Biochar rác đô thị có khả năng cố định vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 cao hơn so với hai vật liệu biochar còn lại (than củi và than đước).

Vật liệu sản xuất biochar khác nhau thể hiện khả năng cố định vi khuẩn phân hủy thuốc trừ sâu Propoxur, *Paracoccus* sp. P23-7 khác nhau. Ngoài ra, sự phát triển và phóng thích vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 ra ngoài môi trường nuôi cấy lỏng giữa các vật liệu biochar cũng khác nhau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ansari, A., 2009. Can biochar save the planet? http://articles.cnn.com/2009-03-30/tech/biochar.warming.energy_1_carbon-co2-organic?_s=PM:TECH.
2. Chen, B., Yuan, M and Qian, L., 2012. Enhanced bioremediation of PAH-contaminated soil by immobilized bacteria with plant residues and biochar as carriers. *Journal of Soil and Sediments*. DOI 10.1007/s11368-012-0554-5.
3. Chen, B.L and Yuan, M.X., 2011. Enhanced sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons by soil amended with biochar. *Journal of Soils and Sediments*. 11:62–71.
4. Đỗ Hoàng Sang., 2014. Đánh giá khả năng phân hủy thuốc trừ sâu Propoxur của dòng vi khuẩn phân lập từ nền đất bảo quản hành tím tại thị xã Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng. Luận văn tốt nghiệp Đại Học, Khoa Khoa Học Tự Nhiên, Trường Đại Học Cần Thơ.
5. Hoben, H.J., Somasegaran, P., 1982. Comparison of the pour, spread, and drop plate methods for enumeration of *Rhizobium* spp. in inoculants made from presterilized peat. *Appl. Environ. Microbiol.*, 44 (5), 1246-1247.
6. Lehmann, J., Gaunt, J., Rondon, M., 2006. Bio-char sequestration in terrestrial ecosystems—A review. *Journal of Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change* 11, 403–427.
7. Nguyễn Mỹ Hoa., 2013. Khảo sát khả năng hấp phụ đạm bởi biochar trong điều kiện ủ hiếu khí. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học*: 29: 52-59.
8. Pleasant, B., 2000. Make biochar-This ancient technique will improve our soils. <http://www.motherearthnews.com/Organic-Gardening/Make-Biochar-To-Improve-Your-Soil.aspx>.
9. Southavong, S; Khammingsavath, K; Vyraphet, P and Preston, T.R., 2012. Effect of effluent-treated biochar and biodigester effluent on growth of maize (*Zea mays*) and on soil physical properties. *Journal of Livestock research for rural development*. 24 (6).