



Rừng là vàng, nếu mình biết bảo vệ và xây dựng thì rừng rất quý

(Lời Hồ Chủ tịch)

Rừng & Môi trường

ISSN 1859-1248

HỘI KHOA HỌC KỸ THUẬT LÂM NGHIỆP VIỆT NAM



Số 119
Năm 2023



**SỐ 119
NĂM 2023**



Tổng Biên tập
PGS. TS. Triệu Văn Hùng



Phó tổng Biên tập
Đàm Thị Mỹ

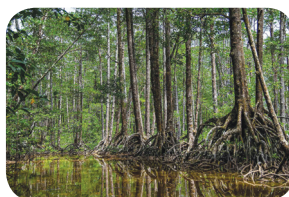


Thiết kế
Nguyễn Zững



Tòa soạn và Trị sự
Số 114 Hoàng Quốc Việt, Hà Nội
ĐT: (024) 3.7541311 - 0913. 381559
Fax: (024) 3.7552220
Email: tckhungvamoiuong@gmail.com
f: www.facebook.com/tapchiRungvaMoiTruong
Website: tckhungvamoiuong.vn

GPXB số: 224/GP-BTTTT
Cấp ngày 8/6/2015
In tại: CTCP Khoa học và công nghệ
Hoàng Quốc Việt
Giá: 20.000 đ



Rừng & Môi trường

Khoa học công nghệ

- ♦ *Đào Thu Huế, Phạm Ngọc Khánh, Khuất Thị Chung, Lương Vũ Đức, Vàng Mí Nhù:* Điều tra thành phần sâu hại và bệnh hại... 4
- ♦ *Tạ Văn Vạn, Đinh Tiến Tài, Vũ Văn Lợi, Phạm Thị Thu Thủy, Phạm Duy Long:* Kiến thức bản địa trong gây trồng, khai thác và chế biến cây... 9
- ♦ *Huỳnh Văn Chung, Nguyễn Thanh Hiền, Nguyễn Thị Mỹ, Hồ Minh Trí:* Nâng cao năng lực quản trị cho ban giám đốc, thành viên hợp tác xã... 14
- ♦ *Nguyễn Văn Huân, Trần Quang Minh, Nguyễn Hồng Ngọc, Mai Thị Như Trang, Ninh Khắc Bấy, Nguyễn Quang Huy:* Đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm vi sinh vật giữ ẩm đến cây mía tại tỉnh Hoà Bình 19
- ♦ *Trần Nhật Minh, Nguyễn Phương Đông, Nguyễn Thị Hòa:* Nghiên cứu ứng dụng mô hình ARIMA trong dự báo chất lượng nước mặt... 24
- ♦ *Huỳnh Đức Hoàn, Đinh Minh Hiệp, Nguyễn Văn Hồng, Phạm Tấn Kiên, Bùi Nguyễn Thế Kiệt, Nguyễn Trung Trực:* Bảo vệ và phát triển bền vững rừng ngập mặn cần giờ: Từ chính sách, pháp luật đến thực tiễn... 29
- ♦ *Đào Trung Thành, Nguyễn Quốc Phi, Nguyễn Thị Hồng:* Đánh giá rủi ro sinh thái của một số kim loại nặng trong nước và trầm tích... 37
- ♦ *Trương Quang Hoàng, Nguyễn Đình Phước, Nguyễn Văn Lợi, Phan Văn Hùng, Trần Hữu Tâm:* Ngăn chặn mất rừng và suy thoái rừng... 43
- ♦ *Nguyễn Thị Thu Hà:* Nghiên cứu đề xuất giải pháp nhằm nâng cao hiệu quả phòng cháy, chữa cháy rừng tại VQG Nậm Pui, tỉnh Xayaboury... 52
- ♦ *Nguyễn Hoàng, Nguyễn Thị Tần, Chu Thị Thúy Nga, Nguyễn Hải Văn, Phạm Ngọc Khánh:* Đánh giá đặc điểm nông sinh học của mẫu giống Dâm dương hoắc lá mác trồng tại Bát Xát - Lào Cai 58
- ♦ *Phạm Ngọc Nam, Tăng Thị Kim Hồng, Nguyễn Thị Ánh Nguyệt, Phạm Khôi Nguyên:* Nghiên cứu chế độ xử lý gỗ điều bằng hạt nano zno... 63
- ♦ *Vũ Thị Lan Anh, Ngô Thị Thúy Hương, Trần Văn Tuấn, Đặng Thị Hà Thu, Phạm Thế Hải:* Nghiên cứu đánh giá phương pháp tách chiết DNA... 69
- ♦ *Vũ Thị Hiền, Trần Lệ Thị Bích Hồng, Hoàng Đăng Duy:* Giải pháp nâng cao vai trò của Hội nông dân trong xây dựng NTM... 74
- ♦ *Nguyễn Phương Đông, Lê Minh Tuấn, Trần Thị Ngọc:* Đánh giá ảnh hưởng của cây xanh đến giảm thiểu hiện tượng đảo nhiệt đô thị... 80
- ♦ *Hoàng Văn Dưỡng, Nguyễn Duy Phong:* Phân chia cấp năng suất và lập biểu cấp đất rừng keo lai tại Quảng Trị và Thừa Thiên Huế 84

Theo dòng sự kiện

- ♦ *Phạm Hà:* Phê duyệt đề án bảo vệ và phát triển rừng vùng ven biển... 91

Hoạt động trong ngành

- ♦ *Nguyễn Ngọc Thủy, Võ Văn Hải:* Tác động của chính sách chi trả dịch vụ môi trường rừng (pfes) đến ý thức bảo vệ rừng... 93

NGHIÊN CỨU ĐÁNH GIÁ PHƯƠNG PHÁP TÁCH CHIẾT DNA TỔNG SỐ CỦA VI SINH VẬT TỪ ĐẤT NHIỄM DIOXIN VÀ RỄ CỎ VETIVER TẠI SÂN BAY BIÊN HÒA, TỈNH ĐỒNG NAI

◆ Vũ Thị Lan Anh^{1,2}, Ngô Thị Thúy Hương³,
Trần Văn Tuấn^{4,5}, Đặng Thị Hà Thu⁶,
Phạm Thế Hải^{4,*}

TÓM TẮT:

Trong những năm gần đây, nhiều phương pháp khác nhau cho phép phân tích đa dạng sinh học và cấu trúc của quần xã vi sinh vật đã xuất hiện, trong đó có các phương pháp sinh học phân tử dựa trên nghiên cứu đa dạng sinh học di truyền thông qua phân tích DNA. Chúng vượt trội hơn so với các phương pháp thông thường vì chúng không dựa vào việc nuôi cấy trong phòng thí nghiệm và cho kết quả về mức độ đa dạng sinh học hiệu quả. Vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi áp dụng 2 phương pháp tách DNA tổng số bằng cách sử dụng các hóa chất và sử dụng DNeasy PowerSoil Kit. Từ đó, lựa chọn phương pháp tối ưu cho quá trình tách DNA tổng số của mẫu đất nhiễm dioxin và mẫu rễ cỏ Vetiver tại Sân bay Biên Hòa, tỉnh Đồng Nai. Độ tinh khiết của sản phẩm tách ra được kiểm tra bằng cách đo A_{260}/A_{280} và A_{260}/A_{230} và gửi giải trình tự một số mẫu. Kết quả nhận thấy phương pháp sử dụng DNA Power Soil Kit là hiệu quả cho tách DNA của mẫu rễ và mẫu đất. Phương pháp này có thể xem xét để tách DNA tổng số của các mẫu có tính chất tương tự.

Từ khóa: DNeasy PowerSoil Kit, tách chiết DNA tổng số, đất nhiễm dioxin, cỏ Vetiver

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tại Việt Nam, ô nhiễm dioxin có nguồn gốc từ thành phần độc hại chủ yếu có trong thuốc diệt cỏ, chủ yếu do tồn dư chiến tranh và gây hậu quả nghiêm trọng cho con người như: tổn thương gan, đột biến gen, ung thư... Ngoài ra, dư lượng dioxin trong đất làm giảm khả năng canh tác của đất và tiềm ẩn nguy cơ đe dọa sức khỏe con người. Những năm gần đây, việc xử lý ô nhiễm dioxin trong đất được áp dụng bằng nhiều công nghệ khác nhau, trong đó bước đầu ứng dụng cỏ Vetiver đã cho kết quả khả quan [2]. Vi sinh vật (VSV) cũng được chứng minh giúp kích thích sinh trưởng thực vật, có khả năng xử lý ô nhiễm các chất hữu cơ trong đất [3]. Tuy nhiên, cho đến nay, chưa có nghiên cứu về mối quan hệ giữa vi sinh vật và khả năng xử lý ô nhiễm dioxin của cỏ.

Bên cạnh đó, để đánh giá mức độ đa dạng của vi sinh vật, các phương pháp truyền thống đã được áp dụng gồm nuôi cấy làm giàu, đếm trực tiếp (qua kính hiển vi), đếm khuẩn lạc (phương pháp tính CFU), đếm bằng phương pháp giá trị xác suất cực đại... Mặc dù các phương pháp này là dễ thực hiện nhưng hạn chế do ngoài các vi sinh vật nuôi cấy được còn nhiều vi sinh vật không nuôi cấy được trong điều kiện phòng thí nghiệm. Số lượng các vi sinh vật nuôi cấy được được cho là chưa tới 1% tổng số vi sinh vật [7]. Do đó, để nghiên cứu sự phân bố và tính đa dạng của các vi sinh vật cần sử dụng những phương pháp khác, bao gồm các phương pháp sinh học phân tử. Trong số các kỹ thuật này, phương pháp giải trình tự DNA tổng số Metagenomic là phương pháp hiệu quả [3] [10] [11]. Vì vậy, trong nội dung bài báo, chúng tôi tập

¹ Khoa Môi trường, Trường Đại học Mô - Địa chất

² NCS Khoa Môi trường, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

³ Trường Đại học Phenikaa

⁴ Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

⁵ Phòng thí nghiệm Trọng điểm Công nghệ Enzym và Protein, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

⁶ Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

* Tác giả liên hệ: email: haiphamthe@gmail.com

trung vào việc nghiên cứu lựa chọn phương pháp đánh giá đa dạng của các VSV trong mẫu thông qua việc tách DNA tổng số để giải trình tự. Đây là tiền đề cho các nghiên cứu sau này về đánh giá mức độ đa dạng sinh học và vai trò của VSV trong quá trình xử lý dioxin cũng như trong quá trình phát triển của cỏ Vetiver.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là các mẫu đất và mẫu rễ cỏ Vetiver được trồng ở khu vực nhiễm dioxin tại sân bay Biên Hòa, tỉnh Đồng Nai.

2. Phương pháp nghiên cứu

a. Phương pháp thu mẫu đất và rễ

Tại khu vực nghiên cứu, mẫu được thu theo quy chuẩn hướng dẫn của UNEP (2007a) với một số điều chỉnh nhỏ.

Với mẫu đất, lấy mẫu tại 30 vị trí khác nhau trong 1 lô thí nghiệm ở các độ sâu 20 cm, 40 cm và 60 cm, sau đó hợp lại thành một mẫu. Các mẫu đất khi đã được lấy, rải ra khay, chia thành các ô và xúc lần lượt từ các ô vào túi zip bạc, khối lượng khoảng 50 g/mẫu.

Mẫu rễ được lấy tại các khu vực gốc cỏ Vetiver. Trước tiên, làm sạch bề mặt đất của vị trí lấy mẫu (gạt hết sỏi, đá). Dùng cuốc, xẻng, kéo để đào và lấy rễ ở vị trí lấy mẫu đã được thiết kế. Khối lượng rễ của mỗi mẫu khoảng 50 g. Rễ sau khi lấy được rửa sạch bằng nước máy để loại bỏ hết đất, cát. Tiếp đến rửa bằng nước cất, hexan, acetone, để khô rồi chia vào các túi zip có ghi ký hiệu mẫu cụ thể.

Sau khi lấy xong, các mẫu được bảo quản ở 4°C và vận chuyển về phòng thí nghiệm để phân tích.

b. Phương pháp khử trùng bề mặt mẫu rễ

Để nghiên cứu mức độ đa dạng vi khuẩn nội sinh trong rễ, tiến hành loại bỏ các vi sinh vật bề mặt rễ. Mẫu rễ được rửa dưới vòi nước chảy 3 phút, sau đó cắt thành các đoạn khoảng 5cm rồi đem rửa với cồn 96o trong 3 phút; rửa tiếp với H₂O₂ 3% trong 3 phút; NaClO 1% trong 3 phút. Cuối cùng, rửa lại với nước cất khử trùng 4 lần. Để kiểm tra hiệu quả của quá trình khử trùng bề mặt trên, hút 100μl nước rửa lần cuối được đem cấy trải trên các đĩa petri có môi trường LB (10g Pepton; 5g Yeast extract; 5g NaCl; 20g agar; 1000ml H₂O; pH = 7) ở 37°C trong 24 giờ. Nếu không có vi sinh vật phát triển thì quá khử trùng bề mặt đạt hiệu quả [1, 5].

c. Phương pháp tách DNA tổng số bằng hóa chất

Lấy 0,2 g mẫu đất hoặc mẫu rễ sau khi đã được khử trùng bề mặt nghiền mịn bằng nitơ lỏng. Thêm 600 μl extraction buffer (50 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl (pH=7,6) 50 mM EDTA, 5% SDS), 4 μl Proteinase K, lắc ngang 225 vòng/phút, 37°C, 30 phút. Thêm 60 μl SDS (20%), ủ 65°C, 2 giờ, đảo mỗi 25 phút. Sau đó, bổ sung 1 lượng thể tích bằng thể tích hiện có Chloroform: Isolamyl 24:1, mix đều, li tâm 5000 vòng/phút, 10 phút, hút dịch nổi. Thêm 0,6 phần thể tích isopropanol lạnh, ủ ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Ly tâm 14000 vòng/phút, 25 phút, 25°C, bỏ dịch. Thêm 500 μl ethanol 70%, li tâm ở 14000 vòng/phút, 4°C, 15 phút, bỏ dịch. Lặp lại 2 lần. Để khô mẫu, thêm 20 μl nước PCR và bảo quản ở -20°C [4, 12] .

d. Phương pháp tách DNA tổng số bằng Kit

Sử dụng kit tách DNeasy PowerSoil Kit (Qiagen, Hilden, Germany) để tách DNA mẫu đất và mẫu rễ. Sử dụng 0,25g mỗi loại mẫu cho việc tách DNA. Trước khi tách, các mẫu được nghiền mịn bằng nitơ lỏng. Tiến hành theo hướng dẫn của nhà sản xuất, gồm các bước cụ thể như sau:

1* Thêm 0,25 mẫu vào ống bead, vortex để mix mẫu.

2* Bổ sung 60 μl dung dịch C1 vortex.

3* Cho vào máy lắc bead, lắc tối đa trong 10 phút.

4* Ly tâm 10000 vòng trong 30 giây.

5* Thu dịch vào ống 1,5 ml.

6* Thêm 250 μl dung dịch C2 vortex 5 giây, ủ 4°C trong 5 phút.

7* Ly tâm 10000 vòng trong 1 phút.

8* Hút 600 μl dịch vào ống 1,5ml mới.

9* Cho 200 μl dung dịch C3, mix nhẹ, ủ 4°C trong 5 phút.

10* Ly tâm 10000 vòng trong 1 phút.

11* Hút 750 μl dịch vào ống 2ml mới.

12* Thêm 1200 μl dung dịch C4, mix nhẹ.

13* Cho 675 μl dịch vào ống spin, ủ li tâm 10000 vòng, bỏ dịch.

14* Thêm 500 μl dung dịch C5, ly tâm 10000 vòng 30 giây, 10000 vòng, bỏ dịch.

15* Ly tâm 10000 vòng trong 1 phút, chuyển ống spin vào ống eppendorf mới.

16* Thêm 100 μl dung dịch C6, ủ 1 phút, ly tâm 10000 vòng trong 30 giây thu được dịch DNA nằm trong ống eppendorf. DNA thu được sẽ được kiểm tra nồng độ, độ tinh sạch và được bảo quản ở -20°C.

e. Phương pháp xác định hàm lượng và độ tinh sạch của DNA

Để xác định hàm lượng và độ tinh sạch của DNA sử dụng phương pháp đo độ hấp thụ DNA tại bước sóng 260 nm (A_{260}).

PCR khuếch đại trình tự DNA của gene 16S rRNA từ các mẫu với cặp mồi p27F (5'-AGAGTTT-GATCCTGGCTCAG3, mồi xuôi)/ p1492R (5'-TACCTTGTTACGACTT3', mồi ngược), và GoTaq Green Mastermix (Promega, Wisconsin, USA). Thành phần và chu trình nhiệt cho PCR.

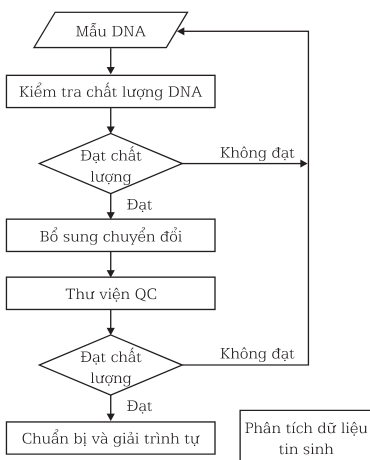
Bảng 1. Thành phần và chu trình nhiệt của phản ứng PCR

Thành phần	Thể tích (μ l)	Chu trình nhiệt
GoTaq mastermix	9	1. 96°C: 3 phút
P27F	1	2. 95°C: 45 giây
P1492R	1	55°C: 45 giây
DNA template	1,5	72°C: 2 phút
Nước PCR	12,5	⇒ 35 chu kỳ
Tổng thể tích	25	3. 72°C: 7 phút

Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng cách nhuộm với RedSafe DNA Stain 20.000x (iNtRON) và điện di trên gel agarose 1% chạy trong đệm TAE 1x với hiệu điện thế 100V trong 20 phút.

g. Giải trình tự Metagenomic tổng số

Trình tự DNA metagenomic được giải bởi BGI Co., Ltd. Quy trình kiểm tra chất lượng DNA và giải trình tự.



Hình 1. Quy trình phân tích DNA

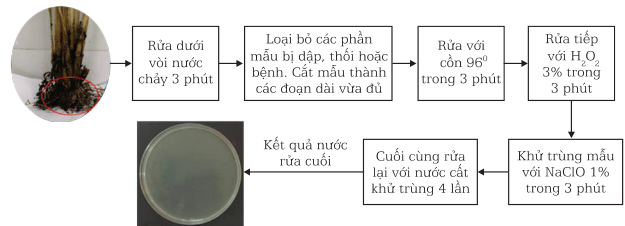
Sau khi đã nhận được mẫu DNA, trước tiên, quá trình kiểm tra chất lượng sẽ được thực hiện, sau đó tất cả DNA đủ điều kiện sẽ được sử dụng để xây dựng một thư viện (thư viện). Dữ liệu thô được lọc để loại bỏ các

dữ liệu có chất lượng thấp, sau đó hợp nhất thành thể và được nhóm lại thành OTU. Cuối cùng, sự đa dạng alpha, sự đa dạng beta và sàng lọc các loài khác nhau được phân tích dựa trên cấp bậc phân loại.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Kết quả tách DNA

Với các mẫu rễ, trước khi tách DNA để xác định mức độ đa dạng của VSV nội sinh cần khử trùng bề mặt. Theo phương pháp đã nêu, quá trình khử trùng bề mặt được thực hiện và thu được kết quả mẫu nước rửa cuối cùng không xuất hiện chủng VSV. Điều này chứng tỏ việc khử trùng đạt hiệu quả.



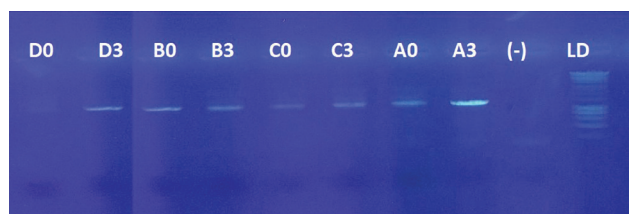
Hình 2. Kết quả khử trùng bề mặt mẫu rễ cỏ Vetiver

Sau khi khử trùng bề mặt rễ, lấy đại diện 4 mẫu gồm 2 mẫu rễ và 2 mẫu đất để tách DNA tổng số theo hai phương pháp đã nêu. Kết quả đo nano drop kiểm tra chất lượng DNA của mẫu như sau:

Bảng 2. Kết quả đo nano drop kiểm tra chất lượng DNA của mẫu

Ký hiệu mẫu	Loại mẫu	ng/ μ l	OD260/280	OD260/230
B0	Mẫu đất ban đầu, tách bằng Kit	17,2	1,26	0,96
D0	Mẫu đất ban đầu, tách bằng hóa chất	96,4	1,25	0,4
B3	Mẫu đất 18 tháng, tách bằng Kit	10,6	1,39	0,74
D3	Mẫu đất 18 tháng, tách bằng hóa chất	102,8	1,2	0,52
A0	Mẫu rễ ban đầu, tách bằng Kit	6,4	1,27	0,59
C0	Mẫu rễ ban đầu, tách bằng hóa chất	58,6	1,76	1,01
A3	Mẫu rễ 18 tháng, tách bằng Kit	6,3	1,06	0,46
C3	Mẫu rễ 18 tháng, tách bằng hóa chất	19,6	1,89	0,34

Sau đó, tiến hành PCR các mẫu bằng cặp mồi 27F/1492R, điện di trên gel.



Hình 3. Kết quả điện di DNA mẫu nghiên cứu trên gel agarose

Như vậy, cả 8 mẫu đều cho kết quả điện di với cặp mồi 27F/1492R cho kết quả PCR tốt. Điều này cho thấy, với việc sử dụng phương pháp tách DNA bằng kit và bằng tách hóa chất đã lựa chọn cho kết quả điện di DNA các mẫu hiệu quả gần như tương đương nhau. Tuy nhiên, vẫn cần xem xét đến chất lượng DNA thông qua việc gửi giải trình tự metagenomic tổng số để đánh giá được hiệu quả của các phương pháp tách.

2. Kết quả giải trình tự Metagenomic tổng số

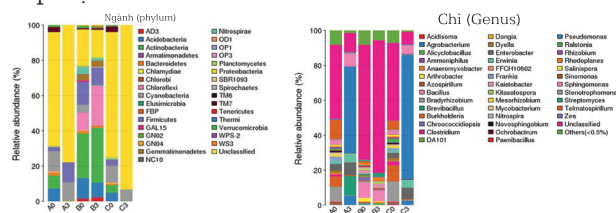
8 mẫu tách đạt yêu cầu được gửi giải trình tự tại công ty BGI. Tuy nhiên, chỉ có 4 mẫu rễ và 2 mẫu đất tách bằng Kit đảm bảo yêu cầu của các quá trình kiểm tra mẫu và cho kết quả giải trình tự. Như vậy, mặc dù ban đầu, 8 mẫu tách có nồng độ và độ tinh sạch DNA đảm bảo, nhưng chất lượng DNA của mẫu đất được tách bằng hóa chất không đạt yêu cầu của quá trình giải trình tự tổng số. Điều này có thể giải thích do quá trình tách DNA các mẫu đất gặp khó khăn bởi sự hiện diện của chất hữu cơ, chẳng hạn như axit humic. Hơn nữa, sự hiện diện của các chất gây ô nhiễm, có thể gây ra những thách thức hơn nữa đối với việc trích xuất, định lượng và khuếch đại DNA [6]. Điều đó ảnh hưởng kết quả tách bằng hóa chất, không đủ để loại bỏ hết các yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng DNA.

Bên cạnh đó, 2 cặp mẫu gồm mẫu rễ ban đầu và mẫu rễ 18 tháng được tách bằng hóa chất và tách bằng kit cho kết quả mức độ đa dạng thông qua chỉ số đa dạng sinh học Shannon [9] như sau:

Bảng 3. Kết quả đánh giá độ đa dạng của các mẫu

Mẫu	Loại mẫu	Shannon
A0	Mẫu rễ ban đầu, tách bằng Kit	4,425
C0	Mẫu rễ ban đầu, tách bằng hóa chất	4,141
A3	Mẫu rễ 18 tháng, tách bằng Kit	1,878
C3	Mẫu rễ 18 tháng, tách bằng hóa chất	1,312

So sánh mức độ đa dạng thông qua chỉ số Shannon của các cặp mẫu A0 - C0; A3 - C3 nhận thấy: mẫu tách bằng kit cho mức độ đa dạng cao hơn các mẫu tách bằng hóa chất. Ngoài ra, kết quả giải trình tự mức độ đa dạng vi khuẩn ở các cấp độ khác nhau của các mẫu như sau:



Hình 4. Đa dạng của vi khuẩn trong các mẫu ở cấp độ

Bảng 3: So sánh 2 phương pháp tách DNA tổng số

	Phương pháp tách DNA bằng Kit	Phương pháp tách bằng hóa chất
Ưu điểm	Hiệu suất cao Tiết kiệm thời gian Phù hợp để tách được nhiều loại mẫu	Có thể dễ thực hiện được bằng các hóa chất trong PTN Chi phí thấp nên có thể thực hiện nhiều mẫu
Hạn chế	Khi làm số lượng mẫu lớn chi phí cao Phụ thuộc vào việc đặt Kit tách từ hãng	Không áp dụng được cho nhiều loại mẫu khác nhau Mẫu tách đạt yêu cầu nhưng không giải trình tự được dẫn đến mất thời gian gửi mẫu

Với kết quả mức độ đa dạng ở cấp độ ngành và chi ở các mẫu cho thấy, các mẫu tách bằng kit cho mức độ đa dạng tốt hơn, tỷ lệ “unclassified” và “other” ở các mẫu tách bằng Kit thấp hơn ở mẫu tách bằng hóa chất.

So sánh giữa 2 phương pháp đã áp dụng (Bảng 4).

Như vậy, với mẫu môi trường đất, đặc biệt là đất nhiễm các chất độc hóa học như dioxin, phương pháp tách DNA tổng số phù hợp và hiệu quả là sử dụng DNA Quiagen Power Soil Kit [8].

IV. KẾT LUẬN

Để đánh giá mức độ đa dạng vi sinh vật trong các mẫu, có thể sử dụng phương pháp tách DNA và giải trình tự metagenomic tổng số. Nghiên cứu áp dụng hai phương pháp tách bao gồm sử dụng bằng Kit tách và sử dụng hóa chất. Kết quả cho thấy, DNA Power Soil Kit là kit tách hiệu quả cho mẫu đất nhiễm dioxin và mẫu rễ cỏ Vetiver được trồng tại khu vực này. Kết quả giải trình tự giúp nhận diện được mức độ đa dạng của các vi sinh vật trong các mẫu. Từ đó, chúng tôi đề xuất lựa chọn DNeasy PowerSoil Kit cho việc tách DNA của các mẫu trong những thí nghiệm tiếp theo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Coombs J. T. and C. Franco (2003), “Isolation and identification of actinobacteria from surface - sterilized wheat roots”, *Applied and Environmental Microbiology*. 69(9), pp. 5603-5608.
2. Định N. Q., N. T. T. Thảo and N. T. T. Hường (2018), “Đánh giá khả năng làm giảm nhẹ ô nhiễm Dioxin và Asen trong đất của cỏ Vetiver tại sân bay Biên Hòa”, Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Các Khoa học Trái đất và Môi trường. Tập 34 (Số 3), pp. 45-54.

3. Fadiji A. E. and O. O. Babalola (2020), "Metagenomics methods for the study of plant - associated microbial communities: a review", Journal of microbiological methods. 170, p. 105860.

4. Guerra V., L. Beule, E. Lehtsaar, H.-L. Liao and P. Karlovsky (2020), "Improved protocol for DNA extraction from subsoils using phosphate lysis buffer", Microorganisms. 8(4), p. 532.

5. Hiệp L. T. H. and C. N. Điệp (2011), "Phân lập và nhận diện vi khuẩn nội sinh trong cây cúc xuyên chi (*wedelia trilobata* (L.) hitche.) bằng kỹ thuật PCR", Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ. (18a), pp. 168-176.

6. Mahmoudi N., G. F. Slater and R. R. J. C. J. O. M. Fulthorpe (2011), "Comparison of commercial DNA extraction kits for isolation and purification of bacterial and eukaryotic DNA from PAH - contaminated soils", 57(8), pp. 623 - 628.

7. Muyzer G. (1999), "DGGE/TGGE a method for identifying genes from natural ecosystems", Current opinion in microbiology. 2(3), pp. 317-322.

8. Tsuji S., T. Takahara, H. Doi, N. Shibata and H. Yamanaka (2019), "The detection of aquatic macroorganisms using environmental DNA analysis - A review of methods for collection, extraction, and detection", Environmental DNA. 1(2), pp. 99-108.

9. Wallis P., R. Haynes, C. Hunter and C. Morris (2010), "Effect of land use and management on soil bacterial biodiversity as measured by PCR-DGGE", Applied Soil Ecology. 46(1), pp. 147-150.

10. Wydro U. (2022), "Soil microbiome study based on DNA extraction: A review", Water. 14(24), p. 3999.

11. Young J. M., N. J. Rawlence, L. S. Weyrich and A. Cooper (2014), "Limitations and recommendations for successful DNA extraction from forensic soil samples: a review", Science Justice. 54(3), pp. 238-244.

12. Zhou J., M. A. Bruns and J. M. Tiedje (1996), "DNA recovery from soils of diverse composition", Applied environmental microbiology 62(2), pp. 316-322.

RESEARCH TO EVALUATE THE METHOD OF EXTRACTING TOTAL DNA OF MICROORGANISMS FROM DIOXIN - CONTAMINATED SOIL AND VETIVER GRASS ROOTS AT BIEN HOA AIRBASE, DONG NAI PROVINCE

Vu Thi Lan Anh^{1,2}, Ngo Thi Thuy Huong³,
Tran Van Tuan^{4,5}, Dang Thi Ha Thu⁶,
Pham The Hai^{4,*}

¹ Hanoi University of Mining and Geology

² Faculty of Environmental, University of Science, Vietnam National University, Hanoi

³ Phenikaa University

⁴ National Key Laboratory of Enzyme and Protein Technology, University of Science, Vietnam National University, Hanoi

⁵ Faculty of Biology, University of Science, Vietnam National University, Hanoi

⁶ Institute of Genome Research, Vietnam Academy of Science and Technology

SUMMARY:

In recent years, many different methods allowing the analysis of biodiversity and the structure of microbial communities have appeared, including molecular biological methods based on biodiversity research genetics through DNA analysis. They are superior to conventional methods because they do not rely on laboratory cultures and result in effective levels of biodiversity. Therefore, in this study, we applied two methods of separating DNA using chemicals and using DNA Quiagen Power Soil Kit. From there, choose the optimal method for total DNA isolation of dioxin - contaminated soil samples and Vetiver grass root samples at Bien Hoa airbase. The purity of the separated product was checked by measuring A_{260}/A_{280} and A_{260}/A_{230} and sending several samples for sequencing. The results showed that the method using DNA Power Soil Kit is effective for separating DNA from root and soil samples. This method can be considered to separate total DNA of samples with similar properties.

Keywords: DNeasy PowerSoil Kit, total DNA extraction, dioxin contaminated soil, Vetiver grass

Người phản biện: TS. Lê Hùng Chiến

Ngày nhận bài: Tháng 10/2023

Ngày phản biện thông qua: Tháng 10/2023

Ngày duyệt đăng: Tháng 10/2023