



**TUYỂN TẬP BÁO CÁO HỘI NGHỊ TOÀN QUỐC**

**KHOA HỌC TRÁI ĐẤT VÀ TÀI NGUYÊN  
VỚI PHÁT TRIỂN BỀN VỮNG (ERSD 2024)**

**HÀ NỘI 14 - 11 - 2024**

**ERSD 2024**



**NHÀ XUẤT BẢN GIAO THÔNG VẬN TẢI**

## MỤC LỤC

Bản vẽ khả năng khai thác nước dưới đất của nhà máy cấp nước khu công nghiệp Sa Đéc tỉnh Đồng Tháp <i>Đỗ Văn Bình, Trần Thị Thanh Thủy, Dương Thị Thanh Xuyên</i> .....	732
Đánh giá sự phân bố vi nhựa trong trầm tích tại cửa sông Cái (Khánh Hòa) <i>Tạ Lê Đăng Khôi, Nguyễn Thị Thanh Hoài, Lê Hùng Phú, Trần Anh Quân, Hoàng Văn Lương, Vu Ngọc Toàn, Trần Thị Thu Hương</i> .....	737
Đánh giá tính hợp lý của các giếng khai thác nước dưới đất tại trạm cấp nước Dương Nội, Hà Đông <i>Đỗ Văn Bình, Dương Thị Thanh Xuyên, Đỗ Thị Hải, Trần Thị Kim Hà</i> .....	743
Kết quả khảo sát hoạt độ phóng xạ trong nước biển khu vực Hải Phòng - Quảng Ninh <i>Nguyễn Văn Dũng, Nguyễn Thị Thu Trang, Lê Anh Thơ, Bùi Chí Tiến</i> .....	749
Đánh giá chất lượng môi trường đất và nước tại một số làng nghề chế tác kim loại và cơ kim khí <i>Nguyễn Mai Hoa</i> .....	754
Đánh giá lan truyền bụi từ trạm nghiền xi măng Norcem Yên Bình, Lai Châu sử dụng ứng dụng mô hình METI-LIS <i>Trần Anh Quân, Phạm Đức Bình</i> .....	760
Tối ưu hóa quá trình hòa tách bộ phận nam châm trong ổ cứng đã qua sử dụng để thu hồi kim loại đất hiếm <i>Phạm Khánh Huy</i> .....	767
Nghiên cứu hiệu quả dự báo chất lượng nước mặt bằng các mô hình học máy: ứng dụng tại sông Ba Chẽ, tỉnh Quảng Ninh <i>Nguyễn Thị Hồng, Nguyễn Thị Thu Huyền, Đào Trung Thành</i> .....	773
Nghiên cứu vai trò của chủng nấm <i>Curvularia lunata</i> trong kích thích sinh trưởng và xử lý ô nhiễm môi trường <i>Vũ Thị Lan Anh, Nguyễn Thị Hồng, Trần Thị Ngọc, Nguyễn Phương Đông, Nguyễn Thị Nhạn</i> .....	779
Ảnh hưởng của bộ rễ thực vật đến việc loại bỏ hợp chất 4-Nitrophenon trong nước <i>Nguyễn Hoàng Nam, Nguyễn Hoàng Nam Anh, Nguyễn Mạnh Hà, Phạm Việt Đức</i> .....	784
Nghiên cứu đánh giá vai trò của chủng vi nấm <i>Trichoderma harzianum</i> <i>Vũ Thị Lan Anh, Nguyễn Văn Dũng, Nguyễn Thị Nhạn</i> .....	790
Hiệu quả xử lý Benzen, Methyl-tert- butylether trong nước ngầm của hệ thống constructed wetland dòng chảy ngang dưới bề mặt <i>Nguyễn Hoàng Nam, Nguyễn Hoàng Nam Anh, Nguyễn Việt Hùng, Phạm Việt Đức</i> .....	796
Chuyển đổi số với ngành công nghiệp môi trường ứng dụng với các doanh nghiệp khai khoáng ở Việt Nam <i>Nguyễn Ngọc Bảo, Nông Việt Hùng, Dương Phi Hùng, Nguyễn Thị Thu Hương, Nông Việt Trung, Nguyễn Hồng Thái, Ngô Thái Vinh, Dương Mai Yên</i> .....	803
Nghiên cứu công nghệ phân tách, thu hồi bụi than, sắt và khoáng silica từ tro bay nhà máy nhiệt điện hướng đến sản xuất nguyên liệu công nghiệp theo mô hình kinh tế tuần hoàn <i>Nông Việt Hùng, Nguyễn Ngọc Bảo, Dương Phi Hùng, Nguyễn Thị Thu Hương, Nông Việt Trung, Vũ Mạnh Anh, Nguyễn Ngọc Trục, Ngô Thái Vinh, Dương Mai Yên</i> .....	807
Đánh giá khả năng tiếp nhận nước thải và sức chịu tải của sông Ngũ Huyện Khê thuộc địa bàn tỉnh Bắc Ninh <i>Nguyễn Thị Hoa</i> .....	812

## Nghiên cứu đánh giá vai trò của chủng vi nấm *Trichoderma harzianum*

Vũ Thị Lan Anh<sup>1,\*</sup>, Nguyễn Văn Dũng<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Nhạn<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Mỏ - Địa chất

<sup>2</sup>Trường Đại học Khoa học Tự nhiên

### TÓM TẮT

Hiện nay, để xử lý ô nhiễm môi trường có thể áp dụng nhiều phương pháp nhau như vật lý, hóa học và sinh học. Các biện pháp hóa học, vật lý thường mang lại hiệu quả nhanh, rõ ràng. Tuy nhiên, các giải pháp này thường có giá thành cao, đòi hỏi công nghệ phức tạp, tiêu thụ nhiều năng lượng hoặc tạo ra chất thải khó xử lý, ảnh hưởng tới hệ sinh thái. Trong khi đó, các biện pháp xử lý ô nhiễm môi trường bằng phương pháp sinh học được cho là các giải pháp hiệu quả, thân thiện với môi trường. Đặc biệt, các biện pháp sử dụng vi sinh vật ngày càng được quan tâm. Vì vậy, nghiên cứu lựa chọn các chủng vi sinh vật để xử lý ô nhiễm môi trường được xem là phương pháp thay thế phù hợp. Quá trình nghiên cứu, tập thể tác giả đã sử dụng phương pháp phân lập, định danh, xác định hoạt tính của các chủng vi sinh vật để lựa chọn chủng vi sinh có khả năng xử lý ô nhiễm môi trường, trong đó trọng tâm nghiên cứu về khả năng xử lý ô nhiễm màu của thuốc nhuộm. Kết quả nghiên cứu lựa chọn được chủng *Trichoderma harzianum* F3 có khả năng kháng nấm bệnh, có khả năng làm mất màu tím kết tinh và xanh methylene ở các nồng độ chất ô nhiễm khác nhau theo thời gian. Sau 7 ngày nuôi cấy, chủng *Trichoderma harzianum* F3 làm mất màu tím kết tinh (hàm lượng 3 mg/l) và xanh methylene (hàm lượng 30 mg/l). Đây là cơ sở để tạo chế phẩm xử lý ô nhiễm màu trong môi trường nước thải dệt nhuộm trong thời gian tới.

**Từ khóa:** xử lý ô nhiễm; vi nấm; *Trichoderma harzianum*; xanh methylene; tím kết tinh.

### 1. Đặt vấn đề

Xử lý ô nhiễm môi trường đã và đang là vấn đề được quan tâm bằng các công nghệ khác nhau. Tuy nhiên, cần phải cân nhắc và lựa chọn phương pháp xử lý hiệu quả bởi mỗi công nghệ đều có những ưu điểm, hạn chế riêng đối với việc xử lý các chất ô nhiễm cụ thể. Phục hồi sinh học và phục hồi thực vật kết hợp với vi sinh vật là những công nghệ tiên tiến có tiềm năng làm giảm nhiều vấn đề ô nhiễm môi trường. Trong những nghiên cứu đã công bố, chi *Trichoderma* rất đa dạng về mặt di truyền với một số khả năng giữa các chủng khác nhau có ý nghĩa về nông nghiệp và công nghiệp. Chi này cũng chịu được nhiều chất ô nhiễm khó phân hủy trong môi trường gồm kim loại nặng, thuốc trừ sâu và hydrocarbon thơm đa vòng. Vì vậy, ngày càng có nhiều nghiên cứu, ứng dụng chi *Trichoderma* trong nông nghiệp, công nghiệp... Trong quá trình đánh giá mức độ đa dạng và vai trò của các chủng vi sinh vật nội sinh trong rễ cỏ Vetiver, nhóm nghiên cứu đã phân lập và tuyển chọn chủng nấm *Trichoderma harzianum* có những khả năng nổi bật như khả năng kháng nấm bệnh, sinh enzyme laccase. Nhóm nghiên cứu lựa chọn chủng *Trichoderma harzianum* đánh giá khả năng xử lý ô nhiễm màu trong nước. Lựa chọn tím kết tinh và xanh methylene là hai thuốc nhuộm được nghiên cứu trong xử lý ô nhiễm màu. Với các hàm lượng và thời gian khác nhau, thử khả năng làm mất màu của *Trichoderma harzianum*, từ đó nghiên cứu để đưa vào mô hình xử lý màu trong nước thải dệt nhuộm.

### 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

#### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Chủng nấm *Trichoderma* được phân lập nội sinh từ mẫu rễ cỏ Vetiver nuôi cấy trên môi trường PDA (địch khoai tây, agar, glucoso) ở nhiệt độ 30°C trong điều kiện phòng thí nghiệm.

#### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

##### 2.2.1. Phương pháp phân lập và định danh

\* Tác giả liên hệ

Email: vuthilanh@hmg.edu.vn



#### *a. Khử trùng bề mặt mẫu*

Các mẫu rễ cò lựa chọn phân lập nội sinh được rửa dưới vòi nước chảy 3 phút để loại bỏ chất bẩn bám ngoài bề mặt. Cắt mẫu thành các đoạn dài vừa đủ rồi đem rửa với cồn 96° trong 3 phút. Rửa tiếp với H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% trong 3 phút. Khử trùng mẫu với NaClO 1% trong 3 phút. Cuối cùng, rửa lại với nước cất khử trùng 4 lần (Wang và mnk, 2008).

#### *b. Kiểm tra hiệu quả khử trùng bề mặt*

Nước rửa lần cuối được đem cấy trải trên đĩa petri có sẵn môi trường PDA ở 30°C trong 72 giờ. Nếu không có vi khuẩn và vi nấm phát triển thì khử trùng bề mặt đạt hiệu quả.

#### *c. Tiến hành phân lập và tinh sạch vi nấm*

Mẫu được cắt nhỏ đặt lên bề mặt môi trường PDA và cắt ở 30°C trong 3-4 ngày. Sau 3-4 ngày, kiểm tra và tiến hành tinh sạch. Làm thuần và giữ trong ống nghiệm để sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo. Các mẫu nấm sau khi thuần khiết được nuôi cấy trực tiếp trên tiêu bản hiển vi vô trùng có chứa môi trường PDA. Tiêu bản giữ trong đĩa petri vô trùng có bổ sung giấy thấm nước vô trùng để duy trì độ ẩm. Mẫu được ủ ở 30°C trong 3-4 ngày và hình thái của hệ sợi nấm và cường sinh bào tử được quan sát dưới kính hiển vi (Vũ Xuân Tạo và mnk, 2020).

### *2.2.2. Định danh vi nấm bằng giải trình tự vùng ITS*

#### *a. Thu bào tử nấm*

Các chủng nấm được nuôi cấy trên môi trường PDA sau 5 ngày ở 25°C-30°C. Đĩa nuôi nấm được bổ sung nước cất vô trùng lên bề mặt đĩa nuôi, sau đó dùng que gạt vô trùng gạt tách bào tử ra khỏi hệ sợi nấm. Lọc dịch trên đĩa bằng màng lọc Miracloth (Calbiochem, Đức) và thu vào ống falcon 50 ml. Ly tâm dịch sau lọc ở tốc độ 4000 vòng/phút trong thời gian 10 phút, đổ bỏ phần dịch. Phần cặn chứa bào tử nấm được bổ sung thêm nước cất vô trùng và được xác định nồng độ bằng buồng đếm Thoma. Sau đó dịch bào tử được pha loãng đến nồng độ thích hợp (10<sup>6</sup> hoặc 10<sup>7</sup> bào tử/ml) để sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo. Dịch bào tử có thể được bảo quản ở 4°C để sử dụng trong 3-4 tuần hoặc giữ lâu dài trong glycerol 20% ở nhiệt độ -30°C.

Nuôi cấy thu hệ sợi nấm bằng cách bổ sung 200 µl dịch bào tử nấm nồng độ 10<sup>6</sup> bào tử/ml vào 50 ml môi trường PDB, nuôi lắc ở điều kiện 25°C-28°C, tốc độ lắc 200 vòng/phút. Sau 3 ngày, thu hệ sợi nấm bằng giấy lọc vô trùng. Phần hệ sợi nấm được giữ lại bên trên màng lọc được thấm hết nước bằng giấy thấm sạch và chứa vào ống eppendorf 2 ml. Phần hệ sợi nấm thu được dùng để tách chiết DNA.

#### *b. Tách ADN*

Thu 0,2 g sợi nấm vào ống eppendorf vô trùng 2 ml và giã nát bằng que thủy tinh đã khử trùng. Bổ sung 600 µl đệm chiết GX và 3 µl proteinase K vào ống chứa mẫu, vortex 10-15 giây và ủ mẫu ở 60°C trong thời gian 30 phút. Sau đó, bổ sung thêm 300 µl natri acetate 3M pH 5,2 vào ống chứa mẫu và tiến hành ly tâm lạnh ở 4°C, 12000 vòng/phút trong 20 phút. Chuyển phần dịch nổi sang ống eppendorf 1,5 ml mới, bổ sung thêm isopropanol lạnh với thể tích tương đương để kết tủa ADN và tiếp tục ly tâm 12000 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C. Giữ lại phần tủa trong ống eppendorf, thêm 700 µl ethanol 70% vào ống và ly tâm lạnh ở 4°C, 12000 vòng/phút trong 5 phút để rửa phần tủa. Đổ bỏ dịch nổi rồi để khô mẫu. Bổ sung 50 µl đệm TE 1x để hòa tan và bảo quản ADN. Loại bỏ ARN có trong mẫu bằng cách ủ mẫu ở 60°C trong 30 phút sau khi bổ sung 3 µl RNase (10 mg/ml).

#### *c. Giải trình tự*

Để phân loại chính xác chủng nấm gây bệnh này, ADN tổng số được tiến hành tách chiết từ hệ sợi nấm dùng cho phản ứng PCR khuếch đại vùng ITS của rADN bằng cặp mồi đa năng ITS1/ITS4. Sản phẩm PCR được điện di trên gel 1% và tinh sạch bằng kit tinh sạch của hãng Promega. Mẫu ADN tinh sạch được giải trình tự bởi công ty 1st BASE (Singapore). Trình tự ITS được kiểm tra bằng phần mềm BioEdit 7.2 và phân tích so sánh với dữ liệu của GenBank sử dụng công cụ BLAST.

Thành phần phản ứng PCR:

Taq PCR Mix	: 12,5 µl
ITS1	: 1 µl
ITS4	: 1 µl
Khuôn ADN	: 1,5 µl
Nước khử ion vô trùng	: 9 µl
<b>Tổng thể tích</b>	<b>: 25 µl</b>

Chu trình nhiệt như sau: 94°C (6 phút); 35 chu kỳ của 94°C (30 giây), 58°C (30 giây), 72°C (40 giây); 72°C (10 phút). Sản phẩm PCR được điện di kiểm tra trên gel agarose 1%.

### 2.2.2. Phương pháp khảo sát hoạt tính của chủng nấm *Trichoderma*

Đánh giá khả năng kháng nấm gây bệnh thực vật là *Pellicillum digitatum* và chủng nấm *Colletotrichum gloeosporioides* bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch. Chủng vi nấm được nuôi cấy trong môi trường PDB (lắc 200 vòng/phút) ở các điều kiện 30°C trong 72 giờ. Dịch nuôi vi nấm được ly tâm 12000 vòng/phút trong 30 phút ở 4°C để loại bỏ bào tử và hệ sợi nấm. Bổ sung 50 µl dịch thu được vào mỗi giếng trên đĩa thạch PDA đã được cấy trải 50 µl dịch bào tử các chủng nấm gây bệnh ( $10^6$  bào tử/ml). Các đĩa petri sau khi bổ sung dịch vi nấm được ủ ở 4°C trong 4 giờ để dịch nuôi khuếch tán vào môi trường. Sau đó đĩa được giữ ở 30°C. Đường kính vòng kháng nấm được xác định sau thời gian 5-7 ngày. Dịch nuôi mỗi mẫu vi nấm được thử khả năng kháng 2 loại nấm *P. digitatum* và *C. gloeosporioides* trên 3 đĩa petri và thí nghiệm được lặp lại 3 lần độc lập.

### 2.2.3. Phương pháp khảo sát khả năng sinh laccase

Nuôi cấy vi nấm trong môi trường PDB ở 30°C trong 72 giờ. Hút 0,4 ml dịch bào tử nấm vào 40ml môi trường trong bình tam giác môi trường PDB. Nuôi cấy 200v/p, ở 30°C, trong 72 giờ. Lặp lại mỗi mẫu 2 lần. Làm 1 mẫu đối chứng (không bổ sung vi nấm). Hút 15ml dịch nuôi cấy vào ống eppendorf, ly tâm 6000 v/phút trong 10 phút. Hoạt tính laccase được xác định dựa trên sự oxy hóa ABTS (2,2'- azino - bis 3 - ethylbenzothiazoline - 6 - sulfonic acid) thành hợp chất hấp thụ ánh sáng mạnh tại bước sóng 420 nm. Hỗn hợp phản ứng gồm 800 µl đệm acetate 0,5 M, pH 5,0; 100µl ABTS 5 mM trong đệm McIlvaine (còn được gọi là đệm citrate phosphate, pH 4,6) ; 100 µl dịch enzyme. Phản ứng được ủ trong 10 phút ở 40°C. Hoạt tính laccase được xác định bằng sự oxy hoá ABTS tạo thành màu xanh lục.

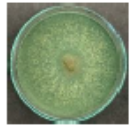
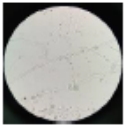

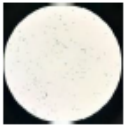
### 2.2.4. Phương pháp khảo sát khả năng xử lý màu thuốc nhuộm

Tiến hành thử nghiệm xử lý màu thuốc nhuộm xanh methylen và tìm kết tinh bằng cách nhỏ dịch bào tử nấm lên đĩa PDA có chứa xanh methylen và tìm kết tinh với hàm lượng khác nhau.

## 3. Kết quả và thảo luận

### 3.1. Kết quả phân lập và định danh

Quá trình phân lập chủng nội sinh thu được 12 chủng. Dựa vào đặc điểm hình thái lựa chọn chủng F3 là chủng có hình thái khuẩn lạc, hệ sợi, cuống sinh bào tử, hình thái bào tử thuộc chi *Trichoderma*. Nuôi cấy chủng F3, tách DNA gửi giải trình tự thu được chủng đã phân lập được là *Trichoderma harzianum* với các đặc điểm của chủng như hình sau:

Ký hiệu	Tên chủng	Hình thái khuẩn lạc	Hệ sợi nấm	Cuống sinh bào tử	Bào tử
F3	<i>Trichoderma harzianum</i>				

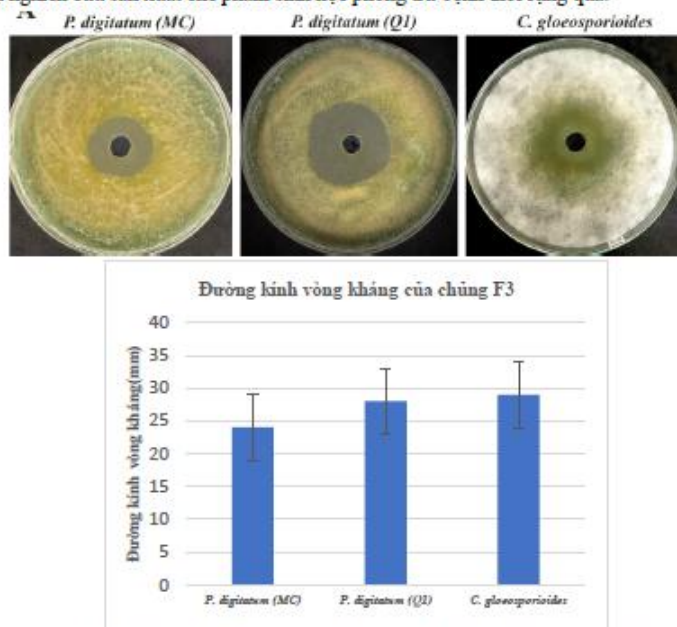
Hình 1. Đặc điểm của chủng F3.

### 3.2. Kết quả khảo sát khả năng kháng các nấm gây bệnh của *Trichoderma*

Dịch nuôi nấm của F3 được đánh giá khả năng kháng nấm gây bệnh thực vật sử dụng phương pháp khuếch tán trên thạch. Kết quả cho thấy hai chủng thể hiện hoạt tính đối kháng kháng mạnh. Trên thế giới, rất nhiều công trình khoa học đã đề cập tới khả năng kháng nấm của các chủng vi nấm nội sinh (Vũ Xuân Tạo và nnk, 2020). Hai chủng nấm *T. harzianum* F3 phân lập được trong nghiên cứu này thể hiện hoạt tính kháng mạnh đối với nấm *P. digitatum* (MC), *P. digitatum* (Q1) và *C. gloeosporioides*. Đường kính vòng kháng nấm *P. digitatum* (MC), *P. digitatum* (Q1) và *C. gloeosporioides* của dịch nuôi chủng F3 lần lượt là:  $24 \pm 0,58$  mm;  $28,03 \pm 0,15$  mm;  $29,03 \pm 0,12$  mm. Trong báo cáo của Vũ Xuân Tạo và nnk (2020) cũng chỉ ra rằng chủng dịch nuôi *Trichoderma asperellum* thể hiện hiệu quả ức chế 95-100% đối với nấm *P. digitatum*.

Ngoài cơ chế ký sinh và cạnh tranh giúp cho nấm *Trichoderma* có khả năng kháng lại một số nấm gây bệnh trên cây trồng thì loài nấm *Trichoderma harzianum* cũng có khả năng tiết các chất kháng sinh, enzyme chống nấm gây bệnh cũng được nghiên cứu. Như vậy, dịch nuôi nấm của chủng nấm

*Trichoderma harzianum* có chứa các chất kháng nấm tiềm năng cho việc kiểm soát vi nấm *P. digitatum* (MC), *P. digitatum* (Q1) và *C. gloeosporioides* gây bệnh thực vật. Do đó, hai chủng nấm này có tiềm năng phục vụ nghiên cứu sản xuất chế phẩm sinh học phòng trừ bệnh thối rệp quả.



Hình 2. Khả năng kháng nấm gây bệnh của chủng *T. harzianum* F3.

### 3.3. Kết quả khảo sát khả năng sinh enzyme laccase

Ngoài cơ chế ký sinh và cạnh tranh giúp cho vi nấm kháng lại một số nấm gây bệnh trên cây trồng thì việc một số chủng nấm có khả năng tiết các chất kháng sinh, enzyme cũng được quan tâm [4]. Trong nghiên cứu này, tiến hành đánh giá khả năng sinh enzyme laccase của F3. Bên cạnh đó, trước khi tiến hành xử lý ô nhiễm màu ngoài thực tế, nhóm nghiên cứu tiến hành trong điều kiện phòng thí nghiệm thử khả năng xử lý màu thuốc nhuộm.

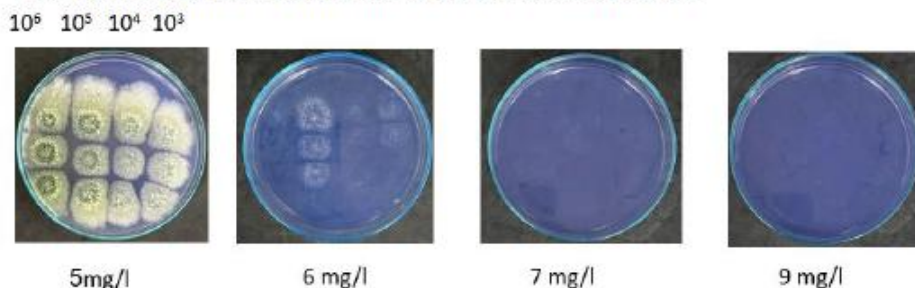
Kết quả chủng F3 thể hiện khả năng sinh laccase cao với giá trị tương ứng lần lượt là  $98,2 \pm 2,2$  U/ml.

### 3.4. Đánh giá khả năng làm mất màu thuốc nhuộm

#### 3.4.1. Khả năng làm mất màu tím kết tinh

Tiến hành nuôi cấy bào tử chủng F3 trên đĩa PDA với các nồng độ khác nhau. Quan sát khả năng phát triển, ngưỡng chịu độc và khả năng làm mất màu xanh methylene trên các đĩa thạch. Với số lượng bào tử nuôi cấy từ  $10^3$  đến  $10^6$  và lượng xanh methylene là 5 mg/l đến 9 mg/l.

Sau 72 giờ nuôi cấy, theo dõi sự phát triển của chủng F3 cho kết quả như sau:



Hình 3. Khả năng sinh trưởng trên môi trường PDA bổ sung tím kết tinh của *T. harzianum* F3.

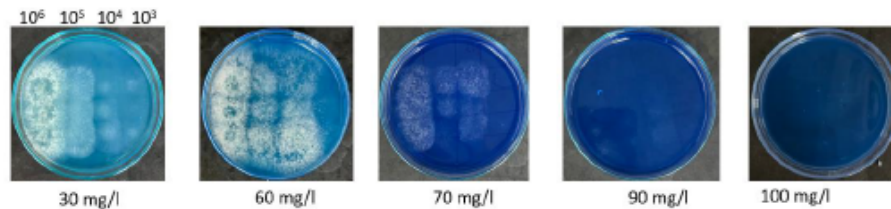


Như vậy có thể thấy, chủng F3 phát triển tốt trong điều kiện 30°C, hàm lượng tím kết tinh dưới 6mg/l. Với hàm lượng tím kết tinh từ 7 mg/l hầu như không phát triển được. Đây chính là ngưỡng chịu độc của F3 với tím kết tinh.

#### 3.4.2. Đánh giá khả năng làm mất màu xanh methylene

Tiến hành nuôi cấy bảo quản từ chủng F3 trên đĩa PDA với các nồng độ khác nhau. Quan sát khả năng phát triển, ngưỡng chịu độc và khả năng làm mất màu xanh methylene trên các đĩa thạch. Với số lượng bào tử nuôi cấy từ  $10^3$  đến  $10^6$  và lượng xanh methylene là 30 mg/l đến 100 mg/l.

Sau 3 ngày nuôi cấy, theo dõi sự phát triển của chủng F3 cho kết quả như sau :



Hình 4. Khả năng sinh trưởng trên môi trường PDA bổ sung xanh methylene của *T. harzianum* F3.

Như vậy có thể thấy, chủng F3 phát triển tốt trong điều kiện 30°C, hàm lượng xanh methylene dưới 70mg/l. Với hàm lượng xanh methylene từ 90 mg/l hầu như không phát triển được. Đây chính là ngưỡng chịu độc của F3.

Tương tự tiến hành thí nghiệm với tím kết tinh, sau thời gian 3 ngày kiểm tra kết quả nuôi cấy của chủng F3 nhận thấy: với mẫu được nuôi cấy từ 0 đến 2 ngày, sau đó bổ sung tím kết tinh (3 mg/l) thì hiệu quả xử lý rất thấp hoặc gần như không xử lý được. Với mẫu đã nuôi cấy từ 3 ngày trở lên, kết quả gần như tương đương nhau về hiệu quả xử lý màu thuốc nhuộm và làm mất màu thuốc nhuộm. Như vậy, với khả năng sinh enzyme laccase, các chủng vi nấm đã làm mất màu thuốc nhuộm, phân giải hợp chất vòng thơm.

Tiến hành nuôi cấy bảo quản từ chủng F3 theo thời gian từ 0 đến 7 ngày và bổ sung thuốc nhuộm xanh methylene (hàm lượng 30mg/l), tím kết tinh (hàm lượng 3mg/l) vào từng thời điểm nuôi cấy trên để thử khả năng mất màu thuốc nhuộm theo thời gian.

Với mẫu đã nuôi cấy từ 3 ngày trở lên, kết quả gần như tương đương nhau về hiệu quả xử lý màu thuốc nhuộm và làm mất màu thuốc nhuộm. Như vậy, với khả năng sinh enzyme laccase, các chủng vi nấm đã làm mất màu thuốc nhuộm, phân giải hợp chất vòng thơm.

#### 4. Kết luận

Bằng phương pháp nuôi cấy trong phòng thí nghiệm đã phân lập, định danh, xác định hoạt tính của chủng vi nấm *Trichoderma harzianum* F3. Chủng *Trichoderma harzianum* F3 sinh enzyme laccase cao, làm mất màu thuốc nhuộm xanh methylene (30 mg/l), tím kết tinh (3 mg/l). Nấm đã được chỉ ra có khả năng xử lý sinh học các hợp chất hữu cơ độc hại, là một trong những phương pháp bền vững và thân thiện với môi trường được sử dụng để làm sạch các khu vực bị ô nhiễm. Các nhóm nấm khác nhau đã được sử dụng trong xử lý sinh học, trong đó nấm mốc trắng có khả năng phân hủy lignin, nấm biến, nấm ưa cực trị (nấm từ môi trường khắc nghiệt), nấm sợi phổ biến như *Aspergillus* sp., *Trichoderma* sp. và các loại nấm cộng sinh như nấm rễ cộng sinh *Arbuscular* duy trì mối quan hệ cộng sinh với thực vật ược khai thác chủ yếu nhờ khả năng xử lý sinh học. Như vậy, có thể nghiên cứu chế tạo chế phẩm sinh học chứa chủng F3 để áp dụng vào xử lý ô nhiễm màu trong nước thải.

#### Lời cảm ơn

Tập thể tác giả cảm ơn đề tài cơ sở mã số T24-26.

#### Tài liệu tham khảo

Vũ Xuân Tạo, Trần Bảo Trâm, Nguyễn Thị Hiền, Nguyễn Xuân Cảnh, Thái Hạnh Dung, Hoàng Phương Thảo, Nguyễn Nhật Tân, Nguyễn Trần Hà Anh và Trần Văn Tuấn, 2020. "Khả năng kháng nấm *Penicillium digitatum* gây thối cam của dịch nuôi nấm *Trichoderma*", Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam. 19, pp. 355-362.

Duong Minh Lam. and Truong Thi Chien, 2013. "Characteristics of laccase producing *Trametes maxima* CPB30 and its application in decolorization of dye polluted water", *Academia Journal of Biology*. 35(4), pp. 477-483.

Thai Hanh Dung and Tran Van Tuan, 2018. "Construction of a binary vector for the expression of the *Aspergillus niger* McoD laccase gene in the industrial filamentous fungus *Aspergillus oryzae*", *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*. 60(3), pp. 59-66.

Verma M., S. K. Brar, R. Tyagi, R. N. Surampalli and J. Valero (2007), "Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: panoply of biological control", *Biochemical Engineering Journal*. 37(1), pp. 1-20.

Wang X., Z. Gong, P. Li, L. Zhang and X. Hu, 2008. "Degradation of pyrene and benzo (a) pyrene in contaminated soil by immobilized fungi", *Environmental Engineering Science*. 25(5), pp. 677-684.

## ABSTRACT

### Research to evaluate the role of fungal strains *trichoderma harzianum*

Vu Thi Lan Anh<sup>1\*</sup>, Nguyen Van Dung<sup>1</sup>, Nguyen Thi Nhan<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Hanoi University of Mining and Geology

<sup>2</sup> VNU University of Science

Currently, to treat environmental pollution, many different methods can be applied such as physics, chemistry and biology. Chemical and physical measures often bring quick and clear results. However, these solutions often have high costs, require complex technology, consume a lot of energy or create waste that is difficult to treat, affecting the ecosystem. Meanwhile, measures to treat environmental pollution using biological methods are considered effective and environmentally friendly solutions. In particular, measures using microorganisms are increasingly receiving attention. Therefore, researching the selection of microbial strains to treat textile wastewater is considered a suitable alternative method. During the research process, the authors used the method of isolating, identifying, and determining the activity of microbial strains to select microbial strains capable of treating environmental pollution, with a focus on Research on the ability of dyes to treat color pollution. Research results selected *Trichoderma harzianum* F3 strain that is resistant to fungal diseases, capable of discoloring crystal violet and methylene blue at different pollutant concentrations over time. After 7 days of shaking culture, *Trichoderma harzianum* F3 strain lost its crystal Violet color (3mg/l) and Methylene Blue (30 mg/l). This is the basis for creating products to treat color pollution in the textile wastewater environment in the near future.

**Keywords:** pollution treatment; fungi; *Trichoderma harzianum*; ethylene blue; crystal violet.





**TUYỂN TẬP BÁO CÁO HỘI NGHỊ TOÀN QUỐC**

**KHOA HỌC TRÁI ĐẤT VÀ TÀI NGUYÊN  
VỚI PHÁT TRIỂN BỀN VỮNG (ERSD 2024)**

**HÀ NỘI 14 - 11 - 2024**

**ERSD 2024**



**NHÀ XUẤT BẢN GIAO THÔNG VẬN TẢI**