



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 Toan, 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 Hoà</i>	812

Nghiên cứu vai trò của chủng nấm *Curvularia lunata* trong kích thích sinh trưởng và xử lý ô nhiễm môi trường

Vũ Thị Lan Anh^{1,*}, Nguyễn Thị Hồng¹, Trần Thị Ngọc¹, Nguyễn Phương Đông¹, Nguyễn Thị Nhân²

¹Trường Đại học Mỏ - Địa chất

²Bệnh viện Nam học và Hiếm muộn Hà Nội

TÓM TẮT

Việc tạo ra các chế phẩm sinh học tự nhiên trong kích thích sinh trưởng của thực vật hiện nay có ý nghĩa quan trọng đối với nền nông nghiệp cũng như môi trường. Các chế phẩm này không chỉ thân thiện với môi trường, an toàn cho người sử dụng mà còn phát huy hiệu quả lâu dài. Bên cạnh đó, một số chủng vi sinh còn có khả năng xử lý ô nhiễm môi trường trong đó có xử lý ô nhiễm màu trong nước. Nhóm nghiên cứu tiến hành đánh giá khả năng sinh các enzyme kích thích sinh trưởng, enzyme laccase để thử hoạt tính của các chủng vi sinh vật phân lập trong phòng thí nghiệm. Kết quả nghiên cứu lựa chọn được chủng *Curvularia lunata* có hoạt tính sinh học tốt. Trong quy mô phòng thí nghiệm, nhóm nghiên cứu nhận thấy chủng *Curvularia lunata* làm mất màu thuốc nhuộm ở các nồng độ khác nhau và theo thời gian khác nhau. Tiến hành nuôi cấy chủng và bổ sung thuốc nhuộm hàm lượng tím kết và xanh methylene. Theo thời gian nuôi cấy, chủng nấm phát triển và làm mất màu các thuốc nhuộm trên. Như vậy, chủng *Curvularia lunata* có thể ứng dụng trong xử lý ô nhiễm môi trường và tạo các chế phẩm sinh học kích thích sinh trưởng.

Từ khóa: *Curvularia lunata*; tím kết tinh; IAA; xanh methylene; laccase.

1. Đặt vấn đề

Nguyễn Khởi Nghĩa (2017) đã tiến hành nghiên cứu và tuyển chọn một số dòng nấm từ gỗ mục có khả năng phân loại màu thuốc nhuộm ở Đồng bằng sông Cửu Long. Tiến hành khử trên 2 màu: xanh và đen, cho thấy tổng cộng 54 dòng nấm từ gỗ mục được phân lập, trong đó 12 và 15 trong số 54 dòng nấm phân lập lần lượt thể hiện khả năng loại bỏ màu thuốc nhuộm xanh và đen. El Bouraie (2016) đã khử màu thành công thuốc nhuộm Reactive Black được lấy từ ngành công nghiệp dệt địa phương bằng *Aeromonas hydrophila*. Alicia Paz và nnk. (2018) đã nghiên cứu thành công chủng *Bacillus aryabhattai* trong việc khử màu thuốc nhuộm tổng hợp, vừa hiệu quả vừa giảm màu vừa giảm COD. Antonella Anastasi và nnk. (2012) đã nghiên cứu khả năng xử lý nước thải dệt nhuộm bằng phương pháp sinh học cải tiến từ việc sử dụng nấm, đặc biệt là nấm mốc. Nấm *Phanerochaete chrysosporum* CCT 1999, *Lentinula edodes* CCT 4519 và *Curvularia lunata* UFPEDA 885 đã làm giảm 100% màu của nước thải trong quá trình phát triển dưới sự khuấy động trong khi nấm *Aspergillus* sp. F 75 làm giảm 98% màu của nước thải trong cùng điều kiện. Đặc biệt, động học của sự đổi màu cho thấy nấm *P. chrysosporum* CCT 1999 và *C. lunata* UFPEDA 885 nổi bật về sự đổi màu trong số các loại nấm được nghiên cứu (Miranda và nnk, 2012).

Vì vậy, trong nghiên cứu này, sau khi phân lập được chủng *C. lunata* F5 từ rễ cỏ, tập thể tác giả đã lựa chọn để đánh giá khả năng kích thích sinh trưởng thực vật (IAA) và khả năng sinh enzyme laccase. Kết quả cho thấy chủng F5 sinh IAA và sinh enzyme laccase cao. Vì vậy, thử khả năng làm mất màu thuốc nhuộm ở các nồng độ khác nhau. Đây là tiền đề để tác giả lựa chọn chủng vi sinh vật trong xử lý ô nhiễm môi trường nước thải dệt nhuộm.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Chủng nấm nội sinh phân lập từ rễ của cỏ Vetiver.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

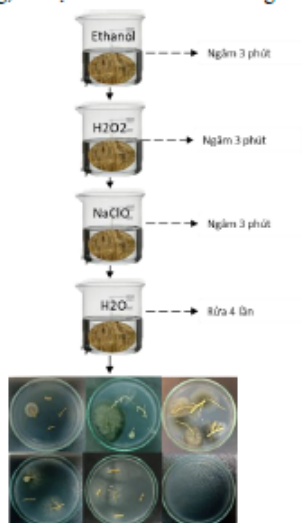
2.2.1. Phương pháp phân lập

Mẫu rễ sau khi được thu về, để tiến hành phân lập vi sinh vật nội sinh được xử lý bề mặt và phân lập như quy trình sau (Hình 1): rửa mẫu dưới vòi nước chảy 3 phút để loại bỏ chất bẩn bám ngoài bề mặt; cắt

* Tác giả liên hệ

Email: vuthilananh@hmg.edu.vn

mẫu thành các đoạn dài khoảng 3 cm rồi đem rửa với cồn 96° trong 3 phút, H₂O₂ 3% trong 3 phút và NaClO 1% trong 3 phút. Cuối cùng, rửa lại với nước cất khử trùng 4 lần (Wang và nnk, 2015).



Hình 1. Quy trình xử lý bề mặt mẫu.

Chủng vi nấm sau phân lập được thuần chủng, tách DNA gửi giải trình tự và kiểm tra đặc điểm hình thái.

2.2.2. Phương pháp thử khả năng sinh IAA

Nuôi cấy vi nấm trong môi trường King's B ở 30°C trong 72 giờ. Hút 0,4 ml dịch bào từ nấm vào 40 ml môi trường trong bình tam giác môi trường King's B. Nuôi cấy 200 v/p ở 30°C, tối hoàn toàn trong 72 giờ. Lắp lại mỗi mẫu 2 lần. Làm 1 mẫu đối chứng (không bổ sung vi nấm). Hút 1,5 ml dịch nuôi cấy vào ống eppendorf, ly tâm dịch đã nuôi cấy 6.000 vòng/phút trong 10 phút. Lấy 100µl dịch nổi cho vào ống eppendorf. Thêm 400 µl thuốc thử Salkowski (dung dịch FeCl₃ 0,5 M trong dung dịch H₂SO₄ 35% tỷ lệ 1:50), trộn đều, giữ yên 20÷25 phút. Sau đó, đem đo ở bước sóng 530 nm.

Kết quả tính theo công thức:

$$M = A - A_0 \text{ (}\mu\text{g/ml)} \quad (1)$$

Trong đó: A là hàm lượng trong mẫu thử; A₀ hàm lượng trong mẫu đối chứng.

Lập đường chuẩn: cân 10 mg axit 3-indol-axetic (IAA) có độ tinh khiết ≥ 99% vào bình chứa 10 ml nước cất, trộn đều. Dung dịch chuẩn gốc có nồng độ 1000 µg/ml. Pha loãng dung dịch chuẩn gốc thành các dung dịch có nồng độ thấp hơn. Hút 2 ml các dịch đã pha loãng vào ống nghiệm chứa 8 ml thuốc thử Salkowski và tối trong 25 phút rồi đo quang phổ ở bước sóng 530 nm. Dựa vào kết quả đo được lập đường chuẩn có dạng $y = ax + b$ (với $R^2 > 0,95$) biểu diễn tương quan giữa số đo trên máy và nồng độ dung dịch chuẩn IAA.

2.2.3. Phương pháp định tính laccase và nghiên cứu ứng dụng laccase xử lý màu thuốc nhuộm

Xác định hoạt tính laccase bằng cách nuôi cấy vi nấm trong môi trường PDB ở 30°C. Sau 72 giờ, hút 0,4 ml dịch bào từ nấm vào 40 ml môi trường trong bình tam giác môi trường PDB, nuôi cấy 200 vòng/phút, ở 30°C. Lắp lại mỗi mẫu 2 lần. Làm 1 mẫu đối chứng (không bổ sung vi nấm). Nuôi cấy sau 72 giờ, hút 1,5 ml dịch nuôi cấy vào ống eppendorf, ly tâm 6000 vòng/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) tạo thành màu xanh lục, hợp chất hấp thụ ánh sáng tại bước sóng 420 nm. Hỗn hợp phản ứng gồm 800 µl đệm acetate 0,5 M; pH = 5,0; 100 µl 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 (Thai và Tran, 2018).

Giá trị hoạt tính laccase được tính như sau:

$$U/ml = [\Delta A * (10^6/e420 * d) * V/v * F]/t \quad (2)$$

Trong đó: + ΔA: sự chênh lệch giá trị hấp thụ ánh sáng ở 420 nm
+ 10⁶/e420*d: sự chuyển đổi sáng µmol cơ chất/ml sử dụng hệ số phân tử hấp thụ (ε_{ABTS}, 420 nm = 3600 M⁻¹.mm⁻¹);

- + d: chiều dài đường đi qua dung dịch tính theo mm (10 mm);
- + V: tổng thể tích (1.000 μ l);
- + v: thể tích mẫu (100 μ l);
- + F: độ pha loãng của mẫu ban đầu;
- + t: thời gian phản ứng (10 phút).

Phương pháp nghiên cứu khả năng ứng dụng laccase từ vi nấm: lựa chọn chủng sinh enzyme laccase với hoạt tính cao để tiến hành thử nghiệm xử lý màu thuốc nhuộm xanh methylen và tìm kết tinh.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Kết quả phân lập

Chủng F5 phân lập được thuần khiết và được tách chiết DNA tổng số để phục vụ cho việc khuếch đại trình tự vùng ITS bằng PCR. Sản phẩm PCR được phân tích trên gel agarose 1%. Sản phẩm PCR được tinh sạch và giải trình tự bởi công ty 1st BASE (Singapore). So sánh với cơ sở dữ liệu Genbank sử dụng công cụ trực tuyến BLAST tại <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST> cho kết quả định danh theo Bảng 1.

Bảng 1. Bảng so sánh mức độ tương đồng về trình tự ITS.

Tên chủng	Tên loài tương đồng	Tương đồng về trình tự ITS	Mã số của trình tự tương đồng trên Genbank
F5	<i>Curvularia lunata</i>	100%	MN213745.1

Đặc điểm hình thái nuôi trên đĩa thạch và đặc điểm bào tử soi dưới kính hiển vi 100x được mô tả ở Hình 2.



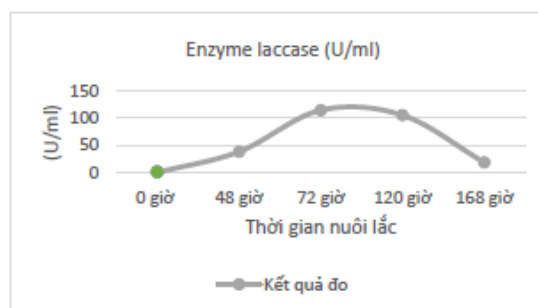
Hình 2. Hình thái khuẩn lạc, bào tử và cuống sinh bào tử chủng F5.

3.2. Thử khả năng sinh laccase

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng nấm là đối tượng sinh tổng hợp lượng lớn enzyme laccase và enzyme này có nhiều ứng dụng trong công nghệ xử lý môi trường, đặc biệt môi trường bị ô nhiễm thuốc nhuộm. Chủng vi nấm nội sinh được nuôi cấy trong môi trường PDB ở 30°C trong 3 ngày và tiến hành đánh giá khả năng sinh enzyme laccase. Kết quả đo theo thời gian như trong Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả tính toán enzyme laccase.

Thời gian nuôi cấy (giờ)	48	72	120	168
Lượng enzyme laccase(U/ml)	38,22	114,8	105,564	18,52

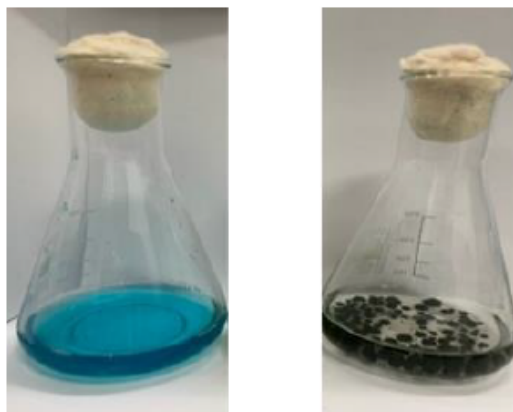


Hình 3. Kết quả tính toán lượng enzyme laccase của F5.

Như biểu đồ trên nhận thấy tại thời điểm 72 giờ nuôi cấy, lượng laccase sinh ra là lớn nhất.

3.3. Thử khả năng làm mất màu thuốc nhuộm

Theo kết quả thử hoạt tính laccase tốt nhất sinh ra vào thời điểm 72 giờ. Vì vậy, nhóm nghiên cứu nuôi cấy chủng F5 trong môi trường chứa xanh methylene nồng độ là 20 mg/l. Kết quả, các bình có bổ sung vi nấm hoàn toàn màu xanh sau 72 giờ. Ngược lại, màu sắc không có sự thay đổi ở các bình đối chứng (Hình 4).



Hình 4. Kết quả xử lý màu xanh methylene của F5.

Với tìm kết tinh, nhóm nghiên cứu nuôi cấy chủng F5 trong môi trường chứa tím kết tinh (3 mg/l). Kết quả, các bình có bổ sung vi nấm hoàn toàn màu xanh sau 72 giờ. Ngược lại, màu sắc không có sự thay đổi ở các bình đối chứng.

3.4. Thử khả năng sinh IAA

Chủng vi nấm sau khi nuôi cấy 3 ngày, dịch nuôi được ly tâm, hút phần dịch nổi và cho phản ứng với thuốc thử Salkowski tỉ lệ (1:4). Thí nghiệm được ủ trong tối khoảng 25 phút rồi đo bằng máy đo UV-VIS ở bước sóng 530 nm. Sau đó, dựa vào phương trình đường chuẩn đã lập để tính giá trị IAA ($\mu\text{g/ml}$). Kết quả giá trị hàm lượng IAA sinh ra của chủng F5 là $124,6 \pm 1,3$ ($\mu\text{g/ml}$).

Để đánh giá khả năng kích thích sinh trưởng thực vật của chủng nấm tiềm năng nhất, mô hình cây cà chua đã được lựa chọn. Mô hình cây cà chua trong phòng thí nghiệm cho phép dễ dàng trồng, lấy nhiễm và quan sát sự ảnh hưởng của vi nấm lên sự phát triển của thân, rễ và lá cây. Dịch bào tử của F5 (*C. lunata*) được sử dụng để lấy nhiễm cây cà chua qua rễ. Các cây cà chua lấy nhiễm nấm được quan sát theo các mốc thời gian khác nhau và sau mỗi 7 ngày thì tiến hành đo sinh trưởng của cây để đánh giá sự thay đổi. Các kết quả được trình bày trong Bảng 3.

Bảng 3. Số liệu đo chiều cao cây cà chua 28 ngày.

Ký hiệu mẫu	Chiều cao của cây (cm)				
	Ban đầu	Sau 7 ngày	Sau 14 ngày	Sau 21 ngày	Sau 28 ngày
ĐC	4,3	5,3	8	10,8	14,5
F5	4,3	5,5	10,2	13,4	18,3

Kết quả cho thấy các cây cà chua được lấy nhiễm nấm có khả năng phát triển tốt hơn cây đối chứng (không nhiễm nấm) từ 13,13–18,25%, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Trong hai tuần đầu sau khi lấy nhiễm, gần như không có sự khác biệt giữa các cây được nhiễm nấm và cây đối chứng. Bắt đầu từ tuần thí nghiệm thứ 3 (21 ngày) có sự khác biệt giữa lô cà chua được nhiễm 2 chủng nấm so với các cây đối chứng. Điều này cũng phù hợp với các kết quả về khả năng sinh chất kích thích sinh trưởng IAA ở thí nghiệm trước.

4. Kết luận

Quá trình phân lập đã định danh, xác định đặc điểm hình thái của chủng *C. lunata* F5. Đã xác định được khả năng sinh IAA của *C. lunata*. Chủng F5 có khả năng sinh chất kích thích sinh trưởng IAA cao với giá trị là $124,6 \pm 1,3$ $\mu\text{g/ml}$. Thử nghiệm trên cây cà chua cho hiệu quả cây cà chua được lấy nhiễm cao hơn so với cây đối chứng, đây là tiềm năng để tạo chế phẩm sinh học thân thiện, bảo vệ môi trường. Bên cạnh đó, chủng F5 sinh enzyme laccase với hoạt tính cao, có khả năng làm mất màu thuốc nhuộm xanh methylen và tím kết tinh, có ý nghĩa trong xử lý ô nhiễm màu trong nước thải.

Tài liệu tham khảo

- Wang Y., B. L. Gao, X. X. Li, Z. B. Zhang, R. M. Yan, H. L. Yang and D. Zhu (2015), "Phylogenetic diversity of culturable endophytic fungi in Dongxiang wild rice (*Oryza rufipogon* Griff), detection of polyketide synthase gene and their antagonistic activity analysis", *Fungal biology*. 119(11), pp. 1032-1045.
- Anastasi A., V. Tigini, Varese and G. Cristina (2012), "The bioremediation potential of different ecophysiological groups of fungi", *Fungi as bioremediators*: pp. 29-49.
- El Bouraie M. and W. S. El Din (2016), "Biodegradation of Reactive Black 5 by *Aeromonas hydrophila* strain isolated from dye-contaminated textile wastewater", *Sustainable Environment Research*. 26(5), pp. 209-216.
- Miranda R., E. Gomes, E. R. Gouveia, K. M. G. Machado and N. B. J. a. J. O. B. De Gusmao (2012), "Decolorization of laundry effluent by filamentous fungi", 11(18), pp. 4216-4224.
- Nguyễn Khởi Nghĩa (2017), "Phân lập và tuyển chọn một số dòng nấm từ gỗ mục có khả năng loại màu thuốc nhuộm ở Đồng bằng sông Cửu Long", *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*.(53), pp. 79-87.
- Paz A., D. Outeiriño, R. P. De Souza Oliveira and J. M. Domínguez (2018), "Fed-batch production of vanillin by *Bacillus aryabhattai* BA03", *New biotechnology*. 40, pp. 186-191.
- Thai H. D. and V.-T. Tran (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.

ABSTRACT

Research on the role of *Curvularia lunata* strain in stimulating growth and treating environmental pollution

Vu Thi Lan Anh¹, Nguyen Thi Hong¹, Tran Thi Ngoc¹, Nguyen Phuong Dong¹, Nguyen Thi Nhan²

¹Hanoi University of Mining and Geology

²Andrology and Fertility Hospital of Hanoi

Creating natural biological products to stimulate plant growth today has important for agriculture as well as the environment. These preparations are not only environmentally friendly and safe for users but also promote long-term effectiveness. In addition, some strains of microorganisms also have the ability to treat environmental pollution, including color pollution in water. The research team evaluated the ability to produce growth-promoting enzymes and laccase enzymes to test the activity of microbial strains isolated in the laboratory. Research results selected *Curvularia lunata* strain with good biological activity. On a laboratory scale, the research team found that the *Curvularia lunata* strain discolored the dye at different concentrations and over different times. Conduct shake culture and add dye with crystal violet and methylene blue. Over time, the fungus grows and discolors the above dyes. Thus, *Curvularia lunata* strain can be applied in treating environmental pollution and creating growth-stimulating biological products.

Keywords: *Curvularia lunata*; crystal violet; IAA; methylene blue; laccase.

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



ISBN: 978-604-76-3040-0



9 786047 630400
SÁCH KHÔNG BÁN