

NGHIÊN C U KH N NG PHÂN H Y MU I THAN C A VI KHU N PHÂN L P T V NH H LONG

Nguy n Th Thu Huyen n, Nguy n Th Yên , Nguy n ình Th , L i Thuy Hi n
Phòng Vi sinh v t d u m , Vi n Công ngh Sinh h c, VAST

Tóm t t: V nh H Long ang d n b ô nhi m b i mu i than. Mu i than gây nguy hi m n s c kh e con ng i, làm ch m chu trình chuy n hóa carbon và làm trái t nóng lên gây bi n i khí h u. Do v y, c n có gi i pháp hi u qu lo i b ô nhi m mu i than t i ây. S d ng vi khu n n i t i c a v nh H Long x lý ô nhi m mu i than c xem là gi i pháp h u hi u. T các m u n c b m t ô nhi m mu i than t i v nh H Long, ã phân l p và tuy n ch n c 3 ch ng vi khu n (BV3.7, BV5.2 và BV6.3) có kh n ng sinh tr ng trong môi tr ng ch a mu i than. C 3 ch ng u là vi khu n d ng. Ch ng BV5.2 và BV6.3 có kh n ng sinh bào t trong khi ch ng BV3.7 thì không. T bào ch ng BV 3.7 có hình c u, t bào c a 2 ch ng còn l i có hình que. B ng kit chu n sinh hóa API 50CHL và API 50CHB ã xác d nh c ch ng BV3.7, BV5.2 và BV6.3 thu c loài *Lactobacillus salvarius*, *Bacillus subtilis* và *Bacillus pumillus* v i t ng ng l n l t là 99,9%; 99,4% và 99,7%. Ch ng BV 3.7 có kh n ng s d ng mu i than làm ngu n cacbon duy nh t trong khi 2 ch ng còn l i phân h y mu i than t t h n n u có b sung thêm ngu n carbon glucose. Các k t qu thu c ã m ra tri n v ng ng d ng chúng vào x lý ô nhi m mu i than v nh H Long.

T khóa: Mu i than, Phân h y sinh h c, Vi khu n, V nh H Long.

STUDY ON BLACK CARBON DEGRADATION CAPACITY OF BACTERIA ISOLATED FROM HALONG BAY

Nguyen Thi Thu Huyen*, Nguyen Thi Yen, Nguyen Dinh Tho, Lai Thuy Hien
Petroleum Microbiology Laboratory, Institute of Biotechnology, VAST; No 18
Hoang QuocViet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam
*.Email: ntthuyen@ibt.ac.vn

Abstract: Halong bay is gradually more and more polluted by black carbon soot. Black carbon not only causes harmful effect for human health, affects the global carbon cycle but also triggers the global warming, climate change. Thus, it is necessary to find out the solution for effectively handle black carbon pollution. The best choice is to use the native microorganisms that can degrade black carbon for black carbon polluted treatment. From the surface microlayer samples of black carbon contaminated waters collected at Halong bay, three strains BV3.7, BV5.2 and BV6.3 that are capable of growing in medium containing black carbon were isolated and selected. All 3 isolates were positive bacteria. Spherical-shaped bacterial strain BV3.7 can not make sporulation whereas others can form endospores. By using API 50CHL and API 50CHB kits, strains BV3.7, BV5.2 and BV6.3 are identified as *Lactobacillus salvarius*, *Bacillus subtilis* and *Bacillus pumillus* with 99.9%, 99.4% and 99.7% similarity,

respectively. Strain BV3.7 can utilize black carbon as sole carbon while others degrade black carbon better if glucose is added. Obtain results pointed out the promising chance for applying these bacterial strains to black carbon contaminated treatment at Halong bay.

Key words: *Black carbon, Degradation, Bacteria, Sea surface microlayer water, Halong bay.*

I. GIỚI THIỆU

Muối than (black carbon-BC) là hợp chất carbon màu đen sinh ra từ quá trình đốt cháy không hoàn toàn sinh khối hoặc nhiên liệu rắn như than đá, gỗ, xăng dầu trong điều kiện nhiệt độ cao hoặc do hoạt động của con người (Shrestha 2010). Mặc dù muối than là vật mang tính toàn cầu và các hoạt động thì muối than địa phương nhưng các nơi trên thế giới, như tùy từng vùng mà lượng thì muối than khác nhau. Cùng vĩ độ và Trung Quốc, Việt Nam là một trong ba nước có nguồn thì muối than lớn nhất thế giới và đang phải chịu những ảnh hưởng nghiêm trọng của biến đổi khí hậu, suy giảm sức khỏe và ô nhiễm môi trường sinh thái do muối than gây ra (Gatariva et al., 2005, 2006; Lin et al., 2011; Srivastava et al., 2012).

Một trong các ô nhiễm môi trường muối than tại Việt Nam chính là vịnh Hạ Long. Kết quả khảo sát của Gatari et al. (2006) cho thấy hàm lượng muối than có trong nước và không khí Hạ Long rất cao (Gatari et al., 2006). Nguyên nhân chủ yếu là do cháy rừng, tập quán sử dụng than, rơm rạ trong sản xuất sinh hoạt của người dân, sử dụng than đá và xăng dầu trong các ngành công nghiệp và hoạt động tàu thuyền du lịch, sản xuất, nuôi trồng thủy sản và các bãi thải khai thác than. Kết quả là ngành xá, nhà cửa, công trình đều bao phủ bởi muối than. Không chỉ vậy, bệnh tật của vịnh Hạ Long đã ô nhiễm muối than khá nghiêm trọng vì mức độ các vết bẩn loang màu đen làm mất vẻ đẹp thiên nhiên vịnh Hạ Long. Ngoài ra, theo Xavier Mari (thông tin cá nhân), ô nhiễm muối than còn làm giảm nguồn tài nguyên đa dạng sinh học vùng vịnh Hạ Long. Bên cạnh đó, muối than liên tục coi là yếu tố thứ hai sau CO₂ gây biến đổi khí hậu, làm trái đất nóng lên (Ramanathan et al., 2008). Vì vậy, bên cạnh việc giảm thiểu nguồn gây ô nhiễm muối than thì việc xử lý ô nhiễm muối than tại vịnh Hạ Long là rất cần thiết.

Muối than có thể xử lý bằng các biện pháp sinh học và sinh học, trong đó biện pháp sinh học ngày càng được quan tâm nghiên cứu (Cheng et al., 2006; Decesari et al., 2002; Hamer et al., 2004; Schmidt et al., 2000; Stubbins et al., 2012). Vấn đề cốt lõi gây ô nhiễm, đó chính là tác nhân phân hủy chất gây ô nhiễm”, chúng tôi tin rằng nghiên cứu sinh vật tại vịnh Hạ Long có khả năng phân hủy muối than. Kết quả của chúng tôi đã minh chứng cho điều này (Nguyễn et al., 2011). Những nghiên cứu các chủng vi khuẩn đã phân lập được vào xử lý ô nhiễm muối than thì việc đánh giá khả năng phân hủy muối than của chúng là cần thiết để có lựa chọn chủng vi sinh phù hợp cho mục tiêu xử lý ô nhiễm muối than. Chính vì vậy, nghiên cứu này được tiến hành.

II. V T LI U VÀ PH NG PHÁP NGHIÊN C U

1. Ch ng gi ng vi khu n

S d ng ba ch ng vi khu n hi u khí BV3.7, BV5.2 và BV6.3 t b s u t p vi khu n bi n có kh n ng phân h y mu i than c a phòng Vi sinh v t d u m , Vi n Công ngh Sinh h c, Vi n Khoa h c và Công ngh Vi t Nam.

2. Môi tr ng

Môi tr ng nuôi c y vi khu n dùng cho ph n ng xác nh Gram, quan sát hình thái t bào, th kh n ng t o bào t và kit th sinh hóa API là môi tr ng HKTS 1% NaCl v i thành ph n môi tr ng bao g m NaCl 5 gL⁻¹, KH₂PO₄ 1 gL⁻¹, KCl 0.25 gL⁻¹, MgCl₂ 1.2 gL⁻¹, NH₄NO₃ 2 gL⁻¹, glucose 1 gL⁻¹, peptone 5 gL⁻¹, yeast extract 0.2 gL⁻¹, meat extract 3 gL⁻¹, n c bi n 200 mL⁻¹, pH 7-7.5. Môi tr ng th ch c b sung 20 gL⁻¹ th ch.

Môi tr ng ánh giá kh n ng phân h y mu i than c a vi khu n là môi tr ng BMM 1% NaCl v i thành ph n môi tr ng bao g m (NH₄)₂SO₄ 2 gL⁻¹, MgSO₄.7H₂O 2 gL⁻¹, NaCl 5 gL⁻¹, KCl 2 gL⁻¹, KH₂PO₄ 0,27 gL⁻¹, CaCl₂.2H₂O 0,294 gL⁻¹, natri citrat.2H₂O 2 gL⁻¹, FeSO₄.7H₂O 0,1084 mgL⁻¹, MnSO₄.4H₂O 2,2 mgL⁻¹, glutamic axit 0,6624 gL⁻¹, Tris 6,6 gL⁻¹, n c bi n 200 mL⁻¹, pH 7,5. Glucose 0,2 gL⁻¹ c b sung vào môi tr ng c y ho t hóa gi ng qua êm.

3. i u ki n nuôi c y

Chu n b t bào vi khu n cho ph n ng xác nh Gram, quan sát hình thái t bào, th kh n ng hình thành bào t và kit th sinh hóa API: ch ng vi khu n gi -20°C c ho t hóa 37°C trong môi tr ng d ch HKTS 1% NaCl. Sau ó, d ch nuôi c y c g t trên môi tr ng th ch a HKTS 1% NaCl và qua êm 37°C. L y sinh kh i t bào t khu n l c n l ti n hành nhu m gram hay th v i KOH 3%, quan sát hình thái t bào và th kit chu n sinh hóa API. ánh giá kh n ng t o bào t , sinh kh i t bào c l y t khu n l c n l trên môi tr ng th ch a HKTS 1% NaCl sau 72 gi nuôi c y 37°C.

ánh giá kh n ng phân h y mu i than c a các ch ng vi khu n: ch ng vi khu n gi -20°C c ho t hóa qua êm 37°C v i các th tích gi ng khác nhau trong môi tr ng BMM b sung 0,2 gL⁻¹ glucose làm ngu n c ch t. Ch n gi ng ho t hóa ang pha t ng tr ng b sung vào các bình tam giác ch a môi tr ng th nghi m bao g m môi tr ng BC (môi tr ng BMM b sung mu i than v i hàm l ng khác nhau 0,01 mgL⁻¹; 0,1 mgL⁻¹; 1 mgL⁻¹; 10 mgL⁻¹; 100 mgL⁻¹; 1000 mgL⁻¹) và môi tr ng BCG (môi tr ng BMM ngoài b sung mu i than v i hàm l ng khác nhau 0,01 mgL⁻¹; 0,1 mgL⁻¹; 1 mgL⁻¹; 10 mgL⁻¹; 100 mgL⁻¹; 1000 mgL⁻¹ còn b sung 0,2 gL⁻¹ glucose) v i OD_{500nm} t 0,05-0,1 t i th i i m b t u thí nghi m. Các bình tam giác c nuôi l c 180 vòng/phút 37°C. Sau 30 phút l y m u o m t t bào m t l n cho n khi t bào vào pha cân b ng.

4. Ph ng pháp

- Xác nh Gram b ng ph ng pháp nhu m Gram và th KOH 3%.

- Quan sát hình thái tế bào bằng kính hiển vi điện tử HITACHI S4800 (Nhật).
- Xác định khả năng tạo bào tử bằng phương pháp sắc nhiệt 80°C/15 phút.
- Nhận danh vi khuẩn bằng kit chuẩn sinh hóa API (Biomereux; Pháp)
- Đánh giá khả năng sinh trưởng của vi khuẩn bằng phương pháp đo quang phổ Secomam (Đức) bằng sóng 500 nm.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đặc điểm hình thái tế bào

Đặc điểm hình thái khuẩn lạc, tế bào, khả năng sinh bào tử và phân loại các chủng BV3.7, BV5.2 và BV6.3 theo nhóm Gram được thể hiện qua bảng 1 và hình 1-2. Kết quả cho thấy hình thái khuẩn lạc của các chủng này khác nhau. Tuy nhiên, sự khác biệt về hình thái khuẩn lạc của chủng này khác biệt về hình thái tế bào. Chủng là chủng BV5.2 và BV6.3 có hình thái khuẩn lạc khác nhau như tế bào đều là hình que. Mặc dù vậy, sự khác biệt về hình thái khuẩn lạc của chủng có thể là do sự bảo vệ sự khác biệt về hình thái tế bào như trong trường hợp chủng BV3.7. Tế bào của chủng này có hình cầu. Tuy khác biệt nhau về hình thái khuẩn lạc và tế bào nhưng 3 chủng này đều là vi khuẩn Gram dương. Tuy cùng là vi khuẩn Gram dương nhưng khả năng sinh bào tử của các chủng này khác nhau. Chỉ có 2 chủng vi khuẩn hình que BV5.2 và BV6.3 có khả năng tạo bào tử trong khi chủng BV 3.7 thì không.

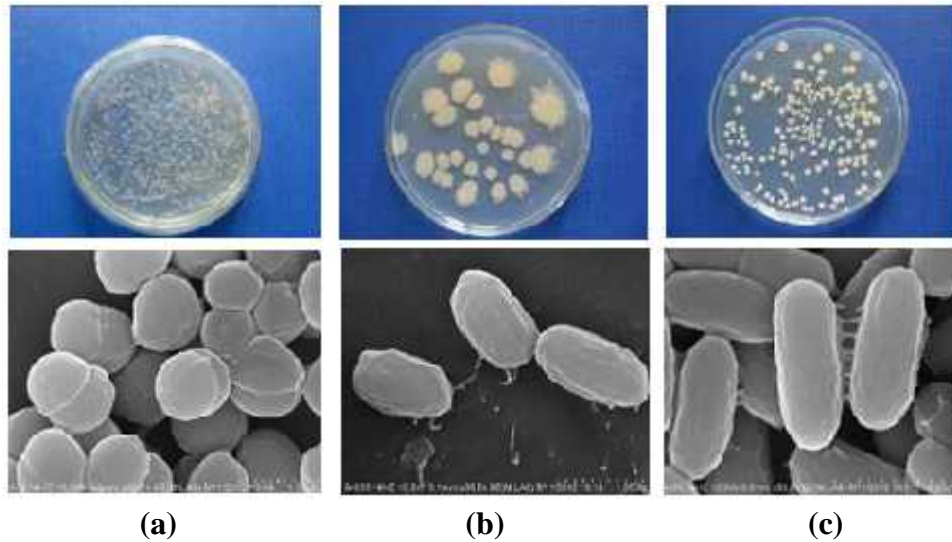
Bảng 1. Đặc điểm khuẩn lạc và tế bào của 3 chủng vi khuẩn

TT	Chủng	Hình thái khuẩn lạc	Hình thái tế bào	Gram	Khả năng sinh bào tử
1	BV3.7	Hình tròn, lồi bóng, màu vàng nhạt, mép gợn, đường kính 1-2 mm	Hình cầu	+	Không sinh bào tử
2	BV5.2	Hình tròn, trong suốt, mép rờn cưa, bề mặt khô hình tia, phẳng, đường kính 6-9 mm, có vòng tròn trung tâm đường kính 1-3mm	Hình que	+	Có khả năng sinh bào tử
3	BV6.3	Hình tròn, trong suốt, mép phẳng, bề mặt khô, lõm, đường kính 1-3mm, có vòng tròn trung tâm đường kính 1-3mm	Hình que	+	Có khả năng sinh bào tử

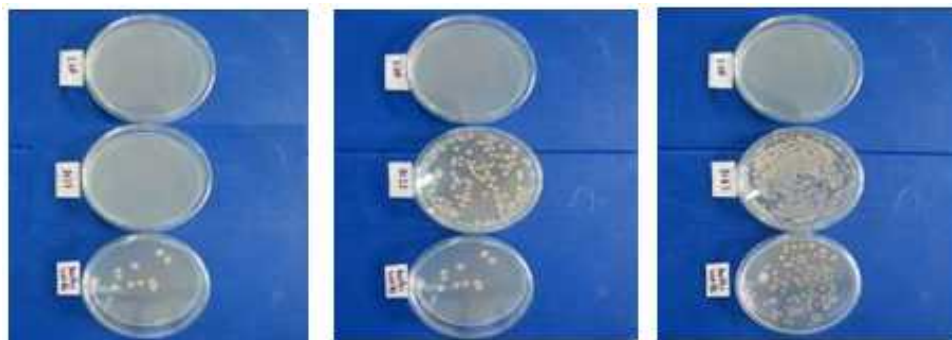
2. Nhận danh vi khuẩn bằng kit thử sinh hóa API 50CHB và 50CHL

Kit chuẩn sinh hóa API 50CH gồm 50 phần khác nhau được sản xuất dựa trên đặc điểm sinh hóa của các nhóm vi khuẩn Gram dương khác nhau. Dựa vào khả năng sử dụng các chất khác nhau trong 50 phần để xác định bào vi khuẩn thì

nghi m s xác nh c vi khu n này thu c loài nào. Trong các lo i kit API 50CH thì kit API 50CHL dùng nh danh nhóm vi khu n Gram d ng, không t o bào t và kit API 50CHB dùng nh danh nhóm vi khu n Gram d ng, có kh n ng t o bào t . Do ó, trong nghiên c u này, kit API 50CHL c dùng nh danh vi khu n BV3.7 và kit API 50CHB c dùng nh danh vi khu n BV5.2 và BV6.3. K t qu th kit c nêu trên B ng 2.



Hình 1. Hình thái khuẩn l c (trên) và t bào (d i) c a ch ng BV3.7 (a), BV5.2 (b) và BV6.3 (c)



Hình 2. Kh n ng sinh tr ng c a ch ng vi khu n BV3.7 (trái), BV5.2 (gi a) và BV 6.3 (ph i) sau khi s c nhi t

K t qu cho th y s t ng ng c a c ba ch ng BV3.7, BV5.2 và BV6.3 trong kh n ng ng hóa các c ch t. C ba ch ng u có kh n ng s d ng L-Arabinose, D-Glucose, D-Fructose, D-Mannose, Mannitol, N Acetyl glucosamine và Trehalose. ng th i, 3 ch ng này u không s d ng các c ch t Erythritol, D-Arabinose, L-Xylose, Adonitol, Methyl-xyloside, L-Sorbose, Dulcitol, Methyl-D-Mannoside, Inuline, Melezitose, Xylitol, D-Turanose, D-Lyxose, D-Tagatose, D-Fucose, D-Arabitol, L-Arabitol, 2 ceto-gluconate và 2 ceto-gluconate. M t khác, k t qu th kit c ng ch ra s khác bi t gi a ch ng BV3.7 và 2 ch ng còn l i. So v i hai ch ng BV5.2 và BV6.3, ch ng BV3.7 không có kh

những sản phẩm Glycerol, Amygdaline, Arbutine, Esculine, Salicine, Cellobiose, Saccharose và Gentiobiose. Ngược lại, chủng BV3.7 có khả năng sản xuất D-Xylose, Galactose, Rhamnose, Lactose, Melibiose, L-Fucose và Gluconate trong khi 2 chủng còn lại không có khả năng.

Bảng 2. Kết quả kit thử AIP 50CHL và API 50CHB của ba chủng vi khuẩn BV3.7, BV5.2 và BV6.3

T	C	Ph			T	C	Ph		
		BV3.7	BV5.2	BV6.3			T	C	BV3.7
1	Control	-	-	-	26	Esculine	-	+	+
2	Glycerol	-	+	+	27	Salicine	-	+	+
3	Erythritol	-	-	-	28	Cellobiose	-	+	+
4	D-Arabinose	-	-	-	29	Maltose	+	+	-
5	L-Arabinose	+	+	+	30	Lactose	+	-	-
6	Ribose	+	-	+	31	Melibiose	+	-	-
7	D-Xylose	+	-	-	32	Saccharose	-	+	+
8	L-Xylose	-	-	-	33	Trehalose	+	+	+
9	Adonitol	-	-	-	34	Inuline	-	-	-
10	Methyl-xyloside	-	-	-	35	Melezitose	-	-	-
11	Galactose	+	-	-	36	D-Raffinose	+	+	-
12	D-Glucose	+	+	+	37	Starch	-	+	-
13	D-Fructose	+	+	+	38	Glycogen	-	+	-
14	D-Mannose	+	+	+	39	Xylitol	-	-	-
15	L-Sorbose	-	-	-	40	Gentiobiose	-	+	+
16	Rhamnose	+	-	-	41	D-Turanose	-	-	-
17	Dulcitol	-	-	-	42	D-Lyxose	-	-	-
18	Inositol	-	+	-	43	D-Tagatose	-	-	-
19	Mannitol	+	+	+	44	D-Fucose	-	-	-
20	Sorbitol	+	+	-	45	L-Fucose	+	-	-
21	Methyl-D-Mannoside	-	-	-	46	D-Arabitol	-	-	-
22	Methyl-D-Glucoside	-	+	-	47	L-Arabitol	-	-	-
23	N Acetyl glucosamine	+	+	+	48	Gluconate	+	-	-
24	Amygdaline	-	+	+	49	2 ceto-gluconate	-	-	-
25	Arbutine	-	+	+	50	5 ceto-gluconate	-	-	-

Mức độ khác biệt nhau khả năng tạo bào tử nhũ tương không có khả năng tạo bào tử BV3.7 cũng có một số đặc điểm sinh hóa tương tự với chủng có khả năng tạo bào tử BV5.2. Đó là 2 chủng này đều có khả năng lên men hóa Ribose, Sorbitol, Maltose, D-Raffinose. Ngoài ra, chủng BV3.7 cũng tương tự với chủng có khả năng tạo bào tử BV6.3 đặc điểm: không có khả năng sản xuất Inositol, Methyl-D-Glucoside, tinh bột và Glycogen. Bên cạnh đó, hai chủng BV5.2 và BV6.3 vẫn có những đặc điểm sinh hóa khác biệt dù 2 chủng này đều

có khả năng tạo bào tử. Chất là, so với chủng BV6.3, chủng BV5.2 không có khả năng tổng hợp Ribose. Ngược lại, chủng BV5.2 lại có khả năng tổng hợp Inositol, Sorbitol, Methyl-D-Glucoside, Maltose, D-Raffinose, tinh bột, Glycogen trong khi chủng BV6.3 lại không thể.

Sử dụng phần mềm apiweb phân tích các kết quả thử kit API 50CHL và API 50CHB đã xác định chủng vi khuẩn BV 3.7, BV5.2 và BV6.3 thuộc loài *Lactobacillus salivarius*, *Bacillus subtilis* và *Bacillus pumillus* với tỷ lệ 99.9%, 99,4 % và 99.7%.

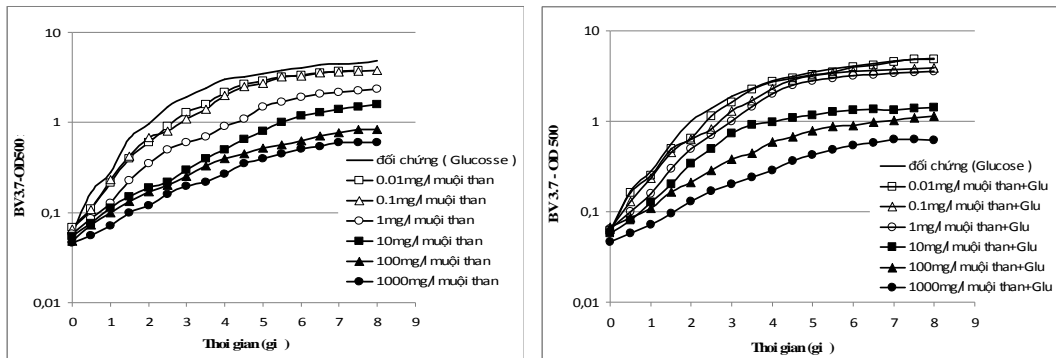
3. ảnh hưởng phân hủy mùn i than

Mùn i than là một hợp chất phức tạp, cứng, khó phân hủy nên không phải chủng vi khuẩn nào cũng có thể phân giải được. Gần đây, mùn i than được cho là có thể bị phân hủy nhờ tác nhân vi sinh (Hamer, U. Và cs, 2004, Kuzyakov, Y và cs, 2009, Nguyen, T. T. H và cs, 2011). Quá trình này tiến hành nhanh khi bổ sung thêm glucose vào môi trường (Hamer, U. Và cs, 2004, Kuzyakov, Y và cs, 2009). Do đó, trong nghiên cứu này, ngoài việc đánh giá khả năng sinh trưởng của các chủng vi khuẩn thử nghiệm trong môi trường chứa mùn i than làm nguồn carbon duy nhất thì chúng tôi còn đánh giá khả năng sinh trưởng của chúng trong môi trường chứa mùn i than có bổ sung glucose. Các kết quả trình bày hình 3-5.

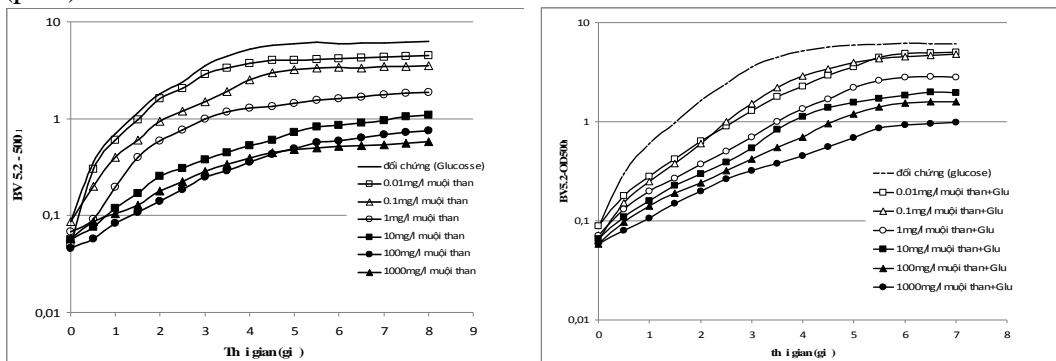
Kết quả cho thấy khả năng đáp ứng với điều kiện môi trường của chủng BV3.7 khác với chủng BV5.2 và BV6.3. Trong khi khả năng sinh trưởng của 2 chủng sau tiến hành trong môi trường chứa mùn i than có bổ sung glucose thì khả năng sinh trưởng của BV3.7 gần như nhau trong cả 2 trường hợp, nhất là khi môi trường chứa hàm lượng mùn i than cao. Kết quả còn cho thấy môi trường càng có hàm lượng mùn i than cao thì khả năng sinh trưởng của các chủng này càng giảm. Điều này có thể thấy rõ ở 2 chủng BV5.2 và BV6.3.

Đối với chủng BV3.7 (Hình 3), mặc dù so với chủng (nguồn chất là glucose) thì sinh trưởng của chủng BV3.7 trong môi trường chứa 0,01-0,1 mg mùn i than/l có kém hơn nhưng việc bổ sung glucose vào môi trường chứa 0,01-0,1 mgL⁻¹ mùn i than không có tác động kích thích sinh trưởng của chủng này. Do đó có thể nhận thấy rằng nồng độ 0,01-0,1 mgL⁻¹ mùn i than chưa gây ức chế với vi khuẩn BV3.7. Tuy nhiên, trong môi trường chứa 1 mg/l mùn i than thì việc bổ sung glucose vào môi trường giúp chủng này sinh trưởng tốt hơn. Mặc dù vậy, khi môi trường chứa hàm lượng mùn i than cao hơn 10-1000mg/l thì việc bổ sung glucose vào môi trường lại không có tác động như vậy đối với chủng BV3.7. Điều này cho thấy khi hàm lượng mùn i than tăng lên sẽ gây ức chế cho tế bào vi khuẩn BV3.7 thì việc bổ sung glucose cũng không thể giúp chủng này tiến hành thích nghi với điều kiện môi trường. Khi so sánh tiến trình hợp môi trường chứa mùn i than làm nguồn chất duy nhất và môi trường chứa mùn i than có bổ sung glucose, nhận thấy rằng trong môi trường chứa 10 mg/l mùn i than có bổ sung glucose, sinh trưởng của chủng BV3.7 không tiến hành so với trong môi trường chứa 10 mg/l mùn i than làm nguồn carbon duy nhất. So với chủng glucose, có thể nhận thấy sinh trưởng của chủng BV3.7 trong môi trường chứa 10 mg/l mùn i than giảm đáng kể. Như vậy, 10 mg/l mùn i than là giới hạn chịu đựng tối đa của chủng BV3.7 hay nói cách khác chủng này có thể sử dụng được tối đa 10 mg/l mùn i than làm nguồn chất duy nhất.

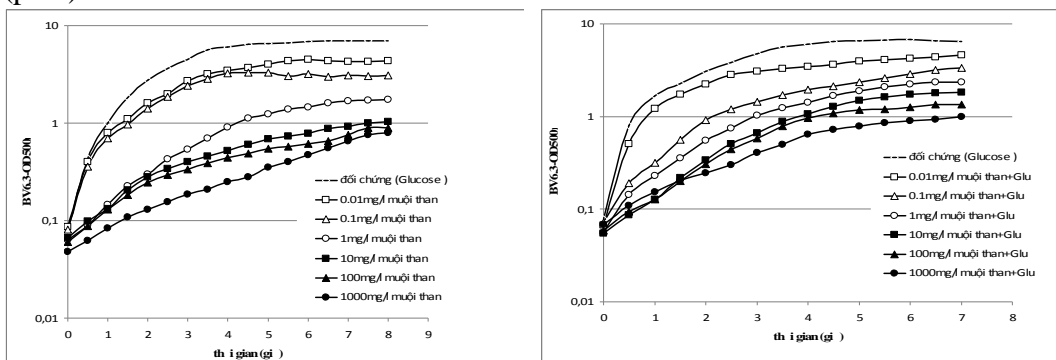
Hai chủng BV5.2 và BV6.3 có áp dụng khác gì nhau trong môi trường có muối than (Hình 4 và 5). Khi sinh trưởng trong môi trường chỉ có hàm lượng muối than càng cao thì vai trò của vi khuẩn bổ sung glucose càng kích thích sinh trưởng của 2 chủng này càng rõ. Khi môi trường có bổ sung glucose thì trong điều kiện môi trường chỉ có 100 mg L⁻¹ muối than, 2 chủng BV5.2 và BV6.3 vẫn sinh trưởng được. Do đó, có thể khẳng định rằng 2 chủng này có khả năng phân hủy tới 100 mg L⁻¹ muối than trong môi trường có bổ sung glucose.



Hình 3. Sinh trưởng của chủng BV3.7 trong môi trường BMM với nồng độ chất duy nhất muối than (trái) và trong môi trường chỉ có muối than bổ sung glucose (phải)



Hình 4. Sinh trưởng của chủng BV5.2 trong môi trường BMM với nồng độ chất duy nhất muối than (trái) và trong môi trường chỉ có muối than bổ sung glucose (phải)



Hình 5. Sinh trưởng của chủng BV6.3 trong môi trường BMM với nồng độ chất duy nhất muối than (trái) và trong môi trường chỉ có muối than bổ sung glucose (phải)

IV. TH O LU N

ng tr c th c tr ng v nh H Long b ô nhi m mu i than, vi c tìm ki m vi khu n b n a có kh n ng phân h y mu i than ng d ng trong vi c b o v và làm s ch môi tr ng t i v nh H Long là c n thi t. K t qu kh o sát c a chúng tôi cho th y m t s ch ng vi khu n phân l p t v nh H Long có kh n ng sinh tr ng trong môi tr ng ch a mu i than (Nguyen và cs. 2011). Trong nghiên c u này, chúng tôi ti p t c i sâu thì hi u c tính sinh h c c ng nh kh n ng phân h y mu i than c a m t s ch ng vi khu n tuy n ch n BV3.7, BV5.2 và BV6.3 nh m nh h ng ng d ng chúng trong vi c x lý ô nhi m mu i than t i v nh H Long.

K t qu hình thái t bào cho th y không có m i liên h t ng quan gi a hình thái khu n l c, t bào, c i m Gram và kh n ng t o bào t . Tuy nhiên, c 3 ch ng vi khu n BV3.7, BV5.2 và BV6.3 u là vi khu n Gram đ ng là m t phát hi n khá thú v vì cho n nay ng i ta m i ch c bi t n m t s vi khu n có kh n ng phân h y mu i than là vi khu n Gram âm (Polymenakou và cs, 2006). Do ó, k t qu c a nghiên c u này ã b sung thêm nh ng hi u bi t v i t ng vi khu n có kh n ng phân h y mu i than: không ch là vi khu n Gram âm mà còn là vi khu n Gram đ ng. T ó, m r ng h ng tìm ki m vi khu n có kh n ng phân h y mu i than.

K t qu nh danh n loài c a các ch ng vi khu n có kh n ng phân h y mu i than c ng hé m khám phá thú v v các loài ã bi t. K t qu phân tích kit chu n sinh hóa API 50CHL cho th y ch ng BV3.7 có t ng ng 99,9% v i loài *Lactobacillus salivarius*. Tuy nhiên, hình thái t bào *Lactobacillus salivarius* là hình que (Tinrat và cs, 2011). Trong khi ó, hình thái t bào c a ch ng BV3.7 l i là hình c u. Vì v y, xác nh chính xác v trí phân lo i n loài c a ch ng BV3.7 c n có nh ng nghiên c u ti p theo nh phân tích trình t gen 16S rRNA. Trái l i, k t h p k t qu phân tích kit chu n sinh hóa API 50CHB c a hai ch ng BV5.2 và BV6.3 v i c i m hình thái khu n l c, t bào, kh n ng t o bào t thì có th kh ng nh ch ng vi khu n BV5.2 thu c loài *Bacillus subtilis* và ch ng vi khu n BV6.3 thu c loài *Bacillus pumillus*. ây là nh ng phát hi n m i, thú v , b i vì cho n nay ch a có công trình nào công b v kh n ng phân h y mu i than c a m t loài xác nh. H n n a, *Bacillus subtilis* và *Bacillus pumillus* là 2 loài khá ph bi n trong nghiên c u c ng nh trong ng d ng. S khám phá thêm c tính m i (có kh n ng phân h y mu i than) ã b sung thêm vào d li u c tính sinh h c c a chúng và ng th i m r ng h ng nghiên c u c ng nh ng d ng chúng.

K t qu ánh giá kh n ng phân h y mu i than c ng mang n nhi u i u thú v v kh n ng phân h y h p ch t c, khó tan c a vi khu n. Mu i than c s đ ng trong nghiên c u này là mu i than c t o thành t quá trình t cháy không hoàn toàn diesel. Do ó thành ph n ch y u c a lo i mu i than này là các h p ch t hydrocarbon vòng th m (PHA). K t qu thu c ã cho th y ch ng *Bacillus subtilis* BV5.2 và *Bacillus pumillus* BV6.3 có kh n ng t t phân h y mu i than trong môi tr ng có b sung glucose . i u này phù h p v i các nghiên c u tr c ã cho th y *Bacillus subtilis* và *Bacillus pumillus* có kh n ng phân h y các PHA (Calvo, C và cs, 2003, Duy và cs, 2007, Toledo và cs, 2006). Tuy nhiên, kh

những chủng nấm sợi phân hủy chất hữu cơ vi khuẩn Gram dương, không tạo bào tử BV3.7 trong nghiên cứu này là phát hiện ưu tiên.

Ngoài ra, sự khác biệt trong áp dụng vi môi trường chứa nấm sợi phân hủy chất hữu cơ glucose của chủng BV3.7 so với hai chủng BV5.2 và BV6.3 cũng là một khám phá mới về vi khuẩn Gram dương, không bào tử có khả năng sản xuất các hợp chất làm ngưng tụ chất trong khi vi khuẩn Gram dương, có khả năng tạo bào tử là phân hủy nấm sợi phân hủy chất hữu cơ khi môi trường có bổ sung glucose. Ngược lại, so với vi khuẩn Gram dương, không bào tử thì các vi khuẩn Gram dương, có khả năng tạo bào tử có thể sinh trưởng trong môi trường chứa hàm lượng nấm sợi phân hủy chất hữu cơ cao hơn khi có bổ sung glucose. Điều này mở ra khả năng nghiên cứu các chủng vi khuẩn Gram dương, có khả năng tạo bào tử trong việc xử lý ô nhiễm nấm sợi phân hủy chất hữu cơ này có khả năng tích tụ và thích nghi với điều kiện môi trường khắc nghiệt. Ví dụ, *Bacillus subtilis* và *Bacillus pumilus* là vi khuẩn lành tính, có khả năng kháng bệnh, kháng nấm cao (Bottone và cs, 2003, de Melo và cs, 2009, Kuta và cs, 2009, Ouoba và cs, 2007). Vì vậy, việc áp dụng hai chủng vi khuẩn BV5.2 và BV6.3 vào việc xử lý ô nhiễm nấm sợi phân hủy chất hữu cơ góp phần làm giảm tác hại của vi sinh vật bệnh tật. Do đó, triển vọng nghiên cứu 2 chủng này trong xử lý ô nhiễm nấm sợi phân hủy chất hữu cơ là rất lớn.

L i c m n: Tác giả xin chân thành cảm ơn TS. Xavier Mari (IRD) đã cung cấp nấm sợi phân hủy chất hữu cơ hình thành từ quá trình đốt cháy không hoàn toàn diesel (SRM 2975, NIST, USA) cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bottone, E. J., and Peluso, R. W., 2003. Production by *Bacillus pumilus* (MSH) of an antifungal compound that is active against *Mucoraceae* and *Aspergillus* species: preliminary report, *J. Med. Microbiol.*, 52: 69-74.
2. Calvo, C., Toledo, F. L., and J González-López, J., 2004. Surfactant activity of a naphthalene degrading *Bacillus pumilus* strain isolated from oil sludge, *J. Biotechnol.*, 109(3): 255-262.
3. Cheng, C. -H., Lehmann, J., Thies, J., Burton, S. D., and Engelhard, M. H., 2006. Oxidation of black carbon by biotic and abiotic processes, *Org. Geochem.* 37: 1477-1488.
4. de Melo, F. M. P., Fiore, M. F., de Moraes, L. A. B., Silva-Stenico, M. E., Scramin, S., de Araújo Teixeira, M., de Melo, I. S., 2009. Antifungal compound produced by the casava endophyte *Bacillus pumilus* MAIIM4A, *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, 66(5): 583-592.
5. Decesari, S., Facchini, M. C., Matta, E., Mircea, M., Fuzzi, S., Chughtai, A. R., and Smith, D. M., 2002. Water soluble organic compounds formed by oxidation of soot, *Atmos. Environ.* 36 (11): 1827-1832.
6. Duy, N. V., Wolf, C., Mäder, U., Lalk, M., Langer, P., Lindequist, U., Hecker, M., and Antelmann, H., 2007. Transcriptome and proteome analyses in response to 2-methylhydroquinone and 6-brom-2-vinyl-chroman-4-on reveal different degradation systems involved in the catabolism of aromatic compounds in *Bacillus subtilis*, *Proteomics* 7: 1391-1408.

7. Gatari, M., Boman, J., Wagner, A., Janhäll, S., and Isakson, J., 2006. Assessment of inorganic content of PM_{2.5} particles sampled in a rural area north-east of Hanoi, Vietnam, *Sci. Total Environ.* 368: 675-685.
8. Gatari, M., Wagner, A., and Boman, J., 2005. Elemental composition of tropospheric aerosols in Hanoi, Vietnam and Nairobi, Kenya, *Sci. Total Environ.* 341: 241-249.
9. Hamer, U., Marschner, B., Brodowski, S., Amelung, W., 2004. Interactive priming of black carbon and glucose mineralisation in soil, *Org. Geochem.* 35: 823-830.
10. Kuta, F.A., Nimzing L., and Orka'a P. Y., 2009. Screening of Bacillus Species with Potentials of Antibiotics Production, *Appl. Med. Informatics*, 24(1-2): 42-46.
11. Kuzyakov, Y., Subbotina, I., Chen, H., Bogomolova, I., and Xu, X., 2009. Black carbon decomposition and incorporation into soil microbial biomass estimated by ¹⁴C labeling, *Soil Biol. Biochem.* 41: 210-219.
12. Lin, W., Huang, W., Zhu, T., Hu, M., Brunekreef, B., Zhang, Y., Liu, X., Cheng, H., Gehring, U., Li, C., and Tang, X., 2011. Acute Respiratory Inflammation in Children and Black Carbon in Ambient Air before and during the 2008 Beijing Olympics, *Environ. Health Perspect* 119: 1507-1512.
13. Nguyen, T. T. H, Nguyen, T. Y., Lai, T. H., Torreton, J. -P., and Mari, X., 2011. Isolation of black carbon utilizing microorganisms from Halong bay, Proceeding of 5th national marine conference. Section “Biology and marine biological source”: 643-652.
14. Ouoba, L. I. I., Diawara, B., Jespersen, L., and Jakobsen, M., 2007. Antimicrobial activity of *Bacillus subtilis* and *Bacillus pumilus* during the fermentation of African locust bean (*Parkia biglobosa*) for Soumbala production, *J. Appl. Microbiol.*, 102: 963-970.
15. Polymenakou, P. N., Tselepides, A., Stephanou, E. G., and Bertilsson, S., 2006. Carbon speciation and composition of natural microbial communities in polluted and pristine sediments of the Eastern Mediterranean Sea, *Mar. Poll. Bulletin*, 52, 1396-1405.
16. Ramanathan, V., and Carmichael, G., 2008. Global and regional climate changes due to black carbon, *Nat. Geosci.* 1(4): 221-227.
17. Schmidt, M. W. I., and Noack, A. G., 2000. Black carbon in soils and sediments: analysis, distribution, implications, and current challenges, *Global Biogeochem. Cyc.* 14: 777-793.
18. Shrestha, G., Traina, S. T., and Swanston, C. W., 2010. Black Carbon's Properties and Role in the Environment: A Comprehensive Review, *Sustainability* 2: 294-320.
19. Srivastava, A. K., Ram, K., Pant, P., Hegde, P., and Joshi, H., 2012. Black carbon aerosols over Manora Peak in the Indian Himalayan foothills: implications for climate forcing, *Environ. Res. Lett.* 7: doi:10.1088/1748-9326/7/1/014002.
20. Stubbins, A., Niggemann, J., Dittmar, T., 2012. Photo-lability of deep ocean dissolved black carbon, *Biogeosci. Discuss.* 9: 485-505. Tam, L. T., Eymann, C., Albrecht, D., Sietmann, R., Schauer, F., Hecker, M., and Antelmann, H., 2006. Differential gene expression in response to phenol and catechol reveals

- different metabolic activities for the degradation of aromatic compounds in *Bacillus subtilis*, *Environ. Microbiol.*, 8(8): 1408-1427.
21. Tinrat, S., Saraya, S., and Chomnawang, M. T., 2011. Isolation and characterization of *Lactobacillus salivarius* MTC 1026 as a potential probiotic, *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 57: 365-378.
 22. Toledo, F. L., Calvo, C., Rodelas, B., and González-López, J., 2006. Selection and identification of bacteria isolated from waste crude oil with polycyclic aromatic hydrocarbons removal capacities, *Sys. Appl. Microbiol.*, 29(3): 244-252.