

**ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI**  
**TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN**

**Vũ Thị Lan Anh**

**NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG GIẢM NHẸ Ô NHIỄM  
DIOXIN TRONG ĐẤT TẠI SÂN BAY BIÊN HÒA CỦA  
CỎ VETIVER VÀ VAI TRÒ CỦA CÁC  
VI SINH VẬT CỘNG SINH**

Chuyên ngành: Kỹ thuật môi trường

Mã số: 9520320.01

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ KỸ THUẬT MÔI TRƯỜNG**

**Hà Nội – 2024**

Công trình được hoàn thành tại: Trường Đại học Khoa học  
Tự nhiên - ĐHQGHN

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. Nguyễn Kiều Băng Tâm
2. TS. Ngô Thị Thúy Hương

Phản biện: GS.TS. Vũ Đức Toàn

Phản biện: PGS.TS. Nguyễn Xuân Cảnh

Phản biện: PGS.TS. Hồ Tú Cường

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ họp tại Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – ĐHQGHN vào hồi 9 giờ 00 ngày 06 tháng 8 năm 2024.

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam;
- Trung tâm Thư viện và Tri thức số, Đại học Quốc gia Hà Nội.

## MỞ ĐẦU

### 1. Tính cấp thiết của nghiên cứu

Dioxin là tên chung để chỉ một nhóm các hợp chất hóa học, bền vững trong môi trường, phát sinh từ nhiều nguồn khác nhau như quá trình sản xuất thuốc diệt cỏ, hợp chất clo hữu cơ, quá trình đốt nhiên liệu, cháy rừng, đốt rác thải, sản xuất các chất hữu cơ chứa halogen, quá trình sản xuất thuốc bảo vệ thực vật... Trong một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng Việt Nam là một trong số những quốc gia chịu ảnh hưởng nặng nề bởi chất độc da cam/dioxin với khoảng 2,6 triệu ha, khối lượng các chất diệt cỏ sử dụng khoảng 95 triệu kg. Nhiễm độc dioxin có thể để lại những hậu quả như gây bệnh ngoài da, gây các bệnh về mắt (đỏ mắt, phù kết mạc, viêm mống mắt), gây xuất huyết, gây tổn thương gan; gây sảy thai, gây biến đổi DNA, dị dạng bẩm sinh ảnh hưởng đến nhiều thế hệ. Vì vậy, hậu quả do nhiễm dioxin từ trong chiến tranh vẫn đang ảnh hưởng lớn đến nhiều chiến sỹ, gia đình và con cháu của họ. Trong những năm gần đây, chính phủ Việt Nam cùng với chính phủ Mỹ đã có những nỗ lực để khắc phục và xử lý các khu vực bị ô nhiễm dioxin. Một số công nghệ đã được áp dụng tại sân bay Biên Hòa, Đà Nẵng và Phù Cát như công nghệ chôn lấp tích cực, công nghệ giải hấp nhiệt tại mỏ. Tuy nhiên, những công nghệ này thường có giá thành cao, phù hợp trong xử lý ở quy mô vừa và nhỏ với hàm lượng dioxin cao. Trong khi đó, diện tích có hàm lượng dioxin thấp hơn tại miền Nam còn rất nhiều. Vấn đề được quan tâm hiện nay là phát triển công nghệ mới có thể xử lý một khối lượng lớn các khu vực đất bị ô nhiễm dioxin với chi phí phù hợp. Chính vì vậy, việc nghiên cứu về xử lý môi trường bằng thực vật để xử lý dioxin trên diện rộng là một điều cần thiết.

Kết quả đề tài KHCN cấp Bộ năm 2014-2016 “*Nghiên cứu ứng dụng cỏ Vetiver nhằm làm giảm nhẹ ô nhiễm chất độc hóa học/dioxin. Áp dụng thử nghiệm tại khu vực sân bay Biên Hòa*” cũng đã khẳng định cỏ Vetiver có thể sinh trưởng trong những điều kiện khí hậu khắc nghiệt, nơi có hàm lượng dinh dưỡng trong đất thấp, đất nhiễm các chất hóa học độc hại và khả năng giảm nhẹ ô nhiễm dioxin trong đất của cỏ Vetiver. Tuy nhiên, trong đề tài này, quá trình đánh giá hiệu quả giảm thiểu ô nhiễm dioxin trong đất, cũng như vai trò của các vi sinh vật chưa được làm sáng tỏ, mặc dù vi sinh vật đã được biết đến với vai trò kích thích sinh trưởng của thực vật, tham gia vào quá trình phân giải các chất ô nhiễm, trong đó có dioxin.

Vì vậy, nghiên cứu sinh đã lựa chọn đề tài “*Nghiên cứu khả năng giảm nhẹ ô nhiễm dioxin trong đất tại sân bay Biên Hòa của cỏ Vetiver và vai trò của các vi sinh vật cộng sinh*” giúp giảm nhẹ ô nhiễm dioxin trong đất tại Sân bay Biên Hòa, cũng như làm sáng tỏ vai trò của một số vi sinh vật. Kết quả nghiên cứu giúp thiết lập phương pháp xử lý ô nhiễm dioxin bằng phương pháp sinh học với chi phí hợp lý và thân thiện môi trường. Đây là một phần nghiên cứu của đề tài “*Ứng dụng cỏ Vetiver ở quy mô thực tế nhằm giảm nhẹ ô nhiễm dioxin trong đất tại sân bay Biên Hòa*” do USAID, Mỹ tài trợ.

## **2. Mục tiêu của nghiên cứu**

- Nghiên cứu và đánh giá hiệu quả giảm nhẹ ô nhiễm đất tại Sân bay Biên Hòa bằng phương pháp sử dụng cỏ Vetiver.

- Đánh giá mức độ đa dạng của hệ vi sinh vật trong đất và hệ vi sinh vật nội sinh trong rễ cỏ Vetiver bằng phương pháp nuôi cấy trong phòng thí nghiệm và giải trình tự metagenomic tổng số.

- Đánh giá vai trò của các vi sinh vật trong quá trình phát triển của cỏ Vetiver và vai trò của vi sinh vật trong quá trình xử lý dioxin.

### **3. Ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn của nghiên cứu**

**Ý nghĩa khoa học:** Kết quả nghiên cứu của luận án cung cấp thông tin về mức độ đa dạng của VSV cộng sinh với cỏ Vetiver, đánh giá biến động của VSV và luận giải vai trò của VSV trong quá trình xử lý ô nhiễm, kích thích phát triển thực vật.

**Ý nghĩa thực tiễn:** Kết quả nghiên cứu của luận án góp phần quan trọng trong việc xử lý ô nhiễm dioxin trong đất tại khu vực Sân bay Biên Hòa. Đây cũng là giải pháp giúp các nhà hoạch định chính sách của địa phương, cũng như các tổ chức phi chính phủ áp dụng để xử lý có hiệu quả và triệt để vấn đề ô nhiễm dioxin tại Việt Nam, mang lại môi trường sống an toàn cho người dân. Giải pháp này cũng là giải pháp xử lý thân thiện với môi trường, giúp cải tạo và phục hồi đất và môi trường xung quanh.

### **4. Những đóng góp mới của luận án**

Những đóng góp mới của luận án gồm:

- Đánh giá được sự đa dạng, biến động, mối tương quan giữa hàm lượng dioxin với hệ VSV trong đất và hệ VSV nội sinh trong rễ cỏ Vetiver bằng công cụ giải trình tự metagenomic.

- Phân lập và tuyển chọn được một số chủng VSV nội sinh trong rễ cỏ bằng phương pháp nuôi cấy trong PTN. Trong đó, một số chủng phân lập được có đặc điểm sinh thái nổi bật, sinh enzyme giúp cỏ Vetiver phát triển tốt hơn, cũng như tham gia trong quá trình xử lý ô nhiễm.

## **CHƯƠNG 1**

### **TỔNG QUAN VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU**

#### **1.1. Tổng quan về dioxin và ảnh hưởng của dioxin đến môi trường**

Dioxin là tên chung để chỉ một nhóm hàng trăm các hợp chất có chung cấu trúc hóa học nhất định, thuộc nhóm polychlorinated

dibenzo para dioxin (PCDDs) và polychlorinated dibenzofurans (PCDFs). Tổng số 210 chất này là những nhóm chất độc hại, nguy hiểm nhất được biết đến hiện nay. Trong số đó, 17 chất có liên kết với nguyên tử clo ở vị trí 2,3,7,8 được xem là độc hơn cả, chúng thường được gọi tên chung là dioxin (hoặc dioxin/furan). Đây cũng chính là các đối tượng được quan tâm nghiên cứu phân tích và xử lý nhiều nhất.

Dioxin tồn tại ở thể rắn, màu trắng đục có nhiệt độ sôi cao, từ 446,5-537,0°C, hầu như không tan trong nước.

Dioxin xâm nhập vào cơ thể người chủ yếu do ăn phải thực phẩm đã bị phơi nhiễm dioxin (98%), qua đường hô hấp (gần 2%) và qua đường tiếp xúc hầu như không đáng kể. Khi vào cơ thể người, chúng xâm nhập vào máu, sau chuyển dẫn và tích lũy chủ yếu trong các mô mỡ.

## **1.2. Hiện trạng ô nhiễm dioxin trên Thế giới và Việt Nam**

### **1.2.1. Hiện trạng ô nhiễm dioxin trên Thế giới**

Vào những năm 1950-1960, dioxin đã từng được phát hiện có lẫn trong một số chất diệt cỏ với hàm lượng thấp ở Mỹ, New Zealand, Australia... Ngay sau đó, con người đã nhận thức được tính chất nguy hiểm và cấm sử dụng. Tuy nhiên, mức độ tác động cũng đã đủ để gây ra hậu quả vô cùng lớn. Những trầm tích phân tầng cao từ hồ Green - NewYork có những hàm lượng của Chlorinated Dibenzo-p-Dioxin (CDD) tương quan với lớp lắng đọng khí quyển. Trong một nghiên cứu khác, những mẫu chất lắng bề mặt được lấy từ sông và Vịnh Saginaw, từ phía nam hồ Huron cho thấy CDD có trong tất cả các mẫu thử nghiệm được nghiên cứu, kể cả những mẫu trầm tích ở vị trí sâu nhất.

### **1.2.2. Hiện trạng ô nhiễm dioxin ở Việt Nam**

Ở Việt Nam, ô nhiễm dioxin chủ yếu do hậu quả của chất độc hóa học dùng trong chiến tranh Việt Nam của Mỹ. Từ năm 1961 đến 1971, quân đội Mỹ đã sử dụng gần 80 triệu lít chất diệt cỏ, phun rải lên 2,63 triệu ha chiếm 15,2% diện tích toàn miền Nam của Việt Nam, gấp 17 lần liều sử dụng trong nông nghiệp theo hướng dẫn của Lục quân Mỹ năm 1969 là 2,2 kg/ha gồm các chất chất tím, chất hồng, chất xanh lá cây, chất xanh da trời, chất trắng và chất da cam. Trong số các chất diệt cỏ này thì 43,89 triệu lít là chất độc da cam.

Đến tháng 4 năm 1972, khi phát hiện ra trong chất diệt cỏ có dioxin, Quân đội Mỹ đã tổ chức thu hồi 25.200 thùng (khoảng 5.241.600 lít) chất da cam và vận chuyển về đảo Johnston ở Thái Bình Dương bằng đường biển trong chiến dịch “Pacer Ivy” và tiêu hủy số này vào tháng 7, tháng 8 năm 1977 trong chiến dịch “Pacer HO”.

Trước khi được thu hồi, các chất độc này được tập kết tại 7 sân bay quân sự và một số sân bay dã chiến, trong đó chủ yếu tập trung tại 3 sân bay quân sự Biên Hòa, Phù Cát và Đà Nẵng để chứa, nạp lên các máy bay phun rải. Tại các sân bay này, trong quá trình đóng nạp, rửa máy bay sau mỗi lần phun và sự rò rỉ khi tồn trữ đã gây ô nhiễm môi trường nghiêm trọng. Đặc biệt, năm 1969 và 1970 đã xảy ra một số vụ rò rỉ, chảy tràn khoảng 27.000 lít chất độc da cam ra môi trường. Các hoạt động xịt rửa máy bay thường xuyên sau mỗi lần phun rải cũng là nguồn gây ô nhiễm đáng kể. Ngoài ra, các thùng chứa chất độc sau khi đóng nạp vẫn còn khoảng 2 đến 4 lít chất độc được cất vào bãi thải cũng vương vãi ra môi trường. Đó là những nguyên nhân chính khiến 3 sân bay trên bị ô nhiễm dioxin nặng nề.

### **1.3. Phương pháp xử lý đất ô nhiễm dioxin**

Phương pháp xử lý các chất hữu cơ ô nhiễm khó phân hủy nói chung và dioxin nói riêng đã và đang được các quốc gia trên thế giới chú trọng quan tâm, nghiên cứu. Các phương pháp, công nghệ được chia thành nhóm phương pháp vật lý, phương pháp hóa học và phương pháp sinh học.

### **1.4. Tổng quan về cỏ Vetiver**

Công nghệ xử lý ô nhiễm môi trường bằng thực vật là quá trình sử dụng thực vật để chiết rút, hấp thu và khoáng hóa các chất ô nhiễm và được xem như là một chiến lược sinh thái để quản lý các chất ô nhiễm trong hệ sinh thái. Bản thân thực vật và hệ vi sinh vật liên kết trong hệ quyền rễ của thực vật có thể xử lý ô nhiễm thông qua ổn định và phân huỷ chất ô nhiễm cả trong hệ quyền rễ và trong thực vật, hút vào các phần thân, chồi lá hoặc bay hơi.

Trong thời gian qua đã có nghiên cứu sử dụng cỏ Vetiver trong xử lý đất ô nhiễm dioxin/chất diệt cỏ. Trong đó, đề tài KHCN “*Nghiên cứu ứng dụng cỏ Vetiver nhằm làm giảm nhẹ ô nhiễm chất độc hóa học/dioxin. Áp dụng thử nghiệm tại khu vực sân bay Biên Hòa*” do TS.Ngô Thị Thúy Hương làm chủ nhiệm. Kết quả nghiên cứu cho thấy cỏ Vetiver giống monto có thể sinh trưởng và phát triển tốt trên đất nghèo dinh dưỡng, nhiễm các chất độc hóa học và dioxin. Ước tính tổng lượng dioxin trong 60 m<sup>3</sup> đất tại lô 1 (trồng cỏ và bổ sung chế phẩm sinh học) và lô 2 (trồng cỏ) sau 12 tháng tổng lượng dioxin trong đất giảm lần lượt 38% và 24%, tương ứng với 58.915.491 TEQ và 61.638.512 TEQ.

Tại Dự án “*Ứng dụng cỏ Vetiver ở quy mô thực tế nhằm giảm nhẹ ô nhiễm dioxin trong đất tại sân bay Biên Hòa*” thuộc chương trình PEER Cycle 6, của cơ quan phát triển quốc tế Hoa Kỳ (USAID) (AID-

OAA-A-11-00012; 2018-2020) do TS. Ngô Thị Thúy Hương làm chủ nhiệm và công bố của Nguyễn Thị Thanh Thảo và cs thiết kế thí nghiệm tại hiện trường cho kết quả hàm lượng dioxin như sau:

**Bảng 1. Kết quả phân tích hàm lượng dioxin trong đất**

| Lô thí nghiệm         | Hàm lượng dioxin<br>(ppt TEQ) |         |         |         |         |         |
|-----------------------|-------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|
|                       | 11/2018                       | 5/2019  | 10/2019 | 5/2020  | 11/2020 | 4/2021  |
| <b>Trồng cỏ</b>       |                               |         |         |         |         |         |
| Trung bình            | 980,33                        | 840,00  | 751,33  | 772,67  | 597,54  | 653,33  |
| SEM                   | 114,02                        | 110,27  | 2,19    | 22,40   | 25,12   | 39,19   |
| <b>Không trồng cỏ</b> |                               |         |         |         |         |         |
| Trung bình            | 2333,00                       | 2325,33 | 2111,33 | 2147,67 | 2039,26 | 2016,67 |
| SEM                   | 425,24                        | 350,74  | 499,19  | 655,83  | 548,01  | 534,12  |

Theo bảng kết quả của dự án nhận thấy, hàm lượng dioxin giảm dần theo thời gian thí nghiệm, đến tháng thứ 29, hàm lượng trung bình dioxin là  $653 \pm 39,19$  ppt TEQ. Hàm lượng dioxin trong đất giảm khoảng 33% sau 29 tháng trồng cỏ Vetiver. Trong khi đó, hàm lượng trung bình dioxin trong các lô không trồng cỏ biến đổi như sau: thời điểm ban đầu, hàm lượng trung bình dioxin là  $2.333 \pm 425,24$  ppt TEQ; sau 29 tháng giảm xuống còn  $2.016,67 \pm 534,12$  ppt TEQ, giảm 13% so với ban đầu. Sự khác biệt về mức độ giảm của hàm lượng dioxin trong đất khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các lô trồng cỏ và đối chứng ( $p < 0,05$ ). Điều đó cho thấy hiệu quả giảm thiểu dioxin từ quá trình trồng cỏ là rõ rệt.

Tuy nhiên, việc đánh giá cơ chế giảm hàm lượng dioxin trong đất, cũng như vai trò của các VSV chưa được làm sáng tỏ ở các công

trình trên và đây là một trong những nội dung nghiên cứu của luận án này.

### **1.5. Tổng quan về vi sinh vật**

Đất đai ở vùng khí hậu nhiệt đới phần lớn là đất có nguồn gốc từ lớp đá mẹ cổ, nghèo dinh dưỡng, đặc biệt là hàm lượng đạm và lân rất thấp, đất bị axit hóa hoặc bị ngộ độc nhưng cỏ Vetiver vẫn tồn tại và phát triển bình thường mà không cần phải bổ sung thêm N, P. Theo ORDPB thì có khá nhiều vi sinh vật đất được phát hiện xung quanh bộ rễ cỏ Vetiver mà vi khuẩn và nấm là tiêu biểu. Các vi sinh vật xâm nhập vào mặt trên rễ, tạo thành những đường dẫn truyền dinh dưỡng nối đất và cây, rễ tiết ra polysaccharide là chất hữu cơ hòa tan giúp cho sự chuyển hóa sinh học của đất và sự thích nghi của cây. Vi sinh vật gắn liền với rễ cỏ Vetiver là các vi khuẩn cố định đạm, vi khuẩn hòa tan, các nấm rễ và các vi khuẩn phân giải cellulose, sản xuất chất dinh dưỡng cho sự sinh trưởng phát triển và thúc đẩy các hormones sinh trưởng thực vật tác động trực tiếp lên Vetiver.

Khi cộng sinh với cỏ Vetiver, vi khuẩn sử dụng các sản phẩm trao đổi sinh ra bởi rễ cỏ Vetiver và giúp chuyển hóa thành các loại tinh dầu thường thấy ở cỏ này. Quần xã vi khuẩn cộng sinh thay đổi theo sự phát triển của cỏ Vetiver. Vi khuẩn cộng sinh giúp cố định đạm, cung cấp đạm cho cỏ Vetiver, sản xuất enzyme chuyển hóa N tự do thành N sinh học dưới dạng N-amonia cho cây hấp thu. Nhiều hormone thực vật được sản xuất từ các vi khuẩn cố định đạm như: *Azotobacter*, *Azospillum*, *Bacillus* và *Pseudomonas* góp phần thúc đẩy sự phát triển và sự tái sinh của bộ rễ, đồng thời giúp cho cây kháng được bệnh hại. Một số vi khuẩn nội sinh, đặc biệt là vi khuẩn thuộc họ *Bacillus* và *Pseudomonas* có khả năng chuyển hóa lân không hòa tan trong đất thành dạng hòa tan bằng cách chiết ra axit hữu cơ như axit

formic, propionic, lactic, glycolic, fumaric, succinic. Các axit này làm giảm pH và thúc đẩy sự phân giải phosphate. Đất ở vùng nhiệt đới thường nghèo lân, do vậy mà các vi khuẩn này có vai trò rất quan trọng đối với sự sinh trưởng và phát triển của cỏ Vetiver.

## CHƯƠNG 2

### ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu

##### 2.1.1. Đối tượng

- Đất ô nhiễm dioxin khu vực sân bay Biên Hòa, tỉnh Đồng Nai.
- Cỏ Vetiver, sử dụng trong nghiên cứu là giống Monto Vetiver

(*Vetiveria zizanioides* L.).

- Vi sinh vật quyển rễ cỏ Vetiver gồm vi khuẩn và vi nấm.

##### 2.1.2. Phạm vi nghiên cứu

Khu vực được lựa chọn phục vụ cho các thí nghiệm trong nghiên cứu có diện tích 600 m<sup>2</sup>, nằm phía Tây Nam cuối đường băng, trong khu vực Pacer Ivy, thuộc sân bay Biên Hòa, tỉnh Đồng Nai và khu vực thí nghiệm trong nhà được bố trí gần đó. Thời gian nghiên cứu bắt đầu từ tháng 11/2018 đến tháng 4/2021.

#### 2.2. Nội dung nghiên cứu

- Nghiên cứu và đánh giá hiệu quả khi trồng cỏ Vetiver để giảm nhẹ ô nhiễm dioxin.

- Nghiên cứu sự biến động của quần xã vi sinh vật trong môi trường đất có trồng cỏ Vetiver so với đất không trồng cỏ.

- Nghiên cứu đánh giá vai trò của vi sinh vật trong việc giúp cỏ sinh trưởng và xử lý ô nhiễm dioxin.

- Nghiên cứu mối tương quan giữa hàm lượng dioxin trong đất với quần xã vi sinh vật cộng sinh và trong quyển rễ cỏ Vetiver.

## **2.3. Phương pháp nghiên cứu**

### **2.3.1. Phương pháp thu thập tài liệu**

Thu thập tài liệu, số liệu về đặc điểm địa lý, địa chất, mức độ ô nhiễm dioxin; tài liệu trong và ngoài nước liên quan các công nghệ xử lý dioxin đã và đang áp dụng...

### **2.3.2. Phương pháp thiết kế thí nghiệm**

Thiết kế thí nghiệm trong nhà và ngoài trời tương ứng với các lô trồng cỏ và không trồng cỏ.

### **2.3.3. Phương pháp lấy và gia công mẫu**

Tiến hành lấy mẫu định kỳ theo quy chuẩn hướng dẫn của UNEP (2007a).

### **2.3.4. Phương pháp phân tích dioxin**

Trung tâm Quan trắc Môi trường miền Bắc (NCEM), Tổng cục Môi trường thực hiện việc xử lý và phân tích các mẫu dựa vào 17 chất đồng loại độc của dioxin và furan theo khuyến cáo của Tổ chức y tế thế giới (WHO, 2005)

### **2.3.5. Phương pháp tách DNA metagenomic**

DNA tổng số được tách chiết bằng cách sử dụng kit tách DNA Power Soil Kit QIAGEN (QIAGEN, Hilden, Germany) để phục vụ cho giải trình tự bằng metagenomics. Sử dụng 0,2g mỗi loại mẫu cho việc tách DNA và tiến hành theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Với mẫu rễ, trước khi tách DNA khử trùng bề mặt, nghiền mịn bằng nitor lỏng.

**2.3.6. Phương pháp phân lập, xác định một số đặc điểm và vai trò của vi sinh vật nội sinh trong PTN**

*2.3.6.1. Phương pháp phân lập vi sinh vật nội sinh*

*2.3.6.2. Phương pháp định danh vi sinh vật*

*2.3.6.3. Phương pháp kiểm tra khả năng sinh enzyme ngoại bào*

*2.3.6.4. Xác định hoạt tính kháng nấm*

2.3.6.5. Phương pháp thử khả năng sinh IAA

2.3.6.6. Phương pháp thử khả năng kích thích sinh trưởng

2.3.6.7. Phương pháp chuyển gen GFP

2.3.6.8. Phương pháp xác định hoạt tính laccase và xử lý màu thuốc nhuộm

2.3.7. Phương pháp xử lý số liệu

## CHƯƠNG 3

### KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Đánh giá sự suy giảm hàm lượng dioxin trong đất khu vực nghiên cứu

##### 3.1.1. Kết quả suy giảm hàm lượng dioxin trong đất

Để giảm nhẹ ô nhiễm dioxin tại khu vực nghiên cứu, tiến hành trồng cỏ và bố trí thí nghiệm. Định kỳ lấy mẫu đất, mẫu cỏ để phân tích hàm lượng dioxin ở các lô thí nghiệm trong nhà. Sau khi lấy, mẫu được gia công, bảo quản, gửi phân tích tại Trung tâm Quan trắc Môi trường miền Bắc, Tổng cục Môi trường. Kết quả phân tích hàm lượng dioxin trong mẫu đất trong nhà theo thời gian thí nghiệm trong bảng 2.

**Bảng 2. Kết quả phân tích hàm lượng dioxin trong đất ở thí nghiệm trong nhà**

| Lô thí nghiệm             | Hàm lượng dioxin (ppt TEQ) |         |          |          |          |          |
|---------------------------|----------------------------|---------|----------|----------|----------|----------|
|                           | Ban đầu                    | 6 tháng | 11 tháng | 18 tháng | 24 tháng | 29 tháng |
| <b>Đất trồng cỏ</b>       |                            |         |          |          |          |          |
| Trung bình                | 511,00                     | 408,33  | 529,67   | 471,67   | 420,56   | 408,33   |
| SEM                       | 38,00                      | 18,48   | 37,92    | 23,15    | 38,09    | 18,48    |
| <b>Đất không trồng cỏ</b> |                            |         |          |          |          |          |
| Trung bình                | 505,00                     | 401,67  | 587,33   | 483,67   | 431,43   | 401,67   |
| SEM                       | 15,00                      | 49,17   | 135,57   | 39,41    | 15,33    | 49,17    |

Theo bảng số liệu trên nhận thấy: ở các thùng thí nghiệm trồng cỏ, hàm lượng dioxin trung bình trong các mẫu đất giảm từ  $511,00 \pm 38,00$  ppt TEQ xuống  $420,56 \pm 38,09$  ppt TEQ sau 24 tháng (khoảng 17,8%). Ở các thùng đất không trồng cỏ, hàm lượng dioxin trong đất sau 24 tháng giảm từ  $505,33 \pm 14,52$  ppt TEQ xuống  $431,43 \pm 15,33$  ppt TEQ (khoảng 14,6%). Như vậy, hàm lượng dioxin trong mẫu đất trồng cỏ có xu hướng giảm hơn so với không trồng cỏ. Tuy nhiên, mức độ giảm khác nhau nhiều và sự sai khác không có ý nghĩa về mặt thống kê ( $p > 0,05$ ). So sánh với các công nghệ hóa học, vật lý khác như công nghệ lò đốt, công nghệ giải hấp nhiệt thì hiệu quả xử lý bằng phương pháp dùng cỏ Vetiver trong nhà hiệu quả thấp hơn.

So sánh với kết quả của Dự án “Ứng dụng cỏ Vetiver ở quy mô thực tế nhằm giảm nhẹ ô nhiễm dioxin trong đất tại sân bay Biên Hòa” thuộc chương trình PEER Cycle 6, của cơ quan phát triển quốc tế Hoa Kỳ (USAID) (AID-OAA-A-11-00012; 2018-2020) do TS. Ngô Thị Thúy Hường làm chủ nhiệm thực hiện ngoài trời nhận thấy: hàm lượng dioxin ở các lô đất ở thí nghiệm trồng cỏ ngoài trời giảm khoảng 33% sau 29 tháng, trong khi với đất không trồng cỏ chỉ giảm 13%. Điều này cho thấy trồng cỏ Vetiver ngoài trời mang lại hiệu quả xử lý tốt hơn trong nhà. Trong nghiên cứu so sánh hiệu quả xử lý ô nhiễm nước thải bằng phương pháp sinh học, cũng cho kết quả ở thí nghiệm ngoài trời hiệu quả xử lý cao hơn so với thí nghiệm trong nhà.

Như vậy, các yếu tố khí hậu có thể là những yếu tố tạo điều kiện thuận lợi hơn cho việc phát triển của cây trồng cũng như quá trình trao đổi chất của VSV, giúp thúc đẩy việc phân giải các hợp chất hữu cơ trong đất, bao gồm quá trình phân giải dioxin.

### **3.1.2. Kết quả phân tích hàm lượng dioxin trong mẫu cỏ Vetiver**

#### ***\* Hàm lượng dioxin trong rễ, chồi cỏ Vetiver***

Trong nghiên cứu này, sử dụng chính giống cỏ Vetiver đã dùng để xử lý dioxin cho giai đoạn năm 2017. Vì vậy, trong mẫu rễ và chồi cỏ ban đầu đã có hàm lượng dioxin nhất định.

**Bảng 4. Hàm lượng dioxin trong mẫu cỏ Vetiver ở thí nghiệm trong nhà**

| Lô TN                        | Hàm lượng dioxin (ppt TEQ) |         |          |          |          |
|------------------------------|----------------------------|---------|----------|----------|----------|
|                              | 0 tháng                    | 6 tháng | 11 tháng | 18 tháng | 24 tháng |
| <b>Mẫu rễ cỏ trong nhà</b>   |                            |         |          |          |          |
| Trung bình                   | 115,67                     | 166,90  | 215,67   | 377,00   | 364,60   |
| SEM                          | 2,75                       | 15,01   | 5,18     | 11,34    | 16,20    |
| <b>Mẫu chồi cỏ trong nhà</b> |                            |         |          |          |          |
| Trung bình                   | 1,15                       | 4,72    | 2,99     | 0,86     | 0,81     |
| SEM                          | 0,03                       | 0,42    | 0,14     | 0,04     | 0,05     |

Kết quả cho thấy hàm lượng dioxin trung bình trong mẫu rễ tại thời điểm ban đầu là  $115,67 \pm 2,75$  ppt TEQ, sau 6 tháng tăng lên đạt giá trị  $166 \pm 15,01$  ppt TEQ, đến tháng thứ 11, 18 và 24 lần lượt là  $215,67 \pm 5,18$  ppt TEQ;  $377 \pm 11,34$  ppt TEQ và  $364,6 \pm 16,20$  ppt TEQ. Như vậy, dioxin được hấp thụ vào rễ tăng theo theo thời gian thí nghiệm. Bên cạnh đó, kết quả phân tích hàm lượng dioxin trong mẫu chồi tại thời điểm ban đầu là  $1,15 \pm 0,03$  ppt TEQ, ở thời điểm 6 tháng là  $4,72 \pm 0,42$  ppt TEQ, đến thời điểm 29 tháng là  $0,81 \pm 0,05$  ppt TEQ. Có thể thấy, đã có sự chuyển hóa dioxin từ rễ lên chồi, tuy nhiên hàm lượng dioxin trong mẫu chồi thấp hơn nhiều so với mẫu rễ.

### **3.1.3. Đánh giá hiệu quả dioxin trong đất của cỏ Vetiver tại khu vực nghiên cứu**

Theo số liệu kết quả phân tích nhận thấy dioxin được thực vật hấp thụ từ đất vào rễ lên thân khi chúng xâm nhập vào các mô tế bào. Cơ chế hấp thụ, chuyển hóa chất hữu cơ từ cây là chất hữu cơ đầu tiên

được làm giàu ở bề mặt rễ và xâm nhập vào rễ cùng với nước. Sau khi xâm nhập chúng di chuyển về phía mô vận chuyển dọc theo tế bào. Có thể thấy khả năng làm giảm nhẹ ô nhiễm dioxin trong đất của cỏ Vetiver khá rõ ràng, lượng dioxin giảm này do cỏ Vetiver đã hấp thụ dioxin vào trong bộ rễ khổng lồ của nó và có sự di chuyển của chất độc dioxin từ rễ lên chồi, cố định lại trong sinh khối của cỏ, làm giảm sự lan tỏa của chất ô nhiễm. Lượng dioxin hấp thụ vào bộ rễ có thể sẽ được phân giải hoặc chuyển hóa thành các chất ít độc hơn và một phần được chuyển lên chồi, thân cỏ và cố định lại trong đó. Sự phân hủy chất ô nhiễm hữu cơ trong tế bào thực vật được thực hiện chủ yếu nhờ các enzyme oxy hóa, gồm một số giai đoạn khác nhau và cuối cùng giải phóng CO<sub>2</sub>.

### **3.2. Đánh giá vai trò của vi sinh vật trong quá trình xử lý ô nhiễm dioxin**

#### **3.2.1. Sự biến động của vi sinh vật tổng số bằng phương pháp định danh metagenomic**

##### *3.2.1.1. Sự biến động của vi sinh vật trong các mẫu đất*

###### *a. Sự biến động của vi nấm*

*Với thí nghiệm ngoài trời:* trong các mẫu đất tại các lô thí nghiệm ngoài trời một số chi xuất hiện với tỷ lệ nhiều, bao gồm chi *Aspergillus*, *Penicilium*, *Curvularia* và *Trichoderma*. Với thí nghiệm trồng cỏ, tỷ lệ xuất hiện chi *Penicilium* có tỷ lệ giảm dần theo thời gian; trong khi đó, chi *Aspergillus* có tỷ lệ cao nhất và biến động tăng. Tần suất xuất hiện của chi *Curvularia* và *Trichoderma* có sự giảm sau 6 tháng đầu, sau đó biến động không nhiều. Với mẫu đất không trồng cỏ, tỷ lệ của các chi nấm có sự thay đổi không nhiều, tương đối ổn định về tần suất xuất hiện các loài.

*Với thí nghiệm trong nhà:* Giữa thí nghiệm trồng cỏ và không trồng cỏ tỷ lệ xuất hiện của các chi theo thời gian có sự biến động gần như tương đồng nhau. Như vậy, sự xuất hiện của cỏ ở mẫu đất đã ảnh hưởng đến sự xuất hiện của các chi nấm, nhưng với thí nghiệm trong nhà, sự ảnh hưởng này là không nhiều.

*b. Sự biến động của vi khuẩn*

*Ở thí nghiệm ngoài trời:* một số chi có tần suất xuất hiện nhiều ở hầu hết các mẫu như *Bacillus*, *Sphingomonas*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Rokubacteriales*, *Vicinamibacteraceae*, *Gaiella*. Với mẫu đất trồng cỏ, tần suất xuất hiện chi *Bacillus* tại thời điểm ban đầu là 55%; tăng ở các thời điểm lấy mẫu 6 tháng và 11 tháng lần lượt là 78 % và 73% Tuy nhiên, sau đó lại giảm ở các tháng tiếp theo, đến thời điểm 29 tháng giảm còn 23 %. Sự thay đổi này có thể giải thích do sự tăng lên ở thời điểm đầu của chi *Bacillus* do yếu tố thích nghi, có thêm cây trồng, tăng nguồn cacbon và dinh dưỡng để phát triển, sau đó và có xu thế giảm.

*Với các lô đất thí nghiệm trong nhà:* tần suất xuất hiện của các chi trong mẫu đất trồng cỏ không có sự thay đổi nhiều theo thời gian, nhưng với các mẫu đất không trồng cỏ, tần suất xuất hiện của một số chi vi khuẩn lại biến động đáng kể.

*Đánh giá mối liên hệ giữa mức độ đa dạng của vi khuẩn và biến động của hàm lượng dioxin*

Hàm lượng dioxin có sự thay đổi rõ rệt, đặc biệt ở lô thí nghiệm ngoài trời, nhưng mức độ đa dạng sinh học của vi sinh vật trong đất tính theo chỉ số Simpson hầu như không có sự thay đổi theo thời gian. Tuy nhiên, khi xét đến chỉ số Shannon ta thấy mức độ suy giảm của hàm lượng dioxin trong đất tăng lên khi sự đa dạng của vi khuẩn có xu hướng tăng lên, cụ thể là ở lô thí nghiệm trồng cỏ ngoài trời. Điều

này cho thấy, hệ vi sinh vật trong đất của thí nghiệm trong nhà không có sự biến đổi về mức độ đa dạng và tần suất xuất hiện các loài nhiều khi hàm lượng dioxin biến đổi nhưng điều này không đúng với thí nghiệm ngoài trời nơi sự giảm nhẹ dioxin tỷ lệ với mức độ đa dạng của vi khuẩn trong quyển rễ.

### 3.2.1.2. Sự biến động của vi sinh vật nội sinh trong rễ cỏ

#### a. Sự biến động của vi nấm nội sinh trong rễ cỏ

Tần suất xuất hiện một chi nấm nội sinh trong mẫu rễ ở các lô thí nghiệm ngoài trời có sự thay đổi theo thời gian. Một số chi xuất hiện nhiều ở các mẫu rễ cỏ sau khi trồng trên đất ô nhiễm dioxin bao gồm *Aspergillus*, *Penicilium*, *Curvularia* và *Trichoderma*. Điều này cho thấy, sau khi trồng cỏ, hệ vi nấm trong rễ có sự trao đổi và thích nghi với điều kiện của đất, hệ vi sinh vật cũng như các yếu tố trong đất khu vực quyển rễ cỏ tạo nên sự thay đổi của các vi nấm nội sinh trong mẫu rễ cỏ Vetiver.

Kết quả phân tích cho thấy tỷ lệ xuất hiện các chi nấm nội sinh trong mẫu rễ ở các lô thí nghiệm trong nhà có sự thay đổi theo thời gian. Một số chi xuất hiện nhiều ở các mẫu rễ cỏ Vetiver gồm *Aspergillus*, *Penicilium*, *Curvularia* và *Trichoderma*. Như vậy, sau khi trồng cỏ, hệ vi nấm trong rễ cỏ có sự trao đổi và thích nghi với điều kiện của đất trong quyển rễ, hệ vi sinh vật cũng như các yếu tố trong đất tạo nên sự thay đổi của vi nấm nội sinh trong rễ cỏ Vetiver.

#### b. Sự biến động của vi khuẩn sinh trong rễ cỏ

Tỷ lệ xuất hiện các chi nội sinh trong mẫu rễ cỏ có sự thay đổi theo thời gian và có khác biệt rõ ràng so với mẫu ban đầu, cũng như giữa các đợt thu mẫu. Một số chi có tần suất xuất hiện nhiều như *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Mitochondria*, *Sphingomonas*,...

Sự biến động của vi sinh vật nội sinh trong rễ cỏ với sự giảm dioxin có mối tương quan với nhau ( $p < 0,05$ ). Tỷ lệ dioxin còn lại trong đất giảm rõ rệt và chỉ số Shannon cũng biến động mạnh. Trong khi đó, ở mẫu thí nghiệm trong nhà có biến động chỉ số Shannon của vi khuẩn không nhiều và hàm lượng dioxin không giảm nhiều theo thời gian (hệ số tương quan  $p > 0,05$ ).

### 3.2.2. Đánh giá đặc điểm, vai trò của vi sinh vật nội sinh phân lập được từ rễ cỏ Vetiver

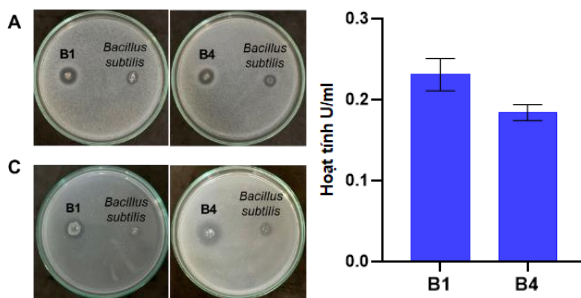
#### 3.2.2.1. Kết quả phân lập, định danh

Dựa vào đặc điểm hình thái, nhận dạng các khuẩn lạc khác nhau để tinh sạch, tách DNA và giải trình tự. Kết quả thu được 16 chủng vi khuẩn và 12 chủng vi nấm nội sinh.

#### 3.2.2.2. Kết quả thử khả năng sinh hoạt tính của vi sinh vật nội sinh

##### a. Đánh giá khả năng phân giải photphat

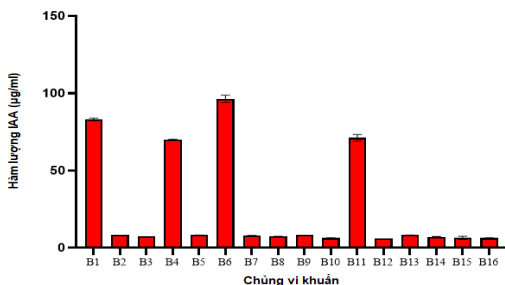
Kết quả thử khả năng phân giải photphat thu được 02 vi khuẩn chủng có hoạt tính tốt gồm B1 và B4.



**Hình 1. Kết quả thử khả năng phân giải photphat**

##### b. Đánh giá khả năng sinh IAA

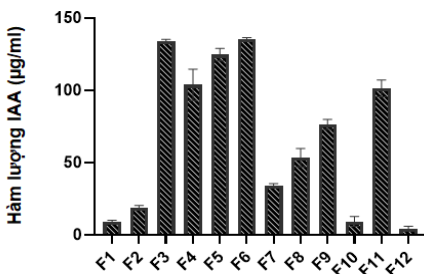
Để đánh giá vai trò của vi sinh vật nội sinh với thực vật, tiến hành thử khả năng IAA, kết quả như hình 2.



**Hình 2. Kết quả đo khả năng sinh IAA của vi khuẩn**

Như vậy, có 04 chủng sinh IAA cao gồm B1, B4, B6 và B11. Bên cạnh đó, chủng B1 và B4 cho kết quả sinh IAA cao và có khả năng phân giải photphat. Vì vậy, lựa chọn 2 chủng trên để thử khả năng kích thích sinh trưởng trên cây cà chua.

Với các chủng vi nấm, tiến hành xác định giá trị IAA tương tự. Kết quả định lượng IAA nhận thấy 12 chủng vi nấm nội sinh đều có khả năng sinh chất kích thích sinh trưởng với hàm lượng khác nhau, giữ vai trò quan trọng trong quá trình phát triển của cỏ Vetiver, đặc biệt là chủng F3, F4, F5, F6 và F11 với hàm lượng cao.

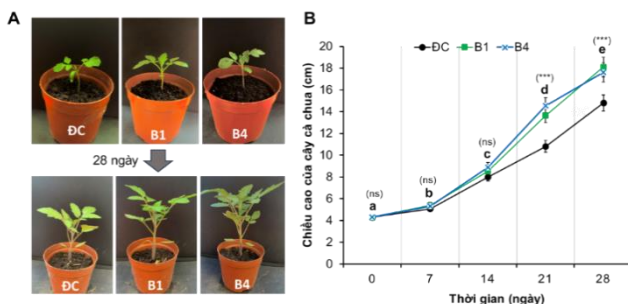


**Hình 3. Kết quả định lượng IAA của các chủng nấm nội sinh**

Như vậy, chủng F3, F5 sinh enzyme phân giải photphat và enzyme kích thích sinh trưởng với hàm lượng cao.

*c. Kết quả thử khả năng kích thích sinh trưởng trên thực vật*

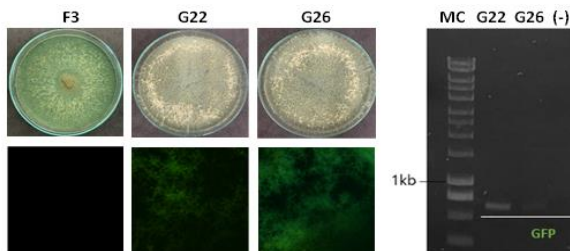
Để đánh giá khả năng sinh trưởng thực vật, từ các chủng vi khuẩn phân lập được, lựa chọn 02 chủng B1, B4 có hoạt tính phân giải photphat khó tan và sinh IAA cao để thử khả năng kích thích sinh trưởng trên cây cà chua. Sau 28 ngày lây nhiễm, các cây cà chua được lây nhiễm các chủng B1 và B4 phát triển tốt hơn ở cây đối chứng.



**Hình 4. Kết quả kích thích sinh trưởng cây cà chua**

Ngoài ra, để đánh giá khả năng kích thích sinh trưởng thực vật của vi nấm, lựa chọn 2 chủng nấm F3 và F5 tiềm năng để đánh giá trên mô hình cây cà chua và cỏ Vetiver. Kết quả sau 28 ngày thí nghiệm, kiểm tra số nhánh cỏ, chiều dài thân, rễ cỏ để đánh giá vai trò của nấm cho thấy số nhánh cỏ cũng như chiều dài của thân, rễ có sự khác biệt rõ rệt giữa cây đối chứng và cây thực nghiệm có lây nhiễm vi nấm.

Bên cạnh đó, sử dụng phương pháp chuyển gen để biểu hiện protein huỳnh quang GFP ở chủng nấm F3 và F5 nhằm khẳng định chính xác quá trình nội sinh thực vật của chủng nấm này. Kết quả chuyển gen GFP thành công ở chủng F3 tạo 2 chủng mới là G22, G26.



**Hình 5. Kết quả chuyển gen chủng F3**

Hai chủng G22 và G26 được lây nhiễm vào rễ cỏ Vetiver cũng cho kết quả giúp cỏ phát triển tốt hơn và bộ rễ phát triển mạnh mẽ hơn.

*d. Đánh giá khả năng sinh enzyme laccase*

Hai chủng F3 và F5 thể hiện khả năng sinh laccase cao với giá trị tương ứng lần lượt là  $98,2 \pm 2,2$  U/ml và  $114,8 \pm 3,1$  U/ml. Tiến hành nuôi laccase từ chủng F3 và F5 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 laccase trên để thử khả năng mất màu thuốc nhuộm theo thời gian. Kết quả nuôi laccase cho thấy, với các mẫu đã nuôi laccase từ 3-7 ngày sau đó bổ sung thuốc nhuộm xử lý màu tốt và gần như tương đương nhau về hiệu quả xử lý.

## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### KẾT LUẬN

Luận án đã thực hiện được các mục tiêu và nội dung nghiên cứu đề ra. Từ những kết quả nghiên cứu đạt được, có thể đưa ra một số kết luận sau:

1. Sử dụng cỏ Vetiver để giảm nhẹ ô nhiễm dioxin trong đất tại Sân bay Biên Hòa, tỉnh Đồng Nai là hiệu quả. Đây là biện pháp sinh học giảm ô nhiễm dioxin trong đất vừa thân thiện với môi trường, dễ áp dụng vào thực tế.

2. Kết quả phân tích metagenome cho thấy mức độ đa dạng của quần xã vi sinh vật trong đất ở thí nghiệm ngoài trời và vi sinh vật nội sinh trong rễ cỏ có sự biến động tỷ lệ với sự biến động của hàm lượng dioxin trong đất theo thời gian. Đặc biệt, vi khuẩn nội sinh trong rễ cỏ có sự biến động rõ rệt khi hàm lượng dioxin giảm.

3. Bằng phương pháp nuôi cấy trong phòng thí nghiệm đã phân lập, định danh, xác định hoạt tính vai trò của các chủng vi sinh vật nội sinh gồm 12 chủng vi nấm và 16 chủng vi khuẩn nội sinh. Với các nấm và vi khuẩn nội sinh, tiến hành thử hoạt tính lựa chọn được 02 chủng vi nấm (*Trichoderma harzianum* F3; *Curvularia lunata* F5) và 02 chủng vi khuẩn (*Klebsiella variicola* B1; *Enterobacter cloacae* B4) có khả năng sinh enzyme kích thích sinh trưởng cao. Thử nghiệm khả năng kích thích trên thực vật gồm cỏ Vetiver và cây cà chua cho hiệu quả tốt. Chuyển thành công gen GFP vào chủng F3 tạo nên hai chủng G22 và G26 để khẳng định được sự nội sinh và kích thích sinh trưởng nhờ các chủng vi sinh vật đã lấy nhiễm là chính xác.

4. Lựa chọn được chủng *Trichoderma harzianum* F3 và *Curvularia lunata* F5 sinh enzyme laccase cao, làm mất màu thuốc nhuộm xanh methylene (30 mg/l), tím kết tinh (3 mg/l) và có khả năng đóng góp vào quá trình xử lý dioxin trong đất.

### **KIẾN NGHỊ**

1. Từ các chủng đã phân lập được, tiếp tục đánh giá các vai trò, chức năng khác để ứng dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.

2. Nghiên cứu áp dụng việc trồng cỏ Vetiver để xử lý ô nhiễm dioxin tại các khu vực khác.

## NHỮNG CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI

- 1. Vu Thi Lan Anh**, Nguyen Thi Nhan, Dang Thi Ha Thu, Pham The Hai, Nguyen Quoc Dinh, Ngo Thi Thuy Huong, Tran Van Tuan (2024), “A snapshot of bacterial endophytes isolated from the roots of Vetiver grass (*Chrysopogon zizanioides*) grown at Bien Hoa airbase, Dong Nai Province”, *Vietnam Journal of Science and Technology Vietnam Journal of Science and Technology Vol 62* (3).
- 2. Vũ Thị Lan Anh**, Ngô Thị Thúy Hương, Trần Văn Tuấn, Đặng Thị Hà Thu, Phạm Thế Hải (2023), “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”, *Tạp chí Rừng và Môi trường* Số 119, tr. 69-73.
- 3. Vũ Thị Lan Anh**, Nguyễn Văn Dũng, Trần Thị Ngọc, Đỗ Văn Nhuận (2021), “Tối ưu hóa phương pháp phân lập vi sinh vật nội sinh trong rễ”, *Tạp chí Rừng và Môi trường*, Số 107, tr. 87-89.
- 4. Vũ Thị Lan Anh**, Ngô Thị Thúy Hương, Lê Anh Phương, Hoàng Lê Lộc (2018), “Áp dụng phương pháp SWOT để lựa chọn phương án xử lý đất nhiễm dioxin tại sân bay Biên Hòa, Đồng Nai”, *Kỷ yếu Hội nghị toàn quốc Khoa học Trái đất và Tài nguyên với phát triển bền vững ERSD 2018*, tr. 212-217.