

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

Nguyễn Thành Lam

NGHIÊN CỨU TUYỂN CHỌN VÀ ỨNG DỤNG
VI SINH VẬT ĐỂ XỬ LÝ TỒN DƯ
THUỐC BẢO VỆ THỰC VẬT GỐC LÂN HỮU CƠ
TRONG ĐẤT TRỒNG CHÈ

Chuyên ngành: Khoa học môi trường
Mã số: 9440301.01

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC MÔI TRƯỜNG

Hà Nội - 2025

Công trình được hoàn thành tại:
Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - Đại học Quốc gia Hà Nội

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. Nguyễn Kiều Băng Tâm
2. TS. Lương Hữu Thành

Phản biện: PGS.TS. Nguyễn Xuân Cảnh

Phản biện: Lê Thị Nhi Công

Phản biện: Hồ Tú Cường

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ
hợp tại Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - ĐHQGHN vào
hồi giờ ngày.. tháng.....năm 2025

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. Lý do lựa chọn đề tài

Trong những năm gần đây, việc lạm dụng phân bón hóa học, thuốc bảo vệ thực vật hóa học trong nông nghiệp với mục đích đạt năng suất và sản lượng cao đã làm cho đất đai ngày càng thoái hóa, dinh dưỡng bị mất cân đối, mất cân bằng hệ sinh thái trong đất thậm chí gây ô nhiễm đất. Các loại thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) chứa hoạt chất phospho hữu cơ (tên thường gọi là Lân hữu cơ) hay còn gọi là organic phospho (sau đây gọi tắt là gốc Lân hữu cơ hoặc OP) được sử dụng để diệt côn trùng, sâu bọ. Trong điều kiện tự nhiên, sự phân giải các gốc Lân hữu cơ này xảy ra rất chậm, do vậy chúng thường tích lũy trong đất hoặc bị rửa trôi vào sông, mạch nước ngầm. Gốc Lân hữu cơ đã được chứng minh là chất độc nguy hiểm không chỉ đối với một số loại côn trùng và động vật hoang dã, mà còn gây hại cho con người, đặc biệt là đối với trẻ nhỏ và phụ nữ có thai, không những vậy gốc Lân hữu cơ có đặc tính dễ tan trong nước, có khả năng hấp thụ vào máu, dịch thể, thần kinh của vật chủ nhanh chóng nên chúng thực sự nguy hiểm nếu không được kiểm soát. Một số hoạt chất OP có tác động tiêu cực tới môi trường và sức khỏe con người bao gồm *Glyphosate*, *Chlorpyrifos*, *Parathion*, *Methyl parathion*, *Diazinon*, *Coumaphos*, *Monocrotophos*, *Fenamiphos* và *Phorate*. Các nghiên cứu cho thấy gốc Lân hữu cơ có thể làm thay đổi hormone, ảnh hưởng đến DNA, thai dị dạng, tinh trùng, buồng trứng và trứng phát triển không bình thường của người và động vật.

Tại Việt Nam, thuốc BVTV chứa gốc Lân hữu cơ hiện nay vẫn được dùng rộng rãi trong nông nghiệp nói chung và đặc biệt tại các vùng sản xuất chè nói riêng mà chưa có các biện pháp kiểm soát phù hợp.

Nhiều công trình nghiên cứu khoa học trước đây đã tìm ra một số vi sinh vật có khả năng đồng hóa và khoáng hóa các hợp chất OP, trong đó phải kể đến một số vi khuẩn như *Enterobacter* sp., *Flavobacterium* sp.,

Pseudomonas diminuta, *Micrococcus* sp., và một số loài nấm như *Phanerochaete chrysosporium*, *Hypholoma fascicularae*, *Coriolus versicolor*, *Aspergillus* sp., *Trichoderma harzianum* và *Pencillium brevicompactum*. Đáng chú ý, trong số đó có những loài không chỉ có khả năng phân giải gốc Lân hữu cơ độc hại tích tụ trong môi trường, mà còn có khả năng tạo enzyme phosphatase, muối oxalat hoặc axit (HNO_3 hoặc H_2SO_4), góp phần chuyển hóa hợp chất photpho không tan thành dạng photpho hòa tan để cây trồng hấp thu, tăng cường dinh dưỡng lân.

Đề tài luận án: “*Nghiên cứu tuyển chọn và ứng dụng vi sinh vật để xử lý tồn dư thuốc bảo vệ thực vật gốc Lân hữu cơ trong đất trồng chè*” được thực hiện sẽ góp phần bổ sung cơ sở khoa học và thực tiễn cho việc ứng dụng vi sinh vật để xử lý tồn dư thuốc bảo vệ thực vật có gốc Lân hữu cơ trên đất nông nghiệp, góp phần giảm thiểu độc hại cho cây trồng, con người và ô nhiễm môi trường đất.

2. Mục tiêu nghiên cứu

Tuyển chọn được chủng vi sinh vật có hoạt tính sinh học cao và ổn định để xử lý dư lượng thuốc bảo vệ thực vật gốc Lân hữu cơ nhằm tạo cơ sở khoa học và thực tế phục vụ sản xuất chế phẩm sinh học xử lý dư lượng thuốc vệ thực vật gốc Lân hữu cơ trong đất nông nghiệp.

3. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu

- Đối tượng nghiên cứu: Chủng vi sinh vật có hoạt tính phân giải thuốc BVTV gốc Lân hữu cơ được phân lập từ đất trồng chè tại tỉnh Nghệ An. Đất nông nghiệp khu vực thâm canh chè có dư lượng thuốc bảo vệ thực vật gốc Lân hữu cơ.

- Phạm vi nghiên cứu: Nghiên cứu cơ bản được thực hiện tại phòng thí nghiệm của Viện Môi trường Nông nghiệp, Viện Công nghệ sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên. Nghiên cứu đánh giá khả năng sử dụng vi sinh vật có khả năng phân giải thuốc BVTV gốc Lân hữu cơ đối với đất trồng chè thuộc Hợp tác xã chè Minh Sáng, xã Hùng Sơn, huyện Anh Sơn, tỉnh Nghệ An.

4. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn

- Tuyển chọn được những chủng vi sinh vật bản địa có nguồn gốc rõ ràng, có hoạt tính sinh học ổn định và an toàn sinh học cao để ứng dụng trong xử lý dư lượng thuốc bảo vệ thực vật gốc Lân hữu cơ trong đất nông nghiệp trong điều kiện thực tế tại Việt Nam.

- Bổ sung danh mục các chủng vi sinh vật có hoạt tính phân hủy dư lượng thuốc bảo vệ thực vật gốc Lân hữu cơ; cung cấp phương pháp, số liệu, thông tin khoa học làm cơ sở cho các nghiên cứu công nghệ xử lý dư lượng thuốc bảo vệ thực vật gốc Lân hữu cơ nói riêng và thuốc bảo vệ thực vật nói chung trong đất trồng nông nghiệp bằng phương pháp vi sinh vật.

5. Những đóng góp mới của đề tài luận án

- Sử dụng vi sinh vật bản địa: Tuyển chọn và ứng dụng các chủng vi sinh vật được phân lập từ môi trường trong nước, đảm bảo nguồn gốc tự nhiên và phù hợp với điều kiện canh tác thực tế tại Việt Nam. Các chủng vi sinh được định danh chính xác đến mức độ loài, đảm bảo về mặt an toàn sinh học khi phóng thích vào môi trường, góp phần giảm thiểu rủi ro cho hệ sinh thái.

- Ứng dụng vào xử lý dư lượng thuốc BVTV gốc Lân hữu cơ: Nghiên cứu khả năng phân giải, xử lý thuốc BVTV kết hợp với phát triển, thử nghiệm chế phẩm vi sinh vừa có khả năng xử lý dư lượng thuốc bảo vệ thực vật chứa gốc Lân hữu cơ trong đất trồng chè, tạo ra một giải pháp hiệu quả cho việc khử độc và bảo vệ môi trường đồng thời nâng cao chất lượng và năng suất cây trồng.

- Kết quả nghiên cứu của Luận án: Không chỉ mang tính mới về mặt khoa học mà còn có ứng dụng thực tiễn cao, góp phần bảo vệ môi trường, sức khỏe cộng đồng và cải thiện chất lượng sản phẩm chè thương phẩm.

6. Nội dung nghiên cứu

Nội dung 1: Tổng hợp, thu thập tài liệu, đánh giá và khảo sát hiện trạng ô nhiễm gốc Lân hữu cơ trong đất ở vùng trồng rau, chè.

Nội dung 2: Nghiên cứu và tuyển chọn chủng vi sinh vật (VSV) có khả năng phân giải thuốc BVMT gốc Lân hữu cơ (cụ thể là thuốc trừ sâu Chlorpyrifos).

Nội dung 3: Nghiên cứu sản xuất, ứng dụng chế phẩm vi sinh vật phân hủy Chlorpyrifos.

Nội dung 4: Thử nghiệm, đánh giá hiệu quả của chế phẩm VSV phân hủy dư lượng Chlorpyrifos trong đất trồng chè.

CHƯƠNG I: TỔNG QUAN VỀ VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU

1.1. Tổng quan về thuốc bảo vệ thực vật

Nông nghiệp là ngành sản xuất vật chất cơ bản, giữ vai trò to lớn trong việc phát triển kinh tế ở hầu hết các nước trên thế giới, đặc biệt là ở các nước đang phát triển. Nhu cầu lương thực quốc tế ước tính tăng từ 80 đến 100% trong những thập kỷ tới để đối phó với tình trạng dân số ngày càng tăng.

1.1.1. Khái niệm thuốc bảo vệ thực vật

Hóa chất BVTV hay còn gọi là thuốc BVTV là những loại hóa chất bảo vệ cây trồng hoặc những sản phẩm bảo vệ mùa màng, là những chất được tạo ra để chống lại và tiêu diệt loài gây hại hoặc các vật mang mầm bệnh. Hóa chất BVTV là những hóa chất độc, có khả năng phá hủy tế bào, tác động đến cơ chế sinh trưởng, phát triển của sâu bệnh, cỏ dại và cả cây trồng, vì thế khi các hợp chất này đi vào môi trường, chúng cũng có những tác động nguy hiểm đến môi trường, đến những đối tượng tiếp xúc trực tiếp hay gián tiếp.

1.1.2. Phân loại thuốc bảo vệ thực vật

**) Phân loại theo gốc hoá học*

+ Hóa chất BVTV thuộc nhóm hợp chất Clo hữu cơ: Hóa chất BVTV thuộc nhóm hợp chất Clo hữu cơ, điển hình của nhóm này là DDT, Lindan, Endosulfan. Hầu hết các loại hóa chất BVTV thuộc nhóm này đã bị cấm sử dụng vì chúng là các chất hữu cơ khó phân hủy, tồn lưu lâu trong môi trường.

+ Hóa chất BVTV thuộc nhóm Lân hữu cơ: Là các este của axit phosphoric. Đây là nhóm hóa chất rất độc với người và động vật máu nóng, điển hình của nhóm này là Methyl Parathion, Ethyl Parathion, Mehtamidophos, Malathion...

+ Hóa chất BVTV thuộc nhóm Carbamat: Là các este của axit Carbamic có phổ phòng trừ rộng, thời gian cách ly ngắn, điển hình của nhóm này là Bassa, Carbosulfan, Lannate...

**) Phân loại thuốc BVTV theo công dụng*

Phân làm 5 loại chính gồm: (1) Thuốc trừ sâu bệnh (hợp chất hữu cơ clo, hợp chất hữu cơ phospho); (2) Thuốc diệt cỏ; (3) Thuốc diệt nấm; (4) Thuốc diệt chuột; (5) Thuốc kích thích.

**) Phân loại theo nhóm độc: Độc tính cấp tính, độc tính mãn tính.*

**) Phân loại theo thời gian phân hủy:*

Phân làm 4 loại chính gồm: (1) Nhóm hầu như không phân hủy (các hợp chất hữu cơ chứa kim loại...); (2) Nhóm khó phân hủy (DDT, 666); (3) Nhóm phân hủy trung bình (nhóm hợp chất hữu cơ chứa clo); (4) Nhóm dễ phân hủy (nhóm hợp chất phospho hữu cơ, cacbamat).

1.1.3. Khái niệm thuốc bảo vệ thực vật gốc Lân hữu cơ

Phốt pho hữu cơ (organophosphorus/organophosphate, OP) là tên gọi chung cho các ester của axit phosphoric. Từ năm 1938 đến nay đã có khoảng 50.000 hợp chất OP được tổng hợp. Các hợp chất OP được sử dụng khá phổ biến, đặc biệt là có khoảng 80 hợp chất được dùng trong nông nghiệp dưới dạng thuốc bảo vệ thực vật. Các thuốc BVTV gốc Lân hữu cơ được phân ra 5 lớp chủ yếu là Phosphate (i), Thiophosphate (ii), Dithiophosphate (iii), Chlorophosphate (iv) và Phosphorodiamidate (v).

1.1.4. Tính chất chung của thuốc bảo vệ thực vật gốc Lân hữu cơ

Đặc điểm chung về hóa học của các hợp chất OP là dễ bị thủy phân. Tác nhân thủy phân đến gần chất phản ứng và tấn công vào nguyên tử phốt pho. Sản phẩm thủy phân là tạo thành este đơn giản hơn của axit phốt phoric. Tính chất quan trọng thứ hai là phản ứng hoạt hóa nhân phốt pho. Phản ứng xảy ra thường tạo thành chất ức chế enzym cholinesteraza mạnh hơn. Đi đôi với phản ứng hoạt hóa là phản ứng phân hủy. Nhờ phản ứng này, các hợp chất OP chuyển hóa thành dẫn xuất trung gian kém độc hơn là chất chính phẩm.

1.1.5. Tác động của thuốc bảo vệ thực vật gốc Lân hữu cơ

Ưu điểm của các loại thuốc BVTV gốc Lân hữu cơ là có tác dụng nhanh, phổ tác dụng rộng đối với các loài sâu hại và tác nhân gây bệnh ở

thực vật; Tuy nhiên, nhược điểm lớn là tương đối độc hại với động vật có dây sống nói chung, và cơ thể con người nói riêng .

**) Tác động của hợp chất OP đối với cơ thể người và động vật*

Các chất BVTV chứa OP có thể nhiễm vào cơ thể qua thức ăn, không khí, đường nước v.v.. Khi vào cơ thể động vật, OP tác dụng ức chế enzyme acetylcholine esterase (AChE) , gây nhiễm độc và ngộ độc thuốc BVTV.

**) Tác động của hợp chất OP đối với môi trường và hệ sinh thái*

Việc sử dụng thuốc BVTV cũng có thể làm xuất hiện dịch hại mới hay bùng phát dịch hại thứ cấp. Ở Việt Nam, sau 6-7 năm dùng thuốc DDT, Wofatox để trừ sâu hại chính trên chè, cam quýt và bông đã làm cho nhện hại cây từ chỗ là dịch hại không đáng quan tâm trở thành một loài dịch hại nguy hiểm gây khô lá trên diện rộng.

Hiện tượng tái phát rầy nâu *Nilaparvata lugens* ở vùng Đông Nam Á cũng là một ví dụ điển hình. Theo Maggi và Leigh (1983), khi phun thuốc trừ sâu Wofatox (Methyl parathion) cho bông đã làm tăng lượng trứng đẻ của nhện đỏ *Tetranychus urticae*. Những cá thể sống sót hình thành tính chống thuốc và đã làm thay đổi đặc tính sinh học của loài.

1.1.6. Tình hình sử dụng thuốc bảo vệ thực vật gốc Lân hữu cơ ở Việt Nam

Trước năm 1990, phần lớn các thuốc trừ sâu sử dụng ở Việt Nam là thuốc Lân hữu cơ. Tuy nhiên, do cơ chế tác động lên enzyme acetylcholinesterase nên các thuốc này không chỉ gây độc với côn trùng có hại mà còn với các côn trùng có lợi như ong mật và nhiều động vật khác như giun đất, cá, ếch, chim, động vật có vú và con người.

Sau năm 2009, thuốc BVTV được đăng kí sử dụng phổ biến nhất nước ta là Chlorpyrifos ethyl. Hiện nay trong Danh mục “Thuốc bảo vệ thực vật được phép sử dụng tại Việt Nam năm 2018” thì hợp chất Chlorpyrifos ethyl và fipronil đã bị cấm sản xuất và lưu hành vào tháng 2/2019 theo quyết định 501/QĐ-BNN-BVTV của Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn. Tuy nhiên, thực tế thì dư lượng Chlorpyrifos nói

riêng và các thuốc BVTV gốc Lân hữu cơ nói chung trong đất canh tác và các loại nông sản vẫn còn rất nhiều.

Tóm lại, thuốc BVTV nói chung và thuốc BVTV gốc OP nói riêng được sử dụng rất phổ biến tại Việt Nam với nhiều tác dụng mang lại như kiểm soát sâu bọm lá lúa, rầy, rệp mật, sâu bông, rệp và nhện đỏ,... góp phần bảo vệ mùa màng cho bà con nông dân. Tuy nhiên, việc sử dụng các loại thuốc BVTV này cũng đã gây ra nhiều tác động tiêu cực đến con người, môi trường đất và các hệ sinh vật xung quanh. Vì vậy, việc nghiên cứu ứng dụng các giải pháp kỹ thuật xử lý hiệu quả thuốc BVTV gốc OP trong môi trường là rất cần thiết.

CHƯƠNG II: ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Các chủng vi sinh vật có hoạt tính phân giải OP được phân lập từ đất trồng chè tại tỉnh Nghệ An.

- Đất nông nghiệp khu vực thâm canh chè có dư lượng thuốc bảo vệ thực vật gốc Lân hữu cơ.

2.2. Phạm vi nghiên cứu

- Nghiên cứu cơ bản được thực hiện tại phòng thí nghiệm của Viện Môi trường Nông nghiệp, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn; ngoài ra còn có sự hỗ trợ của một số phòng thí nghiệm của Viện Công nghệ sinh học (Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam) và Trường Đại học Khoa học Tự nhiên (Đại học Quốc gia Hà Nội).

- Nghiên cứu đánh giá khả năng sử dụng vi sinh vật có khả năng phân giải OP đối với đất trồng chè thuộc Hợp tác xã chè Minh Sáng, xã Hùng Sơn, huyện Anh Sơn, Nghệ An.

- Nghiên cứu được thực hiện từ 9/2019 – 6/2024.

2.3. Thiết bị, hoá chất và dụng cụ thí nghiệm

Liệt kê tại phụ lục 1 của Luận án.

2.4. Vật liệu sử dụng trong nghiên cứu:

Mẫu chè và đất trồng chè được thu thập tại Nghệ An, Thái Nguyên, Lâm Đồng.

2.5. Phương pháp nghiên cứu

2.5.1. Phương pháp lấy mẫu và bảo quản mẫu:

+ Phương pháp lấy mẫu chè: QCVN 01-28:2010/BNNPTNT: Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia: Chè - Quy trình lấy mẫu phân tích chất lượng, an toàn

vệ sinh thực phẩm.

- + Phương pháp lấy mẫu đất: TCVN 7538-2:2005 (ISO 10381-2:2002): Chất lượng đất - Lấy mẫu - Phần 2: Hướng dẫn kỹ thuật lấy mẫu.

- + Phương pháp bảo quản mẫu: Mẫu được bọc kín trong túi đen hoặc trong thùng xốp để tránh ánh nắng, tia UV và được bảo quản lạnh trong quá trình vận chuyển.

2.5.2. *Phương pháp phân tích hàm lượng OP*: Quá trình chiết OP được thực hiện theo phương pháp mô tả bởi Gan & cs. (1999).

2.5.3. *Phương pháp nghiên cứu vi sinh vật*:

- + *Định lượng vi sinh vật*: Phương pháp pha loãng tới hạn của Koch.

- + *Phân lập vi sinh vật phân hủy OP*: phân lập vi sinh vật trên môi trường thạch có chứa cơ chất malathion, chlorpyrifos và parathion.

- + *Nghiên cứu đặc điểm sinh lý, hóa sinh của các chủng VSV*:

Các đặc điểm sinh lý, sinh hóa của các chủng VSV theo kit API 20NE (đối với các chủng vi khuẩn Gram (-), không thuộc loại Enterobacter), kit API20E, và kit API 50CHB để xác định vi khuẩn Gram (+). Định tên vi khuẩn dựa vào kết quả phân tích của phần mềm APILAB PLUS 3.3.3 kết hợp với hệ thống phân loại vi khuẩn của Bergey (1994).

2.5.4. *Phân loại VSV bằng phương pháp sinh học phân tử* : Quy trình tách chiết DNA tổng số của vi khuẩn được tiến hành theo phương pháp CTAB/NaCl của Ausubel et al., 1994

Trình tự ADN được xác định bằng kit Dyedeoxy Terminator Cycle Sequencing (Applied Biosystems, Weiterstadt, Đức), sản phẩm được phân tích trên máy đọc trình tự tự động ABI 377 (Perkin-Elmer, Mỹ).

Chuỗi nucleotit được xử lý bằng chương trình Bioedit. Truy cập dữ liệu ngân hàng gen EMBL (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) để so sánh bằng

chương trình GENDOC 2.5 (Nicholas, 1999). (4) Sử dụng chương trình phân tích phả hệ và tiến hóa MEGA 2.1 để xác định mối quan hệ di truyền giữa các chủng được phân tích.

2.5.5. Thử nghiệm xác định tính an toàn đối với động vật: Đối chiếu với danh sách các chủng vi sinh vật an toàn theo hướng dẫn của Cộng đồng chung Châu Âu để xác định mức độ an toàn sinh học của các chủng vi sinh vật sử dụng trong nghiên cứu.

2.5.6.. Điều kiện ảnh hưởng đến quá trình nhân sinh khối:

Chủng vi sinh vật được lên men nhân sinh khối trong cùng một điều kiện như nhau, thay đổi từng thông số kỹ thuật: Nhiệt độ trong quá trình lên men sinh khối, pH, môi trường nhân sinh khối và thời gian lên men, liều lượng cấp khí, tỷ lệ giống cấp 1 và được kiểm tra mật độ sau lên men để xác định từng thông số phù hợp.

2.5.7. Phương pháp tạo chế phẩm vi sinh vật.:

+ *Chuẩn bị sinh khối vi sinh vật:* Chủng VSV được lên men sinh khối cấp 1 trong bình tam giác, sau đó lên men sinh khối trên thiết bị lên men và được kiểm tra độ thuần khiết và đạt mật độ tế bào $\geq 10^8$ CFU/ml, sinh khối vi sinh vật được tách nước bằng thiết bị li tâm với tốc độ 6000 v/p trong 30 phút.

+ *Chuẩn bị chất mang:* Chất mang sử dụng trong nghiên cứu này là đường malto dextro;

+ *Phối trộn:* Phối trộn đều sinh khối vi sinh vật sau khi li tâm với chất mang với tỷ lệ phù hợp để đảm bảo độ ẩm của chế phẩm không quá 12%.

+ *Kiểm tra chất lượng:* Sản phẩm cuối cùng của qui trình sản xuất cũng như các sản phẩm tạo ra trong từng công đoạn của qui trình đều

phải được kiểm tra đánh giá chất lượng về các chỉ tiêu mật độ vi sinh vật lựa chọn và mức độ tạp nhiễm.

+ *Bảo quản sản phẩm*: Sản phẩm được đóng gói trong túi zip tráng thiếc, bảo quản trong điều kiện phòng. Sản phẩm được kiểm tra mật độ vi sinh vật theo thời gian bảo quản 0 giờ, 7 ngày, 15 ngày, 30 ngày, 45 ngày, 60 ngày, 75 ngày...

2.5.8. Thí nghiệm đánh giá khả năng xử lý OP của vi sinh vật:

- Xác định khả năng phân giải OP của các chủng VSV trong đất (in vitro)

- Đánh giá hiệu quả của chế phẩm VSV đối với cây chè ở quy mô nhà lưới; đánh giá hiệu quả của chế phẩm VSV đối với cây chè trên diện hẹp và diện rộng.

2.5.9. Phương pháp xử lý số liệu: phần mềm Excell và IRISTAT 4.0

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá dư lượng thuốc bảo vệ thực vật gốc lân hữu cơ ở một số vùng canh tác nông nghiệp

Chlorpyrifos (CPF) là một loại thuốc trừ sâu thuộc nhóm OP được sử dụng phổ biến tại Việt Nam. Hoá chất này có thể tiêu diệt một phổ rất rộng các loài côn trùng bao gồm muỗi, sâu bướm, rầy nâu, sâu ăn quả, gián ruồi, mối, kiến lửa, v.v. thông qua cơ chế bất hoạt enzyme acetylcholinesterase, một enzyme đóng vai trò quan trọng trong hoạt động dẫn truyền thần kinh ở động vật. Do cơ chế tác động lên enzyme acetylcholinesterase mà Chlorpyrifos gây độc không chỉ với côn trùng có hại mà còn với các côn trùng có lợi như ong mật và nhiều động vật khác như giun đất, cá, ếch, chim, động vật có vú bao gồm cả con người.

Bảng 3.1. Kết quả phân tích hàm lượng OP trong mẫu đất trồng.

Mẫu	Ký hiệu mẫu	Kết quả phân tích (mg/kg)				
		Chlorpyrifos ethyl	Fenitrothion	Malathion	Parathion	Profenofos
Chè	TN1	1,125	KPH	KPH	KPH	KPH
	TN2	0,457	KPH	KPH	KPH	KPH
	NA1	0,372	KPH	KPH	KPH	KPH
	NA2	0,059	KPH	KPH	KPH	KPH
Đất trồng chè	TN1	0,029	KPH	KPH	KPH	KPH
	TN2	0,007	KPH	KPH	KPH	KPH
	NA1	27,8	KPH	KPH	KPH	KPH
	NA2	16,9	KPH	KPH	KPH	KPH
	BL1	25,95	KPH	KPH	KPH	KPH
	BL2	7,63	KPH	KPH	KPH	KPH
	BL3	2,15	KPH	KPH	KPH	KPH
	BL4	18,44	KPH	KPH	KPH	KPH

	BL5	3,06	KPH	KPH	KPH	KPH
Bắp cải	BC-1	0,094	KPH	KPH	KPH	KPH
	BC-2	0,053	KPH	KPH	KPH	KPH
Cà chua	CC -1	0,034	KPH	KPH	KPH	KPH
	CC-2	0,032	KPH	KPH	KPH	KPH
Cà rốt	CR-1	1,106	KPH	KPH	KPH	KPH
	CR-2	0,783	KPH	KPH	KPH	KPH
Đất trồng bắp cải	BC-3	0,025	KPH	KPH	KPH	KPH
	BC-4	0,032	KPH	KPH	KPH	KPH
Đất trồng cà chua	CC-3	0,025	KPH	KPH	KPH	KPH
	CC-4	0,018	KPH	KPH	KPH	KPH
Đất trồng cà rốt	CR-3	0,032	KPH	KPH	KPH	KPH
	CR-4	0,025	KPH	KPH	KPH	KPH

Ghi chú: KPH: Dưới ngưỡng phát hiện (<0,002 mg/kg).

Kết quả phân tích trình bày trong bảng 3.1 cho thấy các mẫu chè, rau và đất trồng đều phát hiện thấy Chlorpyrifos ethyl (CPF) trong sản phẩm và đất; các gốc Fenitrothion, Malathion, Parathion và Profenofos đều không phát hiện. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy đối với cây rau dư lượng Chlorpyrifos ethyl trong sản phẩm cao hơn so với đất trồng; đối với cây chè thì đất trồng chè tại địa điểm lấy mẫu cao hơn rất nhiều so với dư lượng trong sản phẩm (cao gấp 300 lần), kết quả này cho thấy thuốc BVTV có chứa Chlorpyrifos ethyl được nông dân sử dụng rất phổ biến, đặc biệt là ở vùng trồng chè huyện Anh Sơn, Nghệ An. Đối với vùng trồng chè, thời điểm đề tài lấy mẫu là vụ chè Xuân, đây là khoảng thời tiết rất phù hợp với các loại bệnh rầy xanh, rệp, nhện đỏ, bọ xít, muỗi và bệnh phòng lá phát sinh gây hại ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của cây chè cũng như năng suất và chất lượng chè búp. Đối với cây chè, do người nông dân sử dụng rất nhiều thuốc BVTV vào thời điểm đầu vụ (khoảng

tháng 2- tháng 3 trong năm), đây là thời điểm độ ẩm không khí cao, thích hợp cho các loại sâu hại (rệp) phát triển mạnh, do đó ở tất cả các mẫu kiểm tra đều phát hiện có dư lượng Lân hữu cơ trong đất trồng chè và trong lá chè với hoạt chất chủ yếu là Chlorpyrifos ethyl (CPF).

3.2. Phân lập vi khuẩn phân giải Chlorpyrifos ethyl

Từ 20 mẫu đất thu thập đã phân lập được tổng cộng 51 chủng vi khuẩn, trong đó có 4 chủng vi sinh vật có khả năng phân giải CPF là CNN1, CNN2, VNN3 và CNN4.

Kết quả nghiên cứu khả năng phát triển trên môi trường LB có bổ sung CPF các chủng vi sinh vật sử dụng trong nghiên cứu (Bảng 3.3) cho thấy cả 3 chủng đều có khả năng phát triển tốt trên môi trường dịch có chứa CPF, kết quả nghiên cứu cho thấy có thể các chủng vi sinh vật nghiên cứu có khả năng sinh trưởng trong môi trường chứa CPF.

Bảng 3.3. Mật độ của các chủng VSV trên môi trường chứa OP

Chủng	Mật độ (CFU/mL)			
	Sau 24 h	Sau 48 h	Sau 72 h	Sau 96 h
CNN1	3.5×10^7	2.1×10^8	3.8×10^8	2.3×10^7
CNN2	2.6×10^8	3.2×10^9	8.8×10^9	2.8×10^8
VNN3	3.9×10^8	4.8×10^9	9.2×10^9	4.4×10^8
CNN4	4.3×10^8	5.8×10^9	9.0×10^9	5.7×10^8

Số liệu tại bảng 3.3 cho thấy, mật độ VSV sau 96 giờ đối với 3 chủng CNN2, VNN3 và CNN4 tương đối cao ($2,8 - 5,7 \times 10^8$ CFU/mL), riêng chủng CNN1 thì thấp hơn nhiều với mật độ chỉ đạt $2,3 \times 10^7$ CFU/mL do vậy luận án loại bỏ chủng CNN1 ra khỏi các chủng vi sinh vật tiếp tục làm vật liệu nghiên cứu.

Các chủng phân lập CNN2, VNN3 và CNN4 được định danh bằng phân tích gen 16S rRNA và so sánh sự giống nhau về các gen 16S rRNA của các chủng CNN2, VNN3 và CNN4 với trình tự công bố trên GenBank. Từ kết quả thu được có thể kết luận 3 chủng phân lập có điểm tương đồng rất cao với các chủng *Methylobacter populi* (CNN2), *Ensifer adhaerens* (VNN3) và *Acinetobacter pittii* (CNN4).

Đối chiếu với danh mục các loài vi sinh vật an toàn của Cộng đồng châu Âu cũng như danh mục các loài vi sinh vật bị hạn chế sử dụng cho thấy các chủng *Methylobacterium populi* (có quan hệ gần với chủng CNN2), chủng *Ensifer adhaerens* (có quan hệ gần với chủng VNN3) không nằm trong nhóm vi sinh vật bị hạn chế sử dụng, đề tài Luận án bước đầu đề nghị sử dụng tên phân loại hợp thức cho 2 chủng VSV tương ứng như liệt kê trong bảng 3.8

Bảng 3.8. Đề xuất tên các chủng vi sinh vật

Ký hiệu chủng	Tên đề nghị
CNN2	<i>Methylobacterium populi</i> CNN2
VNN3	<i>Ensifer adhaerens</i> VNN3

Từ kết quả nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng đến sinh trưởng của vi sinh vật sử dụng trong nghiên cứu, đề tài đã tổng hợp các điều kiện phù hợp cho quá trình nhân sinh khối các chủng vi sinh vật sử dụng trong sản xuất chế phẩm, kết quả được trình bày trong bảng 3.16.

Bảng 3.16: Thông số kỹ thuật phù hợp cho nhân sinh khối các chủng VSV

Thông số kỹ thuật	Chủng vi sinh vật	
	<i>M. populi</i> CNN2	<i>E. adharens</i> VNN3
pH môi trường lên men	6,5	7,0
Nhiệt độ lên men sinh khối (°C)	30	30

Thời gian lên men sinh khối (giờ)	72	48
Tỷ lệ giống cấp 1 (%)	3	3
Môi trường lên men sinh khối	SX1	SX1
Lưu lượng cấp khí (dm^3 không khí/ dm^3 môi trường/phút)	0,7	0,7

Kết quả nghiên cứu khả năng tồn tại của các chủng vi sinh vật trong chế phẩm cho thấy tại thời điểm 0 giờ, trong điều kiện hỗn hợp mật độ chủng VSV sử dụng trong nghiên cứu $>10^9$ CFU/g, sau 1 tháng mật độ tế bào VSV vẫn đạt $>10^9$ CFU/g. Sau 3 tháng mật độ cả 2 chủng *M. populi* CNN2 và *E. adharens* VNN3 giảm xuống $>10^8$ CFU/g và ổn định đến thời điểm kiểm tra sau 9 tháng sản xuất. Tại các thời điểm kiểm tra sau 12 tháng sản xuất mật độ các chủng *M. populi* CNN2 và *E. adharens* VNN3 trong chế phẩm giảm xuống $>10^7$ CFU/g, đáp ứng yêu cầu của một chế phẩm vi sinh khi đưa ra ứng dụng trong thực tiễn.

3.3. Nghiên cứu công nghệ sản xuất chế phẩm vi sinh vật xử lý dư lượng thuốc bảo vệ thực vật gốc lân hữu cơ trong đất trồng chè.

Luận án đã tiến hành nghiên cứu một số điều kiện thích hợp cho quá trình nhân sinh khối các chủng vi sinh vật để từ đó đưa ra các thông số kỹ thuật phù hợp cho quá trình nhân sinh khối các chủng vi sinh vật, cụ thể:

- Ảnh hưởng của nhiệt độ: Chủng *M. populi* CNN2 lên men nhân sinh khối thích hợp ở dải nhiệt độ từ $25\div 30^\circ\text{C}$. Chủng *E. adharens* VNN3 lên men nhân sinh khối thích hợp ở nhiệt độ 30°C .

- Ảnh hưởng của pH: - Chủng *M. populi* CNN2 thích hợp ở pH môi trường lên men sinh khối ban đầu = 6,5. Chủng *E. adharens* VNN3 thích hợp ở pH môi trường lên men sinh khối ban đầu = 7,0.

- Môi trường nhân sinh khối và thời gian nuôi cấy: Để thu sinh khối cao nhất với thời gian ngắn nhất thì đối với chủng *M. populi* CNN2 có thể sử dụng môi trường sản xuất SX1, SX2 và thu sinh khối sau 72 giờ; chủng *E. adharens* VNN3 có thể sinh trưởng tốt trên môi trường sản xuất SX1 và thời gian thu sinh khối là 48 giờ.

- Tỷ lệ giống cấp 1: Kết quả nghiên cứu này cho thấy để tiết kiệm chi phí sản xuất thì lượng giống cấp 1 được bổ sung vào 3% thích hợp nhất cho quá trình lên men sinh khối.

- Ảnh hưởng của liều lượng cấp khí: Giá trị liều lượng cấp khí là 0,7 dm³ không khí/lít môi trường/phút là phù hợp nhất.

- Thông số kỹ thuật sử dụng trong lên men nhân sinh khối chủng *M. populi* CNN2 và *E. adharens* VNN3: Đề tài đã tổng hợp các điều kiện phù hợp cho quá trình nhân sinh khối các chủng vi sinh vật sử dụng trong sản xuất chế phẩm.

Trong nghiên cứu này, các điều kiện tối ưu để sản xuất sinh khối của *Methylobacterium populi* CNN2 và *Ensifer adhaerens* VNN3 được xác định là: Nhiệt độ: 30°C, pH: 6,5–7,0, Môi trường: SX1, Tỷ lệ giống cấp 1: 3%; Tốc độ thông khí: 0,7 dm³ không khí/lít/phút.

3.4. Nghiên cứu khả năng sử dụng chế phẩm vi sinh vật phân hủy thuốc bảo vệ thực vật gốc Lân hữu cơ

3.4.1. Khả năng sử dụng chế phẩm vi sinh vật xử lý thuốc bảo vệ thực vật gốc Lân hữu cơ trên đất trồng chè qui mô nhà lưới

Chế phẩm VSV đã cho hiệu quả phân hủy CPF đáng kể:

- Mức giảm dư lượng CPF trong đất đạt 76,35% (từ 3,68 xuống còn 0,87 mg/kg) ở liều cao nhất.

- Dư lượng CPF trong lá chè giảm mạnh từ 1,46 mg/kg còn 0,249 mg/kg, tương ứng hiệu quả giảm hấp thu đạt 82,94%.

3.4.2. Hiệu quả của chế phẩm vi sinh vật đối với cây chè trên thí nghiệm diện hẹp

- Kết quả cho thấy, các chỉ tiêu mùi vị và màu sắc ở các công thức thí nghiệm là không sai khác. Các chỉ tiêu hàm lượng tro, cafein và tanin tuy có giảm khi tăng lượng chế phẩm vi sinh vật song giá trị thay đổi rất nhỏ, không sai khác nhiều.

- Chất lượng chè trong các công thức sử dụng chế phẩm không khác biệt so với công thức đối chứng (không sử dụng chế phẩm). Khi sử dụng chế phẩm, hàm lượng Chlorpyrifos trong chè giảm lần lượt ở Nghệ An là 77,66%; hiệu quả xử lý Chlorpyrifos trong đất đạt 72-76%..

3.4.3. Hiệu quả của chế phẩm vi sinh vật đối với cây chè thí nghiệm diện rộng

- Chế phẩm vi sinh vật không ảnh hưởng đến chất lượng chè kinh doanh. Sự có mặt của 2 chủng vi sinh vật *M. populi* CNN2 và *E. adharens* VNN3 trong chế phẩm đã có tác dụng làm giảm Chlorpyrifos trong đất trồng chè và sản phẩm.

- Chế phẩm vi sinh được phát triển trong nghiên cứu này cho thấy hiệu quả phân hủy cao hơn trong thời gian ngắn hơn – đạt 81,4% (CNN2) và 95,2% (VNN3) chỉ trong 3 ngày nuôi cấy (kết quả mục 3.3).

- Kết quả xử lý dư lượng CPF bằng chế phẩm trên đất trồng chè cho thấy mức giảm từ 11 đến 16 lần so với đối chứng và giảm hơn 76% trong các ứng dụng diện nhỏ.

3.5. Hiệu quả của chế phẩm vi sinh vật đối với cây chè:

3.5.1.Thí nghiệm diện hẹp:

Nghiên cứu được thực hiện tại xã Hùng Sơn, huyện Anh Sơn, tỉnh Nghệ An. Hùng Sơn là một xã miền núi thuộc huyện Anh Sơn, Tây tỉnh Nghệ An. Huyện Anh Sơn được UNESCO đưa vào danh sách các địa danh thuộc Khu dự trữ sinh quyển miền tây Nghệ An. Phân tích hàm lượng Chlorpyrifos trong đất trồng chè trước thí nghiệm và các công thức bón chế phẩm, số liệu thu được ghi lại trong bảng 3.24.

Bảng 3.24. Dư lượng CPF trong đất trồng chè tại Nghệ An.

Giai đoạn sản xuất chè	Công thức thí nghiệm	Dư lượng Chlorpyrifos (mg/kg)
Kiến thiết	ĐC: Không CP	<0,002
	Bón CP 100kg/ha	<0,002
	Bón CP 200kg/ha	<0,002
	Bón CP 300kg/ha	<0,002
Kinh doanh	ĐC: Không CP	0,042
	Bón CP 100kg/ha	0,012
	Bón CP 200kg/ha	0,011
	Bón CP 300kg/ha	0,011

Ở đất trồng chè kinh doanh, tất cả các công thức đều phát hiện Chlorpyrifos với các nồng độ khác nhau. Cụ thể, ở công thức đối chứng—không sử dụng chế phẩm thì hàm lượng Chlorpyrifos là 0,042 mg/kg, nhưng ở công thức thí nghiệm – sử dụng chế phẩm vi sinh vật ở liều lượng 100-300 kg/ha thì kết quả cho thấy hàm lượng Chlorpyrifos giảm chỉ còn 0,011-0,012 mg/kg (tương đương giảm 72-76%).

3.5.2. Thí nghiệm diện rộng:

Bảng 3.30. Dư lượng CPF trong đất trồng chè

Loại hình sản xuất chè	Công thức thí nghiệm	Dư lượng Chlorpyrifos (mg/kg)
Kinh doanh	Trước thí nghiệm	0,064
	Đối chứng	<0,032
	Thí nghiệm	<0,002
Kiến thiết	Trước thí nghiệm	0,042
	Đối chứng	<0,022
	Thí nghiệm	<0,002

Qua bảng số liệu cho thấy, mẫu đất ở thời điểm trước thí nghiệm ở chè kinh doanh và chè kiến thiết đều có phát hiện thấy Chlorpyrifos ở giá trị lần lượt là 0,064 và 0,042 mg/kg. Song khi phân tích hàm lượng OP trong đất tại thời điểm sau thí nghiệm ở cả hai công thức đối chứng dư lượng Chlorpyrifos giảm so với ban đầu, điều này có thể do dư lượng Chlorpyrifos có thể bị rửa trôi, phân hủy tự nhiên dưới tác động của các yếu tố thời tiết (mưa, nắng, gió, v.v.). Ở các công thức thí nghiệm có sử dụng chế phẩm VSV thì dư lượng Chlorpyrifos còn lại là rất thấp (<0,002 mg/kg). Kết quả này khẳng định thêm hiệu quả của vi sinh vật trong chế phẩm đã phát huy được vai trò của chúng trong xử lý dư lượng Chlorpyrifos trong đất trồng chè.

Chương IV: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận:

1. Từ 20 mẫu đất trồng chè thu thập từ Thái Nguyên, Nghệ An, đề tài Luận án đã phân lập được 4 chủng vi sinh vật có hoạt tính phân hủy Chlorpyrifos. Kết quả phân loại theo Bergey và định danh bằng kỹ thuật sinh học phân tử đã lựa chọn được 2 chủng vi sinh vật có ký hiệu *Methylobacterium populi* CNN2 và *Ensifer adhaerens* VNN3 có khả năng phân hủy Chlorpyrifos, có tính an toàn sinh học và đủ điều kiện làm vật liệu phục vụ cho nghiên cứu sản xuất chế phẩm vi sinh vật phân hủy thuốc BVTV chứa gốc Lân hữu cơ.

2. Đề tài Luận án nghiên cứu xây dựng được quy trình công nghệ lên men nhân sinh khối trên các chủng *Methylobacterium populi* CNN2 và *Ensifer adhaerens* VNN3 và quy trình sản xuất chế phẩm vi sinh vật xử lý dư lượng thuốc BVTV có chứa gốc Lân hữu cơ:

- Chủng *Methylobacterium populi* CNN2: pH môi trường lên men: 6,5; Nhiệt độ lên men sinh khối: 30°C; Thời gian lên men sinh khối: 72 giờ; Tỷ lệ giống cấp 1: 3%; Môi trường lên men sinh khối: SX1; Lưu lượng cấp khí 0,7 dm³ không khí/dm³ môi trường/phút; mật độ tế bào đạt $\geq 10^8$ CFU/ml, hoạt tính sinh học ổn định.

- Chủng *Ensifer adhaerens* VNN3: pH môi trường lên men: 7,0; Nhiệt độ lên men sinh khối: 30°C; Thời gian lên men sinh khối: 48 giờ; Tỷ lệ giống cấp 1: 3%; Môi trường lên men sinh khối: SX1; Lưu lượng cấp khí 0,7 dm³ không khí/dm³ môi trường/phút; mật độ tế bào đạt $\geq 10^8$ CFU/ml, hoạt tính sinh học ổn định.

Chế phẩm vi sinh vật xử lý dư lượng thuốc BVTV có chứa gốc Lân hữu cơ, mật độ chủng vi sinh vật $\geq 10^8$ CFU/g và chất lượng ổn định sau 9 tháng bảo quản điều kiện bình thường.

3. Kết quả đánh giá hiệu quả của chế phẩm vi sinh vật trên đất trồng chè diện hẹp tại xã Hùng Sơn, huyện Anh Sơn, Nghệ An cho thấy: Chất lượng chè trong các công thức sử dụng chế phẩm không khác biệt so

với công thức đối chứng (không sử dụng chế phẩm). Khi sử dụng chế phẩm, hàm lượng Chlorpyrifos trong chè giảm 77,66%; hiệu quả xử lý Chlorpyrifos trong đất đạt 72-76%: cây chè sinh trưởng tốt hơn, các chỉ tiêu sinh trưởng về chiều cao, rộng tán, chiều dài búp, khối lượng búp và mật độ búp ở công thức thí nghiệm đều cao hơn công thức đối chứng.

4. Kết quả đánh giá hiệu quả của chế phẩm vi sinh vật trên đất trồng chè diện rộng tại xã Hùng Sơn, huyện Anh Sơn, Nghệ An cho thấy: Sử dụng chế phẩm ở liều lượng 10kg/ha giúp cây chè sinh trưởng tốt hơn, các chỉ tiêu sinh trưởng về chiều cao, rộng tán, chiều dài búp, khối lượng búp và mật độ búp ở công thức thí nghiệm đều cao hơn công thức đối chứng; Năng suất chè kinh doanh tăng 16,48%, chè kiến thiết tăng 27,78%; khi sử dụng chế phẩm với liều lượng 100kg/ha có thể xử lý được dư lượng Chlorpyrifos trong đất và trong lá chè. Chế phẩm VSV của đề tài Luận án còn có tác dụng tương hỗ giúp cho sự phát triển của quần thể vi sinh vật trong đất trồng chè phát triển, đặc biệt là nhóm vi sinh vật có ích cố định đạm tự do.

Kiến nghị:

Ứng dụng vi sinh vật trong xử lý ô nhiễm, cải thiện chất lượng môi trường, đặc biệt môi trường nông nghiệp là một trong những giải pháp thân thiện, sinh thái do vậy cần tiếp tục tiến hành nghiên cứu khai thác ứng dụng thêm các chủng vi sinh vật có ích khác (VSV cố định đạm, phân giải Lân, VSV kháng VSV gây bệnh thực vật) cùng kết hợp với việc khai thác sử dụng những chủng vi sinh vật có hoạt tính phân hủy dư lượng thuốc BVTV trong đất để tạo ra những sản phẩm tốt hơn, đa hoạt tính hơn đáp ứng được yêu cầu của thực tiễn và để hướng tới nền sản xuất nông nghiệp hữu cơ bền vững.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1) Lương Hữu Thành, Vũ Thúy Nga, Đàm Trọng Anh, Nguyễn Ngọc Quỳnh, Nguyễn Thị Thu, Đàm Thị Huyền, Hứa Thị Sơn, Vũ Tiến Đức, Trần Thị Như Hằng, Nguyễn Thành Lam (2020), “Nghiên cứu khả năng sử dụng chế phẩm vi sinh vật phân hủy thuốc bảo vệ thực vật chứa gốc lân hữu cơ và kích thích sinh trưởng thực vật đối với cây chè”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 12(121).

2) Nguyễn Thành Lam, Lương Hữu Thành, Vũ Thúy Nga, Nguyễn Ngọc Quỳnh, Đàm Trọng Anh, Đàm Thị Huyền, Nguyễn Kiều Băng Tâm (2023), “Thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ và khả năng sử dụng vi sinh vật để xử lý”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 07 (149).

3) Lam Thanh Nguyen, Tam Bang Kieu Nguyen, Thanh Huu, Huyen Thi Dam, Phuong Minh Nguyen (2023), Isolation and characterization of chlorpyrifos-degrading bacteria in tea-growing soils, *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 11(3), pp. 563 – 571.

4) Lam Thanh Nguyen, Tam Bang Kieu Nguyen, Le Duc Trung, Pham Hoang Thuong, Do Vinh Duong, Thanh Tran (2024), “Enhancing Soil Bioremediation: Microbial Composting Strategies for the Degradation of Chlorpyrifos Ethyl in Agricultural Soils”, *Second International Conference on Sustainable Technologies in Civil and Environmental Engineering* (E3S Web of Conferences 559, 04026, ICSTCE 2024).

5) Duong Thi Thanh Xuyen, Luong Huu Thanh, Nguyen Ngoc Quynh, Vu Thuy Nga, Dam Trong Anh, Nguyen Thanh Lam, Nguyen Kieu Bang Tam (2024), “Potential use of microbial product to degrade Chlorpyrifos in tea cultivation soil”, *Earth and Environmental Sciences*, 40(4), pp. 88-96.