

# PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN DÒNG VI KHUẨN TÍA QUANG HỢP KHÔNG LƯU HUỖNH CÓ KHẢ NĂNG XỬ LÝ SULFIDE TRONG MÔI TRƯỜNG NƯỚC NUÔI TRỒNG THỦY SẢN TẠI THỊ XÃ ĐÔNG HÒA, TỈNH PHÚ YÊN

Huỳnh Tấn Trọng<sup>1</sup>, Trương Phước Thiên Hoàng<sup>2</sup>, Võ Trần Quốc Thắng<sup>2</sup>, Lê Quốc Huy<sup>1</sup>, Lê Phước Thọ<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Khoa Khoa học Sinh học, Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Nghiên cứu Công nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>3</sup>Công ty TNHH Bio Nông Lâm, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

## TÓM TẮT

Trong nuôi trồng thủy sản, việc kiểm soát hàm lượng sulfide trong môi trường nước là vấn đề rất quan trọng bởi đây là tác nhân gây chết đối với động vật thủy sản và gây ra mùi hôi thối trong ao nuôi. Trong nghiên cứu này, phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn tia quang hợp không lưu huỳnh từ 20 mẫu nước tại các ao nuôi thủy sản trên địa bàn thị xã Đông Hòa, tỉnh Phú Yên. Kết quả phân lập được 8 chủng vi sinh được ký hiệu từ T1, T2,... đến T8 có khả năng xử lý sulfide, trong đó chủng T8 được định danh sinh học phân tử xác định là *Rhodospseudomonas palustris*. Trong điều kiện kỵ khí, ánh sáng tự nhiên, chủng T8 có khả năng loại bỏ sulfide cao (96,7% sulfide khi nuôi ở môi trường có hàm lượng sulfide 10 mg/L). Ở các nồng độ muối từ 0‰ – 40‰ chủng T8 tăng sinh tốt và đạt mật số từ 4,57 Log<sub>10</sub> CFU/mL (tương đương 3,72 x 10<sup>4</sup> CFU/mL, ở nồng độ muối 40‰) đến 7,31 Log<sub>10</sub> CFU/mL (2,04 x 10<sup>7</sup> CFU/mL, ở nồng độ muối 10‰). Điều kiện pH từ 6 – 7, độ rọi từ 1500 đến 3000 LUX (chiếu sáng liên tục 24/24 giờ) là phù hợp nhất để chủng T8 tăng sinh với mật số cao từ 9,67 đến 9,83 Log<sub>10</sub> CFU/mL (4,68 đến 6,76 x 10<sup>9</sup> CFU/mL). Khả năng loại bỏ sulfide ngoài ao nuôi thực tế của chủng T8 cho thấy, sau 2, 4 và 7 ngày xử lý thì lượng sulfide trong ao nuôi thủy sản giảm từ 1,716 mg/L xuống lần lượt còn 1,464, 0,911 và 0,162 mg/L (giảm 90,56%). Như vậy, vi khuẩn *Rhodospseudomonas palustris* (T8) có tiềm năng cao để ứng dụng vào thực tiễn nhằm xử lý hiệu quả sulfide trong môi trường nước nuôi trồng thủy sản.

**Từ khóa:** Nuôi trồng thủy sản, phân lập, *Rhodospseudomonas palustris*, sulfide, vi khuẩn tia quang hợp.

## MỞ ĐẦU

Theo Sở Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn tỉnh Phú Yên, ước tính năm 2023 toàn tỉnh nuôi trồng được 2.669 ha thủy sản, sản lượng thủy sản thu hoạch lũy kế 11 tháng đầu năm được 17.058 tấn, tăng 3,8% so với cùng kỳ. Hiện nay quy mô nuôi trồng thủy sản từ nhỏ đến vừa, chủ yếu tập trung vào các loại tôm cá với hình thức nuôi ao đất và lồng bè. Bên cạnh đó, vấn đề quản lý chất lượng môi trường nước và dịch bệnh trong nuôi trồng thủy sản cũng là thách thức lớn tại Phú Yên. Trong khi đó, Phú Yên có điều kiện tự nhiên và địa lý thích hợp để phát triển ngành thủy sản, tiềm năng đa dạng loài thủy sản và mở rộng quy mô nuôi trồng thủy sản tại Phú Yên rất lớn. Vì vậy, cần có thêm nhiều nghiên cứu khoa học để đưa ra các giải pháp hữu ích cho việc nuôi trồng thủy sản tại Phú Yên.

Ô nhiễm môi trường nước là vấn đề nhức nhối trong nuôi trồng thủy sản, trong đó ô nhiễm hữu cơ dạng sulfide là phổ biến nhất. Hàm lượng sulfide từ thức ăn dư thừa, xác tảo, mùn hữu cơ, vỏ tôm và phân thải của các loài sinh vật... tích tụ tại đáy ao nuôi được vi sinh vật chuyển hóa thành khí tác động tiêu cực đến quá trình sinh trưởng và phát triển của các loài thủy sản. Có 3 loại sulfide (H<sub>2</sub>S, HS<sup>-</sup> và S<sup>2-</sup>) chúng tồn tại ở mức cân bằng phụ thuộc vào nhiệt độ và pH. Độ độc của sulfide chủ yếu do H<sub>2</sub>S gây ra vì nó ức chế quá trình oxy hóa cytochrom a<sub>3</sub> trong quá trình hô hấp (Nicholls *et al.*, 2013). Các biện pháp dùng hóa chất để xử lý sulfide chỉ mang tính chất tức thời, bị động, đồng thời làm gia tăng nguy cơ gây ô nhiễm môi trường nước nuôi trồng thủy sản. Do đó, để phòng ngừa và xử lý sulfide chủ động và thân thiện với môi trường thì việc sử dụng một số vi sinh vật có khả năng xử lý và kiểm soát tốt hàm lượng sulfide là một biện pháp phù hợp.

Vi khuẩn tia quang hợp không lưu huỳnh là nhóm vi sinh vật nhân sơ với khả năng đặc biệt về trao đổi carbon, khả năng cố định nitơ phân tử, khả năng sử dụng các hợp chất khử của lưu huỳnh làm chất cho điện tử trong quang hợp. Các chủng vi khuẩn này có thể sử dụng ánh sáng mặt trời để quang hợp nhờ có sắc tố bacteriochlorophyll trong tế bào. Vì vậy, chúng có nhiều kiểu dinh dưỡng như: quang tự dưỡng, quang dị dưỡng hoặc hóa dị dưỡng tùy thuộc vào sự có mặt của ánh sáng, oxy và nguồn carbon. Vi khuẩn tia quang hợp là vi khuẩn Gram âm, đơn bào, có nhiều hình dạng như: hình cầu, xoắn, hình que ngắn, hình phẩy đứng riêng lẻ hoặc đứng thành chuỗi trong những điều kiện môi trường đặc biệt. Kích thước tế bào thường từ 0,3 – 6 μm, sinh sản bằng cách nhân đôi hoặc nảy chồi (Bergey's, 2001).

Những năm gần đây vi khuẩn tía quang hợp không lưu huỳnh đang là đối tượng được quan tâm trong lĩnh vực môi trường. Zhang và đồng tác giả (2014) đã phân lập chủng *Rhodospseudomonas palustris* và tạo chế phẩm sinh học để xử lý nitơ trong nước ao nuôi cá Trắm Cỏ ở Trung Quốc. Với mục tiêu loại bỏ các kim loại nặng từ nước thải gia cầm nhóm nghiên cứu của Sayadi và đồng tác giả (2018) tại Iran đã sử dụng hai loài vi khuẩn *Rhodobacter capsulatus* và *Rhodobacter blasticus* nhằm đánh giá hiệu quả xử lý. Tuy nhiên, ở Việt Nam thì các sản phẩm vi sinh được ứng dụng để xử lý sulfide hoặc có giá thành cao hoặc chưa hiệu quả trong thực tiễn. Vì vậy ở nghiên cứu này, sẽ tiến hành phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn tía quang hợp không lưu huỳnh từ các mẫu nước thu tại các ao trên địa bàn thị xã Đông Hòa, tỉnh Phú Yên có khả năng kiểm soát tốt sulfide trong môi trường nước nuôi trồng thủy sản. Kết quả của nghiên cứu sẽ giúp tăng hiệu quả nuôi trồng thủy sản, bảo vệ môi trường và phát triển kinh tế bền vững.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Vật liệu

Mẫu nước được thu từ 20 ao (tôm thẻ chân trắng, cua biển, vẹm xanh và cá diêu hồng) ở các khu nuôi thủy sản trên địa thị xã Đông Hòa, tỉnh Phú Yên. Mẫu được thu theo TCVN 8880:2011 “Chất lượng nước – lấy mẫu để phân tích vi sinh” quy trình lấy mẫu để phân tích vi sinh vật và yêu cầu vận chuyển, xử lý và bảo quản mẫu cho đến khi bắt đầu phân tích. Sử dụng chai nhựa sạch dung tích 1000 mL, mẫu nước được lấy ở 5 – 6 vị trí khác nhau, độ sâu cách mặt nước khoảng 1 đến 1,5 m và cách bờ khoảng 1 m mỗi ao, đậy kín, đánh số, ghi địa điểm lấy mẫu, bảo quản lạnh và được vận chuyển về phòng thí nghiệm, giữ ở 4°C. Các mẫu được phân lập trong vòng không quá 24 giờ.

### Phương pháp nghiên cứu

#### Phân lập các chủng vi khuẩn tía quang hợp không lưu huỳnh

Mẫu nước được tăng sinh vi khuẩn tía quang hợp bằng phương pháp Winogradsky’s (Hunter *et al.*, 2009). Các mẫu nước cho vào các chai thủy tinh thể tích 500 mL riêng biệt, sau đó bổ sung thêm 5 g CaSO<sub>4</sub> và 10 g cellulose vào và trộn đều. Một lớp paraffin với độ dày 1 cm được bổ sung trên bề mặt nhằm ngăn cản sự hòa tan chất khí vào môi trường nuôi cấy. Nuôi cấy ở nhiệt độ 28 – 30°C, cường độ chiếu sáng 2500 LUX. Sau 2 tuần nuôi cấy, lấy 10 mL dung dịch trên cho vào 90 mL môi trường DSMZ – 27 và nuôi cấy ở cùng điều kiện. Sau khoảng một tuần, các vạch màu từ nâu vàng đến đỏ tía xuất hiện trên thành bình biểu hiện sự có mặt sắc tố đặc trưng của vi khuẩn tía quang hợp không lưu huỳnh (Nguyễn Trọng Phước *et al.*, 2021). Lấy mẫu từ những bình có vạch màu rồi tiến hành phân lập trên đĩa petri chứa môi trường thạch DSMZ – 27 (bổ sung 2% agar vào môi trường DSMZ – 27). Tiến hành pha loãng xuống các nồng độ 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup> và cấy trang trên đĩa petri chứa môi trường thạch DSMZ – 27 agar, ủ ở điều kiện kỵ khí (trong tủ ủ CO<sub>2</sub>), nhiệt độ từ 28 – 30°C, chiếu sáng. Sau khoảng 3 – 5 ngày xuất hiện các khuẩn lạc tròn có màu nâu, vàng đến đỏ tía. Các khuẩn lạc này được làm thuần theo phương pháp cấy ria trên môi trường DSMZ – 27 agar và tiến hành xác định các đặc điểm hình dạng, màu sắc, hình thái tế bào bằng phương pháp nhuộm Gram và quan sát dưới vật kính 100X.

#### Khảo sát khả năng khử sulfide của các chủng vi khuẩn đã được làm thuần ở từng nồng độ muối NaCl khác nhau

Các chủng vi khuẩn quang hợp tía không lưu huỳnh được tuyển chọn nuôi trong 100 mL môi trường DSMZ – 27 lỏng, ánh sáng tự nhiên. Bố trí thí nghiệm 3 yếu tố hoàn toàn ngẫu nhiên: (1) yếu tố A là các chủng vi khuẩn từ T1 đến T8, (2) yếu tố B là nồng độ Na<sub>2</sub>S ban đầu (mg/L): 10; 20 và (3) yếu tố C là điều kiện tăng sinh: hiếu khí; kỵ khí. Thí nghiệm được tiến hành với 32 nghiệm thức, lặp lại 3 lần. Khả năng khử sulfide của các chủng vi khuẩn được xác định thông qua hàm lượng sulfide còn lại bằng phương pháp Methylene Blue sau 7 ngày nuôi cấy. Thuốc thử: dung dịch PRE 1: 500 mL HCl 37% pha thành 1000 mL với nước cất, dung dịch A: Hòa tan 4 g C<sub>8</sub>H<sub>14</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub> trong PRE 1 thành 1000 mL, dung dịch B: Hòa tan 16 g FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O trong PRE 1 thành 1000 mL. Tiến hành: định mức 20 mL mẫu vào bình thủy tinh. Sau đó lần lượt cho vào 1 mL thuốc thử A, 1 mL thuốc thử B. Chờ 5 phút đến khi màu xanh xuất hiện tiến hành đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 665 nm. Tương ứng với nồng độ C của mẫu ta được độ hấp thụ quang A. Dựa vào độ tương quan này để lập phương trình tương quan dạng A = aC + b và xác định hàm lượng sulfide trong mẫu.

Các chủng vi khuẩn có khả năng khử sulfide tốt ở thí nghiệm trên được tuyển chọn và nuôi cấy trong 100 mL môi trường DSMZ – 27 lỏng chứa Na<sub>2</sub>S có nồng độ 10 mg/L ở điều kiện kỵ khí, ánh sáng tự nhiên với các nồng độ NaCl được bổ sung vào môi trường là 0, 10, 20, 30, 40‰ (Nguyễn Ngọc Phước *et al.*, 2021; Trần Việt Quyền *et al.*, 2022). Khả năng khử sulfide của các chủng vi khuẩn được xác định thông qua hàm lượng sulfide còn lại bằng phương pháp Methylene Blue, đồng thời tiến hành xác định mật độ vi khuẩn bằng phương pháp đo mật độ quang (OD) ở bước sóng 660 nm sau 7 ngày. Xây dựng đường chuẩn tương quan giữa OD và mật độ tế bào (log<sub>10</sub> CFU/mL): dịch tăng sinh sau 7 ngày nuôi cấy được pha loãng đạt các giá trị OD lân cận là: 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5. Xác định giá trị thực tế OD ở 660 nm bằng phương pháp cấy trang trên đĩa môi trường DSMZ – 27 agar để xác định mật độ vi khuẩn.

#### Khảo sát khả năng tăng sinh của các chủng vi khuẩn ở điều kiện pH và độ rọi khác nhau

Từ thí nghiệm khảo sát khả năng khử sulfide và chịu mặn ở trên chọn ra 2 chủng có đặc tính tốt. Tiến hành nhân nuôi sinh khối trong bình hình trụ với 100 mL môi trường DSMZ – 27 (bổ sung 100 µL với mật độ vi khuẩn 10<sup>5</sup>

CFU/mL). Bố trí thí nghiệm 2 yếu tố hoàn toàn ngẫu nhiên: (1) yếu tố A là pH: 5; 6; 7; 8 và (2) yếu tố B là cường độ chiếu sáng LUX (độ rọi): 750 LUX; 1500 LUX; 3000 LUX (chiếu sáng liên tục 24/24 giờ). Thí nghiệm được tiến hành với 12 nghiệm thức, lặp lại 3 lần, chỉ tiêu theo dõi là mật độ vi khuẩn. Ghi nhận kết quả sau mỗi 24 giờ trong vòng 7 ngày bằng phương pháp đo mật độ quang (OD) ở bước sóng 660 nm.

**Định danh các chủng vi khuẩn bằng kỹ thuật sinh học phân tử**

Chủng vi khuẩn được tuyển chọn và nuôi cấy tăng sinh trong môi trường DSMZ – 27 lỏng, ở điều kiện kỵ khí có chiếu sáng (cường độ chiếu sáng 3000 LUX) trong vòng 7 ngày. Tiến hành ly trích DNA tổng số của vi khuẩn. Thực hiện phản ứng PCR với các thành phần: 2,5 µL đệm PCR; 0,5 µL DNA tổng số; 0,5 µL dNTPs; 1 µL mỗi loại mỗi và 0,2 µL Taq polymerase. 27F: 5' AGAGTTTGATCCTGGCTCAG 3'; 1492R: 5' GGTTACCTTGTACGACTT 3' (Lane, 1991). Chu trình nhiệt của phản ứng PCR gồm: Chu kỳ đầu biến tính ở 95°C trong vòng 5 phút; Các chu kỳ sau biến tính 95°C trong 30 giây; Bắt cặp mỗi ở 52°C trong 1 phút; kéo dài mạch ở 72°C trong 30 giây (thực hiện 35 chu kỳ). Chu kỳ cuối thực hiện ở 72°C trong 5 phút; rồi hạ nhiệt độ xuống 4°C. Sản phẩm PCR được chạy điện di và Giải trình tự bằng bộ hóa chất BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit trên máy ABI 3500. Xây dựng cây phát sinh loài, kết quả đọc trình tự được so sánh trên ngân hàng gene NCBI để định danh loài. Sau đó xây dựng cây phát sinh loài bằng phần mềm MEGA 11. Các trình tự DNA được kiểm tra và được xác nhận với công cụ BLAST.

**Khảo sát khả năng xử lý sulfide của vi khuẩn *Rhodospseudomonas palustris* (T8) điều kiện ngoài ao nuôi**

Chủng vi khuẩn có khả năng khử sulfide và chịu mặn tốt, sẽ được nhân nuôi sinh khối trong môi trường DSMZ – 27 lỏng, ở nhiệt độ 28 – 30°C. Sau 7 ngày, đo quang phổ hấp phụ ở 660 nm (OD660) xác định mật độ vi khuẩn. Tiến hành thu mẫu nước ở các vị trí gần đáy ao, gần bờ ao, giữa ao và gần hệ thống cấp thoát nước, sau khi thu thập đủ số lượng mẫu từ các vị trí và độ sâu khác nhau, trộn đều các mẫu này lại để tạo thành một mẫu tổng hợp nhằm đảm bảo tính đại diện cho toàn bộ ao. Mẫu nước được thu tại ao nuôi tôm của hộ Trần Văn Kiều, thôn Phước Long, xã Hòa Tâm, thị xã Đông Hòa, tỉnh Phú Yên và xác định hàm lượng sulfide trước xử lý. Sau đó, lấy 1 lít dịch vi khuẩn pha vào 100 lít nước sạch, rồi tạt đều xuống ao nuôi thủy sản chứa 1000 m<sup>3</sup> nước, trong điều kiện ánh sáng tự nhiên, không sục khí. Thu mẫu nước theo TCVN 5993:1995 (ISO 5667-3: 1985) về chất lượng nước - lấy mẫu – hướng dẫn bảo quản và xử lý mẫu, xác định chỉ số sulfide sau mỗi 24 giờ trong vòng 7 ngày xử lý.

**Phương pháp xử lý số liệu**

Kết quả được thể hiện dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn của ba lần lặp lại. Số liệu được phân tích trắc nghiệm phân hạn bằng phần mềm xử lý số liệu thống kê chuyên dụng Minitab 17. Kiểm định Tukey được thực hiện để đánh giá mức độ khác biệt có ý nghĩa giữa các giá trị với mức ý nghĩa p < 0,05.

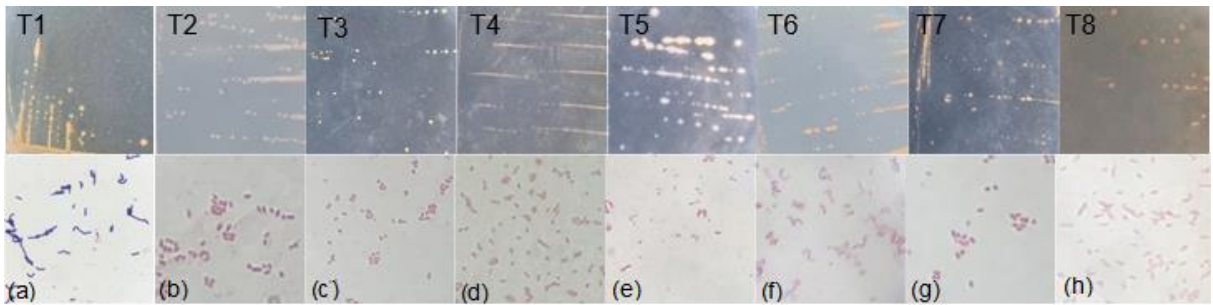
**KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**Kết quả phân lập vi khuẩn tía quang hợp không lưu huỳnh**

**Bảng 1. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn phân lập được**

Ký hiệu	Phân lập tại	Hình dạng	Đường kính khuẩn lạc	Bề mặt	Sắc tố	Gram	Hình thái tế bào
T1	Ao nuôi tôm	Tròn	3,1 – 3,5 mm	Nhầy, lồi	Cam	+	Que
T2	Ao nuôi cua	Tròn	2,1 – 2, 5 mm	Lồi	Hồng	-	Cầu
T3	Ao nuôi tôm	Tròn	1,5 – 1,8 mm	Lồi	Cam	-	Cầu
T4	Ao nuôi cá	Tròn	1,0 – 1,3 mm	Lồi	Hồng	-	Cầu
T5	Ao nuôi cá	Tròn	4,3 – 4,8 mm	Nhầy, lồi	Cam	-	Que ngắn
T6	Ao nuôi tôm	Tròn	2,3 – 2,6 mm	Lồi	Cam	-	Cầu
T7	Ao nuôi tôm	Tròn	2,0 – 2,2 mm	Lồi	Cam	-	Cầu
T8	Ao nuôi vẹm xanh	Tròn	3,5 – 3,8 mm	Lồi	Đỏ tía	-	Que ngắn

Từ 20 mẫu nước đã phân lập được 8 chủng vi khuẩn với hình dạng, màu sắc khuẩn lạc và hình thái tế bào trong môi trường DSMZ – 27 agar được thể hiện ở bảng 1. Từ bảng 1 nhận thấy, ghi nhận được 5/8 chủng có màu cam 62,5%, 2/8 chủng có màu hồng chiếm 25%, 1/8 chủng có màu đỏ tía chiếm 12,5%. Bề mặt khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn hầu hết là lồi, tròn, riêng chủng T1 và T5 nhận thấy có thêm đặc điểm nhầy nhớt. Tất cả 8 chủng vi khuẩn phân lập được nhuộm Gram và quan sát dưới kính hiển vi vật kính 100X, cho kết quả 7/8 chủng là Gram âm 87,5%, 1/8 chủng là Gram dương 12,5%. Trong đó 1/8 chủng hình que chiếm 12,5%, 2/8 chủng hình que ngắn 25% và 5/8 chủng hình cầu chiếm 62,5%. Theo Bergey's (2001), vi khuẩn tía quang hợp là vi khuẩn Gram âm, đơn bào, có nhiều hình dạng như: hình cầu, xoắn, hình que ngắn, hình phẩy đứng riêng lẻ hoặc đứng thành chuỗi trong những điều kiện môi trường đặc biệt. Cụ thể hình khuẩn lạc mọc trên môi trường DSMZ – 27 bổ sung 2% agar trong đĩa petri và hình thái tế bào soi dưới kính hiển vi của từng chủng được thể hiện ở hình 1.



**Hình 1.** Khuẩn lạc và hình thái tế bào của vi khuẩn tía quang hợp sau 5 ngày dưới vật kính 100X.  
(a) chủng T1; (b) chủng T2; (c) chủng T3; (d) chủng T4; (e) chủng T5; (f) chủng T6; (g) chủng T7; (h) chủng T8.

**Kết quả khảo sát khả năng xử lý sulfide của các chủng vi khuẩn ở từng nồng độ muối NaCl khác nhau**

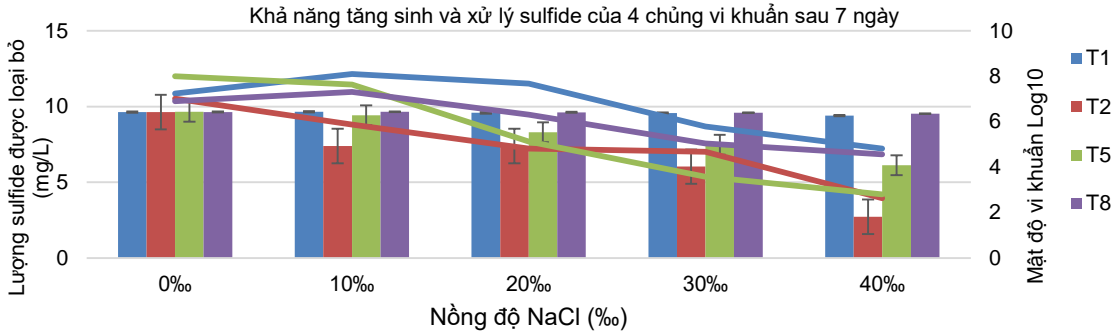
Chọn lọc 8 chủng vi khuẩn được nuôi cấy tăng sinh cấp 1 trong môi trường DSMZ – 27 lỏng. Sau 7 ngày, tiến hành tăng sinh cấp 2 trên môi trường DSMZ – 27 lỏng chứa Na<sub>2</sub>S có nồng độ 10 và 20 mg/L ở điều kiện hiếu khí và kỵ khí.

**Bảng 2.** Hiệu suất xử lý sulfide của các chủng vi khuẩn sau 7 ngày nuôi cấy

Ký hiệu chủng	Hiệu suất loại bỏ sulfide (%)			
	Hiếu khí (10 mg/L)	Kỵ khí (10 mg/L)	Hiếu khí (20 mg/L)	Kỵ khí (20 mg/L)
T1	26,74 <sup>hi</sup> ± 0,50	96,52 <sup>a</sup> ± 0,15	12,44 <sup>o</sup> ± 0,25	68,28 <sup>d</sup> ± 0,09
T2	15,49 <sup>m</sup> ± 0,30	96,50 <sup>a</sup> ± 0,17	8,89 <sup>q</sup> ± 0,09	60,86 <sup>e</sup> ± 0,16
T3	16,37 <sup>m</sup> ± 0,38	18,55 <sup>k</sup> ± 0,19	10,42 <sup>p</sup> ± 0,16	20,19 <sup>r</sup> ± 0,09
T4	26,19 <sup>i</sup> ± 0,68	91,66 <sup>c</sup> ± 0,08	13,80 <sup>n</sup> ± 0,09	61,62 <sup>e</sup> ± 0,09
T5	16,37 <sup>m</sup> ± 0,80	96,68 <sup>a</sup> ± 0,02	7,58 <sup>r</sup> ± 0,19	68,01 <sup>d</sup> ± 0,19
T6	19,31 <sup>jk</sup> ± 0,38	94,85 <sup>b</sup> ± 0,08	5,66 <sup>s</sup> ± 0,16	50,76 <sup>g</sup> ± 0,25
T7	27,29 <sup>h</sup> ± 0,33	94,65 <sup>b</sup> ± 0,15	6,10 <sup>s</sup> ± 0,25	53,16 <sup>f</sup> ± 0,16
T8	17,35 <sup>l</sup> ± 0,19	96,66 <sup>a</sup> ± 0,07	12,71 <sup>o</sup> ± 0,16	68,28 <sup>d</sup> ± 0,19

Các giá trị trong cùng một bảng có các chữ cái a, b, c, d... giống nhau biểu thị khác biệt không có ý nghĩa thống kê (P = 0,05).

Dựa vào Bảng 2 cho thấy khả năng xử lý sulfide của các chủng vi khuẩn ở điều kiện kỵ khí cao hơn đáng kể so với điều kiện hiếu khí. Trong môi trường hiếu khí, oxy hiện diện có thể làm giảm khả năng xử lý sulfide của vi khuẩn do sự cạnh tranh về nguồn năng lượng. Một số loài vi khuẩn thường ưu tiên sử dụng oxy cho quá trình hô hấp hiếu khí, một quá trình cung cấp nhiều năng lượng hơn so với việc xử lý sulfide. Trong điều kiện kỵ khí, với hàm lượng sulfide ban đầu là 10 mg/L, chủng T5, T8, T1 và T2 có khả năng khử sulfide tốt nhất và không khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê giữa 4 chủng này, hiệu suất loại bỏ sulfide ở ngày thứ 7 lần lượt là: 96,68; 96,66; 96,52 và 96,5%. Chủng T3 khử sulfide thấp nhất, sau 7 ngày hiệu suất loại bỏ sulfide chỉ đạt 18,55%. Khi nồng độ sulfide ban đầu được tăng lên 20 mg/L, hiệu suất xử lý sulfide của các chủng vi khuẩn đều giảm so với ở nồng độ sulfide 10 mg/L. Sau 7 ngày ba chủng T1, T8 và T5 cho có năng loại bỏ sulfide tốt (hiệu suất 68,28; 68,28 và 68,01%) không khác biệt ý nghĩa, trong khi đó chủng T3 vẫn cho thấy hiệu quả xử lý thấp nhất. Có thể thấy, vi khuẩn tía quang hợp không lưu huỳnh có khả năng xử lý sulfide tối ưu trong khoảng nồng độ sulfide nhất định, khi nồng độ sulfide tăng lên gần ngưỡng chịu đựng, thì khả năng tăng sinh của vi khuẩn có thể giảm kéo theo hiệu suất xử lý sulfide giảm đi và chúng cần thêm thời gian để xử lý sulfide. Nếu nồng độ sulfide tiếp tục tăng lên mức cao hơn, có thể dẫn đến tình trạng ức chế hoàn toàn hoặc thậm chí là chết tế bào (Hunter *et al.*, 2009). Dựa vào kết quả trên chọn được 4 chủng vi khuẩn là T1, T2, T5 và T8 tiến hành khảo sát khả năng tăng sinh và xử lý sulfide ở các nồng độ muối từ 0 – 40‰.



Hình 2. Khả năng tăng sinh và xử lý sulfide sau 7 ngày của 4 chủng vi khuẩn T1, T2, T5 và T8 ở các nồng độ muối khác nhau

Từ hình 2 cho thấy chủng T1 và T8 có hiệu quả cao trong việc xử lý sulfide tại nồng độ muối 0‰ với lượng sulfide xử lý lần lượt là 9,64 mg/L và 9,65 mg/L. Tại nồng độ này, không có sự khác biệt đáng kể về mặt thống kê trong khả năng xử lý sulfide giữa các chủng vi khuẩn. Tương tự, chủng T5 thể hiện hiệu quả cao ở các nồng độ muối thấp, cụ thể là 0‰ và 10‰ với lượng sulfide xử lý lần lượt là 9,67 mg/L và 9,43 mg/L. Tuy nhiên, cả chủng T2 và T5 đều cho thấy sự hạn chế trong khả năng xử lý khi nồng độ NaCl trong môi trường tăng cao (ở nồng độ muối 40‰) lần lượt là 2,73 và 6,13 mg/L. Ngược lại, chủng T8 lại cho thấy khả năng xử lý sulfide ổn định tại các nồng độ muối khác nhau (9,54 mg/L ở 40‰). Dựa vào kết quả khảo sát mật độ vi sinh vật trên từng nồng độ muối, sau 7 ngày cả 4 chủng đều cho thấy sự phát triển mạnh mẽ ở mức nồng độ NaCl 0‰. Khi nồng độ NaCl tăng dần lên đến 40‰, sự tăng sinh của chúng bị suy giảm rõ rệt. Trong đó, chủng T2 và T5 chỉ đạt mật số vi khuẩn lần lượt là 2,63 và 2,80 Log<sub>10</sub> CFU/mL (tương đương 4,27 x 10<sup>2</sup> và 6,31 x 10<sup>2</sup> CFU/mL). Ngược lại, chủng T1 và T8 lại thể hiện khả năng thích ứng môi trường có độ mặn cao, với mật số vi khuẩn là 4,82 và 4,57 Log<sub>10</sub> CFU/mL (6,61 x 10<sup>4</sup> và 3,72 x 10<sup>4</sup> CFU/mL) tại 40‰. Ở nồng độ muối 10‰, cả hai chủng T1 và T8 duy trì được khả năng tăng sinh tốt đạt mật số lần lượt là 8,11 và 7,32 Log<sub>10</sub> CFU/mL (1,29 x 10<sup>8</sup> và 2,09 x 10<sup>7</sup> CFU/mL).

**Kết quả khảo sát khả năng tăng sinh của các chủng vi khuẩn ở từng điều kiện pH và độ rọi khác nhau**

Dựa vào bảng 3 cho thấy, sau 7 ngày nuôi cấy chủng T1 phát triển cao nhất ở pH từ 6 – 7 và cường độ chiếu sáng thích hợp ở 1500 đến 3000 LUX. Cho thấy khả năng thích nghi ở các điều kiện môi trường thay đổi khác nhau. Ở điều kiện pH = 7 cường độ chiếu sáng đạt 3000 LUX, sau 7 ngày nuôi cấy mật độ vi khuẩn đạt giá trị cao nhất 8,18 Log<sub>10</sub> CFU/mL (tương đương 1,51 x 10<sup>8</sup> CFU/mL). Chủng T1 thể hiện khả năng thích nghi và phát triển mạnh trong điều kiện pH trung tính và ánh sáng cao, cho thấy tiềm năng ứng dụng trong nhiều môi trường khác nhau, giúp tối ưu hóa quá trình nuôi cấy và sản xuất vi sinh vật.

Bảng 3. Khả năng tăng sinh của chủng T1 trong điều kiện pH và độ rọi khác nhau

Nghiệm thức (pH- độ rọi)	Mật độ vi khuẩn (Log <sub>10</sub> CFU/mL)						
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5	Ngày 6	Ngày 7
5 - 750	1,98 <sup>a</sup> ± 0,01	2,41 <sup>bc</sup> ± 0,03	2,93 <sup>b</sup> ± 0,03	4,04 <sup>de</sup> ± 0,05	4,64 <sup>de</sup> ± 0,02	5,75 <sup>d</sup> ± 0,02	7,08 <sup>e</sup> ± 0,02
6 - 750	2,04 <sup>a</sup> ± 0,03	2,42 <sup>abc</sup> ± 0,04	3,02 <sup>ab</sup> ± 0,02	4,06 <sup>de</sup> ± 0,04	4,70 <sup>cde</sup> ± 0,04	5,89 <sup>c</sup> ± 0,01	7,55 <sup>d</sup> ± 0,05
7 - 750	2,03 <sup>a</sup> ± 0,05	2,44 <sup>abc</sup> ± 0,05	3,03 <sup>ab</sup> ± 0,03	4,10 <sup>bcd</sup> ± 0,04	4,68 <sup>cde</sup> ± 0,04	5,96 <sup>c</sup> ± 0,04	7,60 <sup>cd</sup> ± 0,03
8 - 750	2,05 <sup>a</sup> ± 0,04	2,40 <sup>c</sup> ± 0,03	2,99 <sup>ab</sup> ± 0,03	4,01 <sup>e</sup> ± 0,05	4,60 <sup>e</sup> ± 0,05	5,90 <sup>c</sup> ± 0,02	7,16 <sup>e</sup> ± 0,03
5 - 1500	2,03 <sup>a</sup> ± 0,04	2,45 <sup>abc</sup> ± 0,02	2,99 <sup>ab</sup> ± 0,03	4,10 <sup>bcd</sup> ± 0,04	4,71 <sup>bcd</sup> ± 0,02	6,10 <sup>b</sup> ± 0,03	7,60 <sup>cd</sup> ± 0,02
6 - 1500	2,06 <sup>a</sup> ± 0,03	2,46 <sup>abc</sup> ± 0,03	3,03 <sup>a</sup> ± 0,01	4,12 <sup>bcd</sup> ± 0,03	4,77 <sup>abc</sup> ± 0,06	6,25 <sup>a</sup> ± 0,02	8,08 <sup>a</sup> ± 0,05
7 - 1500	2,07 <sup>a</sup> ± 0,06	2,46 <sup>abc</sup> ± 0,04	3,05 <sup>a</sup> ± 0,04	4,19 <sup>abc</sup> ± 0,04	4,77 <sup>abc</sup> ± 0,05	6,33 <sup>a</sup> ± 0,05	8,15 <sup>a</sup> ± 0,05
8 - 1500	2,08 <sup>a</sup> ± 0,01	2,44 <sup>abc</sup> ± 0,00	3,00 <sup>ab</sup> ± 0,02	4,07 <sup>cde</sup> ± 0,04	4,67 <sup>cde</sup> ± 0,02	6,25 <sup>a</sup> ± 0,02	7,69 <sup>bc</sup> ± 0,02
5 - 3000	2,07 <sup>a</sup> ± 0,04	2,48 <sup>abc</sup> ± 0,02	3,00 <sup>ab</sup> ± 0,03	4,19 <sup>abc</sup> ± 0,04	4,78 <sup>abc</sup> ± 0,02	6,12 <sup>b</sup> ± 0,03	7,66 <sup>bcd</sup> ± 0,04
6 - 3000	2,08 <sup>a</sup> ± 0,05	2,50 <sup>ab</sup> ± 0,03	3,04 <sup>a</sup> ± 0,02	4,21 <sup>ab</sup> ± 0,02	4,84 <sup>a</sup> ± 0,05	6,27 <sup>a</sup> ± 0,03	8,13 <sup>a</sup> ± 0,06
7 - 3000	2,07 <sup>a</sup> ± 0,04	2,51 <sup>a</sup> ± 0,03	3,07 <sup>a</sup> ± 0,07	4,25 <sup>a</sup> ± 0,03	4,8 <sup>ab</sup> ± 0,00	6,33 <sup>a</sup> ± 0,03	8,18 <sup>a</sup> ± 0,06
8 - 3000	2,04 <sup>a</sup> ± 0,05	2,47 <sup>abc</sup> ± 0,02	3,01 <sup>ab</sup> ± 0,03	4,16 <sup>abcd</sup> ± 0,04	4,74 <sup>abcd</sup> ± 0,03	6,27 <sup>a</sup> ± 0,05	7,75 <sup>b</sup> ± 0,03

Các giá trị trong cùng một cột có các chữ cái a, b, c, d, e giống nhau biểu thị khác biệt không có ý nghĩa thống kê (P = 0,05).

Dựa vào bảng 4 cho thấy, khả năng tăng sinh ở các điều kiện khác nhau của chủng T8 sau 7 ngày có sự phát triển tốt trong điều kiện pH từ 6 – 7, độ rọi thích hợp từ 1500 đến 3000 LUX, đạt mật số cao nhất ở 3000 LUX với

pH = 6 là 9,83 Log<sub>10</sub> CFU/mL (6,76 x 10<sup>9</sup> CFU/mL). Ở 750 LUX (tương tự điều kiện dưới đáy ao nuôi) vẫn có sự phát triển của vi khuẩn tía quang hợp với mật độ vi khuẩn khoảng 9,04 đến 9,29 Log<sub>10</sub> CFU/mL (1,10 x 10<sup>9</sup> đến 1,66 x 10<sup>9</sup> CFU/mL).

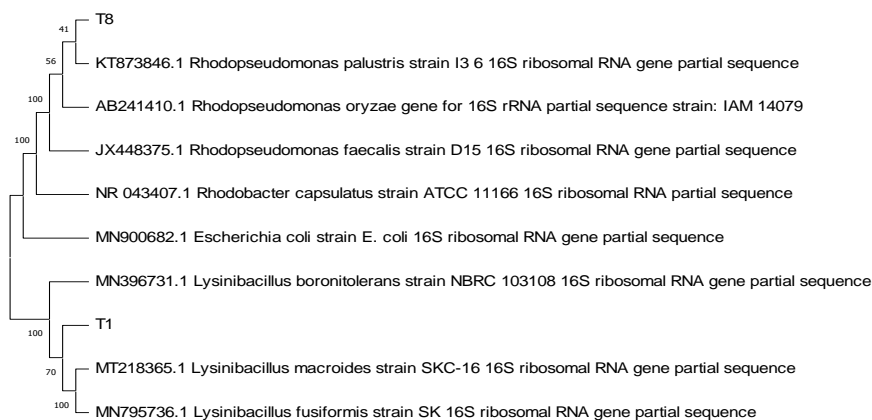
**Bảng 4. Khả năng tăng sinh của chủng T8 trong điều kiện pH và độ rọi khác nhau**

Thí nghiệm (pH- độ rọi)	Mật độ vi khuẩn (Log <sub>10</sub> CFU/mL)						
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5	Ngày 6	Ngày 7
5 - 750	2,14 ± 0,03	2,54 ± 0,04	3,20 <sup>b</sup> ± 0,03	4,66 <sup>e</sup> ± 0,02	5,76 <sup>f</sup> ± 0,08	7,58 <sup>g</sup> ± 0,04	9,04 <sup>f</sup> ± 0,06
6 - 750	2,13 ± 0,04	2,56 ± 0,01	3,28 <sup>ab</sup> ± 0,04	4,77 <sup>bcd</sup> ± 0,02	6,01 <sup>cde</sup> ± 0,08	7,96 <sup>de</sup> ± 0,04	9,29 <sup>e</sup> ± 0,03
7 - 750	2,14 ± 0,04	2,58 ± 0,03	3,27 <sup>ab</sup> ± 0,04	4,71 <sup>cde</sup> ± 0,04	5,98 <sup>de</sup> ± 0,08	7,94 <sup>de</sup> ± 0,07	9,22 <sup>e</sup> ± 0,04
8 - 750	2,18 ± 0,01	2,52 ± 0,03	3,23 <sup>ab</sup> ± 0,06	4,70 <sup>de</sup> ± 0,06	5,87 <sup>ef</sup> ± 0,06	7,80 <sup>f</sup> ± 0,03	9,04 <sup>f</sup> ± 0,05
5 - 1500	2,14 ± 0,06	2,56 ± 0,04	3,25 <sup>ab</sup> ± 0,01	4,75 <sup>bcd</sup> ± 0,01	5,99 <sup>cde</sup> ± 0,03	7,80 <sup>f</sup> ± 0,03	9,48 <sup>d</sup> ± 0,05
6 - 1500	2,15 ± 0,02	2,57 ± 0,04	3,31 <sup>ab</sup> ± 0,03	4,82 <sup>abc</sup> ± 0,06	6,24 <sup>ab</sup> ± 0,06	8,18 <sup>ab</sup> ± 0,01	9,70 <sup>abc</sup> ± 0,02
7 - 1500	2,13 ± 0,07	2,60 ± 0,05	3,32 <sup>ab</sup> ± 0,03	4,80 <sup>abcd</sup> ± 0,03	6,21 <sup>ab</sup> ± 0,06	8,16 <sup>ab</sup> ± 0,02	9,67 <sup>bc</sup> ± 0,05
8 - 1500	2,17 ± 0,05	2,54 ± 0,01	3,27 <sup>ab</sup> ± 0,05	4,79 <sup>bcd</sup> ± 0,06	6,10 <sup>bcd</sup> ± 0,02	8,03 <sup>cd</sup> ± 0,04	9,49 <sup>d</sup> ± 0,06
5 - 3000	2,17 ± 0,04	2,57 ± 0,03	3,27 <sup>ab</sup> ± 0,02	4,80 <sup>abcd</sup> ± 0,02	6,04 <sup>cd</sup> ± 0,02	7,88 <sup>ef</sup> ± 0,04	9,57 <sup>cd</sup> ± 0,02
6 - 3000	2,16 ± 0,09	2,58 ± 0,02	3,34 <sup>a</sup> ± 0,08	4,91 <sup>a</sup> ± 0,01	6,29 <sup>a</sup> ± 0,04	8,26 <sup>a</sup> ± 0,05	9,83 <sup>a</sup> ± 0,04
7 - 3000	2,17 ± 0,02	2,60 ± 0,04	3,33 <sup>a</sup> ± 0,03	4,85 <sup>ab</sup> ± 0,04	6,26 <sup>ab</sup> ± 0,04	8,24 <sup>a</sup> ± 0,04	9,77 <sup>ab</sup> ± 0,01
8 - 3000	2,21 ± 0,05	2,54 ± 0,00	3,29 <sup>ab</sup> ± 0,07	4,84 <sup>ab</sup> ± 0,04	6,15 <sup>abc</sup> ± 0,03	8,11 <sup>bc</sup> ± 0,01	9,58 <sup>cd</sup> ± 0,10

Các giá trị trong cùng một cột có các chữ cái a, b, c, d, e, f giống nhau biểu thị khác biệt không có ý nghĩa thống kê (P = 0,05).

**Kết quả định danh các chủng vi khuẩn bằng kỹ thuật sinh học phân tử**

Qua quá trình ly trích và giải trình tự 16S – rRNA của hai chủng T1 và T8, kết quả thu nhận đoạn trình tự mã hóa acid nucleic và phân tích trên NCBI. Tiến hành xác định độ tương đồng với các đoạn trình tự có sẵn trên NCBI của các chủng vi khuẩn tía quang hợp và vẽ cây phả hệ bằng phần mềm MEGA 11. Kết quả này có thể giúp xác định quan hệ tiến hóa và đặc điểm di truyền của 2 chủng vi khuẩn phân lập được với dữ liệu tổng hợp có sẵn.



**Hình 3. Kết quả phân tích cây phả hệ của chủng T1 và T8**

Chủng T1 có trình tự 16S – rRNA tương đồng cao nhất với các loài *Lysinibacillus macroides* (99,81%) và *Lysinibacillus fusiformis* (99,81%). So sánh đặc điểm hình thái và trình tự 16S – rRNA với các trình tự trên cây phả hệ xác định chủng T1 là vi khuẩn *Lysinibacillus* sp.. Đây là những vi khuẩn Gram dương được biết đến có khả năng sinh bào tử trong điều kiện bất lợi về sinh dưỡng, bào tử của một số loài thuộc chi vi khuẩn *Lysinibacillus* đã được phát hiện có thể bắt màu thuốc thử safranin hoặc fuchsin (Liu et al., 2019), điều này có thể là nguyên nhân gây nhầm lẫn ở bước nhuộm Gram ban đầu xác định chủng T1 là Gram âm. Sau kết quả định danh sinh học phân tử thì chủng T1 đã được thực hiện nhuộm Gram lại với kết quả là Gram dương. Tính ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản của *Lysinibacillus macroides* đã được đề cập với khả năng ảnh hưởng tích cực đến đáp ứng miễn dịch và kháng bệnh do *Streptococcus iniae* của cá chêm (Trương Thị Hoa et al., 2020). Chủng T8 có trình tự mã hóa 16S – rRNA tương đồng cao nhất với loài *Rhodospseudomonas palustris* (100%) nên chủng T8 là loài vi khuẩn *Rhodospseudomonas palustris*. Đây là vi khuẩn tía quang hợp không lưu huỳnh được ứng dụng rộng rãi trong xử lý môi trường. Trong nuôi trồng thủy sản *R. palustris* cho thấy khả năng xử lý tốt

các khí độc như  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  và  $\text{H}_2\text{S}$ . Nghiên cứu của Peirong và Wei (2013) đã sử dụng bộ lọc sinh học dạng tầng sôi kết hợp cố định vi khuẩn *Rhodopseudomonas palustris* để loại bỏ amoniac và duy trì sức khỏe cá trong hệ thống nuôi trồng thủy sản tuần hoàn, kết quả cho thấy chất lượng nước và hiệu suất xử lý amoniac được cải thiện, với tỷ lệ loại bỏ tổng  $\text{NH}_3\text{-N}$  là 80 – 95%. Như vậy chủng T8 phù hợp với mục đích nghiên cứu đề ra ban đầu.

**Kết quả khảo sát khả năng xử lý sulfide của *Rhodopseudomonas palustris* (T8) điều kiện ngoài ao nuôi**

**Bảng 5. Khả năng xử lý sulfide của *Rhodopseudomonas palustris* trong điều kiện ngoài ao nuôi.**

Chỉ tiêu theo dõi	Trước xử lý	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5	Ngày 6	Ngày 7
Lượng sulfide còn lại (mg/L)	1,716	1,638	1,464	1,196	0,911	0,670	0,340	0,162

Sau 7 ngày xử lý ao nuôi tôm với chủng T8 thì lượng sulfide trong ao giảm liên tục từ 1,716 mg/L xuống còn 0,162 mg/L (hiệu suất đạt 90,56%). Trong hai ngày đầu, chủng T8 thích nghi với điều kiện môi trường nước ở ao nuôi nên lượng sulfide giảm chậm chỉ đạt trung bình 0,126 mg/L mỗi ngày. Ở ngày thứ 3 đến ngày thứ 6, lượng sulfide giảm nhanh trung bình 0,281 mg/L mỗi ngày là do chủng T8 bắt đầu tăng sinh nhanh và khử sulfide có trong môi trường nước mạnh. Tuy nhiên, ở ngày thứ 7 nhận thấy lượng sulfide được chủng T8 xử lý chậm lại đạt 0,178 mg/L. Điều này có thể lý giải là ở những ao nuôi trồng thủy sản thì lượng sulfide liên tục được sinh ra do các loài thủy sản trong ao nuôi thải phân, thức ăn dư thừa lắng đọng, hoạt động phân huỷ của hệ vi sinh đáy ao... Vì thế, lượng sulfide luôn được duy trì ở một nồng độ tối thiểu nhất định. Mặt khác, vi khuẩn *Rhodopseudomonas palustris* được biết đến với khả năng đa dạng về sinh dưỡng (Hunter *et al.*, 2009). Trong đó hàm lượng sulfide ảnh hưởng trực tiếp đến quá trình tăng sinh của chúng theo con đường quang hợp, với việc sử dụng các hợp chất khử của lưu huỳnh làm chất cho điện tử. Khi nồng độ sulfide giảm xuống mức tối thiểu, vi khuẩn tía quang hợp có xu hướng thay đổi con đường sinh dưỡng theo hướng có lợi. Do đó chuyển dần từ quang hợp sang sử dụng các hợp chất hữu cơ phù hợp hơn cho quá trình sinh trưởng và phát triển.

**KẾT LUẬN**

Từ 20 mẫu nước thu ở các ao nuôi thủy sản tại thị xã Đông Hòa, tỉnh Phú Yên đã phân lập được 8 chủng vi khuẩn có khả năng xử lý sulfide. Trong đó, chủng T1 và T8 có khả năng tăng sinh và xử lý sulfide tốt ở nồng độ sulfide 10 mg/L, trong môi trường bổ sung muối NaCl từ 0 – 40‰, pH từ 6 – 7, độ rọi từ 1500 – 3000 LUX. Kết quả định danh được chủng T1 là *Lysinibacillus* sp. và chủng T8 là *Rhodopseudomonas palustris*. Chủng vi khuẩn *Rhodopseudomonas palustris* có khả năng loại bỏ 90,56% lượng sulfide trong môi trường nước nuôi trồng thủy sản ngoài thực tế sau 7 ngày. Vì vậy chủng *Rhodopseudomonas palustris* có khả năng xử lý sulfide hiệu quả và tiềm năng ứng dụng cao trong nuôi trồng thủy sản, góp phần cải thiện chất lượng môi trường ao nuôi thủy sản.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

Bergey's (2001). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Springer Link, New York, USA.

Hunter CN, Daldal F, Thurnauer MC, Beatty JT (2009). The Purple Phototrophic Bacteria. eds. Godvindjee, University of Illinois, Urbana, Illinois, USA: 2-12.

Lane DJ, Stackebrandt E, Goodfellow M (1991). 16S/23S rRNA Sequencing. In Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics. New York, NY, USA:115-175.

Liu P, Zhou R, Yin T, Wang Q, Guo Z, Tian Q, Bilal M, He S, Zhu X, Shi H, Li X (2019). Novel bio-fabrication of silver nanoparticles using the cell-free extract of *Lysinibacillus fusiformis* sp. and their potent activity against pathogenic fungi. *Materials Research Express*, 6(12): 1250-1252.

Nguyễn Ngọc Phước, Nguyễn Nam Quang và Nguyễn Đức Quỳnh Anh (2021). Phân lập vi khuẩn tía quang hợp từ bùn đáy ao nuôi tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931) tại tỉnh Thừa thiên – Huế. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, 2: 84 – 90.

Nicholls P, Marshall DC, Cooper CE, Wilson MT (2013). Sulfide inhibition of and metabolism by cytochrome c oxidase. *Biochemical Society transactions*, 41(5): 1312–1316.

Peirong Z, Wei L (2013). Use of fluidized bed biofilter and immobilized *Rhodopseudomonas palustris* for ammonia removal and fish health maintenance in a recirculation aquaculture system. *Aquaculture Research*. 44(3):327-34.

Sayadi MH, Nourzadeh M (2018). Potential of anaerobically digested poultry wastewater for metal biosorption by *Rhodobacter blasticus* and *Rhodobacter capsulatus*. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences*, 8: 47–55.

Trần Việt Quyền, Trần Hoàng Khang và Trần Văn Bé (2022). Phân lập, tuyển chọn và định danh vi khuẩn tía không lưu huỳnh, thử nghiệm khả năng xử lý sulfide trong nước ao nuôi tôm tại huyện Kiên Lương, tỉnh Kiên Giang. *Tạp chí Công thương*, 10: 380-386.

Trương Thị Hoa, Nguyễn Duy Quỳnh Trâm, Trần Nam Hà (2020). Ảnh hưởng của vi khuẩn *Lysinibacillus macroides* đến đáp ứng miễn dịch và khả năng kháng bệnh do *Streptococcus iniae* của cá chêm (*Lates calcarifer*). *Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc 2020*: 649 – 654.

Zhang X, Shu M, Wang Y, Fu L, Li W, Deng B, Liang Q, Shen W (2014). Effect of photosynthetic bacteria on water quality and microbiota in grass carp culture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30: 2523–2531.

## ISOLATION AND SELECTION OF PURPLE NON-SULFUR PHOTOSYNTHETIC BACTERIA STRAINS CAPABLE OF SULFIDE TREATMENT IN AQUACULTURAL WATER ENVIRONMENT IN DONG HOA TOWN, PHU YEN PROVINCE

Huynh Tan Trong<sup>1</sup>, Truong Phuoc Thien Hoang<sup>2</sup>, Vo Tran Quoc Thang<sup>2</sup>, Le Quoc Huy<sup>1</sup>, Le Phuoc Tho<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biological Sciences, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>2</sup>Institute of Biotechnology and Environmental Research, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>3</sup>Bio Nong Lam Company Limited, Ho Chi Minh City, Vietnam

### SUMMARY

In aquaculture, controlling sulfide content in the water environment is a very important issue because this is a deadly agent for aquatic animals and also causes a foul odor in the pond. In this study, non-sulfur photosynthetic purple bacteria were isolated and selected from 20 water samples in aquaculture ponds in Dong Hoa town, Phu Yen province. The result was the isolation of 8 microbial strains labeled T1, T2, ... T8 that have the ability to process sulfide, of which strain T8 was identified by molecular biology as *Rhodopseudomonas palustris*. Under anaerobic conditions with natural light, strain T8 has a high ability to remove sulfide (96.7% sulfide when grown in an environment with a sulfide content of 10 mg/L). At salt concentrations from 0 to 40‰, strain T8 proliferates well and reaches densities from 4.57 Log<sub>10</sub> CFU/mL (equivalent 3.72 x 10<sup>4</sup> CFU/mL, at salt concentration 40‰) to 7.31 Log<sub>10</sub> CFU/mL (2.04 x 10<sup>7</sup> CFU/mL, at salt concentration 10‰). pH conditions from 6 to 7, and illuminance from 1500 to 3000 LUX (continuous illumination 24/24 hours) are most suitable for strain T8 to proliferate with a high density of 9.67 to 9.83 Log<sub>10</sub> CFU/mL (5.01 to 6.76 x 10<sup>9</sup> CFU/mL). The ability of strain T8 to remove sulfide from actual ponds was found. After 2, 4, and 7 days of treatment, the amount of sulfide in aquaculture ponds decreased from 1.716 mg/L to 1.464 mg/L, 0.911 mg/L, and 0.162 mg/L (90.56% reduction). Thus, the bacteria *Rhodopseudomonas palustris* (T8 strain) has high potential for practical application in implementing effective sulfide treatment in aquaculture water environments.

**Keywords:** Aquaculture, isolated, photosynthetic purple bacteria, *Rhodopseudomonas palustris*, sulfide.

---

\* Author for correspondence: Tel +84-909575223; Email: phuoctho022010@gmail.com