

ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ CỦA VI KHUẨN *BACILLUS* BẢN ĐỊA CHUYỂN HÓA ĐẠM, LÂN TRONG BÙN ĐÁY AO NUÔI ARTEMIA

Tạ Văn Phương^{1*}, Huỳnh Tấn Dương¹ và Nguyễn Văn Hòa²

¹Trường Đại học Tây Đô

²Trường Đại học Cần Thơ

(*Email: tvphuong@tdu.edu.vn)

Ngày nhận: 21/11/2024

Ngày phản biện: 27/11/2024

Ngày duyệt đăng: 10/3/2025

TÓM TẮT

Nghiên cứu thực hiện nhằm tuyển chọn và đánh giá vi khuẩn *Bacillus* sp. bản địa từ ao nuôi *Artemia* có khả năng thủy phân N, P và kháng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*. Nghiên cứu tại Vĩnh Châu - Sóc Trăng, tuyển chọn được 12 dòng vi khuẩn *Bacillus* với ba nhóm đặc trưng là trắng đục (TĐ), trắng trong (TT), vàng (V) từ bùn đáy ao và nước ao nuôi *Artemia* ở độ mặn 60 và 80‰. Kết quả đánh giá khả năng thủy phân N, P và kháng vi khuẩn cho thấy ở độ mặn 60‰, vi khuẩn *Bacillus* trắng đục (Đ-TĐ) được định danh bằng phân tích gen 16S rRNA là *Bacillus subtilis* cho hiệu quả cao nhất. Thí nghiệm xử lý bùn đáy ao được bố trí, với 2 độ mặn 60‰ và 80‰, kết hợp bổ sung dòng vi khuẩn *Bacillus subtilis* được tuyển chọn với mật số 10^7 CFU/ml và 10^9 CFU/ml. Kết quả cho thấy bổ sung dòng vi khuẩn *Bacillus subtilis* với mật số 10^9 CFU/ml có khuynh hướng hạn chế sự phát triển mật số của vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*, giảm hàm lượng TAN, NO_2^- và gia tăng hàm lượng NO_3^- và lân dễ tiêu trong bùn đáy ao nuôi *Artemia*.

Từ khóa: *Artemia*, *Bacillus*, chuyển hóa N và P, bùn đáy ao, vi khuẩn bản địa

Trích dẫn: Tạ Văn Phương, Huỳnh Tấn Dương và Nguyễn Văn Hòa, 2025. Đánh giá hiệu quả của vi khuẩn *Bacillus* bản địa chuyển hóa đạm, lân trong bùn đáy ao nuôi *Artemia*. Tạp chí Nghiên cứu khoa học và Phát triển kinh tế Trường Đại học Tây Đô. 22: 83-95.

*TS. Tạ Văn Phương – Giảng viên Khoa Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Tây Đô

1. GIỚI THIỆU

Artemia là nguồn thức ăn không thể thiếu trong ngành nuôi trồng thủy sản, đặc biệt ở khâu sản xuất giống. Tuy nhiên, quá trình nuôi *Artemia* thường xuyên sử dụng phân bón hữu cơ kết hợp ure và DAP để gây màu, tạo thức ăn cho *Artemia* (Nguyễn Văn Hoa et al., 2007; Nguyễn Thị Ngọc Anh và ctv., 2014). Phương pháp này, có hiệu quả trong việc thúc đẩy tảo phát triển nhưng lại dẫn đến sự tích tụ cao chất hữu cơ, đạm, lân trong bùn đáy ao. Tình trạng này làm suy giảm chất lượng nước, tạo điều kiện cho hiện tượng “tảo hoa nước” và ảnh hưởng xấu đến tỷ lệ sống của *Artemia*, đặc biệt trong giai đoạn phát triển (Phạm Minh Tuấn và ctv., 2018). Phân gà nguồn phân bón phổ biến trong nuôi *Artemia* góp phần tích lũy chất hữu cơ dư thừa, làm gia tăng tổng đạm (TN) và tổng lân (TP) trong môi trường nước, từ đó kích thích sự phát triển quá mức của tảo lam (Cyanophyta), gây ô nhiễm nghiêm trọng (Vũ Ngọc Út và Tạ Văn Phương, 2008). Vì vậy, việc áp dụng các biện pháp cải tạo bùn đáy ao nhằm giảm thiểu tích lũy chất hữu cơ và cải thiện chất lượng nước là yêu cầu cần thiết.

Vi khuẩn *Bacillus*, đặc biệt là các dòng bản địa, có khả năng phân hủy chất hữu cơ, cải thiện chất lượng môi trường đất, nước và tăng tỷ lệ sống của *Artemia* (Ngô Thị Thu Thảo và ctv., 2016; Phạm Thị Tuyết Ngân và Trần Sương Ngọc, 2014). Nhóm *Bacillus* không chỉ thích nghi tốt với điều kiện môi trường khắc nghiệt, như độ mặn cao trong ao nuôi *Artemia*, mà còn có khả năng ức chế vi khuẩn gây bệnh như *Vibrio parahaemolyticus*, một

tác nhân nguy hiểm trong nuôi trồng thủy sản (Phạm Thị Tuyết Ngân và ctv., 2021). Tuy nhiên, các nghiên cứu ứng dụng vi khuẩn *Bacillus* sp. bản địa trong nuôi cũng như xử lý bùn đáy ao nuôi *Artemia* vẫn còn hạn chế. Do đó, việc thực hiện đề tài nhằm đánh giá khả năng chuyển hóa đạm, lân của bùn đáy ao nuôi *Artemia* bằng vi khuẩn *Bacillus* bản địa đáp ứng yêu cầu thực tiễn trong nuôi *Artemia* tại địa phương.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Phương pháp thu mẫu nước và bùn đáy ao *Artemia*

Mẫu nước: Thu mẫu nước ở nhiều điểm trong ao nuôi *Artemia* tại Vĩnh Châu - Sóc Trăng cho vào xô 20L, khuấy đều lấy 1L nước ao nuôi *Artemia* cho vào bình nhựa đã được khử trùng bằng cồn và được trữ lạnh 4°C suốt quá trình chuyển về phòng thí nghiệm.

Mẫu bùn đáy ao: Thu lớp mặt bùn đáy ao nuôi *Artemia* (0 - 30 cm) ở nhiều điểm trong ao nuôi *Artemia* trộn đều, thu 10 kg bùn cho vào bọc plastic đã được khử trùng bằng cồn và được trữ lạnh 4°C suốt quá trình chuyển về phòng thí nghiệm.

2.2. Nuôi cấy, phân lập và định danh

Mẫu nước và mẫu bùn đáy ao được pha loãng với nước muối sinh lý (0,85%), mẫu được đun ở 80°C trong 15 phút, nhằm tiêu diệt các vi khuẩn sinh dưỡng, chỉ còn lại những vi khuẩn sinh bào tử, mẫu vi khuẩn được nuôi cấy trên môi trường thạch (Tryptic Soy Agar - TSA) ở nhiệt độ 37°C trong 24 giờ (Claus and Berkeley, 1986).

Hình thái giống vi khuẩn *Bacillus subtilis* có màu trắng đục (ngà) thường có bề mặt khô, khi nhuộm Gram là vi khuẩn Gram dương, hình que hay xếp thành chuỗi (Logan and DeVos, 2009). Khi test sinh hóa vi khuẩn *Bacillus subtilis* dương tính với phản ứng catalase, không lên men với đường lactose (Harwood and Cutting, 1990).

2.3. Đánh giá khả năng thủy phân và kháng khuẩn

Các dòng vi khuẩn *Bacillus* sp. phân lập được đánh giá khả năng thủy phân N và khả năng kháng vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Đầu tiên, nhỏ 100 μ L dung dịch NH₄Cl 0,5% và dung dịch vi khuẩn *V. parahaemolyticus* với mật số 10⁶ CFU/ml trải đều trên đĩa TSA. Tạo giếng bằng đầu code 8 mm với 4 giếng trên mỗi đĩa thạch. Sau đó, cho 100 μ L dung dịch trong, từ huyền phù vi khuẩn *Bacillus* (10⁹ CFU/ml) được ly tâm (10.000 vòng/phút trong 15 phút) vào 3 giếng xung quanh, giếng ở giữa là nước cất. Cuối cùng ủ ở 37°C trong 24 giờ và đo đường kính vòng thủy phân N (Schillinger and Lucke, 1989) và vòng kháng khuẩn (Jan Hudzicki, 2009).

Khả năng thủy phân hay kháng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* được thể hiện qua vòng thủy phân hay vòng kháng khuẩn xung quanh các giếng theo phương pháp của Schillinger and Lucke (1989) và Jan Hudzicki (2009) bằng thước nhựa 20 cm: (i) X=0: không thủy phân; (ii) X $\geq$ 10: thủy phân mạnh; (iii) 5<X<10: thủy phân trung bình; (iv) X<5: thủy phân yếu.

Vi khuẩn *Bacillus* được phân lập và làm thuần trên môi trường Trypticase Soy Agar (TSA) và nuôi tăng sinh trong môi trường Nutrient Broth (NB). Sau đó tuyển chọn các dòng *Bacillus* sp. có vòng thủy phân N và kháng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* trên đĩa môi trường TSA. Tiến hành định danh vi khuẩn được tuyển chọn theo phương pháp giải trình tự gen của Janda et al. (2007) và Claus et al. (1986) theo các bước sau: Chiết xuất DNA, PCR khuếch đại gen 16S rRNA gồm giai đoạn biến tính (95°C), gắn mồi (55°C) và kéo dài (72°C) trong 30 chu kỳ. Sản phẩm PCR được gửi giải trình tự gen tại phòng thí nghiệm First BASE Laboratories Malaysia. Sử dụng phần mềm BLAST (NCBI) để tham chiếu xác định loài vi khuẩn.

2.4. Đánh giá khả năng xử lý bùn ao của dòng vi khuẩn tuyển chọn *Bacillus subtilis*

Thí nghiệm được thực hiện gồm 6 nghiệm thức bố trí ngẫu nhiên, mỗi nghiệm thức với 3 lần lặp lại: (1) Đối chứng 1 (bùn ao nuôi *Artemia* độ mặn 60‰ - ĐC60); (2) Đối chứng 2 (bùn ao nuôi *Artemia* độ mặn 80‰ - ĐC80); (3) Bổ sung vi khuẩn *Bacillus* (10⁷ CFU/ml) có nguồn gốc từ bùn ao nuôi *Artemia* độ mặn 60‰ (S60*10⁷); (4) Bổ sung vi khuẩn *Bacillus* (10⁹ CFU/ml) có nguồn gốc từ bùn ao nuôi *Artemia* độ mặn 60‰ (S60*10⁹); (5) Bổ sung vi khuẩn *Bacillus* (10⁷ CFU/ml) có nguồn gốc từ bùn ao nuôi *Artemia* độ mặn 80‰ (S80*10⁷); (6) Bổ sung vi khuẩn *Bacillus* (10⁹ CFU/ml) có nguồn gốc từ bùn ao nuôi *Artemia* độ mặn 80‰ (S80*10⁹).

Bảng 1. Phương pháp phân tích mẫu

Chỉ tiêu	Nhịp thu mẫu	Phương pháp phân tích
Nhiệt độ, pH	2 lần/ngày trong 15 ngày	Nhiệt kế và pH kế
Độ Kiềm	3 ngày/lần trong 15 ngày	Chuẩn độ acid
TAN	3 ngày/lần trong 15 ngày	Indophenol blue
NO ₂ ⁻	3 ngày/lần trong 15 ngày	Diazonium
NO ₃ ⁻	3 ngày/lần trong 15 ngày	Salycilate
Tổng vi khuẩn	3 ngày/lần trong 15 ngày	Đếm khuẩn lạc trên môi trường NA ⁺
Vi khuẩn <i>Vibrio</i>	3 ngày/lần trong 15 ngày	Đếm khuẩn lạc trên môi trường TCBS
TN	Đầu/cuối	Công phá Kjeldahl (TCVN 6498-1999)
TP	Đầu/cuối	Công phá Kjeldahl (TCVN 8940-2011)

Mẫu bùn đáy ao nuôi *Artemia* độ mặn 60‰ và 80‰ được phơi khô trong không khí, nghiền nhỏ và pha loãng theo tỉ lệ 1:5 cho mỗi nghiệm thức và tất cả các nghiệm thức đều có lắp đặt một viên đá bọt để sục khí. Chỉ tiêu nhiệt độ, pH được kiểm tra vào lúc 7 giờ sáng và 14 giờ chiều bằng nhiệt kế và pH kế. Độ Kiềm được kiểm tra sau mỗi 3 ngày bằng phương pháp so màu (sử dụng bộ SERA-test, Đức). Các chỉ tiêu như tổng lượng N-ammonium (TAN), NO₂⁻, NO₃⁻ được phân tích tại phòng thí nghiệm Sinh hóa, Sinh học - Trường Đại học Tây Đô. Các chỉ tiêu N tổng số (TN), P tổng số (TP) được phân tích tại Trung tâm ứng dụng tiến bộ Khoa học và Công nghệ Cần Thơ.

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được phân tích thống kê ANOVA một nhân tố bằng phần mềm

SPSS 20, phép thử DUNCAN so sánh trung bình các nghiệm thức.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tuyển chọn vi khuẩn *Bacillus* từ bùn đáy ao nuôi *Artemia*

Kết quả từ Bảng 2 cho thấy khả năng thủy phân N và vòng kháng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* từ 12 dòng vi khuẩn *Bacillus* spp. Vi khuẩn *Bacillus* sp. được lựa chọn là vi khuẩn Trắng Đục (Đ-TĐ60) từ bùn đáy ao có độ mặn 60‰ cho vòng thủy phân N và vòng kháng khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* là tốt nhất. Dòng vi khuẩn này được định danh là loài *Bacillus subtilis* được tiếp tục lựa chọn ứng dụng vào thử nghiệm đánh giá khả năng xử lý bùn đáy ao nuôi *Artemia*.

Bảng 2. Vòng thủy phân N, P, kháng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*

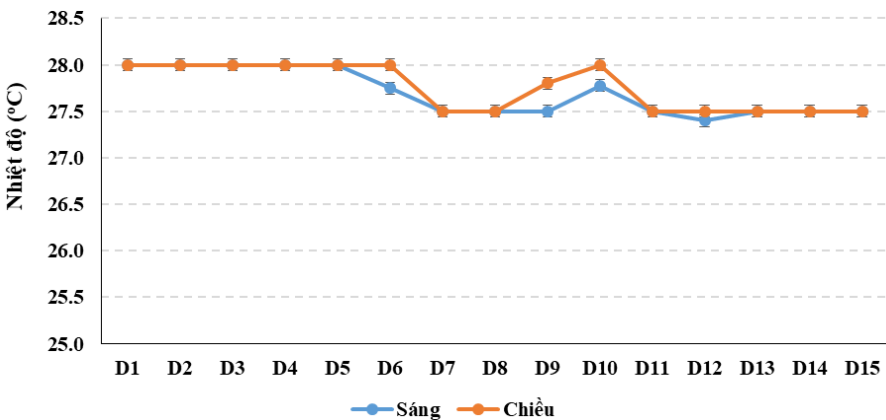
Nghiem thức	N (mm)	P (mm)	Vibrio (mm)
N-V60	31,7±4,04 ^{ab}	19,5±0,55 ^{ab}	34,0±13,0 ^{ab}
N-TT60	33,0±0,00 ^{abc}	16,0±1,90 ^a	34,7±15,0 ^{ab}
N-TĐ60	39,7±0,58 ^{bc}	21,2±5,04 ^{bc}	37,3±9,24 ^{ab}
N-V80	37,3±2,89 ^{bc}	21,2±2,56 ^{bc}	31,0±7,94 ^{ab}
N-TT80	27,7±7,51 ^a	17,8±0,98 ^{ab}	25,7±2,52 ^a
N-TĐ80	26,0±1,73 ^a	27,2±2,64 ^{ef}	28,7±4,73 ^{ab}
Đ-V60	36,7±3,06 ^{bc}	23,5±1,64 ^{cd}	35,0±2,00 ^{ab}
Đ-TT60	36,7±4,73 ^{bc}	25,0±3,29 ^{de}	28,0±6,56 ^{ab}
Đ-TĐ60	38,0±3,46^{bc}	29,8±2,68^{fg}	40,3±6,66^b
Đ-V80	38,7±0,58 ^{bc}	20,8±3,66 ^{bc}	34,0±3,61 ^{ab}
Đ-TT80	40,7±9,02^c	28,6±1,41 ^{ef}	40,0±4,36 ^{ab}
Đ-TĐ80	33,3±6,03 ^{abc}	32,5±4,93^g	43,7±8,74^b

Ghi chú: Ký tự chữ cái theo cột khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). N: là nước, Đ: là bùn đáy ao (Đất); V: là màu vàng; TT: là trắng trong; TĐ: là trắng đục;

3.2. Đánh giá khả năng xử lý bùn đáy ao của dòng *Bacillus subtilis*

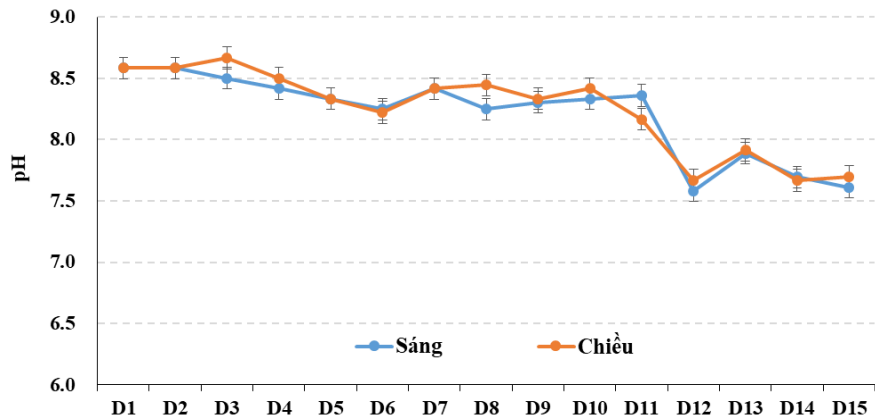
3.2.1. Biến động các yếu tố thủy lý và thủy hóa

Nhiệt độ gần như không có sự chênh lệch giữa các nghiệm thức dao động từ 27,0 - 28,0°C, nhiệt độ buổi sáng 27,7±0,28°C và buổi chiều 27,8±0,26°C chênh lệch nhiệt độ sáng và chiều không đáng kể.



Hình 1. Biến động nhiệt sáng chiều trong suốt quá trình thí nghiệm

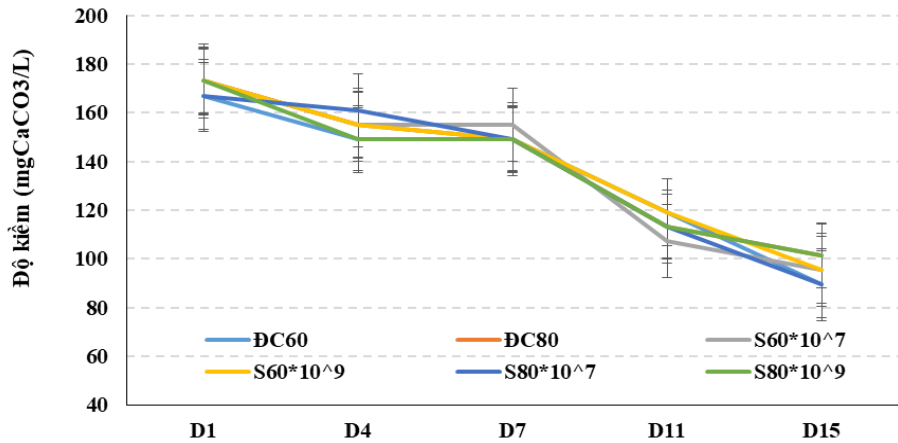
Nhiệt độ là một trong những yếu tố môi trường ảnh hưởng trực tiếp đến sinh trưởng và sinh sản của *Artemia*. Theo Nguyễn Văn Hòa và ctv. (2007) thì nhiệt độ quá thấp ($\leq 20^{\circ}\text{C}$) *Artemia* sinh trưởng chậm hoặc chết rải rác và ngược lại khi nhiệt độ quá cao ($> 36^{\circ}\text{C}$) gây ra hiện tượng chết, có khi chết hàng loạt, giảm khả năng sinh sản và quần thể phục hồi rất chậm. Đối với *Artemia franciscana* dòng Vĩnh Châu chúng có thể phát triển tốt trong điều kiện nhiệt độ từ 22 - 35°C.



Hình 2. pH nước trong suốt quá trình thí nghiệm

Qua Hình 2 cho thấy giá trị pH giữa các nghiệm thức dao động từ 7,6 - 8,7; đây là khoảng pH thích hợp cho *Artemia* sinh trưởng và phát triển (De Graaf, 1985). Như vậy, pH ở các nghiệm thức dao động trong khoảng phù hợp cho sự phát triển của *Artemia*. Trong quá trình chuyển hóa đạm dạng ammonia thành nitrite và tiếp thành nitrate bởi vi khuẩn *Nitrosomonas* và *Nitrobacter* tạo ra acid nitric làm giảm pH nước (Ebeling et al., 2006; Tchobanoglous et al., 2003). Hơn nữa, trong quá trình nitrate hóa vi khuẩn hóa tự dưỡng *Nitrosomonas* và *Nitrobacter* sử dụng bicarbonate làm nguồn carbon cho quá trình oxy hóa

(Ebeling et al., 2006; Furtado et al., 2011) nên làm giảm độ kiềm (Hình 3). Như vậy, khi mật số vi khuẩn hóa tự dưỡng tăng cao, quá trình khoáng hóa nhanh hơn và cũng đồng nghĩa với pH và độ kiềm nước giảm thấp. Độ kiềm trong nước dao động từ 89,5 - 173 (mgCaCO₃/l). Hàm lượng kiềm giảm dần từ ngày đầu đến kết thúc thí nghiệm, điều này cho thấy vi khuẩn trong bùn đáy ao đang bắt đầu phát triển mạnh. Đặc biệt là sau ngày thứ 7, mật số vi khuẩn hóa tự dưỡng đã phát triển mạnh đã sử dụng nguồn CO₃²⁻ và HCO₃⁻ như nguồn carbon vô cơ cho quá trình sinh trưởng và phát triển.



Hình 3. Giá trị độ kiềm trong suốt quá trình thí nghiệm

Tổng N-ammonium trong nước khá lớn từ 3,71 - 7,11 mg/l vào ngày đầu và tăng mạnh vào ngày thứ 4 và thứ 7 sau đó có khuynh hướng giảm dần từ ngày 11 đến ngày 15. Đáng chú ý, ở ngày thứ 15 hàm lượng TAN thấp nhất ở nghiệm thức có độ mặn 60‰ có khác biệt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại. Từ ngày thứ 11, lượng TAN

có xu hướng giảm mạnh điều này có thể phần lớn TAN đã được vi khuẩn *Nitrosomonas* sp. chuyển hóa thành Nitrite. Kết quả nghiên cứu này, phù hợp với nhận định của Ngô Thị Thu Thảo và ctv. (2016) rằng trong nuôi *Artemia* khi mật số vi khuẩn *Bacillus* tăng cao khả năng xử lý tốt hàm lượng TAN.

Bảng 3. Biến động hàm lượng TAN (mg/l)

TAN	Ngày 1	Ngày 4	Ngày 7	Ngày 11	Ngày 15
ĐC60	4,00±0,59 ^a	8,26±0,71 ^a	8,52±0,84	5,40±0,70 ^b	3,65±0,32 ^d
ĐC80	7,11±2,11^b	11,5±1,41^b	8,54±2,15	4,77±0,33 ^{ab}	3,81±0,28 ^d
S60*10⁷	3,71±0,52 ^a	7,99±1,34 ^a	8,40±1,78	4,29±1,23 ^{ab}	1,01±0,17^a
S60*10⁹	3,79±0,64 ^a	8,37±1,87 ^a	7,20±1,19	3,20±0,35^a	1,10±0,37^a
S80*10⁷	6,60±0,93^b	12,5±0,59^b	9,80±1,48	5,04±0,63 ^b	2,00±0,22 ^b
S80*10⁹	5,95±0,90^b	11,4±0,93^b	9,61±1,59	4,49±1,49 ^{ab}	2,78±0,22 ^c
ns					

Ghi chú: ns không khác biệt có ý nghĩa. Ký tự chữ cái theo cột khác nhau biểu thị sự khác biệt ($p < 0,05$).

Qua Bảng 4 cho thấy hàm lượng NO_2^- (Nitrite) hòa tan vào nước ban đầu khá thấp từ 0,12 - 0,36 mg/l và tăng mạnh vào ngày thứ 11 đến ngày thứ 15. Ở ngày thứ 11 hàm lượng Nitrite thấp nhất ở nghiệm thức có độ mặn 60‰ có bổ sung vi khuẩn *Bacillus* sp. và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại. Nitrite của 2 nghiệm thức này đã

chuyển hóa thành NO_3^- (Nitrate) nhờ vi khuẩn *Nitrobacter* sp. trong quá trình oxy hóa Nitrite thành Nitrate (Phạm Thị Tuyết Ngân và ctv., 2022). Việc chuyển hóa Nitrite thành Nitrate ở nghiệm thức bổ sung vi khuẩn *Bacillus* sp. trong điều kiện có độ mặn cao phù hợp với nghiên cứu của Ngô Thị Thu Thảo và ctv. (2016).

Bảng 4. Biến động hàm lượng NO_2^- (mg/l)

NO_2^-	Ngày 1	Ngày 4	Ngày 7	Ngày 11	Ngày 15
ĐC60	0,36±0,15 ^b	0,40±0,31 ^b	0,29±0,21	4,30±0,79 ^{ab}	7,53±1,20 ^a
ĐC80	0,13±0,01 ^a	0,04±0,04 ^a	0,02±0,02	6,23±1,63 ^b	5,16±1,25 ^a
S60*10⁷	0,21±0,04 ^a	0,12±0,02 ^{ab}	0,15±0,07	2,54±1,10^a	4,23±1,55 ^a
S60*10⁹	0,23±0,06 ^a	0,11±0,01 ^{ab}	0,13±0,06	2,23±1,45^a	5,04±2,15 ^a
S80*10⁷	0,16±0,03 ^a	0,03±0,01 ^a	0,03±0,04	7,63±2,47 ^b	6,55±2,47 ^a
S80*10⁹	0,12±0,02 ^a	0,16±0,21 ^{ab}	0,27±0,38	6,21±2,44 ^b	5,70±2,47 ^a
ns					

Ghi chú: ns không khác biệt có ý nghĩa. Ký tự chữ cái theo cột khác nhau biểu thị sự khác biệt ($p < 0,05$).

Kết quả từ Bảng 5 cho thấy hàm lượng NO_3^- hòa tan trong nước ban đầu khá thấp từ 0,27 - 0,48mg/l và tăng mạnh vào ngày thứ 11 đến ngày thứ 15, cao nhất ở nghiệm thức $\text{S60} \times 10^9$ CFU/ml, khác biệt

có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức ĐC80 và độ mặn 80‰, phần Nitrite của 2 nghiệm thức này đã chuyển hóa thành NO_3^- nhờ vi khuẩn *Nitrobacter* sp.

Bảng 5. Biến động hàm lượng NO_3^- (mg/l) trong thí nghiệm

NO_3^-	Ngày 1	Ngày 4	Ngày 7	Ngày 11	Ngày 15
ĐC60	0,44±0,05 ^c	0,44±0,05 ^b	0,85±0,12 ^b	5,29±1,02 ^b	6,36±0,50 ^{ab}
ĐC80	0,27±0,04 ^a	0,23±0,06 ^a	0,57±0,04 ^a	3,33±0,78 ^a	5,33±0,75 ^{ab}
S60*10⁷	0,48±0,02^c	0,61±0,04^c	1,09±0,15 ^c	6,17±1,06^b	7,11±1,70^b
S60*10⁹	0,44±0,04^c	0,59±0,13^c	1,43±0,18^d	6,74±1,47^b	10,7±1,77^b
S80*10⁷	0,27±0,03 ^a	0,34±0,04 ^{ab}	0,49±0,06 ^a	2,31±0,28 ^a	4,19±1,53 ^a
S80*10⁹	0,35±0,01 ^b	0,35±0,06 ^{ab}	0,58±0,14 ^a	2,41±0,63 ^a	5,62±0,44 ^{ab}

Ghi chú: Ký tự chữ cái theo cột khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.2.2. Ảnh hưởng đến yếu tố vi sinh

Mật số vi khuẩn *Vibrio* sp.

Kết quả phân tích từ Bảng 6 cho thấy mật số vi khuẩn *Vibrio* sp. trong dung dịch bùn hòa tan khá cao trên 10^3 CFU/ml và có khuynh hướng tăng dần về cuối thí nghiệm. Nghiệm thức bùn có độ mặn càng cao thì mật số tăng càng cao, đặc biệt là độ mặn 80‰. Tuy nhiên ở thời điểm ban đầu từ ngày bố trí thí nghiệm

đến ngày 11 thì chúng có mật số như nhau ($p > 0,05$). Cuối thí nghiệm mật số vi khuẩn *Vibrio* tăng mạnh trên dưới 10^5 CFU/ml và có sự khác biệt giữa các nghiệm thức. Riêng các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn thì mật số vi khuẩn *Vibrio* bị ức chế, 2 nghiệm thức có mật số vi khuẩn *Vibrio* thấp khác biệt so với nghiệm thức đối chứng 80‰ là $\text{S60} \times 10^7$ CFU/ml và nghiệm thức $\text{S80} \times 10^7$ CFU/ml.

Bảng 6. Biến động mật số vi khuẩn *Vibrio* (Log10 CFU/ml) trong thí nghiệm

<i>Vibrio</i>	Ngày 1	Ngày 4	Ngày 7	Ngày 11	Ngày 15
ĐC60	3,19±0,36	3,46±0,19	4,08±0,54	4,48±0,22	5,00±0,08 ^{ab}
ĐC80	3,21±0,22	3,58±0,14	4,29±0,23	4,55±0,05	5,23±0,10 ^b
S60*10⁷	3,15±0,07	3,51±0,13	4,05±0,57	4,48±0,11	4,89±0,18^a
S60*10⁹	3,08±0,10	3,45±0,15	3,69±0,53	4,41±0,08	4,96±0,19^{ab}
S80*10⁷	3,18±0,18	3,50±0,17	3,76±0,46	4,42±0,07	4,84±0,15^a
S80*10⁹	3,10±0,20	3,52±0,18	4,25±0,07	4,48±0,11	5,12±0,29 ^{ab}
	ns	ns	ns	ns	

Ghi chú: ns không khác biệt có ý nghĩa. Ký tự chữ cái theo cột khác nhau biểu thị sự khác biệt ($p < 0,05$).

Mật số vi khuẩn tổng

Mật số tổng vi khuẩn trong dung dịch bùn hòa tan khá cao trên 10^7 CFU/ml và có khuynh hướng tăng dần về cuối thí nghiệm. Tuy nhiên ở thời điểm ban đầu từ ngày bố trí thí nghiệm đến ngày 7, mật

số như nhau ($p>0,05$). Từ ngày 11 trở đi mật số vi khuẩn tổng tăng trên 10^{10} CFU/ml và có sự khác biệt giữa các nghiệm thức, riêng các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn thì mật số tổng vi khuẩn luôn ở mức cao và khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng.

Bảng 7. Biến động mật số tổng vi khuẩn (Log10 CFU/ml) trong thí nghiệm

Tổng vi khuẩn	Ngày 1	Ngày 4	Ngày 7	Ngày 11	Ngày 15
ĐC60	7,80±0,01	8,27±0,17	9,07±0,15	10,16±0,01 ^{ab}	11,09±0,07 ^a
ĐC80	7,96±0,01	8,31±0,07	9,04±0,10	10,07±0,09 ^a	11,10±0,01 ^a
S60*10⁷	7,99±0,10	8,49±0,17	9,13±0,12	10,38±0,10^c	11,14±0,07 ^{ab}
S60*10⁹	8,00±0,13	8,61±0,26	9,11±0,09	10,30±0,09^{bc}	11,23±0,02^{bc}
S80*10⁷	7,89±0,20	8,55±0,29	9,07±0,17	10,32±0,09^c	11,27±0,10^c
S80*10⁹	8,23±0,77	8,68±0,27	9,04±0,16	10,33±0,10^c	11,27±0,08^c
	ns	ns	ns		

Ghi chú: ns không khác biệt có ý nghĩa. Ký tự chữ cái theo cột khác nhau biểu thị sự khác biệt ($p<0,05$).

Hàm lượng N tổng của 2 mẫu bùn đáy ao với độ mặn 60‰ và 80‰ lần lượt là 3.404 và 2.146 (mg/kg). Hàm lượng đạm dễ tiêu trong 2 mẫu bùn với độ mặn 60‰ và 80‰ là 127 và 152 (mg/kg). Qua Bảng 8 cho thấy việc bổ sung vi khuẩn *Bacillus*

ở nghiệm thức S60*10⁹ đã giúp chuyển hóa lượng đạm dễ tiêu trong bùn vào nước tốt hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) so với các nghiệm thức đối chứng.

Bảng 8. Tổng đạm và hàm lượng đạm dễ tiêu trong bùn, nước sau thí nghiệm

NT	TN Bùn đáy ban đầu (mg/kg)	N dễ tiêu bùn đáy ban đầu (mg/kg)	N dễ tiêu trong nước (mg/l)	TN bùn đáy sau xử lý (mg/kg)	N dễ tiêu bùn đáy ao sau xử lý (mg/kg)
ĐC60	3.404±307	127±10,2	48,2±3,89 ^b	1.618±294 ^{ab}	57,1±4,58 ^a
S60*10⁷	3.404±307	127±10,2	40,8±7,59 ^{ab}	1.281±268 ^a	106±9,62 ^b
S60*10⁹	3.404±307	127±10,2	70,6±10,0^c	990±255 ^a	92,5±5,02 ^{bc}
ĐC80	2.146±204	152±15,1	43,8±2,81 ^b	2.178±963 ^b	118±11,7 ^{cd}
S80*10⁷	2.146±204	152±15,1	29,9±7,05 ^a	1.388±136 ^{ab}	120±3,51 ^{cd}
S80*10⁹	2.146±204	152±15,1	40,6±1,26 ^{ab}	1.533±207 ^{ab}	132±14,0 ^d

Ghi chú: Ký tự chữ cái theo cột khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$).

Tổng lân của 2 mẫu bùn với độ mặn 60‰ và 80‰ lần lượt là 739 và 46,8 (mg/kg). Hàm lượng lân dễ tiêu trong 2

mẫu bùn với độ mặn 60‰ và 80‰ là 46,8 và 33,6 (mg/kg). Kết quả từ Bảng 9 cho thấy việc bổ sung vi khuẩn *Bacillus* với

mật số 10^9 CFU/ml ở nghiệm thức độ mặn 60‰ và 80‰ giúp chuyển hóa lượng lân dễ tiêu trong bùn vào nước tốt hơn,

khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại.

Bảng 9. Tổng lân và hàm lượng lân dễ tiêu trong bùn, nước sau thí nghiệm

NT	TP Bùn đáy ban đầu (mg/kg)	P dễ tiêu Bùn đáy ban đầu (mg/kg)	P dễ tiêu trong nước (mg/l)	TP bùn đáy sau xử lý (mg/kg)	P dễ tiêu bùn đáy ao sau xử lý (mg/kg)
ĐC60	739±75,9	46,8±3,64	6,73±0,42 ^a	519±53,3	18,0±1,43 ^a
S60*10⁷	739±75,9	46,8±3,64	7,48±0,94 ^{ab}	554±77,1	17,9±1,63 ^a
S60*10⁹	739±75,9	46,8±3,64	9,05±0,46^b	552±57,3	18,8±1,01 ^a
ĐC80	784±72,1	33,6±3,14	7,03±0,60 ^a	511±47,2	22,9±2,28 ^b
S80*10⁷	784±72,1	33,6±3,14	9,58±1,20^b	512±5,57	21,8±0,60 ^b
S80*10⁹	784±72,1	33,6±3,14	9,87±1,55^b	541±56,2	24,1±2,55 ^b
ns					

Ghi chú: ns không khác biệt có ý nghĩa. Ký tự chữ cái theo cột khác nhau biểu thị sự khác biệt ($p < 0,05$).

Qua kết quả phân tích Đạm và Lân cho thấy việc bổ sung vi khuẩn *Bacillus* mật số 10^9 CFU/ml giúp chuyển hóa đạm lân từ bùn đáy ao *Artemia* vào nước rất tốt, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức đối chứng. Tuy nhiên bổ sung vi khuẩn *Bacillus* mật số 10^9 CFU/ml ở độ mặn 60‰ hay độ mặn 80‰ không có sự khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$). Từ kết quả trên cho thấy việc chuyển hóa đạm lân rất tốt của vi khuẩn *Bacillus* góp phần khoáng hóa môi trường nước tạo điều kiện thuận lợi để tảo phát triển.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã tuyển chọn được 12 dòng vi khuẩn *Bacillus* spp. với ba nhóm đặc trưng là trắng đục, trắng trong, vàng từ bùn đáy ao và nước ao nuôi *Artemia* ở độ mặn 60 và 80‰. Kết quả xác định

Bacillus subtilis với độ mặn 60‰ có khả năng cao nhất trong thủy phân N, P và có khuynh hướng kháng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*

Bổ sung dòng vi khuẩn *Bacillus subtilis* tuyển chọn với mật số 10^9 CFU/ml vào bùn đáy ao nuôi *Artemia* ở độ mặn 60‰ và 80‰ giúp giảm hàm lượng TAN, NO_2^- và gia tăng hàm lượng NO_3^- và lân dễ tiêu đồng thời có khả năng hạn chế sự phát triển của vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* trong bùn đáy ao nuôi *Artemia*.

Nghiên cứu này cung cấp số liệu cơ bản cho các nghiên cứu tiếp theo trong thực tế ao nuôi *Artemia* nhằm giúp phát triển tiềm năng ứng dụng của vi khuẩn *Bacillus subtilis* bản địa trong xử lý bùn đáy ao nuôi *Artemia* tại Vĩnh Châu - Sóc Trăng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Claus, D. and Berkeley, R.C.W., 1986. Genus *Bacillus*. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. In: Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G., Eds. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 2, 1105-1139.
- De Graaf, G.J., 1985. *Artemia* culture in the southern provinces of Vietnam. Report on a visit to Socialist Republic of Vietnam, 38 p.
- Dương Thị Mỹ Hân, Nguyễn Văn Hòa và Nguyễn Thị Ngọc Anh, 2015. Ảnh hưởng của hàm lượng protein khác nhau trong thức ăn lên sinh trưởng và sinh sản của *Artemia franciscana* Vĩnh Châu. Tạp chí Khoa học và Phát triển 2016, tập 14, số 1: 1-9.
- Ebeling, J. M., Timmons, M. B., and Bisogni, J. J. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. Aquaculture, 257(1-4), 346-358.
- Furtado, P. S., Poersch, L. H., and Wasielesky, W., 2011. Effect of calcium carbonate on water quality and zootechnical performance of *Litopenaeus vannamei* reared in a biofloc technology system. Aquaculture, 321(1-2), 130-135.
- Jan Hudzicki, J., 2009. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. American Society for Microbiology, Washington DC.
- Janda, J. Michael and Sharon L. Abbott, 2007. Minireview, 16S rRNA Gene Sequencing for Bacterial Identification in the Diagnostic Laboratory: Pluses, Perils, and Pitfalls. Journal of Clinical Microbiology, Vol. 45, No. 9, p. 2761-2764.
- Logan, N. A., and P. De Vos, 2009. Genus I. *Bacillus*. Pages 21-128 in Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 3. P. De Vos, G. M. Garrity, D. Jones, N. R. Krieg, W. Ludwig, F. A. Rainey, K. Schleifer and W. B. Whitman, ed. Springer, New York, NY.
- Ngô Thị Thu Thảo, Võ Thị Kiều Diễm, Nguyễn Thị Phương và Phạm Thị Tuyết Ngân, 2016. Sự phát triển và ảnh hưởng của vi khuẩn *Bacillus amyloliquefaciens* trong môi trường nuôi *Artemia* ở độ mặn cao. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ - Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học: 45 (2016): 101-111.
- Nguyễn Thị Ngọc Anh, Quảng Thị Mỹ Duyên và Nguyễn Văn Hòa, 2014. Khảo sát các yếu tố kỹ thuật và hiệu quả tài chính mô hình nuôi *Artemia* ở tỉnh Sóc Trăng và Bạc Liêu. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ - Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học: 32 (2014): 100-112.
- Nguyễn Văn Hòa, Nguyễn Thị Hồng Vân, Nguyễn Thị Ngọc Anh, Phạm Thị Tuyết Ngân, Huỳnh Thanh Tới và Trần Hữu Lễ, 2007. *Artemia* - Nghiên cứu và ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản. Nhà xuất bản Nông Nghiệp. 134 trang.
- Phạm Minh Tuấn, Nguyễn Thị Hồng Phấn và Trần Anh Thư, 2018. Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn sinh bacteriocin kháng *Vibrio*

- parahaemolyticus* gây bệnh trên tôm. Tạp chí Khoa học công nghệ và Thực phẩm 15 (1) (2018): 46-56.
- Phạm Thị Tuyết Ngân và Trần Sương Ngọc, 2014. Ảnh hưởng của hỗn hợp *Bacillus sp.* chọn lọc lên tăng trưởng *Artemia franciscana*. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ - Số chuyên đề: Thủy sản (2014) (2): 184 - 191.
- Phạm Thị Tuyết Ngân, Vũ Hùng Hải, Vũ Ngọc Út và Huỳnh Trường Giang, 2022. Ảnh hưởng của vi khuẩn *Bacillus CM31* lên chất lượng nước và tăng trưởng của tôm Thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ Tập 58, Số 4B (2022): 175-184.
- Schillinger U, Lücke FK, 1989. Identification of *Lactobacilli* from meat and meat products. Food Microbiol 4:199-208.
- Schillinger, U. and Lucke, F. K, 1989. Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. Applied and Environmental Microbiology, 55,1901-1906.
- Tchobanoglous, G., Burton, F. L., and Stensel, H. D, 2003. Wastewater Engineering: Treatment and Reuse. McGraw-Hill Education.
- Vũ Ngọc Út và Tạ Văn Phương, 2008. Hiện trạng chất lượng nước vùng nuôi *Artemia* huyện Vĩnh Châu tỉnh Sóc Trăng. Tạp chí khoa học, Đại học Cần Thơ, (1): 10 – 22.

EVALUATING THE EFFECTS OF INDIGENOUS *BACILLUS* IN NITROGEN AND PHOSPHORUS TRANSFORMATION IN SEDIMENT OF ARTEMIA POND

Ta Van Phuong^{1*}, Huynh Tan Duong¹ and Nguyen Van Hoa²

¹Tay Do University

²Can Tho University

(*Email: tvphuong@tdu.edu.vn)

ABSTRACT

The research aimed to select indigenous Bacillus sp. from Artemia farming ponds with high ability to hydrolyze nitrogen, phosphorus and exhibit antibacterial activity against Vibrio parahaemolyticus. A total 12 of Bacillus strains were successfully isolated with three different groups of cloudy white (CW), clear white (CW), and yellow (Y) from Artemia farming ponds' sediment in salinities of 60‰ and 80‰. The most nominant strain was identified as Bacillus subtilis showed high effectiveness on nitrogen and phosphorus hydrolysis, and antibacterial activity against Vibrio parahaemolyticus. Nitrogen and phosphorus transformation of this selected bacterial strain was tested with two different salinity levels 60‰ and 80‰. The results showed that amendment of isolated Bacillus subtilis strain at a density of 10^9 CFU/ml has tended to restrict the density of Vibrio parahaemolyticus, reduced levels of Total Ammonium Nitrogen (TAN) and NO_2^- , and increased the available of NO_3^- and phosphorous in the soil.

Keywords: Artemia sediment pond, Bacillus, indigenous bacteria, N and P hydrolysis