



Bài báo nghiên cứu

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN MỘT SỐ DÒNG VI SINH VẬT PHÂN GIẢI CHẤT HỮU CƠ TỪ Bùn THẢI AO NUÔI TÔM Ở HUYỆN CẦN GIỜ

Phạm Quỳnh Anh*, Võ Minh Long,

Trần Hải My, Phan Thị Hồng Hải, Nguyễn Thị Ngọc Sương

Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nông nghiệp Công nghệ cao, Việt Nam

*Tác giả liên hệ: Phạm Quỳnh Anh – Email: phamquynhanh.pvc@gmail.com

Ngày nhận bài: 18-5-2023; ngày nhận bài sửa: 30-10-2023; ngày duyệt đăng: 13-11-2023

TÓM TẮT

Hệ vi sinh vật trong bùn thải ao tôm có khả năng phân giải các chất hữu cơ gây ô nhiễm môi trường nuôi. Nhóm vi sinh vật này là nguồn nguyên liệu hữu ích để sử dụng sản xuất chế phẩm xử lý ô nhiễm môi trường nuôi trồng thủy sản. Đề tài thu thập 16 mẫu bùn thải ao nuôi tôm ở huyện Cần Giờ, Thành phố Hồ Chí Minh và tuyển chọn được 51 chủng vi khuẩn, 9 chủng nấm men và 19 chủng xạ khuẩn có khả năng chịu mặn ở 30‰. Hai chủng vi khuẩn B25, B29 và 3 chủng xạ khuẩn X17, S11, S1 có hoạt tính protease tốt nhất. 2 chủng xạ khuẩn S1, S11 và chủng nấm men N1 là có hoạt tính cellulase tốt nhất. 2 chủng vi khuẩn B29, B28 và chủng xạ khuẩn S11 có hoạt tính amylase tốt nhất. Bộ sưu tập vi sinh vật của đề tài có khả năng sử dụng trong nghiên cứu sản xuất chế phẩm sinh học, cải tạo môi trường nuôi trồng thủy sản

Từ khóa: amylase; cellulase; protease; bùn thải ao nuôi tôm

1. Giới thiệu

Một trong những nguyên nhân ảnh hưởng đến năng suất trong quá trình nuôi trồng là việc tích tụ thức ăn dư thừa, xác bã hữu cơ trong ao làm cho môi trường nuôi tôm ngày càng ô nhiễm chất dinh dưỡng gây độc cho tôm, đồng thời tạo điều kiện thuận lợi cho vi sinh vật gây bệnh cho tôm phát triển (Wyban et al., 1988; Nguyen, 2011). Ngoài ra, người nông dân có xu hướng sử dụng hóa chất và kháng sinh để giảm tình trạng này. Việc kiểm soát lượng kháng sinh và hóa chất để không còn tồn dư trong sản phẩm là điều khó khăn cho người nông dân. Do đó, việc sử dụng các chế phẩm có nguồn gốc sinh học, có chứa các vi sinh vật có hoạt tính cao, có khả năng ức chế vi sinh vật gây hại sẽ tránh được tình trạng này, góp phần nâng cao hiệu quả kinh tế, nâng cao năng suất, chất lượng tôm thu hoạch (Pham &

Cite this article as: Phạm Quỳnh Anh, Võ Minh Long, Trần Hải My, Phan Thị Hồng Hải, & Nguyễn Thị Ngọc Sương (2023). Isolation and selection of some strategies for organic dissolving microbes from shrimp pond sludge in Can Gio District. *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, 20(11), 1906-1919.

Truong, 2010; Nguyen, 2011; Phan & Pham, 2012). Nghiên cứu phân lập các chủng vi sinh vật bản địa để sản xuất chế phẩm vi sinh phục vụ việc cải thiện chất lượng môi trường, nâng cao quá trình canh tác cho vùng đang là xu hướng. Các chủng vi sinh vật bản địa được phân lập với các hoạt tính mong muốn có hiệu quả sử dụng cho vùng được đánh giá là phù hợp hơn các sản phẩm thương mại. Đây cũng được xem là phương pháp làm giàu hệ vi sinh vật trong môi trường, cải thiện đúng trọng tâm vấn đề cần khắc phục trong quá trình canh tác.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Thu thập mẫu

Mẫu bùn được lấy thuộc mô hình nuôi tôm điển hình là thâm canh và quảng canh. Mẫu bùn được lấy trong thời gian chuẩn bị thu hoạch và đang quá trình nạo vét ao chuẩn bị vụ nuôi mới.

Phương pháp lấy mẫu: Lấy mẫu theo TCVN 6663 – 13:2000 – Phần 13: Hướng dẫn lấy mẫu bùn nước, bùn nước thải và bùn liên quan.

Phương pháp bảo quản mẫu: Bảo quản theo TCVN 6663 – 13:2000 – Hướng dẫn bảo quản và xử lý mẫu bùn và trầm tích.

2.2. Phân lập vi sinh vật từ bùn thải ao nuôi tôm

Cân 10 g mẫu bùn cho vào bình tam giác 250 mL có chứa 40 mL nước cất vô trùng, lắc đều mẫu bùn trên máy lắc trong 30 phút, sau đó để lắng, thu dịch huyền phù. Dịch huyền phù được pha loãng ở các nồng độ: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} .

Lấy 0,1 mL dung dịch ở các nồng độ pha loãng cho vào môi trường thạch đĩa tương ứng có bổ sung NaCl 1% cho từng nhóm vi sinh vật có khả năng phân giải cellulose, phân giải tinh bột, phân giải protein, trái đều, ủ ở nhiệt độ thích hợp đến khi xuất hiện khuẩn lạc. Chọn và cấy chuyển những khuẩn lạc đơn có đặc điểm hình thái, màu sắc khác nhau. Cấy chuyển nhiều lần để làm thuần. Kiểm tra độ thuần của các chủng vi sinh vật dưới kính hiển vi quang học. Cấy chuyển các chủng vi sinh vật đã thuần sang ống nghiệm chứa môi trường thạch nghiêng thích hợp, trữ ở 4°C.

Định danh sơ bộ các chủng vi sinh vật phân lập được

Vi khuẩn phân lập được kí hiệu chữ cái đầu là V và định danh theo tài liệu “Bergey's manual of systematic bacteriology” của George (2005) với các chỉ tiêu: hình thái khuẩn lạc, hình thái tế bào, gram, oxidase, catalase, thử nghiệm tính di động, khả năng lên men glucose, khả năng lên men lactose, phản ứng mr, phản ứng vp, nitrate, citrate, indol, urease, khả năng tạo bào tử. Nấm men được kí hiệu chữ cái đầu là N và định danh theo tài liệu “The yeast – A taxonomic study” của Lodder (1970) bằng hình thái khuẩn lạc, hình thái tế bào, hình thái bào tử. Xạ khuẩn được kí hiệu chữ cái đầu là X và định danh theo tài liệu “The Actinomycetes: Classification, identification and descriptions of genera and species” của Waksman (1961) và “International Streptomyces project (ISP)” với chỉ tiêu màu sắc của khuẩn ti cơ chất, khuẩn ti khí sinh trên môi trường Gause I, Gause II, ISP4, hình thái khuẩn lạc, hình thái tế bào, hình thái bào tử.

Bảo quản vi sinh vật

Vi khuẩn và nấm men được trữ trong môi trường lỏng thích hợp có bổ sung glycerol 15%, bảo quản trong tủ đông sâu -50°C . Xạ khuẩn được cấy trữ trên môi trường thạch nghiêng và bổ sung 1 lớp dầu khoáng parafin phủ đầy bề mặt thạch. Các chủng vi sinh vật phân lập và các chủng vi sinh vật từ bộ sưu tập của đơn vị (kí hiệu chữ cái đầu là B, các chủng được phân lập từ mẫu đất, nước ở huyện Cần Giò thuộc các đề tài nghiên cứu trước đây) được bảo quản và sử dụng ở các thí nghiệm tiếp theo.

2.3. Xác định khả năng chịu mặn

Vi sinh vật được nuôi trong môi trường thích hợp (Luria Bertani (LB) đối với vi khuẩn, Gause 1 đối với xạ khuẩn, Yeast Extract Peptone Dextrose Agar (YEPA) đối với nấm men) có bổ sung NaCl lần lượt 0, 10, 20 và 30% ở 30°C trong thời gian thích hợp (48 giờ đối với vi khuẩn (Pham et al., 2013; Vu, 2015), 24 giờ đối với nấm men (Narendhirakannan et al., 2014) và 7 ngày với xạ khuẩn (Nguyen et al., 2021)). Chủng vi khuẩn có khả năng chịu mặn ở nồng độ xác định có mật độ và kích thước khuẩn lạc tương đương với chủng đó được nuôi cấy trên môi trường không bổ sung NaCl.

2.4. Xác định hoạt tính protease

- Cấy điểm các chủng vi sinh vật lên môi trường thạch đĩa skim milk. Ủ ấm ở 30°C trong thời gian thích hợp (48 giờ đối với vi khuẩn (Pham et al., 2013; Vu, 2015), 24 giờ đối với nấm men (Narendhirakannan et al., 2014) và 7 ngày với xạ khuẩn (Nguyen et al., 2021)). Theo dõi sự hình thành vòng phân giải xung quanh khuẩn lạc.

- Xác định hoạt độ: Nuôi cấy vi sinh vật trên môi trường lỏng thích hợp (LB đối với vi khuẩn, Gause 1 đối với xạ khuẩn, YEPA đối với nấm men) có bổ sung 1% casein, nuôi cấy lắc (150 vòng/phút đối với vi khuẩn, 300 vòng/phút đối với nấm men, 220 vòng/phút đối với xạ khuẩn) ở 30°C trong thời gian thích hợp (48 giờ đối với vi khuẩn (Pham et al., 2013; Vu, 2015), 24 giờ đối với nấm men (Narendhirakannan et al., 2014) và 7 ngày với xạ khuẩn (Nguyen et al., 2021)). Thu nhận dịch vi sinh vật có chứa enzyme bằng cách li tâm 4000 vòng/phút trong 20 phút. Xác định hoạt độ theo phương pháp Anson cải tiến (Nguyen et al., 2011; Prabavathi et al., 2012; Gothandam et al., 2013; Sumithra et al., 2014).

2.5. Xác định hoạt tính cellulase

- Cấy điểm các chủng vi sinh vật lên môi trường thạch đĩa carboxy methyl cellulose (CMC) 1%. Ủ ấm 30°C trong thời gian thích hợp, nhỏ vài giọt thuốc thử Lugol để kiểm tra khả năng phân giải.

- Xác định hoạt độ: Nuôi – cấy vi sinh vật trên môi trường lỏng có bổ sung 1% CMC, nuôi cấy lắc ở 30°C trong thời gian thích hợp. Li tâm thu nhận dịch vi sinh vật có chứa enzyme. Xác định hoạt độ theo phương pháp dựa vào lượng đường khử 3,5- Dinitrosalicylic acid (DNS) tạo thành (Nguyen et al., 2011; Shanmugapriya et al., 2012; Das et al., 2014; Mohanta, 2014; Zin et al., 2015).

2.6. Xác định hoạt tính amylase

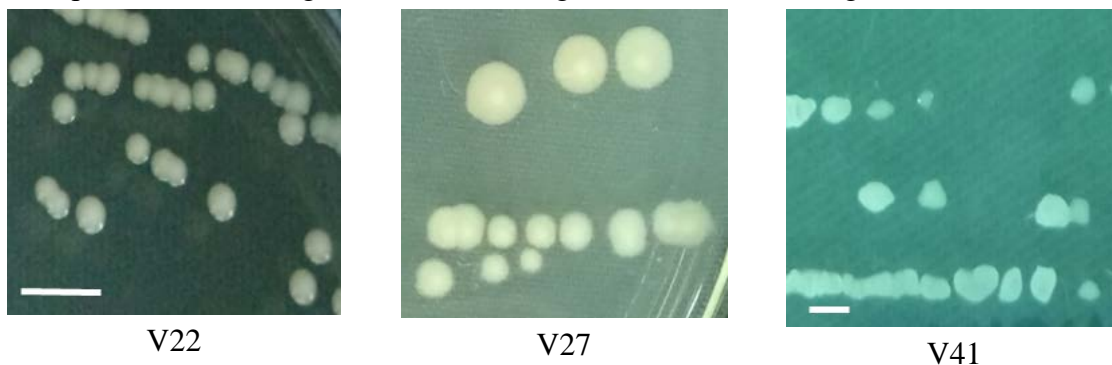
- Cấy điểm các chủng vi sinh vật lên môi trường thạch đĩa tinh bột tan 1%. Ủ ấm 30°C trong thời gian thích hợp, nhỏ vài giọt thuốc thử Lugol để kiểm tra khả năng phân giải.

- Xác định hoạt độ: Nuôi cấy vi sinh vật trên môi trường lỏng thích hợp có bổ sung 1% tinh bột. Ủ lắ ở 30°C trong thời gian thích hợp. Li tâm thu nhận dịch vi sinh vật có chứa enzyme. Xác định hoạt độ theo phương pháp Wolhgemuth (James et al., 1961; Nguyen et al., 2011).

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Phân lập vi sinh vật từ bùn thải ao nuôi tôm

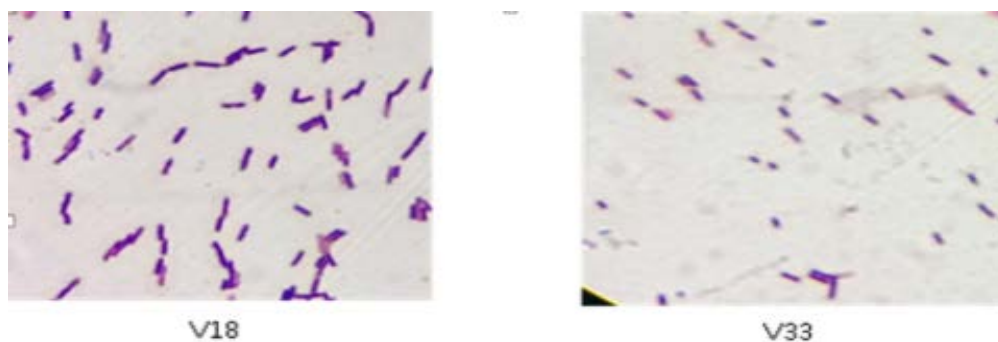
Nghiên cứu đã phân lập được 51 chủng vi khuẩn, 20 chủng xạ khuẩn và 15 chủng nấm men và không phân lập được chủng nấm sợi nào. Qua định danh sơ bộ dựa trên khóa phân loại vi khuẩn của Bergey (2005), khóa phân loại xạ khuẩn của Waksman (1961) và khóa phân loại nấm men của Lodder (1970), chúng tôi đã xác định được 10 chủng *Bacillus*, 26 chủng *Pseudomonas*, 2 chủng *Nitrobacter*, 13 chủng *Nitrosomonas*, 10 chủng vi khuẩn nghi ngờ là *Aeromonas* hoặc *Vibrio*, 19 chủng xạ khuẩn *Streptomyces*, 1 chủng xạ khuẩn *Micromonospora*, 10 chủng nấm men có nang bào tử và 5 chủng nấm men không sinh bào tử. Các chủng vi khuẩn nghi ngờ là *Aeromonas* hoặc *Vibrio* bị loại vì nghi ngờ thuộc nhóm vi sinh vật gây bệnh trên thủy sản (Holmberg, 1988). Do đó, tổng số chủng vi sinh vật đã phân lập được là 51 chủng vi khuẩn, 20 chủng xạ khuẩn và 15 chủng nấm men.



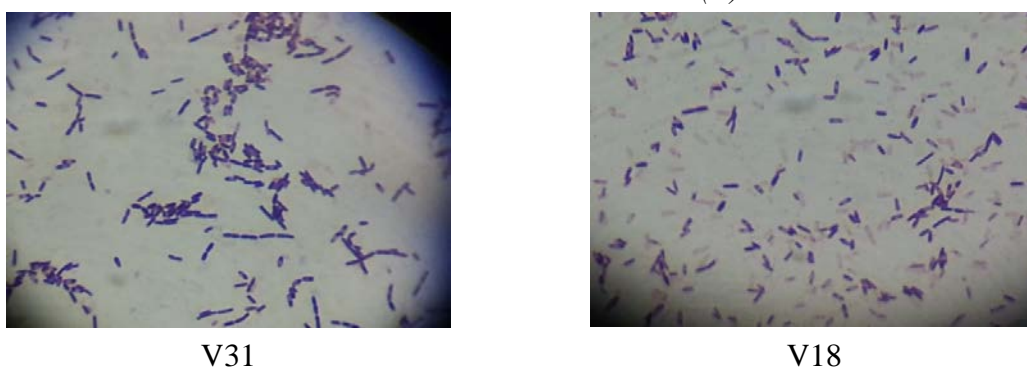
Hình 1. Một số dạng khuẩn lạc đặc trưng của các chủng vi khuẩn phân lập được (1cm)



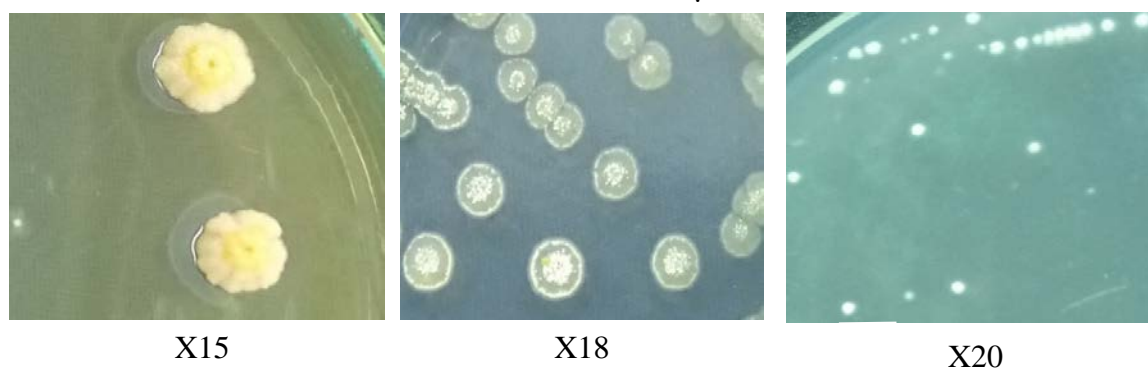
Hình 2. Hình ảnh vi thể Gram (-)



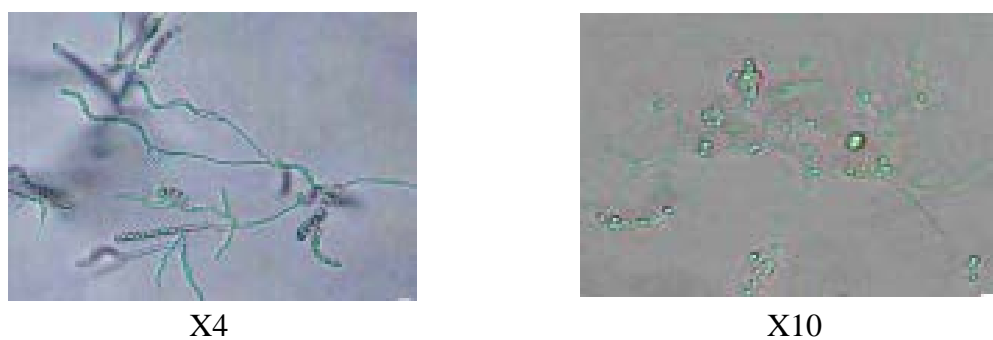
Hình 3. Hình ảnh vi thể Gram (+)



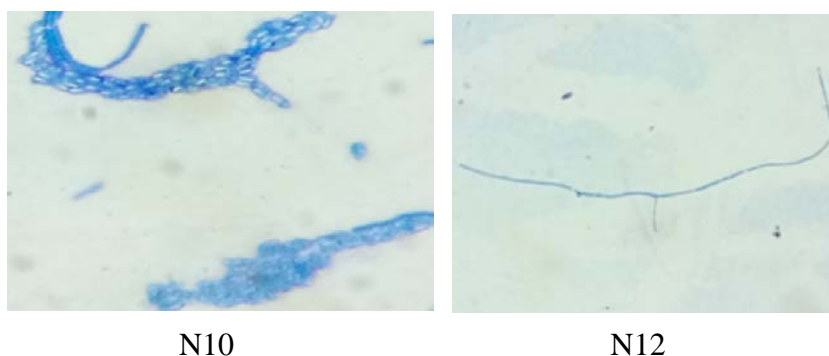
Hình 4. Hình ảnh bào tử của một số vi khuẩn



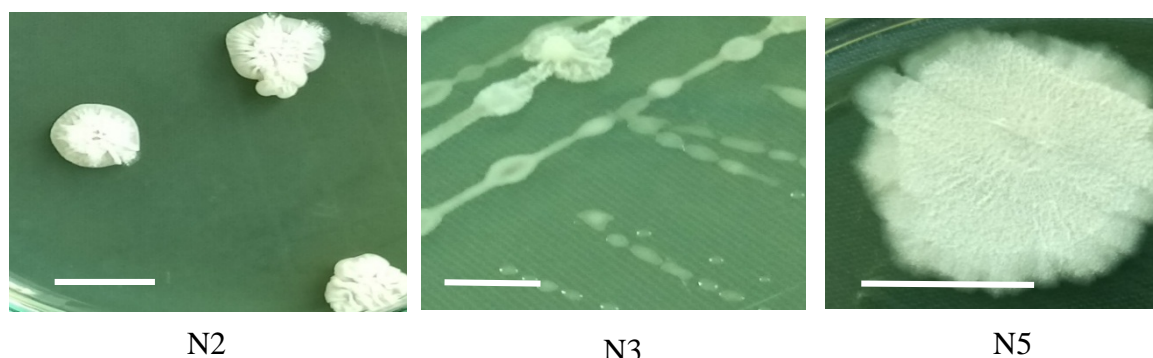
Hình 5. Một số dạng khuẩn lạc đặc trưng của các chủng xạ khuẩn phân lập được (1cm)



Hình 6. Một số hình dạng đặc trưng của bào tử xạ khuẩn phân lập được



Hình 7. Một số hình ảnh tế bào nấm men đặc trưng dưới vật kính X100



Hình 8. Một số dạng khuẩn lạc đặc trưng của các chủng nấm men phân lập được (1cm)

3.2. Xác định khả năng chịu mặn

Nghiên cứu đã xác định được 51 chủng vi khuẩn có khả năng chịu mặn tốt ở 30%. Tất cả các chủng nấm men đều chịu được độ mặn ở 10%. Ở độ mặn 30%, 9/15 chủng nấm men có khả năng sinh trưởng tốt. Hầu hết các chủng xạ khuẩn đều sinh trưởng tốt ở độ mặn 10% và 20%. Trong đó, có 19/20 chủng xạ khuẩn chịu được độ mặn 30%. Bùn ao nuôi tôm ở Cần Giờ có độ mặn dao động từ 0% đến 30%. Vì vậy đã tuyển chọn được 51 chủng vi khuẩn, 19 chủng xạ khuẩn và 9 chủng nấm men có khả năng chịu mặn tốt ở 30%, thích hợp để tiếp tục nghiên cứu ứng dụng.

3.3. Xác định hoạt tính protease

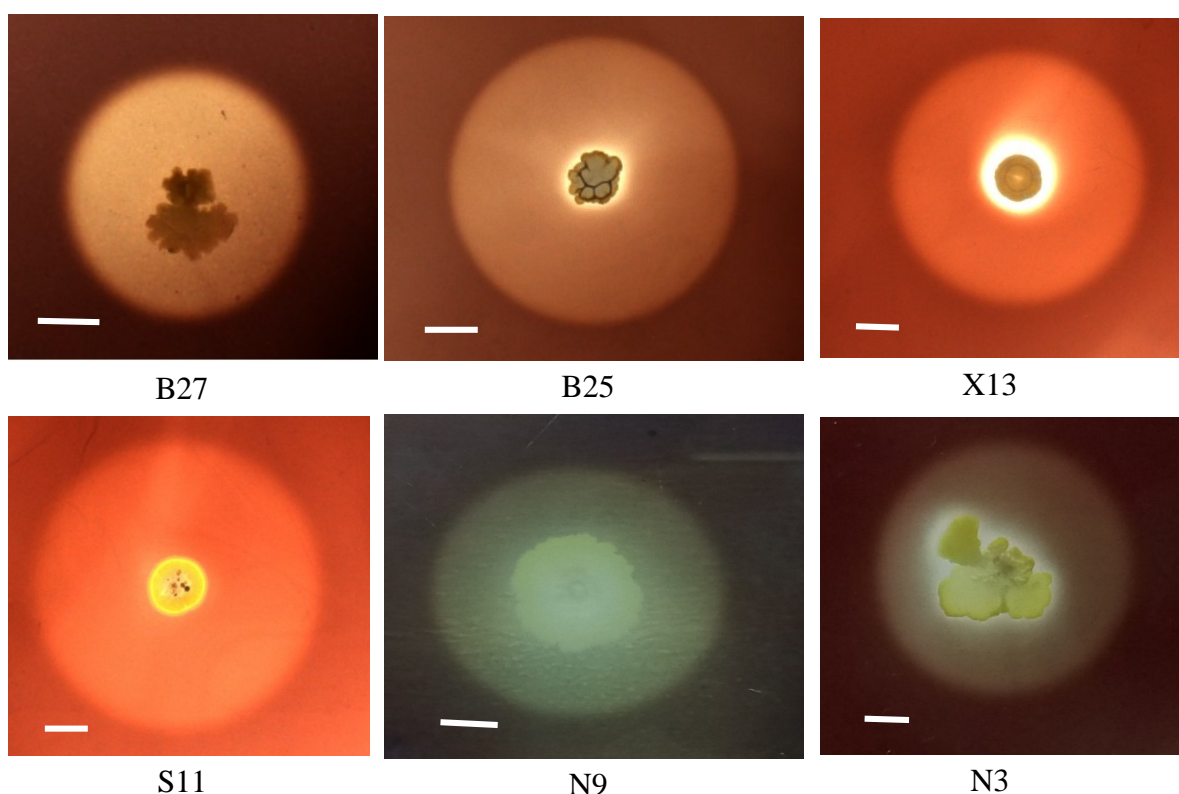
Thí nghiệm xác định có 32 chủng vi khuẩn có khả năng phân giải casein trong tổng số 42 chủng vi khuẩn được khảo sát. Trong đó, chủng B25, B29 và B22 có khả năng phân giải casein tốt nhất với đường kính vòng phân giải lần lượt là 25,50 mm; 23,75 mm và 17,23 mm. Các chủng vi khuẩn trong nghiên cứu của Nguyễn Văn Phúc và Phan Thị Phượng Trang (2014) có hoạt tính protease tốt nhất với đường kính vòng phân giải từ 13-14 mm (Nguyễn & Phan, 2014). Theo nghiên cứu của Khuất Hữu Thanh và Lê Anh Xuân, các chủng vi khuẩn có khả năng phân giải protein tốt nhất với đường kính vòng phân giải nằm trong khoảng 17,3-21,3 mm (Khuat & Le, 2012). Như vậy, kết quả trên tương đương với các nghiên cứu trước đây.

Tất cả 9 chủng nấm men được khảo sát đều có hoạt tính protease. Ba chủng nấm men N10, N3 và N9 có hoạt tính enzyme protease tốt nhất với đường kính vòng phân giải lần lượt

là 18,17 mm, 14,67 mm và 12,00 mm. Trong tổng số 19 chủng xạ khuẩn được khảo sát, có 12 chủng xạ khuẩn có khả năng phân giải casein. Trong đó, 3 chủng xạ khuẩn X17, S11 và S1 có khả năng phân giải casein tốt nhất với đường kính vòng phân giải lần lượt là 28,53mm; 24,40 mm và 23,40 mm. Theo Jayasree và cộng sự, các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* có hoạt tính protease cao với đường kính vòng phân giải từ 22-32 mm (Jayasree et al., 2009). Các chủng xạ khuẩn trong nghiên cứu của Viswanathan và cộng sự có khả năng phân giải casein với đường kính vòng phân giải trong khoảng 11-20 mm (Viswanathan et al., 2015). Như vậy các chủng tuyển chọn có hoạt tính phân giải protein, ở đây là casein, tương đương với các nghiên cứu trước đó.

Bảng 1. Hoạt độ protease của các chủng vi sinh vật tuyển chọn

STT	Mã chủng	D-d (mm)	Hoạt độ protease (IU/mL)
1	B25	25,50	0,80
2	B29	23,57	0,76
3	B22	17,23	0,67
4	N10	18,17	0,62
5	N3	14,67	0,58
6	N9	12,00	0,57
7	X17	28,53	0,83
8	S11	24,40	0,74
9	S1	23,40	0,73



Hình 9. Vòng phân giải casein trên môi trường thạch đĩa của một số chủng vi sinh vật (1cm)

Dựa vào Bảng 1 và Hình 9, thấy rằng các chủng vi sinh vật có hoạt tính protease tốt nhất là hai chủng vi khuẩn B25, B29 và 3 chủng xạ khuẩn X17, S11 và S1 với hoạt độ protease trên 0,7 IU/mL. Trong nghiên cứu của Vo và cộng sự, hoạt độ phân giải protein của các chủng từ 0,7-0,9U/ml (Vo et al, 2012). Như vậy, các chủng tuyển chọn thường được sử dụng trong sản xuất, như vậy các chủng có tiềm năng ứng dụng trong nghiên cứu chế phẩm.

3.4. Xác định hoạt tính cellulase

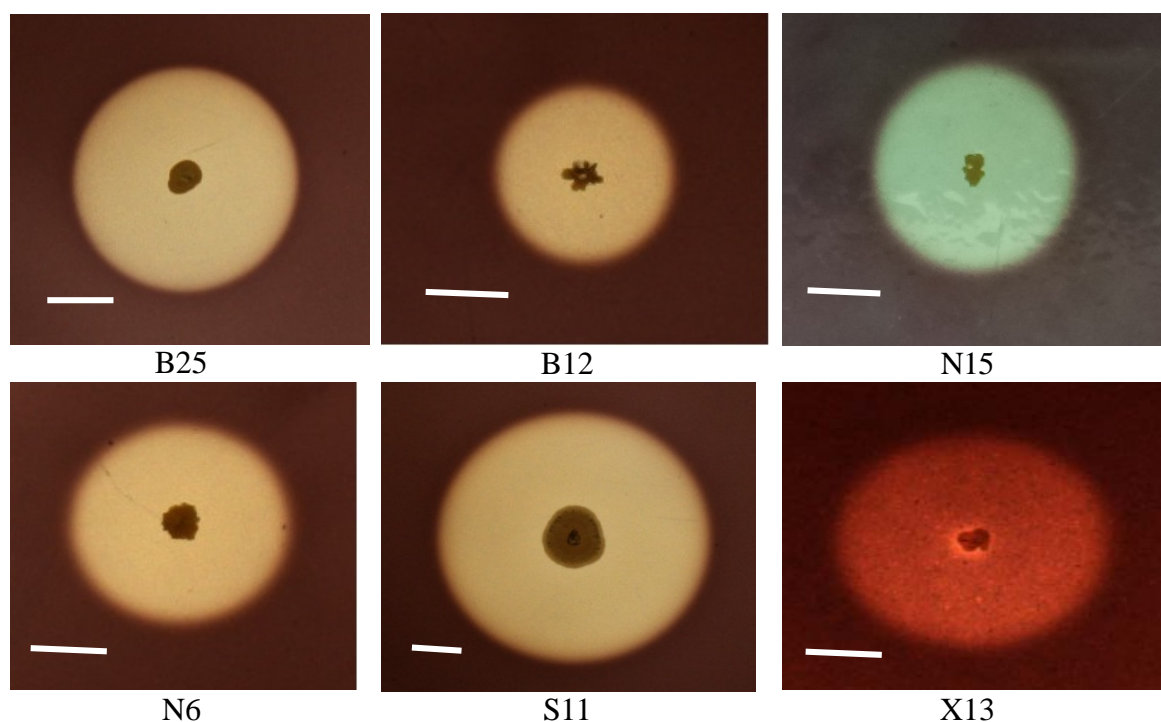
Trong tổng số 42 chủng vi khuẩn được khảo sát, có 35 chủng vi khuẩn có khả năng phân giải CMC. Trong đó, chủng P2, B21 và B25 là ba chủng vi khuẩn có khả năng phân giải CMC cao nhất với đường kính vòng phân giải lần lượt là 20,60; 17,83 và 16,63 mm. Các chủng vi khuẩn trong nghiên cứu của Khuất Hữu Thanh và Lê Anh Xuân có hoạt tính cellulase cao nhất với đường kính vòng phân giải từ 13,6-17,5 mm (Khuat & Le, 2012). Theo nghiên cứu của Nguyễn Văn Phúc và Phan Thị Phượng Trang, các chủng vi khuẩn có khả năng phân giải cellulose tốt nhất với đường kính vòng phân giải từ 12,5-14 mm (Nguyen & Phan, 2014). Theo Narendhirakannan và cộng sự, các chủng vi khuẩn có khả năng phân giải CMC với đường kính vòng phân giải từ 3-20 mm (Narendhirakannan et al., 2014). Trong nghiên cứu của Zin và cộng sự, các chủng vi khuẩn có hoạt tính cellulase cao nhất với đường kính vòng phân giải từ 22-30 mm (Zin et al., 2015). Như vậy, các chủng vi khuẩn có khả năng phân giải CMC tốt, các chủng tuyển chọn có hiệu quả phân giải cellulose tung tụt các nghiên cứu trước đây.

Tất cả các chủng nấm men được khảo sát đều có hoạt tính cellulase. Trong đó, ba chủng nấm men là N1, N6 và N10 có hoạt tính cellulase tốt nhất (16,67; 13,13 và 12,00 mm). Theo Narendhirakannan và cộng sự, các chủng nấm men có khả năng phân giải cellulose với đường kính vòng phân giải từ 7-10 mm (Narendhirakannan et al., 2014). Do vậy, ba chủng nấm men N1, N6 và N10 được chọn để tiếp tục khảo sát hoạt độ enzyme.

Trong tổng số 19 chủng xạ khuẩn được khảo sát, có 13 chủng xạ khuẩn có khả năng phân giải CMC. Trong đó, 3 chủng xạ khuẩn là S11, S1 và S5 có khả năng phân giải CMC cao nhất (23,53; 20,43 và 19,47 mm). Theo nghiên cứu của Das và cộng sự, các chủng xạ khuẩn có hoạt tính cellulase với đường kính vòng phân giải trong khoảng 17-33 mm (Das et al., 2014). Theo Narendhirakannan và cộng sự, các chủng xạ khuẩn có khả năng phân giải cellulase với đường kính vòng phân giải từ 10-15 mm (Narendhirakannan et al., 2014).

Bảng 2. Hoạt độ cellulase của các chủng vi sinh vật tuyển chọn

STT	Mã chủng	D-d (mm)	Hoạt độ cellulase (IU/mL)
1	N1	16,67	0,76
2	N6	13,13	0,55
3	N10	12,00	0,69
4	S11	23,53	0,79
5	S1	20,43	0,95
6	S5	19,47	0,60
7	P2	20,60	0,42
8	B25	16,63	0,54
9	B21	17,83	0,42



Hình 10. Vòng phân giải CMC trên môi trường thạch đĩa của một số chủng vi sinh vật (1cm)

Từ Bảng 2 và Hình 10 cho thấy đường kính vòng phân giải và hoạt độ cellulase của 2 chủng xạ khuẩn S1 và S11 và chủng nấm men N1 là tốt nhất. Hoạt độ protease của các chủng tuyển chọn đều trên 0,7 IU/mL.

3.5. Xác định hoạt tính amylase

Trong tổng số 42 chủng vi khuẩn khảo sát có 23 chủng có khả năng phân giải tinh bột. Trong đó, 3 chủng có khả năng phân giải tinh bột tốt nhất là B29, B28 và B26 với đường kính vòng phân giải lần lượt là 19,50; 18,75 và 17,00 mm. Trong nghiên cứu của Khuất Hữu Thanh và Lê Anh Xuân, các chủng vi khuẩn có khả năng phân giải tinh bột tốt có đường kính vòng phân giải lớn nhất từ 9,5-18,7 mm (Khuat & Le, 2012). Khả năng phân giải tinh bột mạnh nhất của các chủng vi khuẩn trong nghiên cứu của Nguyễn Văn Phúc và Phan Thị Phương Trang có đường kính vòng phân giải lớn nhất là 12 mm (Nguyen & Phan, 2014).

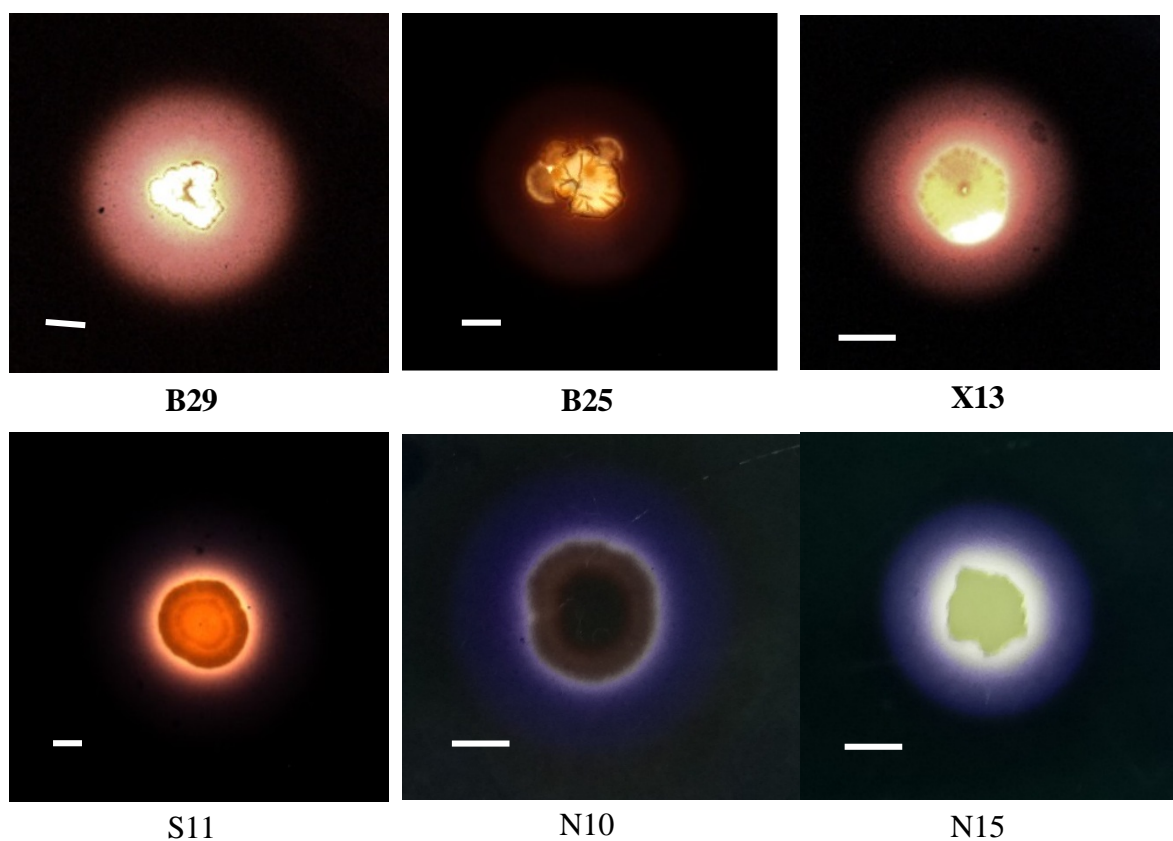
Nghiên cứu xác định 5/9 chủng nấm men có hoạt tính amylase. Trong đó, 3 chủng nấm men N6, N10 và N15 có khả năng sinh amylase cao nhất với đường kính vòng phân giải lần lượt là 10,87; 9,53 và 7,13 mm. Theo Tansel, các chủng nấm men có khả năng phân giải tinh bột với đường kính vòng phân giải từ 4-18 mm (Tansel, 2013).

Trong tổng số 19 chủng xạ khuẩn khảo sát, có 10 chủng xạ khuẩn có khả năng phân giải tinh bột. Trong đó, 3 chủng xạ khuẩn có khả năng phân giải tinh bột cao nhất là S11, S1 và S2 với đường kính vòng phân giải lần lượt là 18,5; 14,67 và 13,50 mm. Theo Gebreyohannes, các chủng xạ khuẩn có khả năng phân giải tinh bột với đường kính vòng phân giải từ 10 - 20 mm (Gebreyohannes, 2015). Các chủng xạ khuẩn trong nghiên cứu của Ashwini và Sampathkumar

có hoạt tính amylase với đường kính vòng phân giải khoảng 10,1-15,5 mm (Ashwini & Sampathkumar, 2014)

Bảng 3. Hoạt độ amylase của các chủng vi sinh vật tuyển chọn

STT	Mã chủng	D-d (mm)	Hoạt độ amylase (IU/ mL)
1	B29	19,50	64
2	B28	18,75	32
3	B26	17,00	16
4	N6	10,87	8
5	N10	9,53	8
6	N15	7,13	8
7	S11	18,50	32
8	S1	14,67	16
9	S2	13,50	16



Hình 11. Vòng phân giải tinh bột trên môi trường thạch đĩa của một số chủng vi sinh vật (1cm)

Dựa vào đường kính vòng phân giải và hoạt độ amylase (Bảng 3, Hình 11), các chủng vi sinh vật có hoạt tính amylase tốt nhất là 2 chủng vi khuẩn B29 và B28 và chủng xạ khuẩn S11. Các chủng có hoạt độ enzyme amylase trên 30 IU/ mL.

4. Kết luận

Đề tài đã phân lập được 51 chủng vi khuẩn, 20 chủng xạ khuẩn và 15 chủng nấm men. Qua định danh sơ bộ, đã xác định được 10 chủng *Bacillus*, 26 chủng *Pseudomonas*, 2 chủng *Nitrobacter*, 13 chủng *Nitrosomonas*, 19 chủng xạ khuẩn *Streptomyces*, 1 chủng xạ khuẩn *Micromonospora*, 10 chủng nấm men có nang bào tử và 5 chủng nấm men không sinh bào tử.

Từ các chủng vi sinh vật phân lập, đã tuyển chọn được 51 chủng vi khuẩn, 19 chủng xạ khuẩn và 9 chủng nấm men có khả năng chịu mặn tốt ở 30‰.

Qua khảo sát các đặc tính của các chủng đã tuyển chọn, tuyển chọn được một số chủng vi sinh vật như sau:

- Về hoạt tính protease, chủng vi khuẩn B25, B29 và 3 chủng xạ khuẩn X17, S11 và S1(25,50; 23,75; 28,53; 24,40 và 23,40 mm) với hoạt độ enzyme tương ứng lần lượt là 0,80; 0,76; 0,83; 0,74; 0,73 IU/mL.

- Về hoạt tính cellulase, 2 chủng xạ khuẩn S1 và S11 và chủng nấm men N1 (20,43; 23,53 và 16,67 mm) với hoạt độ enzyme tương ứng lần lượt là 0,95; 0,79 và 16,67 IU/mL.

- Về hoạt tính amylase, 2 chủng vi khuẩn B29 và B28 và chủng xạ khuẩn S11 (19,50; 18,75 và 18,5 mm) với hoạt độ enzyme tương ứng lần lượt là 32, 16 và 8 IU/mL.

Các chủng vi sinh vật tuyển chọn cho thấy tiềm năng trong nghiên cứu sản xuất chế phẩm sinh học phục vụ cho xử lý ô nhiễm chất thải hữu cơ trong môi trường nuôi trồng thủy sản.

❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ashwini, K., & Sampathkumar, S. (2014). Isolation and screening of potent amylase-producing marine actinomycetes from seabed. *Malaya Journal of Biosciences*, 1(4), 273-276.
- Das, P., Solanki, R., & Monisha, K. (2014). Isolation and screening of cellulolytic actinomycetes from diverse habitats. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 5(3), 438-451.
- Gebreyohannes, G. (2015). Isolation and optimization of amylase producing bacteria and actinomyces from soil samples of Maraki and Tewedros campus, University of Gonda, north west Ethiopia. *African Journal of Microbiology Research*, 9(31), 1877-1882
- George, M. G. (2005). *Bergey's manual of systematic bacteriology*. United States.
- Gothandam, K. M., Suganthi, C., Mageswari, A., Karthikeyan, S., Anbalagan, M., & Sivakumar, A. (2013). Screening and optimization of protease production from a halotolerant *Bacillus licheniformis* isolated from saltern sediments. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 11(1), 47-52.

- Holmberg, S. D. (1988). Vibrios and Aeromonas. *Infect Dis Clin North Am*, 2(3), 655-76.
- James, R. F., Byron, S. M., & John, A. Z. (1961). A method for the determination of relative amounts of malted-wheat, fungal (*Aspergillus oryzae*) and bacteria (*Bacillus subtilis*) alpha-amylase in mixcultures, and its application to malted wheat. *Cereal Chemistry*, 38, 479-486.
- Jayasree, D., Sandhya Kumari, T. D., Kavi Kishor, P. B., Vijaya Lakshmi, M., & Lakshmi Narasu, M. (2009). Optimization of production protocol of alkaline protease by *Streptomyces pulvereceus*. *InterJRI Science and Technology*, 1(2), 79-82.
- Khuat, H. T., & Le, A. X. (2012). Isolation and selection of Bacillus strains for the usage in sludge treatment in intensive shrimp ponds p. *Science and Technology Journal of Agriculture & Rural Development*, 2, 86-90.
- Lodder, J. (1970). *The yeast, A taxonomic study*. North-Holland, Amsterdam.
- Mohanta, Y. K. (2014). Isolation of cellulose-degrading actinomycetes and evaluation of their cellulolytic potential. *Bioengineering and Bioscience*, 2(1), 1-5
- Narendhirakannan, R. T., Sudarshan, S. R., & Mannivannan, A. (2014). Screening of cellulase producing microorganisms from lake area containing water hyacinth for enzymatic hydrolysis of cellulose. *Journal of Advanced Scientific Research*, 5(3), 23-30.
- Nguyen, D. L., Phan, T. H., & Nguyen, A. T. (2011). *Thi nghiem cong nghe sinh hoc. Tap 2. Thi nghiem vi sinh vat hoc [Biology listening test. Volume 2. Microbiological testing]*. Ho Chi Minh City National University Press.
- Nguyen, P. B. (2011). Nghiien cuu de xuat cac giai phap tong hop xu ly bun ao nuoi tom o huyen Can Gio [Research and propose integrated solutions for shrimp pond sludge treatment in Can Gio district]. *Acceptance report*, Institute of Tropical Technology and Environmental Protection, Ho Chi Minh City.
- Nguyen, T. Q. T. (2011). *Tuyen chon cac chung vi sinh vat tao che pham nham xu li nuoc thai nuoi trong thuy san [Selection of microbial strains to create products to treat aquaculture wastewater]*. Master thesis. VNU University of Science, Hanoi National University.
- Nguyen, V. P., & Phan, T. P. T. (2014). Phan lap, dinh danh va xac dinh cac dac tinh co loi của chủng *Bacillus* spp. tu ao nuoi tom o tinh Ben Tre [Isolating, identifying and determining the beneficial properties of *Bacillus* spp. strains from shrimp ponds in Ben Tre Province]. *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, 64, 94-102.
- Nguyen, T. D. H., Hua, T. C., Dang, B. N., Nguyen, T. T. T., Nguyen, N. A., & Pham, T. V. (2021), Isolation and selection of actinomycetes producing high bioactive substances. *Journal of Science and Technology*, 53B, 56-67.
- Pham, T. T. N., & Truong, Q. P. (2010). Bien dong cac yeu to moi truong trong ao nuoi tom su (*Penaeus monodon*) tham canh tai Soc Trang [Study on water quality of intensive shrimp (*Penaeus monodon*) ponds in Soc Trang province]. *Journal of Science, Can Tho University*, 15a, 179-188.
- Pham, T. N. L., Nguyen, H. H., & Ngo, T. T. C. (2013). *Khao sat buoc dau vi sinh vat phan giai tinh bot o mot so ao nuoi tom thuoc dam Sam-Chuon, Phu Vang, Thua Thien – Hue [Preliminary investigation on starch degrading microorganisms in shrimp ponds at Sam-Chuon lagoon, Phu Vang, Thua Thien – Hue]*. In *The 5th national scientific conference on ecology and biological resources* (pp. 1116-1121).

- Phan, T. H. N., & Pham, K. L. (2012). Study of wastewater treatments from brackish aquaculture using a submered aerated fixed bed reactor. *College of Sciences, Hue University*, 74B(5), 113-122.
- Prabavathi, R., Mathivanan, V., & Ambika, A. (2012). Screening of protease enzyme by construction of metagenomic library from marine soil sediments. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 3(7), 396-399.
- Shanmugapriya, K., Saravana, P. S., Krishnapriya, Manoharan, M., Mythili, A., & Joseph, S. (2012). Isolation, screening and partial purification of cellulase from cellulase producing bacteria. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 3(1), 509-514.
- Sumithra, V., Sudha, S. S., & Jayasankar, N. S. (2015). Isolation, screening and assay of halophilic protease from saltpan samples of Tuticorin district. *Scrutiny International Research Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2(2), 7-12.
- Tansel, Y. H. (2013). Isolation and characterization of amylase producing yeasts and improvement of amylase production. *Turkish Journal of Biochemistry*, 38(1), 101-108.
- Viswanathan, K., Jeyanthi Rebecca, L., Arumugam, P., & Anbarasu, K. (2015). Isolation and screening of protease producing marine actinomycetes from Chennai coastal region. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 2(8), 153-157.
- Vo, H. T., Nguyen, H. M., & Nguyen, P. H. (2012). Hoạt tính protease của một số chủng *Bacillus* phân lập từ nước thải chế biến thịt và thủy hải sản [Study of protease activity of several *Bacillus* strains isolated from slaughterhouse and seafood processing wastewater]. *VNU Journal of Science*, 28, 116-124
- Vu, T. L. P. (2015). *Selection of lactic bacteria with high organic matter degrading activity from shrimp pond sludge in Thua Thien – Hue*, Student scientific conference, Hanoi National University.
- Waksman, S. A. (1961). *The Actinomycetes. Vol. II. Classification, identification and descriptions of genera and species* (ix+363 pp.). London: Baillière, Tindall & Cox, Ltd..
- Wyban, J. A., Sweeney, J. N., & Kanna, R. A. (1988). Shrimp Yields and Economic Potential of Intensive Round Pond Systems. *Journal of the World Aquaculture Society*, 19(4), 210-217.
- Zin, L. M. M., Win, M. T., & Myo, M. (2015). Study on the cellulase enzyme producing activity of bacteria isolated from manure waste and degrading soil. *International Journal of Technical Research and Applications*, 3(6), 165-169.

**ISOLATION AND SELECTION OF SOME STRATEGIES
FOR ORGANIC DISSOLVING MICROBES FROM SHRIMP POND SLUDGE
IN CAN GIO DISTRICT**

*Pham Quynh Anh**, *Vo Minh Long,*

Tran Hai My, Phan Thi Hong Hai, Nguyen Thi Ngoc Suong

Center for Agricultural High-Tech Research and Development, Vietnam

**Corresponding author: Pham Quynh Anh – Email: phamquynhanh.pvc@gmail.com*

Received: May 18, 2023; Revised: October 30, 2023; Accepted: November 13, 2023

ABSTRACT

Microorganisms in shrimp pond sludge can decompose organic substances that pollute the farming environment. This group of microorganisms is useful to produce substances to treat environmental pollution in aquaculture. This study collected 16 shrimp pond sludge samples in Can Gio District, Ho Chi Minh City, and then selected 51 strains of bacteria, 9 strains of yeast, and 19 strains of actinomycetes that can tolerate salinity at 30%. Two bacterial strains B25 and B29 and three actinomycete strains X17, S11, and S1 displayed the best protease activity. Two actinomycete strains S1 and S11 and yeast strain N1 showed the best cellulase activity. Two bacterial strains B29 and B28 and actinomycete strain S11 displayed the best amylase activity. The study's microbial collection has the potential to be used in research on the production of biological products and improving the aquaculture environment.

Keywords: *amylase; cellulase; protease; shrimp pond sludge*