

STUDY ON CHARACTERISTICS OF SOME BACTERIA STRAINS CAPABLE OF DECOMPOSING ORGANIC MATTER IN SALT WATER CONDITIONS ISOLATED FROM SPRATLY ISLANDS

Nguyen Thi Tam Thu^{1*}, Bui Thi Thu Ha¹, Pham Kien Cuong¹, Nguyen Thu Hoai²

¹Institute of New Technology - Academy of Military Science Technology

²Vietnam-Russia Tropical Science and Technology Research Center

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 16/02/2023	Sea and island areas are increasingly polluted by domestic waste. These wastes are degraded slowly in nature because salt-tolerant microorganisms have little ability to degrade organic matter. In order to enhance the decomposition of these pollutants in the sea and islands, it is necessary to strengthen strains capable of decomposing organic substances such as protein, starch, cellulose and tolerating high salinity. Therefore, it is necessary to isolate strains of salt-tolerant bacteria capable of decomposing these pollutants from seas and islands. This study presents the results of determining some biological characteristics of bacterial strains isolated from the soil of Spratly Islands and the ability to decompose substances that are components of domestic waste in seawater conditions. Of the 18 isolates, two are lactic acid bacteria, three are <i>Bacillus</i> , and one is <i>Priestia</i> . All 6 strains have the ability to degrade over 62-75% of protein, starch, and cellulose components after 5 days in seawater at laboratory conditions. The 16S rRNA gene sequences of these strains are also registered on the GenBank.
Revised: 23/5/2023	
Published: 23/5/2023	
KEYWORDS	
Spratly Islands	
Bacteria	
Domestic waste	
Protein	
Cellulose	

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM CỦA MỘT SỐ CHỦNG VI KHUẨN CÓ KHẢ NĂNG PHÂN HỦY CHẤT HỮU CƠ TRONG ĐIỀU KIỆN NƯỚC MẶN PHÂN LẬP TỪ QUẦN ĐẢO TRƯỜNG SA

Nguyễn Thị Tâm Thu^{1*}, Bùi Thị Thu Hà¹, Phạm Kiên Cường¹, Nguyễn Thu Hoài²

¹Viện Công nghệ mới - Viện KH-CN quân sự, ²Trung tâm Nhiệt đới Việt Nga

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 16/02/2023	Khu vực biển đảo ngày càng bị ô nhiễm bởi chất thải sinh hoạt. Các chất thải này bị phân hủy chậm trong tự nhiên do các vi sinh vật chịu mặn có khả năng phân hủy các chất hữu cơ ít. Để tăng cường quá trình phân hủy các chất ô nhiễm này ở khu vực biển đảo cần tăng cường các chủng có khả năng phân hủy các chất hữu cơ như protein, tinh bột, cellulose và chịu được độ mặn cao. Do đó, cần phân lập các chủng vi khuẩn chịu mặn có khả năng phân hủy các chất ô nhiễm này từ vùng biển và hải đảo. Nghiên cứu này trình bày các kết quả xác định một số đặc điểm sinh học của các chủng vi khuẩn phân lập từ đất của quần đảo Trường Sa và khả năng phân hủy các chất là thành phần của chất thải sinh hoạt ở điều kiện nước biển. Trong số 18 chủng phân lập được có hai chủng thuộc nhóm vi khuẩn lactic, 3 chủng khác thuộc chi <i>Bacillus</i> , 1 chủng thuộc chi <i>Priestia</i> . Cả 6 chủng đều có khả năng phân hủy trên 62-75% các thành phần protein, tinh bột, cellulose sau 5 ngày trong nước biển ở điều kiện Phòng thí nghiệm. Trình tự gen 16S rRNA của các chủng này cũng được đăng ký trên ngân hàng Gen.
Ngày hoàn thiện: 23/5/2023	
Ngày đăng: 23/5/2023	
TỪ KHÓA	
Trường Sa	
Vi khuẩn	
Chất thải sinh hoạt	
Protein	
Cellulose	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.7346>

* Corresponding author. Email: thu.n3t.cnm@gmail.com

1. Giới thiệu

Việt Nam có diện tích bờ biển dài với nhiều đảo lớn nhỏ là những cảnh quan thiên nhiên rất đẹp. Tuy nhiên, khu vực biển đảo ngày càng bị ô nhiễm bởi các chất thải sinh hoạt là rác thải của người dân, khách du lịch. Các chất thải sinh hoạt này có thành phần chính là cellulose (rễ cây, cành lá cây), tinh bột (đồ ăn thừa, các loại củ quả) và protein (thức ăn dư thừa của người dân, xác của các động vật biển). Các chất thải này bị phân hủy chậm ở điều kiện biển đảo do điều kiện khắc nghiệt (nhiệt độ, nồng độ NaCl cao) [1]. Đất ở vùng biển đảo cũng nhiễm mặn, ít mùn, nhiều cát sỏi nên không thuận lợi cho hệ vi sinh vật sinh sống. Đặc biệt là các vùng đảo xa bờ, việc thu gom phân loại rác để xử lý cũng gặp khó khăn do điều kiện đi lại. Do đó, việc nghiên cứu tìm ra các chủng vi khuẩn bản địa có khả năng phân hủy nhanh các thành phần của chất thải hữu cơ là việc làm cần thiết.

Đã có nhiều nghiên cứu về vai trò của các vi sinh vật chịu mặn trong việc xử lý các chất thải hữu cơ ở điều kiện nước mặn ở một số vùng biển trên thế giới [2] – [5]. Ở Việt Nam, một số chủng cũng đã được phân lập từ vùng ven biển có khả năng phân hủy chất hữu cơ như các chủng P21, P3 và T9 [6] - [8]. Các chủng chịu mặn từ nước thải nhà máy chế biến thủy hải sản thuộc các chi *Staphylococcus*, *Candida*, *Desulfovibrio* cũng đã được chứng minh khả năng phân hủy các chất hữu cơ trong môi trường nước mặn [1]. Tuy nhiên, đến nay chưa có nghiên cứu nào phân lập và đánh giá khả năng phân hủy các chất hữu cơ của các vi sinh vật phân lập từ các đảo thuộc quần đảo Trường Sa. Bài báo này trình bày một số kết quả về phân lập vi sinh vật thuộc khu vực quần đảo Trường Sa có khả năng sinh các enzyme protease, cellulase và amylase (các enzyme tham gia chính vào quá trình phân hủy protein, cellulose và tinh bột tương ứng). Nghiên cứu cũng đánh giá khả năng phân hủy các chất thải hữu cơ như protein, tinh bột, cellulose của một số chủng phân lập được, định danh một số chủng có khả năng phân hủy cao hơn bằng giải trình tự đoạn gen 16S rRNA. Các chủng này cũng được đăng ký trình tự gen 16S rRNA trên GenBank.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Mẫu đất gần vị trí xử lý chất thải chăn nuôi trên đảo Trường Sa, huyện Khánh Hòa, Việt Nam (8°38'46.56"Bắc, 111°55'21.07"Đông). Các mẫu được lấy theo phương pháp của Abraham [9]: Xác định 5 vị trí lấy mẫu theo dấu X, khoảng cách từ các điểm đỉnh đến trung tâm là 50 cm. Dùng xẻng gạt bỏ lớp lá cây ở trên và đào sâu xuống 15 cm. Mỗi vị trí lấy khoảng 300 g đất và trộn đều 5 mẫu đất, rây qua lưới thép để loại bỏ phần sỏi đá kích thước lớn đồng thời đồng nhất mẫu. Cho đất vào chai thủy tinh vô trùng, mỗi mẫu lấy khoảng 500 g đất. Ghi nhãn, ký hiệu mẫu và bảo quản trong thùng xốp có chứa đá gel để duy trì nhiệt độ 4-8°C. Mẫu bảo quản đến khi mang về phòng thí nghiệm (khoảng 1 tuần) và phân tích ngay.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập các chủng chịu mặn có khả năng phân hủy các chất hữu cơ

Từ các mẫu đất lấy từ quần đảo Trường Sa, mẫu được làm giàu trên môi trường sử dụng 100% nước biển, bổ sung các chất khoáng như KH_2PO_4 , MgSO_4 và nguồn C là tinh bột, CMC, gelatin 10%, chỉnh về pH 6 bằng HCl 0,1N. Sau 3 lần làm giàu, mỗi lần làm giàu nuôi cấy 5 ngày ở nhiệt độ 35°C, các chủng có khả năng phân hủy các chất hữu cơ này được cấy gạt trên môi trường thạch thường. Các chủng đã phân lập được đánh giá hoạt tính phân giải protein, tinh bột, gelatin bằng cách đo hoạt tính vòng phân giải trên đĩa thạch [3]. Khả năng chịu pH thấp (pH môi trường ban đầu là 4), khả năng sinh bào tử, sinh khí và chịu mặn (NaCl 3%) cũng được đánh giá thông qua việc đo độ đục đánh giá khả năng sinh trưởng của các chủng phân lập được.

2.2.2. Xác định hoạt tính phân giải protein, tinh bột và cellulose

Nuôi cấy các chủng phân lập được trên môi trường thạch đĩa chứa nguồn C là gelatin, tinh bột và CMC tương ứng với nồng độ 10 g/l. Sau 48 h, hoạt tính phân giải các chất được xác định bằng nhuộm với cơ chất tương ứng là $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bão hòa, dung dịch lugol (1% KI và 0,1% I_2) và dung dịch Congo red 0,2% [10]. Đo đường kính vòng phân giải và đường kính khuẩn lạc. Hoạt tính phân giải các chất được tính theo công thức [3]:

$$\text{Hoạt tính phân giải} = \frac{\text{Đường kính vòng phân giải (D)} - \text{đường kính khuẩn lạc (d)}}{\text{Đường kính khuẩn lạc (d)}}$$

Hàm lượng tinh bột, protein, cellulose (CMC) còn lại được phân tích theo các phương pháp của Goni [11], Bradford [12], Kumar [13] tương ứng. Mẫu đối chứng là mẫu vẫn bổ sung các cơ chất gelatin, tinh bột và CMC nhưng không có vi sinh vật.

2.2.3. Đặc điểm hóa sinh của chủng

Các đặc điểm hóa sinh như nhiệt độ, pH, khả năng chịu NaCl, lên men các nguồn C tạo axit được đánh giá [14].

2.2.4. Định danh các chủng phân lập được

Các chủng có hoạt tính phân hủy protein, tinh bột và cellulose cao được định danh bằng giải trình tự 16S rRNA. Các chủng vi khuẩn được nuôi cấy trên đĩa thạch để tạo các khuẩn lạc riêng rẽ. Từ các khuẩn lạc, sinh khối vi khuẩn được lấy để tách DNA tổng số theo kit Genomic DNA Extraction. DNA tổng số thu được được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1% trong đệm TAE 1X. Các đoạn DNA tổng số đủ điều kiện được sử dụng làm khuôn để nhân đoạn gen 16S rRNA.

DNA tổng số được dùng để làm khuôn nhân đoạn gen 16S rRNA với các thành phần gồm primers (F/R), Tag polymerase, DNA, Buffer, dNTP, H_2O . Phản ứng PCR được thực hiện theo quy trình 35 chu kỳ như mô tả trước đây [14], sử dụng cặp mồi 27F (5'-AGAGTTTGTATCCTGG CTCAG-3') và 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'). Các sản phẩm PCR được làm sạch bằng kit làm sạch RNA. Sản phẩm sau khi làm sạch được gửi đi giải trình tự trên thiết bị Illumina. Sử dụng phần mềm Blast để so sánh trình tự trên ngân hàng gen và phần mềm Mega6 để xây dựng cây phát sinh chủng loại. Các chủng được lựa chọn được đăng ký mã số trên ngân hàng gen NCBI.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Phân lập và định danh các chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy các chất hữu cơ trong nước mặn

3.1.1. Phân lập

Với mục đích tìm ra các chủng chịu mặn có khả năng phân hủy chất hữu cơ trong điều kiện biển đảo, từ các mẫu đất/chất thải chăn nuôi ngoài đảo Trường Sa, các chủng chịu mặn có hoạt tính phân giải các chất hữu cơ (cellulose, tinh bột, protein) đã được phân lập. Từ 3 mẫu đất và 2 mẫu chất thải chăn nuôi, 18 chủng vi khuẩn đã được phân lập trong đó có 9 chủng từ mẫu đất ký hiệu TSS1- TSS9, 9 chủng từ mẫu chất thải chăn nuôi ký hiệu TSB1-TSB4 và TSL3-TSL7. Trong đó, đặc điểm của các chủng được thể hiện trên Bảng 1.

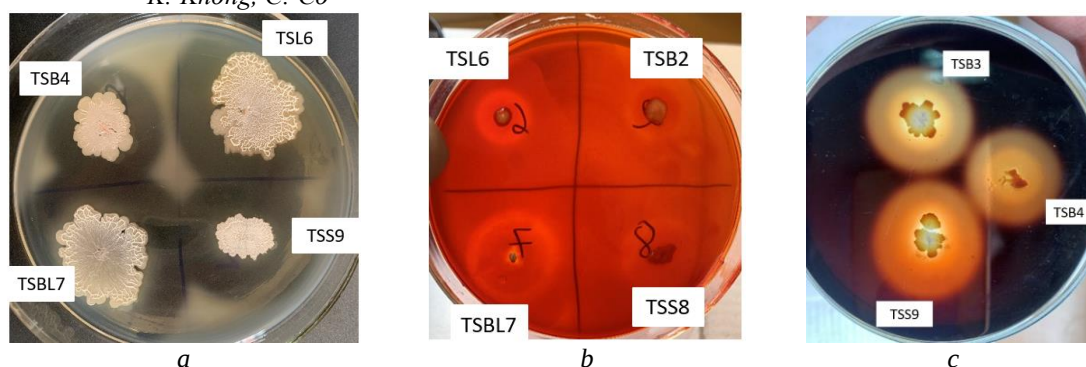
Kết quả trên Bảng 1 cho thấy tất cả các chủng phân lập được đều chịu mặn, sinh trưởng ở nồng độ NaCl 3% (nước biển ngoài đảo Trường Sa). Hầu hết các chủng phân lập được đều có khả năng phân giải tinh bột, cellulose, protein ở các mức độ khác nhau. Một số chủng trong số đó có khả năng sinh bào tử, chịu được pH4. Trong số đó, TSS9, TSB2, TSB3, TSL5, TSL6, TSL7 (Hình 1) có hoạt tính phân hủy các cơ chất này tốt hơn sẽ được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 1. Một số đặc điểm của các chủng phân lập được

Ký hiệu chủng	Phân giải tinh bột	Phân giải Cellulose	Phân giải gelatin	Khả năng sinh bào tử	Khả năng chịu axit (pH4)	Khả năng sinh khí	Khả năng chịu NaCl (3%)
TSS1	++	+	+	K	K	K	C
TSS2	++	++	++	K	K	K	C
TSS3	+	-	+++	K	K	K	C
TSS4	+	++	+	K	K	K	C
TSS5	++	+	+	C	K	K	C
TSS6	+	-	+++	K	K	C	C
TSS7	++	+	+	K	K	K	C
TSS8	+	++	++	K	C	C	C
TSS9	+++	+++	++	C	C	K	C
TSB1	++	++	+++	K	K	C	C
TSB2	+++	+++	+++	C	K	K	C
TSB3	+++	+++	+++	C	C	C	C
TSB4	++	++	++	C	C	C	C
TSL3	+	+	-	K	K	K	C
TSL4	+	+	-	K	K	C	C
TSL5	++	+	++	K	C	C	C
TSL6	+++	++	+++	C	C	K	C
TSL7	+++	+++	+++	K	C	K	C

Ghi chú: +++: Phân giải mạnh; ++: Phân giải trung bình; +: Phân giải thấp; -: Không phân giải.

K: Không, C: Có



Hình 1. Khả năng phân giải gelatin (a), CMC (b) và tinh bột (c) của một số chủng

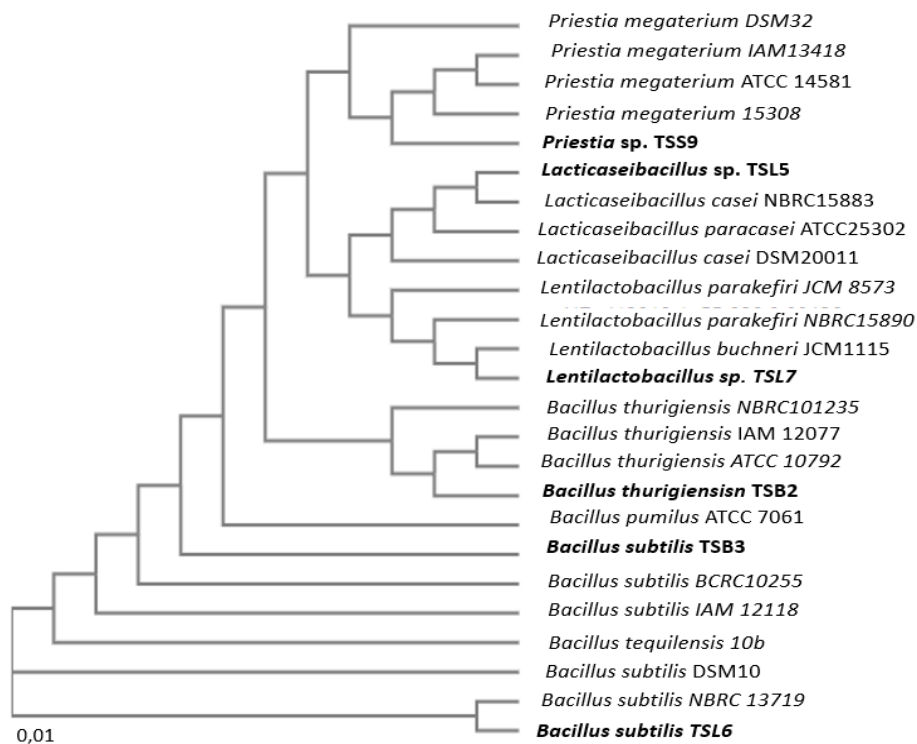
3.1.2. Định danh các chủng

Việc định danh các chủng dựa vào kết quả nhuộm Gram, quan sát hình thái tế bào và giải trình tự đoạn gen 16S rRNA. Sau khi giải trình tự đoạn gen 16S rRNA, so sánh trên ngân hàng gen NCBI bằng công cụ Blast cho thấy trình tự đoạn gen 16S rRNA của chủng TSB2 tương đồng 100% với các chủng thuộc chi *Bacillus* như *Bacillus thurigiensis* IAM 12077 (NR043403); *B. thurigiensis* ATCC 10792 (NR114581); *B. thurigiensis* 101235 (NR112780). Do đó, chủng này thuộc loài *B. thurigiensis* và đặt tên là *B. thurigiensis* TSB2. Trình tự 16S rRNA của chủng TSB3 tương đồng 100% với các loài *Bacillus subtilis* như DSM 10, IAM 12118; tương đồng 99% với trình tự 16S rRNA của các chủng *Bacillus subtilis* NBRC 13719; BCRC 10255. Chủng TSL6 có trình tự đoạn gen 16S rRNA tương đồng 100% với trình tự đoạn gen 16S rRNA của các chủng *Bacillus subtilis* DSM 10; IAM12118; JCM 1465 và tương đồng cao nhất với chủng *B. tequilensis* 10b. Chủng TSS9 có trình tự 16S rRNA tương đồng cao nhất 96% với các chủng thuộc loài *Priestia megaterium* (trước đây là *Bacillus megaterium*) nên chủng này xếp vào chi *Priestia* và ký hiệu là *Priestia* sp. TSS9. Chủng TSL5 có trình tự đoạn gen 16S rRNA tương đồng 100% với trình tự 16S rRNA của các chủng *Lactocaseibacillus casei* NBRC 15883; DSM 20011

và được đặt tên là *Lacticaseibacillus casei* TSL5. Trình tự đoạn gen 16S rRNA của chủng TSL7 tương đồng 99% với các chủng thuộc chi *Lentilactobacillus* nên được đặt tên là *Lentilactobacillus* sp. TSL7. Cây phát sinh chủng loại của các chủng phân lập được và các các chủng liên quan gần gũi được thể hiện trên Hình 2. Các vi khuẩn phân lập được chủ yếu thuộc các chi *Bacillus* và nhóm vi khuẩn lactic. Đây cũng là các chi chiếm ưu thế trong mẫu Metagenomic của đảo Trường Sa Lớn và Song Tử Tây. Các chủng thuộc chi *Bacillus*, đặc biệt loài *Bacillus subtilis* và *Bacillus tequilensis* là các vi sinh vật tiềm năng cho việc chống chịu các điều kiện khắc nghiệt và có hoạt tính phân giải các chất như protein, cellulose và tinh bột cao [14] - [17].

Bảng 2. Tên gọi và mã số trên GenBank của một số chủng phân lập được

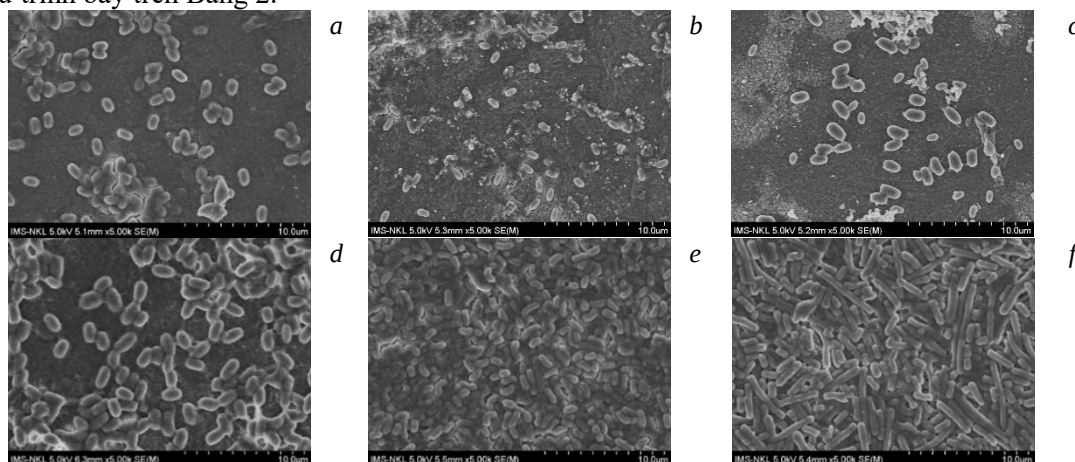
TT	Ký hiệu chủng	Tên chủng	Mã số trên GenBank
1.	TSS9	<i>Prestia</i> sp. TSS9	OQ120586
2.	TSL5	<i>Lacticaseibacillus</i> sp. TSL5	ON891142
3.	TSL7	<i>Lentilactobacillus</i> sp. TSL7	ON891133
4.	TSB2	<i>Bacillus thurigiensis</i> TSB2	ON891132
5.	TSB3	<i>Bacillus subtilis</i> TSB3	ON891134
6.	TSL6	<i>Bacillus subtilis</i> TSL6	OL757727



Hình 2. Cây phát sinh chủng loại các chủng phân lập được từ đảo Trường Sa

Kết quả nhận được cho thấy các chủng có khả năng phân hủy tốt các chất thải hữu cơ chịu mặn chủ yếu thuộc các chi *Bacillus* và nhóm vi khuẩn lactic (*Lentilactobacillus* và *Lacticaseibacillus*). Các vi khuẩn thuộc chi *Bacillus* có hoạt tính phân hủy các chất hữu cơ cao, sinh bào tử. Chủng TSB2 thuộc loài *Bacillus thurigiensis* được sử dụng như tác nhân kiểm soát sinh học diệt ấu trùng của các loài côn trùng có cánh. Nhóm *Lactobacillus* tạo môi trường có pH thấp để ức chế các vi khuẩn gây thối phát triển, hạn chế gây mùi. Đây là các chủng cũng đã được chứng minh có khả năng phân hủy các chất hữu cơ và chịu được nồng độ axit cao (pH thấp), chịu được nhiệt độ cao, nồng độ muối cao. Các chủng này cũng được quan sát hình thái tế bào dưới

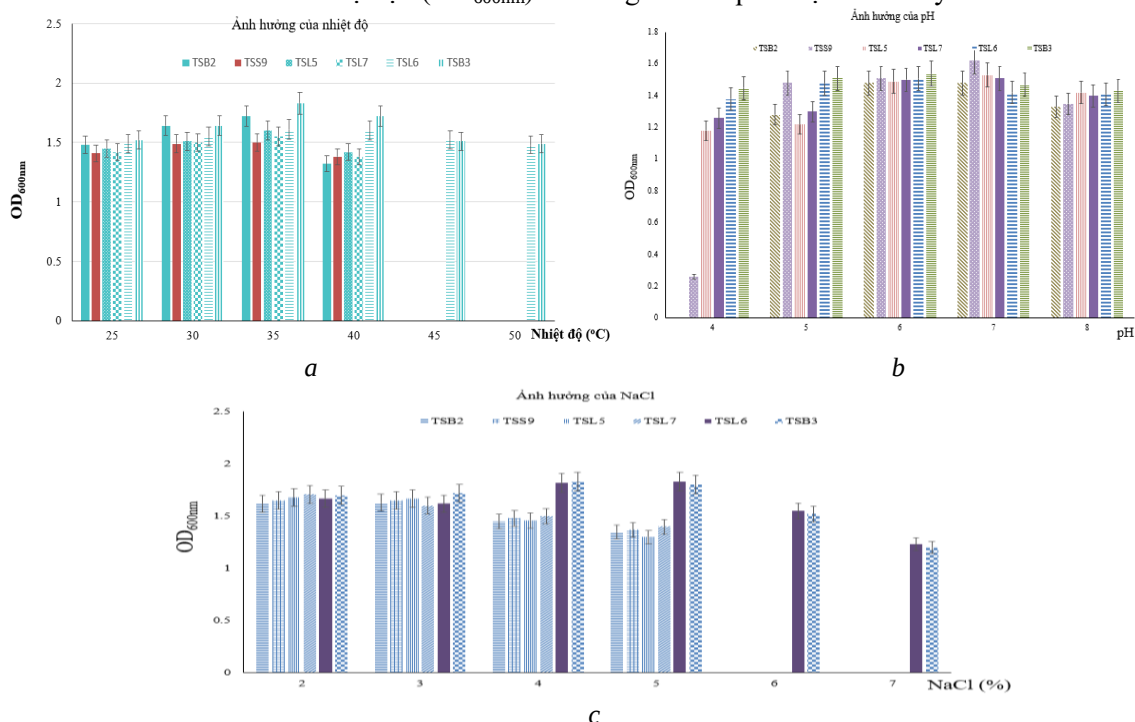
kính hiển vi điện tử quét (SEM) (Hình 3). Các chủng được đăng ký mã số trên ngân hàng gen như trình bày trên Bảng 2.



Hình 3. Hình thái tế bào các chủng TSB2 (a); TSB3 (b); TSL6 (c), TSS9 (d), TSL5 (e), TSL7 (f)

3.2. Ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường đến sinh trưởng của các chủng

Để xác định ảnh hưởng của các yếu tố môi trường đến sinh trưởng của các chủng, 6 chủng được lựa chọn được nuôi cấy trong môi trường LB ở các điều kiện nhiệt độ, pH, nồng độ NaCl khác nhau và tiến hành đo độ đục (OD_{600nm}) sau 48 giờ. Kết quả được trình bày trên Hình 4.



Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ (a), pH (b) và nồng độ NaCl (c)

Kết quả trên Hình 4 cho thấy yếu tố nhiệt độ và nồng độ NaCl ảnh hưởng lớn đến sự sinh trưởng của các chủng. Dải nhiệt độ từ 25°C - 40°C phù hợp cho sinh trưởng của các chủng. Chủng TSB3, TSL6 có thể sinh trưởng tốt ở nhiệt độ 50°C, nồng độ NaCl 7%. Điều kiện sinh trưởng tối ưu đối với chủng TSB3 và TSL6: 40°C, NaCl 7%, pH 6. Các chủng TSB2, TSL5, TSL7 và TSS9 có thể sinh trưởng ở nhiệt độ 25 - 40°C, nồng độ NaCl < 5%, pH 5 - 8; chủng

TSL5, TSL7 chịu được pH4, điều này cũng phù hợp với đặc tính của 2 chủng thuộc nhóm vi khuẩn lactic nên có khả năng chịu axit tốt hơn các vi khuẩn khác; điều kiện sinh trưởng tối ưu đối với chủng TSB2, TSL5, TSL7, TSS9: 35°C, NaCl 3%, pH 7. Kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đây về các chủng thuộc chi *Bacillus* và nhóm vi khuẩn lactic [14], [18]-[20]. Chủng *Bacillus tequilensis* G9 có khả năng sinh trưởng ở pH 5, nhiệt độ 40°C [19].

3.3. Đánh giá khả năng phân hủy chất hữu cơ trong nước biển

Bảng 3. Khả năng phân hủy các chất hữu cơ trong nước mặn của các chủng

Ký hiệu chủng	Hàm lượng protein (g/l)			Hàm lượng tinh bột (g/l)			Hàm lượng CMC (g/l)		
	Ban đầu	Còn lại	Phân hủy (%)	Ban đầu	Còn lại	Phân hủy (%)	Ban đầu	Còn lại	Phân hủy (%)
TSB2	10	2,82 ± 0,11	71,8	10	3,76 ± 0,21	62,4	10	2,82 ± 0,22	71,8
TSB3	10	2,25 ± 0,13	77,5	10	3,44 ± 0,22	65,6	10	2,73 ± 0,14	72,7
TSS9	10	2,95 ± 0,21	70,5	10	2,45 ± 0,12	75,5	10	2,49 ± 0,15	75,1
TSL5	10	2,34 ± 0,18	76,6	10	2,77 ± 0,11	72,3	10	3,58 ± 0,16	64,2
TSL6	10	3,52 ± 0,12	64,8	10	2,82 ± 0,13	71,8	10	2,35 ± 0,12	76,5
TSL7	10	3,78 ± 0,22	62,2	10	2,61 ± 0,24	73,9	10	3,72 ± 0,11	62,8
Đ/C	10	9,38 ± 0,23	6,2	10	9,45 ± 0,22	5,5	10	9,78 ± 0,25	2,2

Khả năng phân hủy các chất hữu cơ trong nước biển được đánh giá thông qua sự thay đổi hàm lượng các chất ban đầu (tinh bột, cellulose, gelatin) khi nuôi cấy vi sinh vật trong nước biển ở điều kiện phòng thí nghiệm. Nuôi cấy các chủng vi khuẩn TSB2, TSB3, TSS9, TSL5, TSL6 và TSL7 trong môi trường nước biển có chứa 10g/l mỗi loại cơ chất tinh bột, CMC và gelatin. Mẫu đối chứng có bổ sung cơ chất nhưng không bổ sung vi sinh vật (VSV). Sau 5 ngày nuôi lắc 200 vòng/phút ở 35°C, các mẫu được lấy ra và phân tích hàm lượng tinh bột, gelatin và CMC còn lại theo phương pháp Goni [11], Bradford [12] và Kumar [13]. Kết quả về khả năng phân hủy chất hữu cơ trong nước biển của các chủng được trình bày trên Bảng 3.

Kết quả trên Bảng 3 cho thấy 6 chủng phân lập được đều có khả năng phân hủy tốt chất thải hữu cơ trong điều kiện nước biển, % phân hủy đạt 62% - 75%. Sau 5 ngày nuôi cấy, % phân hủy protein cao nhất 77,5% (chủng TSB3), thấp nhất là 62,2% (chủng TSL7). Với cơ chất tinh bột, % phân hủy tăng từ 62,4% đến 73,9% tương ứng với chủng TSB2 và chủng TSL7. Với cơ chất CMC, chủng TSS9 phân hủy mạnh nhất đạt 75,1% trong khi chủng TSL7 chỉ phân hủy được 62,8% với nồng độ ban đầu 10g/l. Nhìn chung, các chủng đều có khả năng phân hủy tất cả các cơ chất protein, tinh bột, cellulose với các mức độ từ 62%. Mẫu đối chứng cũng có sự giảm nhẹ về khối lượng các cơ chất, có thể do quá trình phân hủy tự nhiên hoặc do sai số trong quá trình phân tích. Đã có nhiều công bố về khả năng phân hủy các hợp chất hữu cơ của các chủng thuộc chi *Bacillus* như chủng *Bacillus tequilensis* G9 có khả năng phân hủy lignin của rơm rạ do enzyme cellulase [19].

4. Kết luận

Nghiên cứu đã phân lập, định danh và đánh giá khả năng phân hủy một số chất hữu cơ của 6 chủng ưa mặn từ quần đảo Trường Sa. Các chủng TSB2, TSB3, TSL6 thuộc chi *Bacillus*, hai chủng TSL5, TSL7 thuộc nhóm vi khuẩn lactic, chủng TSS9 thuộc chi *Priestia* (trước đây được xếp vào chi *Bacillus*). 6 chủng có khả năng sinh trưởng ở pH thấp. Điều kiện sinh trưởng tối ưu đối với chủng TSB3 và TSL6: 40°C, NaCl 7%, pH 6; chủng TSB2, TSL5, TSL7, TSS9: 35°C, NaCl 3%, pH 7. Các chủng có khả năng phân hủy đồng thời các cơ chất tinh bột, gelatin và CMC; % phân hủy cao nhất đạt 75% - 77% sau 5 ngày nuôi cấy với nồng độ cơ chất 10g/l trong nước biển ở điều kiện phòng thí nghiệm.

Lời cảm ơn

Bài báo được hoàn thành với sự hỗ trợ về kinh phí của đề tài cấp Bộ Quốc phòng: “Nghiên cứu, ứng dụng công nghệ vi sinh xử lý chất thải hữu cơ gây ô nhiễm môi trường, phù hợp với điều kiện tự nhiên tại một số đảo thuộc quần đảo Trường Sa”, Mã số: KCB-TS05.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] M. C. Tran, "Research and application of microbiological technology to treat saline organic wastewater," The final report of project, 2015.
- [2] P. P. Satapute, H. S. Olekar, A. A. Shetti, A. G. Kulkarni, G. B. Hiremath, B. I. Patagundi, C. T. Shivsharan, and B. B. Kaliwal, "Isolation and characterization of nitrogen fixing *Bacillus subtilis* strain AS-4 from agricultural soil," *International Journal of Recent Scientific Research*, vol. 3, no. 9, pp. 762-765, 2012.
- [3] S. Hamdani, N. Asstiyani, D. Astriany, M. Singgih, and S. Ibrahim, "Isolation and identification of proteolytic bacteria from pig sludge and protease activity determination," *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, vol. 230, 2019, Art. no. 012095.
- [4] C. W. Leow, Y. V. Fan, L. S. Chua, I. I. Muhamad, J. J. Klemes, and C. T. Lee, "A Review on Application of Microorganisms for Organic Waste Management," *Chemical Engineering transactions*, vol. 63, pp. 85-91, 2018.
- [5] C. P. Foong, C. M. W. V. Ling, and M. Gonzalez, "Metagenomic analyses of the dominant bacterial community in the Fildes Peninsula, King George Island (South Shetland Islands)," *Polar Science*, vol. 4, pp. 263-273, 2010.
- [6] T.T.T.Nguyen, N.T.Nguyen, and H.T.T.Bui, "Isolate, choose strains of microorganisms have ability degradation organic waste in the salt condition," *Journal of Military Science and Technology*, vol. 12, pp. 70-78, 2011.
- [7] H.T.T.Bui, N.T.Nguyen, and T.T.T.Nguyen, "Study on the effect of some factors on the growth and amylase production of halotolerant T9," *Journal of Military Science and Technology*, vol. 10, pp. 81-87, 2010.
- [8] T.T.T.Nguyen, N.T. Nguyen, and H.T.T. Bui, "Study on effect of environmental factors on proteinase activity by halophilic microorganism P3 strain," *Journal of Military Science and Technology*, vol. 6, pp. 76-81, 2010.
- [9] B. S. Abraham, D. Caglayan, and N. V. Carrillo, "Shotgun metagenomic analysis of microbial communities from the Loxahatchee nature preserve in the Florida Everglades," *Environmental Microbiome*, vol. 15, no. 2, 1-10, 2020.
- [10] J. Dai, A. Dong, G. Xiong, Y. Liu, Hossain, S. Liu, N. Gao, S. Li, J. Wang, and D. Qiu, "Production of Highly Active Extracellular Amylase and Cellulase From *Bacillus subtilis* ZIM3 and a Recombinant Strain With a Potential Application in Tobacco Fermentation," *Frontiers in Microbiology*, vol. 11, pp. 1-14, 2020.
- [11] I. Goni, L. Garcia-Diz, E. Manas, and F. Saura-Calixto, "Analysis of resistant starch: a method for foods and food products," *Food Chemistry*, vol. 56, no. 4, pp. 445-449, 1996.
- [12] M. M. Bradford, "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding," *Anal. Biochem.*, vol. 72, pp. 248-254, 1976.
- [13] M. Kumar and S. Turner, "Protocol: a medium-throughput method for determination of cellulose content from single stem pieces of *Arabidopsis thaliana*," *Methodology*, vol. 11, no. 46, 1-8, 2015.
- [14] H. Li, Y. Guan, Y. Dong, L. Zhao, S. Rong, W. Chen, L. Miaomiao, H. Xu, X. Gao, R. Chen, L. Li, and Z. Xu, "Isolation and evaluation of endophytic *Bacillus tequilensis* GYLH001 with potential application for biological control of *Magnaporthe oryzae*," *PLOS one*, vol. 31, pp. 1-18, 2018.
- [15] Y. S. Soeka and Sulistiani, "Production and characterization of cellulase from the newly isolated *Bacillus subtilis* A8 on rice bran and corncob," *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 2018, doi: 10.1088/1755-1315/308/1/012033.
- [16] Y. S. Zhao and Sulistiani, "A New Strain of *Bacillus tequilensis* CGMCC 17603 Isolated from Biological Soil Crusts: A Promising Sand-Fixation Agent for Desertification Control," *Sustainability*, vol. 11, 2019, Art. no. 6501, doi: 10.3390/su11226501.

-
- [17] Y. Su, C. Liu, H. Fang, and D. Zhang, "*Bacillus subtilis*: a universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine," *Microb Cell Fact*, vol. 19, 2020, Art. no. 173.
- [18] J. W. Gaston, B. F. Benz, C. Chandrasekaran, M. Satomi, K. Venkateswaran, and M. E. Hart, "*Bacillus tequilensis* sp. nov., isolated from a 2000-year-old Mexican shaft-tomb, is closely related to *Bacillus subtilis*," *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 56, pp. 1475-1484, 2006.
- [19] A. M. Dar, K. D. Pawar, B. P. Rajput, P. Rahi, and R. S. Pandit, "Purification of a cellulase from cellulolytic gut bacterium, *Bacillus tequilensis* G9 and its evaluation for valorization of agro-wastes into added value byproducts," *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol. 98, pp. 73-80, 2019.
- [20] E. Fachrial, R. R. J. S. Putri, I. E. Lister, S. Anggraini, T. Harmilen, T. T. Nugroho, and Saryono, "Molecular identification of cellulase and protease producing *Bacillus tequinesis* UTMSA14 isolated from the geothermal hot spring in Lau Sidebuk, North Sumatra," *Indonesia Biodiversitas*, vol. 21, no. 10, pp. 4719-4725, 2020.