

EVALUATION OF FENITROTHION DEGRADATION CAPACITY OF *PSEUDOMONAS PUTIDA* BPPL-102 ISOLATED IN THAI NGUYEN

Tran Minh Quan*, Nguyen Manh Tuan

TNU - University of Agriculture and Forestry

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 27/5/2024	The objective of this study is molecular identification, determination of culture characteristics and fenitrothion degrading ability of strain BPPL-102. Strain BPPL-102 could grown on Tryptone Soya Broth, R2A, Luria-Bertani and Nutrient Broth media, from 10-40°C and pH 4-7.5. Strain BPPL-102 can assimilate sources of D-glucose, malic acid, D-saccharose, D-mannitol, phenylacetic acid, D-ribose, L-serine, L-alanine, potassium gluconate and glycogen; and producing esterase (C4), esterase lipase (C8), leucine arylamidase, acid phosphatase and naphthol-AS-BI-phosphohydrolase, alkaline phosphatase, D-glucosidase. The 16S rRNA gene sequence of strain BPPL-102 has the highest similarity (99.73%) with <i>Pseudomonas putida</i> NBRC 14164 ^T and 99.04-99.38% with other species of the genus <i>Pseudomonas</i> . Together, the Phylogenetic tree revealed that strain BPPL-102 was arranged in a branch as <i>Pseudomonas putida</i> NBRC 14164 ^T . Based on 16S rRNA gene sequence analysis data, strain BPPL-102 was identified as <i>Pseudomonas putida</i> . Strain BPPL-102 could grown in MSM medium supplemented with fenitrothion at a concentration of 10-100 mg/l (50 mg/l was optimal growth for strain BPPL-102). The fenitrothion (50 mg/l) biodegradation efficiency of <i>Pseudomonas putida</i> BPPL-102 reached 80.54% in 14 days. Therefore, <i>Pseudomonas putida</i> BPPL-102 could be potential strain source for agricultural residual fenitrothion treatment.
Revised: 11/7/2024	
Published: 17/7/2024	
KEYWORDS	
Identification	
Fenitrothion	
Biodegradation of pesticides	
Isolation	
Pesticide residues	

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG PHÂN HỦY FENITROTHION CỦA CHỦNG VI KHUẨN *PSEUDOMONAS PUTIDA* BPPL-102 PHÂN LẬP TẠI THÁI NGUYÊN

Trần Minh Quân*, Nguyễn Mạnh Tuấn

Trường Đại học Nông Lâm – ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 27/5/2024	Nghiên cứu được thực hiện nhằm định danh phân tử, xác định các đặc điểm nuôi cấy và khả năng phân hủy fenitrothion của chủng vi khuẩn BPPL-102. Chủng BPPL-102 có khả năng sinh trưởng trên các môi trường Tryptone Soya Broth, R2A, Luria-Bertani và Nutrient Broth, từ 10-40°C và pH 4-7,5. Chủng BPPL-102 đồng hóa được các nguồn D-glucose, malic acid, D-saccharose, D-mannitol, phenylacetic acid, D-ribose, L-serine, L-alanin, potassium gluconate và glycogen; và sinh các enzyme esterase (C4), esterase lipase (C8), leucine arylamidase, acid phosphatase và naphthol-AS-BI-phosphohydrolase, alkaline phosphatase, D-glucosidase. Trình tự gen 16S rRNA của chủng BPPL-102 có mức độ tương đồng cao nhất (99,73%) với <i>Pseudomonas putida</i> NBRC 14164 ^T và từ 99,04-99,38% với các loài khác thuộc chi <i>Pseudomonas</i> . Đồng thời, sơ đồ tiến hóa thể hiện chủng BPPL-102 sắp xếp cùng nhánh với <i>Pseudomonas putida</i> NBRC 14164 ^T . Dựa vào dữ liệu phân tích trình tự gen 16S rRNA, chủng BPPL-102 được xác định là <i>Pseudomonas putida</i> . Chủng BPPL-102 có khả năng sinh trưởng trong môi trường MSM có bổ sung fenitrothion ở hàm lượng từ 10-100 mg/l (50 mg/l là tối ưu cho chủng BPPL-102 sinh trưởng). Hiệu suất phân hủy fenitrothion (50 mg/l) của chủng <i>Pseudomonas putida</i> BPPL-102 đạt 80,54% trong 14 ngày. Do đó, chủng <i>Pseudomonas putida</i> BPPL-102 được coi là nguồn chủng tiềm năng cho xử lý tồn fenitrothion trong nông nghiệp.
Ngày hoàn thiện: 11/7/2024	
Ngày đăng: 17/7/2024	
TỪ KHÓA	
Định danh	
Fenitrothion	
Phân hủy thuốc bảo vệ thực vật	
Phân lập	
Tồn dư thuốc bảo vệ thực vật	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.10476>

* Corresponding author. Email: tranminhquan@tuaf.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Fenitrothion là thuốc bảo vệ thực vật nhóm lân hữu cơ, được sử dụng rộng rãi nhằm chống lại các loại côn trùng gây bệnh ở thực vật. Bên cạnh các tác động tích cực đối với cây trồng, tồn dư fenitrothion trong môi trường là thách thức lớn, tiềm ẩn nhiều rủi ro cho sức khỏe con người, chất lượng nông sản, môi trường sinh thái. Theo Tamura và cộng sự (2001) và Colović và cộng sự (2013) cho thấy, fenitrothion là tác nhân gây ức chế sự hoạt động của cholinesterase (enzyme liên quan đến dẫn truyền thần kinh ở người), điều này dẫn tới các hiện tượng buồn nôn, chóng mặt, tê liệt hô hấp và tử vong ở người khi phơi nhiễm [1], [2]. Trong môi trường đất, fenitrothion có thể tồn tại từ vài tuần đến sáu tháng phụ thuộc vào điều kiện sinh thái, thổ nhưỡng [3]. Báo cáo của Katsumata và cộng sự (2011) cho thấy hoạt chất bảo vệ thực vật fenitrothion bị phân hủy với hiệu suất cao, trong thời gian ngắn bởi sóng siêu âm hoặc oxy hóa dưới tác động của Fe(III) và oxalate hoặc tia UV [4]. Tuy nhiên, các phương pháp này không đảm bảo tính khả thi đối với xử lý tồn dư fenitrothion trong đất canh tác.

Vi khuẩn tham gia vào hầu hết các quá trình chuyển hóa các chất trong tự nhiên, có khả năng phân hủy tồn dư các thuốc bảo vệ thực vật sử dụng trong nông nghiệp bằng các loại enzyme ngoại bào của chúng tạo ra các sản phẩm cuối cùng không độc hại với con người và môi trường sinh thái [5], [6]. *Pseudomonas* là vi khuẩn Gram âm, thuộc lớp δ -proteobacteria, được mô tả đầu tiên vào năm 1894 [7]. Cho đến nay, có hơn 560 loài thuộc chi *Pseudomonas* được công bố trên dữ liệu LPSN về phân loài vi khuẩn (<https://lpsn.dsmz.de/genus/pseudomonas>). Một số loài thuộc chi *Pseudomonas* được báo cáo là những chủng tiềm năng có khả năng phân hủy tồn dư các loại thuốc bảo vệ thực vật, bao gồm cả fenitrothion [8]-[10]. Trong nghiên cứu này, chủng *Pseudomonas putida* BPPL-102 được phân lập từ đất trồng chè tại Phú Lương, Thái Nguyên với khả năng phân hủy fenitrothion được báo cáo.

2. Vật liệu, môi trường và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Vật liệu: Chủng BPPL-102 được cung cấp bởi Viện Khoa học sự sống – Đại học Thái Nguyên.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp xác định đặc điểm nuôi cấy của chủng BPPL-102: Khả năng sinh trưởng trong các loại môi trường, nhiệt độ và pH của chủng BPPL-102 được thực hiện theo phương pháp của Nguyễn Mạnh Tuấn và cộng sự (2024) [11]. API 32 GN Kit (BioMérieux, Pháp) và API API ZYM (BioMérieux, Pháp) được sử dụng để xác định khả năng đồng hóa các nguồn carbon và các loại enzyme sản sinh của chủng BPPL-102.

Phương pháp định danh phân tử: Chủng BPPL-102 được nuôi cấy trong môi trường dịch thể Tryptic Soy Broth, 130 vòng/phút, ở 25°C trong 2 ngày. Ly tâm thu nhận sinh khối tế bào cho tách chiết DNA tổng số [12]. Cặp mồi 27F-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG và 1492R-TACGGYTACCTTGTTACGACTT được sử dụng để khuếch đại trình tự gen 16S rRNA của BPPL-102. Thành phần và chu trình của phản ứng PCR được thực hiện theo mô tả của Klindworth và cộng sự (2013) [13]. Sản phẩm PCR được đọc trình tự tại công ty Macrogen (Seoul, Hàn Quốc).

Phương pháp phân loại phân tử và xây dựng sơ đồ phả hệ: Trình tự gen 16S rRNA của chủng BPPL-102 được so sánh với các loài vi khuẩn thông qua dữ liệu của EzBioCloud (<https://www.ezbiocloud.net/>). Dựa vào dữ liệu về mức độ tương đồng (%) về trình tự gen 16S rRNA của chủng BPPL-102 với các loài gần nhất về phân loại [14] và sơ đồ phả hệ thông qua phần mềm MEGA 7.0 để phân loại chủng BPPL-102.

Phương pháp xác định khả năng sinh trưởng của chủng BPPL-102 trong môi trường có bổ sung fenitrothion: Chủng BPPL-102 được nuôi cấy trong môi trường Tryptic Soy Broth ở 25°C, 130 vòng/phút trong 2 ngày. Sinh khối tế bào được thu thập bằng ly tâm và điều chỉnh ở mật độ $\sim 5 \times 10^8$ CFU/ml trong môi trường MSM (g/l: Na₂HPO₄: 1,42; K₂HPO₄: 1,36; (NH₄)₂SO₄:

0,3; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0,05 g; $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$: 0,0058; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0,00275; $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$: 0,0012; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$: 0,0017; $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 0,00038; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: 0,00024 và $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$: 0,00013; pH = $6,5 \pm 0,2$). Tiếp đến, 500 μl dịch huyền phù của chủng BPPL-102 được cấy đến 5 ml MSM có bổ sung fenitrothion (Supelco, Merck) ở nồng độ 0, 10, 50 và 100 mg/lít. Khả năng sinh trưởng của chủng BPPL-102 trong môi trường có fenitrothion được xác định thông qua giá trị OD_{600nm} sau 10 ngày nuôi cấy ở 25°C.

Phương pháp xác định khả năng phân hủy fenitrothion của chủng BPPL-102: Chủng BPPL-102 được hoạt hóa trong môi trường dịch thể Tryptic Soy Broth ở 25°C, lắc 130 vòng/phút trong 2 ngày. Sau 2 ngày nuôi cấy, thu nhận sinh khối tế bào và điều chỉnh ở mật độ 5×10^8 CFU. Tiếp đến, 0,5 ml dịch huyền phù được cấy vào ống nghiệm thủy tinh có nắp chứa đựng 5 ml MSM có bổ sung fenitrothion ở nồng độ 50 mg/l; nuôi lắc 120 vòng/phút, 25°C (Môi trường MSM có bổ sung fenitrothion là đối chứng được sử dụng). Dịch nuôi cấy được thu nhận ở các thời điểm 0, 5, 10 và 14 ngày; fenitrothion trong dịch nuôi cấy được tách chiết và phân tích theo mô tả của Briceño và cộng sự (2020) [15], cụ thể 1 ml dịch huyền phù được thu nhận và loại bỏ sinh khối tế bào ở 13.000 vòng/phút trong 10 phút, bổ sung 1 ml acetonitrile vào 0,5 ml dịch sau ly tâm và lắc 120 vòng/phút, 30 phút ở nhiệt độ phòng. Tiếp đến, 0,6 g MgSO_4 và 0,15 g NaCl được bổ sung vào hỗn dịch và lắc trong 1 phút. Lọc hỗn dịch qua màng lọc 0,22 μm và 1,5 μl dịch lọc được sử dụng cho xác định hàm lượng các loại hoạt chất bảo vệ thực vật thông qua hệ thống sắc khí khối phổ GC-MS (PerkinElmer - Mỹ). Điều kiện GC-MS (Gas Chromatography–Mass Spectrometry) như sau: tốc độ khí heli 1 ml/phút, nhiệt độ đường truyền quang khối khô 290°C với chu trình nhiệt 95°C trong 1,5 phút, sau đó 20°C/phút tăng dần lên 190°C, tăng 25°C/phút từ 190°C lên 290°C và 290°C trong 20 phút.

Phương pháp xử lý số liệu: Số liệu được xử lý, so sánh thông qua T-Test của Microsoft excel.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Đặc điểm nuôi cấy của chủng BPPL-102

Chủng BPPL-102 sinh trưởng trong các môi trường Tryptone Soya Broth, R2A, Luria-Bertani và Nutrient Broth (Luria-Bertani là môi trường tối ưu). Chủng BPPL-102 có khả năng sinh trưởng từ 10-40°C (tối ưu ở 30°C) và pH 4-7,5 (tối ưu ở pH 6,5). Đối với API 32 GN Kit, chủng BPPL-102 có khả năng đồng hoá D-glucose, malic acid, D-saccharose, D-mannitol, phenylacetic acid, D-ribose, L-serine, L-alanine, potassium gluconate và glycogen; nhưng không có khả năng đồng hoá các nguồn carbon bao gồm D-maltose, L-rhamnose, 3-hydroxybenzoic acid, N-acetylglucosamine, inositol, itaconic acid, suberic acid, sodium malonate, sodium acetate, sactic acid, potassium 5-ketogluconate, salicin, D-melibiose, L-fucose, D-sorbitol, L-arabinose, propionic acid, capric acid, valeric acid, trisodium citrate, L-histidine, potassium 2-ketogluconate, 3-hydroxybutyric acid, 4-hydroxybenzoic acid và Lproline. Đối với API ZYM kit, chủng BPPL-102 sinh các loại enzyme esterase (C4), esterase lipase (C8), leucine arylamidase, acid phosphatase và naphthol-AS-BI-phosphohydrolase, alkaline phosphatase, D-glucosidase; nhưng không sinh các enzyme valine arylamidase, leucine arylamidase, α -galactosidase và lipase (C14), cystine arylamidase, trypsin, α -chymotrypsin, β -galactosidase, β -glucuronidase, α -glucosidase, β -glucosidase, Nacetyl- β -glucosaminidase, α -mannosidase và α -fucosidase. Những đặc điểm nuôi cấy của chủng BPPL-102 tương đồng với mô tả của loài *Pseudomonas putida* DSM 291^T và các loài khác thuộc chi *Pseudomonas* [16].

3.2. Phân loại phân tử chủng BPPL-102

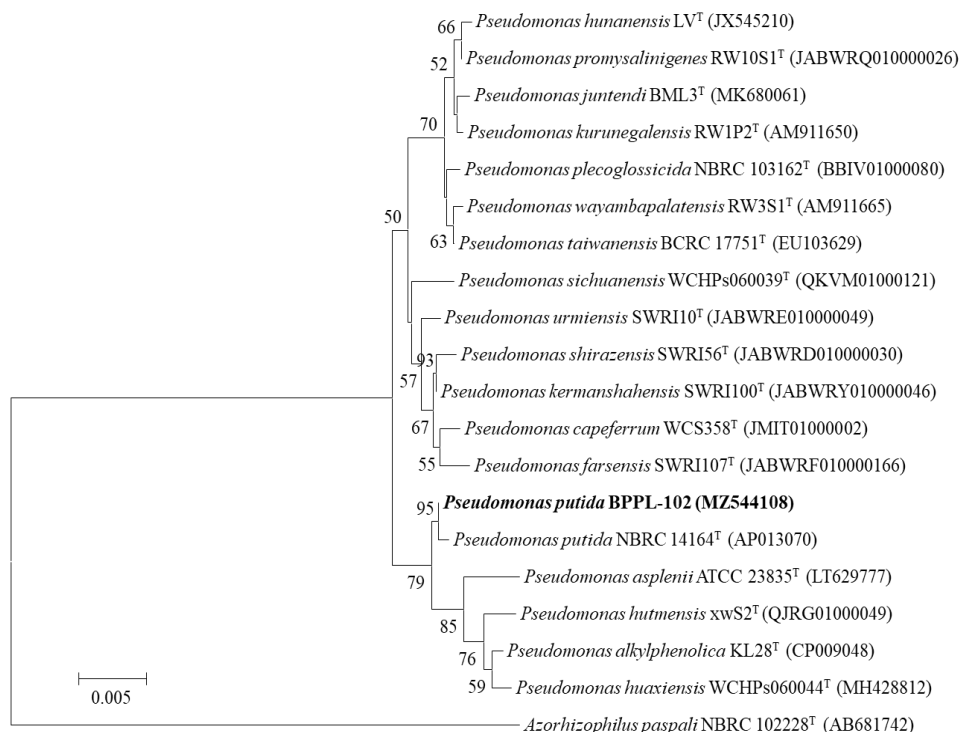
Trình tự gen 16S rRNA của chủng BPPL-102 có kích thước 1483 bp, được đăng ký trên ngân hàng GenkBank với mã số truy nhập là MZ544108. Kết quả tại Bảng 1 cho thấy trình tự gen 16S rRNA của chủng BPPL-102 có mức độ tương đồng cao nhất (99,73%) với *Pseudomonas putida* NBRC 14164^T (AP013070) và từ 99,04-99,38% với các loài khác thuộc chi *Pseudomonas* (Bảng

1). Đối chiếu với giới hạn chặn (>98,7%) về mức độ tương đồng của trình tự gen 16S rRNA cho xác định phân loại vi khuẩn, chủng BPPL-102 được xác định là *Pseudomonas putida* [14].

Bảng 1. Kết quả so sánh trình tự gen 16S rRNA của chủng BPPL-102 với các loài gần nhất công bố trên dữ liệu EzBioCloud

Loài gần nhất	Sự tương đồng (%)	Số nucleotide khác biệt
<i>Pseudomonas putida</i> NBRC 14164 ^T (AP013070)	99,73	4/1458
<i>Pseudomonas kermanshahensis</i> SWRI100 ^T (JABWRY010000046)	99,38	9/1458
<i>Pseudomonas urmiensis</i> SWRI10 ^T (JABWRE010000049)	99,31	10/1458
<i>Pseudomonas alkylphenolica</i> KL28 ^T (CP009048)	99,25	11/1458
<i>Pseudomonas shirazensis</i> SWRI56 ^T (JABWRD010000030)	99,25	11/1458
<i>Pseudomonas hunanensis</i> LV ^T (JX545210)	99,22	11/1413
<i>Pseudomonas capeferrum</i> WCS358 ^T (JMIT01000002)	99,18	12/1458
<i>Pseudomonas huaxiensis</i> WCHPs060044 ^T (MH428812)	99,18	12/1458
<i>Pseudomonas hutmensis</i> xwS2 ^T (QJRG01000049)	99,18	12/1458
<i>Pseudomonas kurunegalensis</i> RW1P2 ^T (AM911650)	99,12	12/1366
<i>Pseudomonas asplenii</i> ATCC 23835 ^T (LT629777)	99,11	13/1458
<i>Pseudomonas farsensis</i> SWRI107 ^T (JABWRF010000166)	99,11	13/1458
<i>Pseudomonas promysalinigenes</i> RW10S1 ^T (JABWRQ010000026)	99,11	13/1458
<i>Pseudomonas taiwanensis</i> BCRC 17751 ^T (EU103629)	99,10	13/1450
<i>Pseudomonas sichuanensis</i> WCHPs060039 ^T (QKVM01000121)	99,04	14/1458

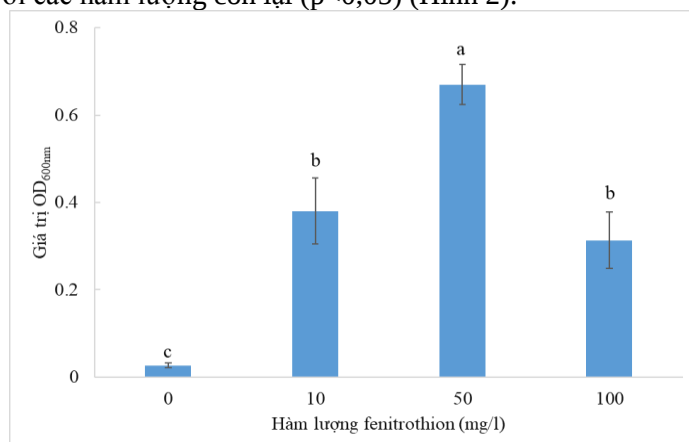
Đồng thời, sơ đồ phả hệ cũng được xây dựng (Hình 1) cho thấy chủng BPPL-102 được sắp xếp thuộc nhóm của chi *Pseudomonas* và gần cùng nhánh với *Pseudomonas putida* NBRC 14164^T (AP013070). Dựa vào dữ liệu phân tích trình tự gen 16S rRNA về mức độ tương đồng và sơ đồ tiến hóa, chủng BPPL-102 được xác định thuộc chi *Pseudomonas*, với tên gọi là *Pseudomonas putida* BPPL-102.



Hình 1. Sơ đồ tiến hóa dựa vào trình tự gen 16S rRNA của chủng BPPL-102 với các loài gần nhất thuộc chi *Pseudomonas*

3.3. Khả năng sinh trưởng của chủng BPPL-102 trong môi trường có bổ sung fenitrothion

Khả năng sinh trưởng của chủng BPPL-102 dưới tác động của fenitrothion ở các hàm lượng bổ sung 0, 10, 50 và 100 mg/l có giá trị OD_{600nm} lần lượt là $0,03 \pm 0,006$; $0,38 \pm 0,08$; $0,67 \pm 0,05$ và $0,31 \pm 0,07$. Chủng BPPL-102 có khả năng sinh trưởng cao nhất khi bổ sung fenitrothion ở hàm lượng 50 mg/l so với các hàm lượng còn lại ($p < 0,05$) (Hình 2).



Hình 2. Giá trị OD của chủng BPPL-102 ở 25°C trong 10 ngày

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha \leq 0,05$

Từ kết quả nghiên cứu cho thấy khả năng sinh trưởng của chủng BPPL-102 phụ thuộc vào hàm lượng hoạt chất fenitrothion được bổ sung vào môi trường MSM. Sau 10 ngày nuôi cấy, giá trị OD của chủng BPPL-102 có sự gia tăng khi bổ sung fenitrothion ở hàm lượng từ 0 đến 50 mg/l. Tuy nhiên, khi tăng hàm lượng fenitrothion ở hàm lượng 100 mg/l ức chế sinh trưởng của chủng BPPL-102, với giá trị OD thấp hơn ý nghĩa khoảng 2,1 lần so với ở hàm lượng 50 mg/l ($p = 0,33$). Kết quả tại Hình 1 cũng cho thấy, không có sự khác biệt về khả năng sinh trưởng của chủng BPPL-102 khi bổ sung hoạt chất fenitrothion ở hàm lượng 10 và 100 mg/l ($p = 0,42$). Kết quả nghiên cứu của Bhatt và cộng sự (2021) chứng minh rằng các chủng vi khuẩn sản sinh các loại enzyme ngoại bào phân cắt, chuyển hóa các thuốc bảo vệ thực vật tạo ra năng lượng cho tế bào sinh trưởng [17].

3.4. Khả năng phân hủy fenitrothion của chủng *Pseudomonas putida* BPPL-102

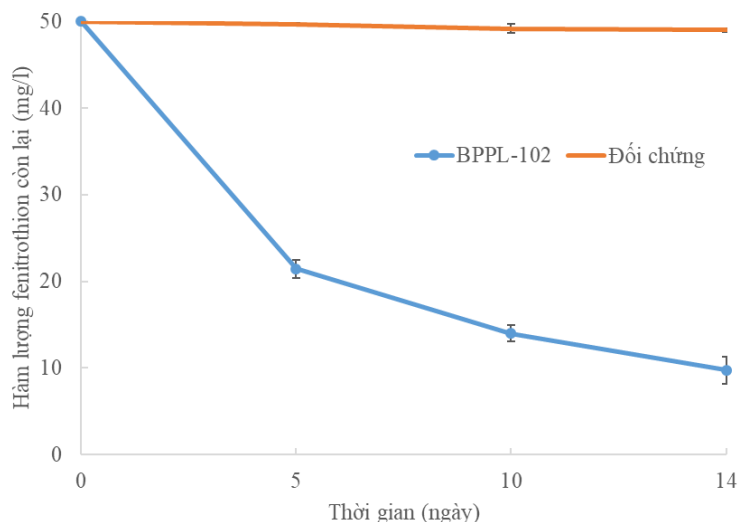
Khả năng phân hủy fenitrothion của chủng *Pseudomonas putida* BPPL-102 được thể hiện ở Bảng 2. Hàm lượng fenitrothion trong môi trường nuôi cấy bị biến động dưới tác động của chủng *Pseudomonas putida* BPPL-102, cụ thể ở thời điểm 5, 10 và 14 ngày hàm lượng fenitrothion phát hiện trong môi trường MSM lần lượt là 21,45; 13,97 và 9,73 tương ứng với 57,1; 72,1 và 80,5% fenitrothion bị phân hủy bởi chủng BPPL-102. Quá trình phân hủy fenitrothion dưới ảnh hưởng của chủng BPPL-102 ở 14 ngày đạt 80,54%; hiệu suất phân hủy fenitrothion diễn ra nhanh ở 5 ngày nuôi cấy (đạt 57,11%); và giảm dần ở 10 ngày (hiệu suất đạt 14,94%) và 14 ngày (hiệu suất đạt 8,48%) (Hình 3). Trong khi ở thí nghiệm đối chứng có khoảng 2,03% hàm lượng fenitrothion bị mất đi. Sự biến thiên của hàm lượng fenitrothion của thí nghiệm đối chứng này có thể đến từ quá trình thao tác thí nghiệm, nhưng sự biến thiên này không có ý nghĩa thống kê ($p = 0,07$).

Bảng 2. Hiệu suất phân hủy fenitrothion của chủng *Pseudomonas putida* BPPL-102

Thời gian (ngày)	Hàm lượng fenitrothion còn lại (mg/l)	
	BPPL-102	Đối chứng
0	50 ^a	50 ^a
5	21,45 ± 1,02 ^c	49,62 ± 0,16 ^a
10	13,97 ± 0,95 ^b	49,18 ± 0,51 ^a
14	9,73 ± 1,58 ^a	48,98 ± 0,24 ^a

Ghi chú: Các chữ khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha \leq 0,05$

Hiệu suất phân hủy fenitrothion của BPPL-102 cao hơn so với chủng *Pseudomonas putida* Izumi-2 (đạt 42% ở hàm lượng ban đầu 5 mg/l) [10]. Báo cáo của Kim và cộng sự (2009) cho thấy các chủng *Pseudomonas* sp. YI10, *Pseudomonas* sp. HS17, *Pseudomonas* sp. AS32 và *Pseudomonas* sp. KW3 phân lập từ đất có khả năng phân hủy fenitrothion [9]. Sự phân hủy fenitrothion của các chủng *Pseudomonas* spp. do enzyme hydrolase được mã hóa bởi gen *opd* tạo ra sản phẩm cuối cùng là CO₂ và H₂O [10]. Bên cạnh khả năng phân hủy fenitrothion, các chủng *Pseudomonas* cũng có khả năng phân hủy các loại hoạt chất bảo vệ thực vật nhóm lân hữu cơ khác như *Pseudomonas* sp. BUR11 phân hủy parathion [18] và *Pseudomonas nitroreducens* AR-3 phân hủy chlorpyrifos [19].



Hình 3. Hiệu suất phân hủy fenitrothion của chủng *Pseudomonas putida* BPPL-102

4. Kết luận

Chủng BPPL-102 có khả năng sinh trưởng trên các môi trường Tryptone Soya Broth, R2A, Luria-Bertani và Nutrient Broth (Luria-Bertani là môi trường tối ưu), từ 10-40°C (tối ưu ở 30°C) và pH 4-7,5 (tối ưu ở pH 6,5). Chủng BPPL-102 đồng hóa được các nguồn D-glucose, malic acid, D-saccharose, D-mannitol, phenylacetic acid, D-ribose, L-serine, L-alanin, potassium gluconate và glycogen; và sinh các enzyme esterase (C4), esterase lipase (C8), leucine arylamidase, acid phosphatase và naphthol-AS-BI-phosphohydrolase, alkaline phosphatase, D-glucosidase. Dựa vào phân tích trình tự gen 16S rRNA, chủng BPPL-102 được xác định là *Pseudomonas putida* BPPL-102. Hiệu suất phân hủy fenitrothion (50 mg/l) của chủng *Pseudomonas putida* BPPL-102 đạt 80,54% trong 14 ngày.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] H. Tamura, S. C. Maness, K. Reischmann, D. C. Dorman, L. E. Gray, and K. W. Gaido, "Androgen receptor antagonism by the organophosphate insecticide fenitrothion," *Toxicological Sciences*, vol. 60, no. 1, pp. 56-62, 2001.
- [2] M. B. Colović, D. Z. Krstić, T. D. Lazarević-Pašti, A. M. Bondžić, and V. M. Vasić, "Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology," *Current Neuropharmacology*, vol. 11, no. 3, pp. 315-335, 2013.
- [3] I. R. Elyazar, S. I. Hay, and J. K. Baird, "Malaria distribution, prevalence, drug resistance and control in Indonesia," *Adv Parasitol*, vol. 74, pp. 41-175, 2011.
- [4] H. Katsumata, T. Okada, S. Kaneco, T. Suzuki, and K. Ohta, "Degradation of fenitrothion by ultrasound/ferrioxalate/UV system," *Ultrasonics Sonochemistry*, vol. 17, no. 1, pp. 200-206, 2010.

-
- [5] B. Ruomeng, O. Meihao, Z. Siru, G. Shichen, Z. Yixian, C. Junhong, M. Ruijie, L. Yuan, X. Gezhi, C. Xingyu, Z. Shiyi, Z. Aihui, and F. Baishan, "Degradation strategies of pesticide residue: From chemicals to synthetic biology," *Synth Syst Biotechnol.*, vol. 8, no. 2, pp. 302-313, 2023.
- [6] J. R. Guerrero Ramírez, L. A. Ibarra Muñoz, N. Balagurusamy, J. E. F. Ramírez, L. A. Hernández, and J. C. Campos, "Microbiology and Biochemistry of Pesticides Biodegradation," *Int J Mol Sci.*, vol. 24, no. 21, p. 15969, 2023.
- [7] W. Migula, *On a new system of bacteria*. Works from the Bacteriological Institute of the Technical University of Karlsruhe, 1894, pp. 235-238.
- [8] J. F. Wang, M. H. Gao, N. F. Wu, and C. P. Pan, "The degradation effects of a *Pseudomonas* hydrolase OPHC2 to organophosphorus insecticides," *J Environ Sci.*, vol. 183, no. 2, pp. 804-810, 2008.
- [9] K. D. Kim, J. H. Ahn, T. Kim, S. C. Park, C. N. Seong, H. G. Song, and J. O. Ka, "Genetic and phenotypic diversity of fenitrothion-degrading bacteria isolated from soils," *J Microbiol Biotechnol*, vol. 19, no. 2, pp. 113-120, 2009.
- [10] A. Derbalah, K. Uobe, N. Nakatani, T. Yamazaki, and H. Sakugawa, "Microbial degradation of fenitrothion in Kurose River water, Hiroshima prefecture, Japan," *Res. J. Environ. Sci.*, vol. 14, pp. 5-17, 2020.
- [11] M. T. Nguyen, T. H. Do, B. D. Do, and V. H. Hoang, "Biological characteristics of *Sphingobium limneticum* BPTC-107 showing ability of pesticide biodegradation," *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 229, no. 5, pp. 12-18, 2024.
- [12] J. Sambrook and D. W. Russell, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 2001, pp. 1-170.
- [13] A. Klindworth, E. Pruesse, T. Schweer, J. Peplies, C. Quast, M. Horn, and F. O. Glöckner, "Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next generation sequencing-based diversity studies," *Nucleic Acids Res*, vol. 41, no. 1, pp. 1-11, 2013.
- [14] H. P. Browne, S. C. Forster, B. O. Anonye, N. Kumar, B. A. Neville, M. D. Stares, D. Goulding, and T. D. Lawley, "Culturing of "unculturable" human microbiota reveals novel taxa and extensive sporulation," *Nature*, vol. 533, pp. 543-546, 2016.
- [15] G. Briceño, M. Levio, M. E. González, J. M. Saez, G. Palma, H. Schalchli, and M. C. Diez, "Performance of a continuous stirred tank bioreactor employing an immobilized actinobacteria mixed culture for the removal of organophosphorus pesticides," *3 Biotech*, vol. 10, no. 6, p. 252, 2020.
- [16] D. Frasson, M. Opoku, T. Picozzi, T. Torossi, S. Balada, T. H. M. Smits, and U. Hilber, "*Pseudomonas wadenswilerensis* sp. nov. and *Pseudomonas reidholzensis* sp. nov., two novel species within the *Pseudomonas putida* group isolated from forest soil," *Int J Syst Evol Microbiol*, vol. 67, no. 8, pp. 2853-2861, 2017.
- [17] P. Bhatt, X. Zhou, Y. Huang, W. Zhang, and S. Chen, "Characterization of the role of esterases in the biodegradation of organophosphate, carbamate, and pyrethroid pesticides," *J Hazard Mater*, vol. 411, 2021, Art. no. 125026.
- [18] S. Pailan and P. Saha, "Chemotaxis and degradation of organophosphate compound by a novel moderately thermo-halo tolerant *Pseudomonas* sp. strain BUR11: evidence for possible existence of two pathways for degradation," *PeerJ.*, vol. 3, p. 1378, 2015.
- [19] A. Aswathi, A. Pandey, and R. K. Sukumaran, "Rapid degradation of the organophosphate pesticide - Chlorpyrifos by a novel strain of *Pseudomonas nitroreducens* AR-3," *Bioresour Technol.*, vol. 292, p. 122025, 2019.