

BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *SPHINGOBIUM LIMNETICUM* BPTC-107 SHOWING ABILITY OF PESTICIDE BIODEGRADATION

Nguyen Manh Tuan*, Do Thi Hien, Do Bich Due, Hoang Van Hung

TNU - Institute of Life Science

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 24/10/2023 Revised: 05/01/2024 Published: 05/01/2024	The aim of this study is to molecularly identify and determine cultural characteristics, as well as ability to grow in media supplemented with the pesticides of strain BPTC-107. Results of 16S rRNA gene sequence comparison and analysis showed that strain BPTC-107 was <i>Sphingobium limneticum</i>. Strain BPTC-107 was capable of growing in Tryptone Soya Broth, R2A and Nutrient Broth media (Tryptone Soya Broth medium was optimal), growing in the temperature range of 15-40°C (25-30°C was optimal). Strain BPTC-107 was able to grow at pH 4-8 (pH 7 was optimal). Strain BPTC-107 was capable of using sugar sources including D-saccharose, D-maltose, L-rhamnose, D-manitol, D-glucose and 3-hydroxybenzoic acid for growth. Alkaline phosphatase, valine arylamidase, leucine arylamidase, α-galactosidase and lipase (C14) were enzymes produced by strain BPTC-107. Furthermore, strain BPTC-107 was capable of growing in Mineral Salts Medium (MSM) supplemented with pesticides at concentrations of 10, 50 and 100 with OD values of 0.08 ± 0.03; 0.15 ± 0.03 and 0.10 ± 0.02, respectively (of which 50 mg/l was optimal concentration for growth).
KEYWORDS Identification Biodegradation of pesticides Isolation <i>Sphingobium</i> Pesticide residues	

ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA *SPHINGOBIUM LIMNETICUM* BPTC-107 CÓ KHẢ NĂNG PHÂN HỦY THUỐC BẢO VỆ THỰC VẬT

Nguyễn Mạnh Tuấn*, Đỗ Thị Hiền, Đỗ Bích Duệ, Hoàng Văn Hưng

Viện Khoa học Sự sống – ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 24/10/2023 Ngày hoàn thiện: 05/01/2024 Ngày đăng: 05/01/2024	Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm định danh phân tử và xác định các đặc điểm nuôi cấy, cũng như khả năng sinh trưởng trong môi trường có bổ sung các loại thuốc bảo vệ thực vật của chủng BPTC-107. Kết quả so sánh và phân tích trình tự gen 16S rRNA cho thấy chủng BPTC-107 là loài <i>Sphingobium limneticum</i>. Chủng BPTC-107 có khả năng sinh trong các môi trường Tryptone Soya Broth, R2A và Nutrient Broth (môi trường Tryptone Soya Broth là môi trường tối ưu), sinh trưởng trong khoảng nhiệt độ 15-40°C (25-30°C là nhiệt độ tối ưu); chủng BPTC có khả năng sinh trưởng pH từ 4-8 (pH 7 là tối ưu). Chủng BPTC-107 có khả năng sử dụng các nguồn đường bao gồm D-saccharose, D-maltose, L-rhamnose, D-manitol, D-glucose và 3-hydroxybenzoic acid cho sinh trưởng. Alkaline phosphatase, valine arylamidase, leucine arylamidase, α-galactosidase và lipase (C14) là những enzyme được sản sinh bởi chủng BPTC-107. Hơn nữa, chủng BPTC-107 có khả năng sinh trưởng trong môi trường khoáng chất (MSM) có bổ sung thuốc bảo vệ thực vật ở nồng độ 10, 50 và 100 với giá trị OD tương ứng là $0,08 \pm 0,03$; $0,15 \pm 0,03$ và $0,10 \pm 0,02$ (trong đó 50 mg/l là nồng độ thích hợp cho sinh trưởng).
TỪ KHÓA Định danh Phân hủy thuốc bảo vệ thực vật Phân lập <i>Sphingobium</i> Tồn dư thuốc bảo vệ thực vật	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.9045>

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

1. Đặt vấn đề

Thuốc bảo vệ thực vật là một trong những thành phần quan trọng trong sản xuất nông nghiệp nhằm bảo vệ cây trồng khỏi sâu bệnh hại. Tuy nhiên, bên cạnh những lợi ích mà thuốc bảo vệ thực vật mang lại, thì tồn dư thuốc bảo vệ thực vật lại là một thách thức lớn trong nông nghiệp, ảnh hưởng trực tiếp đến chất lượng nông sản, tiềm ẩn nhiều rủi ro cho sức khỏe con người và đa dạng sinh thái [1]. Thuốc bảo vệ thực vật có thể bị phân hủy bởi vi sinh vật, hóa học, quang học và màng sinh học [2], [3]. Tuy nhiên trong điều kiện canh tác, sử dụng vi sinh vật trong phân giải thuốc bảo vệ thực vật là một giải pháp hiệu quả, thân thiện với môi trường và không làm ảnh hưởng đến quá trình sản xuất [4]. Các loài vi sinh vật chính có khả năng phân hủy thuốc bảo vệ thực vật bao gồm vi khuẩn và nấm; chúng chuyển hóa các thuốc bảo vệ thực vật thành nguồn dinh dưỡng cho sinh trưởng và phát triển [5].

Sphingobium spp. là vi khuẩn Gram âm, thuộc lớp alpha-proteobacteria. Đến nay, có khoảng 60 loài được mô tả (<https://lpsn.dsmz.de/genus/sphingobium>) và phân bố chủ yếu ở trong đất. Các loài của chi *Sphingobium* được chứng minh có vai trò trong xử lý sinh học và phân hủy sinh học các chất ô nhiễm, trong đó có cả các loại thuốc bảo vệ thực vật [6]. Thành viên tiềm năng của chi *Sphingobium* có khả năng phân hủy các loại thuốc bảo vệ thực vật được công bố trong những năm gần đây như *Sphingobium chlorophenolicum* ATCC 39723 [7], *Sphingobium* sp. DI-6 [4], *Sphingobium* sp. K22212 và *Sphingobium* sp. Cam5-1 [8], *Sphingobium japonicum* UT26 [9]. Trong khi dữ liệu công bố về các chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy thuốc bảo vệ thực vật ở nước ta còn nhiều hạn chế. Một vài dòng vi khuẩn có khả năng phân hủy thuốc bảo vệ thực vật được báo cáo như *Cupriavidus*, *Burkholderia*, *Ralstonia*, *Paracoccus*, *Stenotrophomonas* và *Acinetobacter* [10] – [12]. Trong bài báo này, đặc điểm sinh học của *Sphingobium limneticum* BPTC-107 được nghiên cứu.

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

2.1. Vật liệu

Vật liệu: Chủng BPTC-107 được cung cấp bởi Viện Khoa học sự sống – Đại học Thái Nguyên. Các thuốc bảo vệ thực vật chuẩn được sử dụng bao gồm fenobucarb (Supelco, Merck), carbosulfan (Supelco, Merck), chlopyrifos (Supelco, Merck), acephate (Supelco, Merck), aldrin (Supelco, Merck) và endosulfan (Supelco, Merck).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp tách chiết DNA tổng số và nhân trình tự gen 16S rRNA: Chủng BPTC-107 được hoạt hóa trong môi trường Tryptic Soy Broth ở 28°C trong 2 ngày. DNA tổng số của chủng BPTC-107 được tách chiết theo phương pháp của Sambrook và Russell (2011) [13]. Cặp mồi 27F và 1492R được sử dụng để nhân trình tự gen 16S rRNA của BPTC-107 với thành phần của phản ứng PCR theo phương pháp của Klindworth và cộng sự (2013) [14]. Sản phẩm PCR của chủng BPTC-107 được giải 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 BPTC-107 được nhận diện và so sánh với dữ liệu các loài đã công bố bằng phần mềm EzTaxon. Giới hạn về mức độ tương đồng trình tự gen 16S rRNA được đối chiếu với thang chuẩn (>98,7%) cho loài đã được công bố [15]. Đồng thời, sơ đồ phả hệ của chủng BPTC-107 được xây dựng để xác định vị trí phân loại với các loài của chi *Sphingobium* sử dụng phần mềm MEGA 7.0.

Phương pháp xác định đặc điểm nuôi cấy: Chủng BPTC-107 được nuôi cấy đồng thời trên các môi trường Tryptone Soya Broth (Millipore, Merck), R2A (MB cell, Hàn Quốc), Nutrient Broth (Oxoid, Anh) và xác định giá trị OD₆₀₀ ở 5 ngày, 28°C. Dải nhiệt độ 10, 15, 20, 25, 30, 37, 40 và 45°C; và pH 3, 4, 5, 6, 7 và 8 được thiết lập để đánh giá khả năng sinh trưởng của chủng BPTC-107 trong môi trường Tryptone Soya Broth trong 5 ngày nuôi cấy, 130 vòng/phút. API 32 GN Kit (BioMérieux, Pháp) được sử dụng để đánh giá khả năng sử dụng các nguồn đường cho

sinh trưởng của chủng BPTC-107. API API ZYM (BioMérieux, Pháp) cũng được sử dụng để xác định các loại enzyme sản sinh bởi chủng BPTC-107.

Phương pháp xác định sinh trưởng của các chủng phân lập trong môi trường có bổ sung các hoạt chất bảo vệ thực vật: Chủng BPTC-107 được hoạt hóa trong môi trường Tryptic Soy Broth ở 28°C, 130 vòng/phút trong 2 ngày. Thu nhận sinh khối tế bào và điều chỉnh ở mật độ 5×10^8 CFU/ml trong môi trường MSM (g/l: Na_2HPO_4 : 1,42; K_2HPO_4 : 1,36; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$: 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±0,2). Tiếp đến, 500 µl dịch huyền phù của chủng BPTC-107 được cấy đến 5 ml MSM có bổ sung đồng thời fenobucarb (Supelco, Merck), carbosulfan (Supelco, Merck), chlopyrifos (Supelco, Merck), acephate (Supelco, Merck), aldrin (Supelco, Merck) và endosulfan (Supelco, Merck) ở nồng độ 0, 10, 50 và 100 mg/lít đối với mỗi loại hoạt chất bảo vệ thực vật. Khả năng phân hủy thuốc bảo vệ thực vật được xác định thông qua giá trị OD_{600nm} sau 10 ngày nuôi cấy ở 28°C.

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

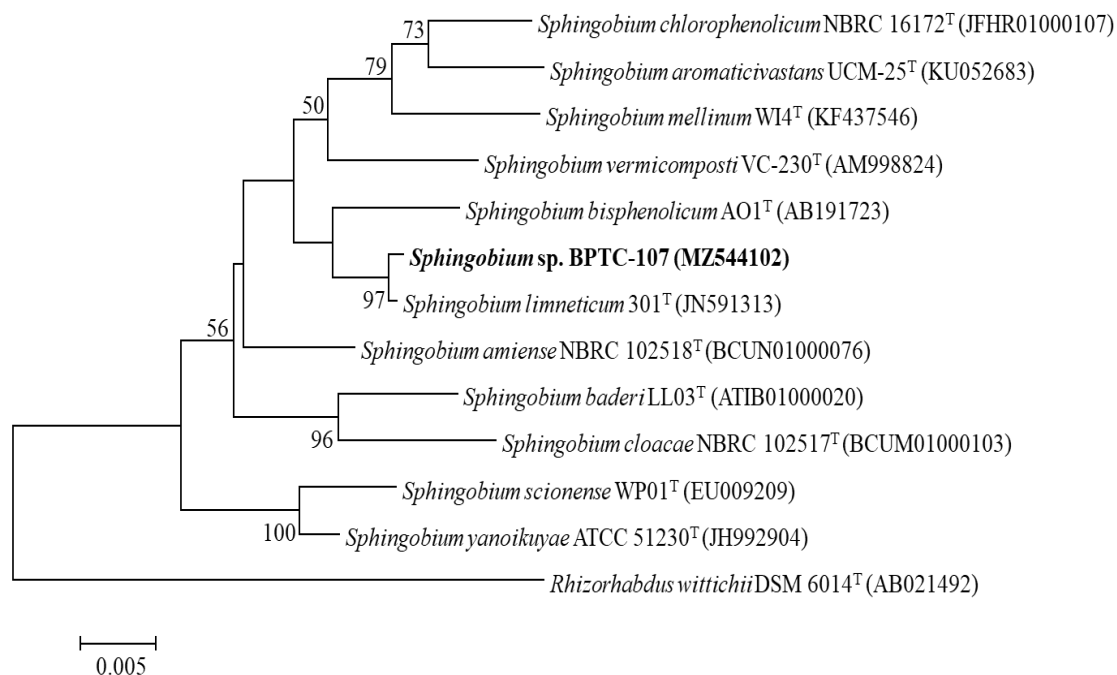
3.1. Định danh phân tử chủng BPTC-107

Trình tự gen 16S rRNA của chủng BPTC-107 có kích thước 1428 bp, với mã số truy nhập trên GenBank là MZ544102. Chủng BPTC-107 thể hiện sự tương đồng về trình tự 16S rRNA là 99,86% với *Sphingobium limneticum* 301^T (JN591313), 98,79% với *Sphingobium amiense* NBRC 102518^T (BCUN01000076), 98,72% với *Sphingobium bisphenolicum* AO1^T (AB191723), 98,23% với *Sphingobium yanoikuyae* ATCC 51230^T (JH992904) và từ 97,37-98,94% với các thành viên khác của chi *Sphingobium* (Bảng 1). Kết quả tại Bảng 1 cũng cho thấy chủng BPTC-107 gần nhất với *Sphingobium limneticum* 301^T (JN591313) (99,86%, với 02 nucleotide khác biệt ở vị trí thứ 58 và 65 trên dữ liệu NCBI Blast). Đối chiếu với giới hạn (>98,7%) [15] về sự tương đồng của trình tự gen 16S rRNA, chủng BPTC-107 thuộc loài *Sphingobium limneticum* được mô tả bởi Chen và cộng sự (2013) [16].

Bảng 1. Sự tương đồng của trình tự gen 16S rRNA của chủng BPTC-107 với các loài gần nhất

Các loài gần nhất	Mức độ tương đồng (%)	Số nucleotide sai khác
<i>Sphingobium limneticum</i> 301 ^T (JN591313)	99,86	2/1409
<i>Sphingobium amiense</i> NBRC 102518 ^T (BCUN01000076)	98,79	17/1409
<i>Sphingobium bisphenolicum</i> AO1 ^T (AB191723)	98,72	18/1409
<i>Sphingobium yanoikuyae</i> ATCC 51230 ^T (JH992904)	98,23	25/1409
<i>Sphingobium vermicomposti</i> VC-230 ^T (AM998824)	97,94	29/1409
<i>Sphingobium cloacae</i> NBRC 102517 ^T (BCUM01000103)	97,59	34/1409
<i>Sphingobium baderi</i> LL03 ^T (ATIB01000020)	97,52	35/1409
<i>Sphingobium scionense</i> WP01 ^T (EU009209)	97,45	34/1335
<i>Sphingobium chlorophenolicum</i> NBRC 16172 ^T (JFHR01000107)	97,44	36/1409
<i>Sphingobium mellinum</i> WI4 ^T (KF437546)	97,37	37/1409
<i>Sphingobium aromaticivastans</i> UCM-25 ^T (KU052683)	97,37	37/1409

Bên cạnh đó, sơ đồ phả hệ của chủng BPTC-107 (Hình 1) cho thấy chủng BPTC-107 được sắp xếp vào nhóm của chi *Sphingomonas* và cùng nhóm với *Sphingobium yanoikuyae* là loài chuẩn của chi *Sphingobium* [17]. Sơ đồ phả hệ cũng bộc lộ chủng BPTC-107 có vị trí trùng với *Sphingobium limneticum* 301^T (JN591313) (với giá trị bootstrap =97). Dựa vào kết quả so sánh trình tự gen 16S rRNA và sơ đồ phả hệ cho thấy chủng BPTC-107 là thành viên của chi *Sphingobium*, với tên gọi khoa học là *Sphingobium limneticum* BPTC-107.



Hình 1. Sơ đồ phân hệ của chủng BPTC-107 với các loài gần nhất dựa vào trình tự gen 16S rRNA; *Rhizorhabdus wittichii* DSM 6014^T (AB021492) được sử dụng là ngoài chi *Sphingobium*

3.2. Đặc điểm nuôi cấy của chủng BPTC-107

Chủng BPTC-107 có khả năng sinh trưởng trong các môi trường Tryptone Soya Broth, R2A và Nutrient Broth (Tryptone Soya Broth là môi trường tối ưu), nhiệt độ 15-40°C (25-30°C là nhiệt độ tối ưu) và pH từ 4-8 (pH 7 là tối ưu). Chủng BPTC-107 có khả năng đồng hóa các nguồn đường bao gồm D-saccharose, D-maltose, L-rhamnose, D-manitol, D-glucose và 3-hydroxybenzoic acid; nhưng không có khả năng đồng hóa các nguồn bao gồm N-acetylglucosamine, D-ribose, inositol, itaconic acid, suberic acid, sodium malonate, sodium acetate, succinic acid, L-alanine, potassium 5-ketogluconate, glycogen, L-serine, 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 L-proline. Chủng BPTC-107 có khả năng sản sinh các enzyme alkaline phosphatase, valine arylamidase, leucine arylamidase, α -galactosidase và lipase (C14); nhưng không sản sinh esterase (C4), esterase lipase (C8), cystine arylamidase, trypsin, α -chymotrypsin, acid phosphatase, naphthol-AS-BI-phosphohydrolase, β -galactosidase, β -glucuronidase, α -glucosidase, β -glucosidase, N-acetyl- β -glucosaminidase, α -mannosidase và α -fucosidase. Kết quả xác định đặc điểm nuôi cấy cho thấy chủng BPTC-107 thuộc nhóm vi khuẩn ưa nhiệt trung bình và ở pH trung tính. Những đặc điểm này phù hợp với mô tả về đặc điểm loài chuẩn của chi *Sphingobium* được mô tả bởi Takeuchi và cộng sự (2001) [17].

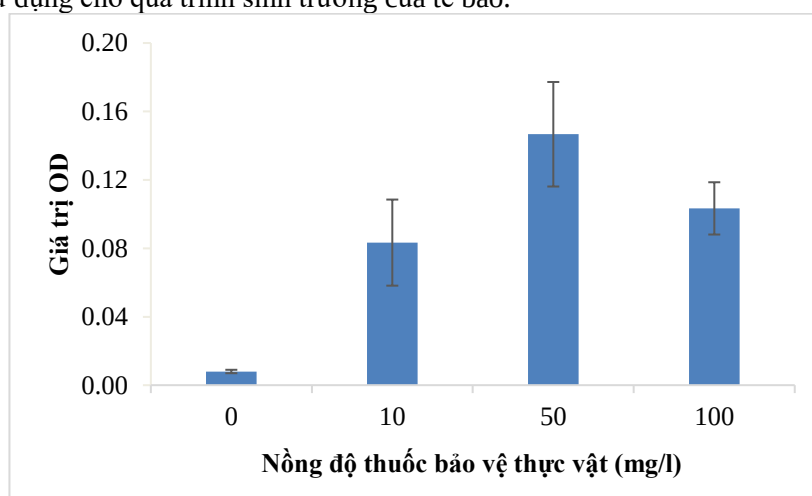
3.3. Xác định khả năng sinh trưởng của chủng BPTC-107 trong môi trường bổ sung thuốc bảo vệ thực vật

Khả năng sinh trưởng (OD₆₀₀) của chủng BPTC-107 trong môi trường MSM với lượng thuốc bảo vệ thực vật bổ sung 0, 10, 50 và 100 mg/l lần lượt là $0,008 \pm 0,001$; $0,083 \pm 0,025$; $0,147 \pm 0,031$ và $0,103 \pm 0,015$ (Bảng 2 và Hình 2). Trong môi trường không bổ sung thuốc bảo vệ thực vật, giá trị OD của chủng BPTC-107 là $0,008 \pm 0,001$ thấp hơn ý nghĩa ($p < 0,05$) khoảng 10; 18 và 13 lần so với khi bổ sung 10; 50 và 100 mg/l thuốc bảo vệ thực vật.

Bảng 2. Khả năng sinh trưởng của chủng BPTC-107 trong môi trường MSM có bổ sung thuốc bảo vệ thực vật ở 28°C, 10 ngày nuôi cấy

Nồng độ thuốc bảo vệ thực vật bổ sung (mg/l)	Mật độ quang (OD ₆₀₀)
0	0,008 ± 0,001
10	0,083 ± 0,025
50	0,147 ± 0,031
100	0,103 ± 0,015

Kết quả ở Bảng 2 cũng cho thấy, sinh trưởng của chủng BPTC-107 đạt cao nhất (OD = 0,147 ± 0,031) khi bổ sung thuốc bảo vệ thực vật ở nồng độ 50 mg/l, cao hơn ý nghĩa khoảng 1,8 lần so với ở nồng độ thuốc bảo vệ thực vật bổ sung 10 mg/l ($p=0,034$) và 1,4 lần khi bổ sung 100 mg/l thuốc bảo vệ thực vật ($p=0,039$). Không có sự khác biệt về khả năng sinh trưởng của chủng BPTC-107 trong môi trường có bổ sung thuốc bảo vệ thực vật ở 10 và 100 mg/l ($p=0,18$). Kết quả nghiên cứu cho thấy, thuốc bảo vệ thực vật như một nguồn dinh dưỡng và được chủng BPTC-107 sử dụng cho quá trình sinh trưởng của tế bào.

**Hình 2.** Khả năng sinh trưởng của chủng BPTC-107 ở 28°C, 10 ngày nuôi cấy

Thuốc bảo vệ thực vật được sử dụng phổ biến trong trồng trọt với khả năng kiểm soát sâu bệnh hại một cách hiệu quả. Tuy nhiên, phần lớn lượng thuốc bảo vệ thực vật tồn dư trong môi trường đất sẽ có tác động tiêu cực đến chất lượng nông sản, sức khỏe con người, môi trường sinh thái. Các bằng chứng khoa học đã chứng minh các chủng vi sinh vật có khả năng phân hủy các loại thuốc bảo vệ thực vật tạo ra các sản phẩm không độc hại với môi trường sinh thái [2], [4]. Chủng BPTC-107 có khả năng phân hủy tốt thuốc bảo vệ thực vật ở nồng độ 50 mg/l (Hình 2) và thuộc chi *Sphingobium*, khác biệt với các chi vi khuẩn đã công bố ở nước ta như *Paracoccus*, *Stenotrophomonas*, *Acinetobacter*, *Cupriavidus*, *Burkholderia* và *Ralstonia* [10]-[12]. Các chi vi khuẩn tiềm năng có khả năng phân hủy mạnh thuốc bảo vệ thực vật được biết tới bao gồm *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Sphingomonas*, *Sphingobium*, *Arthrobacter* [2]. Đối với chi *Sphingobium* có khoảng 60 loài được mô tả cho đến nay (<https://lpsn.dsmz.de/genus/sphingobium>), một vài loài được biết tới với khả năng phân hủy các loại thuốc bảo vệ thực vật có cấu trúc bền vững (bao gồm cả mạch vòng) như diazinon bởi chủng *Sphingobium* sp. DI-6 [4], ethoprophos, phenthoate và phorate bởi chủng *Sphingobium* sp. K22212 và *Sphingobium* sp. Cam5-1 [8] và hexachlorocyclohexane bởi *Sphingobium japonicum* UT26 [9]. *Sphingobium limneticum* 301^T là một loài mới, được mô tả bởi Chen và cộng sự năm 2013, nhưng không mô tả đến khả năng phân hủy thuốc bảo vệ thực vật [16]. Trong nghiên cứu này, chủng BPTC-107 thuộc loài *Sphingobium limneticum* với khả năng phân hủy các loại thuốc bảo vệ thực vật được mô tả và được coi là chủng vi khuẩn tiềm năng cho xử lý tồn dư thuốc bảo vệ thực vật trong môi trường.

4. Kết luận

Dựa vào phân tích trình tự gen 16S rRNA, chủng BPTC-107 là một thành viên của chi *Sphingobium* và được gọi tên là *Sphingobium limneticum* BPTC-107. Chủng BPTC-107 sinh trưởng tốt trong môi trường Tryptone Soya Broth, từ 25-30°C và pH 7. Chủng BPTC-107 có khả năng sử dụng các nguồn đường bao gồm D-saccharose, D-maltose, L-rhamnose, D-manitol, D-glucose, 3-hydroxybenzoic acid và sản sinh các loại enzyme alkaline phosphatase, valine arylamidase, leucine arylamidase, α -galactosidase và lipase (C14). Chủng BPTC-107 thể hiện hoạt tính phân hủy mạnh các loại thuốc bảo vệ thực vật ở nồng độ 50 mg/l với mỗi loại thuốc được thử nghiệm.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Bắc Giang, thông qua đề tài "Nghiên cứu xử lý tồn dư thuốc bảo vệ thực vật trong đất trồng cây ăn quả tại huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang".

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] V. M. Pathak, V. K. Verma, B. S. Rawat *et al.*, "Current status of pesticide effects on environment, human health and its eco-friendly management as bioremediation: A comprehensive review," *Front Microbiol.*, vol. 13, 2022, Art. no. 962619.
- [2] B. Ruomeng, O. Meihao, Z. Siru *et al.*, "Degradation strategies of pesticide residue: From chemicals to synthetic biology," *Synth Syst Biotechnol.*, vol. 8, no. 2, pp. 302-313, 2023.
- [3] T. D. Luu, T. S. Le, C. K. Le, and T. M. H. Truong, "Treatment of total phosphorus in wastewater contains organophosphorus pesticide by membrane bioreactor (MBR)," (in Vietnamese), *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 228, no. 10, pp. 183-191, 2023.
- [4] G. Wang, X. Li, J. Zheng *et al.*, "Isolation of a diazinon-degrading strain *Sphingobium* sp. DI-6 and its novel biodegradation pathway," *Front Microbiol.*, vol. 13, 2022, Art. no. 929147.
- [5] S. M. Mousavi, S. A. Hashemi, S. M. Iman Moezzi *et al.*, "Recent advances in enzymes for the bioremediation of pollutants," *Biochem. Res. Int.*, vol. 2021, 2021, Art. no. 5599204.
- [6] B. L. Boss, A. E. Wanees, S. J. Zaslow *et al.*, "Comparative genomics of the plant-growth promoting bacterium *Sphingobium* sp. strain AEW4 isolated from the rhizosphere of the beachgrass *Ammophila breviligulata*," *BMC Genomics*, vol. 23, no. 1, 2022, Art. no. 508.
- [7] M. Dai and S. D. Copley, "Genome shuffling improves degradation of the anthropogenic pesticide pentachlorophenol by *Sphingobium chlorophenolicum* ATCC 39723," *Appl Environ Microbiol.*, vol. 70, no. 4, pp. 2391-2397, 2004.
- [8] J. H. Ahn, S. A. Lee, S. J. Kim, J. You, B. H. Han, H. Y. Weon, and S. W. Lee, "Biodegradation of organophosphorus insecticides with Psingle bondS bonds by two *Sphingobium* sp. Strains," *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 132, pp. 59-65, 2018.
- [9] X. Cao, C. Yang, R. Liu *et al.*, "Simultaneous degradation of organophosphate and organochlorine pesticides by *Sphingobium japonicum* UT26 with surface-displayed organophosphorus hydrolase," *Biodegradation*, vol. 24, no. 2, pp. 295-303, 2013.
- [10] T. P. O. Nguyen, V. U. Hua, and S. Dirk, "2,4-D degrading bacteria in rice fields in Tien Giang and Soc Trang," (in Vietnamese), *Can Tho University Journal of Science*, vol. 18a, pp. 65-70, 2011.
- [11] K. N. Nguyen and T. A. T. Tran, "Efficacy of the insecticide propoxur biodegradation in soil by *Paracoccus* sp. P23-7 strain immobilized in spent coffee grounds," (in Vietnamese), *Can Tho University Journal of Science*, vol. 52, pp. 31-40, 2017.
- [12] G. L. Duong and H. H. Nguyen, "Isolation and selection of bacterial strains capable of degrading carbosulfan from paddy soils in Hau Giang province," (in Vietnamese), *Can Tho University Journal of Science*, vol. 56, no. 6B, pp. 119-127, 2020.
- [13] J. Sambrook and D. W. Russell, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd Ed," in *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, New York, pp. 1-170, 2001.
- [14] A. Klindworth, E. Pruesse, T. Schweer *et al.*, "Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and nextgeneration sequencing-based diversity studies," *Nucleic Acids Res.*, vol. 41, no. 1, pp. 1-11, 2013.

-
- [15] H. P. Browne, S. C. Forster, B. O. Anonye *et al.*, "Culturing of "unculturable" human microbiota reveals novel taxa and extensive sporulation," *Nature*, vol. 533, pp. 543-546, 2016.
- [16] H. Chen, M. Jogler, M. Rohde *et al.*, "*Sphingobium limneticum* sp. nov. and *Sphingobium boeckii* sp. nov., two freshwater planktonic members of the family *Sphingomonadaceae*, and reclassification of *Sphingomonas suberifaciens* as *Sphingobium suberifaciens* comb. nov.," *Int J Syst Evol Microbiol*, vol. 63, pp. 735-743, 2013.
- [17] J. M. Takeuchi, K. Hamana, and A Hiraishi, "Proposal of the genus *Sphingomonas* sensu stricto and three new genera, *Sphingobium*, *Novosphingobium* and *Sphingopyxis*, on the basis of phylogenetic and chemotaxonomic analyses," *Int J Syst Evol Microbiol*, vol. 51, pp. 1405-1417, 2001.