Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ
Số chuyên đề: Công nghệ chiến lược - Động lực phát triển Đồng bằng sông Cửu Long (SDMD)
ISSN 1859-2333 | e-ISSN 2815-5599

DOI:10.22144/ctujos.2026.261

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN VI KHUẨN TÍA QUANG HỢP KHÔNG LƯU HUỲNH TỪ AO NUÔI CÁ TRA (*Pangasianodon hypophthalmus*) CÓ TIỀM NĂNG LOẠI BỎ AMONI VÀ SULFIDE

Vũ Hùng Hải và Huỳnh Trường Giang*
Trường Thủy sản, Đại học Cần Thơ, Việt Nam
**Tác giả liên hệ (Corresponding author): htgiang@ctu.edu.vn*

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 17/08/2026
Sửa bài (Revised): 26/09/2026
Duyệt đăng (Accepted): 08/11/2026

Title: *Isolation and selection of purple non-sulfur bacteria from striped catfish (Pangasianodon hypophthalmus) ponds with ammonium and sulfide removal potential*

Author(s): *Vu Hung Hai and Huynh Truong Giang**

Affiliation(s): *College of Aquaculture and Fisheries, Can Tho University, Viet Nam*

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn tía quang hợp không lưu huỳnh (PNSB) bản địa từ bùn đáy ao nuôi cá tra (Pangasianodon hypophthalmus) tại các tỉnh thuộc Đồng bằng sông Cửu Long. Tổng cộng 21 chủng PNSB được phân lập, nhưng chỉ 9 chủng có khả năng sinh trưởng mạnh dưới cả điều kiện sáng-yếm khí và tối-hiếu khí. Hiệu suất loại bỏ đạm amoni (NH_4^+) và sulfide (S^{2-}) của các chủng lần lượt dao động từ 63,8 đến 97,2% và từ 39,5 đến 65,9%. Dựa trên phương pháp xếp hạng đa tiêu chí TOPSIS, hai chủng AG-G5 và DT-A10 được tuyển chọn là các chủng tiềm năng, không biểu hiện hoạt tính tan huyết và có độ tương đồng cao với loài Rhodopseudomonas palustris. Khoảng pH từ 6,5 đến 7,5 và nguồn cacbon sodium malate được xác định là yêu cầu tối ưu cho sự sinh trưởng và tích lũy sinh khối của cả hai chủng. Kết quả nghiên cứu cho thấy rằng AG-G5 và DT-A10 là những chủng PNSB tiềm năng để phát triển chế phẩm sinh học phục vụ cải thiện chất lượng nước và xử lý môi trường trong nuôi cá tra thâm canh.

Từ khóa: *Loại bỏ amoni, loại bỏ sulfide, nuôi cá tra, Rhodopseudomonas palustris, vi khuẩn tía quang hợp*

ABSTRACT

This study aimed to isolate and screen indigenous purple non-sulfur bacteria (PNSB) from the sediments of striped catfish (Pangasianodon hypophthalmus) ponds in the Mekong Delta. A total of 21 PNSB strains were isolated, of which only nine exhibited superior growth under both light-anaerobic and dark-aerobic conditions. Removal efficiencies of ammonium nitrogen (NH_4^+-N) and sulfide (S^{2-}) by the isolates were 63.8-97.2% and 39.5-65.9%, respectively. Based on the Technique for Order Preference by Similarity to Ideal Solution (TOPSIS), strains AG-G5 and DT-A10 were identified as the most promising candidates. Both strains exhibited no hemolytic activity and shared high 16S rRNA gene sequence similarity with Rhodopseudomonas palustris. An initial pH of 6.5-7.5 and sodium malate as the sole carbon source provided the optimal conditions for the growth and biomass accumulation of both isolates. These findings suggest that AG-G5 and DT-A10 strains are promising probiotic candidates for bioremediation applications aimed at improving water quality in intensive striped catfish farming.

Keywords: *Ammonium removal, purple non-sulfur bacteria, Rhodopseudomonas palustris, striped catfish farming, sulfide removal*

1. GIỚI THIỆU

Trong những năm gần đây, cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) là một trong những đối tượng nuôi nước ngọt chủ lực của Việt Nam, đóng góp quan trọng vào giá trị xuất khẩu thủy sản. Mặc dù diện tích và sản lượng nuôi cá tra có xu hướng biến động trong những năm gần đây nhưng ngành hàng này vẫn duy trì vai trò quan trọng đối với kinh tế thủy sản Việt Nam. Theo Hiệp hội Chế biến và Xuất khẩu Thủy sản Việt Nam, ngành cá tra ghi nhận xu hướng giảm nhẹ về quy mô sản xuất trong năm 2025, với diện tích nuôi đạt khoảng 5,6 nghìn ha và sản lượng đạt 1,74 triệu tấn, giảm lần lượt 6% và 3% so với năm 2024 (VASEP, 2026). Sự biến động này có thể chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố, bao gồm điều kiện thị trường, chi phí sản xuất, dịch bệnh và các vấn đề môi trường trong hệ thống nuôi thâm canh. Trong đó, sự suy giảm chất lượng nước được xem là một trong những thách thức lớn đối với tính bền vững của nghề nuôi cá tra thâm canh. Mật độ thả nuôi cao cùng với lượng thức ăn sử dụng lớn làm gia tăng sự tích tụ của thức ăn dư thừa, chất thải của cá và các chất hữu cơ dưới đáy ao (Pham et al., 2010; Chau et al., 2011). Quá trình phân hủy các chất hữu cơ chứa nitơ và lưu huỳnh trong môi trường là điều kiện làm tăng NH_3 và H_2S, từ đó làm suy giảm chất lượng nước, mất cân bằng hệ vi sinh vật và ảnh hưởng tiêu cực đến sức khỏe cũng như năng suất của cá nuôi (Antony & Philip, 2006; Boyd, 2017). Để duy trì chất lượng nước và hạn chế dịch bệnh, người nuôi thường sử dụng kháng sinh, hóa chất diệt khuẩn hoặc thay nước với tần suất cao. Tuy nhiên, việc lạm dụng thuốc, hóa chất trong quá trình nuôi có thể làm thay đổi cấu trúc và hoạt động chức năng của quần xã vi sinh vật bản địa, đồng thời thúc đẩy sự xuất hiện của các chủng vi khuẩn kháng thuốc (Silva et al., 2021). Việc thay nước với tần suất cao làm gia tăng nhu cầu sử dụng nước, tăng nguy cơ phát tán mầm bệnh và chuyển lượng lớn chất thải giàu dinh dưỡng ra các thủy vực tiếp nhận, từ đó làm gia tăng nguy cơ ô nhiễm và phú dưỡng môi trường ngoài (Boyd et al., 2020). Do đó, việc phát triển các giải pháp xử lý sinh học trong hệ thống nuôi được xem là hướng tiếp cận bền vững rất được quan tâm trong những năm gần đây.

Trong số các nhóm vi sinh vật có tiềm năng ứng dụng, vi khuẩn tía quang hợp không lưu huỳnh (purple non-sulfur bacteria, PNSB) được xem là một trong những tác nhân sinh học triển vọng nhờ khả năng trao đổi chất linh hoạt. PNSB có khả năng sinh trưởng dưới cả điều kiện có và không có ánh sáng, cũng như trong môi trường hiếu khí, vi hiếu khí hoặc yếm khí, nhờ đặc tính trao đổi chất đa dạng (Imhoff, 2009; Dhar et al., 2023). Điều này giúp chúng thích nghi với các điều kiện môi trường khác nhau trong hệ thống nuôi thủy sản. Bên cạnh khả năng sử dụng hiệu quả các hợp chất hữu cơ, nhiều chủng PNSB còn có khả năng loại bỏ các hợp chất nitơ vô cơ, oxy hóa S^{2-} thành SO_4^{2-} ít độc hơn và góp phần ổn định hệ vi sinh vật trong môi trường nước (Antony & Philip, 2006; Xiao et al., 2020). Những đặc tính này cho thấy PNSB là nguồn vi sinh vật đầy tiềm năng để phát triển các chế phẩm sinh học phục vụ xử lý môi trường trong nuôi trồng thủy sản. Mặc dù tiềm năng ứng dụng của vi khuẩn PNSB trong cải thiện chất lượng nước và nâng cao hiệu quả nuôi trồng thủy sản đã được ghi nhận (Liên, 2016; Miyasaka et al., 2023) nhưng các nghiên cứu về phân lập và tuyển chọn các chủng PNSB bản địa từ mô hình nuôi cá tra ở Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) vẫn còn hạn chế. Đặc biệt, các nghiên cứu đánh giá đồng thời khả năng loại bỏ đạm amoni (NH_4^+) và sulfide (S^{2-}) của các chủng phân lập từ bùn đáy ao nuôi cá tra còn rất ít. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân lập, tuyển chọn và định danh các chủng PNSB bản địa tiềm năng, đồng thời đánh giá một số điều kiện nuôi cấy thích hợp nhằm làm cơ sở cho việc phát triển chế phẩm probiotic ứng dụng trong cải thiện chất lượng nước nuôi trồng thủy sản.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm thu mẫu

Khoảng 100 g mẫu bùn đáy với độ dày lớp bề mặt 5 - 10 cm được thu từ nhiều điểm trong các ao ương và ao nuôi cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) tại các tỉnh An Giang (12 mẫu), Vĩnh Long (8 mẫu) và Đồng Tháp (12 mẫu), bằng dụng cụ lấy mẫu lõi (core sampler) theo mô tả bởi Somsiri et al. (2006). Mẫu được trộn đều thành mẫu tổ hợp nhằm đạt được tính đại diện cho mỗi ao và sau đó ký hiệu mẫu, bảo quản trong thùng lạnh ở 4°C và vận chuyển đến Phòng thí nghiệm Chế phẩm sinh học thủy sản, Trường Thủy sản, Đại học Cần Thơ để phục vụ cho quá trình phân lập.

2.2. Làm giàu chọn lọc và phân lập vi khuẩn

Trước khi phân lập, vi khuẩn PNSB được nuôi cấy làm giàu trong môi trường glutamate-malate (GM) (Bảng 1). Theo đó, 1 g mẫu bùn được cho vào ống nghiệm thủy tinh chứa 20 mL môi trường GM vô trùng và ủ ở 30°C dưới điều kiện chiếu sáng 3.000±500 lux bằng đèn sợi đốt (60 W). Để tạo điều kiện kỵ khí, bề mặt môi trường được phủ một lớp paraffin lỏng vô trùng dày khoảng 1 cm. Sau 5 ngày nuôi cấy, 1 mL dịch nuôi được chuyển sang 20 mL môi trường GM mới và tiếp tục ủ trong cùng điều

kiện. Quá trình làm giàu được lặp lại ba lần. Các mẫu nuôi cấy có màu hồng, đỏ hoặc nâu được lựa chọn để phân lập vi khuẩn (Imhoff et al., 2015; Bunruk et al., 2017). Sau đó, dịch nuôi được pha loãng thập phân liên tiếp từ 10^{-1} đến 10^{-4} và trải trên đĩa môi trường GM bổ sung 1,5% agar. Bề mặt môi trường tiếp tục được phủ một lớp thạch vô trùng (khoảng 45°C) để tạo điều kiện cho vi khuẩn sinh trưởng giữa hai lớp thạch trong điều kiện kỵ khí (Kim et al., 1999). Các đĩa nuôi được ủ sáng trong 5 - 7 ngày cho đến khi xuất hiện khuẩn lạc. Các khuẩn lạc có màu hồng, đỏ hoặc nâu với hình thái đặc trưng được chọn và cấy chuyền nhiều lần trên môi trường GM mới nhằm thu nhận dòng thuần. Độ thuần của các chủng được kiểm tra bằng kính hiển vi huỳnh quang (Eclipse Si, Nikon, Trung Quốc) sau khi nhuộm Gram. Các chủng thuần sau đó được bảo quản ở -80°C trong glycerol 25% để phục vụ cho các thí nghiệm tiếp theo.

2.3. Khả năng sinh trưởng của các chủng phân lập trong điều kiện sáng-yếm khí và tối-hiếu khí

Khả năng sinh trưởng của các chủng phân lập dưới điều kiện sáng - yếm khí và tối - hiếu khí được đánh giá theo phương pháp của Bunruk et al. (2017) với một vài bổ sung. Cụ thể, dịch nuôi cấy của từng chủng được cấy vào các bình tam giác chứa 20 mL môi trường GM với tỉ lệ cấy nạp 10% (v/v) và ủ dưới hai điều kiện nuôi cấy khác nhau: (i) tối - hiếu khí và (ii) sáng - yếm khí. Theo đó, điều kiện sáng - yếm khí được tạo bằng cách phủ bề mặt môi trường bằng một lớp paraffin lỏng vô trùng nhằm hạn chế sự khuếch tán oxy, đồng thời chiếu sáng liên tục bằng đèn sợi đốt với cường độ 3.000±500 lux. Ngược lại, điều kiện tối - hiếu khí được thiết lập bằng cách đặt trên máy lắc ở tốc độ 200 vòng/phút và bọc kín bình môi trường bằng màng nhôm để ngăn ánh sáng (Prasertsan et al., 1993). Sau 48 giờ ủ, khả năng sinh trưởng của vi khuẩn được xác định thông qua giá trị mật độ quang ở bước sóng 660 nm (OD_{660}). Các chủng có giá trị $OD_{660} > 0,5$ ở cả hai điều kiện được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo. Mỗi chủng vi khuẩn được thực hiện với ba lần lặp lại.

2.4. Đánh giá khả năng loại bỏ NH_4^+ và S^{2-} của các chủng PNSB chọn lọc

Các chủng PNSB chọn lọc được nuôi cấy trong môi trường GM dưới điều kiện sáng-yếm khí theo quy trình phân lập. Sau 5 ngày nuôi cấy, tế bào được thu bằng ly tâm (3.500 vòng/phút, 10 phút, 4°C), rửa hai lần bằng dung dịch đệm phosphate (PBS, pH 7,4) và điều chỉnh mật độ tế bào đến $OD_{660} = 1,0$. Huyền phù tế bào được cấy vào môi trường nước thải tổng hợp với tỷ lệ 1% (v/v) (Nakashio, 1972). Môi trường được bổ sung $Na_2S \cdot 9H_2O$ để đạt nồng độ S^{2-} ban đầu khoảng 7,46±0,37 mg/L. Các nghiệm thức được ủ trong điều kiện yếm khí, chiếu sáng liên tục (3.000±500 lux) trong 5 ngày. Sau thời gian nuôi cấy, hàm lượng NH_4^+ và S^{2-} được xác định lần lượt bằng phương pháp phenate (4500-NH_3-F) và methylene blue (4500-S^{2-}-D) mô tả bởi APHA (2017). Nghiệm thức không bổ sung vi khuẩn được sử dụng làm đối chứng. Tất cả các thí nghiệm được bố trí với ba lần lặp lại. Hiệu suất loại bỏ NH_4^+ và S^{2-} được tính theo công thức sau:

$$\text{Hiệu suất loại bỏ (\%)} = (C_i - C_t)/C_i \times 100$$

Trong đó: C_i là hàm lượng ban đầu của NH_4^+ hoặc S^{2-} (mg/L), C_t là hàm lượng NH_4^+ hoặc S^{2-} (mg/L) tại thời điểm kết thúc thí nghiệm sau khi cấy chủng PNSB.

2.5. Các đặc điểm hình thái, sinh lý và sinh hóa của chủng chọn lọc

Hai chủng vi khuẩn tiềm năng nhất được kiểm tra các đặc điểm hình thái, sinh lý và sinh hóa dựa theo cẩm nang Benson (Brown & Smith, 2017). Hình thái khuẩn lạc được ghi nhận dựa trên màu sắc, hình dạng, rìa, độ mô nổi và kích thước. Các đặc điểm sinh lý, sinh hóa bao gồm nhuộm Gram, khả năng hình thành bào tử, khả năng di động, phản ứng catalase và oxidase. Kết quả được đối chiếu với giống vi khuẩn *Rhodopseudomonas* và *Rhodobacter* mô tả bởi hệ thống phân loại của Bergey (Imhoff et al., 2015). Khả năng sinh trưởng của các chủng được đánh giá trên môi trường GM được điều chỉnh ở các mức pH (4, 5, 6, 7, 8 và 9) và nồng độ NaCl khác nhau (0, 1, 2, 3 và 4%). Đồng thời, khả năng sinh trưởng dưới các điều kiện nuôi cấy như sáng - hiếu khí, sáng - yếm khí, tối - hiếu khí và tối - yếm khí được thực hiện theo phương pháp mô tả bởi Prasertsan et al. (1993). Hoạt tính tan huyết (haemolytic activity) được kiểm tra trên đĩa thạch môi trường Blood Agar (Nam Khoa) dưới điều kiện sáng-yếm khí khoảng 5 ngày. Hoạt tính tan huyết được quan sát trên các đĩa môi trường và đánh giá dựa theo kiểu phản ứng tan huyết được mô tả bởi Luis-Villaseñor et al. (2011) gồm: kiểu α (tan huyết không hoàn toàn, tạo vòng xanh lục xung quanh khuẩn lạc), kiểu β (tan huyết hoàn toàn với vòng sáng xung quanh khuẩn lạc) và kiểu γ (không tan huyết, không có sự thay đổi trên môi trường).

2.6. Định danh vi khuẩn

Hai chủng tiềm năng được gửi đến Công ty TNHH Dịch Vụ Và Thương Mại Nam Khoa (Thành phố Hồ Chí Minh) để tiến hành ly trích DNA và giải

trình tự gen 16S rRNA bằng phương pháp Sanger với cặp mồi 1492R (5'-TACGGTTACCTTGTTACGACT-3') và 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTC-3') (Lane, 1991). Chất lượng sản phẩm PCR được kiểm tra bằng phương pháp điện di trên gel agarose 2%. Các trình tự nucleotide sau đó được so sánh với cơ sở dữ liệu trên ngân hàng gen của NCBI bằng công cụ BLASTn nhằm xác định chính xác loài vi khuẩn. Bên cạnh đó, các đoạn trình tự được sắp xếp bằng công cụ ClustalW để xây dựng cây phát sinh loài theo phương pháp Maximum Likelihood (Felsenstein, 1981) trên phần mềm Mega v12.0 (Kumar et al., 2024). Độ tin cậy của các mối quan hệ phả hệ được đánh giá bằng phép phân tích bootstrap với 1.000 lần lặp.

2.7. Ảnh hưởng của nguồn cacbon và pH đến tốc độ sinh trưởng của hai chủng chọn lọc

2.7.1. Ảnh hưởng của pH

Để đánh giá ảnh hưởng của pH đến sự sinh trưởng của các chủng phân lập, mỗi chủng được nuôi cấy trong ống nghiệm thủy tinh chứa 20 mL môi trường GM dưới điều kiện sáng-yếm khí trong 48 giờ nhằm đạt pha sinh trưởng lũy thừa (log phase). Sau đó, dịch nuôi cấy được cấy truyền với tỷ lệ 10% (v/v) vào môi trường GM được điều chỉnh giá trị pH ban đầu khác nhau (5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5; 8,0 và 8,5). Các mẫu được ủ dưới điều kiện sáng-yếm khí trong 48 giờ. Sự sinh trưởng của vi khuẩn được đánh giá thông qua giá trị OD_{660} và sinh khối khô (g/L) theo phương pháp của Sawada (1977). Môi trường GM không cấy vi khuẩn được sử dụng làm đối chứng và mỗi nghiệm thức được bố trí với ba lần lặp lại.

2.7.2. Ảnh hưởng của nguồn cacbon

Khả năng sử dụng các nguồn cacbon của các chủng tuyển chọn được đánh giá bằng năm nguồn cacbon khác nhau, bao gồm: sodium malate, sodium acetate, D-glucose, sucrose và mật rỉ đường; trong đó, mỗi nguồn cacbon được sử dụng như nguồn cacbon duy nhất trong môi trường nuôi cấy. Mỗi chủng được cấy vào ống nghiệm chứa 20 mL môi trường GM cải tiến (*m*-GM) bổ sung nguồn cacbon khác nhau (Bảng 1). Trong thành phần của môi trường, sodium L-glutamate và yeast extract được sử dụng làm nguồn nitơ. Các nguồn cacbon được khử trùng riêng và bổ sung vào môi trường *m*-GM với nồng độ ban đầu là 2,7 g/L. Dịch nuôi cấy vi khuẩn khi đạt pha sinh trưởng lũy thừa được cấy truyền vào các môi trường tương ứng với tỷ lệ 10% (v/v), sau đó ủ dưới điều kiện sáng-yếm khí trong 48 giờ. Khả năng sinh trưởng của các chủng trên từng nguồn cacbon được đánh giá thông qua giá trị OD_{660} và sinh khối khô (g/L) theo phương pháp của Sawada (1977). Môi trường *m*-GA không cấy vi khuẩn được sử dụng làm đối chứng và mỗi nghiệm thức được bố trí với ba lần lặp lại.

Bảng 1. Thành phần dinh dưỡng của môi trường GM cải tiến bổ sung các nguồn cacbon khác nhau

Thành phần (g/L)	*m*-GM	GM	*m*-GM + nguồn cacbon
Sodium L-glutamate	3,8	3,8	3,8
KH_2PO_4	0,5	0,5	0,5
K_2HPO_4	0,5	0,5	0,5
$(NH_4)_2HPO_4$	0,8	0,8	0,8
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,2	0,2	0,2
Yeast extract	2	2	2
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0,053	0,053	0,053
Ferric citrate	0,025	0,025	0,025
$MnSO_4 \cdot 5H_2O$	0,012	0,012	0,012
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0,95	0,95	0,95
Acid nicotinic	1×10^{-3}	1×10^{-3}	1×10^{-3}
Thiamine hydrochloride	1×10^{-3}	1×10^{-3}	1×10^{-3}
Biotin	0,01	0,01	0,01
D, L- malic acid	-	2,7	-
Nguồn cacbon (Sodium malate, sodium acetate, D-glucose, sucrose và mật rỉ đường)	-	-	2,7
Nước cất	1000	1000	1000
Điều chỉnh pH	6,8	6,8	6,8

2.8. Xử lý số liệu

Số liệu được tính toán và trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (Mean ± SD) bằng phần mềm Microsoft Excel 2016. Dữ liệu về hiệu suất xử lý (%) được chuyển đổi sang dạng arcsin trước khi phân tích thống kê nhằm đảm bảo phân phối chuẩn và tính đồng nhất của phương sai (Gomez & Gomez, 1984). Sự khác biệt về đặc tính giữa các chủng được đánh giá bằng phân tích One-way ANOVA, kết hợp phép kiểm định Tukey HSD ở mức ý nghĩa $p < 0,05$ bằng phần mềm R (phiên bản 4.6.1; R Core Team, 2026). Bên cạnh đó, kỹ thuật TOPSIS (Technique for Order Preference by Similarity to Ideal Solution), thuộc nhóm phương pháp ra quyết định đa tiêu chí (MADM), được sử dụng để xếp hạng các chủng phân lập dựa trên hiệu suất loại bỏ NH_4^+ và S^{2-}. Giá trị TOPSIS được xác định từ khoảng cách tương đối đến nghiệm lý tưởng dương (PIS) và nghiệm lý tưởng âm (NIS), trong đó chủng có giá trị TOPSIS cao nhất được xem là chủng có tiềm năng tốt nhất (Zavadskas et al., 2016).

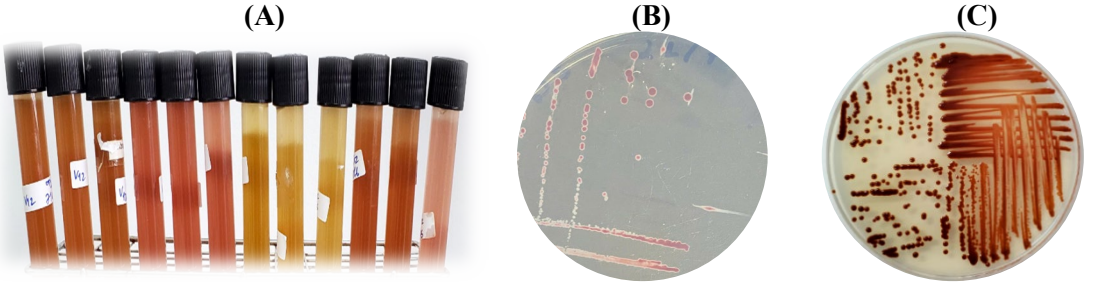
3. KẾT QUẢ

3.1. Phân lập và đặc điểm khuẩn lạc của các chủng PNSB

Tổng cộng 27 chủng vi khuẩn PNSB được phân lập từ 32 mẫu bùn đáy ao nuôi cá tra thu tại ba tỉnh Vĩnh Long (14 chủng), Đồng Tháp (6 chủng) và An Giang (7 chủng). Khi nuôi cấy dưới điều kiện sáng - yếm khí, các chủng phân lập có khuẩn lạc dạng hình tròn, rìa nguyên và mô nổi, với đường kính khuẩn lạc dao động từ 0,7 đến 1,8 mm. Dịch nuôi cấy và khuẩn lạc của các chủng trên môi trường thạch GM có màu sắc đa dạng, từ hồng, đỏ đến nâu (Bảng 2 và Hình 1).

Bảng 2. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc của các chủng phân lập

Đặc điểm		Tỉ lệ (%)
Hình dạng	Tròn đều	100
Màu sắc	Hồng	14,3
	Đỏ	61,9
	Nâu	23,8
Rìa	Nguyên	100
Độ nổi	Mô	100
Đường kính (mm)	0,7-1,8 mm	100



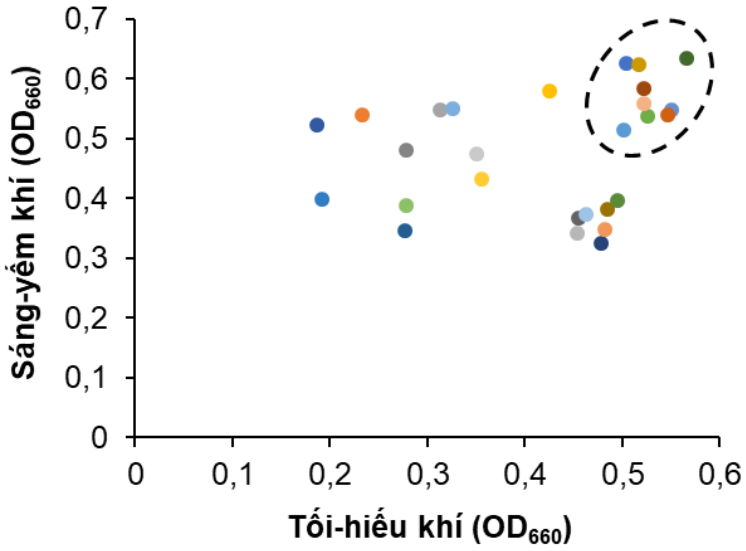
Hình 1. Màu sắc của dịch nuôi cấy (A) và hình thái khuẩn lạc (B, C) của các chủng PNSB phân lập trên môi trường GM

3.2. Sàng lọc sơ bộ các chủng PNSB dựa trên khả năng sinh trưởng trong điều kiện sáng-yếm khí và tối-hiếu khí

Kết quả ghi nhận cả 27 chủng phân lập đều có khả năng sinh trưởng trong cả điều kiện nuôi cấy sáng-yếm khí và tối-hiếu khí (Hình 2). Tuy nhiên, chỉ có 9/27 chủng (AG-G5, AG-G12, DT-A1, DT-A10, VL-L3, VL-L4, VL-T1, VL-V8 và VL-V13) đạt giá trị OD_{660} trung bình lớn hơn 0,5 ở cả hai điều kiện nuôi cấy. Theo tiêu chí sàng lọc đã đề cập trước đó, các chủng này được lựa chọn để tiếp tục đánh giá.

3.3. Khả năng loại bỏ NH_4^+ và S^{2-} của các chủng chọn lọc

Kết quả cho thấy hiệu suất loại bỏ NH_4^+ và S^{2-} của các chủng chọn lọc khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) sau 5 ngày thí nghiệm. Trong đó, hai chủng DT-A10 và AG-G5 đạt hiệu suất loại bỏ NH_4^+ trên 95% và S^{2-} trên 60%, cao hơn so với các chủng còn lại (Bảng 3). Kết quả phân tích TOPSIS cũng cho thấy hai chủng DT-A10 và AG-G5 có giá trị TOPSIS cao nhất và được xếp ở hai vị trí dẫn đầu trong số các chủng được khảo sát. Dựa trên các kết quả này, hai chủng DT-A10 và AG-G5 được lựa chọn để đánh giá các đặc điểm và định danh loài.



Hình 2. Tăng trưởng (OD_{660}) của các chủng PNSB phân lập dưới điều kiện sáng-yếm khí và tối-hiếu khí

Bảng 3. Hiệu suất loại bỏ NH_4^+ và S^{2-} và kết quả xếp hạng TOPSIS của các chủng vi khuẩn được chọn lọc

Chủng	Loại bỏ NH_4^+ (%)	Loại bỏ S^{2-} (%)	TOPSIS score	Xếp hạng
DT-A10	95,9±0,8^{a}	65,9±2,2^{a}	0,753	1
AG-G5	97,2±1,9^{a}	62,8±5,9^{ab}	0,585	2
AG-G12	91,3±3,5^{ab}	39,5±5,4^{b}	0,570	3
VL-L3	89,4±3,3^{ab}	59,3±6,6^{ab}	0,509	4
VL-L4	69,0±6,3^{cd}	54,0±11,9^{ab}	0,424	5
VL-V13	66,8±6,1^{cd}	57,3±2,8^{ab}	0,413	6
VL-V8	81,2±7,0^{bc}	51,4±10,7^{ab}	0,391	7
VL-T1	63,8±10,6^{d}	58,6±7,8^{ab}	0,376	8
DT-A1	70,6±4,3^{cd}	41,3±12,3^{b}	0,225	9

Ghi chú: Các ký tự (a, b, c, d) giống nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) giữa các chủng.

3.4. Đặc điểm hình thái, sinh lý, sinh hóa và định danh các chủng vi khuẩn tuyển chọn

Kết quả cho thấy hai chủng DT-A10 và AG-G5 có tế bào hình que, Gram âm, không sinh bào tử, có khả năng di động và cho phản ứng dương tính với các phép thử catalase và oxidase (Bảng 4). Cả hai chủng đều sinh trưởng tốt trong khoảng pH từ 6,0 đến 8,0 dưới cả điều kiện nuôi cấy sáng-yếm khí và tối-hiếu khí, tuy nhiên không có khả năng sinh trưởng trong môi trường bổ sung NaCl. Ngoài ra, cả hai chủng không tạo vòng phân giải trên môi trường thạch máu, cho thấy không biểu hiện hoạt tính tan huyết trong điều kiện thí nghiệm.

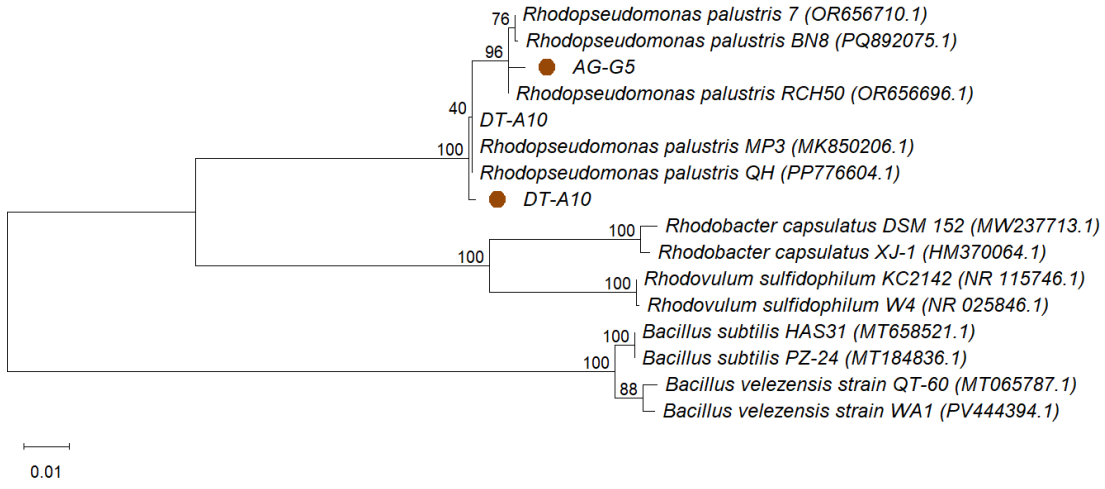
Bảng 4. Các đặc điểm nhận dạng của hai chủng chọn lọc

Đặc điểm	Chủng DT-A10	Chủng AG-G5
A. Khuẩn lạc		
Hình dạng	Tròn	Tròn
Màu sắc	Đỏ	Đỏ
Rìa	Đều	Đều
Độ nổi	Mô	Mô
Đường kính (mm)	0,9	1,0
B. Sinh hóa và sinh lý		

Đặc điểm		Chủng DT-A10	Chủng AG-G5
Hình dạng tế bào		Que	Que
Gram		-	-
Catalase		+	+
Oxidase		+	+
Tính di động		+	+
Bào tử		-	-
Sinh trưởng ở pH	4,0	-	-
	5,0	-	-
	6,0	+	+
	7,0	+	+
	8,0	+	+
	9,0	-	-
Sinh trưởng ở nồng độ NaCl	0%	+	+
	1%	-	-
	2%	-	-
	3%	-	-
	4%	-	-
Sinh trưởng ở điều kiện	Sáng - yếm khí	+	+
	Sáng - hiếu khí	-	-
	Tối - yếm khí	-	-
	Tối - hiếu khí	+	+
Hoạt tính tan huyết		-	-
Mức tương đồng của chủng		*Rhodopseudomonas palustris* (99,9%)	*Rhodopseudomonas palustris* (99,8%)

Ghi chú: (+) biểu thị phản ứng dương tính; (-) biểu thị phản ứng âm tính.

Kết quả cho thấy đoạn trình tự gen 16S rRNA của chủng AG-G5 và DT-A10 tương đồng lần lượt 99,8% và 99,9% với loài *Rhodopseudomonas palustris* (1.279 bp và 1.278 bp) trên ngân hàng gen NCBI. Bên cạnh đó, cả hai chủng nằm cùng nhánh với các loài *Rhodopseudomonas palustris* khi phân tích cây phát sinh loài (Hình 3). Kết hợp với các đặc điểm sinh lý, sinh hóa và hình thái, chủng AG-G5 và DT-A10 trong nghiên cứu được nhận diện thuộc loài *Rhodopseudomonas palustris*.

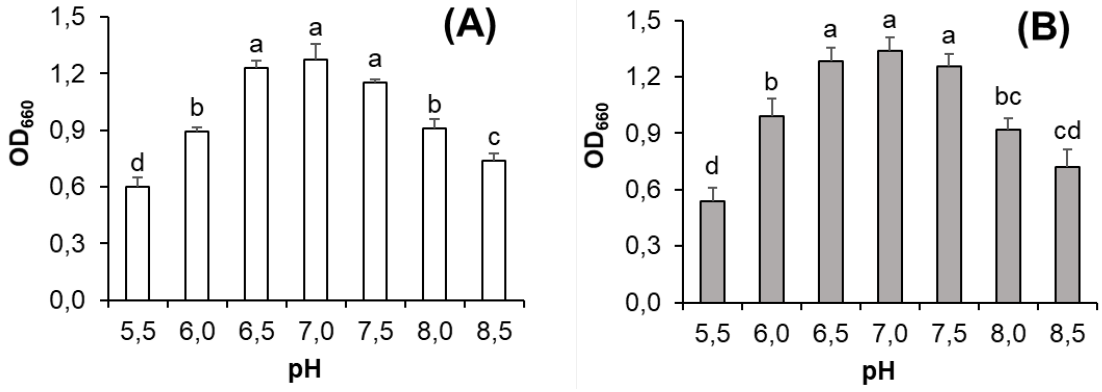


Hình 3. Cây phát sinh loài từ trình tự gen 16S rRNA của chủng phân lập với các loài vi khuẩn *Rhodopseudomonas* khác

3.5. Ảnh hưởng của pH và nguồn cacbon đến khả năng sinh trưởng của chủng chọn lọc

3.5.1. Ảnh hưởng của pH

Kết quả cho thấy pH ban đầu của môi trường ảnh hưởng đáng kể đến khả năng sinh trưởng của cả hai chủng, thể hiện qua sự thay đổi của giá trị OD_{660} ($p < 0,05$). Cụ thể, giá trị OD_{660} tăng dần từ pH 5,5 đến 6,5, duy trì ở mức cao trong khoảng pH 6,5 - 7,5 và giảm khi pH tăng lên 8,0 - 8,5 (Hình 4). Trong khoảng pH tối ưu (6,5 - 7,5), giá trị OD_{660} dao động từ 1,153 đến 1,339 và khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các mức pH ($p > 0,05$).



Hình 4. Ảnh hưởng của pH ban đầu đến khả năng sinh trưởng (OD_{660}) của hai chủng PNSB tuyển chọn AG-G5 (A) và DT-A10 (B)

Ghi chú: Các giá trị được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (Mean ± SD, n = 3). Các ký tự (a, b, c, d) giống nhau biểu thị sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) giữa các mức pH.

Bảng 5. Sinh khối khô (g/L) của hai chủng AG-G5 và DT-A10 ở các mức pH khác nhau

pH	Chủng AG-G5	Chủng DT-A10
5,5	0,102±0,032^{d}	0,084±0,029^{c}
6,0	0,161±0,026^{bcd}	0,162±0,019^{b}
6,5	0,235±0,032^{ab}	0,236±0,034^{a}
7,0	0,274±0,049^{a}	0,277±0,037^{a}
7,5	0,210±0,018^{abc}	0,239±0,027^{a}
8,0	0,158±0,028^{bcd}	0,149±0,014^{bc}
8,5	0,130±0,042^{cd}	0,122±0,007^{bc}

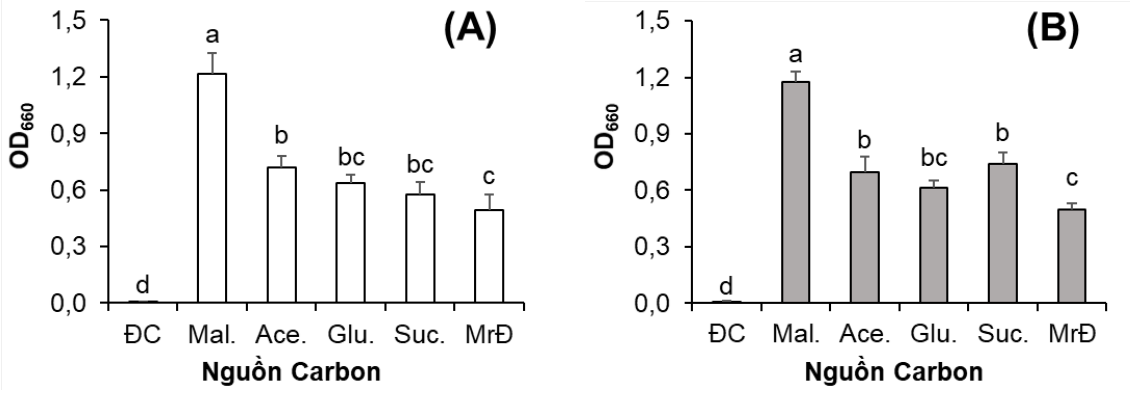
Ghi chú: Các ký tự (a, b, c, d) trong cùng một cột giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$).

Sự biến động của sinh khối khô tương đồng với xu hướng của giá trị OD_{660} (Bảng 5). Trong khoảng pH từ 6,5 đến 7,5, kết quả đạt giá trị cao nhất ở cả hai chủng phân lập, với dao động từ 0,210 đến 0,277 g/L và khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các mức pH này ($p > 0,05$). Ngược lại, khi pH thấp hơn 6,5 hoặc cao hơn 7,5, sinh khối khô của cả hai chủng giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với khoảng pH tối ưu (6,5 - 7,5).

3.5.2. Ảnh hưởng của nguồn cacbon

Nguồn cacbon ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến khả năng sinh trưởng của cả hai chủng AG-G5 và DT-A10 dưới điều kiện sáng-yếm khí ($p < 0,05$). Trong số các nguồn cacbon được khảo sát, sodium malate ghi nhận giá trị OD_{660} cao nhất, đạt trung bình lần lượt 1,216±0,108 ở chủng AG-G5 và 1,175±0,053 ở chủng DT-A10 (Hình 5). Các nguồn cacbon gồm sodium acetate, D-glucose và sucrose cũng hỗ trợ tốt sự sinh trưởng của hai chủng, với giá trị OD_{660} dao động từ 0,575 đến 0,741. Ngược lại, mật rỉ đường ghi nhận giá trị thấp nhất ($OD_{660} < 0,5$) ở cả hai chủng.

Đồng thời, sinh khối khô của hai chủng AG-G5 và DT-A10 khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) giữa các nguồn cacbon được khảo sát (Bảng 6). Theo đó, sodium malate ghi nhận giá trị sinh khối khô cao nhất ở cả hai chủng. Ở chủng AG-G5, sodium acetate, D-glucose, sucrose và mật rỉ đường không khác biệt có ý nghĩa thống kê với nhau ($p > 0,05$), nhưng đều thấp hơn có ý nghĩa so với sodium malate ($p < 0,05$). Trong khi đó, ở chủng DT-A10, sodium acetate và sodium malate là nguồn cacbon hỗ trợ vi khuẩn tích lũy sinh khối cao nhất, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với mật rỉ đường, nhưng khác biệt không có ý nghĩa so với D-glucose và sucrose ($p > 0,05$).



Hình 5. Ảnh hưởng của nguồn cacbon đến khả năng sinh trưởng (OD_{660}) của hai chủng PNSB tuyển chọn AG-G5 (A) và DT-A10 (B)

Ghi chú: ĐC: môi trường m-GM không bổ sung cacbon, Mal.: Sodium malate, Ace.: Sodium acetate, Glu.: D-glucose, Suc.: Sucrose, MrĐ: mật rỉ đường. Các giá trị trình bày là trung bình ± độ lệch chuẩn (Mean ± SD, n = 3). Các ký tự (a, b, c, d) giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

Bảng 6. Sinh khối khô (g/L) của hai chủng AG-G5 và DT-A10 với các nguồn cacbon khác nhau

Nguồn Cacbon	Chủng AG-G5	Chủng DT-A10
ĐC	0,006±0,002^{c}	0,003±0,001^{c}
Sodium malate	0,247±0,039^{a}	0,219±0,027^{a}
Sodium acetate	0,165±0,025^{b}	0,207±0,017^{a}
D-Glucose	0,154±0,027^{b}	0,175±0,032^{ab}
Sucrose	0,137±0,012^{b}	0,183±0,013^{ab}
Mật rỉ đường	0,123±0,012^{b}	0,122±0,015^{b}

Ghi chú: Các ký tự (a, b, c, d) trong cùng một cột giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

4. THẢO LUẬN

Quá trình phân lập từ bùn đáy ao nuôi cá tra thâm canh tại ba tỉnh ĐBSCL đã thu được 27 chủng vi khuẩn PNSB, cho thấy nhóm vi khuẩn này hiện diện phổ biến trong môi trường đáy ao giàu chất hữu cơ. Các chủng phân lập có màu sắc khuẩn lạc và dịch nuôi cấy đa dạng từ hồng, đỏ đến nâu, phù hợp với sự khác biệt về sắc tố quang hợp đặc trưng ở PNSB. Dựa trên các đặc điểm hình thái và sinh hóa, các chủng được nhận dạng thuộc hai giống *Rhodopseudomonas* và *Rhodobacter*, phù hợp với các đặc điểm mô tả trong hệ thống phân loại của Bergey (Imhoff et al., 2015). Mặc dù tất cả các chủng đều có khả năng sinh trưởng trong cả điều kiện sáng - yếm khí và tối - hiếu khí nhưng chỉ có 9/27 chủng duy trì khả năng sinh trưởng vượt trội (OD660 > 0,5) ở cả hai điều kiện. Đặc điểm này phản ánh tính linh hoạt về chuyển hóa của PNSB, cho phép nhóm vi sinh vật chuyển đổi giữa quang dị dưỡng và hóa dị dưỡng tùy theo điều kiện ánh sáng và oxy. Đây là một ưu thế quan trọng khi ứng dụng trong ao nuôi cá tra, nơi cường độ ánh sáng và hàm lượng oxy hòa tan thường biến động theo độ sâu của cột nước và chu kỳ ngày-đêm (Xiao et al., 2020; Dhar et al., 2023). Khả năng thích nghi với nhiều điều kiện môi trường cũng góp phần duy trì hoạt động xử lý các hợp chất hữu cơ trong điều kiện nuôi thực tế.

Hiệu suất loại bỏ NH_4^+ của các chủng phân lập dao động từ 63,8 đến 97,2%, trong đó hai chủng AG-G5 và DT-A10 đạt hiệu suất cao nhất. Khả năng này chủ yếu liên quan đến quá trình đồng hóa NH_4^+ làm nguồn nitơ để tổng hợp axit amin và sinh khối tế bào (Madigan & Jung, 2009). Hiệu suất xử lý của hai chủng phân lập trong nghiên cứu hiện tại khá tương đồng hoặc cao hơn một số chủng *Rhodopseudomonas palustris* đã được công bố trước đây. Kết quả một nghiên cứu của Wang et al. (2021) ghi nhận chủng *R. palustris* P-3 có khả năng loại bỏ hơn 89,68% NH_4^+ và 94,98% NO_2^- trong môi trường. Kết quả một nghiên cứu khác của Cho and Kim (2022) cho thấy chủng *Rhodobacter azotoformans* EBN-7 loại bỏ trên 60,7% tổng đạm amon (TAN) trong nước nuôi tôm. Những kết quả này cho thấy các chủng PNSB phân lập trong nghiên cứu có tiềm năng ứng dụng trong kiểm soát các hợp chất nitơ vô cơ trong hệ thống nuôi thủy sản. Bên cạnh khả năng xử lý NH_4^+, hai chủng AG-G5 và DT-A10 còn loại bỏ S^{2-} với hiệu suất đạt 62,8 - 65,9%. Mặc dù hiệu suất thấp hơn so với một số loài vi khuẩn quang hợp thuộc giống *Allochromatium* sp. và *Marichromatium* sp., là nhóm có với tỉ lệ loại bỏ hơn 94,4% (Phước và ctv., 2021) nhưng kết quả này phù hợp với đặc điểm sinh lý của PNSB, vốn có khả

năng oxy hóa S^{2-} ở nồng độ thấp đến trung bình thường gặp trong ao nuôi thủy sản (Antony & Philip, 2006; Imhoff, 2009). Hiệu suất xử lý S^{2-} của hai chủng cũng cao hơn so với bốn chủng PNSB (BH3, BH2, KS2 và BA1) được phân lập từ ao nuôi tôm ở Kiên Giang, với hiệu suất chỉ đạt 30,8-45,47% (Quyền và ctv., 2022). Khả năng xử lý đồng thời NH_4^+ và S^{2-} cho thấy tiềm năng ứng dụng đáng chú ý của các chủng PNSB trong cải thiện chất lượng nước ao nuôi cá tra thâm canh. Đây là những hợp chất tích tụ trong môi trường giàu chất hữu cơ và điều kiện thiếu oxy, từ đó gây gây bất lợi khi điều kiện pH quá thấp hay quá cao do sự hình thành NH_3 và H_2S gây độc cho cá nuôi (Boyd, 2017). Trong đánh giá sàng lọc, phương pháp ra quyết định đa tiêu chí TOPSIS được áp dụng để tuyển chọn chủng tiềm năng dựa trên thứ hạng được tính toán thông qua đánh giá đồng thời các chỉ tiêu chức năng, bao gồm khả năng sinh trưởng, và hiệu suất loại bỏ NH_4^+ và S^{2-}. Cách tiếp cận này giúp nâng cao tính khách quan và độ tin cậy so với việc đánh giá dựa trên một chỉ tiêu riêng lẻ. Theo đó, AG-G5 và DT-A10 được xác định là hai chủng triển vọng nhất và được định danh là loài *Rhodopseudomonas palustris* thông qua phân tích trình tự gen 16S rRNA. Cả hai chủng đều không biểu hiện hoạt tính tan huyết (kiểu γ), đáp ứng tiêu chí sàng lọc ban đầu về đặc tính an toàn trước khi xem xét tiềm năng ứng dụng (Calcagnile et al., 2024). Đây cũng là loài vi sinh vật được phép sử dụng trong các sản phẩm xử lý môi trường ao nuôi thủy sản ở Việt Nam (Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2024). Do được phân lập trực tiếp từ bùn đáy ao nuôi cá tra nên hai chủng này được kỳ vọng có khả năng thích nghi tốt với điều kiện môi trường địa phương, từ đó nâng cao hiệu quả xử lý nước khi ứng dụng trong thực tế nuôi cá tra.

Để xác định điều kiện thích hợp cho sinh trưởng và làm cơ sở cho việc ứng dụng hai chủng chọn lọc, ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường đến sinh trưởng của AG-G5 và DT-A10 được đánh giá. Kết quả cho thấy khoảng pH gần trung tính (6,5 - 7,5) là điều kiện thích hợp cho sự sinh trưởng của hai chủng AG-G5 và DT-A10, với giá trị cao nhất ghi nhận tại pH 7,0. Điều này phù hợp với đặc điểm sinh lý của PNSB khi các enzyme tham gia quang dị dưỡng và đồng hóa nitơ hoạt động hiệu quả trong khoảng pH trung tính (Madigan & Jung, 2009; Imhoff et al., 2015). Kết quả này cũng tương đồng với các nghiên cứu trước đây, trong đó chủng vi khuẩn tía quang hợp *Rhodovulum sulfidophilum* HPB.6 có khả năng sinh trưởng trong khoảng pH 5,0 - 8,0 và đạt tối ưu ở pH 6,5 (Hoang et al., 2019), trong khi chủng *Rhodopseudomonas palustris* Smobiisys501 sinh trưởng tối ưu ở pH 7,0 (Huang et al., 2018). Trong môi trường ao nuôi, pH có thể biến động theo chu kỳ ngày - đêm, với khoảng 6,5 - 9,0 được xem là phù hợp cho nuôi thủy sản (Boyd, 2017). Khoảng pH thích hợp cho sinh trưởng của AG-G5 và DT-A10 (6,5 - 7,5) nằm trong ngưỡng pH phù hợp cho nuôi thủy sản, cho thấy điều kiện pH thuận lợi cho sinh trưởng của hai chủng bản địa có thể hiện diện trong môi trường ao nuôi. Đối với nguồn cacbon, sodium malate là cơ chất thích hợp nhất cho sự sinh trưởng và tích lũy sinh khối của cả hai chủng. Điều này có thể được giải thích do malate là chất trung gian của chu trình acid tricarboxylic (TCA), có thể được tế bào sử dụng trực tiếp làm nguồn cacbon, năng lượng và chất cho điện tử, từ đó thúc đẩy quá trình tạo sinh khối (Kars & Gündüz, 2010). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Saejung and Thammaratana (2016), khi ghi nhận sinh khối của *Rhodopseudomonas* sp. CSH01 trong nước thải tăng đáng kể (gấp 279%) khi bổ sung malate vào môi trường xử lý. Hakobyan et al. (2019) cho rằng khi sử dụng kết hợp nhiều nguồn cacbon có thể thúc đẩy sinh trưởng của vi khuẩn PNSB thuộc loài *Rhodobacter* sp. gấp 1,3 - 1,7 lần so với nguồn cacbon đơn lẻ. Do đó, sodium malate có thể được xem là nguồn cacbon phù hợp cho quá trình nuôi cấy và nhân sinh khối hai chủng *R. palustris* AG-G5 và DT-A10 trong nghiên cứu. Hai chủng AG-G5 và DT-A10 phân lập được đã cho thấy tiềm năng ứng dụng trong xử lý NH_4^+ và S^{2-} trong môi trường. Tuy nhiên, kết quả của nghiên cứu chỉ mới được đánh giá trong điều kiện *in vitro*. Trong các nghiên cứu tiếp theo, việc đánh giá khả năng sống sót, tính ổn định của quần thể vi khuẩn và hiệu quả cải thiện chất lượng nước trong điều kiện bể và ao nuôi thực tế cần được thực hiện. Kết quả của những nghiên cứu này sẽ là cơ sở quan trọng để cung cấp dữ liệu khoa học và định hướng phát triển chế phẩm probiotic ứng dụng trong nuôi cá tra thâm canh.

5. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã phân lập và tuyển chọn được 21 chủng vi khuẩn tía quang hợp từ bùn đáy ao nuôi cá tra. Trong số đó, hai chủng AG-G5 và DT-A10 được xác định là các chủng triển vọng thông qua phương pháp xếp hạng đa tiêu chí TOPSIS và có mức độ tương đồng cao với loài *Rhodopseudomonas palustris*, sinh trưởng tốt dưới cả điều kiện sáng-yếm khí và tối-hiếu khí, đồng thời xử lý hiệu quả NH_4^+ và S^{2-}. Khoảng pH từ 6,5 đến 7,5 và sodium malate được xác định là phù hợp nhất cho sự sinh trưởng và tích lũy sinh khối của cả hai chủng ở điều kiện thí nghiệm. Các kết quả thu được cung cấp cơ sở khoa học cho việc phát triển chế

phẩm probiotic phục vụ cải thiện chất lượng nước trong ao nuôi cá tra.

LỜI CẢM TẠ

Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn em Nguyễn Ngọc Trâm đã hỗ trợ trong quá trình thí nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Antony, S. P., & Philip, R. (2006). Bioremediation in shrimp culture systems. *NAGA, WorldFish Center Quarterly*, *29*, 62-66.

APHA (2017). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (23th edition). American Public Health Association 800 I Street, NW, Washington, DC.

Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. (2024). *Ban hành bảng mã số HS đối với danh mục hàng hóa thuộc thẩm quyền quản lý nhà nước của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn và danh mục hàng hóa xuất, nhập khẩu phải kiểm tra chuyên ngành trong lĩnh vực nông nghiệp và phát triển nông thôn* (Số 01/2024/TT-BNNPTNT). https://datafiles.chinhphu.vn/cpp/files/vbpq/2024/02/01-bnnptnt.pdf.

Boyd, C. E. (2017). General relationship between water quality and aquaculture performance in ponds. In G. Jeney (Ed.), *Fish diseases: Prevention and control strategies* (pp. 147-166). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804564-0.00006-5

Boyd, C. E., D'Abramo, L. R., Glencross, B. D., Huyben, D. C., Juarez, L. M., Lockwood, G. S., McNevin, A. A., Tacon, A. G. J., Teletchea, F., Tomasso, J. R., Tucker, C. S., & Valenti, W. C. (2020). Achieving Sustainable aquaculture: Historical and Current Perspectives and Future Needs and Challenges. *Journal of the World Aquaculture Society*, *51*(3), 578-633. https://doi.org/10.1111/jwas.12714

Brown, A. E., & Smith, H. R. (2017). *Benson's microbiological applications: Laboratory manual in general microbiology* (Concise Version, 14th edition). McGraw-Hill Education, 2 Penn Plaza, New York.

Bunruk, P., Kantachote, D., Sukhoom, A., Bunruk, P., Kantachote, D., & Sukhoom, A. (2017). Isolation and selection of purple non-sulfur bacteria for phosphate removal in rearing water from shrimp cultivation. *Journal of Applied and Physical Sciences*, *3*(2), 73-80. https://doi.org/10.20474/japs-3.2.5

Calcagnile, M., Tredici, S. M., & Alifano, P. (2024). A comprehensive review on probiotics and their use in aquaculture: Biological control, efficacy, and safety through the genomics and wet methods. *Heliyon*, *10*(24), e40892. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e40892

Chau, T. D., Hung, L. T., Berg, H., Lindberg, J. E., & Lundh, T. (2011). Evaluation of potential feed sources, and technical and economic considerations of small-scale commercial striped catfish *Pangasius hypothalamus* pond farming systems in the Mekong Delta of Vietnam. *Aquaculture Research*, *44*, 427-438. https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.03048.x

Cho, K. S., & Kim, J. K. (2022). A simple culture technique of *Rhodobacter azotoformans* EBN-7 for public use: application to NH_4^+-N removal in shrimp aquaculture water. *Fisheries and Aquatic Sciences*, *25*(10), 525-536. https://doi.org/10.47853/FAS.2022.e47

Dhar, K., Venkateswarlu, K., & Megharaj, M. (2023). Anoxygenic phototrophic purple non-sulfur bacteria: tool for bioremediation of hazardous environmental pollutants. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *39*(10), 1-18. https://doi.org/10.1007/s11274-023-03729-7

Felsenstein, J. (1981). Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, *17*(6), 368-376. https://doi.org/10.1007/bf01734359

Gomez, K. A., & Gomez, A. A. (1984). *Statistical Procedures for Agricultural Research* (2nd Edition). John Wiley and Sons, New York, 680p.

Hakobyan, L., Gabrielyan, L., & Trchounian, A. (2019). Biohydrogen by *Rhodobacter sphaeroides* during photo-fermentation: Mixed vs. sole carbon sources enhance bacterial growth and H_2 production. *International Journal of Hydrogen Energy*, *44*(2), 674-679. https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2018.11.082

Hoang, T. Y., Tran, T. T. Q., Chu, H. H., Do, T. T., Dang T. T., & Dinh, T. T. H. (2019). Identification and characterization of a purple nonsulfur bacterium isolated from coastal area of Hai Phong for using in production of unsaturated fatty acid (Omega 6, 7, 9). *Vietnam Journal of Science and Technology*, *57*(6), 665-676. https://doi.org/10.15625/2525-2518/57/6/13711

Huang, X., Ni, J., Yang, C., Feng, M., Li, Z., & Xie, D. (2018). Efficient ammonium removal by bacteria *Rhodopseudomonas* isolated from natural landscape water: China case study.

Water, *10*(8), 1107. https://doi.org/10.3390/w10081107

Imhoff, J. F. (2009). Phototrophic purple bacteria. In *Encyclopedia of Life Sciences (eLS)*. John Wiley & Sons, Ltd. https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0021156

Imhoff, J. F., Hiraishi, A., & Süling, J. (2015). Anoxygenic phototrophic purple bacteria. In M. E. Trujillo, S. Dedysh, P. DeVos, B. Hedlund, P. Kämpfer, F. A. Rainey, & W. B. Whitman (Eds.), *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (1-23). https://doi.org/10.1002/9781118960608.bm00002

Kars, G., & Gündüz, U. (2010). Towards a super H2 producer: Improvements in photofermentative biohydrogen production by genetic manipulations. *International Journal of Hydrogen Energy*, *35*(13), 6646-6656. https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2010.04.037

Kim, J. K., Lee, B. K., Kim, S. H., & Moon, J. H. (1999). Characterization of denitrifying photosynthetic bacteria isolated from photosynthetic sludge. *Aquacultural Engineering*, *19*(3), 179-193. https://doi.org/10.1016/S0144-8609(98)00050-8

Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., Sanderford, M., Sharma, S., & Tamura, K. (2024). MEGA12: Molecular Evolutionary Genetic Analysis version 12 for adaptive and green computing. *Molecular Biology and Evolution*, *41*(12), 1-9. https://doi.org/10.1093/molbev/msae263

Lane, D. J. (1991). 16S/23S rRNA sequencing. In E. Stackebrandt & M. Goodfellow (Eds.), *Nucleic acid techniques in bacterial systematics* (pp. 115-175). John Wiley and Sons, The United Kingdom.

Liên, Đ. T. (2016). *Nghiên cứu ứng dụng vi khuẩn tía quang hợp để xử lý sulfide trong các nguồn nước ô nhiễm* (Luận án tiến sĩ). Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Luis-Villaseñor, I. E., Macías-Rodríguez, M. E., Gómez-Gil, B., Ascencio-Valle, F., & Campa-Córdova, Á. I. (2011). Beneficial effects of four *Bacillus* strains on the larval cultivation of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, *321*(1-2), 136-144. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.08.036

Madigan, M. T., & Jung, D. O. (2020). An Overview of Purple Bacteria: Systematics, Physiology, and Habitats. In C. N. Hunter, F. Daldal, M. C. Thurnauer & J. T. Beatty (Eds.), *The Purple Phototrophic Bacteria. Advances in Photosynthesis and Respiration, vol 28* (pp. 1-15). Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8815-5_1

Miyasaka, H., Koga, A., & Maki, T. (2023). Recent progress in the use of purple non-sulfur bacteria as probiotics in aquaculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *39*(145), 1-15. https://doi.org/10.1007/s11274-023-03592-6

Nakashio, M. (1972) *Wastewater Treatment by Activated Sludge Method* (2nd edn). Kyoto: Kouseishya-Kouseikaku, 188-203.

Pham, T. A., Kroeze, C., Bush, S. R., & Mol, A. P. J. (2010). Water pollution by *Pangasius* production in the Mekong Delta, Vietnam: causes and options for control. *Aquaculture Research*, *42*, 108-128. https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02578.x

Phước, N. N., Quang, N. N., & Anh, N. Đ. Q. (2021). Phân lập vi khuẩn tía quang hợp từ bùn đáy ao nuôi tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931) tại tỉnh Thừa Thiên - Huế. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, *12*, 84 - 90

Prasertsan, P., Choorit, W., & Suwanno, S. (1993). Isolation, identification and growth conditions of photosynthetic bacteria found in seafood processing wastewater. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *9*(5), 590-592. https://doi.org/10.1007/BF00386301

Quyền, T. V., Khang, T. H., & Bé, T. V. (2022). Phân lập, tuyển chọn và định danh vi khuẩn tía không lưu huỳnh, thử nghiệm khả năng xử lý sulfide trong nước ao nuôi tôm tại huyện Kiên Lương, tỉnh Kiên Giang. *Tạp chí Công thương*, *10*, 380-386.

Saejung, C., & Thammaratana, T. (2016). Biomass recovery during municipal wastewater treatment using photosynthetic bacteria and prospect of production of single cell protein for feedstuff. *Environmental Technology*, *37*(23), 3055-3061. https://doi.org/10.1080/09593330.2016.1175512

Sawada, H. (1977). Photosynthetic bacteria in waste treatment : mixed culture studies with *Rhodopseudomonas capsulata*. *Journal of Fermentation Technology*, *55*, 311- 325.

Silva, C. P., Louros, V., Silva, V., Otero, M., & Lima, D. L. D. (2021). Antibiotics in Aquaculture Wastewater: Is It Feasible to Use a Photodegradation-Based Treatment for Their Removal?. *Toxics*, *9*(8), 194. https://doi.org/10.3390/toxics9080194

Somsiri, T., Chinabu, S., Phuong, N. T., & Oanh, D. T. H. (2006). A simple device for sampling pond sediment. *Aquaculture*, *258*, 650-654. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.06.036

VASEP. (2026). *Tổng quan ngành hàng cá tra*. https://vasep.com.vn/san-pham-xuat-khau/ca-tra/tong-quan-nganh-ca-tra

Wang, Y., Zhou, R., Li, J., Zhang, Y., Zhou, T., Chen, W., Peng, Y., Tang, M., Guizhen, M., & Xu, J. (2021). Isolation and identification of vibrio resistant photosynthetic bacteria and degradation of nitrite nitrogen and ammonia nitrogen. *South China Fisheries Science*, *17*(5), 26-33.

Xiao, L., Zhao, Z., Ma, Z., Chen, J., & Song, Z. (2020), Immobilization of *Rhodopseudomonas palustris* P1 on glass pumice to improve the removal of NH_4^+-N and NO_2^--N from aquaculture pond water. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, *67*, 323-329. https://doi.org/10.1002/bab.1863

Zavadskas, E. K., Mardani, A., Turskis, Z., Jusoh, A., & Nor, K. M. (2016). Development of TOPSIS Method to Solve Complicated Decision-Making Problems - An Overview on Developments from 2000 to 2015. *International Journal of Information Technology & Decision Making*, *15*(03), 645-682. https://doi.org/10.1142/S0219622016300019