

DOI:10.22144/ctujos.2024.249

TUYỂN CHỌN CHẤT MANG ĐỂ TỒN TRỮ VI KHUẨN *Comamonas* SP. PAN1.12 CÓ KHẢ NĂNG HẤP THU SODIUM TRIPOLYPHOSPHATE

Nguyễn Văn Qui¹, Lê Thị Tuyết Minh², Võ Phát Tài³, Phạm Anh Tuấn¹, Châu Tú Uyên¹, Nguyễn Mạnh Khương¹, Nguyễn Đắc Khoa⁴ và Nguyễn Thị Phi Oanh^{3*}

¹Học viên cao học ngành Công nghệ Sinh học Khóa 28, Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ

²Sinh viên ngành Sinh học Khóa 45, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

³Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

⁴Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ

*Tác giả liên hệ (Corresponding author): ntpoanh@ctu.edu.vn

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 14/08/2023

Sửa bài (Revised): 18/09/2023

Duyệt đăng (Accepted): 22/09/2023

Title: Selection of suitable carrier for preservation of sodium tripolyphosphate absorbing *Comamonas* sp. PAN1.12

Author(s): Nguyen Van Qui, Le Thi Tuyet Minh, Vo Phat Tai, Pham Anh Tuan, Chau Tu Uyen, Nguyen Manh Khuong, Nguyen Dac Khoa and Nguyen Thi Phi Oanh*

Affiliation(s): Can Tho University

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm tuyển chọn chất mang thích hợp để tồn trữ vi khuẩn hấp thu sodium tripolyphosphate *Comamonas* sp. PAN1.12 phân lập từ hệ thống xử lý nước thải chế biến thủy sản. Mười một chất mang được khảo sát gồm bã mía, bã cà phê, bột talc, cám, rơm, hạt cưa được sử dụng riêng lẻ và phối trộn năm loại chất mang với bột talc theo tỉ lệ 1:1. Bột talc và hỗn hợp hạt cưa với bột talc có bổ sung 1% carboxymethyl cellulose, 1,5% CaCO₃ và chủng 100×10⁶ CFU/g có khả năng duy trì mật số (>10⁶ CFU/g) và hấp thu sodium tripolyphosphate (tương đương 67%) của vi khuẩn *Comamonas* sp. PAN1.12 sau một tháng tồn trữ. Nồng độ chất bổ trợ carboxymethyl cellulose và mật số vi khuẩn chủng vào ban đầu có ảnh hưởng đến mật số vi khuẩn nhưng không ảnh hưởng đến khả năng hấp thu sodium tripolyphosphate của vi khuẩn PAN1.12.

Từ khoá: Chất mang, *Comamonas* sp. PAN1.12, sodium tripolyphosphate, tồn trữ

ABSTRACT

This study aimed to select suitable carrier for store sodium tripolyphosphate absorbing *Comamonas* sp. PAN1.12 isolated from water samples collected at a seafood processing wastewater treatment system. Eleven carriers including bagasse, coffee grounds, talc, bran, straw, and sawdust as well as a mixture of each of the five carriers with talc (1:1) were used for bacterial preservation. Talc and sawdust mixed with talc amended with 1% carboxymethyl cellulose, 1.5% CaCO₃, and 100×10⁶ CFU/g of inoculated bacteria were able to maintain the density (>10⁶ CFU/g) and the sodium tripolyphosphate absorbing capacity (approximately 67%) of *Comamonas* sp. PAN1.12 after one-month storage. The concentration of carboxymethyl cellulose amendment and the density of inoculated bacteria influenced the bacterial density but did not affect the sodium tripolyphosphate absorbing capacity of PAN1.12.

Keywords: Carrier, *Comamonas* sp. PAN1.12, sodium tripolyphosphate, preservation

1. GIỚI THIỆU

Sử dụng chế phẩm vi sinh để xử lý chất ô nhiễm là giải pháp bền vững, thân thiện với môi trường và phù hợp với xu hướng của thế giới. Đặc biệt, việc sử dụng chế phẩm chứa vi khuẩn bản địa vừa hiệu quả, vừa tiết kiệm chi phí do có thể chủ động trong sản xuất chế phẩm. Hơn nữa, nguồn chất mang được tuyển chọn để tạo chế phẩm cũng dựa trên tiêu chí như rẻ tiền hoặc tận dụng các phụ phẩm nông nghiệp sẵn có ở địa phương vừa có hiệu quả kinh tế vừa giảm thiểu ô nhiễm môi trường. Ở đồng bằng sông Cửu Long, các chất mang dùng để tồn trữ vi khuẩn *Pseudomonas* spp. làm phân bón (Điệp, 2008), *Burkholderia cepacia* tg17 đối kháng với vi khuẩn *Rhizoctonia solani* gây bệnh đốm vằn trên lúa (Quyên, 2008), *Bacillus aerophilis* đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây bệnh cháy bìa lá lúa (An và ctv., 2017) cũng đã được nghiên cứu.

Trong chế phẩm vi sinh, thành phần chất mang, độ ẩm và thời gian tồn trữ có vai trò quyết định hiệu quả của chế phẩm (Kremer & Peterson, 1983; Sparrow & Ham, 1983). Nhiều loại chất mang khác nhau đã được nghiên cứu để tồn trữ vi khuẩn như than bùn, vỏ đậu phộng xay, cùi bắp xay, than hoạt tính, khoáng vermiculite hoặc gel polyacrylamide (Sparrow & Ham, 1983). Tiến và ctv. (2019) đã thử nghiệm năm loại chất mang gồm cám, bột talc, than bùn, trấu và mùn cưa để tồn trữ xạ khuẩn. Oanh và ctv. (2022) đã tuyển chọn được bột talc làm chất mang để tồn trữ vi khuẩn *Rhodococcus* sp. XL6.2 có khả năng phân hủy benzene, toluene, xylene (BTX) trong 6 tháng với mật số đạt trên 10^6 CFU/g chế phẩm và vi khuẩn sau tồn trữ vẫn duy trì hoạt tính phân hủy BTX. Trong một số chế phẩm, các hợp chất giàu dinh dưỡng như ri đường hoặc các loại đường khác nhau cũng được bổ sung để duy trì khả năng sống của vi khuẩn (Tu & Randall, 2005; Brar et al., 2006).

Uyên và ctv. (2023) đã phân lập dòng vi khuẩn *Comamonas* sp. PAN1.12 từ mẫu nước thu ở hệ thống xử lý nước thải của công ty chế biến thủy sản có khả năng hấp thu hiệu quả sodium tripolyphosphate (STPP) - chất phụ gia trong chế biến thủy sản giúp duy trì màu sắc tự nhiên, độ dai, giòn và giữ nước cho sản phẩm. Ở nồng độ 50 ppm STPP, vi khuẩn PAN1.12 hấp thu 93,28%. Ở nồng độ 100 và 200 ppm, vi khuẩn hấp thu lần lượt là 57,03% và 54,35% STPP sau 24 giờ nuôi cấy. Chính vì vậy, nghiên cứu này được tiếp tục thực hiện nhằm tuyển chọn chất mang phù hợp để tồn trữ vi khuẩn *Comamonas* sp. PAN1.12 làm cơ sở cho các nghiên

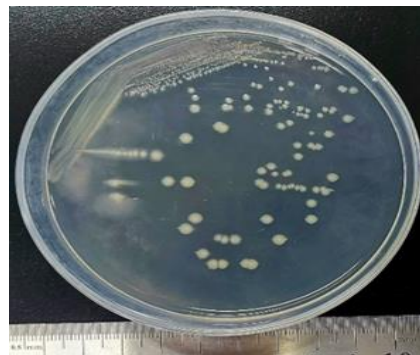
cứu ứng dụng tạo chế phẩm vi sinh để xử lý STPP trong nước thải chế biến thủy sản.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguồn vật liệu

Dòng vi khuẩn *Comamonas* sp. PAN1.12 (Hình 1) có khả năng hấp thu STPP hiệu quả được phân lập từ mẫu nước thu tại hệ thống xử lý nước thải của công ty chế biến thủy sản Út Xi, huyện Trần Đề, tỉnh Sóc Trăng. Vi khuẩn PAN1.12 có khuẩn lạc tròn, bìa nguyên, lồi, màu trắng, đường kính 1 mm. Tế bào có hình que, Gram âm, kích thước $1,5 \times 1 \mu\text{m}$ (Uyên và ctv., 2023).

Nguồn chất mang: Bã mía được thu từ các tiểu thương bán nước mía trên địa bàn Cần Thơ; mật cưa được thu từ trại cưa trên đường Trần Ngọc Quế, Cần Thơ; rom được thu từ giống lúa Tài nguyên của hộ nông dân ở huyện Vĩnh Lợi, Bạc Liêu; bã cà phê được thu tại quán cà phê hẻm 51, Cần Thơ và bột talc thương mại (Trung Quốc).



Hình 1. Vi khuẩn *Comamonas* sp. PAN1.12 khi được nuôi cấy hai ngày trên môi trường TSA

2.2. Khảo sát đường tăng trưởng của vi khuẩn *Comamonas* sp. PAN1.12

Một khuẩn lạc của dòng vi khuẩn PAN1.12 được chủng vào 4 mL môi trường Tryptone soya broth (TSB: 30 g/L), mẫu được lắc tròn 200 vòng/phút ở nhiệt độ phòng thí nghiệm (30 - 32°C) trong 24 giờ. Sau đó, 100 μL dung dịch huyền phù vi khuẩn ($\text{OD}_{600\text{nm}} = 0,7$) được chủng vào 100 mL môi trường TSB và mẫu được lắc tròn 200 vòng/phút ở nhiệt độ phòng thí nghiệm trong 48 giờ. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Mật số vi khuẩn (MSVK) ở thời điểm 0, 12, 18, 24, 30, 36 và 48 giờ nuôi cấy được xác định bằng phương pháp đếm sống nhỏ giọt (Hoben & Somasegaram, 1982) trên môi trường Tryptone soya agar (TSA: 30 g/L Tryptone soya broth và 15 g/L agar). Dung dịch huyền phù vi khuẩn ở từng thời

điểm thu mẫu được pha loãng bằng dung dịch NaCl 0,9% (w/v) theo hệ số pha loãng là 1/10. Các thao tác pha loãng và trộn mẫu bằng vortex được thực hiện trong tủ cấy vô trùng. Ứng với mỗi độ pha loãng, ba giọt huyền phù vi khuẩn (10 μ L/giọt) được nhỏ lên môi trường TSA. Vi khuẩn được ủ ở 32°C. Khi khuẩn lạc phát triển, độ pha loãng có các khuẩn lạc rời rạc trên môi trường nuôi cấy được chọn để đếm số lượng khuẩn lạc. MSVK trong 1 mL mẫu được xác định theo công thức:

$MSVK/mL = A \times B \times 100$, trong đó, A là số lượng khuẩn lạc trung bình trong các giọt đếm sống (10 μ L/giọt) ở độ pha loãng đã chọn, B là hệ số pha loãng, 100 là hệ số chuyển đổi từ 10 μ L sang 1 mL.

2.3. Xác định mối liên hệ giữa MSVK và giá trị mật độ quang của dung dịch huyền phù vi khuẩn PAN1.12

Huyền phù vi khuẩn được chuẩn bị tương tự mục 2.2, thời điểm thu mẫu dựa vào kết quả khảo sát thời điểm nuôi cấy vi khuẩn đạt mật số cao nhất từ kết quả ở mục 2.2.

Sinh khối tế bào được rửa ba lần bằng dung dịch NaCl 0,9% (w/v). Huyền phù vi khuẩn được pha loãng 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 và 1/64 lần, sau đó, tiếp tục pha loãng theo hệ số 1/10 (Tài & Oanh, 2019). Huyền phù vi khuẩn sau khi pha loãng được đo mật độ quang ở bước sóng 600 nm, đồng thời, MSVK ở từng độ pha loãng được xác định bằng phương pháp đếm sống nhỏ giọt trên môi trường TSA như mô tả ở mục 2.2.

2.4. Tuyển chọn chất mang có khả năng duy trì MSVK

Sáu loại chất mang gồm bã mía, hạt gạo, cám, rom, bột talc (An và ctv., 2017) và bã cà phê (Oanh và ctv., 2022) được thử nghiệm để tồn trữ vi khuẩn *Comamonas* sp. PAN1.12 nhằm tuyển chọn chất mang duy trì mật số và khả năng hấp thu sodium tripolyphosphate của vi khuẩn trong thời gian tồn trữ. Sáu loại chất mang được sử dụng đơn lẻ hoặc phối trộn bột talc với 5 loại chất mang còn lại để tồn trữ vi khuẩn. Như vậy, 11 loại chất mang được sử dụng gồm bã mía, bã cà phê, bột talc, cám, hạt gạo, rom, bã mía-bột talc, bã cà phê-bột talc, cám-bột talc, hạt gạo-bột talc và rom-bột talc (Hình 2).



Hình 2. Các loại chất mang được sử dụng để tồn trữ vi khuẩn *Comamonas* sp. PAN1.12

Ghi chú: A: bã mía, B: bã cà phê, C: bột talc, D: cám, E: hạt gạo, F: rom, G: bã mía-bột talc, H: bã cà phê-bột talc, I: cám-bột talc, K: hạt gạo-bột talc, L: rom-bột talc.

Chuẩn bị chất mang: Bã mía, bã cà phê (được rửa nước 3 lần và để ráo), cám, hạt gạo và rom được sấy khô 48 giờ ở 65°C. Sau đó, từng loại chất mang được sàng qua rây (kích thước lỗ 0,5 \times 0,5 mm) để chất mang có kích thước đồng đều. Talc ở dạng bột nên không qua xử lý. Mười một loại chất mang được chuẩn bị gồm 6 chất mang đơn như bã mía, bã cà phê, bột talc, cám, hạt gạo, rom và 5 chất mang hỗn hợp được phối trộn từ 5 chất mang đơn với bột talc theo tỉ lệ 1:1. Chất mang được bổ sung chất bổ trợ theo tỉ lệ chất mang : carboxymethyl cellulose (CMC) : CaCO₃ tương đương khối lượng 100 : 1 : 1,5. Sau khi trộn đều, các thành phần này được cho

vào túi nilon (5 g/túi) và khử trùng nhiệt ướt. Sau đó, các túi chất mang được sấy 65°C qua đêm.

Chuẩn bị huyền phù vi khuẩn: Huyền phù vi khuẩn được chuẩn bị tương tự như mô tả ở mục 2.2. Dung dịch huyền phù vi khuẩn được thu ở thời điểm vi khuẩn đạt mật số tối ưu dựa vào kết quả của thí nghiệm ở mục 2.2. Huyền phù vi khuẩn được hiệu chỉnh mật độ quang để mật số đạt 10⁹ CFU/mL dựa theo kết quả của mục 2.3.

Phối trộn huyền phù vi khuẩn vào chất mang: Chủng 0,5 mL huyền phù vi khuẩn (10⁹ CFU/mL) vào từng túi chất mang 5 g. Mỗi loại chế phẩm sẽ được lấy ngẫu nhiên 3 túi để xác định độ ẩm bằng

cân sấy ẩm (Ohaus MB120, Mỹ), chế phẩm có độ ẩm dưới 20% thì đạt yêu cầu (Bharathi et al., 2004). Các túi chế phẩm còn lại được ép kín, dán nhãn và bảo quản ở nhiệt độ phòng thí nghiệm. Nghiệm thức đối chứng là phối trộn môi trường TSB vào từng loại chất mang nhưng không chủng vi khuẩn. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 3 lần lặp lại. Với kiểu bố trí này, ứng với 11 loại chất mang có 99 túi chế phẩm được chuẩn bị, trong đó, 33 túi dùng để xác định độ ẩm, 33 túi khảo sát MSVK và khả năng hấp thu STPP, 33 túi đối chứng không chủng vi khuẩn. Thời gian để tuyển chọn chất mang có khả năng duy trì MSVK là một tháng tồn trữ.

2.5. Khảo sát mật số và khả năng hấp thu STPP của vi khuẩn trong chất mang qua một tháng tồn trữ

Sau một tháng tồn trữ, 66 túi chế phẩm gồm 33 túi có chủng vi khuẩn và 33 túi đối chứng được sử dụng để khảo sát mật số và hoạt tính hấp thu STPP của vi khuẩn. Mỗi túi chế phẩm được cho vào bình tam giác chứa 45 mL nước cất khử trùng. Hỗn hợp được lắc 200 vòng/phút trong 30 phút và sau đó để yên 30 phút. Phần dung dịch được sử dụng để đếm MSVK bằng phương pháp đếm sống nhỏ giọt (Hoben & Somasegaram, 1982) trên môi trường TSA. Vi khuẩn phát triển trên môi trường TSA được sử dụng để khảo sát khả năng duy trì hoạt tính hấp thu STPP (0,1 g/L tương đương 100 ppm phosphate).

2.6. Ảnh hưởng của liều lượng CMC và MSVK ban đầu đến mật số và hoạt tính của vi khuẩn qua một tháng tồn trữ

Mục tiêu của thí nghiệm là tìm điều kiện tối ưu giúp vi khuẩn duy trì mật số và hoạt tính trong thời gian tồn trữ. Chất mang có khả năng duy trì mật số và hoạt tính của vi khuẩn dựa vào kết quả ở mục 2.5 được tiếp tục khảo sát liều lượng CMC và MSVK chủng vào ban đầu đến mật số và hoạt tính hấp thu STPP của vi khuẩn qua một tháng tồn trữ. Liều lượng CMC được bổ sung vào chất mang là 1% hoặc 2%. Bên cạnh đó, MSVK ban đầu được chủng vào chất mang là 10^8 CFU/g chất mang hoặc 2×10^8 CFU/g chất mang (5 g chất mang/túi). Như vậy, đối với mỗi loại chất mang tuyển chọn, thí nghiệm được bố trí gồm 5 nghiệm thức: (i) 1% CMC - 5×10^8 CFU/túi, (ii) 1% CMC - 10^9 CFU/túi, (iii) 2% CMC - 5×10^8 CFU/túi, (iv) 2% CMC - 10^9 CFU/túi và (v) nghiệm thức đối chứng chỉ bổ sung môi trường TSB, không chủng vi khuẩn vào chất mang. Tất cả các nghiệm thức đều được bổ sung 1,5% CaCO_3 như đã mô tả ở mục 2.4.

2.7. Khảo sát khả năng hấp thu STPP của vi khuẩn

Vi khuẩn được tồn trữ trong chất mang có khả năng duy trì mật số ($\geq 10^6$ CFU/g chế phẩm) và hoạt tính hấp thu STPP (dựa vào kết quả mục 2.6) được tiếp tục khảo sát khả năng sinh trưởng và hấp thu STPP qua thời gian tồn trữ. Thí nghiệm được tiến hành như sau: khuẩn lạc vi khuẩn PAN1.12 sau một tháng tồn trữ (được nuôi cấy trên môi trường TSA) được chủng vào 4 mL môi trường TSB, mẫu được lắc 200 vòng/phút ở nhiệt độ phòng thí nghiệm và nuôi cấy qua đêm. Sau đó, chủng 40 μL huyền phù vi khuẩn ($\text{OD}_{600\text{nm}} = 0,7$, tương đương $33,37 \times 10^8$ CFU/mL) vào 4 mL môi trường khoáng tối thiểu có bổ sung 3,68 g/L sodium acetate và 0,1 g/L STPP (tương đương 100 ppm phosphate). Hai nghiệm thức đối chứng được thực hiện đồng thời gồm (i) không bổ sung STPP và (ii) không chủng vi khuẩn. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Khả năng sinh trưởng và hấp thu STPP của vi khuẩn được xác định ở thời điểm 24 giờ nuôi cấy bằng phương pháp đo mật độ quang ở bước sóng 600 nm và quang phổ.

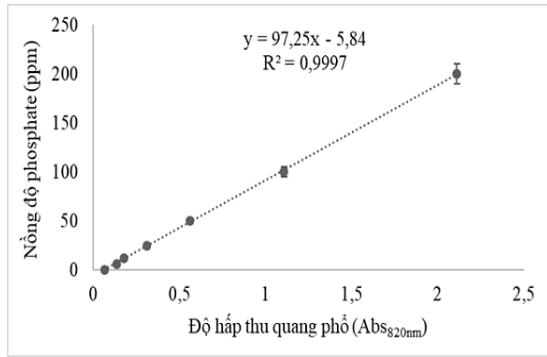
2.8. Định lượng phosphate

Hàm lượng phosphate được xác định bằng phương pháp quang phổ dựa vào sự tạo màu với Molybdate blue theo mô tả của Chaudhry and Nautiyal (2011) có hiệu chỉnh.

Thiết lập đường chuẩn định lượng phosphate: 1,43 g KH_2PO_4 được cho vào 1 L nước, thu được dung dịch PO_4^{3-} nồng độ 1000 ppm. Sau đó, dung dịch gốc được pha loãng thành các dung dịch chuẩn với các nồng độ 200, 100, 50, 25, 12,5 và 6,25 ppm. Dung dịch HCl 2N (100 μL) được cho vào 100 μL từng dung dịch chuẩn PO_4^{3-} , trộn đều và ủ ở 95°C trong 30 phút. Sau đó, hỗn hợp được bổ sung 500 μL dung dịch Molybdate blue và 1 mL nước cất. Mẫu được tiếp tục ủ ở 95°C trong 30 phút. Mẫu tiếp tục được để nguội ở nhiệt độ phòng thí nghiệm và đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 820 nm. Phương trình hồi quy thể hiện sự tương quan giữa nồng độ PO_4^{3-} và độ hấp thụ quang phổ ($\text{Abs}_{820\text{nm}}$) có dạng $y = 97,25x - 5,84$. Trong đó, x là độ hấp thụ quang phổ và y là nồng độ PO_4^{3-} .

Hàm lượng phosphate còn lại trong môi trường nuôi cấy vi khuẩn được định lượng bằng cách thu 1 mL dung dịch huyền phù vi khuẩn được nuôi cấy trong môi trường có bổ sung 3,68 g/L sodium acetate và 100 ppm phosphate. Mẫu được ly tâm 13.000 vòng/phút trong 15 phút. Sau đó, 100 μL dung dịch được hút để định lượng PO_4^{3-} còn lại trong

môi trường bằng phương pháp quang phổ như đã mô tả ở trên.



Hình 3. Đường chuẩn định lượng phosphate

2.9. Xử lý số liệu

Số liệu thô được tính trung bình và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Microsoft Excel 2016. Phần mềm Minitab 18 được sử dụng để so sánh sự khác biệt và phân nhóm số liệu một nhân tố (one-way ANOVA) bằng kiểm định Tukey.

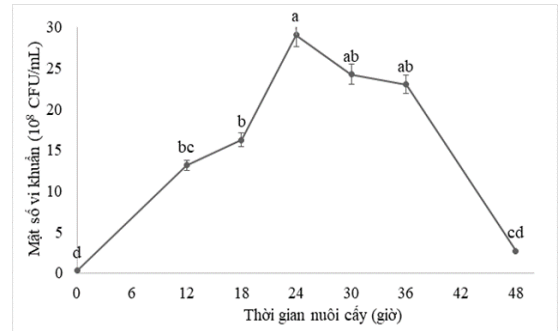
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đường tăng trưởng của vi khuẩn *Comamonas* sp. PAN1.12

Qua 48 giờ nuôi cấy, kết quả cho thấy *Comamonas* sp. PAN1.12 tăng trưởng theo quy luật chung của vi khuẩn, MSVK qua thời gian khảo sát được trình bày ở Hình 4.

Ở thời điểm mới chủng vào môi trường nuôi cấy (0 giờ), MSVK đạt $0,24 \times 10^8$ CFU/mL. Sau giai đoạn thích nghi với môi trường, vi khuẩn gia tăng mật số từ $13,11 \times 10^8$ đến $14,22 \times 10^8$ CFU/mL ở thời điểm 12 đến 18 giờ, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với thời điểm ban đầu. Tại thời điểm 24 giờ nuôi cấy, MSVK tăng cao nhất, đạt 29×10^8 CFU/mL, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với thời điểm 0, 12 và 18 giờ. Sau đó, MSVK giảm từ 30 đến 36 giờ nuôi cấy, đạt lần lượt là $24,22 \times 10^8$ và 23×10^8 CFU/mL. Tuy nhiên, so với thời điểm 24 giờ, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê chứng tỏ từ 24 đến 36 giờ, sự tăng trưởng của vi khuẩn PAN1.12 ở trạng thái cân bằng. Đến 48 giờ, MSVK giảm còn $2,67 \times 10^8$ CFU/mL, khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với thời điểm 0 giờ. Điều này có thể do sau 48 giờ nuôi cấy, chất dinh dưỡng trong môi trường đã giảm, vi khuẩn qua quá trình trao đổi chất có thể tiết ra các hợp chất không có lợi làm cho môi trường sống của vi khuẩn bị thu hẹp từ đó làm giảm MSVK. Như vậy, thời gian thích hợp để thu sinh khối vi khuẩn *Comamonas* sp. PAN1.12 là 24 giờ nuôi cấy trong môi trường TSB (30 g/L). Theo Oanh

và ctv. (2022), dòng vi khuẩn *Rhodococcus* sp. XL6.2 có khả năng phân hủy BTX cũng đạt mật số cao nhất, 200×10^6 CFU/mL, ở thời điểm 24 giờ nuôi cấy trong môi trường TSB (30 g/L). Phong và ctv. (2018) đã khảo sát thời gian nhân mật số tối đa của vi khuẩn cố định đạm *Burkholderia vietnamiensis* KG1, vi khuẩn đạt mật số cao nhất ($3,5 \times 10^{10}$ CFU/mL) ở thời điểm 48 giờ nuôi cấy. Kết quả của nghiên cứu này chứng tỏ thời gian nhân mật số tối đa của mỗi dòng vi khuẩn không giống nhau.



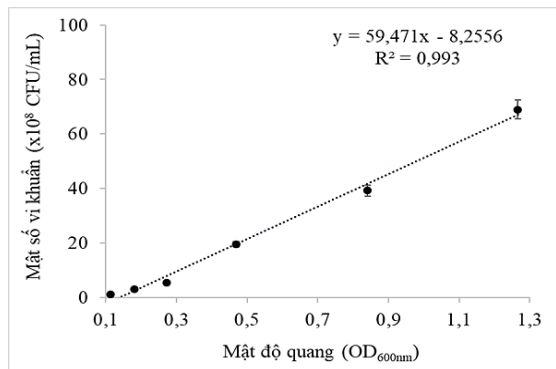
Hình 4. Đường tăng trưởng của vi khuẩn *Comamonas* sp. PAN1.12

Ghi chú: Các số liệu đi kèm chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

3.2. Mối liên hệ giữa MSVK và giá trị mật độ quang của dung dịch huyền phù vi khuẩn *Comamonas* sp. PAN1.12

Từ kết quả đếm sống và giá trị OD_{600nm} của các dung dịch huyền phù vi khuẩn được pha loãng tương ứng, đường chuẩn thể hiện mối liên hệ giữa MSVK và giá trị OD_{600nm} được thiết lập. Theo đó, phương trình hồi quy có dạng $y = 59,471x - 8,2556$, trong đó, x là mật độ quang (OD_{600nm}) và y là MSVK ($\times 10^8$ CFU/mL). Dựa vào phương trình hồi quy có thể ước lượng được MSVK *Comamonas* sp. PAN1.12 trong môi trường nuôi cấy theo giá trị OD_{600nm} tương ứng (Hình 5).

Oanh và ctv. (2022) đã khảo sát mối liên hệ giữa MSVK *Rhodococcus* sp. XL6.2 với giá trị mật độ quang cho thấy với giá trị OD_{600nm} = 0,8 tương ứng với mật số của vi khuẩn XL6.2 là $2,4 \times 10^8$ CFU/mL. Với cùng giá trị OD_{600nm} = 0,8 thì dòng vi khuẩn PAN1.12 có mật số tương ứng là $39,23 \times 10^8$ CFU/mL, cao gấp xấp xỉ 16 lần so với dòng XL6.2. Điều này có thể do kích thước tế bào của 2 dòng vi khuẩn khác nhau, dòng XL6.2 có kích thước tế bào $6 \times 1 \mu\text{m}$ (Oanh và ctv., 2022), trong khi dòng PAN1.12 có kích thước tế bào $1,5 \times 1 \mu\text{m}$. Như vậy, với cùng giá trị mật độ quang, dòng vi khuẩn có kích thước tế bào nhỏ hơn sẽ có mật số cao hơn.



Hình 5. Đường chuẩn thể hiện mối liên hệ giữa mật số và giá trị mật độ quang của dung dịch huyền phù vi khuẩn PAN1.12

3.3. Mật số và khả năng hấp thu STPP của vi khuẩn Comamonas sp. PAN1.12 qua một tháng tồn trữ

Trong 11 loại chất mang khảo sát, 2 loại chất mang có khả năng duy trì mật số vi khuẩn *Comamonas sp. PAN1.12* sau một tháng tồn trữ là bột talc và bột gạo phối trộn với bột talc, đạt mật số lần lượt là 8,67x10⁶ và 2,2x10⁶ CFU/g chất mang. Chín loại chất mang còn lại và các nghiệm thức đối chứng đối với từng chất mang không phát hiện

Bảng 1. Mật độ quang (OD_{600nm}) và mật số (x10⁸ CFU/mL) vi khuẩn Comamonas sp. PAN1.12 sau 24 giờ nuôi cấy trong môi trường khoáng tối thiểu có bổ sung sodium acetate và STPP

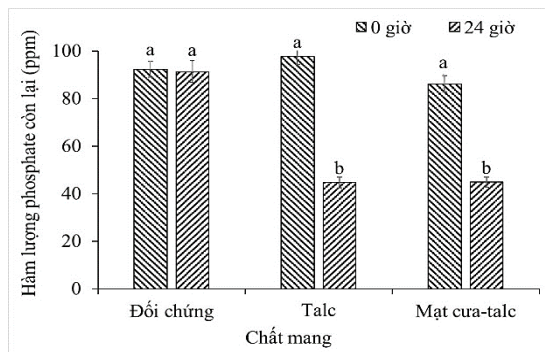
Nghiệm thức	Mật độ quang (OD _{600nm})	Mật số vi khuẩn (x10 ⁸ CFU/mL)
Đối chứng (ĐC) (không chủng PAN1.12)	0,06 ^d ±0,007	0,00 ^c
ĐC (không bổ sung STPP)	0,15 ^c ±0,002	0,66 ^b ±0,01
PAN1.12 tồn trữ trong bột talc	0,37 ^a ±0,006	8,33 ^a ±0,34
PAN1.12 tồn trữ trong bột gạo-talc	0,33 ^b ±0,018	5,67 ^a ±3,38

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số liệu đi kèm chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Kết quả khảo sát khả năng hấp thu 100 ppm phosphate (tương đương 0,1 g/L STPP) của vi khuẩn PAN1.12 sau thời gian tồn trữ cho thấy vi khuẩn vẫn duy trì khả năng hấp thu STPP sau 24 giờ nuôi cấy (Hình 6). Khi được bảo quản trong bột talc và bột gạo-talc, hiệu suất hấp thu của vi khuẩn PAN1.12 lần lượt là 51,03% và 50,93%, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng không chủng vi khuẩn. Theo Uyên và ctv. (2023), khả năng hấp thu STPP của *Comamonas sp. PAN1.12* ở nồng độ 0,1 g/L (tương đương 100 ppm) sau 24 giờ nuôi cấy là 57,03%, cao hơn không đáng kể so với khả năng hấp thu của vi khuẩn sau một tháng tồn trữ trong bột talc (51,03%) và bột gạo-talc (50,93%). Như vậy, sau một tháng tồn trữ, vi khuẩn vẫn duy trì hiệu quả hấp thu STPP.

khảo sát khi đếm sống. Theo nghiên cứu tồn trữ vi khuẩn của Oanh và ctv. (2022), 11 loại chất mang gồm bã mía, bột gạo, cám, rom, bã cà phê, bột talc và 5 chất mang được phối trộn giữa bã cà phê với 5 loại chất mang còn lại (tỉ lệ 1:1) được sử dụng để tồn trữ vi khuẩn *Rhodococcus sp. XL6.2* cho thấy chỉ bột talc có khả năng duy trì được MSVK trong 6 tháng tồn trữ. Trong nghiên cứu này, bột talc và hỗn hợp bột gạo-bột talc có khả năng duy trì MSVK *Comamonas sp. PAN1.12* qua một tháng tồn trữ, tuy nhiên, MSVK trong bột talc cao nhất, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng chứng tỏ bột talc là chất mang phù hợp để tồn trữ vi khuẩn *Comamonas sp. PAN1.12*.

Kết quả khảo sát cho thấy vi khuẩn PAN1.12 qua một tháng tồn trữ vẫn duy trì khả năng tăng trưởng khi được nuôi cấy trong môi trường khoáng tối thiểu có bổ sung 3,68 g/L sodium acetate và 0,1 g/L STPP. (tương đương 100 ppm phosphate) Mật độ quang và mật số của vi khuẩn đều cao hơn so với nghiệm thức đối chứng không bổ sung STPP, khác biệt có ý nghĩa thống kê. Trong đó, vi khuẩn được tồn trữ trong bột talc có mật độ quang và mật số vi khuẩn cao hơn so với vi khuẩn được tồn trữ trong bột gạo-bột talc (Bảng 1).



Hình 6. Khả năng hấp thu sodium tripolyphosphate của vi khuẩn Comamonas sp. PAN1.12 qua một tháng tồn trữ trong 2 loại chất mang

Ghi chú: Trong cùng một nghiệm thức, các số liệu đi kèm chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

3.4. Ảnh hưởng của liều lượng CMC và MSVK chủng ban đầu đến mật số và hoạt tính của vi khuẩn qua một tháng tồn trữ

Hai loại chất mang gồm bột talc và mặt cưa-bột talc được tiếp tục khảo sát ảnh hưởng của liều lượng CMC và MSVK chủng ban đầu đến mật số và hoạt tính hấp thu STPP của vi khuẩn. Đối với mỗi loại chất mang, CMC được bổ sung 1% hoặc 2% và mật số vi khuẩn chủng ban đầu là 100×10^6 CFU/g hoặc 200×10^6 CFU/g (5 g/túi). Với cách bố trí này, tám nghiệm thức được khảo sát đồng thời (Bảng 2).

Sau một tháng tồn trữ, 7/8 nghiệm thức duy trì mật số vi khuẩn trên 10^6 CFU/g chất mang, ngoại trừ nghiệm thức 7 không phát hiện được khuẩn lạc khi đếm sống trích từ chất mang. Ở nghiệm thức đối chứng không chủng vi khuẩn, không phát hiện khuẩn lạc vi khuẩn khi đếm sống chúng tỏ môi trường nuôi cấy, chất mang và các chất bổ trợ vẫn

không bị nhiễm khuẩn trong thời gian tồn trữ. Đa số các nghiệm thức với chất mang là bột talc có khả năng duy trì mật số vi khuẩn cao hơn so với các nghiệm thức phối trộn mặt cưa và bột talc, ngoại trừ nghiệm thức 8. Khi sử dụng cùng liều lượng CMC và chủng cùng MSVK, sau một tháng tồn trữ, mật số của vi khuẩn PAN1.12 ở các nghiệm thức bột talc cao hơn so với nghiệm thức mặt cưa-bột talc, ngoại trừ nghiệm thức 8. Mật số vi khuẩn được duy trì cao nhất ở nghiệm thức 1 (bột talc có bổ sung 1% CMC và chủng 100×10^6 CFU/g chất mang), đạt $8,87 \times 10^6$ CFU/g. Kế đến là nghiệm thức 8 (mặt cưa-bột talc có bổ sung 2% CMC và chủng 200×10^6 CFU/g chất mang) và nghiệm thức 2 (bột talc có bổ sung 1% CMC và chủng 200×10^6 CFU/g chất mang), đạt MSVK lần lượt là $7,8 \times 10^6$ và $7,6 \times 10^6$ CFU/g, khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức 1 (Bảng 2).

Bảng 2. MSVK qua một tháng tồn trữ trong chất mang được bổ sung CMC và MSVK chủng vào khác nhau

Nghiệm thức	Chất mang	CMC (%)	MSVK chủng ban đầu ($\times 10^6$ CFU/g)	MSVK sau tồn trữ ($\times 10^6$ CFU/g)
1	Bột talc	1	100	$8,87^{a \pm 0,84}$
2			200	$7,6^{ab \pm 0,43}$
3		2	100	$6,5^{abc \pm 0,35}$
4			200	$5,7^{bc \pm 0,28}$
5	Mặt cưa-bột talc	1	100	$2,3^d \pm 1,47$
6			200	$4,3^{cd \pm 1,59}$
7		2	100	-
8			200	$7,8^{ab \pm 0,27}$

Ghi chú: - : không xuất hiện khuẩn lạc khi đếm sống. Các số liệu đi kèm chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Bảng 3. Giá trị mật độ quang (OD 600nm) và MSVK sau 24 giờ nuôi cấy trong môi trường MM có bổ sung sodium acetate và STPP

Nghiệm thức	Mật độ quang (OD _{600nm})	Mật số vi khuẩn ($\times 10^8$ CFU/mL)
Đối chứng (không chủng PAN1.12)	$0,05^d \pm 0,005$	0 ^e
Đối chứng (không bổ sung STPP)	$0,12^c \pm 0,007$	$0,54^d \pm 0,01$
1 (talc+1% CMC+1,5% CaCO ₃ + 100×10^6 CFU/g)	$0,34^a \pm 0,041$	$11,17^a \pm 2,83$
2 (talc+1% CMC+1,5% CaCO ₃ + 200×10^6 CFU/g)	$0,31^{ab} \pm 0,008$	$9,67^a \pm 2,67$
3 (talc+2% CMC+1,5% CaCO ₃ + 100×10^6 CFU/g)	$0,31^{ab} \pm 0,033$	$5^{bc} \pm 1,5$
4 (talc 2% CMC+1,5% CaCO ₃ + 200×10^6 CFU/g)	$0,27^b \pm 0,034$	$7^{ab} \pm 0,67$
5 (mặt cưa-talc+1% CMC+1,5% CaCO ₃ + 100×10^6 CFU/g)	$0,29^{ab} \pm 0,032$	$1,82^{cd} \pm 0,73$
6 (mặt cưa-talc+1% CMC+1,5% CaCO ₃ + 200×10^6 CFU/g)	$0,30^{ab} \pm 0,007$	$1,81^{cd} \pm 0,69$
8 (mặt cưa-talc+2% CMC+1,5% CaCO ₃ + 200×10^6 CFU/g)	$0,25^b \pm 0,005$	$1,84^{cd} \pm 0,53$

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số liệu đính kèm chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

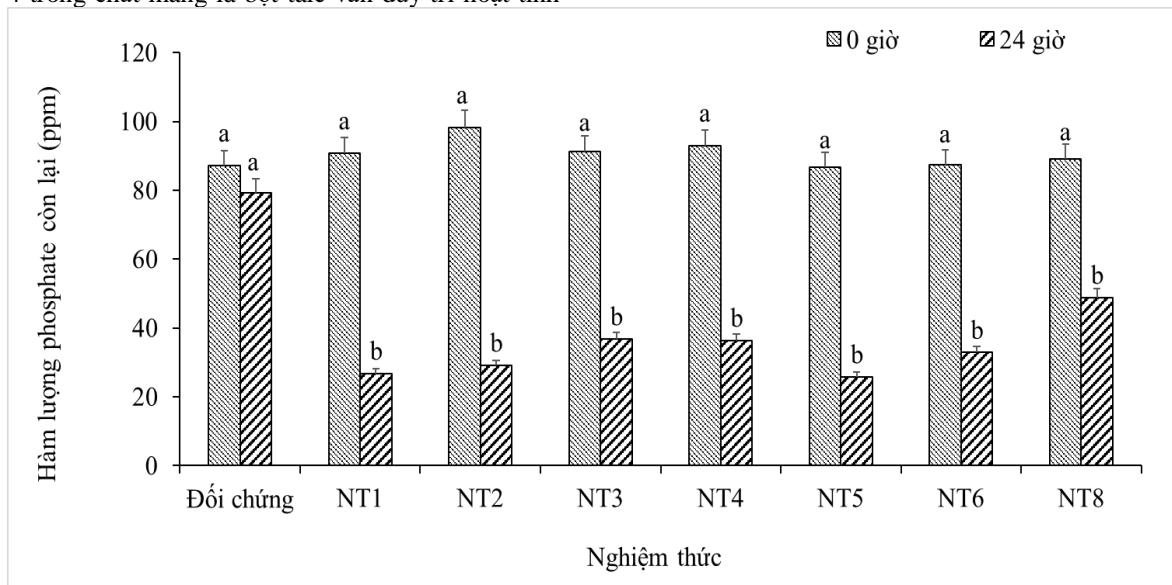
Bảy nghiệm thức duy trì được MSVK trên 10^6 CFU/g chất mang qua một tháng tồn trữ được tiếp

tục khảo sát sự tăng trưởng và hoạt tính hấp thu STPP của vi khuẩn. Khi nuôi cấy vi khuẩn PAN1.12

trong môi trường khoáng tối thiểu có bổ sung sodium acetate và STPP, các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn tạo độ đục, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng không bổ sung STPP. Bên cạnh đó, kết quả đếm sống cho thấy sau 24 giờ nuôi cấy, các nghiệm thức có sự khác nhau về MSVK, đặc biệt 4 nghiệm thức bột talc có mật số cao hơn so với 3 nghiệm thức phối trộn bột talc, điều này chứng tỏ khi phối trộn bột talc và bột cura có ảnh hưởng đến khả năng sinh trưởng của vi khuẩn trong thời gian tồn trữ (Bảng 3).

Sau 24 giờ nuôi cấy trong 7 nghiệm thức khảo sát (ngoại trừ nghiệm thức 7 không ghi nhận được vi khuẩn sau một tháng tồn trữ (Bảng 2)), vi khuẩn *Comamonas* sp. PAN1.12 vẫn duy trì hoạt tính hấp thu STPP, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng không chủng vi khuẩn (Hình 7). Vi khuẩn được tồn trữ ở nghiệm thức 1, 2, 3 và 4 trong chất mang là bột talc vẫn duy trì hoạt tính

hấp thu STPP với hiệu suất hấp thu lần lượt là 66,15%, 63,21%, 53,54% và 54,07%. Vi khuẩn được tồn trữ ở nghiệm thức 5, 6 và 8 trong chất mang là bột cura-bột talc có hiệu suất hấp thu STPP lần lượt là 67,46%, 58,52% và 38,36%. Chất mang ở nghiệm thức 8 có khả năng duy trì MSVK PAN1.12 cao nhất (Bảng 2), tuy nhiên, khi khảo sát hiệu quả hấp thu STPP của vi khuẩn sau khi tồn trữ một tháng ở cả 7 nghiệm thức trong môi trường MM cho thấy vi khuẩn nồng độ phosphate còn lại trong môi trường MM sau 24 giờ nuôi cấy khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng không chủng vi khuẩn chứng tỏ vi khuẩn vẫn duy trì hoạt tính hấp thu phosphate. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy hiệu quả hấp thu phosphate của vi khuẩn ở cả 7 nghiệm thức không khác biệt có ý nghĩa thống kê (Hình 7). Trong 7 nghiệm thức khảo sát, 6 nghiệm thức có khả năng duy trì sự hấp thu phosphate của vi khuẩn PAN1.12 trên 50%.



Hình 7. Khả năng hấp thu STPP của vi khuẩn qua một tháng tồn trữ

Ghi chú: Các số liệu đính kèm chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Hiệu suất hấp thu STPP của vi khuẩn khi được tồn trữ trong bột talc (1% CMC+100×10⁶ CFU/g, nghiệm thức 1) tương đương với hiệu suất hấp thu của vi khuẩn khi tồn trữ trong bột cura-bột talc có bổ sung cùng nồng độ CMC và cùng mật số vi khuẩn (nghiệm thức 5). Kết quả này chứng tỏ bổ sung chất bổ trợ CMC 1% và vi khuẩn với mật số 100×10⁶ CFU/g chất mang không những duy trì mật số mà còn duy trì hoạt tính hấp thu STPP của vi khuẩn (tương đương 67%).

Nghiên cứu của Vidhyasekaran and Muthuamilan (1995), khi bổ sung 1% CMC vào bột

talc sau 240 ngày tồn trữ vẫn duy trì mật số vi khuẩn *Pseudomonas fluorescens* (>10⁷ CFU/g chế phẩm) và hoạt tính ức chế vi khuẩn gây bệnh héo rũ trên đậu xanh. An và ctv. (2017) đã nghiên cứu tồn trữ vi khuẩn *Bacillus aerophilus* có khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây bệnh cháy bìa lá lúa trong bột talc. Sau sáu tháng tồn trữ, vi khuẩn vẫn duy trì mật số trên 10⁶ CFU/g chất mang và khả năng đối kháng với vi khuẩn *Xoo* trên đĩa thạch. Oanh và ctv. (2022) cũng bổ sung 1% CMC, 1,5% CaCO₃ và chủng 100×10⁶ CFU/g vi khuẩn vào bột talc (5 g/túi) để tồn trữ vi khuẩn

Rhodococcus sp. XL6.2 có khả năng phân hủy BTX. Sau sáu tháng tồn trữ, vi khuẩn XL6.2 vẫn duy trì mật số trên 10^6 CFU/g chất mang và duy trì hoạt tính phân hủy BTX trên 92%. Trong nghiên cứu này, vi khuẩn PAN1.12 được tồn trữ trong bột talc và bột talc phối trộn với mật cưa qua một tháng tồn trữ vẫn duy trì mật số trên 10^6 CFU/g chất mang và khả năng hấp thu STPP trên 50%.

4. KẾT LUẬN

Mười một loại chất mang được khảo sát gồm bã cà phê, bã mía, bột talc, cám, mật cưa và rơm sử dụng riêng lẻ hoặc phối trộn bột talc với 5 loại chất mang còn lại để tồn trữ vi khuẩn hấp thu STPP *Comamonas* sp. PAN1.12. Trong các loại chất mang, bột talc sử dụng đơn lẻ hoặc phối trộn với mật cưa được bổ sung 1% CMC, 1,5% CaCO_3 và chủng

100×10^6 CFU/g chế phẩm có khả năng duy trì mật số vi khuẩn ($>10^6$ CFU/g chế phẩm) và khả năng hấp thu STPP (tương đương 67%) sau một tháng tồn trữ. Kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ CMC và MSVK chúng vào có ảnh hưởng đến MSVK sau tồn trữ trong chất mang là bột talc-mật cưa, tuy nhiên, khả năng hấp thu STPP của vi khuẩn không thay đổi.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện từ nguồn kinh phí của đề tài Khoa học và Công nghệ tỉnh Sóc Trăng: Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn phân hủy chất phụ gia sodium tripolyphosphate (STPP) và nghiên cứu tạo chế phẩm vi sinh xử lý STPP trong nước thải từ công ty chế biến thủy sản ở tỉnh Sóc Trăng. Mã số đề tài DP2022-08.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- An, Đ. H., Oanh, N. T. P., & Khoa, N. Đ. (2017). Tuyển chọn chất mang để tồn trữ vi khuẩn *Bacillus aerophilis* đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây bệnh cháy bìa lá lúa. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 52b, 8-15.
- An, Đ. H., Thanh, N. L. X., & Khoa, N. Đ. (2019). Selection of carrier materials for formulation of the antagonistic *Bacillus* spp. against rice bacterial leaf blight. *Can Tho University Journal of Science*, 11, 19-27
- Bharathi, R., Vivekananthan, R., Harish, S., Ramanathan, A., & Samiyappan, R. (2004). *Rhizobacteria*-based bio-formulations for the management of fruit rot infection in chillies. *Crop Protection*, 23, 835-843. <https://doi.org/10.22144/ctu.jen.2019.034>
- Brar, S. K., Verma, M., Tyagi, R. D., & Valéro, J. R. (2006). Recent advances in downstream processing and formulations of *Bacillus thuringiensis* based biopesticides. *Process Biochemistry*, 41(2), 323-342. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.07.015>
- Chaudhry, V., & Nautiyal, C. S. (2011). A high throughput method and culture medium for rapid screening of phosphate accumulating microorganisms. *Bioresource Technology*, 102(17), 8057-8062. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.05.045>
- Diệp, C. N. (2008). Nghiên cứu sản xuất phân sinh học bón cho đậu nành: chất mang thích hợp cho sự sống sót của vi khuẩn nốt rễ và vi khuẩn *Pseudomonas* spp. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 10, 14-24.
- Hoben, H. J., & Somasegaran, P. (1982). Comparison of the pour, spread, and drop plate methods for enumeration of *Rhizobium* spp. in inoculants made from presterilized peat. *Applied and Environmental Microbiology*, 44(5), 1246-1247. <https://doi.org/10.1128/aem.44.5.1246-1247.1982>
- Kremer, R. J., & Peterson, H. L. (1983). Effects of carrier and temperature on survival of *Rhizobium* spp. in legume inocula: development of an improved type of inoculant. *Applied and Environmental Microbiology*, 45(6), 1790-1794. <https://doi.org/10.1128/aem.45.6.1790-1794.1983>
- Oanh, N. T. P., Tài, V. P., Mẫn, N. N., Qui, N. V., Uyên, C. T., Khoa, N. H., & Khoa, N. Đ. (2022). Tuyển chọn chất mang để tồn trữ vi khuẩn *Rhodococcus* sp. XL6.2 có khả năng phân hủy benzene, toluene, xylene. *Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 58(4A), 62-70. <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2022.164>
- Phong, N. T., Quyền, T. T., & Thùy, P. T. (2018). Nghiên cứu khả năng thay thế đạm hóa học của chủng vi khuẩn *Burkholderia vietnamiensis* KG1 và CT1 trên giống lúa cao sản OM2517. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp*, 2(1), 529-534.
- Quyên, D. T. N. (2008). Tìm môi trường nhân nuôi và tồn trữ vi khuẩn *Burkholderia cepacia* TG17. *Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 09, 179-186.
- Sparrow, J. S. D., & Ham, G. E. (1983). Survival of *Rhizobium phaseoli* in Six Carrier Materials 1. *Agronomy Journal*, 75(2), 181-184. <https://doi.org/10.2134/agronj1983.00021962007500020006x>
- Tài, V. P., & Oanh, N. T. P. (2019). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn trong bùn lắng của bể chứa nước thải nhà máy lọc hóa dầu có khả năng phân hủy hỗn hợp benzene, toluene và xylene. *Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 55(5A), 18-23. <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2019.123>

- Tiến, N. Q., Oanh, N. T. P., & Khoa, N. Đ. (2019). Tuyển chọn chất mang để tồn trữ xạ khuẩn *Streptomyces albaduncus* đối kháng với nấm *Fusarium oxysporum* gây bệnh thối củ hành tím. *Hội thảo Quốc gia Bệnh hại Thực vật Việt Nam lần thứ 18*, 03-04/08/2019, trang 107-114.
- Tu, M., & Randall, J. M. (2005). Weed Control Methods Handbook: Tools and Techniques for Use in Natural Areas, Hurd and J.M. Randall (Eds.). *The Nature Conservancy's Global Invasive Species Team, United States of America*, 8, 200-225.
- Uyên, C. T., Qui, N. V., Tài, V. P., Liên, N. T. P., Anh, H. Đ. K., & Oanh, N. T. P. (2023). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn trong nước thải chế biến thủy sản có khả năng hấp thu và hóa hướng động theo sodium tripolyphosphate. *Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 59(6), 25-33.
- Vidhyasekaran, P., & Muthamilan, M. (1995). Development of formulations of *Pseudomonas fluorescens* for control of chickpea wilt. *Plant Disease*, 79, 7820-786. <https://doi.org/10.1094/PD-79-0782>