

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN VI KHUẨN QUANG HỢP *Rhodopseudomonas* Sp. TẠI MỘT SỐ VÙNG VEN BIỂN TỈNH THỪA THIÊN HUẾ

Trương Quý Tùng¹, Lê Văn Tuấn ^{1*}, Lê Thị Phương Chi ¹,
Ngô Thị Bảo Châu², Đặng Thị Thanh Lộc ¹

¹Khoa Môi trường, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

²Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

*Email: levantuan@hueuni.edu.vn

Ngày nhận bài: 24/10/2024; ngày hoàn thành phản biện: 5/11/2024; ngày duyệt đăng: 20/3/2025

TÓM TẮT

Nghiên cứu đã phân lập và tuyển chọn thành công vi khuẩn quang hợp (VKQH) *Rhodopseudomonas* sp. từ các vùng ven biển Thừa Thiên Huế, với mục tiêu ứng dụng trong xử lý nước thải và nuôi trồng thủy sản. Mẫu nước và bùn từ đầm Lập An, cửa biển Tư Hiền, ven biển Điền Hương – Phong Điền và rừng ngập mặn Rú Chá đã được thu thập và nuôi tăng sinh, sau đó phân lập được 28 chủng vi khuẩn, với 06 chủng VKQH khá mạnh. Trong đó, chủng *Rhodopseudomonas* LA5.1 được đánh giá cao về khả năng sinh trưởng trong môi trường chứa nguồn carbon hữu cơ, đặc biệt khi sử dụng CH_3COONa . Kết quả cho thấy vi khuẩn này có khả năng sinh trưởng mạnh, có thể tiếp tục nghiên cứu sử dụng để cải thiện chất lượng nước và đồng thời tạo ra giá trị kinh tế qua việc khai thác sinh khối và sản xuất các hợp chất sinh học có giá trị. Nghiên cứu này góp phần mở rộng tiềm năng ứng dụng sinh học VKQH trong phát triển bền vững môi trường ven bờ.

Từ khóa: *Rhodopseudomonas* sp., xử lý nước thải, vi khuẩn quang hợp, sinh khối vi sinh.

1. MỞ ĐẦU

Vi khuẩn quang hợp (VKQH, còn gọi là *photosynthetic bacteria* PSB) là một trong những sinh vật nhân sơ xuất hiện sớm nhất trên Trái Đất, đóng vai trò quan trọng trong sự tiến hóa của các hệ sinh thái. Đặc điểm nổi bật của PSB là khả năng sử dụng ánh sáng làm nguồn năng lượng và phát triển theo cơ chế quang dưỡng thay vì quang hợp truyền thống. Chúng có thể sử dụng các hợp chất hữu cơ, hoặc vô cơ như S^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, hay H_2 làm nguồn hydro để cố định CO_2 trong quá trình quang hợp kỵ khí mà không cần nước (H_2O) làm nguồn electron, đồng thời không giải phóng oxy [1]. Nhờ đó, PSB có vai trò quan trọng trong chu trình carbon kỵ khí, vừa cố định CO_2 vừa tiêu thụ các chất hữu cơ

thông qua quang dị dưỡng. Dựa trên đặc điểm sinh thái và sinh lý, PSB được chia thành bốn nhóm chính: vi khuẩn lưu huỳnh tím (*purple sulfur bacteria*, PB), vi khuẩn không lưu huỳnh tím (*purple non-sulfur bacteria*, PNSB), vi khuẩn lưu huỳnh xanh (*green sulfur bacteria*, GSB), và vi khuẩn không lưu huỳnh xanh (*green non-sulfur bacteria*, GFB) [2]. Trong đó, PNSB nổi bật với khả năng quang dị dưỡng linh hoạt, sử dụng các nguồn carbon hữu cơ đa dạng và hoạt động hiệu quả trong cả điều kiện hiếu khí và kỵ khí [3].

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh PNSB có khả năng xử lý hiệu quả các chất hữu cơ, nitơ, photpho và kim loại nặng trong nước thải [4]. Điều này tạo ra tiềm năng lớn cho việc ứng dụng PNSB trong cải thiện chất lượng nước, đặc biệt trong ngành nuôi trồng thủy sản – nơi mà nước thải chứa lượng lớn COD, BOD và các hợp chất nitơ [5]. Ngành này đóng góp quan trọng vào GDP quốc gia, nhưng cũng tạo ra lượng lớn nước thải gây áp lực lên môi trường [6, 7]. Ứng dụng PNSB không chỉ giúp xử lý nước thải mà còn tận dụng sinh khối làm nguồn protein tế bào đơn (*single-cell protein*, SCP) trong chăn nuôi, mang lại lợi ích kinh tế và môi trường [8].

Vùng ven biển Thừa Thiên Huế, với hệ sinh thái đầm phá và ven biển đa dạng, là một môi trường lý tưởng để phân lập vi khuẩn quang hợp. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tập trung vào các khu vực đầm Lập An, cửa biển Tư Hiền, rừng ngập mặn Rú Chá và khu vực ven biển Phong Điền. Đầm Lập An với hệ sinh thái nước lợ, cửa biển Tư Hiền có môi trường giao thoa giữa nước ngọt và mặn, trong khi rừng ngập mặn Rú Chá đóng vai trò quan trọng trong bảo vệ bờ biển và duy trì cân bằng sinh thái. Những khu vực này vừa có đa dạng sinh học cao, vừa chịu áp lực lớn từ hoạt động nuôi trồng thủy sản và khai thác tài nguyên, tạo điều kiện lý tưởng cho nghiên cứu ứng dụng PSB trong xử lý nước thải. Việc phân lập và tuyển chọn các chủng *Rhodopseudomonas* sp. từ những khu vực này không chỉ góp phần bảo tồn tài nguyên vi sinh vật mà còn mở ra tiềm năng ứng dụng lớn trong xử lý nước thải. Các khu vực nghiên cứu thường xuyên đối mặt với lượng lớn nước thải từ các hoạt động sản xuất, khiến nhu cầu cấp thiết về các giải pháp sinh học bền vững ngày càng tăng. Khả năng của *Rhodopseudomonas* sp. trong việc xử lý chất hữu cơ, kim loại nặng và chất dinh dưỡng sẽ giúp cải thiện chất lượng nước và hỗ trợ phát triển nuôi trồng thủy sản bền vững.

Ngoài ra, sinh khối của *Rhodopseudomonas* sp. còn mang lại giá trị kinh tế lớn, có thể sử dụng làm nguồn protein tế bào đơn (SCP), phân bón hữu cơ, hoặc nguyên liệu cho sản xuất các hợp chất sinh học có giá trị như carotenoid và enzyme [8]. Việc khai thác sinh khối vi khuẩn này không chỉ góp phần bảo tồn đa dạng sinh học mà còn mở ra hướng phát triển kinh tế bền vững cho khu vực ven biển Thừa Thiên Huế.

Nghiên cứu này tập trung vào việc phân lập và tuyển chọn các chủng *Rhodopseudomonas* sp. từ các khu vực đầm Lập An, cửa biển Tư Hiền, rừng ngập mặn Rú Chá và ven biển Phong Điền, với mục tiêu định hướng ứng dụng vi sinh quang hợp bản địa – Thừa Thiên Huế trong xử lý nước thải nuôi trồng thủy sản.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vị trí thu mẫu để phân lập VKQH *Rhodopseudomonas*

Địa điểm thu mẫu nước và bùn để phân lập các chủng vi khuẩn tía quang hợp thuộc chi *Rhodopseudomonas* được lấy từ các ven biển Thừa Thiên Huế: đầm Lập An (5 điểm), Cửa biển Thuận An (2 điểm), Rú Chá (4 điểm), Đền Hương (5 điểm) và cửa Tư Hiền (3 điểm). Thời gian thu mẫu theo một số đợt từ tháng 3 đến tháng 4 năm 2023. Tọa độ các điểm lấy mẫu được tổng hợp ở Bảng 1. Mẫu nước mặt được lấy và chứa vào các chai nhựa PET sạch, có thể tích 0,5 – 1 lít, lấy đầy chai. Mẫu bùn đất được thu từ lớp bùn đất mặt, ở độ sâu 0 – 5 cm, với diện tích khoảng 1 dm². Mẫu bùn đất cho vào túi nilon sạch, kín. Các mẫu được bảo quản trong thùng mát, được vận chuyển trong ngày về phòng thí nghiệm môi trường cơ sở, Trường Đại học Khoa học – Đại học Huế. Tại đây, các mẫu được bảo quản ở nhiệt độ (< 5°C) để phân lập vi khuẩn quang hợp.

Bảng 1. Địa điểm thu mẫu nước và bùn để phân lập các chủng VKQH

Địa điểm thu mẫu		Toạ độ	Địa điểm thu mẫu		Toạ độ
Đầm Lập An			Đền Hương – Phong Điền		
1	LA1	16°15'50.3"N – 108°02'45.0"E	11	ĐH1	16°44'29.4"N – 107°23'14.9"E
2	LA2	16°15'31.7"N – 108°02'32.0"E	12	ĐH2	16°44'31.0"N – 107°23'16.9"E
3	LA3	16°14'33.0"N – 108°02'15.4"E	13	ĐH3	16°44'24.6"N – 107°23'22.3"E
4	LA4	16°13'08.1"N – 108°03'42.7"E	14	ĐH4	16°43'29.8"N – 107°24'19.7"E
5	LA5	16°13'29.3"N – 108°04'52.5"E	15	ĐH5	16°42'37.0"N – 107°25'24.3"E
Rú Chá			Tư Hiền		
6	RC1	16°55'68.6"N – 107°61'05.9"E	16	TH1	16°20'57.8"N – 107°55'00.0"E
7	RC2	16°55'67.0"N – 107°61'22.5"E	17	TH2	16°21'16.8"N – 107°54'44.9"E
8	RC3	16°54'92.4"N – 107°62'51.1"E	18	TH3	16°21'08.9"N – 107°54'41.9"E
9	RC4	16°55'96.2"N – 107°62'12.8"E	19	TH3	16°21'12.9"N – 107°54'43.8"E
10	RC5	16°55'96.3"N – 107°62'12.4"E	20	TH3	16°21'15.9"N – 107°54'45.6"E

2.2. Nuôi tăng sinh, tuyển chọn VKQH *Rhodopseudomonas*

2.2.1. Nuôi tăng sinh

Mẫu nước bùn đáy và nước ven biển Thừa Thiên Huế thu về được nuôi tăng sinh theo phương pháp Winogradsky's [9]. Các mẫu nước và bùn đáy ở các địa điểm khác nhau, được cho vào các bình tam giác 500 ml riêng biệt, bổ sung 5g CaSO₄ và 10g

cellulose và cho mẫu nước vào trộn đều. Một lớp paraffin với độ dày 1cm được bổ sung trên bề mặt để ngăn cản sự hoà tan các chất khí vào môi trường nuôi cấy. Nuôi cấy ở nhiệt độ 28 – 30°C với cường độ chiếu sáng khoảng 2400 Lux [10]. Sau 2 tuần nuôi cấy lấy 10 ml dung dịch nuôi cấy trên cho vào 150 ml môi trường DSMZ 27 và nuôi cấy cùng điều kiện trong thời gian 7 ngày.

Thành phần môi trường DSMZ 27 (g/l): cao nấm men (0,3 g/l), succinate – Na (1 g/l), CH₃COONa (0,5 g/l), K₂HPO₄ (1g/l), KH₂PO₄ (0,5 g/l), MgSO₄.7H₂O (0,4 g/l), CaCl₂.2 H₂O (0,05 g/l), NH₄Cl (0,4 g/l), vi lượng SL6(*) (1 ml/l), dung dịch vitamin B12(**)(0,4 ml/l), Nước cất (1000 ml), NaCl (20 g/l), pH (~6,8). *(*)Vi lượng SL6 (mg/l):* HCl (25%) 6,5 ml; FeCl₂.4H₂O 1,5 g; H₃BO₃ 0,3 g; MnCl₂.2H₂O 0,03 g; CoCl₂.6H₂O 0,2 g; ZnSO₄. 7H₂O 0,1 g; CuCl₂.2H₂O 17 mg; NiCl₂.6H₂O 24 mg; Na₂MoO₄.2H₂O 36 mg, H₂O cất, định mức đến 1 lít. *(**)Dung dịch vitamin B12:* 10 mg trong 100 ml nước được khử trùng bằng màng lọc và bổ sung vào môi trường trước khi sử dụng.

2.2.2. Phân lập và tạo dòng thuần

Lấy 50 µl dung dịch nuôi cấy sau 7 ngày ở môi trường DSMZ cấy trải vào đĩa thạch chứa môi trường DSMZ 27 – agar. Các đĩa thạch được nuôi cấy trong điều kiện kỵ khí hoàn toàn, cường độ chiếu sáng là 2400 Lux cho đến khi xuất hiện các khuẩn lạc. Các khuẩn lạc có các màu sắc khác nhau sẽ được cấy chuyển trên môi trường ống thạch nghiêng chứa môi trường DSMZ 27 và nuôi cấy với điều kiện như trên đến khi tạo được khuẩn lạc thuần.

2.2.3. Nuôi sinh khối

Lấy 1 khuẩn lạc thuần cấy vào 40 ml môi trường DSMZ 27 có bổ sung 10 mg/L Na₂S sau đó cho 1 lớp paraffin trên bề mặt và nuôi cấy trong tủ lắc 120 vòng/phút, nhiệt độ 28 – 30 °C và 2400 Lux. Sau 7 ngày nuôi cấy, dịch huyền phù vi khuẩn được đo ở bước sóng 570 nm để xác định mật độ tế bào [10].

2.2.4. Xác định một số đặc điểm hình thái

Quan sát khuẩn lạc: nuôi cấy chủng vi khuẩn trên môi trường DSMZ 27 thạch đĩa ở nhiệt độ 28 - 30°C trong 7 ngày, quan sát kích thước, màu sắc, độ dày, hình dạng của khuẩn lạc, sự tạo thành sắc tố dưới kính hiển vi (Olympus BX51). *Quan sát hình thái tế bào:* sử dụng phương pháp nhuộm đơn quan sát tiêu bản trên kính hiển vi quang học vật kính x100 (Olympus BX51) [11].

2.2.5. Đánh giá khả năng sinh trưởng

Sơ tuyển VKQH dựa vào khả năng sinh trưởng của các chủng vi khuẩn qua các lần nuôi cấy chúng trên môi trường DSMZ 27 – lỏng nhiều lần. Sau đó tiến hành, tuyển chọn đánh giá khả năng sinh trưởng của các chủng VKQH sơ tuyển bằng cách gián tiếp thông qua đếm tế bào vi khuẩn. Đồng thời, khả năng sinh trưởng của các chủng PSB

phân lập thông qua biến động mật độ tế bào (gián tiếp qua phép đo mật độ quang ở bước sóng 570 nm, OD570 nm) [10], bằng máy quang phổ Shimadzu UV1800.

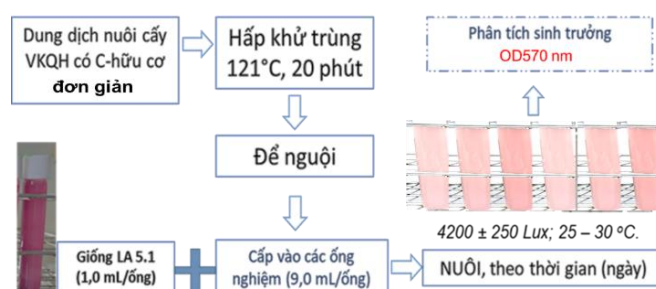
2.2.6. Định danh giải trình tự nucleotide đoạn gen 16s DNA

VKQH *Rhodopseudomonas* spp. sẽ được định danh giải trình tự nucleotide đoạn gen 16s DNA (gửi mẫu đo đặc tại Công Ty TNHH MTV Công nghệ Sinh học Queenlabs) theo phương pháp giải trình tự Sanger sequencing và công cụ BLAST [11].

2.3. Xác định khả năng sinh trưởng của chủng VKQH LA5.1 trong môi trường chứa nguồn C-hữu cơ và muối dinh dưỡng đơn giản

Các thí nghiệm được bố trí trong ống nghiệm có thể tích 10 mL, nuôi trong thùng sạch với điều kiện chiếu sáng và duy trì nhiệt độ ổn định. Nguồn sáng sử dụng là đèn Led, với cường độ ánh sáng 4200 ± 250 Lux. Nhiệt độ trong phòng thí nghiệm dao động từ 25 đến 30°C. Tốc độ sinh trưởng của chủng vi khuẩn quang hợp LA5.1 được theo dõi thông qua sự biến động mật độ tế bào (OD570 nm) theo thời gian. Môi trường thí nghiệm bao gồm nguồn carbon hữu cơ và các muối dinh dưỡng đơn giản, nhằm tìm ra điều kiện tối ưu giúp chủng *Rhodopseudomonas* đạt tốc độ tăng sinh tốt nhất, từ đó định hướng tăng sinh khối một cách hiệu quả.

Chủng VKQHLA5.1 phân lập được, sau khi làm thuần được nuôi trong các ống nghiệm 10 mL chứa môi trường có nguồn C –hữu cơ là CH_3COONa (3g/L); và các muối dinh dưỡng đơn giản khác: cao nấm men (1g/L), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,5g/L), K_2HPO_4 (1g/L). Các hóa chất sử dụng là hóa chất tinh khiết, pha trong nước cất và được hấp khử trùng ở điều kiện (nhiệt độ 121°C, thời gian 20 phút), làm nguội để tạo dung dịch nuôi cấy, tỷ lệ cấy giống: 1 mL giống VKQH + 9 mL dung dịch nuôi cấy.



Hình 1. Bố trí thí nghiệm xác định khả năng sinh trưởng của chủng VKQH LA5.1 trong môi trường chứa nguồn C-hữu cơ và muối dinh dưỡng đơn giản

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm MS. Excel để xử lý và biểu diễn các số liệu thực nghiệm. Tất cả các thí nghiệm đều được thực hiện lặp lại 3 lần và biểu diễn bởi giá trị trung bình.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nuôi tăng sinh các chủng vi khuẩn quang dưỡng

Từ 20 mẫu nước bùn đáy và 20 mẫu nước ven biển Thừa Thiên Huế thu về được nuôi tăng sinh theo phương pháp Winogradsky's [9]. Các mẫu nước và bùn đáy ở các địa điểm khác nhau, được cho vào các bình tam giác 500 ml riêng biệt, bổ sung 5g CaSO₄ và 10g cellulose sau đó trộn đều bằng nước rồi cho 1 lớp parafin ở trên bề mặt. Nuôi cấy ở nhiệt độ 28 – 30 °C với cường độ chiếu sáng khoảng 2400 Lux (Hình 2).



Hình 2. Nuôi tăng sinh các chủng VKQH thu thập ven biển Thừa Thiên Huế

Sau 2 tuần nuôi cấy lấy 10 ml dung dịch nuôi cấy trên cho vào 150 ml môi trường DSMZ 27 và nuôi cấy cùng điều kiện trong thời gian 7 ngày. Sau khi nuôi tăng sinh, các mẫu được nuôi cấy trên môi trường DSMZ 27 - lỏng trong vòng 7 ngày. Các bình nuôi được nuôi trong điều kiện kỵ khí hoàn toàn, cường độ chiếu sáng là 2400 Lux. Kết quả thể hiện qua Bảng 2 và Hình 3.

Bảng 2. Số lượng chủng VKQH thu thập trong các mẫu bùn và mẫu nước ở các vùng ven biển tỉnh Thừa Thiên Huế

STT	Đợt thu mẫu	Địa điểm	Số lượng chủng VKQH
1	10/3/2023	Đầm Lập An	11
2	20/3/2023	Rú Chá	5
3	30/3/2023	Điền Hương – Phong Điền	6
4	10/4/2023	Tư Hiền	7



Hình 3. Nuôi cấy trên môi trường DSMZ 27 - lỏng

Qua kết quả ở Bảng 3 cho thấy, số lượng VKQH có sự khác biệt rõ rệt tùy vào từng địa điểm thu mẫu khác nhau. Tổng số lượng vi khuẩn phân lập được là 27 chủng. Trong đó, số lượng chủng vi khuẩn đạt cao nhất là mẫu ở Lập An (11 chủng). Số lượng chủng vi khuẩn thấp nhất là mẫu ở Rú Chá (5 chủng). Sau 7 ngày, tiến hành tuyển chọn các chủng VKQH thông qua hình thức xác định khả năng sinh trưởng qua nhiều lần cấy chuyển trên môi trường DSMZ 27 – lòng. Kết quả được tổng hợp ở Bảng 3.

Qua quá trình phân lập, chúng tôi chọn được 28 nuôi cấy VKQH có khả năng sinh trưởng với các mức độ khác nhau. Số chủng vi khuẩn có khả năng sinh trưởng yếu chiếm tỷ lệ cao (39,3%); tiếp đến các chủng có khả năng sinh trưởng trung bình (chiếm 35,7%); các chủng có khả năng sinh trưởng mạnh và rất mạnh chiếm tỷ lệ thấp, với tỷ lệ lần lượt là 21,4% và 3,57%.

Bảng 3. Khả năng sinh trưởng của các chủng VKQH thu thập ven biển Thừa Thiên Huế

STT	Kí hiệu chủng	Tạo sắc tố trên môi trường DSMZ 27	Khả năng sinh trưởng
1	LA1.1	Màu tím	Trung bình
2	LA1.2	Màu vàng nhạt	Yếu
3	LA1.3	Màu nâu	Trung bình
4	LA2.1	Màu hồng cánh sen	Trung bình
5	LA2.2	Màu xanh lá cây	Trung bình
6	LA3.1	Màu vàng	Trung bình
7	LA3.2	Màu vàng nhạt	Yếu
8	LA4.1	Màu đỏ	Trung bình
9	LA5.1	Màu tía	Rất mạnh (lựa chọn phân tích chuyên sâu)
10	LA5.2	Màu vàng nhạt	Yếu
11	LA5.3	Màu xanh lá cây	Trung bình
12	RC1.1	Màu vàng đất	Yếu
13	RC1.2	Màu đỏ nhạt	Yếu
14	RC2.1	Màu đỏ đậm	Mạnh
15	RC4.1	Màu hồng nhạt	Trung bình
16	RC5.1	Màu đỏ	Trung bình
17	ĐH1.1	Màu vàng nhạt	Yếu

18	ĐH2.1	Màu xanh ngọc	Yếu
19	ĐH3.1	Màu nâu	Yếu
20	ĐH4.1	Màu đỏ nhạt	Trung bình
21	ĐH5.1	Màu đỏ đậm	Mạnh
22	ĐH6.1	Màu tím nhạt	Trung bình
23	TH1.1	Màu hồng cánh sen	Mạnh
24	TH1.2	Màu xanh lá cây	Trung bình
25	TH2.1	Màu xanh ngọc	Trung bình
26	TH3.1	Màu nâu	Trung bình
27	TH4.1	Màu đỏ	Mạnh
28	TH5.1	Màu đỏ đậm	Rất mạnh

3.2. Xác định khả năng sinh trưởng của 06 chủng VKQH tiềm năng

Từ kết quả trên, chúng tôi nhận thấy có 2 chủng có màu đỏ đậm phát triển rất mạnh (LA 5.1 và TH 5.1) và 4 chủng mạnh (RC 2.1, DH5.1, TH1.1 và TH4.1) có màu tím, đỏ và hồng, tiềm năng thuộc chi *Rhodopseudomonas* đã được chọn để xác định tốc độ sinh trưởng. Kết quả xác định tốc độ sinh trưởng của 06 chủng tiềm năng (mạnh và rất mạnh nêu trên). Sinh khối giống vi khuẩn được đưa vào nuôi trong bình 100 mL có nắp đậy kín: 10 ml dung dịch nuôi cấy giống trên cho vào 90 ml môi trường DSMZ 27 và nuôi cấy cùng điều kiện trong thời gian 7 ngày (thí nghiệm với 3 lần lặp lại). Xác định OD570 nm liên tục 7 ngày ủ (tương đương 168 giờ), khoảng thời gian giữa 2 lần đo cách nhau 24 giờ. Kết quả trình bày trong Bảng 4. Kết quả nghiên cứu còn cho thấy có sự tương quan tuyến tính giữa giá trị mật độ quang (OD 570 nm) và mật độ vi khuẩn (tế bào vi khuẩn/mL). Ở mật độ vi khuẩn $1,16 \times 10^7$ (tế bào/mL) có giá trị OD 570 nm là 2,254. Qua theo dõi sinh trưởng của 6 chủng VKQH, chúng tôi nhận thấy: các chủng này đều sinh trưởng tốt trong môi trường DSMZ 27, đạt cực đại sau 4 ngày nuôi, và ổn định trong 2 – 3 ngày tiếp theo. Chủng LA5.1 phát triển tốt hơn được chọn để tiếp tục cho các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 4. Sinh trưởng của 06 chủng VKQH tiềm năng

Mẫu	Thời gian khảo sát (giờ) và giá trị đo OD570 nm							
	0 (h)	24 (h)	48 (h)	72 (h)	96 (h)	120 (h)	144 (h)	168 (h)
DH5.1	0,306	0,328	0,952	1,079	1,078	1,248	1,306	1,037
LA5.1	0,296	0,913	1,261	1,529	1,881	1,799	1,787	1,767

RC2.1	0,280	0,449	0,628	0,741	0,920	0,825	0,695	0,578
TH1.1	0,295	0,344	0,743	0,934	1,166	1,363	0,964	0,835
TH4.1	0,296	0,383	0,577	0,750	0,813	0,846	0,835	0,815
TH5.1	0,310	0,494	0,773	1,221	1,391	1,554	1,758	1,657

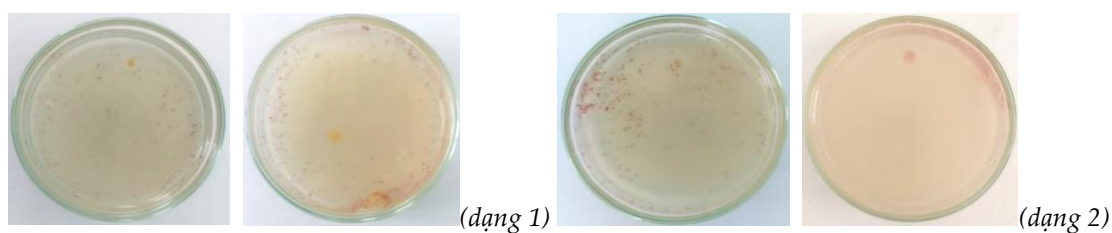
3.3. Phân lập, tạo dòng thuần và định danh chủng VKQH LA5.1

Việc phân lập và tạo dòng thuần từ chủng LA5.1 được tiến hành bằng cách: lấy 50 ml dịch nuôi từ các ống nghiệm chủng LA5.1 tuyển chọn trải vào đĩa thạch chứa môi trường DSMZ 27 – agar. Các đĩa thạch được nuôi cấy trong điều kiện kỵ khí hoàn toàn, cường độ chiếu sáng là 2400 Lux trong thời gian 14 ngày. Chúng tôi nhận thấy có 2 dạng khuẩn lạc vi khuẩn mọc trên môi trường phân lập gồm: Khuẩn lạc có màu vàng mép đều, bề mặt lồi, trơn láng bóng (Dạng 1) và Khuẩn lạc có màu tím nhạt, mép đều, trơn láng bóng (Dạng 2).

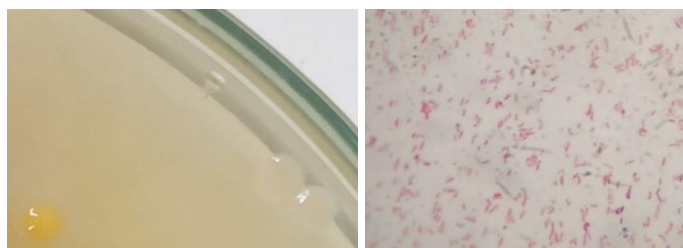
Các dạng khuẩn lạc này sẽ được cấy chuyển trên môi trường ống thạch nghiêng chứa môi trường DSMZ 27 – agar và nuôi cấy với điều kiện như trên đến khi tạo được khuẩn lạc thuần. Sau đó, tiến hành nhân giống và thử nghiệm lần lượt trên môi trường DSMZ 27. Khi đó chỉ có khuẩn lạc có màu vàng, mép tròn, trơn láng bóng đã tạo làm cho môi trường chuyển sang màu tím (màu phân lập ban đầu). Chúng tôi đây là chủng VKQH (Hình 4).

Đối với chủng VKQH tuyển chọn LA5.1, khi sử dụng phương pháp nhuộm đơn quan sát tiêu bản trên kính hiển vi quang học vật kính x100 cho thấy rằng chủng LA5.1 là vi khuẩn Gram âm, tế bào có hình que ngắn (Hình 5).

Kết quả phân tích trình tự *nucleotides* hai chiều mẫu ADN định danh loài của chủng VKQH LA5.1 thu được mẫu phân tích là loài *Rhodopseudomonas julia* với mức độ giống nhau 99,84% với loài tham chiếu NR_115228.1.



Hình 4. Nuôi cấy trên môi trường DSMZ 27 – agar

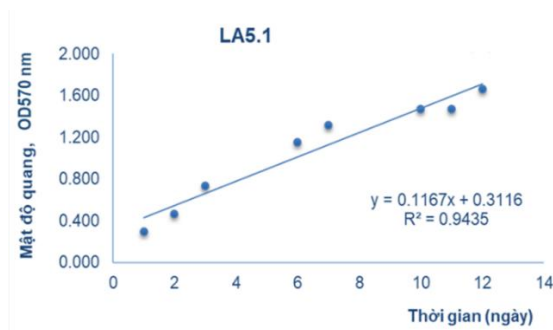


Hình 5. Hình thái khuẩn lạc và tế bào của chủng VKQH LA5.1

3.4. Khả năng sinh trưởng của chủng VKQH LA5.1 (*Rhodopseudomonas julia*) trong môi trường chứa nguồn C-hữu cơ và muối dinh dưỡng đơn giản

Chủng VKQH LA5.1 (*Rhodopseudomonas julia*) phân lập được, sau khi tinh sạch được nuôi trong môi trường nguồn C-hữu cơ và muối dinh dưỡng đơn giản: CH_3COONa (3g/L); các cơ chất khác: cao nấm men (1g/L), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,5g/L), K_2HPO_4 (1g/L). Kết quả đo giá trị mật độ quang OD 570 nm của các mẫu thí nghiệm theo thời gian được thể hiện ở Hình 6.

Muối đơn giản CH_3COONa (3g/L) được xác định là nguồn cung cấp C- hữu cơ phù hợp cho sự sinh trưởng của vi khuẩn, với giá trị mật độ quang tăng theo thời gian khảo sát (12 ngày). Sự sinh trưởng này là có chậm hơn so với nuôi cấy tạo dòng thuần theo môi trường DSMZ 27. Sau 06 ngày nuôi cấy trên môi trường DSMZ 27 thu được (OD570 nm: 1,787), trong khi môi trường nuôi C 01 (CH_3COONa 3g/L, thu được (OD570 nm: 1,315).



Hình 6. Sinh trưởng của chủng LA 5.1 (*R. julia*) trong môi trường C-hữu cơ và muối dinh dưỡng: CH_3COONa (3g/L); cao nấm men (1g/L), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,5g/L), K_2HPO_4 (1g/L).

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã phân lập và tuyển chọn được 28 chủng VKQH từ các khu vực ven biển Thừa Thiên Huế, với 06 chủng tiềm năng cho việc tìm kiếm vi khuẩn *Rhodopseudomonas* sp. Trong đó, chủng LA5.1 và TH5.1 thể hiện khả năng sinh trưởng vượt trội. Đặc biệt, chủng LA5.1 đạt tốc độ sinh trưởng cực đại sau 4 ngày nuôi cấy trong môi trường DSMZ 27, với giá trị OD570 nm là 1.881, và tiếp tục phát triển ổn định trong

các ngày tiếp theo. Khi được nuôi cấy trong môi trường chứa CH_3COONa (3 g/L) và các muối dinh dưỡng đơn giản, sự tăng trưởng của VKQH LA5.1 cũng cho thấy kết quả khả quan, với giá trị OD570 nm đạt 1.315 sau 12 ngày, chứng minh đây là nguồn carbon hữu cơ phù hợp cho sự sinh trưởng của vi khuẩn. Qua quá trình phân tích trình tự nucleotide, chủng LA5.1 được định danh là *Rhodopseudomonas julia*, với mức độ giống nhau lên đến 99,84% so với loài tham chiếu. Kết quả này khẳng định tiềm năng ứng dụng của *Rhodopseudomonas julia* trong xử lý nước thải, nhờ khả năng loại bỏ chất hữu cơ cao trong môi trường kỵ khí, đồng thời sinh khối của nó còn có thể được nghiên cứu khai thác làm protein tế bào đơn, phân bón hữu cơ và các hợp chất sinh học có giá trị như carotenoid và enzyme.

LỜI CẢM ƠN

Công trình này được hỗ trợ bởi Đại học Huế (mã số đề tài DHH2023-01-206).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Puyol, D., Barry, E.M., Hülsen, T., Batstone, D.J., 2017. A mechanistic model for anaerobic phototrophs in domestic wastewater applications: photo-anaerobic model (PAnM). *Water Research*, 116, 241–253.
- [2] Lu, H., Zhang, G., Zheng, Z., Meng, F., Du, T., He, S., 2019b. Bio-conversion of photosynthetic bacteria from non-toxic wastewater to realize wastewater treatment and bioresource recovery: a review. *Bioresource Technology*, 278, 383–399.
- [3] Imhoff, J.F., Hiralshi, A., Suling, J., 2005. Anoxygenic phototrophic purple bacteria. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2nd ed.). Springer, USA: 119-132.
- [4] Luo, W., Deng, X., Zeng, W., Zheng, D., 2012. Treatment of wastewater from shrimp farms using a combination of fish, photosynthetic bacteria, and vegetation. *Desalination and Water Treatment*, 47, 221–227.
- [5] Huang, L., Li, M., Ngo, H.H., Guo, W., Xu, W., Du, B., Wei, Q., Wei, D., 2018. Spectroscopic characteristics of dissolved organic matter from aquaculture wastewater and its interaction mechanism to chlorinated phenol compound. *Journal of Molecular Liquids*, 263, 422–427.
- [6] FAO, 2016. The state of world fisheries and aquaculture. Contributing to food security and nutrition for all. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- [7] Roslina, K., 2018. Contribution of brackish and freshwater aquaculture to livelihood of small-scale rural aquaculture farmers in Kedah, Malaysia. *Pertanika Journal of Social Sciences and Humanities*, 26(3), 1301–1321.
- [8] Shapawi, R., Ting, T.E., Al-azad, S., 2012. Inclusion of purple non-sulfur bacteria biomass in formulated feed to promote growth, feed conversion ratio, and survival of Asian seabass *Lates calcarifer* juveniles. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 7(6), 475–480.
- [9] Hunter, C.N., Daldal, F., Thurnauer, M.C., Beatty, J.T., 2009. *The Purple Phototrophic Bacteria*. Chapter 1: An overview of purple bacteria: systematics, physiology, and habitats, 2–15.
- [10] Nguyen, T.M.N., Hoang, P.H., Dong, V.Q., Nguyen, N.H.T., Le, T.N.C., 2020. Degradation of naphthalene and pyrene by several biofilm-forming photosynthetic purple bacterial strains. *Journal of Biotechnology*, 18(3), 561–570.
- [11] Phạm Thị Ngọc Lan, 2012. *Giáo trình thực tập vi sinh vật*. NXB Đại học Huế.

INVESTIGATION INTO THE ISOLATION AND SELECTION OF
PHOTOSYNTHETIC BACTERIA *Rhodopseudomonas* sp.
FROM COASTAL AREAS OF THUA THIEN HUE PROVINCE

Truong Quy Tung¹, Le Van Tuan ^{1*}, Le Thi Phuong Chi ¹,
Ngo Thi Bao Chau, Dang Thi Thanh Loc ¹

¹Faculty of Environmental Science, University of Sciences, Hue University

² Faculty of Biology, University of Sciences, Hue University

*Email: levantuan@hueuni.edu.vn

ABSTRACT

The study successfully isolated and selected photosynthetic bacteria (PSB) *Rhodopseudomonas* sp. from the coastal regions of Thua Thien Hue for application in wastewater treatment and aquaculture. Water and sediment samples were collected from Lap An Lagoon, Tu Hien Estuary, the coastal area of Dien Huong – Phong Dien, and the mangrove forest of Ru Cha, and then cultured, resulting in the isolation of 28 bacterial strains. Among them, the *Rhodopseudomonas* strain LA5.1 showed strong growth in a medium containing organic carbon sources, particularly CH₃COONa. The results indicated that this bacterium has robust growth potential, with promising applications for improving water quality while also generating economic value through biomass harvesting and producing valuable bioactive compounds. This research contributes to expanding the potential of PSB applications in sustainable coastal environmental development.

Keywords: *Rhodopseudomonas* sp., wastewater treatment, photosynthetic bacteria, microbial biomass.



Trương Quý Tùng sinh năm 1966. Ông tốt nghiệp Cử nhân Hóa học (1988), Thạc sĩ Hóa học (1997) và Tiến sĩ Môi trường (2005). Hiện nay, ông công tác giảng dạy ở Khoa Môi trường, Trường ĐH Khoa học, ĐH Huế.

Lĩnh vực nghiên cứu: Hoá học, Kỹ thuật Môi trường, Vi sinh Môi trường.



Đặng Thị Thanh Lộc sinh năm 1981. Bà tốt nghiệp Cử nhân Khoa học Môi trường (2004), Thạc sĩ Khoa học Môi trường (2008) và Tiến sĩ Khoa học và Kỹ thuật môi trường (2017). Hiện nay, bà công tác giảng dạy ở Khoa Môi trường, Trường ĐH Khoa học, ĐH Huế.

Lĩnh vực nghiên cứu: Quan trắc Môi trường; Vi sinh môi trường; Các kỹ thuật xử lý nước và nước thải.



Lê Văn Tuấn sinh năm 1981. Ông tốt nghiệp Cử nhân Hóa học (2003), Thạc sĩ Khoa học Môi trường (2008) và Tiến sĩ Khoa học và Kỹ thuật môi trường (2014). Hiện nay, ông công tác giảng dạy ở Khoa Môi trường, Trường ĐH Khoa học, ĐH Huế.

Lĩnh vực nghiên cứu: Quan trắc Môi trường; Hóa học Môi trường; Vi sinh môi trường; Các kỹ thuật xử lý nước và nước thải.



Ngô Thị Bảo Châu hiện đang công tác nghiên cứu ở Khoa Sinh học, Trường ĐH Khoa học, ĐH Huế.

Lĩnh vực nghiên cứu: Vi sinh môi trường; Công nghệ sinh học.



Lê Thị Phương Chi sinh năm 1986. Bà tốt nghiệp Đại học, ngành Khoa học Môi trường năm 2008; và tốt nghiệp Thạc sĩ Khoa học Môi trường (2024). Hiện nay, bà công tác tại Trung tâm Y tế huyện Phú Vang, Tỉnh Thừa Thiên Huế.

Lĩnh vực nghiên cứu: Vi sinh môi trường; Khoa học Môi trường.