

## PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN CÁC CHỦNG VI SINH VẬT SỬ DỤNG CHO XỬ LÝ Bùn THẢI CÁ TRA LÀM PHÂN BÓN HỮU CƠ

Trần Thị Lua<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Nguyệt<sup>2</sup>, Nguyễn Việt Hiệp<sup>1</sup>, Hoàng Văn Tám<sup>3</sup>

### TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm tuyển chọn bộ chủng giống vi sinh vật có khả năng phân giải xenlulo, lân và protein để xử lý bùn thải ao nuôi cá tra làm phân bón hữu cơ. Từ 23 chủng vi sinh vật phân lập từ các mẫu bùn thải ao nuôi cá tra đã tuyển chọn được 3 chủng vi khuẩn, bao gồm chủng X7KN, Pi71.3 và PO3. Chủng X7KN có khả năng phân giải xenlulo, đường kính vòng phân giải 4,8 cm sau 20 giờ nuôi cấy, hoạt tính xenlulasa đạt 15,4 u/ml. Chủng Pi71.3 phân giải lân khó tan, đường kính vòng phân giải lân đạt 2,2 cm, lượng lân dễ tiêu tăng lên 4,5 lần so với đối chứng sau 5 ngày nuôi cấy. Chủng PO3 phân giải protein, đường kính vòng phân giải protein đạt 5,2 cm, hoạt tính phân giải protein đạt 0,95 U/ml sau 48 giờ nuôi cấy. Các chủng vi sinh vật tuyển chọn được định danh là *Bacillus tequilensis* X7KN, *Bacillus tequilensis* Pi71.3 và *Bacillus velezensis* PO3

---

<sup>1</sup> Viện Thổ nhưỡng Nông hóa - Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

<sup>2</sup> Viện Công nghệ sinh học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>3</sup> Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam

thuộc nhóm vi khuẩn an toàn sinh học cấp độ 1. Bùn thải ao nuôi cá tra có bổ sung phân bò theo tỉ lệ 7 : 3 sau 30 ngày xử lý bằng tổ hợp các chủng vi sinh vật có chất lượng đáp ứng tiêu chuẩn về phân hữu cơ theo quy định tại QCVN 01-189:2019/BNNPTNT.

Từ khóa: Bùn thải ao nuôi cá tra, vi sinh vật phân giải xenlulo, phân giải lân, phân giải protein

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Năm 2018 diện tích nuôi cá tra của các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long đạt 5.400 ha, với sản lượng đạt 1,42 triệu tấn. Trong đó, các tỉnh có diện tích nuôi lớn đạt sản lượng tăng mạnh là Đồng Tháp và An Giang. Theo Hiệp hội Chế biến và Xuất khẩu thủy sản Việt Nam, trong năm 2018 kim ngạch xuất khẩu thủy sản của cả nước đạt hơn 2.26 tỷ USD và cá tra tiếp tục là một trong những mặt hàng xuất khẩu quan trọng của ngành thủy sản (Nguyễn Hạnh, 2018).

Việc nuôi cá tra đem lại cho người dân rất nhiều nguồn lợi nhưng đồng thời cũng thải vào môi trường một lượng chất thải không hề nhỏ. Sau mỗi vụ nuôi cá tra đạt 300 tấn/ha thì tạo ra lượng bùn thải ao nuôi cá khoảng 2.677 tấn bùn ướt hoặc 937 tấn bùn khô (Cao Văn Thích, 2008). Bùn thải ao nuôi cá tra là chất thải của cá, lượng thức ăn thừa sau mỗi lần cho ăn và chứa nhiều vi sinh khuẩn gây bệnh. Bùn thải ao nuôi cá tra có hàm lượng kim loại nặng thấp, hàm lượng hữu cơ khoảng 7,3%, pH 6,3, đạm tổng số 0,33%, protein tổng số 2,5%, lân tổng số 0,74% và kali tổng số 0,62% (Hoàng Văn Tám và *ctv.*, 2019). Do bùn ao nuôi chứa nhiều chất hữu cơ có thể chuyển hóa thành các khí gây hại cho cá như  $H_2S$ ,  $NH_3$ ,  $NO_2^-$ ,  $CH_4$  và vi khuẩn hiếu khí phân giải chất hữu cơ trong bùn đáy ao tiêu tốn một lượng oxy đáng kể, ảnh hưởng đến tỉ lệ sống của cá nuôi, nên bùn thải ao nuôi phải được hút định kỳ và chỉ để lại khoảng 20 cm (Phạm Quốc Nguyên, 2014). Theo Trương Quốc Phú và Trần Kim Tính, hàm lượng các chất dinh dưỡng trong bùn đáy ao nuôi cá tra tương đối cao, hàm lượng các kim loại nặng thấp so với giới hạn cho phép của QCVN 03:2008/BTNMT và QĐ 36/2007/QĐ-BNN, có thể tái chế bùn đáy ao làm phân bón cho cây trồng.

Sản xuất theo chuỗi tuần hoàn là xu hướng phát triển của ngành nông nghiệp. Nhiều nghiên cứu đã công bố cho biết bùn thải ao nuôi trồng thủy sản sau khi chế biến có thể được sử dụng làm nguyên liệu sản xuất phân hữu cơ, hữu cơ khoáng hoặc làm giá thể trồng rau (Trương Quốc Phú và *ctv.*, 2012; Phạm Quốc Nguyên và *ctv.*, 2014; Nguyễn Đắc Kiên và *ctv.*, 2016; Nguyễn Văn Mạnh, 2016). Sử dụng bùn thải ao nuôi cá tra làm nguồn nguyên liệu sản xuất phân bón hữu cơ không chỉ tạo ra các sản phẩm phân bón phục vụ sản xuất nông nghiệp, mà còn xử lý được

ô nhiễm môi trường do chất thải chăn nuôi gây ra. Mục tiêu của công trình nghiên cứu là phân lập, tuyển chọn bộ chủng giống vi sinh vật sử dụng cho xử lý bùn thải ao nuôi cá tra làm phân bón hữu cơ.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Các mẫu bùn thải ao nuôi cá tra thu thập tại vùng Đồng Tháp, Cần Thơ, An Giang.

- Hóa chất và dụng cụ cần thiết sử dụng trong nuôi cấy và đánh giá hoạt tính phân giải hợp chất photphat khó tan, xenlulo, protein của các chủng vi sinh vật (VSV). Các môi trường Pikovskaya, Luria Bertani (LB), LB cải tiến, Ashby được sử dụng trong nuôi cấy VSV.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Xác định khả năng phân giải xenlulo của vi sinh vật theo TCVN 6168:2002 và xác định hoạt độ xenlulaza theo TCVN 12104:2018.

- Xác định khả năng phân giải lân của vi sinh vật theo TCVN 6167:1996 và định lượng photpho hữu hiệu trong dịch nuôi cấy theo TCVN 8565:2010.

- Xác định khả năng phân giải protein của vi sinh vật theo Võ Hồng Thi và cộng tác viên (2012) và xác định hoạt độ protease theo Sjodahl và cộng tác viên (2002).

- Định danh chủng *Bacillus* sp. theo Stein, (2005): DNA tổng số được tách chiết bằng GeneJET Genomic DNA purification Kit (Thermo Fisher Scientific, USA). Phản ứng PCR khuếch đại đoạn gene 16S rRNA sử dụng cặp mồi 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') và 1492R (5'-GGCTACCTTGTACGACTT-3') (Yuli Song *et al.*, 2005). Sản phẩm PCR được làm sạch giải trình tự trên máy ABI PRISM 3100 (Applied Biosystems, USA). So sánh kết hợp vẽ cây phát sinh chủng loại bằng BLAST được thực hiện với các trình tự DNA-16S rRNA từ các chủng vi khuẩn. Các trình tự DNA-16S rRNA tương đồng cao nhất của vi khuẩn trên ngân hàng gene (NCBI GenBank) cho các phân tích hệ, phát sinh loài (J D Thompson *et al.*, 1994) bằng phần mềm MEGA7.

- Phương pháp bố trí và thực hiện thí nghiệm xử lý bùn thải ao nuôi cá tra: Các thí nghiệm được ủ trong thùng xốp, khối lượng ủ 30 kg/thùng với

03 lần lặp lại/công thức, thí nghiệm bố trí tại nhà lưới Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam. Công thức thí nghiệm: CT1 (ĐC): Bùn thải ao nuôi cá tra + phân bò (tỉ lệ 7 : 3) + phụ gia (1% vôi, 1% cám gạo, 1% ri đường); CT2: Bùn thải ao nuôi cá tra + phân bò (tỉ lệ 7 : 3) + Phụ gia + 1 kg chế phẩm VSV/tấn. Chế phẩm vi sinh vật được tạo thành từ sinh khối các chủng vi sinh vật tuyển chọn có mật độ  $\geq 10^8$  CFU/g.

Theo dõi nhiệt độ đồng ù 01 lần/ngày (vào buổi sáng) bằng cách đo trực tiếp đồng ù bằng nhiệt kế 30 ngày, xác định pH, hàm lượng chất hữu cơ (OM), ni tơ tổng số của đồng ù trước và sau thí nghiệm theo TCVN 7185:2002.

### 2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Các nghiên cứu về việc tuyển chọn bộ chủng vi sinh vật hữu hiệu làm chế phẩm sử dụng trong xử lý bùn thải ao nuôi cá tra được thực hiện tại Bộ môn Vi sinh vật - Viện Thổ nhưỡng Nông hóa năm 2019 - 2020.

- Các thí nghiệm nghiên cứu quy trình xử lý bùn ao nuôi cá tra thành nguyên liệu sản xuất phân bón hữu cơ vi sinh được thực hiện tại Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam, năm 2019 - 2020.

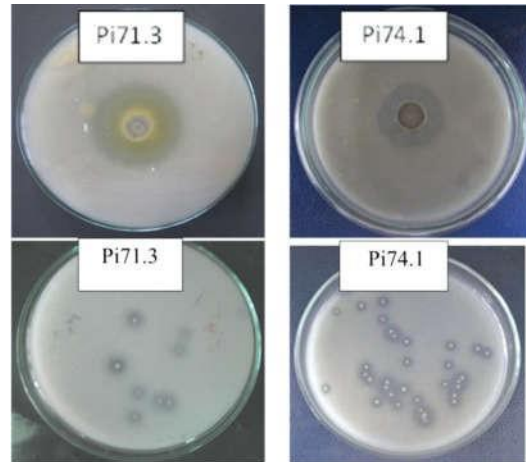
## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Tuyển chọn bộ chủng vi sinh vật

#### 3.1.1. Tuyển chọn vi sinh vật phân giải photphat khó tan

Từ 83 mẫu bùn ao nuôi cá thu được tại tỉnh Đồng Tháp, đã phân lập được 5 chủng vi sinh vật có khả năng tạo vòng phân giải trên môi trường chứa  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ; trong đó, 2 chủng ký hiệu Pi71.3 và Pi74.1 có đường kính vòng phân giải lớn nhất đạt 2,2 và 2,8 cm sau 5 ngày nuôi cấy (Hình 1). Kết quả khảo sát hàm lượng lân tan trong môi trường nuôi cấy xác định hàm lượng lân tan tăng dần theo thời gian nuôi cấy

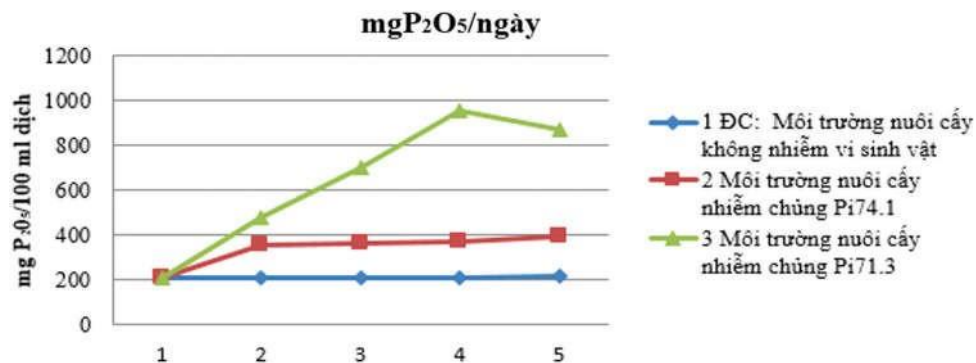
đạt 391 mg  $\text{P}_2\text{O}_5$ /100 mL môi trường sau 5 ngày nuôi cấy đối với chủng Pi74.1 và đạt 868 mg  $\text{P}_2\text{O}_5$ /100 mL môi trường đối với chủng Pi71.3, tăng gấp 4 lần so với đối chứng (Bảng 1). Hàm lượng lân tan trong môi trường nuôi cấy sử dụng chủng Pi74.1 tăng 81,8% so với đối chứng và tăng gấp 4 lần so với đối chứng, khi sử dụng chủng Pi71.3 (Hình 2).



Hình 1. Vòng phân giải lân của chủng Pi74.1, Pi71.3 trên môi trường đặc chứa  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$

Bảng 1. Khả năng phân giải lân trong môi trường lỏng chứa  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  của chủng Pi74.1 và Pi71.3 theo thời gian nuôi cấy

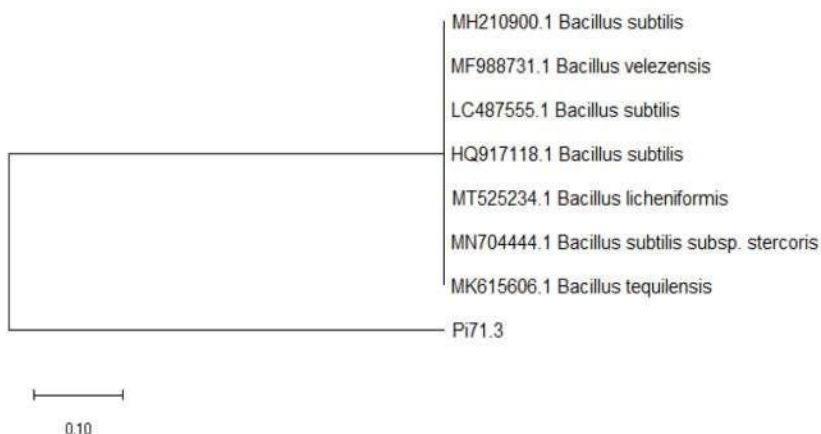
TT	Công thức thí nghiệm	Hàm lượng lân tan (mg $\text{P}_2\text{O}_5$ /100 mL môi trường) sau thời gian nuôi cấy (ngày)				
		0	2	3	5	7
1	Không nhiễm vi sinh vật	206	206	208	211	215
2	Nhiễm chủng Pi74.1	206	357	358	373	391
3	Nhiễm chủng Pi71.3	206	474	699	955	868



Hình 2. Khả năng phân giải  $\text{Ca}_2(\text{PO}_4)_2$  của chủng Pi74.1 và Pi71.3

Kết quả giải trình tự gen quả xác định chủng Pi71.3 gần với loài *Bacillus tequilensis* với mức độ tương đồng đạt 96,8% và chủng Pi71.3 được định danh là *Bacillus tequilensis* Pi71.3 thuộc nhóm

vi khuẩn an toàn sinh học cấp độ 1 theo TRBA 466 của liên minh châu Âu được sử dụng không hạn chế trong nông nghiệp và môi trường. Chủng Pi71.3 được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

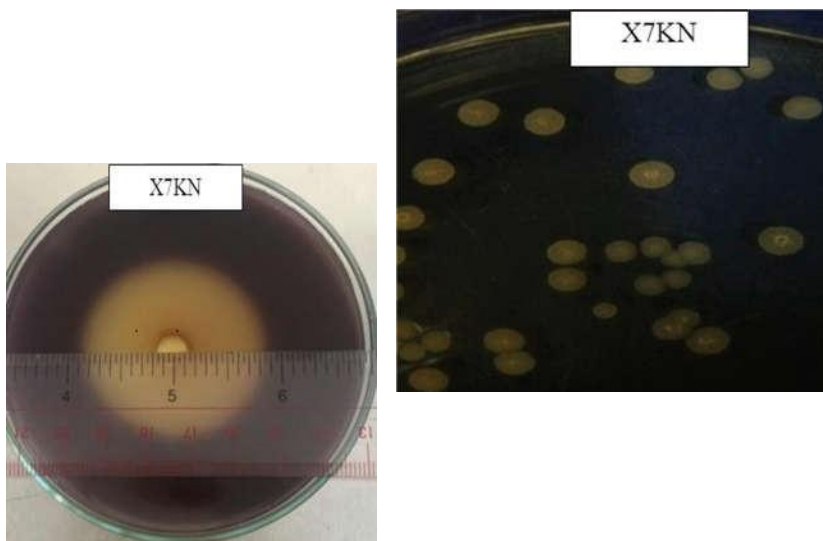


Hình 3. Cây phát sinh dựa trên trình tự gen của chủng P171.3 với các loài có quan hệ họ hàng gần

### 3.1.2. Tuyển chọn vi sinh vật phân giải xenlulo

Từ các mẫu bùn thải ao nuôi cá tra, 9 chủng vi sinh vật phân giải xenlulo được phân lập, có đường

kính vòng phân giải đạt 2,5 - 4,8 cm sau 20 giờ nuôi cấy, trong đó chủng vi khuẩn ký hiệu X7KN có đường kính vòng phân giải đạt 4,8 cm (Hình 4).



Hình 4. Vòng phân giải xenlulo của chủng X7KN

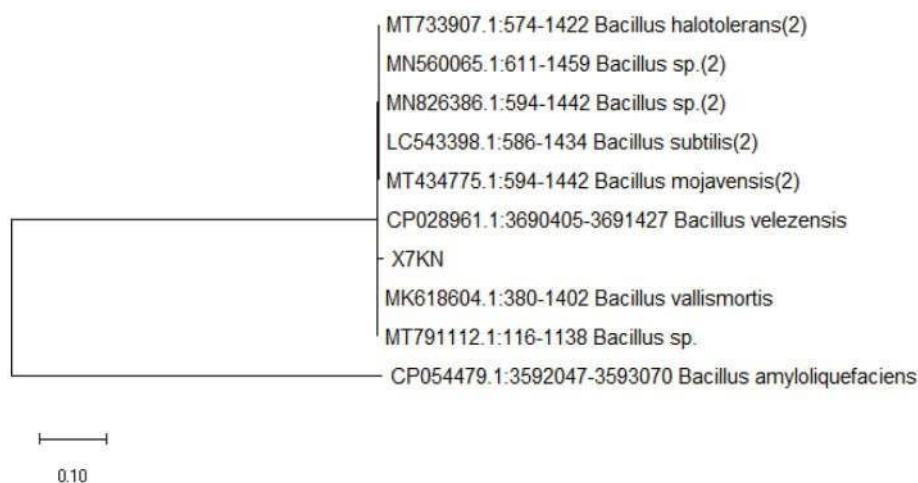
Kết quả kiểm tra hoạt độ xenlulase xác định chủng X7KN có hoạt độ xenlulase cao nhất, đạt 15,4 U/mL. Tổng hợp kết quả đánh giá hoạt tính phân giải xenlulo của các vi sinh vật phân lập được trình bày trong bảng 2.

Kết quả định danh bằng kỹ thuật sinh học phân tử xác định chủng X7KN có quan hệ gần với loài loài *Bacillus vallismortis* với độ tương đồng đạt 99,9% (Hình 5). Chủng X7KN được định danh là

*B. vallismortis* X7KN 3, thuộc nhóm vi khuẩn an toàn sinh học cấp độ 1 theo TRBA 466 của liên minh châu Âu được sử dụng không hạn chế trong nông nghiệp và môi trường.

Ký hiệu chủng vi sinh vật	Đường kính vòng phân giải (cm)	Hoạt độ xenlulase (U/mL)
X3	3,0	6,6
X3.5	4,0	7,9
X6.4	3,5	6,9
X7KN	4,8	15,4
X8	3,7	6,9
X15	4,5	13,7
X28	2,9	3,2
X32	3,1	5,4
X32.2	2,5	2,9

Bảng 2. Khả năng phân giải xenlulo của các chủng vi sinh vật phân lập



Hình 5. Cây phát sinh dựa trên trình tự gen của chủng X7KN với các loài có quan hệ họ hàng gần

### 3.1.3. Tuyển chọn vi sinh vật phân giải protein

Kết quả phân lập, đánh giá các chủng vi sinh vật phân giải protein từ bùn ao nuôi cá tra được tổng hợp trong bảng 3 xác định 2 chủng vi khuẩn ký hiệu P03 và P14 có hoạt tính phân giải cao nhất với đường kính vòng phân giải đạt lần lượt là 5,1 cm và 4,5 cm.

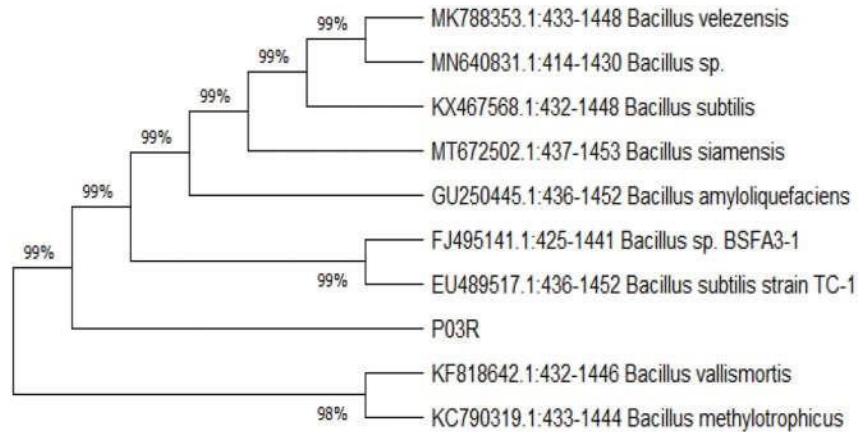
Hoạt độ protease đạt tương ứng là 0,95 và 0,87 U/mL, cao hơn chủng M5 phân lập từ nước thải và chế biến thủy hải sản theo công bố của Võ Hồng Thi (2012). Vi sinh vật phân giải protein có tác làm giảm mùi hôi trong đồng ủ.

Bảng 3. Khả năng phân giải protein của một số chủng vi sinh vật phân lập

Ký hiệu chủng vi sinh vật	Đường kính vòng phân giải (cm)	Hoạt độ protease (U/mL)	Ký hiệu chủng vi sinh vật	Đường kính vòng phân giải (cm)	Hoạt độ protease (U/mL)
P6.1	3,2	0,61	P7.11	1,9	0,15
P6.2	2,0	0,42	P7.12	3,9	0,71
P03	5,1	0,95	P6.13	2,7	0,49
P6.4	3,7	0,69	P14	4,5	0,87
P6.5	3,8	0,71	P5.15	2,8	0,50
P9.6	1,3	0,19	P5.16	1,6	0,21
P7.7	0,7	0,13	P17	2,7	0,47
P7.8	3,6	0,70	P18	3,0	0,58
P7.9	2,8	0,53	P19	2,5	0,48
P10	2,5	0,23			

Kết quả định danh đến loài 2 chủng P03 và P14 xác định chủng P03 có quan hệ gần với loài *B. velezensis* với độ tương đồng là 99,9% (Hình 6) và chủng P14 gần với loài *B. cereus* với độ tương đồng 98,7%. Chủng P03 được định danh là *B. velezensis* P03 và chủng P14 được định danh là *Bacillus cereus* P14.

Theo TRBA 466 của liên minh châu Âu, *B. velezensis* thuộc nhóm vi khuẩn an toàn cấp độ 1, được sử dụng không hạn chế trong nông nghiệp và môi trường, *B. cereus* thuộc nhóm vi khuẩn an toàn cấp độ 2, có thể gây bệnh cho người, động vật. Chủng P03 được sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 6. Cây phát sinh dựa trên trình tự gen của chủng P03 với các loài có quan hệ họ hàng gần

3.2. Khả năng sử dụng tổ hợp các vi sinh vật tuyển chọn trong xử lý bùn thải ao nuôi cá tra làm phân bón hữu cơ

Kết quả đánh giá động thái nhiệt độ khối ủ bùn thải ao nuôi cá tra và phân bón được thể hiện trong hình 7 cho thấy nhiệt độ đồng ủ sử dụng tổ hợp các vi sinh vật tuyển chọn cao hơn so với đối chứng không sử dụng vi sinh vật và đạt cao nhất sau 7 ngày ủ. Nhiệt độ ở công thức không bổ sung chế phẩm trở lại bình thường, tương đương với nhiệt độ môi trường sau 20 ngày, chiều cao của đồng ủ không giảm. Nhiệt độ đồng ủ có bổ sung sinh khối các vi

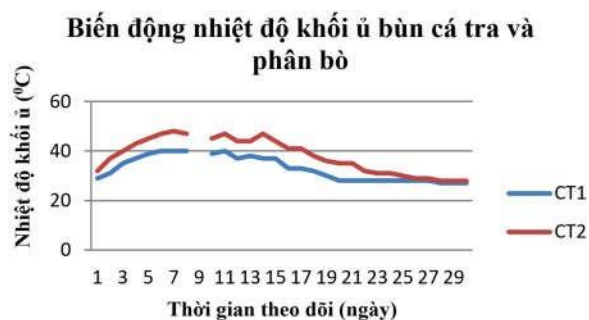
sinh vật tuyển chọn trở lại bình thường sau 26 ngày, chiều cao đồng ủ giảm 12%.

Kết quả đánh giá chất lượng của đồng ủ có và không sử dụng tổ hợp các vi sinh vật được trình bày tại bảng 4 cho thấy bùn thải ao nuôi cá tra có pH trung tính, tỷ lệ C/N = 11,8, chứa các vi sinh vật phân giải lân, phân giải xenlulo với mật độ > 10<sup>6</sup> CFU/g, không chứa các vi sinh vật gây bệnh hoặc kim loại nặng nguy hiểm, đáp ứng các chỉ tiêu chất lượng phân bón hữu cơ, hữu cơ vi sinh vật theo QCVN 01-189:2019/BNNPTNT.

Bảng 4. Các chỉ tiêu phân tích hóa học của bùn thải trước và sau ủ

TT	Chỉ tiêu phân tích	Đơn vị tính	Trước ủ	Sau ủ	
				Đối chứng	Thí nghiệm
1	pH <sub>H<sub>2</sub>O</sub>		6,87	6,78	6,89
2	OM	(%)	23,6	21,4	18,1
3	Nitơ tổng số	(%)	0,71	0,69	0,7
4	Tỷ lệ C/N		15,1	14,1	11,8
5	Vi sinh vật phân giải photphat	CFU/g	-	-	1,0 × 10 <sup>6</sup>
6	Vi sinh vật phân giải protein	CFU/g	-	-	1,8 × 10 <sup>6</sup>
7	Vi sinh vật phân giải xenlulo	CFU/g	-	-	3,3 × 10 <sup>6</sup>
8	Hàm lượng Pb	ppm	-	-	Không phát hiện
9	Hàm lượng Cd	ppm	-	-	< 0,5
10	Hàm lượng Hg	ppm	-	-	Không phát hiện
11	Hàm lượng As	ppm	-	-	< 1,29
12	<i>E. coli</i>	MPN/g	-	-	Không phát hiện
13	<i>Salmonella</i> spp.	/25g	-	-	Không phát hiện

Ghi chú: “-” không kiểm tra.



Hình 7. Động thái nhiệt độ của đồng ủ

#### IV. KẾT LUẬN

Bộ chủng vi sinh vật được tuyển chọn cho xử lý bùn thải ao nuôi cá tra gồm chủng vi khuẩn ký hiệu X7KN có khả năng phân giải xenlulo với đường kính vòng phân giải đạt 4,8 cm và hoạt độ enzyme đạt 15,4 U/mL sau 2 ngày nuôi cấy; chủng vi khuẩn ký hiệu PO3 có khả năng phân giải protein, với đường kính vòng phân giải đạt 5,1 cm và hoạt độ proteasa đạt 0,95 sau 2 ngày nuôi cấy, chủng vi khuẩn ký hiệu Pi71.3 có khả năng phân giải lân với đường kính vòng phân giải đạt 2,2 cm và hoạt tính phân giải  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  đạt 955 mg sau 5 ngày nuôi cấy. Các chủng vi sinh vật tuyển chọn được định danh là *Bacillus tequilensis* X7KN, *B. velezensis* PO3 và *B. tequilensis* Pi71.3. Sử dụng tổ hợp các vi sinh vật tuyển chọn xử lý bùn thải ao nuôi cá tra có bổ sung phân bò 30 ngày ủ tạo sản phẩm có chất lượng đáp ứng tiêu chuẩn về phân hữu cơ theo QCVN 01-189:2019/BNNPTNT.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Hạnh, 2018. Năm 2018: Xuất khẩu thủy sản đạt kỷ lục 9 tỷ USD. <https://tapchitaichinh.vn/nghiencuu-trao-doi/nam-2018-xuat-khau-thuy-san-dat-ky-luc-9-ty-usd-301242.html>.

Nguyễn Đắc Kiên, Nguyễn Quang Trung, Nghiêm Thị Duyên, Lê Thị Hoàng Oanh, Nguyễn Thị Hà, 2016. Tận dụng bùn thải ao nuôi tôm để sản xuất phân bón hữu cơ. *Tap chí Khoa học, Đại học Quốc gia Hà Nội: Khoa học Trái đất và Môi trường*, Tập 32, Số 1: 231-237.

Nguyễn Văn Mạnh, 2016. *Nghiên cứu xử lý bùn thải ao nuôi tôm thâm canh thành phân hữu cơ tại huyện Đầm Dơi, tỉnh Cà Mau*. Luận án tiến sĩ, Trường Đại học Cần Thơ.

Phạm Quốc Nguyên, Nguyễn Văn Bé và Nguyễn Văn Công, 2014. Xác định số lượng, chất lượng bùn đáy ao nuôi cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) và sử dụng trong canh tác rau. *Tap chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ, Phần A: Khoa học Tự nhiên, Công nghệ và Môi trường*: 35 (2014): 78-89.

Hoàng Văn Tám, Đỗ Thị Thanh Trúc, Mai Thanh Trúc, 2019. Báo cáo tổng kết năm 2019 của đề tài “Nghiên cứu công nghệ sản xuất phân bón hữu cơ vi sinh từ bùn ao nuôi cá tra”. Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam.

QCVN 01-189:2019/BNNPTNT, 2019. Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về chất lượng phân bón.

TCVN 6167:1996. Phân bón vi sinh vật phân giải hợp chất photpho khó tan.

TCVN 6168:2002. Chế phẩm vi sinh vật phân giải xenlulo.

TCVN 5979:2007. Chất lượng đất - xác định pH.

TCVN 6846-2007 (ISO 7251:2005). Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp phát hiện và định lượng *Escherichia coli* - Kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất.

TCVN 8557:2010. Phân bón - Phương pháp xác định nitơ tổng số.

TCVN 8565:2010. Phân bón vi sinh vật - Phương pháp xác định hoạt tính phân giải photphat của vi sinh vật.

TCVN 9294:2012. Phân bón - Xác định cacbon hữu cơ tổng số bằng phương pháp Walkley-Black.

TCVN 10780-1:2017. Vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm - Phương pháp phát hiện, định lượng và xác định typ huyết thanh của *Salmonella* - Phần 1: Phương pháp phát hiện *Salmonella* spp.

TCVN 10676:2015. Phân bón - xác định hàm lượng thủy ngân tổng số bằng phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử - kỹ thuật hóa hơi lạnh.

TCVN 11403:2016. Phân bón - xác định hàm lượng asen tổng số bằng phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử.

TCVN 9290:2018. Phân bón - xác định hàm lượng chì tổng số bằng phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử ngọn lửa và nhiệt điện (không ngọn lửa).

TCVN 9291:2018. Phân bón - xác định hàm lượng cadimi tổng số bằng phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử ngọn lửa và nhiệt điện (không ngọn lửa).

TCVN 12104:2018. Vi sinh vật phân giải xenlulo - Xác định hoạt độ xenlulaza.

Cao Văn Thích, 2008. *Biến đổi chất lượng nước và tích lũy vật chất dinh dưỡng trong ao nuôi cá tra thâm canh*. Luận văn tốt nghiệp thạc sĩ nuôi trồng thủy sản. Đại học Cần Thơ.

Võ Hồng Thi, Nguyễn Hoàng Mỹ, Nguyễn Phạm Huyền, 2012. Hoạt tính protease của một số chủng *Bacillus* phân lập từ nước thải chế biến thịt và thủy hải sản. *Tap chí Khoa học, Đại học Quốc gia Hà Nội, Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, 28: 116-124.

Trương Quốc Phú, Trần Kim Tính và Huỳnh Trường Giang, 2012. Khả năng sử dụng bùn thải ao nuôi cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) thâm canh cho canh tác lúa. *Tap chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, 2012: 24: 135-143.



- Trương Quốc Phú và Trần Kim Tính, 2012. Thành phần hóa học bùn đáy ao nuôi cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) thâm canh. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, 2012: 22a: 290-299
- Võ Văn Phước Quê và Cao Ngọc Diệp, 2011. Phân lập và nhận diện vi khuẩn phân giải cellulose. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, 18a: 177-184.
- Stein, T., 2005. Bacillus subtilis antibiotics: structures, syntheses and specific functions. *Molecular microbiology* 56(4): 845-857.
- Sjodahl J., Emmer A., Vincent J. and Roeraade J., 2002. Characterization of proteinases from Antarctic krill (*Euphausia superba*). *Protein Expression and Purification*, 26: 153-161.
- Thompson J.D., D.G. Higgins, T.J. Gibson, 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic acids research* 22(22): 4673-4680.
- Yuli Song, Chengxu Liu, Mauricio Bolaños, Julia Lee, Maureen McTeague, and Sydney M. Finegold, 2005. Evaluation of 16S rRNA sequencing and reevaluation of a short biochemical scheme for identification of clinically significant Bacteroides species. *Journal of clinical microbiology*, 43(4): 1531-1537.
- TRBA 466. *Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea) in Risikogruppen, Ausgabe August 2015.* <http://www.gda-portal.de/VorschriftenRegeln/VorschriftenRegeln.html>.

### Isolation and selection of catfish-sludge decomposing microorganism for organic fertilizer production

Tran Thi Lua, Nguyen Thi Nguyet, Nguyen Viet Hiep, Hoang Van Tam

#### Abstract

The study aims to select a collection of the microbial strains capable of composting cellulose, phosphate and protein to treat the sludge of catfish farming ponds for making organic fertilizers. Three bacterial strains, including X7KN, Pi71.3 and PO3 were selected from 23 strains isolated from samples of catfish pond sludge. The X7KN strain is capable of composting cellulose with the diameter of clear zone of 4.8 cm after 20 hours of culture; cellulase activity reached 15.4 U/mL. The Pi71.3 strain has P-solubilization activity with the diameter of 2.2 cm and increases available P- content of 4.5 folds in comparison to the control after 5 days of culture. The PO3 strain has proteolysis ability with the diameter of clear zone of 5.2 cm and proteolysis activity of 0.95 U/mL after 48 hours of culture. The selected bacterial strains were determined as *Bacillus tequilensis* X7KN, *Bacillus velezensis* PO3 and *Bacillus tequilensis* Pi71.3 and they were belonged to bacteria of biosafety level 1. Compost from catfish sludge complemented with cow manure at the ratio of 7:3 by using the selected microbial strains after 30 days of composting, had the quality meeting the microbial organic fertilizer of the national standard QCVN 01-189:2019/BNNPTNT.

Keywords: Catfish farming sludge, cellulolytic bacteria, proteolysis bacteria, phosphate solubilizing bacteria

Ngày nhận bài: 29/3/2021

Ngày phản biện: 19/4/2021

Người phản biện: GS. TS. Phạm Văn Toàn

Ngày duyệt đăng: 27/4/2021