

# HIỆU QUẢ GIẢM TỔNG NITƠ AMONIAC TRONG NƯỚC NGỌT VÀ LỢ CỦA BÀO TỬ *Bacillus polymyxa* NGUỒN GỐC ẤN ĐỘ

Lê Việt Dũng<sup>1\*</sup>, Sầm Văn Hải<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam  
<sup>2</sup>Công ty Cổ phần Giải pháp thú y GreenTech Việt Nam

\*Tác giả liên hệ: leviethung@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 14.01.2025

Ngày chấp nhận đăng: 18.04.2025

## TÓM TẮT

Tổng nitơ amoniac (TAN) cao có khả năng chuyển hóa thành amoniac gây độc cho động vật thủy sản trong điều kiện pH cao. Nghiên cứu này đánh giá khả năng giảm TAN trong nước của bào tử *Bacillus polymyxa* nhập khẩu từ Ấn Độ trong môi trường giả lập. Liều 1g bào tử (5,3 tỉ CFU/g) được bổ sung vào môi trường nước ngọt và nước lợ (17ppt) có nồng độ TAN 0,5; 2,5; 5,0; 7,5 và 10 mg/l. TAN được đo bằng test kit A3 (Otanics, Việt Nam). Sau 24h sục khí, TAN đều giảm xuống mức thấp. Tốc độ giảm TAN tối đa đạt 0,16-0,18 mg/l/h ở nồng độ TAN 5 mg/l. Bào tử có khả năng hoạt động trong nước lợ tốt hơn nước ngọt. Cần thêm nghiên cứu để tăng hiệu quả sử dụng bào tử *B. polymyxa*.

Từ khóa: Amoni, amoniac, *Bacillus*, bào tử, xử lý.

## Effectiveness of Total Ammonia Nitrogen Reduction in Freshwater and Brackish Water of *Bacillus polymyxa* Spores of Indian Origin

### ABSTRACT

High total ammonia nitrogen (TAN) can be converted into toxic ammonia under high pH, posing a threat to aquatic animals. This study evaluated the ability of *Bacillus polymyxa* spores imported from India in reduction of TAN in a simulated environment. 1g dose of spores (5.3 billion CFU/g) was added to freshwater and brackish water (17ppt) with TAN concentrations of 0.5, 2.5, 5.0, 7.5, and 10 mg/l. TAN was determined using a test kit A3 (Otanics, Vietnam). After 24 hours of aeration, TAN levels decreased significantly. The maximum TAN reduction rate reached 0.16-0.18 mg/l/h at a concentration of 5 mg/l. The spores exhibited better activity in brackish water than in freshwater. Further research is needed to improve the effectiveness of *B. polymyxa* spores.

Keywords: Ammonium, ammonia, *Bacillus*, spore, treatment.

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong các hệ thống thâm canh và bán thâm canh, mật độ thả giống cao cùng với thức ăn giàu protein thường dẫn đến suy giảm chất lượng nước. Sự tích tụ của chất hữu cơ từ phân và thức ăn thừa cũng thúc đẩy sự hình thành amoniac trong nước (Avnimelech, 1999; Wu & cs., 2017) và hệ quả gây độc cho động vật thủy sản (Armstrong & cs., 2012). Tổng nitơ amoniac (Total Ammonia Nitrogen, TAN) gồm amoni  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  và thành phần độc amoniac  $\text{NH}_3$  (Alcaraz & cs., 1999). Amoni có thể xâm nhập vào động vật thủy sản thông qua đường mang

làm giảm khả năng vận chuyển oxy trong máu, phá hủy hệ thống bài tiết và cân bằng thẩm thấu của cơ thể (Lin & cs., 2022). Sau đó, các triệu chứng như khó thở, giảm ăn, giảm sức đề kháng xảy ra, làm giảm tỉ lệ sống của động vật thủy sản (Randall & Sui, 2002). Trong những năm gần đây, phương pháp quản lý chất lượng nước dựa trên các vi khuẩn dị dưỡng loại bỏ amoniac được ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản (Crab & cs., 2007). Phương pháp này sử dụng tỉ lệ carbon/nitơ cao để kích thích sự nhân sinh của vi khuẩn dị dưỡng và trực tiếp chuyển hóa amoni/amoniac thành protein vi khuẩn (Ebeling & cs., 2006). Nhiều nghiên cứu đã quan

sát thấy việc sử dụng loài *Bacillus subtilis* có hiệu quả trong việc giảm tải chất hữu cơ và amoniac (Xie & cs., 2023; Zhou & cs., 2019). Gần đây, loài *B. polymyxa* cũng được quan tâm ứng dụng trong thủy sản do khả năng tạo bào tử của chúng như *B. subtilis*.

*Bacillus polymyxa* là một loại vi khuẩn Gram dương, có dạng hình que, có khả năng tạo bào tử và không gây bệnh. Vi khuẩn này sống ở vùng rễ thực vật và nội sinh trong cây. Chúng hiếm khi được tìm thấy trong trầm tích biển hoặc thực phẩm lên men. Nhờ khả năng sống sót trong điều kiện khắc nghiệt, bao gồm nhiệt độ cao, chất diệt khuẩn, áp suất và tia UV, bào tử của *B. polymyxa* có thể chịu được quá trình thanh trùng và tồn tại trong thiết bị công nghiệp. *B. polymyxa* tạo ra nhiều hợp chất kháng khuẩn (các chất chuyển hóa thứ cấp) - như lipopeptide polymyxin, fusaricidin - có khả năng hữu ích trong điều trị các bệnh nhiễm trùng kháng nhiều loại thuốc và các tác nhân gây bệnh vi khuẩn khác trên động vật thủy sản (Daud & cs., 2019). Tác dụng tăng miễn dịch và đối kháng vi khuẩn gây bệnh của *B. polymyxa* trên cá rô phi, cá chép, cá trắm cỏ, tôm thẻ chân trắng đã được nghiên cứu (Amoah & cs., 2020; Gupta & cs., 2016; Sebastian & cs., 2019; Sebastian & cs., 2017; Yang & cs., 2023). Tuy nhiên, ít có nghiên cứu về khả năng giảm amoniac trong nước của loài này. Vì thế, mục tiêu của nghiên cứu này nhằm đánh giá khả năng loại bỏ tổng nitơ amoniac của *B. polymyxa* trong nước ngọt và nước lợ.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Thiết kế thí nghiệm

Hiệu quả loại bỏ tổng nitơ amoniac (TAN) của *Bacillus polymyxa* được thử nghiệm trong 2 thí nghiệm 1 nhân tố: môi trường nước 0ppt và 17ppt. Mỗi thí nghiệm có 6 nghiệm thức tương ứng với các nồng độ TAN trong nước khác nhau: 0; 0,5; 2,5; 5,0; 7,5 và 10ppm (ký hiệu tương ứng: T0, T0.5, T2.5, T5, T7,5 và T10). Nước ngọt được bơm từ giếng khoan, rồi được loại sắt bằng  $KMnO_4$  và Polyaluminium Chloride. Nước biển 35ppt được pha với nước ngọt để tạo nước lợ 17ppt. Nước được lọc qua túi PE 10 $\mu$ m trước khi sử dụng.  $NH_4Cl$  được sử dụng để tạo môi trường

có nồng độ tổng nitơ amoniac như mong muốn. Môi trường nước được điều chỉnh về pH 8,0 bằng NaOH 1M trước khi thí nghiệm.

Dùng 5g chế phẩm bào tử *B. polymyxa* (5,3 tỉ CFU/g cung cấp bởi KeyBio Việt Nam, nguồn gốc Ấn Độ) và 5g đường trắng cho vào trong các chai 5l nước 0 và 17ppt có TAN ở các nồng độ khác nhau lần lượt là: 0; 0,5; 2,5; 5,0; 7,5 và 10ppm. Mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần tương đương 3 chai. Sục khí được duy trì trong suốt quá trình thí nghiệm. Ngoài ra, một nghiệm thức trắng (blank) ở nồng độ 10ppm của TAN chỉ có sục khí, không bổ sung vi sinh được sử dụng để hiệu chỉnh lượng bay hơi tự nhiên của amoniac cho toàn bộ các nghiệm thức. Thu 5ml mẫu nước mỗi 8 tiếng để đo pH và TAN trong 24h bằng test kit A3 (Otanics, Việt Nam). Trước và sau thí nghiệm, các chỉ tiêu nhiệt độ, oxy được đo bằng đầu cảm biến DO200 (YSI, Mỹ).

### 2.2. Xử lý số liệu

Nồng độ TAN được hiệu chỉnh bằng giá trị TAN đo được ở các nghiệm thức trừ giá trị TAN ở nghiệm thức trắng.

Tốc độ giảm TAN (mg/l/h) được tính bằng sự chênh lệch giá trị TAN trên thời gian theo dõi:  $\Delta TAN = (TAN_t - TAN_{t_0}) / (t - t_0)$ , trong đó, t và  $t_0$  là thời gian cuối và thời gian đầu.

Hiệu quả xử lý TAN được tính theo phần trăm giá trị nồng độ ban đầu:  $H = (TAN_t / TAN_{t_0}) \times 100\%$ .

Số liệu phần trăm được chuyển dạng logarit trước khi phân tích. Các số liệu được tính toán giá trị trung bình, độ lệch chuẩn và so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức bằng phép phân tích ANOVA một nhân tố và phép thử Tukey sử dụng phần mềm Minitab 16 với độ tin cậy 95%.

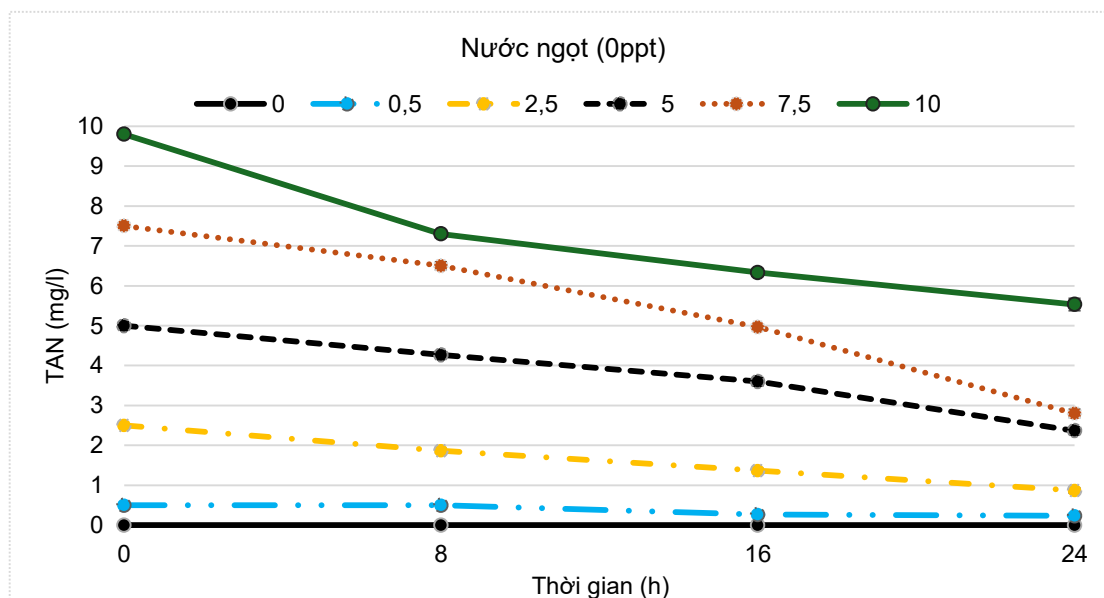
## 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 3.1. Ảnh hưởng của *Bacillus polymyxa* tới các mức TAN theo thời gian trong môi trường nước ngọt

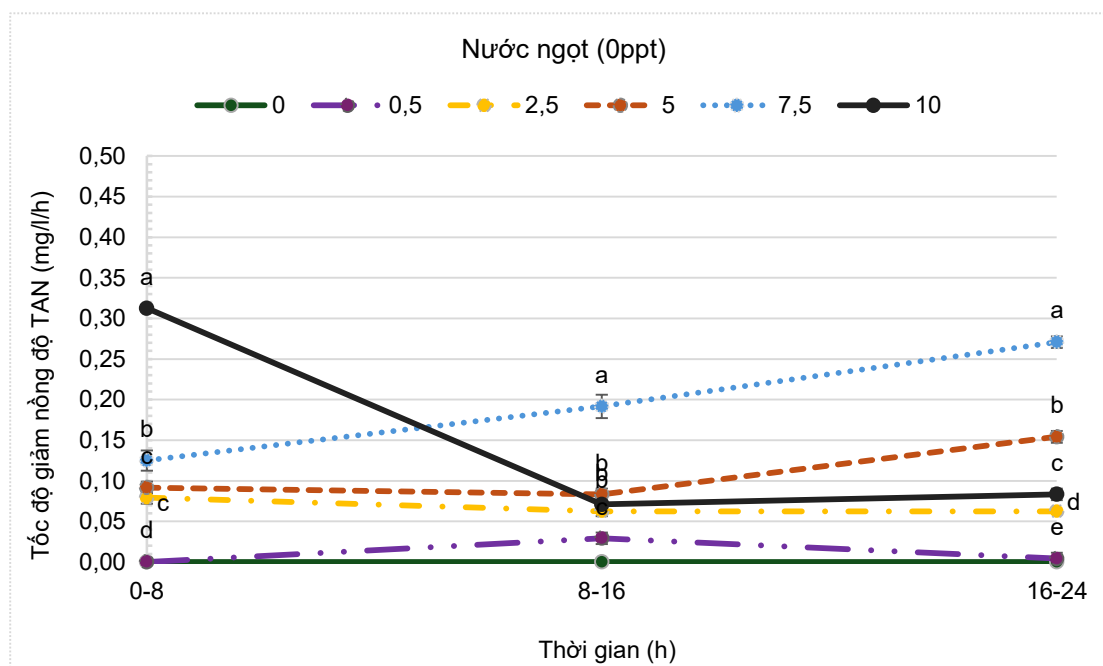
Nồng độ TAN giảm rõ trong tất cả các nghiệm thức đối với môi trường nước ngọt sau 24h: từ 10 xuống 6,07ppm; 7,5 xuống 2,80ppm; 5 xuống 2,37ppm, 2,5 xuống 0,87; 0,5 xuống

0,23ppm (Hình 1). Ở khoảng thời gian từ 0-8h, nghiệm thức T10 có tốc độ giảm TAN nhanh nhất, sau đó tới T7,5, chậm nhất ở T0,5 (P <0,05, Hình 2a), trong khi đó, không có sự khác biệt về tốc độ giảm TAN giữa T5 và T2,5 (P >0,05). Trong 8-16h, tốc độ giảm TAN ở T7,5

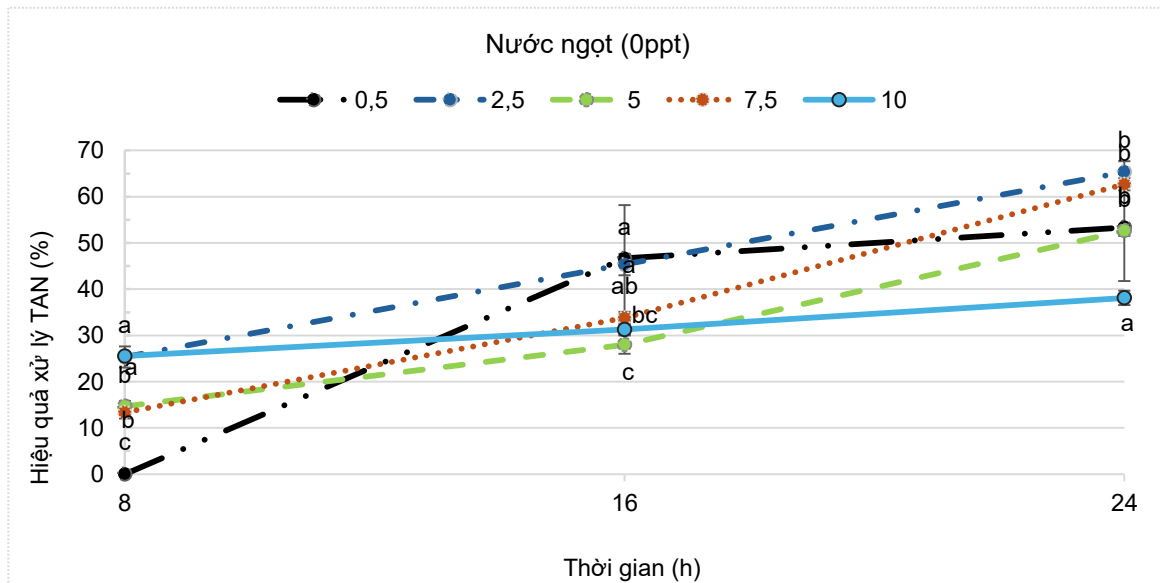
cao hơn các nghiệm thức còn lại (P <0,05), ngược lại, tốc độ giảm TAN ở T10 giảm xuống không khác biệt với T5, và T2,5 (P >0,05). Cuối thí nghiệm 16-24h, tốc độ giảm TAN ở cả 5 nghiệm thức đều khác biệt nhau (P <0,05, Hình 2a).



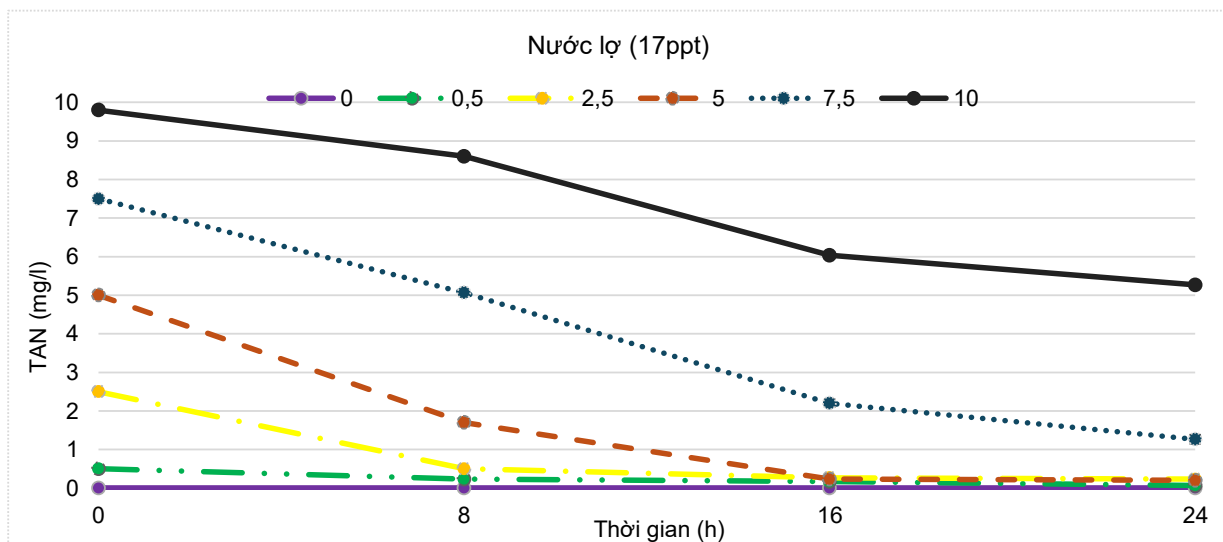
**Hình 1. Ảnh hưởng của *Bacillus polymyxa* tới các mức TAN (mg/l) theo thời gian trong môi trường nước ngọt**



**Hình 2a. Tốc độ giảm nồng độ TAN theo các quãng thời gian 8h (mg/l/h) trong môi trường nước ngọt khi bổ sung *B. polymyxa***



Hình 2b. Hiệu quả xử lý TAN trong nước ngọt của *B. polymyxa* theo thời gian (%)



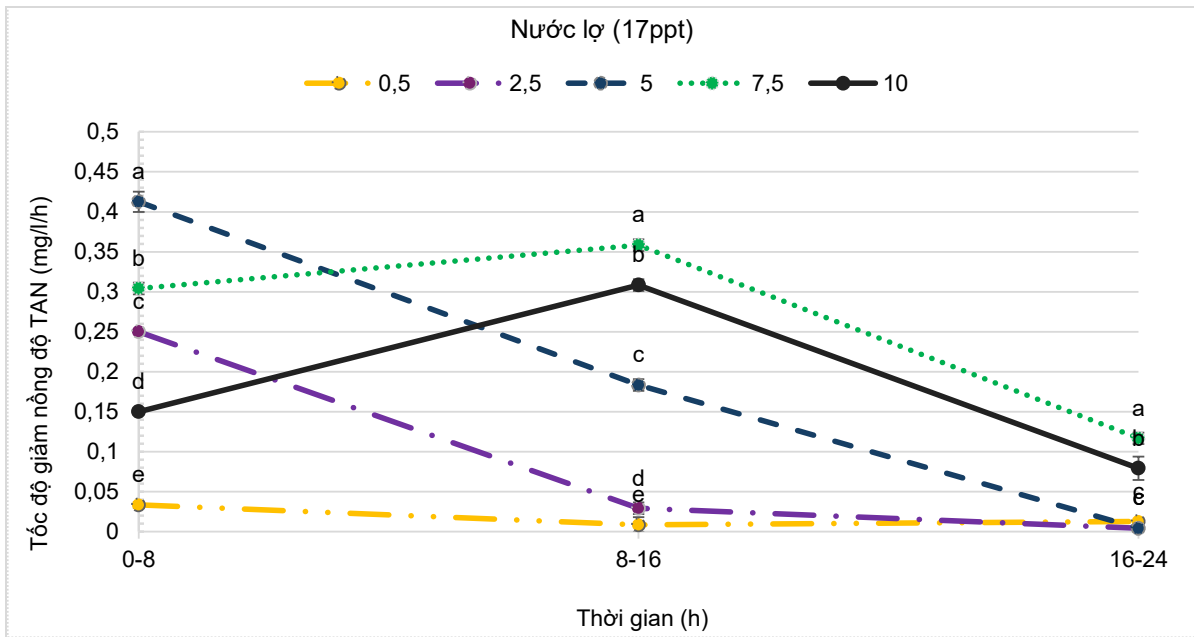
Hình 3. Sự thay đổi của TAN (mg/l) theo thời gian trong môi trường nước lợ 17ppt sau bổ sung *B. polymyxa*

Hiệu quả xử lý TAN giữa các nghiệm thức có khác nhau nhưng đều có xu hướng tăng dần theo thời gian (Hình 2b). Sau 8h, hiệu quả xử lý TAN cao nhất ở các nghiệm thức T2,5 và T10 (khoảng 25%,  $P < 0,05$ ), thấp nhất ở nghiệm thức T0,5 (0%,  $P < 0,05$ ) và không có sự khác biệt giữa hai nghiệm thức T7,5 và T5 ( $P > 0,05$ , Hình 3b). Sau 16h, hiệu quả xử lý TAN ở T0,5 tăng lên cao nhất tương đương với ở T2,5, T7,5, trong khi đó, hiệu quả xử lý TAN thấp nhất ở T10 và T5 ( $P < 0,05$ ). Cuối thí nghiệm, hiệu quả xử lý TAN ở T10 thấp

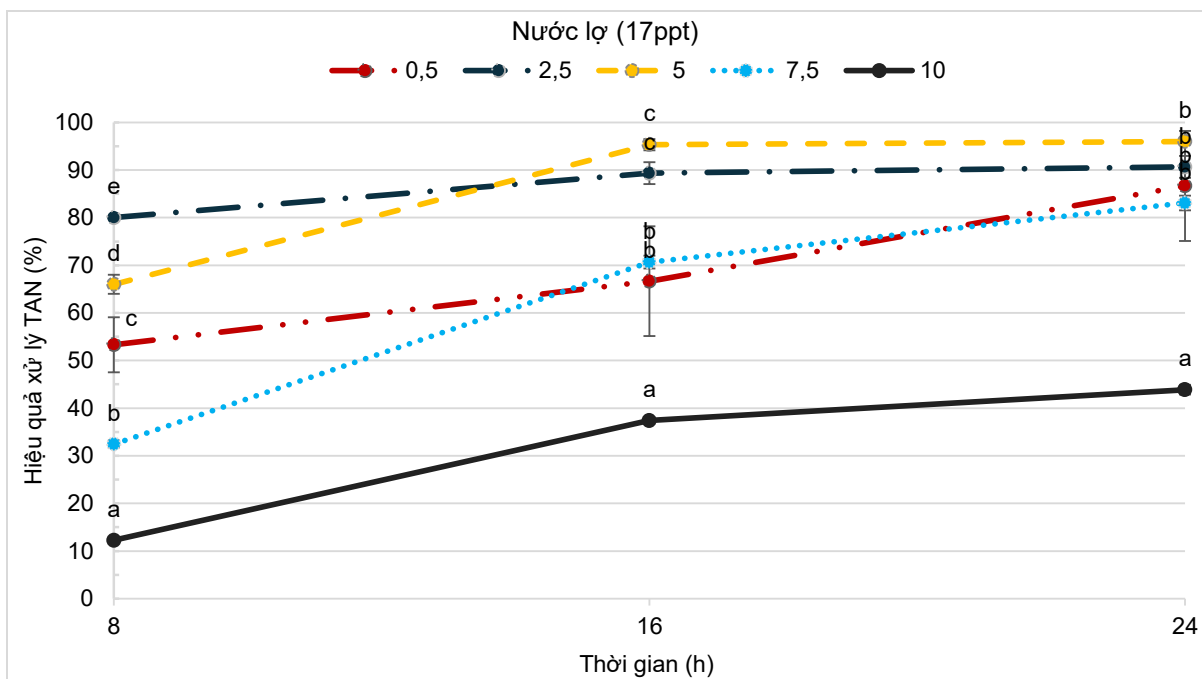
nhất ( $P < 0,05$ ) và không có sự khác biệt giữa các nghiệm thức còn lại ( $P > 0,05$ , Hình 2b).

### 3.2. Ảnh hưởng của *Bacillus polymyxa* tới các mức TAN theo thời gian trong môi trường nước lợ 17ppt

TAN trong nước lợ 17ppt với các mức ban đầu 0,5-10 mg/l đều giảm sau khi bổ sung *B. polymyxa* (Hình 3). Sau 24h, TAN giảm từ 9,8 xuống 5,27; từ 7,5 xuống 1,27; từ 5 và 2,5 xuống 0,2-0,23 và từ 0,5 xuống 0,07 mg/l.



**Hình 4a. Tốc độ giảm nồng độ TAN theo các quãng thời gian 8h (mg/l/h) trong môi trường nước lợ 17ppt khi bổ sung *B. polymyxa***



**Hình 4b. Hiệu quả xử lý TAN trong nước lợ 17ppt của *B. polymyxa* theo thời gian (%)**

Có sự khác biệt về tốc độ giảm TAN giữa các nghiệm thức ở các khoảng thời gian 0-8h, 8-16h và 16-24h ( $P < 0,05$ ; Hình 4a). Tốc độ giảm TAN trong 0-8h cao nhất ở T5, tiếp đến ở các T7,5; T2,5; T10 và T0,5 mg/l ( $P < 0,05$ ). Trong 8h tiếp theo, tốc độ giảm TAN cao nhất ở nghiệm

thức T7,5 và tiếp đến ở các nghiệm thức T10; T5; T2,5 và T0,5 mg/l ( $P < 0,05$ ). Trong 8h cuối thí nghiệm, tốc độ giảm TAN vẫn cao nhất ở nghiệm thức T7,5 mg/l và T10 mg/l ( $P < 0,05$ ), tuy nhiên, không có sự khác biệt ở các nghiệm thức còn lại ( $P > 0,05$ ). Có thể thấy khi nồng độ TAN ở mức

khoảng 5 mg/l thì tốc độ giảm TAN là cao nhất trong 8h tiếp theo (ví dụ: 0-8h nghiệm thức T5 và 8-16h nghiệm thức T7,5). Tuy nhiên, vào thời điểm 16h, khi TAN của nghiệm thức T10 chỉ còn 6 mg/l thì tốc độ giảm TAN trong 16-24h lại giảm. Điều này có thể do một số yếu tố dinh dưỡng bị hạn chế sau 16h hoạt động. Thực vậy, khi nồng độ TAN khoảng 2-2,5 mg/l thì tốc độ giảm TAN của nghiệm thức T7,5 vào thời gian 16-24h cũng thấp hơn của T2,5 trong 0-8h.

Hiệu quả xử lý TAN sau 8h cao nhất ở nghiệm thức T2,5 (80%), sau đó tới T5; T0,5; T7,5ppm, thấp nhất ở nghiệm thức T10ppm ( $P > 0,05$ ; Hình 4b). Sau 16h, hiệu quả xử lý TAN cao nhất ở nghiệm thức T2,5 và T5 ( $P < 0,05$ ) và không có sự khác biệt giữa chúng ( $P > 0,05$ ). Sau 24h, hiệu quả xử lý TAN ở nghiệm thức T10 vẫn thấp nhất ( $P < 0,05$ ) và không còn sự khác biệt giữa các nghiệm thức còn lại ( $P > 0,05$ ).

#### 4. THẢO LUẬN

Kết quả nghiên cứu này chỉ ra nồng độ ban đầu TAN cao có tác dụng ức chế *B. polymyxa*, làm giảm khả năng loại bỏ TAN của chúng. Các nghiên cứu trước cũng chỉ ra xu hướng tương tự với *Bacillus* sp. L2 (Li & cs., 2024). Xét về hiệu quả loại bỏ TAN trong điều kiện thí nghiệm, nồng độ TAN ban đầu tối ưu với *B. polymyxa* là 5 mg/l.

Tốc độ giảm TAN và hiệu quả xử lý cao nhất trong nước 17ppt sau 24h của *B. polymyxa* tại các nồng độ ban đầu 10; 7,5; 5 và 2,5ppm trong nghiên cứu này tương ứng đạt 0,11-0,30 mg/l/h và 43-96%. So với các chủng vi khuẩn *Bacillus* khác, *B. polymyxa* trong nghiên cứu này thể hiện tốc độ giảm TAN ở mức trung bình. *Bacillus* WY3.3, *Bacillus* sp. L2 và *B. subtilis* H1 có tốc độ giảm TAN 1,4-1,8 mg/l/h và hiệu quả xử lý 85-90% ở mức TAN ban đầu 41 mg/l (Li & cs., 2024; Trương Vũ Luân & cs., 2024; Xie & cs., 2023; Zhao & cs., 2017). Trong khi đó, *B. firmus*, *B. idriensis*, *B. zhangzhouensis*, *B. horikoshii*, *B. australimaris*, *B. litoralis* N31 có tốc độ giảm TAN 0,1-0,26 mg/l/h và hiệu quả xử lý 36-74% ở mức TAN ban đầu 10 mg/l (Huang & cs., 2013; Zhang & cs., 2022). Tuy nhiên, các nghiên cứu trước đều sử dụng vi khuẩn đã được kích hoạt với nồng độ cao thay vì bào tử như trong nghiên cứu này (Bảng 1).

Đáng chú ý có sự tích lũy  $\text{NO}_2^-$  và  $\text{NO}_3^-$  đáng kể sau 24h trong nghiên cứu này (số liệu không công bố). Điều này chứng tỏ *B. polymyxa* trong nghiên cứu này theo con đường nitrat hóa dị dưỡng  $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NH}_2\text{OH} \rightarrow \text{NO}_2^- (\leftrightarrow \text{NO}_3^-)$  tương tự như các vi khuẩn *Chryseobacterium* sp., *Proteus mirabilis*, *Bacillus* sp. L2, *B. subtilis* A1 (Kundu & cs., 2014; Li & cs., 2024; Yang & cs., 2011; Zhang & cs., 2014). Gần đây, các nhà nghiên cứu còn phát hiện khả năng loại bỏ  $\text{NH}_4^+$  của *Bacillus* theo con đường đồng hóa dị dưỡng  $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NH}_2\text{OH} \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$  (Li & cs., 2024). Do trong nuôi trồng thủy sản, cần hạn chế sản phẩm trung gian như  $\text{NO}_2^-$  sinh ra, nên cần tiếp tục thử nghiệm phương pháp kích thích *B. polymyxa* loại bỏ  $\text{NH}_4^+$  theo con đường đồng hóa dị dưỡng thay vì con đường nitrat - khử nitrat hóa.

#### 5. KẾT LUẬN

Chủng *Bacillus polymyxa* thương mại có nguồn gốc từ Ấn Độ trong nghiên cứu này có khả năng giảm TAN nhanh hơn và hiệu quả hơn trong môi trường nước lợ so với nước ngọt. Mức TAN tối ưu cho chủng này là 5 mg/l ở điều kiện thí nghiệm với trên 95% hiệu suất trong 16h. Trong tương lai, có thể thử nghiệm cách kích thích con đường đồng hóa dị dưỡng TAN của *B. polymyxa*, để tránh tạo  $\text{NO}_2^-$  như là hợp chất trung gian.

#### LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu xin cảm ơn Công ty TNHH Keybio và Công ty Cổ phần Công nghệ Otanics đã tài trợ vật phẩm và máy phân tích trong nghiên cứu này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Alcaraz G., Chiappa-Carrara X., And V.E. & Vanegas C. (1999). Acute toxicity of ammonia and nitrite to white shrimp *Penaeus setiferus* postlarvae. Journal of the World Aquaculture Society. 30(1): 90-97.
- Amoah K., Huang Q.-c., Dong X.-h., Tan B.-p., Zhang S., Chi S.-y., Yang Q.-h., Liu H.-y. & Yang Y.-z. (2020). *Paenibacillus polymyxa* improves the growth, immune and antioxidant activity, intestinal health, and disease resistance in *Litopenaeus vannamei* challenged with *Vibrio parahaemolyticus*. Aquaculture. 518: 734563.

**Bảng 1. Tổng hợp tốc độ giảm TAN của một số chủng *Bacillus* trong 24h**

Chủng	Độ mặn (ppt)	Nhiệt độ (°C)	pH	Mật độ <i>Bacillus</i> ban đầu ( $\times 10^6$ CFU/mL)	TAN ban đầu (mg/l)	TAN cuối (mg/l)	Tốc độ giảm TAN (mg/l/h)	Tỉ lệ C/N	Dạng vi sinh	Tài liệu tham khảo
<i>B. polymyxa</i>	17	28	8,2	5,3	10	5,27	0,18	40	Bào tử	Nghiên cứu này
<i>B. polymyxa</i>	0	28	8,2	5,3	10	5,53	0,16	40		
<i>B. litoralis</i> N31	30	28	7,5	42	20	14	0,25	10	Vi khuẩn	Huang & cs. (2017)
<i>B. litoralis</i> N31	30	28	7,5	42	10	4	0,25	10		
<i>B. subtilis</i> H1	30	28	7,5	35	41,52	5,97	1,48	15		Xie & cs. (2023)
<i>B. subtilis</i> H1	30	27	7,5	81,2	41,55	6,03	1,48	15		Zhou & cs. (2019)
<i>Bacillus</i> sp. L2	20	30	7	140	47,88	4,58	1,8	9		Li & cs. (2024)
<i>B. firmus</i> CT-SL8-3	1	30	7	56	10	3,64	0,26	200		Zhang & cs. (2022)
<i>B. idriensis</i> CT-WN-B3	1	30	7	56	10	6,45	0,14	200		
<i>B.zhangzhouensis</i> CT-WN-B4	1	30	7	56	10	4,3	0,23	200		
<i>B. horikoshii</i> CT-WN-B8	1	30	7	56	10	4,1	0,24	200		
<i>B. australimaris</i> CT-WL5-10	1	30	7	56	10	7,4	0,10	200		
<i>Bacillus</i> sp. WY3.3	20	32	7	1	25	0,5	1,02	N/A		Trương Vũ Luân & cs. (2024)

Ghi chú: Mật độ *Bacillus* ban đầu trong các nghiên cứu được quy đổi theo đường chuẩn của IbraheimEl-Din Darwish (2013).

- Armstrong B.M., Lazorchak J.M., Murphy C.A., Haring H.J., Jensen K.M. & Smith M.E. (2012). Determining the effects of ammonia on fathead minnow (*Pimephales promelas*) reproduction. *Science of the total environment*. 420: 127-133.
- Avnimelech Y. (1999). Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*. 176(3-4): 227-235.
- Crab R., Avnimelech Y., Defoirdt T., Bossier P. & Verstraete W. (2007). Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture*. 270(1-4): 1-14.
- Daud N.S., Rosli M.A., Azam Z.M., Othman N.Z. & Sarmidi M.R. (2019). *Paenibacillus polymyxa* bioactive compounds for agricultural and biotechnological applications. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 18: 101092.
- Ebeling J.M., Timmons M.B. & Bisogni J. (2006). Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*. 257(1-4): 346-358.
- Gupta A., Gupta P. & Dhawan A. (2016). *Paenibacillus polymyxa* as a water additive improved immune response of *Cyprinus carpio* and disease resistance against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Reports*. 4: 86-92.
- Huang Pan L., Lv N. & Tang X. (2017). Characterization of novel *Bacillus strain* N31 from mariculture water capable of halophilic heterotrophic nitrification - aerobic denitrification. *Journal of bioscience and bioengineering*. 124(5): 564-571.
- Huang Xu X., Mao Y. I., Huang Y., Rajput I.R. & Li W.f. (2013). Effects of *Bacillus subtilis* B10 spores on viability and biological functions of murine macrophages. *Animal Science Journal*. 84(3): 247-252.
- Ibraheim M.H. & El-Din Darwish D. (2013). Hz frequency magnetic field effects on *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* bacteria. *IOSR J Appl Phys*. 5(3): 2278-4861.
- Kundu P., Pramanik A., Dasgupta A., Mukherjee S. & Mukherjee J. (2014). Simultaneous heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by *Chryseobacterium* sp. R31 isolated from abattoir wastewater. *BioMed research international*. (1): 436056.
- Li Q., He Y., Wang B., Weng N., Zhang L., Wang K., Tian F., Lyu M. & Wang S. (2024). Heterotrophic nitrification - aerobic denitrification by *Bacillus* sp. L2: mechanism of denitrification and strain immobilization. *Water*. 16(3): 416.
- Lin W., Luo H., Wu J., Hung T.-C., Cao B., Liu X., Yang J. & Yang P. (2022). A Review of the Emerging Risks of Acute Ammonia Nitrogen Toxicity to Aquatic Decapod Crustaceans. *Water*.
- Midhun S.J., Arun D., Neethu S., Vysakh A., Radhakrishnan E. & Jyothis M. (2019). Administration of probiotic *Paenibacillus polymyxa* HGA4C induces morphometric, enzymatic and gene expression changes in *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*. 508: 52-59.
- Midhun S.J., Neethu S., Vysakh A., Arun D., Radhakrishnan E. & Jyothis M. (2017). Antibacterial activity and probiotic characterization of autochthonous *Paenibacillus polymyxa* isolated from *Anabas testudineus* (Bloch, 1792). *Microbial pathogenesis*. 113: 403-411.
- Randall D.J. & Tsui T.K.N. (2002). Ammonia toxicity in fish. *Marine Pollution Bulletin*. 45(1-12): 17-23.
- Trương Vũ Luân, Nguyễn Thị Khánh Lam, Nguyễn Đức Khoa & Nguyễn Thị Phi Oanh (2024). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn trong nước thải chế biến thủy sản có khả năng hấp thu ammonium. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*. 60(1): 86-96.
- Wu Kun W.K., Zhong ZhiWei Z.Z., Chen YongGui C.Y., Weng ShaoPing W.S. & He JianGuo H.J. (2017). The relationship between climate change, feeding management and ammonia, nitrite and nitrate nitrogen in the *Litopenaeus vannamei* aquaculture ponds. *ResearchGate*.
- Xie Y., Tian X., Liu Y., Zhao K., Li Y., Luo K., Wang B. & Dong S. (2023). Nitrogen removal capability and mechanism of a novel heterotrophic nitrifying - aerobic denitrifying strain H1 as a potential candidate in mariculture wastewater treatment. *Environmental Science and Pollution Research*. 30(48): 106366-106377.
- Yang S., Jin D., Li H., Jiang L., Cui J., Huang W., Rang J., Li Y.-L. & Xia L. (2023). Screening of new *Paenibacillus polymyxa* S3 and its disease resistance of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Journal of Fish Diseases*. 46(1): 17-29.
- Yang Wang S.-M., Zhang D.-W. & Zhou L.-X. (2011). Isolation and nitrogen removal characteristics of an aerobic heterotrophic nitrifying - denitrifying bacterium, *Bacillus subtilis* A1. *Bioresource technology*. 102(2): 854-862.
- Zhang Andong Z.Y., Zhang M., Wang Q.N., Wei Y.Q. & Chen L.X. (2014). Isolation and characterization of a heterotrophic nitrifier *Proteus mirabilis* strain V7 and its potential application in  $\text{NH}_4^+$ -N removal. *Annals of Microbiology*. 64: 1231-1238.
- Zhang Luo L., Wang S., Guo K., Xu W. & Zhao Z. (2022). Screening and characteristics of ammonia nitrogen removal bacteria under alkaline environments. *Frontiers in Microbiology*. 13: 969722.
- Zhao H., Shao D., Jiang C., Shi J., Li Q., Huang Q., Rajoka M.S.R., Yang H. & Jin M. (2017). Biological activity of lipopeptides from *Bacillus*. *Applied microbiology and biotechnology*. 101: 5951-5960.
- Zhou S., Zhang X., Liao X., Wu Y., Mi J. & Wang Y. (2019). Effect of different proportions of three microbial agents on ammonia mitigation during the composting of layer manure. *Molecules*. 24(13): 2513.